(11) Número de Publicação: **PT 2440241 T**

(51) Classificação Internacional:
A61K 38/48 (2017.01) ***C07K 14/46*** (2017.01)
C12N 9/64 (2017.01) ***C07K 14/61*** (2017.01)
C07H 21/04 (2017.01) ***C12N 15/63*** (2017.01)
C12N 1/21 (2017.01) ***C12N 5/10*** (2017.01)
A61P 3/10 (2017.01) ***A61P 3/04*** (2017.01)
A61P 3/08 (2017.01) ***C12N 15/62*** (2017.01)
A61K 38/27 (2017.01)

(12) **FASCÍCULO DE PATENTE DE INVENÇÃO**

(22) Data de pedido: **2010.06.08**

(30) Prioridade(s): **2009.06.08 US 185112 P**
2009.08.25 US 236836 P
2009.11.10 US 280955 P
2010.02.03 US 699761
2010.02.03 WO PCT/US2010/002310

(43) Data de publicação do pedido: **2012.04.18**

(45) Data e BPI da concessão: **2017.08.09**
206/2017

(73) Titular(es):
AMUNIX OPERATING INC.
500 ELLIS STREET MOUNTAINVIEW, CA 94043 US

(72) Inventor(es):
VOLKER SCHELLENBERGER US
JOSHUA SILVERMAN US
CHIA-WEI WANG US
BENJAMIN SPINK US
NATHAN GEETHING US

(74) Mandatário:
VASCO STILLWELL DE ANDRADE
RUA CASTILHO, 165 1070-050 LISBOA PT

(54) Epígrafe: **POLIPÉPTIDOS DE HORMONA DO CRESCIMENTO E MÉTODOS DE PREPARAÇÃO E UTILIZAÇÃO DOS MESMOS**

(57) Resumo:
A PRESENTE INVENÇÃO REFERE-SE A COMPOSIÇÕES COMPREENDENDO HORMONA DO CRESCIMENTO LIGADA AO POLIPÉPTIDO RECOMBINANTE PROLONGADO (XTEN), ÁCIDOS NUCLEICOS ISOLADOS QUE CODIFICAM AS COMPOSIÇÕES E VETORES E CÉLULAS HOSPEDEIRAS CONTENDO OS MESMOS E MÉTODOS PARA FAZER E UTILIZAR TAIS COMPOSIÇÕES NO TRATAMENTO DE DOENÇAS, DISTÚRBIOS E CONDIÇÕES PATOLÓGICAS RELACIONADAS COM A HORMONA DO CRESCIMENTO.

RESUMO

POLIPÉPTIDOS DE HORMONA DO CRESCIMENTO E MÉTODOS DE PREPARAÇÃO E UTILIZAÇÃO DOS MESMOS

A presente invenção refere-se a composições compreendendo hormona do crescimento ligada ao polipéptido recombinante prolongado (XTEN), ácidos nucleicos isolados que codificam as composições e vetores e células hospedeiras contendo os mesmos e métodos para fazer e utilizar tais composições no tratamento de doenças, distúrbios e condições patológicas relacionadas com a hormona do crescimento.

DESCRIÇÃO

POLIPÉPTIDOS DE HORMONA DO CRESCIMENTO E MÉTODOS DE PREPARAÇÃO E UTILIZAÇÃO DOS MESMOS

ANTECEDENTES DA INVENÇÃO

A hormona do crescimento humano (hGH) é uma hormona que participa da regulação do crescimento e desenvolvimento humano. A hormona do crescimento (a seguir no presente documento *"GH"*), também conhecida como somatotropina, representa uma classe de hormonas proteináceas produzidas e secretados pelas células somatotrópicas da pituitária anterior. A secreção de GH é estimulada pela hormona de libertação da hormona do crescimento (GHRH) do hipotálamo e suprimida pela somatostatina. Esta hormona pituitária exibe uma série de efeitos biológicos incluindo a somatogénese, lactação, ativação de macrófagos, efeitos diabetogénicos e semelhante a insulina entre outros (Chawla, R, K. (1983) Ann. Rev. Med. 34, 519; Edwards, C. K. et al. (1988) Science 239, 769; Thorner, M. O., et al. (1988) J. Clin. Invest. 81, 745). A hormona do crescimento humano é um membro de uma família de hormonas homólogas que incluem lactógenos placentários, prolactinas e outras variantes de espécie e genética de GH. GH regula a secreção do fator de crescimento semelhante à insulina (IGF-1, anteriormente conhecida como somatomedina C), entre outras hormonas peptídicas conhecidas coletivamente como somatomedinas, que representa a maior parte de sua atividade biológica.

Uma série de doenças e distúrbios estão associados à deficiência de GH. Uma deficiência pode ser congénita, adquiridas na infância ou na vida adulta e pode ser parcial ou completa. Em alguns casos, a deficiência é transitória, mas, mais comumente, é permanente e pode ocorrer em associação com deficiências de outros hormonas pituitárias. A deficiência da hormona do crescimento em crianças leva ao

nanismo, falha no crescimento ou baixa estatura. A deficiência em adultos é rara, mas os sintomas podem incluir diminuição da massa corporal e baixa densidade óssea, e uma série de sintomas psicológicos. Outros distúrbios hormonais ou glandulares frequentemente coincidem com a deficiência do hormona do crescimento.

Estimular o aumento da altura na infância é o efeito mais conhecido de GH, e parece funcionar por pelo menos dois mecanismos: GH estimula diretamente a divisão e multiplicação de condrócitos de cartilagem e GH também estimula a produção de IGF-1. O IGF-1 tem efeitos estimulantes do crescimento numa ampla variedade de tecidos. IGF-1 adicional é gerado dentro dos tecidos alvo, Tornando aparentemente uma hormona endócrina e autócrina/parácrina. IGF-1 também tem efeitos estimuladores na atividade dos osteoblastos e dos condrócitos para promover o crescimento ósseo.

A hormona do crescimento humano (hGH) desempenha um papel chave no crescimento somático através dos seus efeitos no metabolismo de proteínas, hidratos de carbono e lípidos. Além dos seus efeitos sobre o crescimento somático, HGH demonstrou estimular células sanguíneas *in vitro* (Derfalvi et al., 1998; Merchav et al; 1988), aumentar as contagens de eritrócitos e hemoglobina (Valerio et al., 1997; Vihervuori et al., 1996), aumentar tanto a proliferação quanto a produção de Ig nas linhas celulares plasmáticas (Kimata and Yoshida, 1994) e estimular as contagens de células $CD8^+$ e, a um menor grau a contagens de células $CD4^+$ (Geffner, 1997).

Formas injetáveis de GH têm sido comercializadas para deficiência de GH em crianças e adultos, síndrome de Turner, Síndrome de Prader-Willi e crianças pequenas para a idade gestacional. Além disso, tem visto uso na batalha contra o envelhecimento e para o controle de peso, Bem como a mobilização de células capazes de regenerar a

hematopoiese no sangue periférico.

O peso molecular de 22 kDA da hGH está bem abaixo do valor limiar para a filtração renal de cerca de 70 kDa (Caliceti (2003) Adv Drug Deliv Rev 55:1261-1277), o que contribui para a semivida do soro de hGH nativa ser inferior a 20 minutos em humanos. Assim, As preparações comerciais de hGH devem ser doseadas diariamente para obter benefício clínico. Uma forma de libertação sustentada de GH, Nutropin Depot (Genentech and Alkermes) foi aprovada pela FDA em 1999, permitindo menos injeções (a cada 2 ou 4 semanas em vez de diariamente); contudo, o produto foi descontinuado em 2004.

As modificações químicas de uma proteína terapêutica podem modificar a sua taxa de depuração *in vivo* e a semivida sérica subsequente. Um exemplo de uma modificação comum é a adição de uma porção de polietilenoglicol (PEG), Tipicamente acoplado à proteína através de um grupo aldeído ou N-hidroxissuccinimida (NHS) no PEG reagindo com um grupo amina (por exemplo, cadeia lateral de lisina ou terminal N). Contudo, a etapa de conjugação pode resultar na formação de misturas de produtos heterogéneos que precisam de ser separados, levando a uma perda significativa do produto e complexidade de fabrico e não resulta num produto completamente quimicamente uniforme. Também, a função farmacológica da GH pode ser dificultada se as cadeias laterais de aminoácidos na proximidade do seu local de ligação forem modificadas pelo processo de PEGilação. Outras abordagens incluem a fusão genética de um domínio Fc para a proteína GH terapêutica. A conjugação do domínio Fc aumenta o tamanho da proteína terapêutica, reduzindo assim a taxa de depuração através do rim. Adicionalmente, o domínio Fc confere a capacidade de se ligar e ser reciclado a partir de lisossomas por, o recetor FcRn, o que resulta em semivida farmacocinética aumentada. Infelizmente, o domínio Fc não se dobra eficazmente durante a expressão

recombinante e tende a formar precipitados insolúveis conhecidos como corpos de inclusão. Estes corpos de inclusão devem ser solubilizados e a proteína funcional deve ser renaturada a parir do agregado mal-dobrado, um processo demorado, ineficaz e caro. Consequentemente, continua a existir uma necessidade de composições de hormona do crescimento que possam aumentar a semivida e podem ser administradas com menos frequência, mas são mais seguros e menos complicados e onerosos de produzir. O documento WO 2007/103515 fornece polímeros recombinantes não estruturados (URPs) e proteínas contendo um ou mais URPs, bem como polipéptidos recombinantes incluindo vetores que codificam os entidades proteináceas de objeto e células hospedeiras compreendendo os vetores. O documento WO 2007/103515 descreve uma variedade de utilidades para as composições descritas, incluindo uma gama de aplicações farmacêuticas.

SUMÁRIO DA INVENÇÃO

A presente divulgação refere-se a composições e métodos que podem ser úteis para o tratamento de qualquer doença, distúrbio ou condição patológica que é aprimorada, melhorada ou inibida pela administração de hormona do crescimento. Em particular, a presente invenção proporciona composições de proteínas de fusão compreendendo um ou mais polipéptidos recombinantes estendidos com uma sequência não repetitiva e/ou conformação não estruturada (XTEN) ligada à hormona do crescimento (GH), conforme definido na reivindicação 1. Em parte, a presente divulgação é dirigida a composições farmacêuticas que compreendem as proteínas de fusão e as utilizações das mesmas para o tratamento de doenças, distúrbios ou condições patológicas relacionadas com a hormona do crescimento.

Numa forma de realização, a invenção proporciona uma proteína de fusão isolada, que compreende uma hormona do crescimento que é pelo menos cerca de 90%, ou cerca de 95%,

ou cerca de 96%, ou cerca de 97%, ou cerca de 98%, ou cerca de 99% idêntica à sequência de aminoácidos da hormona do crescimento humano conforme é mostrado no Quadro 1, em que a dita hormona do crescimento é ligada a um polipéptido recombinante estendido (XTEN) de pelo menos cerca de 200, ou pelo menos cerca de 400, ou pelo menos cerca de 800, ou pelo menos cerca de 900, ou pelo menos cerca de 1000 ou pelo menos cerca de 2000, até cerca de 3000 resíduos de aminoácidos, em que o XTEN é caracterizado pelo fato de que (a) o XTEN compreende pelo menos cerca de 200 aminoácidos contíguos que exibe pelo menos cerca de 90%, ou cerca de 95%, ou cerca de 96%, ou cerca de 97%, ou cerca de 98%, ou cerca de 99% de identidade com um comprimento comparável de uma sequência de aminoácidos selecionada a partir do grupo que consiste em AE912, AE288, AD576, AE576, AE624, AD836, AE864, AF864, AG864, AM875, AM923 e AM1318 conforme é mostrado no Quadro 3; (b) a sequências de XTEN não possui um epítopo de células T predito quando analisado pelo algoritmo TEPITOPE, em que a predição do algoritmo TEPITOPE para epítopos dentro da sequência XTEN é baseada numa pontuação de -6, ou -7, ou -8, ou -9 ou superior; (c) a XTEN tem uma pontuação de subsequência de menos de 10, ou menos de 9, ou menos de 8, ou menos de 7, ou menos de 6, ou menos de 5, ou ainda menos; e (d) a soma de resíduos de glicina (G), alanina (A), serina (S), treonina (T), glutamato (E) e prolina (P) constitui mais de cerca de 90%, ou cerca de 95%, ou cerca de 96%, ou cerca de 97%, ou cerca de 98% ou cerca de 99% dos resíduos de aminoácidos totais da XTEN. Numa forma de realização, a hormona do crescimento da proteína de fusão isolada é hormona do crescimento humano. Noutra forma de realização, a proteína de fusão isolada compreende pelo menos um segundo XTEN, em que a proteína de fusão adota uma configuração múltipla XTEN mostrada no Quadro 5, ou uma variante da mesma.

Noutra forma de realização, a sequência XTEN das

proteínas de fusão GHXTEN é caracterizada por ter uma formação de espiral aleatória superior a 90%, ou cerca de 95%, ou cerca de 96%, ou cerca de 97%, ou cerca de 98%, ou cerca de 99% de formação de espiral aleatória conforme determinado pelo algoritmo de GOR; e a sequência XTEN tem menos de 2% de hélices alfa e 2% de folhas beta conforme determinado pelo algoritmo de Chou-Fasman.

Noutra forma de realização, a invenção proporciona proteínas de fusão GHXTEN, em que o XTEN é caracterizado pelo facto de que a soma dos resíduos de asparagina e glutamina é inferior a 10% da sequência de aminoácidos total do XTEN, a soma dos resíduos de metionina e triptofano é inferior a 2% da sequência de aminoácidos total do XTEN, a sequência do XTEN tem menos de 5% de resíduos de aminoácidos com uma carga positiva, a sequência XTEN tem uma formação de espiral aleatória superior a 90%, ou cerca de 95%, ou cerca de 96%, ou cerca de 97%, ou cerca de 98%, ou cerca de 99% de formação de espiral aleatória conforme determinado pelo algoritmo de GOR; e a sequência XTEN tem menos de 2% de hélices alfa e 2% de folhas beta conforme determinado pelo algoritmo de Chou-Fasman.

Noutra forma de realização, esta divulgação proporciona proteínas de fusão GHXTEN, em que o XTEN é caracterizado pelo fato de que pelo menos cerca de 80%, ou pelo menos cerca de 90%, ou pelo menos cerca de 91%, ou pelo menos cerca de 92%, ou pelo menos cerca de 93%, ou pelo menos cerca de 94%, ou pelo menos cerca de 95%, ou pelo menos cerca de 96%, ou pelo menos cerca de 97%, ou pelo menos cerca de 98%, ou pelo menos cerca de 99% da sequência de XTEN consiste em motivos de sequência não sobrepostos em que cada um dos motivos de sequência tem de cerca de 9 a cerca de 14 resíduos de aminoácidos e em que a sequência de quaisquer dois resíduos de aminoácidos contíguos não ocorre mais de duas vezes em cada um dos motivos de sequência, os motivos de sequência consistem em

quatro a seis tipos de aminoácidos selecionados a partir de glicina (G), alanina (A), serina (S), treonina (T), glutamato (E) e prolina (P).

Em algumas formas de realização, nenhum tipo de aminoácido constitui mais de 30% da sequência XTEN do GHXTEN. Noutras formas de realização, o XTEN tem uma sequência em que não são idênticos três aminoácidos contíguos a não ser que o aminoácido seja serina, em cujo caso não mais de três aminoácidos contíguos são resíduos de serina. Ainda noutras formas de realização, pelo menos cerca de 80%, ou cerca de 90%, ou cerca de 95%, ou cerca de 96%, ou cerca de 97%, ou cerca de 98%, ou cerca de 99% ou 100% da sequência XTEN consiste em motivos de sequência não sobrepostos, em que cada um dos motivos de sequência tem 12 Resíduos de aminoácidos. Numa forma de realização, a sequência XTEN consiste em motivos de sequência não sobrepostos, em que os motivos de sequência são de uma ou mais sequências do Quadro 2.

Nalgumas formas de realização, as proteínas de fusão GHXTEN exibem propriedades farmacocinéticas melhoradas em comparação com a GH não ligada ao XTEN, em que as propriedades melhoradas incluem, mas não estão limitadas a, semivida terminal mais longa, maior área sob a curva, aumento do tempo em que a concentração no sangue permanece dentro da janela terapêutica, aumento do tempo entre doses consecutivas e diminuição da dose em moles ao longo do tempo. Nalgumas formas de realização, a semivida terminal da proteína de fusão GHXTEN administrada a um indivíduo é aumentada pelo menos cerca de duas vezes, ou pelo menos cerca de três vezes, ou pelo menos cerca de quatro vezes, ou pelo menos cerca de cinco vezes, ou pelo menos cerca de seis vezes, ou pelo menos cerca de oito vezes, ou pelo menos cerca de dez vezes, ou pelo menos cerca de 20 vezes, ou pelo menos cerca de 40 vezes, ou pelo menos cerca de 60 vezes, ou pelo menos cerca de 100 vezes ou ainda superior

em comparação com GH não ligado a XTEN e administrado a um indivíduo num dose comparável. Noutras formas de realização,

A propriedade farmacocinética reforçada é refletida pelo fato de que as concentrações sanguíneas que permanecem dentro da janela terapêutica para a proteína de fusão GHXTEN durante um determinado período são pelo menos cerca de duas vezes, ou pelo menos cerca de três vezes, ou pelo menos cerca de quatro vezes, ou pelo menos cerca de cinco vezes, ou pelo menos cerca de seis vezes, ou pelo menos cerca de oito vezes, ou pelo menos cerca de dez vezes mais longa, ou pelo menos cerca de 20 vezes, ou pelo menos cerca de 40 vezes, ou pelo menos cerca de 60 vezes, ou pelo menos cerca de 100 vezes em comparação com GH não ligado a XTEN e administrado a um indivíduo num dose comparável. O aumento da semivida e do tempo passado dentro da janela terapêutica permite uma dosagem menos frequente e quantidades diminuídas da proteína de fusão (em moles equivalentes) que são administradas a um indivíduo, em comparação com a GH correspondente não ligada a XTEN. Numa forma de realização, o regime de dose terapeuticamente eficaz resulta em um ganho no tempo de pelo menos duas vezes, ou pelo menos três vezes, ou pelo menos quatro vezes, ou pelo menos cinco vezes, ou pelo menos seis vezes, ou pelo menos oito vezes, ou pelo menos 10 vezes, ou pelo menos cerca de 20 vezes, ou pelo menos cerca de 40 vezes, ou pelo menos cerca de 60 vezes, ou pelo menos cerca de 100 vezes entre pelo menos dois picos de C_{max} e/ou rebaixos de C_{min} consecutivos para níveis sanguíneos da proteína de fusão em comparação com a correspondente GH não ligada à proteína de fusão e administrada utilizando um regime de dose comparável a um indivíduo.

Em algumas formas de realização, o XTEN aumenta a termoestabilidade de uma proteína biologicamente ativa quando ligado à proteína biologicamente ativa em que a

termoestabilidade é determinada medindo a retenção da atividade biológica após exposição a uma temperatura de cerca de 37 °C durante pelo menos cerca de 7 dias da proteína biologicamente ativa em comparação com o XTEN ligado à proteína biologicamente ativa. Numa forma de realização do anteriormente mencionado, a retenção da atividade biológica é aumentada em pelo menos cerca de 50%, pelo menos cerca de 60%, pelo menos cerca de 70%, pelo menos cerca de 80%, pelo menos cerca de 90%, pelo menos cerca de 100% ou cerca de 150%, pelo menos cerca de 200%, pelo menos cerca de 300% ou cerca de 500% mais longa em comparação com a GH não ligada ao XTEN compreende do XTEN.

Em algumas formas de realização, a proteína de fusão isolada com pelo menos um primeiro XTEN compreende uma GH em que a GH é hormona do crescimento humano. Em algumas formas de realização, a proteína de fusão isolada compreende, ainda, um segundo XTEN, que pode ser idêntico ou pode ser diferente do primeiro XTEN, e em que a proteína de fusão adota uma configuração múltipla XTEN mostrada no Quadro 5. Numa forma de realização do anteriormente mencionado, o primeiro e o segundo XTEN podem ser uma sequência selecionada a partir do Quadro 3, ou podem exibir pelo menos cerca de 80%, ou pelo menos cerca de 90%, ou pelo menos cerca de 91%, ou pelo menos cerca de 92%, ou pelo menos cerca de 93%, ou pelo menos cerca de 94%, ou pelo menos cerca de 95%, ou pelo menos cerca de 96%, ou pelo menos cerca de 97%,, ou pelo menos cerca de 98%, ou pelo menos cerca de 99% ou 100% de identidade de sequência com uma sequência selecionada a partir do Quadro 3. Noutra forma de realização, a proteína de fusão isolada que compreende uma segunda sequência de XTEN adota uma configuração de XTEN múltipla mostrada no Quadro 5.

Numa forma de realização, a proteína de fusão isolada é menos imunogénica em comparação com a GH não ligada ao XTEN, em que a imunogenicidade é determinada por meio de,

por exemplo, medição da produção de anticorpos IgG que se ligam seletivamente à proteína biologicamente ativa após administração de doses comparáveis a um indivíduo.

Em algumas formas de realização, o péptido da hormona do crescimento e a XTEN da proteína de fusão é ligada via um espaçador, em que a sequência espaçadora compreende entre cerca de 1 a cerca de 50 resíduos de aminoácidos que opcionalmente compreendem uma sequência de clivagem. Numa forma de realização, a sequência de clivagem é suscetível a clivagem por uma protease. Exemplos não limitantes de tais proteases incluem FXIa, FXIIa, calicreína, FVIIa, FIXa, FXa, trombina, elastase-2, granzima B, MMP- 12, MMP-13, MMP-17 ou MMP-20, TEV, enteroquinase, rinovírus 3C protease e sortase A.

Em algumas formas de realização, a proteína de fusão isolada é configurada para ter afinidade de ligação reduzida para um recetor alvo da GH correspondente, em comparação com a GH correspondente não ligada à proteína de fusão. Numa forma de realização, a proteína de fusão GHXTEN exibe afinidade de ligação para um recetor alvo da GH no intervalo de cerca de 0,01 %- 30%, ou de cerca de 0,1% a cerca de 20%, ou de cerca de 1% a cerca de 15%, ou de cerca de 2% a cerca de 10% da afinidade de ligação do correspondente GH que não possui o XTEN. Noutra forma de realização, a proteína de fusão GHXTEN exibe afinidade de ligação para um recetor alvo da GH que é reduzido pelo menos cerca de 3 vezes, ou pelo menos cerca de 5 vezes, ou pelo menos cerca de 6 vezes, ou pelo menos cerca de 7 vezes, ou pelo menos cerca de 8 vezes, ou pelo menos cerca de 9 vezes, ou pelo menos cerca de 10 vezes, ou pelo menos cerca de 12 vezes, ou pelo menos cerca de 15 vezes, ou pelo menos cerca de 17 vezes, ou pelo menos cerca de 20 vezes, ou pelo menos cerca de 30 vezes, ou pelo menos cerca de 50 vezes, ou pelo menos cerca de 100 vezes menos afinidade de ligação em comparação com GH não ligada a XTEN. Numa forma

de realização relacionada, uma proteína de fusão com afinidade reduzida pode ter depuração mediada por recetor e um correspondente aumento de semivida de pelo menos cerca de 3 vezes, ou pelo menos cerca de 5 vezes, ou pelo menos cerca de 6 vezes, ou pelo menos cerca de 7 vezes, ou pelo menos cerca de 8 vezes, ou pelo menos cerca de 9 vezes, ou pelo menos cerca de 10 vezes, ou pelo menos cerca de 12 vezes, ou pelo menos cerca de 15 vezes, ou pelo menos cerca de 17 vezes, ou pelo menos cerca de 20 vezes, ou pelo menos cerca de 30 vezes, ou pelo menos cerca de 50 vezes, ou pelo menos cerca de 100 vezes mais longa em comparação com GH não ligada a proteína de fusão.

Numa forma de realização, esta divulgação proporciona uma proteína de fusão isolada GHXTEN que compreende uma sequência de aminoácidos que tem pelo menos cerca de 80%, ou pelo cerca de 90%, ou pelo menos cerca de 91%, ou pelo menos cerca de 92%, ou pelo menos cerca de 93%, ou pelo menos cerca de 94%, ou pelo menos cerca de 95%, ou pelo menos cerca de 96%, ou pelo menos cerca de 97%,, ou pelo menos cerca de 98%, ou pelo menos cerca de 99% ou 100% de identidade de sequência com uma sequência selecionada a partir do Quadro 35 e Quadro 36.

Em algumas formas de realização, o GHXTEN exibe solubilidade aumentada de pelo menos cerca de três vezes, ou pelo menos cerca de quatro vezes, ou pelo menos cerca de cinco vezes, ou pelo menos cerca de seis vezes, ou pelo menos cerca de sete vezes, ou pelo menos cerca de oito vezes, ou pelo menos cerca de nove vezes, ou pelo menos cerca de dez vezes, ou pelo menos cerca de 15 vezes, ou pelo menos cerca de 20 vezes, ou pelo menos cerca de 40 vezes, ou pelo menos cerca de 60 vezes em condições fisiológicas em comparação com a GH não ligada à proteína de fusão.

Em algumas formas de realização, as proteínas de fusão GHXTEN exibem uma massa molecular aparente aumentada como

determinado por meio de cromatografia de exclusão de tamanho, em comparação com a massa molecular real, em que a massa molecular aparente é pelo menos cerca de 100 kD, ou pelo menos cerca de 150 kD, ou pelo menos cerca de 200 kD, ou pelo menos cerca de 300 kD, ou pelo menos cerca de 400 kD, ou pelo menos cerca de 500 kD, ou pelo menos cerca de 600 kD, ou pelo menos cerca de 700 kD, enquanto que a massa molecular real de cada componente da GH da proteína de fusão é inferior a cerca de 25 kD. Consequentemente, a proteína de fusão GHXTEN pode ter uma Massa molecular aparente, que é cerca de 4 vezes superior, ou cerca de 5 vezes superior, ou cerca de 6 vezes superior, ou cerca de 7 vezes superior, ou cerca de 8 vezes superior que a massa molecular real da proteína de fusão. Em alguns casos, a proteína de fusão GHXTEN isolada das formas de realização anteriormente mencionadas exibe um fator de massa molecular aparente sob condições fisiológicas que é superior a cerca de 4, ou cerca de 5, ou cerca de 6, ou cerca de 7 ou cerca de 8.

A invenção contempla composições de proteínas de fusão GHXTEN que compreendem, mas não limitados a GH selecionado a partir do Quadro 1 (ou fragmentos ou variantes de sequência das mesmas), XTEN selecionado a partir do Quadro 3 (ou variantes de sequência do mesmo) que estão numa configuração selecionada a partir do Quadro 5. No geral, o GHXTEN resultante reterá pelo menos uma porção da atividade biológica da correspondente GH não ligada ao XTEN. Em outros casos, o componente de GH torna-se biologicamente ativo ou tem um aumento de atividade após a sua libertação do XTEN por clivagem de uma sequência de clivagem opcional incorporada dentro de sequências espaçadoras no GHXTEN.

Numa forma de realização da composição de GHXTEN, a invenção proporciona uma proteína de fusão de fórmula I:

$$(XTEN)_x\text{-}GH\text{-}(XTEN)_y \quad I$$

em que independentemente para cada ocorrência, GH é uma

hormona do crescimento; x é 0 ou 1 e y é 0 ou 1 em que x+y ≥1; e XTEN é um polipéptido recombinante estendido.
Em algumas formas de realização, o XTEN é fundido à hormona do crescimento numa terminação N ou C da hormona do crescimento. Em algumas formas de realização, a proteína de fusão isolada compreende uma hormona do crescimento humano e um primeiro ou segundo XTEN selecionado a partir de AE912, AM923, AE144 e AE288.

Noutra forma de realização da composição de GHXTEN, a invenção proporciona uma proteína de fusão de fórmula II:

$(XTEN)_x$-(GH)-$(S)_y$-$(XTEN)_y$ II

em que independentemente para cada ocorrência, GH é uma hormona do crescimento; S é uma sequência espaçadora tendo entre 1 e cerca de 50 resíduos de aminoácidos que podem opcionalmente incluir uma sequência de clivagem; x é 0 ou 1 e y é 0 ou 1 em que x+y ≥1; e XTEN é um polipéptido recombinante estendido.

Noutra forma de realização, a invenção proporciona uma proteína de fusão isolada, em que a proteína de fusão é de fórmula III:

(GH)-$(S)_x$-(XTEN)-$(S)_y$-GH)-$(S)_z$-$(XTEN)_z$ III

em que independentemente para cada ocorrência, GH é uma hormona do crescimento; S é uma sequência espaçadora tendo entre 1 e cerca de 50 resíduos de aminoácidos que podem opcionalmente incluir uma sequência de clivagem; x é 0 ou 1; y é 0 ou 1; z é 0 ou 1; e XTEN é um polipéptido recombinante estendido.

Noutra forma de realização, a invenção proporciona uma proteína de fusão isolada, em que a proteína de fusão é de fórmula IV:

$(XTEN)_x$-$(S)_y$-(GH)-$(S)_z$-(XTEN)-(GH) IV

em que independentemente para cada ocorrência, GH é uma hormona do crescimento; S é uma sequência espaçadora tendo entre 1 e cerca de 50 resíduos de aminoácidos que podem opcionalmente incluir uma sequência de clivagem; x é 0 ou

1; y é 0 ou 1; z é 0 ou 1; e XTEN é um polipéptido recombinante estendido.

Noutra forma de realização, a invenção proporciona uma hormona do crescimento de fusão isolada, em que a proteína de fusão é de fórmula V:

$(GH)_x$-$(S)_x$-(GH)-$(S)_y$-(XTEN) V

em que independentemente para cada ocorrência, GH é uma hormona do crescimento; S é uma sequência espaçadora tendo entre 1 e cerca de 50 resíduos de aminoácidos que podem opcionalmente incluir uma sequência de clivagem; x é 0 ou 1; y é 0 ou 1; e XTEN é um polipéptido recombinante estendido.

Noutra forma de realização, a invenção proporciona uma proteína de fusão isolada, em que a proteína de fusão é de fórmula VI:

(XTEN)-$(S)_x$-(GH)-$(S)_y$-(GH) VI

em que independentemente para cada ocorrência, GH é uma hormona do crescimento; S é uma sequência espaçadora tendo entre 1 e cerca de 50 resíduos de aminoácidos que podem opcionalmente incluir uma sequência de clivagem; x é 0 ou 1; y é 0 ou 1; e XTEN é um polipéptido recombinante estendido.

Noutra forma de realização, a invenção proporciona uma proteína de fusão isolada, em que a proteína de fusão é de fórmula VII:

(XTEN)-$(S)_x$-(GH)-$(S)_y$-(GH)-(XTEN) VII

em que independentemente para cada ocorrência, GH é uma hormona do crescimento; S é uma sequência espaçadora tendo entre 1 e cerca de 50 resíduos de aminoácidos que podem opcionalmente incluir uma sequência de clivagem; x é 0 ou 1; y é 0 ou 1; e XTEN é um polipéptido recombinante estendido.

Noutra forma de realização, a invenção proporciona uma proteína de fusão isolada, em que a proteína de fusão é de fórmula VIII:

$((S)_m-(GH)_x-(S)_n-(XTEN)_y-(S)_o)_t$ VIII

em que t é um número inteiro que é superior a 0 (1, 2, 3, etc.); independentemente de cada um de m, n, o, x e y é um número inteiro (0, 1, 2, 3, etc.), GH é uma hormona do crescimento; S é um espaçador, opcionalmente compreende um local de clivagem; e XTEN é um polipéptido recombinante estendido, com a condição de que: (1) x+y > 1, (2) quando t = 1, x>0 e y>0, (3) quando existe mais de um GH, S ou XTEN, cada GH, XTEN ou S são iguais ou são independentemente diferentes; e (4) quando t > 1, cada m, n, o, x ou y dentro de cada subunidade são iguais ou são independentemente diferentes.

Em algumas formas de realização, a administração de uma dose terapeuticamente eficaz de uma proteína de fusão de uma forma de realização das fórmulas I-VIII a um indivíduo que dela necessite pode resultar num ganho no tempo de pelo menos duas vezes, ou pelo menos três vezes, ou pelo menos quatro vezes, ou pelo menos cinco vezes ou mais gastos dentro de uma janela terapêutica para a proteína de fusão em comparação com a GH correspondente não ligada ao XTEN e administrada a uma dose comparável a um indivíduo. Em outros casos, a administração de uma dose terapeuticamente eficaz de uma proteína de fusão de uma forma de realização das fórmulas I-VIII a um indivíduo que dela necessite pode resultar num ganho no tempo entre doses consecutivas necessárias para manter um regime de dose terapeuticamente eficaz de pelo menos 48 h, ou pelo menos 72 h, ou pelo menos cerca de 96 h, ou pelo menos cerca de 120 h, ou pelo menos cerca de 7 dias, ou pelo menos cerca de 14 dias, ou pelo menos cerca de 21 dias entre doses consecutivas em comparação com uma GH não ligada a XTEN e administrado a uma dose comparável.

As proteínas de fusão podem ser concebidas para ter diferentes configurações, terminal N para C, de uma GH, XTEN e sequências espaçadoras opcionais, incluindo, mas não

limitado a XTEN-GH, GH-XTEN, XTEN-S-GH, GH-S-XTEN, XTEN-GH-XTEN, GH-GH-XTEN, XTEN-GH-GH, GH-S-GH-XTEN, XTEN-GH-S-GH e multímeros das mesmas. A escolha da configuração pode, conforme divulgado no presente documento, conferir propriedades farmacocinéticas, físico-químicas ou farmacológicas particulares.

Em algumas formas de realização, a proteína de fusão isolada é caracterizada pelo fato de que: (i) tem uma semivida mais longa em comparação com a hormona do crescimento correspondente que não possui o XTEN; (ii) quando uma quantidade molar menor da proteína de fusão é administrada a um indivíduo em comparação com a hormona do crescimento correspondente que não possui o XTEN administrado a um indivíduo sob um regime de dose de outra forma equivalente, a proteína de fusão atinge uma área sob a curva comparável (AUC) como a hormona do crescimento correspondente que não possui o XTEN; (iii) quando uma quantidade molar menor da proteína de fusão é administrada a um indivíduo em comparação com a hormona do crescimento correspondente que não possui o XTEN administrado a um indivíduo sob um regime de dose de outra forma equivalente, a proteína de fusão atinge um efeito terapêutico comparável como a hormona do crescimento correspondente que não possui o XTEN; (iv) quando a proteína de fusão é administrada a um indivíduo em comparação com a hormona do crescimento correspondente que não possui o XTEN administrado a um indivíduo utilizando um regime de dose de outra quantidade molar equivalente, a proteína de fusão atinge uma área sob a curva comparável (AUC) como a hormona do crescimento correspondente que não possui o XTEN; (v) quando a proteína de fusão é administrada a um indivíduo em comparação com a hormona do crescimento correspondente que não possui o XTEN administrado a um indivíduo utilizando um regime de dose de outra quantidade molar equivalente, a proteína de fusão atinge um efeito terapêutico comparável como a hormona do

crescimento correspondente que não possui o XTEN; (vi) quando uma quantidade molar acumulativamente menor da proteína de fusão é administrada a um indivíduo em comparação com a hormona do crescimento correspondente que não possui o XTEN administrado a um indivíduo sob um período de dose de outra forma equivalente, a proteína de fusão atinge uma área sob a curva comparável (AUC) como a hormona do crescimento correspondente que não possui o XTEN; ou (vii) quando uma quantidade molar acumulativamente menor da proteína de fusão é administrada a um indivíduo em comparação com a hormona do crescimento correspondente que não possui o XTEN administrado a um indivíduo sob um período de dose de outra forma equivalente, a proteína de fusão atinge um efeito terapêutico comparável como a hormona do crescimento correspondente que não possui o XTEN.

Numa forma de realização, as proteínas de fusão GHXTEN das fórmulas I-VIII descritas acima apresentam uma atividade biológica de pelo menos cerca de 0,1%, ou pelo menos cerca de 0,1%, ou pelo menos cerca de 1%, ou pelo menos cerca de 2%, ou pelo menos cerca de 3%, ou pelo menos cerca de 4%, ou pelo menos cerca de 5%, ou pelo menos cerca de 10%, ou pelo menos cerca de 20%, ou pelo menos cerca de 30%, ou pelo menos cerca de 40%, ou pelo menos cerca de 50%, ou pelo menos cerca de 60%, ou pelo menos cerca de 70%, ou pelo menos cerca de 80%, ou pelo menos cerca de 90%, ou pelo menos cerca de 95% da atividade biológica em comparação com GH não ligado à proteína de fusão. Noutra forma de realização, as proteínas de fusão GHXTEN das fórmulas I-VIII ligam-se aos mesmos recetores ou ligandos como a proteína biológica ativa parental correspondente que não está covalentemente ligada à proteína de fusão.

A invenção proporciona um método de produção de uma proteína de fusão que compreende hormona do crescimento humano fundido com um ou mais polipéptidos recombinantes

estendidos (XTEN), compreendendo: (a) proporcionar uma célula hospedeira que compreende uma molécula de polinucleótido recombinante que codifica a proteína de fusão (b) a cultura da célula hospedeira em condições que permitam a expressão da proteína de fusão; e (c) recuperar a proteína de fusão. A hormona do crescimento da proteína de fusão tem pelo menos 90% de identidade de sequência com o hormônio de crescimento humano ou uma sequência a partir do Quadro 1. O um ou mais XTEN da proteína de fusão expressa tem pelo menos cerca de 90%, ou cerca de 91%, ou cerca de 92%, ou cerca de 93%, ou cerca de 94%, ou cerca de 95%, ou cerca de 96%, ou cerca de 97%, ou cerca de 98%, ou cerca de 99% a cerca de 100% de identidade de sequência com a sequência selecionada a partir do grupo que consiste em AE912, AE288, AD576, AE576, AE624, AD836, AE864, AF864, AG864, AM875, AM923 e AM1318 conforme é mostrado no Quadro 3. Noutra forma de realização do método, o polinucleótido que codifica o XTEN é o codão otimizado para uma expressão melhorada da referida proteína de fusão na célula hospedeira. Noutra forma de realização do método, a célula hospedeira é uma célula procariótica. Noutra forma de realização do método, a célula hospedeira é E. coli. Noutra forma de realização do método, a proteína de fusão isolada é recuperada do citoplasma da célula hospedeira sob uma forma substancialmente solúvel.

A divulgação proporciona ácidos nucleicos isolados que compreendem uma sequência polinucleotídica selecionada a partir de (a) um polinucleótido que codifica a proteína de fusão de quaisquer das formas de realização anteriores ou (b) o complemento do polinucleótido de (a). Numa forma de realização, a divulgação proporciona um ácido nucleico isolado que compreende sequência polinucleotídica que tem pelo menos 80% de identidade de sequência, ou cerca de 85%, ou pelo menos cerca de 90%, ou cerca de 91%, ou cerca de 92%, ou cerca de 93%, ou cerca de 94%, ou cerca de 95%, ou

cerca de 96%, ou cerca de 97%, ou cerca de 98%, ou de ca de 99% a 100% de identidade de sequência para (a) uma sequência polinucleotídica de um comprimento comparável selecionada a partir do Quadro 35 e Quadro 36; ou (b) o complemento do polinucleótido de (a). A divulgação proporciona vetores de expressão compreendendo o ácido nucleico de qualquer uma das formas de realização acima descritas neste parágrafo. Numa forma de realização, o vetor de expressão do anterior compreende ainda uma sequência reguladora recombinante operativamente ligada à sequência polinucleotídica. Noutra forma de realização, a sequência polinucleotídica dos vetores de expressão dos anteriores é fundida numa estrutura a um polinucleótido que codifica uma sequência de sinal de secreção, que pode ser uma sequência de sinal procariótica. Numa forma de realização, a sequência de sinal de secreção é selecionada a partir das sequências de sinal OmpA, DsbA e PhoA.

A divulgação proporciona uma célula hospedeira, que pode compreender um vetor de expressão revelado no parágrafo anterior. Numa forma de realização, a célula hospedeira é uma célula procariótica. Noutra forma de realização, a célula hospedeira é E. coli. Noutra forma de realização, a célula hospedeira é uma célula eucariótica.

Numa forma de realização, a invenção proporciona composições farmacêuticas que compreendem a proteína de fusão de quaisquer das formas de realização anteriores e um veículo farmaceuticamente aceitável. Noutra forma de realização, a divulgação proporciona kits, compreendendo material de embalagem e pelo menos um primeiro recipiente compreendendo a composição farmacêutica da forma de realização anterior e um rótulo que identifica a composição farmacêutica e condições de armazenamento e manuseamento, e um folheto de instruções para a reconstituição e/ou administração das composições farmacêuticas a um indivíduo.

A invenção proporciona uma proteína de fusão de acordo

com o método de tratamento de uma condição patológica relacionada à hormona do crescimento num indivíduo, que compreende administrar ao indivíduo uma quantidade terapeuticamente eficaz da proteína de fusão de quaisquer das formas de realização anteriores. Numa forma de realização do método, a condição patológica relacionada à hormona do crescimento é selecionada a partir de deficiência de hormona do crescimento, síndrome de Turner, síndrome de Prader-Willi, baixa estatura idiopática, definhamento por SIDA, esclerose múltipla, doença de Crohn, colite ulcerativa e distrofia muscular.

Em algumas formas de realização, a composição pode ser administrada por via subcutânea, intramuscular ou intravenosa. Numa forma de realização, a composição é administrada numa quantidade terapeuticamente eficaz. Numa forma de realização, a quantidade terapeuticamente eficaz resulta num ganho no tempo gasto dentro de uma janela terapêutica para a proteína de fusão em comparação com a GH correspondente da proteína de fusão não ligada à proteína de fusão e administrada a uma dose comparável a um indivíduo. O ganho em tempo gasto dentro da janela terapêutica pode ser pelo menos três vezes mais longa do que a GH correspondente não ligada à proteína de fusão, ou alternativamente, pelo menos quatro vezes, ou cinco vezes, ou seis vezes, ou sete vezes, ou oito vezes, ou nove vezes, ou pelo menos 10 vezes, ou pelo menos 20 vezes, ou pelo menos 30 vezes, ou pelo menos 50 vezes, ou pelo menos 100 mais longa que a correspondente GH não ligada à proteína de fusão. Em algumas formas de realização do método de tratamento, (i) uma quantidade molar menor (por exemplo, de cerca de duas vezes menos, ou cerca de três vezes menos, ou cerca de quatro vezes menos, ou cerca de cinco vezes menos, ou cerca de seis vezes menos, ou cerca de oito vezes menos, ou cerca de 100 vezes menos ou maior) a proteína de fusão é administrada em comparação com a hormona do crescimento

correspondente que não possui o XTEN sob um mesmo regime de dose e a proteína de fusão atinge uma área sob a curva comparável e/ou um efeito terapêutico comparável como a hormona do crescimento correspondente que não possui o XTEN; (ii) a proteína de fusão é administrada menos frequentemente (por exemplo, a cada dois dias, cerca de a cada sete dias, cerca de a cada 14 dias, a cada 21 dias, ou aproximadamente, mensalmente) em comparação com a hormona do crescimento correspondente que não possui o XTEN sob uma mesma quantidade de dose, e a proteína de fusão atinge uma área sob a curva comparável e/ou um efeito terapêutico comparável como a hormona do crescimento correspondente que não possui o XTEN; ou (iii) uma quantidade molar cumulativa menor (por exemplo, cerca de 5%, ou cerca de 10%, ou cerca de 20%, ou cerca de 40%, ou cerca de 50%, ou cerca de 60%, ou cerca de 70%, ou cerca de 80% ou cerca de 90% menos) a proteína de fusão é administrada em comparação com a hormona do crescimento correspondente que não possui o XTEN sob um mesmo regime de dose e a proteína de fusão atinge uma área sob a curva comparável e/ou um efeito terapêutico comparável como a hormona do crescimento correspondente que não possui o XTEN. A quantidade molar cumulativa menor é medida durante um período de pelo menos cerca de uma semana, ou cerca de 14 dias, ou cerca de 21 dias ou cerca de um mês. Em algumas formas de realização do método, o efeito terapêutico é um parâmetro de medida selecionado a partir de concentrações de IGF-1, concentração de IGFBP3, velocidade de altura, massa corporal magra, gordura corporal total, gordura do tronco, resposta ao desafio de insulina, taxa de divisão de condrócitos, números de condrócitos, densidade óssea, crescimento ósseo e aumento na largura da placa epifísea.

Noutra forma de realização, é divulgado um método de tratamento de uma doença, distúrbio ou condição patológica, que compreende administrar a composição farmacêutica

descrita acima a um indivíduo utilizando múltiplas doses consecutivas da composição farmacêutica administrada utilizando um regime de dose terapeuticamente eficaz. Numa forma de realização do anteriormente mencionado, o regime de dose terapeuticamente eficaz pode resultar num ganho no tempo de pelo menos três vezes, ou alternativamente, pelo menos quatro vezes, ou cinco vezes, ou seis vezes, ou sete vezes, ou oito vezes, ou nove vezes, ou pelo menos 10 vezes, ou pelo menos 20 vezes, ou pelo menos cerca de 30 vezes, ou pelo menos cerca de 50 vezes, ou pelo menos cerca de 100 vezes tempo mais longo entre pelo menos dois picos de C_{max} e/ou rebaixos de C_{min} consecutivos para níveis sanguíneos da proteína de fusão em comparação com a correspondente GH da proteína de fusão não ligada à proteína de fusão e administrada utilizando um regime de dose comparável a um indivíduo. Noutra forma de realização do anteriormente mencionada, a administração da proteína de fusão resulta numa melhoria em pelo menos um parâmetro medido de uma doença relacionada com a hormona do crescimento utilizando dosagem menos frequente ou uma dosagem total mais baixa em moles da proteína de fusão da composição farmacêutica em comparação com os componentes da proteína biologicamente ativa correspondente não ligados à proteína de fusão e administrados a um indivíduo d utilizando um regime terapeuticamente eficaz para um indivíduo.

A divulgação proporciona ainda a utilização das composições que compreendem a proteína de fusão de quaisquer das formas de realização anteriores numa preparação de um medicamento para o tratamento de uma doença, distúrbio ou condição patológica num indivíduo com necessidade da mesma. Numa forma de realização do anteriormente mencionado, a doença, distúrbio ou condição patológica é selecionado a partir do grupo que consiste em síndrome de Turner, síndrome de Prader-Willi, baixa

estatura idiopática, definhamento por SIDA, esclerose múltipla, doença de Crohn, colite ulcerativa e distrofia muscular. Qualquer uma das formas de realização descritas pode ser praticada sozinha ou em combinação, dependendo da aplicação interessada.

BREVE DESCRIÇÃO DOS DESENHOS

As características e vantagens da invenção podem ser adicionalmente explicadas com por referência à descrição detalhada que se segue e dos desenhos anexos que apresentam formas de realização ilustrativas.

A FIG. 1 mostra representações esquemáticas de proteínas de fusão GHXTEN exemplares (FIGS. 1A-H), tudo representado em uma orientação da terminação N para a C. A FIG. 1A mostra duas configurações diferentes de proteínas de fusão GHXTEN (100), cada uma compreendendo uma única hormona do crescimento (GH) e um XTEN, a primeira das quais tem uma molécula de XTEN (102) ligada à terminação C de uma GH (103) e a segunda das quais tem uma molécula de XTEN ligada à terminação N de uma GH (103). A FIG. 1B mostra duas configurações diferentes de proteínas de fusão GHXTEN (100), cada uma compreendendo uma única GH, uma sequência espaçadora e um XTEN, a primeira das quais tem uma molécula de XTEN (102) ligada à terminação C de uma sequência espaçadora (104) e a sequência separadora ligada à terminação C de uma GH (103) e a segunda das quais tem uma molécula de XTEN ligada à terminação N de uma sequência espaçadora (104) e a sequência espaçadora ligada à terminação N de uma GH (103). A FIG. 1C mostra duas configurações diferentes de proteínas de fusão GHXTEN (101), cada uma compreendendo duas moléculas de uma única GH e uma molécula de um XTEN, a primeira das quais tem uma XTEN ligada à terminação C de uma primeira GH e essa GH está ligada à terminação C de uma segunda GH, e a segunda das quais está numa orientação oposta em que a XTEN está ligada à terminação

N de uma primeira GH e essa GH está ligada à terminação N de uma segunda GH. A FIG. 1D mostra duas configurações diferentes de proteínas de fusão GHXTEN (101), cada uma compreendendo duas moléculas de uma única GH, uma sequência espaçadora e uma molécula de um XTEN, a primeira das quais tem uma XTEN ligada à terminação C de uma sequência espaçadora e a sequência espaçadora ligada à terminação C de uma primeira GH que está ligada à terminação C de uma segunda GH, e a segunda das quais está numa orientação oposta em que a XTEN está ligada à terminação N de uma sequência espaçadora e a sequência espaçadora ligada à terminação N de uma primeira GH e essa GH está ligada à terminação N de uma segunda GH. A FIG. 1E mostra duas configurações diferentes de proteínas de fusão GHXTEN (101), cada uma compreendendo duas moléculas de uma única GH, uma sequência espaçadora e uma molécula de um XTEN, a primeira das quais tem uma XTEN ligada à terminação C de uma primeira GH e a primeira GH ligada à terminação C de uma sequência espaçadora que está ligada à terminação C de uma segunda molécula de GH, e a segunda das quais está numa configuração de XTEN ligada à terminação N de uma primeira GH que está ligada à terminação N de uma sequência espaçadora que por sua vez está ligada à terminação N de uma segunda molécula de GH. A FIG. 1F mostra uma configuração de proteína de fusão GHXTEN (105), cada uma compreendendo uma molécula de GH e duas moléculas de um XTEN ligado à terminação N e à terminação C do GH. A FIG. 1G mostra uma configuração (106) de uma única GH ligada a dois XTEN, com o segundo XTEN separado da GH por uma sequência espaçadora. A FIG. 1H é uma configuração (106) de duas GH ligadas a dois XTEN, com o segundo XTEN ligado à terminação C da primeira GH e à terminação da segunda GH, que está na terminação C do GHXTEN.

A FIG. 2 é uma ilustração esquemática de construções

polinucleotídicas exemplificativas (Figuras 2A-H) de genes GHXTEN que codificam os polipéptidos GHXTEN correspondentes da FIG. 1; tudo representado numa orientação de 5' para 3'. Nestes exemplos ilustrativos os genes codificam as proteínas de fusão GHXTEN com uma GH e XTEN (200); ou uma GH, uma sequência espaçadora e um XTEN (200); duas GH e um XTEN (201); ou duas GH, uma sequência espaçadora e um XTEN (201); uma GH e dois XTEN (205); ou duas GH e dois XTEN (206). Nestas representações, os polinucleótidos codificam os seguintes componentes: XTEN (202), GH (203) os aminoácidos espaçadores que podem incluir uma sequência de clivagem (204), com todas as sequências ligadas em grelha.

A FIG. 3 é uma ilustração esquemática de dois GHXTEN monoméricos exemplificativos e a capacidade das proteínas de fusão monoméricas para se ligar a um recetor alvo numa superfície celular, com a sinalização celular subsequente. A FIG. 3A mostra uma proteína de fusão GHXTEN (100) que consiste num GH (103) e um XTEN (102) e uma segunda proteína de fusão GHXTEN (105) que consiste numa GH ligada a dois XTEN (105). A FIG. 3B mostra a interação do GHXTEN com a GH na terminação C (100) e o GHXTEN com um XTEN na terminação C (105) com recetores alvo (108) para GH numa superfície celular (107). Neste caso, a ligação ao recetor com alta afinidade é exibida quando GH tem uma terminação C livre, enquanto o GHXTEN com um XTEN C-terminal não se liga firmemente ao recetor e se desassocia, conforme visto na FIG. 3C. A FIG. 3D mostra que o GHXTEN (100) ligado com alta afinidade de ligação permanece ligado ao recetor (106) e foi internalizado num endossoma (110) dentro da célula, ilustrando a depuração mediada pelo recetor da GH ligada e provocando a sinalização celular (109), retratado como citoplasma pontilhado.

A FIG. 4 é um fluxograma esquemático de etapas

representativas na montagem, produção e avaliação de um XTEN.

A FIG. 5 é um fluxograma esquemático etapas representativas na montagem de uma construção polinucleotídica de GHXTEN que codifica uma proteína de fusão. Os oligonucleótidos individuais **501** são anelados em motivos de sequência **502**, tais como um motivo de 12 aminoácidos ("12-mero"), que é subsequentemente ligado com um oligo contendo BbsI e os locais de restrição KpnI **503**. Motivos de sequências adicionais a partir de uma biblioteca são anelados para o 12-mero até que o comprimento desejado do gene XTEN **504** seja alcançado. O gene XTEN é clonado num vetor stuffer. O vetor codifica uma sequência Flag **506** seguido por uma sequência de paragem que está flanqueada pelos locais BSAI, BbsI e KpnI **507** e um gene de exendina-4 **508**, o que resulta no gene **500** que codifica uma fusão XTEN-GH.

A FIG. 6 é um fluxograma esquemático de etapas representativas da montagem de um gene que codifica a proteína de fusão compreendendo uma hormona do crescimento (GH) e XTEN, a sua expressão e recuperação como uma proteína de fusão e sua avaliação como um produto GHXTEN candidato.

A FIG. 7 é uma representação esquemática da conceção de vetores de expressão de GHXTEN com diferentes estratégias de processamento. A FIG 7A mostra um vetor de expressão exemplificativo codificando XTEN fundido com a extremidade 3' da sequência que codifica a GH. Note-se que nenhuma sequência de líder adicional é necessária neste vetor. A FIG. 7B representa um vetor de expressão codificando XTEN fundida com a extremidade 5' da sequência que codifica a GH com uma sequência líder de CBD e um local de protease de TEV. A FIG. 7C representa um vetor de expressão como na FIG. 7B onde o local de processamento CBD e TEV foram substituídos com uma

sequência líder N-terminal otimizada (NTS). A FIG 7D representa um vetor de expressão que codifica uma sequência NTS, um XTEN, uma sequência que codifica GH e de uma segunda sequência que codifica uma XTEN.

A FIG. 8 é uma representação esquemática da construção passo a passo de genes GHXTEN que contêm sequências de codificação de XTEN N-terminais ligadas a hGH e a subsequente ligação de sequências que codificam quer a 144 ou 288 XTEN ligadas ao terminal C de XTEN, como descrito no Exemplo 22.

A FIG. 9 mostra os resultados de ensaios de expressão para as construções indicadas compreendendo sequências GFP e XTen. As culturas de expressão foram ensaiadas utilizando um leitor de placas de fluorescência (excitação 395 nm, emissão 510 nm) para determinar a quantidade de repórter GFP presente. Os resultados, representados graficamente como gráficos de bigode, embora os níveis de expressão medianos foram aproximadamente metade dos níveis de expressão em comparação com o domínio de terminal N auxiliar "de referência" CBD, os melhores clones a partir de bibliotecas estavam muito mais perto dos valores de referência, indicando que uma maior otimização em torno dessas sequências se justificava. Os resultados também mostram que as bibliotecas começando com aminoácidos MA tinham melhores níveis de expressão do que aquelas que se iniciam com ME (veja-se Exemplo 14).

A FIG. 10 mostra três bibliotecas aleatórias utilizadas para os terceiro e quarto codões nas sequências N terminais de clones de LCW546, LCW547 e LCW552. As bibliotecas foram desenhadas com o terceiro e quarto resíduos modificados de modo que todas as combinações de codões de XTEN permissíveis estavam presentes nestas posições, conforme mostrado. De modo a incluir todos os codões de XTEN permissíveis para cada biblioteca, nove

pares de oligonucleótidos codificando 12 aminoácidos com diversidades de codões do terceiro e quatro resíduos foram desenhados, anelados e ligados no vetor stuffer pCW0551 digerido com as enzimas de restrição NdeI/BsaI (Stuffer-XTEN_AM875-GFP) e transformados em células competentes de E. coli BL21 Gold(DE3) para obter colónias das três bibliotecas LCW0569, LCW0570 e LCW0571.

A FIG. 11 mostra um histograma de um reteste dos 75 melhores clones após a etapa de otimização, conforme descrito no Exemplo 15, para o sinal de fluorescência da GFP, em relação à construção CBD_AM875 de referência. Os resultados indicaram que vários clones foram agora superiores aos dos clones de referência.

A FIG. 12 é uma vista esquemática de uma abordagem combinatória realizado para a união de preferências de otimização de codões para as duas regiões dos 48 aminoácidos N-terminais. A abordagem criou 48 meros novos na terminação N da proteína XTEN para avaliação da otimização da expressão que resultou nas sequências líder que pode ser uma solução para a expressão de proteínas XTEN em que a XTE é N terminal para a GH.

A FIG. 13 mostra um gel de SDS-PAGE confirmando a expressão de clones preferidos obtidos a partir das experiências de otimização de codões N terminais de XTEN, em comparação com os clones XTEN de referência que compreendem a sequências líder CBD na terminação N das sequências de construção, como descrito no Exemplo 17.

A FIG. 14 mostra um gel de SDS-PAGE de amostras a partir de um estudo de estabilidade da proteína de fusão de XTEN_AE864 fundida com a terminação N de GFP (veja-se o Exemplo 39). A GFP-XTEN foi incubada em plasma de cinomolgo e lisado de rim de rato durante um máximo de 7 dias a 37 °C. Além disso, a GFP-XTEN administrada a macacos cinomolgo foi também avaliada. As amostras foram retiradas a 0, 1 e 7 dias e analisadas por SDS-PAGE

seguido por deteção utilizando análise de Western e deteção com anticorpos contra GFP.

A FIG. 15 mostra os resultados de um ensaio de ligação ao recetor de hGH em que a atividade de ligação de hGH fundida com o polipéptido K288 é comparada com hGH livre, como descrito no Exemplo 25.

A FIG. 16 mostra os resultados de ensaio de afinidade de ligação *in vitro* de hGH-AM864 (círculos) e AM864-hGH (triângulos invertidos) para hGHR-Fc, como descrito no Exemplo 25. HGH recombinante não modificada (quadrados) é mostrada para comparação.

A FIG. 17 mostra os efeitos do tratamento térmico sobre a estabilidade de hGH e AM864-hGH, como descrito no Exemplo 26. A FIG. 17A é um gel de SDS-PAGE das duas preparações tratadas a 25 °C e 80 °C durante 15 minutos, enquanto que a FIG. 17B mostra a percentagem correspondente de atividade de ligação ao recetor da amostra a 80 °C em relação ao tratamento a 25 °C, indicando que o XTEN conferiu estabilidade ao calor e retenção de atividade à hGH e à proteína de fusão GHXTEN.

A FIG. 18 mostra os resultados de um ensaio baseado em ELISA para determinar a capacidade de adição de um XTEN C-terminal para reduzir a afinidade de ligação de GHXTEN para se ligar ao recetor de GH, como descrito no Exemplo 25.

A FIG. 19 mostra a análise SDS-PAGE de hGH fundida com K288, com amostras de todo o processo de purificação, como descrito no Exemplo 19.

A FIG. 20 mostra a análise SDS-PAGE de 5 µg de proteína purificada final de hGH fundida com Y576 nas configurações de hGH-Y576 e Y576-hGH submetidas a SDS-PAGE não redutora e redutora, conforme descrito no Exemplo 24, utilizando NuPAGE 4-12% de gel Bis-Tris de Invitrogen de acordo com as especificações do fabricante.

A FIG. 21 mostra os perfis de cromatografia de exclusão

de tamanho de duas construções GHXTEN Y576-GH e hGH-Y576 (terminal N a C), mostrado como uma sobreposição, como descrito no Exemplo 24.

A FIG. 22 mostra o perfil farmacocinético de duas construções de GHXTEN Y576-GH e hGH-Y576 (terminal N a C) após administração intravenosa a macacos cinomolgos, como descrito no Exemplo 30. Os resultados mostram que a orientação (N- versus C-terminal) de hGH em relação ao XTEN não afetou a depuração das proteínas de fusão.

A FIG. 23 mostra o perfil farmacocinético após uma dose única de 5 mg/kg de AM864-hGH administrada subcutaneamente a macacos cinomolgos, com a concentração de hGH equivalente derivada mostrada (linha tracejada), como descrito no Exemplo 30. A semivida do terminal foi calculada como 33 horas por WinNonLin utilizando um ajuste de compartimento único.

A FIG. 24 mostra os resultados da secreção de IGF-1 em macacos cinomolgos em resposta à administração de hGH ou GHXTEN AM864-hGH nas doses indicadas, como descrito no Exemplo 27.

A FIG. 25 mostra os efeitos da administração de hGH ou AM864-hGH nas doses indicadas no peso corporal num modelo de rato hipox, como descrito no Exemplo 28. Os resultados mostram a retenção da atividade biológica pelas construções GHXTEN que é equivalente em potência à hGH, ainda com uma dosagem menos frequente.

A FIG. 26 mostra os efeitos comparativos da administração de placebo, hGH e AM864-hGH no crescimento da cartilagem na placa de epifiseal tibial em ratos hipox, mostrado em secções transversais histológicas da tíbia após 9 dias de tratamento, como descrito no Exemplo 29.

A FIG. 27 mostra os resultados farmacocinéticos de quatro proteínas de fusão hGH GHTXEN administradas a ratos por via subcutânea, em comparação com a hGH não modificada recombinante, como descrito no Exemplo 31.

A FIG. 28 mostra os perfis de concentração de três construções de hGH XTEN após administração subcutânea a macacos cinomolgos, como descrito no Exemplo 32.

A FIG. 29 mostra os resultados de um estudo farmacocinético de três níveis de doses do GHXTEN AE912-hGH-AE144 administrado a cynos SC masculino e feminino a 0,3 (círculos abertos), 1,5 (quadrados) e 7,5 mg/kg (triângulos), como descrito no Exemplo 33.

A FIG. 30, mostra os resultados dos níveis de IGF-1 em cynos em resposta à administração de AE912-hGH-AE144, conforme descrito no Exemplo 33 (mesmos grupos que para a FIG. 29).

A FIG. 31 mostra os resultados de uma experiência para comparar a biodisponibilidade do GHXTEN AE912-hGH-AE144 administrado por três rotas diferentes, como descrito no Exemplo 34. AE912-hGH-AE144 foi administrado a cynos SC masculino e feminino a 1,5 mg/kg por vias intravenosa (triângulo), subcutânea (círculos abertos) e intramuscular (quadrados), com concentrações plasmáticas do GHXTEN mostradas na figura.

A FIG. 32 mostra os efeitos da administração de veículo (círculos abertos), hGH recombinante dosificado a 5 nmol/kg/dia (círculos fechados), o GHXTEN AE912-hGH-AE144 em doses variáveis e frequência de dose (triângulos fechados = 0,5 nmol/kg/dia; triângulos abertos = 1,5 nmol/dia; quadrados = 3 nmol/kg/Q2D) de peso corporal em ratos hipox, como descrito no Exemplo 35.

A FIG. 33 mostra os resultados de uma projeção modelada da habilidade da hGH ou do GHXTEN para manter os níveis sanguíneos dentro de uma janela terapêutica no modelo de rato hipox, com base nos resultados derivados dos dados retratados na FIG. 32, utilizando os mesmos grupos de dosagem.

A FIG. 34 mostra os resultados de uma análise de uma cromatografia de exclusão de tamanho de amostras de

construção de glucagão-XTen medidas contra padrões de proteína de massa molecular conhecida, com resultado do gráfico de absorvância em relação ao volume de retenção, como descrito no Exemplo 37. As construções de glucagão-XTEN são 1) glucagão -Y288; 2) glucagão Y-144; 3) glucagão-Y72; e 4) glucagão-Y36. Os resultados indicam um aumento na massa molecular aparente com o aumento do comprimento da porção XTEN.

A FIG. 35 mostra o perfil farmacocinético (concentrações plasmáticas) em macacos cinomolgos após doses únicas de diferentes composições de GFP ligadas a polipéptidos não estruturados de comprimento variável, administrada subcutaneamente ou intravenosamente, conforme descrito no Exemplo 38. As composições foram GFP-L288, GFP-L576, GFP-XTEN_AF576, GFP-Y576 e XTEN_AD836-GFP. Amostras de sangue foram analisadas em vários momentos após a injeção e a concentração de GFP no plasma foi medida por meio de ELISA utilizando um anticorpo policlonal contra GFP para a captura e uma preparação biotinilada do mesmo anticorpo policlonal para deteção. Os resultados são apresentados como a concentração plasmáticas em função do tempo (h) após a dosagem e mostram, em particular, um aumento considerável da semivida para o XTEN_AD836-GFP, a composição com o maior comprimento da sequência de XTEN. A construção com o comprimento da sequência mais curto, a GFP-L288 teve a semivida mais curta.

A FIG. 36 ilustra os resultados da escala alométrica para resposta humana prevista para Ex4-XTEN_AE864 baseado em resultados medidos em quatro espécies animais; isto é, ratinhos, ratos, macacos cinomolgos e cães. A FIG. 36A mostra a semivida terminal medida em função da massa corporal, com um T1/2 predito em seres humanos de 139 h. A FIG. 36B mostra a depuração do fármaco medida em função da massa corporal, com um valor de taxa de depuração predito de 30 ml/h em seres humanos. A FIG 36C mostra o

volume de distribuição medido em função da massa corporal, com um valor predito de 5970 ml em seres humanos.

A FIG. 37 mostra o espectro de UV próximo de dicroísmo circular de Ex4-XTEN_AE864, realizado conforme descrito no Exemplo 42.

DESCRIÇÃO DETALHADA DA INVENÇÃO

Antes das formas de realização da invenção serem descritas, é para ser entendido que tais formas de realização são fornecidas por meio de exemplo apenas, e que várias alternativas para as formas de realização da invenção descritas no presente documento podem ser empregues na prática da invenção, dentro da definição da invenção nas reivindicações. Numerosas variações, mudanças e substituições irão agora ocorrer para os peritos na especialidade sem nos afastarmos do âmbito da invenção, conforme definido nas reivindicações.

A menos que seja definido de outro modo, todos os termos técnicos e científicos utilizados no presente documento possuem o mesmo significado como habitualmente entendido por um perito na especialidade ao qual esta invenção pertence. Embora métodos e materiais semelhantes ou equivalente aos descritos no presente documento possam ser utilizados na prática ou testagem da presente invenção, métodos e materiais adequados são descritos abaixo. No caso de conflito, a memória descritiva da patente, incluindo as definições, controlarão. Além disso, os materiais, métodos e exemplos são somente ilustrativos e não pretendem ser limitantes. Numerosas variações, mudanças e substituições irão agora ocorrer para os peritos na especialidade sem nos afastarmos do âmbito da invenção, conforme definido nas reivindicações.

DEFINIÇÕES

Como utilizado no presente documento, os seguintes termos têm o significados atribuídos a eles a menos que

seja especificado de outro modo.

Conforme utilizado na memória descritiva e nas reivindicações, as formas singulares "um", "uma" e "o/a" incluem as respetivas referências plurais a não ser que o contexto claramente dite o contrário. Por exemplo, o termo "uma célula" inclui uma pluralidade de células, incluindo misturas das mesmas.

Os termos "polipéptido", "péptido" e "proteína" são utilizados indistintamente no presente documento para referir-se a polímeros de aminoácidos de qualquer comprimento. O polímero pode ser linear ou ramificado, pode compreender aminoácidos modificados e pode ser interrompido por não aminoácidos. Os termos incluem também um polímero de aminoácido que foi modificado, por exemplo, por formação de ligações dissulfureto, glicosilação, lipidação, acetilação, fosforilação ou qualquer outra manipulação, tal como por conjugação com um componente marcador.

Conforme é utilizado no presente documento, o termo "aminoácido" refere-se a aminoácidos naturais e/ou não naturais ou sintéticos, incluindo mas não limitados a glicina e os isómeros óticos D ou L e análogos de aminoácidos e peptidomiméticos. Os códigos simples ou de três letras são utilizados para designar os aminoácidos.

O termo "L-aminoácido natural" significa as formas L de isómeros óticos de glicina (G), prolina (P), alanina (A), valina (V), leucina (L), isoleucina (I), metionina (M), cisteína (C), fenilalanina (F), tirosina (Y), triptofano (W), histidina (H), lisina (K), arginina (R), glutamina (Q), asparagina (N), ácido glutâmico (E), ácido aspártico (D), serina (S) e treonina (T).

O termo "de ocorrência não natural", conforme é aplicado às sequências e conforme é utilizado no presente documento, significa sequências polipeptídicas ou polinucleotídicas que não têm uma contrapartida, não são complementares ou não têm um grau elevado de homologia com

uma sequência de tipo selvagem u ocorrência natural encontrada num mamífero. Por exemplo, um polipéptido que não ocorre naturalmente ou fragmento pode compartilhar não mais do que 99%, 98%, 95%, 90%, 80 %, 70%, 60%, 50% ou mesmo menos identidade de sequência de aminoácidos em comparação com uma sequência natural quando devidamente alinhados.

Os termos "hidrofílico" e "hidrofóbico" referem-se ao grau de afinidade que uma substância tem com a água. Uma substância hidrofílica tem uma forte afinidade para a água, tendendo a dissolver-se, misturar-se com, humecedor-se com água, enquanto uma substância hidrofóbica não possui substancialmente de afinidade para a água, tendendo a repelir e não absorver água e tendendo a não se dissolver ou misturar com ou ser molhado por água. Os aminoácidos podem ser caracterizados com base na sua hidrofobicidade. Várias escalas foram desenvolvidas. Um exemplo é uma escala desenvolvida por Levitt, M, *et al.*, J Mol Biol (1976) 104:59, que está listada em Hopp, TP, *et al.*, Proc Natl Acad Sci USA (1981) 78:3824. Exemplos de "aminoácidos hidrofílicos" são arginina, lisina, treonina, alanina, asparagina e glutamina. De particular interesse são os aminoácidos hidrofílicos aspartato, glutamato e serina e glicina. Exemplos de "aminoácidos hidrofóbicos" são triptofano, tirosina, fenilalanina, metionina, leucina, isoleucina e valina.

Um "fragmento" é uma forma truncada de uma proteína biologicamente ativa nativa que retém pelo menos uma porção da atividade terapêutica e/ou biológica. Uma "variante" é uma proteína com homologia de sequência com a proteína biologicamente ativa nativa que retém pelo menos uma porção da atividade terapêutica e/ou biológica da proteína biologicamente ativa. Por exemplo, uma proteína variante pode compartilhar pelo menos 70%, 75%, 80 %, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% de identidade de sequência de

aminoácidos com a proteína biologicamente ativa de referência. Conforme é utilizado no presente documento, o termo "fração de proteína biologicamente ativa" inclui proteínas modificadas deliberadamente, como por exemplo, por mutagénese dirigida ao local, inserções ou acidentalmente através de mutações.

Uma "célula hospedeira" inclui uma célula individual ou cultura de células que pode ser ou tem sido um recetor para os vetores objetos. As células hospedeiras incluem progénie de uma única célula hospedeira. A progénie pode não ser necessariamente completamente idêntica (na morfologia ou na genómica do complemento de ADN total) à célula parental original devido a mutação natural, acidental ou deliberada. Uma célula hospedeira inclui células transfetadas in vivo com um vetor desta descrição.

"Isolado", quando utilizado para descrever os vários polipéptidos divulgados no presente documento, significa um polipéptido que foi identificado e separado e/ou recuperado a partir de um componente do seu ambiente natural. Componentes contaminantes do seu ambiente natural são materiais que tipicamente poderiam interferir com utilizações diagnósticas ou terapêuticas para o polipéptido, e pode incluir enzimas, hormonas e outros solutos proteináceos ou não proteináceos. Tal como é aparente para um perito na especialidade, um polinucleótido de ocorrência não natural, péptido, polipéptido, proteína, anticorpo ou fragmentos dos mesmos, não requer "isolamento" para o distinguir da sua contraparte que ocorre naturalmente. Além disso, um "concentrado", "separado"" ou "diluído" polinucleótido, péptido, polipéptido, proteína, anticorpo ou fragmentos dos mesmos, é distinguível da sua contraparte de ocorrência natural pelo facto de a concentração ou o número de moléculas por volume ser geralmente maior do que a de sua contrapartida natural. No geral, um polipéptido produzido por meios recombinantes e

expresso numa célula hospedeira é considerado como "isolado".

Um polinucleótido ou um ácido nucleico que codifica um polipéptido "isolado" ou outro ácido nucleico que codifica um polipéptido é uma molécula de ácido nucleico que é identificada e separada de pelo menos uma molécula de ácido nucleico contaminante com a qual está normalmente associada na fonte natural do ácido nucleico que codifica o polipéptido. Uma molécula de ácido nucleico que codifica polipéptido isolada é outra que não na forma ou configuração na qual é encontrada na natureza. Moléculas de ácido nucleico que codificam o polipéptido isoladas distinguem-se portanto da molécula de ácido nucleico que codifica o polipétido específico tal como existe em células naturais. Contudo, uma molécula de ácido nucleico que codifica o polipéptido isolada inclui moléculas de ácido nucleico que codificam o polipéptido contida em células que vulgarmente expressam o polipéptido onde, por exemplo, a molécula de ácido nucleico está numa localização cromossómica ou extra-cromossómica diferente daquela de células naturais.

Uma proteína "quimérica" contém pelo menos um polipéptido de fusão compreendendo regiões numa posição diferente na sequência do que a que ocorre na natureza. As regiões podem normalmente existir em proteínas separadas e são reunidas no polipéptido de fusão; ou podem existir normalmente na mesma proteína mas são colocados num novo arranjo no polipéptido de fusão. Pode criar-se uma proteína quimérica, por exemplo, por meio de síntese química ou criando e traduzindo um polinucleótido no qual as regiões peptídicas são codificadas na relação desejada.

"Conjugado", "ligado", "fundido", e "fusão" são utilizados indistintamente no presente documento. Estes termos referem-se à união de dois ou mais elementos ou componentes químicos, por quaisquer meios incluindo

conjugação química ou meios recombinantes. Por exemplo, um promotor ou potenciador está operativamente ligado a uma sequência codificadora se afeta a transcrição da sequência. Em geral, "operativamente ligado" significa que as sequências de ADN a serem ligadas são contíguas e na fase de leitura ou em grelha. Uma "fusão em grelha" refere-se à união de duas ou mais grelhas de leitura abertas (ORFs - open reading frames) para formar uma ORF contínua mais longo, de uma forma que mantém a grelha de leitura correta das ORFs originais. Consequentemente, a proteína de fusão recombinante resultante é uma única proteína contendo dois ou mais segmentos que correspondem a polipéptidos codificados pelas ORFs originais (cujos segmentos não são normalmente tão ligados na natureza).

No contexto de polipéptidos, uma "sequência linear" ou uma "sequência" é uma ordem de aminoácidos num polipéptido numa direção da terminação amino para carboxilo na qual os resíduos que são vizinhos entre si na sequência são contíguos na estrutura primária do polipéptido. Uma "sequência parcial" é uma sequência linear de parte de um polipéptido que é conhecido por compreender resíduos adicionais numa ou em ambas as direções.

"Heterólogo" significa derivados de uma entidade genotípica distinta do resto da entidade para a qual está a ser comparada. Por exemplo, uma sequência rica em glicina removida da sua sequência de codificação nativa e operativamente ligada a uma sequência de codificação diferente da sequência nativa é uma sequência heteróloga rica em glicina. O termo "heterólogo", tal como aplicado a um polinucleótido, um polipéptido, significa que o polinucleótido ou polipéptido é derivado de uma entidade genotípica distinta da do resto da entidade à qual está a ser comparada.

Os termos "polinucleótidos", "ácidos nucleicos", "nucleótidos" e "oligonucleótidos" são utilizados

indistintamente. Referem-se a uma forma polimérica de nucleótidos de qualquer comprimento, desoxirribonucleótidos ou ribonucleótidos ou análogos dos mesmos. Os polinucleótidos podem ter qualquer estrutura tridimensional e podem desempenhar qualquer função, conhecida ou desconhecida. Os seguintes são exemplos não limitantes de polinucleótidos: regiões codificantes ou não codificantes de um gene ou fragmento de gene, loci (locus) definidos a partir da análise de ligação, exões, intrões, ARN mensageiro (ARNm), ARN de transferência, ARN ribossómico, ribozimas, ADNc, polinucleótidos recombinantes, polinucleótidos ramificados, plasmídeos, vetores, ADN isolado de qualquer sequência, ARN isolado de qualquer sequência, sondas de ácido nucleico e iniciadores. Um polinucleótido pode compreender nucleótidos modificados, tais como nucleótidos metilados e análogos de nucleótidos. Se estiver presente, podem ser feitas modificações da estrutura do nucleótido antes ou depois da montagem do polímero. A sequência de nucleótidos pode estar interrompida por componentes não nucleotídicos. Um polinucleótido pode ser modificado além disso depois da polimerização, tal como por conjugação com um componente marcador.

O termo "complemento de um polinucleótido" denota uma molécula polinucleotídica tendo uma sequência de bases complementar e orientação inversa em comparação com uma sequência de referência, de modo a poder hibridar com uma sequência de referência com fidelidade completa.

"Recombinante", tal como aplicado a um polinucleótido que significa que o polinucleótido é o produto de combinações de várias etapas de clonagem *in vitro*, de restrição e/ou ligação e outros procedimentos que resultam numa construção que podem potencialmente ser expressa numa célula hospedeira.

Os termos "gene" ou "fragmento de gene" são utilizados

indistintamente no presente documento. Referem-se a um polinucleótido contendo pelo menos uma grelha de leitura aberta que é capaz de codificar uma proteína particular depois de ser transcrita e traduzida. Um gene ou fragmento de gene pode ser genómico ou ADNc, desde que o polinucleótido contenha pelo menos uma grelha de leitura aberta, a qual pode cobrir toda a região de codificação ou um segmento da mesma. Um "gene de fusão" é um gene composto de pelo menos dois polinucleótidos heterólogos que estão ligados entre si.

