



(19) 대한민국특허청(KR)  
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2020년06월09일  
(11) 등록번호 10-2121086  
(24) 등록일자 2020년06월03일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)  
C12N 15/113 (2010.01) A61K 31/7115 (2006.01)  
C07K 14/195 (2006.01) C12N 15/10 (2017.01)  
C12N 9/22 (2006.01)
- (52) CPC특허분류  
C12N 15/113 (2013.01)  
A61K 31/7115 (2013.01)
- (21) 출원번호 10-2015-7013918
- (22) 출원일자(국제) 2013년11월01일  
심사청구일자 2018년11월01일
- (85) 번역문제출일자 2015년05월27일
- (65) 공개번호 10-2015-0080573
- (43) 공개일자 2015년07월09일
- (86) 국제출원번호 PCT/US2013/068118
- (87) 국제공개번호 WO 2014/071219  
국제공개일자 2014년05월08일
- (30) 우선권주장  
61/721,302 2012년11월01일 미국(US)  
(뒷면에 계속)
- (56) 선행기술조사문헌  
WO2011154393 A1\*  
WO2011159369 A1  
EP2241572 A2  
WO2010079430 A1  
\*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

- (73) 특허권자  
팩터 바이오사이언스 인크.  
미국 02141 매사추세츠주 캠퍼릿지 #2204 뮤지엄웨이 8
- (72) 발명자  
엔젤, 메튜  
미국 02141 매사추세츠주 캠퍼릿지 #2204 뮤지엄웨이 8  
로데, 크리스토퍼  
미국 02141 매사추세츠주 캠퍼릿지 #2204 뮤지엄웨이 8
- (74) 대리인  
양영준, 김영

전체 청구항 수 : 총 20 항

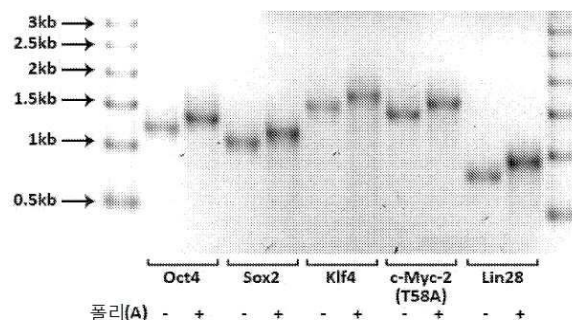
심사관 : 문동현

(54) 발명의 명칭 세포에서 단백질을 발현시키는 방법들과 생성물들

(57) 요약

본 발명은 단백질을 인코딩하는 핵산, 단백질을 인코딩하는 핵산이 포함된 치료제, 핵산을 이용하여 단백질이 발현되도록 세포를 유도하는 방법들, 세포를 트랜스펙션시키는 방법, 키트 및 장치, 유전자 에디팅을 위한 방법, 키트 및 장치, 세포의 재프로그래밍을 위한 방법, 키트 및 장치, 그리고 이들 방법, 키트 및 장치를 이용하여 만  
(뒷면에 계속)

대표도 - 도1a



들어진 세포들, 유기체들, 그리고 치료제들에 일부 관련된다. 합성 RNA 분자들을 이용하여 단백질을 발현시키기 위하여 세포들을 유도하는 방법 및 산물과 마찬가지로, 세포의 DNA 서열을 변경시키는 방법 및 산물들이 설명된다. 유전자-에디팅 단백질을 인코딩하는 핵산이 포함된 치료제 또는 설명된다.

(52) CPC특허분류

- C07K 14/195* (2013.01)
- C12N 15/1024* (2013.01)
- C12N 9/22* (2013.01)
- C12Y 301/21004* (2013.01)
- C07K 2319/80* (2013.01)

(30) 우선권주장

- 61/785,404 2013년03월14일 미국(US)
- 61/842,874 2013년07월03일 미국(US)

**명세서**

**청구범위**

**청구항 1**

유전자-에디팅 단백질을 인코딩하는 합성 RNA 분자를 포함하는 조성물로서,

유전자-에디팅 단백질은 (a) DNA 결합 도메인 및 (b) 뉴클라아제 도메인을 포함하고,

(a) DNA 결합 도메인은 다수의 반복 서열을 포함하며, 이 중 최소한 하나의 반복 서열이 36 내지 39개 사이의 아미노산 길이를 가지며 아미노산 서열: LTP<sub>v</sub>QVVAIAwxyzGHGG를 포함하고, 여기서 "v"는 Q, D 또는 E이며, "w"는 S 또는 N이며, "x"는 N, H 또는 I이며, "y"는 D, A, I, N, H, K, S 또는 G이며, "z"는 GGKQALETVQRLLPVLCQD 또는 GGKQALETVQRLLPVLCQA이고,

(b) 뉴클라아제 도메인은 뉴클라아제의 촉매 도메인을 포함하는 것인 조성물.

**청구항 2**

삭제

**청구항 3**

제1항에 있어서, "v"는 E이며, "w"는 S이며, "x"는 N이며, "y"는 I 또는 S이며, "z"는 GGKQALETVQRLLPVLCQA인 조성물.

**청구항 4**

제1항에 있어서,

(a)는 (i) 표적 DNA 분자내 결합 부위에 결합할 수 있는 영역을 포함하며, 상기 결합 부위는 길이가 1 내지 5개의 염기로 된 특정된 서열을 포함하는, 최소한 하나의 반복 서열; 및

(ii) "v"는 E이며, "w"는 S이며, "x"는 N이며, "y"는 I이며, "z"는 GGKQALETVQRLLPVLCQA인, 최소한 하나의 반복 서열을 포함하며,

(b)는 FokI 및 StsI로 이루어진 군에서 선택되는 뉴클라아제의 촉매 도메인을 포함하며,

유전자-에디팅 단백질이 살아있는 세포의 표적 DNA 서열을 변경시킬 수 있는 것인, 조성물.

**청구항 5**

제1항에 있어서, "v"는 E이며, "w"는 S이며, "x"는 N이며, "y"는 I 또는 A이며, "z"는 GGKQALETVQRLLPVLCQA인 조성물.

**청구항 6**

제1항에 있어서, "v"는 E이며, "w"는 S이며, "x"는 N이며, "y"는 S 또는 D이며, "z"는 GGKQALETVQRLLPVLCQA인 조성물.

**청구항 7**

제1항에 있어서, "v"는 Q, D 또는 E이며, "w"는 S 또는 N이며, "x"는 N이며, "y"는 I 또는 S이며, "z"는 GGKQALETVQRLLPVLCQD 또는 GGKQALETVQRLLPVLCQA인 조성물.

**청구항 8**

제1항에 있어서, "v"는 Q, D 또는 E이며, "w"는 S 또는 N이며, "x"는 N이며, "y"는 D, A, H, N, K 또는 G이며, "z"는 GGKQALETVQRLLPVLCQD 또는 GGKQALETVQRLLPVLCQA인 조성물.

**청구항 9**

제1항에 있어서, "v"는 Q, D 또는 E이며, "w"는 S 또는 N이며, "x"는 H이며, "y"는 D, A, I, N 또는 G이며, "z"는 GGKQALETVQRLLPVLCD 또는 GGKQALETVQRLLPVLCA인 조성물.

**청구항 10**

삭제

**청구항 11**

삭제

**청구항 12**

삭제

**청구항 13**

제1항에 있어서, 뉴클라아제 도메인이 다른 뉴클라아제 도메인과 이합체를 형성할 수 있는 것인 조성물.

**청구항 14**

제1항에 있어서, 유전자-에디팅 단백질이 표적 DNA 분자에서 닉(nick) 또는 이중-가닥 브레이크를 생성시킬 수 있는 것인 조성물.

**청구항 15**

제13항에 있어서, 유전자-에디팅 단백질이 표적 DNA 분자에서 닉 또는 이중-가닥 브레이크를 생성시킬 수 있는 것인 조성물.

**청구항 16**

삭제

**청구항 17**

삭제

**청구항 18**

제1항에 있어서, 합성 RNA 분자가 하나 이상의 비-정규(non-canonical) 뉴클레오티드를 포함하는 것인 조성물.

**청구항 19**

제15항에 있어서, 합성 RNA 분자가 하나 이상의 비-정규 뉴클레오티드를 포함하는 것인 조성물.

**청구항 20**

제18항에 있어서, 비-정규 뉴클레오티드가 슈도우리딘, 5-메틸슈도우리딘, 5-메틸우리딘, 5-메틸시티딘, 5-히드록시메틸시티딘, N4-메틸시티딘, N4-아세틸시티딘 및 7-테자구아노신 또는 이의 유도체로 이루어진 군에서 선택되는 것인 조성물.

**청구항 21**

제19항에 있어서, 비-정규 뉴클레오티드가 슈도우리딘, 5-메틸슈도우리딘, 5-메틸우리딘, 5-메틸시티딘, 5-히드록시메틸시티딘, N4-메틸시티딘, N4-아세틸시티딘 및 7-테자구아노신 또는 이의 유도체로 이루어진 군에서 선택되는 것인 조성물.

**청구항 22**

제1항에 있어서, 뉴클라아제 도메인이

QLVKSELEEKKSELRHKLKYPHEYIELIEIARNSTQDRILEMKVMEFFMKVYGYRGKHLGGSRKPDGAIYTVGSPIDYGVIVDTKAYSGGYNLPIGQADEM QRYVEENQTRNKHINPNEWKVPSSVTEFKFLFVSGHFKGNYKAQLTRLNHITNCNGAVLSVEELLIGGEMIKAGTLLEEVRKFNNGEINF의 아미노산 서열을 포함하는 단백질의 촉매 도메인을 포함하는 것인 조성물.

**청구항 23**

제1항에 있어서, 뉴클라아제가 FokI 및 StsI로 이루어진 군에서 선택되는 것인 조성물.

**청구항 24**

제21항에 있어서, 뉴클라아제가 FokI 및 StsI로 이루어진 군에서 선택되는 것인 조성물.

**청구항 25**

제1항에 있어서, 최소한 하나의 반복 서열이 표적 DNA 분자내 결합 부위에 결합할 수 있는 영역을 포함하며, 상기 결합 부위는 길이가 1 내지 5개의 염기로 된 특정된 서열을 포함하는 것인 조성물.

**청구항 26**

제24항에 있어서, 최소한 하나의 반복 서열이 표적 DNA 분자내 결합 부위에 결합할 수 있는 영역을 포함하며, 상기 결합 부위는 길이가 1 내지 5개의 염기로 된 특정된 서열을 포함하는 것인 조성물.

**청구항 27**

삭제

**청구항 28**

삭제

**청구항 29**

삭제

**청구항 30**

삭제

**청구항 31**

삭제

**청구항 32**

삭제

**청구항 33**

삭제

**청구항 34**

삭제

**청구항 35**

삭제

**청구항 36**

삭제

**청구항 37**

삭제

청구항 38

삭제

청구항 39

삭제

청구항 40

삭제

청구항 41

삭제

청구항 42

삭제

청구항 43

삭제

청구항 44

삭제

청구항 45

삭제

청구항 46

삭제

청구항 47

삭제

청구항 48

삭제

청구항 49

삭제

청구항 50

삭제

청구항 51

삭제

청구항 52

삭제

청구항 53

삭제

청구항 54

삭제

청구항 55

삭제

청구항 56

삭제

청구항 57

삭제

청구항 58

삭제

청구항 59

삭제

청구항 60

삭제

청구항 61

삭제

청구항 62

삭제

청구항 63

삭제

청구항 64

삭제

청구항 65

삭제

청구항 66

삭제

청구항 67

삭제

청구항 68

삭제

청구항 69

삭제

**청구항 70**

삭제

**청구항 71**

삭제

**청구항 72**

삭제

**청구항 73**

삭제

**청구항 74**

삭제

**청구항 75**

삭제

**청구항 76**

삭제

**청구항 77**

삭제

**청구항 78**

삭제

**청구항 79**

삭제

**청구항 80**

삭제

**청구항 81**

삭제

**청구항 82**

삭제

**청구항 83**

삭제

**청구항 84**

삭제

**청구항 85**

삭제

청구항 86

삭제

청구항 87

삭제

청구항 88

삭제

청구항 89

삭제

청구항 90

삭제

청구항 91

삭제

청구항 92

삭제

청구항 93

삭제

청구항 94

삭제

청구항 95

삭제

청구항 96

삭제

청구항 97

삭제

청구항 98

삭제

청구항 99

삭제

청구항 100

삭제

청구항 101

삭제

청구항 102

삭제

청구항 103

삭제

청구항 104

삭제

청구항 105

삭제

청구항 106

삭제

청구항 107

삭제

청구항 108

삭제

청구항 109

삭제

청구항 110

삭제

청구항 111

삭제

청구항 112

삭제

청구항 113

삭제

청구항 114

삭제

청구항 115

삭제

청구항 116

삭제

청구항 117

삭제

**청구항 118**

삭제

**청구항 119**

삭제

**청구항 120**

삭제

**청구항 121**

삭제

**청구항 122**

삭제

**청구항 123**

삭제

**청구항 124**

삭제

**청구항 125**

삭제

**청구항 126**

삭제

**청구항 127**

삭제

**청구항 128**

삭제

**청구항 129**

삭제

**청구항 130**

삭제

**청구항 131**

삭제

**청구항 132**

삭제

**청구항 133**

삭제

청구항 134

삭제

청구항 135

삭제

청구항 136

삭제

청구항 137

삭제

청구항 138

삭제

청구항 139

삭제

청구항 140

삭제

청구항 141

삭제

청구항 142

삭제

청구항 143

삭제

청구항 144

삭제

청구항 145

삭제

청구항 146

삭제

청구항 147

삭제

청구항 148

삭제

청구항 149

삭제

**발명의 설명**

**기술 분야**

[0001]

**우선권**

[0002]

본 출원은 2012년 11월 1일자로 제출된 U.S. 가출원 번호. 61/721,302, 2013년 3월 14일자로 제출된 U.S. 가출원 번호. 61/785,404, 그리고 2013년 7월 3일자로 제출된 U.S. 가출원 번호. 61/842,874를 우선권으로 주장하며, 이의 내용은 이들 전문이 본 명세서의 참고자료에 편입된다. 본 출원은 2012년 5월 7일자로 제출된 U.S. 출원 번호. 13/465,490, 2012년 12월 5일자로 제출된 국제 출원 번호. PCT/US2012/067966, 그리고 2013년 6월 28일자로 제출된 U.S. 출원 번호. 13/931,251에 관련되며, 이의 내용은 이들 전문이 본 명세서의 참고자료에 편입된다.

[0003]

**발명의 분야**

[0004]

본 발명은 단백질을 인코딩하는 핵산, 단백질을 인코딩하는 핵산이 포함된 치료제, 핵산을 이용하여 단백질이 발현되도록 세포를 유도하는 방법들, 세포를 트랜스펙션시키는 방법, 키트 및 장치, 유전자 에디팅을 위한 방법, 키트 및 장치, 세포의 재프로그래밍을 위한 방법, 키트 및 장치, 그리고 이들 방법, 키트 및 장치를 이용하여 만들어진 세포들, 유기체들, 그리고 치료제들에 일부 관련된다.

[0005]

**전자로 제출된 문서 화일에 대한 설명**

[0006]

본 명세서에서 전자로 제출된 텍스트 화일의 내용은 전문이 참고자료에 편입된다: 서열 목록의 컴퓨터 판독가능한 포맷 복사 (화일명:FABI\_005\_02WO\_SeqList\_ST25.txt; 기록일자: 2013년 10월 30일; 화일 크기: 255 KB).

[0007]

**배경 기술**

[0008]

*합성 RNA 및 RNA 치료제들(Synthetic RNA and RNA Therapeutics)*

[0009]

리보핵산 (RNA)은 원핵 세포 및 진핵 세포들 모두에 편재되어 있으며, 이때 이 리보핵산은 메신저 RNA 형태로 유전 정보를 인코딩하고, 전달 RNA의 형태로 아미노산에 결합하여 아미노산을 운반하고, 리보솜 RNA 형태로 아미노산을 단백질로 어셈블리하고, 그리고 microRNA 및 긴 난-코딩 RNA형태로 유전자 발현 조절을 포함하는 다수의 많은 기능을 실행한다. RNA는 직접적 화학 합성 및 시험관 전사가 포함된 방법들에 의해 합성에 의해 만들어질 수 있으며, 그리고 환자들에게 치료요법적 용도로 투여될 수 있다.

[0010]

*세포 재프로그래밍 및 세포-기반 치료법(Cell Reprogramming and Cell-Based Therapies)*

[0011]

세포들은 특이적 세포의 신호에 노출 및/또는 특이적 단백질의 이소성(ectopic) 발현, microRNAs 등에 의해 재프로그래밍될 수 있다. 몇 가지 재프로그래밍 방법들이 기존에 설명되었지만, 이소성 발현에 의지하는 대부분은 외생성 DNA의 도입을 필요로 하는데, 이때 이 DNA는 돌연변이 위험을 가지고 있을 수 있다. 재프로그래밍 단백질의 직접적인 전달에 기초한 DNA-없는(free) 재프로그래밍에 대해 보고된 바 있다. 그러나, 이들 방법은 상업적으로 이용하기에는 너무 비효율적이며, 신뢰성이 없다. 또한, RNA-기반 재프로그래밍 방법들이 설명되었다 (이를 테면, Angel. MIT Thesis. 2008. 1-56; Angel *et al.* PLoS ONE. 2010. 5,107; Warren *et al.* Cell Stem Cell. 2010. 7,618-630; Angel. MIT Thesis. 2011. 1-89; 그리고 Lee *et al.* Cell. 2012. 151,547-558; 이들 모든 내용은 본 명세서의 참고자료에 편입된다). 그러나, 기존의 RNA-기반 재프로그래밍 방법들을 성인 세포에서 실행할 경우, 느리고 신뢰성이 없으며, 비효율적이며, 많은 트랜스펙션(transfections)이 요구되며(상당한 비용과 오류의 발생 가능성이 있다), 한정된 수의 세포 유형 만을 재프로그래밍할 수 있고, 세포를 제한된 수의 세포 유형으로만 재프로그래밍할 수 있고, 면역억제제(immunosuppressants)의 사용을 필요로 하고, 그리고 혈액-유도된 HSA 및 인간 섬유아세포 피더(feeders)가 포함된 많은 인간-유도된 성분들의 사용을 필요로 한다. 기존에 공개된 RNA-기반 재프로그래밍 방법들의 많은 단점들로 인하여 연구 및 치료요법적 용도로 바람직하지 않다.

[0012]

*유전자 에디팅(Editing)*

[0013]

자연적으로 생성되는 몇 가지 단백질은 특이적 DNA 서열들, 예를 들면, 아연 핑거 (ZFs) 및 전사 활성물질-유사 효과물질 (TALEs)을 인지할 수 있는 DNA-결합 도메인들을 포함한다. 하나 또는 그 이상의 이들 DNA-결합 도메인들과 FokI 엔도뉴클레아제의 절단 도메인이 포함된 융합 단백질은 세포 안에서 DNA의 원하는 영역내에 이중-가닥 브레이크(break)를 만드는데 이용될 수 있다 (이를 테면, US 특허 출원 공개 번호 US 2012/0064620, US 특허

출원 공개 번호 US 2011/0239315, US 특허 번호 8,470,973, US 특허 출원 공개 번호 US 2013/0217119, US 특허 번호 8,420,782, US 특허 출원 공개 번호 US 2011/0301073, US 특허 출원 공개 번호 US 2011/0145940, US 특허 번호 8,450,471, US 특허 번호 8,440,431, US 특허 번호 8,440,432, 그리고 US 특허 출원 공개 번호 2013/0122581 참고, 이들 모든 내용은 본 명세서의 참고자료에 편입된다). 그러나, 세포에서 유전자 에디팅을 위한 현행 방법은 비효율적이며, 통제안된 돌연변이생성의 위험을 가지고 있어, 연구 및 치료요법적 용도 모두에 바람직하지 못하다. 체세포의 DNA-없는 유전자 에디팅 방법은 기존에 연구된 적이 없으며, 체세포의 동시 또는 순차적 유전자 에디팅 및 재프로그래밍을 위한 방법들은 없었다. 또한, 환자들에서 (가령, 생체내) 직접적으로 유전자 에디팅을 위한 방법들은 기존에 연구된 적이 없으며, 이러한 방법들의 개발은 수용가능한 표적들의 부재, 유전자-에디팅 단백질/단백질들의 비효율적인 운반, 비효율적인 발현, 발현된 유전자-에디팅 단백질/단백질들에 의한 비효율적인 유전자 에디팅, DNA-결합 도메인들의 일부 빈약한 결합으로 인하여, 과도한 부정확한 (비적중) 효과, FokI 절단 도메인의 비-지향적 이량체화로 인하여 그리고 DNA-결합 도메인들의 빈약한 특이성으로 인하여, 그리고 다른 인자들에 의해 제한되어 있었다. 끝으로, 항균, 항바이러스 그리고 항암 치료에서 유전자 에디팅의 사용은 기존에 연구된 적이 없었다.

[0014] 따라서, 세포 안에서 단백질의 발현을 위한 개선된 조성물들과 방법들이 여전히 필요하다.

[0015] **발명의 요약**

[0016] 본 발명은 단백질을 발현시키기 위하여 세포를 유도하는 조성물, 방법들, 물품들(article) 및 장치, 이들 조성물들, 방법들, 물품들 및 장치들을 만드는 방법들, 물품들, 및 장치들, 이들 조성물들, 방법들, 물품들, 그리고 장치들을 이용하여 만들어진 세포들, 유기체들, 그리고 치료제가 포함된 조성물 및 물품들을 일부 제공한다. 기존에 보고된 방법들과는 달리, 본 발명의 특정 구체예들은 세포들을 외생성 DNA 또는 동종이계(allogeneic) 또는 동물-유도된 재료에 노출시키는 것을 포함하지 않으며, 이것은 치료요법적 용도에 유용한 본 발명의 방법에 따라 생성된 산물들을 만든다.

[0017] 일부 측면들에 있어서, 낮은 독성 및 높은 해독(translation) 효율을 가진 합성 RNA 분자들이 제공된다. 한 측면에 있어서, 세포의 고-효율 트랜스펙션, 재프로그래밍, 그리고 유전자 에디팅을 위한 세포-배양 배지가 제공된다. 다른 측면들은 재프로그래밍 단백질이 인코딩된 합성 RNA 분자들을 생산하는 방법들과 관련된다. 여전히 다른 측면들은 재프로그래밍 단백질이 인코딩된 합성 RNA 분자들을 생산하는 방법들과 관련된다.

[0018] 한 측면에 있어서, 본 발명은 조작된(engineered) 뉴클라아제 절단 도메인들이 포함된 고-효율 유전자 에디팅 단백질들을 제공한다. 또다른 측면에 있어서, 본 발명은 조작된 뉴클라아제 절단 도메인들이 포함된 높은-충실성(fidelity) 유전자 에디팅 단백질들을 제공한다. 다른 측면들은 조작된 DNA-결합 도메인들이 포함된 고-효율 유전자-에디팅 단백질에 관계된다. 여전히 추가 측면들은 조작된 DNA-결합 도메인들이 포함된 높은 정확도 유전자-에디팅 단백질에 관련된다. 여전히 추가 측면들은 조작된 반복 서열들이 포함된 유전자-에디팅 단백질들에 관련된다. 일부 측면들은 유전자-에디팅 단백질을 세포에 트랜스펙션시킴으로써 또는 유전자-에디팅 단백질이 발현되도록 세포를 유도함으로써, 세포의 DNA 서열을 변경시키는 방법들에 관련된다. 다른 측면들은 시험관 배양에 존재하는 세포의 DNA 서열을 변경시키는 방법들에 관련된다. 여전히 추가 측면들은 생체내에 존재하는 세포의 DNA 서열을 변경시키는 방법들에 관련된다.

[0019] 일부 측면들에 있어서, 본 발명은 환자에게 치료요법적으로 유효량의 유전자-에디팅 단백질 또는 유전자-에디팅 단백질이 인코딩된 핵산을 투여하는 것이 포함된 암을 치료하는 방법들을 제공한다. 한 측면에 있어서, 상기 유전자-에디팅 단백질은 암 연합된 유전자의 DNA 서열을 변경시킬 수 있다. 또다른 측면에 있어서, 상기 암-연합된 유전자는 BIRC5 유전자다. 여전히 일부 측면들은 예를 들면, 유형 1 당뇨병, 허혈 및 확장심근병이 포함된 심장 질환, 황반 변성, 파킨슨 질환, 낭성섬유증, 겸상 적혈구 빈혈증, 지중해빈혈, 판코니 빈혈, 중증 복합형 면역부전증, 유전성 감각신경병증, 색소성 건피증, 헌팅턴 질환, 근이영양증, 근위축성 측색 경화증, 알츠하이머 질환, 암, 그리고 간염 및 HIV/AIDS가 포함된 감염성 질환의 치료를 위한 핵산 및/또는 세포들이 포함된 치료제와 핵산 및/또는 세포가 포함된 치료제를 이용한 방법들에 관련된다. 일부 측면들에 있어서, 상기 핵산은 합성 RNA를 포함한다. 다른 측면에 있어서, 바이러스를 이용하여 상기 핵산은 세포들에게 전달된다. 일부 측면들에 있어서, 상기 바이러스는 복제-기능이 있는(competent) 바이러스다. 다른 측면에 있어서, 상기 바이러스는 복제-불능(incompetent) 바이러스다.

[0020] 본 발명의 상세한 내용은 하기 수반되는 설명에서 제시된다. 본 명세서에서 설명된 것과 유사한 또는 대등한 방법들과 재료들이 본 발명의 실시 또는 테스트에 이용될 수 있지만, 예시적인 방법들과 재료들은 지금 설명된다. 본 발명의 다른 특징들, 목적들 및 장점들은 상세한 설명 및 청구범위로부터 자명해질 것이다. 명세서 및 첨부

된 청구범위에서, 단수는 다른 명시적인 언급이 없는 한 복수 개념을 포함한다. 다른 언급이 없는 한, 본 명세서에서 이용된 모든 기술적 그리고 과학적 용어들은 본 발명이 속하는 분야의 통상적 숙련자에 의해 흔히 이해되는 것과 동일한 의미를 갖는다.

**도면의 간단한 설명**

[0021]

**도 1a**는 아테노신, 50% 구아노신, 50% 7-테자구아노신, 70% 우리딘, 30% 5-메틸우리딘, 및 5-메틸시티딘이 포함된, 표시된 단백질을 인코딩하는 RNA를 나타내는데, 변성 포름알데히드-아가로즈 겔상에서 해리된 것이다.

**도 1b**는 아테노신, 50% 구아노신, 50% 7-테자구아노신, 50% 우리딘, 50% 5-메틸우리딘, 그리고 5-메틸시티딘이 포함된, 표시된 단백질을 인코딩하는 RNA를 나타내는데, 변성 포름알데히드-아가로즈 겔상에서 해리된 것이다.

**도 2**는 재프로그래밍 단백질이 인코딩된 RNA로 5회 트랜스펙션에 의해 재프로그래밍된 1차 인간 신생 섬유아세포들을 나타낸다. 세포들은 고정되며, Oct4 단백질을 대하여 착색되었다. 핵은 Hoechst 33342로 반대착색되었다(counterstained).

**도 3a**는 1차 인간 성인 섬유아세포들을 나타낸다.

**도 3b**는 재프로그래밍 단백질이 인코딩된 RNA로 7회 트랜스펙션에 의해 재프로그래밍된 도 3a에서 보여준 1차 인간 성인 섬유아세포들을 나타낸다. 화살표는 재프로그래밍된 세포들의 콜로니를 나타낸다.

**도 3c**는 재프로그래밍된 1차 인간 성인 섬유아세포들의 큰 콜로니를 나타낸다.

**도 4a**는 인간 CCR5 유전자를 표적으로 하는 TALEN 쌍의 위치를 나타낸다. 단일-선은 TALEN 결합 부위를 나타낸다. 이중선은 Δ32 돌연변이의 위치를 나타낸다.

**도 4b**는 변성 포름알데히드-아가로즈 겔 상에서 해리된 도 4a의 TALEN 쌍을 인코딩하는 합성 RNA를 나타낸다.

**도 4c**는 인간 피부 섬유아세포들(GM00609)에서 도 4b의 RNA의 기능을 테스트하는 SURVEYOR 분석 결과를 나타낸다. RNA로 트랜스펙션된 세포로부터 생성된 시료내 760bp와 200bp 밴드의 출현은 유전자 에디팅이 성공적임을 나타낸다. 각 라인의 아래 백분율은 유전자 에디팅의 효율(에디트된 대립형질의 비율)을 나타낸다.

**도 4d**는 도 4c의 "Neg" 및 "TALENs" 라인의 라인-프로파일 그래프를 나타낸다. 숫자는 전체 통합(integrated) 강도와 비교하여 3개 밴드의 통합 강도를 나타낸다.

**도 4e**는 도 4c와 같이 실행된 SURVEYOR 분석 결과를 나타내는데, RNA로 2회 트랜스펙션("2x"로 표시된 라인) 세포들로부터 생성된 시료가 또한 포함된다.

**도 4f**는 합성 RNA를 이용하여 1차 인간 세포들(GM00609)의 동시 유전자 에디팅 및 재프로그래밍을 나타낸다. 영상은 재프로그래밍된 세포들의 대표적 콜로니를 나타낸다.

**도 4g**는 도 4f와 같이 생성된 유전자-에디트된, 재프로그래밍된 세포들에서 CCR5 유전자의 직접적 서열화 결과를 나타낸다. 테스트된 9개 라인중 4개는 TALEN 결합 부위 사이에 결손을 포함하는데, 이는 효과적인 유전자 에디팅을 나타낸다.

**도 5**는 도 4c와 같이 실행된 SURVEYOR 분석 결과를 나타내는데, 단 차이는 인간 MYC 유전자를 표적으로 하는 RNA를 이용하는데, 정규(canonical) 뉴클레오티드("A,G,U,C") 또는 비-정규(non-canonical) 뉴클레오티드("A,7dG,5mU,5mC")가 포함된다. 470bp 및 500bp에서 짝은 밴드는 고-효율 유전자 에디팅을 나타낸다.

**도 6**은 도 4c와 같이 실행된 SURVEYOR 분석 결과를 나타내는데, 단 차이는 인간 BIRC5 유전자를 표적으로 하는 RNA를 이용하는데, 정규 뉴클레오티드("A,G,U,C") 또는 비-정규 뉴클레오티드("A,7dG,5mU,5mC")가 포함된다. 710bp에서 짝은 밴드는 고-효율 유전자 에디팅을 나타낸다.

**도 7a**는 인간 BIRC5 유전자를 표적으로 하는 RNA(RiboSlice)로 트랜스펙션된 HeLa 세포들(경부 암종)을 나타낸다. 세포들은 단일 RNA("2x 설바이빈(Survivin) L") 또는 동량의 RNA 쌍의 각 구성부("설바이빈(Survivin) L + R")로 트랜스펙션되었으며, 각 경우에 전달된 RNA 총량은 동일하다. 우측 패널에서 나타낸 것과 같이 RNA 쌍으로 트랜스펙션된 세포들이 확대되었으며, 분절화(fragmented) 핵을 나타내며, 상당히 감소된 증식을 나타내고, 이는 RiboSlice의 잠재적인 항-암 활성을 설명한다.

**도 7b**는 도 7a에서와 같이 인간 BIRC5 유전자를 표적으로 하는 RNA로 트랜스펙션된 HeLa 세포들을 나타낸다. 세포들은 후속적으로 고정되며, 설바이빈(survivin) 단백질에 대해 착색되었다. 핵은 Hoechst 33342로 반대착색되

었다. RiboSlice로 트랜스펙션된 세포들의 크고, 분절화된 핵은 화살표로 표시된다.

**도 8**은 합성 RNA를 이용하여 재프로그래밍된 1차 인간 성인 섬유아세포들을 나타낸다. 재프로그래밍을 나타내는 형태를 보이는 세포들의 치밀한 콜로니를 화살표로 나타낸다.

**도 9**는 변성 포름알데히드-아가로즈 겔 상에서 해리된 도 4a의 TALEN 쌍을 인코딩하는 합성 RNA를 나타낸다.

**도 10a**는 인간 피부 섬유아세포들에서 도 9의 RNA의 효과를 테스트하는 SURVEYOR 분석 결과를 나타낸다. 세포는 트랜스펙션 후 대략적으로 48h에 용해되었다. 성공적인 유전자 에디팅으로 인하여 절단 산물에 상응하는 밴드는 별표로 나타낸다. 라인은 "X.Y"의 형태로 라벨되는데, 여기에서 X는 증폭된 DNA의 엑손을 나타내며, Y는 상기 유전자-에디팅 단백질 쌍을 나타낸다. 예를 들면, "1.1"은 시작 코돈에 가장 근접한 엑손 1의 영역을 표적으로 하는 상기 유전자-에디팅 단백질 쌍을 지칭한다. "X.N"은 트랜스펙션안된 세포들을 나타낸다.

**도 10b**는 인간 피부 섬유아세포들에서 도 9의 RNA의 독성을 테스트하는 SURVEYOR 분석 결과를 나타낸다. 세포는 트랜스펙션 후 11일에 용해되었다. **도 10a**와 같이 라인과 밴드들은 라벨된다. 별표가 있는 밴드의 출현은 트랜스펙션된 세포들이 높은 생존력을 유지하였다는 것이 설명된다.

**도 11**은 유전자-에디팅 단백질을 인코딩하는 RNA의 생체내 안전성을 테스트하기 위하여 기획된 연구 결과를 나타낸다. 그래프는 처리안된 하나의 집단, 비이클람으로 처리된 하나의 집단, 종양내 주사를 통하여 RiboSlice로 처리된 하나의 집단, 그리고 정맥내 주사를 통하여 RiboSlice로 처리된 하나의 집단의 4개 집단 마우스(각 집단에는 10마리 동물)의 평균 체중을 나타낸다. 모든 처리 집단의 경우, 1일차에서 9일차 시점까지 하루걸러 한번씩 5회 투여분량이 동물들에게 제공되었다. 동물은 17일차까지 추적된다. 4개 집단의 평균 체중 사이의 통계학적으로 유의적인 차이가 없다는 사실은 RiboSlice의 생체내 안전성을 설명한다.

**도 12a**는 다양한 36개의 아미노산의 긴 반복 서열들이 포함된 유전자-에디팅 단백질의 효과를 테스트하는 SURVEYOR 분석 결과를 나타낸다. 인간 피부 섬유아세포들은 표시된 반복 서열이 포함된 유전자-에디팅 단백질을 인코딩하는 RNA로 트랜스펙션 후 대략적으로 48h에 용해되었다. 성공적인 유전자 에디팅으로 인하여 절단 산물에 상응하는 밴드는 별표로 나타낸다. 라인의 라벨은 반복 서열의 C-말단에서 아미노산을 나타낸다. "Neg."는 트랜스펙션안된 세포들을 나타낸다.

**도 12b**는 유전자-에디팅 단백질의 효과를 테스트하는 SURVEYOR 분석 결과를 나타내는데, 이때 모든 다른 반복 서열은 길이가 36개 아미노산이다. 인간 피부 섬유아세포들은 표시된 반복 서열이 포함된 유전자-에디팅 단백질을 인코딩하는 RNA로 트랜스펙션 후 대략적으로 48h에 용해되었다. 성공적인 유전자 에디팅으로 인하여 절단 산물에 상응하는 밴드는 별표로 나타낸다. 라인의 라벨은 반복 서열들의 C-말단에서 아미노산을 나타낸다. "Neg."는 트랜스펙션안된 세포들을 나타낸다.

**도 13a**는 유전자-에디팅 단백질을 인코딩하는 핵산을 나르는 RiboSlice AAV 복제-불능 바이러스의 생체내 안전성 및 효과를 테스트하기 위하여 기획된 연구 결과를 나타낸다. 이 그래프는 인간 신경아교종 세포들이 포함된 피부 종양을 가지는 3개 집단 마우스의 평균 체중을 나타내는데, 이때 3개 집단은 처리안된 하나의 집단 (처리 없는 대조군, "NTC", n = 6), 종양내 주사를 통하여 GFP를 인코딩하는 AAV로 처리된 하나의 집단 ("GFP", n=2), 그리고 BIRC5 유전자를 표적으로 하는 유전자-에디팅 단백질을 인코딩하는 RiboSlice AAV ("RiboSlice", n=2)로 종양내 주사를 통하여 처리된 하나의 집단을 포함한다. GFP 집단의 경우 1일차 시점에 동물에게 투여되었으며, 그리고 RiboSlice 집단의 경우는 1일차와 15일차에 투여되었다. 동물은 25일차까지 추적된다. 집단의 평균 체중 사이의 통계학적으로 유의적인 차이가 없다는 사실은 RiboSlice AAV의 생체내 안전성을 설명한다.

**도 13b**는 도 13a에서 나타낸 연구에서 동물의 표준화된 종양 용적을 나타낸다. NTC 및 GFP 집단 모두와 비교하였을 때, RiboSlice AAV로 처리된 집단에서 표준화된 종양 용적의 느린 증가는 RiboSlice AAV의 생체내 효과를 설명한다.

**도 14**는 도 12b에서와 같이 유전자-에디팅 단백질의 효과를 테스트하는 SURVEYOR 분석 결과를 나타낸다. "RiboSlice"는 유전자-에디팅 단백질을 말하며, 이때 모든 다른 반복 서열의 길이는 36개 아미노산이다. "w.t."는 트랜스펙션안된 세포들을 말한다.

**도 15**는 아데노신, 50% 구아노신, 50% 7-메틸구아노신, 60% 우리딘, 40% 5-메틸우리딘, 그리고 5-메틸시티딘이 포함된, 표시된 단백질을 인코딩하는 RNA를 나타내는데, 변성 포름알데히드-아가로즈 겔상에서 해리된 것이다.

**도 16**은 APP 유전자로 복구 주형(repair template)의 통합을 테스트하는 분석 결과를 나타낸다. RNA와 복구 주

형으로 트랜스펙션된 세포들로부터 생성된 시료내 562bp와 385bp 밴드의 출현은 PstI 제한 부위(restriction site)의 성공적인 통합을 나타낸다. "-" 는 절단안된 시료를 나타내며, "+" 는 PstI 제한 뉴클리아제로 처리된 시료를 나타낸다.

**발명을 실시하기 위한 구체적인 내용**

- [0022] 정의
- [0023] "분자"란 분자 본질(entity)(분자, 이온, 복합체 등)을 의미한다.
- [0024] "RNA 분자"는 RNA를 포함하는 분자를 말한다.
- [0025] "합성 RNA 분자"는 생물공학을 이용하여 세포 외부에서 생성된 또는 세포 안에서 생성된 RNA 분자를 말하는데, 비-제한적 예로써, 시험관-전사 반응에서 생성된 RNA 분자, 직접적 화학 합성에 의해 생성된 RNA 분자 또는 유전적으로-조작된 대장균(*E.coli*) 세포에서 생산된 RNA 분자들이 있다.
- [0026] "트랜스펙션"이란 세포에 분자를 접촉시킨다는 의미이며, 이때 이 분자는 이 세포에 의해 내화된다.
- [0027] "트랜스펙션 당시"란 트랜스펙션하는 동안 또는 그 이후를 말한다.
- [0028] "트랜스펙션 시약"이란 분자와 연합되어 분자를 세포로 전달을 용이하게 하거나 또는 이 세포에 의해 분자가 내화되게 하는 물질 또는 물질의 혼합물을 말하는데, 비-제한적 예로써, 양이온 지질, 하전된 폴리머 또는 세포-침투 펩티드가 있다.
- [0029] "시약-기반 트랜스펙션"란 트랜스펙션 시약을 이용한 트랜스펙션을 말한다.
- [0030] "세포-배양 배지"란 세포 배양에 이용될 수 있는 배지를 말하며, 비-제한적 예로써, Dulbecco의 변형된 Eagle 배지(DMEM) 또는 DMEM + 10% 태아 소 혈청(FBS)이 있다.
- [0031] "복합(complexation) 배지"란 트랜스펙션 시약과 트랜스펙션되는 분자가 첨가된 배지를 말하며, 이때 트랜스펙션 시약은 트랜스펙션되는 분자에 연합된다.
- [0032] "트랜스펙션 배지"란 트랜스펙션에 이용되는 배지를 말하며, 비-제한적 예로써, Dulbecco의 변형된 Eagle 배지(DMEM) 또는 DMEM/F12가 있다.
- [0033] "재조합 단백질"이란 동물 또는 인간에서 생산되지 않는 단백질 또는 펩티드를 말한다. 비-제한적 예로는 박테리아에서 생산되는 인간 트랜스페린(transferrin), 마우스 세포들의 시험관 배양에서 생성되는 인간 피브로넥틴(fibronectin), 그리고 식물의 쌀에서 생산되는 인간 혈청 알부민이 포함된다.
- [0034] "지질 운반체"란 수성 용액에서 지질 또는 지질-가용성 분자의 용해도를 증가시킬 수 있는 물질을 말하며, 비-제한적 예로써, 인간 혈청 알부민 또는 메틸-베타-시클로덱스트린이 있다.
- [0035] "Oct4 단백질"이란 POU5F1 유전자에 의해 인코딩된 단백질, 또는 천연 또는 조작된 변종, 패밀리-멤버, 상동 분자종(orthologue), 이의 단편 또는 융합 구조물을 말하며, 비-제한적 예로써, 인간 Oct4 단백질(서열 번호: 8), 마우스 Oct4 단백질, Oct1 단백질, POU5F1 슈도유전자 2에 의해 인코딩된 단백질, Oct4 단백질의 DNA-결합 도메인 또는 Oct4-GFP 융합 단백질이 있다. 일부 구체예들에 있어서 Oct4 단백질은 서열 번호: 8과 최소한 70% 동일성을 보유한 아미노산 서열을 포함하며, 또는 다른 구체예들에 있어서, 서열 번호: 8과 최소한 75%, 80%, 85%, 90%, 또는 95% 동일성을 보유한 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구체예들에 있어서, Oct4 단백질은 서열 번호: 8에 대하여 1 내지 20개의 아미노산 삽입, 결손, 또는 치환(집합적으로)을 보유한 아미노산 서열을 포함한다. 또는 다른 구체예들에 있어서, Oct4 단백질은 서열 번호: 8에 대하여 1 내지 15개 또는 1 내지 10개의 아미노산 삽입, 결손, 또는 치환(집합적으로)을 보유한 아미노산 서열을 포함한다.
- [0036] "Sox2 단백질"이란 SOX2 유전자에 의해 인코딩된 단백질, 또는 천연 또는 조작된 변종, 패밀리-멤버, 상동 분자종, 이의 단편 또는 융합 구조물을 의미하며, 비-제한적 예로써, 인간 Sox2 단백질(서열 번호: 9), 마우스 Sox2 단백질, Sox2 단백질의 DNA-결합 도메인 또는 Sox2-GFP 융합 단백질이 있다. 일부 구체예들에 있어서 Sox2 단백질은 서열 번호: 9와 최소한 70% 동일성을 보유한 아미노산 서열을 포함하며, 또는 다른 구체예들에 있어서, 서열 번호: 9와 최소한 75%, 80%, 85%, 90%, 또는 95% 동일성을 보유한 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구체예들에 있어서, Sox2 단백질은 서열 번호: 9에 대하여 1 내지 20개의 아미노산 삽입, 결손, 또는 치환(집합적으로)을 보유한 아미노산 서열을 포함한다. 또는 다른 구체예들에 있어서, Sox2 단백질은 서열 번호: 9에 대하여 1 내지 15개 또는 1 내지 10개의 아미노산 삽입, 결손, 또는 치환(집합적으로)을 보유한 아미노산 서열을 포함한다.

서열을 포함한다.

- [0037] "Klf4 단백질"은 KLF4 유전자에 의해 인코딩된 단백질, 또는 천연 또는 조작된 변종, 패밀리-멤버, 상동분자종, 이의 단편 또는 융합 구조물을 말하며, 비-제한적 예로써, 인간 Klf4 단백질 (서열 번호: 10), 마우스 Klf4 단백질, Klf4 단백질의 DNA-결합 도메인 또는 Klf4-GFP 융합 단백질이 있다. 일부 구체예들에 있어서 Klf4 단백질은 서열 번호: 10과 최소한 70% 동일성을 보유한 아미노산 서열을 포함하며, 또는 다른 구체예들에 있어서, 서열 번호: 10과 최소한 75%, 80%, 85%, 90%, 또는 95% 동일성을 보유한 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구체예들에 있어서, Klf4 단백질은 서열 번호: 10에 대하여 1 내지 20개의 아미노산 삽입, 결손, 또는 치환 (집합적으로)을 보유한 아미노산 서열을 포함한다. 또는 다른 구체예들에 있어서, Klf4 단백질은 서열 번호: 10에 대하여 1 내지 15개 또는 1 내지 10개의 아미노산 삽입, 결손, 또는 치환 (집합적으로)을 보유한 아미노산 서열을 포함한다.
- [0038] "c-Myc 단백질"이란 MYC 유전자에 의해 인코딩되는 단백질, 또는 천연 또는 조작된 변종, 패밀리-멤버, 상동분자종, 이의 단편 또는 융합 구조물을 말하며, 비-제한적 예로써, 인간 c-Myc 단백질 (서열 번호: 11), 마우스 c-Myc 단백질, l-Myc 단백질, c-Myc (T58A) 단백질, c-Myc 단백질의 DNA-결합 도메인 또는 c-Myc-GFP 융합 단백질이 있다. 일부 구체예들에 있어서 c-Myc 단백질은 서열 번호: 11과 최소한 70% 동일성을 보유한 아미노산 서열을 포함하며, 또는 다른 구체예들에 있어서, 서열 번호: 11과 최소한 75%, 80%, 85%, 90%, 또는 95% 동일성을 보유한 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구체예들에 있어서, c-Myc 단백질은 서열 번호: 11에 대하여 1 내지 20개의 아미노산 삽입, 결손, 또는 치환 (집합적으로)을 보유한 아미노산 서열을 포함한다. 또는 다른 구체예들에 있어서, c-Myc 단백질은 서열 번호: 11에 대하여 1 내지 15개 또는 1 내지 10개의 아미노산 삽입, 결손, 또는 치환 (집합적으로)을 보유한 아미노산 서열을 포함한다.
- [0039] "재프로그래밍"이란 세포의 표현형의 변화를 야기시킨다는 의미로써, 비-제한적 예로써,  $\beta$ -세포 선조세포가 성숙한  $\beta$ -세포로 분화되도록 하고, 섬유아세포가 다능성 줄기 세포로 탈분화되도록 하고, 각질세포가 심장 줄기 세포로 전이분화되도록 하거나 또는 뉴우런의 역손이 정상되도록 하는 것을 말한다.
- [0040] "재프로그래밍 인자"란 세포가 분자와 접촉될 때 및/또는 세포가 분자를 발현시킬 때, 분자가 단독으로 또는 다른 분자들과 복합되어, 비-제한적 예로써, Oct4 단백질의 재프로그래밍을 야기시키는 분자를 말한다.
- [0041] "피더(feeder)"란 조건 배지에 이용되는 세포 또는 배양에서 다른 세포들의 성장을 지원하는 세포를 의미한다.
- [0042] "조건화(conditioning)"란 하나 또는 그 이상의 피더를 배지에 접촉시키는 것을 말한다.
- [0043] "지방산"이란 최소한 2개 탄소의 지방족쇄를 포함하는 분자를 말하며, 비-제한적 예로써, 리놀레산,  $\alpha$ -리놀렌산, 옥탄산, 류코트리엔, 프로스타글란딘, 콜레스테롤, 글루코코르티코이드, 레졸빈, 프로텍틴, 트롬복산, 리포신(lipoxin), 마레신(maresin), 스펡고리피드, 트립토판, N-아세틸 트립토판 또는 이의 염, 메틸 에스테르 또는 유도체가 있다.
- [0044] "단쇄(short-chain) 지방산"은 2개 내지 30개 탄소 원자 사이의 지방쇄가 포함된 지방산을 말한다.
- [0045] "알부민"이란 물에 상당히 잘 용해되는 단백질, 비-제한적 예로써, 인간 혈청 알부민을 말한다.
- [0046] "연합된(associated) 분자"란 또다른 분자에 비-공유적으로 결합된 분자를 말한다.
- [0047] "알부민의 연합된-분자-성분"이란 알부민 폴리펩티드에 결합된 하나 또는 그 이상의 분자들, 비-제한적 예로써, 알부민 폴리펩티드에 결합된 지질, 호르몬, 콜레스테롤, 칼슘 이온을 의미한다.
- [0048] "처리된(treated) 알부민"이란 알부민의 연합된 분자 성분을 감소, 제거, 대체 또는 그렇지 않으면 비활성화시키기 위하여 처리된 알부민을 말하는데, 비-제한적 예로써, 상승된 온도에서 항온처리된 인간 혈청 알부민, 옥타노에이트 나트륨과 접촉된 인간 혈청 알부민 또는 다공성 물질과 접촉된 인간 혈청 알부민이 있다.
- [0049] "이온-교환 수지"는 이온이 포함된 용액과 접촉되었을 때 하나 또는 그 이상의 이온을 하나 또는 그 이상의 상이한 이온으로 대체시킬 수 있는 물질을 의미하며, 비-제한적 예로써, 하나 또는 그 이상의 칼슘 이온을 하나 또는 그 이상의 나트륨 이온으로 대체시킬 수 있는 물질을 말한다.
- [0050] "생식 세포(germ cell)"란 정자 세포 또는 난 세포를 말한다.
- [0051] "다능성 줄기 세포(pluripotent stem cell)"란 생체내에서 세 가지 모든 생식 층 (내배엽, 중배엽 그리고 외

배엽)의 세포로 분화될 수 있는 세포를 말한다.

- [0052] " 체세포(somatic cell) "란 다능성 줄기 세포 또는 생식 세포가 아닌 세포, 비-제한적 예로써, 피부 세포를 말한다.
- [0053] " 포도당-반응성 인슐린-생산 세포 "란 특정 농도의 포도당에 노출될 때, 인슐린을 생산 및/또는 분비할 수 있는 세포를 말하며, 이때 생산되는 인슐린의 양은 상이한 농도의 포도당에 노출되었을 때 세포 비-제한적 예로써,  $\beta$ -세포가 생산 및/또는 분비하는 인슐린의 양과는 상이하다(더 적거나 또는 더 많다).
- [0054] " 조혈(hematopoietic) 세포 "란 혈액 세포 또는 혈액 세포로 분화될 수 있는 세포, 비-제한적 예로써, 조혈 줄기 세포 또는 백혈구 세포를 말한다.
- [0055] " 심장 세포 "는 심장 세포 또는 심장 세포로 분화될 수 있는 세포, 비-제한적 예로써, 심장 줄기 세포 또는 심근세포를 말한다.
- [0056] " 망막 세포 "는 망막 세포 또는 망막 세포로 분화될 수 있는 세포, 비-제한적 예로써, 망막 색소침착된 상피 세포를 말한다.
- [0057] " 피부 세포 "는 피부에서 정상적으로 발견되는 세포를 말하는데, 비-제한적 예로써, 섬유아세포, 각질세포, 멜라닌세포, 지방세포, 간엽(mesenchymal) 줄기 세포, 지방 줄기 세포 또는 혈액 세포를 말한다.
- [0058] " Wnt 신호생성 항진제(signaling agonist) "란 하나 또는 그 이상의 Wnt 단백질 패밀리를 구성원, 비-제한적 예로써, Wnt1, Wnt2, Wnt3, Wnt3a 또는 2-아미노-4-[3,4-(메틸렌디옥시)벤질아미노]-6-(3-메톡시페닐)피리미딘의 생물학적 기능중 하나 이상을 실행시킬 수 있는 분자를 말한다.
- [0059] " IL-6 신호생성 항진제 "란 IL-6 단백질, 비-제한적 예로써, IL-6 단백질 또는 IL-6 수용체 (가용성 IL-6 수용체, IL-6R, IL-6R 알파, 등으로도 알려짐)의 생물학적 기능중 하나 이상을 실행시킬 수 있는 분자를 말한다.
- [0060] " TGF- $\beta$  신호생성 항진제 "란 TGF- $\beta$  단백질의 슈퍼패밀리(superfamily)의 하나 또는 그 이상의 구성원, 비-제한적 예로써, TGF- $\beta$ 1, TGF- $\beta$ 3, 액티빈(Activin) A, BMP-4 또는 Nodal의 생물학적 기능중 하나 이상을 실행시킬 수 있는 분자를 말한다.
- [0061] " 면역억제제(immunosuppressant) "란 면역계의 하나 또는 그 이상의 측면을 억제하고, 포유류에서 정상적으로 존재하지 않는 물질, 비-제한적 예로써, B18R 또는 텍사메타손을 말한다.
- [0062] " 단일-가닥 브레이크 "란 뉴클레오티드를 연계시키는 하나 또는 그 이상의 공유 결합이 한 가닥 또는 두 가닥 중 하나에서 파괴되어 있는, 단일-가닥으로 된 또는 이중-가닥으로 된 DNA의 영역을 말한다.
- [0063] " 이중-가닥 브레이크 "란 뉴클레오티드를 연계시키는 하나 또는 그 이상의 공유 결합이 두 가닥 각각에서 파괴되어 있는, 이중-가닥으로 된 DNA의 영역을 말한다.
- [0064] " 뉴클레오티드 "란 뉴클레오티드 또는 이의 단편 또는 유도체, 비-제한적 예로써, 핵염기, 뉴클레오시드, 뉴클레오티드-삼인산염, 등을 의미한다.
- [0065] " 뉴클레오시드 "란 뉴클레오티드 또는 이의 단편 또는 유도체, 비-제한적 예로써, 핵염기, 뉴클레오시드, 뉴클레오티드-삼인산염, 등을 의미한다.
- [0066] " 유전자 에디팅 "이란 비-제한적 예로써, 세포의 DNA에서 돌연변이를 야기시키는 단백질로 세포를 트랜스펙션시켜, DNA 서열을 변경시키는 것을 말한다.
- [0067] " 유전자-에디팅 단백질 "이란 단독으로 또는 하나 또는 그 이상의 다른 분자들과 복합되어, 세포의 DNA 서열을 변경시키는 단백질을 말하는데, 비-제한적 예로써, 뉴클라아제, 전사 활성물질-유사 효과물질 뉴클라아제(TALEN), 아연-핑거 뉴클라아제, 메가뉴클라아제, 니카제(nickase), 군집화된 규칙적으로 공간을 두고 있는 짧은 팔린드롬 반복부(CRISPR)-연합된 단백질 또는 천연 또는 조작된 변종, 패밀리를 구성원, 상동분자중, 이의 단편 또는 융합 구조물이 있다.
- [0068] " 복구 주형(repair template) "이란 유전자-에디팅 단백질의 표적 부위 10kb내에 있는 서열과 최소한 약 70% 상동성 영역이 포함된 핵산을 말한다.
- [0069] " 반복 서열 "이란 단백질 안에 최소한 약 10% 상동성 범위내에서 하나 이상의 사본으로 존재하는 아미노산 서열을 말하는데, 비-제한적 예로써, 전사 활성물질-유사 효과물질(transcription activator-like effector)의

모노머 반복이 있다.

[0070] "DNA-결합 도메인"이란 DNA 분자에 결합할 수 있는 분자의 영역을 말하는데, 비-제한적 예로써, 하나 또는 그 이상의 아연 핑거가 포함된 단백질 도메인, 하나 또는 그 이상의 전사 활성물질-유사 (TAL) 효과물질 반복 서열들이 포함된 단백질 도메인 또는 DNA 분자에 결합할 수 있는 소 분자의 결합 포켓이 있다.

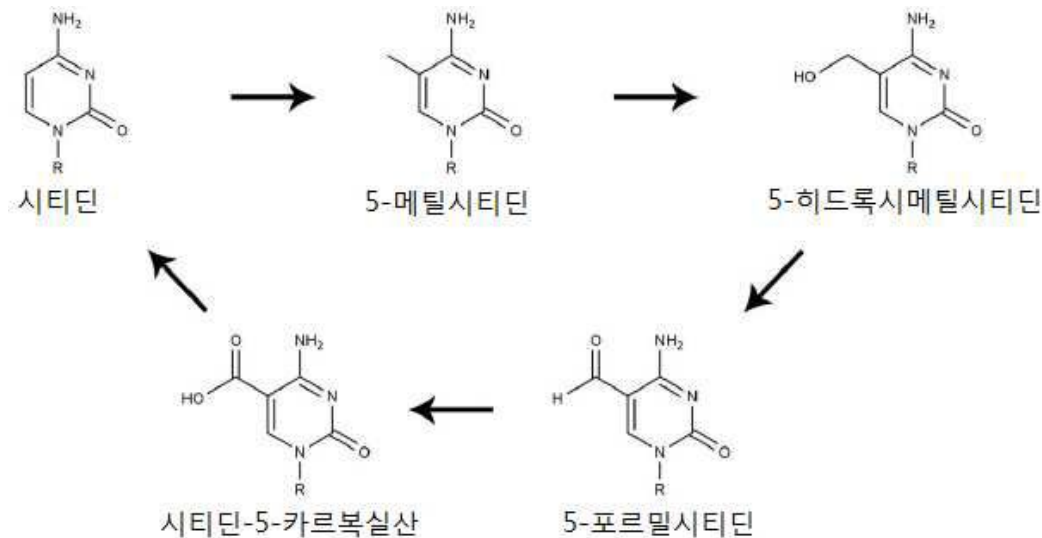
[0071] "결합 부위"란 유전자-에디팅 단백질, DNA-결합 단백질, DNA-결합 도메인 또는 이의 생물학적으로 활성 단편 또는 변종에 의해 인지될 수 있는 핵산 서열, 또는 유전자-에디팅 단백질, DNA-결합 단백질, DNA-결합 도메인 또는 이의 생물학적으로 활성 단편 또는 변종이 높은 친화성을 가진 핵산 서열을 말하며, 비-제한적 예로써, 인간 BIRC5 유전자의 엑손 1에 있는 약 20개 염기 쌍 서열이 있다.

[0072] "표적"이란 결합 부위가 포함된 핵산을 말한다.

[0073] 다른 정의는 U.S. 출원 번호. 13/465,490, U.S. 가출원 번호. 61/664,494, U.S. 가출원 번호. 61/721,302, 국제 출원 번호. PCT/US12/67966, U.S. 가출원 번호. 61/785,404, 및 U.S. 가출원 번호. 61/842,874에서 제시되며, 이의 내용은 이들 전문이 본 명세서의 참고자료에 편입된다.

[0074] 5-메틸시티딘 탈-메틸화 경로의 비-정규 뉴클레오티드 구성원들이 합성 RNA에 통합될 때, 이들 구성원은 합성 RNA가 단백질로 해독될 수 있는 효율을 증가시킬 수 있고, 합성 RNA의 독성을 감소시킬 수 있다는 것이 현재 밝혀졌다. 이들 비-정규 뉴클레오티드는 예를 들면: 5-메틸시티딘, 5-히드록시메틸시티딘, 5-포르밀시티딘, 그리고 5-카르복시시티딘 ("시티딘-5-카르복실산"로도 알려짐)을 포함한다. 따라서, 특정 구체예들은 핵산에 관한 것이다. 한 구체예에 있어서, 이 핵산은 합성 RNA 분자다. 또다른 구체예에 있어서, 이 핵산은 하나 또는 그 이상의 비-정규 뉴클레오티드를 포함한다. 한 구체예에 있어서, 이 핵산은 5-메틸시티딘 탈-메틸화 경로의 하나 또는 그 이상의 비-정규 뉴클레오티드를 포함한다. 또다른 구체예에 있어서, 이 핵산은 5-메틸시티딘, 5-히드록시메틸시티딘, 5-포르밀시티딘, 그리고 5-카르복시시티딘 또는 유도체중 최소한 하나를 포함한다. 추가 구체예에 있어서, 이 핵산은 슈도우리딘, 5-메틸슈도우리딘, 5-메틸우리딘, 5-메틸시티딘, 5-히드록시메틸시티딘, N4-메틸시티딘, N4-아세틸시티딘, 및 7-데자구아노신 또는 이의 유도체 중 최소한 하나를 포함한다.

[0075] 5-메틸시티딘 탈-메틸화 경로



[0076]

[0077] 특정 구체예들은 단백질에 관한 것이다. 다른 구체예들은 단백질을 인코딩하는 핵산에 관한 것이다. 한 구체예에 있어서, 이 단백질이 관심 단백질이다. 또다른 구체예에 있어서, 이 단백질은 재프로그래밍 단백질과 유전자-에디팅 단백질로부터 선택된다. 한 구체예에 있어서, 이 핵산은 플라스미드다. 또다른 구체예에 있어서, 이 핵산은 바이러스 또는 바이러스성 벡터에 존재한다. 추가 구체예에 있어서, 상기 바이러스 또는 바이러스성 벡터는 복제 불능(incompetent)이다. 추가 구체예에 있어서, 상기 바이러스 또는 바이러스성 벡터는 복제 가능(competent)하다. 한 구체예에 있어서, 상기 바이러스 또는 바이러스성 벡터는 다음중 최소한 하나를 포함한다: 아데노바이러스, 레트로바이러스, 렌티바이러스, 헤르페스 바이러스, 아데노-연합된 바이러스 또는 이의 천연 또는 조작된 변종, 그리고 조작된 바이러스.

[0078] 비-정규 뉴클레오티드의 특정 조합, 예를 들면, 5-메틸우리딘과 5-메틸시티딘, 5-메틸우리딘과 7-데자구아노신,

5-메틸시티디딘과 7-테자구아노신, 5-메틸우리딘, 5-메틸시티디딘과 7-테자구아노신, 그리고 5-메틸우리딘, 5-히드록시메틸시티디딘과 7-테자구아노신의 조합은 특히 합성 RNA가 단백질로 해독되는 효율의 증가, 그리고 합성 RNA의 독성의 감소에 특히 효과적일 수 있다는 것이 또한 밝혀졌다. 따라서 특정 구체예들은 5-메틸우리딘, 5-메틸시티디딘, 5-히드록시메틸시티디딘, 그리고 7-테자구아노신 또는 하나 또는 그 이상의 이들 유도체중 최소한 2개를 포함하는 핵산에 관한 것이다. 다른 구체예들은 5-메틸우리딘, 5-메틸시티디딘, 5-히드록시메틸시티디딘, 그리고 7-테자구아노신 또는 하나 또는 그 이상의 이들 유도체중 최소한 3개가 포함된 핵산에 관한 것이다. 다른 구체예들은 5-메틸우리딘, 5-메틸시티디딘, 5-히드록시메틸시티디딘, 그리고 7-테자구아노신 또는 하나 또는 그 이상의 이들 유도체가 모두 포함된 핵산에 관한 것이다. 한 구체예에 있어서, 이 핵산은 하나 또는 그 이상의 5-메틸우리딘 잔기들(residues), 하나 또는 그 이상의 5-메틸시티디딘 잔기들, 그리고 하나 또는 그 이상의 7-테자구아노신 잔기들 또는 하나 또는 그 이상의 5-메틸우리딘 잔기들, 하나 또는 그 이상의 5-히드록시메틸시티디딘 잔기들, 그리고 하나 또는 그 이상의 7-테자구아노신 잔기들을 포함한다.

[0079] 특정 비-정규 뉴클레오티드 및 이의 조합들의 특정 분획들이 포함된 합성 RNA 분자들은 특히 높은 해독 효율과 낮은 독성을 나타낼 수 있는 것으로 추가 밝혀졌다. 따라서, 특정 구체예들은 하나 또는 그 이상의 우리딘 잔기들, 하나 또는 그 이상의 시티딘 잔기들, 그리고 하나 또는 그 이상의 구아노신 잔기들중 최소한 하나가 포함된 핵산, 그리고 하나 또는 그 이상의 비-정규 뉴클레오티드가 포함된 핵산에 관한 것이다. 한 구체예에 있어서, 우리딘 잔기의 약 20% 내지 약 80%는 5-메틸우리딘 잔기들이다. 또다른 구체예에 있어서, 우리딘 잔기의 약 30% 내지 약 50%는 5-메틸우리딘 잔기들이다. 추가 구체예에 있어서, 우리딘 잔기의 약 40%는 5-메틸우리딘 잔기들이다. 한 구체예에 있어서, 시티딘 잔기들의 약 60% 내지 약 80%는 5-메틸시티디딘 잔기들이다. 또다른 구체예에 있어서, 시티딘 잔기들의 약 80% 내지 약 100%는 5-메틸시티디딘 잔기들이다. 추가 구체예에 있어서, 시티딘 잔기들의 약 100%는 5-메틸시티디딘 잔기들이다. 추가 구체예에 있어서, 시티딘 잔기들의 약 20% 내지 약 100%는 5-히드록시메틸시티디딘 잔기들이다. 한 구체예에 있어서, 구아노신 잔기들의 약 20% 내지 약 80%는 7-테자구아노신 잔기들이다. 또다른 구체예에 있어서, 구아노신 잔기들의 약 40% 내지 약 60%는 7-테자구아노신 잔기들이다. 추가 구체예에 있어서, 구아노신 잔기들의 약 50%는 7-테자구아노신 잔기들이다. 한 구체예에 있어서, 시티딘 잔기들의 약 20% 내지 약 80% 또는 약 30% 내지 약 60% 또는 약 40%는 N4-메틸시티디딘 및/또는 N4-아세틸시티디딘 잔기들이다. 또다른 구체예에 있어서, 각 시티딘 잔기는 5-메틸시티디딘 잔기다. 추가 구체예에 있어서, 시티딘 잔기들의 약 100%는 5-메틸시티디딘 잔기들 및/또는 5-히드록시메틸시티디딘 잔기들 및/또는 N4-메틸시티디딘 잔기들 및/또는 N4-아세틸시티디딘 잔기들 및/또는 하나 또는 그 이상의 이들 유도체다. 추가 구체예에 있어서, 우리딘 잔기들의 약 40%는 5-메틸우리딘 잔기들이며, 시티딘 잔기들의 약 20% 내지 약 100%는 N4-메틸시티디딘 및/또는 N4-아세틸시티디딘 잔기들이며, 그리고 구아노신 잔기들의 약 50%는 7-테자구아노신 잔기들이다. 한 구체예에 있어서, 우리딘 잔기의 약 40%는 5-메틸우리딘 잔기들이며, 그리고 시티딘 잔기들의 약 100%는 5-메틸시티디딘 잔기들이다. 또다른 구체예에 있어서, 우리딘 잔기들의 약 40%는 5-메틸우리딘 잔기들이며, 그리고 구아노신 잔기들의 약 50%는 7-테자구아노신 잔기들이다. 추가 구체예에 있어서, 시티딘 잔기들의 약 100%는 5-메틸시티디딘 잔기들이며, 그리고 구아노신 잔기들의 약 50%는 7-테자구아노신 잔기들이다. 한 구체예에 있어서, 우리딘 잔기들의 약 40%는 5-메틸우리딘 잔기들이며, 시티딘 잔기들의 약 100%는 5-메틸시티디딘 잔기들이며, 그리고 구아노신 잔기들의 약 50%는 7-테자구아노신 잔기들이다. 또다른 구체예에 있어서, 우리딘 잔기들의 약 40%는 5-메틸우리딘 잔기들이며, 시티딘 잔기들의 약 20% 내지 약 100%는 5-히드록시메틸시티디딘 잔기들이며, 그리고 구아노신 잔기들의 약 50%는 7-테자구아노신 잔기들이다. 일부 구체예들에 있어서, 시티딘 잔기들의 100% 미만은 5-메틸시티디딘 잔기들이다. 다른 구체예들에 있어서, 시티딘 잔기들의 100% 미만은 5-히드록시메틸시티디딘 잔기들이다. 한 구체예에 있어서, 합성 RNA 분자에서 각 우리딘 잔기는 슈도우리딘 잔기 또는 5-메틸슈도우리딘 잔기다. 또다른 구체예에 있어서, 우리딘 잔기들의 약 100%는 슈도우리딘 잔기들 및/또는 5-메틸슈도우리딘 잔기들이다. 추가 구체예에 있어서, 우리딘 잔기들의 약 100%는 슈도우리딘 잔기들 및/또는 5-메틸슈도우리딘 잔기들이며, 시티딘 잔기들의 약 100%는 5-메틸시티디딘 잔기들이며, 그리고 구아노신 잔기들의 약 50%는 7-테자구아노신 잔기들이다.

[0080] 5-메틸우리딘을 대신하여 또는 이와 조합에 이용될 수 있다는 다른 비-정규 뉴클레오티드는 슈도우리딘과 5-메틸슈도우리딘 (별칭으로 "1-메틸슈도우리딘", 별칭으로 "N1-메틸슈도우리딘") 또는 하나 또는 그 이상의 이들 유도체가 포함되나 이에 한정되지 않는다. 5-메틸시티디딘 및/또는 5-히드록시메틸시티디딘을 대신하여 또는 이와 조합에 이용될 수 있다는 다른 비-정규 뉴클레오티드는 슈도이소시티딘, 5-메틸슈도이소시티딘, 5-히드록시메틸시티디딘, 5-포르밀시티디딘, 5-카복시시티디딘, N4-메틸시티디딘, N4-아세틸시티디딘 또는 하나 또는 그 이상의 이들 유도체가 이 포함되나 이에 한정되지 않는다. 특정 구체예들에 있어서, 예를 들면, 한 번의 트랜스펙션만 실행될 때 또는 트랜스펙션되는 세포가 트랜스펙션-연합된 독성 또는 선천적-면역 신호생성에 특별히 민감하지 않을 때, 비-정규 뉴클레오티드의 분획이 감소될 수 있다. 비-정규 뉴클레오티드의 분획 감소는 비-정규 뉴클레오

티드의 분획 감소가 핵산 비용을 감소시킬 수 있기 때문에 부분적으로 유익할 수 있다. 특정 상황에 있어서, 예를 들면, 이 핵산의 최소 번역원성이 바람직할 경우, 비-정규 뉴클레오티드의 분획이 증가될 수 있다.

[0081] T7 RNA 중합효소와 같은 효소들은 정규 뉴클레오티드와 비-정규 뉴클레오티드 모두가 포함된 시험관-전사 반응에서 정규 뉴클레오티드에 선호적으로 혼입될 수 있다. 그 결과, 비-정규 뉴클레오티드의 특정 분획이 포함된 시험관-전사 반응은 반응에서 비-정규 뉴클레오티드가 존재하는 분획보다 대개 더 낮은, 상이한 비-정규 뉴클레오티드가 포함된 RNA를 생산할 수 있다. 따라서, 특정 구체예들에 있어서, 비록 이러한 반응이 반응에서 비-정규 뉴클레오티드가 존재하는 분획과 상이한 비-정규 뉴클레오티드가 포함된 핵산을 생산할 수 있지만, 뉴클레오티드 혼입 분획 (예를 들면, "50% 5-메틸우리딘")에 대한 언급은 뉴클레오티드의 언급된 분획이 포함된 핵산과, 뉴클레오티드의 언급된 분획이 포함된 반응에서 합성된 핵산 (또는 뉴클레오티드 유도체, 예를 들면, 뉴클레오티드-삼인산염)을 모두 지칭할 수 있다. 또한, 상이한 뉴클레오티드 서열들은 대체(alternative) 코돈을 이용하여 동일한 단백질을 인코딩할 수 있다. 따라서, 특정 구체예들에 있어서, 뉴클레오티드 혼입 분획에 대한 언급은 뉴클레오티드의 언급된 분획이 포함된 핵산과, 상이한 핵산으로써 동일한 단백질을 인코딩하는 핵산을 모두 지칭할 수 있으며, 이때 상이한 핵산은 뉴클레오티드의 언급된 분획을 포함한다.

[0082] 세포의 DNA 서열은 세포에 유전자-에디팅 단백질을 접촉시킴으로써 또는 이 세포가 유전자-에디팅 단백질을 발현시키도록 유도함으로써, 변경될 수 있다. 그러나, 기존의 공개된 유전자-에디팅 단백질은 낮은 결합 효율과 과도한 비적중 활성으로 곤란을 겪었으며, 이러한 것들은 세포의 DNA에 바람직하지 못한 돌연변이를 도입시킬 수 있고, 이때 환자의 세포에서 바람직하지 못한 돌연변이는 암의 발달로 이어질 수 있어, 치료용도에서 이들의 이용이 심각하게 제한된다. StsI 엔도뉴클레아제 절단 도메인 (서열 번호: 1)을 포함하는 유전자-에디팅 단백질은 적중(on-target) 활성이 높으면서도, 기존의 공개된 유전자-에디팅 단백질보다 실질적으로 더 낮은 비적중 활성을 나타낼 수 있다는 것이 현재 밝혀졌다. 다른 신규한 조작된 단백질은 유전자-에디팅 단백질: StsI-HA (서열 번호: 2), StsI-HA2 (서열 번호: 3), StsI-UHA (서열 번호: 4), StsI-UHA2 (서열 번호: 5), StsI-HF (서열 번호: 6), 그리고 StsI-UHF (서열 번호: 7)로 이용될 때 높은 적중 활성, 낮은 비적중 활성, 작은 크기, 용해도 및 다른 바람직한 특징들을 나타낼 수 있는 것으로 밝혀졌다. StsI-HA, StsI-HA2 (높은 활성), StsI-UHA, 그리고 StsI-UHA2 (상당히-높은 활성)는 위치 34와 61에서 N-말단 영역내 특이적 아미노산 치환에 의해 부분적으로 기인하여 야생형 StsI 및 야생형 FokI 둘 모두보다 더 높은 적중 활성을 나타낼 수 있으며, 한편 StsI-HF (높은 충실성)와 StsI-UHF (상당히-높은 충실성)는 위치 141과 152에서 C-말단 영역내 특이적 아미노산 치환에 의해 부분적으로 기인하여 야생형 StsI 및 야생형 FokI 둘 모두보다 더 낮은 비적중 활성을 나타낼 수 있다. 따라서, 특정 구체예들은 뉴클레아제 도메인이 포함된 단백질에 관한 것이다. 한 구체예에 있어서, 상기 뉴클레아제 도메인은 FokI 엔도뉴클레아제의 절단 도메인 (서열 번호: 53), StsI 엔도뉴클레아제의 절단 도메인(서열 번호: 1), StsI-HA (서열 번호: 2), StsI-HA2 (서열 번호: 3), StsI-UHA (서열 번호: 4), StsI-UHA2 (서열 번호: 5), StsI-HF (서열 번호: 6), 그리고 StsI-UHF (서열 번호: 7) 또는 이의 생물학적 활성 단편 또는 변종중 하나 또는 그 이상을 포함한다.

[0083] 특정 신규한 반복 서열들이 포함된 DNA-결합 도메인들이 포함된 조작된 유전자-에디팅 단백질은 높은 수준의 적중 활성을 유지하면서, 기존의 공개된 유전자-에디팅 단백질보다 더 낮은 비적중 활성을 나타낼 수 있다는 것이 또한 밝혀졌다. 이들 조작된 특정 유전자-에디팅 단백질은 기존의 공개된 유전자-에디팅 단백질보다 몇 가지 장점을 제공할 수 있는데, 예를 들면, 반복 서열들을 연결시키는 연결 영역의 유연성, 이는 결합 효율을 증가시킬 수 있다. 따라서, 특정 구체예들은 다수의 반복 서열들이 포함된 단백질에 관한 것이다. 한 구체예에 있어서, 최소한 하나의 반복 서열들은 아미노산 서열: GabG을 포함하며, 여기에서 "a"와 "b" 각각은 임의의 아미노산을 나타낸다. 한 구체예에 있어서, 이 단백질은 유전자-에디팅 단백질이다. 또다른 구체예에 있어서, 반복 서열들중 하나 또는 그 이상은 DNA-결합 도메인 안에 존재한다. 추가 구체예에 있어서, "a"와 "b"는 각각 독립적으로 H와 G 군에서 선택된다. 추가 구체예에 있어서, "a"와 "b"는 차례로 H와 G다. 한 구체예에 있어서, 이 아미노산 서열은 반복 서열의 C-말단의 약 5개 아미노산 이내에 존재한다. 또다른 구체예에 있어서, 이 아미노산 서열은 반복 서열의 C-말단에 존재한다. 일부 구체예들에 있어서, 아미노산 서열 GabG에서 하나 또는 그 이상의 G는 G 이외의 하나 또는 그 이상의 아미노산, 예를 들면 A, H 또는 GG으로 대체된다. 한 구체예에 있어서, 이 반복 서열의 길이는 약 32개 내지 약 40개 아미노산 또는 약 33개 내지 약 39개 아미노산 또는 약 34개 내지 38개 아미노산 또는 약 35개 내지 약 37개 아미노산 또는 약 36개 아미노산 또는 약 32개 이상의 아미노산 또는 약 33개 이상의 아미노산 또는 약 34개 이상의 아미노산 또는 약 35개 이상의 아미노산이다. 다른 구체예들은 하나 또는 그 이상의 전사 활성물질-유사 효과물질 도메인들이 포함된 단백질에 관한 것이다. 한 구체예에 있어서, 전사 활성물질-유사 효과물질 도메인들의 최소한 하나는 반복 서열을 포함한다. 다른 구체예들은 전사 활성물질-유사 효과물질 도메인의 반복 서열중 최소한 2개 사이에 하나 또는 그 이상의 아미노산을 삽입시

켜 생성된 다수의 반복 서열이 포함된 단백질에 관한 것이다. 한 구체예에 있어서, 하나 또는 그 이상의 아미노산은 최소한 하나의 반복 서열의 C-말단으로부터 약 1개 또는 약 2개 또는 약 3개 또는 약 4개 또는 약 5개 아미노산이 삽입된다. 여전히 다른 구체예들은 다수의 반복 서열이 포함된 단백질에 관한 것이며, 이때 대략 모든 다른 반복 서열은 해당 반복 서열의 바로 전 또는 바로 그 다음의 반복 서열과 상이한 길이를 가진다. 한 구체예에 있어서, 모든 다른 반복 서열은 약 36개 아미노산 길이를 가진다. 또다른 구체예에 있어서, 모든 다른 반복 서열은 36개 아미노산 길이를 가진다. 여전히 다른 구체예들은 다수의 반복 서열들이 포함된 단백질에 관한 것이며, 이때 다수의 반복 서열들은 각각 최소한 36개 아미노산 길이를 가진 최소한 2개의 반복 서열을 포함하며, 그리고 최소한 36개 아미노산 길이를 가진 반복 서열의 최소한 2개는 길이가 36개 미만인 최소한 하나의 반복 서열에 의해 분리되어 있다. 일부 구체예들은 예를 들면, 서열 번호: 54, 서열 번호: 55, 서열 번호: 56, 서열 번호: 57, 서열 번호: 58, 서열 번호: 59, 그리고 서열 번호: 60에서 선택된 하나 또는 그 이상의 서열을 포함하는 단백질에 관한 것이다.

[0084] 다른 구체예들은 DNA-결합 도메인이 포함된 단백질에 관한 것이다. 일부 구체예들에 있어서, 상기 DNA-결합 도메인은 다수의 반복 서열들을 포함한다. 한 구체예에 있어서, 다수의 반복 서열들은 표적 DNA 분자내 결합 부위를 높은 특이성으로 인지할 수 있다. 또다른 구체예에 있어서, 반복 서열중 최소한 2개는 서로 최소한 약 50%, 또는 약 60%, 또는 약 70%, 또는 약 80%, 또는 약 90%, 또는 약 95%, 또는 약 98%, 또는 약 99% 상동성을 가진다. 추가 구체예에 있어서, 반복 서열중 최소한 하나는 표적 DNA 분자내 결합 부위에 결합할 수 있는 하나 또는 그 이상의 영역을 포함한다. 추가 구체예에 있어서, 상기 결합 부위는 약 1개 내지 약 5개 염기 길이의 특정된 서열을 포함한다. 한 구체예에 있어서, 상기 DNA-결합 도메인은 아연 핑거를 포함한다. 또다른 구체예에 있어서, 상기 DNA-결합 도메인은 전사 활성물질-유사 효과물질 (TALE)을 포함한다. 추가 구체예에 있어서, 다수의 반복 서열들은 TALE에 대해 최소한 약 50% 또는 약 60% 또는 약 70% 또는 약 80% 또는 약 90% 또는 약 95% 또는 약 98%, 또는 약 99% 상동성을 가진 최소한 한개의 반복 서열을 포함한다. 추가 구체예에 있어서, 상기 유전자-에디팅 단백질은 군집화된 규칙적으로 공간을 두고 있는 짧은 팔린드롬 반복 (CRISPR)-연합된 단백질을 포함한다. 한 구체예에 있어서, 상기 유전자-에디팅 단백질은 핵-국소화(nuclear-localization) 서열을 포함한다. 또다른 구체예에 있어서, 상기 핵-국소화 서열은 아미노산 서열: PKKKRKV를 포함한다. 한 구체예에 있어서, 상기 유전자-에디팅 단백질은 미토콘드리아-국소화(mitochondrial-localization) 서열을 포함한다. 또다른 구체예에 있어서, 상기 미토콘드리아-국소화 서열은 아미노산 서열: LGRVIPRKIASRASLM을 포함한다. 한 구체예에 있어서, 상기 유전자-에디팅 단백질은 링커(linker)를 포함한다. 또다른 구체예에 있어서, 상기 링커는 DNA-결합 도메인을 뉴클리아제 도메인에 연결시킨다. 추가 구체예에 있어서, 상기 링커는 약 1개 내지 약 10개의 아미노산 길이를 가진다. 일부 구체예들에 있어서, 상기 링커는 약 1개, 약 2개, 또는 약 3개, 또는 약 4개, 또는 약 5개, 또는 약 6개, 또는 약 7개, 또는 약 8개, 또는 약 9개, 또는 약 10개 아미노산 길이를 가진다. 한 구체예에 있어서, 상기 유전자-에디팅 단백질은 표적 DNA 분자에서 Nick(nick) 또는 이중-가닥 브레이크를 생성시킬 수 있다.

[0085] 특정 구체예들은 세포의 게놈을 변형시키는 방법에 관한 것이며, 이 방법은 하나 또는 그 이상의 반복 단위 36개 아미노산 길이의 인위적인 전사 활성물질-유사 (TAL) 효과물질 반복 도메인과 엔도뉴클레아제 도메인이 포함된 비-자연적으로 생성되는 융합 단백질이 인코딩된 핵산 분자를 세포 안으로 도입시키는 것을 포함하며, 이때 상기 반복 도메인은 사전결정된 뉴클레오티드 서열의 인지를 위하여 조작되며, 그리고 이때 상기 융합 단백질은 사전결정된 뉴클레오티드 서열을 인지한다. 한 구체예에 있어서, 이 세포는 진핵세포다. 또다른 구체예에 있어서, 이 세포는 동물 세포다. 추가 구체예에 있어서, 이 세포는 포유류 세포다. 추가 구체예에 있어서, 이 세포는 인간 세포다. 한 구체예에 있어서, 이 세포는 식물 세포다. 또다른 구체예에 있어서, 이 세포는 원핵 세포다. 일부 구체예들에 있어서, 이 융합 단백질은 세포의 핵산에서 엔도뉴클레오리틱 절단을 도입시키고, 이로 인하여 세포의 게놈이 변형된다.

[0086] 다른 구체예들은 하나 또는 그 이상의 반복 단위 36개 아미노산 길이와 제한 엔도뉴클레아제 활성이 포함된 인위적인 전사 활성물질-유사 (TAL) 효과물질 반복 도메인이 포함된 비-자연적으로 생성되는 융합 단백질을 인코딩하는 핵산 분자에 관계하는데, 이때 상기 반복 도메인은 사전결정된 뉴클레오티드 서열의 인지를 위하여 조작되며, 이 융합 단백질은 사전결정된 뉴클레오티드 서열을 인지한다. 한 구체예에 있어서, 상기 반복 단위는 단지 약 7개의 아미노산이 상이하다. 또다른 구체예에 있어서, 각 상기 반복 단위는 아미노산 서열: LTPXQVVAIAS을 포함하며 여기에서 X는 E 또는 Q일 수 있으며, 그리고 아미노산 서열: LTPXQVVAIAS는 아데닌, 시토신, 구아닌 또는 티민 중 하나에 대한 인지를 결정하는 하나 또는 2개의 아미노산에 이어진다. 한 구체예에 있어서, 이 핵산은 약 1.5 내지 약 28.5개의 반복 단위를 인코딩한다. 또다른 구체예에 있어서, 이 핵산은 약 11.5, 약 14.5, 약 17.5 또는 약 18.5개의 반복 단위를 인코딩한다. 추가 구체예에 있어서, 상기 사전결정된 뉴클레오티드 서열은 프로모터 영역이다. 일부 구체예들은 핵산 분자 또는 서열이 포함된 벡터에 관한 것이다. 한 구체예

에 있어서, 상기 벡터는 바이러스성 벡터다. 또다른 구체예에 있어서, 상기 바이러스성 벡터는 아데노바이러스, 레트로바이러스, 렌티바이러스, 헤르페스 바이러스, 아데노-연관된 바이러스 또는 이의 천연 또는 조작된 변종, 그리고 조작된 바이러스중 하나 또는 그 이상을 포함한다.

[0087] 특정 구체예들은 사전결정된 뉴클레오티드 서열을 인지하는 제 1 영역과 엔도뉴클레아제 활성을 가진 제 2 영역이 포함된 비-자연적으로 생성되는 융합 단백질질을 인코딩하는 핵산 분자에 관계하는데, 이때 제 1 영역은 단지 7개 아미노산이 서로 상이한, 하나 또는 그 이상의 길이가 약 36개 아미노산의 반복 단위가 포함된 인위적인 TAL 효과물질 반복 도메인을 포함하고, 이때 상기 반복 도메인은 사전결정된 뉴클레오티드 서열의 인지를 위하여 조작된다. 한 구체예에 있어서, 제 1 영역은 아미노산 서열: LTPXQVVAIAS를 포함하고, 여기에서 X는 E 또는 Q일 수 있다. 또다른 구체예에 있어서, 인코딩된 비-자연적으로 생성되는 융합 단백질질의 아미노산 서열 LTPXQVVAIAS는 HD, NG, NS, NI, NN, 및 N에서 선택된 아미노산 서열 바로 다음에 이어진다. 추가 구체예에 있어서, 이 융합 단백질질은 제한 엔도뉴클레아제 활성을 포함한다. 일부 구체예들은 서열 번호: 2, 서열 번호: 3, 서열 번호: 4, 서열 번호: 5, 서열 번호: 6, 서열 번호: 7, 서열 번호: 54, 서열 번호: 55, 서열 번호: 56, 서열 번호: 57, 서열 번호: 58, 서열 번호: 59, 서열 번호: 60에서 선택된 하나 또는 그 이상의 서열들을 포함하는 단백질질을 인코딩하는 핵산 분자에 관한 것이다.

[0088] 한 구체예에 있어서, 상기 반복 서열은 LTPvQVVAIAwxyzHG를 포함하며, 이때 "v"는 D 또는 E이며, "w"는 S 또는 N이며, "x"는 N, H 또는 I이고, "y"는 임의의 아미노산이거나 또는 아미노산이 아니며, 그리고 "z"는 GGRPAALE, GGKQALE, GGKQALETVQRLLPVLCQDHG, GGKQALETVQRLLPVLCQAHG, GKQALETVQRLLPVLCQDHG 또는 GKQALETVQRLLPVLCQAHG이다. 또다른 구체예에 있어서, 상기 반복 서열은 LTPvQVVAIAwxyzHG를 포함하며, 이때 "v"는 D 또는 E이며, "w"는 S 또는 N이며, "x"는 N, H 또는 I이고, "y"는 D, A, I, N, H, K, S, 및 G로부터 선택되며, 그리고 "z"는 GGRPAALE, GGKQALE, GGKQALETVQRLLPVLCQDHG, GGKQALETVQRLLPVLCQAHG, GKQALETVQRLLPVLCQDHG 또는 GKQALETVQRLLPVLCQAHG이다. 여전히 또다른 구체예에서, 상기 반복 서열은 LTPvQVVAIAwxyzHG를 포함하며, 이때 "v"는 D 또는 E이며, "w"는 S 또는 N이며, "x"는 N, H와 I이외의 임의의 아미노산이며, "y"는 임의의 아미노산이거나 또는 아미노산이 아니며, 그리고 "z"는 GGRPAALE, GGKQALE, GGKQALETVQRLLPVLCQDHG, GGKQALETVQRLLPVLCQAHG, GKQALETVQRLLPVLCQDHG 또는 GKQALETVQRLLPVLCQAHG이다. 여전히 또다른 구체예에서, 상기 반복 서열은 LTPvQVVAIAwIyZHG를 포함하며, 이때 "v"는 D 또는 E이며, "w"는 S 또는 N이며, "y"는 G이외의 임의의 아미노산이며, 그리고 "z"는 GGRPAALE, GGKQALE, GGKQALETVQRLLPVLCQDHG, GGKQALETVQRLLPVLCQAHG, GKQALETVQRLLPVLCQDHG 또는 GKQALETVQRLLPVLCQAHG이다. 여전히 또다른 구체예에서, 상기 반복 서열은 LTPvQVVAIAwIaZHG를 포함하며, 이때 "v"는 D 또는 E이며, "w"는 S 또는 N이며, 그리고 "z"는 GGRPAALE, GGKQALE, GGKQALETVQRLLPVLCQDHG, GGKQALETVQRLLPVLCQAHG, GKQALETVQRLLPVLCQDHG 또는 GKQALETVQRLLPVLCQAHG이다. 여전히 또다른 구체예에서, 상기 반복 서열은 LTPvQVVAIAwxyzHG를 포함하며, 이때 "v"는 D 또는 E이며, "w"는 S 또는 N이며, "x"는 S, T 또는 Q이며, "y"는 임의의 아미노산이거나 또는 아미노산이 아니며, 그리고 "z"는 GGRPAALE, GGKQALE, GGKQALETVQRLLPVLCQDHG, GGKQALETVQRLLPVLCQAHG, GKQALETVQRLLPVLCQDHG 또는 GKQALETVQRLLPVLCQAHG이다. 여전히 또다른 구체예에서, 상기 반복 서열은 LTPvQVVAIAwxyzHG를 포함하며, 이때 "v"는 D 또는 E이며, "w"는 S 또는 N이며, "x"는 S, T 또는 Q이며, "y"는 D, A, I, N, H, K, S, 및 G로부터 선택되며, 그리고 "z"는 GGRPAALE, GGKQALE, GGKQALETVQRLLPVLCQDHG, GGKQALETVQRLLPVLCQAHG, GKQALETVQRLLPVLCQDHG 또는 GKQALETVQRLLPVLCQAHG이다. 여전히 또다른 구체예에서, 상기 반복 서열은 LTPvQVVAIAwX를 포함하며, 이때 "v"는 D 또는 E이며, "w"는 S 또는 N이며, 그리고 "x"는 S, T 또는 Q이다. 여전히 또다른 구체예에서, 상기 반복 서열은 LTPvQVVAIAwxy를 포함하며, 이때 "v"는 D 또는 E이며, "w"는 S 또는 N이며, "x"는 S, T 또는 Q이고, 그리고 "y"는 D, A, I, N, H, K, S, 및 G로부터 선택된다. 여전히 또다른 구체예에서, 상기 반복 서열은 LTPvQVVAIAwxyzGHGG를 포함하며, 이때 "v"는 Q, D 또는 E이며, "w"는 S 또는 N이며, "x"는 N, H 또는 I이며, "y"는 임의의 아미노산이거나 또는 아미노산이 아니며, 그리고 "z"는 GGRPAALE, GGKQALE, GGKQALETVQRLLPVLCQD, GGKQALETVQRLLPVLCQA, GKQALETVQRLLPVLCQD 또는 GKQALETVQRLLPVLCQA이다. 여전히 또다른 구체예에서, 상기 반복 서열은 LTPvQVVAIAwxyzGHGG를 포함하며, 이때 "v"는 Q, D 또는 E이며, "w"는 S 또는 N이며, "x"는 N, H 또는 I이며, "y"는 D, A, I, N, H, K, S, 및 G로부터 선택되며, 그리고 "z"는 GGRPAALE, GGKQALE, GGKQALETVQRLLPVLCQD, GGKQALETVQRLLPVLCQA, GKQALETVQRLLPVLCQD 또는 GKQALETVQRLLPVLCQA이다. 여전히 또다른 구체예에서, 상기 반복 서열은 LTPvQVVAIAwxyzGHGG를 포함하고, 이때 "v"는 Q, D 또는 E이며, "w"는 S 또는 N이고, "x"는 N, H 및 I이외의 임의의 아미노산이며, "y"는 임의의 아미노산이거나 또는 아미노산이 아니며, 그리고 "z"는 GGRPAALE, GGKQALE, GGKQALETVQRLLPVLCQD, GGKQALETVQRLLPVLCQA, GKQALETVQRLLPVLCQD 또는 GKQALETVQRLLPVLCQA이다. 여전히 또다른 구체예에서, 상기 반복 서열은

LTPvQVVAIAwIyzGHGG를 포함하며, 이때 "v"는 Q, D 또는 E이며, "w"는 S 또는 N이며, "y"는 G이외의 임의의 아미노산이며, 그리고 "z"는 GGRPAALE, GGGKAALE, GGGKAALETVQRLLPVLCQD, GGGKAALETVQRLLPVLCQA, GGGKAALETVQRLLPVLCQD 또는 GGGKAALETVQRLLPVLCQA이다. 여전히 또다른 구체예에서, 상기 반복 서열은 LTPvQVVAIAwIAzGHGG를 포함하고, 이때 "v"는 Q, D 또는 E이며, "w"는 S 또는 N이고, 그리고 "z"는 GGRPAALE, GGGKAALE, GGGKAALETVQRLLPVLCQD, GGGKAALETVQRLLPVLCQA, GGGKAALETVQRLLPVLCQD 또는 GGGKAALETVQRLLPVLCQA이다. 여전히 또다른 구체예에서, 상기 반복 서열은 LTPvQVVAIAwxyzGHGG를 포함하고, 이때 "v"는 Q, D 또는 E이며, "w"는 S 또는 N이며, "x"는 S, T 또는 Q이며, "y"는 임의의 아미노산이거나 또는 아미노산이 아니며, 그리고 "z"는 GGRPAALE, GGGKAALE, GGGKAALETVQRLLPVLCQD, GGGKAALETVQRLLPVLCQA, GGGKAALETVQRLLPVLCQD 또는 GGGKAALETVQRLLPVLCQA이다. 여전히 또다른 구체예에서, 상기 반복 서열은 LTPvQVVAIAwxyzGHGG를 포함하고, 이때 "v"는 Q, D 또는 E이며, "w"는 S 또는 N이며, "x"는 S, T 또는 Q이고, "y"는 D, A, I, N, H, K, S, 및 G로부터 선택되고, 그리고 "z"는 GGRPAALE, GGGKAALE, GGGKAALETVQRLLPVLCQD, GGGKAALETVQRLLPVLCQA, GGGKAALETVQRLLPVLCQD 또는 GGGKAALETVQRLLPVLCQA이다. 여전히 또다른 구체예에서, 상기 반복 서열은 LTPvQVVAIAwx를 포함하고, 이때 "v"는 Q, D 또는 E이며, "w"는 S 또는 N이며, 그리고 "x"는 S, T 또는 Q이다. 여전히 또다른 구체예에서, 상기 반복 서열은 LTPvQVVAIAwxy를 포함하며, 이때 "v"는 Q, D 또는 E이고, "w"는 S 또는 N이며, "x"는 S, T 또는 Q이고, 그리고 "y"는 D, A, I, N, H, K, S, 및 G로부터 선택된다.

[0089] N-말단에서 절두된 단편들, C-말단에서 절두된 단편들, 내부 결손을 보유한 단편들, 그리고 N-말단, C-말단, 및 /또는 내부 결손이 복합된 단편들이 포함된 엔도뉴클레아제 절단 도메인의 특정 단편들은 온전한 엔도뉴클레아제 절단 도메인의 촉매 활성의 전부 또는 일부를 유지시킬 수 있다. 온전한 도메인의 촉매 활성의 일부 또는 전부를 유지시킬 수 있는지에 대한 결정은 예를 들면, 본 발명의 방법들에 따라 단편이 포함된 유전자-에디팅 단백질들을 합성하고, 본 발명의 방법에 따라 상기 유전자-에디팅 단백질을 발현시킬 수 있도록 세포를 유도하고, 그리고 유전자 에디팅의 효율을 측정함으로써 실행될 수 있다. 이 방식에서, 유전자-에디팅 효율의 측정을 이용하여 온전한 엔도뉴클레아제 절단 도메인의 촉매 활성의 일부 또는 전부를 유지시킬 수 있는지를 확인할 수 있다. 따라서, 특정 구체예들은 엔도뉴클레아제 절단 도메인의 생물학적 활성 단편에 관한 것이다. 한 구체예에 있어서, 상기 엔도뉴클레아제 절단 도메인은 FokI, StsI, StsI-HA, StsI-HA2, StsI-UHA, StsI-UHA2, StsI-HF, 및 StsI-UHF 또는 천연 또는 조작된 이의 변종 또는 생물학적으로 활성 단편으로부터 선택된다.

[0090] N-말단에서 절두된 단편들, C-말단에서 절두된 단편들, 내부 결손을 보유한 단편들, 그리고 N-말단, C-말단, 및 /또는 내부 결손이 복합된 단편들이 포함된, DNA-결합 도메인 또는 반복 서열의 특정 단편들은 온전한 DNA-결합 도메인 또는 반복 서열의 결합 활성의 일부 또는 전부를 유지시킬 수 있다. 온전한 반복 서열의 결합 활성의 일부 또는 전부를 유지시킬 수 있는 DNA-결합 도메인들 또는 반복 서열들 단편의 예로는 랄스토니아 솔라나세아룸 (*Ralstonia solanacearum*) TALE-유사 단백질 (RTLs)을 포함한다. 온전한 DNA-결합 도메인 또는 반복 서열의 결합 활성의 일부 또는 전부를 유지시킬 수 있는지에 대한 결정은 예를 들면, 본 발명의 방법들에 따라 단편이 포함된 유전자-에디팅 단백질을 합성하고, 본 발명의 방법에 따라 상기 유전자-에디팅 단백질을 발현시킬 수 있도록 세포를 유도하고, 그리고 유전자 에디팅의 효율을 측정함으로써 실행될 수 있다. 이 방식에서, 유전자-에디팅 효율의 측정을 이용하여 온전한 DNA-결합 도메인 또는 반복 서열의 결합 활성의 일부 또는 전부를 유지시킬 수 있는지를 확인할 수 있다. 따라서, 특정 구체예들은 DNA-결합 도메인 또는 반복 서열의 생물학적으로 활성 단편에 관한 것이다. 한 구체예에 있어서, 상기 단편은 랄스토니아 솔라나세아룸 (*Ralstonia solanacearum*) TALE-유사 단백질 또는 이의 생물학적으로 활성 단편을 인코딩하는 서열을 포함한다.

[0091] 특정 구체예들은 핵산이 포함된 세포의 DNA 서열을 변경시키는 조성물에 관한 것이며, 이때 이 핵산은 유전자-에디팅 단백질을 인코딩한다. 다른 구체예들은 핵산 혼합물이 포함된 세포의 DNA 서열을 변경시키는 조성물에 관한 것이며, 이때 상기 핵산 혼합물은 제 1 유전자-에디팅 단백질을 인코딩하는 제 1 핵산과, 제 2 유전자-에디팅 단백질을 인코딩하는 제 2 핵산을 포함한다. 한 구체예에 있어서, 제 1 유전자-에디팅 단백질의 결합 부위와 제 2 유전자-에디팅 단백질의 결합 부위는 동일한 표적 DNA 분자에 존재한다. 또다른 구체예에 있어서, 제 1 유전자-에디팅 단백질의 결합 부위와 제 2 유전자-에디팅 단백질의 결합 부위는 약 50개 미만의 염기, 또는 약 40개 미만의 염기, 또는 약 30개 미만의 염기 또는 약 20개 미만의 염기, 또는 약 10개 미만의 염기, 또는 약 10개 내지 약 25개의 염기 또는 약 15개 염기에 의해 분리된다. 한 구체예에 있어서, 제 1 유전자-에디팅 단백질의 뉴클레아제 도메인과 제 2 유전자-에디팅 단백질의 뉴클레아제 도메인은 이합체(dimer)를 형성할 수 있다. 또다른 구체예에 있어서, 상기 이합체는 표적 DNA 분자에서 Nick 또는 이중-가닥 브레이크를 만들 수 있다. 한 구체예에 있어서, 상기 조성물은 치료요법적 조성물이다. 또다른 구체예에 있어서, 상기 조성물은 복구 주형을 포함한다. 추가 구체예에 있어서, 상기 복구 주형은 단일-가닥으로 된 DNA 분자 또는 이중-가닥으로 된 DNA 분자

다.

[0092] 다른 구체예들은 단백질 또는 단백질을 인코딩하는 핵산을 합성하는 제조 물품에 관한 것이다. 한 구체예에 있어서, 상기 물품은 핵산이다. 또다른 구체예에 있어서, 이 단백질은 DNA-결합 도메인을 포함한다. 추가 구체예에 있어서, 이 핵산은 DNA-결합 도메인을 인코딩하는 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 한 구체예에 있어서, 이 단백질은 뉴클라아제 도메인을 포함한다. 또다른 구체예에 있어서, 이 핵산은 뉴클라아제 도메인을 인코딩하는 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 한 구체예에 있어서, 이 단백질은 다수의 반복 서열들을 포함한다. 또다른 구체예에 있어서, 이 핵산은 다수의 반복 서열들을 인코딩한다. 추가 구체예에 있어서, 상기 뉴클라아제 도메인은 FokI, StsI, StsI-HA, StsI-HA2, StsI-UHA, StsI-UHA2, StsI-HF, 및 StsI-UHF 또는 천연 또는 조작된 변종 또는 이의 생물학적으로 활성 단편에서 선택된다. 한 구체예에 있어서, 이 핵산은 RNA-중합효소 프로모터를 포함한다. 또다른 구체예에 있어서, 상기 RNA-중합효소 프로모터는 T7 프로모터 또는 SP6 프로모터다. 추가 구체예에 있어서, 이 핵산은 바이러스성 프로모터를 포함한다. 한 구체예에 있어서, 이 핵산은 해독안된 영역을 포함한다. 또다른 구체예에 있어서, 이 핵산은 시험관-전사 주형이다.

[0093] 특정 구체예들은 단백질을 발현시키기 위하여 세포를 유도하는 방법에 관한 것이다. 다른 구체예들은 세포의 DNA 서열을 변경시키는 방법에 관한 것으로, 이 세포에 유전자-에디팅 단백질을 트랜스펙션시키거나 또는 유전자-에디팅 단백질을 발현시키도록 이 세포를 유도하는 것을 포함한다. 여전히 다른 구체예들은 세포내 관심 단백질의 발현을 감소시키는 방법에 관한 것이다. 한 구체예에 있어서, 상기 세포는 유전자-에디팅 단백질을 발현시키기 위하여 유도되고, 이때 상기 유전자-에디팅 단백질은 표적 DNA 분자에서 Nick 또는 이중-가닥 브레이크를 만들 수 있다. 또다른 구체예에 있어서, 상기 Nick 또는 이중-가닥 브레이크로 인하여 유전자가 비활성화된다. 여전히 다른 구체예들은 단백질의 비활성, 감소된-활성 또는 우성-음성 형태를 만드는 방법에 관한 것이다. 한 구체예에 있어서, 이 단백질은 셀바이빈(survivin)이다. 여전히 다른 구체예들은 세포 안에서 하나 또는 그 이상의 돌연변이를 복구시키는 방법에 관한 것이다. 한 구체예에 있어서, 상기 세포는 복구 주형과 접촉된다. 또다른 구체예에 있어서, 상기 복구 주형은 DNA 분자다. 추가 구체예에 있어서, 상기 복구 주형은 상기 유전자-에디팅 단백질의 결합 부위를 포함하지 않는다. 추가 구체예에 있어서, 상기 복구 주형은 상기 유전자-에디팅 단백질의 결합 부위를 포함하는 DNA 서열에 의해 인코딩된 아미노산 서열을 인코딩한다.

[0094] 다른 구체예들은 환자의 치료 방법에 관한 것으로, 이 환자에게 치료요법적으로 유효량의 단백질 또는 단백질을 인코딩하는 핵산을 투여하는 것을 포함한다. 한 구체예에 있어서, 상기 치료로 인하여 하나 또는 그 이상의 환자의 증상이 개선된다. 특정 구체예들은 환자를 치료하는 방법에 관한 것으로, 이 방법은 다음을 포함한다: a. 환자로부터 세포를 제거하고, b. 유전자-에디팅 단백질이 인코딩된 핵산을 상기 세포에 트랜스펙션시킴으로써, 상기 세포가 유전자-에디팅 단백질을 발현시키도록 유도되며, c. 세포는 재프로그래밍되고, 그리고 e. 상기 세포는 환자 안으로 도입된다. 한 구체예에 있어서, 상기 세포는 털 분화된 상태로 재프로그래밍된다. 또다른 구체예에 있어서, 상기 세포는 하나 또는 그 이상의 재프로그래밍 단백질을 인코딩하는 하나 또는 그 이상의 합성 RNA 분자들을 상기 세포에 트랜스펙션시킴으로써, 재프로그래밍된다. 추가 구체예에 있어서, 상기 세포는 분화된다. 추가 구체예에 있어서, 상기 세포는 다음중 하나로 분화된다: 피부 세포, 포도당-반응성 인슐린-생산 세포, 조혈 세포, 심장 세포, 망막 세포, 신장 세포, 신경 세포, 간질 세포, 지방 세포, 골 세포, 근 세포, 난모세포, 그리고 정자 세포. 다른 구체예들은 환자를 치료하는 방법에 관한 것으로, 이 방법은 다음을 포함한다: a. 환자로부터 조혈 세포 또는 줄기 세포를 제거하고, b. 유전자-에디팅 단백질이 인코딩된 핵산을 상기 세포에 트랜스펙션시킴으로써, 상기 세포가 유전자-에디팅 단백질을 발현시키도록 유도되며, 그리고 c. 상기 세포는 환자 안으로 도입된다.

[0095] DMEM/F12, 아스코르브산, 인슐린, 트란스페린, 셀레나이트 나트륨, 에탄올아민, 염기성 섬유아세포 성장 인자, 그리고 형질변환 성장 인자-베타로 필수적으로 구성된 또는 이들을 포함하는 세포-배양 배지는 시험관에서 인간 다능성 줄기 세포들이 포함된 다능성 줄기 세포들을 유지시키는데 충분하다는 것이 현재 밝혀졌다. 따라서, 특정 구체예들은 DMEM/F12, 아스코르브산, 인슐린, 트란스페린, 셀레나이트 나트륨, 에탄올아민, 염기성 섬유아세포 성장 인자, 그리고 형질변환 성장 인자-베타로 필수적으로 구성되는 또는 이를 포함하는 세포-배양 배지에 관한 것이다. 한 구체예에 있어서, 상기 아스코르브산은 약 50 µg/mL로 존재한다. 또다른 구체예에 있어서, 상기 인슐린은 약 10 µg/mL로 존재한다. 추가 구체예에 있어서, 상기 트란스페린은 약 5.5 µg/mL로 존재한다. 추가 구체예에 있어서, 상기 셀레나이트 나트륨은 약 6.7ng/mL로 존재한다. 추가 구체예에 있어서, 상기 에탄올아민은 약 2 µg/mL로 존재한다. 추가 구체예에 있어서, 상기 염기성 섬유아세포 성장 인자는 약 20ng/mL로 존재한다. 추가 구체예에 있어서, 상기 형질변환 성장 인자-베타는 약 2ng/mL로 존재한다. 한 구체예에 있어서, 상기 아스코르브산은 아스코르브산-2-인산염이다. 또다른 구체예에 있어서, 상기 형질변환 성장 인자-베타는 형질변

환 성장 인자-베타 1 또는 형질변환 성장 인자-베타 3이다. 한 구체예에 있어서, 상기 세포-배양 배지는 다능성 줄기 세포들의 배양에 이용된다. 또다른 구체예에 있어서, 다능성 줄기 세포들은 인간 다능성 줄기 세포들이다. 추가 구체예에 있어서, 상기 세포-배양 배지는 재프로그래밍하는 동안 또는 그 이후 세포의 배양에 이용된다. 한 구체예에 있어서, 상기 세포-배양 배지는 동물-유도된 성분들을 포함하지 않는다. 또다른 구체예에 있어서, 상기 세포-배양 배지는 제조 표준에 따라 제조된다. 추가 구체예에 있어서, 상기 제조 표준은 GMP다. 한 구체예에 있어서, 상기 세포들은 세포-에드헤신(adhesion) 분자와 접촉된다. 또다른 구체예에 있어서, 상기 세포-에드헤신 분자는 피브로넥틴 그리고 비트로넥틴 또는 이의 생물학적으로 활성 단편으로부터 선택된다. 추가 구체예에 있어서, 상기 세포들은 피브로넥틴과 비트로넥틴에 접촉된다. 추가 구체예에 있어서, 상기 세포-에드헤신 분자는 제조함된 것이다.

[0096] 특정 상황에 있어서, 예를 들면, 치료제를 만들 때, 바이러스 및/또는 기타 동물-유래된 병원균의 오염 위험을 감소시키기 위하여 부분적으로 동물-유도된 성분들을 비-동물-유도된 성분들로 대체시키는 것이 유익할 수 있다. 반-합성 식물-유도된 콜레스테롤이 포함된 합성 콜레스테롤은 트랜스펙션 효율의 감소 또는 트랜스펙션-연관된 독성의 증가 없이, 트랜스펙션 배지에서 동물-유도된 콜레스테롤을 대체할 수 있다는 것이 최근 밝혀졌다. 따라서, 특정 구체예들은 합성 또는 반-합성 콜레스테롤이 포함된 트랜스펙션 배지에 관한 것이다. 한 구체예에 있어서, 상기 반-합성 콜레스테롤은 식물-유도된 것이다. 또다른 구체예에 있어서, 상기 트랜스펙션 배지는 동물-유도된 콜레스테롤을 포함하지 않는다. 추가 구체예에 있어서, 상기 트랜스펙션 배지는 재프로그래밍 배지다. 다른 구체예들은 복합(complexation) 배지에 관한 것이다. 한 구체예에 있어서, 상기 복합 배지는 약 7 이상, 또는 약 7.2 이상, 또는 약 7.4 이상, 또는 약 7.6 이상, 또는 약 7.8 이상, 또는 약 8.0 이상, 또는 약 8.2 이상, 또는 약 8.4 이상, 또는 약 8.6 이상, 또는 약 8.8 이상, 또는 약 9.0 이상의 pH를 가진다. 또다른 구체예에 있어서, 상기 복합 배지는 트란스페린을 포함한다. 추가 구체예에 있어서, 상기 복합 배지는 DMEM을 포함한다. 추가 구체예에 있어서, 상기 복합 배지는 DMEM/F12를 포함한다. 여전히 다른 구체예들은 핵산-트랜스펙션-시약 복합물(complexes)을 만드는 방법에 관한 것이다. 한 구체예에 있어서, 상기 트랜스펙션 시약은 복합 배지와 함께 항온처리된다. 또다른 구체예에 있어서, 상기 항온처리(incubation)는 혼합 단계에 앞서 실행된다. 추가 구체예에 있어서, 상기 항온처리 단계는 약 5 초 내지 약 5 분 사이 또는 약 10 초 내지 약 2 분 사이 또는 약 15 초 내지 약 1 분 사이 또는 약 30 초 내지 약 45 초 간이다. 한 구체예에 있어서, 상기 트랜스펙션 시약은 표 1에서 선택된다. 또다른 구체예에 있어서, 상기 트랜스펙션 시약은 지질 또는 리피도이드(lipidoid)다. 추가 구체예에 있어서, 상기 트랜스펙션 시약은 양이온을 포함한다. 추가 구체예에 있어서, 상기 양이온은 다가(multivalent) 양이온이다. 추가 구체예에 있어서, 상기 트랜스펙션 시약은 N1-[2-((1S)-1-[(3-아미노프로필)아미노]-4-[디(3-아미노-프로필)아미노]부틸카르복사미도)에틸]-3,4-디[올레일옥시]-벤자미드 (별칭으로 MVL5) 또는 이의 유도체다.

[0097] 특정 구체예들은 세포에 핵산을 접촉시켜, 단백질을 발현시키도록 상기 세포를 유도하는 방법에 관한 것이다. 한 구체예에 있어서, 상기 세포는 포유류 세포다. 또다른 구체예에 있어서, 상기 세포는 인간 세포 또는 설치류 세포다. 다른 구체예들은 본 발명의 방법들중 하나 또는 그 이상을 이용하여 만든 세포에 관한 것이다. 한 구체예에 있어서, 상기 세포는 환자에서 존재한다. 또다른 구체예에 있어서, 상기 세포는 환자로부터 단리된다. 다른 구체예들은 본 발명의 방법들중 하나 또는 그 이상을 이용하여 생산된 세포가 포함된 스크리닝 라이브러리(library)에 관한 것이다. 한 구체예에 있어서, 상기 스크리닝 라이브러리는 심독성 스크리닝, 신경독성 스크리닝, 그리고 간독성 스크리닝이 포함된 독성 스크리닝, 효과 스크리닝, 높은-처리량 스크리닝, 높은-함량 스크리닝, 그리고 기타 스크리닝이 포함된 최소한 하나의 스크리닝에 이용된다.

[0098] 다른 구체예들은 핵산이 포함된 키트에 관한 것이다. 한 구체예에 있어서, 상기 키트는 운반 시약 (별칭으로 "트랜스펙션 시약")을 포함한다. 또다른 구체예에 있어서, 상기 키트는 재프로그래밍 키트다. 추가 구체예에 있어서, 상기 키트는 유전자-에디팅 키트다. 다른 구체예들은 핵산을 생산하기 위한 키트에 관한 것이다. 한 구체예에 있어서, 상기 키트는 다음중 최소한 2개를 포함한다: 슈도우리딘-삼인산염, 5-메틸우리딘 삼인산염, 5-메틸시티딘 삼인산염, 5-히드록시메틸시티딘 삼인산염, N4-메틸시티딘 삼인산염, N4-아세틸시티딘 삼인산염, 그리고 7-테자구아노신 삼인산염 또는 하나 또는 그 이상의 이들 유도체. 다른 구체예들은 핵산이 포함된 치료제에 관한 것이다. 한 구체예에 있어서, 상기 치료제는 약학 조성물이다. 또다른 구체예에 있어서, 상기 약학 조성물은 제형화된다(formulated). 추가 구체예에 있어서, 상기 제형(formulation)은 리포솜의 수성 현탁액을 포함한다. 예시적인 리포솜 성분들은 표 1에서 제시되며, 이는 예시를 위하여 제공되는 것이며, 이에 한정시키고자 함은 아니다. 한 구체예에 있어서, 상기 리포솜은 하나 또는 그 이상의 폴리에틸렌 글리콜 (PEG) 쇄를 포함한다. 또다른 구체예에 있어서, 상기 PEG는 PEG2000이다. 추가 구체예에 있어서, 상기 리포솜은 1,2-디스테아로일-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민 (DSPE) 또는 이의 유도체를 포함한다. 한 구체예에 있어서, 상기 치료제는 하나

또는 그 이상의 리간드를 포함한다. 또다른 구체예에 있어서, 상기 치료제는 안드로겐, CD30 (TNFRSF8), 세포-침투 펩티드, CXCR, 에스트로겐, 상피 성장 인자, EGFR, HER2, 엽산, 인슐린, 인슐린-유사 성장 인자-I, 인터루킨-13, 인테그린, 프로그스테론, 간질-유도된-인자-1, 트롬빈, 비타민 D, 그리고 트란스페린 또는 이의 생물학적 활성 단편 또는 변종중 최소한 하나 이상을 포함한다. 여전히 다른 구체예들은 본 발명의 방법들중 하나 또는 그 이상을 이용하여 만든 세포가 포함된 치료제에 관한 것이다. 한 구체예에 있어서, 상기 치료제는 유형 1 당뇨병, 허혈 및 확장심근병이 포함된 심장 질환, 황반 변성, 파킨슨 질환, 낭성섬유증, 겸상 적혈구 빈혈증, 지중해빈혈, 판코니 빈혈, 중증 복합형 면역부전증, 유전성 감각신경병증, 색소성 건피증, 헌팅턴 질환, 근이영양증, 근위축성 측색 경화증, 알츠하이머 질환, 암, 그리고 간염 및 HIV/AIDS가 포함된 감염성 질환중 최소한 하나를 치료하기 위하여 환자에게 투여된다.

표 1

예시적인 생체적합성 지질

1	3β-[N-(N,N'-디메틸아미노에탄)-카르바모일]콜레스테롤 (DC-콜레스테롤)
2	1,2-디올레오일-3-트리메틸암모늄-프로판 (DOTAP / 18:1 TAP)
3	N-(4-카르복시벤질)-N,N'-디메틸-2,3-비스(올레오일옥시)프로판-1-아미늄 (DOBAQ)
4	1,2-디미리스토일-3-트리메틸암모늄-프로판 (14:0 TAP)
5	1,2-디팔미토일-3-트리메틸암모늄-프로판 (16:0 TAP)
6	1,2-스테아로일-3-트리메틸암모늄-프로판 (18:0 TAP)
7	1,2-디올레오일-3-디메틸암모늄-프로판 (DODAP / 18:1 DAP)
8	1,2-디미리스토일-3-디메틸암모늄-프로판 (14:0 DAP)
9	1,2-디팔미토일-3-디메틸암모늄-프로판 (16:0 DAP)
10	1,2-디스테아로일-3-디메틸암모늄-프로판 (18:0 DAP)
11	디메틸디옥타데실암모늄 (18:0 DDAB)
12	1,2-디라우틸-sn-글리세로-3-에틸포스포콜린 (12:0 에틸 PC)
13	1,2-디미리스토일-sn-글리세로-3-에틸포스포콜린 (14:0 에틸 PC)
14	1,2-디미리스토올레오일-sn-글리세로-3-에틸포스포콜린 (14:1 에틸 PC)
15	1,2-디팔미토일-sn-글리세로-3-에틸포스포콜린 (16:0 에틸 PC)
16	1,2-디스테아로일-sn-글리세로-3-에틸포스포콜린 (18:0 에틸 PC)
17	1,2-디올레오일-sn-글리세로-3-에틸포스포콜린 (18:1 에틸 PC)
18	1-팔미토일-2-올레오일-sn-글리세로-3-에틸포스포콜린 (16:1-18:1 에틸 PC)
19	1,2-디-O-옥타데세닐-3-트리메틸암모늄 프로판 (DOTMA)
20	N1-[2-((1S)-1-[(3-아미노프로필)아미노]-4-[디(3-아미노-프로필)아미노]부틸카르복사미도)에틸]-3,4-디[올레일옥시]-벤자미드 (MVL5)
21	2,3-디올레일옥시-N-[2-스페르민 카르복사미드]에틸-N,N'-디메틸-1-프로판암모늄 트리플로오르아세테이트(DOSPA)
22	1,3-디-올레오일옥시-2-(6-카르복시-스페르틸)-프로필아미드 (DOSPER)
23	N-[1-(2,3-디미리스틸옥시)프로필]-N,N'-디메틸-N-(2-히드록시에틸)암모늄 브로마이드 (DMRIE)
24	디옥타데실 아미도글리세릴 스페르민 (DOGS)
25	디올레일 포스파티딜 에탄올아민 (DOPE)

[0099]

[0100]

특정 구체예들은 Cap 0, Cap 1, Cap 2, 그리고 Cap 3 또는 이의 유도체로부터 선택된 5' 캡(cap) 구조가 포함된 핵산에 관한 것이다. 한 구체예에 있어서, 이 핵산은 하나 또는 그 이상의 UTRs을 포함한다. 또다른 구체예에 있어서, 상기 하나 또는 그 이상의 UTRs은 이 핵산의 안정성을 증가시킨다. 추가 구체예에 있어서, 상기 하나 또는 그 이상의 UTRs은 알파-글로빈 또는 베타-글로빈 5' -UTR을 포함한다. 추가 구체예에 있어서, 상기 하나 또는 그 이상의 UTRs은 알파-글로빈 또는 베타-글로빈 3' -UTR을 포함한다. 추가 구체예에 있어서, 상기 합성 RNA 분자는 알파-글로빈 또는 베타-글로빈 5' -UTR과 알파-글로빈 또는 베타-글로빈 3' -UTR을 포함한다. 한 구체예에 있어서, 상기 5' -UTR은 Kozak 콘센수스(consensus) 서열과 실질적으로 동일한 Kozak 서열을 포함한다. 또다른 구체예에 있어서, 이 핵산은 3' -폴리(A) 꼬리를 포함한다. 추가 구체예에 있어서, 상기 3' -폴리(A) 꼬리의 길이는 약 20nt 내지 약 250nt 사이 또는 약 120nt 내지 약 150nt 사이가 된다. 추가 구체예에

있어서, 상기 3'-폴리(A) 꼬리의 길이는 약 20nt, 또는 약 30nt, 또는 약 40nt, 또는 약 50nt, 또는 약 60nt, 또는 약 70nt, 또는 약 80nt, 또는 약 90nt, 또는 약 100nt, 또는 약 110nt, 또는 약 120nt, 또는 약 130nt, 또는 약 140nt, 또는 약 150nt, 또는 약 160nt, 또는 약 170nt, 또는 약 180nt, 또는 약 190nt, 또는 약 200nt, 또는 약 210nt, 또는 약 220nt, 또는 약 230nt, 또는 약 240nt, 또는 약 250nt이다.

[0101] 다른 구체예들은 세포를 재프로그래밍하기 위한 방법에 관한 것이다. 한 구체예에 있어서, 상기 세포는 상기 세포에 하나 또는 그 이상의 핵산을 접촉시킴으로써 재프로그래밍된다. 한 구체예에 있어서, 상기 세포는 Oct4 단백질, Sox2 단백질, Klf4 단백질, c-Myc 단백질, Lin28 단백질 또는 이의 생물학적으로 활성 단편, 변종 또는 유도체중 최소한 하나를 인코딩하는 다수의 핵산에 접촉된다. 또다른 구체예에 있어서, 상기 세포는 Oct4 단백질, Sox2 단백질, Klf4 단백질, 그리고 c-Myc 단백질 또는 하나 또는 그 이상의 생물학적으로 활성 단편들, 이의 변종들 또는 유도체들을 포함하는 다수의 단백질을 인코딩하는 다수의 핵산에 접촉된다. 여전히 다른 구체예들은 세포를 유전자 에디팅하는 방법에 관한 것이다. 한 구체예에 있어서, 상기 세포는 상기 세포에 하나 또는 그 이상의 핵산을 접촉시킴으로써, 유전자-에디트된다.

[0102] 동물 모델은 생물학적 공정의 효과를 연구하는데 관례적으로 이용된다. 특정 상황에 있어서, 예를 들면, 인간 질환을 연구할 때, 변형된 게놈이 포함된 동물 모델은 이러한 동물 모델이 인간 질환 표현형을 더욱 밀접하게 모방할 수 있기 때문에 일부 유익할 수 있다. 따라서, 특정 구체예들은 하나 또는 그 이상의 유전적 변형 (별칭으로 "돌연변이", 별칭으로 "유전자 에디트")이 포함된 유기체를 만드는 방법에 관한 것이다. 한 구체예에 있어서, 상기 하나 또는 그 이상의 유전적 변형은 하나 또는 그 이상의 유전자-에디팅 단백질을 인코딩하는 하나 또는 그 이상의 핵산을 세포에 트랜스펙션시킴으로써 생성된다. 또다른 구체예에 있어서, 상기 하나 또는 그 이상의 핵산은 합성 RNA 분자를 포함한다. 한 구체예에 있어서, 상기 하나 또는 그 이상의 유전자-에디팅 단백질은 아연 핑거 뉴클라아제, TALEN, 군집화된 규칙적으로 공간을 두고 있는 짧은 팔린드롬 반복 (CRISPR)-연관된 단백질, 뉴클라아제, 메가뉴클라아제, 그리고 니카아제(nickase) 또는 이의 생물학적 활성 단편 또는 변종중 최소한 하나를 포함한다. 한 구체예에 있어서, 상기 세포는 다능성 세포다. 또다른 구체예에 있어서, 상기 세포는 배아 줄기 세포다. 추가 구체예에 있어서, 상기 세포는 배아(embryo)다. 추가 구체예에 있어서, 상기 세포는 동물 세포, 식물 세포, 효모 세포, 그리고 박테리아 세포의 구성원이다. 한 구체예에 있어서, 상기 세포는 설치류 세포다. 또다른 구체예에 있어서, 상기 세포는 인간 세포다. 특정 구체예들에 있어서, 상기 세포는 하나 또는 그 이상의 유전자-에디팅 단백질을 인코딩하는 하나 또는 그 이상의 핵산과 하나 또는 그 이상의 복구 주형을 인코딩하는 하나 또는 그 이상의 핵산으로 트랜스펙션된다. 한 구체예에 있어서, 상기 세포는 낭포(blastocyst) 안으로 도입된다. 또다른 구체예에 있어서, 상기 세포는 상상임신 암컷에게 도입된다. 추가 구체예에 있어서, 자손에게 상기 유전적 변형의 준부가 결정된다. 추가 구체예에 있어서, 상기 결정은 직접적 서열화(sequencing)에 의해 이루어진다. 한 구체예에 있어서, 상기 유기체는 가축, 예를 들면, 돼지, 소 등이다. 또다른 구체예에 있어서, 상기 유기체는 애완동물, 예를 들면, 개, 고양이, 물고기 등이 된다.

[0103] 특정 상황에 있어서, 예를 들면, 핵산 서열의 추가에 의해 표적 세포의 게놈이 변형될 때, 무작위 삽입과 연관된 위험을 일부 감소시키기 위하여, 상기 핵산 서열은 안전한-정박(harbor) 위치로 삽입시키는 것이 유익할 수 있다. 따라서, 특정 구체예들은 핵산 서열을 안전한-정박 위치에 삽입시키는 방법에 관한 것이다. 한 구체예에 있어서, 상기 세포는 인간 세포이며, 상기 안전한-정박 위치는 AAVS1 좌(locus)가 된다. 또다른 구체예에 있어서, 상기 세포는 설치류 세포이며, 상기 안전한-정박 위치는 Rosa26 좌가 된다. 한 구체예에 있어서, 상기 세포는 하나 또는 그 이상의 복구 주형을 인코딩하는 하나 또는 그 이상의 핵산에 추가 접촉된다. 다른 구체예들은 세포의 DNA 서열을 변경시키는 키트에 관한 것이다. 한 구체예에 있어서, 상기 세포는 인간 세포이며, 표적 DNA 분자는 AAVS1 좌를 인코딩하는 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 또다른 구체예에 있어서, 상기 세포는 설치류 세포이며, 표적 DNA 분자는 Rosa26 좌를 인코딩하는 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 다른 구체예들은 상기 세포에 하나 또는 그 이상의 유전자-에디팅 단백질을 인코딩하는 하나 또는 그 이상의 핵산과 하나 또는 그 이상의 복구 주형을 인코딩하는 하나 또는 그 이상의 핵산을 접촉시킴으로써, 리포터(reporter) 세포를 만드는 방법에 관한 것이다. 한 구체예에 있어서, 상기 하나 또는 그 이상의 복구 주형은 DNA를 포함한다. 또다른 구체예에 있어서, 상기 하나 또는 그 이상의 복구 주형은 하나 또는 그 이상의 형광 단백질을 인코딩한다. 추가 구체예에 있어서, 상기 하나 또는 그 이상의 복구 주형은 유전자의 프로모터 영역의 최소한 일부를 인코딩한다.

[0104] 특정 상황에 있어서, 예를 들면, 유전자-에디트된 세포들의 라이브러리를 만들 때, 세포 특성화 비용을 일부 줄이기 위하여 유전자 에디팅의 효율을 증가시키는 것이 유익할 수 있다. 유전자-에디팅 효율은 세포에 하나 또는 그 이상의 유전자-에디팅 단백질을 인코딩하는 합성 RNA를 반복적으로 접촉시킴으로써 증가될 수 있다는 것이 현재 밝혀졌다. 따라서, 특정 구체예들은 상기 세포에 하나 또는 그 이상의 유전자-에디팅 단백질을 인코딩하는

하나 이상의 핵산을 반복적으로 접촉시킴으로써 세포를 유전자 에디팅하는 방법에 관한 것이다. 한 구체예에 있어서, 상기 세포는 5일 연속 최소한 두 차례 접촉된다. 또다른 구체예에 있어서, 상기 세포는 약 24 시간 내지 약 48 시간 사이의 간격을 두고 두 차례 접촉된다.