"Homologia" ou "homólogo" refere-se à similaridade de sequência ou permutabilidade entre duas ou mais sequências polinucleotídicas ou duas ou mais sequências polipeptídicas. Quando se utiliza um programa tal como BestFit para determinar a identidade de sequência, similaridade ou homologia entre duas sequências de aminoácidos diferentes, os ajustes pré-definidos podem ser utilizados ou uma matriz de pontuação adequada, tais como blosum45 ou blosum80, pode ser selecionada para otimizar as pontuações de identidade, similaridade ou homologia. Preferentemente, os polinucleótidos que são homólogos são aqueles que hibridam sob condições restringentes tal como definidas no presente documento e têm pelo menos 70%, preferentemente pelo menos 80%, mais preferentemente pelo menos 90%, mais preferentemente 95%, mais preferentemente 97%, mais preferentemente 98% e ainda mais preferentemente 99% de identidade de sequência para essas sequências.

"Ligação" refere-se ao processo de formar ligações fosfodiéster entre dois fragmentos de ácidos nucleicos ou genes, ligando-os juntamente. Para ligar os fragmentos de ADN ou genes juntamente, as extremidades do ADN têm que ser compatíveis entre si. Em alguns casos, as extremidades serão diretamente compatíveis após digestão com endonuclease. Contudo, pode ser necessário primeiro converter as extremidades escalonadas comumente produzidas

após a digestão com endonuclease em extremidades rombas para torná-las compatíveis para a ligação.

Os termos "condições restringentes" ou "condições de hibridação restringentes" incluem referência a condições sob as quais um polinucleótido vai hibridar com a sua sequência alvo, a um grau detetavelmente maior do que outras sequências (por exemplo, pelo menos duas vezes sobre o fundo). Em geral, a restringência da hibridação é expressa, em parte, com referência à temperatura e à concentração de sal sob a qual a etapa de lavagem é levada a cabo. Tipicamente, as condições restringentes serão aquelas nas quais a concentração de sal é menor do que cerca de 1,5 M de ião Na, tipicamente de cerca de 0,01 a 1,0 M de concentração de ião Na (ou outros sais) num pH de 7,0 a 8,3 e a temperatura é de pelo menos cerca de 30 °C para polinucleótidos curtos (por exemplo, de 10 a 50 nucleótidos) e pelo menos cerca de 60 °C para polinucleótidos longos (por exemplo, superiores a 50 nucleótidos), por exemplo, "condições restringentes" podem incluir hibridação em formamida a 50%, NaCl a 1 M, SDS a 1% a 37°C e três lavagens durante 15 min cada um em 0,1 xSSC/SDS a 1% a 60°C a 65°C. Alternativamente, temperaturas de cerca de 65 °C, 60°C, 55°C ou 42 °C podem ser utilizadas. A concentração de SSC pode variar de cerca de 0,1 a 2xSSC, estando a SDS presente a cerca de 0,1%. Tais temperaturas de lavagem são tipicamente selecionadas para serem cerca de 5 °C a 20 °C inferiores ao ponto de fusão térmica para a sequência específica com uma força iónica e um pH definidos. A Tm é a temperatura (sob força iónica e pH definidos) a qual 50% da sequência alvo hibrida com uma sonda perfeitamente correspondente. Uma equação para calcular Tm e condições para hibridação de ácido nucleico são bem conhecidas e podem ser encontradas em Sambrook, J. et al. (1989) Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 2ª ed., vol. 1-3, Cold Spring Harbor Press, Plainview N.Y.;

veja-se especificamente o volume 2 e o capítulo 9. Tipicamente, os reagentes de bloqueio são utilizados para bloquear a hibridação não específica. Tais reagentes de bloqueio incluem, por exemplo, ADN de esperma de salmão cortado e desnaturado a cerca de 100-200 μg/ml. O solvente orgânico, tal como a formamida a uma concentração de cerca de 35-50% v/v, pode também ser utilizado em circunstâncias particulares, tal como para hibridações de ARN: ADN. Variações úteis nestas condições de lavagem serão prontamente aparentes para aqueles peritos comuns na especialidade.

Os termos "percentagem de identidade" e "% de identidade", conforme aplicado às sequências de polinucleótidos, referem-se à percentagem de correspondências de resíduos entre pelo menos duas sequências polinucleotídicas alinhadas utilizando um algoritmo padronizado. Tal algoritmo pode inserir, de uma forma padronizada e reprodutível, lacunas nas sequências que estão a ser comparadas de modo a otimizar o alinhamento entre duas sequências e consequentemente alcançar uma comparação mais significativa das duas sequências. A percentagem de identidade pode ser medida ao longo do comprimento de uma sequência de polinucleótido definido inteiro ou pode ser medido ao longo de um comprimento mais curto, por exemplo, ao longo do comprimento de um fragmento tomado a partir de uma maior, e definida sequência polinucleotídica, por exemplo, um fragmento de pelo menos 45, pelo menos 60, pelo menos 90, pelo menos 120, pelo menos 150, pelo menos 210 ou pelo menos 450 resíduos contíguos. Esses comprimentos são apenas exemplificativos e entende-se que qualquer comprimento de fragmento suportado pelas sequências mostradas no presente documento, nos quadros, figuras ou Listagem de Sequências, pode ser utilizado para descrever um comprimento sobre o qual a percentagem de identidade pode ser medida.

"Percentagem (%) de identidade de sequência de aminoácidos", no que diz respeito às sequências de polipéptido identificadas no presente documento, é definida como a percentagem de resíduos de aminoácidos numa sequência de consulta que são idênticos aos resíduos de aminoácido de uma segunda sequência polipeptídica de referência ou uma porção da mesma, após alinhamento das sequências e introdução de intervalos, se necessário, para alcançar a máxima percentagem de identidade de sequência e não considerando quaisquer substituições conservativas como parte da identidade da sequência. O alinhamento para propósitos de determinação da percentagem de identidade da sequência de aminoácidos pode ser alcançado de várias formas que estão dentro da experiência da técnica, por exemplo, utilizando programas de computador disponíveis publicamente, como os programas BLAST, BLAST-2, ALIGN ou Megalign (DNASTAR). Os peritos na especialidade podem determinar parâmetros apropriados para medição do alinhamento, incluindo algoritmos necessários para alcançar o alinhamento máximo sob o comprimento total das sequências a serem comparadas. A percentagem de identidade pode ser medida ao longo do comprimento de uma sequência de polipéptido definido inteiro ou pode ser medida ao longo de um comprimento mais curto, por exemplo, ao longo do comprimento de um fragmento tomado a partir de uma maior, e definida sequência polipeptídica, por exemplo, um fragmento de pelo menos 15, pelo menos 20, pelo menos 30, pelo menos 40, pelo menos 50, pelo menos 70 ou pelo menos 150 resíduos contíguos. Esses comprimentos são apenas exemplificativos e entende-se que qualquer comprimento de fragmento suportado pelas sequências mostradas no presente documento, nos quadros, figuras ou Listagem de Sequências, pode ser utilizado para descrever um comprimento sobre o qual a percentagem de identidade pode ser medida.

O termo "não repetitividade" tal como utilizado no

presente documento no contexto de um polipéptido refere-se a uma falta ou grau limitado de homologia interna numa sequência de péptido ou polipéptido. O termo "substancialmente não repetitivo" pode significar, por exemplo, que existem poucos ou nenhuns casos de quatro aminoácidos contíguos na sequência que são tipos de aminoácidos idênticos ou que o polipéptido tem uma pontuação subsequência (definida infra) de 10 ou menos ou que não existe um padrão na ordem, da terminação N para C, dos motivos de sequência que constituem a sequência polipeptídica. O termo "repetitividade" tal como utilizado no presente documento no contexto de um polipéptido refere-se ao grau limitado de homologia interna numa sequência de péptido ou polipéptido. Ao contrário, uma sequência "repetitiva" pode conter várias cópias idênticas de sequências curtas de aminoácidos. Por exemplo, uma sequência polipeptídica de interesse pode ser dividida em sequências de n-mero e o número de sequências idênticas pode ser contado. As sequências altamente repetitivas contêm uma grande fração de sequências idênticas enquanto as sequências não repetitivas contêm poucas sequências idênticas. No contexto de um polipéptido, uma sequência pode conter múltiplas cópias de sequências mais curtas de comprimento definido ou variável ou motivos, em que os próprios motivos têm sequências não repetitivas, tornando o polipéptido de comprimento completo substancialmente não repetitivo. O comprimento do polipéptido dentro do qual a não repetitividade é medida pode variar desde 3 aminoácidos até cerca de 200 aminoácidos, desde cerca de 6 até cerca de 50 aminoácidos ou desde cerca de 9 até cerca de 14 aminoácidos. A "repetitividade" utilizada no contexto das sequências polinucleotídicas refere-se ao grau de homologia interna na sequência tal como, por exemplo, a frequência de sequências de nucleótidos idênticas de um dado comprimento. A repetitividade pode, por exemplo, ser medida por análise

da frequência de sequências idênticas.

Um "vetor" é uma molécula de ácido nucleico, preferentemente auto-replicante num hospedeiro apropriado, que transfere uma molécula de ácido nucleico inserida para dentro e/ou entre células hospedeiras. O termo inclui vetores que funcionam principalmente por inserção de ADN ou de ARN numa célula, a replicação de vetores que funcionam principalmente para a replicação de ADN ou ARN e vetores de expressão que funcionam para transcrição e/ou tradução do ADN ou ARN. Também estão incluídos vetores que proporcionam mais de uma das funções acima. Um "vetor de expressão" é um polinucleótido que, quando introduzido numa célula hospedeira apropriada, pode ser transcrito e traduzido num polipéptido. Um "sistema de expressão" normalmente conota uma célula hospedeira adequada compreendida por um vetor de expressão que pode funcionar para produzir um produto de expressão desejado.

"Resistência à degradação do soro", conforme aplicado a um polipéptido, refere-se à capacidade dos polipéptidos de suportarem a degradação no sangue ou nos seus componentes, o que tipicamente envolve proteases no soro ou plasma. A resistência à degradação do soro pode ser medida combinando a proteína com soro ou plasma humano (ou de ratinho, rato, macaco, conforme apropriado), tipicamente durante um intervalo de dias (por exemplo, 0,25, 0,5, 1, 2, 4, 8, 16 dias) tipicamente a cerca de 37 °C. As amostras para estes pontos de tempo podem ser executadas num ensaio Western blot e a proteína é detetada com um anticorpo. O anticorpo pode ser um marcador na proteína. Se a proteína mostrar uma única banda no Western, onde o tamanho da proteína é idêntico ao da proteína injetada, então não ocorreu nenhuma degradação. Neste método exemplificativo, o ponto de tempo em que 50% da proteína é degradada, tal como avaliado por transferências de Western ou técnicas equivalentes, é a semivida de degradação do soro ou

"semivida no soro" da proteína.

O termo "$t_{1/2}$" conforme é utilizado no presente documento significa a semivida, terminal como $\ln(2)/K_{el}$. K_{el} é a taxa de eliminação terminal constante calculada por regressão linear da porção linear terminal de concentração de log vs curva de tempo. Semivida tipicamente refere-se ao tempo necessário para metade da quantidade de uma substância administrada depositada num organismo vivo a ser metabolizada ou eliminada por processos biológicos normais. Os termos "$t_{1/2}$", "semivida terminal", "semivida de eliminação" e "semivida de circulação" são utilizados indistintamente no presente documento.

"Fator de massa molecular aparente" ou "massa molecular" são termos relacionados referindo-se a uma medida do aumento ou diminuição relativa da massa molecular aparente exibido por uma sequência de aminoácidos particular. A massa molecular aparente é determinada utilizando cromatografia de exclusão de tamanho (SEC) e métodos semelhantes comparados com os padrões de proteínas globulares e é medido em unidades de "kD aparente". O fator massa molecular aparente é a razão entre a massa molecular aparente e a massa molecular real; o último predito pela adição, com base na composição de aminoácidos, da massa molecular calculada de cada tipo de aminoácido na composição.

O "raio hidrodinâmico" ou "raio de Stokes" é o raio efetivo (R_h em nm) de uma molécula numa solução medido por assumir que é um corpo que se move através da solução e resistido pela viscosidade da solução. Na formas de realização da invenção, as medições do raio hidrodinâmico das proteínas de fusão XTEN correlacionam-se com o "Fator de Massa Molecular Aparente", que é uma medida mais intuitiva. O "raio hidrodinâmico" de uma proteína afeta a sua taxa de difusão em solução aquosa, bem como a sua capacidade para migrar em géis de macromoléculas. O raio

hidrodinâmico de uma proteína é determinado pela sua massa molecular, bem como pela sua estrutura, incluindo forma e compacidade. Métodos para a determinação do raio hidrodinâmico são bem conhecidos na técnica, tal como pela utilização de cromatografia de exclusão de tamanho (SEC), conforme descrito nos documentos de Patente U.S. N°s 6.406.632 e 7.294.513. A maioria das proteínas tem estrutura globular, que é a estrutura tridimensional mais compacta que uma proteína pode ter com o menor raio hidrodinâmico. Algumas proteínas adotam uma conformação aleatória e aberta, não estruturado ou "linear" e como resultado têm um raio hidrodinâmico muito maior em comparação com proteínas globulares típicas de massa molecular semelhante.

"Condições fisiológicas" refere-se a um conjunto de condições num hospedeiro vivo, bem como as condições *in vitro*, incluindo temperatura, concentração de sal, pH, que imitam as condições de um indivíduo vivo. Uma série de condições fisiologicamente relevantes para a utilização em ensaios *in vitro* foram estabelecidas. Em geral, um tampão fisiológico contém uma concentração fisiológica de sal e é ajustado para um pH neutro variando desde cerca de 6,5 até cerca de 7,8 e preferentemente desde cerca de 7,0 até cerca de 7,5. Uma variedade de tampões fisiológicos está listada em Sambrook et al. (1989). A temperatura fisiologicamente relevante varia desde cerca de 25 °C até cerca de 38 °C, e preferentemente desde cerca de 35°C e cerca de 37°C.

Um "grupo reativo" é uma estrutura química que pode ser acoplada a um segundo grupo reativo. Exemplos de grupos reativos são grupos amino, grupos carboxilo, grupos sulfidrilo, grupos hidroxilo, grupos aldeído, grupos azida. Alguns grupos reativos podem ser ativados para facilitar o acoplamento com um segundo grupo reativo. Exemplos não limitantes para ativação são a reação de um grupo carboxilo com carbodiimida, a conversão de um grupo carboxilo num

éster ativado ou a conversão de um grupo carboxilo numa função azida.

"Agente de libertação controlada", "agente de libertação lenta", "formulação de depósito" ou "agente de libertação sustentada" são utilizados indistintamente para se referir a um agente capaz de prolongar a duração da libertação de um polipéptido da invenção em relação à duração da libertação quando o polipéptido é administrado na ausência de agente. Forma de realização diferentes da presente invenção podem ter taxas de libertação diferentes, resultando em quantidades terapêuticas diferentes.

Os termos "antigénio", "antigénio alvo" ou "imunogénio" são utilizados indistintamente no presente documento para se referir à estrutura ou determinante de ligação que um fragmento de anticorpo ou um agente terapêutico baseado em fragmentos de anticorpo se liga ou tem especificidade contra.

O termo "carga útil" conforme é utilizado no presente documento refere-se a uma proteína ou sequência peptídica que tem atividade biológica ou terapêutica; a contrapartida ao farmacóforo de pequenas moléculas. Exemplos de cargas úteis incluem, mas não estão limitados a, citocinas, enzimas, hormonas e sangue e fatores de crescimento. Cargas úteis podem ainda compreender frações geneticamente fundidas ou conjugadas quimicamente, tais como agentes quimioterapêuticos, compostos antivirais, toxinas ou agentes de contraste. Estas frações conjugadas podem ser unidas ao resto do polipéptido através de um ligante que pode ser clivável ou não clivável.

O termo "antagonista", conforme utilizado no presente documento, inclui qualquer molécula que bloqueia parcial ou completamente, inibe ou neutraliza uma atividade biológica ou um polipéptido nativo divulgado no presente documento. Os métodos para identificar antagonistas de um polipéptido podem compreender o contacto de um polipéptido nativo com

uma molécula antagonista candidata e a medição de uma alteração detetável em uma ou mais atividades biológicas normalmente associadas ao polipéptido nativo. No contexto da presente invenção, antagonistas podem incluir proteínas, ácidos nucleicos, hidratos de carbono, anticorpos ou quaisquer outras moléculas que diminuem o efeito de uma proteína biologicamente ativa.

O termo "agonista" é utilizado no sentido mais amplo e inclui qualquer molécula que imita uma atividade biológica de um polipéptido nativo divulgado no presente documento. As moléculas agonistas adequadas incluem especificamente anticorpos agonistas ou fragmentos de anticorpos, fragmentos ou variantes de sequências de aminoácidos de polipéptidos nativos, péptidos, moléculas orgânicas pequenas, etc. Os métodos para identificar agonistas de um polipéptido podem compreender o contacto de um polipéptido nativo com uma molécula agonista candidata e a medição de uma alteração detetável em uma ou mais atividades biológicas normalmente associadas ao polipéptido nativo.

"Atividade" para os fins do presente documento refere-se uma ação ou efeito de um componente de uma proteína de fusão consistente com a da proteína biologicamente ativa nativa correspondente, em que "atividade biológica" refere-se a uma função ou efeito biológico *in vitro* ou *in vivo*, incluindo mas não limitados a ligação a recetor, atividade antagonista, atividade agonista ou uma resposta celular ou fisiológica.

Conforme é utilizado no presente documento, "tratamento" ou "tratar", ou "paliar" ou "melhorar" é utilizado indistintamente no presente documento. Estes termos referem-se a uma abordagem para a obtenção de resultados benéficos ou desejados incluindo, mas não limitados a, um benefício terapêutico e/ou um benefício profilático. Por benefício terapêutico se entende a erradicação ou melhora do distúrbio subjacente a ser

tratado. Também, um benefício terapêutico é alcançado com a erradicação ou melhora de um ou mais dos sintomas fisiológicos associados ao distúrbio subjacente, de modo que uma melhora é observada no indivíduo, não obstante que o indivíduo ainda possa estar afligido com o distúrbio subjacente. Para benefício profilático, as composições podem ser administradas a um indivíduo em risco de desenvolver uma doença específica, ou a um indivíduo que relate um ou mais dos sintomas fisiológicos de uma doença, mesmo que o diagnóstico desta doença não tenha sido feito.

Um "efeito terapêutico", conforme utilizado no presente documento, refere-se a um efeito fisiológico, incluindo, mas não limitado a, cura, mitigação, melhoria ou prevenção de doenças em seres humanos ou outros animais, ou para melhorar o bem-estar físico ou mental de seres humanos ou animais, causada por um polipéptido de fusão da invenção diferente da capacidade de induzir a produção de um anticorpo contra um epítopo antigénico possuído pela proteína biologicamente ativa. A determinação de uma quantidade terapeuticamente eficaz encontra-se dentro da capacidade dos peritos na especialidade, especialmente à luz da divulgação detalhada proporcionada no presente documento.

Os termos "quantidade terapeuticamente eficaz" e "dose terapeuticamente eficaz", conforme utilizado no presente documento, refere-se a uma quantidade de uma proteína biologicamente ativa, sozinho ou como parte de uma composição de proteína de fusão, que é capaz de ter qualquer efeito detetável e benéfico sobre qualquer sintoma, aspeto, parâmetro ou características medidos de um estado ou condição de doença quando administrado em uma ou doses repetidas para um indivíduo. Este efeito não precisa ser absoluto para ser benéfico.

O termo "regime de dose terapeuticamente eficaz", conforme utilizado no presente documento, refere-se a uma

programação para doses administradas consecutivamente de uma proteína biologicamente ativa, sozinho ou como parte de uma composição de proteína de fusão, em que as doses são administradas em quantidades terapeuticamente eficazes para resultar em efeito benéfico sustentado em qualquer sintoma, aspeto, Parâmetro medido ou características de um estado ou condição de doença.

I). TÉCNICAS GERAIS

A prática do presente invento utiliza, a menos que indicado de outra forma, técnicas convencionais de imunologia, bioquímica, química, biologia molecular, microbiologia, biologia celular, genómica e ADN recombinante, que estão dentro da habilitação comum na especialidade. Veja-se Sambrook *et al.*, J. *et al.*, "Molecular Cloning: A Laboratory Manual", 3ª edição, Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2001; "Current protocols in molecular biology", F. M. Ausubel, et al. eds.,1987; a série "Methods in Enzymology," Academic Press, San Diego, CA.; "PCR 2: a practical approach", M. J. MacPherson, B.D. Hames and G.R. Taylor eds., Oxford University Press, 1995; "Antibodies, a laboratory manual" Harlow, E. and Lane, D. eds., Cold Spring Harbor Laboratory, 1988; "Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics," 11ª Edição, McGraw-Hill, 2005; e Freshney, R.I., "Culture of Animal Cells: A Manual of Basic Technique," 4ª edição, John Wiley & Sons, Somerset, NJ, 2000.

II). HORMONA DO CRESCIMENTO

A presente invenção refere-se, em parte, a composições de proteínas de fusão de hormona do crescimento (GH), incluindo hormona do crescimento humana (hGH), conforme definido nas reivindicações.

(A) Proteínas de hormona do crescimento

"Hormona do Crescimento" ou "GH" significa uma proteína da hormona do crescimento e espécies e variantes de sequências da mesma, e inclui, mas não está limitada a,

a sequência de 191 aminoácidos de cadeia única de GH humana. O GH pode ser a proteína nativa, de comprimento total ou pode ser um fragmento truncado ou uma variante de sequência que retém pelo menos uma porção da atividade biológica da proteína nativa. Existem dois tipos conhecidos de GH humana (a seguir "hGH") derivada da glândula pituitária: um com um peso molecular de cerca de 22.000 daltons (hGH de 22 kD) e o outro tendo um peso molecular de cerca de 20.000 daltons (hGH de 20 kD). O HGH de 20 kD tem uma sequência de aminoácidos que corresponde à da HGH de 22 kD que consiste em 191 aminoácidos, exceto que estão faltando resíduos de 15 aminoácidos da 32ª a 46ª da hGH de 22 kD. Alguns relatórios mostraram que o hGH de 20 kD mostrou apresentar riscos mais baixos e maior atividade do que a hGH de 22 kD. A invenção contempla a utilização da 22 kD, A hGH de 20 kD, bem como espécies e variantes de sequência e fragmentos truncados da mesma como sendo apropriados para utilização como um parceiro de fusão com XTEN divulgado no presente documento para composições de GHXTEN. O gene clonado para hGH foi expresso numa forma segregada em *Escherícha coli* (Patente dos Estados Unidos N ° 4.898.830; Chang, C. N., *et al.*, Gene 55:189 [1987]) e sua sequência de aminoácidos e ADN foi relatado (Goeddel, et al. Nature,281:544 [1979); Gray, *et al.*, Gene 39: 247[1985)].

A invenção contempla a inclusão nas sequências de composições de GHXTEN com homologia às sequências de GH, fragmentos de sequência que são naturais, Tais como de seres humanos, primatas não humanos, mamíferos (incluindo animais domésticos) e variantes de sequência não naturais que retêm pelo menos uma porção da atividade biológica ou função biológica da GH e/ou que são úteis para prevenir, tratamento, mediar ou melhorar uma doença relacionada com GH, deficiência, distúrbio ou condição patológica. As sequências de GH de não mamífero estão bem descritas na

literatura. Por exemplo, um alinhamento de sequência de GHs de peixe pode ser encontrada em Genetics and Molecular Biology 2003 26 p.295-300. Uma análise da evolução de sequências de GH aviária é apresentada em Journal of Evolutionary Biology 2006 19 p.844-854. Além disso, as sequências nativas homólogas à GH humana podem ser encontradas por técnicas de busca de homologia padrão, tal como NCBI BLAST.

Os efeitos da GH nos tecidos do corpo geralmente podem ser descritos como anabolizantes. Como a maioria das hormonas de outras proteínas, GH nativo age por interação com um recetor de membrana plasmática específico, referido como recetor de hormona do crescimento. GH atua no fígado e outros tecidos para estimular a produção de IGF-1, que é responsável pelos efeitos de GH que promovem o crescimento e também reflete a quantidade produzida. IGF-1, por sua vez, tem efeitos estimuladores na atividade dos osteoblastos e dos condrócitos para promover o crescimento ósseo. Numa forma de realização, a invenção proporciona um GHXTEN que exibe pelo menos uma das propriedades de GH nativo descrita anteriormente no presente documento.

Numa forma de realização, a GH incorporada nas composições em questão é um polipéptido recombinante com uma sequência correspondente a uma proteína encontrada na natureza. Noutra forma de realização, a GH é uma variante de sequência, fragmento, homólogo ou um mimético de uma sequência natural que retém pelo menos uma porção da atividade biológica da GH nativa correspondente. O Quadro 1 fornece uma lista não limitativa de sequências de GHs de uma grande variedade de espécies de mamíferos que são abrangidas pelas proteínas de fusão GHXTEN desta divulgação. Qualquer uma destas sequências de GH ou derivados homólogos construídos por mistura de mutações individuais entre espécies ou famílias que retém pelo menos uma porção da atividade biológica da GH nativa pode ser

útil para as proteínas de fusão desta descrição. GH que pode ser incorporado numa proteína de fusão GHXTEN pode incluir uma proteína que exibe pelo menos cerca de 80% de identidade de sequência ou, alternativamente, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% ou 100% de identidade de sequência com uma sequência selecionada a partir do Quadro 1.

Quadro 1: Sequências de aminoácidos da hormona do crescimento de espécies de animais

GH de Espécies	Sequência de aminoácidos
Ser humano	FPTIPLSRLFDNAMLRAHRLHQLAFDTYQEFEEAYIPKEQKYSFLQNPQTSLCFSESIPTP SNREETQQKSNLELLRISLLLIQSWLEPVQFLRSVFANSLVYGASDSNVYDLLKDLEEGI QTLMGRLEDGSPRTGQIFKQTYSKFDTNSHNDDALLKNYGLLYCFRKDMDKVETFLRI VQCRSVEGSCGF
Porco	FPAMPLSSLFANAVLRAQHLHQLAADTYKEFERAYIPEGQRYSIQNAQAAFCFSETIPA PTGKDEAQQRSDVELLRFSLLLIQSWLGPVQFLSRVFTNSLVFGTSDRVYEKLKDLEEG IQALMRELEDGSPRAGQILKQTYDKFDTNLRSDDALLKNYGLLSCFKKDLHKAETYLR V MKCRRFVESSCAF
Alpaca	FPAMPLSSLFANAVLRAQHLHQLAADTYKEFERTYIPEGQRYSIQNAQAAFCFSETIPAP TGKDEAQQRSDVELLRFSLLLIQSWLGPVQFLSRVFTNSLVFGTSDRVYEKLKDLEEGI QALMRELEDGSPRAGQILRQTYDKFDTNLRSDDALLKNYGLLSCFKKDLHKAETYLR V MKCRRFVESSCAF
Camelo	FPAMPLSSLFANAVLRAQHLHQLAADTYKEFERTYIPEGQRYSIQNAQAAFCFSETIPAP TGKDEAQQRSDVELLRFSLLLIQSWLGPVQFLSRVFTNSLVFGTSDRVYEKLKDLEEGI QALMRELEDGSPRAGQILRQTYDKFDTNLRSDDALLKNYGLLSCFKKDLHKAETYLR V MKCRRFVESSCAF
Cavalo	FPAMPLSSLFANAVLRAQHLHQLAADTYKEFERAYIPEGQRYSIQNAQAAFCFSETIPA PTGKDEAQQRSDMELLRFSLLLIQSWLGPVQLLSRVFTNSLVFGTSDRVYEKLRDLEEG IQALMRELEDGSPRAGQILKQTYDKFDTNLRSDDALLKNYGLLSCFKKDLHKAETYLR V MKCRRFVESSCAF
Elefante	FPAMPLSSLFANAVLRAQHLHQLAADTYKEFERAYIPEGQRYSIQNAQAAFCFSETIPA PTGKDEAQQRSDVELLRFSLLLIQSWLGPVQFLSRVFTNSLVFGTSDRVYEKLKDLEEG
	IQALMRELEDGSPRPGQVLKQTYDKFDTNMRSDDALLKNYGLLSCFKKDLHKAETYL RV MKCRRFVESSCAF
raposa vermelha	FPAMPLSSLFANAVLRAQHLHQLAADTYKEFERAYIPEGQRYSIQNAQAAFCFSETIPA PTGKDEAQQRSDVELLRFSLVLIQSWLGPLQFLSRVFTNSLVFGTSDRVYEKLKDLEEG IQALMRELEDGSPRAGQILKQTYDKFDTNLRSDDALLKNYGLLSCFKKDLHKAETYLR V MKCRRFVESSCAF
Cão	FPAMPLSSLFANAVLRAQHLHQLAADTYKEFERAYIPEGQRYSIQNAQAAFCFSETIPA PTGKDEAQQRSDVELLRFSLLLIQSWLGPVQFLSRVFTNSLVFGTSDRVYEKLKDLEEG IQALMRELEDGSPRAGQILKQTYDKFDTNLRSDDALLKNYGLLSCFKKDLHKAETYLR V MKCRRFVESSCAF

Gato	FPAMPLSSLFANAVLRAQHLHQLAADTYKEFERAYIPEGQRYSIQNAQAAFCFSETIPA PTGKDEAQQRSDVELLRFSLLLIQSWLGPVQFLSRVFTNSLVFGTSDRVYEKLKDLEEG IQALMRELEDGSPRGGQILKQTYDKFDTNLRSDDALLKNYGLLSCFKKDLHKAETYLR V MKCRRFVESSCAF
Vison americano	FPAMPLSSLFANAVLRAQHLHQLAADTYKDFERAYIPEGQRYSIQNAQAAFCFSETIPA PTGKDEAQQRSDMELLRFSLLLIQSWLGPVQFLSRVFTNSLVFGTSDRVYEKLKDLEEG IQALMRELEDGSPRAGPILKQTYDKFDTNLRSDDALLKNYGLLSCFKKDLHKAETYLR V MKCRRFVESSCAF
Baleia fin	FPAMPLSSLFANAVLRAQHLHQLAADTYKEFERAYIPEGQRYSIQNAQAAFCFSETIPA PTGKDEAQQRSDVELLRFSLLLIQSWLGPVQFLSRVFTNSLVFGTSDRVYEKLKDLEEG IQALMRELEDGSPRAGQILKQTYDKFDTNMRSDDALLKNYGLLSCFKKDLHKAETYLR V MKCRRFVESSCAF
Golfinho	FPAMPLSSLFANAVLRAQHLHQLAADTYKEFERAYIPEGQRYSIQNTQAAFCFSETIPAP TGKDEAQQRSDVELLRFSLLLIQSWLGPVQFLSRVFTNSLVFGTSDRVYEKLKDLEEGI QALMRELEDGSPRAGQILKQTYDKFDTNMRSDDALLKNYGLLSCFKKDLHKAETYLR V MKCRRFVESSCAF
Hipopótamo	FPAMPLSSLFANAVLRAQHLHQLAADTYKEFERAYIPEGQRYSIQNTQAAFCFSETIPAP TGKDEAQQRSDVELLRFSLLLIQSWLGPVQFLSRVFTNSLVFGTSDRVYEKLKDLEEGI QALMRELEDGSPRAGQILKQTYDKFDTNMRSDDALLKNYGLLSCFKKDLHKAETYLR V MKCRRFVESSCAF
Coelho	FPAMPLSSLFANAVLRAQHLHQLAADTYKEFERAYIPEGQRYSIQNAQAAFCFSETIPA PTGKDEAQQRSDMELLRFSLLLIQSWLGPVQFLSRAFTNTLVFGTSDRVYEKLKDLEEG IQALMRELEDGSPRVGQLLKQTYDKFDTNLRGDDALLKNYGLLSCFKKDLHKAETYL RV MKCRRFVESSCVF
Rato	FPAMPLSSLFANAVLRAQHLHQLAADTYKEFERAYIPEGQRYSIQNAQAAFCFSETIPA PTGKEEAQQRTDMELLRFSLLLIQSWLGPVQFLSRIFTNSLMFGTSDRVYEKLKDLEEGI QALMQELEDGSPRIGQILKQTYDKFDANMRSDDALLKNYGLLSCFKKDLHKAETYLR V MKCRRFAESSCAF
Ratinho	FPAMPLSSLFSNAVLRAQHLHQLAADTYKEFERAYIPEGQRYSIQNAQAAFCFSETIPAP TGKEEAQQRTDMELLRFSLLLIQSWLGPVQFLSRIFTNSLMFGTSDRVYEKLKDLEEGI QALMQELEDGSPRVGQILKQTYDKFDANMRSDDALLKNYGLLSCFKKDLHKAETYLR V MKCRRFVESSCAF

Hámster	FPAMPLSSLFANAVLRAQHLHQLAADTYKEFERAYIPEGQRYSIQNAQTAFCFSETIPAP TGKEEAQQRSDMELLRFSLLLIQSWLGPVQFLSRIFTNSLMFGTSDRVYEKLKDLEEGI QALMQELEDGSPRVGQILKQTYDKFDTNMRSDDALLKNYGLLSCFKKDLHKAETYLR V MKCRRFVESSCAF
Rato toupeira	FPAMPLSNLFANAVLRAQHLHQLAADTYKEFERAYIPEGQRYSIQNAQAAFCFSETIPA PTGKEEAQQRSDMELLRFSLLLIQSWLGPVQFLSRVFTNSLVFGTSDRVFEKLKDLEEGI QALMRELEDGSLRAGQLLKQTYDKFDTNMRSDDALLKNYGLLSCFKKDLHKAETYLR V MKCRRFVESSCAF
Porquinho da Índia	FPAMPLSSLFGNAVLRAQHLHQLAADTYKEFERTYIPEGQRYSIHNTQTAFCFSETIPAP TDKEEAQQRSDVELLHFSLLLIQSWLGPVQFLSRVFTNSLVFGTSDRVYEKLKDLEEGI QALMRELEDGTPRAGQILKQTYDKFDTNLRSNDALLKNYGLLSCFRKDLHRTETYLRV MKCRRFVESSCAF
Boi	AFPAMSLSGLFANAVLRAQHLHQLAADTFKEFERTYIPEGQRYSIQNTQVAFCFSETIPA PTGKNEAQQKSDLELLRISLLLIQSWLGPLQFLSRVFTNSLVFGTSDRVYEKLKDLEEGI LALMRELEDGTPRAGQILKQTYDKFDTNMRSDDALLKNYGLLSCFRKDLHKTETYLR
	V MKCRRFGEASCAF
Ovelha/ cabra	AFPAMSLSGLFANAVLRAQHLHQLAADTFKEFERTYIPEGQRYSIQNTQVAFCFSETIPA PTGKNEAQQKSDLELLRISLLLIQSWLGPLQFLSRVFTNSLVFGTSDRVYEKLKDLEEGI LALMRELEDVTPRAGQILKQTYDKFDTNMRSDDALLKNYGLLSCFRKDLHKTETYLR V MKCRRFGEASCAF
Cervo vermelho	FPAMSLSGLFANAVLRAQHLHQLAADTFKEFERTYIPEGQRYSIQNTQVAFCFSETIPAP TGKNEAQQKSDLELLRISLLLIQSWLGPLQFLSRVFTNSLVFGTSDRVYEKLKDLEEGIL ALMRELEDGTPRAGQILKQTYDKFDTNMRSDDALLKNYGLLSCFRKDLHKTETYLRV MKCRRFGEASCAF
Girafa	AFPAMSLSGLFANAVLRAQHLHQLAADTFKEFERTYIPEGQRYSIQNTQVAFCFSETIPA PTGKNEAQQKSDLELLRISLLLIQSWLGPLQFLSRVFSNSLVFGTSDRVYEKLKDLEEGI LALMRELEDGTPRAGQILKQTYDKFDTNMRSDDALLKNYGLLSCFRKDLHKTETYLR V MKCRRFGEASCAF
Chevrotain-1	FPAMSLSGLFANAVLRVQHLHQLAADTFKEFERTYIPEGQRYSIQNTQVAFCFSETIPAP TGKNEAQQKSDLELLRISLLLIQSWLGPLQFLSRVFTNSLVFGTSDRVYEKLKDLEEGIL ALMRELEDGPPRAGQILKQTYDKFDTNMRSDDALLKNYGLLSCFRKDLHKTETYLRV MKCRRFGEASCAF

Slow loris	FPAMPLSSLFANAVLRAQHLHQLAADTYKEFERAYIPEGQRYSIQNAQAAFCFSETIPA PTGKDEAQQRSDMELLRFSLLLIQSWLGPVQLLSRVFTNSLVLGTSDRVYEKLKDLEEG IQALMRELEDGSPRVGQILKQTYDKFDTNLRSDDALLKNYGLLSCFKKDLHKAETYLR V MKCRRFVESSCAF
Sagui	FPTIPLSRLLDNAMLRAHRLHQLAFDTYQEFEEAYIPKEQKYSFLQNPQTSLCFSESIPTP ASKKETQQKSNLELLRMSLLLIQSWFEPVQFLRSVFANSLLYGVSDSDVYEYLKDLEEG IQTLMGRLEDGSPRTGEIFMQTYRKFDVNSQNNDALLKNYGLLYCFRKDMDKVETFL RI VQCR-SVEGSCGF
BrTailed Possum	FPAMPLSSLFANAVLRAQHLHQLVADTYKEFERTYIPEAQRHSIQSTQTAFCFSETIPAP TGKDEAQQRSDVELLRFSLLLIQSWLSPVQFLSRVFTNSLVFGTSDRVYEKLRDLEEGIQ ALMQELEDGSSRGGLVLKTTYDKFDTNLRSDEALLKNYGLLSCFKKDLHKAETYLRV MKCRRFVESSCAF
Macaco (rhesus)	FPTIPLSRLFDNAMLRAHRLHQLAFDTYQEFEEAYIPKEQKYSFLQNPQTSLCFSESIPTP SNREETQQKSNLELLRISLLLIQSWLEPVQFLRSVFANSLVYGTSYSDVYDLLKDLEEGI QTLMGRLEDGSSRTGQIFKQTYSKFDTNSHNNDALLKNYGLLYCFRKDMDKIETFLRI VQCR-SVEGSCGF

III). COMPOSIÇÕES DE PROTEÍNA DE FUSÃO DE HORMONA DO CRESCIMENTO

A presente invenção refere-se, em parte, a composições de proteínas de fusão de hormona do crescimento (GH) definidas nas reivindicações. Num aspeto, a invenção proporciona proteínas de fusão monoméricas isoladas de GH compreendendo a sequência de comprimento total ou variantes de sequência de GH humana ligadas covalentemente a polipéptidos recombinantes estendidos ("XTEN" ou "XTENs"). Conforme descrito mais completamente abaixo, as proteínas de fusão incluem opcionalmente sequências espaçadoras que compreendem ainda sequências de clivagem para libertar a GH da proteína de fusão quando é realizada por uma protease, libertando GH da(s) sequência(s) de XTEN.

Num aspeto, a divulgação proporciona uma proteína de fusão isolada compreendendo pelo menos uma primeira proteína de hormona do crescimento biologicamente ativa ligada covalentemente a um ou mais polipéptidos recombinantes estendidos ("XTEN"), resultando em uma composição de proteína de fusão de hormona do crescimento-XTEN (a seguir no presente documento "*GHXTEN*"). Numa forma de realização, a hormona do crescimento e hormona do crescimento humanos ou uma variante de sequência de hGH. Conforme descrito mais completamente abaixo, as proteínas de fusão incluem opcionalmente sequências espaçadoras que compreendem ainda sequências de clivagem para libertar a GH da proteína de fusão quando é realizada por uma protease.

O termo "*GHXTEN*", conforme utilizado no presente documento, pretende englobar polipéptidos de fusão que compreendem uma ou mais regiões de carga útil cada uma compreendendo uma GH biologicamente ativa que medeia uma ou mais atividades biológicas ou terapêuticas associadas à hormona do crescimento e pelo menos uma outra região compreendendo pelo menos um primeiro polipéptido XTEN que serve como um transportador.

A GH das composições de objeto, particularmente aquelas divulgadas no Quadro 1, juntamente com suas correspondentes sequências de aminoácidos correspondentes e ácidos nucleicos, são bem conhecidos na arte e descrições e sequências estão disponíveis em bancos de dados públicas, como as bases de dados do Chemical Abstracts Services (por exemplo, o Registo CAS), GenBank, The Universal Protein Resource (UniProt) e bases de dados por assinatura tais como GenSeq *(e.g.,* Derwent). As sequências polinucleotídicas podem ser uma sequência polinucleotídica de tipo selvagem que codifica uma GH dada (por exemplo, quer em comprimento completo ou maduro), ou em alguns casos a sequência pode ser uma variante da sequência polinucleotídica do tipo selvagem (por exemplo, um polinucleótido que codifica a proteína biologicamente ativa do tipo selvagem, em que a sequência de ADN do polinucleótido foi otimizada, por exemplo, para expressão em espécies particulares; ou um polinucleótido que codifica uma variante da proteína de tipo selvagem, tal como um mutante dirigida ao local ou uma variante alélica. Está bem dentro da capacidade do perito na especialidade utilizar uma sequência de ADNc de tipo selvagem ou de consenso ou uma variante otimizada para codões de uma GH para criar construções de GHXTEN contempladas no presente documento utilizando métodos conhecidos na técnica e/ou em conjunto com a orientação e métodos proporcionados no presente documento e descritos mais completamente nos Exemplos.

O GH para inclusão no GHXTEN inclui qualquer hormona do crescimento ou variante de sequência de interesse ou função biológica, terapêutica, profilática ou de diagnóstico, ou que seja útil para mediar ou prevenir ou melhorar uma doença, distúrbio ou condição patológica associado a crescimento, deficiência de hormona do crescimento ou defeito quando administrado a um indivíduo. De particular interesse são as composições de proteínas de

fusão GHXTEN para as quais um aumento num parâmetro farmacocinético, solubilidade aumentada, estabilidade aumentada ou alguma outra propriedade farmacêutica melhorada em comparação com a GH nativa, ou para o qual o aumento da semivida terminal melhoraria a eficácia, segurança, ou resultar em reduzir a frequência de dosagem e/ou melhorar a conformidade do paciente. Assim, as composições da proteína de fusão GHXTEN são preparadas com vários objetivos em mente, incluindo a melhoria da eficácia terapêutica da GH bioativa, por exemplo, aumentando a exposição *in vivo* ou o comprimento que o GHXTEN permanece dentro da janela terapêutica quando administrado a um indivíduo, em comparação com uma GH não ligada a XTEN.

Numa forma de realização, a GH incorporada nas composições em questão pode ser um polipéptido recombinante com uma sequência correspondente a uma proteína encontrada na natureza. Noutra forma de realização, a GH é uma variante de sequência, fragmento, homólogo ou um mimético de uma sequência natural que retêm pelo menos uma porção da atividade biológica da GH nativa. Em exemplos não limitativos, uma GH é uma sequência que exibe pelo menos cerca de 80% de identidade de sequência ou, alternativamente, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% ou pelo menos cerca de 99% ou 100% de identidade de sequência com uma sequência de proteína selecionada a partir do Quadro 1. Numa forma de realização, uma proteína de fusão GHXTEN compreende uma única molécula de GH ligada a um XTEN (como descrito mais completamente abaixo). Noutra forma de realização, o GHXTEN compreende uma primeira GH e uma segunda molécula da mesma GH, resultando em uma proteína de fusão compreendendo as duas GH ligadas a um ou mais XTEN (por exemplo, ou duas moléculas de hGH). Nalguns casos das formas de realização anteriores, os componentes GH e XTEN são de uma configuração de terminal N para C selecionada a

partir do Quadro 5. Noutra forma de realização, a proteína de fusão GHXTEN compreende uma única molécula de GH ligada a um primeiro e um segundo XTEN, com uma configuração N- a C-terminal de XTEN-GH-XTEN, em que a GH é uma sequência que exibe pelo menos cerca de 80% de identidade de sequência ou, alternativamente, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86% 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% ou pelo menos cerca de 99% ou 100% de identidade de sequência com uma sequência de proteína selecionada a partir do Quadro 1, e o primeiro e/ou o segundo XTEN são sequências que exibem pelo menos cerca de 80% de identidade de sequência ou, alternativamente, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86% 87%, 88%, 89%, 90%, 91 %, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% ou pelo menos cerca de 99% ou 100% de identidade de sequência com uma sequência selecionada a partir do Quadro 3.

No geral, o componente parceiro de fusão GH do GHXTEN exibe uma especificidade de ligação a um dado alvo ou a outra característica biológica desejada quando utilizado *in vivo* ou quando utilizado num ensaio *in vitro*. Por exemplo, o GHXTEN é um agonista, tendo a capacidade de se ligar a um recetor transmembranar para hormona do crescimento. Numa forma de realização, a ligação de GHXTEN ao recetor de crescimento conduz à dimerização do recetor e leva a pelo menos uma porção da ativação da via de transdução do sinal intercelular em comparação com a hormona do crescimento nativa. Numa forma de realização, o GHXTEN ligado a um recetor transmembrana para o hormônio do crescimento exibiria pelo menos cerca de 1%, ou cerca de 5%, ou cerca de 10%, ou cerca de 15%, ou cerca de 20%, ou cerca de 25%, ou cerca de 30%, ou cerca de 40%, ou cerca de 50%, ou cerca de 60%, ou cerca de 70%, ou cerca de 80%, ou cerca de 90%, ou pelo menos cerca de 95% da ativação da via de transdução do sinal intercelular em comparação com hormona do crescimento nativa não vinculada ao XTEN.

O GHXTEN objeto da presente invenção exibe um aprimoramento de um ou mais parâmetros farmacocinéticos, que opcionalmente é aumentado pela libertação de GH da proteína de fusão por clivagem de uma sequência espaçadora. O GHXTEN com parâmetros farmacocinéticos melhorados permite uma dosagem menos frequente ou um efeito farmacológico reforçado, tais como, mas não limitado a, manter o GHXTEN biologicamente ativo na janela terapêutica entre a dose efetiva mínima ou a concentração sanguínea (C_{min}) e a dose máxima tolerada ou a concentração sanguínea (C_{max}. Em tais casos, a ligação da GH a uma proteína de fusão compreendendo uma sequência de XTEN seletiva pode resultar em uma melhoria nessas propriedades, tornando-os mais úteis como agentes terapêuticos ou preventivos em comparação com a GH não ligada ao XTEN.

IV). POLIPÉPTIDOS RECOMBINANTES XTENDED

Num aspeto, a divulgação proporciona composições de polipéptido XTEN que são úteis como um parceiro de proteína de fusão ao qual GH está ligada, resultando em uma proteína de fusão GHXTEN. XTEN são geralmente polipéptidos de comprimento estendido com ocorrência não natural, sequências substancialmente não repetitivas que são constituídas principalmente por pequenos aminoácidos hidrofílicos, com a sequência tendo um grau baixo ou nenhuma estrutura secundária ou terciária em condições fisiológicas.

Os XTENs têm utilidade como parceiro de parceiros de proteína de fusão na medida em que eles servem como "transportador", conferindo certas propriedades farmacocinéticas, físico-químicas e farmacêuticas desejáveis quando ligadas a uma proteína de GH para criar uma proteína de fusão. Tais propriedades desejáveis incluem, mas não estão limitadas a parâmetros farmacocinéticos melhorados e características de solubilidade das composições, entre outras propriedades

descritas no presente documento. Tais composições de proteínas de fusão têm utilidade para tratar certas doenças relacionadas com a hormona do crescimento, distúrbios ou condições patológicas, conforme descrito no presente documento. Conforme é utilizado no presente documento, "XTEN" exclui especificamente anticorpos ou fragmentos de anticorpos tais como anticorpos de cadeia simples ou fragmentos de Fc de uma cadeia leve ou uma cadeia pesada.

Em algumas formas de realização, XTEN são polipéptidos longos possuindo mais do que cerca de 100 a cerca de 3000 resíduos de aminoácidos, de preferência maior que 400 a cerca de 3000 resíduos quando utilizado como transportador ou cumulativamente quando mais de uma unidade XTEN é utilizada numa única proteína de fusão. Noutras formas de realização, quando usado como um ligante entre os componentes da proteína de fusão ou em que não é necessário um aumento na semivida da proteína de fusão, mas onde é desejado um aumento na solubilidade ou outra propriedade físico-química para o componente do parceiro de fusão de GH, uma sequência XTEN inferior a 100 resíduos de aminoácidos, tais como cerca de 96, ou cerca de 84, ou cerca de 72, ou cerca de 60, ou cerca de 48, ou cerca de 36 resíduos de aminoácidos são incorporados numa composição de proteína de fusão com o GH para efetuar a propriedade.

Os critérios de seleção para o XTEN a serem ligados às proteínas biologicamente ativas utilizadas para criar as composições das proteínas de fusão da invenção geralmente se relacionam com atributos de propriedades físico-químicas e estrutura conformacional do XTEN que é, por sua vez, usado para conferir propriedades farmacêuticas e farmacocinéticas aprimoradas às propriedades de composições de proteínas de fusão. O XTEN da presente invenção apresenta uma ou mais das seguintes propriedades vantajosas: flexibilidade conformacional, solubilidade aquosa melhorada, alto grau de resistência à protease,

imunogenicidade baixa, baixa ligação aos recetores de mamíferos e raios hidrodinâmicos (ou Stokes) aumentados; propriedades que os tornam particularmente úteis como parceiros de proteína de fusão. Exemplos não limitativos das propriedades das proteínas de fusão que compreendem GH que é reforçada por XTEN incluem aumentos na solubilidade geral e/ou na estabilidade metabólica, suscetibilidade reduzida a proteólise, imunogenicidade reduzida, taxa reduzida de absorção quando administrada por via subcutânea ou intramuscular e propriedades farmacocinéticas melhoradas, tais como semivida terminal mais longa e área aumentada sob a curva (AUC), absorção mais lenta após injeção subcutânea ou intramuscular (em comparação com a GH não ligada ao XTEN e administrada por uma via similar), de modo que a C_{max} é menor, que, por sua vez, resulta em reduções nos efeitos adversos da GH que, coletivamente, resulta num período de tempo aumentado que uma proteína de fusão de uma composição de GHXTEN administrada a um indivíduo retém a atividade terapêutica.

Uma variedade de métodos e ensaios são conhecidos na técnica para a determinação das propriedades físicas/químicas das proteínas tais como as composições que compreendem o XTEN inventivo; propriedades tais como estrutura secundária ou terciária, solubilidade, agregação de proteínas, propriedades de fusão, contaminação e teor de água. Tais métodos incluem centrifugação analítica, EPR, HPLC-permuta iónica, HPLC-exclusão de tamanho, HPLC-fase reversa, dispersão de luz, eletroforese capilar, dicroismo circular, calorimetria de varrimento diferencial, fluorescência, HPLC-permuta iónica, HPLC-exclusão de tamanho, IR, RMN, espectroscopia de Raman, refratometria e espectroscopia de UV/visível. Métodos adicionais são divulgados em Arnau et al, Prot Expr and Purif (2006) 48, 1-13. A aplicação destes métodos à invenção seria ao alcance de um perito na especialidade.

Tipicamente, XTEN são concebidos para comportar-se como sequências peptídicas desnaturadas em condições fisiológicas, apesar do comprimento estendido do polímero. Desnaturado descreve o estado de um péptido em solução que é caracterizado por uma grande liberdade conformacional da estrutura principal do péptido. A maioria dos péptidos e proteínas adotam uma conformação desnaturada na presença de altas concentrações de desnaturantes ou a temperaturas elevadas. Os péptidos em conformação desnaturada têm, por exemplo, espectros de dicroísmo circular característico (CD) e são caracterizados pela falta de interações de longo alcance determinadas por RMN. "Conformação desnaturada" e "Conformação não estruturada" são usados de forma sinônima no presente documento. Em algumas formas de realização, a invenção proporciona sequências de XTEN que, sob condições fisiológicas, se assemelham a sequências desnaturadas em grande parte desprovidas de estrutura secundária. Em outros casos, as sequências XTEN são substancialmente desprovidas de estrutura secundária sob condições fisiológicas. "Em grande parte desprovidas", conforme utilizado neste contexto, significa que menos de 50% dos resíduos de aminoácidos de XTEN da sequência de XTEN contribuem para a estrutura secundária medida ou determinada pelos meios descritos no presente documento. "Substancialmente desprovidas", conforme utilizado neste contexto, significa que pelo menos cerca de 60%, ou cerca de 70%, ou cerca de 80%, ou cerca de 90%, ou cerca de 95%, ou pelo menos cerca de 99% dos resíduos de aminoácidos de XTEN da sequência de XTEN não contribuem para a estrutura secundária, como medido ou determinado pelos métodos descritos no presente documento.

Uma variedade de métodos foram estabelecidos na técnica para discernir a presença ou ausência de estruturas secundárias e terciárias em um determinado polipéptido. Em particular, estrutura secundária pode ser medida por

espectrofotometria, por exemplo, por espectroscopia de dicroísmo circular na região espectral "UV distante" (190-250 nm). Elementos de estrutura secundária, tal como alfa hélice e folha beta, cada um dá origem a uma forma característica e magnitude dos espectros de CD. A estrutura secundária também pode ser prevista para uma sequência de polipéptido através de certos programas ou algoritmos de computador, tal como o bem conhecido algoritmo de Chou-Fasman (Chou, P. Y., et al. (1974) Biochemistry, 13: 222-45) e o algoritmo de Garnier-Osguthorpe-Robson ("GOR") (Gamier J, Gibrat JF, Robson B. (1996), GOR method for predicting protein secondary structure from amino acid sequence. Methods Enzymol 266:540-553), conforme descrito na Publicação de pedido de patente US 20030228309A1. Para uma dada sequência, os algoritmos podem prever se existe alguma ou nenhuma estrutura secundária, expresso como o total e/ou a percentagem de resíduos da sequência que se forma, por exemplo, alfa-hélices ou folhas beta ou a percentagem de resíduos da sequência prevista para resultar em formação de espirais aleatórias (que não possui estrutura secundária).

Em algumas formas de realização, as sequências XTEN utilizadas nas composições da proteína de fusão inventivas podem ter uma percentagem de alfa-hélice variando desde 0% até menos de cerca de 5% conforme determinado pelo algoritmo de Chou-Fasman. Em outros casos, as sequências XTEN das composições de proteína de fusão têm uma percentagem de folha beta variando desde 0% até menos de cerca de 5% conforme determinado pelo algoritmo de Chou-Fasman. Em algumas formas de realização, as sequências XTEN das composições de proteína de fusão têm uma percentagem de alfa-hélice variando desde 0% até menos de cerca de 5% e uma percentagem de folha beta variando desde 0% até menos de cerca de 5% conforme determinado pelo algoritmo de Chou-Fasman. Em algumas formas de realização, as sequências XTEN

das composições de proteína de fusão têm uma percentagem de alfa-hélice de menos de cerca de 2% e uma percentagem de folha beta de menos de cerca de 2%. Em outros casos, as sequências XTEN das composições da proteína de fusão possuem um alto percentual de espirais aleatórios, conforme determinado pelo algoritmo de GOR. Em algumas formas de realização, uma sequência de XTEN tem pelo menos cerca de 80%, mais preferentemente pelo menos cerca de 90%, mais preferentemente pelo menos cerca de 91%, mais preferentemente pelo menos cerca de 92%, mais preferentemente pelo menos cerca de 93%, mais preferentemente pelo menos cerca de 94%, mais preferentemente pelo menos cerca de 95%, mais preferentemente pelo menos cerca de 96%, mais preferentemente pelo menos cerca de 97%, mais preferentemente pelo menos cerca de 98% e o mais preferentemente pelo menos cerca de 99% de espiral aleatória, conforme determinado pelo algoritmo de GOR.

1. Sequências não repetitivas

Em algumas formas de realização, As sequências XTEN das composições são substancialmente não repetitivas. No geral, as sequências de aminoácidos repetitivas tendem a se agrupar ou formar estruturas de ordem superior, como exemplificado por sequências repetitivas naturais, como colagénios e zíperes de leucina, ou forma contatos resultando em estruturas cristalinas ou pseudocristalinas. Ao contrário, a baixa tendência de sequências não repetitivas para agregar permite o projeto de XTENs de longa sequência com uma frequência relativamente baixa de aminoácidos carregados que provavelmente seria agregado se as sequências fossem repetitivas de outra forma. Tipicamente, as proteínas de fusão GHXTEN compreendem sequências de XTEN superiores a cerca de 100 a cerca de 3000 resíduos de aminoácidos, preferentemente superior a cerca de 400 a cerca de 3000 resíduos cumulativos, em que

as sequências são substancialmente não repetitivas. Numa forma de realização, as sequências de XTEN têm mais do que cerca de 100 a cerca de 3000 resíduos de aminoácidos, preferentemente mais do que 400 a cerca de 3000 resíduos de aminoácidos, em que não são idênticos três aminoácidos contíguos a não ser que o aminoácido seja serina, em cujo caso não mais de três aminoácidos contíguos são resíduos de serina. Na forma de realização anterior, a sequência de XTEN seria substancialmente não repetitiva.

O grau de repetitividade de um polipéptido ou um gene é medido por programas ou algoritmos de computador ou por outros meios conhecidos na técnica. A repetitividade numa sequência de polipéptidos pode, por exemplo, ser avaliado determinando o número de vezes que as sequências mais curtas de um determinado comprimento ocorrem dentro do polipéptido. Por exemplo, um polipéptido de 200 resíduos de aminoácidos tem 192 sequências de 9 aminoácidos sobrepostas (ou "quadros" de 9 meros) e 198 quadros de 3 meros, mas o número de sequências exclusivas de 9 meros ou 3 meros dependerá da quantidade de repetição dentro da sequência. É gerado um resultado (doravante denominado "escore de subsequência") que reflete o grau de repetitividade das subsequências na sequência de polipéptido geral. No contexto da presente invenção, "Índice de subsequência" significa a soma das ocorrências de cada quadro único de 3 meros em uma sequência de 200 aminoácidos consecutivos do polipéptido dividido pelo número absoluto de subsequências únicas de 3 meros dentro da sequência de 200 aminoácidos. Exemplos de tais pontuações de subsequência derivadas dos primeiros 200 aminoácidos de polipéptidos repetitivos e não repetitivos são apresentados no Exemplo 44. Em algumas formas de realização, a presente invenção proporciona GHXTEN cada um compreendendo um ou mais XTEN em que o XTEN tem uma pontuação de subsequência inferior a 10, mais preferentemente inferior a 9, mais preferentemente inferior

a 8, mais preferentemente inferior a 7, mais preferentemente inferior a 6 e o mais preferentemente inferior a 5. Nas formas de realização anteriores no presente documento descritas neste parágrafo, um XTEN com uma pontuação de pontuação de subsequência inferior a cerca de 10 (isto é, 9, 8, 7, etc.) é "substancialmente não repetitiva".

A característica não-repetitiva do XTEN transmite às proteínas de fusão com GH um maior grau de solubilidade e menor tendência de agregação em comparação com polipéptidos com sequências repetitivas. Estas propriedades facilitam a formulação de preparações farmacêuticas contendo XTEN contendo concentrações de fármaco extremamente elevadas, em alguns casos excedendo 100 mg/ml.

Adicionalmente, as sequências do polipéptido XTEN das formas de realização são concebidas para ter um baixo grau de repetitividade interna para reduzir ou eliminar substancialmente a imunogenicidade quando administrada a um mamífero. Sequências de polipéptidos compostos por motivos curtos e repetidos, amplamente limitados a três aminoácidos, tais como glicina, serina e glutamato, pode resultar em títulos de anticorpos relativamente elevados quando administrados a um mamífero apesar da ausência de epítopos das células T preditos nestas sequências. Isso pode ser causado pela natureza repetitiva dos polipéptidos, como foi demonstrado que os imunogénios com epítopos repetidos, incluindo agregados de proteínas, imunogénios reticulados e hidratos de carbono repetitivos são altamente imunogénicos e podem, por exemplo, resultam na reticulação dos recetores das células B causando a ativação das células B. (Johansson, J., et al. (2007) Vaccine, 25:1676-82; Yankai, Z., et al. (2006) Biochem Biophys Res Commun, 345:1365-71; Hsu, C. T., et al. (2000) Cancer Res, 60:3701-5); Bachmann MF, et al. Eur J Immunol. (1995) 25(12):3445-3451).

2. Motivos de sequências exemplares

A presente invenção abrange XTEN que compreende unidades múltiplas de sequências mais curtas ou motivos, em que as sequências de aminoácidos dos motivos não são repetitivas. Ao desenhar sequências de XTEN, descobriu-se que o critério não repetitivo pode ser cumprido apesar da utilização de uma abordagem de "bloco de construção" utilizando uma biblioteca de motivos de sequência que são multimerizados para criar as sequências XTEN. Assim, embora uma sequência de XTEN possa consistir em múltiplas unidades de tão pouco quanto quatro tipos de motivos de sequência diferentes, dado que os próprios motivos geralmente consistem em sequências de aminoácidos não repetitivas, a sequência global de XTEN é tornada substancialmente não repetitiva.

Numa forma de realização, XTEN tem uma sequência não repetitiva mais do que cerca de 100 a cerca de 3000 resíduos de aminoácidos, preferentemente mais do que 400 a cerca de 3000 resíduos, em que pelo menos cerca de 80%, ou pelo menos cerca de 85%, ou pelo menos cerca de 90%, ou pelo menos cerca de 95%, ou pelo menos cerca de 97%, ou cerca de 100% da sequência XTEN consiste em motivos de sequência não sobrepostos, em que cada um dos motivos tem de cerca de 9 a 36 resíduos de aminoácidos. Noutras formas de realização, pelo menos cerca de 80%, ou pelo menos cerca de 85%, ou pelo menos cerca de 90%, ou pelo menos cerca de 95%, ou pelo menos cerca de 97%, ou cerca de 100% da sequência XTEN consiste em motivos de sequência não sobrepostos em que cada um dos motivos tem de 9 a 14 resíduos de aminoácidos. Ainda noutras formas de realização, pelo menos cerca de 80%, ou pelo menos cerca de 85%, ou pelo menos cerca de 90%, ou pelo menos cerca de 95%, ou pelo menos cerca de 97%, ou cerca de 100% do componentes de sequência XTEN consiste em motivos de sequência não sobrepostos em que cada um dos motivos tem 12

resíduos de aminoácidos. Nestas formas de realização, é preferido que os motivos da sequência sejam compostos principalmente de pequenos aminoácidos hidrofílicos, tal como a sequência global tem uma característica não estruturada, flexível. Exemplos de aminoácidos incluídos no XTEN, são, por exemplo, arginina, lisina, treonina, alanina, asparagina, glutamina, aspartato, glutamato, serina e glicina. Como resultado das variáveis de teste, como otimização de codões, polinucleótidos de montagem que codificam motivos de sequência, expressão de proteína, distribuição de carga e solubilidade da proteína expressa, e estrutura secundária e terciária, descobriu-se que as composições XTEN com características melhoradas incluem principalmente resíduos de glicina (G), alanina (A), serina (S), treonina (T), glutamato (E) e prolina (P) em que as sequências são concebidas para serem substancialmente não repetitivas. Numa forma de realização, as sequências XTEN têm predominantemente quatro a seis tipos de aminoácidos selecionados a partir de glicina (G), alanina (A), serina (S), treonina (T), glutamato (E) ou prolina (P) que estão dispostos numa sequência substancialmente não repetitiva que é superior a cerca de 100 a cerca de 3000 resíduos de aminoácidos, preferentemente mais do que 400 a cerca de 3000 resíduos de comprimento. Em algumas formas de realização, XTEN têm sequências de mais do que cerca de 100 a cerca de 3000 resíduos de aminoácidos, preferentemente mais do que 400 a cerca de 3000 resíduos, em que pelo menos cerca de 80% da sequência consiste em motivos de sequência que não se sobrepõem, em que cada um dos motivos tem de 9 a 36 resíduos de aminoácidos em que cada um dos motivos consiste em 4 a 6 tipos de aminoácidos selecionados a partir de glicina (G), alanina (A), serina (S), treonina (T), glutamato (E) e prolina (P), e em que o teor de qualquer tipo de aminoácido no XTEN de comprimento total não exceda 30%. Noutras formas de realização, pelo menos

cerca de 90% da sequência de XTEN consiste em motivos de sequência que não se sobrepõem, em que cada um dos motivos tem de 9 a 36 resíduos de aminoácidos em que os motivos consistem em 4 a 6 tipos de aminoácidos selecionados a partir de glicina (G), alanina (A), serina (S), treonina (T), glutamato (E) e prolina (P), e em que o teor de qualquer tipo de aminoácido no XTEN de comprimento total não exceda 30%. Noutras formas de realização, pelo menos cerca de 90% da sequência de XTEN consiste em motivos de sequência que não se sobrepõem, em que cada um dos motivos tem 12 resíduos de aminoácidos que consistem em 4 a 6 tipos de aminoácidos selecionados a partir de glicina (G), alanina (A), serina (S), treonina (T), glutamato (E) e prolina (P), e em que o teor de qualquer tipo de aminoácido no XTEN de comprimento total não exceda 30%. Ainda noutras formas de realização, pelo menos cerca de 90%, ou cerca de 91%, ou cerca de 92%, ou cerca de 93%, ou cerca de 94%, ou cerca de 95%, ou cerca de 96%, ou cerca de 97%, ou cerca de 98%, ou cerca de 99%, a cerca de 100% da sequência de XTEN consiste em motivos de sequência que não se sobrepõem, em que cada um dos motivos tem 12 resíduos de aminoácidos que consistem em glicina (G), alanina (A), serina (S), treonina (T), glutamato (E) e prolina (P), e em que o teor de qualquer tipo de aminoácido no XTEN de comprimento total não exceda 30%.

Ainda noutras formas de realização, XTENs compreendem sequências não repetitivas de mais do que cerca de 100 a cerca de 3000 resíduos de aminoácidos, preferentemente mais do que 400 a cerca de 3000 resíduos de aminoácidos em que pelo menos cerca de 80%, ou pelo menos cerca de 90%, ou cerca de 91%, ou cerca de 92%, ou cerca de 93%, ou cerca de 94%, ou cerca de 95%, ou cerca de 96%, ou cerca de 97%, ou cerca de 98%, ou cerca de 99% da sequência consiste em motivos de sequência que não se sobrepõem de 9 a 14 resíduos de aminoácidos em que os motivos consistem em 4 a

6 tipos de aminoácidos selecionados a partir de glicina (G), alanina (A), serina (S), treonina (T), glutamato (E) e prolina (P), e em que a sequência de quaisquer dois resíduos de aminoácidos contíguos em qualquer um motivo não é repetida mais de duas vezes no motivo da sequência. Noutras formas de realização, pelo menos cerca de 90%, ou cerca de 91%, ou cerca de 92%, ou cerca de 93%, ou cerca de 94%, ou cerca de 95%, ou cerca de 96%, ou cerca de 97%, ou cerca de 98%, ou cerca de 99% de uma sequência de XTEN consiste em motivos de sequência que não se sobrepõem de 12 resíduos de aminoácidos em que os motivos consistem em 4 a 6 tipos de aminoácidos selecionados a partir de glicina (G), alanina (A), serina (S), treonina (T), glutamato (E) e prolina (P), e em que a sequência de quaisquer dois resíduos de aminoácidos contíguos em qualquer um motivo de sequência não é repetida mais de duas vezes no motivo da sequência. Noutras formas de realização, pelo menos cerca de 90%, ou cerca de 91%, ou cerca de 92%, ou cerca de 93%, ou cerca de 94%, ou cerca de 95%, ou cerca de 96%, ou cerca de 97%, ou cerca de 98%, ou cerca de 99% de uma sequência de XTEN consiste em motivos de sequência que não se sobrepõem de 12 resíduos de aminoácidos em que os motivos consistem em glicina (G), alanina (A), serina (S), treonina (T), glutamato (E) e prolina (P), e em que a sequência de quaisquer dois resíduos de aminoácidos contíguos em qualquer um motivo de sequência não é repetida mais de duas vezes no motivo da sequência. Ainda noutras formas de realização, os XTENs consistem em 12 motivos de sequência de aminoácidos em que os aminoácidos são selecionados a partir de glicina (G), alanina (A), serina (S), treonina (T), glutamato (E) e prolina (P), e em que a sequência de quaisquer dois resíduos de aminoácidos contíguos em qualquer um motivo de sequência não é repetida mais de duas vezes no motivo da sequência, e em que o teor de qualquer um tipo de aminoácido no XTEN de comprimento completo não

excede 30%. Nas formas de realização anteriores acima no presente documento descritas neste parágrafo, as sequências de XTEN seriam substancialmente não repetitivas.

Em algumas formas de realização, as composições compreendem sequências de XTEN não repetitivas de mais do que cerca de 100 a cerca de 3000 resíduos de aminoácidos, de cumulativamente mais do que 400 a cerca de 3000 resíduos, em que pelo menos cerca de 80%, ou pelo menos cerca de 90%, ou cerca de 91%, ou cerca de 92%, ou cerca de 93%, ou cerca de 94%, ou cerca de 95%, ou cerca de 96%, ou cerca de 97%, ou cerca de 98%, ou cerca de 99% a cerca de 100% da sequência consiste em múltiplas unidades de dois ou mais motivos de sequência que não se sobrepõem selecionados a partir das sequências de aminoácidos do Quadro 2. Em algumas formas de realização, o XTEN compreende motivos de sequência que não se sobrepõem em que cerca de 80%, ou pelo menos cerca de 90%, ou cerca de 91%, ou cerca de 92%, ou cerca de 93%, ou cerca de 94%, ou cerca de 95%, ou cerca de 96%, ou cerca de 97%, ou cerca de 98%, ou cerca de 99% a cerca de 100% da sequência consiste em duas ou mais sequências que não se sobrepõem selecionadas a partir uma única família de motivos do Quadro 2, resultando em uma sequência "familiar" na qual a sequência geral permanece substancialmente não repetitiva. Consequentemente, nestas formas de realização, uma sequência XTEN compreende múltiplas unidades de motivos de sequência que não se sobrepõem da família de motivos AD, ou da família de motivos AE, ou da família de motivos AF, ou da família de motivos AG, ou da família de motivos AM, ou da família de motivos AQ, ou a família de motivos BC, ou a família de motivos BD das sequências do Quadro 2. Noutras formas de realização, O XTEN compreende sequências de motivos de duas ou mais das famílias motivo do Quadro 2.

Quadro 2: Motivos de sequência de XTEN de 12 aminoácidos e famílias de motivos

Família de motivos*	SEQUÊNCIA DE MOTIVOS
AD	GESPGGSSGSES
AD	GSEGSSGPGESS
AD	GSSESGSSEGGP
AD	GSGGEPSESGSS
AE, AM	GSPAGSPTSTEE
AE, AM, AQ	GSEPATSGSETP
AE, AM, AQ	GTSESATPESGP
AE, AM, AQ	GTSTEPSEGSAP
AF, AM	GSTSESPSGTAP
AF, AM	GTSTPESGSASP
AF, AM	GTSPSGESSTAP
AF, AM	GSTSSTAESPGP
AG, AM	GTPGSGTASSSP
AG, AM	GSSTPSGATGSP
AG, AM	GSSPSASTGTGP
AG, AM	GASPGTSSTGSP
AQ	GEPAGSPTSTSE
AQ	GTGEPSSTPASE
AQ	GSGPSTESAPTE
AQ	GSETPSGPSETA
AQ	GPSETSTSEPGA
AQ	GSPSEPTEGTSA
BC	GSGASEPTSTEP
BC	GSEPATSGTEPS
BC	GTSEPSTSEPGA
BC	GTSTEPSEPGSA
BD	GSTAGSETSTEA
BD	GSETATSGSETA
BD	GTSESATSESGA
BD	GTSTEASEGSAS

* Denota sequências de motivos individuais que, quando utilizadas juntamente em várias permutas, resulta numa "família se sequência"

Noutras formas de realização, a composição de GHXTEN compreende uma sequência de XTEN não repetitiva de mais do que cerca de 100 a cerca de 3000 resíduos de aminoácidos, preferentemente mais do que 400 a cerca de 3000 resíduos, em que pelo menos cerca de 80%, ou pelo menos cerca de 90%, ou cerca de 91%, ou cerca de 92%, ou cerca de 93%, ou cerca de 94%, ou cerca de 95%, ou cerca de 96%, ou cerca de 97%, ou cerca de 98%, ou cerca de 99% a cerca de 100% da sequência consiste em motivos de sequência de 36 aminoácidos que não se sobrepõem selecionados a partir de uma ou mais sequências de polipéptidos dos Quadros 8-11.

Nessas formas de realização em que o componente XTEN da proteína de fusão GHXTEN tem menos de 100% de seus aminoácidos consistindo em quatro a seis aminoácidos selecionados a partir de glicina (G), alanina (A), serina (S), treonina (T), glutamato (E) e prolina (P), ou menos do que 100% da sequência consistindo nos motivos de sequência do Quadro 2, ou menos do que 100% da identidade de sequência com um XTEN do Quadro 3, os outros resíduos de aminoácidos são selecionados de qualquer outro dos 14 L-aminoácidos naturais, mas são preferentemente selecionados a partir de aminoácidos hidrofílicos de tal modo que a sequência XTEN contenha pelo menos cerca de 90%, ou pelo menos cerca de 91%, ou pelo menos cerca de 92%, ou pelo menos cerca de 93%, ou pelo menos cerca de 94%, ou pelo menos cerca de 95%, ou pelo menos cerca de 96%, ou pelo menos cerca de 96%, ou pelo menos cerca de 97%, ou pelo menos cerca de 98% ou pelo menos cerca de 99% de aminoácidos hidrofílicos. Os aminoácidos XTEN que não são glicina (G), alanina (A), serina (S), treonina (T), glutamato (E) e prolina (P) são intercaladas ao longo da

sequência XTEN, estão localizados dentro ou entre os motivos da sequência ou estão concentrados em um ou mais trechos curtos da sequência XTEN. Em tais casos em que o componente XTEN do GHXTEN compreende aminoácidos diferentes da glicina (G), alanina (A), serina (S), treonina (T), glutamato (E) e prolina (P), é preferido que os aminoácidos não sejam resíduos hidrofóbicos e não devem conferir substancialmente a estrutura secundária do componente XTEN. Os resíduos hidrofóbicos que são menos favorecidos na construção do XTEN incluem triptofano, fenilalanina, tirosina, leucina, isoleucina, valina e metionina. Adicionalmente, pode-se projetar as sequências XTEN para conter poucos (por exemplo, menos de 5%) ou nenhum dos seguintes aminoácidos: cisteína (para evitar a formação de dissulfureto e oxidação), metionina (para evitar oxidação), asparagina e glutamina (para evitar desamidação). Assim, em algumas formas de realização, o componente XTEN da proteína de fusão GHXTEN compreendendo outros aminoácidos, para além da glicina (G), alanina (A), serina (S), treonina (T), glutamato (E) e prolina (P) teriam uma sequência com menos de 5% dos resíduos que contribuem para alfa hélices e folhas beta, conforme medido pelo algoritmo de Chou-Fasman e com pelo menos 90%, ou pelo menos cerca de 95 % ou mais formação de espirais aleatórias medida pelo algoritmo de GOR.

3. Comprimento de Sequência

Noutro aspeto da presente invenção, a invenção abrange composições de GHXTEN compreendendo transportadores de polipéptidos de XTEN com sequências de comprimento prolongado. A presente invenção utiliza a descoberta de que o aumento do comprimento de polipéptidos não-repetitivos e não estruturados aumenta a natureza não estruturada dos XTENs e aumenta de forma correspondente as propriedades biológicas e farmacocinéticas das proteínas de fusão compreendendo o transportador de XTEN. Conforme descrito

mais completamente nos Exemplos, aumentos proporcionais no comprimento do XTEN, mesmo se criado por uma ordem de repetição fixa de motivos de sequência de família única (por exemplo, os quatro motivos AE do Quadro 2), resultam em uma sequência com maior percentagem de formação de espirais aleatórias, conforme determinado pelo algoritmo de GOR, em comparação com os comprimentos de XTEN mais curtos. No geral, aumentando o comprimento do parceiro de fusão de polipéptido não estruturado, conforme descrito nos Exemplos, resulta em uma proteína de fusão com um aumento desproporcional na semivida terminal em comparação com proteínas de fusão com parceiros de polipéptidos não estruturados com comprimentos de sequência mais curtos.

Exemplos não limitativos de XTEN contemplados para inclusão no GHXTEN da invenção são apresentados no Quadro 3. Numa forma de realização, a divulgação proporciona composições de GHXTEN em que o comprimento da sequência de XTEN da(s) proteína(s) de fusão é superior a cerca de 100 a cerca de 3000 resíduos de aminoácidos e, em alguns casos, é superior a 400 a cerca de 3000 resíduos de aminoácidos, em que o XTEN confere propriedades farmacocinéticas melhoradas no GHXTEN em comparação com a GH não ligada ao XTEN. Em algumas formas de realização, As sequências XTEN das composições GHXTEN podem ter cerca de 100, ou cerca de 144, ou cerca de 288, ou cerca de 401, ou cerca de 500, ou cerca de 600, ou cerca de 700, ou cerca de 800, ou cerca de 900, ou cerca de 1000, ou cerca de 1500, ou cerca de 2000, ou cerca de 2500, ou até cerca de 3000 resíduos de aminoácidos de comprimento. Em outros casos, as sequências de XTEN podem ter de 100 a 150, de cerca de 150 a 250, de cerca de 250 a 400, de 401 a cerca de 500, de cerca de 500 a 900, de cerca de 900 a 1500, de cerca de 1500 a 2000, ou de cerca de 2000 a cerca de 3000 resíduos de aminoácidos de comprimento. Numa forma de realização, o GHXTEN pode compreender uma sequência XTEN em que a sequência exibe

pelo menos cerca de 80% de identidade de sequência, ou, alternativamente, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% ou 100% de identidade de sequência com um XTEN selecionado a partir do Quadro 3. Em algumas formas de realização, a sequência XTEN foi concebida para expressão otimizada como o componente N-terminal do GHXTEN pela inclusão de nucleótidos de codificação para uma sequência líder N-terminal otimizada (NTS) na porção XTEN do gene que codifica a proteína de fusão. Numa forma de realização, a sequência XTEN N-terminal do GHXTEN expresso tem pelo menos 90% de identidade de sequência para a sequência de AE48 ou AM48, AE624 ou AE912 ou AM923. Noutra forma de realização, O XTEN tem os resíduos N-terminais descritos nos Exemplos 14-17.