[0105] 암의 경우, 환자에게서 유전적으로 존재하지 않는 특이적 유전적 비정상의 존재로 인하여 악성 세포들이 생존 및 증식할 수 있다. 유전자-에디팅 단백질은 생존과 증식-연합된 경로들을 표적화하는데 이용될 수 있다는 것이 현재 밝혀졌으며, 이러한 방식에 이용될 때, 유전자-에디팅 단백질과 유전자-에디팅 단백질을 인코딩하는 핵산은 잠재적 항암 치료제를 구성할 수 있다. 따라서, 특정 구체예들은 항암 치료제에 관한 것이다. 한 구체예에 있어서, 상기 치료제는 세포의 생존을 저해하고 및/또는 세포의 증식을 막거나, 지연 또는 제한하는 치료요법적 조성물이다. 또다른 구체예에 있어서, 상기 세포는 암 세포다. 추가 구체예에 있어서, 상기 치료제는 하나 또는 그 이상의 유전자-에디팅 단백질 또는 하나 또는 그 이상의 유전자-에디팅 단백질을 인코딩하는 핵산을 포함한다. 추가 구체예에 있어서, 상기 하나 또는 그 이상의 유전자-에디팅 단백질은 상기 세포의 생존 및/또는 증식을 촉진시키는 하나 또는 그 이상의 서열들을 표적으로 한다. 이러한 서열들은 아파토시스 저해제 (IAP) 패밀리의 유전자들이 포함된 아파토시스-관련된 유전자들을 포함하나, 이에 국한되지 않는다 (이를 테면, 표 2 및 U.S. 가출원 번호. 61/721,302의 표 2 참고(이의 내용은 본 명세서에서 참고자료에 편입된다), 이를 테면 BIRC5, 텔로머어(telomere) 유지와 연합된 서열들, 이를 테면 유전자 텔로메라제 역 전사효소 (TERT) 및 텔로메라제 RNA 성분 (TERC), 혈관신생에 영향을 주는 서열을, 이를 테면 유전자 VEGF, 그리고 다음을 포함하는 기타 암-연합된 유전자들: BRAF, BRCA1, BRCA2, CDKN2A, CTNNB1, EGFR, MYC 패밀리를, RAS 패밀리를, PIK3CA, PIK3R1, PKN3, TP53, PTEN, RET, SMAD4, KIT, MET, APC, RB1, VEGF 패밀리를, TNF, 그리고 리보뉴클레오티드 환원효소 패밀리의 유전자들. BIRC5의 유전자-에디팅 단백질 표적 서열들의 예는 표 3과 U.S. 가출원 번호. 61/721,302의 표 3에 제시되며, 이의 내용은 본 명세서에서 참고자료에 편입되고, 그리고 이들은 예시를 위하여 제공된 것이며, 이에 한정되는 것은 아니다. 한 구체예에 있어서, 상기 하나 또는 그 이상의 서열들중 최소 하나는 악성 세포와 비-악성 세포들 모두에 존재한다. 또다른 구체예에 있어서, 상기 하나 또는 그 이상의 서열들중 최소 하나는 악성 세포들 안에서 풍부하다. 추가 구체예에 있어서, 상기 하나 또는 그 이상의 서열들중 최소 하나는 비-악성 세포들 안에서 풍부하다. 한 구체예에 있어서, 상기 치료제 조성물은 하나 또는 그 이상의 복구 주형을 인코딩하는 핵산을 더 포함한다. 또다른 구체예에 있어서, 상기 하나 또는 그 이상의 유전자-에디팅 단백질은 비활성 또는 우성-음성 형태의 단백질을 발현시키도록 세포를 유도한다. 추가 구체예에 있어서, 상기 단백질은 IAP 패밀리의 구성원이다. 추가 구체예에 있어서, 상기 단백질은 설바이빈(survivin)이다.

표 2

아파토시스 저해제(IAP) 유전자의 예시

이름	길이/aa	BIR 도메인	CARD 도메인	RING 도메인
BIRC1 (신경 아파토시스-저해성 단백질)	1,403	3	N	N
BIRC2 (c-IAP1 단백질)	604	3	Y	Y
BIRC3 (c-IAP2 단백질)	618	3	Y	Y
BIRC4 (X-연계된 IAP)	497	3	N	Y
BIRC5 (설바이빈(survivin) 단백질)	142	1	N	N
BIRC6 (BRUCE/아폴론(apollo) 단백질)	4845	1	N	N
BIRC7 (리빈(livin) 단백질)	298	1	N	Y
ILP2 (BIRC4 의 조직-특이적 상동체)	236	1	N	Y

[0106]

표 3

BIRC5의 유전자 에디팅-단백질 표적 서열의 예시

표적	좌	우
UTR	TAAGAGGGCGTGCGCTCCCG	TCAAATCTGGCGGTTAATGG
시작 코돈	TTGGCAGAGGTGGCGGCGGC	TGCCAGGCAGGGGGCAACGT
엑손 1	TTGCCCCCTGCCTGGCAGCC	TTCTTGAATGTAGAGATGCG
엑손 2	TCCACTGCCCCACTGAGAAC	TCCTTGAAGCAGAAGAAACA
엑손 4	TAAAAAGCATTTCGTCGGTT	TTCTTCAAACCTGCTTCTTGA
엑손 5	TTGAGGAAACTGCGGAGAAA	TCCATGGCAGCCAGCTGCTC

[0107]

[0108]

다른 구체예들은 치료요법적으로 유효량의 유전자-에디팅 단백질 또는 하나 또는 그 이상의 유전자-에디팅 단백질을 인코딩하는 핵산을 환자에게 투여하는 것을 포함하는 암을 치료하는 방법에 관한 것이다. 한 구체예에 있어서, 상기 치료에 의해 환자의 암 세포들의 성장이 감소 또는 중지된다. 또다른 구체예에 있어서, 상기 치료에 의해 암의 진행 또는 재발이 지연된다. 한 구체예에 있어서, 상기 표적 DNA 분자는 BIRC5 유전자를 포함한다. 또다른 구체예에 있어서, 상기 표적 DNA 분자는 서열 번호: 12, 서열 번호: 13, 서열 번호: 14, 그리고 서열 번호: 15로부터 선택된 서열을 포함한다. 추가 구체예에 있어서, 다수의 인접(adjacent) 결합 부위는 표 3, 표 4, U.S. 가출원 번호. 61/721,302의 표 3(이의 내용은 본 명세서에서 참고자료에 편입된다), U.S. 가출원 번호. 61/785,404의 표 1(이의 내용은 본 명세서에서 참고자료에 편입된다) 또는 U.S. 가출원 번호. 61/842,874의 표 1(이의 내용은 본 명세서에서 참고자료에 편입된다)에서 열거된 하나 또는 그 이상의 서열에 대하여 최소한 약 50% 또는 최소한 약 60% 또는 최소한 약 70% 또는 최소한 약 80% 또는 최소한 약 90% 또는 최소한 약 95% 또는 최소한 약 98%, 또는 최소한 약 99% 상동성이다. 특정 상황에 있어서, 절두된(truncated) N-말단 도메인을 가진 유전자-에디팅 단백질을 이용하여 결합-부위 서열 상에 제 1-염기-T 제한을 제거할 수 있다. 일부 구체예들에 있어서, 상기 암은 신경아교종이다. 한 구체예에 있어서, 상기 환자는 이미 외과수술 및/또는 방사선요법을 받았거나 및/또는 외과술 및/또는 방사선요법을 동시에 받고 있다. 또다른 구체예에 있어서, 상기 투여는 척추강 내 주사, 두개강 내 주사, 정맥 주사, 관류, 피하 주사, 복막내 주사, 내문(intraportal) 주사, 및 국소 운반중 하나 또는 그 이상의 방법에 의해 이루어진다.

표 4

예시적인 BIRC5 결합 부위

유전자	#	좌	우	공간(Spacing)
BIRC5	1	TGGGTGCCCCGACGTTGCC	TGCGGTGGTCCTTGAGAAAG	14
BIRC5	2	TGGGTGCCCCGACGTTGCC	TAGAGATGCGGTGGTCCTTG	20
BIRC5	3	TGCCCCGACGTTGCCCCCTG	TAGAGATGCGGTGGTCCTTG	16
BIRC5	4	TGCCCCGACGTTGCCCCCTG	TGTAGAGATGCGGTGGTCCTTGCAGGCGCAGCCCTCCAA G	18
BIRC5	5	TCAAGGACCACCGCATCTCT	TCACCCGCTCCGGGGTGCAG	20
BIRC5	6	TCTCTACATTCAAGAACTGG	TCACCCGCTCCGGGGTGCAG	18
BIRC5	7	TCTACATTCAAGAACTGGCC	TCTACCCGCTCCGGGGTGC	20
BIRC5	8	TACATTCAAGAACTGGCCCT	TCACCCGCTCCGGGGTGCAG	16
BIRC5	10	TACATTCAAGAACTGGCCCT	TCTACCCGCTCCGGGGTGC	18
BIRC5	11	TTCAAGAACTGGCCCTTCTT	TCTACCCGCTCCGGGGTGC	14
BIRC5	1	TCCCTTGAGATGGCCGAGG	TGGCTCGTTCTCAGTGGGGC	15
BIRC5	2	TCCCTTGAGATGGCCGAGG	TCTGGCTCGTTCTCAGTGGG	17
BIRC5	3	TGGCCGAGGCTGGCTTCATC	TGGGCCAAGTCTGGCTCGTT TCCTTGAAGCAGAAGAAAC A	18
BIRC5	5	TGCCCCACTGAGAACGAGC C	TCCAGCTCCTTGAAGCAGAA	19
BIRC5	6	TGCCCCACTGAGAACGAGC C	TTCCAGCTCCTTGAAGCAGA	20
BIRC5	7	TTGGCCAGTGTTTCTTCTG	TCGTCACTGGCTCCCAGCC	16
BIRC5	8	TGGCCAGTGTTTCTTCTGC	TCGTCACTGGCTCCCAGCC	15
BIRC5	9	TGGCCAGTGTTTCTTCTGC	TGGGGTCGTCACTGGCTCC	20
BIRC5	10	TGTTTCTTCTGCTTCAAGGA	TACATGGGGTCGTCACTGG	16
BIRC5	11	TGTTTCTTCTGCTTCAAGGA	TTACATGGGGTCGTCACTG	17
BIRC5	12	TTTCTTCTGCTTCAAGGAGC	TACATGGGGTCGTCACTGG	14
BIRC5	13	TTTCTTCTGCTTCAAGGAGC	TTACATGGGGTCGTCACTG	15
BIRC5	14	TTCTTCTGCTTCAAGGAGCT	TTACATGGGGTCGTCACTG TGACAGAAAGGAAAGCGCA A	14
BIRC5	1	TTTTCTAGAGAGGAACATAA	TTGACAGAAAGGAAAGCGC A	15
BIRC5	2	TTTTCTAGAGAGGAACATAA	TCTTGACAGAAAGGAAAGC G	16
BIRC5	3	TTTTCTAGAGAGGAACATAA		18

[0109]

BIRC5	4	TAGAGAGGAACATAAAAAAG C	TGCTTCTTGACAGAAAGGAA	17
BIRC5	5	TAAAAAGCATTGTCGGTT	TCTTCAAAGTCTTCTTGAC	14
BIRC5	6	TAAAAAGCATTGTCGGTT	TTCTCAAAGTCTTCTTGA	15
BIRC5	7	TAAAAAGCATTGTCGGTT	TAATTCTCAAAGTCTTCT	18
BIRC5	8	TAAAAAGCATTGTCGGTT	TTAATTCTCAAAGTCTTC	19
BIRC5	9	TTCGTCCGGTTGCGCTTCC	TCACCAAGGGTTAATTCTTC	20
BIRC5	10	TCGTCCGGTTGCGCTTCC	TCACCAAGGGTTAATTCTTC	19
BIRC5	11	TCGTCCGGTTGCGCTTCC	TTCACCAAGGGTTAATTCTT	20
BIRC5	12	TCCGGTTGCGCTTTCCTTC	TCACCAAGGGTTAATTCTTC	16
BIRC5	13	TCCGGTTGCGCTTTCCTTC	TTCACCAAGGGTTAATTCTT	17
BIRC5	14	TTGCGCTTTCCTTCTGTCA	TCAAAAATTCACCAAGGGTT	19
BIRC5	15	TTGCGCTTTCCTTCTGTCA	TTCAAAAATTCACCAAGGGT	20
BIRC5	16	TGCGCTTTCCTTCTGTCAA	TCAAAAATTCACCAAGGGTT	18
BIRC5	17	TGCGCTTTCCTTCTGTCAA	TTCAAAAATTCACCAAGGGT	19
BIRC5	18	TGCGCTTTCCTTCTGTCAA	TTTCAAAAATTCACCAAGGG	20
BIRC5	19	TTTCCTTCTGTCAAGAAGC	TTCAAAAATTCACCAAGGGT	14
BIRC5	20	TTTCCTTCTGTCAAGAAGC	TTTCAAAAATTCACCAAGGG	15
BIRC5	21	TTTCCTTCTGTCAAGAAGC	TCCAGTTTCAAAAATTCACC	20
BIRC5	22	TTTCCTTCTGTCAAGAAGCA	TTTCAAAAATTCACCAAGGG	14
BIRC5	23	TTTCCTTCTGTCAAGAAGCA	TCCAGTTTCAAAAATTCACC	19
BIRC5	24	TCCTTCTGTCAAGAAGCAG	TCCAGTTTCAAAAATTCACC	18
BIRC5	25	TCCTTCTGTCAAGAAGCAG	TGTCCAGTTTCAAAAATTC	20
BIRC5	26	TTTCTGTCAAGAAGCAGTTT	TCCAGTTTCAAAAATTCACC	15
BIRC5	27	TTTCTGTCAAGAAGCAGTTT	TGTCCAGTTTCAAAAATTC	17
BIRC5	28	TTTCTGTCAAGAAGCAGTTT	TCTGTCCAGTTTCAAAAATT	19
BIRC5	29	TTCTGTCAAGAAGCAGTTTG	TCCAGTTTCAAAAATTCACC	14
BIRC5	30	TTCTGTCAAGAAGCAGTTTG	TGTCCAGTTTCAAAAATTC	16
BIRC5	31	TTCTGTCAAGAAGCAGTTTG	TCTGTCCAGTTTCAAAAATT	18

[0110]

BIRC5	3 2	TTCTGTCAAGAAGCAGTTTG	TCTCTGTCCAGTTTCAAAAA	20
BIRC5	3 3	TCTGTCAAGAAGCAGTTTGA	TGTCCAGTTTCAAAAATTCA	15
BIRC5	3 4	TCTGTCAAGAAGCAGTTTGA	TCTGTCCAGTTTCAAAAATT	17
BIRC5	3 5	TCTGTCAAGAAGCAGTTTGA	TCTCTGTCCAGTTTCAAAAA	19
BIRC5	3 6	TCTGTCAAGAAGCAGTTTGA	TTCTCTGTCCAGTTTCAAAA	20
BIRC5	3 7	TGTCAAGAAGCAGTTTGAA G	TCTGTCCAGTTTCAAAAATT	15
BIRC5	3 8	TGTCAAGAAGCAGTTTGAA G	TCTCTGTCCAGTTTCAAAAA	17
BIRC5	3 9	TGTCAAGAAGCAGTTTGAA G	TTCTCTGTCCAGTTTCAAAA	18
BIRC5	4 0	TGTCAAGAAGCAGTTTGAA G	TTTCTCTGTCCAGTTTCAAAA	19
BIRC5	4 1	TCAAGAAGCAGTTTGAAGA A	TCTCTGTCCAGTTTCAAAAA	15
BIRC5	4 2	TCAAGAAGCAGTTTGAAGA A	TTCTCTGTCCAGTTTCAAAA	16
BIRC5	4 3	TCAAGAAGCAGTTTGAAGA A	TTTCTCTGTCCAGTTTCAAAA	17
BIRC5	4 4	TTTGAAGAATTAACCCTTGG	TCTTGGCTCTTTCTCTGTCC	15
BIRC5	4 5	TTGAAGAATTAACCCTTGGT	TCTTGGCTCTTTCTCTGTCC	14
BIRC5	4 6	TTGAAGAATTAACCCTTGGT	TTCTTGGCTCTTTCTCTGTC	15
BIRC5	4 7	TGAAGAATTAACCCTTGGTG	TTCTTGGCTCTTTCTCTGTC	14
BIRC5	4 8	TGAAGAATTAACCCTTGGTG	TGTCTTGGCTCTTTCTCTG	16
BIRC5	4 9	TTAACCCCTTGGTGAATTTT	TACAATTTTGTCTTGGCTC	17
BIRC5	5 0	TAACCCTTGGTGAATTTTGG	TACAATTTTGTCTTGGCTC	16
BIRC5	5 1	TAACCCTTGGTGAATTTTGG	TACATACAATTTTGTCTTGG	20
BIRC5	5 2	TTGGTGAATTTTGAAGCTG	TACATACAATTTTGTCTTGG	14
BIRC5	1 A	TTATTTCCAGGCAAAGGAA A	TCCGCAGTTTCCCTCAAATTC	17
BIRC5	2 A	TTATTTCCAGGCAAAGGAA A	TCTCCGCAGTTTCCCTCAAAT	19
BIRC5	3 A	TTATTTCCAGGCAAAGGAA A	TTCTCCGCAGTTTCCCTCAAAA	20
BIRC5	4 C	TATTTCCAGGCAAAGGAAA C	TCCGCAGTTTCCCTCAAATTC	16
BIRC5	5 C	TATTTCCAGGCAAAGGAAA C	TCTCCGCAGTTTCCCTCAAAT	18
BIRC5	6 C	TATTTCCAGGCAAAGGAAA C	TTCTCCGCAGTTTCCCTCAAAA	19

[0111]

		C		
BIRC5	7	TATTTCCAGGCAAAGGAAA C	TTTCTCCGCAGTTTCCTCAA	20
BIRC5	8	TCCAGGCAAAGGAAACCAA C	TCTCCGCAGTTTCCTCAAAT	14
BIRC5	9	TCCAGGCAAAGGAAACCAA C	TTTCTCCGCAGTTTCCTCAA	15
BIRC5	10	TCCAGGCAAAGGAAACCAA C	TTTCTCCGCAGTTTCCTCAA	16
BIRC5	11	TTTGAGGAAACTGCGGAGA A	TCCATGGCAGCCAGCTGCTC	16
BIRC5	12	TTTGAGGAAACTGCGGAGA A	TCAATCCATGGCAGCCAGCT	20
BIRC5	13	TTGAGGAAACTGCGGAGAA A	TCCATGGCAGCCAGCTGCTC	15
BIRC5	14	TTGAGGAAACTGCGGAGAA A	TCAATCCATGGCAGCCAGCT	19
BIRC5	15	TGAGGAAACTGCGGAGAAA G	TCCATGGCAGCCAGCTGCTC	14
BIRC5	16	TGAGGAAACTGCGGAGAAA G	TCAATCCATGGCAGCCAGCT	18

[0112]

[0113]

특정 구체예들은 다음을 포함하는 암을 치료하는 방법에 관한 것이다: a. 환자로부터 하나 또는 그 이상의 암 세포들이 포함된 생검을 제거하고, b. 상기 하나 또는 그 이상의 암 세포들에서 암-연합된 유전적 표지(marker)의 서열을 결정하고, 그리고 상기 환자에게 치료요법적으로 유효량의 유전자-에디팅 단백질 또는 유전자-에디팅 단백질을 인코딩하는 핵산을 투여하며, 이때 상기 표적 DNA 분자의 서열은 상기 암-연합된 유전적 표지의 서열에 최소한 약 50% 또는 약 60% 또는 약 70% 또는 약 80% 또는 약 90% 또는 약 95% 또는 약 98%, 또는 약 99% 상동성이다. 한 구체예에 있어서, 상기 방법은 하나 또는 그 이상의 암이 아닌 세포들에서 동일한 암-연합된 유전적 표지들의 서열에 대하여 상기 하나 또는 그 이상의 암 세포들에 있는 하나 또는 그 이상의 암-연합된 유전적 표지들의 서열을 비교하고, 상기 하나 또는 그 이상의 암 세포들과 상기 하나 또는 그 이상의 암이 아닌 세포들에서 상이한 서열을 가진 암-연합된 유전적 표지를 선택하며, 이때 상기 표적 DNA 분자 또는 결합 부위의 서열은 선택된 암-연합된 유전적 표지의 서열에 대해 최소한 약 50% 또는 약 60% 또는 약 70% 또는 약 80% 또는 약 90% 또는 약 95% 또는 약 98% 또는 약 99% 상동성이다.

[0114]

많은 암 세포들은 아팍토시스 (IAP) 단백질 패밀리의 저해제들중 한 구성원인 설바이빈(survivin)을 발현하는데, 인간의 경우 BIRC5 유전자에 의해 인코드된다. 설바이빈(survivin) mRNA를 포함하는 특정 mRNA 분자들의 발현을 감소시키는 RNA 간섭을 이용하면 일시적으로 특정 암 세포들의 성장을 저해할 수 있다. 그러나, 설바이빈(survivin) mRNA의 발현을 감소시키는 RNA 간섭을 이용하는 기존 방법들은 일시적인 효과를 낳고, 그리고 동물 모델에서 평균 사망까지의 시간(TTD)를 약간 증가시킬 뿐이다. BIRC5 유전자를 표적으로 하는 하나 또는 그 이상의 유전자-에디팅 단백질을 세포가 발현시키도록 유도하면 BIRC5 유전자의 파괴를 초래할 수 있으며, 상기 세포가 설바이빈(survivin) 단백질의 비-기능성 변종의 발현 및/또는 분비하도록 유도할 수 있고, 상기 세포가 설바이빈(survivin) 단백질의 우성-음성 변종을 발현 및/또는 분비하도록 유도할 수 있으며, 상기 세포 및 주변 세포에서 하나 또는 그 이상의 아팍토시스 경로의 활성화를 촉발시키고, 상기 세포와 주변 세포들의 성장을 지연 또는 중단시킬 수 있고, 상기 세포와 주변 세포들의 사멸을 야기할 수 있고, 암의 진행을 저해시킬 수 있으며, 그리고 암 환자의 차도를 야기할 수 있다는 것이 현재 밝혀졌다. 따라서, 특정 구체예들은 BIRC5 유전자를 표적으로 하는 유전자-에디팅 단백질에 관한 것이다. 한 구체예에 있어서, 상기 유전자-에디팅 단백질은 BIRC5 유전자에 있는 하나 또는 그 이상의 영역에 결합한다. 또다른 구체예에 있어서, 상기 유전자-에디팅 단백질은 서열 번호: 12, 서열 번호: 13, 서열 번호: 14, 그리고 서열 번호: 15로부터 선택된 서열에서 하나 또는 그 이상의 영역에 결합한다. 추가 구체예에 있어서, 상기 유전자-에디팅 단백질은 서열 번호: 16, 서열 번호: 17, 서열 번호: 18, 서열 번호: 19, 서열 번호: 20, 서열 번호: 21, 서열 번호: 22, 서열 번호: 23, 서열 번호: 24, 서열 번호: 25, 서열 번호: 26, 그리고 서열 번호: 27로부터 선택된 하나 또는 그 이상의 서열에 결합한다. 추가 구체예에 있어서, 상기 유전자-에디팅 단백질은 서열 번호: 34 또는 이의 생물학적으로 활성 단편, 이의 변종 또는 이의 유사체를 인코딩하는 하나 또는 그 이상의 핵산 서열들에 결합한다. 추가 구체예에 있어서, 상기 유전자-에디팅 단백질은 표 3, 표 4, U.S. 가출원 번호. 61/721,302의 표 3(이의 내용은 본 명세서에서 참고자료에 편입된다), U.S. 가출원 번호. 61/785,404의 표 1(이의 내용은 본 명세서에서 참고자료에 편입된다) 또는 U.S. 가출원 번호. 61/842,874의 표 1(이의 내용은 본 명세서에서 참고자료에 편입된다)에서 선택된 하나 또는 그 이상의 서열에 결합하거나, 또는 표 3, 표 4, U.S. 가출원 번호. 61/721,302의 표 3(이의 내용은 본 명세서에서 참고자료에 편입된다), U.S. 가출원 번호. 61/785,404의 표 1(이의 내용은 본 명세서에서 참고자

료에 편입된다) 또는 U.S. 가출원 번호. 61/842,874의 표 1(이의 내용은 본 명세서에서 참고자료에 편입된다)에서 선택된 하나 또는 그 이상의 서열에 대해 최소한 약 50% 또는 최소한 약 60% 또는 최소한 약 70% 또는 최소한 약 80% 또는 최소한 약 90% 또는 최소한 약 95% 또는 최소한 약 98%, 또는 약 99% 상동성인 하나 또는 그 이상의 서열에 결합한다. 한 구체예에 있어서, 상기 유전자-에디팅 단백질은 상기 세포의 DNA안에 하나 또는 그 이상의 닉 또는 이중-가닥 브레이크를 만든다. 또다른 구체예에 있어서, 상기 하나 또는 그 이상의 닉 또는 이중-가닥 브레이크는 BIRC5 유전자 안에 만들어진다. 추가 구체예에 있어서, 상기 하나 또는 그 이상의 닉 또는 이중-가닥 브레이크는 BIRC5 유전자의 하나 또는 그 이상의 엑손 안에 만들어진다. 추가 구체예에 있어서, 상기 하나 또는 그 이상의 닉 또는 이중-가닥 브레이크는 서열 번호: 12, 서열 번호: 13, 서열 번호: 14, 그리고 서열 번호: 15에서 선택된 서열 안에 만들어진다. 추가 구체예에 있어서, 상기 하나 또는 그 이상의 닉 또는 이중-가닥 브레이크는 아팍토시스 도메인 (별칭으로, " IAP ", " IAP 도메인 ", " IAP 반복 ", " 아팍토시스 단백질 반복의 베쿨로바이러스 저해제 ", " BIR ", 등.)의 저해제를 인코딩하는 서열 안에 만들어진다. 추가 구체예에 있어서, 상기 유전자-에디팅 단백질은 표 5, U.S. 가출원 번호. 61/785,404의 표 2(이의 내용은 본 명세서에서 참고자료에 편입된다) 또는 U.S. 가출원 번호. 61/842,874의 표 2(이의 내용은 본 명세서에서 참고자료에 편입된다)에서 선택된 하나 또는 그 이상의 서열에 결합하거나, 또는 표 5, U.S. 가출원 번호. 61/785,404의 표 2(이의 내용은 본 명세서에서 참고자료에 편입된다) 또는 U.S. 가출원 번호. 61/842,874의 표 2(이의 내용은 본 명세서에서 참고자료에 편입된다)에서 선택된 하나 또는 그 이상의 서열에 대하여 최소한 약 50% 또는 최소한 약 60% 또는 최소한 약 70% 또는 최소한 약 80% 또는 최소한 약 90% 또는 최소한 약 95% 또는 최소한 약 98% 상동성인 하나 또는 그 이상의 서열들에 결합한다. 여전히 또다른 구체예에서, 상기 유전자 에디팅 단백질은 표 2, 표 5, 표 6, 표 7, U.S. 가출원 번호. 61/721,302의 표 4(이의 내용은 본 명세서에서 참고자료에 편입된다), U.S. 가출원 번호. 61/785,404의 표 2(이의 내용은 본 명세서에서 참고자료에 편입된다) 또는 U.S. 가출원 번호. 61/842,874의 표 2(이의 내용은 본 명세서에서 참고자료에 편입된다)로부터 선택된 하나 또는 그 이상의 유전자를 인코딩하는 서열에 결합한다.

표 5

예시적인 암-연합된 유전자 결합부위

유전자	#	좌	우	공간(Spacing)
CDK1	1	TTTAGGATCTACCATACCC A	TCTCTATTTTGGTATAATCT	15
CDK1	2	TTTAGGATCTACCATACCC A	TTCTCTATTTTGGTATAATC	16
CDK1	3	TTTAGGATCTACCATACCC A	TTTCTCTATTTTGGTATAAT	17
CDK1	4	TTAGGATCTACCATACCCA T	TCTCTATTTTGGTATAATCT	14
CDK1	5	TTAGGATCTACCATACCCA T	TTCTCTATTTTGGTATAATC	15
CDK1	1	TCACACAGCATATTATTTA C	TACCCTTATACACAACCTCC A	17
CDK1	2	TCACACAGCATATTATTTA C	TCTACCCTTATACACAACCT C	19
CDK1	3	TACTTTGTTTCAGGTACCTA	IGTAGTTTTGIGTCTACCT	14
CDK1	4	TACTTTGTTTCAGGTACCTA	TGACCTGTAGTTTTGIGTCT	19
CDK1	5	TTTGTTTCAGGTACCTATG G	TGACCTGTAGTTTTGIGTCT	16
CDK2	1	TGACCCGACTCGCTGGCGC T	TCCGATCTTTTCCACCTTTT	15
CDK2	2	TGACCCGACTCGCTGGCGC T	TCTCCGATCTTTTCCACCTT	17
CDK2	3	TCGCTGGCGCTTCATGGAG A	TACGIGCCCTCTCCGATCTT	17
CDK2	4	TTCATGGAGAACTTCCAAA A	TACACAACCTCCGTACGTGC C	19
CDK2	5	TCATGGAGAACTTCCAAA G	TACACAACCTCCGTACGTGC C	18
CDK2	1	TTTCCCAACCTCTCCAAGT G	TCTCGGATGGCAGTACTGG G	14
CDK2	2	TTTCCCAACCTCTCCAAGTG A	TCTCTCGGATGGCAGTACT G	15
CDK2	3	TCCCAACCTCTCCAAGTGA G	TCTCTCGGATGGCAGTACT G	14
CDK2	4	TCTCCAAGTGAGACTGAGG G	TAAGCAGAGAGATCTCTCG G	18
CDK2	5	TCTCCAAGTGAGACTGAGG G	TTAAGCAGAGAGATCTCTC G	19
CDK3	1	TGTTTCCCAGGCAGCTCTG T	TCTCCGATCTTCTCTACCTT	19
CDK3	2	TTTCCCAGGCAGCTCTGTG G	TCTCCGATCTTCTCTACCTT	17
CDK3	3	TTCCCAGGCAGCTCTGTGG C	TCTCCGATCTTCTCTACCTT	16
CDK3	4	TCCCAGGCAGCTCTGTGGC C	TCTCCGATCTTCTCTACCTT	15

[0115]

CDK3	5	TGGATATGTTCCAGAAGGT A	TACACCACCCCATAGGTGC C	15
CDK3	1	TGCCCACGGCTGTGCCCTT G	TGGCAGTGCTTGGGACCCC C	19
CDK3	2	TGTGCCCTTGTTTCTTGCA G	TCCCTGATGGCAGTGCTTG G	16
CDK3	3	TTTCTTGACAGGGAGATGGA G	TGAGCAGCGAGATCTCCCT G	20
CDK3	4	TTCTTGACAGGGAGATGGAG G	TGAGCAGCGAGATCTCCCT G	19
CDK3	5	TTCTTGACAGGGAGATGGAG G	TTGAGCAGCGAGATCTCCC T	20
CDK4	1	TGTGATTGTAGGGTCTCCC T	TGGCTCATATCGAGAGGTA G	14
CDK4	2	TGATTGTAGGGTCTCCCTT G	TCAGCCACTGGCTCATATC G	20
CDK4	3	TTGTAGGGTCTCCCTTGAT C	TCAGCCACTGGCTCATATC G	17
CDK4	4	TGTAGGGTCTCCCTTGATC T	TCAGCCACTGGCTCATATC G	16
CDK4	5	TAGGGTCTCCCTTGATCTG A	TCAGCCACTGGCTCATATC G	14
CDK4	1	TTGAAAAGTGAGCATTAC T	TCGGGATGTGGCACAGACG T	16
CDK4	2	TTGAAAAGTGAGCATTAC T	TTCGGGATGTGGCACAGAC G	17
CDK4	3	TGAAAAGTGAGCATTACT C	TCGGGATGTGGCACAGACG T	15
CDK4	4	TGAAAAGTGAGCATTACT C	TTCGGGATGTGGCACAGAC G	16
CDK4	5	TGAAAAGTGAGCATTACT C	TCAGTTCGGGATGTGGCAC A	20
CDK5	1	TACGAGAAACTGGAAAAG AT	TGCAGGAACATCTCGAGAT T	15
CDK5	2	TACGAGAAACTGGAAAAG AT	TTGCAGGAACATCTCGAGA T	16
CDK5	3	TACGAGAAACTGGAAAAG AT	TCTTGAGGAACATCTCGA G	18
CDK5	1	TCCTTCCCCTAGGCACCTA C	TGAGTCTCCCGGTTTTTGGC C	15
CDK5	2	TCCTTCCCCTAGGCACCTA C	TCATGAGTCTCCCGGTTTT T	18
CDK5	3	TCCTTCCCCTAGGCACCTA C	TCTCATGAGTCTCCCGGTT T	20
CDK5	4	TTCCCCTAGGCACCTACGG A	TCATGAGTCTCCCGGTTTT T	15
CDK5	5	TTCCCCTAGGCACCTACGG A	TCTCATGAGTCTCCCGGTT T	17
CDK6	1	TGTGCCGCGCTGACCAGCA G	TAGGCGCCCTCCCCGATCT C	15
CDK6	2	TGTGCCGCGCTGACCAGCA G	TCCCATAGGCGCCCTCCCC G	20
CDK6	3	TGCCGCGCTGACCAGCAGT G	TCCCATAGGCGCCCTCCCC G	18

[0116]

	A	G	
CDK6	4 TGCCGCGCTGACCAGCAGT A	TTCCCATAGGCGCCCTCCC C	19
CDK6	5 TGACCAGCAGTACGAATGC G	TGAACACCTTCCCATAGGC G	19
CDK6	1 TCTAGGTTGTTTGATGTGT G	TAGTTTGGTTTCTCTGTCTG	14
CDK6	2 TCTAGGTTGTTTGATGTGT G	TAAAGTTAGTTTGGTTTCTC	20
CDK6	3 TAGGTTGTTTGATGTGTGC A	TAAAGTTAGTTTGGTTTCTC	18
CDK6	4 TTGTTTGATGTGTGCACAG T	TAAAGTTAGTTTGGTTTCTC	14
CDK6	5 TTGATGTGTGCACAGTGT A	TCAAACACTAAAGTTAGTT T	18
EGFR	1 TCCGGGACGGCCGGGGCA GC	TCGCCGGGCAGAGCGCAGC C	15
EGFR	1 TCTTCCAGTTTGCCAAGGC A	TCAAAAGTGCCCAACTGCG T	14
EGFR	2 TCTTCCAGTTTGCCAAGGC A	TGATCTTCAAAAGTGCCCA A	20
EGFR	3 TTCCAGTTTGCCAAGGCAC G	TGATCTTCAAAAGTGCCCA A	18
EGFR	4 TCCAGTTTGCCAAGGCACG A	TGATCTTCAAAAGTGCCCA A	17
EGFR	5 TCACGCAGTTGGGCACTTT T	TGAACATCCTCTGGAGGCT G	14
HIF1A	1 TGAAGACATCGCGGGGACC G	TGTCGTTTCGCGCCGCGGC G	15
HIF1A	2 TGAAGACATCGCGGGGACC G	TTGTCGTTTCGCGCCGCGGC C	16
HIF1A	3 TGAAGACATCGCGGGGACC G	TCTTGTTCGTTTCGCGCCG G	18
HIF1A	4 TGAAGACATCGCGGGGACC G	TTCTGTTCGTTTCGCGCCG C	19
HIF1A	5 TGAAGACATCGCGGGGACC G	TTTCTGTTCGTTTCGCGCCG C	20
HIF1A	1 TCTCGTGTTCCTTGTGTGT T	TCTTTTCGACGTTTCAGAACT	14
HIF1A	2 TCTCGTGTTCCTTGTGTGT T	TTCTTTTCGACGTTTCAGAAC	15
HIF1A	3 TCTCGTGTTCCTTGTGTGT T	TTTCTTTTCGACGTTTCAGAA	16
HIF1A	4 TCTCGTGTTCCTTGTGTGT T	TTTTCTTTTCGACGTTTCAGA	17
HIF1A	5 TTCTTGTGTGTGTTAAGTAG T	TCGAGACTTTTCTTTTCGAC	14
HSPA4	1 TGGTGGGCATAGACCTGGG C	TGCCGCCGGCGCGGGCCAC A	20
HSPA4	2 TGGGCATAGACCTGGGCTT C	TGCCGCCGGCGCGGGCCAC A	17
HSPA4	3 TAGACCTGGGCTTCCAGAG C	TCGATGCCGCCGGCGCGGG C	15
HSPA4	4 TAGACCTGGGCTTCCAGAG C	TCTCGATGCCGCCGGCGCG G	17
HSPA4	5 TAGACCTGGGCTTCCAGAG C	TAGTCTCGATGCCGCCGGC C	20

[0117]

		C	G	
HSPA4	1	TCTTAAGTGCTTTTTTTGTC	TGAACGATTCTTAGGACCA A	20
HSPA4	2	TTAAGTGCTTTTTTTGCTTT	TGAACGATTCTTAGGACCA A	18
HSPA4	3	TTAAGTGCTTTTTTTGCTTT	TTGAACGATTCTTAGGACC A	19
HSPA4	4	TAAGTGCTTTTTTTGCTCTC	TGAACGATTCTTAGGACCA A	17
HSPA4	5	TAAGTGCTTTTTTTGCTCTC	TTGAACGATTCTTAGGACC A	18
HSP90AA 1	1	TGCCCCCGTGTTCGGGCGG G	TCCCGAAGGGAGGGCCCAG G	15
HSP90AA 1	2	TGCCCCCGTGTTCGGGCGG G	TGTCGCGAAGGGAGGGCCC A	17
HSP90AA 1	3	TCCTGGGCCCCTCCCTTCGG G	TCGCGCGGGTATTTCAGCAC T	20
HSP90AA 1	4	TGGGCCCTCCCTTCGGGAC A	TCGCGCGGGTATTTCAGCAC T	17
HSP90AA 1	5	TCCCTTCGGGACAGGGACT G	TCCAGACGGTCGCGCGGGT A	19
HSP90AA 1	1	TCCAGAAGATTGTGTTTAT G	TCTTGGTACCAGTTAACAG G	14
HSP90AA 1	2	TGTGTTTATGTTCCAGCA G	TTGGGCCTTTTCTTGGTACC C	14
HSP90AA 1	3	TCCCAGCAGGGCACCTGTT A	TGCCAGAGAAACACTTGGG C	17
HSP90AA 1	4	TAACTGGTACCAAGAAAAG G	TCCAGACACCATCAGATGC C	15
HSP90AA 1	5	TAACTGGTACCAAGAAAAG G	TGGATCCAGACACCATCAG A	19
MYC	1	TCCAGCAGCCTCCCGCGAC G	TAGTTCCTGTTGGTGAAGC T	15
MYC	2	TCCAGCAGCCTCCCGCGAC G	TCATAGTTCCTGTTGGTGA A	18
MYC	3	TCCCGCGACGATGCCCTC A	TCGAGGTCATAGTTCCTGT T	14
MYC	4	TCCCGCGACGATGCCCTC A	TAGTCGAGGTCATAGTTC T	17
MYC	5	TCCCGCGACGATGCCCTC A	TCGTAGTCGAGGTCATAGT T	20
PKN3	1	TGCAGCCTGGGCCGAGCCA G	TGGCCCGCGGATCACCTC C	20
PKN3	2	TGGGCCGAGCCAGTGGCCC C	TGGATGGCCCGCGGATCA C	17
PKN3	3	TGGGCCGAGCCAGTGGCCC C	TCTGGATGGCCCGCGGAT C	19
PKN3	4	TGGGCCGAGCCAGTGGCCC C	TTCTGGATGGCCCGCGGA T	20
PKN3	5	TGGCCCCAGAGGATGAGA A	TCAGCTCTTCTGGATGGC C	15
RRM2	1	TGGGAAGGGTCGGAGGCA TG	TGGCTTGGTGCCCCGGCC C	16

[0118]

RRM2	2	TGGGAAGGGTCGGAGGCA TG	TTGGCTTTGGTGCCCCGGC C	17
RRM2	3	TCGGAGGCATGGCACAGCC A	TTCCCATTGGCTTTGGTGCC	14
RRM2	4	TGGCACAGCCAATGGGAA GG	TCCCGGCCCTTCCCATTGG C	14
RRM2	5	TGCACCCTGTCCCAGCCGT C	TGGAGGCGCAGCGAAGCA GA	17
APC	1	TATGTACGCCTCCCTGGGC T	TGGTACAGAAGCGGGCAA AG	15
APC	2	TGTACGCCTCCCTGGGCTC G	TGAGGGTGGTACAGAAGCG G	19
APC	3	TACGCCTCCCTGGGCTCGG G	TGAGGGTGGTACAGAAGCG G	17
APC	4	TCGGGTCCGGTCGCCCTT T	TCCAGGACCCGAGAACTGA G	18
APC	5	TCCGGTCCGCCCTTTGCC G	TGCTCCAGGACCCGAGAAC T	16
APC	1	TTAAACAAC TACAAGGAAG T	TCAATCTGTCCAGAAGAAG C	18
APC	2	TAAACAAC TACAAGGAAGT A	TCAATCTGTCCAGAAGAAG C	17
APC	3	TACAAGGAAGTATTGAAGA T	TAATAAATCAATCTGTCCA G	16
APC	4	TATTGAAGATGAAGCTATG G	TAAGACGCTCTAATAAATC A	16
APC	5	TATTGAAGATGAAGCTATG G	TTAAGACGCTCTAATAAAT C	17
BRCA1	1	TGGATTTAICTGCTCTTCGC	TGCATAGCATTAAATGACAT T	15
BRCA1	2	TGGATTTAICTGCTCTTCGC	TCTGCATAGCATTAAATGAC A	17
BRCA1	3	TTATCTGCTCTTCGCGTTGA A	TAAGATTTTCTGCATAGCA T	20
BRCA1	4	TATCTGCTCTTCGCGTTGA A	TAAGATTTTCTGCATAGCA T	19
BRCA1	5	TCTGCTCTTCGCGTTGAAG A	TAAGATTTTCTGCATAGCA T	17
BRCA1	1	TGCTAGTCTGGAGTTGATC A	TGCAAAATATGTGGTCACA C	19
BRCA1	2	TGCTAGTCTGGAGTTGATC A	TTGCAAAATATGTGGTCAC A	20
BRCA1	3	TAGTCTGGAGTTGATCAAG G	TGCAAAATATGTGGTCACA C	16
BRCA1	4	TAGTCTGGAGTTGATCAAG G	TTGCAAAATATGTGGTCAC A	17
BRCA1	5	TAGTCTGGAGTTGATCAAG G	TACTTGCAAAATATGTGGT C	20
BRCA2	1	TGCCTATTGGATCCAAAGA G	TGCAGCGTGTCTTAAAAAT T	17
BRCA2	2	TGCCTATTGGATCCAAAGA G	TTGCAGCGTGTCTTAAAA T	18
BRCA2	3	TGCCTATTGGATCCAAAGA	TGTTGCAGCGTGTCTTAAA	20

[0119]

		G	A	
BRCA2	4	TATTGGATCCAAAGAGAGG C	TTGCAGCGTGTCTTAAAAA T	14
BRCA2	5	TATTGGATCCAAAGAGAGG C	TGTTGCAGCGTGTCTTAAA A	16
BRCA2	1	TAGATTTAGGACCAATAAG T	TGGAGCTTCTGAAGAAAGT T	16
BRCA2	2	TTAGGACCAATAAGTCTTA A	TAGGGTGGAGCTTCTGAAG A	16
BRCA2	3	TTAGGACCAATAAGTCTTA A	TATAGGGTGGAGCTTCTGA A	18
BRCA2	4	TTAGGACCAATAAGTCTTA A	TTATAGGGTGGAGCTTCTG A	19
BRCA2	5	TAGGACCAATAAGTCTTAA T	TATAGGGTGGAGCTTCTGA A	17
TP53	1	TCACTGCCATGGAGGAGCC G	TGACTCAGAGGGGGCTCGA C	15
TP53	2	TCACTGCCATGGAGGAGCC G	TCCTGACTCAGAGGGGGCT C	18
TP53	3	TCACTGCCATGGAGGAGCC G	TTCTGACTCAGAGGGGGC T	19
TP53	4	TCACTGCCATGGAGGAGCC G	TTTCCTGACTCAGAGGGGG C	20
TP53	5	TGCCATGGAGGAGCCGCAG T	TCCTGACTCAGAGGGGGCT C	14
APP	1	TTCTTTCAGGTACCCACTG A	TGGCAATCTGGGGTTCAGC C	18
APP	2	TCTTTCAGGTACCCACTGA T	TGGCAATCTGGGGTTCAGC C	17
APP	3	TTTCAGGTACCCACTGATG G	TGGCAATCTGGGGTTCAGC C	15
APP	4	TTCAGGTACCCACTGATGG T	TGGCAATCTGGGGTTCAGC C	14
APP	5	TACCCACTGATGGTAATGC T	TGCCACAGAACATGGCAAT C	20
IAPP	1	TGGGCATCCTGAAGCTGCA A	TGGTTCAATGCAACAGAGA G	15
IAPP	2	TGGGCATCCTGAAGCTGCA A	TCAGATGGTTCAATGCAAC A	20
IAPP	3	TGCAAGTATTTCTCATTGT G	TGGGTGTAGCTTTCAGATG G	17
IAPP	4	TGCTCTCTGTTGCATTGAA C	TTACCAACCTTTCATGGG T	14
IAPP	1	TGTTACCAGTCATCAGGTG G	TGCGTTGCACATGTGGCAG T	17
IAPP	2	TTACCAGTCATCAGGTGGA A	TGCGTTGCACATGTGGCAG T	15
IAPP	3	TACCAGTCATCAGGTGGAA A	TGCGTTGCACATGTGGCAG T	14
IAPP	4	TCATCAGGTGGAAAAGCGG A	TGCCAGGCGCTGCGTTGCA C	18
IAPP	5	TCATCAGGTGGAAAAGCGG A	TTGCCAGGCGCTGCGTTGC A	19

[0120]

SNCA	1	TTTTGTAGGCTCCAAAACC A	TTACCTGTTGCCACACCAT G	14
SNCA	2	TTTTGTAGGCTCCAAAACC A	TGGAGCTTACCTGTTGCCA C	20
SNCA	3	TTTGTAGGCTCCAAAACCA A	TGGAGCTTACCTGTTGCCA C	19
SNCA	4	TTGTAGGCTCCAAAACCAA G	TGGAGCTTACCTGTTGCCA C	18
SNCA	5	TGTAGGCTCCAAAACCAAG G	TGGAGCTTACCTGTTGCCA C	17
SOD1	1	TAGCGAGTTATGGCGACGA A	TGCACTGGGCCGTCGCCCT T	16
SOD1	2	TTATGGCGACGAAGGCCGT G	TGCCCTGCACTGGGCCGTC G	14
SOD1	3	TTATGGCGACGAAGGCCGT G	TGATGCCCTGCACTGGGCC G	17
SOD1	4	TTATGGCGACGAAGGCCGT G	TGATGATGCCCTGCACTGG G	20
SOD1	5	TATGGCGACGAAGGCCGT T	TGATGCCCTGCACTGGGCC G	16
SOD1	1	TAATGGACCAGTGAAGGTG T	TGCAGGCCTTCAGTCAGTC C	14
SOD1	2	TAATGGACCAGTGAAGGTG T	TCCATGCAGGCCTTCAGTC A	18
SOD1	3	TGGACCAGTGAAGGTGTGG G	TCCATGCAGGCCTTCAGTC A	15
SOD1	4	TGGACCAGTGAAGGTGTGG G	TGGAATCCATGCAGGCCTT C	20
SOD1	5	TGTGGGAAGCATTAAAGG A	TCATGAACATGGAATCCAT G	15

[0121]

[0122]

일부 구체예들에 있어서, 상기 표적 DNA 분자는 암에서 과다발현되는 유전자를 포함한다. 암에서 과다발현되는 유전자의 예로는 다음을 포함하나, 이에 한정되지 않는다: ABL1, BIRC5, BLK, BTK, CDK 패밀리 구성원, EGFR, ERBB2, FAS, FGR, FLT4, FRK, FYN, HCK, HIF1A, HRAS, HSP90AA1, HSPA4, KDR, KIF11, KIF11, KIF20A, KIF21A, KIF25, KIT, KRAS, LCK, LYN, MAPK1, MET, MYC, MYH1, MYO1G, NRAS, NTRK1, PDGFB, PDGFRA, PDGFRB, PKN3, PLK1, RAF1, RB1, RET, RRM1, RRM2, SRC, TNF, TPM2, TYRO3, VEGFA, VEGFB, VEGFC, YES1, 그리고 ZAP70. 일부 구체예들에 있어서, 상기 표적 DNA 분자는 다음에서 선택된 유전자를 포함한다: ABL1, BIRC5, BLK, BTK, CDK 패밀리 구성원, EGFR, ERBB2, FAS, FGR, FLT4, FRK, FYN, HCK, HIF1A, HRAS, HSP90AA1, HSP90AA1, HSPA4, KDR, KIF11, KIF11, KIF20A, KIF21A, KIF25, KIT, KRAS, LCK, LYN, MAPK1, MET, MYC, MYH1, MYO1G, NRAS, NTRK1, PDGFB, PDGFRA, PDGFRB, PKN3, PLK1, RAF1, RB1, RET, RRM1, RRM2, SRC, TNF, TPM2, TYRO3, VEGFA, VEGFB, VEGFC, YES1, 그리고 ZAP70 또는 이의 단편 또는 변종. 다른 구체예들에 있어서, 상기 표적 DNA 분자는 암에서 돌연변이된 유전자를 포함한다. 암에서 돌연변이된 유전자의 예로는 다음을 포함하나, 이에 한정되지 않는다: AIM1, APC, BRCA1, BRCA2, CDKN1B, CDKN2A, FAS, FZD 패밀리 구성원, HNF1A, HOPX, KLF6, MEN1, MLH1, NTRK1, PTEN, RARRES1, RB1, SDHB, SDHD, SFRP1, ST 패밀리 구성원, TNF, TP53, TP63, TP73, VBP1, VHL, WNT 패밀리 구성원, BRAF, CTNNB1, PIK3CA, PIK3R1, SMAD4, 그리고 YPEL3. 일부 구체예들에 있어서, 상기 표적 DNA 분자는 다음에서 선택된 유전자를 포함한다: AIM1, APC, BRCA1, BRCA2, CDKN1B, CDKN2A, FAS, FZD 패밀리 구성원, HNF1A, HOPX, KLF6, MEN1, MLH1, NTRK1, PTEN, RARRES1, RB1, SDHB, SDHD, SFRP1, ST 패밀리 구성원, TNF, TP53, TP63, TP73, VBP1, VHL, WNT 패밀리 구성원, BRAF, CTNNB1, PIK3CA, PIK3R1, SMAD4, 그리고 YPEL3 또는 이의 단편 또는 변종. 한 구체예에 있어서, 상기 방법은 환자에게 치료요법적으로 유효량의 복구 주형을 투여하는 것을 더 포함한다.

[0123]

특정 유전자에서 돌연변이는 세포가 암이 될 가능성을 증가시킬 수 있다. 그러나, 특정 상황에 있어서, 예를 들면, 상기 암-연합된 유전자의 비-돌연변이형이 유익한 경우, 암이 아닌 세포들에서 암-연합된 유전자를 비활성화시키는 것이 결정적일 수 있다. 유전자-에디팅 단백질은 유전자의 돌연변이형을 부분적으로 또는 완전하게 특이적으로 비활성화시키는데 이용될 수 있다는 것이 지금 발견되었다. 암-연합된 돌연변이의 예로는 다음을 포함하나, 이에 한정되지 않는다: ALK (F1174, R1275), APC (R876, Q1378, R1450), BRAF (V600), CDKN2A (R58, R80, H83, D84, E88, D108G, W110, P114), CTNNB1 (D32, S33, G34, S37, T41, 또는 S45), EGFR (G719, T790, L858), EZH2 (Y646), FGFR3 (S249, Y373), FLT3 (D835), GNAS (R201), HRAS (G12, G13, Q61), IDH1 (R132), JAK2 (V617), KIT (D816), KRAS (G12, G13), NRAS (G12, G13, Q61), PDGFRA (D842), PIK3CA (E542, E545, H1047), PTEN (R130), 그리고 TP53 (R175, H179, G245, R248, R249, R273, W282). 따라서, 특정 구체예들은 질환-연합된 돌연변이에 결합되는 유전자-에디팅 단백질에 관한 것이다. 한 구체예에 있어서, 상기 유전자-에디팅

단백질은 돌연변이를 포함하지 않은 DNA보다는 특이적 돌연변이를 포함하는 DNA에 더 큰 친화력으로 결합한다. 또다른 구체예에 있어서, 상기 질환은 암이다.

[0124] 알츠하이머 질환, 파킨슨 질환, 그리고 Lewy 체(bodies)를 가진 치매를 포함하는 신경퇴행성 질환은 중추 및/또는 말초신경계의 세포들의 기능이 점진적으로 상실되거나 및/또는 사멸되는 것을 특징으로 한다. 질환 진행은 단백질  $\alpha$ -시뉴클레인(synuclein) (인간의 경우 SNCA 유전자에 의해 인코딩됨)을 포함하는 단백질이 풍부한 (rich) 플라크의 축적을 수반할 수 있다. 그 결과, 상기 플라크에 결합하여, 면역계에 의해 파괴되도록 태그를 다는 항체를 이용하여 이들 플라크를 파괴할 수 있는 치료제를 연구자들은 찾아왔다. 그러나, 많은 경우에 있어서 플라크의 파괴는 환자 증상 또는 질환의 진행에 효과가 없거나 또는 거의 없다. 신경퇴행성 질환-연관된 플라크를 표적으로 하는 기존 치료법의 실패의 일부 원인은 플라크 형성 초기 단계에서 발생하는 세포에 대한 손상을 복구하지 못하는 신경계 때문이라는 것이 최근 밝혀졌다. SNCA 유전자를 표적으로 하는 하나 또는 그 이상의 유전자-에디팅 단백질을 발현시키도록 세포를 유도하면 SNCA 유전자의 파괴를 유도하게 될 수 있으며,  $\alpha$ -시뉴클레인 단백질의 플라크-저항성 변종을 발현시키도록 상기 세포를 유도할 수 있으며, 신경퇴행성 질환-연관된 플라크의 성장을 지연 또는 중지시킬 수 있으며, 신경퇴행성 질환-연관된 플라크의 악영향으로부터 상기 세포와 주변 세포를 보호할 수 있으며, 알츠하이머 질환, 파킨슨 질환, 그리고 Lewy 체를 가진 치매를 포함하는 신경퇴행성 질환의 진행을 지연 및/또는 중지시킬 수 있으며, 그리고 알츠하이머 질환, 파킨슨 질환, 그리고 Lewy 체를 가진 치매를 포함하는 신경퇴행성 질환 환자에서 증상의 감소 및/또는 기능의 회복이 야기될 수 있다. 기타 신경퇴행성 질환은 예를 들면, 눈이 머는 것을 포함한 시력상실, 난청을 포함하는 청력상실, 균형 장애, 미각 및/또는 후각 상실, 그리고 기타 감각 장애가 포함된다. 따라서, 특정 구체예들은 SNCA 유전자를 표적으로 하는 유전자-에디팅 단백질에 관한 것이다. 한 구체예에 있어서, 상기 유전자-에디팅 단백질은 SNCA 유전자에 있는 하나 또는 그 이상의 영역에 결합한다. 또다른 구체예에 있어서, 상기 유전자-에디팅 단백질은 서열 번호: 51 또는 이의 생물학적으로 활성 단편, 이의 변종 또는 이의 유사체를 인코딩하는 하나 또는 그 이상의 핵산 서열들에 결합한다. 다른 구체예들은 환자에게 치료요법적으로 유효량의 유전자-에디팅 단백질 또는 유전자-에디팅 단백질을 인코딩하는 핵산을 투여하는 것을 포함하는 신경퇴행성 질환 치료 방법에 관한 것이며, 이때 상기 유전자-에디팅 단백질은 질환-연관된 플라크를 형성하는 단백질이 인코딩된 뉴클레오티드 서열에 결합할 수 있으며, 이러한 결합에 의해 환자에서 질환-연관된 플라크의 감소를 초래하거나 및/또는 질환의 진행을 지연 또는 중지시키게 된다. 한 구체예에 있어서, 상기 뉴클레오티드 서열은 SNCA 유전자를 포함한다. 또다른 구체예에 있어서, 상기 뉴클레오티드 서열은  $\alpha$ -시뉴클레인을 인코딩한다. 추가 구체예에 있어서, 상기 신경퇴행성 질환은 파킨슨 질환, 알츠하이머 질환, 및 치매로부터 선택된다.

[0125] 특정 구체예들은 질환-유발 유독물을 식별하는 방법에 관한 것으로, 이 방법은 세포에 이 세포의 DNA 서열을 변경시키는 유전자-에디팅 단백질 또는 유전자-에디팅 단백질을 인코딩하는 핵산을 트랜스펙션시키고, 이때 변경된 DNA 서열은 질환에 대하여 민감성을 부여하게 되며, 상기 세포에 질환-유발이 의심되는 유독물을 접촉시키고, 그리고 이 세포가 상기 질환과 연관된 표현형을 나타내는 정도를 평가하는 것을 포함한다. 한 구체예에 있어서, 상기 질환은 신경퇴행성 질환, 자가면역 질환, 호흡기 질환, 생식 장애 또는 암이다. 다른 구체예들은 치료요법적 물질의 안전성을 평가하는 방법에 관한 것으로, 이 방법은 이 세포의 DNA 서열을 변경시키는 유전자-에디팅 단백질 또는 유전자-에디팅 단백질을 인코딩하는 핵산을 트랜스펙션시키고, 이때 변경된 DNA 서열은 상기 치료제 물질의 하나 또는 그 이상의 고정 효과에 대하여 민감성을 부여하게 되며, 상기 세포에 상기 치료제 물질을 접촉시키고, 그리고 상기 세포 상에서 상기 치료제 물질의 하나 또는 그 이상의 독성 효과를 측정하는 것을 포함한다. 여전히 다른 구체예들은 치료요법적 물질의 효과를 평가하는 방법에 관한 것으로, 이 방법은 이 세포의 DNA 서열을 변경시키는 유전자-에디팅 단백질 또는 유전자-에디팅 단백질을 인코딩하는 핵산을 트랜스펙션시키고, 이때 변경된 DNA 서열에 의해 상기 세포는 하나 또는 그 이상의 질환-연관된 표현형을 나타내게 되며, 상기 세포에 상기 치료제 물질을 접촉시키고, 그리고 상기 하나 또는 그 이상의 질환-연관된 표현형이 감소된 정도를 측정하는 것을 포함한다.

[0126] 일부 구체예들에 있어서, 상기 환자는 단백질병증(proteopathy)으로 진단된다. 예시적인 단백질병증 및 단백질병증-연관된 유전자는 표 6에 제시되며, 이들은 예를 들기 위함이며, 이에 제한되지 않는다. 한 구체예에 있어서, 상기 단백질병증은 다음으로부터 선택된다: AA (2차) 아밀로이드증, 알렉산더질환, 알츠하이머 질환, 근위축성 측색 경화증, 대동맥 안쪽 아밀로이드증, ApoAI 아밀로이드증, ApoAII 아밀로이드증, ApoAIV 아밀로이드증, 비브리노겐 아밀로이드증, 심장 심방 아밀로이드증, 피질하 경색과 백색질뇌병증을 가진 뇌의 상염색체 우성 동맥질환, 대뇌의  $\beta$ -아밀로이드 혈관증, 투석 아밀로이드증, 가족성 아밀로이드 심근병, 가족성 아밀로이드 폴리신경병증, 가족성 아밀로이드증 (핀란드형), 가족성 영국형 치매, 가족성 덴마크형 치매, 전두측두엽 변성, 유전적 대뇌의 아밀로이드 혈관증, 유전적 격자 각막 이상증, 헌팅턴 질환, 붕임체 근염/근병증, 리소자임 아밀로이드증, 갑상

선 수질암종, 치성(Pindborg) 종양 아밀로이드, 파킨슨 질환, 뇌하수체 프로락틴분비종양, 없는온 질환, 폐포 단백질증, 녹내장에서 망막 강글리온 세포 퇴행, 로돕신 돌연변이와 함께 망막색소변성, 노인성 전신 아밀로이드증, 세르피노병증, 시뉴클레인병증, 타우병증, 유형 II 당뇨병, 권투선수 치매 (만성 외상성뇌증), 전두측두엽 치매, 전두측두엽 변성, 신경절세포종, 신경절신경아교종, 할러포르텐-슈파츠 질환, 납 독성뇌증, 지방갈색소증, 리티코-보디그 질환, 뇌막혈관증종, 진행성 핵상 마비, 아급성경화범뇌염, 매듭 프레도미넌트 (tangle-predominant) 치매, 그리고 결절성 경화증. 또다른 구체예에 있어서, 상기 표적 DNA 분자는 APOA1, APOA2, APOA4, APP, B2M, CALCA, CST3, FGA, FGB, FGG, FUS, GFAP, GSN, HTT, IAPP, ITM2B, LYZ, MAPT, MFGE8, NOTCH3, NPPA, ODAM, PRL, PRNP, RHO, SAA 패밀리 구성원, SERPIN 패밀리 구성원, SFTPC, SNCA, SOD 패밀리 구성원, TARDBP, TGFBI, 그리고 TRR 또는 이의 단편 또는 변종으로부터 선택된 유전자를 포함한다. 추가 구체예에 있어서, 상기 표적 DNA 분자는 표 6에서 선택된 유전자 또는 이의 단편을 인코딩하며, 상기 환자는 표 6에서 열거된 대응하는 질환으로 진단받았다.

표 6

단백병증 및 단백질증-연관된 예시적인 유전자들

유전자 / 패밀리	질환 / 상태
APOA1	ApoAI 아밀로이드증
APOA2	ApoAII 아밀로이드증
APOA4	ApoAIV 아밀로이드증
APP	대뇌 β-아밀로이드 혈관증
APP	녹내장에서 망막 강글리온 세포 퇴행
APP	봉입체 근염/근병증
APP, MAPT	알츠하이머 질환
B2M	투석 아밀로이드증
CALCA	갑상선 수질성 암종
CST3	유전적 대뇌의 아밀로이드 혈관증 (아이슬란드식)
FGA, FGB, FGG	피브리노겐 아밀로이드증
GFAP	알렉산더질환
GSN	가족성 아밀로이드증, 핀란드식
HTT	헌팅턴 질환
IAPP	유형 II 당뇨병
ITM2B	가족성 영국식 치매
ITM2B	가족성 덴마크식 치매
LYZ	리소자임 아밀로이드증
MAPT	타우병증(다발성)
MFGE8	대동맥 안쪽 아밀로이드증
NOTCH3	피질하 경색과 백색질뇌병증을 가진 대뇌 상염색체 우성 동맥병증 (CADASIL)
NPPA	심장 심방 아밀로이드증
ODAM	치성 (Pindborg) 종양 아밀로이드
PRL	뇌하수체 프로락틴분비종양
PRNP	프리온(Prion) 질환 (다발성)
RHO	로돕신 돌연변이를 가진 망막색소변성
SAA 패밀리 유전자	AA (2 차) 아밀로이드증
SERPIN 패밀리 유전자	세르피노병증(다발성)
SFTPC	폐포단백증
SNCA	파킨슨 질환 및 기타 시뉴클레인병증 (다발성)
SNCA	기타 시뉴클레인병증
SOD 패밀리 유전자, TARDBP, FUS	근위축측삭경화증 (ALS)
TARDBP, FUS	전두엽성 변성 (FTLD)
TGFBI	유전적 격자 각막 이상증
LMNA	허치슨 길포드 조로증 증후군
TRR	노인성 전신 아밀로이드증 (SSA), 가족성 아밀로이드 폴리신경병증 (FAP), 가족성 아밀로이드 심근병 (FAC)

- [0128] 타우병증의 예로는 알츠하이머 질환, 파킨슨 질환, 그리고 헌팅턴 질환을 포함하나 이에 한정되지 않는다. 기타 예시적인 타우병증은 권투선수 치매 (만성 외상성뇌증), 전두측두엽치매, 전두측두엽 변성, 신경절세포종, 신경절신경아교종, 할러포르텐-슈파츠 질환, 납 독성뇌증, 지방갈색소증, 리티코-보디그 질환, 뇌막혈관종증, 진행성 핵상 마비, 아급성경화병뇌염, 매듭 프레도미넌트 치매, 그리고 결절성 경화증을 포함한다. 일부 구체예들에 있어서, 상기 환자는 타우병증으로 진단된다. 한 구체예에 있어서, 상기 타우병증은 알츠하이머 질환, 파킨슨 질환, 그리고 헌팅턴 질환에서 선택된다. 또다른 구체예에 있어서, 상기 타우병증은 권투선수 치매 (만성 외상성뇌증), 전두측두엽치매, 전두측두엽 변성, 신경절세포종, 신경절신경아교종, 할러포르텐-슈파츠 질환, 납 독성뇌증, 지방갈색소증, 리티코-보디그 질환, 뇌막혈관종증, 진행성 핵상 마비, 아급성경화병뇌염, 매듭 프레도미넌트 치매, 그리고 결절성 경화증으로부터 선택된다.
- [0129] 자가면역 질환은 낭창, 다발성 경화증 (MS), 근위축성 측색 경화증 (ALS), 그리고 이식 거부를 포함하나 이에 한정되지 않으며, 면역계의 하나 또는 그 이상의 요소들이 감염안된 그리고 암이 아닌 동질계(isogenic) 세포들 및/또는 조직을 공격함으로써 일부 야기되는 증상들을 특징으로 한다. 따라서, 특정 구체예들은 자가면역 질환을 치료하는 방법에 관한 것이다. 한 구체예에 있어서, 상기 자가면역 질환은 낭창, 다발성 경화증 (MS), 근위축성 측색 경화증 (ALS), 그리고 이식 거부에서 선택된다. 또다른 구체예에 있어서, 상기 표적 DNA 분자는 숙주 면역계가 인지할 수 있는 폴리펩티드 서열을 인코드한다.
- [0130] 감염성 물질은 숙주 유기체 안에 존재하지 않는 핵산 서열들을 포함할 수 있다. 유전자-에디팅 단백질을 이용하여 감염성 물질 및/또는 감염 효과를 제거, 감소 또는 그렇지 않으면 전부 또는 일부를 변경시킬 수 있으며, 이러한 방식으로 이용될 때, 유전자-에디팅 단백질과 유전자-에디팅 단백질을 인코드하는 핵산은 잠재적 항감염 치료제를 구성할 수 있다는 것이 현재 밝혀졌다. 이러한 방식으로 처리될 수 있는 감염성 물질은 바이러스, 박테리아, 곰팡이, 효모, 그리고 기생충을 포함하나, 이에 국한되지 않는다. 따라서, 특정 구체예들은 하나 또는 그 이상의 감염성 물질-연합된 서열들을 표적으로 하는 유전자-에디팅 단백질을 발현시키도록 세포를 유도하는 방법에 관한 것이다. 한 구체예에 있어서, 상기 세포는 박테리아 세포, 곰팡이 세포, 효모 세포, 그리고 기생충 세포 중 하나다. 또다른 구체예에 있어서, 상기 세포는 포유류 세포다. 추가 구체예에 있어서, 상기 세포는 인간 세포다. 다른 구체예들은 하나 또는 그 이상의 감염성 물질-연관된 서열들을 표적으로 하는 하나 또는 그 이상의 유전자-에디팅 단백질을 인코드하는 핵산이 포함된 치료요법적 조성물에 관한 것이다. 특정 구체예들은 감염에 민감한 또는 저항성과 연합된 하나 또는 그 이상의 서열들을 표적으로 하는 유전자-에디팅 단백질을 발현시키도록 세포를 유도하는 방법에 관한 것이다. 다른 구체예들은 감염에 민감한 또는 저항성과 연합된 서열들을 표적으로 하는 하나 또는 그 이상의 유전자-에디팅 단백질을 인코드하는 핵산이 포함된 치료요법적 조성물에 관한 것이다. 한 구체예에 있어서, 상기 세포는 하나 또는 그 이상의 유전자-에디팅 단백질을 인코드하는 핵산과 하나 또는 그 이상의 복구 주형을 인코드하는 핵산으로 트랜스펙션된다. 또다른 구체예에 있어서, 상기 복구 주형은 저항성 유전자 또는 이의 생물학적 활성 단편 또는 변종을 포함한다. 추가 구체예에 있어서, 상기 복구 주형은 RNAi 서열을 포함한다. 추가 구체예에 있어서, 상기 RNAi 서열은 shRNA다. 다른 구체예들은 환자에게 치료요법적으로 유효량의 유전자-에디팅 단백질 또는 유전자-에디팅 단백질을 인코드하는 핵산을 투여하는 것이 포함된 감염성 질환을 치료하는 방법에 관한 것으로, 이때 상기 유전자-에디팅 단백질은 감염성 물질 안에 존재하는 하나 또는 그 이상의 뉴클레오티드 서열들에 결합할 수 있다.
- [0131] DNA-복구 경로의 하나 또는 그 이상의 성분들의 발현 및/또는 기능을 변경시킴으로써, 비-상동성 단부 결합 사건에 대한 상동성 재조합 사건의 비율이 변경될 수 있음이 현재 밝혀졌다. DNA-복구 경로의 성분들이 인코드된 유전자의 비-제한적 예로는 다음을 포함하나, 이에 한정되지 않는다: Artemis, BLM, CtIP, DNA-PK, DNA-PKcs, EXO1, FEN1, Ku70, Ku86, LIGIII, LIGIV, MRE11, NBS1, PARP1, RAD50, RAD54B, XLF, XRCC1, XRCC3, 그리고 XRCC4. 따라서, 특정 구체예들은 DNA-복구 경로의 하나 또는 그 이상의 성분들의 발현 및/또는 기능을 변경시키는 방법에 관한 것이다. 특정 구체예들에 있어서, 상기 발현 및/또는 기능은 증가된다. 다른 구체예들에 있어서, 상기 발현 및/또는 기능은 감소된다. DNA-의존적 단백질 키나제 (DNA-PK)는 비-상동성 단부-결합 DNA-복구 경로의 성분이다. 상동성 재조합을 통한 복구는 DNA-PK의 발현 변경에 의해 증가될 수 있다는 것이 현재 밝혀졌다. 한 구체예에 있어서, 세포는 DNA-PK 저해제에 접촉된다. DNA-PK 저해제의 예로는 다음을 포함하나, 이에 한정되지 않는다: 화합물 401 (2-(4-몰포리닐)-4H-피리도[2,1-a]이소퀴놀린-4-온), DMNB, IC87361, LY294002, NU7026, NU7441, OK-1035, PI 103 히드로클로라이드, 바닐린, 그리고 워트만닌(wortmannin).
- [0132] 유전적 돌연변이는 예를 들면, 정지 코돈을 도입시킴으로써 및/또는 개방 판독 틀(open reading frame)을 파괴함으로써, 단백질 산물의 길이에 영향을 줄 수 있다. 뒤센드 근이영양증이 포함된 특정 질환들은 절두된 및/또는 틀이동된(frameshifted) 단백질의 생산으로 야기될 수 있다. 유전자-에디팅 단백질을 이용하여 하나 또는 그

이상의 절두된 및/또는 틀이동된 단백질의 생산과 연관된 질환을 치료할 수 있다는 것이 지금 발견되었다. 한 구체예에 있어서, 상기 유전자-에디팅 단백질은 질환-원인이 되는 돌연변이가 포함된 엑손의 약 1kb 또는 약 0.5kb 또는 약 0.1kb 이내에 이중 가닥 브레이크를 만든다. 또다른 구체예에 있어서, 상기 유전자-에디팅 단백질은 하나 또는 그 이상의 야생형 서열들이 포함된 DNA와 공동-발현된다. 특정 구체예들에 있어서, 상기 DNA는 단일-가닥으로 되어 있다. 다른 구체예들에 있어서, 상기 DNA는 이중-가닥으로 되어 있다. 절두된 단백질의 발현에 의해 야기되는 질환은 엑손 스킵핑(skippping)에 의해 치료될 수 있다. 유전자-에디팅 단백질을 이용하여 엑손 스킵핑이 유도될 수 있다는 것이 현재 발견되었다. 한 구체예에 있어서, 상기 유전자-에디팅 단백질은 스킵되는 엑손의 약 1kb 또는 약 0.5kb 또는 약 0.1kb 이내에 이중 가닥 브레이크를 만든다. 또다른 구체예에 있어서, 상기 유전자-에디팅 단백질은 스킵되는 엑손의 상류 인트론 약 1kb 또는 약 0.5kb 또는 약 0.1kb 이내에 이중 가닥 브레이크를 만든다. 또다른 구체예에 있어서, 상기 유전자-에디팅 단백질은 스킵되는 엑손의 상류 인트론의 접합-수용체(splice-acceptor) 부위 약 1kb 또는 약 0.5kb 또는 약 0.1kb 이내에 이중 가닥 브레이크를 만든다.

[0133] 핵산이 포함된 리포솜 제형을 포함하는 핵산이 생체내로 전달될 때 간 및/또는 비장에서 축적될 수 있다. 유전자-에디팅 단백질을 인코딩하는 핵산은 간과 비장에서 유전자 발현을 조절할 수 있고, 그리고 이러한 방식으로 이용된 상기 핵산은 간과 비장 질환의 치료를 위한 잠재적 치료제를 구성할 수 있다는 것이 지금 밝혀졌다. 따라서, 특정 구체예들은 환자에게 하나 또는 그 이상의 유전자-에디팅 단백질을 인코딩하는 핵산을 전달함으로써, 간 및/또는 비장 질환을 치료하는 방법에 관한 것이다. 다른 구체예들은 하나 또는 그 이상의 유전자-에디팅 단백질을 인코딩하는 핵산이 포함된, 간 및/또는 비장 질환의 치료용 치료요법적 조성물에 관한 것이다. 치료될 수 있는 간 및/또는 비장의 질환 및 상태는 다음을 포함하나 이에 한정되지 않는다: 간염, 알코올에 의해 유도된 간 질환, 약물에 의해 유도된 간 질환, Epstein Barr 바이러스 감염, 아데노바이러스 감염, 사이토메갈로바이러스 감염, 특소포자충증, 록키산 홍반열, 비-알코올성 지방 간 질환, 혈색소증, 윌슨 질환, 길버트 질환, 그리고 간 및/또는 비장의 암. 본 발명의 상기 방법들을 이용하여 유전자-에디팅 단백질에 의해 표적화될 수 있는 서열들의 기타 예시(유전자, 유전자 패밀리와 및 좌 포함)는 표 7에 제시되며, 이는 예시를 위하여 제공되는 것이며, 이에 한정시키고자 함은 아니다.

표 7

예시적인 유전자 에디션 단백질 표적

질환/상태	유전자/패밀리/좌
나이-관련된 황반 변성	VEGF 패밀리
알츠하이머 질환	APP, PSEN1, PSEN2, APOE, CR1, CLU, PICALM, BIN1, MS4A4, MS4A6E, CD2AP, CD33, EPHA1
근위축측삭경화증	SOD1
암	BRCA1, EGFR, MYC 패밀리, TP53, PKN3, RAS 패밀리, BIRC5, PTEN, RET, KIT, MET, APC, RB1, BRCA2, VEGF 패밀리, TNF, HNPCC1, HNPCC2, HNPCC5
낭성섬유증	CFTR
당뇨병	GCK, HNF1A, HNF4A, HNF1B
뒤센드 근이영양증	DMD
판코니 빈혈	BRCA2, FANCA, FANCB, FANCC, FANCD2, FANCE, FANCF, FANCG, FANCI, FANCI, FANCL, FANCM, FANCN, FANCP, RAD51C
혈색소증	HFE, HJV, HAMP, TFR2, SLC40A1
혈우병	F8, F9, F11
HIV/AIDS	CCR5, CXCR4
헌팅턴 질환	HTT
마르판 증후군	FBN1
신경섬유종증	NF1, NF2
파킨슨 질환	SNCA, PRKN, LRRK2, PINK1, PARK7, ATP13A2
인간에서 안전한-정박 좌	AAVS1
마우스와 랫에서 안전한 정박 좌	Rosa26
겸상 적혈구 빈혈	HBB
테이-삭스 질환	HEXA
피부건조증	XPA, XPB, XPC, XPD, DDB2, ERCC4, ERCC5, ERCC6, RAD2, POLH
건선, 류마티스 관절염, 강직성 척수염, 크론 질환, 화농담샘염, 난치성 천식	TNF
건선, 류마티스 관절염, 진성적혈구증가증, 본태성 혈소판증가증, 필수섬유증과 필수화생	JAK 패밀리

[0134]

[0135]

특정 구체예들은 본 발명의 상기 하나 또는 그 이상의 치료제 조성물과 하나 또는 그 이상의 어쥬번트 요법이 포함된 복합 요법에 관한 것이다. 예시적인 어쥬번트 요법은 표 8과 U.S. 가출원 번호. 61/721,302의 표 5(이의 내용은 본 명세서에서 참고자료에 편입된다)에 제시되며, 이는 예시를 위하여 제공되는 것이며, 이에 한정시키 고자 함은 아니다.

표 8

예시적인 어류번트 요법

요법 분류	질환/상태	예시적인 요법
아세틸콜린에스테라제 저해제들	중증근부력증, 녹내장, 알츠하이머 질환, 두이소체 치매, 체위성 빈맥 증후군	에드로포늄(Edrophonium)
앙지오텐신-전환-효소 저해제	고혈압, 울혈성심부전	페린도프릴(Perindopril)
알킬화제	암	시스플라틴(Cisplatin)
혈관신생 저해제들	암, 항반 변성	베마시주맙(Bevacizumab)
앙지오텐신 II 수용체 길항제	고혈압, 당뇨병, 울혈성심부전	발사르탄(Valsartan)
항생제	박테리아 감염	아목시실린(Amoxicillin)
당뇨병약	당뇨병	메트포르민(Metformin)
항대사성물질	암, 감염	5-플루오르우라실 (5FU)
안티센스 올리고뉴클레오티드	암, 당뇨병, 근위축측삭경화증 (ALS), 고콜레스테롤혈증	미포메르센(Mipomersen)
세포독성 항생제	암	독소루비신(Doxorubicin)
뇌 심부 자극	만성 통증, 파킨슨 질환, 진전, 근육긴장이상증	N/A
도파민 항진제	파킨슨 질환, 유형 II 당뇨병, 뇌하수체 종양	브로모크립틴(Bromocriptine)
진입/융합 저해제들	HIV/AIDS	마라비록(Maraviroc)
글루카곤-유사 펩티드-1 항진제	당뇨병	엑세나타이드(Exenatide)
글루코코르티코이드(Glucocorticoids)	천식, 부신 부전, 염증 질환, 면역 질환, 박테리아성 수막염	덱사메타손(Dexamethasone)
면역억제제	장기이식, 염증성 질환, 면역 질환	아자티오프린(Azathioprine)
인슐린/인슐린 유사체들	당뇨병	NPH 인슐린
인테그라제(Integrase) 저해제들	HIV/AIDS	랄테그라비르(Raltegravir)
MAO-B 저해제들	파킨슨 질환, 우울, 치매	셀레길린(Selegiline)
성숙(Maturation) 저해제들	HIV/AIDS	베비르마트(Bevirimat)
뉴클레오시드 유사체 역-전사효소 저해제들	HIV/AIDS, B 형 간염	라미부딘(Lamivudine)
뉴클레오티드 유사체 역-전사효소 저해제들	HIV/AIDS, B 형 간염	테노포비르(Tenofovir)
비-뉴클레오시드 역-전사효소 저해제들	HIV/AIDS	릴피비린(Rilpivirine)
폐결화된 인터페론	B/C 형 간염, 다발성 경화증	인터페론 베타-1a
식물	암	파클리탁셀(Paclitaxel)

[0136]

알칼로이드/테르페노이드(terpenoids)		
프로테아제 저해제들	HIV/AIDS, C 형 간염, 기타 바이러스성 감염	텔라프레비르(Telaprevir)
방사선요법	암	근접치료(Brachytherapy)
레닌(Renin) 저해제들	고혈압	알리스크렌(Aliskiren)
스타틴(Statins)	고콜레스테롤혈증	아토르바스타틴(Atorvastatin)
토포이소메라제(Topoisomerase) 저해제들	암	토포테칸(Topotecan)
마소프레신 수용체 길항제	저나트륨혈증, 심장 질환	톨팻탄(Tolvaptan)

[0137]

- [0138] 제약학적 조제물(preparations)은 운반 시약 (별칭으로 " 트랜스펙션 시약 ") 및/또는 부형제를 추가로 포함할 수 있다. 제약학적으로 수용가능한 운반 시약들, 부형제, 그리고 조제물을 준비하고, 환자들(별칭으로 " 대상 ")에게 약학 조제물을 투여하는 방법들이 포함된 방법들과 이의 용도는 당분야에 잘 공지되어 있으며, 그리고 예를 들면, US 특허 출원 공개 번호 US 2008/0213377(이의 전체는 본 명세서의 참고자료에 편입됨)이 포함된 다수의 공개물에서 제시된다.
- [0139] 예를 들면, 본 조성물들은 약학적으로 수용가능한 염의 형태로 존재할 수 있다. 이러한 염은 예를 들면, *J. Pharma. Sci.* 66, 2-19 (1977) 그리고 *The Handbook of Pharmaceutical Salts: Properties, Selection, and Use*. P. H. Stahl 및 C. G. Wermuth (eds.), Verlag, Zurich (Switzerland) 2002 (이들은 전문이 본 명세서의 참고자료에 편입됨)에 열거된 것들을 포함한다. 약학적으로 수용가능한 염의 비-제한적인 예로는 다음을 포함한다: 황산염, 구연산염, 아세트산염, 옥살산염, 염화물, 브롬화물, 요오드화물, 질산염, 중황산염, 인산염, 산 인산염, 이소니코틴산염, 젯산염, 살리실산염, 산 구연산염, 주석산염, 올레산염, 탄닌산염, 판토텐산염, 중주석산염, 아스코르브산염, 숙신산염, 말레인산염, 겐티신산염(gentisinate), 푸마르산염, 글루콘산염, 글루카로산염(glucaronate), 사카라이드산염, 포름산염, 벤조산염, 글루타민산염, 메탄술폰산염, 에탄술폰산염, 벤젠술폰산염, p-톨루엔술폰산염, 캄포르술폰산염, 과모산염, 페닐아세트산염, 트리플루오르아세트산염, 아크릴산염, 클로로벤조산염, 디니트로벤조산염, 히드록시벤조산염, 메톡시벤조산염, 메틸벤조산염, o-아세트옥시벤조산염, 나프탈렌-2-벤조산염, 이소부티레이트, 페닐부티레이트, α-히드록시부티레이트, 부탄-1,4-디카르복실레이트, 헥신-1,4-디카르복실레이트, 카프르산염(caprate), 카푸릴산염(caprylate), 계피산염, 글리콜산염, 헵타노에이트(heptanoate), 마노산염(hippurate), 말산염, 히드록시말레인산염, 말론산, 만델레이트, 메실레이트, 니코티네이트, 프탈레이트, 테라프탈레이트, 프로피오레이트, 프로피오네이트, 페닐프로피오네이트, 세바케이트, 수베르산염, p-브로모벤젠술폰산염, 클로로벤젠술폰산염, 에틸술폰산염, 2-히드록시에틸술폰산염, 메틸술폰산염, 나프탈렌-1-술폰산염, 나프탈렌-2-술폰산염, 나프탈렌-1,5-술폰산염, 크실렌술폰산염, 타르타레이트염, 알칼리 금속 이를 테면 나트륨, 칼륨의 수산화물, 그리고 리튬; 알칼리 토금속 이를 테면 칼슘 및 마그네슘의 수산화물; 기타 금속, 이를 테면 알루미늄 및 아연의 수산화물; 암모니아, 그리고 유기 아민, 이를 테면 치환안된 또는 히드록시-치환된 모노-, 디-, 또는 트리-알킬아민, 디사이클로헥실아민; 트리부틸 아민; 피리딘; N-메틸, N-에틸 아민; 디에틸아민; 트리에틸아민; 모노-, 비스-, 또는 트리스-(2-OH-저가 알킬아민), 이를 테면 모노-, 비스-, 또는 트리스-(2-히드록시에틸)아민, 2-히드록시-tert-부틸아민, 또는 트리스-(히드록시메틸)메틸아민, N,N-디-저가 알킬-N-(히드록실-저가 알킬)-아민, 이를 테면 N,N-디메틸-N-(2-히드록시에틸)아민 또는 트리-(2-히드록시에틸)아민; N-메틸-D-글루카민; 그리고 아미노산 이를 테면 아르기닌, 리신, 그리고 이와 유사한 것들.
- [0140] 본 약학 조성물들은 액체 이를 테면 물과 석유, 동물, 식물성, 또는 합성 기원의 오일이 포함된 오일, 이를 테면 땅콩유, 대두유, 미네랄오일, 참깨유 및 이와 유사한 것들이 포함된 부형제를 포함할 수 있다. 약학 부형제는 예를 들면, 염, 아카시아검, 젤라틴, 전분 페이스트, 활석, 케라틴, 콜로이드성 규소, 요소 및 이, 이와 유사한 것들이 될 수 있다. 또한, 보조제, 안정화제, 농조화제(thickening), 윤활제, 그리고 발색제가 이용될 수 있다. 한 구체예에 있어서, 약학적으로 수용가능한 부형제는 대상에게 투여될 때 멸균된다. 적합한 약학 부형제는 전분, 포도당, 젯당, 슈크로스, 젤라틴, 맥아, 쌀, 밀가루, 석회분말, 실라카겔, 스테아레이트 나트륨, 글리세롤 모노스테아레이트, 활석, 염화나트륨, 건조된 탈지유, 글리세롤, 프로필렌, 글리콜, 물, 에탄올 및 이와 유사한 것들을 또한 포함한다. 바람직한 경우, 본 명세서에서 설명된 임의의 물질은 소량의 가습제 또는 유화제, 또는 pH 완충제를 또한 포함할 수 있다.
- [0141] 다양한 구체예들에 있어서, 본 명세서에서 설명된 상기 조성물들은 예를 들면, 약 1 mg/kg 내지 약 100 mg/kg, 약 2.5 mg/kg 내지 약 50 mg/kg, 또는 약 5 mg/kg 내지 약 25 mg/kg의 유효 투여분량(dose)으로 투여될 수 있다. 유효한 투여분량(effective dose)으로 고려될 수 있는 정확한 측정은 환자의 체격, 나이 및 질환의 유형이 포함된 각 환자에게 개별적인 요인에 근거할 수 있다. 용량(dosages)은 본 명세서 및 당분야의 지식을 가진 당업자에 의해 용이하게 확인될 수 있다. 예를 들면, 투여분량은 참고자료 *Physicians' Desk Reference*, 66th Edition, PDR Network; 2012 Edition (2011년 12월 27일), (이의 내용은 전체가 본 명세서의 참고자료에 편입됨)을 참고하여 결정될 수 있다.
- [0142] 본 발명의 활성 조성물들은 고유의 약학 조제물을 포함할 수 있다. 본 발명에 따른 이들 조성물은 상기 표적 조직이 이 경로를 통하여 이용가능하다면, 임의의 통상적인 경로를 통하여 투여될 수 있다. 경로에는 경구, 비강 또는 볼을 포함한다. 대안으로, 투여는 피부내, 피하, 근육내, 복막내 또는 정맥 주사, 또는 암 조직으로 직접 주사에 의해 이루어질 수 있다. 본 명세서에서 공개된 물질들은 카테테르 시스템에 의해 또한 투여될 수 있다. 이러한 조성물들은 본 명세서에서 설명된 것과 같은 약학적으로 수용가능한 조성물로 보통 투여될 것이다.

- [0143] 제형화 될 때, 투약형(dosage formulation)에 양립되는 방식, 그리고 치료요법적으로 효과적인 양으로 용액이 투여될 수 있다. 상기 제형은 다양한 투약형, 이를 테면 주사가능한 용액, 약물 방출 캡슐 및 이와 유사한 것들에 의해 용이하게 투여될 수 있다. 수성 용액으로 비경구(parenteral) 투여의 경우, 예를 들면, 용액은 예를 들면, 충분한 염수 또는 포도당으로 등장성이 우선 제공된 적절하게 완충된 액체 희석물이다. 이러한 수성 용액은 예를 들면, 정맥내, 근육내, 피하 그리고 복막내 투여용으로 이용될 수 있다. 바람직하게는, 멸균 수성 매체(media)는 당분야에 공지된, 특히 본 내용에 맞게 이용된다.
- [0144] 예시적인 대상 또는 환자들은 인간 및 기타 영장류 (이를 테면, 침팬지와 기타 유인원 그리고 원숭이 종), 농장 동물 (이를 테면, 소, 양, 돼지, 염소 및 말), 가정의 포유류 (이를 테면, 개와 고양이), 실험실 동물 (이를 테면, 설치류 이를 테면 마우스, 랫 그리고 기니아 피그), 그리고 조류 (이를 테면, 가정용, 야생 및 경기용 조류 이를 테면 닭, 칠면조 및 순계류(gallinaceous) 조류, 오리, 거위 및 이와 유사한 것들)이 포함되나 이에 국한되지 않은 임의의 척추동물을 말한다. 일부 구체예들에 있어서, 상기 대상은 포유류다. 일부 구체예들에 있어서, 상기 대상은 인간이다.
- [0145] 본 발명은 다음의 비-제한적 실시예들을 통하여 더 설명된다.
- [0146] **실시예들**
- [0147] *실시예 1 RNA 합성*
- [0148] 인간 유전자 XPA, CCR5, TERT, MYC, 및 BIRC5를 표적으로 하는 인간 단백질 Oct4, Sox2, Klf4, c-Myc-2 (T58A), Lin28 또는 TALENs을 인코딩하고, 다양한 조합의 정규 및 비-정규 뉴클레오티드가 포함된 RNA는 mRNA Cap 2' -O-메틸전이효소와 T7 하이 일드(High yield) RNA 합성 키트 및 Vaccinia Capping System 키트 (모두 다 New England Biolabs, Inc.의 제품)를 이용하여, 제조업자의 지침 및 본원 발명자들의 기존의 공개된 발명들 (U.S. 출원 번호. 13/465,490 (현재 U.S. 특허 번호 8,497,124), U.S. 가출원 번호. 61/637,570, U.S. 가출원 번호. 61/664,494, 국제 출원 번호. PCT/US12/67966, U.S. 가출원 번호. 61/785,404, U.S. 출원 번호. 13/931,251, 그리고 U.S. 가출원 번호. 61/842,874( 이들 모든 내용은 본 명세서의 참고자료에 편입된다) (표 9, 도 1a, 도 1b, 및 도 15)에 따라 DNA 주형으로부터 합성되었다. 상기 RNA는 그 다음 뉴클라아제-없는 물을 이용하여 100ng/μL 내지 200ng/μL사이가 되도록 희석되었다. 특정 실험을 위하여, RNase 저해제 (Superase · In, Life Technologies Corporation)는 1μL/100μg의 RNA 농도로 추가되었다. RNA 용액은 4°C에서 보관되었다. 재프로그래밍 실험을 위하여, Oct4, Sox2, Klf4, c-Myc-2 (T58A), 및 Lin28을 인코딩하는 RNA는 3:1:1:1:1의 몰비로 혼합되었다.

표 9

RNA 합성

구형	뉴클레오티드	반응 용적/ $\mu$ L	ivT 수율/ $\mu$ g
Oct4	A, G, U, C	10	64.9
Oct4	A, G, 0.25 4sU, C	10	64.3
Oct4	A, G, 0.5 4sU, C	10	62.8
Oct4	A, G, 0.75 4sU, C	10	51.9
Oct4	A, G, 4sU, C	10	0
Oct4	A, 0.5 7dG, 0.75 4sU, 0.25 piC	20	70.1
Sox2	A, 0.5 7dG, 0.75 4sU, 0.25 piC	10	29.6
Klf4	A, 0.5 7dG, 0.75 4sU, 0.25 piC	10	29.5
c-Myc-2 (T58A)	A, 0.5 7dG, 0.75 4sU, 0.25 piC	10	25.9
Lin28	A, 0.5 7dG, 0.75 4sU, 0.25 piC	10	36.7
Oct4	A, 0.5 7dG, 0.75 4sU, 0.5 piC	20	51.7
Sox2	A, 0.5 7dG, 0.75 4sU, 0.5 piC	10	23.0
Klf4	A, 0.5 7dG, 0.75 4sU, 0.5 piC	10	22.3
c-Myc-2 (T58A)	A, 0.5 7dG, 0.75 4sU, 0.5 piC	10	21.4
Lin28	A, 0.5 7dG, 0.75 4sU, 0.5 piC	10	23.3
Oct4	A, 0.5 7dG, 0.8 4sU, 0.2 5mU, 0.5 piC	20	50.8
Oct4	A, 0.5 7dG, 0.7 4sU, 0.3 5mU, 0.5 piC	20	58.3
Oct4	A, 0.5 7dG, 0.6 4sU, 0.4 5mU, 0.5 piC	20	58.3
Oct4	A, 0.5 7dG, 0.5 4sU, 0.5 5mU, 0.5 piC	20	68.2
Oct4	A, 0.5 7dG, 0.4 4sU, 0.6 5mU, 0.5 piC	20	78.7
Oct4	A, G, psU, 5mC	10	110.4
Oct4	A, G, psU, 0.5 piC	10	85.0
Oct4	A, 0.5 7dG, psU, 0.5 piC	10	58.3
Oct4	A, 0.5 7dG, psU, 5mC	10	27.0
Oct4	A, 0.5 7dG, 0.5 5mU, 0.5 piC	20	109.0
Oct4	A, 0.5 7dG, 0.6 5mU, 0.5 piC	20	114.8
Oct4	A, 0.5 7dG, 0.7 5mU, 0.5 piC	20	107.2
Oct4	A, 0.5 7dG, 0.8 5mU, 0.5 piC	20	110.9
Oct4	A, 0.5 7dG, 0.9 5mU, 0.5 piC	20	103.4
Oct4	A, 0.5 7dG, 5mU, 0.5 piC	20	97.8
Oct4	A, 0.5 7dG, psU, 0.5 piC	20	124.5
Sox2	A, 0.5 7dG, psU, 0.5 piC	20	109.0
Klf4	A, 0.5 7dG, psU, 0.5 piC	20	112.8
c-Myc-2 (T58A)	A, 0.5 7dG, psU, 0.5 piC	20	112.8
Lin28	A, 0.5 7dG, psU, 0.5 piC	20	126.5

[0149]

Oct4	A, G, psU, 5mC	20	213.4
Sox2	A, G, psU, 5mC	10	107.2
Klf4	A, G, psU, 5mC	10	106.1
c-Myc-2 (T58A)	A, G, psU, 5mC	10	97.8
Lin28	A, G, psU, 5mC	10	95.9
Oct4	A, 0.5 7dG, psU, 0.5 piC	20	124.2
Sox2	A, 0.5 7dG, psU, 0.5 piC	10	57.3
Klf4	A, 0.5 7dG, psU, 0.5 piC	10	59.6
c-Myc-2 (T58A)	A, 0.5 7dG, psU, 0.5 piC	10	66.7
Lin28	A, 0.5 7dG, psU, 0.5 piC	10	65.2
Oct4	A, 0.5 7dG, psU, 0.3 piC	10	60.5
Sox2	A, 0.5 7dG, psU, 0.3 piC	10	58.8
Klf4	A, 0.5 7dG, psU, 0.3 piC	10	57.9
c-Myc-2 (T58A)	A, 0.5 7dG, psU, 0.3 piC	10	62.0
Lin28	A, 0.5 7dG, psU, 0.3 piC	10	64.3
Oct4	A, 0.5 7dG, 0.5 5mU, 5mC	10	64.7
Sox2	A, 0.5 7dG, 0.5 5mU, 5mC	10	62.4
Klf4	A, 0.5 7dG, 0.5 5mU, 5mC	10	75.6
c-Myc-2 (T58A)	A, 0.5 7dG, 0.5 5mU, 5mC	10	69.4
Lin28	A, 0.5 7dG, 0.5 5mU, 5mC	10	60.7
Oct4	A, 0.5 7dG, 0.5 4sU, 0.5 5mU, 5mC	10	48.3
Sox2	A, 0.5 7dG, 0.5 4sU, 0.5 5mU, 5mC	10	54.0
Klf4	A, 0.5 7dG, 0.5 4sU, 0.5 5mU, 5mC	10	58.7
c-Myc-2 (T58A)	A, 0.5 7dG, 0.5 4sU, 0.5 5mU, 5mC	10	54.7
Lin28	A, 0.5 7dG, 0.5 4sU, 0.5 5mU, 5mC	10	54.1
Oct4	A, 0.5 7dG, 0.3 5mU, 5mC	10	69.6
Sox2	A, 0.5 7dG, 0.3 5mU, 5mC	10	69.6
Klf4	A, 0.5 7dG, 0.3 5mU, 5mC	10	87.4
c-Myc-2 (T58A)	A, 0.5 7dG, 0.3 5mU, 5mC	10	68.1
Lin28	A, 0.5 7dG, 0.3 5mU, 5mC	10	74.3
Oct4	A, 0.5 7dG, 0.4 5mU, 5mC	10	71.3
Sox2	A, 0.5 7dG, 0.4 5mU, 5mC	10	69.7
Klf4	A, 0.5 7dG, 0.4 5mU, 5mC	10	74.8
c-Myc-2 (T58A)	A, 0.5 7dG, 0.4 5mU, 5mC	10	83.7
Lin28	A, 0.5 7dG, 0.4 5mU, 5mC	10	69.9
XPA-L1	A, G, psU, 5mC	20	120.0
XPA-L2	A, G, psU, 5mC	20	114.0
XPA-R1	A, G, psU, 5mC	20	159.6

[0150]

CCR5-L1	A, G, psU, 5mC	20	170.4
CCR5-L2	A, G, psU, 5mC	20	142.8
CCR5-R1	A, G, psU, 5mC	20	132.0
CCR5-R2	A, G, psU, 5mC	20	154.8
CCR5-L1	A, G, psU, 5mC	10	56.6
CCR5-L2	A, G, psU, 5mC	10	58.5
CCR5-R1	A, G, psU, 5mC	10	56.8
CCR5-R2	A, G, psU, 5mC	10	58.7
TERT-L	A, G, U, C	10	49.4
TERT-R	A, G, U, C	10	37.6
MYC-L	A, G, U, C	10	39.6
MYC-R	A, G, U, C	10	33.7
BIRC5-L	A, G, U, C	10	63.0
BIRC5-R	A, G, U, C	10	44.5
TERT-L	A, 0.5 7dG, 0.4 5mU, 5mC	10	50.8
TERT-R	A, 0.5 7dG, 0.4 5mU, 5mC	10	58.3
MYC-L	A, 0.5 7dG, 0.4 5mU, 5mC	10	40.8
MYC-R	A, 0.5 7dG, 0.4 5mU, 5mC	10	41.4
BIRC5-L	A, 0.5 7dG, 0.4 5mU, 5mC	10	35.8
BIRC5-R	A, 0.5 7dG, 0.4 5mU, 5mC	10	41.5
Oct4 (서열 번호: 8)	A, 0.5 7dG, 0.4 5mU, 5mC	300	2752.0
Sox2 (서열 번호: 9)	A, 0.5 7dG, 0.4 5mU, 5mC	100	965.0
Klf4 (서열 번호: 10)	A, 0.5 7dG, 0.4 5mU, 5mC	100	1093.8
c-Myc-2 (T58A)	A, 0.5 7dG, 0.4 5mU, 5mC	100	1265.6
Lin28	A, 0.5 7dG, 0.4 5mU, 5mC	100	1197.8
Oct4	A, 0.5 7dG, 0.35 5mU, 5mC	30	155.7
Sox2	A, 0.5 7dG, 0.35 5mU, 5mC	15	79.8
Klf4	A, 0.5 7dG, 0.35 5mU, 5mC	15	90.0
c-Myc-2 (T58A)	A, 0.5 7dG, 0.35 5mU, 5mC	15	83.2
Lin28	A, 0.5 7dG, 0.35 5mU, 5mC	15	74.0
APP UTR_L (헛)	A, 0.5 7dG, 0.4 5mU, 5mC	20	37.9
APP UTR_R (헛)	A, 0.5 7dG, 0.4 5mU, 5mC	20	40.0
APP 엑손2L (헛)	A, 0.5 7dG, 0.4 5mU, 5mC	20	38.6
APP 엑손2R (헛)	A, 0.5 7dG, 0.4 5mU, 5mC	20	37.9
APP 6L (인간)	A, 0.5 7dG, 0.4 5mU, 5mC	20	43.1
APP 6R (인간)	A, 0.5 7dG, 0.4 5mU, 5mC	20	43.7
APP 7L (인간)	A, 0.5 7dG, 0.4 5mU, 5mC	20	42.1
APP 7R (인간)	A, 0.5 7dG, 0.4 5mU, 5mC	20	36.2

[0151]

APP 670L (헛)	A, 0.5 7dG, 0.4 5mU, 5mC	20	27.0
APP 670R (헛)	A, 0.5 7dG, 0.4 5mU, 5mC	20	28.3
APP 678L (헛)	A, 0.5 7dG, 0.4 5mU, 5mC	20	30.1
APP 678R (헛)	A, 0.5 7dG, 0.4 5mU, 5mC	20	26.2
APP 680L (헛)	A, 0.5 7dG, 0.4 5mU, 5mC	20	8.1
APP 680R (헛)	A, 0.5 7dG, 0.4 5mU, 5mC	20	25.4
APP 6L (인간)	A, 0.5 7dG, 0.4 5mU, 5mC	40	48.6
APP 6R (인간)	A, 0.5 7dG, 0.4 5mU, 5mC	40	48.6
APP 6L (인간)	A,G,U,C	10	54.0
APP 6R (인간)	A,G,U,C	10	61.0
APP 6L (인간)	A, 0.5 7dG, 0.4 5mU, 5mC	10	35.4
APP 6R (인간)	A, 0.5 7dG, 0.4 5mU, 5mC	10	48.0

[0152]

- [0153] 실시예 2 세포에 합성 RNA를 트랜스펙션
- [0154] 6-웰 플레이트에서 트랜스펙션을 위하여, 2 µg RNA와 6 µL 트랜스펙션 시약 (리포펙타민 RNAiMAX, Life Technologies Corporation)은 우선 복합 배지 (Opti-MEM, Life Technologies Corporation 또는 DMEM/F12 + 10 µg/mL 인슐린 + 5.5 µg/mL 트란스페린 + 6.7ng/mL 셀레나이트 나트륨 + 2 µg/mL 에탄올아민)에서 각각 총 용적 60 µL가 되도록 별도로 희석되었다. 그 다음 희석된 RNA와 트랜스펙션 시약은 혼합되고, 상기 트랜스펙션 시약-제조업자의 지침에 따라 15분간 실온에서 항온처리되었다. 그 다음 복합물은 배양물내 세포에 추가되었다. 30 µL 내지 240 µL의 복합물은 웰당 2mL의 트랜스펙션 배지가 미리 포함된 6-웰 플레이트의 각 웰에 추가되었다. 웰 안에 복합물이 분포되도록 부드럽게 플레이트를 흔들었다. 세포들은 4시간 내지 하룻밤 동안 복합물과 항온처리된 후, 이 배지는 새로운 트랜스펙션 배지 (2mL/웰)로 대체되었다. 24-웰과 96-웰 플레이트에서 트랜스펙션을 위하여 용적은 저율로 달았다. 대안으로, 0.5 µg 내지 5 µg의 RNA와 RNA µg당 2-3 µL의 트랜스펙션 시약 (리포펙타민 2000, Life Technologies Corporation)은 각각 총 용적이 5 µL와 100 µL이 되도록 복합 배지 (Opti-MEM, Life Technologies Corporation 또는 DMEM/F12 + 10 µg/mL 인슐린 + 5.5 µg/mL 트란스페린 + 6.7ng/mL 셀레나이트 나트륨 + 2 µg/mL 에탄올아민)에서 우선 별도로 희석되었다. 그 다음 희석된 RNA와 트랜스펙션 시약이 혼합되었으며, 10분간 실온에서 항온처리되었다. 그 다음 복합물은 배양물내 세포에 추가되었다. 10 µL 내지 240 µL의 복합물은 웰당 2mL의 트랜스펙션 배지가 미리 포함된 6-웰 플레이트의 각 웰에 추가되었다. 특정 실험에서, DMEM + 10% FBS 또는 DMEM + 50% FBS가 트랜스펙션 배지를 대신하여 이용되었다. 웰 안에 복합물이 분포되도록 부드럽게 플레이트를 흔들었다. 세포들은 4시간 내지 하룻밤 동안 복합물과 항온처리되었다. 특정 실험에서, 상기 배지는 트랜스펙션 후 4시간 또는 24시간 후 새로운 트랜스펙션 배지 (2mL/웰)로 대체되었다.
- [0155] 실시예 3 비-정규 뉴클레오티드들이 포함된 합성 RNA의 독성 및 합성 RNA로부터 단백질 해독
- [0156] 1차 인간 섬유아세포들은 실시예 2에 따라, 실시예 1에서 합성된 RNA를 이용하여 트랜스펙션되었다. 세포들은 고정되었고, Oct4에 대한 항체를 이용하여 트랜스펙션된 후 20-24시간에 착색되었다. 상기 RNA의 상대적인 독성은 고정시점에서 세포 밀도를 측정함으로써 결정되었다.
- [0157] 실시예 4 트랜스펙션 배지 제형화
- [0158] 세포들을 핵산으로 효과적으로 트랜스펙션시키고, 효율적인 재프로그래밍을 위하여 세포-배양 배지 ("트랜스펙션 배지")가 개발되었다:
- [0159] DMEM/F12 + 15mM HEPES + 2mM L-알라닐-L-글루타민 + 10 µg/mL 인슐린 + 5.5 µg/mL 트란스페린 + 6.7ng/mL 셀레나이트 나트륨 + 2 µg/mL 에탄올아민 + 50 µg/mL L-아스코르브산 2-인산염 세스퀴마그네슘 염 수화물 + 4 µg/mL 콜레스테롤 + 1 µM 히드로코르티손 + 25 µg/mL 폴리옥시에틸렌소르비탄 모노올레산염 + 2 µg/mL D-알파-토코페롤 아세트산염 + 20ng/mL bFGF + 5mg/mL 처리된 인간 혈청 알부민.
- [0160] 다능성 줄기 세포들이 포함된 다양한 세포 유형의 강력한, 장기 배양을 지원하기 위하여 이 배지의 변형 ("유지 배지")이 개발되었다:
- [0161] DMEM/F12 + 2mM L-알라닐-L-글루타민 + 10 µg/mL 인슐린 + 5.5 µg/mL 트란스페린 + 6.7ng/mL 셀레나이트 나트륨 + 2 µg/mL 에탄올아민 + 50 µg/mL L-아스코르브산 2-인산염 세스퀴마그네슘 염 수화물 + 20ng/mL bFGF + 2ng/mL TGF-β1.
- [0162] 처리된 인간 혈청 알부민은 32mM 옥타노에이트 나트륨의 추가에 의해 처리되고, 이어서 60°C에서 4h동안 가열되고, 실온에서 6시간 동안 이온-교환 수지 (AG501-X8(D), Bio-Rad Laboratories, Inc.)로 처리되고, 텍스트란-피복된 활성탄 (C6241, Sigma-Aldrich Co. LLC.)으로 실온에서 하룻밤 동안 처리되고, 이어서 원심분리, 여과, 뉴클라아제-없는 물로 10% 용액으로 조정된 후, 배지의 다른 성분이 추가되어 처리된 배지는 다른 언급이 없는 한 본 명세서에서 설명된 모든 실시예에서 트랜스펙션 배지로 이용되었다. 재프로그래밍 실험을 위하여, 다른 언급이 없는 한, 피복안된 플레이트 상에서 DMEM + 10%-20% 혈청에서, 또는 피브로넥틴과 비트로넥틴-피복된 플레이트 상에서 트랜스펙션 배지에서 세포들이 도말되었다. 조건-상기 트랜스펙션 배지는 다른 언급이 없는 한, 조건화되지 않았다. 상기 트랜스펙션 배지의 제형화는 배양되는 특이적 세포의 필요에 부합되도록 조정될 수 있음이 이해된다. 처리된 인간 혈청 알부민은 배지의 수행능력에 음성적인 영향없이 다른 처리된 알부민, 예를 들면, 처리된 소의 혈청 알부민으로 대체될 수 있음이 추가 인정된다. 다른 글루타민 원천은 L-알라닐-L-글루타민, 예를 들면, L-글루타민을 대신하여 또는 이에 추가하여 이용될 수 있으며, 다른 완충 시스템은 HEPES, 예를 들면, 인산염, 중탄산염, 등을 대신하여 또는 이에 추가하여 이용될 수 있으며, 셀레늄은 셀레나이트 나트륨을 대신하여 또는 이에 추가하여 다른 형태, 예를 들면, 셀레누스 산(selenous acid)으로 제

공될 수 있으며, 다른 항산화제가 L-아스코르브산 2-인산염 세스퀴마그네슘 염 수화물 및/또는 D-알파-토코페롤 아세트산염, 예를 들면, L-아스코르브산을 대신하여, 또는 이에 추가하여 이용될 수 있으며, 다른 계면활성제가 폴리옥시에틸렌소르비탄 모노올레산염, 예를 들면, Pluronic F-68 및/또는 Pluronic F-127을 대신하여 또는 이에 추가하여 이용될 수 있으며, 다른 기저배지가 DMEM/F12, 예를 들면, MEM, DMEM, 등을 대신하여 또는 이에 추가하여 이용될 수 있으며, 그리고 배양 배지의 성분들은 시간에 따라 변경될 수 있는데, 예를 들면, 배지의 기능에 음성적 영향을 주지 않고, 0일차에서 5일차 시점까지는 TGF-β이 없는 배지를 이용하고, 그 다음 5일차 이후부터 2ng/mL TGF-β이 포함된 배지를 이용할 수 있다는 것이 추가 인정된다. 다른 성분들, 예를 들면, 지방산, 리소포스파티드산, 리소스핑고미엘린, 스펡고신-1-인산염, 다른 스펡고리피드, Y-27632와 티아조비딘이 포함된 ROCK 저해제들, TGF-β/NODAL 패밀리 단백질의 구성원, IL-6, Wnt 패밀리 단백질의 구성원, 등이 배지의 성능에 음성적 영향없이 적절한 농도로 추가될 수 있는데, 그리고 특이적 세포 유형의 성장을 촉진 또는 저해시키는 것으로 알려진 성분들, 및/또는 특이적 세포 유형의 성장을 촉진 또는 저해시키는 것으로 알려진 단백질 또는 다른 분자들의 항진제 및/또는 길항제, 예를 들면, 스펡고신-1-인산염과 다능성 줄기 세포들이 배지의 성능에 음성적 영향없이 적절한 농도로 추가될 수 있다는 것이 추가 인정된다. 본 발명은 정제된 화합물들로 추가되는 성분들, 잘-특정된 혼합물의 일부분으로 추가되는 성분들, 복합물 또는 특정한 혼합물의 일부분, 예를 들면, 동물 또는 식물 오일의 일부분으로 추가되는 성분들, 그리고 생물학적 공정, 예를 들면, 조건화 (conditioning)에 의해 추가되는 성분들에 대하여 대등하게 관계한다. 이들 성분들의 농도는 범위내 열거된 값으로부터 배지의 성능에 음성적 영향을 주지 않으면서 당업자에게 자명한 것으로 변화될 수 있다. 배지의 동물 성분-없는 형태는 모든 단백질 성분들의 재조합 형태, 그리고 반-합성 식물-유도된 콜레스테롤 (Avanti Polar Lipids, Inc.)이 포함된, 모든 다른 성분들의 비-동물-유도된 형태를 이용하여 만들었다.

[0163] 실시예 5 비-정규 뉴클레오티드가 포함된 합성 RNA를 이용하여 인간 섬유아세포의 재프로그래밍

[0164] 1차 인간 신생 섬유아세포들은 재조합 인간 피브로넥틴과 재조합 인간 비트로넥틴 (각각은 1 μg/mL 및 1mL/웰의 농도로 DMEM/F12에서 희석되었으며, 그리고 실온에서 1시간 동안 항온처리되었다)으로 피복된 6-웰 플레이트 상에 트랜스펙션 배지내 웰당 10,000개의 세포 밀도로 도말되었다. 다음 날, 상기 세포들은 A, 0.5 7dG, 0.5 5mU, 및 5mC이 포함된 RNA를 이용하여 실시예 2에서와 같이 트랜스펙션되었는데, 첫 날 RNA 투여분량은 0.5 μg/웰이며, 둘째 날은 0.5 μg/웰이며, 셋째 날은 2 μg/웰이며, 넷째 날은 2 μg/웰이고, 그리고 다섯째 날은 4 μg/웰이었다. 재프로그래밍과 일치되는 형태를 보이는 세포들의 작은 콜로니는 빠르면 5일차부터 보이기 시작되었다. 상기 배지는 6일차에 유지 배지로 대체되었다. 세포는 Oct4에 대한 항체를 이용하여 착색되었다. 재프로그래밍과 일치되는 형태를 보이는 세포들의 Oct4-양성 콜로니는 웰 도체에서 볼 수 있었다 (도 2).

[0165] 실시예 6 합성 RNA를 이용하여 피더-없는, 계대-없는, 면역억제제-없는, 조건화-없는의 1차 성인 섬유아세포의 재프로그래밍

[0166] 6-웰 플레이트의 웰은 재조합 인간 피브로넥틴과 재조합 인간 비트로넥틴 (DMEM/F12, 1 μg/mL, 1mL/웰)의 혼합물로 1시간 동안 실온에서 피복되었다. 1차 성인 인간 섬유아세포들은 피복된 웰 안의 트랜스펙션 배지에서 웰당 10,000개 세포의 밀도로 도말되었다. 세포들은 37°C, 5% CO<sub>2</sub>, 및 5% O<sub>2</sub>에서 유지되었다. 다음 날부터 세포들은 실시예 1에서 합성된 RNA로 5일간 매일 실시예 2에 따른 트랜스펙션이 시작되어, 5일간 지속되었다. 5일간 매일 트랜스펙션된 각 총량은 0.5 μg, 0.5 μg, 2 μg, 2 μg, 그리고 4 μg이었다. 4번째 트랜스펙션을 시작할 때, 상기 배지는 일일 두차례 대체되었다. 최종 트랜스펙션후 그날 상기 배지는 10 μM Y-27632가 보충된 트랜스펙션 배지로 대체되었다. 재프로그래밍 형태를 가진 세포들의 조밀한 콜로니는 4일차에 각 트랜스펙션된 웰에서 볼 수 있었다 (도 8).

[0167] 실시예 7 성인 인간 피부 생검 조직으로부터 세포의 효과적인, 신속한 유도 및 재프로그래밍

[0168] 승인된 프로토콜에 따라 건강한 31세의 지원자에서 전층-두께의 피부 펀치 생검이 수행되었다. 간략하게 설명하자면, 좌측 상박 피부 일부를 2.5% 리도카인 국소 제공에 의해 마취시켰다. 이 부위는 70% 이소프로판올로 살균되었으며, 1.5 mm-직경 펀치를 이용하여 전체 두께 피부 생검이 수행되었다. 상기 조직은 인산염-완충된 염수 (PBS)로 헹구내었으며, 250 μL의 TrypLE Select CTS (Life Technologies Corporation)가 포함된 1.5mL 튜브 안에 넣어 두었고, 그리고 37°C에서 30분간 항온처리되었다. 그 다음 상기 조직은 250 μL의 DMEM/F12-CTS (Life Technologies Corporation) + 5mg/mL 콜라게나아제가 포함된 1.5mL 튜브로 옮기고, 37°C에서 2시간 항온처리되었다. 집게를 이용하여 상피가 제거되었으며, 조직은 기계적으로 해리되었다. 세포들은 DMEM/F12-CTS에서 2회 세척되었다. 동일한 지원자에서 정맥절개술(Phlebotomy)이 또한 수행되었으며, 정맥혈은 Vacutainer SST 튜브 (Becton, Dickinson and Company)에 수집되었다. 혈청은 제조업자의 지시에 따라 단리되었다. 동질동계

(Isogenic) 도말 배지는 DMEM/F12-CTS + 2mM L-알라닐-L-글루타민 (Sigma-Aldrich Co. LLC.) + 20% 인간 혈청을 혼합하여 준비되었다. 피부 조직 시료에서 얻은 세포는 피브로넥틴-피복된 6-웰 플레이트의 동질계 도말 배지에서 도말되었다. 섬유아세포 형태를 가진 많은 세포들이 2일차 시점에서 부착되고 확산되기 시작하였다 (도 3a). 세포들은 Synth-a-Freeze (Life Technologies Corporation)에서 확장되었고, 동결되었다.

[0169] 세포는 웰당 5,000개의 세포 밀도로 6-웰 플레이트에 계대되었다. 다음 날, 상기 배지는 트랜스펙션 배지로 대체되었으며, 상기 세포들은 A, 0.5 7dG, 0.4 5mU, 및 5mC이 포함된 RNA를 이용하여 실시예 2에서와 같이 트랜스펙션되었는데, 첫 날 RNA 투여분량은 0.5 µg/웰 이며, 둘째 날은 0.5 µg/웰이며, 셋째 날은 2 µg/웰이며, 넷째 날은 2 µg/웰이고, 그리고 다섯째 날은 2 µg/웰이었다. 특정 웰들에는 6일차와 7일차에 추가로 2 µg/웰 트랜스펙션이 제공되었다. 또한, 특정 웰들에는 4일차부터 계속 2ng/mL TGF-β1이 제공되었다. 상기 배지는 6일차에 유지 배지로 대체되었다. 재프로그래밍과 일치되는 형태를 보이는 세포들의 콜로니는 빠르면 5일차 내지 10일 사이에 보이기 시작되었다. (도 3b). 콜로니는 신속하게 성장되었으며, 많은 것들은 배아 줄기-세포 콜로니와 유사한 형태를 나타내었다 (도 3c). 콜로니를 찍어내어, 재조합 인간 피브로넥틴과 재조합 인간 비트로넥틴 (각각 1 µg/mL 및 1mL/웰의 농도로 DMEM/F12에서 희석되었으며, 실온에서 1시간 동안 항온처리되었다)이 피복된 웰에 도말되었다. 세포들은 신속하게 성장되었으며, 계통이 확립되도록 계대되었다.

[0170] 실시예 8 CCR5를 표적으로 하는 RiboSlice의 합성

[0171] 다음 서열들: L1: TCATTTCCATACAGTCAGT, L2: TTTCCATACAGTCAGTATC, R1: TGACTATCTTTAATGTCTGG, and R2: TATCTTTAATGTCTGGAAT을 표적으로 하는 RiboSlice 쌍은 실시예 1에 따라 합성되었다 (도 4a와 도 4b). 이들 쌍들은 인간 CCR5 유전자의 센스 가닥 (L1 및 L2) 또는 안티센스 가닥 (R1 및 R2) 안에 20-bp 부위를 표적으로 한다. 다음의 쌍들이 만들어졌다: L1&R1, L1&R2, L2&R1, 그리고 L2&R2.

[0172] 실시예 9 부정합(Mismatch) 탐지 뉴클레아제를 이용하여 CCR5 유전자-에디팅 효과의 측정

[0173] 1차 인간 섬유아세포들은 재조합 인간 피브로넥틴과 재조합 인간 비트로넥틴 (각각 1 µg/mL 및 1mL/웰의 농도로 DMEM/F12에서 희석되었으며, 그리고 실온에서 1시간 동안 항온처리되었다)으로 피복된 6-웰 플레이트 상에 트랜스펙션 배지내 웰당 10,000개의 세포 밀도로 도말되었다. 다음 날부터 상기 세포들은 실시예 8에서 합성된 RNA로 5일간 매일 실시예 2에 따른 트랜스펙션되었다. 상기 트랜스펙션 후 2일차, 게놈 DNA가 단리되었고, 정제되었다. CCR5 유전자내의 영역은 프라이머 F: AGCTAGCAGCAAACCTTCCTCA 및 R: AAGGACAATGTTGTAGGAGCCCA을 이용하여 PCR에 의해 증폭되었다. 150ng의 증폭된 PCR 산물은 10mM Tris-Cl + 50mM KCl + 1.5mM MgCl<sub>2</sub>에서 150ng의 기준 DNA와 혼성화되었다. 상기 혼성화된 DNA는 부정합-탐지 엔도뉴클레아제 (SURVEYOR 뉴클레아제, Transgenomic, Inc.)로 처리되었으며, 생성된 산물은 아가로스 겔 전기영동 (도 4c 및 도 4d)에 의해 분석되었다.

[0174] 실시예 10 RiboSlice을 이용한 반복 트랜스펙션에 의한 고-효율 유전자 에디팅

[0175] 1차 인간 섬유아세포들은 실시예 9와 같이 도말되었다. 다음 날부터 상기 세포들은 실시예 8에서 합성된 RNA로 5일간 매일 실시예 2에 따른 트랜스펙션되었다. 다음 날 웰중 하나에 있는 세포들은 두번째 트랜스펙션되었다. 제 2 트랜스펙션 후 2일 시점에서, 유전자 에디팅의 효율은 실시예 9에서와 같이 측정되었다 (도 4e).

[0176] 실시예 11 RiboSlice 및 DNA-없는, 피더-없는, 면역억제제-없는, 조건화-없는 인간 섬유아세포의 재프로그래밍을 이용하여 CCR5의 유전자-에디팅

[0177] 1차 인간 섬유아세포들은 실시예 9와 같이 도말되었다. 다음 날부터 상기 세포들은 실시예 8에서 합성된 RNA로 실시예 2에 따른 트랜스펙션되었다. 대략 48h 후, 상기 세포들은 실시예 5에 따라, 실시예 1에서 합성된 RNA를 이용하여 재프로그래밍되었다. 재프로그래밍의 형태학적 특징을 가진 세포들의 큰 콜로니들이 실시예 5에서와 같이 보이기 시작되었다 (도 4f). 계통을 확립하기 위하여 콜로니들을 찍어내었다. 유전자 에디팅을 확인하기 위하여 세포 계통은 직접 서열화되었다 (도 4g).

[0178] 실시예 12 HIV/AIDS용 유전자-에디트된 재프로그래밍된 세포를 포함하는 개인맞춤화된 세포-대치 요법

[0179] 환자 피부 세포들은 본 발명자의 기존의 공개된 발명 (U.S. 출원 번호. 13/465,490, U.S. 가출원 번호. 61/637,570, 그리고 U.S. 가출원 번호. 61/664,494) 및/또는 실시예 11에 따라 유전자 에디트되며, 조혈 세포로 재프로그래밍된다. 그 다음 배양 용기로부터 세포들은 효소적으로 방출되며, 그리고 CD34+/CD90+/Lin<sup>-</sup> 또는 CD34+/CD49f+/Lin<sup>-</sup> 세포들이 또한 단리된다. 약 1 X 10<sup>3</sup> 내지 약 1 X 10<sup>5</sup> 세포들은 환자의 주요 혈관 안으로 주

입된다. 조혈 세포들은 골수 공간으로 회귀되어, 접목된다(engraft).

- [0180] 실시예 13 APP-비활성화된 랫 배아 줄기 세포의 생산
- [0181] 랫의 배아 줄기 세포들은 랫 줄기 세포 배지에서 웰당 10,000개의 세포 밀도로 6-웰 플레이트에 도달된다. 다음 날부터 상기 세포들은 다음의 서열을 표적으로 하는 실시예 1에서 합성된 0.5 μg/웰의 RiboSlice로 실시예 2와 같이 트랜스펙션된다: L: ttctgtggtaaactcaacat 그리고 R: tctgactcccattttccatt (0.25 μg L 및 0.25 μg R).
- [0182] 실시예 14 APP-비활성화된 랫의 배아 줄기 세포를 이용하여 APP-녹아웃 랫의 생산
- [0183] 랫의 배아 줄기 세포들은 실시예 13에 따라 유전자-에디팅되고, 랫의 낭포로 현미주사된다(microinjected). 현미주사된 낭포들은 그 다음 상상임신한 암컷 랫에게 전이된다.
- [0184] 실시예 15 녹아웃 랫의 생성을 위하여 APP-비활성화된 배의 생산
- [0185] 다음 서열들: L: ttctgtggtaaactcaacat 및 R: tctgactcccattttccatt을 표적으로 하는 RiboSlice 쌍은 실시예 1에 따라 합성된다. 5 μg/μL 농도의 RiboSlice는 1-세포-단계 랫의 배아의 핵(pronucleus) 또는 세포질로 주사된다. 그 다음 배아는 상상임신 암컷 랫에게 전이된다.
- [0186] 실시예 16 비-정규 뉴클레오티드들이 포함된 합성 RNA와 복구 주형으로 세포를 트랜스펙션
- [0187] 6-웰 플레이트에서 트랜스펙션을 위하여, 인간 APP 유전자의 엑손 16을 표적으로 하는 유전자-에디팅 단백질을 인코딩하는 1 μg RNA, 상기 표적 세포에 존재하지 않는 PstI 제한 부위가 포함된 단일-가닥으로 된 복구 주형 DNA 1 μg, 그리고 6 μL 트랜스펙션 시약 (리포펙타민 RNAiMAX, Life Technologies Corporation)은 우선 총 용적 120 μL가 되도록 별도로 복합 배지 (Opti-MEM, Life Technologies Corporation)에서 희석되었다. 희석된 RNA, 복구 주형, 그리고 트랜스펙션 시약은 그 다음 혼합되고, 상기 트랜스펙션 시약의 제조업자의 지시에 따라 15분간 실온에서 항온처리되었다. 복합물은 배양물내 세포에 추가되었다. 대략 120 μL의 복합물은 웰당 2mL의 트랜스펙션 배지가 미리 포함된 6-웰 플레이트의 각 웰에 추가되었다. 웰 안에 복합물이 분포되도록 부드럽게 플레이트를 흔들었다. 세포들은 4시간 내지 하룻밤 동안 복합물과 항온처리된 후, 이 배지는 새로운 트랜스펙션 배지 (2mL/웰)로 대체되었다. 다음 날, 상기 배지는 DMEM + 10% FBS로 교환되었다. 트랜스펙션 후 2일차, 계놈 DNA가 단리되었고, 정제되었다. APP 유전자 안의 영역은 PCR에 의해 증폭되었고, 증폭된 산물은 PstI으로 절단되고, 겔 전기영동에 의해 분석되었다 (도 16).
- [0188] 실시예 17 안전한 정박 위치에서 랫의 배아 줄기 세포로 전이유전자의 삽입
- [0189] 랫의 배아 줄기 세포들은 랫 줄기 세포 배지에서 웰당 10,000개의 세포 밀도로 6-웰 플레이트에 도달된다. 다음 날, 실시예 1에 따라 합성된, 다음 서열들: L: TATCTCCAGAAAGACTCCA 및 R: TTCCTTCCCTTCTTCCC을 표적으로 하는 RiboSlice와 랫의 Rosa26 좌 주변 영역에 상동성인 대략적으로 400개 염기가 각 포함된 두 영역의 측면에 있는 전이 유전자가 포함된 복구 주형으로 상기 세포들은 실시예 13과 같이 트랜스펙션된다.
- [0190] 실시예 18 인간화된 LRRK2 랫
- [0191] 랫의 배아 줄기 세포들이 도달되고, 다음 서열들을 표적으로 하는, 실시예 1에 따라 합성된 RiboSlice으로 실시예 13에서와 같이 트랜스펙션된다: L: TTGAAGGCAAAAATGTCCAC 및 R: TCTCATGGAGTCCAGGA. 트랜스펙션 후 2일 시점에서, 상기 세포들은 실시예 17에 따라 트랜스펙션되는데, 이때 전이유전자는 인간 LRRK2 유전자, 그리고 임의선택적으로 인간 LRRK2 프로모터 영역의 일부 또는 전부를 포함한다.
- [0192] 실시예 19 안전한 정박 위치에서 인간의 섬유아세포로 전이유전자의 삽입
- [0193] 1차 인간 섬유아세포들은 실시예 9에서와 같이 도달된다. 다음 날, 실시예 1에 따라 합성된, 다음 서열들: L: TTATCTGTCCCTCCACCCC 및 R: TTTTCTGTCCCAATCCTGT을 표적으로 하는 RiboSlice와 인간 AAVS1 좌 주변 영역에 상동성인 대략적으로 400개 염기가 각 포함된 두 영역의 측면에 있는 전이 유전자가 포함된 복구 주형으로 상기 세포들은 실시예 2와 같이 트랜스펙션된다.
- [0194] 실시예 20 안전한 정박 위치로 RNAi 서열의 삽입
- [0195] 1차 인간 섬유아세포들은 실시예 19에 따라 도달되고, 트랜스펙션되며, 이때 상기 전이유전자는 앞에 PolIII 프로모터를 앞에 두고, shRNA를 인코딩하는 서열을 포함한다.
- [0196] 실시예 21 RiboSlice를 이용하여 Myc의 유전자 에디팅

- [0197] 1차 인간 섬유아세포들은 DMEM + 10% FBS에서 웰당 50,000개의 세포 밀도로 6-웰 플레이트에 도달된다. 2일 후, 상기 배지는 트랜스펙션 배지로 교환되었다. 4시간 후, 상기 세포들은 실시예 1에 따라 합성된, 다음 서열들: L: TCGGCCCGCCCAAGCTCGT 및 R: TGC GCGCAGCCTGGTAGGAG을 표적으로 하는 1 $\mu$ g/웰의 RiboSlice를 이용하여, 실시예 2에 따른 트랜스펙션되었다. 다음 날, 다음 프라이머: F: TAACTCAAGACTGCCTCCCGCTTT 및 R: AGCCCAAGGTTTCAGAGGTGATGA을 이용하여 실시예 9에서와 같이 유전자-에디팅 효율이 측정되었다 (도 5).
- [0198] 실시예 22 Myc를 표적으로 하는 RiboSlice가 포함된 암 요법
- [0199] HeLa 경부 암종 세포들은 염산-없는 DMEM + 2mM L-알라닌-L-글루타민 + 10% FBS에서 웰당 50,000개의 세포 밀도로 6-웰 플레이트에 도달된다. 다음 날, 상기 배지는 트랜스펙션 배지로 교환되었다. 다음 날, 상기 세포들은 실시예 21에 따른 트랜스펙션되었다.
- [0200] 실시예 23 RiboSlice를 이용하여 BIRC5의 유전자 에디팅 유전자
- [0201] 1차 인간 섬유아세포들은 DMEM + 10% FBS에서 웰당 50,000개의 세포 밀도로 6-웰 플레이트에 도달된다. 2일 후, 상기 배지는 트랜스펙션 배지로 교환되었다. 4시간 후, 상기 세포들은 실시예 1에 따라 합성된, 다음 서열들: L: TTGCCCTGCCTGGCAGCC 및 R: TTCTGAATGTAGAGATGCG을 표적으로 하는 1 $\mu$ g/웰의 RiboSlice를 이용하여, 실시예 2에 따른 트랜스펙션되었다. 다음 날, 다음 프라이머: F: GCGCCATTAACGCCAGATTTGAA 및 R: TGGGAGTTCACAACAACAGGGTCT을 이용하여 실시예 9에서와 같이 유전자-에디팅 효율이 측정되었다 (도 6).
- [0202] 실시예 24 BIRC5를 표적으로 하는 RiboSlice가 포함된 암 요법 암 요법
- [0203] HeLa 경부 암종 세포들은 염산-없는 DMEM + 2mM L-알라닌-L-글루타민 + 10% FBS에서 웰당 50,000개의 세포 밀도로 6-웰 플레이트에 도달된다. 다음 날, 상기 배지는 트랜스펙션 배지로 교환되었다. 다음 날, 상기 세포들은 실시예 23에 따른 트랜스펙션되었다 (도 7a와 도 7b).
- [0204] 실시예 25 암-세포-계통의 배양
- [0205] 암 세포 계통 HeLa (경부 암종), MDA-MB-231 (유방), HCT 116 (결장), U87 MG (신경아교종), 및 U-251 (신경아교종)는 배양물에서 증식되었다. 세포들은 DMEM + 10% FBS 또는 DMEM + 50% FBS에서 배양되었고, 그리고 37 $^{\circ}$ C, 5%CO<sub>2</sub>, 그리고 외기 O<sub>2</sub> 또는 5% O<sub>2</sub>에서 유지되었다. 모든 조건에서 세포들은 신속하게 성장되었고, HBSS에서 트립신 용액을 이용하여 매 2-5일마다 일상적으로 계대되었다.
- [0206] 실시예 26 RiboSlice 유전자-에디팅 RNA 기획 프로세스 및 알고리즘
- [0207] BIRC5 유전자의 주석이 달린 DNA 서열은 eFecth 유틸리티 및 파이톤 스크립트(python script)를 이용하여 NCBI로부터 검색되었다 동일한 파이톤 스크립트를 이용하여 BIRC5 유전자의 4개 엑손 각각 안에 단백질을 인코딩하는 DNA 서열을 확인하였다. 그 다음 상기 스크립트는 이들 서열과, 다음의 조건을 만족하는 요소들을 서열화하기 위하여 각 측면에 인접한 40개 염기를 조사하였다: (i) 한 요소는 1차 가닥상에 존재하고, 다른 요소는 상보적 가닥에 존재하며, (ii) 각 요소는 T로 시작하고, 그리고 (iii) 이들 요소는 12개보다 적지 않지만, 20개 염기를 넘지않는 범위로 분리되어 있다. 그 다음 각 요소에는 점수가 배당되는데, 이 점수는 Qblast (NCBI)을 이용하여 인간 게놈 안에 다른 요소들에 결합 가능성을 나타낸다. 이 점수는 상기 표적 서열에 부합되는 것을 배제하고, 9개의 최저 E-값의 역의 합산으로 산출되었다. 쌍 점수는 개별 요소들의 점수를 추가하여 산출되었다.
- [0208] 실시예 27 유전자-에디팅 단백질 (RiboSlice)을 인코딩하는 RNA의 합성
- [0209] 유전자-에디팅 단백질을 인코딩하는 RNA는 실시예 26에 따라 기획되었고, 실시예 1에 따라 합성되었다 (표 10, 도 9). 상기 RNA는 뉴클라아제-없는 물을 이용하여 200ng/ $\mu$ L 내지 500ng/ $\mu$ L의 농도로 희석되었고, 그리고 4 $^{\circ}$ C에서 보관되었다.