Noutras formas de realização, a proteína de fusão GHXTEN compreende uma primeira e uma segunda sequência XTEN, em que o total cumulativo dos resíduos nas sequências XTEN é superior a cerca de 400 a cerca de 3000 resíduos de aminoácidos. Nas formas de realização do anterior, a proteína de fusão GHXTEN compreende uma primeira e uma segunda sequência XTEN em que as sequências exibem cada uma pelo menos cerca de 80% de identidade de sequência ou, em alternativa, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% ou 100% de identidade de sequência com pelo menos um ou adicionalmente um segundo XTEN selecionado a partir do Quadro 3. Exemplos em que mais de um XTEN é utilizado numa composição GHXTEN incluem, mas não se limitam a construções com um XTEN ligado a ambos os terminais N e C de pelo menos um GH.

Conforme descrito mais completamente abaixo, a invenção fornece métodos em que o GHXTEN é concebido selecionando o comprimento do XTEN para conferir uma semivida alvo sobre uma proteína de fusão administrada a um indivíduo. No geral, O comprimento de XTEN é mais longo do

que os 400 resíduos cumulativos incorporados nas composições de GHXTEN resultam em semivida mais longa em comparação com comprimentos cumulativos mais curtos; por exemplo, mais curtos que cerca de 280 resíduos. Contudo, noutra forma de realização, As proteínas de fusão GHXTEN são concebidas para compreender XTEN com um comprimento de sequência mais longo que é selecionado para conferir adicionalmente taxas mais lentas de absorção sistémica após administração subcutânea ou intramuscular a um indivíduo. Em tais formas de realização, o C_{max} é reduzido em comparação com uma dose comparável de uma GH não ligada a XTEN, contribuindo assim para a capacidade de manter o GHXTEN dentro da janela terapêutica para a composição. Assim, O XTEN confere a propriedade de um depósito ao GHXTEN administrado, além das outras propriedades físicas/químicas descritas no presente documento.

Quadro 3: Polipéptidos de XTEN

Nome de XTEN	Sequência de aminoácidos
AE48	MAEPAGSPTSTEEGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGS
AM48	MAEPAGSPTSTEEGASPGTSSTGSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGS
AE144	GSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGSEP ATSGSETPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSG SETPGTSTEPSEGSAP
AF144	GTSTPESGSASPGTSPSGESSTAPGTSPSGESSTAPGSTSSTAESPGPGSTSESPSGTAPGSTSS TAESPGPGTSPSGESSTAPGTSTPESGSASPGSTSSTAESPGPGTSPSGESSTAPGTSPSGESST APGTSPSGESSTAP
AE288	GTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTST EPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPT STEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGP GSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEP ATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAP
AF504	GASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSXP SASTGTGPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGASPGTS STGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSS PGSSTPSGATGSPGSXPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGA SPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGT SSTGSPGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTG SPGASPGTSSTGSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGS STPSGATGSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSP
AF540	GSTSSTAESPGPGSTSSTAESPGPGSTSESPSGTAPGSTSSTAESPGPGSTSSTAESPGPGTSTP ESGSASPGSTSESPSGTAPGTSPSGESSTAPGSTSESPSGTAPGSTSESPSGTAPGTSPSGESST APGSTSESPSGTAPGSTSESPSGTAPGTSPSGESSTAPGSTSESPSGTAPGSTSESPSGTAPGS TSESPSGTAPGTSTPESGSASPGSTSESPSGTAPGTSTPESGSASPGSTSSTAESPGPGSTSSTA ESPGPGTSTPESGSASPGTSTPESGSASPGSTSESPSGTAPGTSTPESGSASPGTSTPESGSASP GSTSESPSGTAPGSTSESPSGTAPGSTSESPSGTAPGSTSSTAESPGPGTSTPESGSASPGTSTP ESGSASPGSTSESPSGTAPGSTSESPSGTAPGTSTPESGSASPGSTSESPSGTAPGSTSESPSGT APGTSTPESGSASPGTSPSGESSTAPGSTSSTAESPGPGTSPSGESSTAPGSTSSTAESPGPGT STPESGSASPGSTSESPSGTAP

AD576	GSSESGSSEGGPGSGGEPSESGSSGSSESGSSEGGPGSSESGSSEGGPGSSESGSSEGGPGSSE SGSSEGGPGSSESGSSEGGPGESPGGSSGSESGSEGSSGPGESSGSSESGSSEGGPGSSESGSS EGGPGSSESGSSEGGPGSGGEPSESGSSGESPGGSSGSESGESPGGSSGSESGSGGEPSESGS SGSSESGSSEGGPGSGGEPSESGSSGSGGEPSESGSSGSEGSSGPGESSGESPGGSSGSESGSG GEPSESGSSGSGGEPSESGSSGSGGEPSESGSSGSSESGSSEGGPGESPGGSSGSESGESPGGS SGSESGESPGGSSGSESGESPGGSSGSESGESPGGSSGSESGSSESGSSEGGPGSGGEPSESGS SGSEGSSGPGESSGSSESGSSEGGPGSGGEPSESGSSGSSESGSSEGGPGSGGEPSESGSSGES PGGSSGSESGESPGGSSGSESGSSESGSSEGGPGSGGEPSESGSSGSSESGSSEGGPGSGGEPS ESGSSGSGGEPSESGSSGESPGGSSGSESGSEGSSGPGESSGSSESGSSEGGPGSEGSSGPGES S
AE576	GSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTST EPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSESATP ESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAP GTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTST EPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSG SETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAP GTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEP ATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATP ESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAP
AF576	GSTSSTAESPGPGSTSSTAESPGPGSTSESPSGTAPGSTSSTAESPGPGSTSSTAESPGPGTSTP ESGSASPGSTSESPSGTAPGTSPSGESSTAPGSTSESPSGTAPGSTSESPSGTAPGTSPSGESST APGSTSESPSGTAPGSTSESPSGTAPGTSPSGESSTAPGSTSESPSGTAPGSTSESPSGTAPGS TSESPSGTAPGTSTPESGSASPGSTSESPSGTAPGTSTPESGSASPGSTSSTAESPGPGSTSSTA ESPGPGTSTPESGSASPGTSTPESGSASPGSTSESPSGTAPGTSTPESGSASPGTSTPESGSASP GSTSESPSGTAPGSTSESPSGTAPGSTSESPSGTAPGSTSSTAESPGPGTSTPESGSASPGTSTP ESGSASPGSTSESPSGTAPGSTSESPSGTAPGTSTPESGSASPGSTSESPSGTAPGSTSESPSGT APGTSTPESGSASPGTSPSGESSTAPGSTSSTAESPGPGTSPSGESSTAPGSTSSTAESPGPGT STPESGSASPGSTSESPSGTAPGSTSSTAESPGPGTSTPESGSASPGTSTPESGSASP

AE624	MAEPAGSPTSTEEGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGSPAGSPTSTEEGT SESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESA TPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGS APGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGT STEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESA TPESGPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPES GPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGT STEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESA TPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSPAGSPTST EEGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAP
AD836	GSSESGSSEGGPGSSESGSSEGGPGESPGGSSGSESGSGGEPSESGSSGESPGGSSGSESGESP GGSSGSESGSSESGSSEGGPGSSESGSSEGGPGSSESGSSEGGPGESPGGSSGSESGESPGGSS GSESGESPGGSSGSESGSSESGSSEGGPGSSESGSSEGGPGSSESGSSEGGPGSSESGSSEGGP GSSESGSSEGGPGSSESGSSEGGPGSGGEPSESGSSGESPGGSSGSESGESPGGSSGSESGSG GEPSESGSSGSEGSSGPGESSGSSESGSSEGGPGSGGEPSESGSSGSEGSSGPGESSGSSESGS SEGGPGSGGEPSESGSSGESPGGSSGSESGSGGEPSESGSSGSGGEPSESGSSGSSESGSSEG GPGSGGEPSESGSSGSGGEPSESGSSGSEGSSGPGESSGESPGGSSGSESGSEGSSGPGESSGS EGSSGPGESSGSGGEPSESGSSGSSESGSSEGGPGSSESGSSEGGPGESPGGSSGSESGSGGE PSESGSSGSEGSSGPGESSGESPGGSSGSESGSEGSSGPGSSESGSSEGGPGSGGEPSESGSSG SEGSSGPGESSGSEGSSGPGESSGSEGSSGPGESSGSGGEPSESGSSGSGGEPSESGSSGESPG GSSGSESGESPGGSSGSESGSGGEPSESGSSGSEGSSGPGESSGESPGGSSGSESGSSESGSSE GGPGSSESGSSEGGPGSSESGSSEGGPGSGGEPSESGSSGSSESGSSEGGPGESPGGSSGSES
	GSGGEPSESGSSGSSESGSSEGGPGESPGGSSGSESGSGGEPSESGSSGESPGGSSGSESGSG GEPSESGSS

AE864	GSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTST EPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTST ESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAP GTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTST EPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSG SETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAP GTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEP ATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATP ESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAP GTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTST EPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPT STEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGP GSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEP ATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAP
AF864	GSTSESPSGTAPGTSPSGESSTAPGSTSESPSGTAPGSTSESPSGTAPGTSTPESGSASPGTSTP ESGSASPGSTSESPSGTAPGSTSESPSGTAPGTSPSGESSTAPGSTSESPSGTAPGTSPSGESST APGTSPSGESSTAPGSTSSTAESPGPGTSPSGESSTAPGTSPSGESSTAPGSTSSTAESPGPGT STPESGSASPGTSTPESGSASPGSTSESPSGTAPGSTSESPSGTAPGTSTPESGSASPGSTSSTA ESPGPGTSTPESGSASPGSTSESPSGTAPGTSPSGESSTAPGSTSSTAESPGPGTSPSGESSTAP GTSTPESGSASPGSTSSTAESPGPGSTSSTAESPGPGSTSSTAESPGPGTSPS GESSTAPGSTSESPSGTAPGSTSESPSGTAPGTSTPESGPXXXGASASGAPSTXXXXSESPSG TAPGSTSESPSGTAPGSTSESPSGTAPGSTSESPSGTAPGSTSESPSGTAPG TSTPESGSASPGTSPSGESSTAPGTSPSGESSTAPGSTSSTAESPGPGTSPSGESSTAPGTSTPE SGSASPGSTSESPSGTAPGSTSESPSGTAPGTSPSGESSTAPGSTSESPSGTAPGTSTPESGSAS PGTSTPESGSASPGSTSESPSGTAPGTSTPESGSASPGSTSSTAESPGPGSTSESPSGTAPGSTS ESPSGTAPGTSPSGESSTAPGSTSSTAESPGPGTSPSGESSTAPGTSTPESGSASPGTSPSGESS TAPGTSPSGESSTAPGTSPSGESSTAPGSTSSTAESPGPGSTSSTAESPGPGTSPSGESSTAPG SSPSASTGTGPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSP

AG864	GASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSP SASTGTGPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGASPGTS STGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSS PGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGAS PGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTS STGSPGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGS PGASPGTSSTGSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSS TPSGATGSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGASPGT SSTGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTG SPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGS STPSGATGSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGTPGS GTASSSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGASPGTSST GSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPG SSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSP
AM875	GTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGSTSSTAESPGPGTSTPESGSASPGSTS ESPSGTAPGSTSESPSGTAPGTSTPESGSASPGTSTPESGSASPGSEPATSGSETPGTSESATP ESGPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAP GSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTST EPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGSPAGSPT STEEGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAP GSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGASASGAPSTGGTSES ATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSTSSTAESPGPGSTSESPSGTAPGTSPSGESS TAPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPG SEPATSGSETPGSTSSTAESPGPGSTSSTAESPGPGTSPSGESSTAPGSEPATSGSETPGSEPA TSGSETPGTSTEPSEGSAPGSTSSTAESPGPGTSTPESGSASPGSTSESPSGTAPGTSTEPSEGS APGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGS EPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGASPGT SSTGSPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAP
AE912	MAEPAGSPTSTEEGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGSPAGSPTSTEEGT

	SESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESA TPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGS APGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGT STEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESA TPESGPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPES GPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGT STEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESA TPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSPAGSPTST EEGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGS EPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGS PTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTST EEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGS EPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGTSESA TPESGPGTSTEPSEGSAP
AM923	MAEPAGSPTSTEEGASPGTSSTGSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGTSTEPSEGSAPGS EPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGSTSSTAESPGPGTSTPESGSASPGSTSESPSGTAPGSTSESP SGTAPGTSTPESGSASPGTSTPESGSASPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTE EGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTS TEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPS EGSAPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGSSTPSGATGS PGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGSP AGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGASASGAPSTGGTSESATPESGPGSPAGSP TSTEEGSPAGSPTSTEEGSTSSTAESPGPGSTSESPSGTAPGTSPSGESSTAPGTPGSGTASSS PGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGST SSTAESPGPGSTSSTAESPGPGTSPSGESSTAPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGTSTEPSE GSAPGSTSSTAESPGPGTSTPESGSASPGSTSESPSGTAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAP GTSTEPSEGSAPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGSEPATSGSETPGTSE SATPESGPGSPAGSPTSTEEGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGTSESATP ESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAP

AM1318	GTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGSTSSTAESPGPGTSTPESGSASPGSTS ESPSGTAPGSTSESPSGTAPGTSTPESGSASPGTSTPESGSASPGSEPATSGSETPGTSESATP ESGPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAP GSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTST EPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGSPAGSPT STEEGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAP GSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGPEPTGPAPSGGSEPA TSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTS TEEGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSTSSTAESPGPGSTSESPSGTAPG TSPSGESSTAPGSTSESPSGTAPGSTSESPSGTAPGTSPSGESSTAPGTSTEPSEGSAPGTSESA TPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSTEPSEGS APGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSPSGESSTAPGTSPSGESSTAPGTSPSGESSTAPGT STEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGSSPSASTGTGPGSSTPSGATGSPGSSTPS GATGSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGASASGAPSTGGTSPSGESST APGSTSSTAESPGPGTSPSGESSTAPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGS SPSASTGTGPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGTSTPESGSASPGTSPSGESSTAPGTSPSG ESSTAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGSTSESPSGTAPGSTSESPSGT APGTSTPESGSASPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGT SESATPESGPGSEPATSGSETPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGSSTPSGATGSPGSTSES PSGTAPGTSPSGESSTAPGSTSSTAESPGPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASS SPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAP
BC 864	GTSTEPSEPGSAGTSTEPSEPGSAGSEPATSGTEPSGSGASEPTSTEPGSEPATSGTEPSGSEP ATSGTEPSGSEPATSGTEPSGSGASEPTSTEPGTSTEPSEPGSAGSEPATSGTEPSGTSTEPSE PGSAGSEPATSGTEPSGSEPATSGTEPSGTSTEPSEPGSAGTSTEPSEPGSAGSEPATSGTEPS GSEPATSGTEPSGTSEPSTSEPGAGSGASEPTSTEPGTSEPSTSEPGAGSEPATSGTEPSGSEP ATSGTEPSGTSTEPSEPGSAGTSTEPSEPGSAGSGASEPTSTEPGSEPATSGTEPSGSEPATSG TEPSGSEPATSGTEPSGSEPATSGTEPSGTSTEPSEPGSAGSEPATSGTEPSGSGASEPTSTEP GTSTEPSEPGSAGSEPATSGTEPSGSGASEPTSTEPGTSTEPSEPGSAGSGASEPTSTEPGSEP ATSGTEPSGSGASEPTSTEPGSEPATSGTEPSGSGASEPTSTEPGTSTEPSEPGSAGSEPATSG TEPSGSGASEPTSTEPGTSTEPSEPGSAGSEPATSGTEPSGTSTEPSEPGSAGSEPATSGTEPS
	GTSTEPSEPGSAGTSTEPSEPGSAGTSTEPSEPGSAGTSTEPSEPGSAGTSTEPSEPGSAGTST EPSEPGSAGTSEPSTSEPGAGSGASEPTSTEPGTSTEPSEPGSAGTSTEPSEPGSAGTSTEPSE PGSAGSEPATSGTEPSGSGASEPTSTEPGSEPATSGTEPSGSEPATSGTEPSGSEPATSGTEPS GSEPATSGTEPSGTSEPSTSEPGAGSEPATSGTEPSGSGASEPTSTEPGTSTEPSEPGSAGSEP ATSGTEPSGSGASEPTSTEPGTSTEPSEPGSA

BD664	GSETATSGSETAGTSESATSESGAGSTAGSETSTEAGTSESATSESGAGSETATSGSETAGS ETATSGSETAGTSTEASEGSASGTSTEASEGSASGTSESATSESGAGSETATSGSETAGTSTE ASEGSASGSTAGSETSTEAGTSESATSESGAGTSESATSESGAGSETATSGSETAGTSESATS ESGAGTSTEASEGSASGSETATSGSETAGSETATSGSETAGTSTEASEGSASGSTAGSETST EAGTSESATSESGAGTSTEASEGSASGSETATSGSETAGSTAGSETSTEAGSTAGSETSTEA GSETATSGSETAGTSESATSESGAGTSESATSESGAGSETATSGSETAGTSESATSESGAGTS ESATSESGAGSETATSGSETAGSETATSGSETAGTSTEASEGSASGSTAGSETSTEAGSETA TSGSETAGTSESATSESGAGSTAGSETSTEAGSTAGSETSTEAGSTAGSETSTEAGTSTEASE GSASGSTAGSETSTEAGSTAGSETSTEAGTSTEASEGSASGSTAGSETSTEAGSETATSGSE TAGTSTEASEGSASGTSESATSESGAGSETATSGSETAGTSESATSESGAGTSESATSESGA GSETATSGSETAGTSESATSESGAGSETATSGSETAGTSTEASEGSASGTSTEASEGSASGST AGSETSTEAGSTAGSETSTEAGSETATSGSETAGTSESATSESGAGTSESATSESGAGSETA TSGSETAGSETATSGSETAGSETATSGSETAGTSTEASEGSASGTSESATSESGAGSETATS GSETAGSETATSGSETAGTSESATSESGAGTSESATSESGAGSETATSGSETA

4. Segmentos de XTEN

Numa forma de realização, a divulgação proporciona uma proteína de fusão GHXTEN isolada em que o comprimento cumulativo do componente XTEN é superior a cerca de 100 a cerca de 3000 resíduos de aminoácidos contendo pelo menos um segmento de sequência de polipéptido selecionado a partir dos Quadros 3, 8, 9, 10, 11 e 12 e em que pelo menos cerca de 90%, ou pelo menos cerca de 91%, ou pelo menos cerca de 92%, ou pelo menos cerca de 93%, ou pelo menos cerca de 94%, ou pelo menos cerca de 95%, ou pelo menos cerca de 96%, ou pelo menos cerca de 97%, ou pelo menos cerca de 98% ou mais do resto da sequência XTEN contém, em geral, aminoácidos hidrofílicos e menos de cerca de 2% do restante do XTEN consiste em aminoácidos hidrofóbicos ou aromáticos, ou cisteína. Em algumas formas de realização, o XTEN contém múltiplos segmentos em que os segmentos são idênticos ou diferentes. Noutra forma de realização, a divulgação proporciona uma proteína de fusão GHXTEN isolada em que o comprimento cumulativo do componente XTEN é superior a cerca de 100 a cerca de 3000 resíduos de aminoácidos e compreende pelo menos um segmento de sequência de pelo menos cerca de 100 a cerca de 923, ou de pelo menos cerca de 100 a cerca de 875, ou de pelo menos cerca de 100 a cerca de 576, ou de pelo menos cerca de 100 a cerca de 288 ou de pelo menos cerca de 100 a cerca de 144 resíduos de aminoácidos, em que o(s) segmento(s) de sequência consiste(m) em pelo menos três tipos diferentes de aminoácidos e a soma de resíduos de glicina (G), alanina (A), serina (S), treonina (T), glutamato (E) e prolina (P) no(s) segmento(s) de sequência constituem pelo menos cerca de 90%, ou pelo menos cerca de 91%, ou pelo menos cerca de 92%, ou pelo menos cerca de 93%, ou pelo menos cerca de 94 %, ou pelo menos cerca de 95%, ou pelo menos cerca de 96%, ou pelo menos cerca de 97%, ou pelo menos cerca de 98%, ou pelo menos cerca de 99% da sequência de aminoácidos total

do segmento de sequência e pelo menos cerca de 90%, ou pelo menos cerca de 91%, ou pelo menos cerca de 92%, ou pelo menos cerca de 93%, ou pelo menos cerca de 94%, ou pelo menos cerca de 95%, ou pelo menos cerca de 96%, ou pelo menos cerca de 97 %, ou pelo menos cerca de 98% do restante da(s) sequência(s) de XTEN consistem em aminoácidos hidrofílicos e menos do que cerca de 2% do restante da(s) sequência(s) de XTEN de consiste em aminoácidos hidrofóbicos ou aromáticos ou cisteína. Noutra forma de realização, a divulgação proporciona uma proteína de fusão GHXTEN isolada em que o comprimento cumulativo do componente XTEN é superior a cerca de 100 a cerca de 3000 resíduos de aminoácidos e compreende pelo menos um segmento de sequência de pelo menos cerca de 200 a cerca de 923, ou de pelo menos cerca de 200 a cerca de 875, ou de pelo menos cerca de 200 a cerca de 576, ou de pelo menos cerca de 200 a cerca de 288 resíduos de aminoácidos, em que o(s) segmento(s) de sequência consiste(m) na soma de resíduos de glicina (G), alanina (A), serina (S), treonina (T), glutamato (E) e prolina (P) no(s) segmento(s) de sequência constituem pelo menos cerca de 90%, ou pelo menos cerca de 91%, ou pelo menos cerca de 92%, ou pelo menos cerca de 93%, ou pelo menos cerca de 94%, ou pelo menos cerca de 95%, ou pelo menos cerca de 96%, ou pelo menos cerca de 97%, ou pelo menos cerca de 98%, ou pelo menos cerca de 99% da sequência de aminoácidos total do segmento de sequência e em que a pontuação de subsequência do segmento é inferior a 12, mais preferentemente inferior a 10, mais preferentemente inferior a 9, mais preferentemente inferior a 8, mais preferentemente inferior a 7, mais preferentemente inferior a 6 e o mais preferentemente inferior a 5 e pelo menos cerca de 90%, ou pelo menos cerca de 91%, ou pelo menos cerca de 92%, ou pelo menos cerca de 93%, ou pelo menos cerca de 94%, ou pelo menos cerca de 95%, ou pelo menos cerca de 96%, ou pelo menos cerca de

97%, ou pelo menos cerca de 98% ou mais do resto da sequência XTEN consiste em aminoácidos hidrofílicos e menos de cerca de 2% do restante da sequência de XTEN consiste em aminoácidos hidrofóbicos ou aromáticos ou cisteína.

5. Sequências que melhoram a expressão de XTEN N-terminal

Em algumas formas de realização, a divulgação fornece uma sequência XTEN de comprimento curto incorporada como a porção N-terminal da proteína de fusão GHXTEN. A expressão da proteína de fusão é aumentada numa célula hospedeira transformada com um vetor de expressão adequado compreendendo uma sequência polinucleotídica líder N-terminal otimizada (que codifica o XTEN N-terminal) incorporada no polinucleótido que codifica a proteína de fusão de ligação. Foi descoberto, conforme descrito nos Exemplos 14-17, que uma célula hospedeira transformada com um tal vetor de expressão compreendendo uma sequência líder N-terminal otimizada (NTS) no gene da proteína de fusão de ligação resulta em uma expressão muito aumentada da proteína de fusão em comparação com a expressão de uma proteína de fusão correspondente a partir de um polinucleótido não compreendendo o NTS, e evita a necessidade de incorporação de uma sequência líder não XTEN utilizada para aumentar a expressão. Numa forma de realização, a divulgação proporciona proteínas de fusão GHXTEN compreendendo um NTS em que a expressão da proteína de fusão de ligação do gene codificador numa célula hospedeira é aumentada cerca de 50%, ou cerca de 75%, ou cerca de 100%, ou cerca de 150% ou cerca de 200% ou cerca de 400% em comparação com a expressão de uma proteína de fusão GHXTEN que não compreende a sequência XTEN N-terminal (onde o gene codificador não possui NTS).

Numa forma de realização, o polipéptido XTEN N-terminal do GHXTEN compreende uma sequência que exibe pelo menos cerca de 80%, mais preferentemente pelo menos cerca de 90%, mais preferentemente pelo menos cerca de 91%, mais

preferentemente pelo menos cerca de 92%, mais preferentemente pelo menos cerca de 93%, mais preferentemente pelo menos cerca de 94%, mais preferentemente pelo menos cerca de 95%, mais preferentemente pelo menos cerca de 96%, mais preferentemente pelo menos cerca de 97%, mais preferentemente pelo menos cerca de 98%, mais preferentemente pelo menos 99%, ou exibe 100% de identidade de sequência para a sequência de aminoácidos de AE48 ou AM48, as respetivas sequências de aminoácidos são as seguintes:

AE48: MAEPAGSPTSTEEGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGS

AM48: MAEPAGSPTSTEEGASPGTSSTGSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGS

Noutra forma de realização, o XTEN N-terminal de comprimento curto está ligado a um XTEN de comprimento mais longo para formar a região N-terminal da proteína de fusão GHXTEN, em que a sequência polinucleotídica que codifica o XTEN N-terminal de comprimento curto confere a propriedade de expressão aumentada na célula hospedeira, e em que o comprimento longo do XTEN expresso contribui para as propriedades melhoradas do veículo XTEN na proteína de fusão, conforme descrito acima. No que precede, o XTEN de comprimento curto está ligado a qualquer um dos XTEN divulgados no presente documento (por exemplo, um XTEN do Quadro 3) e o XTEN resultante, por sua vez, está ligado ao N-terminal de qualquer um dos GH divulgados no presente documento (por exemplo, um GH do Quadro 1) como um componente da proteína de fusão. Alternativamente, os polinucleótidos que codificam o XTEN de comprimento curto (ou o seu complemento) estão ligados a polinucleótidos que codificam qualquer um dos XTEN (ou o seu complemento) divulgados no presente documento e o gene resultante que codifica o XTEN N-terminal, por sua vez, está ligado à extremidade 5 'dos polinucleótidos que codificam qualquer uma das GH (ou à extremidade 3' do seu complemento)

divulgadas no presente documento. Em algumas formas de realização, o polipéptido XTEN N-terminal com comprimento longo exibe pelo menos cerca de 80%, ou pelo menos cerca de 90%, ou pelo menos cerca de 91%, ou pelo menos cerca de 92%, ou pelo menos cerca de 93%, ou pelo menos cerca de 94%, ou pelo menos cerca de 95%, ou pelo menos cerca de 96%, ou pelo menos cerca de 97%, ou pelo menos cerca de 98%, ou pelo menos 99% ou exibe 100% de identidade de sequência para uma sequência de aminoácidos selecionada a partir do grupo que consiste nas sequências AE624, AE912 e AM923.

Em qualquer das formas de realização de XTEN N-terminais descritas acima, o XTEN N-terminal pode ter de cerca de um a cerca de seis resíduos de aminoácidos adicionais, preferentemente selecionados a partir de GESTPA, para acomodar os locais de restrição de endonuclease de restrição que seriam empregues para unir os nucleótidos que codificam o XTEN N-terminal ao gene que codifica a fração alvo da proteína de fusão. Os métodos para a geração das sequências N-terminais e a incorporação nas proteínas de fusão da invenção são descritos mais completamente nos Exemplos.

6. Carga líquida

Noutras formas de realização, os polipéptidos XTEN têm uma característica não estruturada conferida pela incorporação de resíduos de aminoácidos com uma carga líquida e/ou reduzindo a proporção de aminoácidos hidrofóbicos na sequência XTEN. A carga líquida global e a densidade de carga líquida são controladas modificando o teor de aminoácidos carregados nas sequências XTEN. Em algumas formas de realização, a densidade de carga líquida do XTEN das composições pode estar acima de +0,1 ou abaixo de -0,1 cargas/resíduo. Noutras formas de realização, a carga líquida de um XTEN pode ser de cerca de 0%, cerca de 1%, cerca de 2%, cerca de 3%, cerca de 4%, cerca de 5%,

cerca de 6%, cerca de 7%, cerca de 8%, cerca de 9%, cerca de 10% cerca de 11%, cerca de 12%, cerca de 13%, cerca de 14%, cerca de 15%, cerca de 16%, cerca de 17%, cerca de 18%, cerca de 19% ou cerca de 20% ou mais.

Uma vez que a maioria dos tecidos e superfícies em um ser humano ou animal tem uma carga negativa líquida, nalgumas formas de realização, as sequências XTEN são concebidas para ter uma carga negativa líquida para minimizar as interações não específicas entre as composições contendo XTEN e várias superfícies tais como vasos sanguíneos, tecidos saudáveis ou vários recetores. Sem estar ligado por uma teoria particular, o XTEN pode adotar conformações abertas devido à repulsão eletrostática entre aminoácidos individuais do polipéptido XTEN que carregam individualmente uma carga negativa líquida e que estão distribuídos através da sequência do polipéptido XTEN. Essa distribuição de carga negativa líquida nos comprimentos de sequência estendida de XTEN pode levar a uma conformação não estruturada que, por sua vez, pode resultar em um aumento efetivo do raio hidrodinâmico. Em formas de realização preferidas, a carga negativa é conferida pela incorporação de resíduos de ácido glutâmico. Consequentemente, numa forma de realização a invenção proporciona XTEN em que as sequências XTEN contêm cerca de 8, 10, 15, 20, 25 ou mesmo cerca de 30% de ácido glutâmico. No geral, os resíduos glutâmicos seriam espaçados uniformemente através da sequência XTEN. Em alguns casos, o XTEN pode conter cerca de 10-80 ou cerca de 15-60 ou cerca de 20-50 resíduos de resíduos glutâmicos por 20 kD de XTEN que podem resultar em um XTEN com resíduos carregados que teriam pKa muito similar, o que pode aumentar a homogeneidade da carga do produto e afiar seu ponto isoelétrico, aumentando as propriedades físico-químicas da proteína de fusão GHXTEN resultante por exemplo, simplificando procedimentos de purificação.

O XTEN das composições da presente invenção geralmente não possui ou tem um baixo teor de aminoácidos carregados positivamente. Em algumas formas de realização, o XTEN pode ter menos de cerca de 10% de resíduos de aminoácidos com uma carga positiva, ou menos de cerca de 7%, ou menos de cerca de 5%, ou menos de cerca de 2%, ou menos de cerca de 1% de resíduos de aminoácidos com uma carga positiva. Contudo, a invenção contempla construções onde um número limitado de aminoácidos com uma carga positiva, tal como lisina, são incorporados no XTEN para permitir a conjugação entre a épsilon amina da lisina e um grupo reativo em um péptido, uma ponte de ligação ou um grupo reativo em uma droga ou molécula pequena para ser conjugado com a estrutura principal de XTEN. Numa forma de realização do anteriormente mencionado, o XTEN tem entre cerca de 1 e cerca de 100 resíduos de lisina, ou de cerca de 1 a cerca de 70 resíduos de lisina, ou de cerca de 1 a cerca de 50 resíduos de lisina, ou de cerca de 1 a cerca de 30 resíduos de lisina, ou de cerca de 1 a cerca de 20 resíduos de lisina, ou de cerca de 1 a cerca de 10 resíduos de lisina, ou de cerca de 1 a cerca de 5 resíduos de lisina, ou alternativamente apenas um único resíduo de lisina. Utilizando o XTEN contendo lisina anterior, são construídas proteínas de fusão que compreendem XTEN, uma hormona do crescimento, mais uma agente quimioterapêutico útil no tratamento de doenças ou distúrbios relacionados com o crescimento, em que o número máximo de moléculas do agente incorporado no componente XTEN é determinado pelos números de lisinas ou outros aminoácidos com cadeias laterais reativas (por exemplo, cisteína) incorporadas no XTEN.

Em algumas formas de realização, a sequência de XTEN compreende resíduos carregados separados por outros resíduos tais como serina ou glicina, o que leva a uma melhor expressão ou comportamento de purificação. Com base na carga líquida, alguns XTEN têm um ponto isoelétrico (pI)

de 1,0, 1,5, 2,0, 2,5, 3,0, 3,5, 4,0, 4,5, 5,0, 5,5, 6,0 ou mesmo 6,5. Em formas de realização preferidas, o XTEN terá um ponto isoelétrico entre 1,5 e 4,5. Nestas formas de realização, o XTEN incorporado nas composições de proteína de fusão GHXTEN da presente invenção carrega uma carga negativa líquida sob condições fisiológicas que contribuem para a conformação não estruturada e redução da ligação do componente XTEN a proteínas e tecidos de mamíferos.

À medida que os aminoácidos hidrofóbicos conferem estrutura a um polipéptido, a invenção proporciona que o teor de aminoácidos hidrofóbicos no XTEN seja tipicamente inferior a 5%, ou inferior a 2% ou a inferior a 1% de teor de aminoácidos hidrofóbicos. Numa forma de realização, o teor de aminoácidos de metionina e triptofano no componente XTEN de uma proteína de fusão GHXTEN é tipicamente inferior a 5%, ou inferior a 2%, e mais preferentemente inferior a 1%. Noutra forma de realização, o XTEN terá uma sequência que tem menos de 10% de resíduos de aminoácidos com uma carga positiva, ou menos de cerca de 7%, ou menos de cerca de 5%, ou menos de cerca de 2% de resíduos de aminoácidos com uma carga positiva, a soma dos resíduos de metionina e triptofano será inferior a 2% e a soma dos resíduos de asparagina e glutamina será inferior a 10% da sequência XTEN total.

7. Baixa imunogenicidade

Noutro aspeto, a invenção proporciona composições em que as sequências XTEN têm um baixo grau de imunogenicidade ou são substancialmente não imunogénicas. Vários fatores podem contribuir para a baixa imunogenicidade do XTEN, por exemplo, a sequência não repetitiva, a conformação não estruturada, o alto grau de solubilidade, o baixo grau ou ausência de auto-agregação, o baixo grau ou falta de sítios proteolíticos dentro da sequência e o baixo grau ou falta de epítopos na sequência XTEN.

Os epítopos conformacionais são formados por regiões

da superfície da proteína que são compostas por múltiplas sequências de aminoácidos descontínuas do antigénio protéico. O dobradura precisa da proteína traz essas sequências para uma configuração espacial bem definida e estável, ou epítopos, que pode ser reconhecido como "estrangeiro" pelo sistema imunológico humoral do hospedeiro, resultando na produção de anticorpos para a proteína ou a ativação de uma resposta imune mediada por células. No último caso, a resposta imune a uma proteína em um indivíduo é fortemente influenciada pelo reconhecimento do epítopo de células T que é uma função da especificidade de ligação do péptido do alotipo HLA-DR desse indivíduo. O engajamento de um complexo peptídico MHC de classe II por um recetor de células T cognato na superfície da célula T, juntamente com a ligação cruzada de certos outros co-recetores, como a molécula CD4, pode induzir um estado ativado dentro da célula T. A ativação leva à libertação de citoquinas, além de ativar outros linfócitos tais como células B para produzir anticorpos ou ativar células T killer como resposta imune celular completa.

A capacidade de um péptido para ligar uma determinada molécula de Classe II de MHC para apresentação na superfície de uma APC (célula apresentadoras de antigénio) depende de uma série de fatores; de forma mais notável da sua sequência primária. Numa forma de realização, um menor grau de imunogenicidade é conseguido através do desenho de sequências de XTEN que resistem ao processamento de antigénio em células apresentadoras de antigénio, e/ou escolhendo sequências que não se ligam bem aos recetores de MHC. A invenção proporciona proteínas de fusão GHXTEN com polipéptidos XTEN substancialmente não repetitivos concebidos para reduzir a ligação com recetores MHC II, bem como evitando a formação de epítopos para o recetor de células T ou a ligação de anticorpos, resultou num baixo grau de imunogenicidade. Evitar a imunogenicidade é, em

parte, um resultado direto da flexibilidade conformacional das sequências XTEN; isto é, a ausência de estrutura secundária devido à seleção e ordem de resíduos de aminoácidos. Por exemplo, de interesse particular são as sequências com baixa tendência para adaptar conformações dobradas de forma compacta em solução aquosa ou em condições fisiológicas que podem resultar em epítopos conformacionais. A administração de proteínas de fusão compreendendo XTEN, utilizando práticas terapêuticas convencionais e dosagem, geralmente não resulta na formação de anticorpos neutralizantes para a sequência XTEN e também reduz a imunogenicidade do parceiro de fusão GH nas composições GHXTEN.

Numa forma de realização, as sequências XTEN utilizadas nas proteínas de fusão de objeto podem estar substancialmente isentas de epítopos reconhecidos por células T humanas. A eliminação de tais epítopos com a finalidade de gerar menos proteínas imunogênicas foi divulgada anteriormente; veja-se, por exemplo, o documento WO 98/52976, WO 02/079232 e WO 00/3317. Ensaios para epítopos de células T humanas foram descritos (Stickler, M., et al. (2003) J Immunol Methods, 281: 95-108). De particular interesse são as sequências de péptidos que podem ser oligomerizadas sem gerar epítopos de células T ou sequências não humanas. Isto é conseguido testando as repetições diretas dessas sequências para a presença de epítopos de células T e para a ocorrência de 6 a 15-meros e, em particular, Sequências de 9-mer que não são humanas, e depois alteram o design da sequência XTEN para eliminar ou interromper a sequência do epítopo. Em algumas formas de realização, as sequências XTEN são substancialmente não imunogénicas pela restrição do número de epítopos do XTEN predito para se ligar aos recetores MHC. Com uma redução no número de epítopos capazes de se ligar aos receptores de MHC, há uma redução concomitante no potencial de ativação

de células T, bem como na função auxiliar de células T, redução da ativação das células B ou regulação positiva e redução da produção de anticorpos. O baixo grau de epítopos de células T preditos pode ser determinado por algoritmos de predição de epítopos, tais como, por exemplo, TEPITOPE (Sturniolo, T., et al. (1999) Nat Biotechnol, 17: 555-61), conforme mostrado no Exemplo 45. A pontuação TEPITOPE de uma determinada estrutura peptídica dentro de uma proteína é o logaritmo do Kd (constante de dissociação, afinidade, *off-rate*) da ligação dessa moldura peptídica a múltiplos dos alelos MHC humanos mais comuns, conforme divulgado em Sturniolo, T. et al. (1999) Nature Biotechnology 17:555). A pontuação varia ao longo de pelo menos 20 logs, desde cerca de 10 até cerca de -10 (correspondendo a restrições de ligação de $10e^{10}$ Kd a $10e^{-10}$ Kd) e pode ser reduzido evitando os aminoácidos hidrofóbicos que servem como resíduos de âncora durante a exibição do péptido no MHC, tais como M, I, L, V, F. Nalgumas formas de realização, um componente XTEN incorporado num GHXTEN não possui um epítopo de células T previsto com uma pontuação de TEPITOPE de cerca de -5 ou superior, ou -6 ou superior ou -7 ou superior ou -8 ou superior, ou com uma pontuação de TEPITOPE de -9 ou superior. Conforme é utilizado no presente documento, uma pontuação de "-9 ou superior" abrangeria pontuações TEPITOPE de 10 a -9, inclusive, mas não abrangeria uma pontuação de -10, já que -10 é menor que -9.

Noutra forma de realização, as sequências de XTEN inventivas, incluindo aquelas incorporadas nas proteínas de fusão GHXTEN de objeto, são tornadas substancialmente não imunogénicas pela restrição de locais proteolíticos conhecidos a partir da sequência do XTEN, reduzindo o processamento de XTEN em pequenos péptidos que podem se ligar aos receptores MHC II. Noutra forma de realização, a sequência XTEN é tornada substancialmente não imunogénica

pela utilização de uma sequência que é substancialmente desprovida de estrutura secundária, conferindo resistência a muitas proteases devido à alta entropia da estrutura. Consequentemente, a pontuação TEPITOPE reduzida e a eliminação de sítios proteolíticos conhecidos do XTEN tornam as composições XTEN, incluindo o XTEN das composições da proteína de fusão GHXTEN, substancialmente incapaz de ser ligado por recetores de mamíferos, incluindo aqueles do sistema imune. Numa forma de realização, um XTEN de uma proteína de fusão GHXTEN pode ter >100 nM de K_d de ligação a um recetor de mamífero, ou superior a 500 nM de K_d ou superior a 1 μM de K_d para uma superfície de célula de mamífero ou recetor de polipéptido circulante.

Adicionalmente, a sequência não repetitiva e a correspondente ausência de epítopos de XTEN limitam a capacidade das células B para se ligar ou ser ativadas pela XTEN. Uma sequência repetitiva é reconhecida e pode formar contatos multivalentes com até algumas células B e, como consequência da reticulação de múltiplos recetores independentes de células T, pode estimular a proliferação de células B e a produção de anticorpos. Ao contrário, enquanto um XTEN pode fazer contatos com muitas células B diferentes em sua sequência estendida, cada célula B individual só pode fazer um ou um pequeno número de contatos com um XTEN individual devido à falta de repetição da sequência. Sem estar ligado por nenhuma teoria, Os XTEN tipicamente têm uma tendência muito menor para estimular a proliferação de células B e, portanto, uma resposta imune. Numa forma de realização, o GHXTEN reduziu a imunogenicidade em comparação com a GH correspondente que não está fundida. Numa forma de realização, a administração de até três doses parentéricas de um GHXTEN a um mamífero resulta em IgG anti-GHXTEN detetável numa diluição no soro de 1:100, mas não a uma diluição de 1:1000. Noutra forma de realização, a administração de até três doses parentéricas

de um GHXTEN a um mamífero resulta em IgG anti-GH detetável numa diluição no soro de 1:100, mas não a uma diluição de 1:1000. Noutra forma de realização, a administração de até três doses parentéricas de um GHXTEN a um mamífero resulta em IgG anti-XTEN detetável numa diluição no soro de 1:100, mas não a uma diluição de 1:1000. Nas formas de realização anteriores, o mamífero pode ser um ratinho, um rato, um coelho ou um macaco cinomolgo.

Uma característica adicional de XTENs com sequências não repetitivas em relação a sequências com alto grau de repetição é XTEN não repetitivo formando contatos mais fracos com anticorpos. Os anticorpos são moléculas multivalentes. Por exemplo, As IgGs têm dois locais de ligação idênticos e as IgM contêm 10 locais de ligação idênticos. Assim, anticorpos contra sequências repetitivas podem formar contatos multivalentes com tais sequências repetitivas com alta avidez, o que pode afetar a potência e/ou a eliminação de tais sequências repetitivas. Ao contrário, os anticorpos contra XTENs não repetitivos podem produzir interações monovalentes, esultando em menor probabilidade de remoção imune, de modo que as composições GHXTEN possam permanecer em circulação por um período de tempo aumentado.

8. Raio hidrodinâmico aumentado

Noutro aspeto, a presente invenção proporciona XTEN em que os polipéptidos XTEN têm um raio hidrodinâmico elevado, o que confere uma correspondente massa molecular aparente correspondente à proteína de fusão GHXTEN que incorpora o XTEN. Conforme detalhado no Exemplo 37, a ligação das sequências XTEN às GH resulta em composições GHXTEN que podem ter raios hidrodinâmicos aumentados, massa molecular aparente aumentada e fator de massa molecular aparente aumentado em comparação com uma GH não ligada a um XTEN. Por exemplo, em aplicações terapêuticas em que é desejada semivida prolongada, as composições nas quais um XTEN com

um raio hidrodinâmico elevado é incorporado numa proteína de fusão que compreende uma ou mais GH podem aumentar eficazmente o raio hidrodinâmico da composição para além do tamanho de poro glomerular de aproximadamente 3-5 nm (correspondente a uma massa molecular aparente de cerca de 70 kDA) (Caliceti. 2003. Pharmacokinetic and biodistribution properties of poly(ethylene glycol)-protein conjugates. Adv Drug Deliv Rev 55:1261-1277), resultando em redução da depuração renal das proteínas circulantes. O raio hidrodinâmico de uma proteína é determinado pela sua massa molecular, bem como pela sua estrutura, incluindo forma ou compacidade. Sem estar ligado por uma teoria particular, O XTEN pode adotar conformações abertas devido à repulsão eletrostática entre cargas individuais do péptido ou a flexibilidade inerente conferida pelos aminoácidos particulares na sequência que não tem potencial para conferir estrutura secundária. A conformação aberta, estendida e não estruturada do polipéptido XTEN pode ter um raio hidrodinâmico proporcional maior em comparação com polipéptidos de um comprimento de sequência e/ou massa molecular comparáveis que possuem estrutura secundária e/ u terciária, tal como proteínas globlares típicas. Métodos para a determinação do raio hidrodinâmico são bem conhecidos na técnica, tal como pela utilização de cromatografia de exclusão de tamanho (SEC), conforme descrito nos documentos de Patente U.S. N°s 6.406.632 e 7.294.513. Conforme os resultados do Exemplo 37 demonstram, a adição de comprimentos crescentes de XTEN resulta em aumentos proporcionais nos parâmetros de raio hidrodinâmico, massa molecular aparente e fator de massa molecular aparente, permitindo a adaptação de GHXTEN ao corte característico desejado, massas moleculares aparentes ou raios hidrodinâmicos. Consequentemente, em determinadas formas de realização, a proteína de fusão GHXTEN pode ser configurada com um XTEN de tal modo que a proteína de fusão

pode ter um raio hidrodinâmico de pelo menos cerca de 5 nm, ou pelo menos cerca de 8 nm, ou pelo menos cerca de 10 nm, ou 12 nm, ou pelo menos cerca de 15 nm. Nas formas de realização anteriores, o grande raio hidrodinâmico conferido pelo XTEN em uma proteína de fusão GHXTEN pode levar à redução da depuração renal da proteína de fusão resultante, levando a um aumento correspondente na semivida terminal, um aumento do tempo médio de residência e/ou diminuição da taxa de depuração renal.

Noutra forma de realização, um XTEN de um comprimento e uma sequência escolhidos pode ser incorporado seletivamente num GHXTEN para criar uma proteína de fusão que tenha, sob condições fisiológicas, uma massa molecular aparente de pelo menos cerca de 150 kDa, ou pelo menos cerca de 300 kDa, ou pelo menos cerca de 400 kDa, ou pelo menos cerca de 500 kDa, ou pelo menos cerca de 600 kDa, ou pelo menos cerca de 700 kDa, ou pelo menos cerca de 800 kDa, ou pelo menos cerca de 900 kDa, ou pelo menos cerca de 1000 kDa, ou pelo menos cerca de 1200 kDa, ou pelo menos cerca de 1500 kDa, ou pelo menos cerca de 1800 kDa, ou pelo menos cerca de 2000 kDa ou pelo menos cerca de 2300 ou mais. Noutra forma de realização, um XTEN de um comprimento e uma sequência escolhidos pode ser ligado seletivamente numa GH para resultar uma proteína de fusão GHXTEN que tenha, sob condições fisiológicas, um fator de massa molecular aparente de pelo menos três, alternativamente de pelo menos quatro, alternativamente de pelo menos cinco, alternativamente de pelo menos seis, alternativamente de pelo menos oito, alternativamente de pelo menos 10, alternativamente de pelo menos 15 ou um fator de massa molecular aparente de pelo menos 20 ou superior. Noutra forma de realização, a proteína de fusão GHXTEN tem, sob condições fisiológicas, um fator de massa molecular aparente que é de cerca de 4 a cerca de 20, ou é de cerca de 6 a cerca de 15, ou é de cerca de 8 a cerca de 12, ou é

de cerca de 9 a cerca de 10 com relação à massa molecular real da proteína de fusão.

V). PROPRIEDADES E CONFIGURAÇÕES ESTRITURAIS DE GHXTEN

A GH das composições de objeto não são limitadas a polipéptidos nativos de comprimento completo, mas também incluem versões recombinantes, bem como variantes ou fragmentos biologicamente e/ou farmacologicamente ativos. Por exemplo, será apreciado que várias deleções de aminoácidos, inserções e substituições podem ser feitas na GH para criar variantes sem se afastar do espírito da divulgação em relação à atividade biológica ou propriedades farmacológicas da GH. Exemplos de substituições conservativas para aminoácidos em sequências polipeptídicas são mostrados no Quadro 4. Contudo, em formas de realização do GHXTEN em que a identidade de sequência da GH é inferior a 100% em comparação com uma sequência específica divulgada no presente documento, a invenção contempla a substituição de qualquer um dos outros 19 L-aminoácidos naturais por um dado resíduo de aminoácido da GH dada, que pode estar em qualquer posição dentro da sequência do GH, incluindo resíduos de aminoácidos adjacentes. Se qualquer uma substituição resultar em uma mudança indesejável na atividade biológica, então pode ser utilizado um dos aminoácidos alternativos e a construção avaliada pelos métodos descritos no presente documento, ou utilizando qualquer das técnicas e diretrizes para mutações conservadoras e não conservativas estabelecidas, por exemplo, no documento de patente U.S. N.° 5.364.934 ou utilizando métodos geralmente conhecidos na técnica. Além disso, as variantes podem incluir, por exemplo, polipéptidos em que um ou mais resíduos de aminoácidos são adicionados ou eliminados no terminal N ou C da sequência de aminoácidos nativa de comprimento total de uma GH que retém uma parte, ou não, da atividade biológica do péptido nativo.

Quadro 4: Substituições de aminoácido conservativas exemplares

Resíduo original	Substituições exemplificativas
Ala (A)	val; leu; ile
Arg (R)	lys; gin; asn
Asn (N)	gin; his; lys; arg
Asp (D)	glu
Cys (C)	ser
Gln (Q)	asn
Glu (E)	asp
Gly (G)	pro
His (H)	asn: gln: lys: arg
xIle (I)	leu; val; met; ala; phe: norleucina
Leu (L)	norleucina: ile: val; met; ala: phe
Lys (K)	arg: gln: asn
Met (M)	leu; phe; ile
Phe (F)	leu: val: ile; ala
Pro (P)	gly
Ser (S)	thr
Thr (T)	ser
Trp (W)	tyr
Tyr(Y)	trp: phe: thr: ser
Val (V)	ile; leu; met; phe; ala; norleucina

(a) Configurações de proteína de fusão GHXTEN

A invenção proporciona composições de proteína de fusão GHXTEN com os componentes GH e XTEN ligados em configurações específicas de N-C-terminais. Em algumas formas de realização, uma ou mais GH são ligadas a um ou mais XTENs, na terminação N ou na terminação C, com ou sem espaçador, para formar um copolímero em bloco, e a

disposição sequencial das GHs e dos XTEN na proteína de fusão GHXTEN são as mesmas que a configuração conhecida na química do copolímero em bloco. Quando existe mais de uma GH, XTEN ou espaçador, cada um da GH, o XTEN ou o espaçador têm sequências iguais ou diferentes e os GHs e/ou XTENs estão ligados de forma contínua ou alternada (regular ou irregular). Assim, em todas as fórmulas proporcionadas no presente documento, quando existe mais de uma GH, XTEN ou espaçador, cada um da GH, o XTEN ou o espaçador são iguais ou diferentes. Em algumas formas de realização, o GHXTEN é uma proteína de fusão monomérica com uma GH ligada a um polipéptido de XTEN. Noutras formas de realização, o GHXTEN é uma proteína de fusão monomérica com uma GH ligada a dois ou mais polipéptidos de XTEN. Ainda noutras formas de realização, o GHXTEN é uma proteína de fusão monomérica com duas ou mais GH ligadas a um polipéptido de XTEN. Ainda noutras formas de realização, o GHXTEN é uma proteína de fusão monomérica com duas ou mais GH ligadas a dois ou mais polipéptidos de XTEN. O Quadro 5 proporciona exemplos não limitativos de configurações que são abrangidas pelas proteínas de fusão GHXTEN da invenção; numerosas outras variações serão aparentes para o perito na especialidade, incluindo a incorporação das sequências de espaçador e clivagem divulgadas no presente documento ou conhecidas na técnica.

Quadro 5: Configurações de GHXTEN

Componentes*	Configuração**
GH única; XTEN único	GH-XTEN
	XTEN-GH
GH única; XTEN múltiplo	XTEN-GH-XTEN
	GH-XTEN-XTEN
	XTEN-XTEN-GH
	XTEN-GH-XTEN-XTEN
	XTEN-XTEN-GH-XTEN
	XTEN-XTEN-GH-XTEN

GH múltipla, XTEN único	GH-XTEN-GH
	XTEN-GH-GH
	GH-GH-XTEN
	GH-XTEN-GH-GH
GH múltipla; XTEN múltiplo	GH-XTEN-GH-XTEN
	XTEN-GH-XTEN-GH
	XTEN-XTEN-GH-XTEN-GH
	XTEN-XTEN-GH-GH
	GH-XTEN-XTEN-GH
	GH-GH-XTEN-XTEN
	GH-GH-XTEN-XTEN-GH
	GH-XTEN-GH-XTEN-GH
* Caracterizado como único para 1 componente ou múltiplo para 2 ou mais desse componente ** Reflete a configuração N-C-terminal do fator de crescimento e componentes XTEN	

A invenção contempla composições de proteínas de fusão GHXTEN que compreendem, mas não limitados a GH única ou múltipla selecionada a partir do Quadro 1 (ou fragmentos ou variantes de sequência das mesmas), XTEN único ou múltiplo selecionado a partir do Quadro 3 (ou variantes de sequência do mesmo) que estão numa configuração selecionada a partir do Quadro 5. No geral, o GHXTEN resultante retém pelo menos uma porção da atividade biológica da correspondente GH não ligada ao XTEN. Noutras formas de realização, o componente de GH torna-se biologicamente ativo ou tem um aumento de atividade após a sua libertação do XTEN por clivagem de uma sequência de clivagem opcional incorporada dentro de sequências espaçadoras no GHXTEN, descrito mais completamente abaixo.

Numa forma de realização da composição de GHXTEN, a invenção proporciona uma proteína de fusão de fórmula I:

$(XTEN)_x$-GH-$(XTEN)_y$ I

em que independentemente para cada ocorrência, GH é uma

hormona do crescimento; x é 0 ou 1 e y é 0 ou 1 em que x+y ≥1; e XTEN é um polipéptido recombinante estendido.

Noutra forma de realização da composição de GHXTEN, a invenção proporciona uma proteína de fusão de fórmula II:

$(XTEN)_x$-(GH)-$(S)_y$-$(XTEN)_y$ II

em que independentemente para cada ocorrência, GH é uma hormona do crescimento a; S é uma sequência espaçadora tendo entre 1 e cerca de 50 resíduos de aminoácidos que podem opcionalmente incluir uma sequência de clivagem; x é 0 ou 1 e y é 0 ou 1 em que x+y≥1; e XTEN é um polipéptido recombinante estendido.

Noutra forma de realização, a invenção proporciona uma proteína de fusão isolada, em que a proteína de fusão é de fórmula

(GH)-$(S)_x$-(XTEN)-$(S)_y$-(GH)-$(S)_z$-$(XTEN)_z$ III

em que independentemente para cada ocorrência, GH é uma hormona do crescimento; S é uma sequência espaçadora tendo entre 1 e cerca de 50 resíduos de aminoácidos que podem opcionalmente incluir uma sequência de clivagem; x é 0 ou 1; y é 0 ou 1; z é 0 ou 1; e XTEN é um polipéptido recombinante estendido.

Noutra forma de realização, a invenção proporciona uma proteína de fusão isolada, em que a proteína de fusão é de fórmula IV:

$(XTEN)_x$-$(S)_y$-(GH)-$(S)_z$-(XTEN)-(GH) IV

em que independentemente para cada ocorrência, GH é uma hormona do crescimento; S é uma sequência espaçadora tendo entre 1 e cerca de 50 resíduos de aminoácidos que podem opcionalmente incluir uma sequência de clivagem; x é 0 ou 1; y é 0 ou 1; z é 0 ou 1; e XTEN é um polipéptido recombinante estendido.

Noutra forma de realização, a invenção proporciona uma hormona do crescimento de fusão isolada, em que a proteína de fusão é de fórmula V:

$(GH)_x$-$(S)_x$-(GH)-$(S)_y$-(XTEN) V

em que independentemente para cada ocorrência, GH é uma hormona do crescimento; S é uma sequência espaçadora tendo entre 1 e cerca de 50 resíduos de aminoácidos que podem opcionalmente incluir uma sequência de clivagem; x é 0 ou 1; y é 0 ou 1; e XTEN é um polipéptido recombinante estendido.

Noutra forma de realização, a invenção proporciona uma proteína de fusão isolada, em que a proteína de fusão é de fórmula VI:

$$(XTEN)-(S)_x-(GH)-(S)_y-(GH) \quad VI$$

em que independentemente para cada ocorrência, GH é uma hormona do crescimento; S é uma sequência espaçadora tendo entre 1 e cerca de 50 resíduos de aminoácidos que podem opcionalmente incluir uma sequência de clivagem; x é 0 ou 1; y é 0 ou 1; e XTEN é um polipéptido recombinante estendido.

Noutra forma de realização, a invenção proporciona uma proteína de fusão isolada, em que a proteína de fusão é de fórmula VII:

$$(XTEN)-(S)_x-(GH)-(S)_y-(GH)-(XTEN) \quad VII$$

em que independentemente para cada ocorrência, GH é uma hormona do crescimento; S é uma sequência espaçadora tendo entre 1 e cerca de 50 resíduos de aminoácidos que podem opcionalmente incluir uma sequência de clivagem; x é 0 ou 1; y é 0 ou 1; e XTEN é um polipéptido recombinante estendido.

Noutra forma de realização, a invenção proporciona uma proteína de fusão isolada, em que a proteína de fusão é de fórmula VIII:

$$((S)_m-(GH)_x-(S)_n-(XTEN)_y-(S)_o)_t \quad VIII$$

em que t é um número inteiro que é superior a 0 (1, 2, 3, etc.); independentemente de cada um de m, n, o, x e y é um número inteiro (0, 1, 2, 3, etc.), GH é uma hormona do crescimento; S é um espaçador, opcionalmente compreendendo um local de clivagem; e XTEN é um polipéptido recombinante

estendido, com a condição de que: (1) x+y > 1, (2) quando t = 1, x>0 e y>0, (3) quando existe mais de um GH, S ou XTEN, cada GH, XTEN ou S são iguais ou são independentemente diferentes; e (4) quando t > 1, cada m, n, o, x ou y dentro de cada subunidade são iguais ou são independentemente diferentes.

Em algumas formas de realização, a administração de uma dose terapeuticamente eficaz de uma proteína de fusão de uma forma de realização das fórmulas I-VIII a um indivíduo que dela necessite resulta num ganho no tempo de pelo menos duas vezes, ou pelo menos três vezes, ou pelo menos quatro vezes, ou pelo menos cinco vezes, ou pelo menos 10 vezes, ou pelo menos 20 vezes, ou pelo menos 40 vezes, ou pelo menos 100 vezes ou mais gastos dentro de uma janela terapêutica para a proteína de fusão em comparação com a GH correspondente não ligada ao XTEN e administrada a uma quantidade comparável administrada a um indivíduo. Noutras formas de realização, a administração de uma dose terapeuticamente eficaz de uma proteína de fusão de uma forma de realização das fórmulas I-VIII a um indivíduo que dela necessite pode resultar num ganho no tempo entre doses consecutivas necessárias para manter um regime de dose terapeuticamente eficaz de pelo menos 48 h, ou pelo menos 72 h, ou pelo menos cerca de 96 h, ou pelo menos cerca de 120 h, ou pelo menos cerca de 7 dias, ou pelo menos cerca de 14 dias, ou pelo menos cerca de 21 dias entre doses consecutivas em comparação com uma GH não ligada a XTEN e administrado a uma dose comparável.

Qualquer grupo de sequência espaçadora é opcional nas proteínas de fusão abrangidas pela invenção. O espaçador é proporcionado para aumentar a expressão da proteína de fusão a partir de uma célula hospedeira ou para diminuir o obstáculo estérico, de tal modo que o componente de GH pode assumir a sua estrutura terciária desejada e/ou interagir adequadamente com o seu recetor alvo. Para espaçadores e

métodos de identificação de espaçadores desejáveis, veja-se, por exemplo, George, et al. (2003) Protein Engineering 15:871-879. Numa forma de realização, o espaçador compreende uma ou mais sequências peptídicas que estão entre 1-50 resíduos de aminoácidos em comprimento, ou cerca de 1-25 resíduos, ou cerca de 1-10 resíduos de comprimento. Sequências espaçadoras, exclusivas de locais de clivagem, podem compreender qualquer um dos 20 aminoácidos L naturais, e de preferência compreenderão aminoácidos hidrofílicos que estão sem impedimentos estéricos que podem incluir, mas não se limitam a, glicina (G), alanina (A), serina (S), treonina (T), glutamato (E) e prolina (P). Em alguns casos, o espaçador pode ser poliglicinas ou polialaninas, ou é predominantemente uma mistura de combinações de resíduos de glicina e alanina. O polipéptido espaçador exclusivo de uma sequência de clivagem é em grande parte substancialmente desprovido de estrutura secundária; por exemplo, menos de cerca de 10%, ou menos de cerca de 5%, conforme determinado pelos algoritmos Chou-Fasman e/ou de GOR. Numa forma de realização, uma ou ambas as sequências espaçadoras numa composição de proteína de fusão GHXTEN contém, cada uma, uma sequência de clivagem, que são iguais ou diferentes, em que a sequência de clivagem pode ser realizada por uma protease para libertar a GH da proteína de fusão.

Numa forma de realização, um GH incorporado numa proteína de fusão GHXTEN tem uma sequência que exibe pelo menos cerca de 80% de identidade de sequência para uma sequência do Quadro 1, alternativamente pelo menos cerca de 81%, ou cerca de 82%, ou cerca de 83%, ou cerca de 84%, ou cerca de 85%, ou cerca de 86%, ou cerca de 87%, ou cerca de 88%, ou cerca de 89%, ou cerca de 90%, ou cerca de 91%, ou cerca de 92%, ou cerca de 93%, ou cerca de 94%, ou cerca de 95%, ou cerca de 96%, ou cerca de 97%, ou cerca de 98%, ou cerca de 99% ou cerca de 100% de identidade de sequência em

comparação com uma sequência do Quadro 1. O GH da forma de realização anterior pode ser avaliado para atividade utilizando ensaios ou parâmetros medidos ou determinados como descrito no presente documento, e essas sequências que retém pelo menos cerca de 40%, ou cerca de 50%, ou cerca de 55% ou cerca de 60%, ou cerca de 70%, ou cerca de 80%, ou cerca de 90%, ou cerca de 95% ou mais de atividade em comparação com a sequência de GH nativa correspondente, seriam considerados adequados para inclusão no sujeito GHXTEN. O GH encontrado para reter um nível adequado de atividade pode ser ligado a um ou mais polipéptidos XTEN descritos acima. Numa forma de realização, um GH encontrado para reter um nível adequado de atividade pode ser ligado a um ou mais polipéptidos XTEN com pelo menos aproximadamente 80% de identidade de sequência a uma sequência do Quadro 3, alternativamente pelo menos 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% ou 100% de identidade de sequência em comparação com uma sequência do Quadro 3, resultando em uma proteína de fusão quimérica.

Exemplos não limitativos de sequências de proteínas de fusão contendo uma única GH ligada a um único XTEN são apresentados no Quadro 35. Numa forma de realização, uma composição de GHXTEN compreenderia uma proteína de fusão tendo pelo menos cerca de 80% de identidade de sequência para um GHXTEN do Quadro 35, alternativamente pelo menos 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% ou 100% de identidade de sequência em comparação com um GHXTEN do Quadro 35. Exemplos não limitativos de sequências de proteínas de fusão contendo duas moléculas de XTEN ligadas a uma ou mais GH são apresentados no Quadro 36, mas a invenção também contempla a substituição de outra GH por sequências apresentando pelo menos 90% de identidade de sequência à sequência de hGH selecionada a partir do Quadro 1 ligada a

um ou dois XTEN, que podem ser iguais ou diferentes, exibindo pelo menos cerca de 90% de identidade de sequência selecionada partir do Quadro 3.

(b) Propriedades farmacocinéticas de GHXTEN

A invenção proporciona proteínas de fusão GHXTEN com farmacocinética melhorada em comparação com a GH não ligada a XTEN que, quando utilizado na dose determinada para a composição pelos métodos descritos no presente documento, pode atingir uma concentração circulante resultando em um efeito farmacológico, ainda permaneça dentro do intervalo de segurança para o componente biologicamente ativo da composição por um longo período de tempo em comparação com uma dose comparável da GH não ligada ao XTEN. Em tais casos, o GHXTEN permanece dentro da janela terapêutica para a composição da proteína de fusão durante um longo período de tempo. Conforme é utilizado no presente documento, uma "dose comparável" significa uma dose com um moles/kg equivalentes para o farmacóforo GH ativo que é administrado a um indivíduo de forma comparável. Será entendido na técnica que uma "dosagem comparável" da proteína de fusão GHXTEN representaria um peso maior de agente, mas teria essencialmente os mesmos equivalentes de moles GH na dose da proteína de fusão e/ou teria a mesma concentração molar aproximada em relação à GH.

As propriedades farmacocinéticas de uma GH que podem ser melhoradas através da ligação de um determinado XTEN ao GH incluem a semivida terminal, área sob a curva (AUC), volume de distribuição C_{max} e biodisponibilidade proporcionando maior utilidade no tratamento de doenças, condições patológicas e distúrbios relacionados à hormona do crescimento. A GH das composições GHXTEN pode ser uma sequência que exibe pelo menos cerca de 80% de identidade de sequência ou, alternativamente, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% ou 100% de identidade de sequência com uma

sequência de proteína selecionada a partir do Quadro 1, ligado a um ou mais XTEN que exibem pelo menos cerca de 80% de identidade de sequência ou, alternativamente, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% ou 100% de identidade de sequência com uma sequência de proteína selecionada a partir do Quadro 3.

Conforme descrito mais completamente nos Exemplos relativos às características farmacocinéticas das proteínas de fusão compreendendo XTEN, descobriu-se surpreendentemente que aumentar o comprimento da sequência XTEN confere um aumento desproporcionado na semivida terminal de uma proteína de fusão que compreende o XTEN. Consequentemente, a invenção proporciona proteínas de fusão GHXTEN compreendendo XTEN em que o XTEN é selecionado para proporcionar uma semivida direcionada para a composição GHXTEN administrada a um indivíduo. Em algumas formas de realização, a invenção proporciona proteínas de fusão monoméricas compreendendo XTEN em que o XTEN é selecionado para conferir um aumento na semivida terminal para a GHXTEN administrada a um indivíduo, em comparação com a GH correspondente não ligada à proteína de fusão e administrado numa dose comparável, pelo menos cerca de duas vezes mais longa, ou pelo menos cerca de três vezes, ou pelo menos cerca de quatro vezes, ou pelo menos cerca de cinco vezes, ou pelo menos cerca de seis vezes, ou pelo menos cerca de sete vezes, ou pelo menos cerca de oito vezes, ou pelo menos cerca de nove vezes, ou pelo menos cerca de dez vezes, ou pelo menos cerca de 15 vezes, ou pelo menos cerca de 20 vezes, ou pelo menos cerca de 40 vezes, ou pelo menos cerca de 80 vezes ou pelo menos cerca de 100 vezes ou superior m aumento na semivida terminal em comparação com a GH não ligada à proteína de fusão. A hormona do crescimento humano administrada de forma exógena foi relatada como tendo uma semivida terminal em seres

humanos de menos de 15 minutos (Hindmarch, P.C., *et al.*, Clinical Endocrinology (2008) 30(4): 443-450), enquanto várias composições de GHXTEN divulgadas no presente documento que foram administradas experimentalmente a várias espécies de animais, conforme descrito nos Exemplos, resultaram em valores de semivida terminal de várias horas. De forma semelhante, as proteínas de fusão de GHXTEN podem ter um aumento de AUC de pelo menos cerca de 50%, ou pelo menos cerca de 60%, ou pelo menos cerca de 70%, ou pelo menos cerca de 80%, ou pelo menos cerca de 90%, ou pelo menos cerca de 100%, ou pelo menos cerca de 150%, ou pelo menos cerca de 200%, ou pelo menos cerca de 300%, ou pelo menos cerca de 500%, ou pelo menos cerca de 1000%, ou pelo menos cerca de 2000% de aumento de AUC em comparação com a GH correspondente não ligada à proteína de fusão e administrada a um indivíduo a uma dose comparável. Os parâmetros farmacocinéticos de um GHXTEN podem ser determinados por métodos padrão que envolvem a dosagem, a recolha de amostras de sangue em intervalos de tempo e o ensaio da proteína utilizando ELISA, HPLC, radioensaios ou outros métodos conhecidos na técnica ou conforme descrito no presente, seguido de cálculos padrão dos dados para derivar a semivida e outros parâmetros PK.

A invenção proporciona ainda GHXTEN compreendendo uma primeira e uma segunda molécula de GH, opcionalmente separados por uma sequência espaçadora que pode ainda compreender uma sequência de clivagem, ou separada por uma segunda sequência XTEN. Numa forma de realização, a GH tem menos atividade quando ligada à proteína de fusão em comparação com uma GH correspondente não ligada à proteína de fusão. Em tal caso, conforme é ilustrado na FIG. 38, O GHXTEN é concebido de tal forma que, após a administração a um indivíduo, o componente GH é gradualmente libertado por clivagem da(s) sequência(s) de clivagem, depois disso, recupera a atividade ou a capacidade de se ligar ao seu

recetor ou ligando alvo. Consequentemente, O GHXTEN do que precede serve como um profármaco ou um depósito circulante, resultando em uma semivida terminal mais longa comparada à GH não ligada à proteína de fusão.

(c) Farmacologia e propriedades farmacêuticas de GHXTEN

A presente invenção proporciona composições de GHXTEN compreendendo GH ligada covalentemente a XTEN que pode ter propriedades melhoradas em comparação com GH não ligada a XTEN, bem como métodos para melhorar a atividade terapêutica e/ou biológica ou o efeito dos respetivos dois componentes GH das composições. Além disso, a invenção proporciona composições de GHXTEN com propriedades melhoradas em comparação com as proteínas de fusão conhecidas na técnica que contêm parceiros de polipéptidos de imunoglobulina, polipéptidos de pares de comprimento e/ou polipéptido de comprimento mais curto com sequências repetitivas. Além disso, as proteínas de fusão GHXTEN proporcionam vantagens significativas em relação aos conjugados químicos, tais como construções peguiladas, nomeadamente o fato de que as proteínas de fusão GHXTEN recombinantes podem ser feitas em sistemas de expressão de células bacterianas, o que pode reduzir o tempo e o custo nas fases de pesquisa e desenvolvimento e fabrico de um produto, bem como resultar em um produto mais homogêneo e definido com menos toxicidade tanto para o produto quanto para os metabolitos do GHXTEN em comparação com conjugados peguilados.

Como agentes terapêuticos, o GHXTEN possui uma série de vantagens em relação à terapêutica que não compreende XTEN, incluindo uma ou mais das seguintes propriedades de reforço exemplificativas não limitativas; solubilidade aumentada, estabilidade térmica aumentada, imunogenicidade reduzida, massa molecular aparente aumentada, depuração renal reduzida, proteólise reduzida, metabolismo reduzido, eficiência terapêutica melhorada, uma dose terapêutica

eficaz mais baixa, biodisponibilidade aumentada, aumento do tempo entre dosagens capazes de manter os níveis sanguíneos dentro da janela terapêutica para a GH, uma taxa de absorção "adaptada", estabilidade de liofilização melhorada, estabilidade de soro/plasma melhorada, semivida terminal aumentada, solubilidade na corrente sanguínea aumentada, ligação diminuída pela neutralização de anticorpos, depuração mediada por recetor diminuída, efeitos secundários reduzidos, retenção de afinidade de ligação do recetor/ligando ou ativação do receptor/ligando, estabilidade à degradação, estabilidade ao congelamento-descongelamento, estabilidade às proteases, estabilidade à ubiquitinação, facilidade de administração, compatibilidade com outros excipientes ou veículos farmacêuticos, persistência no indivíduo, maior estabilidade no armazenamento (por exemplo, semivida aumentada), toxicidade reduzida num organismo ou meio ambiente e semelhantes. O efeito líquido das propriedades melhoradas é que o GHXTEN resulta em efeito terapêutico e/ou biológico melhorado ou melhora a conformidade do paciente quando administrado a um indivíduo com uma doença ou distúrbio relacionado com a hormona do crescimento.

Ensaios e métodos específicos para medir as propriedades físicas e estruturais das proteínas expressas são conhecidos na técnica, incluindo métodos para determinar propriedades como agregação de proteínas, solubilidade, estrutura secundária e terciária, propriedades de fusão, contaminação e teor de água, etc. Tais métodos incluem centrifugação analítica, EPR, HPLC-permuta iónica, HPLC-exclusão de tamanho, HPLC-fase reversa, dispersão de luz, eletroforese capilar, dicroismo circular, calorimetria de varrimento diferencial, fluorescência, HPLC-permuta iónica, HPLC-exclusão de tamanho, IR, RMN, espectroscopia de Raman, refratometria e espectroscopia de UV/visível. Métodos adicionais são

divulgados em Arnau et al, Prot Expr and Purif (2006) 48, 1-13. A aplicação destes métodos à invenção seria ao alcance de um perito na especialidade.

Numa característica particular da invenção, O XTEN como parceiro de fusão aumenta a solubilidade da carga útil da GH, particularmente na expressão de GH, que é tipicamente expresso como corpos de inclusão insolúveis em células hospedeiras transformadas, such as *E. coli* (veja-se, por exemplo, Singh, S. M., et al. (2005) J Biosci Bioeng, 99: 303; Patra, A. K., et al. (2000) Protein Expr Purif, 18: 182). Consequentemente, onde o melhoramento das propriedades farmacêuticas ou físico-químicas da GH é desejável, tais como o grau de solubilidade ou estabilidade aquosa, o comprimento e/ou a composição familiar do motivo das primeiras e segundas sequências de XTEN da primeira e da segunda proteína de fusão podem, cada uma, ser selecionadas para conferir um grau diferente de solubilidade e/ou estabilidade nas respetivas proteínas de fusão de modo que as propriedades de produto farmacêutico global da composição de GHXTEN são aprimoradas. As proteínas de fusão GHXTEN podem ser construídas e ensaiadas, utilizando métodos descritos no presente documento, para confirmar as propriedades físico-químicas e o XTEN ajustado, conforme for necessário, para resultar nas propriedades desejadas. Numa forma de realização, a sequência de XTEN do GHXTEN é selecionado de tal modo que a proteína de fusão possui uma solubilidade aquosa que está em pelo menos cerca de 25% maior em comparação com uma GH não ligada à proteína de fusão, ou pelo menos cerca de 30%, ou pelo menos cerca de 40%, ou pelo menos cerca de 50%, ou pelo menos cerca de 75%, ou pelo menos cerca de 100%, ou pelo menos cerca de 200%, ou pelo menos cerca de 300%, ou pelo menos cerca de 400%, ou pelo menos cerca de 500%, ou pelo menos cerca de 1000% maior que a GH correspondente não ligada à proteína de fusão.

A invenção proporciona métodos para produzir e recuperar o GHXTEN expresso de uma célula hospedeira com maior solubilidade e facilidade de recuperação em comparação com a GH não ligada ao XTEN. Em algumas formas de realização, o método inclui as etapas de transformar uma célula hospedeira procariótica (por exemplo, E. coli) com um polinucleótido que codifica um GHXTEN com um ou mais componentes XTEN do comprimento da sequência cumulativa superior a cerca de 800, ou superior a cerca de 900 ou superior a cerca de 1000 ou superior a cerca de 1100 resíduos de aminoácidos, expressando a proteína de fusão GHXTEN na célula hospedeira, lise a célula hospedeira para recuperar conteúdos citoplasmáticos e acidificando os conteúdos citoplasmáticos da célula hospedeira em que a GH pode permanecer em forma solúvel enquanto a maioria das proteínas das células hospedeiras são precipitadas em forma insolúvel. Numa forma de realização do anteriormente mencionado, os lisados de células hospedeiras em bruto pós-expressão podem ser acidificados até um pH inferior a cerca de 5,0 ou a um pH inferior a cerca de 4,7 ou a um pH inferior a cerca de 4,5 ou a um pH inferior a cerca de 4,2 e superior a cerca de 50%, ou cerca de 60%, ou cerca de 70%, ou cerca de 80% ou mais do GH expresso pode ser recuperado sob uma forma solúvel. Numa característica da forma de realização anterior, o GHXTEN enriquecido pode ser separado dos contaminantes da proteína das células hospedeiras precipitadas por centrifugação do lisado acidificado, um reflexo da solubilidade aumentada conferida ao GH por fusão ao transportador XTEN. Nas formas de realização anteriores no presente documento descritas neste parágrafo, O XTEN das proteínas de fusão GHXTEN pode ter pelo menos cerca de 80% de identidade de sequência, ou cerca de 90%, ou cerca de 91%, ou cerca de 92%, ou cerca de 93%, ou cerca de 94%, ou cerca de 95%, ou cerca de 96 %, ou cerca de 97%, ou cerca de 98% ou cerca de 99%, a cerca de

100% de identidade de sequência para um ou mais XTEN selecionados a partir do Quadro 3 e a GH pode ter pelo menos cerca de 80% de identidade de sequência, ou cerca de 90%, ou cerca de 91%, ou cerca de 92%, ou cerca de 93%, ou cerca de 94%, ou cerca de 95%, ou cerca de 96% ou cerca de 97% ou cerca de 98%, ou cerca de 99%, ou 100% de identidade de sequência para uma GH selecionada a partir do Quadro 1 e os componentes de GHXTEN podem estar numa configuração N a C-terminal selecionada a partir do Quadro 5.