표 10

RiboSlice 합성

주형 (결합 부위의 서열 번호)	뉴클레오티드	반응 용적/ $\mu$ L	ivT 수율/ $\mu$ g
BIRC5-1.1L (서열 번호: 16)	A, 0.5 7dG, 0.4 5mU, 5mC	20	124.1
BIRC5-1.1R (서열 번호: 17)	A, 0.5 7dG, 0.4 5mU, 5mC	20	115.6
BIRC5-1.2L (서열 번호: 18)	A, 0.5 7dG, 0.4 5mU, 5mC	20	120.3
BIRC5-1.2R (서열 번호: 19)	A, 0.5 7dG, 0.4 5mU, 5mC	20	121.3
BIRC5-1.3L (서열 번호: 20)	A, 0.5 7dG, 0.4 5mU, 5mC	20	120.3
BIRC5-1.3R (서열 번호: 21)	A, 0.5 7dG, 0.4 5mU, 5mC	20	113.7
BIRC5-2.1L (서열 번호: 22)	A, 0.5 7dG, 0.4 5mU, 5mC	20	105.3
BIRC5-2.1R (서열 번호: 23)	A, 0.5 7dG, 0.4 5mU, 5mC	20	120.3
BIRC5-2.2L (서열 번호: 24)	A, 0.5 7dG, 0.4 5mU, 5mC	20	101.5
BIRC5-2.2R (서열 번호: 25)	A, 0.5 7dG, 0.4 5mU, 5mC	20	111.9
BIRC5-3.1L (서열 번호: 26)	A, 0.5 7dG, 0.4 5mU, 5mC	20	107.2
BIRC5-3.1R (서열 번호: 27)	A, 0.5 7dG, 0.4 5mU, 5mC	20	113.7
BIRC5-2.1L (서열 번호: 22)	A, 0.5 7dG, 0.35 5mU, 5mC	300	577.9
BIRC5-2.1R (서열 번호: 23)	A, 0.5 7dG, 0.35 5mU, 5mC	300	653.6

[0210]

[0211]

실시예 28 BIRC5를 표적으로 하는 RiboSlice의 활성 분석

[0212]

1차 성인 인간 섬유아세포들은 실시예 26에 따라 기획되고, 실시예 27에 따라 합성된 BIRC5를 표적으로 하는 6개의 RiboSlice 쌍으로 실시예 2에 따라 트랜스펙션되었다. 트랜스펙션 후 2일차, 게놈 DNA가 단리되었고, 정제되었다. 유전자-에디팅 효율을 측정하기 위하여, 150ng의 증폭된 PCR 산물은 10mM Tris-Cl + 50mM KCl + 1.5mM MgCl<sub>2</sub>에서 150ng의 기준 DNA와 혼성화되었다. 상기 혼성화된 DNA는 SURVEYOR 부정합 특이적 엔도뉴클레아제 (Transgenomic, Inc.)로 처리되었으며, 생성된 산물은 아가로즈 겔 전기영동에 의해 분석되었다(도 10a). 예상 크기의 밴드가 나타난 것으로 6개의 테스트된 모든 RiboSlice 쌍은 BIRC5 유전자를 효과적으로 에디트하였다는 것이 설명되었다 (도 10a에서 별표).

[0213]

실시예 29 BIRC5를 표적으로 하는 RiboSlice의 유사분열-저해 분석

[0214]

1차 성인 인간 섬유아세포들은 실시예 28에 따라 유전자 에디트되었고, 그 다음 배양물에서 증식되었다. 11일 후, 게놈 DNA는 단리되었고, 정제되었고, 그리고 실시예 28에서와 같이 유전자-에디팅 효율이 측정되었다 (도 10b). 세포들로부터 단리된 게놈 DNA에서 예상 크기의 밴드가 나타난 것으로 볼 수 있는 바와 같이 테스트된 RiboSlice 쌍들중에서 증식하는 섬유아세포들의 증식을 억제한 것은 아무것도 없었고(도 10b에서 별표), 이는 이들 RiboSlice 쌍의 정상적인 섬유아세포에 대해 독성이 낮음을 설명한다.

[0215]

실시예 30 BIRC5를 표적으로 하는 RiboSlice의 항암 활성 분석

[0216]

실시예 25에 따라 배양된 1차 성인 인간 섬유아세포들과 HeLa 경부 암종 세포들은 쌍으로 실시예 28에 따라 RiboSlice 쌍이 트랜스펙션되었다. 섬유아세포들의 증식은 트랜스펙션 시약-연관된 독성으로 인하여 잠시 느려졌지만, 트랜스펙션 2일 이내에 회복되었다. 대조적으로, HeLa 세포들의 증식은 상당히 느려졌으며, 분절화된 핵을 가진 많은 확대된 세포들이 트랜스펙션된 웰에서 관찰되었다. 2-3 일 후, 많은 세포들은 아포토시스를 나

타내는 모양을 표현하였으며, 이는 BIRC5를 표적으로 하는 RiboSlice 의 잠재적 항암 활성을 설명한다.

[0217]

실시예 31 생체내 RiboSlice 안전성 연구

[0218]

40 마리의 암컷 NCr nu/nu 마우스에게 50% Matrigel (BD Biosciences)에서  $5 \times 10^6$  MDA-MB-231 종양 세포들을 피하로 주사하였다. 세포 주사 용적은 마우스당 0.2mL이었다. 연구 시작 시점에서 마우스의 연령은 8 내지 12주령이었다. 쌍 정합(pair match)이 실행되었고, 동물은 각 10 마리씩 4개 집단으로 분류되었으며, 종양의 평균 크기가 100-150mm<sup>3</sup>에 이르면, 처리가 시작되었다. 체중은 처음 5일간 매일 측정되었고, 그 다음 연구 종료까지 2주마다 측정되었다. 처리는 운반체 (리포펙타민 2000, Life Technologies Corporation)와 복합된 RiboSlice BIRC5-1.2로 구성되었다. 각 집단의 투여 분량 용액을 준비하기 위하여, 308  $\mu$ L의 복합 완충액 (Opti-MEM, Life Technologies Corporation)은 2개의 멸균된 RNase-없는 1.5mL 튜브로 피펫팅되었다. 22  $\mu$ L의 RiboSlice BIRC5-1.2 (500ng/ $\mu$ L)는 2개 튜브중 하나에 추가되었고, 튜브의 내용물은 피펫팅에 의해 혼합되었다. 22  $\mu$ L의 운반체가 두번째 튜브에 추가되었다. 제 2 튜브의 내용물은 혼합되었고, 그 다음 제 1 튜브로 옮기고, 피펫팅에 의해 제 1 튜브의 내용물과 혼합되어, 복합물이 형성되었다. 복합물은 10분간 실온에서 항온처리되었다. 항온처리 동안, 주사기에 로딩되었다. 동물에게 한 마리당 총 60  $\mu$ L의 용적에서 동물당 1 $\mu$ g RNA의 총 투여분량이 정맥 또는 종양 안으로 주사되었다. 2일마다 주사를 놓고, 총 5회 처리가 제공되었다. 체중에 따른 투여분량의 조정은 없었다. 17일간 동물은 추적되었다. 평균 체중의 유의적인 감소가 관찰되지 않았고 (도 11; RiboSlice BIRC5-1.2는 "ZK1"으로 라벨됨), RiboSlice 유전자-에디팅 RNA의 생체내 안전성이 증명된다.

[0219]

실시예 32 신경아교종 모델에서 BIRC5를 표적으로 하는 RiboSlice의 항암 활성 분석

[0220]

실시예 25에 따라 배양된 U-251 신경아교종 세포 계통은 RiboSlice 쌍으로 실시예 28에 따라 트랜스펙션되었다. 신경아교종 세포들은 HeLa 세포들과 유사한 처리에 반응하였으며: 증식은 상당히 느려졌으며, 분절화된 핵을 가진 많은 확대된 세포들이 트랜스펙션된 웰에서 관찰되었다. 2-3 일 후, 많은 세포들은 아팜토시스를 나타내는 모양을 표현하였으며, 이는 신경아교종 모델에서 BIRC5를 표적으로 하는 RiboSlice 의 잠재적 항암 활성을 설명한다.

[0221]

실시예 33 핵산을 세포로 운반하기 위한 시약들의 선별

[0222]

트랜스펙션 효율과 시험관내 독성에 대하여 폴리에틸렌이민 (PEI), 다양한 시판되는 지질-기반 트랜스펙션 시약, 펩티드-기반 트랜스펙션 시약 (N-TER, Sigma-Aldrich Co. LLC.), 그리고 몇 가지 지질-기반 및 스테롤-기반 운반 시약들이 포함된 운반 시약들이 선별되었다. 운반 시약들은 RiboSlice BIRC5-1.2와 복합되었고, 이 복합물은 실시예 25에 따라 배양된 HeLa 세포들로 전달되었다. 트랜스펙션 후 24시간 시점에 세포 밀도를 분석함으로써 독성이 평가되었다. 트랜스펙션 효율은 실시예 30에서 설명된 것과 같이 형태학적 변화를 분석함으로써 평가되었다. 테스트된 시약들은 광범위한 독성 및 트랜스펙션 효과를 나타내었다. 더 많은 비율의 에스테르 결합이 포함된 시약은 낮은 비율의 에스테르 결합 또는 에스테르 결합이 없는 시약보다 낮은 독성을 나타내었다.

[0223]

실시예 34 고-농도 리포솜성 RiboSlice

[0224]

고-농도 리포솜성 RiboSlice는 1 $\mu$ g RNA, 500ng/ $\mu$ L와 3 $\mu$ L의 복합 배지 (Opti-MEM, Life Technologies Corporation), 그리고 RNA  $\mu$ g 당 RNA 2.5 $\mu$ L의 트랜스펙션 시약 (리포펙타민 2000, Life Technologies Corporation) 과 2.5 $\mu$ L의 복합 배지를 혼합함으로써 준비되었다. 희석된 RNA와 트랜스펙션 시약이 그 다음 혼합되었으며, 10분간 실온에서 항온처리되어, 고-농도 리포솜성 RiboSlice가 형성되었다. 대안으로, DOSPA 또는 DOSPER이 포함된 트랜스펙션 시약이 이용된다.

[0225]

실시예 35 생체내 RiboSlice 효과 연구-피하 신경아교종 모델

[0226]

40 마리의 암컷 NCr nu/nu 마우스에게  $1 \times 10^7$ 의 U-251 종양 세포들을 피하로 주사하였다. 세포 주사 용적은 마우스당 0.2mL이었다. 연구 시작 시점에서 마우스의 연령은 8 내지 12주령이었다. 쌍 정합(pair match)이 실행되었고, 동물은 각 10 마리씩 4개 집단으로 분류되었으며, 종양의 평균 크기가 35-50mm<sup>3</sup>에 이르면, 처리가 시작되었다. 체중은 처음 5일간 매일 측정되었고, 그 다음 연구 종료까지 2주마다 측정되었다. 칼리퍼(Caliper) 측정은 2주마다 측정되었으며, 종양 크기가 산출되었다. 처리는 운반체 (리포펙타민 2000, Life Technologies Corporation)와 복합된 RiboSlice BIRC5-2.1로 구성되었다. 각 집단의 투여 분량 용액을 준비하기 위하여, 294  $\mu$ L의 복합 완충액 (Opti-MEM, Life Technologies Corporation)은 196  $\mu$ L의 RiboSlice BIRC5-1.2 (500ng/ $\mu$ L)

이 포함된 튜브로 피펫팅되었고, 튜브의 내용물은 피펫팅에 의해 혼합되었다. 245  $\mu$ L의 복합 완충액은 245  $\mu$ L의 운반체가 포함된 튜브로 피펫팅되었다. 제 2 튜브의 내용물은 혼합되었고, 그 다음 제 1 튜브로 옮기고, 피펫팅에 의해 제 1 튜브의 내용물과 혼합되어, 복합물이 형성되었다. 복합물은 10분간 실온에서 항온처리되었다. 항온처리 동안, 주사기에 로딩되었다. 동물에게 한 마리당 총 20  $\mu$ L 또는 50  $\mu$ L의 용적에서 동물당 2  $\mu$ g 또는 5  $\mu$ g의 RNA의 총 투여분량이 정맥 또는 중앙 안으로 주사되었다. 2일마다 주사를 놓고, 총 5회 처리가 제공되었다. 체중에 따른 투여분량의 조정은 없었다. 25일간 동물은 추적되었다.

[0227] 실시예 36 고효성/고충실성RiboSlice 시험관내-전사 주형의 합성

[0228] T7 박테리오파지 RNA-중합효소 프로모터, 5' -해독안된 영역, 강력한 Kozak 서열, TALE N-말단 도메인, 실시예 26에 따라 기획된 18개 반복 서열, TALE C-말단 도메인, 그리고 StsI 서열 (서열 번호: 1), StsI-HA 서열 (서열 번호: 2), StsI-HA2 서열 (서열 번호: 3), StsI-UHA 서열 (서열 번호: 4), StsI-UHA2 서열 (서열 번호: 5), StsI-HF 서열 (서열 번호: 6) 또는 StsI-HF2 서열 (서열 번호: 7)이 포함된 뉴클라아제 도메인을 인코드하는 시험관내 전사 주형이 표준 클로닝 및 분자 생물학 기술에 의해 합성되며, 또는 대안으로, 유전자 단편 어셈블리 기술 (이를 테면, gBlocks, Integrated DNA Technologies, Inc.)을 이용하여 직접 화학 합성에 의해 합성된다.

[0229] 실시예 37 고효성/고충실성RiboSlice 유전자-에디팅 RNA의 합성

[0230] 고효성 RiboSlice와 고충실성 RiboSlice는 실시예 36에 따라 합성된 시험관내 전사 주형을 이용하여 실시예 27에 따라 합성되었다.

[0231] 실시예 38 Proteopathy의 치료를 위하여 복제-불능 바이러스를 인코드하는 RiboSlice의 생성

[0232] 플라-형성 단백질 서열이 인코드된 DNA 서열을 표적으로 하는 RiboSlice가 포함된 뉴클레오티드 서열은 복제-불능 바이러스성 게놈이 포함된 포유류 발현 벡터 안에 혼입되고, 그리고 패키지 세포로 트랜스펙션되어 복제-불능 바이러스가 만들어진다. 배양 상청액이 수집되며, 찌꺼기를 제거하기 위하여 0.45  $\mu$ m 필터를 이용하여 여과된다.

[0233] 실시예 39 암 치료를 위하여 복제-가능 중앙봉괴성 바이러스를 인코드하는 RiboSlice의 생성

[0234] BIRC5 유전자를 표적으로 하는 RiboSlice가 포함된 뉴클레오티드 서열은 복제-가능 바이러스성 게놈이 포함된 포유류 발현 벡터 안에 혼입되고, 그리고 패키지 세포로 트랜스펙션되어 복제-가능 바이러스가 만들어진다. 배양 상청액이 수집되며, 실시예 38에 따라 여과된다.

[0235] 실시예 40 생체내 RiboSlice 효과 연구 - 정위(Orthotopic) 신경아교종 모델, 척추강내 투여 경로

[0236] 40 마리의 암컷 NCr nu/nu 마우스에게 1 x 10<sup>5</sup>의 U-251 중앙 세포들을 두개강내로 주사하였다. 세포 주사 용적은 마우스당 0.02mL이다. 연구 시작 시점에서 마우스의 연령은 8 내지 12주령이다. 10일 후, 동물은 각 군에 10 마리씩 4집단으로 나누었고, 치료가 시작된다. 체중은 처음 5일간 매일 측정되며, 그 다음 연구 종료까지 2주마다 측정되었다. 처리는 운반체 (리포펙타민 2000, Life Technologies Corporation)와 복합된 RiboSlice BIRC5-2.1로 구성된다. 각 집단의 투여 분량 용액을 준비하기 위하여, 294  $\mu$ L의 복합 완충액 (Opti-MEM, Life Technologies Corporation)은 196  $\mu$ L의 RiboSlice BIRC5-1.2 (500ng/ $\mu$ L)이 포함된 튜브로 피펫팅되고, 튜브의 내용물은 피펫팅에 의해 혼합된다. 245  $\mu$ L의 복합 완충액은 245  $\mu$ L의 운반체가 포함된 튜브로 피펫팅된다. 제 2 튜브의 내용물은 혼합되고, 그 다음 제 1 튜브로 옮기고, 피펫팅에 의해 제 1 튜브의 내용물과 혼합되어, 복합물이 형성된다. 복합물은 10분간 실온에서 항온처리된다. 항온처리 동안, 주사기에 로딩되었다. 동물에게 동물당 10-20  $\mu$ L 총 용적으로, 동물 당 1-2  $\mu$ g RNA의 총 투여분량이 척추강내로 주사된다. 2일마다 주사를 놓고, 총 5회 처리가 제공된다. 체중에 따른 투여분량의 조정은 없다. 60 일간 동물은 추적되었다.

[0237] 실시예 41 RiboSlice 로 신경아교종 치료-IV 관류

[0238] 신경아교종 진단을 받은 환자에게 실시예 34에 따라 준비된 1mg의 고농도 리포솜성 RiboSlice BIRC5-2.1을 4주 동안 주당 3회 1시간 과정에 걸쳐 IV로 주입된다. 500mm<sup>3</sup> 이상의 초기 종양 용적의 경우, 이 종양은 RiboSlice 치료를 시작하기에 앞서 외과적으로 축소되며(debulk), 그리고 임의 선택적으로 방사선요법 및/또는 화학요법을 받는다. 상기 환자에게 복합 요법으로 표준 투여 섭생을 이용하여 TNF- $\alpha$  및/또는 5-FU가 임의선택적으로 투여된다.

- [0239] 실시예 42 신경아교종을 *RiboSlice*-복제-가능 중앙봉괴성 바이러스로 치료
- [0240] 환자에게 실시예 39에 따라 제조된 복제가능 바이러스 입자(1000CFU/mL) 1mL 를 척추강내 또는 두개강내 주사로 투여한다.
- [0241] 실시예 43 SNCA를 표적으로 하는 *RiboSlice*로 파킨슨 질환 치료
- [0242] 파킨슨 질환으로 진단을 받은 환자에게 SNCA 유전자를 표적으로 하는 50 μg의 *RiboSlice*를 척추강내 또는 두개강내 주사로 투여한다.
- [0243] 실시예 44 APP를 표적으로 하는 *RiboSlice*로 알츠하이머 질환 치료
- [0244] 알츠하이머 질환으로 진단을 받은 환자에게 APP 유전자를 표적으로 하는 50 μg의 *RiboSlice*를 척추강내 또는 두개강내 주사로 투여한다.
- [0245] 실시예 45 IAPP를 표적으로 하는 *RiboSlice*로 유형 II 당뇨병 치료
- [0246] 유형 II 당뇨병으로 진단을 받은 환자에게 IAPP 유전자를 표적으로 하는 5mg의 *RiboSlice*를 정맥내, 복막내 또는 내문주사로 투여한다.
- [0247] 실시예 46 *iRiboSlice* 개인맞춤화된(Personalized) 암 요법
- [0248] 암으로 진단을 받은 환자에게서 생검을 취한다. 생검으로부터 게놈 DNA를 단리하고, 정제하며, 상기 DNA의 서열(전체-게놈 서열, 진유전체(exome) 서열 또는 하나 또는 그 이상의 암-연합된 유전자의 서열)이 결정된다. 환자의 개별 암 서열을 표적으로 하는 *RiboSlice* 쌍 (*iRiboSlice*)은 실시예 26에 따라 기획되며, 실시예 27에 따라 합성된다. 이 환자에게 암의 유형 및 위치에 적합한 투여 경로를 이용하여 개인맞춤화된 *iRiboSlice*가 투여된다.
- [0249] 실시예 47 유전학적으로 다양한/치료-저항성 암을 위한 *RiboSlice* 혼합물
- [0250] 유전학적으로 다양한 및/또는 치료-저항성 암을 진단받은 환자에게 다발성 암-연합된 유전자 및/또는 하나 또는 그 이상의 암-연합된 유전자에서 다발성 서열을 표적으로 하는 *RiboSlice* 쌍 혼합물이 투여된다.
- [0251] 실시예 48 미토콘드리아 질환을 위한 *Mito-RiboSlice*
- [0252] 미토콘드리아 질환으로 진단을 받은 환자에게 상기 질환-연합된 서열을 표적으로 하며, 미토콘드리아 국소화 서열이 포함된 2mg의 *RiboSlice*가 근육내 주사를 통하여 투여된다.
- [0253] 실시예 49 안과 질환을 *RiboSlice* 안약으로 치료
- [0254] 각막 또는 결막 질환을 진단받은 환자에게 0.5% 등장액 용액으로 제형화된 *RiboSlice*가 투여된다.
- [0255] 실시예 50 피부 질환을 *RiboSlice* 국소 제형으로 치료
- [0256] 피부 질환을 진단받은 환자에게 1% 국소 크림/연고로 제형화된 *RiboSlice*가 투여되며, 여기에는 상기 RNA의 분해를 방지하는 하나 또는 그 이상의 안정화제에 포함된다.
- [0257] 실시예 51 폐 또는 호흡기 질환은 *RiboSlice* 에어로졸 제형으로 치료
- [0258] 폐 또는 호흡기 질환으로 진단받은 환자에게 0.5% 에어로졸 스프레이로 제형화된 *RiboSlice*가 투여된다.
- [0259] 실시예 52 감염성 물질에 존재하는 DNA 서열을 표적으로 하는 *RiboSlice* 를 이용하여 감염성 질환 치료
- [0260] 감염성 질환으로 진단을 받은 환자에게 환자가 감염된 특이적 감염성 물질 안에 존재하는 서열을 표적으로 하는 *RiboSlice*를 감염 위치 및 유형에 적합한 투여 경로를 이용하고, 투여 경로 및 감염의 중증도에 적합한 투여 분량으로 투여된다.
- [0261] 실시예 53 체외수정(*in vitro Fertilization*)을위하여 유전자-에디트된 인간 접합체(*Zygotes*)
- [0262] 인간 생식 세포, 접합체 또는 초기-단계 낭포는 질환-연합된 돌연변이 또는 바람직하지 못한 형질과 연합된 돌연변이를 인코딩하는 유전자를 표적으로 하는 *RiboSlice*로 트랜스펙션된다. 이 게놈은 특징화되며, 그리고 상기 세포는 체외수정을 위하여 준비된다.
- [0263] 실시예 54 유전자-에디팅 단백질들의 활성, 충성도 강화를 위한 절단-도메인 스크린

[0264] 상이한 절단 도메인이 각각 포함된 RiboSlice 쌍들의 패널은 실시예 26에 따라 기획되며, 그리고 실시예 27에 따라 합성된다. RiboSlice 쌍들의 활성화는 실시예 28에서와 같이 결정된다.

[0265] 실시예 55 파킨슨 질환-유발 독물을 스크리닝하는 유전자-에디트된 세포

[0266] 1차 인간 성인 섬유아세포들은 SNCA를 표적으로 하는 RiboSlice (표 11)와 SNCA A30P, E46K, 및 A53T 돌연변이를 가진 세포를 만드는 복구 주형을 이용하여 실시예 28에 따라 유전자 에디트된다. 세포들은 재프로그래밍되며, 도파민 신경세포로 분화된다. 이 뉴우런들은 파킨슨 질환을 야기할 수 있는 유독물을 확인하기 위하여 고-처리량 α-시뉴클레인-응집 유독물-선별 분석에 이용된다.

표 11

SNCA A30P, E46K, 및 A53T 를 생성하기 위한 RiboSlice 쌍들.

역손	표적 아미노산	좌 RiboSlice 결합 부위	우 RiboSlice 결합 부위	공간(Spacing)
1	A30	TGAGAAAACCAACAGGG TG	TAGAGAACACCCTCTTTG T	20
2	E46	TGTTTTTGTAGGCTCCAAA A	TACCTGTTGCCACACCATG C	16
2	A53	TCCAAAACCAAGGAGGGA GT	TAAGCACAATGGAGCTTA CC	19

[0267]

[0268] 실시예 56 암-유발 독물을 스크리닝하는 유전자-에디트된 세포

[0269] 1차 인간 성인 섬유아세포들은 TP53을 표적으로 하는 RiboSlice (표 12)와 TP53 P47S, R72P, 및 V217M 돌연변이를 가진 세포를 만드는 복구 주형을 이용하여 실시예 28에 따라 유전자 에디트된다. 세포들은 재프로그래밍되며, 간세포로 분화된다. 이 간세포들은 암을 야기할 수 있는 유독물을 확인하기 위하여 고-처리량 시험관 형질변환 유독물-선별 분석에 이용된다.

표 12

TP53 P47S, R72P, 및 V217M 을 생성하기 위한 RiboSlice 쌍들.

역손	표적 아미노산	좌 RiboSlice 결합 부위	우 RiboSlice 결합 부위	공간(Spacing)
4	P47	TCCCAAGCAATGGATGAT TT	TGAACCATGTTC AATATC G	15
4	R72	TGAAGCTCCCAGAATGCC AG	TAGGAGCTGCTGGTGCAG GG	19
6	V217	TGGATGACAGAAACACTT TT	TCAGGCGGCTCATAGGGC AC	15

[0270]

[0271] 실시예 57 조작된 유전자-에디팅 단백질(RiboSlice)을 인코딩하는 RNA의 기획 및 합성

[0272] 실시예 26에 따라 기획된 유전자-에디팅 단백질을 인코딩하는 RNA는 실시예 27에 따라 합성된다(표 13). 각 유전자-에디팅 단백질은 표 13에 나타난 것과 같이 35-36개 아미노산-길이의 반복 서열들이 포함된 전사 활성물질-유사 (TAL) 효과물질 반복 도메인이 포함된 DNA-결합 도메인이 포함된다. 상기 36개 아미노산-길이 반복 서열들에 대해 서열 ID 번호가 주어진다. 주형 이름에서 라벨 "18"은 18번째 반복 서열이 36개 아미노산 길이임을 나타낸다. 주형 이름에서 라벨 "E0"는 모든 다른 반복 서열이 36개 아미노산 길이임을 나타낸다. 라벨 "18" 또는 "E0" 다음에 이어진 아미노산은 상기 36개 아미노산-길이 반복 서열(들)에서 C-말단에 있는 아미노산을 나타낸다. 라벨 "StsI"는 뉴클라아제 도메인이 StsI 절단 도메인을 포함한다는 것을 나타낸다. "StsI" 라벨이 없는 주형은 FokI 절단 도메인을 포함하였다.

표 13

조작된 유전자-에디팅 단백질을 인코딩하는 RiboSlice

구형 (반복 서열의 서열 번호)	뉴클레오타이드	반응 용적/ $\mu$ L	ivT 수율/ $\mu$ g
BIRC5-2.1L-18-AHGGG (서열 번호: 54)	A, 0.5 7dG, 0.4 5mU, 5mC	20	11.9
BIRC5-2.1R-18-AHGGG (서열 번호: 54)	A, 0.5 7dG, 0.4 5mU, 5mC	20	11.9
BIRC5-2.1L-18-AGHGG (서열 번호: 55)	A, 0.5 7dG, 0.4 5mU, 5mC	20	10.7
BIRC5-2.1R-18-AGHGG (서열 번호: 55)	A, 0.5 7dG, 0.4 5mU, 5mC	20	10.9
BIRC5-2.1L-18-AHGSG (서열 번호: 56)	A, 0.5 7dG, 0.4 5mU, 5mC	20	11.9
BIRC5-2.1R-18-AHGSG (서열 번호: 56)	A, 0.5 7dG, 0.4 5mU, 5mC	20	12.7
BIRC5-2.1L-18-AHGGG (서열 번호: 54)	A, 0.5 7dG, 0.4 5mU, 5mC	20	34.5
BIRC5-2.1R-18-AHGGG (서열 번호: 54)	A, 0.5 7dG, 0.4 5mU, 5mC	20	34.8
BIRC5-2.1L-18-AGHGG (서열 번호: 55)	A, 0.5 7dG, 0.4 5mU, 5mC	20	32.7
BIRC5-2.1R-18-AGHGG (서열 번호: 55)	A, 0.5 7dG, 0.4 5mU, 5mC	20	37.4
BIRC5-2.1L-18-AHGSG (서열 번호: 56)	A, 0.5 7dG, 0.4 5mU, 5mC	20	31.5
BIRC5-2.1R-18-AHGSG (서열 번호: 56)	A, 0.5 7dG, 0.4 5mU, 5mC	20	34.1
BIRC5-2.1L	A, 0.5 7dG, 0.4 5mU, 5mC	20	34.9
BIRC5-2.1R	A, 0.5 7dG, 0.4 5mU, 5mC	20	25.9
BIRC5-2.1L	A, 0.5 7dG, 0.4 5mU, 5mC	20	41.5
BIRC5-2.1R	A, 0.5 7dG, 0.4 5mU, 5mC	20	38.8
BIRC5-2.1L-StsI	A, 0.5 7dG, 0.4 5mU, 5mC	20	22.2
BIRC5-2.1R-StsI	A, 0.5 7dG, 0.4 5mU, 5mC	20	18.4
BIRC5-2.1L-EO-AGHGG (서열 번호: 55)	A, 0.5 7dG, 0.4 5mU, 5mC	20	21.6
BIRC5-2.1L	A, 0.5 7dG, 0.4 5mU, 5mC	20	17.3
BIRC5-2.1L-StsI	A, G, U, C	10	71.3
BIRC5-2.1R-StsI	A, G, U, C	10	75.1
BIRC5-2.1L-EO-AGHGG (서열 번호: 55)	A, G, U, C	10	66.4
BIRC5-2.1R-EO-AGHGG (서열 번호: 55)	A, G, U, C	10	52.4

[0273]

[0274] 실시예 58 BIRC5를 표적으로 하는 RiboSlice의 활성 분석

[0275] 실시예 57에 따라 합성된 RiboSlice 분자들의 활성은 실시예 28에 따라 분석되었다(도 12a, 도 12b, 및 도 14). 하나 또는 그 이상의 36개 아미노산-길이 반복 서열들이 포함된 유전자-에디팅 단백질을 발현시키는 세포들에서 고효율 유전자 에디팅이 관찰되었다. 아미노산 서열: GHGG가 포함된 하나 또는 그 이상의 반복 서열들을 포함하는 유전자-에디팅 단백질을 발현시키는 세포들에서 최고의 유전자 에디팅이 관찰되었다.

[0276] 실시예 59 생체내 RiboSlice AAV 안전성 및 효과 연구 - 피하 신경아교종 모델, 종양내 경로 운반

[0277] 실시예 35에 따라 U-251 인간 신경아교종 세포들이 포함된 종양을 가진 동물들이 준비되었다. GFP를 인코딩하는 AAV 혈청형 2, BIRC5-2.1L RiboSlice, 그리고 BIRC5-2.1R RiboSlice가 표준 기술에 따라 준비되었다 (AAV-2 Helper Free Expression System, Cell Biolabs, Inc.). 바이러스 원액은 4°C (단기) 또는 -80°C (장기)에 보관되었다. 동물에게 1일차에 160  $\mu$ L GFP AAV 또는 1일차와 15일차에 80  $\mu$ L BIRC-2.1L RiboSlice AAV + 80  $\mu$ L

BIRC5-2.1R RiboSlice AAV를 종양내로 제공되었다. 25일간 동물은 추적되었다. 평균 체중의 유의적인 감소가 관찰되지 않았고 (도 13a); 이로써 RiboSlice AAV의 생체내 안전성이 증명된다. RiboSlice AAV 집단에서 종양 성장이 저해되었으며(도 13b), 이로써 RiboSlice AAV의 생체내 효과가 증명된다.

- [0278] 실시예 60 RiboSlice AAV를 이용한 암 치료
- [0279] 환자에게 실시예 59에 따라 제조된 RiboSlice AAV 바이러스 입자 1mL 를 척추강내 또는 두개강내 주사로 투여한다. 투약은 필요에 따라 반복된다. 500mm<sup>3</sup> 이상의 초기 종양 용적을 가진 환자의 경우, 이 종양은 RiboSlice AAV 치료를 시작하기에 앞서 외과적으로 축소되며, 그리고 임의 선택적으로 방사선요법 및/또는 화학요법을 받는다. 상기 환자에게 복합 요법으로 표준 투여 섭생을 이용하여 TNF- $\alpha$  및/또는 5-FU가 임의선택적으로 투여된다.
- [0280] 실시예 61 iRiboSlice AAV 개인맞춤화된(Personalized) 암 요법
- [0281] 암으로 진단을 받은 환자에게서 생검을 취한다. 생검으로부터 게놈 DNA를 단리하고, 정제하며, 상기 DNA의 서열(전체-게놈 서열, 진유전체(exome) 서열 또는 하나 또는 그 이상의 암-연합된 유전자의 서열)이 결정된다. 환자의 개별 암 서열을 표적으로 하는 RiboSlice 쌍 (iRiboSlice)은 실시예 26에 따라 기획되며, 실시예 59에 따라 합성된다. 이 환자에게 암의 유형 및 위치에 적합한 투여 경로를 이용하여 개인맞춤화된 iRiboSlice AAV가 투여된다.
- [0282] 실시예 62 리포솜 제형 및 핵산 포집화
- [0283] 다음의 제형을 이용하여 리포솜이 준비된다: 완충액으로 3.2mg/mL N-(카르보닐-에톡시폴리에틸렌 글리콜 2000)-1,2-디스테아로일-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민 (MPEG2000-DSPE), 9.6mg/mL 온전한게 수소화된 포스파티딜콜린, 3.2mg/mL 콜레스테롤, 2mg/mL 암모니움 황산염, 및 히스티딘. 수산화 나트륨을 이용하여 pH가 조절되며, 슈크로스를 이용하여 등장성이 유지된다. 리포솜을 만들기 위하여, 지질은 유기 용매 안에서 혼합되고, 건조되며, 교반하면서 수화되고, 평균 구멍 직경이 800nm인 폴리카르보네이트 필터를 이용한 압출에 의해 크기에 따라 분류되었다. 핵산은 핵산 1 $\mu$ g 당 10 $\mu$ g의 리포솜 제형을 복합시키고, 실온에서 5 분간 항온처리됨으로써 포집화된다.
- [0284] 실시예 63 염산염-표적화된 리포솜 제형화
- [0285] 실시예 62에 따라 리포솜이 준비된다: 단, 지질 혼합물에 추가된 0.27mg/mL 1,2-디스테아로일-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민-N-[염산(폴리에틸렌 글리콜)-5000] (FA-MPEG5000-DSPE)이 추가된다.
- [0286] 실시예 64 BIRC5를 표적으로 하는 리포솜형 RiboSlice가 포함된 암 요법
- [0287] 실시예 23에 따라 합성된 RiboSlice 쌍을 포집화한 리포솜은 실시예 62 또는 실시예 63에 따라 준비된다. 상기 리포솜은 주사 또는 정맥 주입에 의해 투여되며, 종양 반응 및 인터페론 혈장 수준은 매일 감시된다.
- [0288] 실시예 65 암-연합된 유전자를 표적으로 하는 리포솜형 RiboSlice가 포함된 암 요법
- [0289] 실시예 1에 따라 합성된 암-연합된 유전자를 표적으로 하는 RiboSlice를 포집화한 리포솜은 실시예 62 또는 실시예 63에 따라 준비된다. 상기 리포솜은 주사 또는 정맥 주입에 의해 투여되며, 종양 반응 및 인터페론 혈장 수준은 매일 감시된다.
- [0290] 실시예 66 RNA를 인코드하는 리포솜형 단백질을 포함하는 요법
- [0291] 실시예 1에 따라 치료요법적 단백질을 인코드하는 합성 RNA를 포집화한 리포솜은 실시예 62 또는 실시예 63에 따라 준비된다. 상기 리포솜은 주사 또는 정맥 주입에 의해 투여된다.
- [0292] 실시예 67 BIRC5 및 TNF- $\alpha$  을 표적으로 하는 RiboSlice가 포함된 복합 암 요법
- [0293] 환자들에게 종양 괴사 인자 알파 (TNF- $\alpha$ )와 BIRC5를 표적으로 하는 RiboSlice를 포집화한 리포솜이 격리 림프관류(ILP) 투여된다( 실시예 64 참고). 사지를 따뜻하게 한 후, 리포솜은 대략적으로 5 분에 걸쳐 체외 ILP 회로의 동맥 라인으로 주사되며, 관류는 추가 85 분 동안 진행된다. 1-2 일 후, ILP는 3-5 분에 걸쳐 체외 ILP 회로의 동맥 라인으로 주사되는 TNF- $\alpha$ 으로 반복되며, 관류는 추가 60 분 동안 지속된다. 종양 반응 및 인터페론 혈장 수준은 매일 감시된다.
- [0294] 실시예 68 BIRC5 및 플로우로우라실 (5-FU)을 표적으로 하는 RiboSlice가 포함된 복합 암 요법.

[0295] 1일차에 환자들은 BIRC5를 표적으로 하는 RiboSlice를 포집한 리포솜의 60분 정맥 주입을 받고 (실시에 64 참고), 이어서 2일차와 3일차에 5-FU의 46 시간 정맥 주입을 받는다. 종양 반응 및 인터페론 혈장 수준은 매일 감시된다.

[0296] **등가물(EQUIVALENTS)**

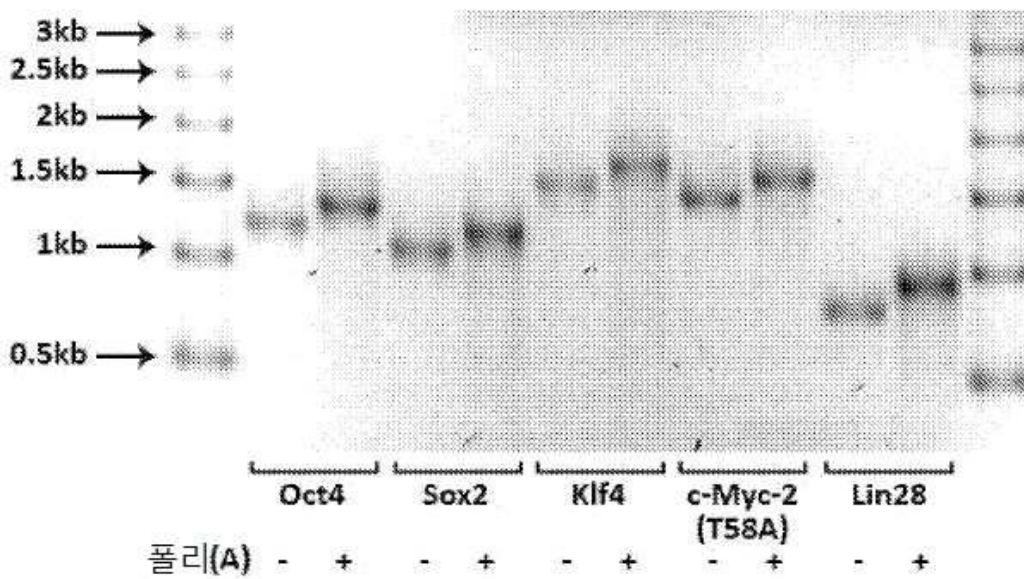
[0297] 당업계 숙련자는 일반적인 실험을 통하여 본 명세서에서 구체적으로 설명된 특정 구체예들에 대등한 다수의 등가물을 인지하거나 또는 알아낼 수 있을 것이다. 이러한 등가물은 다음의 청구범위에 포괄된다.

[0298] **참고자료의 편입**

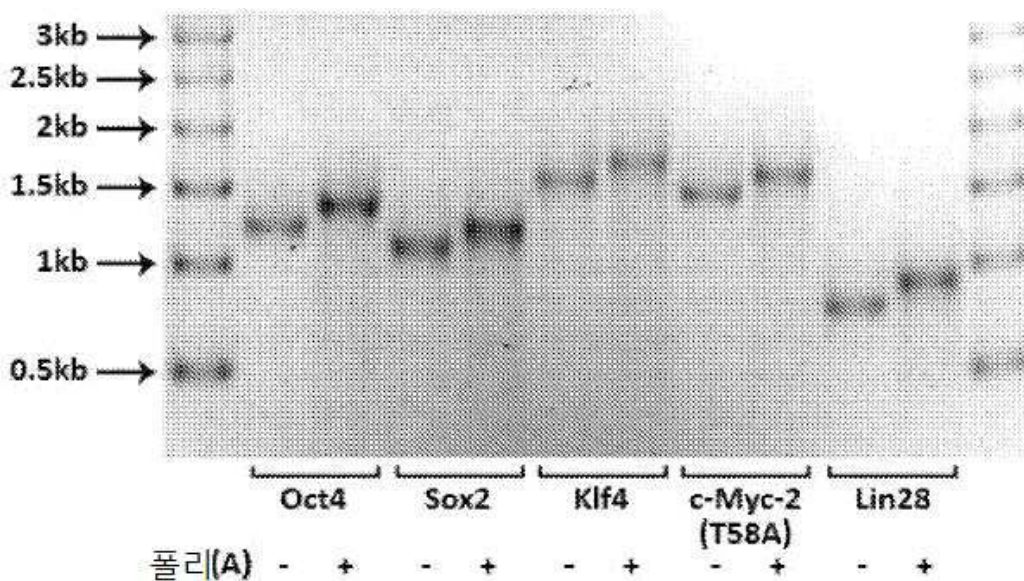
[0299] 본 명세서에서 언급된 모든 특허 및 공개내용은 이들의 전문이 참고자료에 편입된다.

**도면**

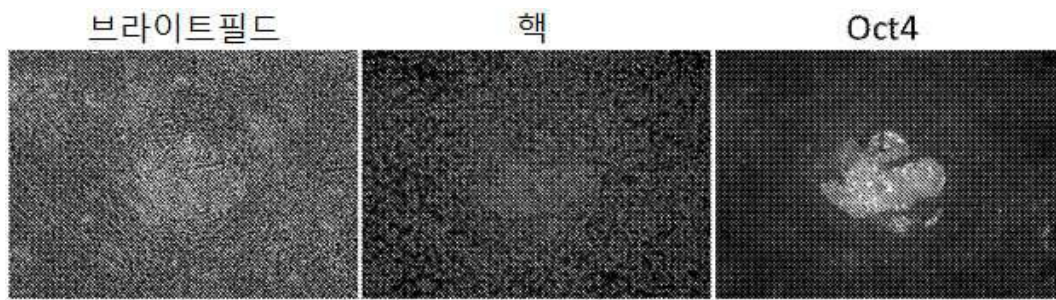
**도면1a**



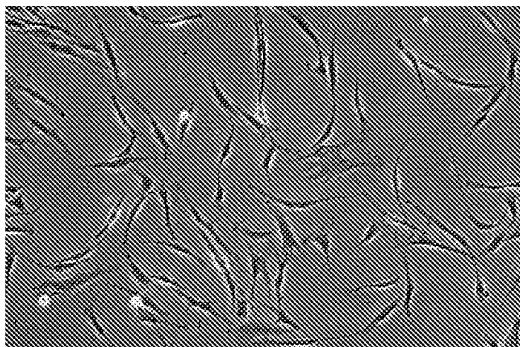
**도면1b**



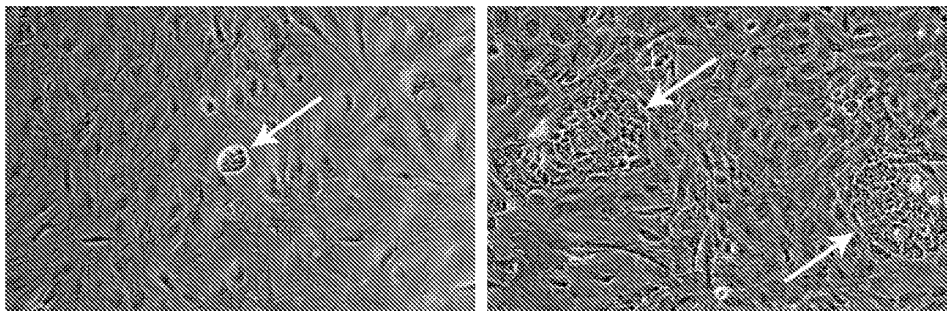
도면2



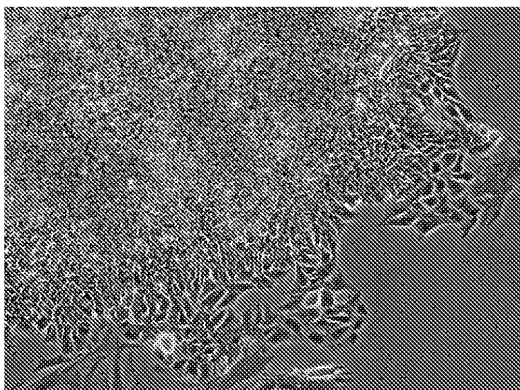
도면3a



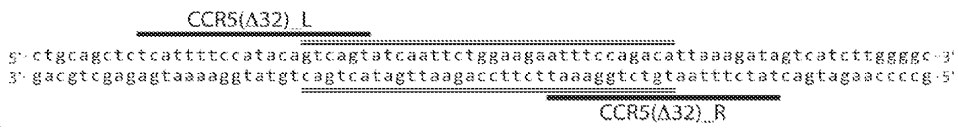
도면3b



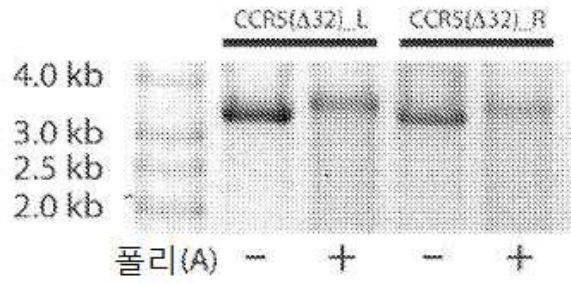
도면3c



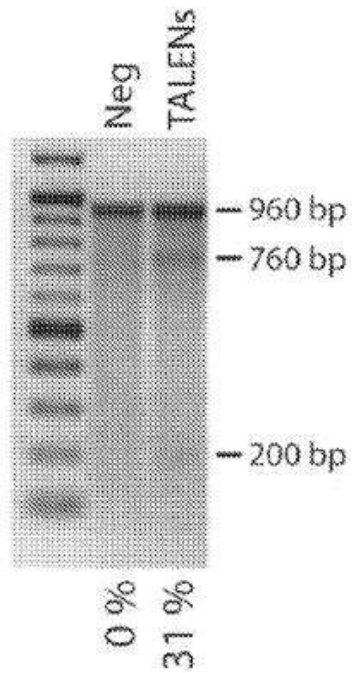
도면4a



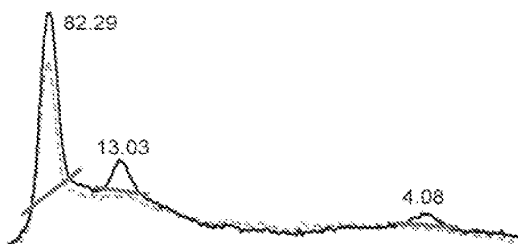
도면4b



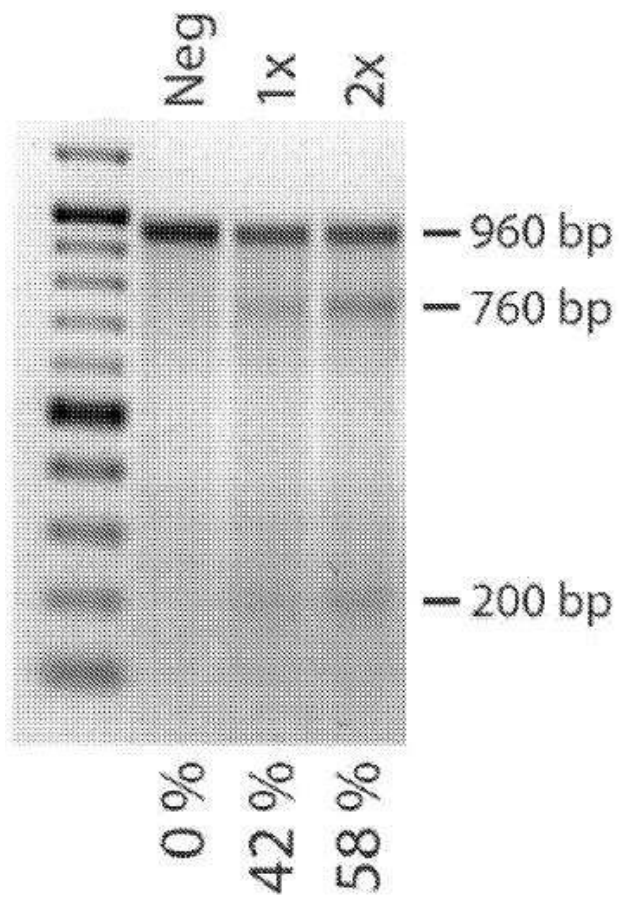
도면4c



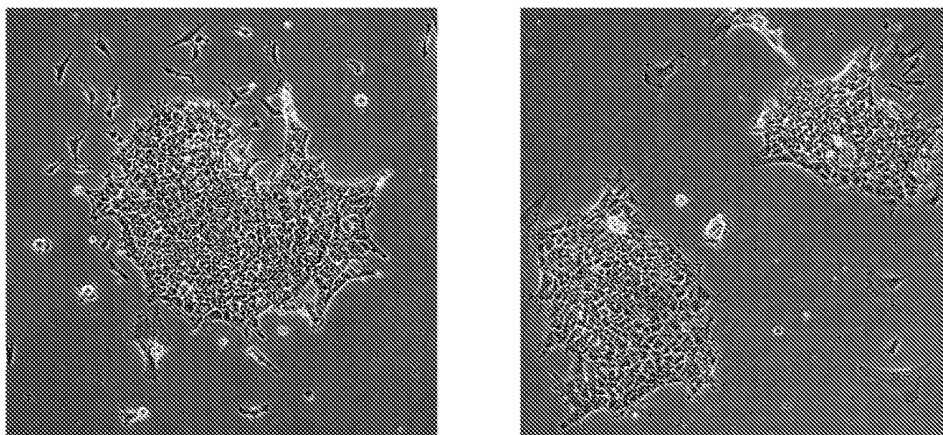
도면4d



도면4e



도면4f



도면4g

CCR5(A32)\_1

5'-ctgcagcttcattttccatucagtcagtcacatcttgaaagatttccagacattaaagatagtcattcttggggc-3' GM000609  
 3'-gacgtcgaagtaaaaggtatctcagtcagttaaagccttctaaagttctgtaattctcagtagaaccccg-5'

CCR5(A32)\_R

5'-ctgcagcttcattttccataca-----ttaaagaaagtcattcttggggc-3' CCR5(A32) 결손  
 3'-gacgtcgaagtaaaaggtatagt-----aatctctcagtagaaccccg-5'

5'-ctgcagcttcattttccalaaagtcagtcacatcttgaaagatttccagacattaaagatagtcattcttggggc-3' GM000609\_윤반체\_IPS\_1,2  
 3'-gacgtcgaagtaaaaggtatctcagtcagttaaagccttctaaagttctgtaattctcagtagaaccccg-5' & GM000609\_TaiCCR5\_IPS\_5-9

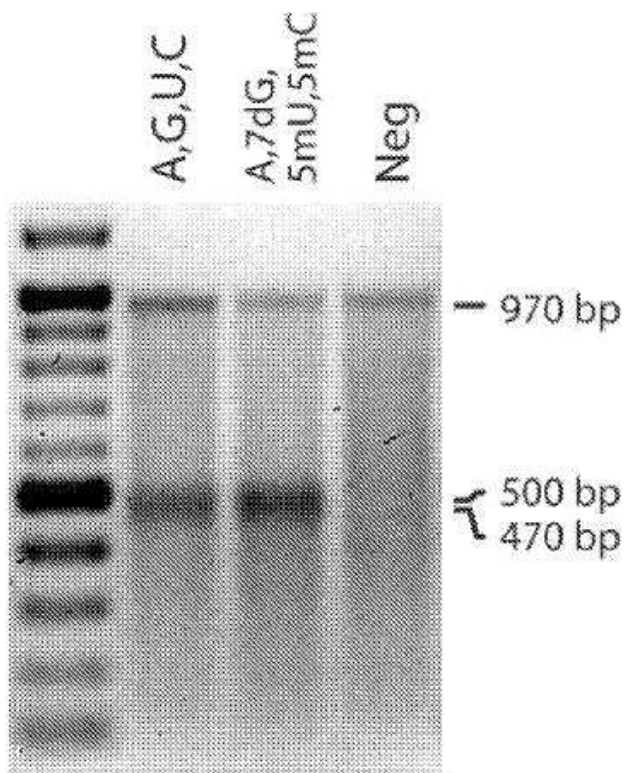
5'-ctgcagcttcattttccatacagtcagtcaca-ttctgaaagatttccagacattaaagatagtcattcttggggc-3' GM000609\_TaiCCR5\_IPS\_1 (1 bp 결손)  
 3'-gacgtcgaagtaaaaggtatctcagtcagtcacagc-aaaccccttctaaagttctgtaattctcagtagaaccccg-5'

5'-ctgcagcttcattttccatacagtcagtcaca-----aaattccagacattaaagatagtcattcttggggc-3' GM000609\_TaiCCR5\_IPS\_2 (9 bp 결손)  
 3'-gacgtcgaagtaaaaggtatctcagtcagtcagtt-----taaagttctgtaattctcagtagaaccccg-5'

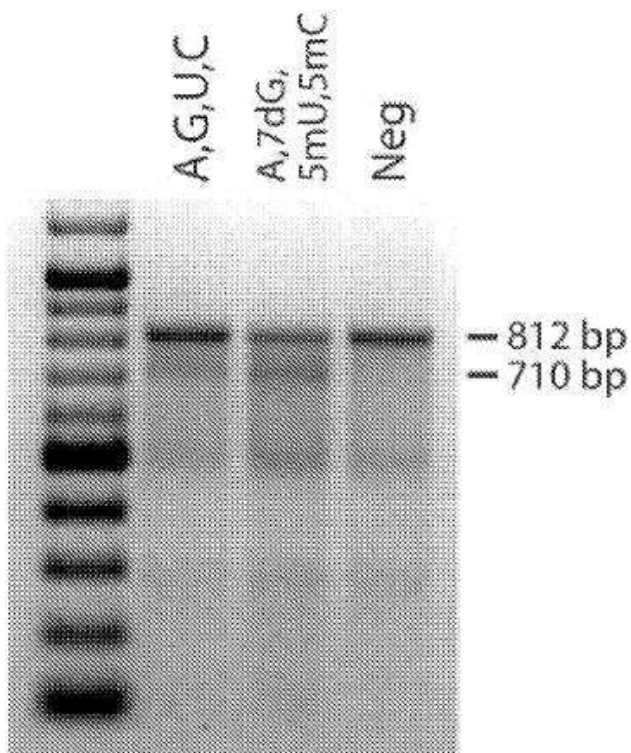
5'-ctgcagcttcattttccatacagtcagtcacattc-----aaattccagacattaaagatagtcattcttggggc-3' GM000609\_TaiCCR5\_IPS\_3 (6 bp 결손)  
 3'-gacgtcgaagtaaaaggtatctcagtcagtcagtttaag-----ttaaagttctgtaattctcagtagaaccccg-5'

5'-ctgcagcttcattttccatacagtcagtcacaa-----agaatttccagacattaaagatagtcattcttggggc-3' GM000609\_TaiCCR5\_IPS\_4 (6 bp 결손)  
 3'-gacgtcgaagtaaaaggtatctcagtcagtcagtt-----tcttaaagttctgtaattctcagtagaaccccg-5'