Numa forma de realização, a invenção proporciona composições e métodos de GHXTEN para produzir as composições que podem manter o componente de GH dentro de uma janela terapêutica por um período de tempo maior em comparação com dosagens comparáveis da GH correspondente não ligada ao XTEN. Será entendido na técnica que uma "dosagem comparável" da proteína de fusão GHXTEN representaria um peso maior de agente, mas teria os mesmos equivalentes de moles GH aproximados na dose da proteína de fusão e/ou teria a mesma concentração molar aproximada em relação à GH. O método para produzir as composições que podem manter o componente de GH dentro de uma janela terapêutica inclui as etapas de selecionar o XTEN apropriado para a conjugação de um GH para proporcionar as propriedades farmacocinéticas desejadas em vista de uma dada dose e regimento de dose, seguido de ensaios para verificar as propriedades farmacocinéticas, a atividade da proteína de fusão GHXTEN e o segurança da composição administrada. Pelos métodos, GHXTEN pode ser produzido que permite uma eficácia aumentada da composição administrada mantendo as concentrações circulantes da GH dentro da janela terapêutica durante um período de tempo aumentado. Conforme é utilizado no presente documento, "janela terapêutica" significa que a quantidade de fármaco ou biologia como faixa de concentração de sangue ou plasma, que proporciona eficácia ou um efeito farmacológico

desejado ao longo do tempo para a doença ou condição sem toxicidade inaceitável, isto é, o intervalo das concentrações sanguíneas circulantes entre a quantidade mínima para atingir qualquer efeito terapêutico positivo e a quantidade máxima que resulta em uma resposta que é a resposta imediatamente antes da toxicidade para o sujeito (numa dose ou concentração mais alta). Adicionalmente, a janela terapêutica abrange geralmente um aspecto do tempo; a concentração máxima e mínima que resulta num efeito farmacológico desejado ao longo do tempo que não resulta em toxicidade inaceitável ou eventos adversos. Uma composição doseada que permanece dentro da janela terapêutica para o indivíduo também pode ser dito estar dentro da "faixa de segurança".

As características das composições de GHXTEN da invenção, incluindo características funcionais ou atividade biológica e farmacológica e parâmetros que resultam, são determinados por qualquer ensaio de rastreio adequado conhecido na técnica para medir a característica desejada. Isto proporciona métodos para ensaiar as proteínas de fusão GHXTEN de diferentes composições ou configurações de modo a proporcionar GHXTEN com o grau desejado de atividade biológica e/ou terapêutica, bem como perfil de segurança. Os ensaios biológicos específicos in vivo e ex vivo são utilizados para avaliar a atividade de cada componente GHXTEN e/ou GH configurado a ser incorporado no GHXTEN, incluindo, mas não se limitando aos ensaios dos Exemplos, esses ensaios do Quadro 34, bem como os seguintes ensaios ou outros ensaios semelhantes conhecidos na técnica para ensaiar as propriedades e os efeitos de GH. Podem ser realizados ensaios que permitem a determinação das características de ligação do GHXTEN para recetores de GH ou um ligando, incluindo constante de ligação (K_d), valores de EC_{50}, bem como a sua semivida de dissociação do complexo ligando-recetor ($T_{1/2}$). A afinidade de ligação pode ser

medidas, por exemplo, por um ensaio de ligação do tipo competição que deteta alterações na capacidade de se ligar especificamente a um recetor ou ligando (veja-se, por exemplo, os Exemplos). Adicionalmente, técnicas como citometria de fluxo ou ressonância de plasmão de superfície podem ser utilizadas para detetar eventos de ligação. Os ensaios podem compreender moléculas recetoras solúveis ou podem determinar a ligação a recetores expressos em células. Tais ensaios podem incluir ensaios baseados em células, incluindo ensaios para proliferação, morte celular, apoptose e migração celular. Outros possíveis ensaios podem determinar a ligação do recetor de polipéptidos expressos, em que os ensaios podem compreender moléculas recetoras solúveis ou podem determinar a ligação a recetores expressos em células. A afinidade de ligação de um GHXTEN para os recetores ou ligandos alvo da GH correspondente pode ser ensaiada utilizando ensaios de ligação ou de ligação competitiva, tais como ensaios Biacore com recetores ligados a chips ou proteínas de ligação ou ensaios ELISA, conforme descrito na Patente US N° 5.534.617, ensaios descritos nos Exemplos no presente documento, ensaios de recetor de rádio ou outros ensaios conhecidos na técnica. Além disso, As variantes de sequência de GH (ensaiadas como componentes únicos ou como proteínas de fusão de GHXTEN) podem ser comparadas com a GH nativa utilizando um ensaio de ligação ELISA competitivo para determinar se eles têm a mesma especificidade e afinidade de ligação que a GH nativa, ou alguma fração da mesma, de tal modo que eles são adequados para inclusão no GHXTEN. Os ensaios funcionais podem incluir o aumento da secreção e/ou geração de IGF-1 nas células alvo como resultado da exposição ao GHXTEN e/ou os efeitos estimulantes resultantes do IGF- 1 na atividade dos osteoblastos e dos condrócitos para promover o crescimento ósseo; todos são parâmetros adequados para avaliar a

atividade de GH para inclusão na proteína de fusão GHXTEN ou o GHXTEN resultante. Além disso, A hormona do crescimento humano (hGH) é conhecida por desempenhar um papel no crescimento somático através dos seus efeitos sobre o metabolismo das proteínas, hidratos de carbono e lípidos, bem como a estimulação da produção de células sanguíneas *in vitro* (Derfalvi et al., 1998; Merchav et al; 1988), aumentar o número de eritrócitos e o teor de hemoglobina no sangue (Valerio et al., 1997; Vihervuori et al., 1996), bem como o aumento da proliferação e produção de Ig nas linhas celulares plasmáticas (Kimata and Yoshida, 1994),a estimulação das contagens de células $CD8^+$ e, a um menor grau a contagens de células $CD4^+$ (Geffner, 1997). Parâmetros que podem ser medidos cronicamente incluem velocidade de crescimento, maturação física e taxa de crescimento comparativo do osso. Tudo o que precede pode ser utilizado para avaliar a atividade de componentes de GH a serem incorporados no GHXTEN e o GHXTEN resultante.

A otimização de dose é importante para todos os fármacos, especialmente para aqueles com uma estreita janela terapêutica. Por exemplo, uma dose única padronizada de GH para todos os pacientes que apresentam sintomas diversos ou parâmetros clínicos anormais pode nem sempre ser efetiva. Uma consideração destes fatores está bem dentro da competência do clínico normalmente qualificado com o propósito de determinar a quantidade terapêutica ou farmacologicamente eficaz do GHXTEN, versus essa quantidade que resultaria em toxicidade inaceitável e colocá-lo fora da faixa de segurança, ou potência insuficiente, de modo que a melhora clínica não seja alcançada.

Em muitos casos, a janela terapêutica para GH em indivíduos de diferentes idades ou grau de doença foi estabelecida e está disponível na literatura publicada ou são indicadas no rótulo do medicamento para produtos aprovados que contêm o GH. Em outros casos, A janela

terapêutica pode ser estabelecida para novas composições, incluindo aqueles GHXTEN da divulgação. Os métodos para estabelecer a janela terapêutica para uma determinada composição são conhecidos dos peritos na especialidade (veja-se, por exemplo, Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics, 11ª Edição, McGraw-Hill (2005)). Por exemplo, utilizando estudos de escalonamento de dose em indivíduos com a doença ou distúrbio alvo para determinar a eficácia ou um efeito farmacológico desejável, o surgimento de eventos adversos e determinação dos níveis sangüíneos circulantes, A janela terapêutica para um determinado indivíduo ou população de indivíduos pode ser determinada para um dado medicamento ou biológico, ou combinações de biologias ou fármacos. Os estudos de escalonamento de dose podem avaliar a atividade de um GHXTEN através de estudos metabólicos num indivíduo ou grupo de indivíduos que monitoriza parâmetros fisiológicos ou bioquímicos, como é conhecido na técnica ou conforme descrito no presente para um ou mais parâmetros associados à doença ou distúrbio metabólico ou parâmetros clínicos associados a um resultado benéfico para a indicação particular, juntamente com observações e/ou parâmetros medidos para determinar a dose sem efeito, eventos adversos, dose máxima tolerada e semelhantes, juntamente com a medida dos parâmetros farmacocinéticos que estabelecem os níveis sanguíneos circulantes determinados ou derivados. Os resultados podem então ser correlacionados com a dose administrada e as concentrações sanguíneas do terapêutico que coincidem com os parâmetros ou níveis de efeito acima mencionados. Por estes métodos, uma gama de doses e concentrações sanguíneas podem ser correlacionadas com a dose efetiva mínima, bem como a dose máxima e a concentração sanguínea a que ocorre o efeito desejado e acima do qual ocorre a toxicidade, estabelecendo assim a janela terapêutica para a terapêutica doseada. As

concentrações sanguíneas da proteína de fusão (ou medida pelo componente de GH) acima do máximo seriam consideradas fora da janela terapêutica ou intervalo de segurança. Consequentemente, pelos métodos anteriores, um nível sanguíneo C_{min} seria estabelecido, abaixo do qual a proteína de fusão GHXTEN não teria o efeito farmacológico desejado e um nível de C_{max} sanguíneo seria estabelecido que representaria a maior concentração circulante antes de atingir uma concentração que provocaria efeitos colaterais inaceitáveis, toxicidade ou eventos adversos, colocando-o fora do alcance de segurança para o GHXTEN. Com tais concentrações estabelecidas, a frequência de dosagem e a dosagem podem ser melhoradas adicionalmente através da medição da C_{max} e C_{min} para proporcionar a dose e a frequência de dose apropriadas para manter a(s) proteína(s) de fusão dentro da janela terapêutica. Um perito na especialidade pode, pelos meios divulgados no presente documento ou por outros métodos conhecidos na técnica, confirmar que o GHXTEN administrado permanece na janela terapêutica para o intervalo desejado ou requer ajuste na dose ou comprimento ou sequência de XTEN. Adicionalmente, a determinação da dose adequada e da frequência de dose para manter o GHXTEN dentro da janela terapêutica estabelece o regime de dose terapeuticamente eficaz; a programação para a administração de múltiplas doses consecutivas utilizando uma dose terapeuticamente eficaz da proteína de fusão para um indivíduo que dela necessite, resultando em picos de C_{max} consecutivos e/ou rebaixos de C_{min} que permanecem dentro da janela terapêutica e resultam em uma melhoria em pelo menos um parâmetro medido relevante para a doença alvo, distúrbio ou condição patológica. Em alguns casos, o GHXTEN administrado a uma dose apropriada para um indivíduo resulta em concentrações sanguíneas da proteína de fusão GHXTEN que permanece dentro da janela terapêutica durante um período pelo menos duas vezes mais longo em comparação

com o GH correspondente não ligado ao XTEN e administrado a uma dose comparável; alternativamente pelo menos cerca de três vezes mais longo; alternativamente pelo menos cerca de quatro vezes mais longo; alternativamente pelo menos cerca de cinco vezes mais longo; alternativamente pelo menos cerca de seis vezes mais longo; alternativamente pelo menos cerca de sete vezes mais longo; alternativamente pelo menos cerca de oito vezes mais longo; alternativamente pelo menos cerca de nove vezes mais longo ou pelo menos cerca de dez vezes mais longo ou maior em comparação com o GH correspondente não ligado a XTEN e administrado a uma dose comparável. Conforme é utilizado no presente documento, uma "dose apropriada" significa uma dose de um medicamento ou biológico que, quando administrado a um indivíduo, resultaria em um efeito terapêutico ou farmacológico desejável e uma concentração sanguínea dentro da janela terapêutica.

Numa forma de realização, o GHXTEN administrado a um regime de dose terapeuticamente eficaz resulta num ganho no tempo de pelo menos cerca de três vezes mais longo; alternativamente pelo menos cerca de quatro vezes mais longo; alternativamente pelo menos cerca de cinco vezes mais longo; alternativamente pelo menos cerca de seis vezes mais longo; alternativamente pelo menos cerca de sete vezes mais longo; alternativamente pelo menos cerca de oito vezes mais longo; alternativamente pelo menos cerca de nove vezes mais ou pelo menos cerca de dez vezes mais tempo entre pelo menos dois picos de C_{max} consecutivos e/ou rebaixos de C_{min} para níveis de sangue da proteína de fusão em comparação com a proteína biologicamente ativa correspondente da proteína de fusão não ligada à proteína de fusão e administrada em regime de dose comparável a um indivíduo. Noutra forma de realização, o GHXTEN administrado num regime de dose terapeuticamente eficaz resulta numa melhoria comparável em um, ou dois ou três ou mais

parâmetros medidos utilizando dose menos frequente ou uma dosagem total mais baixa em moles da proteína de fusão da composição farmacêutica em comparação com o(s) correspondente(s) componente(s) proteico(s) biologicamente ativo(s) não ligado(s) à proteína de fusão e administrado(s) a um indivíduo utilizando um regime de dose terapeuticamente eficaz para a GH. Os parâmetros medidos incluem qualquer um dos aspectos clínicos, parâmetros bioquímicos ou fisiológicos aqui descritos, ou outros conhecidos na técnica para avaliar indivíduos com distúrbios relacionados com a hormona do crescimento.

A invenção proporciona GHXTEN isolado em que a afinidade de ligação para recetores ou ligandos alvo de GH pelo GHXTEN pode ser pelo menos cerca de 10%, ou pelo menos cerca de 20%, ou pelo menos cerca de 30%, ou pelo menos cerca de 40%, ou a pelo menos cerca de 50%, ou pelo menos cerca de 60%, ou pelo menos cerca de 70%, ou pelo menos cerca de 80%, ou pelo menos cerca de 90%, ou pelo menos cerca de 95%, ou pelo menos cerca de 99%, ou pelo menos Cerca de 100% ou mais da afinidade de uma GH nativa não ligada a XTEN para o recetor alvo ou ligando. Em alguns casos, a afinidade de ligação Kd entre o sujeito GHXTEN e um recepor ou ligando nativo do GHXTEN é pelo menos cerca de 10^{-4} M, alternativamente pelo menos cerca de 10^{-5} M, alternativamente pelo menos cerca de 10^{-6} M, ou pelo menos cerca de 10^{-7} M, ou pelo menos cerca de 10^{-8} M, ou pelo menos cerca de 10^{-9} M da afinidade entre o GHXTEN e um recetor ou ligando nativo.

Noutras formas de realização, a invenção fornece proteínas de fusão GHXTEN isoladas especificamente concebidas para ter uma afinidade de ligação reduzida para o recetor GH. Numas formas de realização, tais como proteínas de fusão compreendendo um XTEN fundido com a terminação C da GH 1 cerca de 97% de identidade de sequência ou pelo menos cerca de 99% de identidade de

sequência com proteínas de fusão de GH selecionadas a partir de AE912-hGH-AE144, AE912-hGH-AF144, AE912-hGH-AE288, AM923-hGH-AE144, AM923-hGH-AF144, AM923-hGH-AE288 e as sequências dos Quadros 36-37.

Em algumas formas de realização, as proteínas de fusão GHXTEN da invenção retêm pelo menos cerca de 0,05%, ou cerca de 0,1%, ou cerca de 1%, ou cerca de 10%, ou cerca de 20%, ou cerca de 30%, ou cerca de 40%, ou cerca de 50%, ou cerca de 60%, ou cerca de 70%, ou cerca de 80%, ou cerca de 90%, ou cerca de 95%, ou cerca de 98% ou cerca de 99% por cento da atividade biológica da GH correspondente não ligada à proteína de fusão em relação a uma atividade biológica *in vitro* ou efeito farmacológico conhecido ou associado à utilização da GH nativa no tratamento e prevenção de doenças, distúrbios ou condições patológicas relacionadas à hormona do crescimento. Exemplos não limitativos de atividades ou efeitos farmacológicos que podem ser testados para avaliar a atividade retida das proteínas de fusão GHXTEN incluem marcadores de transdução de sinal em células com recetores de GH, concentrações de IGF-1 provocadas, concentrações de IGFBP3 provocadas, mudanças em velocidade de altura, massa corporal magra, gordura corporal total, gordura do tronco, parâmetros associados a síndrome de resistência à insulina, medição de divisão e taxas de multiplicação de condrócitos, mudanças na densidade óssea e crescimento ósseo (por exemplo, aumento da largura da placa epifisária). Em algumas formas de realização, a atividade do componente de GH é manifestada pela proteína de fusão GHXTEN intacta, enquanto que, em outros casos, a atividade do componente GH seria manifestada principalmente após a clivagem e a libertação da GH da proteína de fusão por ação de uma protease que atua sobre uma sequência de clivagem incorporada na proteína de fusão GHXTEN. No que precede, o GHXTEN foi concebido para reduzir a afinidade de ligação do componente

de GH para o recetor ou ligando quando ligado ao XTEN, mas tem uma afinidade restaurada ou aumentada quando libertada do XTEN através da clivagem da(s) sequência(s) de clivagem incorporada(s) na sequência GHXTEN, conforme é descrito mais completamente acima.

Em outros casos, o GHXTEN pode ser concebido para reduzir a afinidade de ligação do componente GH ao recetor GH para aumentar a semivida terminal do GHXTEN administrado a um indivíduo através da redução da depuração mediada pelo recetor; por exemplo, ao adicionar um XTEN ao terminal C do componente GH da proteína de fusão. Em outros casos, o GHXTEN é concebidos ara reduzir a afinidade de ligação do componente de GH ao recetor de GH para reduzir a toxicidade ou efeitos colaterais devido à composição administrada.

Consequentemente, a invenção proporciona um método para aumentar a semivida terminal de um GHXTEN produzindo uma construção de proteína de fusão de cadeia única com uma configuração de N-a-C-terminal específica dos componentes compreendendo pelo menos um primeiro GH e um primeiro e um segundo XTEN, em que a proteína de fusão numa primeira configuração do terminal N- para C dos componentes GH e XTEN reduziu a depuração mediada pelo recetor (RMC) e um aumento correspondente na semivida terminal em comparação com um GHXTEN numa segunda configuração N-a-C-terminal. Numa forma de realização do anteriormente mencionado, o GHXTEN é configurado, N- a C-terminal como XTEN-GH-XTEN, que reduziu a ligação do recetor em comparação com um GHXTEN configura, N- a C-terminal como XTEN-GH. Noutra forma de realização do anteriormente mencionada, o GHXTEN é configurado GH- XTEN. Nas formas de realização anteriores, as duas moléculas XTEN podem ser idênticas ou podem ser de uma composição ou comprimento de sequência diferente. Exemplos não limitativos da forma de realização anterior com dois XTEN ligados a uma única GH incluem as construções AE912-hGH-AE144, AE912-hGH-AE288, AE864-hGH-AE144, AM923-

hGH-AE144 e AM923-hGH-AE288. São contempladas outras construções tais nas quais um GH do Quadro 1 e XTEN do Quadro 3 são substituídos pelos respetivos componentes dos exemplos anteriores e são produzidos, por exemplo, numa configuração do Quadro 5 de tal modo que a construção reduziu a depuração mediada pelo recetor em comparação com uma configuração alternativa dos respetivos componentes. Em algumas formas de realização, o método anterior para aumentar a semivida terminal proporciona GHXTEN configurado que pode resultar em um aumento da semivida terminal de pelo menos cerca de 30%, ou cerca de 50%, ou cerca de 75%, ou cerca de 100%, ou cerca de 150 % ou cerca de 200%, ou cerca de 300%, ou cerca de 400% ou mais em comparação com a semivida de um GHXTEN em uma segunda configuração onde a ligação ao recetor não é reduzida. A invenção aproveita o facto de certos ligandos em que a afinidade de ligação reduzida a um recetor, quer como resultado de uma diminuição da taxa ou de uma taxa de deslocamento aumentada, pode ser efetuada pela obstrução do terminal N- ou C (como mostrado na figura 3) e utilizando esse terminal como a ligação a outro polipéptido da composição, se uma outra molécula de um GH, um XTEN ou uma sequência espaçadora resulta na afinidade de ligação reduzida. A escolha da configuração particular da proteína de fusão GHXTEN reduz o grau de afinidade de ligação ao recetor de tal modo que é conseguida uma taxa reduzida de depuração mediada pelo recetor. No geral, a ativação do recetor é acoplada a RMC de tal modo que a ligação de um polipéptido ao seu recetor sem ativação não conduz à RMC, enquanto a ativação do receptor leva ao RMC. Contudo, em alguns casos, particularmente onde o ligando tem uma taxa de redução aumentada, o ligando pode, no entanto, ser capaz de se ligar suficientemente para iniciar a sinalização celular sem desencadear a depuração mediada pelo recetor, Com o resultado líquido de que o GHXTEN permanece biodisponível.

Em tais casos, O GHXTEN configurado tem uma vida útil aumentada em comparação com as configurações que levam a um maior grau de RMC.

Nos casos em que é desejada uma redução na afinidade de ligação ao recetor da hormona do crescimento de modo a reduzir a depuração mediada pelo recetor, mas também é desejada a retenção de pelo menos uma porção da atividade biológica, uma afinidade de ligação suficiente para obter a ativação desejada do recetor deve, no entanto, ser mantida, por exemplo, por iniciação da transdução de sinal. Assim, numa forma de realização, a invenção proporciona um GHXTEN configurado de tal forma que a afinidade de ligação do GHXTEN para um recetor alvo está no intervalo de cerca de 0,01%-40%, ou de cerca de 0,01%-30%, ou de cerca de 0,01%-20% da afinidade de ligação em comparação para um GHXTEN correspondente numa configuração em que a afinidade de ligação não é reduzida. A afinidade de ligação do BXTEN configurado é de preferência reduzida em pelo menos cerca de 60%, ou pelo menos cerca de 70%, ou pelo menos cerca de 80%, ou pelo menos cerca de 90%, ou pelo menos cerca de 95%, ou pelo menos cerca de 99% ou pelo menos cerca de 99,99% em comparação com a afinidade de ligação de um GHXTEN correspondente numa configuração em que a afinidade de ligação do componente GH ao recetor alvo não é reduzida ou comparada com a GH não ligada à proteína de fusão, determinado em condições comparáveis. Expresso de forma diferente, o componente GH do GHXTEN configurado tem uma afinidade de ligação que é tão pequena quanto cerca de 0,01%, ou pelo menos cerca de 0,1%, ou pelo menos cerca de 1%, ou pelo menos cerca de 2%, ou pelo menos cerca de 3%, ou a pelo menos cerca de 4%, ou pelo menos cerca de 5%, ou pelo menos cerca de 10%, ou pelo menos cerca de 20%, ou pelo menos cerca de 30%, ou pelo menos 40% do componente correspondente de GH de um GHXTEN num configuração em que a afinidade de ligação do componente GH não é reduzida. Nas

formas de realização anteriores, a afinidade de ligação do GHXTEN configurado para o recetor alvo é "substancialmente reduzida" em comparação com um GH nativo correspondente ou um GHXTEN com uma configuração na qual a afinidade de ligação do componente GH correspondente não é reduzida. Consequentemente, a presente invenção proporciona composições e métodos para produzir composições com RMC reduzido configurando o GHXTEN, exemplos do quais são proporcionados acima, de modo a poder ligar-se e ativar um número suficiente de recetores para obter uma resposta biológica desejada *in vivo*, mas evitar a ativação de mais recetores do que é necessário para obter essa resposta. A semivida aumentada permite doses mais elevadas e redução da frequência de dosagem em comparação com a GH não ligada ao XTEN ou comparada às configurações GHXTEN, em que o componente GH mantém uma atividade biológica ou farmacológica suficiente para resultar em uma composição com eficácia clínica mantida apesar da frequência de dosagem reduzida.

VI). UTILIZAÇÃO DAS COMPOSIÇÕES DA PRESENTE INVENÇÃO

Noutro aspeto, a invenção proporciona um método para alcançar um efeito benéfico em uma doença, distúrbio ou condição mediada por GH. A presente invenção aborda desvantagens e/ou limitações da GH que têm uma semivida terminal relativamente curta e/ou uma janela terapêutica estreita.

A maioria dos processos envolvidos no crescimento do corpo são regulados por múltiplos péptidos e hormonas e tais péptidos e hormona, bem como análogos dos mesmos, encontraram utilidade no tratamento de doenças distúrbios e condições patológicas relacionadas à hormona do crescimento. Contudo, a utilização de hormonas do crescimento comercialmente disponíveis, encontrou-se com sucesso inferior ao ideal na gestão de indivíduos afetados por tais doenças, distúrbios e condições patológicas. Em

particular, a otimização da dose e a frequência de dosagem são importantes para as biologias de péptidos e hormonas utilizadas no tratamento de doenças e distúrbios relacionados à hormona do crescimento. O facto de que a hormona do crescimento tem uma semivida curta, precisa uma dosagem frequente com a finalidade de conseguir benefício clínico, o que resulta em dificuldades na gestão de tais pacientes.

Numa forma de realização, a invenção proporciona um método para alcançar um efeito benéfico em um indivíduo com uma doença, distúrbio ou condição patológica relacionada à hormona do crescimento compreendendo a etapa de administrar ao indivíduo uma quantidade eficaz de forma terapêutica ou profilática de um GHXTEN em que a referida administração resulta na melhoria de um ou mais parâmetros bioquímicos ou fisiológicos ou parâmetros clínicos associados a uma doença relacionada com a doença, distúrbio ou condição patológica relacionada à hormona do crescimento. A quantidade efetiva produz um efeito benéfico para ajudar a tratar (por exemplo, cura ou reduzir a gravidade) ou prevenir (por exemplo, reduzir a probabilidade de início ou gravidade) uma doença, distúrbio ou condição patológica relacionada à hormona do crescimento. Em alguns casos, o método para alcançar um efeito benéfico inclui administrar uma quantidade terapeuticamente eficaz de uma composição de proteína de fusão GHXTEN para tratar um indivíduo com uma doença, distúrbio ou condição patológica relacionada à hormona do crescimento, incluindo, mas não limitados a, deficiência de GH congênita ou adquirida em adultos e crianças, síndrome de Turner, síndrome de Prader-Willi, insuficiência renal crónica, retardo do crescimento intra-uterino, baixa estatura idiopática, definhamento por SIDA, obesidade, esclerose múltipla, envelhecimento, fibromialgia, doença de Crohn, colite ulcerativa, distrofia muscular, baixa massa muscular (por exemplo, musculação),

baixa densidade óssea ou qualquer outra indicação para a qual GH pode ser utilizada (mas para os quais os níveis endógenos de hormona do crescimento num indivíduo não são necessariamente deficientes).

Noutra forma de realização, a invenção fornece um método para estimular a produção de IGF-1 em indivíduos com deficiência de GH. O método compreende a etapa de administrar uma quantidade terapeuticamente eficaz de GHXTEN a um indivíduo que resulta em níveis aumentados de sangue e/ou duração em níveis aumentados de IGF-1 em sangue em comparação com um indivíduo que recebe uma GH não ligado a um XTEN e administrado a uma dose comparável. Em alguns casos, o aumento em IGF-1 é de pelo menos cerca de 20%, ou pelo menos cerca de 30%, ou pelo menos cerca de 40%, ou pelo menos cerca de 50%, ou pelo menos cerca de 75%, ou pelo menos cerca de 100%, ou pelo menos cerca de 200% ou pelo menos cerca de 300%. Noutra forma de realização, a invenção fornece um método para estimular a divisão e o número de condrócitos. O método compreende a etapa da administração de uma quantidade terapeuticamente eficaz de GHXTEN que resulta na produção aumentada de condrócitos em pelo menos cerca de 20%, ou pelo menos cerca de 30%, ou pelo menos cerca de 40%, ou pelo menos cerca de 50%, ou a pelo menos cerca de 75%, ou pelo menos cerca de 100%, ou pelo menos cerca de 200% ou pelo menos cerca de 300% em comparação com um indivíduo que recebe uma GH não ligada a um XTEN e administrada a uma dose comparável. Noutra forma de realização, a invenção proporciona um método que compreende a etapa da administração de uma quantidade terapeuticamente eficaz de GHXTEN que resulta no crescimento ósseo aumentado conforme medido na placa epifisária em pelo menos cerca de 20%, ou pelo menos cerca de 30%, ou pelo menos cerca de 40%, ou pelo menos cerca de 50%, ou a pelo menos cerca de 75%, ou pelo menos cerca de 100%, ou pelo menos cerca de 200% ou pelo menos cerca de

300% em comparação com um indivíduo que recebe uma GH não ligada a um XTEN e administrada a uma dose comparável.

Como resultado dos parâmetros PK melhorados do GHXTEN, conforme descrito no presente documento, a GH é administrada utilizando intervalos mais longos entre as doses em comparação com a GH correspondente não ligada ao XTEN para prevenir, tratar, mitigar, reverter ou melhorar sintomas ou anormalidades clínicas da doença, distúrbio ou condição patológica relacionada à hormona do crescimento ou prolongar a sobrevivência do indivíduo a ser tratado.

Os métodos da invenção incluem a administração de doses consecutivas de uma quantidade terapeuticamente eficaz do GHXTEN durante um período de tempo suficiente para alcançar e/ou manter o parâmetro desejado ou efeito clínico, e tais doses consecutivas de uma quantidade terapeuticamente eficaz estabelecem a eficácia terapêutica regime de dose para o GHXTEN; isto é, o agendamento para doses administradas consecutivamente da composição da proteína de fusão, em que as doses são administradas em quantidades terapeuticamente eficazes para resultar em efeito benéfico sustentado em qualquer sinal ou sintoma, aspeto, parâmetro medido ou característica de um estado ou condição de doença metabólica, incluindo, mas não limitados a, àqueles descritos no presente documento. Numa forma de realização, o método compreende a administração de uma quantidade terapeuticamente eficaz de uma composição farmacêutica compreendendo uma composição de proteína de fusão GHXTEN compreendendo uma GH ligada a uma(s) sequência(s) de XTEN e pelo menos um veículo farmaceuticamente aceitável a um indivíduo que dela necessite, o que resulta numa maior melhoria em pelo menos um parâmetro, condição fisiológica ou resultado clínico mediado pelos componentes de GH) (exemplos não limitativos descritos acima) em comparação com o efeito mediado pela administração de uma composição farmacêutica compreendendo

uma GH não ligada a XTEN e administrado a uma dose comparável. Numa forma de realização, a composição farmacêutica é administrada numa dose terapeuticamente eficaz. Noutra forma de realização, a composição farmacêutica é administrada utilizando múltiplas doses consecutivas utilizando um regime de dose terapeuticamente eficaz (conforme definido no presente documento) para a duração do período de dosagem.

Uma quantidade terapeuticamente eficaz do GHXTEN varia de acordo com fatores tais como o estado de doença, idade, sexo e peso do indivíduo, e a capacidade do anticorpo ou da porção de anticorpo para desencadear uma resposta desejada no indivíduo. Uma quantidade terapeuticamente eficaz é também uma na qual quaisquer efeitos tóxicos ou prejudiciais do GHXTEN são compensados pelos efeitos terapeuticamente benéficos. Uma quantidade profilaticamente eficaz refere-se a uma quantidade de GHXTEN necessária durante o período de tempo necessário para alcançar o resultado profilático desejado.

Para os métodos inventivos, As composições GHXTEN de ação prolongada são preferidas, de modo a melhorar a conveniência do paciente, para aumentar o intervalo entre doses e para reduzir a quantidade de medicamento necessário para alcançar um efeito sustentado. Numa forma de realização, um método de tratamento compreende a administração de uma dose terapeuticamente eficaz de um GHXTEN a um indivíduo que dele necessite, o que resulta num ganho no tempo gasto dentro de uma janela terapêutica estabelecida para a proteína de fusão da composição em comparação com o(s) componente(s) GH correspondente não ligado à proteína de fusão e administrado a uma dose comparável a um indivíduo. Em alguns casos, o ganho no tempo gasto dentro da janela terapêutica é de pelo menos cerca de três vezes, ou pelo menos cerca de quatro vezes, ou pelo menos aproximadamente cinco vezes, ou pelo menos

cerca de seis vezes, ou pelo menos aproximadamente oito vezes, ou pelo menos cerca de 10 vezes, ou pelo menos cerca de 20 vezes, ou pelo menos cerca de 40 vezes, ou pelo menos cerca de 80 vezes ou pelo menos cerca de 100 vezes mais longo, em comparação com o correspondente GH correspondente não ligada à proteína de fusão e administrado numa dose comparável a um indivíduo. Os métodos ainda proporcionam que a administração de múltiplas doses consecutivas de um GHXTEN administrado utilizando um regime de dose terapeuticamente eficaz para um indivíduo com necessidade do mesmo resulta em um ganho no tempo entre os picos de C_{max} consecutivos e/ou os rebaixos de C_{min} para os níveis sanguíneos da proteína de fusão em comparação com a GH correspondente não ligada à proteína de fusão e administrada usando um regime de dose estabelecido para essa GH. Na forma de realização anterior, o ganho no tempo gasto entre C_{max} consecutivos e/ou os rebaixos de C_{min} é de pelo menos cerca de três vezes, ou pelo menos cerca de quatro vezes, ou pelo menos aproximadamente cinco vezes, ou pelo menos cerca de seis vezes, ou pelo menos aproximadamente oito vezes, ou pelo menos cerca de 10 vezes, ou pelo menos cerca de 20 vezes, ou pelo menos cerca de 40 vezes, ou pelo menos cerca de 80 vezes ou pelo menos cerca de 100 vezes mais longo, em comparação com o correspondente GH correspondente não ligada à proteína de fusão e administrado utilizando um regime de dose estabelecido para essa GH. Nas formas de realização anteriores no presente documento descritas neste parágrafo a administração da proteína de fusão resulta numa melhoria em pelo menos um dos parâmetros (divulgados no presente documento como sendo úteis para avaliar as doenças, condições patológicas e distúrbios em questão) utilizando uma dose unitária mais baixa em moles de proteína de fusão em comparação com o componente de GH correspondente não ligado à proteína de fusão e administrado a uma dose

unitária ou regime de dose comparável a um indivíduo.

O método de tratamento compreende a administração de um GHXTEN utilizando um regime de dose terapeuticamente eficaz para efetuar melhorias em um ou mais parâmetros associados a doenças, distúrbios ou condições patológicas da hormona do crescimento. Em algumas formas de realização, A administração do GHXTEN a um indivíduo resulta numa melhoria em um ou mais dos parâmetros bioquímicos, fisiológicos ou clínicos de maior magnitude do que o componente correspondente da GH não ligado ao XTEN, determinado utilizando o mesmo ensaio ou com base em um parâmetro clínico medido. Noutras formas de realização, A administração do GHXTEN a um indivíduo utilizando um regime de dose terapeuticamente eficaz resulta em atividade em um ou mais dos parâmetros bioquímicos, fisiológicos ou clínicos que é de maior duração do que a atividade de um dos componentes de GH únicos não ligados a XTEN, determinado utilizando esse mesmo ensaio ou com base em um parâmetro clínico medido. Numa forma de realização do anteriormente mencionado, a administração do GHXTEN a um indivíduo utilizando um regime terapêutico eficaz de dose resulta em uma melhoria nas concentrações máximas e na área sob a curva de níveis de IGF-1 no sangue de pelo menos cerca de 10%, ou cerca de 20%, ou cerca de 30%, ou cerca de 40%, ou cerca de 50%, ou cerca de 60%, ou cerca de 70%, ou cerca de 80%, ou cerca de 90%, ou cerca de 100% ou mais no indivíduo em comparação com uma dose comparável de GH não ligada ao XTEN administrado para um indivíduo. Noutra forma de realização do anteriormente mencionada, a administração do GHXTEN a um indivíduo usando um regime de dose eficaz em termos de terapêutica resulta em aumento do aumento de peso no indivíduo de pelo menos cerca de 10%, ou cerca de 20%, ou cerca de 30% ou cerca de 40% ou cerca de 50% ou mais em comparação com um regime de dose comparável de GH não ligado ao XTEN administrado a um indivíduo.

O GHXTEN utilizado de acordo com os métodos proporcionados no presente documento é administrado em conjunto com outros métodos de tratamento e composições farmacêuticas úteis para o tratamento de doenças, distúrbios e condições patológicas relacionadas com a hormona do crescimento, ou condições para as quais hormona do crescimento é a terapêutica adjuvante; por exemplo, resistência à insulina e mal controlo glicêmico. Tais composições, incluem por exemplo, inibidores de DPP-IV, insulina, análogos de insulina, agonistas de PPAR gama, agonistas de PPAR de dupla ação, agonistas ou análogos de GLP-1, inibidores de PTP1B, inibidores de SGLT, secretagogos de insulina, agonistas de RXR, inibidores da glicogénio sintase quinase-3, sensibilizantes de insulina, moduladores imunes, agonistas de recetor beta-3 adrenérgico, agonistas de Pan-PPAR, inibidores de 11beta-HSD1, biguanidas, inibidores de alfa-glucosidase, meglitinidas, tiazolidinadionas, sulfonilureias e outros medicamentos para diabetes conhecidos na técnica, ou fármacos anti-hipertensivos, bloqueadores dos canais de cálcio e outros produtos relacionados. Em algumas formas de realização, a administração de um GHXTEN permite a utilização de doses mais baixas da composição farmacêutica co-administrada para atingir um efeito clínico comparável ou parâmetro medido para a doença, distúrbio ou condição patológica no indivíduo.

Noutro aspeto, a invenção proporciona um método de conceção das composições de GHXTEN com propriedades farmacológicas ou farmacêuticas desejadas. As proteínas de fusão GHXTEN são projetadas e preparadas com vários objetivos em mente (em comparação com os componentes de GH não ligados à proteína de fusão), ncluindo a melhoria da eficácia terapêutica para o tratamento de doenças distúrbios e condições patológicas relacionadas à hormona do crescimento, melhorando as características

farmacocinéticas das proteínas de fusão em comparação com a GH, diminuindo a dose ou a frequência de dosagem necessária para atingir um efeito farmacológico, melhorando as propriedades farmacêuticas e melhorando a capacidade dos componentes de GH para permanecer dentro da janela terapêutica por um longo período de tempo.

No geral, as etapas no desenho e produção das proteínas de fusão e as composições inventivas, conforme é ilustrado nas FIGS. 4-6, incluem: (1) a seleção de GHs (por exemplo, proteínas nativas, análogos ou derivados com atividade) para tratar a doença, distúrbio ou condição patológica particular; (2) selecionar o XTEN que conferirá a PK desejada e as características físico-químicas no GHXTEN resultante (por exemplo, a administração da composição a um indivíduo faz com que a proteína de fusão seja mantida dentro da janela terapêutica durante um período maior em comparação com GH não ligada a XTEN); (3) estabelecer uma configuração desejada de N-para-C-terminal do GHXTEN para atingir a eficácia desejada ou parâmetros de PK; (4) estabelecer o desenho do vetor de expressão que codifica o GHXTEN configurado; (5) transformar um hospedeiro adequado com o vetor de expressão; e (6) expressão e recuperação da proteína de fusão resultante. Para aqueles GHXTEN para os quais é desejado um aumento na semivida (maior que 24 h) ou um período aumentado do tempo gasto dentro de uma janela terapêutica, o XTEN escolhido para incorporação geralmente tem pelo menos cerca de 500, ou cerca de 576, ou cerca de 864, ou cerca de 875, ou cerca de 912, ou cerca de 923 resíduos de aminoácidos onde um único XTEN deve ser incorporado no GHXTEN. Noutra forma de realização, o GHXTEN compreende um primeiro XTEN dos comprimentos anteriores, e um segundo XTEN de cerca de 144, ou cerca de 288, ou cerca de 576, ou cerca de 864, ou cerca de 875 ou cerca de 912 ou cerca de 923 resíduos de aminoácidos.

Noutras formas de realização, onde não é necessário um aumento da semivida, mas é desejado um aumento na propriedade farmacêutica (por exemplo, solubilidade), um GHXTEN foi concebido para incluir XTEN de comprimentos mais curtos. Em algumas formas de realização do anteriormente mencionado, o GHXTEN compreende um GH ligado a um XTEN tendo de pelo menos cerca de 24, ou cerca de 36, ou cerca de 48, ou cerca de 60, ou cerca de 72 ou cerca de 84 ou cerca de 96 resíduos de aminoácidos, em que a solubilidade da proteína de fusão sob condições fisiológicas é pelo menos três vezes superior à GH correspondente não ligada ao XTEN ou, alternativamente, pelo menos quatro vezes, ou cinco vezes, ou seis vezes, ou sete vezes, ou oito vezes, ou nove vezes, ou pelo menos 10 vezes, ou pelo menos 20 vezes, ou pelo menos 30 vezes, ou pelo menos 50 vezes, ou pelo menos 60 ou superior que a Gh não ligada ao XTEN. Numa forma de realização do anteriormente mencionado, a GH é hormona do crescimento humano.

Noutro aspeto, a invenção fornece métodos de fazer composições GHXTEN para melhorar a facilidade de fabrico, resultar em estabilidade aumentada, solubilidade em água aumentada e/ou facilidade de formulação, em comparação com a GH nativa. Numa forma de realização, a divulgação inclui um método para aumentar a solubilidade em água de uma GH compreendendo a etapa de ligar a GH a um ou mais XTEN de tal modo que seja conseguida uma concentração mais elevada na forma solúvel do GHXTEN resultante, sob condições fisiológicas, em comparação com a GH num estado não fundido. Os fatores que contribuem para a propriedade de XTEN para conferir maior solubilidade em água de GHs quando incorporadas em uma proteína de fusão incluem a alta solubilidade do parceiro de fusão XTEN e o baixo grau de auto-agregação entre moléculas de XTEN em solução. Em algumas formas de realização, o método resulta numa proteína de fusão GHXTEN em que a solubilidade em água é

pelo menos cerca de 20%, ou pelo menos cerca de 30% maior, ou pelo menos cerca de 50% maior ou pelo menos cerca de 75% maior ou pelo menos cerca de 90% maior, ou pelo menos cerca de 100% maior, ou pelo menos cerca de 150% maior, ou pelo menos cerca de 200% maior, ou pelo menos cerca de 400% maior, ou pelo menos cerca de 600% maior, ou pelo menos cerca de 800% maior, ou pelo menos cerca de 1000% maior, ou pelo menos cerca de 2000% maior, ou pelo menos cerca de 4000% maior ou pelo menos cerca de 6000% maior em condições fisiológicas, em comparação com a GH não fundida.

Noutra forma de realização, a invenção inclui um método para aumentar a vida útil de uma GH compreendendo a etapa de ligar a GH com um ou mais XTEN selecionados de tal modo que a vida útil do GHXTEN resultante é prolongada em comparação com a GH num estado não fundido. Conforme é utilizado no presente documento, vida útil refere-se ao período de tempo em que a atividade funcional de um GH ou GHXTEN que está em solução ou em alguma outra formulação de armazenamento permanece estável sem perda de atividade indevida. Conforme é utilizado no presente documento, "atividade funcional" refere-se a um efeito farmacológico ou atividade biológica, tal como a capacidade de ligar um recetor ou ligando, ou uma atividade enzimática, ou para exibir uma ou mais atividades funcionais conhecidas associadas a uma GH, tal como conhecido na técnica. Uma GH que degrada ou agrega geralmente tem atividade funcional reduzida ou biodisponibilidade reduzida em comparação com uma que permanece em solução. Fatores que contribuem para a capacidade do método para prolongar a vida útil de GHs quando incorporadas em uma proteína de fusão incluem aumento da solubilidade em água, redução da auto-agregação em solução e aumento da estabilidade ao calor do parceiro de fusão XTEN. Em particular, a baixa tendência de XTEN agregar facilita os métodos de formulação de preparações farmacêuticas que contenham maiores concentrações de GHs e

a estabilidade ao calor do XTEN contribui para a propriedade das proteínas de fusão GHXTEN para permanecer solúvel e funcionalmente ativas durante longos períodos. Numa forma de realização, o método resulta em proteínas de fusão GHXTEN com vida de armazenamento "prolongada" ou "estendida" que exibem maior atividade em relação a um padrão que foi submetido às mesmas condições de armazenamento e manuseio. O padrão pode ser a GH de comprimento total não fundida. Numa forma de realização, o método inclui a etapa de formular o GHXTEN isolado com um ou mais excipientes farmaceuticamente aceitáveis que aumentam a capacidade do XTEN de reter sua conformação não estruturada e para que o GHXTEN permaneça solúvel na formulação durante um tempo que seja maior do que a correspondente GH não fundida. Numa forma de realização, o método compreende ligar uma GH a um ou mais XTEN para criar uma proteína de fusão GHXTEN, resultando numa solução que retém mais do que cerca de 100% da atividade funcional ou mais do que a cerca de 105%, 110%, 120%, 130%, 150% ou 200% da atividade funcional de um padrão quando comparados em um determinado ponto de tempo e quando submetidos às mesmas condições de armazenamento e manuseio que o padrão, aumentando deste modo sua vida útil.

A vida útil também pode ser avaliada em termos de atividade funcional restante após o armazenamento, normalizado a atividade funcional quando o armazenamento começou. As proteínas de fusão GHXTEN da invenção com vida útil prolongada ou prolongada, tal como exibida por atividade funcional prolongada ou prolongada, mantêm cerca de 50% mais de atividade funcional, ou cerca de 60%, 70%, 80% ou 90% mais da atividade funcional da GH equivalente não ligada ao XTEN quando submetida nas mesmas condições durante o mesmo período de tempo. Por exemplo, uma proteína de fusão GHXTEN da invenção que compreende hormona do crescimento humano fundida com uma ou mais sequências de

XTEN mantém cerca de 80% ou mais da sua atividade original em solução durante períodos de até 2 semanas ou 4 semanas ou 6 semanas ou mais a várias condições de temperatura. Em algumas formas de realização, o GHXTEN retém pelo menos cerca de 50%, ou cerca de 60%, ou pelo menos cerca de 70%, ou pelo menos cerca de 80%, e mais preferentemente pelo menos cerca de 90% ou mais da sua atividade original em solução quando aquecida a 80 °C durante 10 min. Em outras formas de realização, o GHXTEN retém pelo menos cerca de 50%, preferentemente pelo menos cerca de 60%, ou pelo menos cerca de 70%, ou pelo menos cerca de 80%, ou, alternativamente, pelo menos cerca de 90% ou mais da sua atividade original em solução quando aquecida ou mantida a 37 °C durante cerca de 7 dias. Noutra forma de realização, A proteína de fusão GHXTEN retém pelo menos cerca de 80% ou mais da sua atividade funcional após exposição a uma temperatura de cerca de 30 °C a cerca de 70 °C durante um período de tempo de cerca de uma hora a cerca de 18 horas. Nas formas de realização anteriores acima no presente documento descritas neste parágrafo, a atividade retida do GHXTEN é pelo menos cerca de duas vezes, ou pelo menos cerca de três vezes, ou pelo menos cerca de quatro vezes, ou pelo menos cerca de cinco vezes, ou pelo menos cerca de seis vezes maior num determinado ponto de tempo do que a GH correspondente não ligada à proteína de fusão.

VII). AS SEQUÊNCIAS DE ÁCIDDOS NUCLEICOS DA DIVULGAÇÃO

A presente invenção proporciona ácidos polinucleicos isolados que codificam proteínas de fusão quiméricas GHXTEN e sequências complementares a moléculas de ácido polinucleico codificando polipéptidos GHXTEN quiméricos, incluindo variantes homólogas do mesmo. Noutro aspeto, A presente invenção proporciona ácidos polinucleicos isolados que codificam proteínas de fusão quiméricas GHXTEN e sequências complementares a moléculas de ácido polinucleico codificando proteínas de fusão quiméricas GHXTEN, incluindo

variantes homólogas do mesmo. Em geral, e conforme é ilustrado nas FIGS. 4-6, os métodos de produção de uma sequência de polinucleótidos codificando para uma proteína de fusão GHXTEN e expressando o produto génico resultante incluem montar nucleótidos codificando GH e XTEN, ligação dos componentes em grelha, incorporando o gene de codificação num vetor de expressão apropriado para uma célula hospedeira, transformar a célula hospedeira adequada com o vetor de expressão e cultivar a célula hospedeira sob condições para fazer com que a proteína de fusão seja expressa na célula hospedeira transformada, deste modo produzindo o polipéptido GHXTEN biologicamente ativo, que é recuperado como uma proteína de fusão isolada por métodos padrão de purificação de proteínas conhecidos na técnica. Técnicas recombinantes padrão na biologia molecular são utilizadas para fabricar os polinucleótidos e vetores de expressão da presente divulgação.

De acordo com a invenção, sequências de ácido nucleico que codificam GHXTEN (ou seu complemento) são utilizadas para gerar moléculas de ADN recombinante que dirigem a expressão de proteínas de fusão GHXTEN em células hospedeiras adequadas. Várias estratégias de clonagem são adequadas para a realização deste método, muitos dos quais são usados para gerar uma construção que compreende um gene que codifica uma proteína de fusão da composição GHXTEN da presente invenção ou o seu complemento. Em algumas formas de realização, a estratégia de clonagem é utilizada para criar um geme que codifica uma GHXTEN monomérica que compreende pelo menos um primeiro GH e pelo menos um primeiro polipéptido XTEN ou seu complemento. Numa forma de realização do anteriormente mencionado, o gene compreende uma sequência que codifica uma hGH ou variante de sequência. Noutras formas de realização, a estratégia de clonagem é utilizada para criar um gene que codifica um GHXTEN monomérico que compreende nucleótidos que codificam

pelo menos uma primeira molécula de GH ou o seu complemento e um primeiro e pelo menos um segundo XTEN ou o seu complemento que é utilizado para transformar uma célula hospedeira para expressão da proteína de fusão da composição de GHXTEN. Nas formas de realização anteriores acima no presente documento descritas neste parágrafo, o genes podem adicionalmente compreender nucleótidos codificando sequências espaçadoras que também codificam sequência(s) de clivagem.

Ao desenhar uma sequência de XTEN desejável, foi descoberto que a natureza não repetitiva do XTEN das composições inventivas é alcançada apesar da utilização de uma abordagem molecular de "blocos de construção" na criação das sequências codificadoras de XTEN. Isto foi conseguido pela utilização de uma biblioteca de polinucleótidos que codificam motivos de sequência peptídica, descritas acima, que são então ligados e/ou multimerizados para criar os genes que codificam as sequências XTEN (veja-se as Figuras 4 e 5 e Exemplos). Assim, embora os XTEN(s) da proteína de fusão expressa possa consistir em múltiplas unidades de tão pouco quanto quatro motivos de sequência diferentes, dado que os próprios motivos consistem em sequências de aminoácidos não repetitivas, a sequência global de XTEN é tornada não repetitiva. Consequentemente, numa forma de realização, os polinucleótidos codificadores de XTEN compreendem múltiplos polinucleótidos que codificam sequências não repetitivas, ou motivos, ligados operativamente na estrutura e nos quais as sequências de aminoácidos de XTEN expressas resultantes são não repetitivas.

Numa abordagem, é primeiro preparada uma construção contendo a sequência de ADN correspondente à proteína de fusão GHXTEN. O ADN que codifica a GH das composições pode ser obtido a partir de uma biblioteca de ADNc preparada utilizando métodos padrão a partir de tecido ou células

isoladas que acredita-se que possui ARNm de GH e expressando-o a um nível detetável. As bibliotecas são rastreadas com sondas contendo, por exemplo, cerca de 20 a 100 bases concebidas para identificar o gene de GH de interesse por hibridação utilizando técnicas convencionais de biologia molecular. os melhores candidatos para sondas são aqueles que representam sequências que são altamente homólogas para a hormona do crescimento humano e devem ser de comprimento suficiente e suficientemente inequívocos para que os falsos positivos sejam minimizados, mas podem ser degenerados em uma ou mais posições. Se necessário, a sequência codificante pode ser obtida utilizando procedimentos de extensão de iniciadores padrão conforme descrito em Sambrook, *et al.*, *supra*, para detetar precursores e intermediários de processamento de ARNm que podem não ter sido submetidos a transcrição reversa em ADNc. Pode-se então utilizar a metodologia de reação em cadeia da polimerase (PCR) para amplificar a sequência codificante de ADN ou ARN alvo para obter material suficiente para a preparação das construções GHXTEN contendo o(s) gene(s) de GH. Os ensaios podem então ser conduzidos para confirmar que a hibridação de genes de comprimento total são o(s) gene(s) de GH desejado(s). Por estes métodos convencionais, pode ser obtido ADN convenientemente a partir de uma biblioteca de ADNc preparada a partir de tais fontes. O(s) gene(s) codificando GH são também ser obtidos a partir de uma biblioteca genómica ou criados através de procedimentos sintéticos padrão conhecidos na técnica (por exemplo, síntese automatizada de ácido nucleico utilizando, por exemplo, um dos métodos descritos em Engels et al. (Agnew. Chem. Int. Ed. Engl., 28:716-734 1989)), utilizando sequências de ADN obtidas a partir de bases de dados publicamente disponíveis, patentes ou referências bibliográficas. Tais procedimentos são bem conhecidos na técnica e bem descritos

na literatura científica e de patentes. Por exemplo, podem ser obtidas sequências a partir de Números de Registo de Chemical Abstracts Services (CAS) (publicados pela American Chemical Society) e/ou Números de Acesso GenBank (por exemplo, identificadores, Locus ID, NP_XXXXX e XP_XXXXX)) Model Protein disponíveis através da página *web* do National Center for Biotechnology Information (NCBI), disponível na *world wide web* em nc-bi.nlm.nih.gov que correspondem a entradas na base de dados do CAS Registry ou GenBank que contêm uma sequência de aminoácidos da proteína de interesse ou um fragmento ou variante da proteína. Para tais identificadores de sequência proporcionados no presente documento, são listadas as páginas de resumo associadas com cada um destes Números de Acesso CAS Registry e GenBank e GenSeq bem como as publicações literárias citadas (por exemplo, número de ID de PubMed (PMID)) são cada um incorporados por referência na sua totalidade, particularmente com respeito às sequências de aminoácidos descritas aí. Numa forma de realização, o gene que codifica GH codifica uma proteína a partir de qualquer um do Quadros 1, ou fragmento ou variante do mesmo.

Um gene ou polinucleótido que codifica a porção GH da proteína GHXTEN em questão, no caso de uma proteína de fusão expressa que compreende uma única GH pode então ser clonada numa construção, que é um plasmídeo ou outro vetor sob o controlo de sequências de transcrição e tradução adequadas para expressão proteica de alto nível num sistema biológico. Numa etapa posterior, um segundo gene ou polinucleótido que codifica o XTEN é geneticamente fundido aos nucleótidos que codificam o terminal N ou C do gene GH através de clonagem do mesmo na construção adjacente e na estrutura com o(s) gene(s) que codificam a GH. Esta segunda etapa ocorre através de uma etapa de ligação ou multimerização. Nas formas de realização anteriores acima no presente documento descritas neste parágrafo, deve ser

entendido que todas as construções génicas que são criadas podem alternativamente ser o complemento dos respetivos genes que codificam as respetivas proteínas de fusão.

O gene que codifica o XTEN pode ser preparado numa ou em mais etapas, ou totalmente sinteticamente ou através de síntese combinada com processos enzimáticos, tais como clonagem mediada por enzimas de restrição, PCR e extensão por superposição, incluindo métodos descritos mais completamente nos Exemplos. Os métodos divulgadas no presente documento podem ser utilizados, por exemplo, para ligar sequências curtas de polinucleótidos que codificam XTEN em genes XTEN mais longos de um comprimento e sequência desejados. Numa forma de realização, o método liga dois ou mais oligonucleótidos otimizados por codões que codificam motivos de XTEN ou de segmento de cerca de 9 a 14 aminoácidos, ou de cerca de 12 a 20 aminoácidos, ou de cerca de 18 a 36 aminoácidos, ou de cerca de 48 a cerca de 144 aminoácidos, ou de cerca de 144 a cerca de 288 ou mais, ou qualquer combinação dos intervalos anteriores de motivos ou comprimentos de segmento.

Alternativamente, o método descrito é utilizado para multimerizar sequências de codificação XTEN em sequências mais longas de um comprimento desejado; por exemplo, um gene que codifica 36 aminoácidos de XTEN pode ser dimerizado num gene que codifica 72 aminoácidos, depois 144, depois 288, etc. Mesmo com multimerização, Os polipéptidos XTEN podem ser construídos de tal forma que o gene que codifica XTEN tem baixa ou praticamente nenhuma repetitividade através da conceção dos codões selecionados para os motivos da unidade mais curta usada, o que pode reduzir a recombinação e aumentar a estabilidade do gene codificador no hospedeiro transformado. Genes que codificam XTEN com sequências não repetitivas são montados a partir de oligonucleótidos utilizando técnicas padrão de síntese génica. O desenho do gene pode ser realizado utilizando

algoritmos que otimizam a utilização de codões e a composição dos aminoácidos. Num método, uma biblioteca de construções de polinucleótidos que codificam XTEN relativamente curta é criada e posteriormente montada, conforme é ilustrado nas FIG. 4 e 5. Esta pode ser uma biblioteca de codões pura de tal modo que cada membro da biblioteca tenha a mesma sequência de aminoácidos mas sejam possíveis muitas sequências de codificação. Tais bibliotecas podem ser montadas a partir de oligonucleótidos parcialmente aleatorizados e utilizados para gerar grandes bibliotecas de segmentos de XTEN compreendendo os motivos da sequência. O esquema de aleatorização pode ser otimizado para controlar eleições de aminoácidos para cada posição bem como utilização de codões. Métodos de exemplo para conseguir o anterior são divulgados nos Exemplos.

Bibliotecas de polinucleótidos

Noutro aspeto, a divulgação proporciona bibliotecas de polinucleótidos que codificam sequências de XTEN que são utilizadas para montar genes que codificam XTEN de um comprimento e sequência desejados.

Em determinadas formas de realização, as construções da biblioteca de codificação de XTEN compreendem polinucleótidos que codificam segmentos de polipéptidos de um comprimento fixo. Como uma etapa inicial, pode ser montada uma biblioteca de oligonucleótidos que codificam motivos de 9-14 resíduos de aminoácidos. Numa forma de realização preferida, são montadas bibliotecas de oligonucleótidos que codificam motivos de 12 aminoácidos.

Os segmentos da sequência codificadora de XTEN podem ser dimerizados ou multimerizados em sequências codificadoras mais longas. Pode ser realizada dimerização ou multimerização através de ligação, extensão por superposição, montagem por PCR ou técnicas de clonagem semelhantes conhecidas na técnica. Este processo pode ser repetido várias vezes até as sequências codificantes de

XTEN resultantes terem alcançado a organização de sequência e comprimento desejado, proporcionando os genes codificadores de XTEN. Conforme será apreciado, uma biblioteca de polinucleótidos que codifica, por exemplo, 12 motivos de aminoácidos podem ser dimerizados e/ou ligados numa biblioteca de polinucleótidos que codificam 36 aminoácidos. Bibliotecas que codificam motivos de diferentes comprimentos; por exemplo, 9-14 motivos de aminoácidos que conduzem a bibliotecas que codificam 27 a 42 aminoácidos são contempladas. Por sua vez, a biblioteca de polinucleótidos que codificam 27 a 42 aminoácidos e, de preferência, 36 aminoácidos (conforme descrito nos Exemplos) pode ser dimerizada em série numa biblioteca contendo sucessivamente longos comprimentos de polinucleótidos que codificam sequências XTEN de um comprimento desejado para incorporação no gene codificando a proteína de fusão GHXTEN, conforme divulgado no presente documento. Em algumas formas de realização, são montadas bibliotecas de polinucleótidos que codificam aminoácidos que são limitados a famílias de XTEN de sequência específica; por exemplo, sequências AD, AE, AF, AG, AM ou AQ do Quadro 2. Noutras formas de realização, as bibliotecas compreendem sequências que codificam duas ou mais das sequências da família de motivos do Quadro 2. Os nomes e sequências de sequências de polinucleótidos representativas não limitantes de bibliotecas que codificam 36 meros são apresentados nos Quadros 8-11 e os métodos utilizados para criá-las são descritos mais detalhadamente nos Exemplos. Noutras formas de realização, as bibliotecas que codificam XTEN são construídas a partir de segmentos de codões polinucleotídicos ligados em uma sequência aleatória que codificam aminoácidos em que pelo menos cerca de 80%, ou pelo menos cerca de 90%, ou pelo menos cerca de 91%, ou pelo menos cerca de 92%, ou a pelo menos cerca de 93%, ou pelo menos cerca de 94%, ou pelo menos cerca de 95%, ou

pelo menos cerca de 97%, ou pelo menos cerca de 98%, ou pelo menos cerca de 99% dos codões são selecionados a partir do grupo que consiste em codões para os aminoácidos glicina (G), alanina (A), serina (S), treonina (T), glutamato (E) e prolina (P). As bibliotecas podem ser utilizadas, por sua vez, para dimerização em série ou ligaçãi para alcançar bibliotecas de sequências de polinucleótidos que codificam sequências de XTEN, por exemplo, de 48, 72, 144, 288, 576, 864, 875, 912, 923, 1318 aminoácidos, ou até um comprimento total de cerca de 3000 aminoácidos, bem como comprimentos intermediários, em que o XTEN codificado pode ter uma ou mais das propriedades divulgadas no presente documento, quando expresso como um componente de uma proteína de fusão GHXTEN. Em alguns casos, as sequências da biblioteca de polinucleótidos podem também incluir bases adicionais utilizadas como "ilhas de sequenciamento", descritas mais detalhadamente abaixo.

A FIG. 5 é um diagrama de fluxo esquemático de etapas não limitantes representativas na montagem de uma construção de polinucleótidos de XTEN e uma construção de polinucleótido de BPXTEN nas formas de realização da divulgação. Os oligonucleótidos individuais **501** são anelados em motivos de sequência **502**, tais como um motivo de 12 aminoácidos ("12-mero"), que é subsequentemente ligado com um oligo contendo BbsI e os locais de restrição KpnI **503**. Motivos de sequências adicionais a partir de uma biblioteca são anelados para o 12-mero até que o comprimento desejado do gene XTEN **504** seja alcançado. O gene XTEN é clonado num vetor stuffer. O vetor opcionalmente codifica uma sequência Flag **506** seguida por uma sequência stuffer que está flanqueada pelos sítios BsaI, BbsI e KpnI **507** e, neste caso, um único gene de GH (codificando hGH neste exemplo) **508**, resultando no gene codificando um GHXTEN compreendendo uma única GH **500**. É proporcionada uma lista não exaustiva dos nomes de XTEN

para polinucleótidos que codificam XTEN e sequências precursoras no Quadro 7.

Quadro 7: Sequências de ADN de XTEN e sequências precursoras

Nome de XTEN	Sequência de nucleótidos ADN
AE48	ATGGCTGAACCTGCTGGCTCTCCAACCTCCACTGAGGAAGGTACCCCGGGTAGCGGTA CTGCTTCTTCCTCTCCAGGTAGCTCTACCCCTTCTGGTGCAACCGGCTCTCCAGGTGCT TCTCCGGGCACCAGCTCTACCGGTTCT
AM48	ATGGCTGAACCTGCTGGCTCTCCAACCTCCACTGAGGAAGGTGCATCCCCGGGCACCA GCTCTACCGGTTCTCCAGGTAGCTCTACCCCGTCTGGTGCTACCGGCTCTCCAGGTAGC TCTACCCCGTCTGGTGCTACTGGCTCT
AE144	GGTAGCGAACCGGCAACTTCCGGCTCTGAAACCCCAGGTACTTCTGAAAGCGCTACTC CTGAGTCTGGCCCAGGTAGCGAACCTGCTACCTCTGGCTCTGAAACCCCAGGTAGCCC GGCAGGCTCTCCGACTTCCACCGAGGAAGGTACCTCTACTGAACCTTCTGAGGGTAGC GCTCCAGGTAGCGAACCGGCAACCTCTGGCTCTGAAACCCCAGGTAGCGAACCTGCTA CCTCCGGCTCTGAAACTCCAGGTAGCGAACCGGCTACTTCCGGTTCTGAAACTCCAGG TACCTCTACCGAACCTTCCGAAGGCAGCGCACCAGGTACTTCTGAAAGCGCAACCCCT GAATCCGGTCCAGGTAGCGAACCGGCTACTTCTGGCTCTGAGACTCCAGGTACTTCTA CCGAACCGTCCGAAGGTAGCGCACCA
AF144	GGTACTTCTACTCCGGAAAGCGGTTCCGCATCTCCAGGTACTTCTCCTAGCGGTGAATC TTCTACTGCTCCAGGTACCTCTCCTAGCGGCGAATCTTCTACTGCTCCAGGTTCTACCA GCTCTACCGCTGAATCTCCTGGCCCAGGTTCTACCAGCGAATCCCCGTCTGGCACCGC ACCAGGTTCTACTAGCTCTACCGCAGAATCTCCGGGTCCAGGTACTTCCCCTAGCGGT GAATCTTCTACTGCTCCAGGTACCTCTACTCCGGAAAGCGGCTCCGCATCTCCAGGTTC
	TACTAGCTCTACTGCTGAATCTCCTGGTCCAGGTACCTCCCCTAGCGGCGAATCTTCTA CTGCTCCAGGTACCTCTCCTAGCGGCGAATCTTCTACCGCTCCAGGTACCTCCCCTAGC GGTGAATCTTCTACCGCACCA
AE288	GGTACCTCTGAAAGCGCAACTCCTGAGTCTGGCCCAGGTAGCGAACCTGCTACCTCCG GCTCTGAGACTCCAGGTACCTCTGAAAGCGCAACCCCCGGAATCTGGTCCAGGTAGCGA ACCTGCAACCTCTGGCTCTGAAACCCCAGGTACCTCTGAAAGCGCTACTCCTGAATCT GGCCCAGGTACTTCTACTGAACCGTCCGAGGGCAGCGCACCAGGTAGCCCTGCTGGCT CTCCAACCTCCACCGAAGAAGGTACCTCTGAAAGCGCAACCCCTGAATCCGGCCCAGG TAGCGAACCGGCAACCTCCGGTTCTGAAACCCCAGGTACTTCTGAAAGCGCTACTCCT GAGTCCGGCCCAGGTAGCCCGGCTGGCTCTCCGACTTCCACCGAGGAAGGTAGCCCGG CTGGCTCTCCAACTTCTACTGAAGAAGGTACTTCTACCGAACCTTCCGAGGGCAGCGC ACCAGGTACTTCTGAAAGCGCTACCCCTGAGTCCGGCCCAGGTACTTCTGAAAGCGCT ACTCCTGAATCCGGTCCAGGTACTTCTGAAAGCGCTACCCCGGAATCTGGCCCAGGTA GCGAACCGGCTACTTCTGGTTCTGAAACCCCAGGTAGCGAACCGGCTACCTCCGGTTC TGAAACTCCAGGTAGCCCAGCAGGCTCTCCGACTTCCACTGAGGAAGGTACTTCTACT GAACCTTCCGAAGGCAGCGCACCAGGTACCTCTACTGAACCTTCTGAGGGCAGCGCTC CAGGTAGCGAACCTGCAACCTCTGGCTCTGAAACCCCAGGTACCTCTGAAAGCGCTAC TCCTGAATCTGGCCCAGGTACTTCTACTGAACCGTCCGAGGGCAGCGCACCA

AE576	GGTAGCCCGGCTGGCTCTCCTACCTCTACTGAGGAAGGTACTTCTGAAAGCGCTACTC CTGAGTCTGGTCCAGGTACCTCTACTGAACCGTCCGAAGGTAGCGCTCCAGGTAGCCC AGCAGGCTCTCCGACTTCCACTGAGGAAGGTACTTCTACTGAACCTTCCGAAGGCAGC GCACCAGGTACCTCTACTGAACCTTCTGAGGGCAGCGCTCCAGGTACTTCTGAAAGCG CTACCCCGGAATCTGGCCCAGGTAGCGAACCGGCTACTTCTGGTTCTGAAACCCCAGG TAGCGAACCGGCTACCTCCGGTTCTGAAACTCCAGGTAGCCCGGCAGGCTCTCCGACC TCTACTGAGGAAGGTACTTCTGAAAGCGCAACCCCGGAGTCCGGCCCAGGTACCTCTA CCGAACCGTCTGAGGGCAGCGCACCAGGTACTTCTACCGAACCGTCCGAGGGTAGCG CACCAGGTAGCCCAGCAGGTTCTCCTACCTCCACCGAGGAAGGTACTTCTACCGAACC GTCCGAGGGTAGCGCACCAGGTACCTCTACTGAACCTTCTGAGGGCAGCGCTCCAGGT ACTTCTGAAAGCGCTACCCCGGAGTCCGGTCCAGGTACTTCTACTGAACCGTCCGAAG GTAGCGCACCAGGTACTTCTGAAAGCGCAACCCCTGAATCCGGTCCAGGTAGCGAACC GGCTACTTCTGGCTCTGAGACTCCAGGTACTTCTACCGAACCGTCCGAAGGTAGCGCA CCAGGTACTTCTACTGAACCGTCTGAAGGTAGCGCACCAGGTACTTCTGAAAGCGCAA CCCCGGAATCCGGCCCAGGTACCTCTGAAAGCGCAACCCCGGAGTCCGGCCCAGGTA GCCCTGCTGGCTCTCCAACCTCCACCGAAGAAGGTACCTCTGAAAGCGCAACCCCTGA ATCCGGCCCAGGTAGCGAACCGGCAACCTCCGGTTCTGAAACCCCAGGTACCTCTGAA AGCGCTACTCCGGAGTCTGGCCCAGGTACCTCTACTGAACCGTCTGAGGGTAGCGCTC CAGGTACTTCTACTGAACCGTCCGAAGGTAGCGCACCAGGTACTTCTACCGAACCGTC CGAAGGCAGCGCTCCAGGTACCTCTACTGAACCTTCCGAGGGCAGCGCTCCAGGTACC TCTACCGAACCTTCTGAAGGTAGCGCACCAGGTACTTCTACCGAACCGTCCGAGGGTA GCGCACCAGGTAGCCCAGCAGGTTCTCCTACCTCCACCGAGGAAGGTACTTCTACCGA ACCGTCCGAGGGTAGCGCACCAGGTACCTCTGAAAGCGCAACTCCTGAGTCTGGCCCA GGTAGCGAACCTGCTACCTCCGGCTCTGAGACTCCAGGTACCTCTGAAAGCGCAACCC CGGAATCTGGTCCAGGTAGCGAACCTGCAACCTCTGGCTCTGAAACCCCAGGTACCTC TGAAAGCGCTACTCCTGAATCTGGCCCAGGTACTTCTACTGAACCGTCCGAGGGCAGC GCACCAGGTACTTCTGAAAGCGCTACTCCTGAGTCCGGCCCAGGTAGCCCGGCTGGCT CTCCGACTTCCACCGAGGAAGGTAGCCCGGCTGGCTCTCCAACTTCTACTGAAGAAGG TAGCCCGGCAGGCTCTCCGACCTCTACTGAGGAAGGTACTTCTGAAAGCGCAACCCCG GAGTCCGGCCCAGGTACCTCTACCGAACCGTCTGAGGGCAGCGCACCA
AF576	GGTTCTACTAGCTCTACCGCTGAATCTCCTGGCCCAGGTTCCACTAGCTCTACCGCAGA ATCTCCGGGCCCAGGTTCTACTAGCGAATCCCCTTCTGGTACCGCTCCAGGTTCTACTA GCTCTACCGCTGAATCTCCGGGTCCAGGTTCTACCAGCTCTACTGCAGAATCTCCTGGC CCAGGTACTTCTACTCCGGAAAGCGGTTCCGCTTCTCCAGGTTCTACCAGCGAATCTCC TTCTGGCACCGCTCCAGGTACCTCTCCTAGCGGCGAATCTTCTACCGCTCCAGGTTCTA CTAGCGAATCTCCTTCTGGCACTGCACCAGGTTCTACCAGCGAATCTCCTTCTGGCACC GCTCCAGGTACCTCTCCTAGCGGCGAATCTTCTACCGCTCCAGGTTCTACTAGCGAATC TCCTTCTGGCACTGCACCAGGTTCTACCAGCGAATCTCCTTCTGGCACCGCTCCAGGTA CCTCTCCTAGCGGCGAATCTTCTACCGCTCCAGGTTCTACTAGCGAATCTCCTTCTGGC ACTGCACCAGGTTCTACTAGCGAATCTCCTTCTGGCACTGCACCAGGTTCTACCAGCG

	AATCTCCGTCTGGCACTGCACCAGGTACCTCTACCCCTGAAAGCGGTTCCGCTTCTCCA GGTTCTACTAGCGAATCTCCTTCTGGTACCGCTCCAGGTACTTCTACCCCTGAAAGCGG CTCCGCTTCTCCAGGTTCCACTAGCTCTACCGCTGAATCTCCGGGTCCAGGTTCTACTA GCTCTACTGCAGAATCTCCTGGCCCAGGTACCTCTACTCCGGAAAGCGGCTCTGCATC TCCAGGTACTTCTACCCCTGAAAGCGGTTCTGCATCTCCAGGTTCTACTAGCGAATCCC CGTCTGGTACCGCACCAGGTACTTCTACCCCGGAAAGCGGCTCTGCTTCTCCAGGTAC TTCTACCCCGGAAAGCGGCTCCGCATCTCCAGGTTCTACTAGCGAATCTCCTTCTGGTA CCGCTCCAGGTTCTACCAGCGAATCCCCGTCTGGTACTGCTCCAGGTTCTACCAGCGA ATCTCCTTCTGGTACTGCACCAGGTTCTACTAGCTCTACTGCAGAATCTCCTGGCCCAG GTACCTCTACTCCGGAAAGCGGCTCTGCATCTCCAGGTACTTCTACCCCTGAAAGCGG TTCTGCATCTCCAGGTTCTACTAGCGAATCTCCTTCTGGCACTGCACCAGGTTCTACCA GCGAATCTCCGTCTGGCACTGCACCAGGTACCTCTACCCCTGAAAGCGGTTCCGCTTCT CCAGGTTCTACTAGCGAATCTCCTTCTGGCACTGCACCAGGTTCTACCAGCGAATCTCC GTCTGGCACTGCACCAGGTACCTCTACCCCTGAAAGCGGTTCCGCTTCTCCAGGTACTT CTCCGAGCGGTGAATCTTCTACCGCACCAGGTTCTACTAGCTCTACCGCTGAATCTCCG GGCCCAGGTACTTCTCCGAGCGGTGAATCTTCTACTGCTCCAGGTTCCACTAGCTCTAC TGCTGAATCTCCTGGCCCAGGTACTTCTACTCCGGAAAGCGGTTCCGCTTCTCCAGGTT CTACTAGCGAATCTCCGTCTGGCACCGCACCAGGTTCTACTAGCTCTACTGCAGAATCT CCTGGCCCAGGTACCTCTACTCCGGAAAGCGGCTCTGCATCTCCAGGTACTTCTACCCC TGAAAGCGGTTCTGCATCTCCA
AE624	ATGGCTGAACCTGCTGGCTCTCCAACCTCCACTGAGGAAGGTACCCCGGGTAGCGGTA CTGCTTCTTCCTCTCCAGGTAGCTCTACCCCTTCTGGTGCAACCGGCTCTCCAGGTGCT TCTCCGGGCACCAGCTCTACCGGTTCTCCAGGTAGCCCGGCTGGCTCTCCTACCTCTAC TGAGGAAGGTACTTCTGAAAGCGCTACTCCTGAGTCTGGTCCAGGTACCTCTACTGAA CCGTCCGAAGGTAGCGCTCCAGGTAGCCCAGCAGGCTCTCCGACTTCCACTGAGGAAG GTACTTCTACTGAACCTTCCGAAGGCAGCGCACCAGGTACCTCTACTGAACCTTCTGA GGGCAGCGCTCCAGGTACTTCTGAAAGCGCTACCCCGGAATCTGGCCCAGGTAGCGA ACCGGCTACTTCTGGTTCTGAAACCCCAGGTAGCGAACCGGCTACCTCCGGTTCTGAA ACTCCAGGTAGCCCGGCAGGCTCTCCGACCTCTACTGAGGAAGGTACTTCTGAAAGCG CAACCCCGGAGTCCGGCCCAGGTACCTCTACCGAACCGTCTGAGGGCAGCGCACCAG GTACTTCTACCGAACCGTCCGAGGGTAGCGCACCAGGTAGCCCAGCAGGTTCTCCTAC CTCCACCGAGGAAGGTACTTCTACCGAACCGTCCGAGGGTAGCGCACCAGGTACCTCT ACTGAACCTTCTGAGGGCAGCGCTCCAGGTACTTCTGAAAGCGCTACCCCGGAGTCCG GTCCAGGTACTTCTACTGAACCGTCCGAAGGTAGCGCACCAGGTACTTCTGAAAGCGC AACCCCTGAATCCGGTCCAGGTAGCGAACCGGCTACTTCTGGCTCTGAGACTCCAGGT ACTTCTACCGAACCGTCCGAAGGTAGCGCACCAGGTACTTCTACTGAACCGTCTGAAG GTAGCGCACCAGGTACTTCTGAAAGCGCAACCCCGGAATCCGGCCCAGGTACCTCTGA AAGCGCAACCCCGGAGTCCGGCCCAGGTAGCCCTGCTGGCTCTCCAACCTCCACCGAA GAAGGTACCTCTGAAAGCGCAACCCCTGAATCCGGCCCAGGTAGCGAACCGGCAACC TCCGGTTCTGAAACCCCAGGTACCTCTGAAAGCGCTACTCCGGAGTCTGGCCCAGGTA CCTCTACTGAACCGTCTGAGGGTAGCGCTCCAGGTACTTCTACTGAACCGTCCGAAGG TAGCGCACCAGGTACTTCTACCGAACCGTCCGAAGGCAGCGCTCCAGGTACCTCTACT GAACCTTCCGAGGGCAGCGCTCCAGGTACCTCTACCGAACCTTCTGAAGGTAGCGCAC CAGGTACTTCTACCGAACCGTCCGAGGGTAGCGCACCAGGTAGCCCAGCAGGTTCTCC TACCTCCACCGAGGAAGGTACTTCTACCGAACCGTCCGAGGGTAGCGCACCAGGTACC TCTGAAAGCGCAACTCCTGAGTCTGGCCCAGGTAGCGAACCTGCTACCTCCGGCTCTG AGACTCCAGGTACCTCTGAAAGCGCAACCCCGGAATCTGGTCCAGGTAGCGAACCTGC AACCTCTGGCTCTGAAACCCCAGGTACCTCTGAAAGCGCTACTCCTGAATCTGGCCCA GGTACTTCTACTGAACCGTCCGAGGGCAGCGCACCAGGTACTTCTGAAAGCGCTACTC CTGAGTCCGGCCCAGGTAGCCCGGCTGGCTCTCCGACTTCCACCGAGGAAGGTAGCCC GGCTGGCTCTCCAACTTCTACTGAAGAAGGTAGCCCGGCAGGCTCTCCGACCTCTACT GAGGAAGGTACTTCTGAAAGCGCAACCCCGGAGTCCGGCCCAGGTACCTCTACCGAA CCGTCTGAGGGCAGCGCACCA

AM875	GGTACTTCTACTGAACCGTCTGAAGGCAGCGCACCAGGTAGCGAACCGGCTACTTCCG GTTCTGAAACCCCAGGTAGCCCAGCAGGTTCTCCAACTTCTACTGAAGAAGGTTCTAC CAGCTCTACCGCAGAATCTCCTGGTCCAGGTACCTCTACTCCGGAAAGCGGCTCTGCA TCTCCAGGTTCTACTAGCGAATCTCCTTCTGGCACTGCACCAGGTTCTACTAGCGAATC CCCGTCTGGTACTGCTCCAGGTACTTCTACTCCTGAAAGCGGTTCCGCTTCTCCAGGTA CCTCTACTCCGGAAAGCGGTTCTGCATCTCCAGGTAGCGAACCGGCAACCTCCGGCTC
	TGAAACCCCAGGTACCTCTGAAAGCGCTACTCCTGAATCCGGCCCAGGTAGCCCGGCA GGTTCTCCGACTTCCACTGAGGAAGGTACCTCTACTGAACCTTCTGAGGGCAGCGCTC CAGGTACTTCTGAAAGCGCTACCCCGGAGTCCGGTCCAGGTACTTCTACTGAACCGTC CGAAGGTAGCGCACCAGGTACTTCTACCGAACCGTCCGAGGGTAGCGCACCAGGTAG CCCAGCAGGTTCTCCTACCTCCACCGAGGAAGGTACTTCTACCGAACCGTCCGAGGGT AGCGCACCAGGTACTTCTACCGAACCTTCCGAGGGCAGCGCACCAGGTACTTCTGAAA GCGCTACCCCTGAGTCCGGCCCAGGTACTTCTGAAAGCGCTACTCCTGAATCCGGTCC AGGTACCTCTACTGAACCTTCCGAAGGCAGCGCTCCAGGTACCTCTACCGAACCGTCC GAGGGCAGCGCACCAGGTACTTCTGAAAGCGCAACCCCTGAATCCGGTCCAGGTACTT CTACTGAACCTTCCGAAGGTAGCGCTCCAGGTAGCGAACCTGCTACTTCTGGTTCTGA AACCCCAGGTAGCCCGGCTGGCTCTCCGACCTCCACCGAGGAAGGTAGCTCTACCCCG TCTGGTGCTACTGGTTCTCCAGGTACTCCGGGCAGCGGTACTGCTTCTTCCTCTCCAGG TAGCTCTACCCCTTCTGGTGCTACTGGCTCTCCAGGTACCTCTACCGAACCGTCCGAGG GTAGCGCACCAGGTACCTCTACTGAACCGTCTGAGGGTAGCGCTCCAGGTAGCGAACC GGCAACCTCCGGTTCTGAAACTCCAGGTAGCCCTGCTGGCTCTCCGACTTCTACTGAG GAAGGTAGCCCGGCTGGTTCTCCGACTTCTACTGAGGAAGGTACTTCTACCGAACCTT CCGAAGGTAGCGCTCCAGGTGCAAGCGCAAGCGGCGCGCCAAGCACGGGAGGTACTT CTGAAAGCGCTACTCCTGAGTCCGGCCCAGGTAGCCCGGCTGGCTCTCCGACTTCCAC CGAGGAAGGTAGCCCGGCTGGCTCTCCAACTTCTACTGAAGAAGGTTCTACCAGCTCT ACCGCTGAATCTCCTGGCCCAGGTTCTACTAGCGAATCTCCGTCTGGCACCGCACCAG GTACTTCCCCTAGCGGTGAATCTTCTACTGCACCAGGTACCCCTGGCAGCGGTACCGC TTCTTCCTCTCCAGGTAGCTCTACCCCGTCTGGTGCTACTGGCTCTCCAGGTTCTAGCC CGTCTGCATCTACCGGTACCGGCCCAGGTAGCGAACCGGCAACCTCCGGCTCTGAAAC TCCAGGTACTTCTGAAAGCGCTACTCCGGAATCCGGCCCAGGTAGCGAACCGGCTACT TCCGGCTCTGAAACCCCAGGTTCCACCAGCTCTACTGCAGAATCTCCGGGCCCAGGTT CTACTAGCTCTACTGCAGAATCTCCGGGTCCAGGTACTTCTCCTAGCGGCGAATCTTCT ACCGCTCCAGGTAGCGAACCGGCAACCTCTGGCTCTGAAACTCCAGGTAGCGAACCTG CAACCTCCGGCTCTGAAACCCCAGGTACTTCTACTGAACCTTCTGAGGGCAGCGCACC AGGTTCTACCAGCTCTACCGCAGAATCTCCTGGTCCAGGTACCTCTACTCCGGAAAGC GGCTCTGCATCTCCAGGTTCTACTAGCGAATCTCCTTCTGGCACTGCACCAGGTACTTC TACCGAACCGTCCGAAGGCAGCGCTCCAGGTACCTCTACTGAACCTTCCGAGGGCAGC GCTCCAGGTACCTCTACCGAACCTTCTGAAGGTAGCGCACCAGGTAGCTCTACTCCGT CTGGTGCAACCGGCTCCCCAGGTTCTAGCCCGTCTGCTTCCACTGGTACTGGCCCAGGT GCTTCCCCGGGCACCAGCTCTACTGGTTCTCCAGGTAGCGAACCTGCTACCTCCGGTTC TGAAACCCCAGGTACCTCTGAAAGCGCAACTCCGGAGTCTGGTCCAGGTAGCCCTGCA GGTTCTCCTACCTCCACTGAGGAAGGTAGCTCTACTCCGTCTGGTGCAACCGGCTCCCC AGGTTCTAGCCCGTCTGCTTCCACTGGTACTGGCCCAGGTGCTTCCCCGGGCACCAGCT CTACTGGTTCTCCAGGTACCTCTGAAAGCGCTACTCCGGAGTCTGGCCCAGGTACCTCT ACTGAACCGTCTGAGGGTAGCGCTCCAGGTACTTCTACTGAACCGTCCGAAGGTAGCG CACCA

AE864	GGTAGCCCGGCTGGCTCTCCTACCTCTACTGAGGAAGGTACTTCTGAAAGCGCTACTC CTGAGTCTGGTCCAGGTACCTCTACTGAACCGTCCGAAGGTAGCGCTCCAGGTAGCCC AGCAGGCTCTCCGACTTCCACTGAGGAAGGTACTTCTACTGAACCTTCCGAAGGCAGC GCACCAGGTACCTCTACTGAACCTTCTGAGGGCAGCGCTCCAGGTACTTCTGAAAGCG CTACCCCGGAATCTGGCCCAGGTAGCGAACCGGCTACTTCTGGTTCTGAAACCCCAGG TAGCGAACCGGCTACCTCCGGTTCTGAAACTCCAGGTAGCCCGGCAGGCTCTCCGACC TCTACTGAGGAAGGTACTTCTGAAAGCGCAACCCCGGAGTCCGGCCCAGGTACCTCTA CCGAACCGTCTGAGGGCAGCGCACCAGGTACTTCTACCGAACCGTCCGAGGGTAGCG CACCAGGTAGCCCAGCAGGTTCTCCTACCTCCACCGAGGAAGGTACTTCTACCGAACC GTCCGAGGGTAGCGCACCAGGTACCTCTACTGAACCTTCTGAGGGCAGCGCTCCAGGT ACTTCTGAAAGCGCTACCCCGGAGTCCGGTCCAGGTACTTCTACTGAACCGTCCGAAG GTAGCGCACCAGGTACTTCTGAAAGCGCAACCCCTGAATCCGGTCCAGGTAGCGAACC GGCTACTTCTGGCTCTGAGACTCCAGGTACTTCTACCGAACCGTCCGAAGGTAGCGCA CCAGGTACTTCTACTGAACCGTCTGAAGGTAGCGCACCAGGTACTTCTGAAAGCGCAA CCCCGGAATCCGGCCCAGGTACCTCTGAAAGCGCAACCCCGGAGTCCGGCCCAGGTA GCCCTGCTGGCTCTCCAACCTCCACCGAAGAAGGTACCTCTGAAAGCGCAACCCCTGA ATCCGGCCCAGGTAGCGAACCGGCAACCTCCGGTTCTGAAACCCCAGGTACCTCTGAA AGCGCTACTCCGGAGTCTGGCCCAGGTACCTCTACTGAACCGTCTGAGGGTAGCGCTC CAGGTACTTCTACTGAACCGTCCGAAGGTAGCGCACCAGGTACTTCTACCGAACCGTC
	CGAAGGCAGCGCTCCAGGTACCTCTACTGAACCTTCCGAGGGCAGCGCTCCAGGTACC TCTACCGAACCTTCTGAAGGTAGCGCACCAGGTACTTCTACCGAACCGTCCGAGGGTA GCGCACCAGGTAGCCCAGCAGGTTCTCCTACCTCCACCGAGGAAGGTACTTCTACCGA ACCGTCCGAGGGTAGCGCACCAGGTACCTCTGAAAGCGCAACTCCTGAGTCTGGCCCA GGTAGCGAACCTGCTACCTCCGGCTCTGAGACTCCAGGTACCTCTGAAAGCGCAACCC CGGAATCTGGTCCAGGTAGCGAACCTGCAACCTCTGGCTCTGAAACCCCAGGTACCTC TGAAAGCGCTACTCCTGAATCTGGCCCAGGTACTTCTACTGAACCGTCCGAGGGCAGC GCACCAGGTACTTCTGAAAGCGCTACTCCTGAGTCCGGCCCAGGTAGCCCGGCTGGCT CTCCGACTTCCACCGAGGAAGGTAGCCCGGCTGGCTCTCCAACTTCTACTGAAGAAGG TAGCCCGGCAGGCTCTCCGACCTCTACTGAGGAAGGTACTTCTGAAAGCGCAACCCCG GAGTCCGGCCCAGGTACCTCTACCGAACCGTCTGAGGGCAGCGCACCAGGTACCTCTG AAAGCGCAACTCCTGAGTCTGGCCCAGGTAGCGAACCTGCTACCTCCGGCTCTGAGAC TCCAGGTACCTCTGAAAGCGCAACCCCGGAATCTGGTCCAGGTAGCGAACCTGCAACC TCTGGCTCTGAAACCCCAGGTACCTCTGAAAGCGCTACTCCTGAATCTGGCCCAGGTA CTTCTACTGAACCGTCCGAGGGCAGCGCACCAGGTAGCCCTGCTGGCTCTCCAACCTC CACCGAAGAAGGTACCTCTGAAAGCGCAACCCCTGAATCCGGCCCAGGTAGCGAACC GGCAACCTCCGGTTCTGAAACCCCAGGTACTTCTGAAAGCGCTACTCCTGAGTCCGGC CCAGGTAGCCCGGCTGGCTCTCCGACTTCCACCGAGGAAGGTAGCCCGGCTGGCTCTC CAACTTCTACTGAAGAAGGTACTTCTACCGAACCTTCCGAGGGCAGCGCACCAGGTAC TTCTGAAAGCGCTACCCCTGAGTCCGGCCCAGGTACTTCTGAAAGCGCTACTCCTGAA TCCGGTCCAGGTACTTCTGAAAGCGCTACCCCGGAATCTGGCCCAGGTAGCGAACCGG CTACTTCTGGTTCTGAAACCCCAGGTAGCGAACCGGCTACCTCCGGTTCTGAAACTCC AGGTAGCCCAGCAGGCTCTCCGACTTCCACTGAGGAAGGTACTTCTACTGAACCTTCC GAAGGCAGCGCACCAGGTACCTCTACTGAACCTTCTGAGGGCAGCGCTCCAGGTAGC GAACCTGCAACCTCTGGCTCTGAAACCCCAGGTACCTCTGAAAGCGCTACTCCTGAAT CTGGCCCAGGTACTTCTACTGAACCGTCCGAGGGCAGCGCACCA

AF864	GGTTCTACCAGCGAATCTCCTTCTGGCACCGCTCCAGGTACCTCTCCTAGCGGCGAATC TTCTACCGCTCCAGGTTCTACTAGCGAATCTCCTTCTGGCACTGCACCAGGTTCTACTA GCGAATCCCCGTCTGGTACTGCTCCAGGTACTTCTACTCCTGAAAGCGGTTCCGCTTCT CCAGGTACCTCTACTCCGGAAAGCGGTTCTGCATCTCCAGGTTCTACCAGCGAATCTC CTTCTGGCACCGCTCCAGGTTCTACTAGCGAATCCCCGTCTGGTACCGCACCAGGTACT TCTCCTAGCGGCGAATCTTCTACCGCACCAGGTTCTACTAGCGAATCTCCGTCTGGCAC TGCTCCAGGTACTTCTCCTAGCGGTGAATCTTCTACCGCTCCAGGTACTTCCCCTAGCG GCGAATCTTCTACCGCTCCAGGTTCTACTAGCTCTACTGCAGAATCTCCGGGCCCAGGT ACCTCTCCTAGCGGTGAATCTTCTACCGCTCCAGGTACTTCTCCGAGCGGTGAATCTTC TACCGCTCCAGGTTCTACTAGCTCTACTGCAGAATCTCCTGGCCCAGGTACCTCTACTC CGGAAAGCGGCTCTGCATCTCCAGGTACTTCTACCCCTGAAAGCGGTTCTGCATCTCC AGGTTCTACTAGCGAATCTCCTTCTGGCACTGCACCAGGTTCTACCAGCGAATCTCCGT CTGGCACTGCACCAGGTACCTCTACCCCTGAAAGCGGTTCCGCTTCTCCAGGTTCTACC AGCTCTACCGCAGAATCTCCTGGTCCAGGTACCTCTACTCCGGAAAGCGGCTCTGCAT CTCCAGGTTCTACTAGCGAATCTCCTTCTGGCACTGCACCAGGTACTTCTCCGAGCGGT GAATCTTCTACCGCACCAGGTTCTACTAGCTCTACCGCTGAATCTCCGGGCCCAGGTA CTTCTCCGAGCGGTGAATCTTCTACTGCTCCAGGTACCTCTACTCCTGAAAGCGGTTCT GCATCTCCAGGTTCCACTAGCTCTACCGCAGAATCTCCGGGCCCAGGTTCTACTAGCTC TACTGCTGAATCTCCTGGCCCAGGTTCTACTAGCTCTACTGCTGAATCTCCGGGTCCAG GTTCTACCAGCTCTACTGCTGAATCTCCTGGTCCAGGTACCTCCCCGAGCGGTGAATCT TCTACTGCACCAGGTTCTACTAGCGAATCTCCTTCTGGCACTGCACCAGGTTCTACCAG CGAATCTCCGTCTGGCACTGCACCAGGTACCTCTACCCCTGAAAGCGGTCCXXXXXXX XXXXXTGCAAGCGCAAGCGGCGCGCCAAGCACGGGAXXXXXXXXTAGCGAATCTCCT TCTGGTACCGCTCCAGGTTCTACCAGCGAATCCCCGTCTGGTACTGCTCCAGGTTCTAC CAGCGAATCTCCTTCTGGTACTGCACCAGGTTCTACTAGCGAATCTCCTTCTGGTACCG CTCCAGGTTCTACCAGCGAATCCCCGTCTGGTACTGCTCCAGGTTCTACCAGCGAATCT CCTTCTGGTACTGCACCAGGTACTTCTACTCCGGAAAGCGGTTCCGCATCTCCAGGTAC TTCTCCTAGCGGTGAATCTTCTACTGCTCCAGGTACCTCTCCTAGCGGCGAATCTTCTA CTGCTCCAGGTTCTACCAGCTCTACTGCTGAATCTCCGGGTCCAGGTACTTCCCCGAGC GGTGAATCTTCTACTGCACCAGGTACTTCTACTCCGGAAAGCGGTTCCGCTTCTCCAGG TTCTACCAGCGAATCTCCTTCTGGCACCGCTCCAGGTTCTACTAGCGAATCCCCGTCTG GTACCGCACCAGGTACTTCTCCTAGCGGCGAATCTTCTACCGCACCAGGTTCTACTAG CGAATCCCCGTCTGGTACCGCACCAGGTACTTCTACCCCGGAAAGCGGCTCTGCTTCT
	CCAGGTACTTCTACCCCGGAAAGCGGCTCCGCATCTCCAGGTTCTACTAGCGAATCTC CTTCTGGTACCGCTCCAGGTACTTCTACCCCTGAAAGCGGCTCCGCTTCTCCAGGTTCC ACTAGCTCTACCGCTGAATCTCCGGGTCCAGGTTCTACCAGCGAATCTCCTTCTGGCAC CGCTCCAGGTTCTACTAGCGAATCCCCGTCTGGTACCGCACCAGGTACTTCTCCTAGCG GCGAATCTTCTACCGCACCAGGTTCTACCAGCTCTACTGCTGAATCTCCGGGTCCAGGT ACTTCCCCGAGCGGTGAATCTTCTACTGCACCAGGTACTTCTACTCCGGAAAGCGGTT CCGCTTCTCCAGGTACCTCCCCTAGCGGCGAATCTTCTACTGCTCCAGGTACCTCTCCT AGCGGCGAATCTTCTACCGCTCCAGGTACCTCCCCTAGCGGTGAATCTTCTACCGCAC CAGGTTCTACTAGCTCTACTGCTGAATCTCCGGGTCCAGGTTCTACCAGCTCTACTGCT GAATCTCCTGGTCCAGGTACCTCCCCGAGCGGTGAATCTTCTACTGCACCAGGTTCTA GCCCTTCTGCTTCCACCGGTACCGGCCCAGGTAGCTCTACTCCGTCTGGTGCAACTGGC TCTCCAGGTAGCTCTACTCCGTCTGGTGCAACCGGCTCCCCA XXXX foi inserido em duas áreas onde não esta disponível nenhuma informação de sequência.

AG864	GGTGCTTCCCCGGGCACCAGCTCTACTGGTTCTCCAGGTTCTAGCCCGTCTGCTTCTAC TGGTACTGGTCCAGGTTCTAGCCCTTCTGCTTCCACTGGTACTGGTCCAGGTACCCCGG GTAGCGGTACCGCTTCTTCTTCTCCAGGTAGCTCTACTCCGTCTGGTGCTACCGGCTCT CCAGGTTCTAACCCTTCTGCATCCACCGGTACCGGCCCAGGTGCTTCTCCGGGCACCA GCTCTACTGGTTCTCCAGGTACCCCGGGCAGCGGTACCGCATCTTCTTCTCCAGGTAGC TCTACTCCTTCTGGTGCAACTGGTTCTCCAGGTACTCCTGGCAGCGGTACCGCTTCTTC TTCTCCAGGTGCTTCTCCTGGTACTAGCTCTACTGGTTCTCCAGGTGCTTCTCCGGGCA CTAGCTCTACTGGTTCTCCAGGTACCCCGGGTAGCGGTACTGCTTCTTCCTCTCCAGGT AGCTCTACCCCTTCTGGTGCAACCGGCTCTCCAGGTGCTTCTCCGGGCACCAGCTCTAC CGGTTCTCCAGGTACCCCGGGTAGCGGTACCGCTTCTTCTTCTCCAGGTAGCTCTACTC CGTCTGGTGCTACCGGCTCTCCAGGTTCTAACCCTTCTGCATCCACCGGTACCGGCCCA GGTTCTAGCCCTTCTGCTTCCACCGGTACTGGCCCAGGTAGCTCTACCCCTTCTGGTGC TACCGGCTCCCCAGGTAGCTCTACTCCTTCTGGTGCAACTGGCTCTCCAGGTGCATCTC CGGGCACTAGCTCTACTGGTTCTCCAGGTGCATCCCCTGGCACTAGCTCTACTGGTTCT CCAGGTGCTTCTCCTGGTACCAGCTCTACTGGTTCTCCAGGTACTCCTGGCAGCGGTAC CGCTTCTTCTTCTCCAGGTGCTTCTCCTGGTACTAGCTCTACTGGTTCTCCAGGTGCTTC TCCGGGCACTAGCTCTACTGGTTCTCCAGGTGCTTCCCCGGGCACTAGCTCTACCGGTT CTCCAGGTTCTAGCCCTTCTGCATCTACTGGTACTGGCCCAGGTACTCCGGGCAGCGGT ACTGCTTCTTCCTCTCCAGGTGCATCTCCGGGCACTAGCTCTACTGGTTCTCCAGGTGC ATCCCCTGGCACTAGCTCTACTGGTTCTCCAGGTGCTTCTCCTGGTACCAGCTCTACTG GTTCTCCAGGTAGCTCTACTCCGTCTGGTGCAACCGGTTCCCCAGGTAGCTCTACTCCT TCTGGTGCTACTGGCTCCCCAGGTGCATCCCCTGGCACCAGCTCTACCGGTTCTCCAGG TACCCCGGGCAGCGGTACCGCATCTTCCTCTCCAGGTAGCTCTACCCCGTCTGGTGCTA CCGGTTCCCCAGGTAGCTCTACCCCGTCTGGTGCAACCGGCTCCCCAGGTAGCTCTACT CCGTCTGGTGCAACCGGCTCCCCAGGTTCTAGCCCGTCTGCTTCCACTGGTACTGGCCC AGGTGCTTCCCCGGGCACCAGCTCTACTGGTTCTCCAGGTGCATCCCCGGGTACCAGC TCTACCGGTTCTCCAGGTACTCCTGGCAGCGGTACTGCATCTTCCTCTCCAGGTGCTTC TCCGGGCACCAGCTCTACTGGTTCTCCAGGTGCATCTCCGGGCACTAGCTCTACTGGTT CTCCAGGTGCATCCCCTGGCACTAGCTCTACTGGTTCTCCAGGTGCTTCTCCTGGTACC AGCTCTACTGGTTCTCCAGGTACCCCTGGTAGCGGTACTGCTTCTTCCTCTCCAGGTAG CTCTACTCCGTCTGGTGCTACCGGTTCTCCAGGTACCCCGGGTAGCGGTACCGCATCTT CTTCTCCAGGTAGCTCTACCCCGTCTGGTGCTACTGGTTCTCCAGGTACTCCGGGCAGC GGTACTGCTTCTTCCTCTCCAGGTAGCTCTACCCCTTCTGGTGCTACTGGCTCTCCAGG TAGCTCTACCCCGTCTGGTGCTACTGGCTCCCCAGGTTCTAGCCCTTCTGCATCCACCG GTACCGGTCCAGGTTCTAGCCCGTCTGCATCTACTGGTACTGGTCCAGGTGCATCCCCG GGCACTAGCTCTACCGGTTCTCCAGGTACTCCTGGTAGCGGTACTGCTTCTTCTTCTCC AGGTAGCTCTACTCCTTCTGGTGCTACTGGTTCTCCAGGTTCTAGCCCTTCTGCATCCA CCGGTACCGGCCCAGGTTCTAGCCCGTCTGCTTCTACCGGTACTGGTCCAGGTGCTTCT CCGGGTACTAGCTCTACTGGTTCTCCAGGTGCATCTCCTGGTACTAGCTCTACTGGTTC TCCAGGTAGCTCTACTCCGTCTGGTGCAACCGGCTCTCCAGGTTCTAGCCCTTCTGCAT CTACCGGTACTGGTCCAGGTGCATCCCCTGGTACCAGCTCTACCGGTTCTCCAGGTTCT AGCCCTTCTGCTTCTACCGGTACCGGTCCAGGTACCCCTGGCAGCGGTACCGCATCTTC CTCTCCAGGTAGCTCTACTCCGTCTGGTGCAACCGGTTCCCCAGGTAGCTCTACTCCTT CTGGTGCTACTGGCTCCCCAGGTGCATCCCCTGGCACCAGCTCTACCGGTTCTCCA

AM923	ATGGCTGAACCTGCTGGCTCTCCAACCTCCACTGAGGAAGGTGCATCCCCGGGCACCA GCTCTACCGGTTCTCCAGGTAGCTCTACCCCGTCTGGTGCTACCGGCTCTCCAGGTAGC TCTACCCCGTCTGGTGCTACTGGCTCTCCAGGTACTTCTACTGAACCGTCTGAAGGCAG CGCACCAGGTAGCGAACCGGCTACTTCCGGTTCTGAAACCCCAGGTAGCCCAGCAGGT TCTCCAACTTCTACTGAAGAAGGTTCTACCAGCTCTACCGCAGAATCTCCTGGTCCAG GTACCTCTACTCCGGAAAGCGGCTCTGCATCTCCAGGTTCTACTAGCGAATCTCCTTCT GGCACTGCACCAGGTTCTACTAGCGAATCCCCGTCTGGTACTGCTCCAGGTACTTCTAC TCCTGAAAGCGGTTCCGCTTCTCCAGGTACCTCTACTCCGGAAAGCGGTTCTGCATCTC CAGGTAGCGAACCGGCAACCTCCGGCTCTGAAACCCCAGGTACCTCTGAAAGCGCTAC TCCTGAATCCGGCCCAGGTAGCCCGGCAGGTTCTCCGACTTCCACTGAGGAAGGTACC TCTACTGAACCTTCTGAGGGCAGCGCTCCAGGTACTTCTGAAAGCGCTACCCCGGAGT CCGGTCCAGGTACTTCTACTGAACCGTCCGAAGGTAGCGCACCAGGTACTTCTACCGA ACCGTCCGAGGGTAGCGCACCAGGTAGCCCAGCAGGTTCTCCTACCTCCACCGAGGAA GGTACTTCTACCGAACCGTCCGAGGGTAGCGCACCAGGTACTTCTACCGAACCTTCCG AGGGCAGCGCACCAGGTACTTCTGAAAGCGCTACCCCTGAGTCCGGCCCAGGTACTTC TGAAAGCGCTACTCCTGAATCCGGTCCAGGTACCTCTACTGAACCTTCCGAAGGCAGC GCTCCAGGTACCTCTACCGAACCGTCCGAGGGCAGCGCACCAGGTACTTCTGAAAGCG CAACCCCTGAATCCGGTCCAGGTACTTCTACTGAACCTTCCGAAGGTAGCGCTCCAGG TAGCGAACCTGCTACTTCTGGTTCTGAAACCCCAGGTAGCCCGGCTGGCTCTCCGACC TCCACCGAGGAAGGTAGCTCTACCCCGTCTGGTGCTACTGGTTCTCCAGGTACTCCGG GCAGCGGTACTGCTTCTTCCTCTCCAGGTAGCTCTACCCCTTCTGGTGCTACTGGCTCT CCAGGTACCTCTACCGAACCGTCCGAGGGTAGCGCACCAGGTACCTCTACTGAACCGT CTGAGGGTAGCGCTCCAGGTAGCGAACCGGCAACCTCCGGTTCTGAAACTCCAGGTAG CCCTGCTGGCTCTCCGACTTCTACTGAGGAAGGTAGCCCGGCTGGTTCTCCGACTTCTA CTGAGGAAGGTACTTCTACCGAACCTTCCGAAGGTAGCGCTCCAGGTGCAAGCGCAA GCGGCGCGCCAAGCACGGGAGGTACTTCTGAAAGCGCTACTCCTGAGTCCGGCCCAG GTAGCCCGGCTGGCTCTCCGACTTCCACCGAGGAAGGTAGCCCGGCTGGCTCTCCAAC TTCTACTGAAGAAGGTTCTACCAGCTCTACCGCTGAATCTCCTGGCCCAGGTTCTACTA GCGAATCTCCGTCTGGCACCGCACCAGGTACTTCCCCTAGCGGTGAATCTTCTACTGC ACCAGGTACCCCTGGCAGCGGTACCGCTTCTTCCTCTCCAGGTAGCTCTACCCCGTCTG GTGCTACTGGCTCTCCAGGTTCTAGCCCGTCTGCATCTACCGGTACCGGCCCAGGTAG CGAACCGGCAACCTCCGGCTCTGAAACTCCAGGTACTTCTGAAAGCGCTACTCCGGAA TCCGGCCCAGGTAGCGAACCGGCTACTTCCGGCTCTGAAACCCCAGGTTCCACCAGCT CTACTGCAGAATCTCCGGGCCCAGGTTCTACTAGCTCTACTGCAGAATCTCCGGGTCC AGGTACTTCTCCTAGCGGCGAATCTTCTACCGCTCCAGGTAGCGAACCGGCAACCTCT GGCTCTGAAACTCCAGGTAGCGAACCTGCAACCTCCGGCTCTGAAACCCCAGGTACTT CTACTGAACCTTCTGAGGGCAGCGCACCAGGTTCTACCAGCTCTACCGCAGAATCTCC TGGTCCAGGTACCTCTACTCCGGAAAGCGGCTCTGCATCTCCAGGTTCTACTAGCGAA TCTCCTTCTGGCACTGCACCAGGTACTTCTACCGAACCGTCCGAAGGCAGCGCTCCAG GTACCTCTACTGAACCTTCCGAGGGCAGCGCTCCAGGTACCTCTACCGAACCTTCTGA AGGTAGCGCACCAGGTAGCTCTACTCCGTCTGGTGCAACCGGCTCCCCAGGTTCTAGC CCGTCTGCTTCCACTGGTACTGGCCCAGGTGCTTCCCCGGGCACCAGCTCTACTGGTTC TCCAGGTAGCGAACCTGCTACCTCCGGTTCTGAAACCCCAGGTACCTCTGAAAGCGCA ACTCCGGAGTCTGGTCCAGGTAGCCCTGCAGGTTCTCCTACCTCCACTGAGGAAGGTA GCTCTACTCCGTCTGGTGCAACCGGCTCCCCAGGTTCTAGCCCGTCTGCTTCCACTGGT ACTGGCCCAGGTGCTTCCCCGGGCACCAGCTCTACTGGTTCTCCAGGTACCTCTGAAA GCGCTACTCCGGAGTCTGGCCCAGGTACCTCTACTGAACCGTCTGAGGGTAGCGCTCC AGGTACTTCTACTGAACCGTCCGAAGGTAGCGCACCA

AE912	ATGGCTGAACCTGCTGGCTCTCCAACCTCCACTGAGGAAGGTACCCCGGGTAGCGGTA CTGCTTCTTCCTCTCCAGGTAGCTCTACCCCTTCTGGTGCAACCGGCTCTCCAGGTGCT TCTCCGGGCACCAGCTCTACCGGTTCTCCAGGTAGCCCGGCTGGCTCTCCTACCTCTAC TGAGGAAGGTACTTCTGAAAGCGCTACTCCTGAGTCTGGTCCAGGTACCTCTACTGAA CCGTCCGAAGGTAGCGCTCCAGGTAGCCCAGCAGGCTCTCCGACTTCCACTGAGGAAG GTACTTCTACTGAACCTTCCGAAGGCAGCGCACCAGGTACCTCTACTGAACCTTCTGA GGGCAGCGCTCCAGGTACTTCTGAAAGCGCTACCCCGGAATCTGGCCCAGGTAGCGA ACCGGCTACTTCTGGTTCTGAAACCCCAGGTAGCGAACCGGCTACCTCCGGTTCTGAA ACTCCAGGTAGCCCGGCAGGCTCTCCGACCTCTACTGAGGAAGGTACTTCTGAAAGCG CAACCCCGGAGTCCGGCCCAGGTACCTCTACCGAACCGTCTGAGGGCAGCGCACCAG GTACTTCTACCGAACCGTCCGAGGGTAGCGCACCAGGTAGCCCAGCAGGTTCTCCTAC
	CTCCACCGAGGAAGGTACTTCTACCGAACCGTCCGAGGGTAGCGCACCAGGTACCTCT ACTGAACCTTCTGAGGGCAGCGCTCCAGGTACTTCTGAAAGCGCTACCCCGGAGTCCG GTCCAGGTACTTCTACTGAACCGTCCGAAGGTAGCGCACCAGGTACTTCTGAAAGCGC AACCCCTGAATCCGGTCCAGGTAGCGAACCGGCTACTTCTGGCTCTGAGACTCCAGGT ACTTCTACCGAACCGTCCGAAGGTAGCGCACCAGGTACTTCTACTGAACCGTCTGAAG GTAGCGCACCAGGTACTTCTGAAAGCGCAACCCCCGGAATCCGGCCCAGGTACCTCTGA AAGCGCAACCCCCGGAGTCCGGCCCAGGTAGCCCTGCTGGCTCTCCAACCTCCACCGAA GAAGGTACCTCTGAAAGCGCAACCCCTGAATCCGGCCCAGGTAGCGAACCGGCAACC TCCGGTTCTGAAACCCCAGGTACCTCTGAAAGCGCTACTCCGGAGTCTGGCCCAGGTA CCTCTACTGAACCGTCTGAGGGTAGCGCTCCAGGTACTTCTACTGAACCGTCCGAAGG TAGCGCACCAGGTACTTCTACCGAACCGTCCGAAGGCAGCGCTCCAGGTACCTCTACT GAACCTTCCGAGGGCAGCGCTCCAGGTACCTCTACCGAACCTTCTGAAGGTAGCGCAC CAGGTACTTCTACCGAACCGTCCGAGGGTAGCGCACCAGGTAGCCCAGCAGGTTCTCC TACCTCCACCGAGGAAGGTACTTCTACCGAACCGTCCGAGGGTAGCGCACCAGGTACC TCTGAAAGCGCAACTCCTGAGTCTGGCCCAGGTAGCGAACCTGCTACCTCCGGCTCTG AGACTCCAGGTACCTCTGAAAGCGCAACCCCGGAATCTGGTCCAGGTAGCGAACCTGC AACCTCTGGCTCTGAAACCCCAGGTACCTCTGAAAGCGCTACTCCTGAATCTGGCCCA GGTACTTCTACTGAACCGTCCGAGGGCAGCGCACCAGGTACTTCTGAAAGCGCTACTC CTGAGTCCGGCCCAGGTAGCCCGGCTGGCTCTCCGACTTCCACCGAGGAAGGTAGCCC GGCTGGCTCTCCAACTTCTACTGAAGAAGGTAGCCCGGCAGGCTCTCCGACCTCTACT GAGGAAGGTACTTCTGAAAGCGCAACCCCGGAGTCCGGCCCAGGTACCTCTACCGAA CCGTCTGAGGGCAGCGCACCAGGTACCTCTGAAAGCGCAACTCCTGAGTCTGGCCCAG GTAGCGAACCTGCTACCTCCGGCTCTGAGACTCCAGGTACCTCTGAAAGCGCAACCCC GGAATCTGGTCCAGGTAGCGAACCTGCAACCTCTGGCTCTGAAACCCCAGGTACCTCT GAAAGCGCTACTCCTGAATCTGGCCCAGGTACTTCTACTGAACCGTCCGAGGGCAGCG CACCAGGTAGCCCTGCTGGCTCTCCAACCTCCACCGAAGAAGGTACCTCTGAAAGCGC AACCCCTGAATCCGGCCCAGGTAGCGAACCGGCAACCTCCGGTTCTGAAACCCCAGGT ACTTCTGAAAGCGCTACTCCTGAGTCCGGCCCAGGTAGCCCGGCTGGCTCTCCGACTT CCACCGAGGAAGGTAGCCCGGCTGGCTCTCCAACTTCTACTGAAGAAGGTACTTCTAC CGAACCTTCCGAGGGCAGCGCACCAGGTACTTCTGAAAGCGCTACCCCTGAGTCCGGC CCAGGTACTTCTGAAAGCGCTACTCCTGAATCCGGTCCAGGTACTTCTGAAAGCGCTA CCCCGGAATCTGGCCCAGGTAGCGAACCGGCTACTTCTGGTTCTGAAACCCCAGGTAG CGAACCGGCTACCTCCGGTTCTGAAACTCCAGGTAGCCCAGCAGGCTCTCCGACTTCC ACTGAGGAAGGTACTTCTACTGAACCTTCCGAAGGCAGCGCACCAGGTACCTCTACTG AACCTTCTGAGGGCAGCGCTCCAGGTAGCGAACCTGCAACCTCTGGCTCTGAAACCCC AGGTACCTCTGAAAGCGCTACTCCTGAATCTGGCCCAGGTACTTCTACTGAACCGTCC GAGGGCAGCGCACCA

AM1318	GGTACTTCTACTGAACCGTCTGAAGGCAGCGCACCAGGTAGCGAACCGGCTACTTCCG GTTCTGAAACCCCAGGTAGCCCAGCAGGTTCTCCAACTTCTACTGAAGAAGGTTCTAC CAGCTCTACCGCAGAATCTCCTGGTCCAGGTACCTCTACTCCGGAAAGCGGCTCTGCA TCTCCAGGTTCTACTAGCGAATCTCCTTCTGGCACTGCACCAGGTTCTACTAGCGAATC CCCGTCTGGTACTGCTCCAGGTACTTCTACTCCTGAAAGCGGTTCCGCTTCTCCAGGTA CCTCTACTCCGGAAAGCGGTTCTGCATCTCCAGGTAGCGAACCGGCAACCTCCGGCTC TGAAACCCCAGGTACCTCTGAAAGCGCTACTCCTGAATCCGGCCCAGGTAGCCCGGCA GGTTCTCCGACTTCCACTGAGGAAGGTACCTCTACTGAACCTTCTGAGGGCAGCGCTC CAGGTACTTCTGAAAGCGCTACCCCCGGAGTCCGGTCCAGGTACTTCTACTGAACCGTC CGAAGGTAGCGCACCAGGTACTTCTACCGAACCGTCCGAGGGTAGCGCACCAGGTAG CCCAGCAGGTTCTCCTACCTCCACCGAGGAAGGTACTTCTACCGAACCGTCCGAGGGT AGCGCACCAGGTACTTCTACCGAACCTTCCGAGGGCAGCGCACCAGGTACTTCTGAAA GCGCTACCCCTGAGTCCGGCCCAGGTACTTCTGAAAGCGCTACTCCTGAATCCGGTCC AGGTACCTCTACTGAACCTTCCGAAGGCAGCGCTCCAGGTACCTCTACCGAACCGTCC GAGGGCAGCGCACCAGGTACTTCTGAAAGCGCAACCCCTGAATCCGGTCCAGGTACTT CTACTGAACCTTCCGAAGGTAGCGCTCCAGGTAGCGAACCTGCTACTTCTGGTTCTGA AACCCCAGGTAGCCCGGCTGGCTCTCCGACCTCCACCGAGGAAGGTAGCTCTACCCCG TCTGGTGCTACTGGTTCTCCAGGTACTCCGGGCAGCGGTACTGCTTCTTCCTCTCCAGG TAGCTCTACCCCTTCTGGTGCTACTGGCTCTCCAGGTACCTCTACCGAACCGTCCGAGG GTAGCGCACCAGGTACCTCTACTGAACCGTCTGAGGGTAGCGCTCCAGGTAGCGAACC GGCAACCTCCGGTTCTGAAACTCCAGGTAGCCCTGCTGGCTCTCCGACTTCTACTGAG GAAGGTAGCCCGGCTGGTTCTCCGACTTCTACTGAGGAAGGTACTTCTACCGAACCTT

	CCGAAGGTAGCGCTCCAGGTCCAGAACCAACGGGGCCGGCCCCAAGCGGAGGTAGCG
	AACCGGCAACCTCCGGCTCTGAAACCCCAGGTACCTCTGAAAGCGCTACTCCTGAATC
	CGGCCCAGGTAGCCCGGCAGGTTCTCCGACTTCCACTGAGGAAGGTACTTCTGAAAGC
	GCTACTCCTGAGTCCGGCCCAGGTAGCCCGGCTGGCTCTCCGACTTCCACCGAGGAAG
	GTAGCCCGGCTGGCTCTCCAACTTCTACTGAAGAAGGTACTTCTGAAAGCGCTACTCC
	TGAGTCCGGCCCAGGTAGCCCGGCTGGCTCTCCGACTTCCACCGAGGAAGGTAGCCCG
	GCTGGCTCTCCAACTTCTACTGAAGAAGGTTCTACCAGCTCTACCGCTGAATCTCCTGG
	CCCAGGTTCTACTAGCGAATCTCCGTCTGGCACCGCACCAGGTACTTCCCCTAGCGGT
	GAATCTTCTACTGCACCAGGTTCTACCAGCGAATCTCCTTCTGGCACCGCTCCAGGTTC
	TACTAGCGAATCCCCGTCTGGTACCGCACCAGGTACTTCTCCTAGCGGCGAATCTTCTA
	CCGCACCAGGTACTTCTACCGAACCTTCCGAGGGCAGCGCACCAGGTACTTCTGAAAG
	CGCTACCCCTGAGTCCGGCCCAGGTACTTCTGAAAGCGCTACTCCTGAATCCGGTCCA
	GGTAGCGAACCGGCAACCTCTGGCTCTGAAACCCCAGGTACCTCTGAAAGCGCTACTC
	CGGAATCTGGTCCAGGTACTTCTGAAAGCGCTACTCCGGAATCCGGTCCAGGTACCTC
	TACTGAACCTTCTGAGGGCAGCGCTCCAGGTACTTCTGAAAGCGCTACCCCGGAGTCC
	GGTCCAGGTACTTCTACTGAACCGTCCGAAGGTAGCGCACCAGGTACCTCCCCTAGCG
	GCGAATCTTCTACTGCTCCAGGTACCTCTCCTAGCGGCGAATCTTCTACCGCTCCAGGT
	ACCTCCCCTAGCGGTGAATCTTCTACCGCACCAGGTACTTCTACCGAACCGTCCGAGG
	GTAGCGCACCAGGTAGCCCAGCAGGTTCTCCTACCTCCACCGAGGAAGGTACTTCTAC
	CGAACCGTCCGAGGGTAGCGCACCAGGTTCTAGCCCTTCTGCTTCCACCGGTACCGGC
	CCAGGTAGCTCTACTCCGTCTGGTGCAACTGGCTCTCCAGGTAGCTCTACTCCGTCTGG
	TGCAACCGGCTCCCCAGGTAGCTCTACCCCGTCTGGTGCTACCGGCTCTCCAGGTAGC
	TCTACCCCGTCTGGTGCAACCGGCTCCCCAGGTGCATCCCCGGGTACTAGCTCTACCG
	GTTCTCCAGGTGCAAGCGCAAGCGGCGCGCCAAGCACGGGAGGTACTTCTCCGAGCG
	GTGAATCTTCTACCGCACCAGGTTCTACTAGCTCTACCGCTGAATCTCCGGGCCCAGGT
	ACTTCTCCGAGCGGTGAATCTTCTACTGCTCCAGGTACCTCTGAAAGCGCTACTCCGG
	AGTCTGGCCCAGGTACCTCTACTGAACCGTCTGAGGGTAGCGCTCCAGGTACTTCTAC
	TGAACCGTCCGAAGGTAGCGCACCAGGTTCTAGCCCTTCTGCATCTACTGGTACTGGC
	CCAGGTAGCTCTACTCCTTCTGGTGCTACCGGCTCTCCAGGTGCTTCTCCGGGTACTAG
	CTCTACCGGTTCTCCAGGTACTTCTACTCCGGAAAGCGGTTCCGCATCTCCAGGTACTT
	CTCCTAGCGGTGAATCTTCTACTGCTCCAGGTACCTCTCCTAGCGGCGAATCTTCTACT
	GCTCCAGGTACTTCTGAAAGCGCAACCCCTGAATCCGGTCCAGGTAGCGAACCGGCTA
	CTTCTGGCTCTGAGACTCCAGGTACTTCTACCGAACCGTCCGAAGGTAGCGCACCAGG
	TTCTACCAGCGAATCCCCTTCTGGTACTGCTCCAGGTTCTACCAGCGAATCCCCTTCTG
	GCACCGCACCAGGTACTTCTACCCCTGAAAGCGGCTCCGCTTCTCCAGGTAGCCCGGC
	AGGCTCTCCGACCTCTACTGAGGAAGGTACTTCTGAAAGCGCAACCCCGGAGTCCGGC
	CCAGGTACCTCTACCGAACCGTCTGAGGGCAGCGCACCAGGTAGCCCTGCTGGCTCTC
	CAACCTCCACCGAAGAAGGTACCTCTGAAAGCGCAACCCCTGAATCCGGCCCAGGTA
	GCGAACCGGCAACCTCCGGTTCTGAAACCCCAGGTAGCTCTACCCCGTCTGGTGCTAC
	CGGTTCCCCAGGTGCTTCTCCTGGTACTAGCTCTACCGGTTCTCCAGGTAGCTCTACCC
	CGTCTGGTGCTACTGGCTCTCCAGGTTCTACTAGCGAATCCCCGTCTGGTACTGCTCCA
	GGTACTTCCCCTAGCGGTGAATCTTCTACTGCTCCAGGTTCTACCAGCTCTACCGCAGA
	ATCTCCGGGTCCAGGTAGCTCTACCCCTTCTGGTGCAACCGGCTCTCCAGGTGCATCCC
	CGGGTACCAGCTCTACCGGTTCTCCAGGTACTCCGGGTAGCGGTACCGCTTCTTCCTCT
	CCAGGTAGCCCTGCTGGCTCTCCGACTTCTACTGAGGAAGGTAGCCCGGCTGGTTCTC
	CGACTTCTACTGAGGAAGGTACTTCTACCGAACCTTCCGAAGGTAGCGCTCCA

BC864	GGTACTTCCACCGAACCATCCGAACCAGGTAGCGCAGGTACTTCCACCGAACCATCCG AACCTGGCAGCGCAGGTAGCGAACCGGCAACCTCTGGTACTGAACCATCAGGTAGCG GCGCATCCGAGCCTACCTCTACTGAACCAGGTAGCGAACCGGCTACCTCCGGTACTGA GCCATCAGGTAGCGAACCGGCAACTTCCGGTACTGAACCATCAGGTAGCGAACCGGC AACTTCCGGCACTGAACCATCAGGTAGCGGTGCATCTGAGCCGACCTCTACTGAACCA GGTACTTCTACTGAACCATCTGAGCCGGGCAGCGCAGGTAGCGAACCAGCTACTTCTG GCACTGAACCATCAGGTACTTCTACTGAACCATCCGAACCAGGTAGCGCAGGTAGCGA ACCTGCTACCTCTGGTACTGAGCCATCAGGTAGCGAACCGGCTACCTCTGGTACTGAA CCATCAGGTACTTCTACCGAACCATCCGAGCCTGGTAGCGCAGGTACTTCTACCGAAC CATCCGAGCCAGGCAGCGCAGGTAGCGAACCGGCAACCTCTGGCACTGAGCCATCAG GTAGCGAACCAGCAACTTCTGGTACTGAACCATCAGGTACTAGCGAGCCATCTACTTC CGAACCAGGTGCAGGTAGCGGCGCATCCGAACCTACTTCCACTGAACCAGGTACTAGC GAGCCATCCACCTCTGAACCAGGTGCAGGTAGCGAACCGGCAACTTCCGGCACTGAA
	CCATCAGGTAGCGAACCGGCTACCTCTGGTACTGAACCATCAGGTACTTCTACCGAAC CATCCGAGCCTGGTAGCGCAGGTACTTCTACCGAACCATCCGAGCCAGGCAGCGCAG GTAGCGGTGCATCCGAGCCGACCTCTACTGAACCAGGTAGCGAACCAGCAACTTCTGG CACTGAGCCATCAGGTAGCGAACCAGCTACCTCTGGTACTGAACCATCAGGTAGCGAA CCGGCTACTTCCGGCACTGAACCATCAGGTAGCGAACCAGCAACCTCCGGTACTGAAC CATCAGGTACTTCCACTGAACCATCCGAACCGGGTAGCGCAGGTAGCGAACCGGCAA CTTCCGGCACTGAACCATCAGGTAGCGGTGCATCTGAGCCGACCTCTACTGAACCAGG TACTTCTACTGAACCATCTGAGCCGGGCAGCGCAGGTAGCGAACCTGCAACCTCCGGC ACTGAGCCATCAGGTAGCGGCGCATCTGAACCAACCTCTACTGAACCAGGTACTTCCA CCGAACCATCTGAGCCAGGCAGCGCAGGTAGCGGCGCATCTGAACCAACCTCTACTG AACCAGGTAGCGAACCAGCAACTTCTGGTACTGAACCATCAGGTAGCGGCGCATCTG AGCCTACTTCCACTGAACCAGGTAGCGAACCGGCAACTTCCGGCACTGAACCATCAGG TAGCGGTGCATCTGAGCCGACCTCTACTGAACCAGGTACTTCTACTGAACCATCTGAG CCGGGCAGCGCAGGTAGCGAACCGGCAACTTCCGGCACTGAACCATCAGGTAGCGGT GCATCTGAGCCGACCTCTACTGAACCAGGTACTTCTACTGAACCATCTGAGCCGGGCA GCGCAGGTAGCGAACCAGCTACTTCTGGCACTGAACCATCAGGTACTTCTACTGAACC ATCCGAACCAGGTAGCGCAGGTAGCGAACCTGCTACCTCTGGTACTGAGCCATCAGGT ACTTCTACTGAACCATCCGAGCCGGGTAGCGCAGGTACTTCCACTGAACCATCTGAAC CTGGTAGCGCAGGTACTTCCACTGAACCATCCGAACCAGGTAGCGCAGGTACTTCTAC TGAACCATCCGAGCCGGGTAGCGCAGGTACTTCCACTGAACCATCTGAACCTGGTAGC GCAGGTACTTCCACTGAACCATCCGAACCAGGTAGCGCAGGTACTAGCGAACCATCCA CCTCCGAACCAGGCGCAGGTAGCGGTGCATCTGAACCGACTTCTACTGAACCAGGTAC TTCCACTGAACCATCTGAGCCAGGTAGCGCAGGTACTTCCACCGAACCATCCGAACCA GGTAGCGCAGGTACTTCCACCGAACCATCCGAACCTGGCAGCGCAGGTAGCGAACCG GCAACCTCTGGTACTGAACCATCAGGTAGCGGTGCATCCGAGCCGACCTCTACTGAAC CAGGTAGCGAACCAGCAACTTCTGGCACTGAGCCATCAGGTAGCGAACCAGCTACCTC TGGTACTGAACCATCAGGTAGCGAACCGGCAACCTCTGGCACTGAGCCATCAGGTAGC GAACCAGCAACTTCTGGTACTGAACCATCAGGTACTAGCGAGCCATCTACTTCCGAAC CAGGTGCAGGTAGCGAACCTGCAACCTCCGGCACTGAGCCATCAGGTAGCGGCGCAT CTGAACCAACCTCTACTGAACCAGGTACTTCCACCGAACCATCTGAGCCAGGCAGCGC AGGTAGCGAACCTGCAACCTCCGGCACTGAGCCATCAGGTAGCGGCGCATCTGAACC AACCTCTACTGAACCAGGTACTTCCACCGAACCATCTGAGCCAGGCAGCGCA

BD864	GGTAGCGAAACTGCTACTTCCGGCTCTGAGACTGCAGGTACTAGTGAATCCGCAACTA GCGAATCTGGCGCAGGTAGCACTGCAGGCTCTGAGACTTCCACTGAAGCAGGTACTAG CGAGTCCGCAACCAGCGAATCCGGCGCAGGTAGCGAAACTGCTACCTCTGGCTCCGA GACTGCAGGTAGCGAAACTGCAACCTCTGGCTCTGAAACTGCAGGTACTTCCACTGAA GCAAGTGAAGGCTCCGCATCAGGTACTTCCACCGAAGCAAGCGAAGGCTCCGCATCA GGTACTAGTGAGTCCGCAACTAGCGAATCCGGTGCAGGTAGCGAAACCGCTACCTCTG GTTCCGAAACTGCAGGTACTTCTACCGAGGCTAGCGAAGGTTCTGCATCAGGTAGCAC TGCTGGTTCCGAGACTTCTACTGAAGCAGGTACTAGCGAATCTGCTACTAGCGAATCC GGCGCAGGTACTAGCGAATCCGCTACCAGCGAATCCGGCGCAGGTAGCGAAACTGCA ACCTCTGGTTCCGAGACTGCAGGTACTAGCGAGTCCGCTACTAGCGAATCTGGCGCAG GTACTTCCACTGAAGCTAGTGAAGGTTCTGCATCAGGTAGCGAAACTGCTACTTCTGG TTCCGAAACTGCAGGTAGCGAAACCGCTACCTCTGGTTCCGAAACTGCAGGTACTTCT ACCGAGGCTAGCGAAGGTTCTGCATCAGGTAGCACTGCTGGTTCCGAGACTTCTACTG AAGCAGGTACTAGCGAGTCCGCTACTAGCGAATCTGGCGCAGGTACTTCCACTGAAGC TAGTGAAGGTTCTGCATCAGGTAGCGAAACTGCTACTTCTGGTTCCGAAACTGCAGGT AGCACTGCTGGCTCCGAGACTTCTACCGAAGCAGGTAGCACTGCAGGTTCCGAAACTT CCACTGAAGCAGGTAGCGAAACTGCTACCTCTGGCTCTGAGACTGCAGGTACTAGCGA ATCTGCTACTAGCGAATCCGGCGCAGGTACTAGCGAATCCGCTACCAGCGAATCCGGC GCAGGTAGCGAAACTGCAACCTCTGGTTCCGAGACTGCAGGTACTAGCGAATCTGCTA CTAGCGAATCCGGCGCAGGTACTAGCGAATCCGCTACCAGCGAATCCGGCGCAGGTA GCGAAACTGCAACCTCTGGTTCCGAGACTGCAGGTAGCGAAACCGCTACCTCTGGTTC CGAAACTGCAGGTACTTCTACCGAGGCTAGCGAAGGTTCTGCATCAGGTAGCACTGCT GGTTCCGAGACTTCTACTGAAGCAGGTAGCGAAACTGCTACTTCCGGCTCTGAGACTG CAGGTACTAGTGAATCCGCAACTAGCGAATCTGGCGCAGGTAGCACTGCAGGCTCTGA GACTTCCACTGAAGCAGGTAGCACTGCTGGTTCCGAAACCTCTACCGAAGCAGGTAGC ACTGCAGGTTCTGAAACCTCCACTGAAGCAGGTACTTCCACTGAGGCTAGTGAAGGCT CTGCATCAGGTAGCACTGCTGGTTCCGAAACCTCTACCGAAGCAGGTAGCACTGCAGG
	TTCTGAAACCTCCACTGAAGCAGGTACTTCCACTGAGGCTAGTGAAGGCTCTGCATCA GGTAGCACTGCAGGTTCTGAGACTTCCACCGAAGCAGGTAGCGAAACTGCTACTTCTG GTTCCGAAACTGCAGGTACTTCCACTGAAGCTAGTGAAGGTTCCGCATCAGGTACTAG TGAGTCCGCAACCAGCGAATCCGGCGCAGGTAGCGAAACCGCAACCTCCGGTTCTGA AACTGCAGGTACTAGCGAATCCGCAACCAGCGAATCTGGCGCAGGTACTAGTGAGTC CGCAACCAGCGAATCCGGCGCAGGTAGCGAAACCGCAACCTCCGGTTCTGAAACTGC AGGTACTAGCGAATCCGCAACCAGCGAATCTGGCGCAGGTAGCGAAACTGCTACTTCC GGCTCTGAGACTGCAGGTACTTCCACCGAAGCAAGCGAAGGTTCCGCATCAGGTACTT CCACCGAGGCTAGTGAAGGCTCTGCATCAGGTAGCACTGCTGGCTCCGAGACTTCTAC CGAAGCAGGTAGCACTGCAGGTTCCGAAACTTCCACTGAAGCAGGTAGCGAAACTGC TACCTCTGGCTCTGAGACTGCAGGTACTAGCGAATCTGCTACTAGCGAATCCGGCGCA GGTACTAGCGAATCCGCTACCAGCGAATCCGGCGCAGGTAGCGAAACTGCAACCTCT GGTTCCGAGACTGCAGGTAGCGAAACTGCTACTTCCGGCTCCGAGACTGCAGGTAGCG AAACTGCTACTTCTGGCTCCGAAACTGCAGGTACTTCTACTGAGGCTAGTGAAGGTTC CGCATCAGGTACTAGCGAGTCCGCAACCAGCGAATCCGGCGCAGGTAGCGAAACTGC TACCTCTGGCTCCGAGACTGCAGGTAGCGAAACTGCAACCTCTGGCTCTGAAACTGCA GGTACTAGCGAATCTGCTACTAGCGAATCCGGCGCAGGTACTAGCGAATCCGCTACCA GCGAATCCGGCGCAGGTAGCGAAACTGCAACCTCTGGTTCCGAGACTGCA

A biblioteca de genes codificadores de XTEN pode ser clonada num ou mais vetores de expressão conhecidos na técnica. Para facilitar a identificação de membros da biblioteca com boa expressão, a biblioteca pode ser construída como fusão a uma proteína repórter. Exemplos não limitantes de genes repórter adequados são proteína verde

fluorescente, luciferase, fosfatase alcalina e beta-galactosidase. Através de rastreio, podem ser identificadas sequências curtas de XTEN que podem ser expressas em concentração elevada no organismo hospedeiro de eleição. Subsequentemente, pode ser gerada uma biblioteca de dímeros de XTEN aleatórios e o rastreio repetido para nível elevado de expressão. Subsequentemente, as construções resultantes podem ser rastreadas para uma série de propriedades tais como nível de expressão, estabilidade a protease e ligação a anti-soro.

Um aspeto é proporcionar sequências polinucleotídicas que codificam os componentes da proteína de fusão em que a criação da sequência foi submetida à otimização de codões. É de particular interesse a otimização de codões com o objetivo de melhorar a expressão das composições de polipéptido e de melhorar a estabilidade genética do gene codificante nos hospedeiros de produção. Por exemplo, a otimização de codões é de particular importância para as sequências de XTEN que são ricas em glicina ou que têm sequências de aminoácidos muito repetitivas. A otimização de codões é realizada utilizando programas de computador (Gustafsson, C., et al. (2004) Trends Biotechnol, 22: 346-53), alguns dos quais minimizam a pausa ribossómica (Coda Genomics Inc.). Numa forma de realização, pode ser realizada otimização de codões construindo bibliotecas de codões onde todos os membros da biblioteca codificam a mesma sequência de aminoácidos mas onde a utilização dos codões é variada. Tais bibliotecas podem ser rastreadas para membros com expressão elevada e geneticamente estáveis que são particularmente adequados para a produção a grande escala de produtos contendo XTEN. Ao desenhar sequências de XTEN podem ser consideradas uma série de propriedades. Pode ser minimizada a repetitividade nas sequências codificadoras de ADN. Além disso, pode ser evitada ou minimizada a utilização de codões que são raramente

utilizados pelo hospedeiro de produção (por exemplo, os codões de arginina AGG e AGA e um codão de leucina em *E. coli*). No caso de *E. coli*, dois codões de glicina, GGA e GGG, são raramente utilizados em proteínas com expressão elevada. Consequentemente a otimização de codões do gene que codifica sequências de XTEN pode ser muito desejável. As sequências de ADN que têm um nível elevado de glicina tendem a ter um teor de GC elevado que pode levar a instabilidade ou níveis baixos de expressão. Consequentemente, quando possível, é preferível escolher codões de tal modo que o teor de GC da sequência codificadora de XTEN seja adequado para o organismo de produção que será utilizado para fabricar o XTEN.

Opcionalmente, O gene que codifica XTEN de comprimento completo compreende uma ou mais ilhas de sequenciação. Neste contexto, as ilhas de sequenciação são sequências de estiramento curto que são distintas das sequências de construção da biblioteca XTEN e que incluem um local de restrição não presente ou esperado estar presente no gene que codifica XTEN de comprimento completo. Numa forma de realização, uma ilha de sequenciamento é a sequência 5'-AGGTGCAAGCGCAAGCGGCGCGCCAAGCACGGGAGGT-3'. Noutra forma de realização, uma ilha de sequenciamento é a sequência 5'-AGGTCCAGAACCAACGGGGCCGGCCCCAAGCGGAGGT-3'.

Como alternativa, pode-se construir bibliotecas de codões onde todos os membros da biblioteca codificam a mesma sequência de aminoácidos, mas onde a utilização de codões para os respetivos aminoácidos na sequência é variado. Tais bibliotecas podem ser rastreadas para membros com expressão elevada e geneticamente estáveis que são particularmente adequados para a produção a grande escala de produtos contendo XTEN.

Opcionalmente, pode-se sequenciar clones na biblioteca para eliminar isolados que contenham sequências indesejáveis. A biblioteca inicial de sequências XTEN

curtas permite algumas variações na sequência de aminoácidos. Por exemplo, pode-se aleatorizar alguns codões, de modo que uma série de aminoácidos hidrofílicos possam ocorrer em uma posição particular. Durante o processo de multimerização iterativa, pode-se visualizar os membros da biblioteca resultantes para outras características, como solubilidade ou resistência à protease, além de uma tela para expressão de alto nível.

Uma vez que o gene que codifica o XTEN do comprimento e propriedades desejados é selecionado, é geneticamente fundido aos nucleótidos que codificam o terminal N e/ou C do(s) gene(s) de GH através de clonagem do mesmo na construção adjacente e na estrutura com o gene que codificam a GH ou, opcionalmente, adjacente à sequência espaçadora. A divulgação fornece várias permutações do exposto, dependendo do GHXTEN a ser codificado. Por exemplo, um gene que codifica uma proteína de fusão GHXTEN compreendendo um GH e dois XTEN, tal como concretizado pela fórmula VI, conforme representando acima, o gene teria polinucleótidos que codificavam GH, codificando dois XTEN, que podem ser idênticos ou diferentes na composição e comprimento da seqüência. Numa forma de realização não limitativa do que precede, os polinucleótidos de GH codificariam a hormona do crescimento humano e os polinucleótidos que codificam o NTEN-XTEN codificariam AE912 e os polinucleótidos que codificam o terminal C XTEN codificariam AE144. A etapa de clonagem dos genes GH na construção XTEN pode ocorrer através de uma etapa de ligação ou multimerização. Conforme mostrado na Fig. 2, as construções que codificam proteínas de fusão GHXTEN podem ser concebidas em diferentes configurações dos componentes XTEN **202**, GH **203,** e sequências espaçadoras **204.** Numa forma de realização, conforme ilustrado na FIG. 2A, a construção compreende sequências polinucleotídicas complementares ou as que codificam um polipéptido monomérico de componentes

na ordem seguinte (5' a 3') GH **203** e XTEN **202**, ou a ordem inversa. Noutra forma de realização, conforme ilustrado na FIG. 2B, a construção compreende sequências polinucleotídicas complementares ou aquelas que codificam um polipéptido monomérico de componentes na ordem seguinte (5' a 3') GH **203**, sequência espaçadora **204**, e XTEN **202**, ou a ordem inversa. Noutra forma de realização, conforme ilustrado na FIG. 2C, a construção 201 codifica um GHXTEN monomérico compreendendo sequências polinucleotídicas complementares ou aquelas que codificam componentes na ordem seguinte (5' a 3'): duas moléculas de GH **203** e XTEN **202**, ou a ordem inversa. Noutra forma de realização, conforme ilustrado na FIG. 2D, a construção compreende sequências polinucleotídicas complementares ou aquelas que codificam um polipéptido monomérico de componentes na ordem seguinte (5' a 3'): duas moléculas de GH **203**, sequência espaçadora **204**, e XTEN **202**, ou a ordem inversa. Noutra forma de realização, conforme ilustrado na FIG. 2E, a construção compreende sequências polinucleotídicas complementares ou aquelas que codificam um polipéptido monomérico de componentes na ordem seguinte (5' a 3'): GH **203**, sequência espaçadora **204**, uma segunda molécula de GH **203**, e XTEN **202**, ou a ordem inversa. Noutra forma de realização, conforme ilustrado na FIG. 2F, a construção compreende sequências polinucleotídicas complementares ou aquelas que codificam um polipéptido monomérico de componentes na ordem seguinte (5' a 3'): GH **203**, XTEN **202**, GH **203**, e uma segunda XTEN **202**, ou a sequência inversa. Os polinucleótidos espaçadores podem opcionalmente compreender sequências que codificam sequências de clivagem. Como será aparente para aqueles peritos na especialidade, outras permutações do exposto são possíveis.

A divulgação abrange também polinucleótidos compreendendo variantes de polinucleótidos que codificam XTEN que têm uma elevada percentagem de identidade de

sequência para (a) uma sequência polinucleotídica do Quadro 7, ou (b) sequências que são complementares aos polinucleótidos de (a). Um polinucleótido com uma elevada percentagem de identidade de sequência é aquele que possui pelo menos cerca de uma identidade de sequência de ácido nucleico a 80%, alternativamente pelo menos 81%, alternativamente pelo menos 82%, alternativamente pelo menos 83%, alternativamente pelo menos 84%, alternativamente pelo menos 85%, alternativamente pelo menos 86%, alternativamente pelo menos 87%, alternativamente pelo menos 88%, alternativamente pelo menos 89%, alternativamente pelo menos 90%, alternativamente pelo menos 91%, alternativamente pelo menos 92%, alternativamente pelo menos 93%, alternativamente pelo menos 94%, alternativamente pelo menos 95%, alternativamente pelo menos 96%, alternativamente pelo menos 97%, alternativamente pelo menos cerca de 98% e, alternativamente, pelo menos cerca de 99% de identidade de sequência de ácido nucleico para (a) ou (b) do anterior, ou que pode hibridar com o polinucleótido alvo ou o seu complemento em condições rigorosas.

Homologia, a semelhança de sequência ou a identidade de sequência de sequências de nucleótidos ou de aminoácidos também podem ser determinadas convencionalmente utilizando software ou programas de computador conhecidos, como os programas de comparação em pares BestFit ou Gap (GCG Wisconsin Package, Genetics Computer Group, 575 Science Drive, Madison, Wis. 53711). O BestFit usa o algoritmo de homologia local de Smith e Waterman (Advances in Applied Mathematics. 1981. 2: 482-489), para encontrar o melhor segmento de identidade ou similaridade entre duas sequências. GAP realiza alinhamentos globais: Toda uma sequência com toda a outra sequência semelhante usando o método de Needleman e Wunsch, (Journal of Molecular

Biology. 1970. 48:443-453). Ao usar um programa de alinhamento de seqüência, como o BestFit, para determinar o grau de homologia, similaridade ou identidade de sequência, o ajuste pré-definido pode ser utilizado ou uma matriz de pontuação adequada pode ser selecionada para otimizar as pontuações de identidade, similaridade ou homologia.

As sequências de ácido nucleico que são "complementares" são aquelas que são capazes de emparelhamento de base de acordo com as regras padrão de complementaridade Watson-Crick. Conforme é utilizado no presente documento, o termo "sequências complementares" significa sequências de ácido nucleico que são substancialmente complementares, como pode ser avaliado pela mesma comparação de nucleótidos apresentada acima, ou como definido como capaz de se hibridar com os polinucleótidos que codificam as sequências de GHXTEN em condições restringentes, como aquelas descritas no presente documento.

Os polinucleótidos resultantes que codificam as proteínas de fusão quiméricas GHXTEN podem então ser individualmente clonados num vetor de expressão. A sequência de ácido nucleico é inserida no vetor por uma variedade de procedimentos. No geral, O ADN é inserido num local(is) de endonuclease de restrição apropriado utilizando técnicas conhecidas na técnica. Os componentes do vetor geralmente incluem, mas não estão limitados a, um ou mais de uma sequência sinal, uma origem de replicação, um ou mais genes marcadores, um elemento potenciador, um promotor e uma sequência de terminação da transcrição. A construção de vetores adequados contendo um ou mais desses componentes emprega técnicas de ligação padrão que são conhecidas pelos especialistas. Tais técnicas são bem conhecidas na técnica e bem descritos na literatura científica e de patentes.

Vários vetores estão publicamente disponíveis. O vetor

pode, por exemplo, estar na forma de plasmídeo, cosmídeo, partícula viral ou fago. A descrição proporciona a utilização de vetores de plasmídeo contendo sequências de replicação e controle que são compatíveis e reconhecidos pela célula hospedeira e estão operativamente ligados ao gene GHXTEN para a expressão controlada das proteínas de fusão GHXTEN. O vetor transporta normalmente um sítio de replicação, bem como sequências que codificam proteínas que são capazes de proporcionar a seleção fenotípica nas células transformadas. Tais sequências de vetor são bem conhecidas para uma variedade de bactérias, levedura e vírus. Os vetores de expressão úteis que podem ser utilizados incluem, por exemplo, segmentos de sequências de ADN cromossômicas, não cromossômicas e sintéticas. "Vetor de expressão" refere-se a uma construção de ADN contendo uma sequência de ADN que está operacionalmente ligada a uma sequência de controlo adequada capaz de efetuar a expressão do ADN que codifica a proteína de fusão num hospedeiro adequado. Tais sequências de controlo incluem um promotor para efetuar a transcrição, uma sequência operadora opcional para controlar tal transcrição, uma sequência que codifica sítios de ligação ribossomal de ARNm e sequências que controlam a terminação da transcrição e tradução. Outros vetores adequados incluem, mas não estão limitados a, derivados de SV40 e pcDNA e plasmídeos bacterianos conhecidos tais como col EI, pCR1, pBR322, pMal-C2, pET, pGEX conforme descrito por Smith, *et al.*, Gene 57:31-40 (1988), pMB9 e derivados dos mesmos, plasmídeos tais como RP4, ADNs de fago tais como os numerosos derivados do fago I tal como NM98 9, em como outros ADN de fago tal como M13 e ADN de fago de cadeia simples filamentoso; plasmídeos de levedura tais como o plasmídeo de 2 micra ou derivados do plasmídeo 2m, bem como vetores transportadores de levedura centoméricos e integrativos; vetores úteis em células eucarióticas tais como vetores úteis em células de insetos

ou mamíferos; vetores derivados de combinações de plasmídeos e ADN de fago, tais como plasmídeos que foram modificados para empregar ADN de fago ou as sequências de controlo de expressão; e semelhantes. Os requisitos são que os vetores são replicáveis e viáveis na célula hospedeira de escolha. Podem ser utilizados vetores de número de cópias baixas ou altas como desejado.

Os promotores adequados para utilização em vetores de expressão com hospedeiros procarióticos incluem os sistemas de promotor de β-lactamase e lactose [Chang et al., Nature, 275:615 (1978); Goeddel et al., Nature, 281:544 (1979)], fosfatase alcalina, um sistema de promotor de triptofano (trp) [Goeddel, Nucleic Acids Res., 8:4057 (1980); Documento EP 36.776] e promotores híbridos, como o promotor tac [deBoer et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 80:21-25 (1983)], todos estarão operativamente ligados ao ADN que codifica os polipéptidos GHXTEN. Os promotores para utilização em sistemas bacterianos também podem conter uma sequência Shine-Dalgarno (S.D.), operativamente ligados ao ADN que codifica os polipéptidos GHXTEN.

A invenção ontempla a utilização de outros sistemas de expressão incluindo, por exemplo, um sistema de expressão de baculovírus com ambos os vetores de transferência de não fusão, como, mas não limitado a pVL941 Summers, *et al.*, Virology 84:390-402 (1978)), pVL1393 (Invitrogen), pVL1392 (Summers, et al., Virology 84:390- 402 (1978) e Invitrogen) e pBlueBacIII (Invitrogen), e vetores de transferência de fusão tais como, mas não limitado a, pAc7 00 (Summers, et al., Virology 84:390-402 (1978)), pAc701 e pAc70-2 (o m esmo que pAc700, com diferenciar grelhas de leitura), pAc360 Invitrogen) e pBlueBacHisA, B, C (; Invitrogen) podem ser utilizados.

Os vetores de expressão de mamíferos podem compreender uma origem de replicação, um promotor e potenciador adequado e também quaisquer locais de ligação de ribossoma

necessários, sítio de poliadenilação, sítios de acetor e dador de união, sequências de terminação da transcrição e sequências não transcritas de flanqueamento de 5'. As sequências de ADN derivadas da união de SV40 e os sítios de poliadenilação podem ser usadaspara fornecer os elementos genéticos não transcritos requeridos. Os vetores de expressão de mamíferos contemplados para utilização na invenção incluem vetores com promotores indutíveis, tais como os promotores de di-hidrofolato redutase, qualquer vector de expressão com uma cassete de expressão DHFR ou um vetor de co-amplificação DHFR/metotrexato tal como pED (Randal J. Kaufman, 1991, Randal J. Kaufman, Current Protocols in Molecular Biology, 16,12 (1991)). Alternativamente, um vetor de co-amplificação de glutamina sintetase/metionina sulfoximina, tal como pEE14 (Celltech). Um vetor que direciona expressão episomal sob o controlo do vírus Epstein Barr (EBV) ou antígeno nuclear (EBNA) pode ser usado como pREP4 (Invitrogen), pCEP4 (Invitrogen), pMEP4 (Invitrogen), pREP8 (Invitrogen), pREP9 (Invitrogen) e pEBVHis (Invitrogen).

Os vetores de expressão de mamíferos selecionáveis para utilização na invenção incluem, mas não estão limitados a, pRc/CMV (Invitrogen), pRc/RSV (Invitrogen) e semelhantes. Vetores de expressão de mamíferos do vírus Vaccinia (veja-se, por exemplo, Randall J. Kaufman, Current Protocols in Molecular Biology 16.12 (Frederick M. Ausubel, *et al.*, eds. Wiley 1991) que podem ser utilizados na presente invenção incluem,, mas não estão limitados a, pSC11, pMJ601 pTKgptF1S e semelhantes.

Sistemas de expressão de levedura que também podem ser utilizados na presente invenção incluem,, mas não estão limitados a, o vetor de não fusão pYES2 (Invitrogen), a fusão pYESHisA, B, C (Invitrogen), vetores pRS e semelhantes.

Além disso, o vetor de expressão que contém a molécula

de polinucleótido que codifica a proteína de fusão quimérica GHXTEN pode incluir marcadores de selecção de fármacos. Tais marcadores ajudam na clonagem e na seleção ou identificação de vetores contendo moléculas de DNA quiméricas. Por exemplo, genes que conferem resistência à neomicina, puromicina, higromicina, inibidor de dihidrofolato redutase (DHFR), guanina fosforibosil transferase (GPT), zeocina e histidinol são marcadores úteis selecionáveis. Alternativamente, podem ser utilizadas enzimas tais como a timidina quinase do vírus do herpes simples (tk) ou a cloranfenicol de acetiltransferase (CAT). Os marcadores imunológicos também podem ser empregues. Qualquer marcador selecionável conhecido pode ser utilizado desde que seja capaz de ser expresso simultaneamente com o ácido nucleico que codifica um produto de gene. Exemplos adicionais de marcadores selecionáveis são bem conhecidos para um perito na especialidade e incluem repórteres como proteína fluorescente verde potenciada (EGFP), beta-galactosidase (β-gal) ou cloranfenicol acetiltransferase (CAT).

Numa forma de realização, o polinucleótido que codifica uma composição de proteína de fusão GHXTEN é fundido C-terminal a uma sequência de sinal N-terminal apropriada para o sistema hospedeiro de expressão. As sequências de sinal são tipicamente removidas proteoliticamente da proteína durante o processo de translocação e secreção, gerando um N-terminal definido. Uma ampla variedade de sequências de sinais foram descritas para a maioria dos sistemas de expressão, incluindo sistemas de bactérias, leveduras, insetos e mamíferos. Uma lista não limitativa de exemplos preferidos para cada sistema de expressão segue no presente documento. Sequências de sinal preferidas são OmpA, PhoA e DsbA para expressão em *E. coli*. Os péptidos de sinal preferidos para expressão de levedura são ppL-alfa, DEX4, péptido sinal de

invertase, péptido de sinal de fosfatase ácida, CPY ou INU1. Para a expressão de células de insetos, as sequências de sinal preferidas são precursor de hormona adipocinética sexta, CP1, CP2, CP3, CP4, TPA, PAP ou gp67. Para expressão em mamífero as sequências de sinal preferidas são IL2L, SV40, IgG kappa e IgG lambda.

Noutra forma de realização, uma sequência líder, potencialmente compreendendo um domínio de proteína independente bem expresso, pode ser fundido com o N-terminal da sequência GHXTEN, separado por um sítio de clivagem de protease. Embora qualquer sequência peptídica líder que não iniba a clivagem no local proteolítico concebido possa ser utilizada, as sequências em formas de realização preferidas compreenderão sequências estáveis bem expressas de tal modo que a expressão e a dobragem da composição global não são significativamente prejudicadas e, de preferência, a expressão, solubilidade e/ou eficiência de dobragem são significativamente melhoradas. Uma ampla variedade de sequências líderes adequadas foram descritas na literatura. Uma lista não limitativa de sequências adequadas inclui proteína de ligação a maltose, domínio de ligação a celulose, glutationa S-transferase, etiqueta 6xHis, etiqueta FLAG, etiqueta de hemaglutinina e proteína fluorescente verde. A sequência líder também pode ser melhorada pela otimização de codões, especialmente na segunda posição do codão seguindo o codão de início ATG, por métodos bem descritos na literatura e acima descritos.