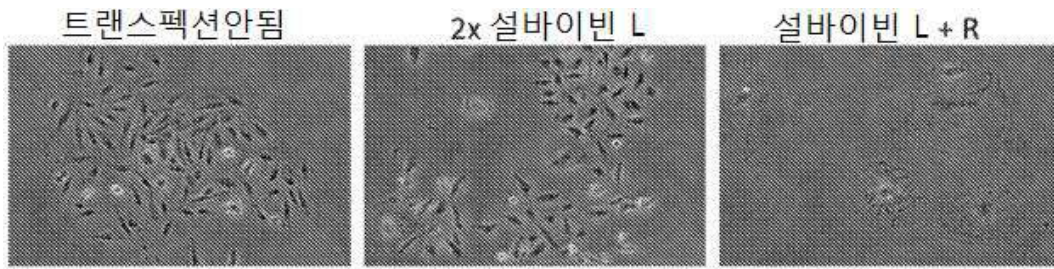
도면5



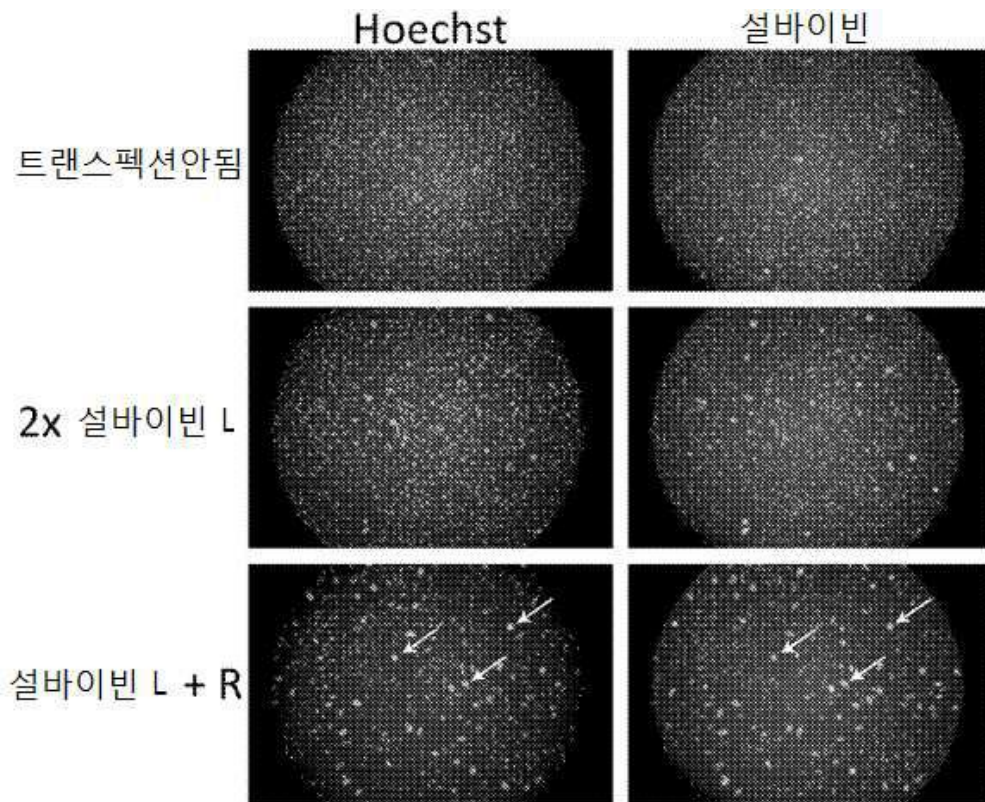
도면6



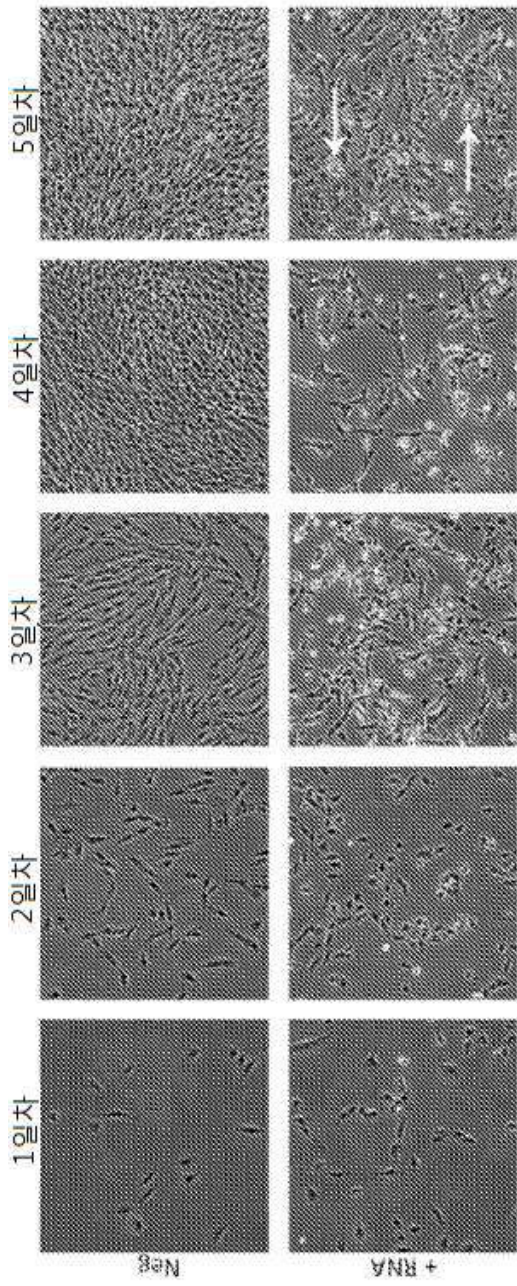
도면7a



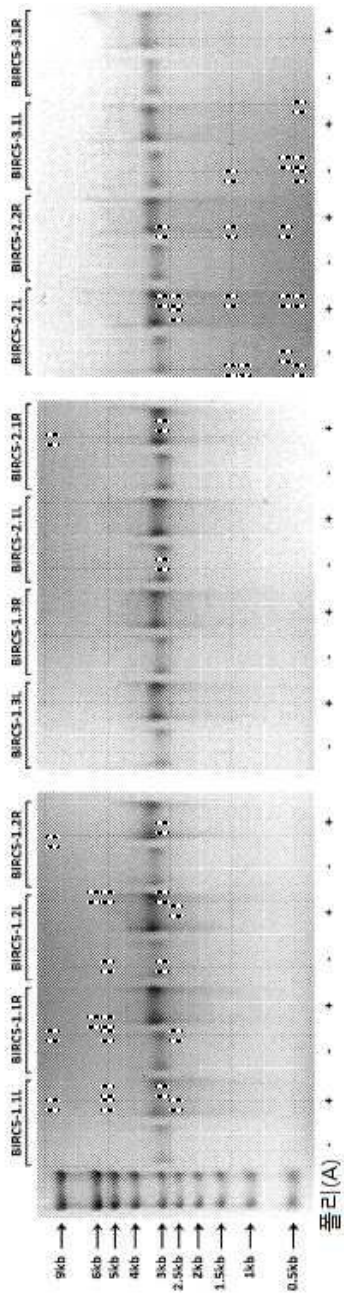
도면7b



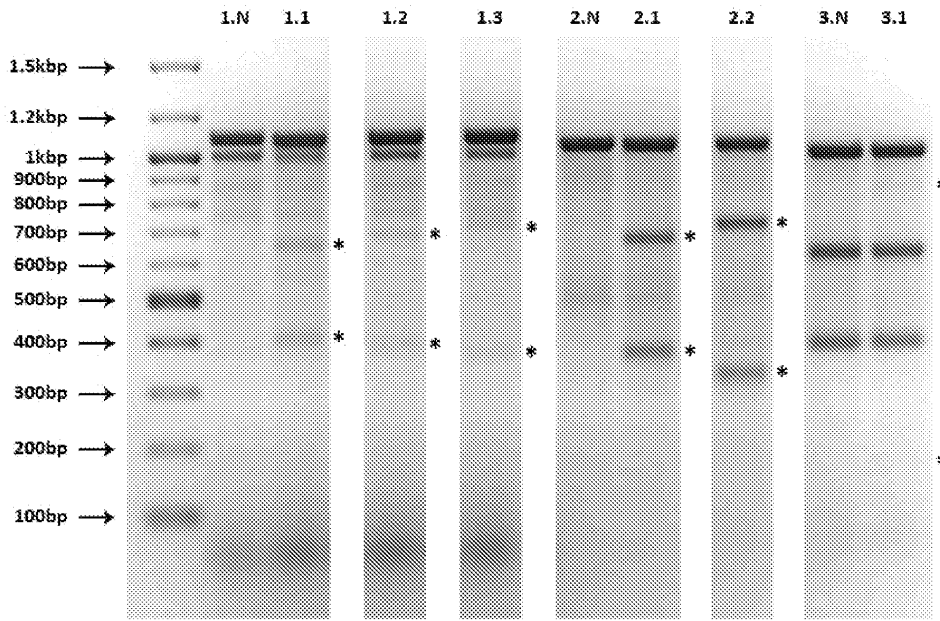
도면8



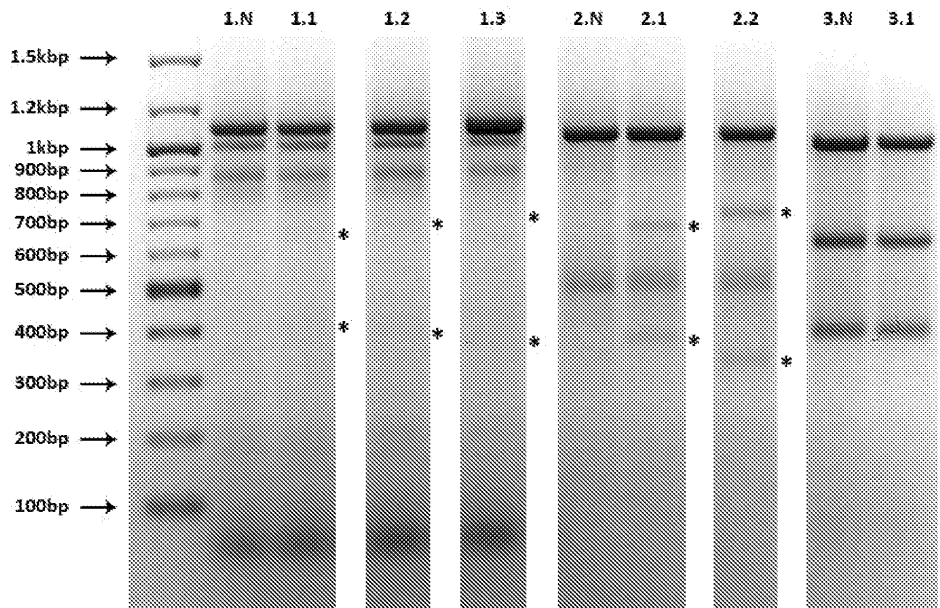
도면9



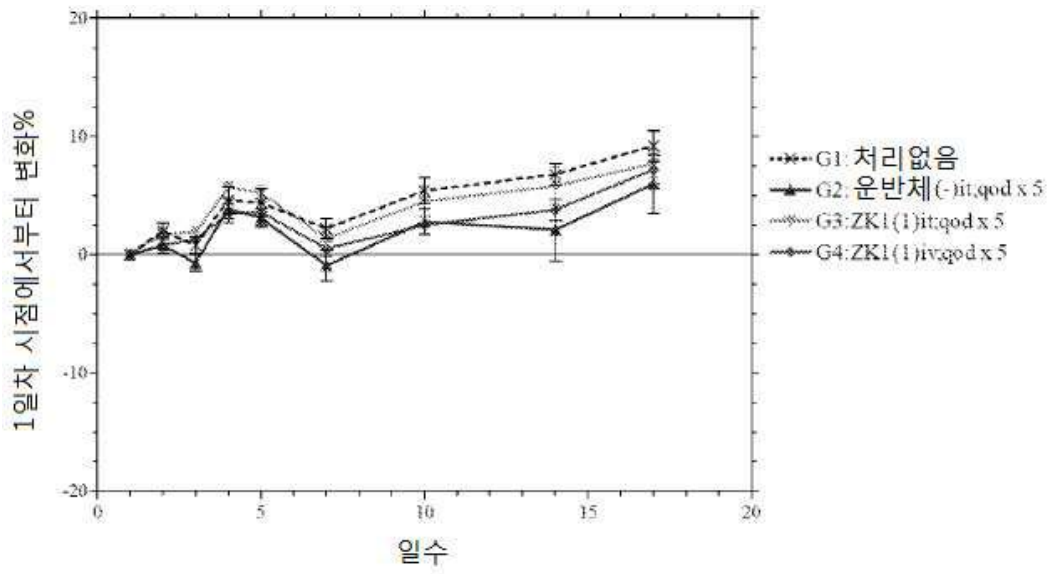
도면10a



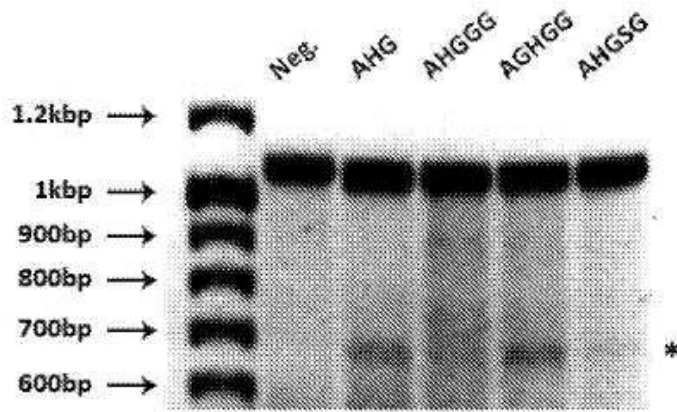
도면10b



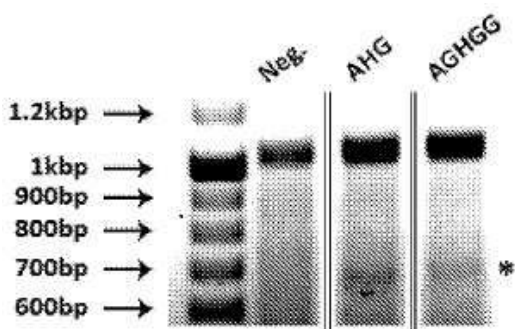
도면11



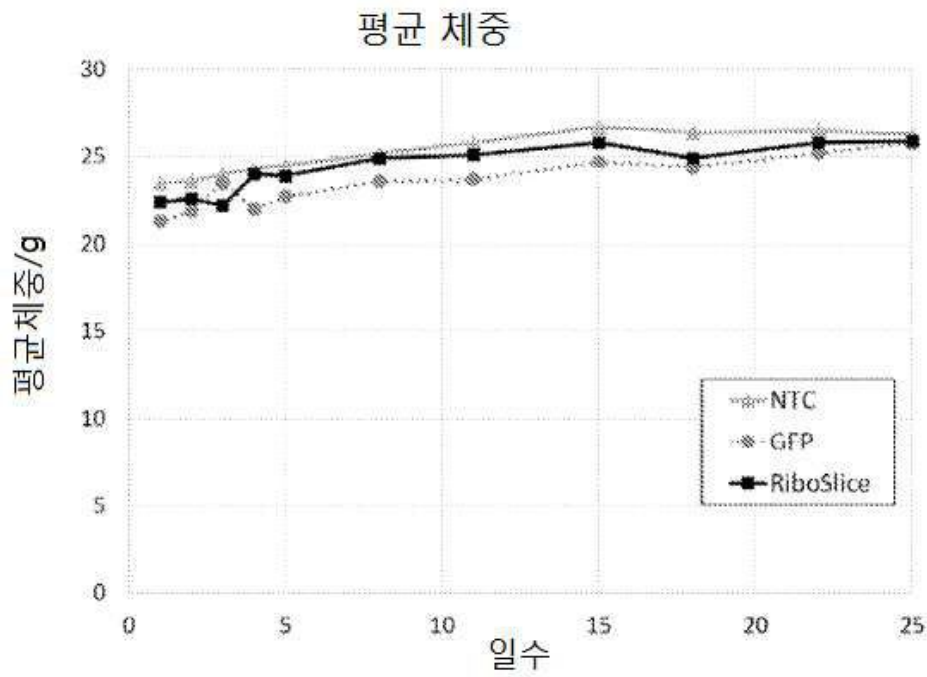
도면12a



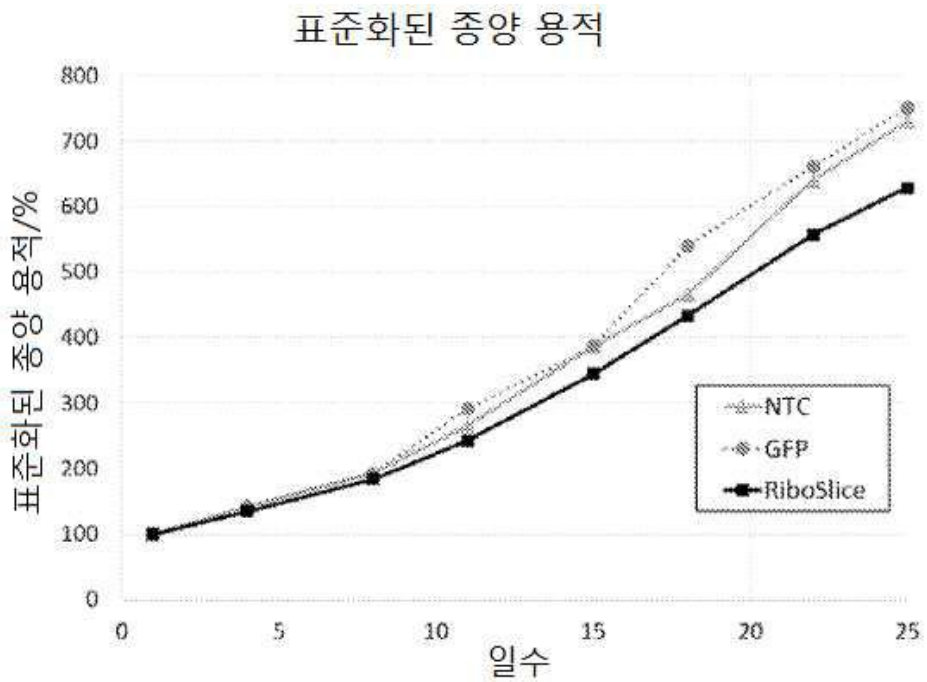
도면12b



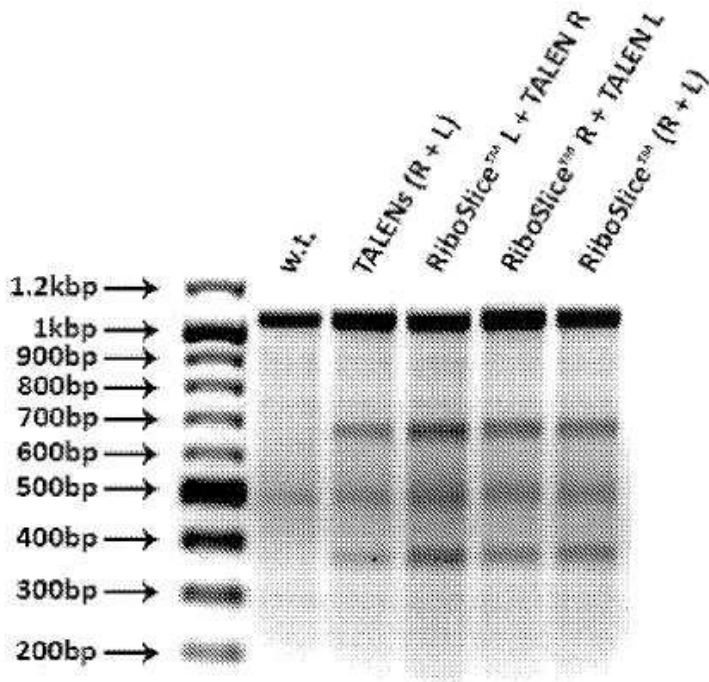
도면13a



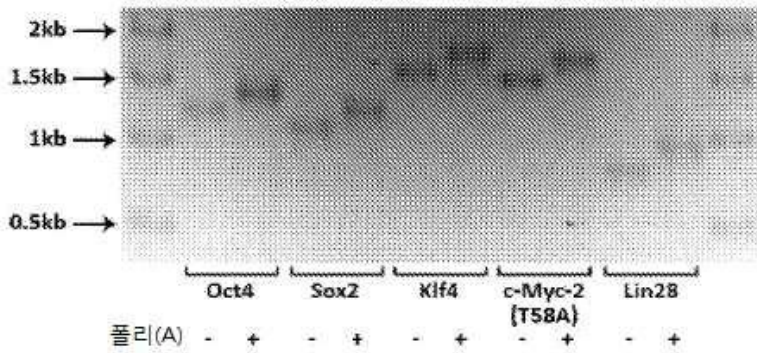
도면13b



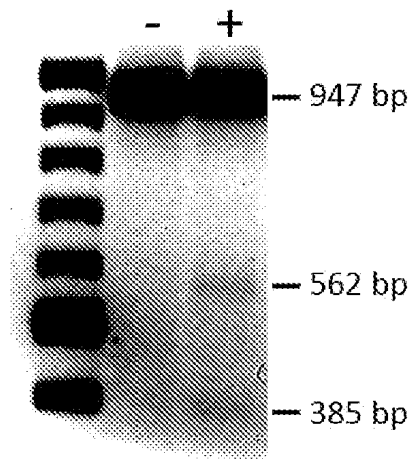
도면14



도면15



도면16



서열 목록

SEQUENCE LISTING

<110> Angel, Matthew

Rohde, Christopher

<120> METHODS AND PRODUCTS FOR EXPRESSING PROTEINS IN CELLS

<130> FABI-005/02WO

<160> 60

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 195

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 1

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

1                    5                    10                    15

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

20                    25                    30

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

35                    40                    45

Ser Thr Lys Ile Phe Thr Asp Glu Leu Gly Phe Ser Gly Lys His Leu

50                    55                    60

Gly Gly Ser Asn Lys Pro Asp Gly Leu Leu Trp Asp Asp Asp Cys Ala

65                    70                    75                    80

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

85                    90                    95

Ser His Thr Asp Ala Met Gly Arg Tyr Leu Arg Gln Phe Thr Glu Arg

100                    105                    110

Lys Glu Glu Ile Lys Pro Thr Trp Trp Asp Ile Ala Pro Glu His Leu

115                    120                    125

Asp Asn Thr Tyr Phe Ala Tyr Val Ser Gly Ser Phe Ser Gly Asn Tyr

130                    135                    140

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

145                      150                      155                      160  
 Ala Leu Glu Phe Val Lys Leu Leu Leu Leu Ala Asn Asn Tyr Lys Thr  
    165                      170                      175  
 Gln Lys Met Ser Lys Lys Glu Val Lys Lys Ser Ile Leu Asp Tyr Asn  
    180                      185                      190  
 Ile Ser Tyr  
    195  
 <210> 2  
 <211> 195  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens  
 <400> 2  
 Val Leu Glu Lys Ser Asp Ile Glu Lys Phe Lys Asn Gln Leu Arg Thr  
 1                      5                      10                      15  
 Glu Leu Thr Asn Ile Asp His Ser Tyr Leu Lys Gly Ile Asp Ile Ala  
    20                      25                      30  
 Ser Lys Lys Lys Thr Ser Asn Val Glu Asn Thr Glu Phe Glu Ala Ile  
    35                      40                      45  
 Ser Thr Lys Ile Phe Thr Asp Glu Leu Gly Phe Ser Gly Glu His Leu  
    50                      55                      60  
 Gly Gly Ser Asn Lys Pro Asp Gly Leu Leu Trp Asp Asp Asp Cys Ala  
 65                      70                      75                      80  
 Ile Ile Leu Asp Ser Lys Ala Tyr Ser Glu Gly Phe Pro Leu Thr Ala  
    85                      90                      95  
 Ser His Thr Asp Ala Met Gly Arg Tyr Leu Arg Gln Phe Thr Glu Arg  
    100                      105                      110  
 Lys Glu Glu Ile Lys Pro Thr Trp Trp Asp Ile Ala Pro Glu His Leu  
    115                      120                      125  
 Asp Asn Thr Tyr Phe Ala Tyr Val Ser Gly Ser Phe Ser Gly Asn Tyr  
    130                      135                      140  
 Lys Glu Gln Leu Gln Lys Phe Arg Gln Asp Thr Asn His Leu Gly Gly

145                      150                      155                      160  
 Ala Leu Glu Phe Val Lys Leu Leu Leu Leu Ala Asn Asn Tyr Lys Thr  
    165                      170                      175  
 Gln Lys Met Ser Lys Lys Glu Val Lys Lys Ser Ile Leu Asp Tyr Asn  
    180                      185                      190  
 Ile Ser Tyr  
    195  
 <210> 3  
 <211> 195  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens  
 <400> 3  
 Val Leu Glu Lys Ser Asp Ile Glu Lys Phe Lys Asn Gln Leu Arg Thr  
 1                                      5                                      10                                      15  
  
 Glu Leu Thr Asn Ile Asp His Ser Tyr Leu Lys Gly Ile Asp Ile Ala  
    20                                      25                                      30  
 Ser Lys Pro Lys Thr Ser Asn Val Glu Asn Thr Glu Phe Glu Ala Ile  
    35                                      40                                      45  
 Ser Thr Lys Ile Phe Thr Asp Glu Leu Gly Phe Ser Gly Lys His Leu  
    50                                      55                                      60  
 Gly Gly Ser Asn Lys Pro Asp Gly Leu Leu Trp Asp Asp Asp Cys Ala  
 65                                      70                                      75                                      80  
  
 Ile Ile Leu Asp Ser Lys Ala Tyr Ser Glu Gly Phe Pro Leu Thr Ala  
    85                                      90                                      95  
 Ser His Thr Asp Ala Met Gly Arg Tyr Leu Arg Gln Phe Thr Glu Arg  
    100                                      105                                      110  
 Lys Glu Glu Ile Lys Pro Thr Trp Trp Asp Ile Ala Pro Glu His Leu  
    115                                      120                                      125  
 Asp Asn Thr Tyr Phe Ala Tyr Val Ser Gly Ser Phe Ser Gly Asn Tyr  
    130                                      135                                      140  
  
 Lys Glu Gln Leu Gln Lys Phe Arg Gln Asp Thr Asn His Leu Gly Gly  
 145                                      150                                      155                                      160

Ala Leu Glu Phe Val Lys Leu Leu Leu Leu Ala Asn Asn Tyr Lys Thr  
 165 170 175  
 Gln Lys Met Ser Lys Lys Glu Val Lys Lys Ser Ile Leu Asp Tyr Asn  
 180 185 190  
 Ile Ser Tyr  
 195  
 <210> 4  
 <211> 195  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens  
 <400> 4  
 Val Leu Glu Lys Ser Asp Ile Glu Lys Phe Lys Asn Gln Leu Arg Thr  
  
 1 5 10 15  
 Glu Leu Thr Asn Ile Asp His Ser Tyr Leu Lys Gly Ile Asp Ile Ala  
 20 25 30  
 Ser Lys Pro Lys Thr Ser Asn Val Glu Asn Thr Glu Phe Glu Ala Ile  
 35 40 45  
 Ser Thr Lys Ile Phe Thr Asp Glu Leu Gly Phe Ser Gly Glu His Leu  
 50 55 60  
 Gly Gly Ser Asn Lys Pro Asp Gly Leu Leu Trp Asp Asp Asp Cys Ala  
  
 65 70 75 80  
 Ile Ile Leu Asp Ser Lys Ala Tyr Ser Glu Gly Phe Pro Leu Thr Ala  
 85 90 95  
 Ser His Thr Asp Ala Met Gly Arg Tyr Leu Arg Gln Phe Thr Glu Arg  
 100 105 110  
 Lys Glu Glu Ile Lys Pro Thr Trp Trp Asp Ile Ala Pro Glu His Leu  
 115 120 125  
 Asp Asn Thr Tyr Phe Ala Tyr Val Ser Gly Ser Phe Ser Gly Asn Tyr  
  
 130 135 140  
 Lys Glu Gln Leu Gln Lys Phe Arg Gln Asp Thr Asn His Leu Gly Gly  
 145 150 155 160  
 Ala Leu Glu Phe Val Lys Leu Leu Leu Leu Ala Asn Asn Tyr Lys Thr



Lys Lys Glu Val Lys Lys Ser Ile Leu Asp Tyr Asn Ile Ser Tyr  
 180 185 190

<210> 6

<211> 195

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 6

Val Leu Glu Lys Ser Asp Ile Glu Lys Phe Lys Asn Gln Leu Arg Thr  
 1 5 10 15

Glu Leu Thr Asn Ile Asp His Ser Tyr Leu Lys Gly Ile Asp Ile Ala  
 20 25 30

Ser Lys Lys Lys Thr Ser Asn Val Glu Asn Thr Glu Phe Glu Ala Ile  
 35 40 45

Ser Thr Lys Ile Phe Thr Asp Glu Leu Gly Phe Ser Gly Lys His Leu  
 50 55 60

Gly Gly Ser Asn Lys Pro Asp Gly Leu Leu Trp Asp Asp Asp Cys Ala  
 65 70 75 80

Ile Ile Leu Asp Ser Lys Ala Tyr Ser Glu Gly Phe Pro Leu Thr Ala  
 85 90 95

Ser His Thr Asp Ala Met Gly Arg Tyr Leu Arg Gln Phe Thr Glu Arg  
 100 105 110

Lys Glu Glu Ile Lys Pro Thr Trp Trp Asp Ile Ala Pro Glu His Leu  
 115 120 125

Asp Asn Thr Tyr Phe Ala Tyr Val Ser Gly Ser Phe Ser Gly Asp Tyr  
 130 135 140

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

Ala Leu Glu Phe Val Lys Leu Leu Leu Leu Ala Asn Asn Tyr Lys Thr  
 165 170 175

Gln Lys Met Ser Lys Lys Glu Val Lys Lys Ser Ile Leu Asp Tyr Asn  
 180 185 190

Ile Ser Tyr

195

<210> 7

<211> 195

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 7

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

1                    5                    10                    15

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

20                    25                    30

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

35                    40                    45

Ser Thr Lys Ile Phe Thr Asp Glu Leu Gly Phe Ser Gly Lys His Leu

50                    55                    60

Gly Gly Ser Asn Lys Pro Asp Gly Leu Leu Trp Asp Asp Asp Cys Ala

65                    70                    75                    80

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

85                    90                    95

Ser His Thr Asp Ala Met Gly Arg Tyr Leu Arg Gln Phe Thr Glu Arg

100                    105                    110

Lys Glu Glu Ile Lys Pro Thr Trp Trp Asp Ile Ala Pro Glu His Leu

115                    120                    125

Asp Asn Thr Tyr Phe Ala Tyr Val Ser Gly Ser Phe Ser Gly Asp Tyr

130                    135                    140

Lys Glu Gln Leu Gln Lys Phe Arg Gln Asn Thr Asn His Leu Gly Gly

145                    150                    155                    160

Ala Leu Glu Phe Val Lys Leu Leu Leu Leu Ala Asn Asn Tyr Lys Thr

165                    170                    175

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

180                    185                    190

Ile Ser Tyr

195

<210> 8

<211> 360

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 8

Met Ala Gly His Leu Ala Ser Asp Phe Ala Phe Ser Pro Pro Pro Gly  
 1                    5                    10                    15

Gly Gly Gly Asp Gly Pro Gly Gly Pro Glu Pro Gly Trp Val Asp Pro  
                   20                    25                    30

Arg Thr Trp Leu Ser Phe Gln Gly Pro Pro Gly Gly Pro Gly Ile Gly

                  35                    40                    45

Pro Gly Val Gly Pro Gly Ser Glu Val Trp Gly Ile Pro Pro Cys Pro  
                   50                    55                    60

Pro Pro Tyr Glu Phe Cys Gly Gly Met Ala Tyr Cys Gly Pro Gln Val  
 65                    70                    75                    80

Gly Val Gly Leu Val Pro Gln Gly Gly Leu Glu Thr Ser Gln Pro Glu  
                   85                    90                    95

Gly Glu Ala Gly Val Gly Val Glu Ser Asn Ser Asp Gly Ala Ser Pro

                  100                    105                    110

Glu Pro Cys Thr Val Thr Pro Gly Ala Val Lys Leu Glu Lys Glu Lys  
                   115                    120                    125

Leu Glu Gln Asn Pro Glu Glu Ser Gln Asp Ile Lys Ala Leu Gln Lys  
                   130                    135                    140

Glu Leu Glu Gln Phe Ala Lys Leu Leu Lys Gln Lys Arg Ile Thr Leu  
 145                    150                    155                    160

Gly Tyr Thr Gln Ala Asp Val Gly Leu Thr Leu Gly Val Leu Phe Gly

                  165                    170                    175

Lys Val Phe Ser Gln Thr Thr Ile Cys Arg Phe Glu Ala Leu Gln Leu  
                   180                    185                    190

Ser Phe Lys Asn Met Cys Lys Leu Arg Pro Leu Leu Gln Lys Trp Val  
                   195                    200                    205

Glu Glu Ala Asp Asn Asn Glu Asn Leu Gln Glu Ile Cys Lys Ala Glu  
 210 215 220  
 Thr Leu Val Gln Ala Arg Lys Arg Lys Arg Thr Ser Ile Glu Asn Arg  
  
 225 230 235 240  
 Val Arg Gly Asn Leu Glu Asn Leu Phe Leu Gln Cys Pro Lys Pro Thr  
 245 250 255  
 Leu Gln Gln Ile Ser His Ile Ala Gln Gln Leu Gly Leu Glu Lys Asp  
 260 265 270  
 Val Val Arg Val Trp Phe Cys Asn Arg Arg Gln Lys Gly Lys Arg Ser  
 275 280 285  
 Ser Ser Asp Tyr Ala Gln Arg Glu Asp Phe Glu Ala Ala Gly Ser Pro  
  
 290 295 300  
 Phe Ser Gly Gly Pro Val Ser Phe Pro Leu Ala Pro Gly Pro His Phe  
 305 310 315 320  
 Gly Thr Pro Gly Tyr Gly Ser Pro His Phe Thr Ala Leu Tyr Ser Ser  
 325 330 335  
 Val Pro Phe Pro Glu Gly Glu Ala Phe Pro Pro Val Ser Val Thr Thr  
 340 345 350  
 Leu Gly Ser Pro Met His Ser Asn  
 355 360

<210> 9

<211> 317

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 9

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

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





Cys Gly Trp Lys Phe Ala Arg Ser Asp Glu Leu Thr Arg His Tyr Arg  
 435 440 445  
 Lys His Thr Gly His Arg Pro Phe Gln Cys Gln Lys Cys Asp Arg Ala  
 450 455 460  
 Phe Ser Arg Ser Asp His Leu Ala Leu His Met Lys Arg His Phe  
 465 470 475  
 <210> 11  
 <211> 454  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens  
 <400> 11  
 Met Asp Phe Phe Arg Val Val Glu Asn Gln Gln Pro Pro Ala Thr Met  
  
 1 5 10 15  
 Pro Leu Asn Val Ser Phe Thr Asn Arg Asn Tyr Asp Leu Asp Tyr Asp  
 20 25 30  
 Ser Val Gln Pro Tyr Phe Tyr Cys Asp Glu Glu Glu Asn Phe Tyr Gln  
 35 40 45  
 Gln Gln Gln Gln Ser Glu Leu Gln Pro Pro Ala Pro Ser Glu Asp Ile  
 50 55 60  
 Trp Lys Lys Phe Glu Leu Leu Pro Thr Pro Pro Leu Ser Pro Ser Arg  
  
 65 70 75 80  
 Arg Ser Gly Leu Cys Ser Pro Ser Tyr Val Ala Val Thr Pro Phe Ser  
 85 90 95  
 Leu Arg Gly Asp Asn Asp Gly Gly Gly Gly Ser Phe Ser Thr Ala Asp  
 100 105 110  
 Gln Leu Glu Met Val Thr Glu Leu Leu Gly Gly Asp Met Val Asn Gln  
 115 120 125  
 Ser Phe Ile Cys Asp Pro Asp Asp Glu Thr Phe Ile Lys Asn Ile Ile  
  
 130 135 140  
 Ile Gln Asp Cys Met Trp Ser Gly Phe Ser Ala Ala Ala Lys Leu Val  
 145 150 155 160  
 Ser Glu Lys Leu Ala Ser Tyr Gln Ala Ala Arg Lys Asp Ser Gly Ser



Tyr Ile Leu Ser Val Gln Ala Glu Glu Gln Lys Leu Ile Ser Glu Glu  
 420 425 430  
 Asp Leu Leu Arg Lys Arg Arg Glu Gln Leu Lys His Lys Leu Glu Gln  
 435 440 445  
 Leu Arg Asn Ser Cys Ala  
 450

<210> 12  
 <211> 191  
 <212> DNA  
 <213> Homo sapiens  
 <400> 12  
 ttgaatcgcg ggacccgttg gcagagggtg cggcggcggc atgggtgccc cgacgttgcc 60  
 ccctgcctgg cagccctttc tcaaggacca cgcacatctc acattcaaga actggccctt 120  
 cttggagggc tgcgcctgca cccccgagcg ggtgagactg cccggcctcc tggggtcctc 180  
 cacgccccgc t 191  
 <210> 13  
 <211> 190  
 <212> DNA  
 <213> Homo sapiens  
 <400> 13  
 ggctgccacg tccactcacg agctgtgctg tccttgcag atggccgagg ctggcttcat 60  
 ccactgcccc actgagaacg agccagactt ggcccagtgt ttcttctgct tcaaggagct 120  
 ggaaggctgg gagccagatg acgaccccat gtaagtcttc tctggccagc ctcgatgggc 180  
 tttgttttga 190  
 <210> 14  
 <211> 198  
 <212> DNA  
 <213> Homo sapiens  
 <400> 14  
 cccttcagct gcctttccgc tgttgttttg atttttctag agaggaacat aaaaagcatt 60  
 cgtccggttg cgetttcctt tctgtcaaga agcagtttga agaattaacc cttggtgaat 120  
 ttttgaact ggacagagaa agagccaaga acaaaattgt atgtattggg aataagaact 180

gctcaaacc tgttcaat 198  
 <210> 15  
 <211> 170  
 <212> DNA  
 <213> Homo sapiens  
 <400> 15  
 gctctggttt cagtgtcatg tgtctattct ttatttccag gcaaaggaaa ccaacaataa 60  
 gaagaagaa tttgaggaaa ctgaggagaa agtgcgccgt gccatcgagc agctggctgc 120  
 catggattga ggcctctggc cggagctgcc tggcccaga gtggtgcac 170  
 <210> 16  
 <211> 20  
 <212> DNA  
 <213> Homo sapiens  
 <400> 16  
 ttgccccctg cctggcagcc 20  
 <210> 17  
 <211> 20  
 <212> DNA  
 <213> Homo sapiens  
 <400> 17  
 ttcttgaatg tagagatgcg 20  
 <210> 18  
 <211> 20  
 <212> DNA  
 <213> Homo sapiens  
 <400> 18  
 tgggtgcccc gacgttgccc 20  
 <210> 19  
 <211> 20  
 <212> DNA  
 <213> Homo sapiens  
 <400> 19  
 tgcggtggtc cttgagaaag 20  
 <210> 20

<211> 20  
 <212> DNA  
 <213> Homo sapiens  
 <400> 20  
  
 tcaaggacca ccgcatctct 20  
 <210> 21  
 <211> 20  
 <212> DNA  
 <213> Homo sapiens  
 <400> 21  
 tgcaggcgca gccctccaag 20  
 <210> 22  
 <211> 20  
 <212> DNA  
 <213> Homo sapiens  
 <400> 22  
 tggccgagge tggettcatc 20  
 <210> 23  
 <211> 20  
 <212> DNA  
 <213> Homo sapiens  
 <400> 23  
 tggccaagt ctggctcgtt 20  
  
 <210> 24  
 <211> 20  
 <212> DNA  
 <213> Homo sapiens  
 <400> 24  
 ttggcccagt gtttcttctg 20  
 <210> 25  
 <211> 20  
 <212> DNA  
 <213> Homo sapiens

<400> 25  
 tcgtcatctg gctcccagcc 20

<210> 26  
 <211> 20  
 <212> DNA  
 <213> Homo sapiens

<400> 26  
 tgcgctttcc tttctgtaa 20

<210> 27  
 <211> 20  
 <212> DNA  
 <213> Homo sapiens

<400> 27

tcaaaaattc accaagggtt 20

<210> 28  
 <211> 297  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

<400> 28

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

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

100	105	110	
Leu Gln Gly Ile Val Phe Cys His Ser Arg Arg Val Leu His Arg Asp			
115	120	125	
Leu Lys Pro Gln Asn Leu Leu Ile Asp Asp Lys Gly Thr Ile Lys Leu			
130	135	140	
Ala Asp Phe Gly Leu Ala Arg Ala Phe Gly Ile Pro Ile Arg Val Tyr			
145	150	155	160
Thr His Glu Val Val Thr Leu Trp Tyr Arg Ser Pro Glu Val Leu Leu			
165	170	175	
Gly Ser Ala Arg Tyr Ser Thr Pro Val Asp Ile Trp Ser Ile Gly Thr			
180	185	190	
Ile Phe Ala Glu Leu Ala Thr Lys Lys Pro Leu Phe His Gly Asp Ser			
195	200	205	
Glu Ile Asp Gln Leu Phe Arg Ile Phe Arg Ala Leu Gly Thr Pro Asn			
210	215	220	
Asn Glu Val Trp Pro Glu Val Glu Ser Leu Gln Asp Tyr Lys Asn Thr			
225	230	235	240
Phe Pro Lys Trp Lys Pro Gly Ser Leu Ala Ser His Val Lys Asn Leu			
245	250	255	
Asp Glu Asn Gly Leu Asp Leu Leu Ser Lys Met Leu Ile Tyr Asp Pro			
260	265	270	
Ala Lys Arg Ile Ser Gly Lys Met Ala Leu Asn His Pro Tyr Phe Asn			
275	280	285	
Asp Leu Asp Asn Gln Ile Lys Lys Met			
290	295		
<210> 29			
<211> 298			
<212> PRT			
<213> Homo sapiens			
<400> 29			
Met Glu Asn Phe Gln Lys Val Glu Lys Ile Gly Glu Gly Thr Tyr Gly			

1                    5                    10                    15  
 Val Val Tyr Lys Ala Arg Asn Lys Leu Thr Gly Glu Val Val Ala Leu  
                          20                    25                    30  
 Lys Lys Ile Arg Leu Asp Thr Glu Thr Glu Gly Val Pro Ser Thr Ala  
                          35                    40                    45  
 Ile Arg Glu Ile Ser Leu Leu Lys Glu Leu Asn His Pro Asn Ile Val  
                          50                    55                    60  
  
 Lys Leu Leu Asp Val Ile His Thr Glu Asn Lys Leu Tyr Leu Val Phe  
 65                    70                    75                    80  
 Glu Phe Leu His Gln Asp Leu Lys Lys Phe Met Asp Ala Ser Ala Leu  
                          85                    90                    95  
 Thr Gly Ile Pro Leu Pro Leu Ile Lys Ser Tyr Leu Phe Gln Leu Leu  
                          100                    105                    110  
 Gln Gly Leu Ala Phe Cys His Ser His Arg Val Leu His Arg Asp Leu  
                          115                    120                    125  
  
 Lys Pro Gln Asn Leu Leu Ile Asn Thr Glu Gly Ala Ile Lys Leu Ala  
                          130                    135                    140  
 Asp Phe Gly Leu Ala Arg Ala Phe Gly Val Pro Val Arg Thr Tyr Thr  
 145                    150                    155                    160  
 His Glu Val Val Thr Leu Trp Tyr Arg Ala Pro Glu Ile Leu Leu Gly  
                          165                    170                    175  
 Cys Lys Tyr Tyr Ser Thr Ala Val Asp Ile Trp Ser Leu Gly Cys Ile  
                          180                    185                    190  
  
 Phe Ala Glu Met Val Thr Arg Arg Ala Leu Phe Pro Gly Asp Ser Glu  
                          195                    200                    205  
 Ile Asp Gln Leu Phe Arg Ile Phe Arg Thr Leu Gly Thr Pro Asp Glu  
                          210                    215                    220  
 Val Val Trp Pro Gly Val Thr Ser Met Pro Asp Tyr Lys Pro Ser Phe  
 225                    230                    235                    240  
 Pro Lys Trp Ala Arg Gln Asp Phe Ser Lys Val Val Pro Pro Leu Asp  
                          245                    250                    255

Glu Asp Gly Arg Ser Leu Leu Ser Gln Met Leu His Tyr Asp Pro Asn  
                   260                          265                          270  
 Lys Arg Ile Ser Ala Lys Ala Ala Leu Ala His Pro Phe Phe Gln Asp  
                   275                          280                          285  
 Val Thr Lys Pro Val Pro His Leu Arg Leu  
                   290                          295  
 <210> 30  
 <211> 305  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens  
 <400> 30  
 Met Asp Met Phe Gln Lys Val Glu Lys Ile Gly Glu Gly Thr Tyr Gly  
 1                  5                          10                          15  
  
 Val Val Tyr Lys Ala Lys Asn Arg Glu Thr Gly Gln Leu Val Ala Leu  
                   20                          25                          30  
 Lys Lys Ile Arg Leu Asp Leu Glu Met Glu Gly Val Pro Ser Thr Ala  
                   35                          40                          45  
 Ile Arg Glu Ile Ser Leu Leu Lys Glu Leu Lys His Pro Asn Ile Val  
                   50                          55                          60  
 Arg Leu Leu Asp Val Val His Asn Glu Arg Lys Leu Tyr Leu Val Phe  
 65                          70                          75                          80  
  
 Glu Phe Leu Ser Gln Asp Leu Lys Lys Tyr Met Asp Ser Thr Pro Gly  
                   85                          90                          95  
 Ser Glu Leu Pro Leu His Leu Ile Lys Ser Tyr Leu Phe Gln Leu Leu  
                   100                          105                          110  
 Gln Gly Val Ser Phe Cys His Ser His Arg Val Ile His Arg Asp Leu  
                   115                          120                          125  
 Lys Pro Gln Asn Leu Leu Ile Asn Glu Leu Gly Ala Ile Lys Leu Ala  
                   130                          135                          140  
  
 Asp Phe Gly Leu Ala Arg Ala Phe Gly Val Pro Leu Arg Thr Tyr Thr  
 145                          150                          155                          160  
 His Glu Val Val Thr Leu Trp Tyr Arg Ala Pro Glu Ile Leu Leu Gly





<211> 292

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 32

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

1                    5                    10                    15

Thr Val Phe Lys Ala Lys Asn Arg Glu Thr His Glu Ile Val Ala Leu

                  20                    25                    30

Lys Arg Val Arg Leu Asp Asp Asp Asp Glu Gly Val Pro Ser Ser Ala

                  35                    40                    45

Leu Arg Glu Ile Cys Leu Leu Lys Glu Leu Lys His Lys Asn Ile Val

                  50                    55                    60

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

65                    70                    75                    80

Glu Phe Cys Asp Gln Asp Leu Lys Lys Tyr Phe Asp Ser Cys Asn Gly

                  85                    90                    95

Asp Leu Asp Pro Glu Ile Val Lys Ser Phe Leu Phe Gln Leu Leu Lys

                  100                    105                    110

Gly Leu Gly Phe Cys His Ser Arg Asn Val Leu His Arg Asp Leu Lys

                  115                    120                    125

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

                  130                    135                    140

Phe Gly Leu Ala Arg Ala Phe Gly Ile Pro Val Arg Cys Tyr Ser Ala

145                    150                    155                    160

Glu Val Val Thr Leu Trp Tyr Arg Pro Pro Asp Val Leu Phe Gly Ala

                  165                    170                    175

Lys Leu Tyr Ser Thr Ser Ile Asp Met Trp Ser Ala Gly Cys Ile Phe

                  180                    185                    190

Ala Glu Leu Ala Asn Ala Gly Arg Pro Leu Phe Pro Gly Asn Asp Val

                  195                    200                    205

Asp Asp Gln Leu Lys Arg Ile Phe Arg Leu Leu Gly Thr Pro Thr Glu

210                                  215                                  220

Glu Gln Trp Pro Ser Met Thr Lys Leu Pro Asp Tyr Lys Pro Tyr Pro  
 225                                  230                                  235                                  240

Met Tyr Pro Ala Thr Thr Ser Leu Val Asn Val Val Pro Lys Leu Asn  
    245                                  250                                  255

Ala Thr Gly Arg Asp Leu Leu Gln Asn Leu Leu Lys Cys Asn Pro Val  
    260                                  265                                  270

Gln Arg Ile Ser Ala Glu Glu Ala Leu Gln His Pro Tyr Phe Ser Asp  
    275                                  280                                  285

Phe Cys Pro Pro

290

<210> 33

<211> 326

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 33

Met Glu Lys Asp Gly Leu Cys Arg Ala Asp Gln Gln Tyr Glu Cys Val  
 1                                  5                                  10                                  15

Ala Glu Ile Gly Glu Gly Ala Tyr Gly Lys Val Phe Lys Ala Arg Asp  
    20                                  25                                  30

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

Thr Gly Glu Glu Gly Met Pro Leu Ser Thr Ile Arg Glu Val Ala Val  
    50                                  55                                  60

Leu Arg His Leu Glu Thr Phe Glu His Pro Asn Val Val Arg Leu Phe  
 65                                  70                                  75                                  80

Asp Val Cys Thr Val Ser Arg Thr Asp Arg Glu Thr Lys Leu Thr Leu  
    85                                  90                                  95

Val Phe Glu His Val Asp Gln Asp Leu Thr Thr Tyr Leu Asp Lys Val  
    100                                  105                                  110

Pro Glu Pro Gly Val Pro Thr Glu Thr Ile Lys Asp Met Met Phe Gln

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

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

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

305 310 315 320  
 Ser Glu Leu Asn Thr Ala  
 325

- <210> 34
- <211> 142
- <212> PRT
- <213> Homo sapiens
- <400> 34

Met Gly Ala Pro Thr Leu Pro Pro Ala Trp Gln Pro Phe Leu Lys Asp  
 1                    5                    10                    15  
 His Arg Ile Ser Thr Phe Lys Asn Trp Pro Phe Leu Glu Gly Cys Ala  
                   20                    25                    30  
 Cys Thr Pro Glu Arg Met Ala Glu Ala Gly Phe Ile His Cys Pro Thr  
                   35                    40                    45  
 Glu Asn Glu Pro Asp Leu Ala Gln Cys Phe Phe Cys Phe Lys Glu Leu  
                   50                    55                    60  
 Glu Gly Trp Glu Pro Asp Asp Asp Pro Ile Glu Glu His Lys Lys His  
 65                    70                    75                    80  
 Ser Ser Gly Cys Ala Phe Leu Ser Val Lys Lys Gln Phe Glu Glu Leu  
                   85                    90                    95  
 Thr Leu Gly Glu Phe Leu Lys Leu Asp Arg Glu Arg Ala Lys Asn Lys  
                   100                    105                    110  
 Ile Ala Lys Glu Thr Asn Asn Lys Lys Lys Glu Phe Glu Glu Thr Ala  
                   115                    120                    125  
 Glu Lys Val Arg Arg Ala Ile Glu Gln Leu Ala Ala Met Asp  
                   130                    135                    140  
 <210> 35  
 <211> 826  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens  
 <400> 35  
 Met Glu Gly Ala Gly Gly Ala Asn Asp Lys Lys Lys Ile Ser Ser Glu  
 1                    5                    10                    15  
  
 Arg Arg Lys Glu Lys Ser Arg Asp Ala Ala Arg Ser Arg Arg Ser Lys  
                   20                    25                    30  
 Glu Ser Glu Val Phe Tyr Glu Leu Ala His Gln Leu Pro Leu Pro His  
                   35                    40                    45  
 Asn Val Ser Ser His Leu Asp Lys Ala Ser Val Met Arg Leu Thr Ile  
                   50                    55                    60  
 Ser Tyr Leu Arg Val Arg Lys Leu Leu Asp Ala Gly Asp Leu Asp Ile



Ala Thr Val Ile Tyr Asn Thr Lys Asn Ser Gln Pro Gln Cys Ile Val  
 325 330 335

Cys Val Asn Tyr Val Val Ser Gly Ile Ile Gln His Asp Leu Ile Phe  
 340 345 350

Ser Leu Gln Gln Thr Glu Cys Val Leu Lys Pro Val Glu Ser Ser Asp  
 355 360 365

Met Lys Met Thr Gln Leu Phe Thr Lys Val Glu Ser Glu Asp Thr Ser  
 370 375 380

Ser Leu Phe Asp Lys Leu Lys Lys Glu Pro Asp Ala Leu Thr Leu Leu  
 385 390 395 400

Ala Pro Ala Ala Gly Asp Thr Ile Ile Ser Leu Asp Phe Gly Ser Asn  
 405 410 415

Asp Thr Glu Thr Asp Asp Gln Gln Leu Glu Glu Val Pro Leu Tyr Asn  
 420 425 430

Asp Val Met Leu Pro Ser Pro Asn Glu Lys Leu Gln Asn Ile Asn Leu  
 435 440 445

Ala Met Ser Pro Leu Pro Thr Ala Glu Thr Pro Lys Pro Leu Arg Ser  
 450 455 460

Ser Ala Asp Pro Ala Leu Asn Gln Glu Val Ala Leu Lys Leu Glu Pro  
 465 470 475 480

Asn Pro Glu Ser Leu Glu Leu Ser Phe Thr Met Pro Gln Ile Gln Asp  
 485 490 495

Gln Thr Pro Ser Pro Ser Asp Gly Ser Thr Arg Gln Ser Ser Pro Glu  
 500 505 510

Pro Asn Ser Pro Ser Glu Tyr Cys Phe Tyr Val Asp Ser Asp Met Val  
 515 520 525

Asn Glu Phe Lys Leu Glu Leu Val Glu Lys Leu Phe Ala Glu Asp Thr  
 530 535 540

Glu Ala Lys Asn Pro Phe Ser Thr Gln Asp Thr Asp Leu Asp Leu Glu  
 545 550 555 560

Met Leu Ala Pro Tyr Ile Pro Met Asp Asp Asp Phe Gln Leu Arg Ser

565 570 575  
Phe Asp Gln Leu Ser Pro Leu Glu Ser Ser Ser Ala Ser Pro Glu Ser  
580 585 590

Ala Ser Pro Gln Ser Thr Val Thr Val Phe Gln Gln Thr Gln Ile Gln  
595 600 605

Glu Pro Thr Ala Asn Ala Thr Thr Thr Thr Ala Thr Thr Asp Glu Leu  
610 615 620

Lys Thr Val Thr Lys Asp Arg Met Glu Asp Ile Lys Ile Leu Ile Ala  
625 630 635 640

Ser Pro Ser Pro Thr His Ile His Lys Glu Thr Thr Ser Ala Thr Ser  
645 650 655

Ser Pro Tyr Arg Asp Thr Gln Ser Arg Thr Ala Ser Pro Asn Arg Ala  
660 665 670

Gly Lys Gly Val Ile Glu Gln Thr Glu Lys Ser His Pro Arg Ser Pro  
675 680 685

Asn Val Leu Ser Val Ala Leu Ser Gln Arg Thr Thr Val Pro Glu Glu  
690 695 700

Glu Leu Asn Pro Lys Ile Leu Ala Leu Gln Asn Ala Gln Arg Lys Arg  
705 710 715 720

Lys Met Glu His Asp Gly Ser Leu Phe Gln Ala Val Gly Ile Gly Thr  
725 730 735

Leu Leu Gln Gln Pro Asp Asp His Ala Ala Thr Thr Ser Leu Ser Trp  
740 745 750

Lys Arg Val Lys Gly Cys Lys Ser Ser Glu Gln Asn Gly Met Glu Gln  
755 760 765

Lys Thr Ile Ile Leu Ile Pro Ser Asp Leu Ala Cys Arg Leu Leu Gly  
770 775 780

Gln Ser Met Asp Glu Ser Gly Leu Pro Gln Leu Thr Ser Tyr Asp Cys  
785 790 795 800

Glu Val Asn Ala Pro Ile Gln Gly Ser Arg Asn Leu Leu Gln Gly Glu  
805 810 815

Glu Leu Leu Arg Ala Leu Asp Gln Val Asn

820 825

<210> 36

<211> 449

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 36

Met Gly Arg Val Gly Gly Met Ala Gln Pro Met Gly Arg Ala Gly Ala

1 5 10 15

Pro Lys Pro Met Gly Arg Ala Gly Ser Ala Arg Arg Gly Arg Phe Lys

20 25 30

Gly Cys Trp Ser Glu Gly Ser Pro Val His Pro Val Pro Ala Val Leu

35 40 45

Ser Trp Leu Leu Ala Leu Leu Arg Cys Ala Ser Thr Met Leu Ser Leu

50 55 60

Arg Val Pro Leu Ala Pro Ile Thr Asp Pro Gln Gln Leu Gln Leu Ser

65 70 75 80

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

85 90 95

Leu Ser Gly Thr Arg Val Leu Ala Ser Lys Thr Ala Arg Arg Ile Phe

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

Ile Glu Tyr His Asp Ile Trp Gln Met Tyr Lys Lys Ala Glu Ala Ser

145 150 155 160

Phe Trp Thr Ala Glu Glu Val Asp Leu Ser Lys Asp Ile Gln His Trp

165 170 175

Glu Ser Leu Lys Pro Glu Glu Arg Tyr Phe Ile Ser His Val Leu Ala

180 185 190

Phe Phe Ala Ala Ser Asp Gly Ile Val Asn Glu Asn Leu Val Glu Arg



Phe

<210> 37

<211> 188

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 37

Met Thr Glu Tyr Lys Leu Val Val Val Gly Ala Gly Gly Val Gly Lys

1                    5                    10                    15  
 Ser Ala Leu Thr Ile Gln Leu Ile Gln Asn His Phe Val Asp Glu Tyr

                  20                    25                    30  
 Asp Pro Thr Ile Glu Asp Ser Tyr Arg Lys Gln Val Val Ile Asp Gly

                  35                    40                    45  
 Glu Thr Cys Leu Leu Asp Ile Leu Asp Thr Ala Gly Gln Glu Glu Tyr

                  50                    55                    60  
 Ser Ala Met Arg Asp Gln Tyr Met Arg Thr Gly Glu Gly Phe Leu Cys

65                    70                    75                    80  
 Val Phe Ala Ile Asn Asn Thr Lys Ser Phe Glu Asp Ile His His Tyr

                  85                    90                    95  
 Arg Glu Gln Ile Lys Arg Val Lys Asp Ser Glu Asp Val Pro Met Val

                  100                    105                    110  
 Leu Val Gly Asn Lys Cys Asp Leu Pro Ser Arg Thr Val Asp Thr Lys

                  115                    120                    125  
 Gln Ala Gln Asp Leu Ala Arg Ser Tyr Gly Ile Pro Phe Ile Glu Thr

                  130                    135                    140  
 Ser Ala Lys Thr Arg Gln Gly Val Asp Asp Ala Phe Tyr Thr Leu Val

145                    150                    155                    160  
 Arg Glu Ile Arg Lys His Lys Glu Lys Met Ser Lys Asp Gly Lys Lys

                  165                    170                    175  
 Lys Lys Lys Lys Ser Lys Thr Lys Cys Val Ile Met

                  180                    185  
 <210> 38

<211> 1210

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 38

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

1                    5                    10                    15  
Ala Leu Cys Pro Ala Ser Arg Ala Leu Glu Glu Lys Lys Val Cys Gln

                  20                    25                    30  
Gly Thr Ser Asn Lys Leu Thr Gln Leu Gly Thr Phe Glu Asp His Phe

                  35                    40                    45  
Leu Ser Leu Gln Arg Met Phe Asn Asn Cys Glu Val Val Leu Gly Asn

                  50                    55                    60  
Leu Glu Ile Thr Tyr Val Gln Arg Asn Tyr Asp Leu Ser Phe Leu Lys

65                    70                    75                    80  
Thr Ile Gln Glu Val Ala Gly Tyr Val Leu Ile Ala Leu Asn Thr Val

                  85                    90                    95  
Glu Arg Ile Pro Leu Glu Asn Leu Gln Ile Ile Arg Gly Asn Met Tyr

                  100                    105                    110  
Tyr Glu Asn Ser Tyr Ala Leu Ala Val Leu Ser Asn Tyr Asp Ala Asn

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

                  130                    135                    140  
His Gly Ala Val Arg Phe Ser Asn Asn Pro Ala Leu Cys Asn Val Glu

145                    150                    155                    160  
Ser Ile Gln Trp Arg Asp Ile Val Ser Ser Asp Phe Leu Ser Asn Met

                  165                    170                    175  
Ser Met Asp Phe Gln Asn His Leu Gly Ser Cys Gln Lys Cys Asp Pro

                  180                    185                    190  
Ser Cys Pro Asn Gly Ser Cys Trp Gly Ala Gly Glu Glu Asn Cys Gln

                  195                    200                    205  
Lys Leu Thr Lys Ile Ile Cys Ala Gln Gln Cys Ser Gly Arg Cys Arg



Gly Asn Lys Asn Leu Cys Tyr Ala Asn Thr Ile Asn Trp Lys Lys Leu  
 465                      470                      475                      480  
 Phe Gly Thr Ser Gly Gln Lys Thr Lys Ile Ile Ser Asn Arg Gly Glu  
                                  485                      490                      495  
 Asn Ser Cys Lys Ala Thr Gly Gln Val Cys His Ala Leu Cys Ser Pro  
                                  500                      505                      510  
 Glu Gly Cys Trp Gly Pro Glu Pro Arg Asp Cys Val Ser Cys Arg Asn  
                                  515                      520                      525  
 Val Ser Arg Gly Arg Glu Cys Val Asp Lys Cys Asn Leu Leu Glu Gly  
                                  530                      535                      540  
 Glu Pro Arg Glu Phe Val Glu Asn Ser Glu Cys Ile Gln Cys His Pro  
 545                      550                      555                      560  
 Glu Cys Leu Pro Gln Ala Met Asn Ile Thr Cys Thr Gly Arg Gly Pro  
                                  565                      570                      575  
 Asp Asn Cys Ile Gln Cys Ala His Tyr Ile Asp Gly Pro His Cys Val  
                                  580                      585                      590  
 Lys Thr Cys Pro Ala Gly Val Met Gly Glu Asn Asn Thr Leu Val Trp  
                                  595                      600                      605  
 Lys Tyr Ala Asp Ala Gly His Val Cys His Leu Cys His Pro Asn Cys  
                                  610                      615                      620  
 Thr Tyr Gly Cys Thr Gly Pro Gly Leu Glu Gly Cys Pro Thr Asn Gly  
 625                      630                      635                      640  
 Pro Lys Ile Pro Ser Ile Ala Thr Gly Met Val Gly Ala Leu Leu Leu  
                                  645                      650                      655  
 Leu Leu Val Val Ala Leu Gly Ile Gly Leu Phe Met Arg Arg Arg His  
                                  660                      665                      670  
 Ile Val Arg Lys Arg Thr Leu Arg Arg Leu Leu Gln Glu Arg Glu Leu  
                                  675                      680                      685  
 Val Glu Pro Leu Thr Pro Ser Gly Glu Ala Pro Asn Gln Ala Leu Leu  
                                  690                      695                      700  
 Arg Ile Leu Lys Glu Thr Glu Phe Lys Lys Ile Lys Val Leu Gly Ser



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

965 970 975

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

980 985 990

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

995 1000 1005

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

1010 1015 1020

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

1025 1030 1035

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

1040 1045 1050

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

1055 1060 1065

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

1070 1075 1080

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

1085 1090 1095

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

1100 1105 1110

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

1115 1120 1125

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

1130 1135 1140

Pro Thr Cys Val Asn Ser Thr Phe Asp Ser Pro Ala His Trp Ala

1145 1150 1155

Gln Lys Gly Ser His Gln Ile Ser Leu Asp Asn Pro Asp Tyr Gln

1160 1165 1170

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

1175 1180 1185

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

1190                      1195                      1200  
 Ser Ser Glu Phe Ile Gly Ala  
 1205                      1210  
  
 <210> 39  
 <211> 454  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens  
 <400> 39  
 Met Asp Phe Phe Arg Val Val Glu Asn Gln Gln Pro Pro Ala Thr Met  
 1                      5                      10                      15  
 Pro Leu Asn Val Ser Phe Thr Asn Arg Asn Tyr Asp Leu Asp Tyr Asp  
                     20                      25                      30  
 Ser Val Gln Pro Tyr Phe Tyr Cys Asp Glu Glu Glu Asn Phe Tyr Gln  
                     35                      40                      45  
 Gln Gln Gln Gln Ser Glu Leu Gln Pro Pro Ala Pro Ser Glu Asp Ile  
  
                     50                      55                      60  
 Trp Lys Lys Phe Glu Leu Leu Pro Thr Pro Pro Leu Ser Pro Ser Arg  
 65                      70                      75                      80  
 Arg Ser Gly Leu Cys Ser Pro Ser Tyr Val Ala Val Thr Pro Phe Ser  
                     85                      90                      95  
 Leu Arg Gly Asp Asn Asp Gly Gly Gly Gly Ser Phe Ser Thr Ala Asp  
                     100                      105                      110  
 Gln Leu Glu Met Val Thr Glu Leu Leu Gly Gly Asp Met Val Asn Gln  
  
                     115                      120                      125  
 Ser Phe Ile Cys Asp Pro Asp Asp Glu Thr Phe Ile Lys Asn Ile Ile  
                     130                      135                      140  
 Ile Gln Asp Cys Met Trp Ser Gly Phe Ser Ala Ala Ala Lys Leu Val  
 145                      150                      155                      160  
 Ser Glu Lys Leu Ala Ser Tyr Gln Ala Ala Arg Lys Asp Ser Gly Ser  
                     165                      170                      175  
 Pro Asn Pro Ala Arg Gly His Ser Val Cys Ser Thr Ser Ser Leu Tyr

180                      185                      190  
 Leu Gln Asp Leu Ser Ala Ala Ala Ser Glu Cys Ile Asp Pro Ser Val  
 195                      200                      205  
 Val Phe Pro Tyr Pro Leu Asn Asp Ser Ser Ser Pro Lys Ser Cys Ala  
 210                      215                      220  
 Ser Gln Asp Ser Ser Ala Phe Ser Pro Ser Ser Asp Ser Leu Leu Ser  
 225                      230                      235                      240  
 Ser Thr Glu Ser Ser Pro Gln Gly Ser Pro Glu Pro Leu Val Leu His  
  
 245                      250                      255  
 Glu Glu Thr Pro Pro Thr Thr Ser Ser Asp Ser Glu Glu Glu Gln Glu  
 260                      265                      270  
 Asp Glu Glu Glu Ile Asp Val Val Ser Val Glu Lys Arg Gln Ala Pro  
 275                      280                      285  
 Gly Lys Arg Ser Glu Ser Gly Ser Pro Ser Ala Gly Gly His Ser Lys  
 290                      295                      300  
 Pro Pro His Ser Pro Leu Val Leu Lys Arg Cys His Val Ser Thr His  
  
 305                      310                      315                      320  
 Gln His Asn Tyr Ala Ala Pro Pro Ser Thr Arg Lys Asp Tyr Pro Ala  
 325                      330                      335  
 Ala Lys Arg Val Lys Leu Asp Ser Val Arg Val Leu Arg Gln Ile Ser  
 340                      345                      350  
 Asn Asn Arg Lys Cys Thr Ser Pro Arg Ser Ser Asp Thr Glu Glu Asn  
 355                      360                      365  
 Val Lys Arg Arg Thr His Asn Val Leu Glu Arg Gln Arg Arg Asn Glu  
  
 370                      375                      380  
 Leu Lys Arg Ser Phe Phe Ala Leu Arg Asp Gln Ile Pro Glu Leu Glu  
 385                      390                      395                      400  
 Asn Asn Glu Lys Ala Pro Lys Val Val Ile Leu Lys Lys Ala Thr Ala  
 405                      410                      415  
 Tyr Ile Leu Ser Val Gln Ala Glu Glu Gln Lys Leu Ile Ser Glu Glu  
 420                      425                      430

Asp Leu Leu Arg Lys Arg Arg Glu Gln Leu Lys His Lys Leu Glu Gln

435 440 445

Leu Arg Asn Ser Cys Ala

450

<210> 40

<211> 889

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 40

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

His Leu Gly His Val Gln Gln Leu Leu Arg Ser Ser Asn Arg Arg Leu

50 55 60

Glu Gln Leu His Gly Glu Leu Arg Glu Leu His Ala Arg Ile Leu Leu

65 70 75 80

Pro Gly Pro Gly Pro Gly Pro Ala Glu Pro Val Ala Ser Gly Pro Arg

85 90 95

Pro Trp Ala Glu Gln Leu Arg Ala Arg His Leu Glu Ala Leu Arg Arg

100 105 110

Gln Leu His Val Glu Leu Lys Val Lys Gln Gly Ala Glu Asn Met Thr

115 120 125

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

130 135 140

Ala Gln Gln Met Leu Arg Asp Ser Gln Leu Lys Val Ala Leu Leu Arg

145 150 155 160

Met Lys Ile Ser Ser Leu Glu Ala Ser Gly Ser Pro Glu Pro Gly Pro

165 170 175

Glu Leu Leu Ala Glu Glu Leu Gln His Arg Leu His Val Glu Ala Ala  
 180 185 190  
 Val Ala Glu Gly Ala Lys Asn Val Val Lys Leu Leu Ser Ser Arg Arg  
 195 200 205  
 Thr Gln Asp Arg Lys Ala Leu Ala Glu Ala Gln Ala Gln Leu Gln Glu  
 210 215 220  
 Ser Ser Gln Lys Leu Asp Leu Leu Arg Leu Ala Leu Glu Gln Leu Leu  
 225 230 235 240  
 Glu Gln Leu Pro Pro Ala His Pro Leu Arg Ser Arg Val Thr Arg Glu  
 245 250 255  
 Leu Arg Ala Ala Val Pro Gly Tyr Pro Gln Pro Ser Gly Thr Pro Val  
 260 265 270  
 Lys Pro Thr Ala Leu Thr Gly Thr Leu Gln Val Arg Leu Leu Gly Cys  
 275 280 285  
 Glu Gln Leu Leu Thr Ala Val Pro Gly Arg Ser Pro Ala Ala Ala Leu  
 290 295 300  
 Ala Ser Ser Pro Ser Glu Gly Trp Leu Arg Thr Lys Ala Lys His Gln  
 305 310 315 320  
 Arg Gly Arg Gly Glu Leu Ala Ser Glu Val Leu Ala Val Leu Lys Val  
 325 330 335  
 Asp Asn Arg Val Val Gly Gln Thr Gly Trp Gly Gln Val Ala Glu Gln  
 340 345 350  
 Ser Trp Asp Gln Thr Phe Val Ile Pro Leu Glu Arg Ala Arg Glu Leu  
 355 360 365  
 Glu Ile Gly Val His Trp Arg Asp Trp Arg Gln Leu Cys Gly Val Ala  
 370 375 380  
 Phe Leu Arg Leu Glu Asp Phe Leu Asp Asn Ala Cys His Gln Leu Ser  
 385 390 395 400  
 Leu Ser Leu Val Pro Gln Gly Leu Leu Phe Ala Gln Val Thr Phe Cys  
 405 410 415  
 Asp Pro Val Ile Glu Arg Arg Pro Arg Leu Gln Arg Gln Glu Arg Ile

420                                      425                                      430  
 Phe Ser Lys Arg Arg Gly Gln Asp Phe Leu Arg Ala Ser Gln Met Asn  
 435                                      440                                      445  
 Leu Gly Met Ala Ala Trp Gly Arg Leu Val Met Asn Leu Leu Pro Pro  
 450                                      455                                      460  
 Cys Ser Ser Pro Ser Thr Ile Ser Pro Pro Lys Gly Cys Pro Arg Thr  
 465                                      470                                      475                                      480  
 Pro Thr Thr Leu Arg Glu Ala Ser Asp Pro Ala Thr Pro Ser Asn Phe  
  