Vários métodos enzimáticos in vitro para clivagem de proteínas em locais específicos são conhecidos. Tais métodos incluem o uso de enterocinase (DDDK), Fator Xa (IDGR), trombina (LVPRGS), PreScission™ (LEVLFQGP), TEV protease (EQLYFQG), 3C protease (ETLFQGP), Sortase A (LPETG), Granzima B (D/X, N/X, M/N ou S/X), inteínas, SUMO, DAPase (TAGZyme™), aminopeptidase de Aeromonas, Aminopeptidase M e carboxipeptidases A e B. São descritos

métodos adicionais em Arnau, *et al.*, Protein Expression and Purification 48: 1-13 (2006).

Em outros casos, construções e métodos para produzir construções compreendendo uma sequência polinucleotídica otimizada para expressão que codifica pelo menos cerca de 20 a cerca de 60 aminoácidos com características XTEN que podem ser incluídas no N-terminal de uma sequência codificadora de portador XTEN (por outras palavras, os polinucleótidos que codificam os aminoácidos otimizados codificados 20-60 estão ligados em quadro para polinucleótidos que codificam um componente XTEN que é N-terminal para GH) são divulgados, para promover a iniciação da tradução para permitir a expressão de fusões de XTEN no terminal N de proteínas sem a presença de um domínio auxiliar. Numa vantagem do que precede, a sequência não requer clivagem subsequente, reduzindo assim o número de etapas para preparar composições contendo XTEN. Conforme descrito em mais detalhe nos Exemplos, a sequência N-terminal otimizada possui atributos de uma proteína não estruturada, mas podem incluir bases nucleotídicas que codificam aminoácidos selecionados por sua capacidade de promover a iniciação da tradução e expressão reforçada. Numa forma de realização do anteriormente mencionado, o polinucleótido otimizado codifica uma sequência XTEN com pelo menos cerca de 90% de identidade de sequência com AE912. Noutra forma de realização do anteriormente mencionada, o polinucleótido otimizado codifica uma sequência XTEN com pelo menos cerca de 90% de identidade de sequência com AM923. Noutra forma de realização do anteriormente mencionada, o polinucleótido otimizado codifica uma sequência XTEN com pelo menos cerca de 90% de identidade de sequência com AE48. Noutra forma de realização do anteriormente mencionada, o polinucleótido otimizado codifica uma sequência XTEN com pelo menos cerca de 90% de identidade de sequência com AM48. Numa forma de

realização, o polinucleótido NTS otimizado compreende uma sequência que exibe pelo menos cerca de 80%, pelo menos cerca de 85%, pelo menos cerca de 90%, pelo menos cerca de 91%, pelo menos cerca de 92%, pelo menos cerca de 93%, pelo menos cerca de 94%, pelo menos cerca de 95%, pelo menos cerca de 96%, pelo menos cerca de 97%, pelo menos cerca de 98% ou pelo menos cerca de 99%, de identidade de sequência com uma sequência ou se complemento selecionado a partir de

AE 48: 5'-
ATGGCTGAACCTGCTGGCTCTCCAACCTCCACTGAGGAAGGTACCCCGGGTAGCGGTACTGCTT
CTTCCTCTCCAGGTAGCTCTACCCCTTCTGGTGCAACCGGCTCTCCAGGTGCTTCTCCGGGCACC
AGCTCTACCGGTTCTCCA-3'

e

AM 48: 5'-
ATGGCTGAACCTGCTGGCTCTCCAACCTCCACTGAGGAAGGTGCATCCCCGGGCACCAGCTCTA
CCGGTTCTCCAGGTAGCTCTACCCCGTCTGGTGCTACCGGCTCTCCAGGTAGCTCTACCCCGTCT
GGTGCTACTGGCTCTCCA-3'

Noutra forma de realização, o local de protease da construção da sequência líder é escolhido de modo que é reconhecido por uma protease *in vivo*. Nesta forma de realização, a proteína é purificada do sistema de expressão enquanto mantém o líder, evitando o contato com uma protease apropriada. A construção de comprimento total é então injetada num paciente. Após a injeção, a construção entra em contato com a protease específica para o local de clivagem e é cortada pela protease. No caso em que a proteína não clivada é substancialmente menos ativa do que a forma clivada, este método tem o efeito benéfico de permitir doses iniciais mais elevadas, evitando a toxicidade, como a forma ativa é gerada lentamente *in vivo*. Alguns exemplos não limitativos de proteases in vivo que são úteis para esta aplicação incluem calicreína de tecido, calicreína plasmática, tripsina, pepsina, quimiotripsina, trombina e metaloproteinases de matriz.

Desta forma, uma molécula de ADN quimérica que codifica para uma proteína de fusão monomérica GHXTEN é

gerada dentro da construção. Opcionalmente, esta molécula de ADN quimérico pode ser transferida ou clonada noutra construção que é um vetor de expressão mais apropriado. Neste ponto, uma célula hospedeira capaz de expressar a molécula de ADN quimérico pode ser transformada com a molécula de ADN quimérico. Os vetores contendo os segmentos de ADN de interesse podem ser transferidos para a célula hospedeira através de métodos bem conhecidos, dependendo do tipo de hospedeiro celular. Por exemplo, A transfeção de cloreto de cálcio é comumente utilizada para células procarióticas, enquanto que o tratamento com fosfato de cálcio, lipofecção ou eletroporação podem ser usadospara outros hospedeiros celulares. Outros métodos utilizados para transformar células de mamíferos incluem a utilização de polibreno, fusão de protoplasto, lipossomas, eletroporação e microinjeção. *Veja-se*, geralmente, Sambrook, *et al.*, *supra*.

A transformação pode ocorrer com ou sem a utilização de um veículo, tal como um vetor de expressão. Posteriormente, a célula hospedeira transformada é cultivada sob condições adequadas para a expressão da molécula de ADN quimérico que codifica GHXTEN.

A presente invenção também proporciona uma célula hospedeira para expressar as composições de proteína de fusão monomérica das reivindicações. Exemplos de células hospedeiras eucarióticas adequadas incluem, mas não estão limitados a células de mamíferos, tais como células VERO, células HELA tais como ATCC No. CCL2, linhas celulares CHO, células COS, células WI38, células BHK, células HepG2, células 3T3, células A549, células PC12, células K562, células 293, células Sf9 e células CvI. Exemplos de células eucarióticas não mamíferas adequadas incluem micróbios eucarióticos tais como fungos filamentosos ou leveduras são hospedeiros de clonagem ou expressão adequados para vetores de codificação. *Saccharomyces cerevisiae* é um

microorganismo hospedeiro eucariótico inferior comumente utilizado. Outros incluem *Schizosaccharomyces pombe* (Beach and Nurse, Nature, 290: 140 [1981]; EP 139,383 publicado em 2 de maio de 1985); hospedeiros Kluyveromyces (U.S. Pat. No. N.° 4.943.529; Fleer *et al.*, Bio/Technology, 9:968-975 (1991)) tais como, por exemplo, *K. lactis* (MW98-8C, CBS683, CBS4574; Louvencourt et al., J. Bacteriol., 737 [1983]), *K. fragilis* (ATCC 12.424), *K. bulgaricus* (ATCC 16.045), *K. wickeramii* (ATCC 24.178), *K. waltii* (ATCC 56.500), *K. drosophilarum* (ATCC 36.906; Van Den Berg *et al.*, Bio/Technology, 8:135 (1990)), *K. thermotolerans* e *K. marxianus; yarrowia* (EP 402.226); *Pichia pastoris* (documento EP 183.070; Sreekrishna et al., J. Basic Microbiol., 28:265-278 [1988]); *Candida; Trichoderma reesia* (documento EP 244.234); *Neurospora crassa* (Case et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 76:5259-5263 [1979]); *Schwanniomyces* tais como *Schwanniomyces occidentalis* (documento EP 394.538 publicado em 31 de outubro de 1990); e fungos filamentosos como, por exemplo, *Neurospora, Penicillium, Tolypocladium* (documento WO 91/00357 publicado em 10 de janeiro de 1991) e hospedeiros *Aspergillus* tais como *A. nidulans* (Ballance et al., Biochem. Biophys. Res. Commun., 112:284-289 [1983]; Tilburn et al., Gene, 26:205-221 [1983]; Yelton *et al.*, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 81: 1470-1474 [1984]) e *A. niger* (Kelly and Hynes, EMBO J., 4:475-479 [1985]). As leveduras metilotrópicas são adequadas no presente documento e incluem, mas não estão limitados a, levedura capaz de crescer em metanol selecionado a partir dos gêneros que consistem em *Hansenula, Candida, Kloeckera, Pichia, Saccharomyces, Torulopsis* e *Rhodotorula*. Uma lista de espécies específicas que são exemplares desta classe de leveduras pode ser encontrada em C. Anthony, The Biochemistry of Methylotrophs, 269 (1982).

Outras células adequadas que podem ser utilizadas na

presente invenção incluem, mas não estão limitados a, estirpes de células hospedeiras procarióticas, tais como *Escherichia coli, (por exemplo, estirpe DH5-α), Bacillus subtilis, Salmonella typhimurium* ou estirpes do gênero de *Pseudomonas, Streptomyces* e *Staphylococcus.* Exemplos não limitativos de procariotas adequados incluem os gêneros: *Actinoplanes; Archaeoglobus; Bdellovibrio; Borrelia; Chloroflexus; Enterococcus; Escherichia; Lactobacillus; Listeria; Oceanobacillus; Paracoccus; Pseudomonas; Staphylococcus; Streptococcus; Streptomyces; Thermoplasma;* e *Vibrio.* Exemplos não limitativos de estirpes específicas incluem: *Archaeoglobus fulgidus; Bdellovibrio bacteriovorus; Borrelia burgdorferi; Chloroflexus aurantiacus; Enterococcus faecalis; Enterococcus faecium; Lactobacillus johnsonii; Lactobacillus plantarum; Lactococcus lactis; Listeria innocua; Listeria monocytogenes; Oceanobacillus iheyensis; Paracoccus zeaxanthinifaciens; Pseudomonas mevalonii; Staphylococcus aureus; Staphylococcus epidermidis; Staphylococcus haemolyticus; Streptococcus agalactiae; Streptomyces griseolosporeus; Streptococcus mutans; Streptococcus pneumoniae; Streptococcus pyogenes; Thermoplasma acidophilum; Thermoplasma volcanium; Vibrio cholerae; Vibrio parahaemolyticus;* e *Vibrio vulnificus.*

As células hospedeiras contendo os polinucleótidos de interesse podem ser cultivadas em meios nutrientes convencionais (por exemplo, mistura de nutrientes de Ham) modificada, conforme apropriado, para ativar promotores, selecionar transformantes ou amplificando genes. As condições de cultura, tais como temperatura, pH e semelhantes, são aqueles anteriormente utilizados com a célula hospedeira selecionada para expressão e serão evidentes para o perito na especialidade. As células são tipicamente recolhidas por centrifugação, rompidas por meios físicos ou químicos e o extrato bruto resultante

retido para posterior purificação. Para composições secretadas pelas células hospedeiras, o sobrenadante da centrifugação é separado e retido para purificação adicional. As células microbianas empregues na expressão de proteínas podem ser interrompidas através de qualquer método conveniente, incluindo ciclos de congelamento e descongelamento, sonicação, rutura mecânica ou utilização de agentes de lise celular, todos os quais são bem conhecidos dos peritos na especialidade. Formas de realização que envolvem lise celular podem implicar a utilização de um tampão que contém inibidores de protease que limitam a degradação após a expressão da molécula de DNA quimérico. Inibidores de protease adequados incluem, mas não estão limitados a leupeptinas, pepstatina ou aprotinina. O sobrenadante então pode ser precipitado em concentrações sucessivamente crescentes de sulfato de amônio saturado.

A expressão génica pode ser medida numa amostra diretamente, por exemplo, por *Southern blotting*, *Northern blotting* convencionais para quantificar a transcrição de ARNm [Thomas, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 77:5201-5205 (1980)], *dot blotting* (análise de ADN) ou hibridação *in situ*, utilizando uma sonda apropriadamente marcada, com base nas sequências proporcionadas no presente documento. Alternativamente, podem ser utilizados anticorpos que podem reconhecer dúplex específicos, incluindo dúplex de ADN, dúplex de ARN e dúplex híbridos de ADN-ARN ou dúplex de ADN-proteína. Os anticorpos, por sua vez, podem ser marcados e o ensaio pode ser realizado onde o dúplex é ligado a uma superfície, de modo que, após a formação do dúplex na superfície, a presença de anticorpo ligado ao dúplex pode ser detetada.

A expressão génica, alternativamente, pode ser medida por métodos imunológicos e de fluorescência, tais como a coloração imuno-histoquímica de células ou secções de

tecidos e ensaio de cultura celular ou fluidos corporais ou a deteção de marcadores selecionáveis, para quantificar diretamente a expressão do produto gênico. Os anticorpos úteis para coloração imuno-histoquímica e/ou ensaio de fluidos de amostra podem ser monoclonais ou policlonais e podem ser preparados em qualquer mamífero. Convenientemente, os anticorpos podem ser preparados contra um polipéptido de GH de sequência nativa ou contra um péptido sintético com base nas sequências de ADN proporcionadas no presente documento ou contra a sequência exógena fundida com GH e codificando um epítopo de anticorpo específico. Exemplos de marcadores selecionáveis são bem conhecidos para um perito na especialidade e incluem repórteres como proteína fluorescente verde potenciada (EGFP), beta-galactosidase (β-gal) ou cloranfenicol acetiltransferase (CAT).

O(s) produto(s) de polipéptido(s) de GHXTEN expresso pode(m) ser purificado(m) através de métodos conhecidos na técnica ou por métodos aqui descritos. Procedimentos tais como filtração em gel, purificação por afinidade, fracionamento com sal, cromatografia de permuta iónica, cromatografia por exclusão de tamanho, cromatografia de adsorção com hidroxiapatite, A cromatografia de interação hidrofóbica e a eletroforese em gel podem ser utilizadas; cada um adaptado para recuperar e purificar a proteína de fusão produzida pelas células hospedeiras respetivas. Alguns GHXTEN expressos podem exigir o redobramento durante o isolamento e a purificação. Métodos de purificação são descritos em Robert K. Scopes, Protein Purification: Principles and Practice, Charles R. Castor (ed.), Springer-Verlag 1994, e Sambrook, *et al.*, *supra*. Separações de purificação de múltiplas etapas são também descritas em Baron, *et al.*, Crit. Rev. Biotechnol. 10:179-90 (1990) e Below, *et al.*, J. Chromatogr. A. 679:67-83 (1994).

VIII). COMPOSIÇÕES FARMACÊUTICAS

A presente invenção proporciona composições farmacêuticas compreendendo GHXTEN de acordo com as reivindicações. Numa forma de realização, a composição farmacêutica compreende a proteína de fusão GHXTEN e pelo menos um veículo farmaceuticamente aceitável. Os polipéptidos GHXTEN da presente invenção podem ser formulados de acordo com métodos conhecidos para preparar composições farmaceuticamente úteis, pelo que o polipéptido é combinado em mistura com um veículo transportador farmaceuticamente aceitável, tais como soluções aquosas ou tampões, suspensões e emulsões farmaceuticamente aceitáveis. Exemplos de solventes não aquosos incluem propil etilenoglicol, polietilenoglicol e óleos vegetais. As formulações terapêuticas são preparadas para armazenamento através da mistura da ingrediente ativo tendo o grau desejado de pureza com veículos, excipientes ou estabilizantes opcionais fisiologicamente aceitáveis, conforme descrito em Remington's Pharmaceutical Sciences 16ª edição, Osol, A. Ed. (1980), sob a forma de formulações liofilizadas ou soluções aquosas.

As composições farmacêuticas podem ser administradas por via oral, intranasal, parentérica ou por meio de terapêutica de inalação e pode ter a forma de comprimidos, pastilhas para chupar, grânulos, cápsulas, pílulas, ampolas, supositórios e forma de aerossol. Também podem ter a forma de suspensões, soluções e emulsões do ingrediente ativo em diluentes aquosos ou não aquosos, xaropes, granulados ou pós. Além disso, as composições farmacêuticas também podem conter outros compostos farmaceuticamente ativos ou uma pluralidade de compostos da invenção.

Mais particularmente, as presentes composições farmacêuticas podem ser administradas para terapêutica por qualquer via adequada incluindo oral, retal, nasal, tópica (incluindo transdérmica, aerossol, bucal e sublingual),

vaginal, parentérica (incluindo subcutânea, subcutânea por bomba de infusão, intramuscular, intravenosa e intradérmica), intravítrea e pulmonar. Também será apreciado que a via preferida variará com a condição e a idade do recetor e a doença a ser tratada.

Numa forma de realização, a composição farmacêutica é administrada por via subcutânea. Nesta forma de realização, a composição pode ser fornecida como um pó liofilizado a reconstituir antes da administração. A composição também pode ser fornecida na forma líquida, que pode ser administrada diretamente a um paciente. Numa forma de realização, a composição é fornecida como um líquido numa seringa pré-cheia de modo que um paciente pode facilmente auto-administrar a composição.

As formulações de libertação prolongada úteis na presente invenção podem ser formulações orais compreendendo uma matriz e uma composição de revestimento. Materiais de matriz adequados podem incluir ceras (por exemplo, carnaúba, cera de abelhas, cera de parafina, ceresina, cera de goma-laca, ácidos gordos e álcoois gordos), óleos, óleos endurecidos ou gorduras (por exemplo, óleo de colza endurecido, óleo de rícino, sebo de carne bovina, óleo de palma e óleo de soja) e polímeros (por exemplo, hidroxipropilcelulose, polivinilpirrolidona, hidroxipropilmetilcelulose e polietilenoglicol). Outros materiais de compressão de matriz adequados são celulose microcristalina, celulose em pó, hidroxipropilcelulose, etilcelulose, com outros veículos e cargas. Os comprimidos também podem conter granulados, pós revestidos e péletes. Os comprimidos também podem estar em múltiplas camadas. Os comprimidos de múltiplas camadas são especialmente preferidos quando os ingredientes ativos têm perfis farmacocinéticos marcadamente diferentes. Opcionalmente, o comprimido acabado pode ser revestido ou não revestido.

A composição de revestimento pode compreender um

polímero de matriz insolúvel e/ou um material solúvel em água. Materiais solúveis em água podem ser polímeros tais como polietilenoglicol, hidroxipropilcelulose, hidroxipropil metil celulose, polivinilpirrolidona, álcool polivinílico ou materiais monoméricos tais como açúcares (por exemplo, lactose, sacarose, frutose, manitol e semelhantes), sais (por exemplo, cloreto de sódio, cloreto de potássio e semelhantes), ácidos orgânicos (por exemplo, ácido fumárico, ácido succínico, ácido láctico e ácido tartárico) e misturas dos mesmos. Opcionalmente, um polímero entérico pode ser incorporado na composição de revestimento. Os polímeros entéricos adequados incluem hidroxipropilmetilcelulose, acetato sucinato, hidroxipropil metil celulose, ftalato, acetato ftalato de polivinilo, acetato ftalato de celulose, Trimelitato acetato celulose, goma laca, zeína e polimetacrilatos contendo grupos carboxilo. A composição de revestimento pode ser plastificada pela adição de plastificantes adequados tais como, por exemplo, ftalato de trietilo, ésteres de citrato, polietilenoglicol, glicerol, glicéridos acetilados, ésteres de citrato acetilados, dibutilssebacato e óleo de rícino. A composição de revestimento também pode incluir uma carga, que pode ser um material insolúvel como dióxido de silício, dióxido de titânio, talco, caulino, alumina, amido, celulose em pó, MCC e poliacrilina potássio. A composição de revestimento pode ser aplicada como uma solução ou látex em solventes orgânicos ou solventes aquosos ou suas misturas. solventes, tal como água, álcool de cadeia curta, hidrocarbonetos clorados de cadeia curta, cetonas e misturas dos mesmos podem ser utilizados.

As composições da invenção podem ser formuladas utilizando uma variedade de excipientes. Excipientes adequados incluem celulose microcristalina (por exemplo, Avicel PH102, Avicel PH101), polimetacrilato, poli(acrilato de etilo, metacrilato de metilo, cloreto de metacrilato de

trimetilamonometilo) (tal como Eudragit RS-30D), hidroxipropilmetilcelulose (Methocel K100M, Premium CR Methocel K100M, Methocel E5, Opadry®), estearato de magnésio, talco, citrato de trietilo, dispersão aquosa de etilcelulose (Surelease®) e sulfato de protamina. O agente de libertação lenta também pode compreender um veículo, que pode compreender, por exemplo, solventes, meios de dispersão, revestimentos, agentes antifúngicos e antibacterianos, agentes de retardamento de absorção e isotónicos. Os sais farmaceuticamente aceitáveistambém podem ser utilizados nestes agentes de libertação lenta, por exemplo, sais minerais tais como cloridratos, bromidratos, fosfatos ou sulfatos, bem como os sais de ácidos orgânicos tais como acetatos, propionatos, malonatos ou benzoatos. A composição também pode conter líquidos, tal como água, solução salina, glicerol e etanol, bem como substância tais como agentes humectantes, agentes emulsionantes e/ou agentes de tamponamento de pH. Lipossomas também podem ser utilizados como veículo.

Noutra forma de realização, as composições da presente invenção são encapsulados em lipossomas, que demonstraram utilidade na entrega de agentes ativos benéficos de forma controlada durante períodos prolongados de tempo. Os lipossomas são membranas bicamadas fechadas contendo um volume aquoso aprisionado. Os lipossomas também podem ser vesículas unilamelares possuindo uma bicamada de membrana única ou vesículas multilamelares com bicamadas de membrana múltiplas, cada um separado do próximo por uma camada aquosa. A estrutura da bicamada de membrana resultante é tal que as caudas hidrofóbicas (não polares) do lípido estão orientadas em direção ao centro da bicamada enquanto as cabeças hidrofílicas (polares) se orientam para a fase aquosa. Numa forma de realização, o lipossoma pode ser revestido com um polímero solúvel em água flexível que evita a absorção pelos órgãos do sistema de fagócitos

mononucleares, principalmente o fígado e baço. Os polímeros hidrófilos adequados para rodear os lipossomas incluem, sem limitação, PEG, polivinilpirrolidona, polivinilmetiléter, polimetiloxazolina, polietiloxazolina, polihidroxipropiloxazolina, polihidroxipropilmetacrilamida, polimetacrilamida, polidimetilacrilamida, polihidroxipropilmetacrilato, polihidroxietilacrilato, hidroximetilcelulose, hidroxietilcelulose, polietilenoglicol, poliaspartamida e sequências de péptidos hidrofílicos conforme descrito nas Patentes U.S. n° 6.316.024; 6.126.966; 6.056.973; 6.043.094.

Os lipossomas podem ser compreendidos de qualquer combinação lipídica ou lípido conhecido na técnica. Por exemplo, os lípidos formadores de vesículas podem ser lipídios de ocorrência natural ou sintéticos, incluindo fosfolípidos, tais como fosfatidilcolina, fosfatidiletanolamina, ácido fosfatídico, fosfatidilserina, fosfatidilglicerol, fosfatidilinositol e esfingomielina conforme divulgados nas Patentes U.S. n° 6.056.973 e 5.874.104. Os lipídios formadores de vesículas também podem ser glicolípidos, cerebrósidos e lípidos catiónicos, tais como 1,2-dioleiloxi-3-(trimetilamino) propano (DOTAP); brometo N-[1-(2,3,-ditetradeciloxi)propil]-N,N- dimetil-N-hidroxietilamónio (DMRIE); brometo N-[1[(2,3,-dioleiloxi)propil]-N,N- dimetil-N-hidroxietilamónio (DMRIE); cloreto de N-[1-(2,3-dioleiloxi)propil]-N,N,N-trimetilamónio (DOTMA); 3 [N-(N',N'-dimetilaminoetano) carbamoli] colesterol (DC-Chol); ou dimetildioctadecilamónio (DDAB) também divulgado na Patente U.S. n° 6.056.973. O colesterol também pode estar presente na gama apropriada para conferir estabilidade à vesícula como divulgado nas Patentes U.S. n° 5.916.588 e 5.874.104.

Tecnologias lipossómicas adicionais são descritas nas Patentes U.S. n° 6.759.057; 6.406.713; 6.352.716; 6.316.024; 6.294.191; 6.126.966; 6.056.973; 6.043.094;

5.965.156; 5.916.588; 5.874.104; 5.215.680; e 4.684.479. Estes descrevem lipossomas e microbolhas revestidas com lípidos e métodos para sua fabricação. Assim, um perito na especialidade, considerando tanto a divulgação desta invenção como as divulgações destas outras patentes podem produzir um lipossoma para a libertação prolongada dos polipéptidos da presente invenção.

Para formulações líquidas, uma propriedade desejada é que a formulação seja fornecida numa forma que possa passar através de uma agulha de calibre 25, 28, 30, 31, 32 para administração intravenosa, intramuscular, intra-articular ou subcutânea.

A administração através de formulações transdérmicas pode ser realizada utilizando métodos também conhecidos na técnica, incluindo aqueles descritos geralmente em, por exemplo, Patente U.S. n.° 5.186.938 e 6.183.770, 4.861.800, 6.743.211, 6.945.952, 4.284.444 e documento WO 89/09051. Um penso transdérmico é uma forma de realização particularmente útil com polipéptidos com problemas de absorção. Os pensos podem ser feitos para controlar a libertação de ingredientes ativos permeáveis à pele ao longo de um período de 12 horas, 24 horas, 3 dias e 7 dias. Num exemplo, um excesso diário de 2 vezes de um polipéptido da presente invenção é colocado num fluido não volátil. As composições da invenção são proporcionadas na forma de um líquido viscoso não volátil. A penetração através da pele de formulações específicas pode ser medida por métodos padrão na técnica (por exemplo, Franz et al., J. Invest. Derm. 64:194-195 (1975)). Exemplos de pensos adequados são pensos dérmicos de transferência passiva, pensos dérmicos iontoforéticos ou pensos com microagulhas como Nicoderm.

Noutras formas de realização, A composição pode ser entregue por via intranasal, bucal ou sublingual ao cérebro para permitir a transferência dos agentes ativos através das passagens olfativas para o SNC e reduzir a

administração sistêmica. Os dispositivos comummente utilizados para esta via de administração estão incluídos na Patente U.S. n° 6.715.485. As composições entregues através desta via podem permitir o aumento da dosagem do SNC ou redução da carga total do corpo, reduzindo os riscos de toxicidade sistêmica associados a certos medicamentos. A preparação de uma composição farmacêutica para administração num dispositivo subdérmicamente implantável pode ser realizada utilizando métodos conhecidos na técnica, tais como aqueles descritos em, por exemplo, Patentes U.S. n° 3.992.518; 5.660.848; e 5.756.115.

As bombas osmóticas podem ser utilizadas como agentes de libertação lenta sob a forma de comprimidos, pílulas, cápsulas ou dispositivos implantáveis. As bombas osmóticas são bem conhecidas na técnica e prontamente disponíveis para um especialista na técnica a partir de empresas experientes em fornecer bombas osmóticas para libertação de fármaco de libertação prolongada. Exemplos são ALZA's DUROS™; ALZA's OROS™; sistema Osmotica Pharmaceutical's Osmodex™; Shire Laboratories' EnSoTrol™ system; e Alzet™. Patentes que descrevem a tecnologia de bomba osmótica são Patentes U.S. n° 6.890.918; 6.838.093; 6.814.979; 6.713.086; 6.534.090; 6.514.532; 6.361.796; 6.352.721; 6.294.201; 6.284.276; 6.110.498; 5.573.776; 4.200.0984; e 4.088.864. Um perito na especialidade, Considerando tanto a divulgação desta invenção como as divulgações destas outras patentes poderiam produzir uma bomba osmótica para a libertação prolongada dos polipéptidos da presente invenção.

As bombas de seringa também podem ser usadas como agentes de liberação lenta. Tais dispositivos são descritos nas Patentes U.S. n° 4.976.696; 4.933.185; 5.017.378; 6.309.370; 6.254.573; 4.435.173; 4.398.908; 6.572.585; 5.298.022; 5.176.502; 5.492.534; 5.318.540; e 4.988.337. Um perito na especialidade, Considerando tanto a divulgação

desta invenção como as divulgações destas outras patentes poderiam produzir uma bomba de seringa para a libertação prolongada das composições da presente invenção. A.

IX). KITS FARMACÊUTICOS

Noutro aspeto, esta divulgação fornece um kit para facilitar a utilização dos polipéptidos GHXTEN. O kit compreende a composição proporcionada na presente invenção, um rótulo que identifica a composição farmacêutica e uma instrução para armazenamento, econstituição e/ou administração das composições farmacêuticas a um indivíduo em alguma forma de realização, o kit compreende, preferentemente: (a) uma quantidade de uma composição de proteína de fusão GHXTEN suficiente para tratar uma doença, condição patológica ou distúrbio após a administração a um indivíduo que precisa da mesma; e (b) uma quantidade de um veículo farmaceuticamente aceitável; juntamente numa formulação pronta para injeção ou para reconstituição com água estéril, tampão ou dextrose; juntamente com um rótulo que identifica o medicamento GHXTEN e as condições de armazenamento e manuseio e uma folha das indicações aprovadas para o medicamento, instruções para a reconstituição e/ou administração do medicamento GHXTEN para o uso para prevenção e/ou tratamento de uma indicação aprovada, informações adequadas de dosagem e segurança e informações que identificam o lote e a expiração do medicamento. Noutra forma de realização do anteriormente mencionada, o kit pode compreender um segundo recipiente que pode transportar um diluente adequado para a composição GHXTEN, que proporcionará ao utilizador a concentração apropriada de GHXTEN para ser entregue ao sujeito.

EXEMPLOS

Exemplo 1: Construção de segmentos de motivo XTEN AD36

O seguinte exemplo descrevem a construção de uma coleção de genes otimizados por codões que codificam sequências de motivo de 36 aminoácidos. Como uma primeira

etapa, um vetor stuffer pCW0359 foi construído com base num vetor pET e que inclui um promotor T7. pCW0359 codifica um domínio de ligação a celulose (CBD) e um sítio de reconhecimento de protease TEV seguido por uma sequência stuffer que é flanqueada pelos sítios BsaI, BbsI KpnI. Os sítios BsaI e BbsI foram inseridos de modo que gerassem salientes compatíveis depois da digestão. A sequência stuffer é seguida por uma versão truncada do gene GFP e uma etiqueta His. A sequência stuffer contém codões de interrupção e, portanto, as células de *E. coli* que carregam o plasmídeo stuffer pCW0359 formam colónias não fluorescentes. O vetor stuffer pCW359 foi digerido com BsaI e KpnI para remover o segmento stuffer e o fragmento do vetor resultante foi isolado por purificação em gel de agarose. As sequências foram designadas XTEN_AD36, refletindo a família AD de motivos. Os seus segmentos têm a sequência de aminoácidos $[X]_3$ onde X é um péptido de 12 mero com as sequências: GESPGGSSGSES, GSEGSSGPGESS, GSSESGSSEGGP ou GSGGEPSESGSS. O inserto foi obtido por anelamento dos seguintes pares de pares de oligonucleótidos sintéticos fosforilados:

AD 1 for: AGGTGAATCTCCDGGTGGYTCYAGCGGTTCYGARTC
AD1rev: ACCTGAYTCRGAACCGCTRGARCCACCHGGAGATTC
AD2for: AGGTAGCGAAGGTTCTTCYGGTCCDGGYGARTCYTC
AD2rev: ACCTGARGAYTCRCCHGGACCRGAAGAACCTTCGCT
AD3for: AGGTTCYTCYGAAAGCGGTTCTTCYGARGGYGGTCC
AD3rev: ACCTGGACCRCCYTCRGAAGAACCGCTTTCRGARGA
AD4for: AGGTTCYGGTGGYGAACCDTCYGARTCTGGTAGCTC

Também se anelou o oligonucleótido fosforilado 3KpnIstopperFor: AGGTTCGTCTTCACTCGAGGGTAC e o oligonucleótido não fosforilado pr_3KpnIstopperRev: CCTCGAGTGAAGACGA. Os pares de oligonucleótidos anelados foram ligados, o que resultou numa mistura de produtos com comprimentos variáveis que representa o número variável de repetições de 12 mero ligadas a um segmento BbsI/KpnI. Os

produtos correspondentes ao comprimento de 36 aminoácidos foram isolados da mistura por eletroforese em gel de agarose preparativa e ligados no vetor stuffer pCW0359 digerido com BsaI/KpnI. A maior parte dos clones na biblioteca resultante designada LCW0401 mostraram fluorescência verde depois da
indução, o que mostra que a sequência de XTEN_AD36 tinha sido ligada em estrutura com o gene GFP e que a maioria das sequências de XTEN_AD36 tinham bons níveis de expressão.

Foram rastreados 96 isolados a partir da biblioteca LCW0401 quanto a fluorescência de nível elevado por estampagem numa placa de agar contendo IPTG. Os mesmos isolados foram avaliados por PCR e foram identificados 48 isolados que continham segmentos com 36 aminoácidos bem como uma forte fluorescência. Estes isolados foram sequenciados e foram identificados 39 clones que continham segmentos XTEN_AD36 corretos. Os nomes dos ficheiros das construções de nucleótidos e aminoácidos para estes segmentos estão listados no Quadro 8.

Quadro 8: Sequências de ADN e aminoácidos para motivos de 36 mero

Nome de ficheiro	Sequência de aminoácidos	Sequência de nucleótidos
LCW0401_001_ GFP-N_A01.ab1	GSGGEPSESGSSGESPGG SSGSESGESPGGSSGSES	GGTTCTGGTGGCGAACCGTCCGAGTCTGGTAGC TCAGGTGAATCTCCGGGTGGCTCTAGCGGTTCC GAGTCAGGTGAATCTCCTGGTGGTTCCAGCGGT TCCGAGTCA
LCW0401_002_ GFP-N_B01.ab1	GSEGSSGPGESSGESPGG SSGSESGSSESGSSEGGP	GGTAGCGAAGGTTCTTCTGGTCCTGGCGAGTCT TCAGGTGAATCTCCTGGTGGTTCCAGCGGTTCT GAATCAGGTTCCTCCGAAAGCGGTTCTTCCGAG GGCGGTCCA
LCW0401_003_ GFP-N_C01.ab1	GSSESGSSEGGPGSSESG SSEGGPGESPGGSSGSES	GGTTCCTCTGAAAGCGGTTCTTCCGAAGGTGGT CCAGGTTCCTCTGAAAGCGGTTCTTCTGAGGGT GGTCCAGGTGAATCTCCGGGTGGCTCCAGCGGT TCCGAGTCA
LCW0401_004_ GFP-N_D01.ab1	GSGGEPSESGSSGSSESG SSEGGPGSGGEPSESGSS	GGTTCCGGTGGCGAACCGTCTGAATCTGGTAGC TCAGGTTCTTCTGAAAGCGGTTCTTCCGAGGGT GGTCCAGGTTCTGGTGGTGAACCTTCCGAGTCT GGTAGCTCA
LCW0401_007_ GFP-N_F01.ab1	GSSESGSSEGGPGSEGSS GPGESSGSEGSSGPGESS	GGTTCTTCCGAAAGCGGTTCTTCTGAGGGTGGT CCAGGTAGCGAAGGTTCTTCCGGTCCAGGTGAG TCTTCAGGTAGCGAAGGTTCTTCTGGTCCTGGT GAATCTTCA
LCW0401_008_ GFP-N_G01.ab1	GSSESGSSEGGPGESPGG SSGSESGSEGSSGPGESS	GGTTCCTCTGAAAGCGGTTCTTCCGAGGGTGGT CCAGGTGAATCTCCAGGTGGTTCCAGCGGTTCT GAGTCAGGTAGCGAAGGTTCTTCTGGTCCAGGT GAATCCTCA
LCW0401_012_ GFP-N_H01.ab1	GSGGEPSESGSSGSGGEP SESGSSGSEGSSGPGESS	GGTTCTGGTGGTGAACCGTCTGAGTCTGGTAGC TCAGGTTCCGGTGGCGAACCATCCGAATCTGGT AGCTCAGGTAGCGAAGGTTCTTCCGGTCCAGGT GAGTCTTCA

LCW0401_015_ GFP-N_A02.ab1	GSSESGSSEGGPGSEGSS GPGESSGESPGGSSGSES	GGTTCTTCCGAAAGCGGTTCTTCCGAAGGCGGT CCAGGTAGCGAAGGTTCTTCTGGTCCAGGCGAA TCTTCAGGTGAATCTCCTGGTGGCTCCAGCGGT TCTGAGTCA
LCW0401_016_ GFP-N_B02.ab1	GSSESGSSEGGPGSSESG SSEGGPGSSESGSSEGGP	GGTTCCTCCGAAAGCGGTTCTTCTGAGGGCGGT CCAGGTTCCTCCGAAAGCGGTTCTTCCGAGGGC GGTCCAGGTTCTTCTGAAAGCGGTTCTTCCGAG GGCGGTCCA
LCW0401_020_ GFP-N_E02.ab1	GSGGEPSESGSSGSEGSS GPGESSGSSESGSSEGGP	GGTTCCGGTGGCGAACCGTCCGAATCTGGTAGC TCAGGTAGCGAAGGTTCTTCTGGTCCAGGCGAA TCTTCAGGTTCCTCTGAAAGCGGTTCTTCTGAG GGCGGTCCA
LCW0401_022_ GFP-N_F02.ab1	GSGGEPSESGSSGSSESG SSEGGPGSGGEPSESGSS	GGTTCTGGTGGTGAACCGTCCGAATCTGGTAGC TCAGGTTCTTCCGAAAGCGGTTCTTCTGAAGGT GGTCCAGGTTCCGGTGGCGAACCTTCTGAATCT GGTAGCTCA
LCW0401_024_ GFP-N_G02.ab1	GSGGEPSESGSSGSSESG SSEGGPGESPGGSSGSES	GGTTCTGGTGGCGAACCGTCCGAATCTGGTAGC TCAGGTTCCTCCGAAAGCGGTTCTTCTGAAGGT GGTCCAGGTGAATCTCCAGGTGGTTCTAGCGGT TCTGAATCA
LCW0401_026_ GFP-N_H02.ab1	GSGGEPSESGSSGESPGG SSGSESGSEGSSGPGESS	GGTTCTGGTGGCGAACCGTCTGAGTCTGGTAGC TCAGGTGAATCTCCTGGTGGCTCCAGCGGTTCT GAATCAGGTAGCGAAGGTTCTTCTGGTCCTGGT GAATCTTCA
LCW0401_027_ GFP-N_A03.ab1	GSGGEPSESGSSGESPGG SSGSESGSGGEPSESGSS	GGTTCCGGTGGCGAACCTTCCGAATCTGGTAGC TCAGGTGAATCTCCGGGTGGTTCTAGCGGTTCT GAGTCAGGTTCTGGTGGTGAACCTTCCGAGTCT GGTAGCTCA
LCW0401_028_ GFP-N_B03.ab1	GSSESGSSEGGPGSSESG SSEGGPGSSESGSSEGGP	GGTTCCTCTGAAAGCGGTTCTTCTGAGGGCGGT CCAGGTTCTTCCGAAAGCGGTTCTTCCGAGGGC GGTCCAGGTTCTTCCGAAAGCGGTTCTTCTGAA GGCGGTCCA

LCW0401_030_ GFP-N_C03.ab1	GESPGGSSGSESGSEGSS GPGESSGSEGSSGPGESS	GGTGAATCTCCGGGTGGCTCCAGCGGTTCTGAG TCAGGTAGCGAAGGTTCTTCCGGTCCGGGTGAG TCCTCAGGTAGCGAAGGTTCTTCCGGTCCTGGT GAGTCTTCA
LCW0401_031_ GFP-N_D03.ab1	GSGGEPSESGSSGSGGEP SESGSSGSSESGSSEGGP	GGTTCTGGTGGCGAACCTTCCGAATCTGGTAGC TCAGGTTCCGGTGGTGAACCTTCTGAATCTGGT AGCTCAGGTTCTTCTGAAAGCGGTTCTTCCGAG GGCGGTCCA
LCW0401_033_ GFP-N_E03.ab1	GSGGEPSESGSSGSGGEP SESGSSGSGGEPSESGSS	GGTTCCGGTGGTGAACCTTCTGAATCTGGTAGC TCAGGTTCCGGTGGCGAACCATCCGAGTCTGGT AGCTCAGGTTCCGGTGGTGAACCATCCGAGTCT GGTAGCTCA
LCW0401_037_ GFP-N_F03.ab1	GSGGEPSESGSSGSSESG SSEGGPGSEGSSGPGESS	GGTTCCGGTGGCGAACCTTCTGAATCTGGTAGC TCAGGTTCCTCCGAAAGCGGTTCTTCTGAGGGC GGTCCAGGTAGCGAAGGTTCTTCTGGTCCGGGC GAGTCTTCA
LCW0401_038_ GFP-N_G03.ab1	GSGGEPSESGSSGSEGSS GPGESSGSGGEPSESGSS	GGTTCCGGTGGTGAACCGTCCGAGTCTGGTAGC TCAGGTAGCGAAGGTTCTTCTGGTCCGGGTGAG TCTTCAGGTTCTGGTGGCGAACCGTCCGAATCT GGTAGCTCA
LCW0401_039_ GFP-N_H03.ab1	GSGGEPSESGSSGESPGG SSGSESGSGGEPSESGSS	GGTTCTGGTGGCGAACCGTCCGAATCTGGTAGC TCAGGTGAATCTCCTGGTGGTTCCAGCGGTTCC GAGTCAGGTTCTGGTGGCGAACCTTCCGAATCT GGTAGCTCA
LCW0401_040_ GFP-N_A04.ab1	GSSESGSSEGGPGSGGEP SESGSSGSSESGSSEGGP	GGTTCTTCCGAAAGCGGTTCTTCCGAGGCGGT CCAGGTTCCGGTGGTGAACCATCTGAATCTGGT AGCTCAGGTTCTTCTGAAAGCGGTTCTTCTGAA GGTGGTCCA
LCW0401_042_ GFP-N_C04.ab1	GSEGSSGPGESSGESPGG SSGSESGSEGSSGPGESS	GGTAGCGAAGGTTCTTCCGGTCCTGGTGAGTCT TCAGGTGAATCTCCAGGTGGCTCTAGCGGTTCC GAGTCAGGTAGCGAAGGTTCTTCTGGTCCTGGC GAGTCCTCA

LCW0401_046_ GFP-N_D04.ab1	GSSESGSSEGGPGSSESG SSEGGPGSSESGSSEGGP	GGTTCCTCTGAAAGCGGTTCTTCCGAAGGCGGT CCAGGTTCTTCCGAAAGCGGTTCTTCTGAGGGC GGTCCAGGTTCCTCCGAAAGCGGTTCTTCTGAG GGTGGTCCA
LCW0401_047_ GFP-N_E04.ab1	GSGGEPSESGSSGESPGG SSGSESGESPGGSSGSES	GGTTCTGGTGGCGAACCTTCCGAGTCTGGTAGC TCAGGTGAATCTCCGGGTGGTTCTAGCGGTTCC GAGTCAGGTGAATCTCCGGGTGGTTCCAGCGGT TCTGAGTCA
LCW0401_051_ GFP-N_F04.ab1	GSGGEPSESGSSGSEGSS GPGESSGESPGGSSGSES	GGTTCTGGTGGCGAACCATCTGAGTCTGGTAGC TCAGGTAGCGAAGGTTCTTCCGGTCCAGGCGAG TCTTCAGGTGAATCTCCTGGTGGCTCCAGCGGT TCTGAGTCA
LCW0401_053_ GFP-N_H04.ab1	GESPGGSSGSESGESPGG SSGSESGESPGGSSGSES	GGTGAATCTCCTGGTGGTTCCAGCGGTTCCGAG TCAGGTGAATCTCCAGGTGGCTCTAGCGGTTCC GAGTCAGGTGAATCTCCTGGTGGTTCTAGCGGT TCTGAATCA
LCW0401_054_ GFP-N_A05.ab1	GSEGSSGPGESSGSEGSS GPGESSGSGGEPSESGSS	GGTAGCGAAGGTTCTTCCGGTCCAGGTGAATCT TCAGGTAGCGAAGGTTCTTCTGGTCCTGGTGAA TCCTCAGGTTCCGGTGGCGAACCATCTGAATCT GGTAGCTCA
LCW0401_059_ GFP-N_D05.ab1	GSGGEPSESGSSGSEGSS GPGESSGESPGGSSGSES	GGTTCTGGTGGCGAACCATCCGAATCTGGTAGC TCAGGTAGCGAAGGTTCTTCTGGTCCTGGCGAA TCTTCAGGTGAATCTCCAGGTGGCTCTAGCGGT TCCGAATCA
LCW0401_060_ GFP-N_E05.ab1	GSGGEPSESGSSGSSESG SSEGGPGSGGEPSESGSS	GGTTCCGGTGGTGAACCGTCCGAATCTGGTAGC TCAGGTTCCTCTGAAAGCGGTTCTTCCGAGGGT GGTCCAGGTTCCGGTGGTGAACCTTCTGAGTCT GGTAGCTCA
LCW0401_061_ GFP-N_F05.ab1	GSSESGSSEGGPGSGGEP SESGSSGSEGSSGPGESS	GGTTCCTCTGAAAGCGGTTCTTCTGAGGGCGGT CCAGGTTCTGGTGGCGAACCATCTGAATCTGGT AGCTCAGGTAGCGAAGGTTCTTCCGGTCCGGGT GAATCTTCA

LCW0401_063_ GFP-N_H05.ab1	GSGGEPSESGSSGSEGSS GPGESSGSEGSSGPGESS	GGTTCTGGTGGTGAACCGTCCGAATCTGGTAGC TCAGGTAGCGAAGGTTCTTCTGGTCCTGGCGAG TCTTCAGGTAGCGAAGGTTCTTCTGGTCCTGGT GAATCTTCA
LCW0401_066_ GFP-N_B06.ab1	GSGGEPSESGSSGSSESG SSEGGPGSGGEPSESGSS	GGTTCTGGTGGCGAACCATCCGAGTCTGGTAGC TCAGGTTCTTCCGAAAGCGGTTCTTCCGAAGGC GGTCCAGGTTCTGGTGGTGAACCGTCCGAATCT GGTAGCTCA
LCW0401_067_ GFP-N_C06.ab1	GSGGEPSESGSSGESPGG SSGSESGESPGGSSGSES	GGTTCCGGTGGCGAACCTTCCGAATCTGGTAGC TCAGGTGAATCTCCGGGTGGTTCTAGCGGTTCC GAATCAGGTGAATCTCCAGGTGGTTCTAGCGGT TCCGAATCA
LCW0401_069_ GFP-N_D06.ab1	GSGGEPSESGSSGSGGEP SESGSSGESPGGSSGSES	GGTTCCGGTGGTGAACCATCTGAGTCTGGTAGC TCAGGTTCCGGTGGCGAACCGTCCGAGTCTGGT AGCTCAGGTGAATCTCCGGGTGGTTCCAGCGGT TCCGAATCA
LCW0401_070_ GFP-N_E06.ab1	GSEGSSGPGESSGSSESG SSEGGPGSEGSSGPGESS	GGTAGCGAAGGTTCTTCTGGTCCGGGCGAATCC TCAGGTTCCTCCGAAAGCGGTTCTTCCGAAGGT GGTCCAGGTAGCGAAGGTTCTTCCGGTCCTGGT GAATCTTCA
LCW0401_078_ GFP-N_F06.ab1	GSSESGSSEGGPGESPGG SSGSESGESPGGSSGSES	GGTTCCTCTGAAAGCGGTTCTTCTGAAGGCGGT CCAGGTGAATCTCCGGGTGGCTCCAGCGGTTCT GAATCAGGTGAATCTCCTGGTGGCTCCAGCGGT TCCGAGTCA
LCW0401_079_ GFP-N_G06.ab1	GSEGSSGPGESSGSEGSS GPGESSGSGGEPSESGSS	GGTAGCGAAGGTTCTTCTGGTCCAGGCGAGTCT TCAGGTAGCGAAGGTTCTTCCGGTCCTGGCGAG TCTTCAGGTTCCGGTGGCGAACCGTCCGAATCT GGTAGCTCA

Exemplo 2: Construção de segmentos XTEN_AE36

Foi construída uma biblioteca de codões codificando sequências de XTEN de 36 aminoácidos de comprimento. A sequência de XTEN foi designada XTEN_AE36. Os seus segmentos têm a sequência de aminoácidos $[X]_3$ onde X é um péptido de 12 mero com a sequência: GSPAGSPTSTEE, GSEPATSGSE TP, GTSESA TPESGP ouGTSTEPSEGSAP. O inserto foi obtido por anelamento dos seguintes pares de pares de oligonucleótidos sintéticos fosforilados:

AE1for: AGGTAGCCCDGCWGGYTCTCCDACYTCYACYGARGA
AE1rev: ACCTTCYTCRGTRGARGTHGGAGARCCWGCHGGGCT
AE2for: AGGTAGCGAACCKGCWACYTCYGGYTCTGARACYCC
AE2rev: ACCTGGRGTYTCAGARCCRGARGTWGCMGGTTCGCT
AE3for: AGGTACYTCTGAAAGCGCWACYCCKGARTCYGGYCC
AE3rev: ACCTGGRCCRGAYTCMGGRGTWGCGCTTTCAGARGT
AE4for: AGGTACYTCTACYGAACCKTCYGARGGYAGCGCWCC
AE4rev: ACCTGGWGCGCTRCCYTCRGAMGGTTCRGTAGARGT

Também se anelou o oligonucleótido fosforilado 3KpnIstopperFor: AGGTTCGTCTTCACTCGAGGGTAC e o oligonucleótido não fosforilado pr_3KpnIstopperRev: CCTCGAGTGAAGACGA. Os pares de oligonucleótidos anelados foram ligados, o que resultou numa mistura de produtos com comprimentos variáveis que representa o número variável de repetições de 12 mero ligadas a um segmento BbsI/KpnI. Os produtos correspondentes ao comprimento de 36 aminoácidos foram isolados da mistura por eletroforese em gel de agarose preparativa e ligados no vetor stuffer pCW0359 digerido com BsaI/KpnI. A maior parte dos clones na biblioteca resultante designada LCW0402 mostraram fluorescência verde depois da indução, o que mostra que a sequência de XTEN_AE36 tinha sido ligada em estrutura com o gene GFP e a maioria das sequências de XTEN_AE36 mostraram boa expressão.

Foram rastreados 96 isolados a partir da biblioteca

LCW0402 quanto a fluorescência de nível elevado por estampagem numa placa de agar contendo IPTG. Os mesmos isolados foram avaliados por PCR e foram identificados 48 isolados que continham segmentos com 36 aminoácidos bem como uma forte fluorescência. Estes isolados foram sequenciados e foram identificados 37 clones que continham segmentos XTEN_AE36 corretos. Os nomes dos ficheiros das construções de nucleótidos e aminoácidos para estes segmentos estão listados no Quadro 9.

Quadro 9: Sequências de ADN e aminoácidos para motivos de 36 mero

Nome do ficheiro	Sequência de aminoácidos	Sequência de nucleótidos
LCW0402_002_ GFP-N_A07.ab1	GSPAGSPTSTEEGTSE SATPESGPGTSTEPSE GSAP	GGTAGCCCGGCAGGCTCTCCGACCTCTACTGAGGAA GGTACTTCTGAAAGCGCAACCCCGGAGTCCGGCCCA GGTACCTCTACCGAACCGTCTGAGGGCAGCGCACCA
LCW0402_003_ GFP-N_B07.ab1	GTSTEPSEGSAPGTST EPSEGSAPGTSTEPSE GSAP	GGTACTTCTACCGAACCGTCCGAAGGCAGCGCTCCA GGTACCTCTACTGAACCTTCCGAGGGCAGCGCTCCA GGTACCTCTACCGAACCTTCTGAAGGTAGCGCACCA
LCW0402_004_ GFP-N_C07.ab1	GTSTEPSEGSAPGTSE SATPESGPGTSESATP ESGP	GGTACCTCTACCGAACCGTCTGAAGGTAGCGCACCA GGTACCTCTGAAAGCGCAACTCCTGAGTCCGGTCCA GGTACTTCTGAAAGCGCAACCCCCGGAGTCTGGCCCA
LCW0402_005_ GFP-N_D07.ab1	GTSTEPSEGSAPGTSE SATPESGPGTSESATP ESGP	GGTACTTCTACTGAACCGTCTGAAGGTAGCGCACCA GGTACTTCTGAAAGCGCAACCCCGGAATCCGGCCCA GGTACCTCTGAAAGCGCAACCCCGGAGTCCGGCCCA
LCW0402_006_ GFP-N_E07.ab1	GSEPATSGSETPGTSE SATPESGPGSPAGSPT STEE	GGTAGCGAACCGGCAACCTCCGGCTCTGAAACCCCA GGTACCTCTGAAAGCGCTACTCCTGAATCCGGCCCA GGTAGCCCGGCAGGTTCTCCGACTTCCACTGAGGAA
LCW0402_008_ GFP-N_F07.ab1	GTSESATPESGPGSEP ATSGSETPGTSTEPSE GSAP	GGTACTTCTGAAAGCGCAACCCCTGAATCCGGTCCA GGTAGCGAACCGGCTACTTCTGGCTCTGAGACTCCA GGTACTTCTACCGAACCGTCCGAAGGTAGCGCACCA
LCW0402_009_ GFP-N_G07.ab1	GSPAGSPTSTEEGSPA GSPTSTEEGSEPATSG SETP	GGTAGCCCGGCTGGCTCTCCAACCTCCACTGAGGAA GGTAGCCCGGCTGGCTCTCCAACCTCCACTGAAGAA GGTAGCGAACCGGCTACCTCCGGCTCTGAAACTCCA
LCW0402_011_ GFP-N_A08.ab1	GSPAGSPTSTEEGTSE SATPESGPGTSTEPSE GSAP	GGTAGCCCGGCTGGCTCTCCTACCTCTACTGAGGAA GGTACTTCTGAAAGCGCTACTCCTGAGTCTGGTCCA GGTACCTCTACTGAACCGTCCGAAGGTAGCGCTCCA
LCW0402_012_ GFP-N_B08.ab1	GSPAGSPTSTEEGSPA GSPTSTEEGTSTEPSE GSAP	GGTAGCCCTGCTGGCTCTCCGACTTCTACTGAGGAA GGTAGCCCGGCTGGTTCTCCGACTTCTACTGAGGAA GGTACTTCTACCGAACCTTCCGAAGGTAGCGCTCCA
LCW0402_013_ GFP-N_C08.ab1	GTSESATPESGPGTST EPSEGSAPGTSTEPSE GSAP	GGTACTTCTGAAAGCGCTACTCCGGAGTCCGGTCCA GGTACCTCTACCGAACCGTCCGAAGGCAGCGCTCCA GGTACTTCTACTGAACCTTCTGAGGGTAGCGCTCCA

LCW0402_014_ GFP-N_D08.ab1	GTSTEPSEGSAPGSPA GSPTSTEEGTSTEPSE GSAP	GGTACCTCTACCGAACCTTCCGAAGGTAGCGCTCCA GGTAGCCCGGCAGGTTCTCCTACTTCCACTGAGGAA GGTACTTCTACCGAACCTTCTGAGGGTAGCGCACCA
LCW0402_015_ GFP-N_E08.ab1	GSEPATSGSETPGSPA GSPTSTEEGTSESATP ESGP	GGTAGCGAACCGGCTACTTCCGGCTCTGAGACTCCA GGTAGCCCTGCTGGCTCTCCGACCTCTACCGAAGAA GGTACCTCTGAAAGCGCTACCCCTGAGTCTGGCCCA
LCW0402_016_ GFP-N_F08.ab1	GTSTEPSEGSAPGTSE SATPESGPGTSESATP ESGP	GGTACTTCTACCGAACCTTCCGAGGGCAGCGCACCA GGTACTTCTGAAAGCGCTACCCCTGAGTCCGGCCCA GGTACTTCTGAAAGCGCTACTCCTGAATCCGGTCCA
LCW0402_020_ GFP-N_G08.ab1	GTSTEPSEGSAPGSEP ATSGSETPGSPAGSPT STEE	GGTACTTCTACTGAACCGTCTGAAGGCAGCGCACCA GGTAGCGAACCGGCTACTTCCGGTTCTGAAACCCCA GGTAGCCCAGCAGGTTCTCCAACTTCTACTGAAGAA
LCW0402_023_ GFP-N_A09.ab1	GSPAGSPTSTEEGTSE SATPESGPGSEPATSG SETP	GGTAGCCCTGCTGGCTCTCCAACCTCCACCGAAGAA GGTACCTCTGAAAGCGCAACCCCTGAATCCGGCCCA GGTAGCGAACCGGCAACCTCCGGTTCTGAAACCCCA
LCW0402_024_ GFP-N_B09.ab1	GTSESATPESGPGSPA GSPTSTEEGSPAGSPT STEE	GGTACTTCTGAAAGCGCTACTCCTGAGTCCGGCCCA GGTAGCCCGGCTGGCTCTCCGACTTCCACCGAGGAA GGTAGCCCGGCTGGCTCTCCAACTTCTACTGAAGAA
LCW0402_025_ GFP-N_C09.ab1	GTSTEPSEGSAPGTSE SATPESGPGTSTEPSE GSAP	GGTACCTCTACTGAACCTTCTGAGGGCAGCGCTCCA GGTACTTCTGAAAGCGCTACCCCGGAGTCCGGTCCA GGTACTTCTACTGAACCGTCCGAAGGTAGCGCACCA
LCW0402_026_ GFP-N_D09.ab1	GSPAGSPTSTEEGTST EPSEGSAPGSEPATSG SETP	GGTAGCCCGGCAGGCTCTCCGACTTCCACCGAGGAA GGTACCTCTACTGAACCTTCTGAGGGTAGCGCTCCA GGTAGCGAACCGGCAACCTCTGGCTCTGAAACCCCA
LCW0402_027_ GFP-N_E09.ab1	GSPAGSPTSTEEGTST EPSEGSAPGTSTEPSE GSAP	GGTAGCCCAGCAGGCTCTCCGACTTCCACTGAGGAA GGTACTTCTACTGAACCTTCCGAAGGCAGCGCACCA GGTACCTCTACTGAACCTTCTGAGGGCAGCGCTCCA
LCW0402_032_ GFP-N_H09.ab1	GSEPATSGSETPGTSE SATPESGPGSPAGSPT STEE	GGTAGCGAACCTGCTACCTCCGGTTCTGAAACCCCA GGTACCTCTGAAAGCGCAACTCCGGAGTCTGGTCCA GGTAGCCCTGCAGGTTCTCCTACCTCCACTGAGGAA
LCW0402_034_ GFP-N_A10.ab1	GTSESATPESGPGTST EPSEGSAPGTSTEPSE GSAP	GGTACCTCTGAAAGCGCTACTCCGGAGTCTGGCCCA GGTACCTCTACTGAACCGTCTGAGGGTAGCGCTCCA GGTACTTCTACTGAACCGTCCGAAGGTAGCGCACCA

LCW0402_036_ GFP-N_C10.ab1	GSPAGSPTSTEEGTST EPSEGSAPGTSTEPSE GSAP	GGTAGCCCGGCTGGTTCTCCGACTTCCACCGAGGAA GGTACCTCTACTGAACCTTCTGAGGGTAGCGCTCCA GGTACCTCTACTGAACCTTCCGAAGGCAGCGCTCCA
LCW0402_039_ GFP-N_E10.ab1	GTSTEPSEGSAPGTST EPSEGSAPGTSTEPSE GSAP	GGTACTTCTACCGAACCGTCCGAGGGCAGCGCTCCA GGTACTTCTACTGAACCTTCTGAAGGCAGCGCTCCA GGTACTTCTACTGAACCTTCCGAAGGTAGCGCACCA
LCW0402_040_ GFP-N_F10.ab1	GSEPATSGSETPGTSE SATPESGPGTSTEPSE GSAP	GGTAGCGAACCTGCAACCTCTGGCTCTGAAACCCCA GGTACCTCTGAAAGCGCTACTCCTGAATCTGGCCCA GGTACTTCTACTGAACCGTCCGAGGGCAGCGCACCA
LCW0402_041_ GFP-N_G10.ab1	GTSTEPSEGSAPGSPA GSPTSTEEGTSTEPSE GSAP	GGTACTTCTACCGAACCGTCCGAGGGTAGCGCACCA GGTAGCCCAGCAGGTTCTCCTACCTCCACCGAGGAA GGTACTTCTACCGAACCGTCCGAGGGTAGCGCACCA
LCW0402_050_ GFP-N_A11.ab1	GSEPATSGSETPGTSE SATPESGPGSEPATSG SETP	GGTAGCGAACCGGCAACCTCCGGCTCTGAAACTCCA GGTACTTCTGAAAGCGCTACTCCGGAATCCGGCCCA GGTAGCGAACCGGCTACTTCCGGCTCTGAAACCCCA
LCW0402_051_ GFP-N_B11.ab1	GSEPATSGSETPGTSE SATPESGPGSEPATSG SETP	GGTAGCGAACCGGCAACTTCCGGCTCTGAAACCCCA GGTACTTCTGAAAGCGCTACTCCTGAGTCTGGCCCA GGTAGCGAACCTGCTACCTCTGGCTCTGAAACCCCA
LCW0402_059_ GFP-N_E11.ab1	GSEPATSGSETPGSEP ATSGSETPGTSTEPSE GSAP	GGTAGCGAACCGGCAACCTCTGGCTCTGAAACTCCA GGTAGCGAACCTGCAACCTCCGGCTCTGAAACCCCA GGTACTTCTACTGAACCTTCTGAGGGCAGCGCACCA
LCW0402_060_ GFP-N_F11.ab1	GTSESATPESGPGSEP ATSGSETPGSEPATSG SETP	GGTACTTCTGAAAGCGCTACCCCCGGAATCTGGCCCA GGTAGCGAACCGGCTACTTCTGGTTCTGAAACCCCA GGTAGCGAACCGGCTACCTCCGGTTCTGAAACTCCA
LCW0402_061_ GFP-N_G11.ab1	GTSTEPSEGSAPGTST EPSEGSAPGTSESATP ESGP	GGTACCTCTACTGAACCTTCCGAAGGCAGCGCTCCA GGTACCTCTACCGAACCGTCCGAGGGCAGCGCACCA GGTACTTCTGAAAGCGCAACCCCTGAATCCGGTCCA
LCW0402_065_ GFP-N_A12.ab1	GSEPATSGSETPGTSE SATPESGPGTSESATP ESGP	GGTAGCGAACCGGCAACCTCTGGCTCTGAAACCCCA GGTACCTCTGAAAGCGCTACTCCGGAATCTGGTCCA GGTACTTCTGAAAGCGCTACTCCGGAATCCGGTCCA
LCW0402_066_ GFP-N_B12.ab1	GSEPATSGSETPGSEP ATSGSETPGTSTEPSE GSAP	GGTAGCGAACCTGCTACCTCCGGCTCTGAAACTCCA GGTAGCGAACCGGCTACTTCCGGTTCTGAAACTCCA GGTACCTCTACCGAACCTTCCGAAGGCAGCGCACCA

LCW0402_067_ GFP-N_C12.ab1	GSEPATSGSETPGTST EPSEGSAPGSEPATSG SETP	GGTAGCGAACCTGCTACTTCTGGTTCTGAAACTCCA GGTACTTCTACCGAACCGTCCGAGGGTAGCGCTCCA GGTAGCGAACCTGCTACTTCTGGTTCTGAAACTCCA
LCW0402_069_ GFP-N_D12.ab1	GTSTEPSEGSAPGTST EPSEGSAPGSEPATSG SETP	GGTACCTCTACCGAACCGTCCGAGGGTAGCGCACCA GGTACCTCTACTGAACCGTCTGAGGGTAGCGCTCCA GGTAGCGAACCTGCAACCTCCGGTTCTGAAACTCCA
LCW0402_073_ GFP-N_F12.ab1	GTSTEPSEGSAPGSEP ATSGSETPGSPAGSPT STEE	GGTACTTCTACTGAACCTTCCGAAGGTAGCGCTCCA GGTAGCGAACCTGCTACTTCTGGTTCTGAAACCCCA GGTAGCCCCGGCTGGCTCTCCGACCTCCACCGAGGAA
LCW0402_074_ GFP-N_G12.ab1	GSEPATSGSETPGSPA GSPTSTEEGTSESATP ESGP	GGTAGCGAACCGGCTACTTCCGGCTCTGAGACTCCA GGTAGCCCAGCTGGTTCTCCAACCTCTACTGAGGAA GGTACTTCTGAAAGCGCTACCCCTGAATCTGGTCCA
LCW0402_075_ GFP-N_H12.ab1	GTSESATPESGPGSEP ATSGSETPGTSESATP ESGP	GGTACCTCTGAAAGCGCAACTCCTGAGTCTGGCCCA GGTAGCGAACCTGCTACCTCCGGCTCTGAGACTCCA GGTACCTCTGAAAGCGCAACCCCCGGAATCTGGTCCA

Exemplo 3: Construção de segmentos XTEN_AF36

Foi construída uma biblioteca de codões codificando sequências de 36 aminoácidos de comprimento. As sequências foram designadas XTEN_AF36. Os seus segmentos têm a sequência de aminoácidos [X]3 onde X é um péptido de 12 mero com a sequência: GSTSESPSGTAP, GTSTPESGSASP, GTSPSGESSTAP, or GSTSSTAESPGP. O inserto foi obtido por anelamento dos seguintes pares de pares de oligonucleótidos sintéticos fosforilados:

AF1for: AGGTTCTACYAGCGAATCYCCKTCTGGYACYGCWCC
AF1rev: ACCTGGWGCRGTRCCAGAMGGRGATTCGCTRGTAGA
AF2for: AGGTACYTCTACYCCKGAAAGCGGYTCYGCWTCTCC
AF2rev: ACCTGGAGAWGCRGARCCGCTTTCMGGRGTAGARGT
AF3for: AGGTACYTCYCCKAGCGGYGAATCTTCTACYGCWCC
AF3rev: ACCTGGWGCRGTAGAAGATTCRCCGCTMGGRGARGT
AF4for: AGGTTCYACYAGCTCTACYGCWGAATCTCCKGGYCC
AF4rev: ACCTGGRCCMGGAGATTCWGCRGTAGAGCTRGTRGA

Também se anelou o oligonucleótido fosforilado 3KpnIstopperFor: AGGTTCGTCTTCACTCGAGGGTAC e o oligonucleótido não fosforilado pr_3KpnIstopperRev: CCTCGAGTGAAGACGA. Os pares de oligonucleótidos anelados foram ligados, que resultaram numa mistura de produtos com comprimentos variáveis que representa o número variável de repetições de 12 mero ligadas a um segmento BbsI/KpnI. Os produtos correspondentes ao comprimento de 36 aminoácidos foram isolados a partir da mistura por eletroforese em gel de agarose preparativa e ligados no vetor pCW0359 digerido com BsaI/KpnI. A maior parte dos clones na biblioteca resultante designada LCW0403 mostraram fluorescência verde depois da indução, o que mostra que a sequência de XTEN_AF36 tinha sido ligada em estrutura com o gene GFP e a maioria das sequências de XTEN_AF36 mostraram boa expressão.

Foram rastreados 96 isolados a partir da biblioteca LCW0403 quanto a fluorescência de nível elevado por

estampagem numa placa de agar contendo IPTG. Os mesmos isolados foram avaliados por PCR e foram identificados 48 isolados que continham segmentos com 36 aminoácidos bem como uma forte fluorescência. Estes isolados foram sequenciados e foram identificados 44 clones que continham segmentos XTEN_AF36 corretos. Os nomes dos ficheiros das construções de nucleótidos e aminoácidos para estes segmentos estão listados no Quadro 10.

Quadro 10: Sequências de ADN e aminoácidos para motivos de 36 mero

Nome do ficheiro	Sequência de aminoácidos	Sequência de nucleótidos
LCW0403_004_ GFP-N_A01.ab1	GTSTPESGSASPGTSP SGESSTAPGTSPSGES STAP	GGTACTTCTACTCCGGAAAGCGGTTCCGCATCTCCA GGTACTTCTCCTAGCGGTGAATCTTCTACTGCTCCAG GTACCTCTCCTAGCGGCGAATCTTCTACTGCTCCA
LCW0403_005_ GFP-N_B01.ab1	GTSPSGESSTAPGSTS STAESPGPGTSPSGES STAP	GGTACTTCTCCGAGCGGTGAATCTTCTACCGCACCA GGTTCTACTAGCTCTACCGCTGAATCTCCGGGCCCAG GTACTTCTCCGAGCGGTGAATCTTCTACTGCTCCA
LCW0403_006_ GFP-N_C01.ab1	GSTSSTAESPGPGTSP SGESSTAPGTSTPESG SASP	GGTTCCACCAGCTCTACTGCTGAATCTCCTGGTCCAG GTACCTCTCCTAGCGGTGAATCTTCTACTGCTCCAGG TACTTCTACTCCTGAAAGCGGCTCTGCTTCTCCA
LCW0403_007_ GFP-N_D01.ab1	GSTSSTAESPGPGSTS STAESPGPGTSPSGES STAP	GGTTCTACCAGCTCTACTGCAGAATCTCCTGGCCCAG GTTCCACCAGCTCTACCGCAGAATCTCCGGGTCCAG GTACTTCCCCTAGCGGTGAATCTTCTACCGCACCA
LCW0403_008_ GFP-N_E01.ab1	GSTSSTAESPGPGTSP SGESSTAPGTSTPESG SASP	GGTTCTACTAGCTCTACTGCTGAATCTCCTGGCCCAG GTACTTCTCCTAGCGGTGAATCTTCTACCGCTCCAGG TACCTCTACTCCGGAAAGCGGTTCTGCATCTCCA
LCW0403_010_ GFP-N_F01.ab1	GSTSSTAESPGPGTST PESGSASPGSTSESPS GTAP	GGTTCTACCAGCTCTACCGCAGAATCTCCTGGTCCAG GTACCTCTACTCCGGAAAGCGGCTCTGCATCTCCAG GTTCTACTAGCGAATCTCCTTCTGGCACTGCACCA
LCW0403_011_ GFP-N_G01.ab1	GSTSSTAESPGPGTST PESGSASPGTSTPESG SASP	GGTTCTACTAGCTCTACTGCAGAATCTCCTGGCCCAG GTACCTCTACTCCGGAAAGCGGCTCTGCATCTCCAG GTACTTCTACCCCTGAAAGCGGTTCTGCATCTCCA
LCW0403_012_ GFP-N_H01.ab1	GSTSESPSGTAPGTSP SGESSTAPGSTSESPS GTAP	GGTTCTACCAGCGAATCTCCTTCTGGCACCGCTCCAG GTACCTCTCCTAGCGGCGAATCTTCTACCGCTCCAGG TTCTACTAGCGAATCTCCTTCTGGCACTGCACCA
LCW0403_013_ GFP-N_A02.ab1	GSTSSTAESPGPGSTS STAESPGPGTSPSGES STAP	GGTTCCACCAGCTCTACTGCAGAATCTCCGGGCCCA GGTTCTACTAGCTCTACTGCAGAATCTCCGGGTCCAG GTACTTCTCCTAGCGGCGAATCTTCTACCGCTCCA
LCW0403_014_	GSTSSTAESPGPGTST	GGTTCCACTAGCTCTACTGCAGAATCTCCTGGCCCAG

GFP-N_B02.ab1	PESGSASPGSTSESPS GTAP	GTACCTCTACCCCTGAAAGCGGCTCTGCATCTCCAG GTTCTACCAGCGAATCCCCGTCTGGCACCGCACCA
LCW0403_015_ GFP-N_C02.ab1	GSTSSTAESPGPGSTS STAESPGPGTSPSGES STAP	GGTTCTACTAGCTCTACTGCTGAATCTCCGGGTCCAG GTTCTACCAGCTCTACTGCTGAATCTCCTGGTCCAGG TACCTCCCCGAGCGGTGAATCTTCTACTGCACCA
LCW0403_017_ GFP-N_D02.ab1	GSTSSTAESPGPGSTS ESPSGTAPGSTSSTAE SPGP	GGTTCTACCAGCTCTACCGCTGAATCTCCTGGCCCAG GTTCTACCAGCGAATCCCCGTCTGGCACCGCACCAG GTTCTACTAGCTCTACCGCTGAATCTCCGGGTCCA
LCW0403_018_ GFP-N_E02.ab1	GSTSSTAESPGPGSTS STAESPGPGSTSSTAE SPGP	GGTTCTACCAGCTCTACCGCAGAATCTCCTGGCCCA GGTTCCACTAGCTCTACCGCTGAATCTCCTGGTCCAG GTTCTACTAGCTCTACCGCTGAATCTCCTGGTCCA
LCW0403_019_ GFP-N_F02.ab1	GSTSESPSGTAPGSTS STAESPGPGSTSSTAE SPGP	GGTTCTACTAGCGAATCCCCTTCTGGTACTGCTCCAG GTTCCACTAGCTCTACCGCTGAATCTCCTGGCCCAGG TTCCACTAGCTCTACTGCAGAATCTCCTGGTCCA
LCW0403_023_ GFP-N_H02.ab1	GSTSESPSGTAPGSTS ESPSGTAPGSTSESPS GTAP	GGTTCTACTAGCGAATCTCCTTCTGGTACCGCTCCAG GTTCTACCAGCGAATCCCCGTCTGGTACTGCTCCAGG TTCTACCAGCGAATCTCCTTCTGGTACTGCACCA
LCW0403_024_ GFP-N_A03.ab1	GSTSSTAESPGPGSTS STAESPGPGSTSSTAE SPGP	GGTTCCACCAGCTCTACTGCTGAATCTCCTGGCCCAG GTTCTACCAGCTCTACTGCTGAATCTCCGGGCCCAGG TTCCACCAGCTCTACCGCTGAATCTCCGGGTCCA
LCW0403_025_ GFP-N_B03.ab1	GSTSSTAESPGPGSTS STAESPGPGTSPSGES STAP	GGTTCCACTAGCTCTACCGCAGAATCTCCTGGTCCAG GTTCTACTAGCTCTACTGCTGAATCTCCGGGTCCAGG TACCTCCCCTAGCGGCGAATCTTCTACCGCTCCA
LCW0403_028_ GFP-N_D03.ab1	GSSPSASTGTGPGSST PSGATGSPGSSTPSGA TGSP	GGTTCTAGCCCTTCTGCTTCCACCGGTACCGGCCCAG GTAGCTCTACTCCGTCTGGTGCAACTGGCTCTCCAGG TAGCTCTACTCCGTCTGGTGCAACCGGCTCCCCA
LCW0403_029_ GFP-N_E03.ab1	GTSPSGESSTAPGTST PESGSASPGSTSSTAE SPGP	GGTACTTCCCCTAGCGGTGAATCTTCTACTGCTCCAG GTACCTCTACTCCGGAAAGCGGCTCCGCATCTCCAG GTTCTACTAGCTCTACTGCTGAATCTCCTGGTCCA
LCW0403_030_ GFP-N_F03.ab1	GSTSSTAESPGPGSTS STAESPGPGTSTPESG SASP	GGTTCTACTAGCTCTACCGCTGAATCTCCGGGTCCAG GTTCTACCAGCTCTACTGCAGAATCTCCTGGCCCAGG TACTTCTACTCCGGAAAGCGGTTCCGCTTCTCCA

LCW0403_031_ GFP-N_G03.ab1	GTSPSGESSTAPGSTS STAESPGPGTSTPESG SASP	GGTACTTCTCCTAGCGGTGAATCTTCTACCGCTCCAG GTTCTACCAGCTCTACTGCTGAATCTCCTGGCCCAGG TACTTCTACCCCGGAAAGCGGCTCCGCTTCTCCA
LCW0403_033_ GFP-N_H03.ab1	GSTSESPSGTAPGSTS STAESPGPGSTSSTAE SPGP	GGTTCTACTAGCGAATCCCCTTCTGGTACTGCACCAG GTTCTACCAGCTCTACTGCTGAATCTCCGGGCCCAGG TTCCACCAGCTCTACCGCAGAATCTCCTGGTCCA
LCW0403_035_ GFP-N_A04.ab1	GSTSSTAESPGPGSTS ESPSGTAPGSTSSTAE SPGP	GGTTCCACCAGCTCTACCGCTGAATCTCCGGGCCCA GGTTCTACCAGCGAATCCCCTTCTGGCACTGCACCA GGTTCTACTAGCTCTACCGCAGAATCTCCGGGCCCA
LCW0403_036_ GFP-N_B04.ab1	GSTSSTAESPGPGTSP SGESSTAPGTSTPESG SASP	GGTTCTACCAGCTCTACTGCTGAATCTCCGGGTCCAG GTACTTCCCCGAGCGGTGAATCTTCTACTGCACCAG GTACTTCTACTCCGGAAAGCGGTTCCGCTTCTCCA
LCW0403_039_ GFP-N_C04.ab1	GSTSESPSGTAPGSTS ESPSGTAPGTSPSGES STAP	GGTTCTACCAGCGAATCTCCTTCTGGCACCGCTCCAG GTTCTACTAGCGAATCCCCGTCTGGTACCGCACCAG GTACTTCTCCTAGCGGCGAATCTTCTACCGCACCA
LCW0403_041_ GFP-N_D04.ab1	GSTSESPSGTAPGSTS ESPSGTAPGTSTPESG SASP	GGTTCTACCAGCGAATCCCCTTCTGGTACTGCTCCAG GTTCTACCAGCGAATCCCCTTCTGGCACCGCACCAG GTACTTCTACCCCTGAAAGCGGCTCCGCTTCTCCA
LCW0403_044_ GFP-N_E04.ab1	GTSTPESGSASPGSTS STAESPGPGSTSSTAE SPGP	GGTACCTCTACTCCTGAAAGCGGTTCTGCATCTCCAG GTTCCACTAGCTCTACCGCAGAATCTCCGGGCCCAG GTTCTACTAGCTCTACTGCTGAATCTCCTGGCCCA
LCW0403_046_ GFP-N_F04.ab1	GSTSESPSGTAPGSTS ESPSGTAPGTSPSGES STAP	GGTTCTACCAGCGAATCCCCTTCTGGCACTGCACCA GGTTCTACTAGCGAATCCCCTTCTGGTACCGCACCAG GTACTTCTCCGAGCGGCGAATCTTCTACTGCTCCA
LCW0403_047_ GFP-N_G04.ab1	GSTSSTAESPGPGSTS STAESPGPGSTSESPS GTAP	GGTTCTACTAGCTCTACCGCTGAATCTCCTGGCCCAG GTTCCACTAGCTCTACCGCAGAATCTCCGGGCCCAG GTTCTACTAGCGAATCCCCTTCTGGTACCGCTCCA
LCW0403_049_ GFP-N_H04.ab1	GSTSSTAESPGPGSTS STAESPGPGTSTPESG SASP	GGTTCCACCAGCTCTACTGCAGAATCTCCTGGCCCA GGTTCTACTAGCTCTACCGCAGAATCTCCTGGTCCAG GTACCTCTACTCCTGAAAGCGGTTCCGCATCTCCA
LCW0403_051_ GFP-N_A05.ab1	GSTSSTAESPGPGSTS STAESPGPGSTSESPS GTAP	GGTTCTACTAGCTCTACTGCTGAATCTCCGGGCCCAG GTTCTACTAGCTCTACCGCTGAATCTCCGGGTCCAGG TTCTACTAGCGAATCTCCTTCTGGTACCGCTCCA

LCW0403_053_ GFP-N_B05.ab1	GTSPSGESSTAPGSTS ESPSGTAPGSTSSTAE SPGP	GGTACCTCCCCGAGCGGTGAATCTTCTACTGCACCA GGTTCTACTAGCGAATCCCCTTCTGGTACTGCTCCAG GTTCCACCAGCTCTACTGCAGAATCTCCGGGTCCA
LCW0403_054_ GFP-N_C05.ab1	GSTSESPSGTAPGTSP SGESSTAPGSTSSTAE SPGP	GGTTCTACTAGCGAATCCCCGTCTGGTACTGCTCCAG GTACTTCCCCTAGCGGTGAATCTTCTACTGCTCCAGG TTCTACCAGCTCTACCGCAGAATCTCCGGGTCCA
LCW0403_057_ GFP-N_D05.ab1	GSTSSTAESPGPGSTS ESPSGTAPGTSPSGES STAP	GGTTCTACCAGCTCTACCGCTGAATCTCCTGGCCCAG GTTCTACTAGCGAATCTCCGTCTGGCACCGCACCAG GTACTTCCCCTAGCGGTGAATCTTCTACTGCACCA
LCW0403_058_ GFP-N_E05.ab1	GSTSESPSGTAPGSTS ESPSGTAPGTSTPESG SASP	GGTTCTACTAGCGAATCTCCTTCTGGCACTGCACCAG GTTCTACCAGCGAATCTCCGTCTGGCACTGCACCAG GTACCTCTACCCCTGAAAGCGGTTCCGCTTCTCCA
LCW0403_060_ GFP-N_F05.ab1	GTSTPESGSASPGSTS ESPSGTAPGSTSSTAE SPGP	GGTACCTCTACTCCGGAAAGCGGTTCCGCATCTCCA GGTTCTACCAGCGAATCCCCGTCTGGCACCGCACCA GGTTCTACTAGCTCTACTGCTGAATCTCCGGGCCCA
LCW0403_063_ GFP-N_G05.ab1	GSTSSTAESPGPGTSP SGESSTAPGTSPSGES STAP	GGTTCTACTAGCTCTACTGCAGAATCTCCGGGCCCA GGTACCTCTCCTAGCGGTGAATCTTCTACCGCTCCAG GTACTTCTCCGAGCGGTGAATCTTCTACCGCTCCA
LCW0403_064_ GFP-N_H05.ab1	GTSPSGESSTAPGTSP SGESSTAPGTSPSGES STAP	GGTACCTCCCCTAGCGGCGAATCTTCTACTGCTCCAG GTACCTCTCCTAGCGGCGAATCTTCTACCGCTCCAGG TACCTCCCCTAGCGGTGAATCTTCTACCGCACCA
LCW0403_065_ GFP-N_A06.ab1	GSTSSTAESPGPGTST PESGSASPGSTSESPS GTAP	GGTTCCACTAGCTCTACTGCTGAATCTCCTGGCCCAG GTACTTCTACTCCGGAAAGCGGTTCCGCTTCTCCAGG TTCTACTAGCGAATCTCCGTCTGGCACCGCACCA
LCW0403_066_ GFP-N_B06.ab1	GSTSESPSGTAPGTSP SGESSTAPGTSPSGES STAP	GGTTCTACTAGCGAATCTCCGTCTGGCACTGCTCCAG GTACTTCTCCTAGCGGTGAATCTTCTACCGCTCCAGG TACTTCCCCTAGCGGCGAATCTTCTACCGCTCCA
LCW0403_067_ GFP-N_C06.ab1	GSTSESPSGTAPGTST PESGSASPGSTSSTAE SPGP	GGTTCTACTAGCGAATCTCCTTCTGGTACCGCTCCAG GTACTTCTACCCCTGAAAGCGGCTCCGCTTCTCCAGG TTCCACTAGCTCTACCGCTGAATCTCCGGGTCCA
LCW0403_068_ GFP-N_D06.ab1	GSTSSTAESPGPGSTS STAESPGPGSTSESPS GTAP	GGTTCCACTAGCTCTACTGCTGAATCTCCTGGCCCAG GTTCTACCAGCTCTACCGCTGAATCTCCTGGCCCAGG TTCTACCAGCGAATCTCCGTCTGGCACCGCACCA

LCW0403_069_ GFP-N_E06.ab1	GSTSESPSGTAPGTST PESGSASPGTSTPESG SASP	GGTTCTACTAGCGAATCCCCGTCTGGTACCGCACCA GGTACTTCTACCCCGGAAAGCGGCTCTGCTTCTCCAG GTACTTCTACCCCGGAAAGCGGCTCCGCATCTCCA
LCW0403_070_ GFP-N_F06.ab1	GSTSESPSGTAPGTST PESGSASPGTSTPESG SASP	GGTTCTACTAGCGAATCCCCGTCTGGTACTGCTCCAG GTACTTCTACTCCTGAAAGCGGTTCCGCTTCTCCAGG TACCTCTACTCCGGAAAGCGGTTCTGCATCTCCA

Exemplo 4: Construção de segmentos XTEN_AG36

Foi construída uma biblioteca de codões codificando sequências de 36 aminoácidos de comprimento. As sequências foram designadas XTEN_AG36. Os seus segmentos têm a sequência de aminoácidos $[X]_3$ onde X é um péptido de 12 mero com a sequência: GTPGSGTASSSP, GSSTPSGATGSP, GSSPSASTGTGP, or GASPGTSSTGSP. O inserto foi obtido por anelamento dos seguintes pares de pares de oligonucleótidos sintéticos fosforilados:

AG1for: AGGTACYCCKGGYAGCGGTACYGCWTCTTCYTCTCC
AG1rev: ACCTGGAGARGAAGAWGCRGTACCGCTRCCMGGRGT
AG2for: AGGTAGCTCTACYCCKTCTGGTGCWACYGGYTCYCC
AG2rev: ACCTGGRGARCCRGTWGCACCAGAMGGRGTAGAGCT
AG3for: AGGTTCTAGCCCKTCTGCWTCYACYGGTACYGGYCC
AG3rev: ACCTGGRCCRGTACCRGTRGAWGCAGAMGGGCTAGA
AG4for: AGGTGCWTCYCCKGGYACYAGCTCTACYGGTTCTCC
AG4rev: ACCTGGAGAACCRGTAGAGCTRGTRCCMGGRGAWGC

Também se anelou o oligonucleótido fosforilado 3KpnIstopperFor: AGGTTCGTCTTCACTCGAGGGTAC e o oligonucleótido não fosforilado pr_3KpnIstopperRev: CCTCGAGTGAAGACGA. Os pares de oligonucleótidos anelados foram ligados, o que resultou numa mistura de produtos com comprimentos variáveis que representa o número variável de repetições de 12 mero ligadas a um segmento BbsI/KpnI. Os produtos correspondentes ao comprimento de 36 aminoácidos foram isolados da mistura por eletroforese em gel de agarose preparativa e ligados no vetor stuffer pCW0359 digerido com BsaI/KpnI. A maior parte dos clones na biblioteca resultante designada LCW0404 mostraram fluorescência verde depois da indução, o que mostra que a sequência de XTEN_AG36 tinha sido ligada em estrutura com o gene GFP e a maioria das sequências de XTEN_AG36 mostraram boa expressão.

Foram rastreados 96 isolados a partir da biblioteca LCW0404 quanto a fluorescência de nível elevado por

estampagem numa placa de agar contendo IPTG. Os mesmos isolados foram avaliados por PCR e foram identificados 48 isolados que continham segmentos com 36 aminoácidos bem como uma forte fluorescência. Estes isolados foram sequenciados e foram identificados 44 clones que continham segmentos XTEN_AG36 corretos. Os nomes dos ficheiros das construções de nucleótidos e aminoácidos para estes segmentos estão listados no Quadro 11.

Quadro 11: Sequências de ADN e aminoácidos para motivos de 36 mero

Nome do ficheiro	Sequência de aminoácidos	Sequência de nucleótidos
LCW0404_001_ GFP-N_A07.ab1	GASPGTSSTGSPGTPG SGTASSSPGSSTPSGA TGSP	GGTGCATCCCCGGGCACTAGCTCTACCGGTTCTCCA GGTACTCCTGGTAGCGGTACTGCTTCTTCTTCTCCAG GTAGCTCTACTCCTTCTGGTGCTACTGGTTCTCCA
LCW0404_003_ GFP-N_B07.ab1	GSSTPSGATGSPGSSP SASTGTGPGSSTPSGA TGSP	GGTAGCTCTACCCCTTCTGGTGCTACCGGCTCTCCAG GTTCTAGCCCGTCTGCTTCTACCGGTACCGGTCCAGG TAGCTCTACCCCTTCTGGTGCTACTGGTTCTCCA
LCW0404_006_ GFP-N_C07.ab1	GASPGTSSTGSPGSSP SASTGTGPGSSTPSGA TGSP	GGTGCATCTCCGGGTACTAGCTCTACCGGTTCTCCAG GTTCTAGCCCTTCTGCTTCCACTGGTACCGGCCCAGG TAGCTCTACCCCGTCTGGTGCTACTGGTTCCCCA
LCW0404_007_ GFP-N_D07.ab1	GTPGSGTASSSPGSST PSGATGSPGASPGTSS TGSP	GGTACTCCGGGCAGCGGTACTGCTTCTTCCTCTCCAG GTAGCTCTACCCCTTCTGGTGCAACTGGTTCCCCAGG TGCATCCCCTGGTACTAGCTCTACCGGTTCTCCA
LCW0404_009_ GFP-N_E07.ab1	GTPGSGTASSSPGASP GTSSTGSPGSRPSAST GTGP	GGTACCCCTGGCAGCGGTACTGCTTCTTCTTCTCCAG GTGCTTCCCCTGGTACCAGCTCTACCGGTTCTCCAGG TTCTAGACCTTCTGCATCCACCGGTACTGGTCCA
LCW0404_011_ GFP-N_F07.ab1	GASPGTSSTGSPGSST PSGATGSPGASPGTSS TGSP	GGTGCATCTCCTGGTACCAGCTCTACCGGTTCTCCAG GTAGCTCTACTCCTTCTGGTGCTACTGGCTCTCCAGG TGCTTCCCCGGGTACCAGCTCTACCGGTTCTCCA
LCW0404_012_ GFP-N_G07.ab1	GTPGSGTASSSPGSST PSGATGSPGSSTPSGA TGSP	GGTACCCCGGGCAGCGGTACCGCATCTTCCTCTCCA GGTAGCTCTACCCCGTCTGGTGCTACCGGTTCCCCAG GTAGCTCTACCCCGTCTGGTGCAACCGGCTCCCCA
LCW0404_014_ GFP-N_H07.ab1	GASPGTSSTGSPGASP GTSSTGSPGASPGTSS TGSP	GGTGCATCTCCGGGCACTAGCTCTACTGGTTCTCCAG GTGCATCCCCTGGCACTAGCTCTACTGGTTCTCCAGG TGCTTCTCCTGGTACCAGCTCTACTGGTTCTCCA
LCW0404_015_ GFP-N_A08.ab1	GSSTPSGATGSPGSSP SASTGTGPGASPGTSS	GGTAGCTCTACTCCGTCTGGTGCAACCGGCTCCCCA GGTTCTAGCCCGTCTGCTTCCACTGGTACTGGCCCAG
	TGSP	GTGCTTCCCCGGGCACCAGCTCTACTGGTTCTCCA

LCW0404_016_ GFP-N_B08.ab1	GSSTPSGATGSPGSST PSGATGSPGTPGSGT ASSSP	GGTAGCTCTACTCCTTCTGGTGCTACCGGTTCCCCAG GTAGCTCTACTCCTTCTGGTGCTACTGGTTCCCCAGG TACTCCGGGCAGCGGTACTGCTTCTTCCTCTCCA
LCW0404_017_ GFP-N_C08.ab1	GSSTPSGATGSPGSST PSGATGSPGASPGTSS TGSP	GGTAGCTCTACTCCGTCTGGTGCAACCGGTTCCCCAG GTAGCTCTACTCCTTCTGGTGCTACTGGCTCCCCAGG TGCATCCCCTGGCACCAGCTCTACCGGTTCTCCA
LCW0404_018_ GFP-N_D08.ab1	GTPGSGTASSSPGSSP SASTGTGPGSSTPSGA TGSP	GGTACTCCTGGTAGCGGTACCGCATCTTCCTCTCCAG GTTCTAGCCCTTCTGCATCTACCGGTACCGGTCCAGG TAGCTCTACTCCTTCTGGTGCTACTGGCTCTCCA
LCW0404_023_ GFP-N_F08.ab1	GASPGTSSTGSPGSSP SASTGTGPGTPGSGT ASSSP	GGTGCTTCCCCGGGCACTAGCTCTACCGGTTCTCCAG GTTCTAGCCCTTCTGCATCTACTGGTACTGGCCCAGG TACTCCGGGCAGCGGTACTGCTTCTTCCTCTCCA
LCW0404_025_ GFP-N_G08.ab1	GSSTPSGATGSPGSST PSGATGSPGASPGTSS TGSP	GGTAGCTCTACTCCGTCTGGTGCTACCGGCTCTCCAG GTAGCTCTACCCCTTCTGGTGCAACCGGCTCCCCAGG TGCTTCTCCGGGTACCAGCTCTACTGGTTCTCCA
LCW0404_029_ GFP-N_A09.ab1	GTPGSGTASSSPGSST PSGATGSPGSSPSAST GTGP	GGTACCCCTGGCAGCGGTACCGCTTCTTCCTCTCCAG GTAGCTCTACCCCGTCTGGTGCTACTGGCTCTCCAGG TTCTAGCCCGTCTGCATCTACCGGTACCGGCCCA
LCW0404_030_ GFP-N_B09.ab1	GSSTPSGATGSPGTPG SGTASSSPGTPGSGTA SSSP	GGTAGCTCTACTCCTTCTGGTGCAACCGGCTCCCCAG GTACCCCGGGCAGCGGTACCGCATCTTCCTCTCCAG GTACTCCGGGTAGCGGTACTGCTTCTTCTTCTCCA
LCW0404_031_ GFP-N_C09.ab1	GTPGSGTASSSPGSST PSGATGSPGASPGTSS TGSP	GGTACCCCGGGTAGCGGTACTGCTTCTTCCTCTCCAG GTAGCTCTACCCCTTCTGGTGCAACCGGCTCTCCAGG TGCTTCTCCGGGCACCAGCTCTACCGGTTCTCCA
LCW0404_034_ GFP-N_D09.ab1	GSSTPSGATGSPGSST PSGATGSPGASPGTSS TGSP	GGTAGCTCTACCCCGTCTGGTGCTACCGGCTCTCCAG GTAGCTCTACCCCGTCTGGTGCAACCGGCTCCCCAG GTGCATCCCCCGGGTACTAGCTCTACCGGTTCTCCA
LCW0404_035_ GFP-N_E09.ab1	GASPGTSSTGSPGTPG SGTASSSPGSSTPSGA TGSP	GGTGCTTCTCCGGGCACCAGCTCTACTGGTTCTCCAG GTACCCCGGGCAGCGGTACCGCATCTTCTTCTCCAG GTAGCTCTACTCCTTCTGGTGCAACTGGTTCTCCA
LCW0404_036_ GFP-N_F09.ab1	GSSPSASTGTGPGSST PSGATGSPGTPGSGT ASSSP	GGTTCTAGCCCGTCTGCTTCCACCGGTACTGGCCCAG GTAGCTCTACCCCGTCTGGTGCAACTGGTTCCCCAGG TACCCCTGGTAGCGGTACCGCTTCTTCTTCTCCA

LCW0404_037_ GFP-N_G09.ab1	GASPGTSSTGSPGSSP SASTGTGPGSSTPSGA TGSP	GGTGCTTCTCCGGGCACCAGCTCTACTGGTTCTCCAG GTTCTAGCCCTTCTGCATCCACCGGTACCGGTCCAGG TAGCTCTACCCCTTCTGGTGCAACCGGCTCTCCA
LCW0404_040_ GFP-N_H09.ab1	GASPGTSSTGSPGSST PSGATGSPGSSTPSGA TGSP	GGTGCATCCCCGGGCACCAGCTCTACCGGTTCTCCA GGTAGCTCTACCCCGTCTGGTGCTACCGGCTCTCCAG GTAGCTCTACCCCGTCTGGTGCTACTGGCTCTCCA
LCW0404_041_ GFP-N_A10.ab1	GTPGSGTASSSPGSST PSGATGSPGTPGSGT ASSSP	GGTACCCCTGGTAGCGGTACTGCTTCTTCCTCTCCAG GTAGCTCTACTCCGTCTGGTGCTACCGGTTCTCCAGG TACCCCGGGTAGCGGTACCGCATCTTCTTCTCCA
LCW0404_043_ GFP-N_C10.ab1	GSSPSASTGTGPGSST PSGATGSPGSSTPSGA TGSP	GGTTCTAGCCCTTCTGCTTCCACCGGTACTGGCCCAG GTAGCTCTACCCCTTCTGGTGCTACCGGCTCCCCAGG TAGCTCTACTCCTTCTGGTGCAACTGGCTCTCCA
LCW0404_045_ GFP-N_D10.ab1	GASPGTSSTGSPGSSP SASTGTGPGSSPSAST GTGP	GGTGCTTCTCCTGGCACCAGCTCTACTGGTTCTCCAG GTTCTAGCCCTTCTGCTTCTACCGGTACTGGTCCAGG TTCTAGCCCTTCTGCATCCACTGGTACTGGTCCA
LCW0404_047_ GFP-N_F10.ab1	GTPGSGTASSSPGASP GTSSTGSPGASPGTSS TGSP	GGTACTCCTGGCAGCGGTACCGCTTCTTCTTCTCCAG GTGCTTCTCCTGGTACTAGCTCTACTGGTTCTCCAGG TGCTTCTCCGGGCACTAGCTCTACTGGTTCTCCA
LCW0404_048_ GFP-N_G10.ab1	GSSTPSGATGSPGASP GTSSTGSPGSSTPSGA TGSP	GGTAGCTCTACCCCGTCTGGTGCTACCGGTTCCCCAG GTGCTTCTCCTGGTACTAGCTCTACCGGTTCTCCAGG TAGCTCTACCCCGTCTGGTGCTACTGGCTCTCCA
LCW0404_049_ GFP-N_H10.ab1	GSSTPSGATGSPGTPG SGTASSSPGSSTPSGA TGSP	GGTAGCTCTACCCCGTCTGGTGCTACTGGTTCTCCAG GTACTCCGGGCAGCGGTACTGCTTCTTCCTCTCCAGG TAGCTCTACCCCTTCTGGTGCTACTGGCTCTCCA
LCW0404_050	GASPGTSSTGSPGSSP	GGTGCATCTCCTGGTACCAGCTCTACTGGTTCTCCAG
GFP-N_A11.ab1	SASTGTGPGSSTPSGA TGSP	GTTCTAGCCCTTCTGCTTCTACCGGTACCGGTCCAGG TAGCTCTACTCCTTCTGGTGCTACCGGTTCTCCA
LCW0404_051_ GFP-N_B11.ab1	GSSTPSGATGSPGSST PSGATGSPGSSTPSGA TGSP	GGTAGCTCTACCCCGTCTGGTGCTACTGGCTCTCCAG GTAGCTCTACTCCTTCTGGTGCTACTGGTTCCCCAGG TAGCTCTACCCCGTCTGGTGCAACTGGCTCTCCA
LCW0404_052_ GFP-N_C11.ab1	GASPGTSSTGSPGTPG SGTASSSPGASPGTSS TGSP	GGTGCATCCCCGGGTACCAGCTCTACCGGTTCTCCA GGTACTCCTGGCAGCGGTACTGCATCTTCCTCTCCAG GTGCTTCTCCGGGCACCAGCTCTACTGGTTCTCCA

LCW0404_053_ GFP-N_D11.ab1	GSSTPSGATGSPGSSP SASTGTGPGASPGTSS TGSP	GGTAGCTCTACTCCTTCTGGTGCAACTGGTTCTCCAG GTTCTAGCCCGTCTGCATCCACTGGTACCGGTCCAGG TGCTTCCCCTGGCACCAGCTCTACCGGTTCTCCA
LCW0404_057_ GFP-N_E11.ab1	GASPGTSSTGSPGSST PSGATGSPGSSPSAST GTGP	GGTGCATCTCCTGGTACTAGCTCTACTGGTTCTCCAG GTAGCTCTACTCCGTCTGGTGCAACCGGCTCTCCAGG TTCTAGCCCTTCTGCATCTACCGGTACTGGTCCA
LCW0404_060_ GFP-N_F11.ab1	GTPGSGTASSSPGSST PSGATGSPGASPGTSS TGSP	GGTACTCCTGGCAGCGGTACCGCATCTTCCTCTCCAG GTAGCTCTACTCCGTCTGGTGCAACTGGTTCCCCAGG TGCTTCTCCGGGTACCAGCTCTACCGGTTCTCCA
LCW0404_062_ GFP-N_G11.ab1	GSSTPSGATGSPGTPG SGTASSSPGSSTPSGA TGSP	GGTAGCTCTACCCCGTCTGGTGCAACCGGCTCCCCA GGTACTCCTGGTAGCGGTACCGCTTCTTCTTCTCCAG GTAGCTCTACTCCGTCTGGTGCTACCGGCTCCCCA
LCW0404_066_ GFP-N_H11.ab1	GSSPSASTGTGPGSSP SASTGTGPGASPGTSS TGSP	GGTTCTAGCCCTTCTGCATCCACCGGTACCGGCCCAG GTTCTAGCCCGTCTGCTTCTACCGGTACTGGTCCAGG TGCTTCTCCGGGTACTAGCTCTACTGGTTCTCCA
LCW0404_067_ GFP-N_A12.ab1	GTPGSGTASSSPGSST PSGATGSPGSNPSAST GTGP	GGTACCCCGGGTAGCGGTACCGCTTCTTCTTCTCCAG GTAGCTCTACTCCGTCTGGTGCTACCGGCTCTCCAGG TTCTAACCCTTCTGCATCCACCGGTACCGGCCCA
LCW0404_068_ GFP-N_B12.ab1	GSSPSASTGTGPGSST PSGATGSPGASPGTSS TGSP	GGTTCTAGCCCTTCTGCATCTACTGGTACTGGCCCAG GTAGCTCTACTCCTTCTGGTGCTACCGGCTCTCCAGG TGCTTCTCCGGGTACTAGCTCTACCGGTTCTCCA
LCW0404_069_ GFP-N_C12.ab1	GSSTPSGATGSPGASP GTSSTGSPGTPGSGTA SSSP	GGTAGCTCTACCCCTTCTGGTGCAACCGGCTCTCCAG GTGCATCCCCGGGTACCAGCTCTACCGGTTCTCCAG GTACTCCGGGTAGCGGTACCGCTTCTTCCTCTCCA
LCW0404_070_ GFP-N_D12.ab1	GSSTPSGATGSPGSST PSGATGSPGSSTPSGA TGSP	GGTAGCTCTACTCCGTCTGGTGCAACCGGTTCCCCAG GTAGCTCTACCCCTTCTGGTGCAACCGGCTCCCCAGG TAGCTCTACCCCTTCTGGTGCAACTGGCTCTCCA
LCW0404_073_ GFP-N_E12.ab1	GASPGTSSTGSPGTPG SGTASSSPGSSTPSGA TGSP	GGTGCTTCTCCTGGCACTAGCTCTACCGGTTCTCCAG GTACCCCTGGTAGCGGTACCGCATCTTCCTCTCCAGG TAGCTCTACTCCTTCTGGTGCTACTGGTTCCCCA
LCW0404_075_ GFP-N_F12.ab1	GSSTPSGATGSPGSSP SASTGTGPGSSPSAST GTGP	GGTAGCTCTACCCCGTCTGGTGCTACTGGCTCCCCAG GTTCTAGCCCTTCTGCATCCACCGGTACCGGTCCAGG TTCTAGCCCGTCTGCATCTACTGGTACTGGTCCA

LCW0404_080_GFP-N_G12.ab1	GASPGTSSTGSPGSSP SASTGTGPGSSPSAST GTGP	GGTGCTTCCCCGGGCACCAGCTCTACTGGTTCTCCAG GTTCTAGCCCGTCTGCTTCTACTGGTACTGGTCCAGG TTCTAGCCCTTCTGCTTCCACTGGTACTGGTCCA
LCW0404_081_GFP-N_H12.ab1	GASPGTSSTGSPGSSP SASTGTGPGTPGSGT ASSSP	GGTGCTTCCCCGGGTACCAGCTCTACCGGTTCTCCAG GTTCTAGCCCTTCTGCTTCTACCCGGTACCGGTCCAGG TACCCCTGGCAGCGGTACCGCATCTTCCTCTCCA

Exemplo 5: Construção de XTEN_AE864

XTEN_AE864 foi construído a partir da dimerização em série de XTEN_AE36 para AE72, 144, 288, 576 e 864. Uma coleção de segmentos XTEN_AE72 foi construída a partir de 37 segmentos diferentes de XTEN_AE36. Culturas de *E. coli* albergando os 37 segmentos de 36 aminoácidos diferentes foram misturadas e o plasmídeo foi isolado. Este agrupamento de plasmídeo foi digerido com BsaI/NcoI para gerar o fragmento pequeno como o inserto. O mesmo agrupamento de plasmídeo foi digerido com BbsI/NcoI para gerar o fragmento pequeno como o vetor. O inserto e fragmentos de vector foram ligados resultando numa duplicação do comprimento e a mistura de ligação foi transformada em células BL21 Gold(DE3) para obter colónias de XTEN_AE72.

Esta biblioteca de segmentos de XTEN_AE72 foi designada LCW0406. Todos os clones de LCW0406 foram combinados e dimerizados novamente utilizando o mesmo processo como descrito acima dando a biblioteca LCW0410 de XTEN_AE144. Todos os clones de LCW0410 foram combinados e dimerizados novamente utilizando o mesmo processo como descrito acima dando a biblioteca LCW0414 de XTEN_AE288. Dois isolados LCW0414.001 e LCW0414.002 foram aleatoriamente selecionados a partir da biblioteca e sequenciados para verificar as identidades. Todos os clones de LCW0414 foram combinados e dimerizados novamente utilizando o mesmo processo como descrito acima dando a biblioteca LCW0418 de XTEN_AE576. Foram rastreados 96 isolados a partir da biblioteca LCW0418 quanto à fluorescência de GFP de nível elevado. 8 isolados com tamanhos corretos de insertos por PCR e forte fluorescência foram sequenciados e 2 isolados (LCW0418.018 e LCW0418.052) foram escolhidos para utilização futura com base nos dados de sequenciação e expressão.

O clone específico pCW0432 de XTEN_AE864 foi

construído por combinação LCW0418.018 de XTEN_AE576 e LCW0414.002 de XTEN_AE288 utilizando o mesmo processo de dimerização como descrito acima.

Exemplo 6: Construção de XTEN_AM144

Foi construída uma coleção de segmentos XTEN_AM144 a partir de 37 segmentos diferentes de XTEN_AE36, 44 segmentos de XTEN_AF36 e 44 segmentos de XTEN_AG36.

Culturas de *E. coli* albergando todos os 125 segmentos de 36 aminoácidos diferentes foram misturadas e o plasmídeo foi isolado. Este agrupamento de plasmídeo foi digerido com BsaI/NcoI para gerar o fragmento pequeno como o inserto. O mesmo agrupamento de plasmídeo foi digerido com BbsI/NcoI para gerar o fragmento pequeno como o vetor. O inserto e fragmentos de vector foram ligados resultando numa duplicação do comprimento e a mistura de ligação foi transformada em células BL21 Gold(DE3) para obter colónias de XTEN_AM72.

Esta biblioteca de segmentos de XTEN_AM72 foi designada LCW0461. Todos os clones de LCW0461 foram combinados e dimerizados novamente utilizando o mesmo processo como descrito acima dando a biblioteca LCW0462. 1512 isolados a partir da biblioteca LCW0462 foram rastreados quanto à expressão proteica. Colónias individuais foram transferidas para placas de 96 poços e cultivadas durante a noite como culturas iniciais. Estas culturas iniciais foram diluídas em medio de autoindução novo e cultivadas durante 20-30h. A expressão foi medida utilizando um leitor de placas de fluorescência com excitação a 395 nm e emissão a 510 nm. 192 isolados mostraram uma expressão de nível elevado e foram enviados para sequenciação de ADN. A maioria dos clones na biblioteca LCW0462 mostraram uma boa expressão e propriedades físico-químicas semelhantes sugerindo que a maioria das combinações de segmentos de XTEN_AM36 dão sequências de XTEN úteis. 30 isolados a partir de LCW0462

foram escolhidos como uma coleção preferida de segmentos de XTEN_AM144 para a construção de proteínas multifuncionais que contêm múltiplos segmentos de XTEN. Os nomes dos ficheiros das construções de nucleótidos e aminoácidos para estes segmentos estão listados no Quadro 12.

Quadro 12: Sequências de ADN e aminoácidos para segmentos de AM144

Clone	Sequência cortada	Sequência proteica
LCW462_r1	GGTACCCCGGGCAGCGGTACCGCATCTTCCTCTCCAG GTAGCTCTACCCCGTCTGGTGCTACCGGTTCCCCAGG TAGCTCTACCCCGTCTGGTGCAACCGGCTCCCCAGGT	GTPGSGTASSSPGSST PSGATGSPGSSTPSGA TGSPGSPAGSPTSTEE
	AGCCCGGCTGGCTCTCCTACCTCTACTGAGGAAGGTA CTTCTGAAAGCGCTACTCCTGAGTCTGGTCCAGGTAC CTCTACTGAACCGTCCGAAGGTAGCGCTCCAGGTTCT AGCCCTTCTGCATCCACCGGTACCGGCCCAGGTTCTA GCCCGTCTGCTTCTACCGGTACTGGTCCAGGTGCTTCT CCGGGTACTAGCTCTACTGGTTCTCCAGGTACCTCTA CCGAACCGTCCGAGGGTAGCGCACCAGGTACCTCTAC TGAACCGTCTGAGGGTAGCGCTCCAGGTAGCGAACC GGCAACCTCCGGTTCTGAAACTCCA	GTSESATPESGPGTST EPSEGSAPGSSPSAST GTGPGSSPSASTGTGP GASPGTSSTGSPGTST EPSEGSAPGTSTEPSE GSAPGSEPATSGSETP
LCW462_r5	GGTTCTACCAGCGAATCCCCTTCTGGCACTGCACCAG GTTCTACTAGCGAATCCCCTTCTGGTACCGCACCAGG TACTTCTCCGAGCGGCGAATCTTCTACTGCTCCAGGT ACCTCTACTGAACCTTCCGAAGGCAGCGCTCCAGGTA CCTCTACCGAACCGTCCGAGGGCAGCGCACCAGGTAC TTCTGAAAGCGCAACCCCTGAATCCGGTCCAGGTGCA TCTCCTGGTACCAGCTCTACCGGTTCTCCAGGTAGCTC TACTCCTTCTGGTGCTACTGGCTCTCCAGGTGCTTCCC CGGGTACCAGCTCTACCGGTTCTCCAGGTTCTACTAG CGAATCTCCTTCTGGCACTGCACCAGGTTCTACCAGC GAATCTCCGTCTGGCACTGCACCAGGTACCTCTACCC CTGAAAGCGGTTCCGCTTCTCCA	GSTSESPSGTAPGSTS ESPSGTAPGTSPSGES STAPGTSTEPSEGSAP GTSTEPSEGSAPGTSE SATPESGPGASPGTSS TGSPGSSTPSGATGSP GASPGTSSTGSPGSTS ESPSGTAPGSTSESPS GTAPGTSTPESGSASP
LCW462_r9	GGTACTTCTACCGAACCTTCCGAGGGCAGCGCACCAG GTACTTCTGAAAGCGCTACCCCTGAGTCCGGCCCAGG TACTTCTGAAAGCGCTACTCCTGAATCCGGTCCAGGT ACCTCTACTGAACCTTCTGAGGGCAGCGCTCCAGGTA CTTCTGAAAGCGCTACCCCGGAGTCCGGTCCAGGTAC TTCTACTGAACCGTCCGAAGGTAGCGCACCAGGTACT TCTACTGAACCTTCCGAAGGTAGCGCTCCAGGTAGCG AACCTGCTACTTCTGGTTCTGAAACCCCAGGTAGCCC GGCTGGCTCTCCGACCTCCACCGAGGAAGGTGCTTCT CCTGGCACCAGCTCTACTGGTTCTCCAGGTTCTAGCC CTTCTGCTTCTACCGGTACTGGTCCAGGTTCTAGCCCT TCTGCATCCACTGGTACTGGTCCA	GTSTEPSEGSAPGTSE SATPESGPGTSESATP ESGPGTSTEPSEGSAP GTSESATPESGPGTST EPSEGSAPGTSTEPSE GSAPGSEPATSGSETP GSPAGSPTSTEEGASP GTSSTGSPGSSPSAST GTGPGSSPSASTGTGP
LCW462_r10	GGTAGCGAACCGGCAACCTCTGGCTCTGAAACCCCAG GTACCTCTGAAAGCGCTACTCCGGAATCTGGTCCAGG TACTTCTGAAAGCGCTACTCCGGAATCCGGTCCAGGT TCTACCAGCGAATCTCCTTCTGGCACCGCTCCAGGTT CTACTAGCGAATCCCCGTCTGGTACCGCACCAGGTAC TTCTCCTAGCGGCGAATCTTCTACCGCACCAGGTGCA TCTCCGGGTACTAGCTCTACCGGTTCTCCAGGTTCTAG CCCTTCTGCTTCCACTGGTACCGGCCCAGGTAGCTCT ACCCCGTCTGGTGCTACTGGTTCCCCAGGTAGCTCTA CTCCGTCTGGTGCAACCGGTTCCCCAGGTAGCTCTAC TCCTTCTGGTGCTACTGGCTCCCCAGGTGCATCCCCTG GCACCAGCTCTACCGGTTCTCCA	GSEPATSGSETPGTSE SATPESGPGTSESATP ESGPGSTSESPSGTAP GSTSESPSGTAPGTSP SGESSTAPGASPGTSS TGSPGSSPSASTGTGP GSSTPSGATGSPGSST PSGATGSPGSSTPSGA TGSPGASPGTSSTGSP

LCW462_r15	GGTGCTTCTCCGGGCACCAGCTCTACTGGTTCTCCAG GTTCTAGCCCTTCTGCATCCACCGGTACCGGTCCAGG TAGCTCTACCCCTTCTGGTGCAACCGGCTCTCCAGGT ACTTCTGAAAGCGCTACCCCGGAATCTGGCCCAGGTA GCGAACCGGCTACTTCTGGTTCTGAAACCCCAGGTAG CGAACCGGCTACCTCCGGTTCTGAAACTCCAGGTACT TCTGAAAGCGCTACTCCGGAGTCCGGTCCAGGTACCT CTACCGAACCGTCCGAAGGCAGCGCTCCAGGTACTTC TACTGAACCTTCTGAGGGTAGCGCTCCAGGTACCTCT ACCGAACCGTCCGAGGGTAGCGCACCAGGTACCTCTA CTGAACCGTCTGAGGGTAGCGCTCCAGGTAGCGAACC GGCAACCTCCGGTTCTGAAACTCCA	GASPGTSSTGSPGSSP SASTGTGPGSSTPSGA TGSPGTSESATPESGP GSEPATSGSETPGSEP ATSGSETPGTSESATP ESGPGTSTEPSEGSAP GTSTEPSEGSAPGTST EPSEGSAPGTSTEPSE GSAPGSEPATSGSETP
LCW462_r16	GGTACCTCTACCGAACCTTCCGAAGGTAGCGCTCCAG GTAGCCCGGCAGGTTCTCCTACTTCCACTGAGGAAGG TACTTCTACCGAACCTTCTGAGGGTAGCGCACCAGGT	GTSTEPSEGSAPGSPA GSPTSTEEGTSTEPSE GSAPGTSESATPESGP
	ACCTCTGAAAGCGCAACTCCTGAGTCTGGCCCAGGTA GCGAACCTGCTACCTCCGGCTCTGAGACTCCAGGTAC CTCTGAAAGCGCAACCCCCGGAATCTGGTCCAGGTAGC CCGGCTGGCTCTCCTACCTCTACTGAGGAAGGTACTT CTGAAAGCGCTACTCCTGAGTCTGGTCCAGGTACCTC TACTGAACCGTCCGAAGGTAGCGCTCCAGGTAGCGA ACCTGCTACTTCTGGTTCTGAAACTCCAGGTACTTCTA CCGAACCGTCCGAGGGTAGCGCTCCAGGTAGCGAAC CTGCTACTTCTGGTTCTGAAACTCCA	GSEPATSGSETPGTSE SATPESGPGSPAGSPT STEEGTSESATPESGP GTSTEPSEGSAPGSEP ATSGSETPGTSTEPSE GSAPGSEPATSGSETP
LCW462_r20	GGTACTTCTACCGAACCGTCCGAAGGCAGCGCTCCAG GTACCTCTACTGAACCTTCCGAGGGCAGCGCTCCAGG TACCTCTACCGAACCTTCTGAAGGTAGCGCACCAGGT ACTTCTACCGAACCGTCCGAAGGCAGCGCTCCAGGTA CCTCTACTGAACCTTCCGAGGGCAGCGCTCCAGGTAC CTCTACCGAACCTTCTGAAGGTAGCGCACCAGGTACT TCTACCGAACCTTCCGAGGGCAGCGCACCAGGTACTT CTGAAAGCGCTACCCCTGAGTCCGGCCCAGGTACTTC TGAAAGCGCTACTCCTGAATCCGGTCCAGGTACTTCT ACTGAACCTTCCGAAGGTAGCGCTCCAGGTAGCGAAC CTGCTACTTCTGGTTCTGAAACCCCAGGTAGCCCGGC TGGCTCTCCGACCTCCACCGAGGAA	GTSTEPSEGSAPGTST EPSEGSAPGTSTEPSE GSAPGTSTEPSEGSAP GTSTEPSEGSAPGTST EPSEGSAPGTSTEPSE GSAPGTSESATPESGP GTSESATPESGPGTST EPSEGSAPGSEPATSG SETPGSPAGSPTSTEE
LCW462_r23	GGTACTTCTACCGAACCGTCCGAGGGCAGCGCTCCAG GTACTTCTACTGAACCTTCTGAAGGCAGCGCTCCAGG TACTTCTACTGAACCTTCCGAAGGTAGCGCACCAGGT TCTACCAGCGAATCCCCTTCTGGTACTGCTCCAGGTTC TACCAGCGAATCCCCTTCTGGCACCGCACCAGGTACT TCTACCCCTGAAAGCGGCTCCGCTTCTCCAGGTAGCG AACCTGCAACCTCTGGCTCTGAAACCCCAGGTACCTC TGAAAGCGCTACTCCTGAATCTGGCCCAGGTACTTCT ACTGAACCGTCCGAGGGCAGCGCACCAGGTACTTCTA CTGAACCGTCTGAAGGTAGCGCACCAGGTACTTCTGA AAGCGCAACCCCGGAATCCGGCCCAGGTACCTCTGA AAGCGCAACCCCGGAGTCCGGCCCA	GTSTEPSEGSAPGTST EPSEGSAPGTSTEPSE GSAPGSTSESPSGTAP GSTSESPSGTAPGTST PESGSASPGSEPATSG SETPGTSESATPESGP GTSTEPSEGSAPGTST EPSEGSAPGTSESATP ESGPGTSESATPESGP
LCW462_r24	GGTAGCTCTACCCCTTCTGGTGCTACCGGCTCTCCAG GTTCTAGCCCGTCTGCTTCTACCGGTACCGGTCCAGG TAGCTCTACCCCTTCTGGTGCTACTGGTTCTCCAGGTA GCCCTGCTGGCTCTCCGACTTCTACTGAGGAAGGTAG CCCGGCTGGTTCTCCGACTTCTACTGAGGAAGGTACT TCTACCGAACCTTCCGAAGGTAGCGCTCCAGGTGCTT CCCCGGGCACTAGCTCTACCGGTTCTCCAGGTTCTAG CCCTTCTGCATCTACTGGTACTGGCCCAGGTACTCCG GGCAGCGGTACTGCTTCTTCCTCTCCAGGTTCTACTAG CTCTACTGCTGAATCTCCTGGCCCAGGTACTTCTCCTA GCGGTGAATCTTCTACCGCTCCAGGTACCTCTACTCC GGAAAGCGGTTCTGCATCTCCA	GSSTPSGATGSPGSSP SASTGTGPGSSTPSGA TGSPGSPAGSPTSTEE GSPAGSPTSTEEGTST EPSEGSAPGASPGTSS TGSPGSSPSASTGTGP GTPGSGTASSSPGSTS STAESPGPGTSPSGES STAPGTSTPESGSASP

LCW462_r27	GGTACCTCTACTGAACCTTCTGAGGGCAGCGCTCCAG GTACTTCTGAAAGCGCTACCCCGGAGTCCGGTCCAGG TACTTCTACTGAACCGTCCGAAGGTAGCGCACCAGGT ACTTCTACTGAACCGTCTGAAGGTAGCGCACCAGGTA CTTCTGAAAGCGCAACCCCGGAATCCGGCCCAGGTAC CTCTGAAAGCGCAACCCCGGAGTCCGGCCCAGGTACT CCTGGCAGCGGTACCGCTTCTTCTTCTCCAGGTGCTTC TCCTGGTACTAGCTCTACTGGTTCTCCAGGTGCTTCTC CGGGCACTAGCTCTACTGGTTCTCCAGGTAGCCCTGC TGGCTCTCCGACTTCTACTGAGGAAGGTAGCCCGGCT GGTTCTCCGACTTCTACTGAGGAAGGTACTTCTACCG AACCTTCCGAAGGTAGCGCTCCA	GTSTEPSEGSAPGTSE SATPESGPGTSTEPSE GSAPGTSTEPSEGSAP GTSESATPESGPGTSE SATPESGPGTPGSGTA SSSPGASPGTSSTGSP GASPGTSSTGSPGSPA GSPTSTEEGSPAGSPT STEEGTSTEPSEGSAP
LCW462_r28	GGTAGCCCAGCAGGCTCTCCGACTTCCACTGAGGAAG GTACTTCTACTGAACCTTCCGAAGGCAGCGCACCAGG TACCTCTACTGAACCTTCTGAGGGCAGCGCTCCAGGT	GSPAGSPTSTEEGTST EPSEGSAPGTSTEPSE GSAPGTSTEPSEGSAP
	ACCTCTACCGAACCGTCTGAAGGTAGCGCACCAGGTA CCTCTGAAAGCGCAACTCCTGAGTCCGGTCCAGGTAC TTCTGAAAGCGCAACCCCGGAGTCTGGCCCAGGTACC CCGGGTAGCGGTACTGCTTCTTCCTCTCCAGGTAGCT CTACCCCTTCTGGTGCAACCGGCTCTCCAGGTGCTTCT CCGGGCACCAGCTCTACCGGTTCTCCAGGTACCTCTA CTGAACCTTCTGAGGGCAGCGCTCCAGGTACTTCTGA AAGCGCTACCCCGGAGTCCGGTCCAGGTACTTCTACT GAACCGTCCGAAGGTAGCGCACCA	GTSESATPESGPGTSE SATPESGPGTPGSGTA SSSPGSSTPSGATGSP GASPGTSSTGSPGTST EPSEGSAPGTSESATP ESGPGTSTEPSEGSAP
LCW462_r38	GGTAGCGAACCGGCAACCTCCGGCTCTGAAACTCCAG GTACTTCTGAAAGCGCTACTCCGGAATCCGGCCCAGG TAGCGAACCGGCTACTTCCGGCTCTGAAACCCCAGGT AGCTCTACCCCGTCTGGTGCAACCGGCTCCCCAGGTA CTCCTGGTAGCGGTACCGCTTCTTCTTCTCCAGGTAGC TCTACTCCGTCTGGTGCTACCGGCTCCCCAGGTGCAT CTCCTGGTACCAGCTCTACCGGTTCTCCAGGTAGCTCT ACTCCTTCTGGTGCTACTGGCTCTCCAGGTGCTTCCCC GGGTACCAGCTCTACCGGTTCTCCAGGTAGCGAACCT GCTACTTCTGGTTCTGAAACTCCAGGTACTTCTACCG AACCGTCCGAGGGTAGCGCTCCAGGTAGCGAACCTG CTACTTCTGGTTCTGAAACTCCA	GSEPATSGSETPGTSE SATPESGPGSEPATSG SETPGSSTPSGATGSP GTPGSGTASSSPGSST PSGATGSPGASPGTSS TGSPGSSTPSGATGSP GASPGTSSTGSPGSEP ATSGSETPGTSTEPSE GSAPGSEPATSGSETP
LCW462_r39	GGTACCTCTACTGAACCTTCCGAAGGCAGCGCTCCAG GTACCTCTACCGAACCGTCCGAGGGCAGCGCACCAG GTACTTCTGAAAGCGCAACCCCTGAATCCGGTCCAGG TAGCCCTGCTGGCTCTCCGACTTCTACTGAGGAAGGT AGCCCGGCTGGTTCTCCGACTTCTACTGAGGAAGGTA CTTCTACCGAACCTTCCGAAGGTAGCGCTCCAGGTAG CCCGGCTGGTTCTCCGACTTCCACCGAGGAAGGTACC TCTACTGAACCTTCTGAGGGTAGCGCTCCAGGTACCT CTACTGAACCTTCCGAAGGCAGCGCTCCAGGTGCTTC CCCGGGCACCAGCTCTACTGGTTCTCCAGGTTCTAGC CCGTCTGCTTCTACTGGTACTGGTCCAGGTTCTAGCCC TTCTGCTTCCACTGGTACTGGTCCA	GTSTEPSEGSAPGTST EPSEGSAPGTSESATP ESGPGSPAGSPTSTEE GSPAGSPTSTEEGTST EPSEGSAPGSPAGSPT STEEGTSTEPSEGSAP GTSTEPSEGSAPGASP GTSSTGSPGSSPSAST GTGPGSSPSASTGTGP
LCW462_r41	GGTAGCTCTACCCCGTCTGGTGCTACCGGTTCCCCAG GTGCTTCTCCTGGTACTAGCTCTACCGGTTCTCCAGGT AGCTCTACCCCGTCTGGTGCTACTGGCTCTCCAGGTA GCCCTGCTGGCTCTCCAACCTCCACCGAAGAAGGTAC CTCTGAAAGCGCAACCCCTGAATCCGGCCCAGGTAGC GAACCGGCAACCTCCGGTTCTGAAACCCCAGGTGCAT CTCCTGGTACTAGCTCTACTGGTTCTCCAGGTAGCTCT ACTCCGTCTGGTGCAACCGGCTCTCCAGGTTCTAGCC CTTCTGCATCTACCGGTACTGGTCCAGGTTCTACCAG CGAATCCCCTTCTGGTACTGCTCCAGGTTCTACCAGC GAATCCCCTTCTGGCACCGCACCAGGTACTTCTACCC CTGAAAGCGGCTCCGCTTCTCCA	GSSTPSGATGSPGASP GTSSTGSPGSSTPSGA TGSPGSPAGSPTSTEE GTSESATPESGPGSEP ATSGSETPGASPGTSS TGSPGSSTPSGATGSP GSSPSASTGTGPGSTS ESPSGTAPGSTSESPS GTAPGTSTPESGSASP

LCW462_r42	GGTTCTACCAGCGAATCTCCTTCTGGCACCGCTCCAG GTTCTACTAGCGAATCCCCGTCTGGTACCGCACCAGG TACTTCTCCTAGCGGCGAATCTTCTACCGCACCAGGT ACCTCTGAAAGCGCTACTCCGGAGTCTGGCCCAGGTA CCTCTACTGAACCGTCTGAGGGTAGCGCTCCAGGTAC TTCTACTGAACCGTCCGAAGGTAGCGCACCAGGTACC TCTACTGAACCTTCTGAGGGCAGCGCTCCAGGTACTT CTGAAAGCGCTACCCCCGGAGTCCGGTCCAGGTACTTC TACTGAACCGTCCGAAGGTAGCGCACCAGGTAGCTCT ACCCCGTCTGGTGCTACCGGTTCCCCAGGTGCTTCTCC TGGTACTAGCTCTACCGGTTCTCCAGGTAGCTCTACC CCGTCTGGTGCTACTGGCTCTCCA	GSTSESPSGTAPGSTS ESPSGTAPGTSPSGES STAPGTSESATPESGP GTSTEPSEGSAPGTST EPSEGSAPGTSTEPSE GSAPGTSESATPESGP GTSTEPSEGSAPGSST PSGATGSPGASPGTSS TGSPGSSTPSGATGSP
LCW462_r43	GGTTCTACTAGCTCTACTGCAGAATCTCCGGGCCCAG GTACCTCTCCTAGCGGTGAATCTTCTACCGCTCCAGG TACTTCTCCGAGCGGTGAATCTTCTACCGCTCCAGGTT	GSTSSTAESPGPGTSP SGESSTAPGTSPSGES STAPGSTSSTAESPGP
	CTACTAGCTCTACCGCTGAATCTCCGGGTCCAGGTTC TACCAGCTCTACTGCAGAATCTCCTGGCCCAGGTACT TCTACTCCGGAAAGCGGTTCCGCTTCTCCAGGTACTT CTCCTAGCGGTGAATCTTCTACCGCTCCAGGTTCTACC AGCTCTACTGCTGAATCTCCTGGCCCAGGTACTTCTA CCCCGGAAAGCGGCTCCGCTTCTCCAGGTTCTACCAG CTCTACCGCTGAATCTCCTGGCCCAGGTTCTACTAGC GAATCTCCGTCTGGCACCGCACCAGGTACTTCCCCTA GCGGTGAATCTTCTACTGCACCA	GSTSSTAESPGPGTST PESGSASPGTSPSGES STAPGSTSSTAESPGP GTSTPESGSASPGSTS STAESPGPGSTSESPS GTAPGTSPSGESSTAP
LCW462_r45	GGTACCTCTACTCCGGAAAGCGGTTCCGCATCTCCAG GTTCTACCAGCGAATCCCCGTCTGGCACCGCACCAGG TTCTACTAGCTCTACTGCTGAATCTCCGGGCCCAGGT ACCTCTACTGAACCTTCCGAAGGCAGCGCTCCAGGTA CCTCTACCGAACCGTCCGAGGGCAGCGCACCAGGTAC TTCTGAAAGCGCAACCCCTGAATCCGGTCCAGGTACC TCTGAAAGCGCTACTCCGGAGTCTGGCCCAGGTACCT CTACTGAACCGTCTGAGGGTAGCGCTCCAGGTACTTC TACTGAACCGTCCGAAGGTAGCGCACCAGGTACTTCT GAAAGCGCTACTCCGGAGTCCGGTCCAGGTACCTCTA CCGAACCGTCCGAAGGCAGCGCTCCAGGTACTTCTAC TGAACCTTCTGAGGGTAGCGCTCCC	GTSTPESGSASPGSTS ESPSGTAPGSTSSTAE SPGPGTSTEPSEGSAP GTSTEPSEGSAPGTSE SATPESGPGTSESATP ESGPGTSTEPSEGSAP GTSTEPSEGSAPGTSE SATPESGPGTSTEPSE GSAPGTSTEPSEGSAP
LCW462_r47	GGTACCTCTACCGAACCGTCCGAGGGTAGCGCACCAG GTACCTCTACTGAACCGTCTGAGGGTAGCGCTCCAGG TAGCGAACCGGCAACCTCCGGTTCTGAAACTCCAGGT ACTTCTACTGAACCGTCTGAAGGTAGCGCACCAGGTA CTTCTGAAAGCGCAACCCCGGAATCCGGCCCAGGTAC CTCTGAAAGCGCAACCCCCGGAGTCCGGCCCAGGTGC ATCTCCGGGTACTAGCTCTACCGGTTCTCCAGGTTCTA GCCCTTCTGCTTCCACTGGTACCGGCCCAGGTAGCTC TACCCCGTCTGGTGCTACTGGTTCCCCAGGTAGCTCT ACTCCGTCTGGTGCAACCGGTTCCCCAGGTAGCTCTA CTCCTTCTGGTGCTACTGGCTCCCCAGGTGCATCCCCT GGCACCAGCTCTACCGGTTCTCCA	GTSTEPSEGSAPGTST EPSEGSAPGSEPATSG SETPGTSTEPSEGSAP GTSESATPESGPGTSE SATPESGPGASPGTSS TGSPGSSPSASTGTGP GSSTPSGATGSPGSST PSGATGSPGSSTPSGA TGSPGASPGTSSTGSP
LCW462_r54	GGTAGCGAACCGGCAACCTCTGGCTCTGAAACTCCAG GTAGCGAACCTGCAACCTCCGGCTCTGAAACCCCAGG TACTTCTACTGAACCTTCTGAGGGCAGCGCACCAGGT AGCGAACCTGCAACCTCTGGCTCTGAAACCCCAGGTA CCTCTGAAAGCGCTACTCCTGAATCTGGCCCAGGTAC TTCTACTGAACCGTCCGAGGGCAGCGCACCAGGTAGC TCTACTCCGTCTGGTGCTACCGGCTCTCCAGGTAGCTC TACCCCTTCTGGTGCAACCGGCTCCCCAGGTGCTTCTC CGGGTACCAGCTCTACTGGTTCTCCAGGTAGCTCTAC CCCGTCTGGTGCTACCGGTTCCCCAGGTGCTTCTCCTG GTACTAGCTCTACCGGTTCTCCAGGTAGCTCTACCCC GTCTGGTGCTACTGGCTCTCCA	GSEPATSGSETPGSEP ATSGSETPGTSTEPSE GSAPGSEPATSGSETP GTSESATPESGPGTST EPSEGSAPGSSTPSGA TGSPGSSTPSGATGSP GASPGTSSTGSPGSST PSGATGSPGASPGTSS TGSPGSSTPSGATGSP

LCW462_r55	GGTACTTCTACCGAACCGTCCGAGGGCAGCGCTCCAG GTACTTCTACTGAACCTTCTGAAGGCAGCGCTCCAGG TACTTCTACTGAACCTTCCGAAGGTAGCGCACCAGGT ACTTCTGAAAGCGCTACTCCGGAGTCCGGTCCAGGTA CCTCTACCGAACCGTCCGAAGGCAGCGCTCCAGGTAC TTCTACTGAACCTTCTGAGGGTAGCGCTCCAGGTTCT ACTAGCGAATCTCCGTCTGGCACTGCTCCAGGTACTT CTCCTAGCGGTGAATCTTCTACCGCTCCAGGTACTTCC CCTAGCGGCGAATCTTCTACCGCTCCAGGTAGCCCGG CTGGCTCTCCTACCTCTACTGAGGAAGGTACTTCTGA AAGCGCTACTCCTGAGTCTGGTCCAGGTACCTCTACT GAACCGTCCGAAGGTAGCGCTCCA	GTSTEPSEGSAPGTST EPSEGSAPGTSTEPSE GSAPGTSESATPESGP GTSTEPSEGSAPGTST EPSEGSAPGSTSESPS GTAPGTSPSGESSTAP GTSPSGESSTAPGSPA GSPTSTEEGTSESATP ESGPGTSTEPSEGSAP
LCW462_r57	GGTACTTCTACTGAACCTTCCGAAGGTAGCGCTCCAG GTAGCGAACCTGCTACTTCTGGTTCTGAAACCCCAGG TAGCCCGGCTGGCTCTCCGACCTCCACCGAGGAAGGT	GTSTEPSEGSAPGSEP ATSGSETPGSPAGSPT STEEGSPAGSPTSTEE
	AGCCCGGCAGGCTCTCCGACCTCTACTGAGGAAGGTA CTTCTGAAAGCGCAACCCCGGAGTCCGGCCCAGGTAC CTCTACCGAACCGTCTGAGGGCAGCGCACCAGGTACC TCTACTGAACCTTCCGAAGGCAGCGCTCCAGGTACCT CTACCGAACCGTCCGAGGGCAGCGCACCAGGTACTTC TGAAAGCGCAACCCCTGAATCCGGTCCAGGTAGCTCT ACTCCGTCTGGTGCAACCGGCTCCCCAGGTTCTAGCC CGTCTGCTTCCACTGGTACTGGCCCAGGTGCTTCCCC GGGCACCAGCTCTACTGGTTCTCCA	GTSESATPESGPGTST EPSEGSAPGTSTEPSE GSAPGTSTEPSEGSAP GTSESATPESGPGSST PSGATGSPGSSPSAST GTGPGASPGTSSTGSP
LCW462_r61	GGTAGCGAACCGGCTACTTCCGGCTCTGAGACTCCAG GTAGCCCTGCTGGCTCTCCGACCTCTACCGAAGAAGG TACCTCTGAAAGCGCTACCCCTGAGTCTGGCCCAGGT ACCTCTACTGAACCTTCCGAAGGCAGCGCTCCAGGTA CCTCTACCGAACCGTCCGAGGGCAGCGCACCAGGTAC TTCTGAAAGCGCAACCCCTGAATCCGGTCCAGGTACC TCTACTCCGGAAAGCGGTTCCGCATCTCCAGGTTCTA CCAGCGAATCCCCGTCTGGCACCGCACCAGGTTCTAC TAGCTCTACTGCTGAATCTCCGGGCCCAGGTACTTCT GAAAGCGCTACTCCGGAGTCCGGTCCAGGTACCTCTA CCGAACCGTCCGAAGGCAGCGCTCCAGGTACTTCTAC TGAACCTTCTGAGGGTAGCGCTCCA	GSEPATSGSETPGSPA GSPTSTEEGTSESATP ESGPGTSTEPSEGSAP GTSTEPSEGSAPGTSE SATPESGPGTSTPESG SASPGSTSESPSGTAP GSTSSTAESPGPGTSE SATPESGPGTSTEPSE GSAPGTSTEPSEGSAP
LCW462_r64	GGTACTTCTACCGAACCGTCCGAGGGCAGCGCTCCAG GTACTTCTACTGAACCTTCTGAAGGCAGCGCTCCAGG TACTTCTACTGAACCTTCCGAAGGTAGCGCACCAGGT ACCTCTACCGAACCGTCTGAAGGTAGCGCACCAGGTA CCTCTGAAAGCGCAACTCCTGAGTCCGGTCCAGGTAC TTCTGAAAGCGCAACCCCGGAGTCTGGCCCAGGTACT CCTGGCAGCGGTACCGCATCTTCCTCTCCAGGTAGCT CTACTCCGTCTGGTGCAACTGGTTCCCCAGGTGCTTCT CCGGGTACCAGCTCTACCGGTTCTCCAGGTTCCACCA GCTCTACTGCTGAATCTCCTGGTCCAGGTACCTCTCCT AGCGGTGAATCTTCTACTGCTCCAGGTACTTCTACTCC TGAAAGCGGCTCTGCTTCTCCA	GTSTEPSEGSAPGTST EPSEGSAPGTSTEPSE GSAPGTSTEPSEGSAP GTSESATPESGPGTSE SATPESGPGTPSGTA SSSPGSSTPSGATGSP GASPGTSSTGSPGSTS STAESPGPGTSPSGES STAPGTSTPESGSASP
LCW462_r67	GGTAGCCCGGCAGGCTCTCCGACCTCTACTGAGGAAG GTACTTCTGAAAGCGCAACCCCGGAGTCCGGCCCAGG TACCTCTACCGAACCGTCTGAGGGCAGCGCACCAGGT ACTTCTGAAAGCGCAACCCCTGAATCCGGTCCAGGTA GCGAACCGGCTACTTCTGGCTCTGAGACTCCAGGTAC TTCTACCGAACCGTCCGAAGGTAGCGCACCAGGTAGC CCGGCTGGTTCTCCGACTTCCACCGAGGAAGGTACCT CTACTGAACCTTCTGAGGGTAGCGCTCCAGGTACCTC TACTGAACCTTCCGAAGGCAGCGCTCCAGGTACTTCT ACCGAACCGTCCGAGGGCAGCGCTCCAGGTACTTCTA CTGAACCTTCTGAAGGCAGCGCTCCAGGTACTTCTAC TGAACCTTCCGAAGGTAGCGCACCA	GSPAGSPTSTEEGTSE SATPESGPGTSTEPSE GSAPGTSESATPESGP GSEPATSGSETPGTST EPSEGSAPGSPAGSPT STEEGTSTEPSEGSAP GTSTEPSEGSAPGTST EPSEGSAPGTSTEPSE GSAPGTSTEPSEGSAP

LCW462_r69	GGTACTTCTCCGAGCGGTGAATCTTCTACCGCACCAG GTTCTACTAGCTCTACCGCTGAATCTCCGGGCCCAGG TACTTCTCCGAGCGGTGAATCTTCTACTGCTCCAGGT ACCTCTGAAAGCGCTACTCCGGAGTCTGGCCCAGGTA CCTCTACTGAACCGTCTGAGGGTAGCGCTCCAGGTAC TTCTACTGAACCGTCCGAAGGTAGCGCACCAGGTTCT AGCCCTTCTGCATCTACTGGTACTGGCCCAGGTAGCT CTACTCCTTCTGGTGCTACCGGCTCTCCAGGTGCTTCT CCGGGTACTAGCTCTACCGGTTCTCCAGGTACTTCTA CTCCGGAAAGCGGTTCCGCATCTCCAGGTACTTCTCC TAGCGGTGAATCTTCTACTGCTCCAGGTACCTCTCCTA GCGGCGAATCTTCTACTGCTCCA	GTSPSGESSTAPGSTS STAESPGPGTSPSGES STAPGTSESATPESGP GTSTEPSEGSAPGTST EPSEGSAPGSSPSAST GTGPGSSTPSGATGSP GASPGTSSTGSPGTST PESGSASPGTSPSGES STAPGTSPSGESSTAP
LCW462_r70	GGTACCTCTGAAAGCGCTACTCCGGAGTCTGGCCCAG GTACCTCTACTGAACCGTCTGAGGGTAGCGCTCCAGG TACTTCTACTGAACCGTCCGAAGGTAGCGCACCAGGT	GTSESATPESGPGTST EPSEGSAPGTSTEPSE GSAPGSPAGSPTSTEE
	AGCCCTGCTGGCTCTCCGACTTCTACTGAGGAAGGTA GCCCGGCTGGTTCTCCGACTTCTACTGAGGAAGGTAC TTCTACCGAACCTTCCGAAGGTAGCGCTCCAGGTTCT AGCCCTTCTGCTTCCACCGGTACTGGCCCAGGTAGCT CTACCCCTTCTGGTGCTACCGGCTCCCCAGGTAGCTCT ACTCCTTCTGGTGCAACTGGCTCTCCAGGTAGCGAAC CGGCAACTTCCGGCTCTGAAACCCCAGGTACTTCTGA AAGCGCTACTCCTGAGTCTGGCCCAGGTAGCGAACCT GCTACCTCTGGCTCTGAAACCCCA	GSPAGSPTSTEEGTST EPSEGSAPGSSPSAST GTGPGSSTPSGATGSP GSSTPSGATGSPGSEP ATSGSETPGTSESATP ESGPGSEPATSGSETP
LCW462_r72	GGTACTTCTACCGAACCGTCCGAAGGCAGCGCTCCAG GTACCTCTACTGAACCTTCCGAGGGCAGCGCTCCAGG TACCTCTACCGAACCTTCTGAAGGTAGCGCACCAGGT AGCTCTACCCCGTCTGGTGCTACCGGTTCCCCAGGTG CTTCTCCTGGTACTAGCTCTACCGGTTCTCCAGGTAGC TCTACCCCGTCTGGTGCTACTGGCTCTCCAGGTACTTC TGAAAGCGCAACCCCTGAATCCGGTCCAGGTAGCGA ACCGGCTACTTCTGGCTCTGAGACTCCAGGTACTTCT ACCGAACCGTCCGAAGGTAGCGCACCAGGTTCTACTA GCGAATCTCCTTCTGGCACTGCACCAGGTTCTACCAG CGAATCTCCGTCTGGCACTGCACCAGGTACCTCTACC CCTGAAAGCGGTTCCGCTTCTCCA	GTSTEPSEGSAPGTST EPSEGSAPGTSTEPSE GSAPGSSTPSGATGSP GASPGTSSTGSPGSST PSGATGSPGTSESATP ESGPGSEPATSGSETP GTSTEPSEGSAPGSTS ESPSGTAPGSTSESPS GTAPGTSTPESGSASP
LCW462_r73	GGTACCTCTACTCCTGAAAGCGGTTCTGCATCTCCAG GTTCCACTAGCTCTACCGCAGAATCTCCGGGCCCAGG TTCTACTAGCTCTACTGCTGAATCTCCTGGCCCAGGTT CTAGCCCTTCTGCATCTACTGGTACTGGCCCAGGTAG CTCTACTCCTTCTGGTGCTACCGGCTCTCCAGGTGCTT CTCCGGGTACTAGCTCTACCGGTTCTCCAGGTAGCGA ACCGGCAACCTCCGGCTCTGAAACCCCAGGTACCTCT GAAAGCGCTACTCCTGAATCCGGCCCAGGTAGCCCGG CAGGTTCTCCGACTTCCACTGAGGAAGGTTCTACTAG CGAATCTCCTTCTGGCACTGCACCAGGTTCTACCAGC GAATCTCCGTCTGGCACTGCACCAGGTACCTCTACCC CTGAAAGCGGTTCCGCTTCTCCC	GTSTPESGSASPGSTS STAESPGPGSTSSTAE SPGPGSSPSASTGTGP GSSTPSGATGSPGASP GTSSTGSPGSEPATSG SETPGTSESATPESGP GSPAGSPTSTEEGSTS ESPSGTAPGSTSESPS GTAPGTSTPESGSASP
LCW462_r78	GGTAGCCCGGCTGGCTCTCCTACCTCTACTGAGGAAG GTACTTCTGAAAGCGCTACTCCTGAGTCTGGTCCAGG TACCTCTACTGAACCGTCCGAAGGTAGCGCTCCAGGT TCTACCAGCGAATCTCCTTCTGGCACCGCTCCAGGTT CTACTAGCGAATCCCCGTCTGGTACCGCACCAGGTAC TTCTCCTAGCGGCGAATCTTCTACCGCACCAGGTACC TCTACCGAACCTTCCGAAGGTAGCGCTCCAGGTAGCC CGGCAGGTTCTCCTACTTCCACTGAGGAAGGTACTTC TACCGAACCTTCTGAGGGTAGCGCACCAGGTAGCGA ACCTGCAACCTCTGGCTCTGAAACCCCAGGTACCTCT GAAAGCGCTACTCCTGAATCTGGCCCAGGTACTTCTA CTGAACCGTCCGAGGGCAGCGCACCA	GSPAGSPTSTEEGTSE SATPESGPGTSTEPSE GSAPGSTSESPSGTAP GSTSESPSGTAPGTSP SGESSTAPGTSTEPSE GSAPGSPAGSPTSTEE GTSTEPSEGSAPGSEP ATSGSETPGTSESATP ESGPGTSTEPSEGSAP

LCW462_r79	GGTACCTCTACCGAACCTTCCGAAGGTAGCGCTCCAG GTAGCCCGGCAGGTTCTCCTACTTCCACTGAGGAAGG TACTTCTACCGAACCTTCTGAGGGTAGCGCACCAGGT ACCTCCCCTAGCGGCGAATCTTCTACTGCTCCAGGTA CCTCTCCTAGCGGCGAATCTTCTACCGCTCCAGGTAC CTCCCCTAGCGGTGAATCTTCTACCGCACCAGGTTCT ACCAGCGAATCCCCTTCTGGTACTGCTCCAGGTTCTA CCAGCGAATCCCCTTCTGGCACCGCACCAGGTACTTC TACCCCTGAAAGCGGCTCCGCTTCTCCAGGTAGCGAA CCTGCAACCTCTGGCTCTGAAACCCCAGGTACCTCTG AAAGCGCTACTCCTGAATCTGGCCCAGGTACTTCTAC TGAACCGTCCGAGGGCAGCGCACCA	GTSTEPSEGSAPGSPA GSPTSTEEGTSTEPSE GSAPGTSPSGESSTAP GTSPSGESSTAPGTSP SGESSTAPGSTSESPS GTAPGSTSESPSGTAP GTSTPESGSASPGSEP ATSGSETPGTSESATP ESGPGTSTEPSEGSAP
LCW462_r87	GGTAGCGAACCGGCAACCTCTGGCTCTGAAACCCCAG GTACCTCTGAAAGCGCTACTCCGGAATCTGGTCCAGG TACTTCTGAAAGCGCTACTCCGGAATCCGGTCCAGGT	GSEPATSGSETPGTSE SATPESGPGTSESATP ESGPGTSPSGESSTAP
	ACTTCTCCGAGCGGTGAATCTTCTACCGCACCAGGTT CTACTAGCTCTACCGCTGAATCTCCGGGCCCAGGTAC TTCTCCGAGCGGTGAATCTTCTACTGCTCCAGGTTCTA CTAGCGAATCCCCGTCTGGTACTGCTCCAGGTACTTC CCCTAGCGGTGAATCTTCTACTGCTCCAGGTTCTACC AGCTCTACCGCAGAATCTCCGGGTCCAGGTAGCTCTA CTCCGTCTGGTGCAACCGGTTCCCCAGGTAGCTCTAC CCCTTCTGGTGCAACCGGCTCCCCAGGTAGCTCTACC CCTTCTGGTGCAAACTGGCTCTCC	GSTSSTAESPGPGTSP SGESSTAPGSTSESPS GTAPGTSPSGESSTAP GSTSSTAESPGPGSST PSGATGSPGSSTPSGA TGSPGSSTPSGANWL S
LCW462_r88	GGTAGCCCTGCTGGCTCTCCGACTTCTACTGAGGAAG GTAGCCCGGCTGGTTCTCCGACTTCTACTGAGGAAGG TACTTCTACCGAACCTTCCGAAGGTAGCGCTCCAGGT ACCTCTACTGAACCTTCCGAAGGCAGCGCTCCAGGTA CCTCTACCGAACCGTCCGAGGGCAGCGCACCAGGTAC TTCTGAAAGCGCAACCCCTGAATCCGGTCCAGGTGCA TCTCCTGGTACCAGCTCTACCGGTTCTCCAGGTAGCTC TACTCCTTCTGGTGCTACTGGCTCTCCAGGTGCTTCCC CGGGTACCAGCTCTACCGGTTCTCCAGGTAGCTCTAC CCCGTCTGGTGCTACTGGTTCTCCAGGTACTCCGGGC AGCGGTACTGCTTCTTCCTCTCCAGGTAGCTCTACCCC TTCTGGTGCTACTGGCTCTCCA	GSPAGSPTSTEEGSPA GSPTSTEEGTSTEPSE GSAPGTSTEPSEGSAP GTSTEPSEGSAPGTSE SATPESGPGASPGTSS TGSPGSSTPSGATGSP GASPGTSSTGSPGSST PSGATGSPGTPGSGT ASSSPGSSTPSGATGS P
LCW462_r89	GGTAGCTCTACCCCGTCTGGTGCTACTGGTTCTCCAG GTACTCCGGGCAGCGGTACTGCTTCTTCCTCTCCAGG TAGCTCTACCCCTTCTGGTGCTACTGGCTCTCCAGGTA GCCCGGCTGGCTCTCCTACCTCTACTGAGGAAGGTAC TTCTGAAAGCGCTACTCCTGAGTCTGGTCCAGGTACC TCTACTGAACCGTCCGAAGGTAGCGCTCCAGGTACCT CTGAAAGCGCAACTCCTGAGTCTGGCCCAGGTAGCGA ACCTGCTACCTCCGGCTCTGAGACTCCAGGTACCTCT GAAAGCGCAACCCCCGGAATCTGGTCCAGGTACTTCTA CTGAACCGTCTGAAGGTAGCGCACCAGGTACTTCTGA AAGCGCAACCCCCGGAATCCGGCCCAGGTACCTCTGA AAGCGCAACCCCCGGAGTCCGGCCCA	GSSTPSGATGSPGTPG SGTASSSPGSSTPSGA TGSPGSPAGSPTSTEE GTSESATPESGPGTST EPSEGSAPGTSESATP ESGPGSEPATSGSETP GTSESATPESGPGTST EPSEGSAPGTSESATP ESGPGTSESATPESGP

Exemplo 7: Construção de XTEN_AM288

Toda a biblioteca LCW0462 foi dimerizada como descrito no Exemplo 6 resultando numa biblioteca de clones de XTEN_AM288 designada LCW0463. 1512 isolados a partir da biblioteca LCW0463 foram rastreados utilizando o protocolo descrito no Exemplo 6. 176 clones de elevada expressão

foram sequenciados e 40 segmentos de XTEN_AM288 preferidos foram escolhidos para a construção de proteínas multifuncionais que contêm múltiplos segmentos de XTEN com 288 resíduos de aminoácidos.

Exemplo 8: Construção de XTEN_AM432

Foi gerada uma biblioteca de segmentos de XTEN_AM432 por recombinação de segmentos a partir da biblioteca LCW0462 de segmentos de XTEN_AM144 e segmentos a partir da biblioteca LCW0463 de segmentos de XTEN_AM288. Esta nova biblioteca de segmentos de XTEN_AM432 foi designada LCW0464. O plasmídeo foi isolado a partir de culturas de *E. coli* que albergam LCW0462 e LCW0463, respetivamente. 1512 isolados a partir da biblioteca LCW0464 foram rastreados utilizando o protocolo descrito no Exemplo 6. 176 clones de elevada expressão foram sequenciados e 39 segmentos de XTEN_AM432 preferidos foram escolhidos para a construção de XTENs mais longos e para a construção de proteínas multifuncionais que contêm múltiplos segmentos de XTEN com 432 resíduos de aminoácidos.

Em paralelo, construiu-se uma biblioteca LMS0100 de segmentos de XTEN_AM432 utilizando segmentos de XTEN_AM144 e XTEN_AM288 preferidos. O rastreio desta biblioteca rendeu 4 isolados que foram selecionados para construção adicional.

Exemplo 9: Construção de XTEN_AM875

O vetor stuffer pCW359 foi digerido com BsaI e KpnI para remover o segmento stuffer e o fragmento do vetor resultante foi isolado por purificação em gel de agarose.

Anelou-se o oligonucleótido fosforilado BsaI-AscI-KpnIforP: AGGTGCAAGCGCAAGCGGCGCGCCAAGCACGGGAGGTTCGTCTTCACTCGAGGGTAC e o oligonucleótido não fosforilado BsaI-AscI-KpnIrev: CCTCGAGTGAAGACGAACCTCCCGTGCTTGGCGCGCCGCTTGCGCTTGC para introduzir a ilha de sequenciação A (SI-A) que codifica os aminoácidos GASASGAPSTG e tem a enzima de restrição AscI

reconhecimento de sequência de nucleotídeo GGCGCGCC dentro. Os pares de oligonucleótidos anelados foram ligados com o vector stuffer pCW0359 digerido com BsaI e KpnI preparado acima para produzir pCW0466 contendo SI-A. Gerou-se então uma biblioteca de segmentos de XTEN_AM443 recombinando 43 segmentos de XTEN_AM432 preferidos do Exemplo 8 e segmentos SI-A de pCW0466 no terminal C utilizando o mesmo processo de dimerização descrito no Exemplo 5. Esta nova biblioteca de segmentos de XTEN_AM443 foi designada LCW0479.

Gerou-se uma biblioteca de segmentos de XTEN_AM875 recombinando segmentos da biblioteca LCW0479 de segmentos de XTEN_AM443 e 43 segmentos de XTEN_AM432 preferidos do Exemplo 8 usando o mesmo processo de dimerização descrito no Exemplo 5. Esta nova biblioteca de segmento de XTEN AM875 foi designada LCW0481.

Exemplo 10: Construção de XTEN_AM1318

Anelou-se o oligonucleótido fosforilado BsaI-FseI-KpnIforP: AGGTCCAGAACCAACGGGGCCGGCCCCAAGCGGAGGTTCGTCTTCACTCGAGGGTAC e o oligonucleótido não fosforilado BsaI-FseI-KpnIrev: CCTCGAGTGAAGACGAACCTCCGCTTGGGGCCGGCCCCGTTGGTTCTGG para introduzir a ilha de sequenciação B (SI-B) que codifica os aminoácidos GPEPTGPAPSG e tem a enzima de restrição FseI de reconhecimento de sequência de nucleotídeo GGCCGGCC dentro. Os pares de oligonucleótidos anelados foram ligados com o vetor stuffer pCW0359 digerido com BsaI e KpnI como utilizado no Exemplo 9 para produzir pCW0467 contendo SI-B. Gerou-se então uma biblioteca de segmentos de XTEN_AM443 recombinando 43 segmentos de XTEN_AM432 preferidos do Exemplo 8 e segmentos SI-B de pCW0467 no terminal C utilizando o mesmo processo de dimerização descrito no Exemplo 5. Esta nova biblioteca de segmentos de XTEN_AM443 foi designada LCW0480.