 485                                      490                                      495  
 Leu Pro Lys Lys Thr Pro Leu Gly Glu Glu Met Thr Pro Pro Pro Lys  
 500                                      505                                      510  
 Pro Pro Arg Leu Tyr Leu Pro Gln Glu Pro Thr Ser Glu Glu Thr Pro  
 515                                      520                                      525  
 Arg Thr Lys Arg Pro His Met Glu Pro Arg Thr Arg Arg Gly Pro Ser  
 530                                      535                                      540  
 Pro Pro Ala Ser Pro Thr Arg Lys Pro Pro Arg Leu Gln Asp Phe Arg  
  
 545                                      550                                      555                                      560  
 Cys Leu Ala Val Leu Gly Arg Gly His Phe Gly Lys Val Leu Leu Val  
 565                                      570                                      575  
 Gln Phe Lys Gly Thr Gly Lys Tyr Tyr Ala Ile Lys Ala Leu Lys Lys  
 580                                      585                                      590  
 Gln Glu Val Leu Ser Arg Asp Glu Ile Glu Ser Leu Tyr Cys Glu Lys  
 595                                      600                                      605  
 Arg Ile Leu Glu Ala Val Gly Cys Thr Gly His Pro Phe Leu Leu Ser  
  
 610                                      615                                      620  
 Leu Leu Ala Cys Phe Gln Thr Ser Ser His Ala Cys Phe Val Thr Glu  
 625                                      630                                      635                                      640  
 Phe Val Pro Gly Gly Asp Leu Met Met Gln Ile His Glu Asp Val Phe  
 645                                      650                                      655  
 Pro Glu Pro Gln Ala Arg Phe Tyr Val Ala Cys Val Val Leu Gly Leu  
 660                                      665                                      670

Gln Phe Leu His Glu Lys Lys Ile Ile Tyr Arg Asp Leu Lys Leu Asp

675 680 685

Asn Leu Leu Leu Asp Ala Gln Gly Phe Leu Lys Ile Ala Asp Phe Gly

690 695 700

Leu Cys Lys Glu Gly Ile Gly Phe Gly Asp Arg Thr Ser Thr Phe Cys

705 710 715 720

Gly Thr Pro Glu Phe Leu Ala Pro Glu Val Leu Thr Gln Glu Ala Tyr

725 730 735

Thr Arg Ala Val Asp Trp Trp Gly Leu Gly Val Leu Leu Tyr Glu Met

740 745 750

Leu Val Gly Glu Cys Pro Phe Pro Gly Asp Thr Glu Glu Glu Val Phe

755 760 765

Asp Cys Ile Val Asn Met Asp Ala Pro Tyr Pro Gly Phe Leu Ser Val

770 775 780

Gln Gly Leu Glu Phe Ile Gln Lys Leu Leu Gln Lys Cys Pro Glu Lys

785 790 795 800

Arg Leu Gly Ala Gly Glu Gln Asp Ala Glu Glu Ile Lys Val Gln Pro

805 810 815

Phe Phe Arg Thr Thr Asn Trp Gln Ala Leu Leu Ala Arg Thr Ile Gln

820 825 830

Pro Pro Phe Val Pro Thr Leu Cys Gly Pro Ala Asp Leu Arg Tyr Phe

835 840 845

Glu Gly Glu Phe Thr Gly Leu Pro Pro Ala Leu Thr Pro Pro Ala Pro

850 855 860

His Ser Leu Leu Thr Ala Arg Gln Gln Ala Ala Phe Arg Asp Phe Asp

865 870 875 880

Phe Val Ser Glu Arg Phe Leu Glu Pro

885

<210> 41

<211> 1056

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 41

Met Ala Ser Gln Pro Asn Ser Ser Ala Lys Lys Lys Glu Glu Lys Gly  
 1                    5                    10                    15  
 Lys Asn Ile Gln Val Val Val Arg Cys Arg Pro Phe Asn Leu Ala Glu  
                   20                    25                    30  
 Arg Lys Ala Ser Ala His Ser Ile Val Glu Cys Asp Pro Val Arg Lys  
                   35                    40                    45  
 Glu Val Ser Val Arg Thr Gly Gly Leu Ala Asp Lys Ser Ser Arg Lys  
                   50                    55                    60  
 Thr Tyr Thr Phe Asp Met Val Phe Gly Ala Ser Thr Lys Gln Ile Asp  
 65                    70                    75                    80  
 Val Tyr Arg Ser Val Val Cys Pro Ile Leu Asp Glu Val Ile Met Gly  
                   85                    90                    95  
 Tyr Asn Cys Thr Ile Phe Ala Tyr Gly Gln Thr Gly Thr Gly Lys Thr  
                   100                    105                    110  
 Phe Thr Met Glu Gly Glu Arg Ser Pro Asn Glu Glu Tyr Thr Trp Glu  
                   115                    120                    125  
 Glu Asp Pro Leu Ala Gly Ile Ile Pro Arg Thr Leu His Gln Ile Phe  
                   130                    135                    140  
 Glu Lys Leu Thr Asp Asn Gly Thr Glu Phe Ser Val Lys Val Ser Leu  
 145                    150                    155                    160  
 Leu Glu Ile Tyr Asn Glu Glu Leu Phe Asp Leu Leu Asn Pro Ser Ser  
                   165                    170                    175  
 Asp Val Ser Glu Arg Leu Gln Met Phe Asp Asp Pro Arg Asn Lys Arg  
                   180                    185                    190  
 Gly Val Ile Ile Lys Gly Leu Glu Glu Ile Thr Val His Asn Lys Asp  
                   195                    200                    205  
 Glu Val Tyr Gln Ile Leu Glu Lys Gly Ala Ala Lys Arg Thr Thr Ala  
                   210                    215                    220  
 Ala Thr Leu Met Asn Ala Tyr Ser Ser Arg Ser His Ser Val Phe Ser

225                      230                      235                      240  
 Val Thr Ile His Met Lys Glu Thr Thr Ile Asp Gly Glu Glu Leu Val  
                                  245                      250                      255  
 Lys Ile Gly Lys Leu Asn Leu Val Asp Leu Ala Gly Ser Glu Asn Ile  
                                  260                      265                      270  
 Gly Arg Ser Gly Ala Val Asp Lys Arg Ala Arg Glu Ala Gly Asn Ile  
                                  275                      280                      285  
 Asn Gln Ser Leu Leu Thr Leu Gly Arg Val Ile Thr Ala Leu Val Glu  
  
                                  290                      295                      300  
 Arg Thr Pro His Val Pro Tyr Arg Glu Ser Lys Leu Thr Arg Ile Leu  
 305                      310                      315                      320  
 Gln Asp Ser Leu Gly Gly Arg Thr Arg Thr Ser Ile Ile Ala Thr Ile  
                                  325                      330                      335  
 Ser Pro Ala Ser Leu Asn Leu Glu Glu Thr Leu Ser Thr Leu Glu Tyr  
                                  340                      345                      350  
 Ala His Arg Ala Lys Asn Ile Leu Asn Lys Pro Glu Val Asn Gln Lys  
  
                                  355                      360                      365  
 Leu Thr Lys Lys Ala Leu Ile Lys Glu Tyr Thr Glu Glu Ile Glu Arg  
 370                      375                      380  
 Leu Lys Arg Asp Leu Ala Ala Ala Arg Glu Lys Asn Gly Val Tyr Ile  
 385                      390                      395                      400  
 Ser Glu Glu Asn Phe Arg Val Met Ser Gly Lys Leu Thr Val Gln Glu  
                                  405                      410                      415  
 Glu Gln Ile Val Glu Leu Ile Glu Lys Ile Gly Ala Val Glu Glu Glu  
  
                                  420                      425                      430  
 Leu Asn Arg Val Thr Glu Leu Phe Met Asp Asn Lys Asn Glu Leu Asp  
                                  435                      440                      445  
 Gln Cys Lys Ser Asp Leu Gln Asn Lys Thr Gln Glu Leu Glu Thr Thr  
                                  450                      455                      460  
 Gln Lys His Leu Gln Glu Thr Lys Leu Gln Leu Val Lys Glu Glu Tyr  
 465                      470                      475                      480

Ile Thr Ser Ala Leu Glu Ser Thr Glu Glu Lys Leu His Asp Ala Ala  
 485 490 495  
 Ser Lys Leu Leu Asn Thr Val Glu Glu Thr Thr Lys Asp Val Ser Gly  
 500 505 510  
 Leu His Ser Lys Leu Asp Arg Lys Lys Ala Val Asp Gln His Asn Ala  
 515 520 525  
 Glu Ala Gln Asp Ile Phe Gly Lys Asn Leu Asn Ser Leu Phe Asn Asn  
 530 535 540  
 Met Glu Glu Leu Ile Lys Asp Gly Ser Ser Lys Gln Lys Ala Met Leu  
 545 550 555 560  
 Glu Val His Lys Thr Leu Phe Gly Asn Leu Leu Ser Ser Ser Val Ser  
 565 570 575  
 Ala Leu Asp Thr Ile Thr Thr Val Ala Leu Gly Ser Leu Thr Ser Ile  
 580 585 590  
 Pro Glu Asn Val Ser Thr His Val Ser Gln Ile Phe Asn Met Ile Leu  
 595 600 605  
 Lys Glu Gln Ser Leu Ala Ala Glu Ser Lys Thr Val Leu Gln Glu Leu  
 610 615 620  
 Ile Asn Val Leu Lys Thr Asp Leu Leu Ser Ser Leu Glu Met Ile Leu  
 625 630 635 640  
 Ser Pro Thr Val Val Ser Ile Leu Lys Ile Asn Ser Gln Leu Lys His  
 645 650 655  
 Ile Phe Lys Thr Ser Leu Thr Val Ala Asp Lys Ile Glu Asp Gln Lys  
 660 665 670  
 Lys Glu Leu Asp Gly Phe Leu Ser Ile Leu Cys Asn Asn Leu His Glu  
 675 680 685  
 Leu Gln Glu Asn Thr Ile Cys Ser Leu Val Glu Ser Gln Lys Gln Cys  
 690 695 700  
 Gly Asn Leu Thr Glu Asp Leu Lys Thr Ile Lys Gln Thr His Ser Gln  
 705 710 715 720  
 Glu Leu Cys Lys Leu Met Asn Leu Trp Thr Glu Arg Phe Cys Ala Leu



Asp Val Glu Glu Ala Val Leu Gly Gln Tyr Thr Glu Glu Pro Leu Ser  
                   980                          985                          990  
 Gln Glu Pro Ser Val Asp Ala Gly Val Asp Cys Ser Ser Ile Gly Gly  
                   995                          1000                          1005  
 Val Pro Phe Phe Gln His Lys Lys Ser His Gly Lys Asp Lys Glu  
                   1010                          1015                          1020  
 Asn Arg Gly Ile Asn Thr Leu Glu Arg Ser Lys Val Glu Glu Thr  
                   1025                          1030                          1035  
 Thr Glu His Leu Val Thr Lys Ser Arg Leu Pro Leu Arg Ala Gln  
                   1040                          1045                          1050  
 Ile Asn Leu  
                   1055  
 <210> 42  
 <211> 2825  
  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens  
 <400> 42  
 Met Tyr Ala Ser Leu Gly Ser Gly Pro Val Ala Pro Leu Pro Ala Ser  
 1                  5                          10                          15  
 Val Pro Pro Ser Val Leu Gly Ser Trp Ser Thr Gly Gly Ser Arg Ser  
                   20                          25                          30  
 Cys Val Arg Gln Glu Thr Lys Ser Pro Gly Gly Ala Arg Thr Ser Gly  
                   35                          40                          45  
 His Trp Ala Ser Val Trp Gln Glu Val Leu Lys Gln Leu Gln Gly Ser  
                   50                          55                          60  
  
 Ile Glu Asp Glu Ala Met Ala Ser Ser Gly Gln Ile Asp Leu Leu Glu  
 65                  70                          75                          80  
 Arg Leu Lys Glu Leu Asn Leu Asp Ser Ser Asn Phe Pro Gly Val Lys  
                   85                          90                          95  
 Leu Arg Ser Lys Met Ser Leu Arg Ser Tyr Gly Ser Arg Glu Gly Ser  
                   100                          105                          110  
 Val Ser Ser Arg Ser Gly Glu Cys Ser Pro Val Pro Met Gly Ser Phe

115	120	125	
Pro Arg Arg Gly Phe Val Asn Gly Ser Arg Glu Ser Thr Gly Tyr Leu			
130	135	140	
Glu Glu Leu Glu Lys Glu Arg Ser Leu Leu Leu Ala Asp Leu Asp Lys			
145	150	155	160
Glu Glu Lys Glu Lys Asp Trp Tyr Tyr Ala Gln Leu Gln Asn Leu Thr			
	165	170	175
Lys Arg Ile Asp Ser Leu Pro Leu Thr Glu Asn Phe Ser Leu Gln Thr			
	180	185	190
Asp Met Thr Arg Arg Gln Leu Glu Tyr Glu Ala Arg Gln Ile Arg Val			
	195	200	205
Ala Met Glu Glu Gln Leu Gly Thr Cys Gln Asp Met Glu Lys Arg Ala			
	210	215	220
Gln Arg Ser Ser Gln Asn Lys His Glu Thr Gly Ser His Asp Ala Glu			
225	230	235	240
Arg Gln Asn Glu Gly Gln Gly Val Gly Glu Ile Asn Met Ala Thr Ser			
	245	250	255
Gly Asn Gly Gln Gly Ser Thr Thr Arg Met Asp His Glu Thr Ala Ser			
	260	265	270
Val Leu Ser Ser Ser Ser Thr His Ser Ala Pro Arg Arg Leu Thr Ser			
	275	280	285
His Leu Gly Thr Lys Val Glu Met Val Tyr Ser Leu Leu Ser Met Leu			
	290	295	300
Gly Thr His Asp Lys Asp Asp Met Ser Arg Thr Leu Leu Ala Met Ser			
305	310	315	320
Ser Ser Gln Asp Ser Cys Ile Ser Met Arg Gln Ser Gly Cys Leu Pro			
	325	330	335
Leu Leu Ile Gln Leu Leu His Gly Asn Asp Lys Asp Ser Val Leu Leu			
	340	345	350
Gly Asn Ser Arg Gly Ser Lys Glu Ala Arg Ala Arg Ala Ser Ala Ala			
	355	360	365

Leu His Asn Ile Ile His Ser Gln Pro Asp Asp Lys Arg Gly Arg Arg  
 370 375 380  
  
 Glu Ile Arg Val Leu His Leu Leu Glu Gln Ile Arg Ala Tyr Cys Glu  
 385 390 395 400  
 Thr Cys Trp Glu Trp Gln Glu Ala His Glu Pro Gly Met Asp Gln Asp  
 405 410 415  
 Lys Asn Pro Met Pro Ala Pro Val Glu His Gln Ile Cys Pro Ala Val  
 420 425 430  
 Cys Val Leu Met Lys Leu Ser Phe Asp Glu Glu His Arg His Ala Met  
 435 440 445  
  
 Asn Glu Leu Gly Gly Leu Gln Ala Ile Ala Glu Leu Leu Gln Val Asp  
 450 455 460  
 Cys Glu Met Tyr Gly Leu Thr Asn Asp His Tyr Ser Ile Thr Leu Arg  
 465 470 475 480  
 Arg Tyr Ala Gly Met Ala Leu Thr Asn Leu Thr Phe Gly Asp Val Ala  
 485 490 495  
 Asn Lys Ala Thr Leu Cys Ser Met Lys Gly Cys Met Arg Ala Leu Val  
 500 505 510  
  
 Ala Gln Leu Lys Ser Glu Ser Glu Asp Leu Gln Gln Val Ile Ala Ser  
 515 520 525  
 Val Leu Arg Asn Leu Ser Trp Arg Ala Asp Val Asn Ser Lys Lys Thr  
 530 535 540  
 Leu Arg Glu Val Gly Ser Val Lys Ala Leu Met Glu Cys Ala Leu Glu  
 545 550 555 560  
 Val Lys Lys Glu Ser Thr Leu Lys Ser Val Leu Ser Ala Leu Trp Asn  
 565 570 575  
  
 Leu Ser Ala His Cys Thr Glu Asn Lys Ala Asp Ile Cys Ala Val Asp  
 580 585 590  
 Gly Ala Leu Ala Phe Leu Val Gly Thr Leu Thr Tyr Arg Ser Gln Thr  
 595 600 605  
 Asn Thr Leu Ala Ile Ile Glu Ser Gly Gly Gly Ile Leu Arg Asn Val

610                      615                      620  
 Ser Ser Leu Ile Ala Thr Asn Glu Asp His Arg Gln Ile Leu Arg Glu  
 625                      630                      635                      640  
  
 Asn Asn Cys Leu Gln Thr Leu Leu Gln His Leu Lys Ser His Ser Leu  
                                  645                      650                      655  
 Thr Ile Val Ser Asn Ala Cys Gly Thr Leu Trp Asn Leu Ser Ala Arg  
                                  660                      665                      670  
 Asn Pro Lys Asp Gln Glu Ala Leu Trp Asp Met Gly Ala Val Ser Met  
                                  675                      680                      685  
 Leu Lys Asn Leu Ile His Ser Lys His Lys Met Ile Ala Met Gly Ser  
 690                      695                      700  
  
 Ala Ala Ala Leu Arg Asn Leu Met Ala Asn Arg Pro Ala Lys Tyr Lys  
 705                      710                      715                      720  
 Asp Ala Asn Ile Met Ser Pro Gly Ser Ser Leu Pro Ser Leu His Val  
                                  725                      730                      735  
 Arg Lys Gln Lys Ala Leu Glu Ala Glu Leu Asp Ala Gln His Leu Ser  
                                  740                      745                      750  
 Glu Thr Phe Asp Asn Ile Asp Asn Leu Ser Pro Lys Ala Ser His Arg  
                                  755                      760                      765  
  
 Ser Lys Gln Arg His Lys Gln Ser Leu Tyr Gly Asp Tyr Val Phe Asp  
                                  770                      775                      780  
 Thr Asn Arg His Asp Asp Asn Arg Ser Asp Asn Phe Asn Thr Gly Asn  
 785                      790                      795                      800  
 Met Thr Val Leu Ser Pro Tyr Leu Asn Thr Thr Val Leu Pro Ser Ser  
                                  805                      810                      815  
 Ser Ser Ser Arg Gly Ser Leu Asp Ser Ser Arg Ser Glu Lys Asp Arg  
                                  820                      825                      830  
  
 Ser Leu Glu Arg Glu Arg Gly Ile Gly Leu Gly Asn Tyr His Pro Ala  
                                  835                      840                      845  
 Thr Glu Asn Pro Gly Thr Ser Ser Lys Arg Gly Leu Gln Ile Ser Thr  
 850                      855                      860

Thr Ala Ala Gln Ile Ala Lys Val Met Glu Glu Val Ser Ala Ile His  
 865                      870                      875                      880

Thr Ser Gln Glu Asp Arg Ser Ser Gly Ser Thr Thr Glu Leu His Cys  
                             885                      890                      895

Val Thr Asp Glu Arg Asn Ala Leu Arg Arg Ser Ser Ala Ala His Thr  
                             900                      905                      910

His Ser Asn Thr Tyr Asn Phe Thr Lys Ser Glu Asn Ser Asn Arg Thr  
                             915                      920                      925

Cys Ser Met Pro Tyr Ala Lys Leu Glu Tyr Lys Arg Ser Ser Asn Asp  
                             930                      935                      940

Ser Leu Asn Ser Val Ser Ser Ser Asp Gly Tyr Gly Lys Arg Gly Gln  
 945                      950                      955                      960

Met Lys Pro Ser Ile Glu Ser Tyr Ser Glu Asp Asp Glu Ser Lys Phe  
                             965                      970                      975

Cys Ser Tyr Gly Gln Tyr Pro Ala Asp Leu Ala His Lys Ile His Ser  
                             980                      985                      990

Ala Asn His Met Asp Asp Asn Asp Gly Glu Leu Asp Thr Pro Ile Asn  
                             995                      1000                      1005

Tyr Ser Leu Lys Tyr Ser Asp Glu Gln Leu Asn Ser Gly Arg Gln  
                             1010                      1015                      1020

Ser Pro Ser Gln Asn Glu Arg Trp Ala Arg Pro Lys His Ile Ile  
                             1025                      1030                      1035

Glu Asp Glu Ile Lys Gln Ser Glu Gln Arg Gln Ser Arg Asn Gln  
                             1040                      1045                      1050

Ser Thr Thr Tyr Pro Val Tyr Thr Glu Ser Thr Asp Asp Lys His  
                             1055                      1060                      1065

Leu Lys Phe Gln Pro His Phe Gly Gln Gln Glu Cys Val Ser Pro  
                             1070                      1075                      1080

Tyr Arg Ser Arg Gly Ala Asn Gly Ser Glu Thr Asn Arg Val Gly  
                             1085                      1090                      1095

Ser Asn His Gly Ile Asn Gln Asn Val Ser Gln Ser Leu Cys Gln

1100	1105	1110
Glu Asp Asp Tyr Glu Asp Asp Lys Pro Thr Asn Tyr Ser Glu Arg		
1115	1120	1125
Tyr Ser Glu Glu Glu Gln His Glu Glu Glu Glu Arg Pro Thr Asn		
1130	1135	1140
Tyr Ser Ile Lys Tyr Asn Glu Glu Lys Arg His Val Asp Gln Pro		
1145	1150	1155
Ile Asp Tyr Ser Leu Lys Tyr Ala Thr Asp Ile Pro Ser Ser Gln		
1160	1165	1170
Lys Gln Ser Phe Ser Phe Ser Lys Ser Ser Ser Gly Gln Ser Ser		
1175	1180	1185
Lys Thr Glu His Met Ser Ser Ser Ser Glu Asn Thr Ser Thr Pro		
1190	1195	1200
Ser Ser Asn Ala Lys Arg Gln Asn Gln Leu His Pro Ser Ser Ala		
1205	1210	1215
Gln Ser Arg Ser Gly Gln Pro Gln Lys Ala Ala Thr Cys Lys Val		
1220	1225	1230
Ser Ser Ile Asn Gln Glu Thr Ile Gln Thr Tyr Cys Val Glu Asp		
1235	1240	1245
Thr Pro Ile Cys Phe Ser Arg Cys Ser Ser Leu Ser Ser Leu Ser		
1250	1255	1260
Ser Ala Glu Asp Glu Ile Gly Cys Asn Gln Thr Thr Gln Glu Ala		
1265	1270	1275
Asp Ser Ala Asn Thr Leu Gln Ile Ala Glu Ile Lys Glu Lys Ile		
1280	1285	1290
Gly Thr Arg Ser Ala Glu Asp Pro Val Ser Glu Val Pro Ala Val		
1295	1300	1305
Ser Gln His Pro Arg Thr Lys Ser Ser Arg Leu Gln Gly Ser Ser		
1310	1315	1320
Leu Ser Ser Glu Ser Ala Arg His Lys Ala Val Glu Phe Ser Ser		
1325	1330	1335

Gly Ala Lys Ser Pro Ser Lys Ser Gly Ala Gln Thr Pro Lys Ser  
 1340 1345 1350

Pro Pro Glu His Tyr Val Gln Glu Thr Pro Leu Met Phe Ser Arg  
 1355 1360 1365

Cys Thr Ser Val Ser Ser Leu Asp Ser Phe Glu Ser Arg Ser Ile  
 1370 1375 1380

Ala Ser Ser Val Gln Ser Glu Pro Cys Ser Gly Met Val Ser Gly  
 1385 1390 1395

Ile Ile Ser Pro Ser Asp Leu Pro Asp Ser Pro Gly Gln Thr Met  
 1400 1405 1410

Pro Pro Ser Arg Ser Lys Thr Pro Pro Pro Pro Pro Gln Thr Ala  
 1415 1420 1425

Gln Thr Lys Arg Glu Val Pro Lys Asn Lys Ala Pro Thr Ala Glu  
 1430 1435 1440

Lys Arg Glu Ser Gly Pro Lys Gln Ala Ala Val Asn Ala Ala Val  
 1445 1450 1455

Gln Arg Val Gln Val Leu Pro Asp Ala Asp Thr Leu Leu His Phe  
 1460 1465 1470

Ala Thr Glu Ser Thr Pro Asp Gly Phe Ser Cys Ser Ser Ser Leu  
 1475 1480 1485

Ser Ala Leu Ser Leu Asp Glu Pro Phe Ile Gln Lys Asp Val Glu  
 1490 1495 1500

Leu Arg Ile Met Pro Pro Val Gln Glu Asn Asp Asn Gly Asn Glu  
 1505 1510 1515

Thr Glu Ser Glu Gln Pro Lys Glu Ser Asn Glu Asn Gln Glu Lys  
 1520 1525 1530

Glu Ala Glu Lys Thr Ile Asp Ser Glu Lys Asp Leu Leu Asp Asp  
 1535 1540 1545

Ser Asp Asp Asp Asp Ile Glu Ile Leu Glu Glu Cys Ile Ile Ser  
 1550 1555 1560

Ala Met Pro Thr Lys Ser Ser Arg Lys Ala Lys Lys Pro Ala Gln

1565	1570	1575
Thr Ala Ser Lys Leu Pro Pro Pro Val Ala Arg Lys Pro Ser Gln		
1580	1585	1590
Leu Pro Val Tyr Lys Leu Leu Pro Ser Gln Asn Arg Leu Gln Pro		
1595	1600	1605
Gln Lys His Val Ser Phe Thr Pro Gly Asp Asp Met Pro Arg Val		
1610	1615	1620
Tyr Cys Val Glu Gly Thr Pro Ile Asn Phe Ser Thr Ala Thr Ser		
1625	1630	1635
Leu Ser Asp Leu Thr Ile Glu Ser Pro Pro Asn Glu Leu Ala Ala		
1640	1645	1650
Gly Glu Gly Val Arg Gly Gly Ala Gln Ser Gly Glu Phe Glu Lys		
1655	1660	1665
Arg Asp Thr Ile Pro Thr Glu Gly Arg Ser Thr Asp Glu Ala Gln		
1670	1675	1680
Gly Gly Lys Thr Ser Ser Val Thr Ile Pro Glu Leu Asp Asp Asn		
1685	1690	1695
Lys Ala Glu Glu Gly Asp Ile Leu Ala Glu Cys Ile Asn Ser Ala		
1700	1705	1710
Met Pro Lys Gly Lys Ser His Lys Pro Phe Arg Val Lys Lys Ile		
1715	1720	1725
Met Asp Gln Val Gln Gln Ala Ser Ala Ser Ser Ser Ala Pro Asn		
1730	1735	1740
Lys Asn Gln Leu Asp Gly Lys Lys Lys Lys Pro Thr Ser Pro Val		
1745	1750	1755
Lys Pro Ile Pro Gln Asn Thr Glu Tyr Arg Thr Arg Val Arg Lys		
1760	1765	1770
Asn Ala Asp Ser Lys Asn Asn Leu Asn Ala Glu Arg Val Phe Ser		
1775	1780	1785
Asp Asn Lys Asp Ser Lys Lys Gln Asn Leu Lys Asn Asn Ser Lys		
1790	1795	1800

Val Phe Asn Asp Lys Leu Pro Asn Asn Glu Asp Arg Val Arg Gly  
 1805 1810 1815

Ser Phe Ala Phe Asp Ser Pro His His Tyr Thr Pro Ile Glu Gly  
 1820 1825 1830

Thr Pro Tyr Cys Phe Ser Arg Asn Asp Ser Leu Ser Ser Leu Asp  
 1835 1840 1845

Phe Asp Asp Asp Asp Val Asp Leu Ser Arg Glu Lys Ala Glu Leu  
 1850 1855 1860

Arg Lys Ala Lys Glu Asn Lys Glu Ser Glu Ala Lys Val Thr Ser  
 1865 1870 1875

His Thr Glu Leu Thr Ser Asn Gln Gln Ser Ala Asn Lys Thr Gln  
 1880 1885 1890

Ala Ile Ala Lys Gln Pro Ile Asn Arg Gly Gln Pro Lys Pro Ile  
 1895 1900 1905

Leu Gln Lys Gln Ser Thr Phe Pro Gln Ser Ser Lys Asp Ile Pro  
 1910 1915 1920

Asp Arg Gly Ala Ala Thr Asp Glu Lys Leu Gln Asn Phe Ala Ile  
 1925 1930 1935

Glu Asn Thr Pro Val Cys Phe Ser His Asn Ser Ser Leu Ser Ser  
 1940 1945 1950

Leu Ser Asp Ile Asp Gln Glu Asn Asn Asn Lys Glu Asn Glu Pro  
 1955 1960 1965

Ile Lys Glu Thr Glu Pro Pro Asp Ser Gln Gly Glu Pro Ser Lys  
 1970 1975 1980

Pro Gln Ala Ser Gly Tyr Ala Pro Lys Ser Phe His Val Glu Asp  
 1985 1990 1995

Thr Pro Val Cys Phe Ser Arg Asn Ser Ser Leu Ser Ser Leu Ser  
 2000 2005 2010

Ile Asp Ser Glu Asp Asp Leu Leu Gln Glu Cys Ile Ser Ser Ala  
 2015 2020 2025

Met Pro Lys Lys Lys Lys Pro Ser Arg Leu Lys Gly Asp Asn Glu

2030	2035	2040
Lys His Ser Pro Arg Asn Met Gly Gly Ile Leu Gly Glu Asp Leu		
2045	2050	2055
Thr Leu Asp Leu Lys Asp Ile Gln Arg Pro Asp Ser Glu His Gly		
2060	2065	2070
Leu Ser Pro Asp Ser Glu Asn Phe Asp Trp Lys Ala Ile Gln Glu		
2075	2080	2085
Gly Ala Asn Ser Ile Val Ser Ser Leu His Gln Ala Ala Ala Ala		
2090	2095	2100
Ala Cys Leu Ser Arg Gln Ala Ser Ser Asp Ser Asp Ser Ile Leu		
2105	2110	2115
Ser Leu Lys Ser Gly Ile Ser Leu Gly Ser Pro Phe His Leu Thr		
2120	2125	2130
Pro Asp Gln Glu Glu Lys Pro Phe Thr Ser Asn Lys Gly Pro Arg		
2135	2140	2145
Ile Leu Lys Pro Gly Glu Lys Ser Thr Leu Glu Thr Lys Lys Ile		
2150	2155	2160
Glu Ser Glu Ser Lys Gly Ile Lys Gly Gly Lys Lys Val Tyr Lys		
2165	2170	2175
Ser Leu Ile Thr Gly Lys Val Arg Ser Asn Ser Glu Ile Ser Gly		
2180	2185	2190
Gln Met Lys Gln Pro Leu Gln Ala Asn Met Pro Ser Ile Ser Arg		
2195	2200	2205
Gly Arg Thr Met Ile His Ile Pro Gly Val Arg Asn Ser Ser Ser		
2210	2215	2220
Ser Thr Ser Pro Val Ser Lys Lys Gly Pro Pro Leu Lys Thr Pro		
2225	2230	2235
Ala Ser Lys Ser Pro Ser Glu Gly Gln Thr Ala Thr Thr Ser Pro		
2240	2245	2250
Arg Gly Ala Lys Pro Ser Val Lys Ser Glu Leu Ser Pro Val Ala		
2255	2260	2265

Arg Gln Thr Ser Gln Ile Gly Gly Ser Ser Lys Ala Pro Ser Arg  
 2270 2275 2280

Ser Gly Ser Arg Asp Ser Thr Pro Ser Arg Pro Ala Gln Gln Pro  
 2285 2290 2295

Leu Ser Arg Pro Ile Gln Ser Pro Gly Arg Asn Ser Ile Ser Pro  
 2300 2305 2310

Gly Arg Asn Gly Ile Ser Pro Pro Asn Lys Leu Ser Gln Leu Pro  
 2315 2320 2325

Arg Thr Ser Ser Pro Ser Thr Ala Ser Thr Lys Ser Ser Gly Ser  
 2330 2335 2340

Gly Lys Met Ser Tyr Thr Ser Pro Gly Arg Gln Met Ser Gln Gln  
 2345 2350 2355

Asn Leu Thr Lys Gln Thr Gly Leu Ser Lys Asn Ala Ser Ser Ile  
 2360 2365 2370

Pro Arg Ser Glu Ser Ala Ser Lys Gly Leu Asn Gln Met Asn Asn  
 2375 2380 2385

Gly Asn Gly Ala Asn Lys Lys Val Glu Leu Ser Arg Met Ser Ser  
 2390 2395 2400

Thr Lys Ser Ser Gly Ser Glu Ser Asp Arg Ser Glu Arg Pro Val  
 2405 2410 2415

Leu Val Arg Gln Ser Thr Phe Ile Lys Glu Ala Pro Ser Pro Thr  
 2420 2425 2430

Leu Arg Arg Lys Leu Glu Glu Ser Ala Ser Phe Glu Ser Leu Ser  
 2435 2440 2445

Pro Ser Ser Arg Pro Ala Ser Pro Thr Arg Ser Gln Ala Gln Thr  
 2450 2455 2460

Pro Val Leu Ser Pro Ser Leu Pro Asp Met Ser Leu Ser Thr His  
 2465 2470 2475

Ser Ser Val Gln Ala Gly Gly Trp Arg Lys Leu Pro Pro Asn Leu  
 2480 2485 2490

Ser Pro Thr Ile Glu Tyr Asn Asp Gly Arg Pro Ala Lys Arg His

2495	2500	2505
Asp Ile Ala Arg Ser His Ser	Glu Ser Pro Ser Arg	Leu Pro Ile
2510	2515	2520
Asn Arg Ser Gly Thr Trp Lys	Arg Glu His Ser Lys	His Ser Ser
2525	2530	2535
Ser Leu Pro Arg Val Ser Thr	Trp Arg Arg Thr Gly	Ser Ser Ser
2540	2545	2550
Ser Ile Leu Ser Ala Ser Ser	Glu Ser Ser Glu Lys	Ala Lys Ser
2555	2560	2565
Glu Asp Glu Lys His Val Asn	Ser Ile Ser Gly Thr	Lys Gln Ser
2570	2575	2580
Lys Glu Asn Gln Val Ser Ala	Lys Gly Thr Trp Arg	Lys Ile Lys
2585	2590	2595
Glu Asn Glu Phe Ser Pro Thr	Asn Ser Thr Ser Gln	Thr Val Ser
2600	2605	2610
Ser Gly Ala Thr Asn Gly Ala	Glu Ser Lys Thr Leu	Ile Tyr Gln
2615	2620	2625
Met Ala Pro Ala Val Ser Lys	Thr Glu Asp Val Trp	Val Arg Ile
2630	2635	2640
Glu Asp Cys Pro Ile Asn Asn	Pro Arg Ser Gly Arg	Ser Pro Thr
2645	2650	2655
Gly Asn Thr Pro Pro Val Ile	Asp Ser Val Ser Glu	Lys Ala Asn
2660	2665	2670
Pro Asn Ile Lys Asp Ser Lys	Asp Asn Gln Ala Lys	Gln Asn Val
2675	2680	2685
Gly Asn Gly Ser Val Pro Met	Arg Thr Val Gly Leu	Glu Asn Arg
2690	2695	2700
Leu Asn Ser Phe Ile Gln Val	Asp Ala Pro Asp Gln	Lys Gly Thr
2705	2710	2715
Glu Ile Lys Pro Gly Gln Asn	Asn Pro Val Pro Val	Ser Glu Thr
2720	2725	2730

Asn Glu Ser Ser Ile Val Glu Arg Thr Pro Phe Ser Ser Ser Ser  
 2735 2740 2745  
 Ser Ser Lys His Ser Ser Pro Ser Gly Thr Val Ala Ala Arg Val  
 2750 2755 2760  
  
 Thr Pro Phe Asn Tyr Asn Pro Ser Pro Arg Lys Ser Ser Ala Asp  
 2765 2770 2775  
 Ser Thr Ser Ala Arg Pro Ser Gln Ile Pro Thr Pro Val Asn Asn  
 2780 2785 2790  
 Asn Thr Lys Lys Arg Asp Ser Lys Thr Asp Ser Thr Glu Ser Ser  
 2795 2800 2805  
 Gly Thr Gln Ser Pro Lys Arg His Ser Gly Ser Tyr Leu Val Thr  
 2810 2815 2820  
  
 Ser Val  
 2825  
 <210> 43  
 <211> 1863  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens  
 <400> 43  
 Met Asp Leu Ser Ala Leu Arg Val Glu Glu Val Gln Asn Val Ile Asn  
 1 5 10 15  
 Ala Met Gln Lys Ile Leu Glu Cys Pro Ile Cys Leu Glu Leu Ile Lys  
 20 25 30  
 Glu Pro Val Ser Thr Lys Cys Asp His Ile Phe Cys Lys Phe Cys Met  
 35 40 45  
 Leu Lys Leu Leu Asn Gln Lys Lys Gly Pro Ser Gln Cys Pro Leu Cys  
  
 50 55 60  
 Lys Asn Asp Ile Thr Lys Arg Ser Leu Gln Glu Ser Thr Arg Phe Ser  
 65 70 75 80  
 Gln Leu Val Glu Glu Leu Leu Lys Ile Ile Cys Ala Phe Gln Leu Asp  
 85 90 95  
 Thr Gly Leu Glu Tyr Ala Asn Ser Tyr Asn Phe Ala Lys Lys Glu Asn



Trp Asn Lys Gln Lys Leu Pro Cys Ser Glu Asn Pro Arg Asp Thr Glu  
 355 360 365  
 Asp Val Pro Trp Ile Thr Leu Asn Ser Ser Ile Gln Lys Val Asn Glu  
 370 375 380  
 Trp Phe Ser Arg Ser Asp Glu Leu Leu Gly Ser Asp Asp Ser His Asp  
 385 390 395 400  
 Gly Glu Ser Glu Ser Asn Ala Lys Val Ala Asp Val Leu Asp Val Leu  
 405 410 415  
 Asn Glu Val Asp Glu Tyr Ser Gly Ser Ser Glu Lys Ile Asp Leu Leu  
 420 425 430  
 Ala Ser Asp Pro His Glu Ala Leu Ile Cys Lys Ser Glu Arg Val His  
 435 440 445  
 Ser Lys Ser Val Glu Ser Asn Ile Glu Asp Lys Ile Phe Gly Lys Thr  
 450 455 460  
 Tyr Arg Lys Lys Ala Ser Leu Pro Asn Leu Ser His Val Thr Glu Asn  
 465 470 475 480  
 Leu Ile Ile Gly Ala Phe Val Thr Glu Pro Gln Ile Ile Gln Glu Arg  
 485 490 495  
 Pro Leu Thr Asn Lys Leu Lys Arg Lys Arg Arg Pro Thr Ser Gly Leu  
 500 505 510  
 His Pro Glu Asp Phe Ile Lys Lys Ala Asp Leu Ala Val Gln Lys Thr  
 515 520 525  
 Pro Glu Met Ile Asn Gln Gly Thr Asn Gln Thr Glu Gln Asn Gly Gln  
 530 535 540  
 Val Met Asn Ile Thr Asn Ser Gly His Glu Asn Lys Thr Lys Gly Asp  
 545 550 555 560  
 Ser Ile Gln Asn Glu Lys Asn Pro Asn Pro Ile Glu Ser Leu Glu Lys  
 565 570 575  
 Glu Ser Ala Phe Lys Thr Lys Ala Glu Pro Ile Ser Ser Ser Ile Ser  
 580 585 590  
 Asn Met Glu Leu Glu Leu Asn Ile His Asn Ser Lys Ala Pro Lys Lys



Glu Ser Glu Leu Asp Ala Gln Tyr Leu Gln Asn Thr Phe Lys Val Ser  
 850 855 860  
 Lys Arg Gln Ser Phe Ala Pro Phe Ser Asn Pro Gly Asn Ala Glu Glu  
 865 870 875 880  
 Glu Cys Ala Thr Phe Ser Ala His Ser Gly Ser Leu Lys Lys Gln Ser  
 885 890 895  
 Pro Lys Val Thr Phe Glu Cys Glu Gln Lys Glu Glu Asn Gln Gly Lys  
 900 905 910  
 Asn Glu Ser Asn Ile Lys Pro Val Gln Thr Val Asn Ile Thr Ala Gly  
 915 920 925  
 Phe Pro Val Val Gly Gln Lys Asp Lys Pro Val Asp Asn Ala Lys Cys  
 930 935 940  
 Ser Ile Lys Gly Gly Ser Arg Phe Cys Leu Ser Ser Gln Phe Arg Gly  
 945 950 955 960  
 Asn Glu Thr Gly Leu Ile Thr Pro Asn Lys His Gly Leu Leu Gln Asn  
 965 970 975  
 Pro Tyr Arg Ile Pro Pro Leu Phe Pro Ile Lys Ser Phe Val Lys Thr  
 980 985 990  
 Lys Cys Lys Lys Asn Leu Leu Glu Glu Asn Phe Glu Glu His Ser Met  
 995 1000 1005  
 Ser Pro Glu Arg Glu Met Gly Asn Glu Asn Ile Pro Ser Thr Val  
 1010 1015 1020  
 Ser Thr Ile Ser Arg Asn Asn Ile Arg Glu Asn Val Phe Lys Glu  
 1025 1030 1035  
 Ala Ser Ser Ser Asn Ile Asn Glu Val Gly Ser Ser Thr Asn Glu  
 1040 1045 1050  
 Val Gly Ser Ser Ile Asn Glu Ile Gly Ser Ser Asp Glu Asn Ile  
 1055 1060 1065  
 Gln Ala Glu Leu Gly Arg Asn Arg Gly Pro Lys Leu Asn Ala Met  
 1070 1075 1080  
 Leu Arg Leu Gly Val Leu Gln Pro Glu Val Tyr Lys Gln Ser Leu

1085	1090	1095
Pro Gly Ser Asn Cys Lys His	Pro Glu Ile Lys Lys	Gln Glu Tyr
1100	1105	1110
Glu Glu Val Val Gln Thr Val	Asn Thr Asp Phe Ser	Pro Tyr Leu
1115	1120	1125
Ile Ser Asp Asn Leu Glu Gln	Pro Met Gly Ser Ser	His Ala Ser
1130	1135	1140
Gln Val Cys Ser Glu Thr Pro	Asp Asp Leu Leu Asp	Asp Gly Glu
1145	1150	1155
Ile Lys Glu Asp Thr Ser Phe	Ala Glu Asn Asp Ile	Lys Glu Ser
1160	1165	1170
Ser Ala Val Phe Ser Lys Ser	Val Gln Lys Gly Glu	Leu Ser Arg
1175	1180	1185
Ser Pro Ser Pro Phe Thr His	Thr His Leu Ala Gln	Gly Tyr Arg
1190	1195	1200
Arg Gly Ala Lys Lys Leu Glu	Ser Ser Glu Glu Asn	Leu Ser Ser
1205	1210	1215
Glu Asp Glu Glu Leu Pro Cys	Phe Gln His Leu Leu	Phe Gly Lys
1220	1225	1230
Val Asn Asn Ile Pro Ser Gln	Ser Thr Arg His Ser	Thr Val Ala
1235	1240	1245
Thr Glu Cys Leu Ser Lys Asn	Thr Glu Glu Asn Leu	Leu Ser Leu
1250	1255	1260
Lys Asn Ser Leu Asn Asp Cys	Ser Asn Gln Val Ile	Leu Ala Lys
1265	1270	1275
Ala Ser Gln Glu His His Leu	Ser Glu Glu Thr Lys	Cys Ser Ala
1280	1285	1290
Ser Leu Phe Ser Ser Gln Cys	Ser Glu Leu Glu Asp	Leu Thr Ala
1295	1300	1305
Asn Thr Asn Thr Gln Asp Pro	Phe Leu Ile Gly Ser	Ser Lys Gln
1310	1315	1320

Met Arg His Gln Ser Glu Ser Gln Gly Val Gly Leu Ser Asp Lys  
 1325 1330 1335

Glu Leu Val Ser Asp Asp Glu Glu Arg Gly Thr Gly Leu Glu Glu  
 1340 1345 1350

Asn Asn Gln Glu Glu Gln Ser Met Asp Ser Asn Leu Gly Glu Ala  
 1355 1360 1365

Ala Ser Gly Cys Glu Ser Glu Thr Ser Val Ser Glu Asp Cys Ser  
 1370 1375 1380

Gly Leu Ser Ser Gln Ser Asp Ile Leu Thr Thr Gln Gln Arg Asp  
 1385 1390 1395

Thr Met Gln His Asn Leu Ile Lys Leu Gln Gln Glu Met Ala Glu  
 1400 1405 1410

Leu Glu Ala Val Leu Glu Gln His Gly Ser Gln Pro Ser Asn Ser  
 1415 1420 1425

Tyr Pro Ser Ile Ile Ser Asp Ser Ser Ala Leu Glu Asp Leu Arg  
 1430 1435 1440

Asn Pro Glu Gln Ser Thr Ser Glu Lys Ala Val Leu Thr Ser Gln  
 1445 1450 1455

Lys Ser Ser Glu Tyr Pro Ile Ser Gln Asn Pro Glu Gly Leu Ser  
 1460 1465 1470

Ala Asp Lys Phe Glu Val Ser Ala Asp Ser Ser Thr Ser Lys Asn  
 1475 1480 1485

Lys Glu Pro Gly Val Glu Arg Ser Ser Pro Ser Lys Cys Pro Ser  
 1490 1495 1500

Leu Asp Asp Arg Trp Tyr Met His Ser Cys Ser Gly Ser Leu Gln  
 1505 1510 1515

Asn Arg Asn Tyr Pro Ser Gln Glu Glu Leu Ile Lys Val Val Asp  
 1520 1525 1530

Val Glu Glu Gln Gln Leu Glu Glu Ser Gly Pro His Asp Leu Thr  
 1535 1540 1545

Glu Thr Ser Tyr Leu Pro Arg Gln Asp Leu Glu Gly Thr Pro Tyr

1550	1555	1560
Leu Glu Ser Gly Ile Ser Leu Phe Ser Asp Asp Pro Glu Ser Asp		
1565	1570	1575
Pro Ser Glu Asp Arg Ala Pro Glu Ser Ala Arg Val Gly Asn Ile		
1580	1585	1590
Pro Ser Ser Thr Ser Ala Leu Lys Val Pro Gln Leu Lys Val Ala		
1595	1600	1605
Glu Ser Ala Gln Ser Pro Ala Ala Ala His Thr Thr Asp Thr Ala		
1610	1615	1620
Gly Tyr Asn Ala Met Glu Glu Ser Val Ser Arg Glu Lys Pro Glu		
1625	1630	1635
Leu Thr Ala Ser Thr Glu Arg Val Asn Lys Arg Met Ser Met Val		
1640	1645	1650
Val Ser Gly Leu Thr Pro Glu Glu Phe Met Leu Val Tyr Lys Phe		
1655	1660	1665
Ala Arg Lys His His Ile Thr Leu Thr Asn Leu Ile Thr Glu Glu		
1670	1675	1680
Thr Thr His Val Val Met Lys Thr Asp Ala Glu Phe Val Cys Glu		
1685	1690	1695
Arg Thr Leu Lys Tyr Phe Leu Gly Ile Ala Gly Gly Lys Trp Val		
1700	1705	1710
Val Ser Tyr Phe Trp Val Thr Gln Ser Ile Lys Glu Arg Lys Met		
1715	1720	1725
Leu Asn Glu His Asp Phe Glu Val Arg Gly Asp Val Val Asn Gly		
1730	1735	1740
Arg Asn His Gln Gly Pro Lys Arg Ala Arg Glu Ser Gln Asp Arg		
1745	1750	1755
Lys Ile Phe Arg Gly Leu Glu Ile Cys Cys Tyr Gly Pro Phe Thr		
1760	1765	1770
Asn Met Pro Thr Asp Gln Leu Glu Trp Met Val Gln Leu Cys Gly		
1775	1780	1785

Ala Ser Val Val Lys Glu Leu Ser Ser Phe Thr Leu Gly Thr Gly

1790 1795 1800

Val His Pro Ile Val Val Val Gln Pro Asp Ala Trp Thr Glu Asp

1805 1810 1815

Asn Gly Phe His Ala Ile Gly Gln Met Cys Glu Ala Pro Val Val

1820 1825 1830

Thr Arg Glu Trp Val Leu Asp Ser Val Ala Leu Tyr Gln Cys Gln

1835 1840 1845

Glu Leu Asp Thr Tyr Leu Ile Pro Gln Ile Pro His Ser His Tyr

1850 1855 1860

<210> 44

<211> 3418

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 44

Met Pro Ile Gly Ser Lys Glu Arg Pro Thr Phe Phe Glu Ile Phe Lys

1 5 10 15

Thr Arg Cys Asn Lys Ala Asp Leu Gly Pro Ile Ser Leu Asn Trp Phe

20 25 30

Glu Glu Leu Ser Ser Glu Ala Pro Pro Tyr Asn Ser Glu Pro Ala Glu

35 40 45

Glu Ser Glu His Lys Asn Asn Asn Tyr Glu Pro Asn Leu Phe Lys Thr

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Glu Leu Asp Lys Phe Lys Leu Asp Leu Gly Arg Asn Val Pro Asn Ser

100 105 110

Arg His Lys Ser Leu Arg Thr Val Lys Thr Lys Met Asp Gln Ala Asp

115 120 125

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

370                                375                                380  
 Lys Glu Val Val Pro Ser Leu Ala Cys Glu Trp Ser Gln Leu Thr Leu  
 385                                390                                395                                400  
 Ser Gly Leu Asn Gly Ala Gln Met Glu Lys Ile Pro Leu Leu His Ile  
    405                                410                                415  
 Ser Ser Cys Asp Gln Asn Ile Ser Glu Lys Asp Leu Leu Asp Thr Glu  
    420                                425                                430  
  
 Asn Lys Arg Lys Lys Asp Phe Leu Thr Ser Glu Asn Ser Leu Pro Arg  
    435                                440                                445  
 Ile Ser Ser Leu Pro Lys Ser Glu Lys Pro Leu Asn Glu Glu Thr Val  
    450                                455                                460  
 Val Asn Lys Arg Asp Glu Glu Gln His Leu Glu Ser His Thr Asp Cys  
 465                                470                                475                                480  
 Ile Leu Ala Val Lys Gln Ala Ile Ser Gly Thr Ser Pro Val Ala Ser  
    485                                490                                495  
  
 Ser Phe Gln Gly Ile Lys Lys Ser Ile Phe Arg Ile Arg Glu Ser Pro  
    500                                505                                510  
 Lys Glu Thr Phe Asn Ala Ser Phe Ser Gly His Met Thr Asp Pro Asn  
    515                                520                                525  
 Phe Lys Lys Glu Thr Glu Ala Ser Glu Ser Gly Leu Glu Ile His Thr  
    530                                535                                540  
 Val Cys Ser Gln Lys Glu Asp Ser Leu Cys Pro Asn Leu Ile Asp Asn  
 545                                550                                555                                560  
  
 Gly Ser Trp Pro Ala Thr Thr Thr Gln Asn Ser Val Ala Leu Lys Asn  
    565                                570                                575  
 Ala Gly Leu Ile Ser Thr Leu Lys Lys Lys Thr Asn Lys Phe Ile Tyr  
    580                                585                                590  
 Ala Ile His Asp Glu Thr Ser Tyr Lys Gly Lys Lys Ile Pro Lys Asp  
    595                                600                                605  
 Gln Lys Ser Glu Leu Ile Asn Cys Ser Ala Gln Phe Glu Ala Asn Ala  
 610                                615                                620





Leu Ser Thr Ile Leu Glu Glu Ser Gly Ser Gln Phe Glu Phe Thr  
 1115 1120 1125

Gln Phe Arg Lys Pro Ser Tyr Ile Leu Gln Lys Ser Thr Phe Glu  
 1130 1135 1140

Val Pro Glu Asn Gln Met Thr Ile Leu Lys Thr Thr Ser Glu Glu  
 1145 1150 1155

Cys Arg Asp Ala Asp Leu His Val Ile Met Asn Ala Pro Ser Ile  
 1160 1165 1170

Gly Gln Val Asp Ser Ser Lys Gln Phe Glu Gly Thr Val Glu Ile  
 1175 1180 1185

Lys Arg Lys Phe Ala Gly Leu Leu Lys Asn Asp Cys Asn Lys Ser  
 1190 1195 1200

Ala Ser Gly Tyr Leu Thr Asp Glu Asn Glu Val Gly Phe Arg Gly  
 1205 1210 1215

Phe Tyr Ser Ala His Gly Thr Lys Leu Asn Val Ser Thr Glu Ala  
 1220 1225 1230

Leu Gln Lys Ala Val Lys Leu Phe Ser Asp Ile Glu Asn Ile Ser  
 1235 1240 1245

Glu Glu Thr Ser Ala Glu Val His Pro Ile Ser Leu Ser Ser Ser  
 1250 1255 1260

Lys Cys His Asp Ser Val Val Ser Met Phe Lys Ile Glu Asn His  
 1265 1270 1275

Asn Asp Lys Thr Val Ser Glu Lys Asn Asn Lys Cys Gln Leu Ile  
 1280 1285 1290

Leu Gln Asn Asn Ile Glu Met Thr Thr Gly Thr Phe Val Glu Glu  
 1295 1300 1305

Ile Thr Glu Asn Tyr Lys Arg Asn Thr Glu Asn Glu Asp Asn Lys  
 1310 1315 1320

Tyr Thr Ala Ala Ser Arg Asn Ser His Asn Leu Glu Phe Asp Gly  
 1325 1330 1335

Ser Asp Ser Ser Lys Asn Asp Thr Val Cys Ile His Lys Asp Glu

1340	1345	1350
Thr Asp Leu Leu Phe Thr Asp Gln His Asn Ile Cys Leu Lys Leu		
1355	1360	1365
Ser Gly Gln Phe Met Lys Glu Gly Asn Thr Gln Ile Lys Glu Asp		
1370	1375	1380
Leu Ser Asp Leu Thr Phe Leu Glu Val Ala Lys Ala Gln Glu Ala		
1385	1390	1395
Cys His Gly Asn Thr Ser Asn Lys Glu Gln Leu Thr Ala Thr Lys		
1400	1405	1410
Thr Glu Gln Asn Ile Lys Asp Phe Glu Thr Ser Asp Thr Phe Phe		
1415	1420	1425
Gln Thr Ala Ser Gly Lys Asn Ile Ser Val Ala Lys Glu Ser Phe		
1430	1435	1440
Asn Lys Ile Val Asn Phe Phe Asp Gln Lys Pro Glu Glu Leu His		
1445	1450	1455
Asn Phe Ser Leu Asn Ser Glu Leu His Ser Asp Ile Arg Lys Asn		
1460	1465	1470
Lys Met Asp Ile Leu Ser Tyr Glu Glu Thr Asp Ile Val Lys His		
1475	1480	1485
Lys Ile Leu Lys Glu Ser Val Pro Val Gly Thr Gly Asn Gln Leu		
1490	1495	1500
Val Thr Phe Gln Gly Gln Pro Glu Arg Asp Glu Lys Ile Lys Glu		
1505	1510	1515
Pro Thr Leu Leu Gly Phe His Thr Ala Ser Gly Lys Lys Val Lys		
1520	1525	1530
Ile Ala Lys Glu Ser Leu Asp Lys Val Lys Asn Leu Phe Asp Glu		
1535	1540	1545
Lys Glu Gln Gly Thr Ser Glu Ile Thr Ser Phe Ser His Gln Trp		
1550	1555	1560
Ala Lys Thr Leu Lys Tyr Arg Glu Ala Cys Lys Asp Leu Glu Leu		
1565	1570	1575

Ala Cys Glu Thr Ile Glu Ile Thr Ala Ala Pro Lys Cys Lys Glu  
 1580 1585 1590

Met Gln Asn Ser Leu Asn Asn Asp Lys Asn Leu Val Ser Ile Glu  
 1595 1600 1605

Thr Val Val Pro Pro Lys Leu Leu Ser Asp Asn Leu Cys Arg Gln  
 1610 1615 1620

Thr Glu Asn Leu Lys Thr Ser Lys Ser Ile Phe Leu Lys Val Lys  
 1625 1630 1635

Val His Glu Asn Val Glu Lys Glu Thr Ala Lys Ser Pro Ala Thr  
 1640 1645 1650

Cys Tyr Thr Asn Gln Ser Pro Tyr Ser Val Ile Glu Asn Ser Ala  
 1655 1660 1665

Leu Ala Phe Tyr Thr Ser Cys Ser Arg Lys Thr Ser Val Ser Gln  
 1670 1675 1680

Thr Ser Leu Leu Glu Ala Lys Lys Trp Leu Arg Glu Gly Ile Phe  
 1685 1690 1695

Asp Gly Gln Pro Glu Arg Ile Asn Thr Ala Asp Tyr Val Gly Asn  
 1700 1705 1710

Tyr Leu Tyr Glu Asn Asn Ser Asn Ser Thr Ile Ala Glu Asn Asp  
 1715 1720 1725

Lys Asn His Leu Ser Glu Lys Gln Asp Thr Tyr Leu Ser Asn Ser  
 1730 1735 1740

Ser Met Ser Asn Ser Tyr Ser Tyr His Ser Asp Glu Val Tyr Asn  
 1745 1750 1755

Asp Ser Gly Tyr Leu Ser Lys Asn Lys Leu Asp Ser Gly Ile Glu  
 1760 1765 1770

Pro Val Leu Lys Asn Val Glu Asp Gln Lys Asn Thr Ser Phe Ser  
 1775 1780 1785

Lys Val Ile Ser Asn Val Lys Asp Ala Asn Ala Tyr Pro Gln Thr  
 1790 1795 1800

Val Asn Glu Asp Ile Cys Val Glu Glu Leu Val Thr Ser Ser Ser

1805	1810	1815
Pro Cys Lys Asn Lys Asn Ala	Ala Ile Lys Leu Ser	Ile Ser Asn
1820	1825	1830
Ser Asn Asn Phe Glu Val Gly	Pro Pro Ala Phe Arg	Ile Ala Ser
1835	1840	1845
Gly Lys Ile Val Cys Val Ser	His Glu Thr Ile Lys	Lys Val Lys
1850	1855	1860
Asp Ile Phe Thr Asp Ser Phe	Ser Lys Val Ile Lys	Glu Asn Asn
1865	1870	1875
Glu Asn Lys Ser Lys Ile Cys	Gln Thr Lys Ile Met	Ala Gly Cys
1880	1885	1890
Tyr Glu Ala Leu Asp Asp Ser	Glu Asp Ile Leu His	Asn Ser Leu
1895	1900	1905
Asp Asn Asp Glu Cys Ser Thr	His Ser His Lys Val	Phe Ala Asp
1910	1915	1920
Ile Gln Ser Glu Glu Ile Leu	Gln His Asn Gln Asn	Met Ser Gly
1925	1930	1935
Leu Glu Lys Val Ser Lys Ile	Ser Pro Cys Asp Val	Ser Leu Glu
1940	1945	1950
Thr Ser Asp Ile Cys Lys Cys	Ser Ile Gly Lys Leu	His Lys Ser
1955	1960	1965
Val Ser Ser Ala Asn Thr Cys	Gly Ile Phe Ser Thr	Ala Ser Gly
1970	1975	1980
Lys Ser Val Gln Val Ser Asp	Ala Ser Leu Gln Asn	Ala Arg Gln
1985	1990	1995
Val Phe Ser Glu Ile Glu Asp	Ser Thr Lys Gln Val	Phe Ser Lys
2000	2005	2010
Val Leu Phe Lys Ser Asn Glu	His Ser Asp Gln Leu	Thr Arg Glu
2015	2020	2025
Glu Asn Thr Ala Ile Arg Thr	Pro Glu His Leu Ile	Ser Gln Lys
2030	2035	2040

Gly Phe Ser Tyr Asn Val Val Asn Ser Ser Ala Phe Ser Gly Phe  
 2045 2050 2055

Ser Thr Ala Ser Gly Lys Gln Val Ser Ile Leu Glu Ser Ser Leu  
 2060 2065 2070

His Lys Val Lys Gly Val Leu Glu Glu Phe Asp Leu Ile Arg Thr  
 2075 2080 2085

Glu His Ser Leu His Tyr Ser Pro Thr Ser Arg Gln Asn Val Ser  
 2090 2095 2100

Lys Ile Leu Pro Arg Val Asp Lys Arg Asn Pro Glu His Cys Val  
 2105 2110 2115

Asn Ser Glu Met Glu Lys Thr Cys Ser Lys Glu Phe Lys Leu Ser  
 2120 2125 2130

Asn Asn Leu Asn Val Glu Gly Gly Ser Ser Glu Asn Asn His Ser  
 2135 2140 2145

Ile Lys Val Ser Pro Tyr Leu Ser Gln Phe Gln Gln Asp Lys Gln  
 2150 2155 2160

Gln Leu Val Leu Gly Thr Lys Val Ser Leu Val Glu Asn Ile His  
 2165 2170 2175

Val Leu Gly Lys Glu Gln Ala Ser Pro Lys Asn Val Lys Met Glu  
 2180 2185 2190

Ile Gly Lys Thr Glu Thr Phe Ser Asp Val Pro Val Lys Thr Asn  
 2195 2200 2205

Ile Glu Val Cys Ser Thr Tyr Ser Lys Asp Ser Glu Asn Tyr Phe  
 2210 2215 2220

Glu Thr Glu Ala Val Glu Ile Ala Lys Ala Phe Met Glu Asp Asp  
 2225 2230 2235

Glu Leu Thr Asp Ser Lys Leu Pro Ser His Ala Thr His Ser Leu  
 2240 2245 2250

Phe Thr Cys Pro Glu Asn Glu Glu Met Val Leu Ser Asn Ser Arg  
 2255 2260 2265

Ile Gly Lys Arg Arg Gly Glu Pro Leu Ile Leu Val Gly Glu Pro

2270	2275	2280
Ser Ile Lys Arg Asn Leu Leu	Asn Glu Phe Asp Arg	Ile Ile Glu
2285	2290	2295
Asn Gln Glu Lys Ser Leu Lys	Ala Ser Lys Ser Thr	Pro Asp Gly
2300	2305	2310
Thr Ile Lys Asp Arg Arg Leu	Phe Met His His Val	Ser Leu Glu
2315	2320	2325
Pro Ile Thr Cys Val Pro Phe	Arg Thr Thr Lys Glu	Arg Gln Glu
2330	2335	2340
Ile Gln Asn Pro Asn Phe Thr	Ala Pro Gly Gln Glu	Phe Leu Ser
2345	2350	2355
Lys Ser His Leu Tyr Glu His	Leu Thr Leu Glu Lys	Ser Ser Ser
2360	2365	2370
Asn Leu Ala Val Ser Gly His	Pro Phe Tyr Gln Val	Ser Ala Thr
2375	2380	2385
Arg Asn Glu Lys Met Arg His	Leu Ile Thr Thr Gly	Arg Pro Thr
2390	2395	2400
Lys Val Phe Val Pro Pro Phe	Lys Thr Lys Ser His	Phe His Arg
2405	2410	2415
Val Glu Gln Cys Val Arg Asn	Ile Asn Leu Glu Glu	Asn Arg Gln
2420	2425	2430
Lys Gln Asn Ile Asp Gly His	Gly Ser Asp Asp Ser	Lys Asn Lys
2435	2440	2445
Ile Asn Asp Asn Glu Ile His	Gln Phe Asn Lys Asn	Asn Ser Asn
2450	2455	2460
Gln Ala Ala Ala Val Thr Phe	Thr Lys Cys Glu Glu	Glu Pro Leu
2465	2470	2475
Asp Leu Ile Thr Ser Leu Gln	Asn Ala Arg Asp Ile	Gln Asp Met
2480	2485	2490
Arg Ile Lys Lys Lys Gln Arg	Gln Arg Val Phe Pro	Gln Pro Gly
2495	2500	2505

Ser Leu Tyr Leu Ala Lys Thr Ser Thr Leu Pro Arg Ile Ser Leu  
 2510 2515 2520

Lys Ala Ala Val Gly Gly Gln Val Pro Ser Ala Cys Ser His Lys  
 2525 2530 2535

Gln Leu Tyr Thr Tyr Gly Val Ser Lys His Cys Ile Lys Ile Asn  
 2540 2545 2550

Ser Lys Asn Ala Glu Ser Phe Gln Phe His Thr Glu Asp Tyr Phe  
 2555 2560 2565

Gly Lys Glu Ser Leu Trp Thr Gly Lys Gly Ile Gln Leu Ala Asp  
 2570 2575 2580

Gly Gly Trp Leu Ile Pro Ser Asn Asp Gly Lys Ala Gly Lys Glu  
 2585 2590 2595

Glu Phe Tyr Arg Ala Leu Cys Asp Thr Pro Gly Val Asp Pro Lys  
 2600 2605 2610

Leu Ile Ser Arg Ile Trp Val Tyr Asn His Tyr Arg Trp Ile Ile  
 2615 2620 2625

Trp Lys Leu Ala Ala Met Glu Cys Ala Phe Pro Lys Glu Phe Ala  
 2630 2635 2640

Asn Arg Cys Leu Ser Pro Glu Arg Val Leu Leu Gln Leu Lys Tyr  
 2645 2650 2655

Arg Tyr Asp Thr Glu Ile Asp Arg Ser Arg Arg Ser Ala Ile Lys  
 2660 2665 2670

Lys Ile Met Glu Arg Asp Asp Thr Ala Ala Lys Thr Leu Val Leu  
 2675 2680 2685

Cys Val Ser Asp Ile Ile Ser Leu Ser Ala Asn Ile Ser Glu Thr  
 2690 2695 2700

Ser Ser Asn Lys Thr Ser Ser Ala Asp Thr Gln Lys Val Ala Ile  
 2705 2710 2715

Ile Glu Leu Thr Asp Gly Trp Tyr Ala Val Lys Ala Gln Leu Asp  
 2720 2725 2730

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

2735	2740	2745
Gln Lys Ile Ile Leu His Gly Ala Glu Leu Val Gly Ser Pro Asp		
2750	2755	2760
Ala Cys Thr Pro Leu Glu Ala Pro Glu Ser Leu Met Leu Lys Ile		
2765	2770	2775
Ser Ala Asn Ser Thr Arg Pro Ala Arg Trp Tyr Thr Lys Leu Gly		
2780	2785	2790
Phe Phe Pro Asp Pro Arg Pro Phe Pro Leu Pro Leu Ser Ser Leu		
2795	2800	2805
Phe Ser Asp Gly Gly Asn Val Gly Cys Val Asp Val Ile Ile Gln		
2810	2815	2820
Arg Ala Tyr Pro Ile Gln Trp Met Glu Lys Thr Ser Ser Gly Leu		
2825	2830	2835
Tyr Ile Phe Arg Asn Glu Arg Glu Glu Glu Lys Glu Ala Ala Lys		
2840	2845	2850
Tyr Val Glu Ala Gln Gln Lys Arg Leu Glu Ala Leu Phe Thr Lys		
2855	2860	2865
Ile Gln Glu Glu Phe Glu Glu His Glu Glu Asn Thr Thr Lys Pro		
2870	2875	2880
Tyr Leu Pro Ser Arg Ala Leu Thr Arg Gln Gln Val Arg Ala Leu		
2885	2890	2895
Gln Asp Gly Ala Glu Leu Tyr Glu Ala Val Lys Asn Ala Ala Asp		
2900	2905	2910
Pro Ala Tyr Leu Glu Gly Tyr Phe Ser Glu Glu Gln Leu Arg Ala		
2915	2920	2925
Leu Asn Asn His Arg Gln Met Leu Asn Asp Lys Lys Gln Ala Gln		
2930	2935	2940
Ile Gln Leu Glu Ile Arg Lys Ala Met Glu Ser Ala Glu Gln Lys		
2945	2950	2955
Glu Gln Gly Leu Ser Arg Asp Val Thr Thr Val Trp Lys Leu Arg		
2960	2965	2970

Ile Val Ser Tyr Ser Lys Lys Glu Lys Asp Ser Val Ile Leu Ser  
 2975 2980 2985

Ile Trp Arg Pro Ser Ser Asp Leu Tyr Ser Leu Leu Thr Glu Gly  
 2990 2995 3000

Lys Arg Tyr Arg Ile Tyr His Leu Ala Thr Ser Lys Ser Lys Ser  
 3005 3010 3015

Lys Ser Glu Arg Ala Asn Ile Gln Leu Ala Ala Thr Lys Lys Thr  
 3020 3025 3030

Gln Tyr Gln Gln Leu Pro Val Ser Asp Glu Ile Leu Phe Gln Ile  
 3035 3040 3045

Tyr Gln Pro Arg Glu Pro Leu His Phe Ser Lys Phe Leu Asp Pro  
 3050 3055 3060

Asp Phe Gln Pro Ser Cys Ser Glu Val Asp Leu Ile Gly Phe Val  
 3065 3070 3075

Val Ser Val Val Lys Lys Thr Gly Leu Ala Pro Phe Val Tyr Leu  
 3080 3085 3090

Ser Asp Glu Cys Tyr Asn Leu Leu Ala Ile Lys Phe Trp Ile Asp  
 3095 3100 3105

Leu Asn Glu Asp Ile Ile Lys Pro His Met Leu Ile Ala Ala Ser  
 3110 3115 3120

Asn Leu Gln Trp Arg Pro Glu Ser Lys Ser Gly Leu Leu Thr Leu  
 3125 3130 3135

Phe Ala Gly Asp Phe Ser Val Phe Ser Ala Ser Pro Lys Glu Gly  
 3140 3145 3150

His Phe Gln Glu Thr Phe Asn Lys Met Lys Asn Thr Val Glu Asn  
 3155 3160 3165

Ile Asp Ile Leu Cys Asn Glu Ala Glu Asn Lys Leu Met His Ile  
 3170 3175 3180

Leu His Ala Asn Asp Pro Lys Trp Ser Thr Pro Thr Lys Asp Cys  
 3185 3190 3195

Thr Ser Gly Pro Tyr Thr Ala Gln Ile Ile Pro Gly Thr Gly Asn

3200                                  3205                                  3210  
 Lys Leu Leu Met Ser Ser Pro Asn Cys Glu Ile Tyr Tyr Gln Ser  
 3215                                  3220                                  3225

Pro Leu Ser Leu Cys Met Ala Lys Arg Lys Ser Val Ser Thr Pro  
 3230                                  3235                                  3240

Val Ser Ala Gln Met Thr Ser Lys Ser Cys Lys Gly Glu Lys Glu  
 3245                                  3250                                  3255

Ile Asp Asp Gln Lys Asn Cys Lys Lys Arg Arg Ala Leu Asp Phe  
 3260                                  3265                                  3270

Leu Ser Arg Leu Pro Leu Pro Pro Pro Val Ser Pro Ile Cys Thr  
 3275                                  3280                                  3285

Phe Val Ser Pro Ala Ala Gln Lys Ala Phe Gln Pro Pro Arg Ser  
 3290                                  3295                                  3300

Cys Gly Thr Lys Tyr Glu Thr Pro Ile Lys Lys Lys Glu Leu Asn  
 3305                                  3310                                  3315

Ser Pro Gln Met Thr Pro Phe Lys Lys Phe Asn Glu Ile Ser Leu  
 3320                                  3325                                  3330

Leu Glu Ser Asn Ser Ile Ala Asp Glu Glu Leu Ala Leu Ile Asn  
 3335                                  3340                                  3345

Thr Gln Ala Leu Leu Ser Gly Ser Thr Gly Glu Lys Gln Phe Ile  
 3350                                  3355                                  3360

Ser Val Ser Glu Ser Thr Arg Thr Ala Pro Thr Ser Ser Glu Asp  
 3365                                  3370                                  3375

Tyr Leu Arg Leu Lys Arg Arg Cys Thr Thr Ser Leu Ile Lys Glu  
 3380                                  3385                                  3390

Gln Glu Ser Ser Gln Ala Ser Thr Glu Glu Cys Glu Lys Asn Lys  
 3395                                  3400                                  3405

Gln Asp Thr Ile Thr Thr Lys Lys Tyr Ile  
 3410                                  3415

<210> 45

<211> 393

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 45

Met Glu Glu Pro Gln Ser Asp Pro Ser Val Glu Pro Pro Leu Ser Gln

1                    5                    10                    15

Glu Thr Phe Ser Asp Leu Trp Lys Leu Leu Pro Glu Asn Asn Val Leu

                  20                    25                    30

Ser Pro Leu Pro Ser Gln Ala Met Asp Asp Leu Met Leu Ser Pro Asp

                  35                    40                    45

Asp Ile Glu Gln Trp Phe Thr Glu Asp Pro Gly Pro Asp Glu Ala Pro

                  50                    55                    60

Arg Met Pro Glu Ala Ala Pro Pro Val Ala Pro Ala Pro Ala Ala Pro

65                    70                    75                    80

Thr Pro Ala Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ser Trp Pro Leu Ser Ser Ser

                  85                    90                    95

Val Pro Ser Gln Lys Thr Tyr Gln Gly Ser Tyr Gly Phe Arg Leu Gly

                  100                    105                    110

Phe Leu His Ser Gly Thr Ala Lys Ser Val Thr Cys Thr Tyr Ser Pro

                  115                    120                    125

Ala Leu Asn Lys Met Phe Cys Gln Leu Ala Lys Thr Cys Pro Val Gln

                  130                    135                    140

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

145                    150                    155                    160

Ala Ile Tyr Lys Gln Ser Gln His Met Thr Glu Val Val Arg Arg Cys

                  165                    170                    175

Pro His His Glu Arg Cys Ser Asp Ser Asp Gly Leu Ala Pro Pro Gln

                  180                    185                    190

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

                  195                    200                    205

Arg Asn Thr Phe Arg His Ser Val Val Val Pro Tyr Glu Pro Pro Glu

                  210                    215                    220

Val Gly Ser Asp Cys Thr Thr Ile His Tyr Asn Tyr Met Cys Asn Ser





Glu Val Cys Ser Glu Gln Ala Glu Thr Gly Pro Cys Arg Ala Met Ile  
 290 295 300  
 Ser Arg Trp Tyr Phe Asp Val Thr Glu Gly Lys Cys Ala Pro Phe Phe  
 305 310 315 320  
 Tyr Gly Gly Cys Gly Gly Asn Arg Asn Asn Phe Asp Thr Glu Glu Tyr  
 325 330 335  
 Cys Met Ala Val Cys Gly Ser Ala Met Ser Gln Ser Leu Leu Lys Thr  
 340 345 350  
  
 Thr Gln Glu Pro Leu Ala Arg Asp Pro Val Lys Leu Pro Thr Thr Ala  
 355 360 365  
 Ala Ser Thr Pro Asp Ala Val Asp Lys Tyr Leu Glu Thr Pro Gly Asp  
 370 375 380  
 Glu Asn Glu His Ala His Phe Gln Lys Ala Lys Glu Arg Leu Glu Ala  
 385 390 395 400  
 Lys His Arg Glu Arg Met Ser Gln Val Met Arg Glu Trp Glu Glu Ala  
 405 410 415  
  
 Glu Arg Gln Ala Lys Asn Leu Pro Lys Ala Asp Lys Lys Ala Val Ile  
 420 425 430  
 Gln His Phe Gln Glu Lys Val Glu Ser Leu Glu Gln Glu Ala Ala Asn  
 435 440 445  
 Glu Arg Gln Gln Leu Val Glu Thr His Met Ala Arg Val Glu Ala Met  
 450 455 460  
 Leu Asn Asp Arg Arg Arg Leu Ala Leu Glu Asn Tyr Ile Thr Ala Leu  
 465 470 475 480  
  
 Gln Ala Val Pro Pro Arg Pro Arg His Val Phe Asn Met Leu Lys Lys  
 485 490 495  
 Tyr Val Arg Ala Glu Gln Lys Asp Arg Gln His Thr Leu Lys His Phe  
 500 505 510  
 Glu His Val Arg Met Val Asp Pro Lys Lys Ala Ala Gln Ile Arg Ser  
 515 520 525  
 Gln Val Met Thr His Leu Arg Val Ile Tyr Glu Arg Met Asn Gln Ser



<210> 47

<211> 3144

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 47

Met Ala Thr Leu Glu Lys Leu Met Lys Ala Phe Glu Ser Leu Lys Ser

1                    5                                    10                                    15

Phe Gln Gln Gln Gln Gln Gln Gln Gln Gln Gln Gln Gln Gln Gln

20                                    25                                    30

Gln Gln Gln Gln Gln Gln Gln Gln Pro Pro Pro Pro Pro Pro Pro Pro

35                                    40                                    45

Pro Pro Pro Gln Leu Pro Gln Pro Pro Pro Gln Ala Gln Pro Leu Leu

50                                    55                                    60

Pro Gln Pro Gln Pro Pro Pro Pro Pro Pro Pro Pro Pro Pro Gly Pro

65                                    70                                    75                                    80

Ala Val Ala Glu Glu Pro Leu His Arg Pro Lys Lys Glu Leu Ser Ala

85                                    90                                    95

Thr Lys Lys Asp Arg Val Asn His Cys Leu Thr Ile Cys Glu Asn Ile

100                                    105                                    110

Val Ala Gln Ser Val Arg Asn Ser Pro Glu Phe Gln Lys Leu Leu Gly

115                                    120                                    125

Ile Ala Met Glu Leu Phe Leu Leu Cys Ser Asp Asp Ala Glu Ser Asp

130                                    135                                    140

Val Arg Met Val Ala Asp Glu Cys Leu Asn Lys Val Ile Lys Ala Leu

145                                    150                                    155                                    160

Met Asp Ser Asn Leu Pro Arg Leu Gln Leu Glu Leu Tyr Lys Glu Ile

165                                    170                                    175

Lys Lys Asn Gly Ala Pro Arg Ser Leu Arg Ala Ala Leu Trp Arg Phe

180                                    185                                    190

Ala Glu Leu Ala His Leu Val Arg Pro Gln Lys Cys Arg Pro Tyr Leu

195                                    200                                    205

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

210 215 220

Ser Val Gln Glu Thr Leu Ala Ala Ala Val Pro Lys Ile Met Ala Ser

225 230 235 240

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

245 250 255

Phe Ile Ala Asn Leu Lys Ser Ser Ser Pro Thr Ile Arg Arg Thr Ala

260 265 270

Ala Gly Ser Ala Val Ser Ile Cys Gln His Ser Arg Arg Thr Gln Tyr

275 280 285

Phe Tyr Ser Trp Leu Leu Asn Val Leu Leu Gly Leu Leu Val Pro Val

290 295 300

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

305 310 315 320

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

325 330 335

Lys Gly Ser Phe Gly Val Thr Arg Lys Glu Met Glu Val Ser Pro Ser

340 345 350

Ala Glu Gln Leu Val Gln Val Tyr Glu Leu Thr Leu His His Thr Gln

355 360 365

His Gln Asp His Asn Val Val Thr Gly Ala Leu Glu Leu Leu Gln Gln

370 375 380

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

385 390 395 400

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

405 410 415

Ser Arg Ser Gly Ser Ile Val Glu Leu Ile Ala Gly Gly Gly Ser Ser

420 425 430

Cys Ser Pro Val Leu Ser Arg Lys Gln Lys Gly Lys Val Leu Leu Gly

435 440 445

Glu Glu Glu Ala Leu Glu Asp Ser Glu Ser Arg Ser Asp Val Ser

450                      455                      460  
 Ser Ser Ala Leu Thr Ala Ser Val Lys Asp Glu Ile Ser Gly Glu Leu  
  
 465                      470                      475                      480  
 Ala Ala Ser Ser Gly Val Ser Thr Pro Gly Ser Ala Gly His Asp Ile  
                                  485                      490                      495  
 Ile Thr Glu Gln Pro Arg Ser Gln His Thr Leu Gln Ala Asp Ser Val  
                                  500                      505                      510  
 Asp Leu Ala Ser Cys Asp Leu Thr Ser Ser Ala Thr Asp Gly Asp Glu  
                                  515                      520                      525  
 Glu Asp Ile Leu Ser His Ser Ser Ser Gln Val Ser Ala Val Pro Ser  
  
 530                      535                      540  
 Asp Pro Ala Met Asp Leu Asn Asp Gly Thr Gln Ala Ser Ser Pro Ile  
 545                      550                      555                      560  
 Ser Asp Ser Ser Gln Thr Thr Thr Glu Gly Pro Asp Ser Ala Val Thr  
                                  565                      570                      575  
 Pro Ser Asp Ser Ser Glu Ile Val Leu Asp Gly Thr Asp Asn Gln Tyr  
                                  580                      585                      590  
 Leu Gly Leu Gln Ile Gly Gln Pro Gln Asp Glu Asp Glu Glu Ala Thr  
  
 595                      600                      605  
 Gly Ile Leu Pro Asp Glu Ala Ser Glu Ala Phe Arg Asn Ser Ser Met  
                                  610                      615                      620  
 Ala Leu Gln Gln Ala His Leu Leu Lys Asn Met Ser His Cys Arg Gln  
 625                      630                      635                      640  
 Pro Ser Asp Ser Ser Val Asp Lys Phe Val Leu Arg Asp Glu Ala Thr  
                                  645                      650                      655  
 Glu Pro Gly Asp Gln Glu Asn Lys Pro Cys Arg Ile Lys Gly Asp Ile  
  
 660                      665                      670  
 Gly Gln Ser Thr Asp Asp Asp Ser Ala Pro Leu Val His Cys Val Arg  
                                  675                      680                      685  
 Leu Leu Ser Ala Ser Phe Leu Leu Thr Gly Gly Lys Asn Val Leu Val  
                                  690                      695                      700

Pro Asp Arg Asp Val Arg Val Ser Val Lys Ala Leu Ala Leu Ser Cys  
 705                      710                      715                      720  
 Val Gly Ala Ala Val Ala Leu His Pro Glu Ser Phe Phe Ser Lys Leu  
  
                                  725                      730                      735  
 Tyr Lys Val Pro Leu Asp Thr Thr Glu Tyr Pro Glu Glu Gln Tyr Val  
                                  740                      745                      750  
 Ser Asp Ile Leu Asn Tyr Ile Asp His Gly Asp Pro Gln Val Arg Gly  
                                  755                      760                      765  
 Ala Thr Ala Ile Leu Cys Gly Thr Leu Ile Cys Ser Ile Leu Ser Arg  
                                  770                      775                      780  
 Ser Arg Phe His Val Gly Asp Trp Met Gly Thr Ile Arg Thr Leu Thr  
  
 785                      790                      795                      800  
 Gly Asn Thr Phe Ser Leu Ala Asp Cys Ile Pro Leu Leu Arg Lys Thr  
                                  805                      810                      815  
 Leu Lys Asp Glu Ser Ser Val Thr Cys Lys Leu Ala Cys Thr Ala Val  
                                  820                      825                      830  
 Arg Asn Cys Val Met Ser Leu Cys Ser Ser Ser Tyr Ser Glu Leu Gly  
                                  835                      840                      845  
 Leu Gln Leu Ile Ile Asp Val Leu Thr Leu Arg Asn Ser Ser Tyr Trp  
  
                                  850                      855                      860  
 Leu Val Arg Thr Glu Leu Leu Glu Thr Leu Ala Glu Ile Asp Phe Arg  
 865                      870                      875                      880  
 Leu Val Ser Phe Leu Glu Ala Lys Ala Glu Asn Leu His Arg Gly Ala  
                                  885                      890                      895  
 His His Tyr Thr Gly Leu Leu Lys Leu Gln Glu Arg Val Leu Asn Asn  
                                  900                      905                      910  
 Val Val Ile His Leu Leu Gly Asp Glu Asp Pro Arg Val Arg His Val  
  
                                  915                      920                      925  
 Ala Ala Ala Ser Leu Ile Arg Leu Val Pro Lys Leu Phe Tyr Lys Cys  
                                  930                      935                      940  
 Asp Gln Gly Gln Ala Asp Pro Val Val Ala Val Ala Arg Asp Gln Ser

945                      950                      955                      960  
 Ser Val Tyr Leu Lys Leu Leu Met His Glu Thr Gln Pro Pro Ser His  
                                  965                      970                      975  
 Phe Ser Val Ser Thr Ile Thr Arg Ile Tyr Arg Gly Tyr Asn Leu Leu  
  
                                  980                      985                      990  
 Pro Ser Ile Thr Asp Val Thr Met Glu Asn Asn Leu Ser Arg Val Ile  
                                  995                      1000                      1005  
 Ala Ala Val Ser His Glu Leu Ile Thr Ser Thr Thr Arg Ala Leu  
                                  1010                      1015                      1020  
 Thr Phe Gly Cys Cys Glu Ala Leu Cys Leu Leu Ser Thr Ala Phe  
                                  1025                      1030                      1035  
 Pro Val Cys Ile Trp Ser Leu Gly Trp His Cys Gly Val Pro Pro  
  
                                  1040                      1045                      1050  
 Leu Ser Ala Ser Asp Glu Ser Arg Lys Ser Cys Thr Val Gly Met  
                                  1055                      1060                      1065  
 Ala Thr Met Ile Leu Thr Leu Leu Ser Ser Ala Trp Phe Pro Leu  
                                  1070                      1075                      1080  
 Asp Leu Ser Ala His Gln Asp Ala Leu Ile Leu Ala Gly Asn Leu  
                                  1085                      1090                      1095  
 Leu Ala Ala Ser Ala Pro Lys Ser Leu Arg Ser Ser Trp Ala Ser  
  
                                  1100                      1105                      1110  
 Glu Glu Glu Ala Asn Pro Ala Ala Thr Lys Gln Glu Glu Val Trp  
                                  1115                      1120                      1125  
 Pro Ala Leu Gly Asp Arg Ala Leu Val Pro Met Val Glu Gln Leu  
                                  1130                      1135                      1140  
 Phe Ser His Leu Leu Lys Val Ile Asn Ile Cys Ala His Val Leu  
                                  1145                      1150                      1155  
 Asp Asp Val Ala Pro Gly Pro Ala Ile Lys Ala Ala Leu Pro Ser  
  
                                  1160                      1165                      1170  
 Leu Thr Asn Pro Pro Ser Leu Ser Pro Ile Arg Arg Lys Gly Lys  
                                  1175                      1180                      1185

Glu Lys Glu Pro Gly Glu Gln Ala Ser Val Pro Leu Ser Pro Lys  
 1190 1195 1200  
 Lys Gly Ser Glu Ala Ser Ala Ala Ser Arg Gln Ser Asp Thr Ser  
 1205 1210 1215  
 Gly Pro Val Thr Thr Ser Lys Ser Ser Ser Leu Gly Ser Phe Tyr  
 1220 1225 1230  
 His Leu Pro Ser Tyr Leu Lys Leu His Asp Val Leu Lys Ala Thr  
 1235 1240 1245  
 His Ala Asn Tyr Lys Val Thr Leu Asp Leu Gln Asn Ser Thr Glu  
 1250 1255 1260  
 Lys Phe Gly Gly Phe Leu Arg Ser Ala Leu Asp Val Leu Ser Gln  
 1265 1270 1275  
 Ile Leu Glu Leu Ala Thr Leu Gln Asp Ile Gly Lys Cys Val Glu  
 1280 1285 1290  
 Glu Ile Leu Gly Tyr Leu Lys Ser Cys Phe Ser Arg Glu Pro Met  
 1295 1300 1305  
 Met Ala Thr Val Cys Val Gln Gln Leu Leu Lys Thr Leu Phe Gly  
 1310 1315 1320  
 Thr Asn Leu Ala Ser Gln Phe Asp Gly Leu Ser Ser Asn Pro Ser  
 1325 1330 1335  
 Lys Ser Gln Gly Arg Ala Gln Arg Leu Gly Ser Ser Ser Val Arg  
 1340 1345 1350  
 Pro Gly Leu Tyr His Tyr Cys Phe Met Ala Pro Tyr Thr His Phe  
 1355 1360 1365  
 Thr Gln Ala Leu Ala Asp Ala Ser Leu Arg Asn Met Val Gln Ala  
 1370 1375 1380  
 Glu Gln Glu Asn Asp Thr Ser Gly Trp Phe Asp Val Leu Gln Lys  
 1385 1390 1395  
 Val Ser Thr Gln Leu Lys Thr Asn Leu Thr Ser Val Thr Lys Asn  
 1400 1405 1410  
 Arg Ala Asp Lys Asn Ala Ile His Asn His Ile Arg Leu Phe Glu

1415	1420	1425
Pro Leu Val Ile Lys Ala Leu Lys Gln Tyr Thr Thr Thr Thr Cys		
1430	1435	1440
Val Gln Leu Gln Lys Gln Val Leu Asp Leu Leu Ala Gln Leu Val		
1445	1450	1455
Gln Leu Arg Val Asn Tyr Cys Leu Leu Asp Ser Asp Gln Val Phe		
1460	1465	1470
Ile Gly Phe Val Leu Lys Gln Phe Glu Tyr Ile Glu Val Gly Gln		
1475	1480	1485
Phe Arg Glu Ser Glu Ala Ile Ile Pro Asn Ile Phe Phe Phe Leu		
1490	1495	1500
Val Leu Leu Ser Tyr Glu Arg Tyr His Ser Lys Gln Ile Ile Gly		
1505	1510	1515
Ile Pro Lys Ile Ile Gln Leu Cys Asp Gly Ile Met Ala Ser Gly		
1520	1525	1530
Arg Lys Ala Val Thr His Ala Ile Pro Ala Leu Gln Pro Ile Val		
1535	1540	1545
His Asp Leu Phe Val Leu Arg Gly Thr Asn Lys Ala Asp Ala Gly		
1550	1555	1560
Lys Glu Leu Glu Thr Gln Lys Glu Val Val Val Ser Met Leu Leu		
1565	1570	1575
Arg Leu Ile Gln Tyr His Gln Val Leu Glu Met Phe Ile Leu Val		
1580	1585	1590
Leu Gln Gln Cys His Lys Glu Asn Glu Asp Lys Trp Lys Arg Leu		
1595	1600	1605
Ser Arg Gln Ile Ala Asp Ile Ile Leu Pro Met Leu Ala Lys Gln		
1610	1615	1620
Gln Met His Ile Asp Ser His Glu Ala Leu Gly Val Leu Asn Thr		
1625	1630	1635
Leu Phe Glu Ile Leu Ala Pro Ser Ser Leu Arg Pro Val Asp Met		
1640	1645	1650

Leu Leu Arg Ser Met Phe Val Thr Pro Asn Thr Met Ala Ser Val  
 1655 1660 1665  
 Ser Thr Val Gln Leu Trp Ile Ser Gly Ile Leu Ala Ile Leu Arg  
 1670 1675 1680  
 Val Leu Ile Ser Gln Ser Thr Glu Asp Ile Val Leu Ser Arg Ile  
 1685 1690 1695  
 Gln Glu Leu Ser Phe Ser Pro Tyr Leu Ile Ser Cys Thr Val Ile  
 1700 1705 1710  
 Asn Arg Leu Arg Asp Gly Asp Ser Thr Ser Thr Leu Glu Glu His  
 1715 1720 1725  
 Ser Glu Gly Lys Gln Ile Lys Asn Leu Pro Glu Glu Thr Phe Ser  
 1730 1735 1740  
 Arg Phe Leu Leu Gln Leu Val Gly Ile Leu Leu Glu Asp Ile Val  
 1745 1750 1755  
 Thr Lys Gln Leu Lys Val Glu Met Ser Glu Gln Gln His Thr Phe  
 1760 1765 1770  
 Tyr Cys Gln Glu Leu Gly Thr Leu Leu Met Cys Leu Ile His Ile  
 1775 1780 1785  
 Phe Lys Ser Gly Met Phe Arg Arg Ile Thr Ala Ala Ala Thr Arg  
 1790 1795 1800  
 Leu Phe Arg Ser Asp Gly Cys Gly Gly Ser Phe Tyr Thr Leu Asp  
 1805 1810 1815  
 Ser Leu Asn Leu Arg Ala Arg Ser Met Ile Thr Thr His Pro Ala  
 1820 1825 1830  
 Leu Val Leu Leu Trp Cys Gln Ile Leu Leu Leu Val Asn His Thr  
 1835 1840 1845  
 Asp Tyr Arg Trp Trp Ala Glu Val Gln Gln Thr Pro Lys Arg His  
 1850 1855 1860  
 Ser Leu Ser Ser Thr Lys Leu Leu Ser Pro Gln Met Ser Gly Glu  
 1865 1870 1875  
 Glu Glu Asp Ser Asp Leu Ala Ala Lys Leu Gly Met Cys Asn Arg

1880	1885	1890
Glu Ile Val Arg Arg Gly Ala	Leu Ile Leu Phe Cys	Asp Tyr Val
1895	1900	1905
Cys Gln Asn Leu His Asp Ser	Glu His Leu Thr Trp	Leu Ile Val
1910	1915	1920
Asn His Ile Gln Asp Leu Ile	Ser Leu Ser His Glu	Pro Pro Val
1925	1930	1935
Gln Asp Phe Ile Ser Ala Val	His Arg Asn Ser Ala	Ala Ser Gly
1940	1945	1950
Leu Phe Ile Gln Ala Ile Gln	Ser Arg Cys Glu Asn	Leu Ser Thr
1955	1960	1965
Pro Thr Met Leu Lys Lys Thr	Leu Gln Cys Leu Glu	Gly Ile His
1970	1975	1980
Leu Ser Gln Ser Gly Ala Val	Leu Thr Leu Tyr Val	Asp Arg Leu
1985	1990	1995
Leu Cys Thr Pro Phe Arg Val	Leu Ala Arg Met Val	Asp Ile Leu
2000	2005	2010
Ala Cys Arg Arg Val Glu Met	Leu Leu Ala Ala Asn	Leu Gln Ser
2015	2020	2025
Ser Met Ala Gln Leu Pro Met	Glu Glu Leu Asn Arg	Ile Gln Glu
2030	2035	2040
Tyr Leu Gln Ser Ser Gly Leu	Ala Gln Arg His Gln	Arg Leu Tyr
2045	2050	2055
Ser Leu Leu Asp Arg Phe Arg	Leu Ser Thr Met Gln	Asp Ser Leu
2060	2065	2070
Ser Pro Ser Pro Pro Val Ser	Ser His Pro Leu Asp	Gly Asp Gly
2075	2080	2085
His Val Ser Leu Glu Thr Val	Ser Pro Asp Lys Asp	Trp Tyr Val
2090	2095	2100
His Leu Val Lys Ser Gln Cys	Trp Thr Arg Ser Asp	Ser Ala Leu
2105	2110	2115

Leu Glu Gly Ala Glu Leu Val Asn Arg Ile Pro Ala Glu Asp Met  
 2120 2125 2130  
 Asn Ala Phe Met Met Asn Ser Glu Phe Asn Leu Ser Leu Leu Ala  
 2135 2140 2145  
 Pro Cys Leu Ser Leu Gly Met Ser Glu Ile Ser Gly Gly Gln Lys  
 2150 2155 2160  
 Ser Ala Leu Phe Glu Ala Ala Arg Glu Val Thr Leu Ala Arg Val  
 2165 2170 2175  
 Ser Gly Thr Val Gln Gln Leu Pro Ala Val His His Val Phe Gln  
 2180 2185 2190  
 Pro Glu Leu Pro Ala Glu Pro Ala Ala Tyr Trp Ser Lys Leu Asn  
 2195 2200 2205  
 Asp Leu Phe Gly Asp Ala Ala Leu Tyr Gln Ser Leu Pro Thr Leu  
 2210 2215 2220  
 Ala Arg Ala Leu Ala Gln Tyr Leu Val Val Val Ser Lys Leu Pro  
 2225 2230 2235  
 Ser His Leu His Leu Pro Pro Glu Lys Glu Lys Asp Ile Val Lys  
 2240 2245 2250  
 Phe Val Val Ala Thr Leu Glu Ala Leu Ser Trp His Leu Ile His  
 2255 2260 2265  
 Glu Gln Ile Pro Leu Ser Leu Asp Leu Gln Ala Gly Leu Asp Cys  
 2270 2275 2280  
 Cys Cys Leu Ala Leu Gln Leu Pro Gly Leu Trp Ser Val Val Ser  
 2285 2290 2295  
 Ser Thr Glu Phe Val Thr His Ala Cys Ser Leu Ile Tyr Cys Val  
 2300 2305 2310  
 His Phe Ile Leu Glu Ala Val Ala Val Gln Pro Gly Glu Gln Leu  
 2315 2320 2325  
 Leu Ser Pro Glu Arg Arg Thr Asn Thr Pro Lys Ala Ile Ser Glu  
 2330 2335 2340  
 Glu Glu Glu Glu Val Asp Pro Asn Thr Gln Asn Pro Lys Tyr Ile

2345	2350	2355
Thr Ala Ala Cys Glu Met Val	Ala Glu Met Val Glu	Ser Leu Gln
2360	2365	2370
Ser Val Leu Ala Leu Gly His	Lys Arg Asn Ser Gly	Val Pro Ala
2375	2380	2385
Phe Leu Thr Pro Leu Leu Arg	Asn Ile Ile Ile Ser	Leu Ala Arg
2390	2395	2400
Leu Pro Leu Val Asn Ser Tyr	Thr Arg Val Pro Pro	Leu Val Trp
2405	2410	2415
Lys Leu Gly Trp Ser Pro Lys	Pro Gly Gly Asp Phe	Gly Thr Ala
2420	2425	2430
Phe Pro Glu Ile Pro Val Glu	Phe Leu Gln Glu Lys	Glu Val Phe
2435	2440	2445
Lys Glu Phe Ile Tyr Arg Ile	Asn Thr Leu Gly Trp	Thr Ser Arg
2450	2455	2460
Thr Gln Phe Glu Glu Thr Trp	Ala Thr Leu Leu Gly	Val Leu Val
2465	2470	2475
Thr Gln Pro Leu Val Met Glu	Gln Glu Glu Ser Pro	Pro Glu Glu
2480	2485	2490
Asp Thr Glu Arg Thr Gln Ile	Asn Val Leu Ala Val	Gln Ala Ile
2495	2500	2505
Thr Ser Leu Val Leu Ser Ala	Met Thr Val Pro Val	Ala Gly Asn
2510	2515	2520
Pro Ala Val Ser Cys Leu Glu	Gln Gln Pro Arg Asn	Lys Pro Leu
2525	2530	2535
Lys Ala Leu Asp Thr Arg Phe	Gly Arg Lys Leu Ser	Ile Ile Arg
2540	2545	2550
Gly Ile Val Glu Gln Glu Ile	Gln Ala Met Val Ser	Lys Arg Glu
2555	2560	2565
Asn Ile Ala Thr His His Leu	Tyr Gln Ala Trp Asp	Pro Val Pro
2570	2575	2580

Ser Leu Ser Pro Ala Thr Thr Gly Ala Leu Ile Ser His Glu Lys  
 2585 2590 2595

Leu Leu Leu Gln Ile Asn Pro Glu Arg Glu Leu Gly Ser Met Ser  
 2600 2605 2610

Tyr Lys Leu Gly Gln Val Ser Ile His Ser Val Trp Leu Gly Asn  
 2615 2620 2625

Ser Ile Thr Pro Leu Arg Glu Glu Glu Trp Asp Glu Glu Glu Glu  
 2630 2635 2640

Glu Glu Ala Asp Ala Pro Ala Pro Ser Ser Pro Pro Thr Ser Pro  
 2645 2650 2655

Val Asn Ser Arg Lys His Arg Ala Gly Val Asp Ile His Ser Cys  
 2660 2665 2670

Ser Gln Phe Leu Leu Glu Leu Tyr Ser Arg Trp Ile Leu Pro Ser  
 2675 2680 2685

Ser Ser Ala Arg Arg Thr Pro Ala Ile Leu Ile Ser Glu Val Val  
 2690 2695 2700

Arg Ser Leu Leu Val Val Ser Asp Leu Phe Thr Glu Arg Asn Gln  
 2705 2710 2715

Phe Glu Leu Met Tyr Val Thr Leu Thr Glu Leu Arg Arg Val His  
 2720 2725 2730

Pro Ser Glu Asp Glu Ile Leu Ala Gln Tyr Leu Val Pro Ala Thr  
 2735 2740 2745

Cys Lys Ala Ala Ala Val Leu Gly Met Asp Lys Ala Val Ala Glu  
 2750 2755 2760

Pro Val Ser Arg Leu Leu Glu Ser Thr Leu Arg Ser Ser His Leu  
 2765 2770 2775

Pro Ser Arg Val Gly Ala Leu His Gly Val Leu Tyr Val Leu Glu  
 2780 2785 2790

Cys Asp Leu Leu Asp Asp Thr Ala Lys Gln Leu Ile Pro Val Ile  
 2795 2800 2805

Ser Asp Tyr Leu Leu Ser Asn Leu Lys Gly Ile Ala His Cys Val

2810	2815	2820
Asn Ile His Ser Gln Gln His Val Leu Val Met Cys Ala Thr Ala		
2825	2830	2835
Phe Tyr Leu Ile Glu Asn Tyr Pro Leu Asp Val Gly Pro Glu Phe		
2840	2845	2850
Ser Ala Ser Ile Ile Gln Met Cys Gly Val Met Leu Ser Gly Ser		
2855	2860	2865
Glu Glu Ser Thr Pro Ser Ile Ile Tyr His Cys Ala Leu Arg Gly		
2870	2875	2880
Leu Glu Arg Leu Leu Leu Ser Glu Gln Leu Ser Arg Leu Asp Ala		
2885	2890	2895
Glu Ser Leu Val Lys Leu Ser Val Asp Arg Val Asn Val His Ser		
2900	2905	2910
Pro His Arg Ala Met Ala Ala Leu Gly Leu Met Leu Thr Cys Met		
2915	2920	2925
Tyr Thr Gly Lys Glu Lys Val Ser Pro Gly Arg Thr Ser Asp Pro		
2930	2935	2940
Asn Pro Ala Ala Pro Asp Ser Glu Ser Val Ile Val Ala Met Glu		
2945	2950	2955
Arg Val Ser Val Leu Phe Asp Arg Ile Arg Lys Gly Phe Pro Cys		
2960	2965	2970
Glu Ala Arg Val Val Ala Arg Ile Leu Pro Gln Phe Leu Asp Asp		
2975	2980	2985
Phe Phe Pro Pro Gln Asp Ile Met Asn Lys Val Ile Gly Glu Phe		
2990	2995	3000
Leu Ser Asn Gln Gln Pro Tyr Pro Gln Phe Met Ala Thr Val Val		
3005	3010	3015
Tyr Lys Val Phe Gln Thr Leu His Ser Thr Gly Gln Ser Ser Met		
3020	3025	3030
Val Arg Asp Trp Val Met Leu Ser Leu Ser Asn Phe Thr Gln Arg		
3035	3040	3045

Ala Pro Val Ala Met Ala Thr Trp Ser Leu Ser Cys Phe Phe Val  
 3050 3055 3060  
 Ser Ala Ser Thr Ser Pro Trp Val Ala Ala Ile Leu Pro His Val  
 3065 3070 3075  
 Ile Ser Arg Met Gly Lys Leu Glu Gln Val Asp Val Asn Leu Phe  
 3080 3085 3090  
 Cys Leu Val Ala Thr Asp Phe Tyr Arg His Gln Ile Glu Glu Glu  
 3095 3100 3105  
 Leu Asp Arg Arg Ala Phe Gln Ser Val Leu Glu Val Val Ala Ala  
 3110 3115 3120  
 Pro Gly Ser Pro Tyr His Arg Leu Leu Thr Cys Leu Arg Asn Val  
 3125 3130 3135  
 His Lys Val Thr Thr Cys  
 3140

<210> 48

<211> 89

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 48

Met Gly Ile Leu Lys Leu Gln Val Phe Leu Ile Val Leu Ser Val Ala  
 1 5 10 15  
 Leu Asn His Leu Lys Ala Thr Pro Ile Glu Ser His Gln Val Glu Lys  
 20 25 30  
 Arg Lys Cys Asn Thr Ala Thr Cys Ala Thr Gln Arg Leu Ala Asn Phe  
 35 40 45  
 Leu Val His Ser Ser Asn Asn Phe Gly Ala Ile Leu Ser Ser Thr Asn  
 50 55 60  
 Val Gly Ser Asn Thr Tyr Gly Lys Arg Asn Ala Val Glu Val Leu Lys  
 65 70 75 80  
 Arg Glu Pro Leu Asn Tyr Leu Pro Leu  
 85

<210> 49

<211> 776

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 49

Met Ala Glu Pro Arg Gln Glu Phe Glu Val Met Glu Asp His Ala Gly

1                    5                    10                    15

Thr Tyr Gly Leu Gly Asp Arg Lys Asp Gln Gly Gly Tyr Thr Met His

20                    25                    30

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

35                    40                    45

Gln Thr Pro Thr Glu Asp Gly Ser Glu Glu Pro Gly Ser Glu Thr Ser

50                    55                    60

Asp Ala Lys Ser Thr Pro Thr Ala Glu Asp Val Thr Ala Pro Leu Val

65                    70                    75                    80

Asp Glu Gly Ala Pro Gly Lys Gln Ala Ala Ala Gln Pro His Thr Glu

85                    90                    95

Ile Pro Glu Gly Thr Thr Ala Glu Glu Ala Gly Ile Gly Asp Thr Pro

100                    105                    110

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

115                    120                    125

Gly Lys Val Val Gln Glu Gly Phe Leu Arg Glu Pro Gly Pro Pro Gly

130                    135                    140

Leu Ser His Gln Leu Met Ser Gly Met Pro Gly Ala Pro Leu Leu Pro

145                    150                    155                    160

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

165                    170                    175

Asp Thr Glu Gly Gly Arg His Ala Pro Glu Leu Leu Lys His Gln Leu

180                    185                    190

Leu Gly Asp Leu His Gln Glu Gly Pro Pro Leu Lys Gly Ala Gly Gly

195                    200                    205

Lys Glu Arg Pro Gly Ser Lys Glu Glu Val Asp Glu Asp Arg Asp Val



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

465                      470                      475                      480

Gly Gln Ala Asn Ala Thr Arg Ile Pro Ala Lys Thr Pro Pro Ala Pro

                                 485                      490                      495

Lys Thr Pro Pro Ser Ser Ala Thr Lys Gln Val Gln Arg Arg Pro Pro

                                 500                      505                      510

Pro Ala Gly Pro Arg Ser Glu Arg Gly Glu Pro Pro Lys Ser Gly Asp

                                 515                      520                      525

Arg Ser Gly Tyr Ser Ser Pro Gly Ser Pro Gly Thr Pro Gly Ser Arg

530                      535                      540

Ser Arg Thr Pro Ser Leu Pro Thr Pro Pro Thr Arg Glu Pro Lys Lys

545                      550                      555                      560

Val Ala Val Val Arg Thr Pro Pro Lys Ser Pro Ser Ser Ala Lys Ser

                                 565                      570                      575

Arg Leu Gln Thr Ala Pro Val Pro Met Pro Asp Leu Lys Asn Val Lys

                                 580                      585                      590

Ser Lys Ile Gly Ser Thr Glu Asn Leu Lys His Gln Pro Gly Gly Gly

595                      600                      605

Lys Val Gln Ile Ile Asn Lys Lys Leu Asp Leu Ser Asn Val Gln Ser

610                      615                      620

Lys Cys Gly Ser Lys Asp Asn Ile Lys His Val Pro Gly Gly Gly Ser

625                      630                      635                      640

Val Gln Ile Val Tyr Lys Pro Val Asp Leu Ser Lys Val Thr Ser Lys

                                 645                      650                      655

Cys Gly Ser Leu Gly Asn Ile His His Lys Pro Gly Gly Gly Gln Val

660                      665                      670

Glu Val Lys Ser Glu Lys Leu Asp Phe Lys Asp Arg Val Gln Ser Lys

675                      680                      685

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

690                      695                      700

Lys Ile Glu Thr His Lys Leu Thr Phe Arg Glu Asn Ala Lys Ala Lys



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

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

<210> 51  
 <211> 140  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens  
 <400> 51

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

Asn Val Gly Gly Ala Val Val Thr Gly Val Thr Ala Val Ala Gln Lys  
 65 70 75 80  
 Thr Val Glu Gly Ala Gly Ser Ile Ala Ala Ala Thr Gly Phe Val Lys  
 85 90 95

Lys Asp Gln Leu Gly Lys Asn Glu Glu Gly Ala Pro Gln Glu Gly Ile  
 100 105 110

Leu Glu Asp Met Pro Val Asp Pro Asp Asn Glu Ala Tyr Glu Met Pro  
 115 120 125

Ser Glu Glu Gly Tyr Gln Asp Tyr Glu Pro Glu Ala  
 130 135 140

<210> 52

<211> 140

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 52

Met Asp Val Phe Met Lys Gly Leu Ser Lys Ala Lys Glu Gly Val Val  
 1 5 10 15

Ala Ala Ala Glu Lys Thr Lys Gln Gly Val Ala Glu Ala Ala Gly Lys  
 20 25 30

Thr Lys Glu Gly Val Leu Tyr Val Gly Ser Lys Thr Lys Glu Gly Val  
 35 40 45

Val His Gly Val Ala Thr Val Ala Glu Lys Thr Lys Glu Gln Val Thr  
 50 55 60

Asn Val Gly Gly Ala Val Val Thr Gly Val Thr Ala Val Ala Gln Lys  
 65 70 75 80

Thr Val Glu Gly Ala Gly Ser Ile Ala Ala Ala Thr Gly Phe Val Lys  
 85 90 95

Lys Asp Gln Leu Gly Lys Asn Glu Glu Gly Ala Pro Gln Glu Gly Ile  
 100 105 110

Leu Glu Asp Met Pro Val Asp Pro Asp Asn Glu Ala Tyr Glu Met Pro  
 115 120 125

Ser Glu Glu Gly Tyr Gln Asp Tyr Glu Pro Glu Ala  
 130 135 140

<210> 53

<211> 196

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 53

Gln Leu Val Lys Ser Glu Leu Glu Glu Lys Lys Ser Glu Leu Arg His

1                    5                    10                    15

Lys Leu Lys Tyr Val Pro His Glu Tyr Ile Glu Leu Ile Glu Ile Ala

                  20                    25                    30

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

                  35                    40                    45

Phe Met Lys Val Tyr Gly Tyr Arg Gly Lys His Leu Gly Gly Ser Arg

                  50                    55                    60

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

65                    70                    75                    80

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

                  85                    90                    95

Gly Gln Ala Asp Glu Met Gln Arg Tyr Val Glu Glu Asn Gln Thr Arg

                  100                    105                    110

Asn Lys His Ile Asn Pro Asn Glu Trp Trp Lys Val Tyr Pro Ser Ser

                  115                    120                    125

Val Thr Glu Phe Lys Phe Leu Phe Val Ser Gly His Phe Lys Gly Asn

                  130                    135                    140

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

145                    150                    155                    160

Ala Val Leu Ser Val Glu Glu Leu Leu Ile Gly Gly Glu Met Ile Lys

                  165                    170                    175

Ala Gly Thr Leu Thr Leu Glu Glu Val Arg Arg Lys Phe Asn Asn Gly

                  180                    185                    190

Glu Ile Asn Phe

                  195

<210> 54

<211> 36

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><221> misc\_feature

<222> (12)..(13)

<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<400> 54

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

1                    5                    10                    15

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

                  20                    25                    30

His Gly Gly Gly

                  35

<210> 55

<211> 36

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><221> misc\_feature

<222> (12)..(13)

<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<400> 55

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

1                    5                    10                    15

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

                  20                    25                    30

Gly His Gly Gly

                  35

<210> 56

<211> 36

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><221> misc\_feature

<222> (12)..(13)

<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<400> 56

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

1                    5                    10                    15  
 Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala

                  20                    25                    30  
 His Gly Ser Gly

                  35  
 <210> 57  
 <211> 1089  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens  
 <220><221> misc\_feature  
 <222> (188)..(189)  
 <223> Xaa can be any naturally occurring amino acid  
 <220><221> misc\_feature  
 <222> (224)..(225)  
 <223> Xaa can be any naturally occurring amino acid  
 <220><221> misc\_feature  
 <222> (258)..(259)  
 <223> Xaa can be any naturally occurring amino acid  
 <220><221> misc\_feature  
 <222> (294)..(295)  
  
 <223> Xaa can be any naturally occurring amino acid  
 <220><221> misc\_feature  
 <222> (328)..(329)  
 <223> Xaa can be any naturally occurring amino acid  
 <220><221> misc\_feature  
 <222> (364)..(365)  
 <223> Xaa can be any naturally occurring amino acid  
 <220><221> misc\_feature  
 <222> (398)..(399)  
 <223> Xaa can be any naturally occurring amino acid  
 <220><221> misc\_feature  
 <222> (434)..(435)  
 <223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<220><221> misc\_feature  
 <222> (468)..(469)

<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid  
 <220><221> misc\_feature  
 <222> (504)..(505)

<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid  
 <220><221> misc\_feature  
 <222> (538)..(539)

<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid  
 <220><221> misc\_feature  
 <222> (574)..(575)

<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid  
 <220><221> misc\_feature  
 <222> (608)..(609)

<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid  
 <220><221> misc\_feature  
 <222> (644)..(645)

<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid  
 <220><221> misc\_feature  
 <222> (678)..(679)

<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid  
 <220><221> misc\_feature  
 <222> (714)..(715)

<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid  
 <220><221> misc\_feature  
 <222> (748)..(749)

<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid  
 <220><221> misc\_feature  
 <222> (784)..(785)

<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid  
 <220><221> misc\_feature  
 <222> (818)..(819)

<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<400> 57

Met Asp Tyr Lys Asp His Asp Gly Asp Tyr Lys Asp His Asp Ile Asp  
 1                    5                    10                    15  
 Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys Met Ala Pro Lys Lys Lys Arg Lys Val  
                   20                    25                    30  
 Gly Ile His Gly Val Pro Ala Ala Val Asp Leu Arg Thr Leu Gly Tyr  
                   35                    40                    45  
 Ser Gln Gln Gln Gln Glu Lys Ile Lys Pro Lys Val Arg Ser Thr Val  
                   50                    55                    60  
 Ala Gln His His Glu Ala Leu Val Gly His Gly Phe Thr His Ala His  
 65                    70                    75                    80  
 Ile Val Ala Leu Ser Gln His Pro Ala Ala Leu Gly Thr Val Ala Val  
                   85                    90                    95  
 Lys Tyr Gln Asp Met Ile Ala Ala Leu Pro Glu Ala Thr His Glu Ala  
                   100                    105                    110  
 Ile Val Gly Val Gly Lys Gln Trp Ser Gly Ala Arg Ala Leu Glu Ala  
                   115                    120                    125  
 Leu Leu Thr Val Ala Gly Glu Leu Arg Gly Pro Pro Leu Gln Leu Asp  
                   130                    135                    140  
 Thr Gly Gln Leu Leu Lys Ile Ala Lys Arg Gly Gly Val Thr Ala Val  
 145                    150                    155                    160  
 Glu Ala Val His Ala Trp Arg Asn Ala Leu Thr Gly Ala Pro Leu Asn  
                   165                    170                    175  
 Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Xaa Xaa Gly Gly Lys  
                   180                    185                    190  
 Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala  
                   195                    200                    205  
 Gly His Gly Gly Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Xaa  
                   210                    215                    220  
 Xaa Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val  
 225                    230                    235                    240

Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala Ile Ala  
 245 250 255  
 Ser Xaa Xaa Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu  
 260 265 270  
 Pro Val Leu Cys Gln Ala Gly His Gly Gly Leu Thr Pro Glu Gln Val  
 275 280 285  
 Val Ala Ile Ala Ser Xaa Xaa Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val  
 290 295 300  
 Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Glu  
 305 310 315 320  
 Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Xaa Xaa Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu  
 325 330 335  
 Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala Gly His Gly Gly  
 340 345 350  
 Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Xaa Xaa Gly Gly Lys  
 355 360 365  
 Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala  
 370 375 380  
 His Gly Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Xaa Xaa Gly  
 385 390 395 400  
 Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys  
 405 410 415  
 Gln Ala Gly His Gly Gly Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala Ile Ala  
 420 425 430  
 Ser Xaa Xaa Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu  
 435 440 445  
 Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala  
 450 455 460  
 Ile Ala Ser Xaa Xaa Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg  
 465 470 475 480  
 Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala Gly His Gly Gly Leu Thr Pro Glu

485 490 495  
 Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Xaa Xaa Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu

500 505 510  
 Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr

515 520 525  
 Pro Glu Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Xaa Xaa Gly Gly Lys Gln Ala

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

545 550 555 560  
 Gly Gly Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Xaa Xaa Gly

565 570 575  
 Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys

580 585 590  
 Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Xaa

595 600 605  
 Xaa Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val

610 615 620  
 Leu Cys Gln Ala Gly His Gly Gly Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala

625 630 635 640  
 Ile Ala Ser Xaa Xaa Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg

645 650 655  
 Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Glu Gln Val

660 665 670  
 Val Ala Ile Ala Ser Xaa Xaa Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val

675 680 685  
 Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala Gly His Gly Gly Leu Thr

690 695 700  
 Pro Glu Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Xaa Xaa Gly Gly Lys Gln Ala

705 710 715 720  
 Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly

725 730 735

Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Xaa Xaa Gly Gly Lys  
 740 745 750  
 Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala  
 755 760 765  
 Gly His Gly Gly Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Xaa  
 770 775 780  
 Xaa Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val  
 785 790 795 800  
 Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala Ile Ala  
 805 810 815  
 Ser Xaa Xaa Gly Gly Arg Pro Ala Leu Glu Ser Ile Val Ala Gln Leu  
 820 825 830  
 Ser Arg Pro Asp Pro Ala Leu Ala Ala Leu Thr Asn Asp His Leu Val  
 835 840 845  
 Ala Leu Ala Cys Leu Gly Gly Arg Pro Ala Leu Asp Ala Val Lys Lys  
 850 855 860  
 Gly Leu Pro His Ala Pro Ala Leu Ile Lys Arg Thr Asn Arg Arg Ile  
 865 870 875 880  
 Pro Glu Arg Thr Ser His Arg Val Ala Gly Ser Gln Leu Val Lys Ser  
 885 890 895  
 Glu Leu Glu Glu Lys Lys Ser Glu Leu Arg His Lys Leu Lys Tyr Val  
 900 905 910  
 Pro His Glu Tyr Ile Glu Leu Ile Glu Ile Ala Arg Asn Ser Thr Gln  
 915 920 925  
 Asp Arg Ile Leu Glu Met Lys Val Met Glu Phe Phe Met Lys Val Tyr  
 930 935 940  
 Gly Tyr Arg Gly Lys His Leu Gly Gly Ser Arg Lys Pro Asp Gly Ala  
 945 950 955 960  
 Ile Tyr Thr Val Gly Ser Pro Ile Asp Tyr Gly Val Ile Val Asp Thr  
 965 970 975  
 Lys Ala Tyr Ser Gly Gly Tyr Asn Leu Pro Ile Gly Gln Ala Asp Glu

980                      985                      990  
 Met Gln Arg Tyr Val Glu Glu Asn Gln Thr Arg Asn Lys His Ile Asn  
 995                      1000                      1005  
 Pro Asn Glu Trp Trp Lys Val Tyr Pro Ser Ser Val Thr Glu Phe  
  
 1010                      1015                      1020  
 Lys Phe Leu Phe Val Ser Gly His Phe Lys Gly Asn Tyr Lys Ala  
 1025                      1030                      1035  
 Gln Leu Thr Arg Leu Asn His Ile Thr Asn Cys Asn Gly Ala Val  
 1040                      1045                      1050  
 Leu Ser Val Glu Glu Leu Leu Ile Gly Gly Glu Met Ile Lys Ala  
 1055                      1060                      1065  
 Gly Thr Leu Thr Leu Glu Glu Val Arg Arg Lys Phe Asn Asn Gly

1070                      1075                      1080  
 Glu Ile Asn Phe Arg Ser

1085

<210> 58

<211> 1107

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><221> misc\_feature

<222> (188)..(189)

<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<220><221> misc\_feature

<222> (224)..(225)

<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<220><221> misc\_feature

<222> (260)..(261)

<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<220><221> misc\_feature

<222> (296)..(297)

<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<220><221> misc\_feature

<222> (332)..(333)  
 <223> Xaa can be any naturally occurring amino acid  
 <220><221> misc\_feature

<222> (368)..(369)  
 <223> Xaa can be any naturally occurring amino acid  
 <220><221> misc\_feature

<222> (404)..(405)  
 <223> Xaa can be any naturally occurring amino acid  
 <220><221> misc\_feature

<222> (440)..(441)  
 <223> Xaa can be any naturally occurring amino acid  
 <220><221> misc\_feature

<222> (476)..(477)  
 <223> Xaa can be any naturally occurring amino acid  
 <220><221> misc\_feature

<222> (512)..(513)  
 <223> Xaa can be any naturally occurring amino acid  
 <220><221> misc\_feature

<222> (548)..(549)  
 <223> Xaa can be any naturally occurring amino acid  
 <220><221> misc\_feature

<222> (584)..(585)  
 <223> Xaa can be any naturally occurring amino acid  
 <220><221> misc\_feature

<222> (620)..(621)  
 <223> Xaa can be any naturally occurring amino acid  
 <220><221> misc\_feature

<222> (656)..(657)  
 <223> Xaa can be any naturally occurring amino acid  
 <220><221> misc\_feature

<222> (692)..(693)  
 <223> Xaa can be any naturally occurring amino acid  
 <220><221> misc\_feature

<222> (728)..(729)

<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<220><221> misc\_feature

<222> (764)..(765)

<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<220><221> misc\_feature

<222> (800)..(801)

<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<220><221> misc\_feature

<222> (836)..(837)

<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<400> 58

Met Asp Tyr Lys Asp His Asp Gly Asp Tyr Lys Asp His Asp Ile Asp

1                    5                    10                    15

Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys Met Ala Pro Lys Lys Lys Arg Lys Val

                  20                    25                    30

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

                  35                    40                    45

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

                  50                    55                    60

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

65                    70                    75                    80

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

                  85                    90                    95

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

                  100                    105                    110

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

                  115                    120                    125

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

                  130                    135                    140

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

145                    150                    155                    160

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



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



<222> (188)..(189)  
 <223> Xaa can be any naturally occurring amino acid  
 <220><221> misc\_feature  
 <222> (224)..(225)  
 <223> Xaa can be any naturally occurring amino acid  
  
 <220><221> misc\_feature  
 <222> (258)..(259)  
 <223> Xaa can be any naturally occurring amino acid  
 <220><221> misc\_feature  
 <222> (294)..(295)  
 <223> Xaa can be any naturally occurring amino acid  
 <220><221> misc\_feature  
 <222> (328)..(329)  
 <223> Xaa can be any naturally occurring amino acid  
 <220><221> misc\_feature  
 <222> (364)..(365)  
 <223> Xaa can be any naturally occurring amino acid  
 <220><221> misc\_feature  
 <222> (398)..(399)  
 <223> Xaa can be any naturally occurring amino acid  
  
 <220><221> misc\_feature  
 <222> (434)..(435)  
 <223> Xaa can be any naturally occurring amino acid  
 <220><221> misc\_feature  
 <222> (468)..(469)  
 <223> Xaa can be any naturally occurring amino acid  
 <220><221> misc\_feature  
 <222> (504)..(505)  
 <223> Xaa can be any naturally occurring amino acid  
 <220><221> misc\_feature  
 <222> (538)..(539)  
 <223> Xaa can be any naturally occurring amino acid  
 <220><221> misc\_feature

<222> (574)..(575)  
 <223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<220><221> misc\_feature  
 <222> (608)..(609)  
 <223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<220><221> misc\_feature  
 <222> (644)..(645)  
 <223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<220><221> misc\_feature  
 <222> (678)..(679)  
 <223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<220><221> misc\_feature  
 <222> (714)..(715)  
 <223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<220><221> misc\_feature  
 <222> (748)..(749)  
 <223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<220><221> misc\_feature  
 <222> (784)..(785)  
 <223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<220><221> misc\_feature  
 <222> (818)..(819)  
 <223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<400> 59

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





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



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

1055 1060 1065

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

1070 1075 1080

Ile Ser Tyr

1085

<210> 60

<211> 1104

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><221> misc\_feature

<222> (188)..(189)

<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<220><221> misc\_feature

<222> (224)..(225)

<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<220><221> misc\_feature

<222> (260)..(261)

<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<220><221> misc\_feature

<222> (296)..(297)

<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<220><221> misc\_feature

<222> (332)..(333)

<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<220><221> misc\_feature

<222> (368)..(369)

<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<220><221> misc\_feature

<222> (404)..(405)

<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<220><221> misc\_feature

<222> (440)..(441)  
 <223> Xaa can be any naturally occurring amino acid  
 <220><221> misc\_feature

<222> (476)..(477)  
 <223> Xaa can be any naturally occurring amino acid  
 <220><221> misc\_feature

<222> (512)..(513)  
 <223> Xaa can be any naturally occurring amino acid  
 <220><221> misc\_feature

<222> (548)..(549)  
 <223> Xaa can be any naturally occurring amino acid  
 <220><221> misc\_feature

<222> (584)..(585)  
 <223> Xaa can be any naturally occurring amino acid  
 <220><221> misc\_feature

<222> (620)..(621)  
 <223> Xaa can be any naturally occurring amino acid  
 <220><221> misc\_feature

<222> (656)..(657)  
 <223> Xaa can be any naturally occurring amino acid  
 <220><221> misc\_feature

<222> (692)..(693)  
 <223> Xaa can be any naturally occurring amino acid  
 <220><221> misc\_feature

<222> (728)..(729)  
 <223> Xaa can be any naturally occurring amino acid  
 <220><221> misc\_feature

<222> (764)..(765)  
 <223> Xaa can be any naturally occurring amino acid  
 <220><221> misc\_feature

<222> (800)..(801)  
 <223> Xaa can be any naturally occurring amino acid  
 <220><221> misc\_feature

<222> (836)..(837)

<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<400> 60

Met Asp Tyr Lys Asp His Asp Gly Asp Tyr Lys Asp His Asp Ile Asp

1                    5                    10                    15

Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys Met Ala Pro Lys Lys Lys Arg Lys Val

                  20                    25                    30

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

                  35                    40                    45

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

50                    55                    60

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

65                    70                    75                    80

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

                  85                    90                    95

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

                  100                    105                    110

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

115                    120                    125

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

130                    135                    140

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

145                    150                    155                    160

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

                  165                    170                    175

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

180                    185                    190

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

195                    200                    205

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

210                    215                    220

Xaa Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val  
 225                      230                      235                      240  
 Leu Cys Gln Ala Gly His Gly Gly Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala  
                                  245                      250                      255  
 Ile Ala Ser Xaa Xaa Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg  
                                  260                      265                      270  
 Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala Gly His Gly Gly Leu Thr Pro Glu  
                                  275                      280                      285  
 Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Xaa Xaa Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu  
 290                      295                      300  
 Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala Gly His Gly Gly  
 305                      310                      315                      320  
 Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Xaa Xaa Gly Gly Lys  
                                  325                      330                      335  
 Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala  
                                  340                      345                      350  
 Gly His Gly Gly Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Xaa  
 355                      360                      365  
 Xaa Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val  
                                  370                      375                      380  
 Leu Cys Gln Ala Gly His Gly Gly Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala  
 385                      390                      395                      400  
 Ile Ala Ser Xaa Xaa Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg  
                                  405                      410                      415  
 Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala Gly His Gly Gly Leu Thr Pro Glu  
 420                      425                      430  
 Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Xaa Xaa Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu  
                                  435                      440                      445  
 Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala Gly His Gly Gly  
                                  450                      455                      460  
 Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Xaa Xaa Gly Gly Lys

465                      470                      475                      480  
 Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala  
  
                                  485                      490                      495  
 Gly His Gly Gly Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Xaa  
                                  500                      505                      510  
 Xaa Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val  
                                  515                      520                      525  
 Leu Cys Gln Ala Gly His Gly Gly Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala  
                                  530                      535                      540  
 Ile Ala Ser Xaa Xaa Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg  
  
 545                      550                      555                      560  
 Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala Gly His Gly Gly Leu Thr Pro Glu  
                                  565                      570                      575  
 Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Xaa Xaa Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu  
                                  580                      585                      590  
 Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala Gly His Gly Gly  
                                  595                      600                      605  
 Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Xaa Xaa 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  
 Gly His Gly Gly Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Xaa  
                                  645                      650                      655  
 Xaa Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val  
                                  660                      665                      670  
 Leu Cys Gln Ala Gly His Gly Gly Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala  
  
                                  675                      680                      685  
 Ile Ala Ser Xaa Xaa Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg  
                                  690                      695                      700  
 Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala Gly His Gly Gly Leu Thr Pro Glu  
 705                      710                      715                      720

Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Xaa Xaa Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu  
 725 730 735

Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala Gly His Gly Gly  
 740 745 750

Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Xaa Xaa Gly Gly Lys  
 755 760 765

Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala  
 770 775 780

Gly His Gly Gly Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Xaa  
 785 790 795 800

Xaa Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val  
 805 810 815

Leu Cys Gln Ala Gly His Gly Gly Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala  
 820 825 830

Ile Ala Ser Xaa Xaa Gly Gly Arg Pro Ala Leu Glu Ser Ile Val Ala  
 835 840 845

Gln Leu Ser Arg Pro Asp Pro Ala Leu Ala Ala Leu Thr Asn Asp His  
 850 855 860

Leu Val Ala Leu Ala Cys Leu Gly Gly Arg Pro Ala Leu Asp Ala Val  
 865 870 875 880

Lys Lys Gly Leu Pro His Ala Pro Ala Leu Ile Lys Arg Thr Asn Arg  
 885 890 895

Arg Ile Pro Glu Arg Thr Ser His Arg Val Ala Gly Ser Val Leu Glu  
 900 905 910

Lys Ser Asp Ile Glu Lys Phe Lys Asn Gln Leu Arg Thr Glu Leu Thr  
 915 920 925

Asn Ile Asp His Ser Tyr Leu Lys Gly Ile Asp Ile Ala Ser Lys Lys  
 930 935 940

Lys Thr Ser Asn Val Glu Asn Thr Glu Phe Glu Ala Ile Ser Thr Lys  
 945 950 955 960

Ile Phe Thr Asp Glu Leu Gly Phe Ser Gly Lys His Leu Gly Gly Ser