Gerou-se uma biblioteca de segmentos de XTEN_AM1318 recombinando segmentos da biblioteca LCW0480 de segmentos

de XTEN_AM443 e segmentos da biblioteca LCW0481 de segmentos de XTEN_AM875 usando o mesmo processo de dimerização que no Exemplo 5. Esta nova biblioteca de segmentos de XTEN_AM1318 foi designada LCW0487.

Exemplo 11: Construção de XTEN_AD864

Utilizando os vários ciclos consecutivos de dimerização, montou-se uma coleção de sequências de XTEN_AD864 começando a partir dos segmentos de XTEN_AD36 listados no Exemplo 1. Estas sequências foram montadas como descrito no Exemplo 5. Vários isolados de XTEN_AD864 foram avaliados e verificou-se que mostravam boa expressão e excelente solubilidade sob condições fisiológicas. Uma construção intermediária de XTEN_AD576 foi sequenciada. Este clone foi avaliado numa experiência de PK em macacos cinomolgos e foi medida uma semivida de cerca de 20 h.

Exemplo 12: Construção de XTEN_AF864

Utilizando os vários ciclos consecutivos de dimerização, montou-se uma coleção de sequências de XTEN_AF864 começando a partir dos segmentos de XTEN_AF36 listados no Exemplo 3. Estas sequências foram montadas como descrito no Exemplo 5. Vários isolados de XTEN_AF864 foram avaliados e verificou-se que mostravam boa expressão e excelente solubilidade sob condições fisiológicas. Uma construção intermediária de XTEN_AF540 foi sequenciada. Este clone foi avaliado numa experiência de PK em macacos cinomolgos e foi medida uma semivida de cerca de 20 h. Um clone de comprimento completo de XTEN_AF864 teve uma solubilidade excelente e mostrou uma semivida que excedia 60 h em macacos cinomolgos. Um segundo conjunto de sequências de XTEN AF foi montado incluindo uma ilha de sequenciação como descrito no Exemplo 9.

Exemplo 13: Construção de XTEN_AG864

Utilizando os vários ciclos consecutivos de dimerização, montou-se uma coleção de sequências de XTEN_AG864 começando a partir dos segmentos de XTEN_AD36

listados no Exemplo 1. Estas sequências foram montadas como descrito no Exemplo 5. Vários isolados de XTEN_AG864 foram avaliados e verificou-se que mostravam boa expressão e excelente solubilidade sob condições fisiológicas. Um clone de comprimento completo de XTEN_AG864 teve uma solubilidade excelente e mostrou uma semivida que excedia 60 h em macacos cinomolgos.

Exemplo 14: Construção de extensões N-terminais de XTEN - Construção e rastreio de bibliotecas de adição de 12 mero

Este exemplo detalha uma etapa na otimização do terminal N da proteína XTEN para promover a iniciação da tradução para permitir a expressão de fusões de XTEN no terminal N de proteínas de fusão sem a presença de um domínio auxiliar. Historicamente, a expressão de proteínas com XTEN no terminal N foi fraca, produzindo valores que seriam essencialmente indetetáveisno ensaio de fluorescência GFP (<25% da expressão com o domínio N-terminal CBD helper). Para criar diversidade ao nível dos codões, as sequências de aminoácidos foram selecionadas e preparadas com uma diversidade de codões. Sete pares de oligonucleótidos codificando 12 aminoácidos com diversidades de codões foram desenhados, anelados e ligados no vetor stuffer pCW0551 digerido com as enzimas de restrição NdeI/BsaI (Stuffer-XTEN_AM875-GFP) e transformados em células competentes de E. coli BL21Gold (DE3) para obter colónias das sete bibliotecas. Os clones resultantes têm 12 mero de XTEN N-terminais fundidos em estrutura com XTEN_AM875-GFP para permitir a utilização de fluorescência de GFP para o rastreio da expressão. Colónias individuais a partir das sete bibliotecas criadas foram escolhidas e cresceram durante a noite até à saturação em 500 µl de meio super broth numa placa de 96 poços fundos. O número de colónias escolhidas variou desde aproximadamente metade até um terço da diversidade teórica da biblioteca (veja-se o Quadro 13).

Quadro 13: Diversidade teórica e números de amostragem para bibliotecas de adição de 12 mero. Os resíduos de aminoácidos com codões randomizados estão sublinhados.

Biblioteca	Família de motivos	Sequência de aminoácidos	Diversidade teórica	Número rastreado
LCW546	AE12	MASPAGSPTSTEE	572	2 placas (168)
LCW547	AE12	MATSESATPESGP	1536	5 placas (420)
LCW548	AF12	MATSPSGESSTAP	192	2 placas (168)
LCW549	AF12	MESTSSTAESPGP	384	2 placas (168)
LCW552	AG12	MASSTPSGATGSP	384	2 placas (168)
LCW553	AG12	MEASPGTSSTGSP	384	2 placas (168)
LCW554	(CBD-like)	MASTPESGSSG	32	1 placa (84)

As culturas de durante a noite saturadas foram usadas para inocular culturas novas de 500 µl em meio de autoindução no qual cresceram durante a noite a 26 ° C. Estas culturas de expressão foram então testadas usando um leitor de placas de fluorescência (excitação 395 nm, emissão 510 nm) para determinar a quantidade de repórter GFP presente (veja-se a FIG. 9 para os resultados dos ensaios de expressão). Os resultados, representados graficamente como gráficos de bigode, embora os níveis de expressão medianos foram aproximadamente metade dos níveis de expressão em comparação com o domínio de terminal N auxiliar "de referência" CBD, os melhores clones a partir de bibliotecas estavam muito mais perto dos valores de

referência, indicando que uma maior otimização em torno dessas sequências se justificava. Isso contrasta com as versões anteriores do XTEN que foram <25% dos níveis de expressão da referência CB-N-terminal. Os resultados também mostram que as bibliotecas começando com aminoácidos MA tinham melhores níveis de expressão do que aquelas que se iniciam com ME. Isto foi mais aparente quando se observavam os melhores clones, que estavam mais próximos das referências já que na sua maioria começavam com MA. Dos 176 clones dentro de 33 % da referência CBD-AM875, 87 % começam com MA, enquanto apenas 75 % das sequências nas bibliotecas começando com MA, uma clara sobre representação dos clones que começam com MA no nível de expressão mais elevado. 96 dos melhores clones foram sequenciados para confirmar a identidade e doze sequências (veja-se o Quadro 14), 4 de LCW546, 4 de LCW547 e 4 de LCW552 foram selecionadas para otimização adicional.

Quadro 14: Sequência nucleotídica de ADN de 12 mero avançada

Clone	Sequência de nucleótidos ADN
LCW546_02	ATGGCTAGTCCGGCTGGCTCTCCGACCTCCACTGAGGAAGGTACTTCTACT
LCW546_06	ATGGCTAGTCCTGCTGGCTCTCCAACCTCCACTGAGGAAGGTACTTCTACT
LCW546_07	ATGGCTAGTCCAGCAGGCTCTCCTACCTCCACCGAGGAAGGTACTTCTACT
LCW546_09	ATGGCTAGTCCTGCTGGCTCTCCGACCTCTACTGAGGAAGGTACTTCTACT
LCW547_03	ATGGCTACATCCGAAAGCGCAACCCCTGAGTCCGGTCCAGGTACTTCTACT
LCW547_06	ATGGCTACATCCGAAAGCGCAACCCCTGAATCTGGTCCAGGTACTTCTACT
LCW547_10	ATGGCTACGTCTGAAAGCGCTACTCCGGAATCTGGTCCAGGTACTTCTACT
LCW547_17	ATGGCTACGTCCGAAAGCGCTACCCCTGAATCCGGTCCAGGTACTTCTACT
LCW552_03	ATGGCTAGTTCTACCCCGTCTGGTGCAACCGGTTCCCCAGGTACTTCTACT
LCW552_05	ATGGCTAGCTCCACTCCGTCTGGTGCTACCGGTTCCCCAGGTACTTCTACT
LCW552_10	ATGGCTAGCTCTACTCCGTCTGGTGCTACTGGTTCCCCAGGTACTTCTACT
LCW552_11	ATGGCTAGTTCTACCCCTTCTGGTGCTACTGGTTCTCCAGGTACTTCTACT

Exemplo 15: Construção de extensões N-terminais de XTEN - Construção e rastreio de bibliotecas otimizando os codões 3 e 4

Este exemplo detalha uma etapa na otimização do terminal N da proteína XTEN para promover a iniciação da tradução para permitir a expressão de fusões de XTEN no terminal N de proteínas sem a presença de um domínio auxiliar. Com preferências pelos dois primeiros codões estabelecidos (veja-se o Exemplo acima), o terceiro e quatro codões foram randomizados para determinar as preferências. Três bibliotecas, baseadas nos melhores clones de LCW546, LCW547 e LCW552, foram desenhadas com o terceiro e quarto resíduos modificados de modo que todas as combinações de codões de XTEN permissíveis estavam presentes nestas posições (veja-se a FIG. 10). De modo a incluir todos os codões de XTEN permissíveis para cada biblioteca, nove pares de oligonucleótidos codificando 12 aminoácidos com diversidades de codões do terceito e quatro resíduos foram desenhados, anelados e ligados no vetor stuffer pCW0551 digerido com as enzimas de restrição NdeI/BsaI (Stuffer-XTEN_AM875-GFP) e transformados em células competentes de *E. coli* BL21Gold (DE3) para obter colónias das três bibliotecas LCW0569-571. Com 24 codões de XTEN, a diversidade teórica de cada biblioteca é de 576 codões únicos. Um total de 504 colónias individuais a partir das três bibliotecas criadas foram escolhidas e cresceram durante a noite até à saturação em 500 µl de meio super broth numa placa de 96 poços fundos. Isto proporcionou uma cobertura suficiente para entender o desempenho relativo das bibliotecas e as preferências de sequências. As culturas de durante a noite saturadas foram usadas para inocular culturas novas de 500 µl em meio de autoindução no qual cresceram durante a noite a 26 ° C. Estas culturas de expressão foram então testadas usando um leitor de placas de fluorescência (excitação 395 nm,

emissão 510 nm) para determinar a quantidade de repórter GFP presente. Os 75 melhores clones do rastreio foram sequenciados e testados novamente quanto à expressão de repórter GFP em comparação com as amostras de referência (veja-se a FIG. 11). 52 clones produziram dados de sequenciação úteis e foram utilizados para análise subsequente. Os resultados foram discriminados por biblioteca e indicaram que LCW546 era a biblioteca superior. Os resultados são apresentados no Quadro 15. Surpreendentemente, descobriu-se que as leituras de fluorescência de base para os melhores clones foram ~900 AU, enquanto que a referência N-terminal foi de apenas ~600 AU. Isso indica que esta biblioteca instituiu uma melhoria de aproximadamente 33% em relação aos melhores clones da biblioteca anterior, que eram aproximadamente iguais em expressão à referência CB-N-terminal (Exemplo 14).

Quadro 15: Comparação de biblioteca de otimização de terceiro e quarto codões

	LCW569	LCW570	LCW571
N	21	15	16
Fluorescência média (AU)	628	491	537
DP	173	71	232
CV	28%	15%	43%

Tendências adicionais foram observadas nos dados mostrando preferências por codões particulares na terceira e quarta posição. Dentro da biblioteca LCW569, o codão de glutamato GAA na terceira posição e o codão de treonina ACT foram associados com uma expressão mais elevada como mostrado no Quadro 16.

Quadro 16: Terceiro e quarto codões preferidos em LCW569

	3 =GAA	Resto	4 = ACT	Resto
N	8	13	4	17
Fluorescência média (AU)	749	554	744	601
DP	234	47	197	162

CV	31%	9%	26%	27%

Adicionalmente, o reteste dos 75 melhores clones indicou que vários eram agora superiores aos clones de referência.

Exemplo 16: Construção de extensões N-terminais de XTEN - Construção e rastreio de bibliotecas de 12 mero e 36 mero combinatórias

Este exemplo detalha uma etapa na otimização do terminal N da proteína XTEN para promover a iniciação da tradução para permitir a expressão de fusões de XTEN no terminal N de proteínas sem a presença de um domínio auxiliar. Com preferências pelos dois primeiros codões estabelecidos (veja-se o Exemplo acima), o terminal N foi examinado num contexto mais amplo através de combinação das 12 sequências de 12 mero selecionadas (veja-se o Exemplo acima) no próprio terminal N seguidas por 125 segmentos de 36 mero previamente construídos (veja-se o exemplo acima) de uma forma combinatória. Isto criou novos 48 mero no terminal N da proteína XTEN e permitiu a avaliação do impacto de interações de maior alcance no terminal N sobre a expressão das sequências mais longas (FIG. 12). De forma semelhante aos procedimentos de dimerização utilizados para montar 36 mero (veja-se o Exemplo abaixo), os plasmídeos contendo os 125 segmentos de 36 mero selecionados foram digeridos com enzimas de restrição BbsI/NcoI e o fragmento apropriado foi purificado em gel. O plasmídeo a partir do clone AC94 (CBD-XTEN_AM875-GFP) foi também digerido com BsaI/NcoI e os fragmentos apropriados foram purificados em gel. Estes fragmentos foram ligados em conjunto e transformados em células competentes de *E. coli* BL21 Gold(DE3) para obter colónias da biblioteca LCW0579, que também serviram como o vetor para clonagem adicional de 12 12 mero selecionados no próprio terminal N. Os plasmídeos de LCW0579 foram digeridos com NdeI/EcoRI/BsaI e os

fragmentos apropriados foram purificados em gel. 12 pares de oligonucleótidos codificando os 12 12 mero selecionados foram desenhados, anelados e ligados com o vetor LCW0579 digerido com NdeI/EcoRI/BsaI e transformados em células competentes de *E. coli* BL21Gold (DE3) para obter colônias da biblioteca LCW0580. Com uma diversidade teórica de 1500 clones únicos, um total de 1512 colónias individuais a partir da biblioteca criada foram escolhidas e cresceram durante a noite até à saturação em 500 µl de meio super broth numa placa de 96 poços fundos. Isto proporcionou uma cobertura suficiente para entender o desempenho relativo das bibliotecas e as preferências de sequências. As culturas de durante a noite saturadas foram usadas para inocular culturas novas de 500 µl em meio de autoindução que cresceram durante a noite a 26 ° C. Estas culturas de expressão foram então testadas usando um leitor de placas de fluorescência (excitação 395 nm, emissão 510 nm) para determinar a quantidade de repórter GFP presente. Os 90 melhores clones foram sequenciados e testados novamente quanto à expressão de repórter GFP. 83 clones produziram dados de sequenciação úteis e foram utilizados para análise subsequente. Os dados de sequenciação foram utilizados para determinar os 12 mero principais que estavam presentes em cada clone e o impacto de cada 12 mero na expressão foi avaliada. Os clones LCW546_06 e LCW546_09 ressaltaram como sendo o terminal N superior (veja-se o Quadro 17).

Quadro 17: Desempenho relativo dos clones começando com LCW546 06 e LCW459 09

	LCW546_06	Todos os outros	LCW546_09	Todos os outros
N	11	72	9	74
Fluorescência média (AU)	1100	752	988	775
DP	275	154	179	202

CV	25%	20%	18%	26%

A sequenciação e reteste também revelaram vários casos de replicações independentes da mesma sequência nos dados que produzem resultados semelhantes, aumentando assim a confiança no ensaio. Adicionalmente, 10 clones com 6 sequências únicas foram superiores ao clone de referência. São apresentados no Quadro 18. Notou-se que estes foram as únicas ocorrências destas sequências e que, em nenhum caso, uma destas sequências ocorreu e foi incapaz de bater o clone de referência. Estas seis sequências foram avançadas para otimização adicional.

Quadro 18: Clones de 12 mero e 36 mero combinatórios superiores aos clones de referência

Nome do clone	Primeiros 60 codões	Nome 12 mero	Nome 36 mero
LCW580_51	ATGGCTAGTCCTGCTGGCTCTCCAACCTCCACT GAGGAAGGTGCATCCCCGGGCACCAGCTCTACC GGTTCTCCAGGTAGCTCTACCCCGTCTGGTGCT ACCGGCTCTCCAGGTAGCTCTACCCCGTCTGGT GCTACTGGCTCTCCAGGTACTTCTACTGAACCG TCTGAAGGCAGCGCA	LCW546_06	LCW0404_040
LCW580_81	ATGGCTAGTCCTGCTGGCTCTCCAACCTCCACT GAGGAAGGTGCATCCCCGGGCACCAGCTCTACC GGTTCTCCAGGTAGCTCTACCCCGTCTGGTGCT ACCGGCTCTCCAGGTAGCTCTACCCCGTCTGGT GCTACTGGCTCTCCAGGTACTTCTACTGAACCG TCTGAAGGCAGCGCA	LCW546_06	LCW0404_040
LCW580_38	ATGGCTAGTCCTGCTGGCTCTCCAACCTCCACT GAGGAAGGTACTTCTACCGAACCGTCCGAGGGT AGCGCACCAGGTAGCCCAGCAGGTTCTCCTACC TCCACCGAGGAAGGTACTTCTACCGAACCGTCC GAGGGTAGCGCACCAGGTACTTCTACTGAACCG TCTGAAGGCAGCGCA	LCW546_06	LCW0402_041
LCW580_63	ATGGCTAGTCCTGCTGGCTCTCCGACCTCTACT GAGGAAGGTACTTCTACTGAACCGTCTGAAGGC AGCGCACCAGGTAGCGAACCGGCTACTTCCGGT TCTGAAACCCCAGGTAGCCCAGCAGGTTCTCCA ACTTCTACTGAAGAAGGTACTTCTACTGAACCG TCTGAAGGCAGCGCA	LCW546_09	LCW0402_020
LCW580_06	ATGGCTAGTCCTGCTGGCTCTCCAACCTCCACT GAGGAAGGTACCCCGGGTAGCGGTACTGCTTCT TCCTCTCCAGGTAGCTCTACCCCTTCTGGTGCAA CCGGCTCTCCAGGTGCTTCTCCGGGCACCAGCT	LCW546_06	LCW0404_031
	CTACCGGTTCTCCAGGTACTTCTACTGAACCGT CTGAAGGCAGCGCA		

LCW580_35	ATGGCTAGTCCTGCTGGCTCTCCGACCTCTACT GAGGAAGGTACTTCTACTGAACCGTCTGAAGGC AGCGCACCAGGTAGCGAACCGGCTACTTCCGGT TCTGAAACCCCAGGTAGCCCAGCAGGTTCTCCA ACTTCTACTGAAGAAGGTACTTCTACTGAACCG TCTGAAGGCAGCGCA	LCW546_09	LCW0402_020
LCW580_67	ATGGCTAGTCCTGCTGGCTCTCCGACCTCTACT GAGGAAGGTACCTCCCCTAGCGGCGAATCTTCT ACTGCTCCAGGTACCTCTCCTAGCGGCGAATCT TCTACCGCTCCAGGTACCTCCCCTAGCGGTGAA TCTTCTACCGCACCAGGTACTTCTACTGAACCG TCTGAAGGCAGCGCA	LCW546_09	LCW0403_064
LCW580_13	ATGGCTAGTCCTGCTGGCTCTCCGACCTCTACT GAGGAAGGTACCTCTACTCCGGAAAGCGGTTCC GCATCTCCAGGTTCTACCAGCGAATCCCCGTCT GGCACCGCACCAGGTTCTACTAGCTCTACTGCT GAATCTCCGGGCCCAGGTACTTCTACTGAACCG TCTGAAGGCAGCGCA	LCW546_09	LCW0403_060
LCW580_88	ATGGCTAGTCCTGCTGGCTCTCCGACCTCTACT GAGGAAGGTACCTCCCCTAGCGGCGAATCTTCT ACTGCTCCAGGTACCTCTCCTAGCGGCGAATCT TCTACCGCTCCAGGTACCTCCCCTAGCGGTGAA TCTTCTACCGCACCAGGTACTTCTACTGAACCG TCTGAAGGCAGCGCA	LCW546_09	LCW0403_064
LCW580_11	ATGGCTAGTCCTGCTGGCTCTCCGACCTCTACT GAGGAAGGTACCTCTACTCCGGAAAGCGGTTCC GCATCTCCAGGTTCTACCAGCGAATCCCCGTCT GGCACCGCACCAGGTTCTACTAGCTCTACTGCT GAATCTCCGGGCCCAGGTACTTCTACTGAACCG TCTGAAGGCAGCGCA	LCW546_09	LCW0403_060

Exemplo 17: Construção de extensões N-terminais de XTEN - Construção e rastreio de bibliotecas de 12 mero e 36 mero combinatórias para XTEN-AM875 e XTEN-AE864

Este exemplo detalha uma etapa na otimização do terminal N da proteína XTEN para promover a iniciação da tradução para permitir a expressão de fusões de XTEN no terminal N de proteínas sem a presença de um domínio auxiliar. Com preferências para os primeiros quatro codões (veja-se Exemplos supra, e para o melhor emparelhamento de N-terminal 12 meros e 36 meros (veja-se o Exemplo supra) estabelecido, uma abordagem combinatória foi levada a cabo para examinar a união destas preferências. Isto criou 48 mero novos no terminal N da proteína XTEN e permitiram a testagem da confluência de conclusões prévias. Adicionalmente, a capacidade destas sequências líder para serem uma solução universal para todas as proteínas XTEN foi avaliada colocando os novos 48 mero à frente de ambos

XTEN-AE864 e XTEN-AM875. Em vez de se utilizar todos os 125 clones do segmento de 36 mero, os plasmídeos a partir de 6 clones selecionados do segmento de 36 mero com a melhor expressão de GFP na biblioteca combinatória foram digeridos com NdeI/EcoRI/BsaI e os fragmentos apropriados foram purificados em gel. Os plasmídeos dos clones AC94 (CBD-XTEN_AM875-GFP) e AC104 (CBD-XTEN_AE864-GFP) foram digeridos com NdeI/EcoRI/BsaI e os fragmetos apropriados foram purificados em gel. Estes fragmentos foram ligados em conjunto e transformados em células competentes de *E. coli* BL21 Gold(DE3) para obter colónias das bibliotecas LCW0585 (-XTEN_AM875-GFP) e LCW0586 (-XTEN_AE864-GFP), que também serviram como o vetor para clonagem adicional de 8 12 mero selecionados no próprio terminal N. Os plasmídeos de LCW0585 e LCW0586 foram digeridos com NdeI/EcoRI/BsaI e os fragmentos apropriados foram purificados em gel. 8 pares de oligonucleótidos codificando 8 sequências de 12 mero selecionadas com a melhor expressão de GFP no rastreio anterior (Geração 2) foram desenhados, anelados e ligados com os vetores LCW0585 e LCW0586 digeridos com NdeI/EcoRI/BsaI e transformados em células competentes de *E. coli* BL21Gold (DE3) para obter colônias das bibliotecas finais LCW0587 (XTEN AM923-GFP) e LCW0588 (XTEN_AE912-GFP). Com uma diversidade teórica de 48 clones únicos, um total de 252 colónias individuais a partir das bibliotecas criadas foram escolhidas e cresceram durante a noite até à saturação em 500 µl de meio super broth numa placa de 96 poços fundos. Isto proporcionou uma cobertura suficiente para entender o desempenho relativo das bibliotecas e as preferências de sequências. As culturas de durante a noite saturadas foram usadas para inocular culturas novas de 500 µl em meio de autoindução no qual cresceram durante a noite a 26 ° C. Estas culturas de expressão foram então testadas usando um leitor de placas de fluorescência (excitação 395 nm, emissão 510 nm) para determinar a quantidade de

repórter GFP presente. Os 36 melhores clones foram sequenciados e testados novamente quanto à expressão de repórter GFP. 36 clones produziram dados de sequenciação úteis e estes 36 foram utilizados para a análise subsequente. Os dados de sequenciação determinaram os 12 mero, o terceiro codão, o quatro codão e os 36 mero presentes no clone e revelaram que muitos dos clones eram replicações independentes da mesma sequência. Adicionalmente, os resultados do reteste para estes clones têm valores próximos, indicando que o processo de rastreio foi robusto. Foram observadas preferências por algumas combinações no terminal N e deram consistentemente valores de fluorescência aproximadamente 50% mais elevados do que os controlos de referência (vejam-se os Quadros 19 e 20). Esta data apoia a conclusão de que a inclusão das sequências que codificam o XTEN N-terminal otimizado nos genes da proteína de fusão conferiu um aumento marcado na expressão das proteínas de fusão.

Quadro 19: Combinações N-terminais preferidas para XTEN-AM875

Nome do clone	Número de replicações	12 mero	36 mero	Média	DP	CV
CBD-AM875	NA	NA	NA	1715	418	16%
LCW587_08	7	LCW546_06_3=GAA	LCW404_40	2333	572	18%
LCW587_17	5	LCW546_09_3=GAA	LCW403_64	2172	293	10%

Quadro 20: Combinações N-terminais preferidas para XTEN-AE864

Nome do clone	Número de replicações	12 mero	36 mero	Média	DP	CV
AC82	NA	NA	NA	1979	679	24%
LCW588_14	8	LCW546_06_opt3	LCW404_31	2801	240	6%
LCW588_27	2	LCW546_06_opt34	LCW404_40	2839	556	15%

De forma notável, a combinação preferida do N-terminal

para o XTEN-AM875 e a combinação preferida para o XTEN-AE864 não são as mesmas (Tabelas 19 e 20), indicando interações mais complexas além de 150 bases a partir do nível de iniciação dos níveis de expressão do local. As sequências para as sequências de nucleótidos preferidas são listadas no Quadro 21 e os clones preferidos foram analisados por SDS-PAG para confirmar a expressão independentemente (veja-se a FIG. 13). As sequências completas de XTEN_AM923 e XTEN_AE912 foram selecionadas para análise adicional.

Quadro 21: Sequências de nucleótidos de ADN preferidas para os primeiros 48 resíduos de aminoácidos de XTEN-AM875 e XTEN-AE864 N-terminal

Nome do clone	XTEN Modificado	Sequência de nucleótidos ADN
LCW587_08	AM875	ATGGCTGAACCTGCTGGCTCTCCAACCTCCACTGAGGAAGGTGCATC CCCGGGCACCAGCTCTACCGGTTCTCCAGGTAGCTCTACCCCGTCTG GTGCTACCGGCTCTCCAGGTAGCTCTACCCCGTCTGGTGCTACTGGC TCTCCAGGTACTTCTACTGAACCGTCTGAAGGCAGCGCA
LCW587_17	AM875	ATGGCTGAACCTGCTGGCTCTCCGACCTCTACTGAGGAAGGTACCTC CCCTAGCGGCGAATCTTCTACTGCTCCAGGTACCTCTCCTAGCGGCG AATCTTCTACCGCTCCAGGTACCTCCCCTAGCGGTGAATCTTCTACC GCACCAGGTACTTCTACTGAACCGTCTGAAGGCAGCGCA
LCW588_14	AE864	ATGGCTGAACCTGCTGGCTCTCCAACCTCCACTGAGGAAGGTACCCC GGGTAGCGGTACTGCTTCTTCCTCTCCAGGTAGCTCTACCCCTTCTGG TGCAACCGGCTCTCCAGGTGCTTCTCCGGGCACCAGCTCTACCGGTT CTCCAGGTAGCCCGGCTGGCTCTCCTACCTCTACTGAG
LCW588_27	AE864	ATGGCTGAAACTGCTGGCTCTCCAACCTCCACTGAGGAAGGTGCATC CCCGGGCACCAGCTCTACCGGTTCTCCAGGTAGCTCTACCCCGTCTG GTGCTACCGGCTCTCCAGGTAGCTCTACCCCGTCTGGTGCTACTGGC TCTCCAGGTAGCCCGGCTGGCTCTCCTACCTCTACTGAG

Exemplo 18: Métodos para produzir e avaliar GHXTEN; XTEN-hGH como exemplo

Um esquema geral para produzir e avaliar composições de GHXTEN é apresentado na FIG. 6, e constitui a base para a descrição geral deste exemplo. Utilizando os métodos divulgados e aqueles conhecidos para um perito na especialidade, em conjunto com a orientação proporcionada nos exemplos ilustrativos, um perito na especialidade pode criar e avaliar uma gama de proteínas de fusão GHXTEN

compreendendo, XTENs, GH e variantes de GH conhecidas na técnica. O Exemplo é, como tal, para ser interpretado como meramente ilustrativo e não limitativo dos métodos de qualquer forma em absoluto; numerosas variações serão aparentes para o perito na especialidade. Neste Exemplo, um GHXTEN de hormona do crescimento humano ligado a um XTEN da família de motivos AE será criado.

O esquema geral para a produção de polinucleótidos que codificam XTEN é apresentado nas FIGS. 4 e 5. A FIG. 5 é um fluxograma esquemático de etapas representativas na montagem de uma construção de polinucleótido de XTEN numa das formas de realização da invenção. Os oligonucleótidos individuais **501** são anelados em motivos de sequência **502**, tais como um motivo de 12 aminoácidos ("12-mero"), que é subsequentemente ligado com um oligo contendo BbsI e os locais de restrição KpnI **503**. As bibliiotecas de motivos podem ser limitadas a famílias de XTEN de sequência específica; por exemplo, sequências AD, AE, AF, AG, AM ou AQ do Quadro 1. Neste caso, os motivos da família AE seriam utilizados como a biblioteca de motivos, que são anelados ao 12 mero para criar um comprimento de "bloco de construção"; por exemplo, um segmento que codifica 36 aminoácidos. O gene que codifica a sequência de XTEN pode ser montado por meio de ligação e multimerização dos "blocos de construção" até que o comprimento desejado do gene XTEN 504 seja alcançado. Conforme é ilustrado na FIG. 5, o comprimento de XTEN neste caso é de 48 resíduos de aminoácidos, mas comprimentos mais longos podem ser alcançados através deste processo. Por exemplo, a multimerização pode ser realizada por ligação, extensão por superposição, montagem por PCR ou técnicas de clonagem semelhantes conhecidas na técnica. O gene XTEN pode ser clonado num vetor stuffer. No exemplo ilustrado na FIG. 5, o vetor pode codificar uma sequência Flag 506 seguida por uma sequência stuffer que está flanqueada pelos sítios

BsaI, BbsI e KpnI **507** e um gene de GH (p. ex., hGH) **508**, resultando no gene que codifica o GHXTEN **500**, que, neste caso codifica a proteína de fusão na configuração, terminal N para C, XTEN-hGH.

As sequências de ADN que codificam GH podem ser convenientemente obtidas por procedimentos padrão conhecidos na técnica a partir de uma biblioteca de ADN preparada a partir de uma fonte celular apropriada, a partir de uma biblioteca genómica ou podem ser criados sinteticamente (por exemplo, síntese de ácidos nucleicos automatizada) utilizando sequências de ADN obtidas a partir de bases de dados publicamente disponíveis, patentes ou referências bibliográficas. Um gene ou polinucleótido que codifica a porção GH da proteína pode depois ser clonado numa construção, como aquelas descritas no presente documento, que pode ser um plasmídeo ou outro vetor sob o controlo de sequências de transcrição e tradução adequadas para expressão proteica de alto nível num sistema biológico. Um segundo gene ou polinucleótido que codifica a porção XTEN (no caso da figura 5 ilustrada como AE com 48 resíduos de aminoácidos) pode ser fundido geneticamente aos nucleótidos que codificam o terminal N- do gene hGH, clonando-o na construção adjacente e em moldura com o gene que codifica a hGH, através de uma etapa de ligação ou multimerização. Desta forma, uma molécula de ADN quimérica que codifica (ou é complementar com) a proteínas de fusão XTEN-hGH GHXTEN poderia ser gerada dentro da construção. Opcionalmente, um gene que codifica um segundo XTEN pode ser inserido e ligado em grelha aos nucleótidos que codificam o terminal C do gene XTEN-hGH, resultando numa construção que codifica uma proteína de fusão XTEN-hGH-XTEN. A construção pode ser desenhada em configurações diferentes para codificar as várias permutações dos parceiros de fusão como um polipéptido monomérico. Por exemplo, o gene pode ser criado para codificar a proteína

de fusão na ordem (terminal N para C): hGH-XTEN; XTEN- hGH; hGH-XTEN- hGH; XTEN- hGH-XTEN; bem como multímeros das anteriores. Opcionalmente, esta molécula de ADN quimérico pode ser transferida ou clonada noutra construção que é um vetor de expressão mais apropriado. Neste ponto, uma célula hospedeira capaz de expressar a molécula de ADN quimérico poderia ser transformada com a molécula de ADN quimérico. Os vetores contendo os segmentos de ADN de interesse podem ser transferidos para uma célula hospedeira apropriada através de métodos bem conhecidos, dependendo do tipo de hospedeiro celular, conforme descrito acima.

Células hospedeiras contendo o vetor de expressão XTEN-GH poderiam ser cultivadas em meios nutritivos convencionais modificados como apropriado para ativar o promotor. As condições de cultura, tais como temperatura, pH e semelhantes, são aqueles anteriormente utilizados com a célula hospedeira selecionada para expressão e serão evidentes para o perito na especialidade. Depois da expressão da proteína de fusão, as células poderiam ser recolhidas por centrifugação, rompidas por meios físicos ou químicos e o extrato bruto resultante retido para purificação da proteína de fusão, conforme descrito abaixo. Para composições de GHXTEN secretadas pelas células hospedeiras, o sobrenadante da centrifugação seria separado e retido para purificação adicional.

A expressão génica seria medida numa amostra diretamente, por exemplo, por *Southern blotting*, *Northern blotting* convencionais para quantificar a transcrição de ARNm [Thomas, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 77:5201-5205 (1980)], *dot blotting* (análise de ADN) ou hibridação *in situ*, utilizando uma sonda apropriadamente marcada, com base nas sequências proporcionadas no presente documento. Alternativamente, a expressão génica seria medida por métodos imunológicos e de fluorescência, como coloração imunohistoquímica de células para quantificar diretamente a

expressão do produto génico. Os anticorpos úteis para coloração imuno-histoquímica e/ou ensaio de fluidos de amostra podem ser monoclonais ou policlonais e podem ser preparados em qualquer mamífero. Convenientemente, os anticorpos podem ser preparados contra o polipéptido de sequência GH utilizando um péptido sintético baseado nas sequências proporcionadas no presente documento ou contra uma sequência exógena fundida a hGH e que codifica um epítopo de anticorpo específico. Exemplos de marcadores selecionáveis são bem conhecidos para um perito na especialidade e incluem repórteres como proteína fluorescente verde potenciada (EGFP), beta-galactosidase (β-gal) ou cloranfenicol acetiltransferase (CAT).

O produto polipeptídico de XTEN-hGH seria purificado por métodos conhecidos na técnica. Procedimentos tais como filtração em gel, purificação por afinidade, fracionamento com sal, cromatografia de permuta iónica, cromatografia por exclusão de tamanho, cromatografia de adsorção com hidroxiapatite, cromatografia de interação hidrofóbica ou eletroforese em gel são todas técnicas que podem ser utilizadas na purificação. Métodos específicos de purificação são descritos em Robert K. Scopes, Protein Purification: Principles and Practice, Charles R. Castor, ed., Springer-Verlag 1994, e Sambrook, *et al.*, *supra*. Separações de purificação de múltiplas etapas são também descritas em Baron, *et al.*, Crit. Rev. Biotechnol. 10:179-90 (1990) e Below, *et al.*, J. Chromatogr. A. 679:67-83 (1994).

Conforme é ilustrado na FIG. 6, as proteínas de fusão XTEN-hGH seriam depois caracterizadas quanto às suas propriedades químicas e de atividade. Uma proteína de fusão isolada seria caracterizada, por exemplo, quanto à sequência, pureza, massa molecular aparente, solubilidade e estabilidade utilizando métodos padrão conhecidos na técnica. A proteína de fusão que cumpre com os padrões

esperados poderia então ser avaliada quanto à atividade, que pode ser medido *in vitro* ou *in vivo* medindo um dos parâmetros associados à hormona do crescimento descritos no presente documento, utilizando um ou mais ensaios divulgados no presente documento ou utilizando os ensaios dos Exemplos ou Quadro 34.

Além disso, a proteína de fusão XTEN-GH seria administrada a uma ou mais espécies animal para determinar os parâmetros farmacocinéticos padrão, conforme descrito nos Exemplos 30-32.

Através do processo interativo de produção, expressando e recuperando construções XTEN-hGH, seguido pela sua caracterização utilizando métodos divulgados no presente documento ou outros conhecidos na técnica, as composições de GHXTEN compreendendo hGH e um XTEN podem ser produzidas e avaliadas por um perito na especialidade para confirmar as propriedades esperadas como solubilidade potenciada, estabilidade potenciada, farmacocinética melhorada e imunogenicidade reduzida, conduzindo a uma atividade terapêutica global potenciada em comparação com a hGH não fundida correspondente. Para aquelas proteínas de fusão que não possuem as propriedades desejadas, uma sequência diferente pode ser construída, expressa, isolada e avaliada através destes métodos, de modo a obter uma composição com tais propriedades.

Exemplo 19: Construção de genes e vetores de hGH ligados a sequências K e Y XTEN

Construções de GHXTEN da série K

Um vetor da série pET foi construído com o promotor T7, que expressa uma proteína contendo o domínio de ligação de celulose (CBD) no terminal N, seguido por um sítio de clivagem da protease do vírus Tomato Etch (TEV), seguido pela sequência de codificação de hGH e pela sequência de codificação K288: CBD-K288- hGH. A K288 tem a sequência repetitiva $(GEG- GGEGGE)_{32}$. A sequência CBD utilizada é

mostrada no arquivo Swissprot Q06851 e a purificação das proteínas de fusão CBD é descrita em Ofir, K. et al. (2005) Proteomics 5:1806. A sequência do local de clivagem TEV é ENLYFQ/X; G foi usado na posição X. Esta construção foi transformada em estirpe de E. coli BL21 (DE3)-star e crescida sob condições que promovem a expressão. As células foram coletadas e rompidas. O sobrenadante celular foi aplicado na resina de celulose com contas (Perloza 100), lavado com tampão A (Tris a 25 mM pH=8,0) e eluído da coluna com NaOH a 20 mM. O pH foi ajustado por titulação da amostra com tampão Tris a 1 M pH = 8,0. A pureza da proteína foi estimada acima de 90%. A proteína eluída foi digerida com protease de TEV purificada de um dia para o outro a 4 °C, e a amostra digerida foi aplicada a uma resina de celulose frisada (Perloza 100). O CBD foi mantido na coluna e o K288-hGH foi encontrado no fluxo da coluna. O fluxo combinado foi carregado na troca aniónica (Q-sepharose, Pharmacia), permuta com tampão A (Tris a 25 mM pH = 8,0) e eluído da coluna utilizando um gradiente linear raso do mesmo tampão com NaCl a 1 M. A proteína de fusão eluída foi reunida, dialisado contra tampão A, concentrado e purificado por cromatografia de exclusão de tamanho (SEC) como a purificação final. A pureza da proteína foi estimada acima de 98%. A proteína final é K288-hGH. As análises de SDS PAGE das amostras ao longo do processo de purificação são mostradas na FIG. 20.

Construções de GHXTEN da série Y

O gene que codifica hGH foi amplificado pela reação em cadeia da polimerase (PCR), que introduziu os sítios de restrição BbsI e HindIII que são compatíveis com os sítios BbsI e HindIII que flanqueiam o stuffer no vetor de destino XTEN. O plasmídeo pCBD-XTEN é um derivado pET30 de Novagen no formato do domínio de ligação de celulose (CBD)-XTEN-Stuffer, onde Stuffer é proteína verde fluorescente (GFP) e XTEN pode ter qualquer comprimento de 36 a 576 ou superior.

As construções foram geradas substituindo uma sequência de stuffer em pCBD-XTEN pelo fragmento codificador de hGH (Fig. 7B). O pCBD- XTEN apresenta um promotor T7 a montante de CBD seguido por uma sequência XTEN fundida em estrutura a montante da sequência de stuffer. As sequências XTEN empregues pertencem à família XTEN_Y e codificam comprimentos que incluem 36, 72, 144, 288 e 576 aminoácidos. O fragmento de stuffer foi removido por digestão por restrição utilizando as endonucleases BbsI e HindIII. O fragmento de ADN de hGH digerido por restrição foi ligado no vetor pCBD-XTEN clivado utilizando T4 DNA ligase e eletroporado em BL21 (DE3) Gold (Stratagene). Os transformantes foram rastreados por miniprep de ADN e a construção desejada foi confirmada por sequenciação de ADN. O vetor final produz o gene CBD_XTEN_hGH sob o controlo de um promotor T7. As sequências de DNA resultantes codificadas para GH ligadas a XTEN de comprimentos de 36, 72, 144 e 288 aminoácidos, respetivamente.

Exemplo 20: Construção de genes e vetores de hGH-XTEN utilizando sequências AE e AM XTEN

O gene que codifica hGH foi amplificado pela reação em cadeia da polimerase (PCR), que introduziu os sítios de restrição NdeI e BbsI que são compatíveis com os sítios NdeI e BsaI que flanqueiam o stuffer no vetor de destino XTEN. O plasmídeo pXTEN é um derivado pET30 de Novagen no formato de Stuffer-XTEN, onde Stuffer pode ser proteína verde fluorescente (GFP)ou CBD e XTEN pode ter qualquer comprimento de 36 a 1318 aminoácidos ou superior (FIG. 7). As construções foram geradas substituindo uma sequência de stuffer em pXTEN pelo fragmento codificador de hGH. O pXTEN apresenta um promotor T7 a montante da sequência stuffer e uma sequência XTEN fundida em estrutura a jusante da sequência de stuffer. As sequências XTEN empregues pertencem à família AE ou AM de XTEN e codificam comprimentos que incluem 36, 72, 144, 288, 576, 864, 875 e

1318 aminoácidos. O fragmento de stuffer foi removido por digestão por restrição utilizando as endonucleases NdeI e BsaI. O fragmento de ADN de hGH digerido por restrição foi ligado no vetor pXTEN clivado utilizando T4 DNA ligase e eletroporado em BL21 (DE3) Gold (Stratagene). Os transformantes foram rastreados por miniprep de ADN e as construções desejadas foram confirmadas por sequenciação de ADN. O vetor final produz o gene de hGH-XTEN sob o controlo de um promotor T7 e seria utilizado para expressar uma proteína de fusão com hGH no terminal N.

Exemplo 21: Construção de XTEN-hGH e genes e vetores de XTEN-hGH utilizando sequências AE e AM XTEN

O gene que codifica hGH foi amplificado pela reação em cadeia da polimerase (PCR), que introduziu os sítios de restrição BbsI e HindIII que são compatíveis com os sítios BbsI e HindIII que flanqueiam o stuffer no vetor de destino XTEN. O plasmídeo pCBD-XTEN é um derivado pET30 de Novagen no formato do domínio de ligação de celulose (CBD)-XTEN-Stuffer, onde Stuffer é proteína verde fluorescente (GFP) e XTEN pode ter qualquer comprimento de 36 a 1318 ou superior (FIG. 7). As construções foram geradas substituindo uma sequência de stuffer em pCBD-XTEN pelo fragmento codificador de hGH. O pCBD- XTEN apresenta um promotor T7 a montante de CBD seguido por uma sequência XTEN fundida em estrutura a montante da sequência de stuffer. As sequências XTEN empregues pertencem à família XTEN_AE e XTEN_AM e codificam comprimentos que incluem 36, 72, 144, 288, 576, 864, 875 e 1318 aminoácidos. O fragmento de stuffer foi removido por digestão por restrição utilizando as endonucleases BbsI e HindIII. O fragmento de ADN de hGH digerido por restrição foi ligado no vetor pCBD-XTEN clivado utilizando T4 DNA ligase e eletroporado em BL21 (DE3) Gold (Stratagene). Os transformantes foram rastreados por miniprep de ADN e a construção desejada foi confirmada por sequenciação de ADN. O vetor final produz o gene de

CBD_XTEN_hGH sob o controlo de um promotor T7 e seria utilizado para expressar uma proteína de fusão com hGH no terminal N.

Exemplo 22: Construção de genes e vetores XTEN-AE_hGH_XTEN-AE

O gene que codifica hGH foi amplificado pela reação em cadeia da polimerase (PCR), que introduziu os sítios de restrição BsaI e HindIII que são compatíveis com os sítios BbsI e HindIII que flanqueiam o stuffer no vetor de destino pNTS-XTEN. O plasmídeo pNTS-XTEN_AE é um derivado pET30 de Novagen no formato de sequência de expressão XTEN de N-terminal de 48 aminoácidos-XTEN-Stuffer, onde Stuffer é proteína verde fluorescente (GFP) e XTEN pode ter qualquer comprimento de 36 a 576 ou superior. As construções foram geradas substituindo uma sequência de stuffer em pNTS-XTEN pelo fragmento codificador de hGH. O pNTS-XTEN apresenta um promotor T7 a montante de NTS seguido por uma sequência XTEN fundida em estrutura a montante da sequência de stuffer. As sequências XTEN empregues pertencem à família XTEN_AE e codificam comprimentos que incluem 36, 72, 144, 288, 576, 864 e 1296 aminoácidos. O fragmento de stuffer foi removido por digestão por restrição utilizando as endonucleases BbsI e HindIII. O fragmento de ADN de hGH digerido por restrição foi ligado no vetor pNTS-XTEN clivado utilizando T4 DNA ligase e eletroporado em BL21 (DE3) Gold (Stratagene). Em alguns casos, uma segunda sequência XTEN_AE de 144 ou 288 aminoácidos foi ligada ao terminal C do gene codificador de hGH, cujas etapas estão ilustradas na FIG. 8. O gene que codifica hGH foi amplificado pela reação em cadeia da polimerase (PCR), que introduziu os sítios de restrição BsaI e HindIII (com adicional BbsI em frente de HindIII) que são compatíveis com os sítios BbsI e HindIII que flanqueiam o stuffer no vetor de destino pNTS-XTEN. Após digestões com enzimas de restrição, ligação e transformação, o plasmídeo

intermediário resultante tem o formato de pNTS-XTEN-hGH com os sítios de restrição BbsI/HindIII no terminal C de hGH. O plasmídeo intermediário foi ainda digerido com BbsI e HindIII, ligado com a segunda sequência XTEN_AE de 144 ou 288 aminoácidos flanqueada por BsaI e HindIII, colocando o AE144 ou os sequências de codificação AE288 no terminal C do gene XTEN-hGH e transformados em ouro BL21 (DE3). Os transformantes foram rastreados por miniprep de ADN e a construção desejada foi confirmada por sequenciação de ADN. Os vetores finais, descritas acima, rendem os genes nas configurações de NTS_XTEN_hGH ou NTS_XTEN_hGH_XTEN, sob o controlo de um promotor T7, conforme mostrado nas FIG. 7C e 7D.

Exemplo 23: Purificação de construções GHXTEN_AE

Proteína de expressão

Os plasmídeos descritos acima foram transformados em estirpe BL21 (DE3) -Gold *E. coli* (Novagen) e plaqueados em uma placa LB-agar com os antibióticos apropriados e crescidos durante a noite a 37 °C. Uma única colónia foi inoculada em 5 ml de meio TB125 e cresceu durante a noite a 37 °C. No dia seguinte, o inóculo foi transformado em um vaso de 2 L com 500 ml de TB125 e cresceu até atingir uma OD = 0,6, seguido por crescimento contínuo a 26 °C durante 16 horas com IPTG 0,1 mM.

As células foram recolhidas por centrifugação e o sedimento celular foi ressuspenso em 50 ml de tampão contendo Tris a 5 mM, pH 8,0, NaCl a 100 mM. As células foram rompidas usando um homogeneizador APV-2000. O pH do lisado foi então ajustado para pH 4,5 com ácido acético para precipitar proteínas de células hospedeiras contaminantes e posteriormente foi clarificado por centrifugação. O lisado tratado com ácido clarificado foi então aplicado a uma coluna de cromatografia de permuta de aniões DE52 e eluído com NaCl. A fração eluída foi então acidificada até pH 4,2 e aplicada a uma coluna de

cromatografia de troca de catiões MacroCAPSP. O produto foi eluído utilizando eluição sequencial com NaCl. Uma etapa de cromatografia adicional empregando Macrocap Q foi implementada para remover agregados relacionados ao produto e impurezas residuais da célula hospedeira (por exemplo, endotoxina, ADN, proteína de célula hospedeira).

A pureza da proteína foi estimada acima de 98%. A quantidade de proteína de fusão eluída foi determinada por análise SDS-PAGE e por medição da concentração total de proteína. A elevada quantidade de proteína de fusão de GHXTEN eluída reflete o maior grau de solubilidade da proteína de fusão em relação à hGH não ligada ao XTEN (veja-se, por exemplo, Singh, S. M., et al. (2005) J Biosci Bioeng, 99: 303; Patra, A. K., et al. (2000) Protein Expr Purif, 18: 182), bem como a capacidade de permanecer solúvel em condições acidificadas que resultam na precipitação da proteína das células hospedeiras.

Formulação final e armazenamento

As proteínas permutadas com tampão foram então concentradas utilizando uma unidade de ultrafiltração centrífuga de 10K MWCO Vivacell 100 a não menos de 15 mg/ml. O concentrado foi esterilizado por filtração usando um filtro de seringa de 0,22 um. A solução final foi dividida em alíquotas e armazenada a -80 °C.

Exemplo 24: Caracterização de construções de GHXTEN

Análise de SDS-PAGE

5 µg de proteínas GHXTEN purificadas finais de GH ligadas a Y576 (qualquer terminal N ou C de Y576) foram submetidos a SDS-PAGE não redutor e reduzindo utilizando o NuPAGE 4-12% de gel Bis-Tris de Invitrogen de acordo com as especificações do fabricante. O gel resultante é mostrado na FIG. 20.

Cromatografia por exclusão de tamanho analítica

A análise de cromatografia de exclusão de tamanho foi realizada utilizando uma coluna TSKGel-G4000 SWXL (7,8 mm x

30 cm). Foram separados 20 µg da proteína purificada a uma concentração de 1 mg/ml a um taxa de fluxo de 0,6 ml/min em fosfato a 20 mM pH 6,8, NaCl a 114 mM. Os perfis de cromatograma foram monitorizados utilizando DO214 nm e DO280 nm. A calibração da coluna foi realizada utilizando um padrão de calibração por exclusão de tamanho de BioRad, os marcadores incluem tiroglobulina (670 kDa), globulina bovina (158 kDa), ovalbumina de frango (44 kDa), mioglobuina equina (17 kDa) e vitamina B12 (1,35 kDa). Os perfis cromatográficos de Y576-GH foram gerados e demonstraram que a massa molecular aparente de cada construção é significativamente maior que o esperado para uma proteína globular, em comparação com as proteínas padrão executadas no mesmo ensaio (dados não apresentados).

RP-HPLC analítica

A análise de cromatografia de RP-HPLC analítica foi realizada utilizando uma coluna C4 (7,8 mm x 20 cm). A coluna foi equilibrada com 100% de AcetonNitrilo mais 0,1% de TFA na fase móvel a um fluxo de 1 ml/min. Vinte microgramas da proteína purificada, com e sem desnaturação, a uma concentração de 0,2 mg/ml foi injetada separadamente. A proteína foi separada e eluída por gradiente de revestimento dentro de 15 min desde 5% até 60% de tampão contendo H20 de grau HPLC mais TFA a 0,1%. Os perfis de cromatograma foram monitorizados utilizando DO214 nm e DO280 nm. Os perfis cromatográficos de Y576-GH nativos e desnaturados são mostrados como uma sobreposição na FIG. 21.

Exemplo 25: Ensaios de ligação baseados em ELISA

As fusões XTEN para GH foram testadas em um ensaio padrão baseado em ELISA para avaliar sua capacidade de se ligar ao recetor de GH. Os ensaios foram realizados utilizando um formato ELISA em sanduíche no qual um recetor de hGH recombinante (hGHR-Fc) é revestido em poços de uma placa de ELISA. Os poços foram então bloqueados, lavados e

as amostras de GHXTEN são então incubadas nos poços em diluições variáveis para permitir a captura do GHXTEN. Os poços foram lavados extensivamente e a proteína ligada foi detetada usando uma preparação biotinilada de um anticorpo policlonal ou monoclonal anti-GH ou anti-XTEN e estreptavidina HRP. A fração de proteína ligada pode ser calculada comparando a resposta colorimétrica em cada diluição de soro com uma curva padrão de GH não modificada. Num primeiro ensaio comparando hGH ligado a K288 em comparação com hGH recombinante, os resultados, mostrados na FIG. 15, demonstram a capacidade de GHXTEN para se ligar ao recetor de hGH. Num segundo ensaio, duas configurações de GHXTEN; AM864-hGH e hGH-AM864; comparou com a hGH recombinante. Os resultados, mostrados na FIG. 16, indicam valores aparentes de CE50 para hGH nativa de 0,0701 nM, AM864-hGH de 0,3905 e hGH-AM864 de 2,733. Num terceiro ensaio, HGH recombinante foi comparada com AE912-hGH-AE144 de modo a mostrar a capacidade de reduzir a afinidade de ligação pela adição de um XTEN C-terminal ao componente hGH de uma proteína de fusão GHXTEN e os resultados (Figura 18) demonstram uma diminuição em afinidade de ligação de aproximadamente 17 vezes em comparação com hGH.

Exemplo 26: Efeito do tratamento térmico sobre a estabilidade de hGH e GHXTEN

A capacidade do XTEN de conferir estabilidade estrutural à molécula terapêutica anexada foi investigada. As amostras de hGH e AM864-hGH foram incubadas a 25 °C e 80 °C e depois analisadas por meio de eletroforese em gel e coloração com Coomassie. A FIG. 17A é um gel de SDS-PAGE das duas preparações tratadas a 25 °C e 80 °C durante 15 minutos, enquanto que a FIG. 17B mostra a percentagem correspondente de atividade de ligação ao recetor da amostra a 80 °C em relação ao tratamento a 25 °C. Os resultados indicam que a hGH desnatura-se sob as condições de tratamento enquanto a construção GHXTEN permanece em

grande parte estável nas condições experimentais, mantendo quase 80% de sua atividade de ligação ao receptor.

Conclusões: O componente XTEN da proteína de fusão GHXTEN confere propriedades de solubilidade e estabilidade reforçadas à proteína de fusão em comparação com a hGH não ligada ao XTEN.

Exemplo 27: Efeitos comparativos de hGH e AM864-hGH na secreção de IGF-1

A capacidade de um GHXTEN para reter a potência farmacológica foi avaliada utilizando o parâmetro medido de IGF-1 circulante em resposta ao composto administrado. A FIG. 24 mostra os efeitos da administração diária de hGH (0,071 mg/kg por dia) ou uma dose única de AM864-hGH (5 mg/kg; equivalente a 1,1 mg / kg) em níveis circulantes de IGF-1 em macacos cinomolgos (n=4/grupo), representado como variação percentual em relação à avaliação inicial. Os resultados mostram atividade aprimorada pela construção GHXTEN, apesar de ser administrado apenas uma vez no início a experiência.

Exemplo 28: Efeitos comparativos de hGH e AM864-hGH no ganho de peso corporal

A capacidade de um GHXTEN para reter a potência farmacológica foi avaliada utilizando o parâmetro de ganho de peso corporal num rato hipox em resposta ao composto administrado. A FIG. 25 mostra os efeitos da administração de hGH ou AM864-hGH nas frequência de dose e doses indicadas no ganho de peso corporal num modelo de rato hipox. Os resultados mostram a retenção da atividade biológica pelas construções BPXTEN que é equivalente em potência a dosagem comparável à hGH, ainda com uma dosagem menos frequente. O aumento da dosagem de AM864-hGH levou a aumentos nos ganhos de peso corporal mostrando o aprimoramento das propriedades farmacodinâmicas do GHXTEN em comparação com a hGH nessas condições.

Exemplo 29: Efeitos comparativos de hGH e AM864-hGH na cartilagem óssea

A capacidade de um GHXTEN para reter a potência farmacológica foi avaliada utilizando o parâmetro medido de aumento na largura da placa epifisária da tíbia em ratos hypox. A FIG. 26 mostra os efeitos comparativos da administração de placebo, hGH e AM864-hGH, mostrado em secções transversais histológicas da tíbia de ratos após 9 dias de tratamento, com as margens denotadas com linhas tracejadas. Os grupos são os mesmos que mostrados na Fig. 26. A FIG. 26A mostra que o grupo placebo tinha uma largura média de seção transversal de 344 ± 38,6 μm da placa após 9 dias. A FIG. 26B mostra que o grupo hGH (10μg diariamente) tinha uma largura média de seção transversal de 598 ± 8,5 μm após 9 dias. A FIG. 26C mostra que o AM864-hGH (15 mg/kg q3d) tinha uma largura média de secção transversal de 944 ± 8,5 μm após 9 dias. Os resultados mostram atividade aprimorada pela construção GHXTEN hGH em comparação com hGH, apesar de ser administrado em intervalos menos freqüentes.

Exemplo 30: Análise de PK de fusões de proteína GHXTEN

GH-Y576 e Y576h-GH (neste caso indicando a ordem N-C-terminal de GH e XTEN) foram injetados em macacos cinomolgos para determinar parâmetros farmacocinéticos *in vivo*. As composições foram proporcionadas num tampão aquoso e foram administradas por rotas intravenosas em animais separados a 0,15 mg/kg de dosagem. As amostras de soro foram recolhidas em vários pontos de tempo após a administração e analisaram as concentrações séricas das proteínas acessórias. A análise foi realizada utilizando um formato ELISA em sanduíche. Os anticorpos policlonais de coelho anti-XTEN (para XTEN de Y) foram revestidos em poços de uma placa de ELISA. As amostras de soro foram então incubadas nos poços em diluições variáveis para permitir a captura do composto pelos anticorpos revestidos. Os poços

foram lavados extensivamente e a proteína ligada foi detetada utilizando uma preparação biotinilada de um anticorpo policlonal anti-XTEN e estreptavidina HRP. As concentrações de proteína sérica foram calculadas em cada ponto do tempo comparando a resposta colorimétrica em cada diluição do soro com uma curva padrão. Os parâmetros farmacocinéticos foram calculados utilizando o pacote de software WinNonLin.

A FIG. 22 mostra o perfil de concentração das duas construções de GH após administração intravenosa a macacos cinomolgos. Após a administração IV, a semivida foi calculada para ser 7 horas para hGH-Y576 e 10,5 horas para Y576-hGH. Para referência, a semivida publicada de GH não modificada é bem descrita na literatura como 10-15 minutos em seres humanos adultos (veja-se, por exemplo, Hindmarch, P.C., *et al.*, Clinical Endocrinology (2008) 30(4): 443-450). Os resultados mostram que a orientação (N- versus C-terminal) de hGH em relação ao XTEN não afetou a depuração das proteínas de fusão e que a adição do Y576 ampliou amplamente a semivida terminal da proteína de fusão.

Outro estudo farmacocinético em macacos cinomolgos foi realizado utilizando a construção AM864-hGH. A FIG. 23 mostra o perfil farmacocinético após uma dose única de 5 mg/kg de AM864-hGH administrada subcutaneamente a macacos cinomolgos, com a concentração de hGH equivalente derivada mostrada (linha tracejada).

Conclusões: O componente XTEN da proteína de fusão GHXTEN confere propriedades farmacocinéticas reforçadas à proteína de fusão em comparação com a hGH não ligada ao XTEN, sob estas condições.

Exemplo 31: Análise de PK de polipéptidos de fusão de hGH XTEN em ratos

As proteínas de fusão GHXTEN AE912-hGH, AM864-hGH (sinónimoo de AM875-hGH para este e os seguintes Exemplos), AE912-hGH e AE912-hGH-AE288 foram avaliados em macacos

cinomolgos com a finalidade determinar parâmetros farmacocinéticos *in vivo* dos polipéptidos hGHXTEN. Todas as composições foram proporcionadas num tampão aquoso e foram administradas por rota subcutânea (SC) em animais separados utilizando doses únicas 1,5 mg/kg. As amostras de plasma foram recolhidas em vários pontos de tempo após a administração e analisaram as concentrações dos artigos de teste. A análise foi realizada utilizando um formato ELISA em sanduíche. O hGHR-Fc recombinante foi revestido em poços de uma placa de ELISA. Os poços foram bloqueados, lavados e amostras de plasma foram então incubadas nos poços em diluições variáveis para permitir a captura do composto pelos anticorpos revestidos. Os poços foram lavados extensivamente e a proteína ligada foi detetada utilizando uma preparação biotinilada de um anticorpo policlonal anti-hGH e estreptavidina HRP. As concentrações do artigo de teste foram calculadas em cada ponto do tempo comparando a resposta colorimétrica em cada diluição do soro com uma curva padrão. Os parâmetros farmacocinéticos foram calculados utilizando o pacote de software WinNonLin.

A FIG. 27 mostra os perfis de concentração das quatro construções de XTEN após administração subcutânea. A semivida terminal calculada para AE912-hGH foi de 7,5 h, 6,8 h para AM864-hGH (sinônimo de AM875-hGH), 12,4 h para AE912-hGH-AE144 e 13,1 h para AE912-hGH-AE288. Para comparação, A hGH não modificada foi executada em paralelo na mesma experiência e mostrou uma semivida plasmática dramaticamente mais curta.

Conclusões: A incorporação de diferentes sequências XTEN em proteínas de fusão compreendendo hGH resulta em aumento significativo dos parâmetros farmacocinéticos para todas as quatro composições em comparação com hGH não modificada, conforme demonstrado no modelo de roedor nestas condições. A adição de uma segunda proteína XTEN ao terminal C das construções AE-hGH resulta em um aumento

adicional da semivida terminal em comparação com as construções com um único XTEN; provavelmente devido à redução da depuração mediada pelo recetor.

Exemplo 32: Análise de PK de polipéptidos de fusão de hGH XTEN em macacos cinomolgos

Proteínas de fusão GHXTEN contendo uma ou duas moléculas XTEN (AE912-hGH, AM864-hGH e AE912-hGH-AE144) foram avaliados em macacos cinomolgos para determinar o efeito da inclusão de um segundo XTEN nos parâmetros farmacocinéticos *in vivo* dos polipéptidos hGHXTEN. Todas as composições foram proporcionadas num tampão aquoso e foram administradas por rota subcutânea (SC) em animais separados utilizando doses únicas 1,5 mg/kg. As amostras de plasma foram recolhidas em vários pontos de tempo após a administração e analisaram as concentrações dos artigos de teste. A análise foi realizada utilizando um formato ELISA em sanduíche. O hGHR-Fc recombinante foi revestido em poços de uma placa de ELISA. Os poços foram bloqueados, lavados e amostras de plasma foram então incubadas nos poços em diluições variáveis para permitir a captura do composto pelos anticorpos revestidos. Os poços foram lavados extensivamente e a proteína ligada foi detetada utilizando uma preparação biotinilada de um anticorpo policlonal anti-hGH e estreptavidina HRP. As concentrações do artigo de teste foram calculadas em cada ponto do tempo comparando a resposta colorimétrica em cada diluição do soro com uma curva padrão. Os parâmetros farmacocinéticos foram calculados utilizando o pacote de software WinNonLin e a FIG. 28 mostra os perfis de concentração das três construções de HGH XTEN após administração subcutânea ao longo do período de 336 h. A semivida terminal média para as proteínas de fusão foi de 33 h para AM864-hGH, 44 h para AE912-hGH e 110 h para o AE912-hGH-AE144 (contendo dois XTEN ligados aos terminais N- e C da hGH).

Conclusões: A incorporação de diferentes sequências

XTEN em proteínas de fusão compreendendo hGH resultou em aumento significativo dos parâmetros farmacocinéticos para todas as três composições, conforme demonstrado no modelo de cinomolgos nestas condições, com a construção contendo um segundo XTEN ligado ao terminal C da hGH mostrando um aumento maior do que cerca de duas vezes da semivida terminal em comparação com o GHXTEN com um único XTEN no terminal N.

Exemplo 33: Avaliação dos efeitos farmacodinâmicos de AE912-hGH-AE144 GHXTEN pela medição da resposta de IGF-1 em macacos cinomolgos

AE912-hGH-AE144 foi administrado a cinomolgos SC masculino e feminino a 0,3, 1,5 e 7,5 mg/kg e volumes de dose variando desde 0,80 até 1,13 ml. Amostras de sangue (1,0 mL) foram recolhidas em tubos heparinizados pré-arrefecidos em predose, 2, 4, 8, 24, 48, 72, 96, 120, 168, 216, 264, 336, 388, 432, 504 horas de pontos de tempo (16) e processadas no plasma. O PK foi medido por ensaio ELISA utilizando o anticorpo de captura anti-XTEN e o anticorpo de deteção anti-hGH biotinilado. As amostras de IGF-1 foram enviadas e analisadas pela Millipore. Os parâmetros PK foram calculados por análise utilizando o pacote de software WinNonLin e são mostrados no quadro abaixo. Os perfis de concentração plasmática das três doses de níveis de GHXTEN e IGF-1 são mostrados na FIG. 29 e a FIG. 30, respetivamente (círculos abertos= 0,3 mg/kg; quadrados = 1,5 mg/kg; triângulos = 7,5 mg/kg). Os resultados mostram que a administração de AE912-hGH-AE144 resulta em um aumento sustentado dos níveis de IGF-1, consistente com o modo de ação biológico da hormona do crescimento e a semivida plasmática longa de AE912-hGH-AE 144.

Quadro 22: Parâmetros de PK em macacos cinomolgos

	0,3 mg/kg	**1,5 mg/kg**	**7,5 mg/kg**
Via	sc	sc	sc
T ½ (h)	84,4	97,5	101,1

Cmax (nM)	41	910	340
AUC (nM*h)	5.170	162.000	64.100

Exemplo 34: Biodisponibilidade comparativa de AE912-hGH-AE144 via administração subcutânea e intramuscular em macacos cinomolgos

AE912-hGH-AE144 foi administrado a cynos SC masculino e feminino a 1,5 mg/kg por via intravenosa, subcutânea e intramuscular. Amostras de sangue (1,0 mL) foram recolhidas em tubos heparinizados pré-arrefecidos em predose, 2, 4, 8, 24, 48, 72, 96, 120, 168, 216, 264, 336, 388, 432, 504 horas de pontos de tempo (16) e processadas no plasma. Os níveis plasmáticos em cada ponto de tempo foram medidos por ensaio ELISA utilizando o anticorpo de captura anti-XTEN e o anticorpo de deteção anti-hGH biotinilado. Os parâmetros de biodisponibilidade e PK foram calculados por análise utilizando o pacote de software WinNonLin e são mostrados no quadro abaixo. Os perfis de concentração de plasma são mostrados na FIG. 31 (círculos abertos = subcutâneo; triângulo = IV; quadrados = intramuscular). Para os cálculos de biodisponibilidade, a AUC para administração intravenosa foi definida como 100%. Os resultados mostram que AE912-hGH-AE144 mostra uma alta biodisponibilidade e distribui-se rapidamente do local da injeção para o compartimento sanguíneo após a injeção.

Quadro 23: Parâmetros de PK em macacos cinomolgos

	1,5 mg/kg	**1,5 mg/kg**	**1,5 mg/kg**
Via	sc	IV	IM
T© (h)	97,5	107,7	102,2
Cmax (nM)	910	462	245
AUC (nM*h)	162.000	60.300	43.200
Biodisponibilidade	~100%	100%	72%

Exemplo 35: Determinação da janela terapêutica para AE912-hGH-AE144

A atividade específica do GHXTEN AE912-hGH-AE144 foi avaliada utilizando o parâmetro medido de ganho de peso corporal em um rato hipofisectomizado (hipox) em resposta ao composto administrado. A FIG. 32 mostra os efeitos da administração de veículo (círculos abertos), hGH recombinante dosificado a 5 nmol/kg/dia (círculos fechados), o GHXTEN AE912-hGH-AE144 em doses variáveis e frequência de dose (triângulos fechados = 0,5 nmol/kg/dia; triângulos abertos = 1,5 nmol/dia; quadrados = 3 nmol/kg/Q2D) de peso corporal em ratos. Os resultados mostram que uma dose de GHXTEN AE912-hGH-AE144 tão baixa quanto 1,5 nmol/kg dia produz um crescimento comparável a hGH sozinho. Contudo, uma dose menor de 0,5 nmol/kg/dia não promove o crescimento nesses animais. Com base nos perfis farmacocinéticos determinados nos ratos, um modelo para níveis plasmáticos após a dosagem repetida foi construído como mostrado na FIG. 33 (mesmo grupos como na Figura 32). O modelo diferencia claramente as doses eficazes da dose menor não eficaz. Os resultados mostram que a concentração plasmática de AE912-hGH-AE144 geralmente deve permanecer acima de cerca de 1 nmol/L de concentração com a finalidade de manter um crescimento ótimo no modelo de rato hipofisomectomizado.

Exemplo 36: Desenhos de ensaios clínicos humanos para avaliação de GHXTEN

Os ensaios clínicos podem ser concebidos de tal forma que a eficácia e as vantagens das composições GHXTEN, em relação as hormonas biológicas correspondentes da hormona do crescimento, pode ser verificada em seres humanos. Por exemplo, as construções de fusão GHXTEN compreendendo crescimento, conforme descrito nos Exemplos acima, pode ser usado em ensaios clínicos para caracterizar a eficácia das composições. Os ensaios podem ser realizados em uma ou mais

doenças, distúrbios ou condições patológicas relacionadas com a hormona do crescimento que são aprimoradas, melhorada ou inibida pela administração de hormona do crescimento. Tais estudos em pacientes adultos compreendem três fases. Em primeiro lugar, um estudo de Fase I de segurança e farmacocinética em pacientes adultos é conduzido para determinar a dose máxima tolerada e farmacocinética e farmacodinâmica em seres humanos (indivíduos normais ou pacientes com doença ou condição de crescimento), bem como para definir possíveis toxicidades e eventos adversos a serem rastreados em estudos futuros. O estudo é conduzido em que as únicas doses crescentes de composições de proteínas de fusão de GHXTEN são administradas e bioquímicas, PK e os parâmetros clínicos são medidos. Isso permite a determinação da dose máxima tolerada e estabelece o limiar e concentrações máximas na dosagem e medicamento circulante que constituem a janela terapêutica para os respetivos componentes. Posteriormente, ensaios clínicos são realizados em pacientes com a doença, distúrbio ou condição patológica.

Ensaios clínicos de fase II e III

Um estudo de dosagem de fase II é conduzido em pacientes onde a farmacodinâmica da hormona do crescimento no sangue e outros parâmetros clínicos, fisiológicos, PK e segurança (como os listados abaixo) são apropriados para ensaios, como a reversão da baixa estatura devido à deficiência de GH em pacientes pediátricos, tratamento de síndrome de Turner, insuficiência renal crónica, síndrome de Prader-Willi, retardo do crescimento intra-uterino ou melhorias na composição da massa corporal (aumento da massa corporal magra, diminuição da massa gorda) em pacientes adultos (como pacientes com tumores hipofisários de HIV + ou adquiridos). Parâmetros e parâmetros clínicos são medidos como uma função da dosagem das composições das proteínas de fusão, produzindo informações de dose-

intervalo em doses que seriam apropriadas para um posterior teste de Fase III, além de coletar dados de segurança relacionados a eventos adversos. Os parâmetros PK estão correlacionados aos dados de parâmetros fisiológicos, clínicos e de segurança para estabelecer a janela terapêutica e o regime de dose terapêutica para a composição GHXTEN, permitindo que o clínico estabeleça os intervalos de dose apropriados para uma composição de GHXTEN. Finalmente, um estudo de eficácia de fase III é conduzido em que os pacientes receberiam a composição de GHXTEN no regime de dose e um controle positivo (como uma hormona do crescimento aprovada comercialmente) ou um placebo é administrado diariamente ou usando outro cronograma de dosagem considerado apropriado Dadas as propriedades farmacocinéticas e farmacodinâmicas da composição de controlo, com todos os agentes administrados por um período de tempo adequadamente prolongado para atingir os pontos finais do estudo. Os parâmetros que são monitorizados incluem GH, concentrações de IGF-1 e IGFBP3, mudanças em velocidade de altura, massa corporal magra, gordura corporal total, gordura do tronco, parâmetros associados a síndrome de resistência à insulina, medição de divisão e taxas de multiplicação de condrócitos e/ou mudanças na densidade óssea e/ou crescimento ósseo; parâmetros que seriam rastreados em relação aos grupos de controlo de placebo ou positivo. Os resultados de eficácia seriam determinados utilizando métodos estatísticos padrão. A toxicidade e marcadores de eventos adversos também são seguidos neste estudo para verificar se o composto é seguro quando utilizado da maneira descrita.

Exemplo 37: Cromatografia por exclusão de tamanho de proteínas de fusão XTEN com diversas cargas úteis

As análises de cromatografia por exclusão de tamanho foram realizadas em proteínas de fusão contendo várias proteínas terapêuticas e proteínas recombinantes não

estruturadas de comprimento crescente. Um ensaio exemplificativo utilizou uma coluna TSKGel-G4000 SWXL (7,8 mm x 30 cm) na qual 40 µg de uma proteína de fusão de glucagon a uma concentração de 1 mg/ml foi separada a uma taxa de fluxo de 0,6 ml/min em fosfato a 20 mM, pH 6,8, NaCl a 114 mM. Os perfis de cromatograma foram monitorizados utilizando DO214 nm e DO280 nm. A calibração da coluna para todos os ensaios foi realizada utilizando um padrão de calibração por exclusão de tamanho de BioRad; os marcadores incluem tiroglobulina (670 kDa), globulina bovina (158 kDa), ovalbumina de frango (44 kDa), mioglobuina equina (17 kDa) e vitamina B 12 (1,35 kDa). Os perfis cromatográficos de Glucagon-Y288, Glucagon-Y144, Glucagon-Y72, Glucagon-Y36 são mostrados como uma sobreposição na FIG. 34. Os dados mostram que a massa molecular aparente de cada composto é proporcional ao comprimento da sequência de XTEN ligada. Contudo, os dados também mostram que a massa molecular aparente de cada construção é significativamente maior do que o esperado para uma proteína globular (como mostrado por comparação com as proteínas padrão testadas no mesmo ensaio). Com base nas análises de SEC para todas as construções avaliadas, incluindo composição de GHXTEN, as Massas Moleculares Aparentes, o Fator de Massa Molecular Aparente (expresso como a razão da Massa Molecular Aparente em relação à massa molecular calculada e o raio hidrodinâmico (R_H em nM) são mostrados no Quadro 24. Os resultados indicam que a incorporação de XTENs diferentes de 576 aminoácidos ou maiores confere um peso molecular aparente para a proteína de fusão de aproximadamente 339 kDa a 760 e que XTEN de 864 aminoácidos ou maior confere um peso molecular aparente maior que aproximadamente 800 kDA. Os resultados de aumentos proporcionais na massa molecular aparente para a massa molecular atual foram consistentes para as proteínas de fusão criadas com XTEN para várias famílias de motivos

diferentes; isto é, AD, AE, AF, AG e AM, com aumentos de pelo menos quatro vezes e razões tão altas como de cerca de 17 vezes. Adicionalmente, a incorporação de parceiros de fusão XTEN com 576 aminoácidos ou mais em proteínas de fusão com as várias cargas úteis (e 288 resíduos no caso de glucagon fundido em Y288) resultou com um raio hidrodinâmico de 7 nm ou superior; bastante além do tamanho de poro glomerular de aproximadamente 3-5 nm. Consequentemente, espera-se que as proteínas de fusão compreendendo crescimento e XTEN teriam uma eliminação renal reduzida, contribuindo para uma semivida terminal aumentada e melhorando o efeito terapêutico ou biológico em relação a uma proteína de carga útil biológica não fundida correspondente.

Quadro 24: Análise de SEC de vários polipéptidos

Nome da Construção	XTEN ou parceiro de fusão	Proteína terapêutica	MW real (kDa)	MW aparente (kDa)	Fator de massa molecular aparente	R_H (nm)
AC14	Y288	Glucagon	28,7	370	12,9	7,0
AC28	Y144	Glucagon	16,1	117	7,3	5,0
AC34	Y72	Glucagon	9,9	58,6	5,9	3,8
AC33	Y36	Glucagon	6,8	29,4	4,3	2,6
AC89	AF120	Glucagon	14,1	76,4	5,4	4,3
AC88	AF108	Glucagon	13,1	61,2	4,7	3,9
AC73	AF144	Glucagon	16,3	95,2	5,8	4,7
AC53	AG576	GFP	74,9	339	4,5	7,0
AC39	AD576	GFP	76,4	546	7,1	7,7
AC41	AE576	GFP	80,4	760	9,5	8,3
AC52	AF576	GFP	78,3	526	6,7	7,6
AC85	AE864	Exendina-4	83,6	938	11,2	8,9
AC114	AM875	Exendina-4	82,4	1344	16,3	9,4
AC143	AM875	hGH	100,6	846	8,4	8,7
AC227	AM875	IL-1ra	95,4	1103	11,6	9,2

AC228	AM1318	IL-1ra	134,8	2286	17,0	10,5

Exemplo 38: Farmacocinética de polipéptidos estendidos fundidos a GFP em macacos cinomolgos

A farmacocinética de GFP-L288, GFP-L576, GFP-XTEN_AF576, GFP-XTEN_Y576 e XTEN_AD836- GFP foi testada em macacos cinomolgos para determinar o efeito da composição e comprimento dos polipéptidos não estruturados nos parâmetros de PK. Amostras de sangue foram analisadas em vários momentos após a injeção e a concentração de GFP no plasma foi medida por meio de ELISA utilizando um anticorpo policlonal contra GFP para a captura e uma preparação biotinilada do mesmo anticorpo policlonal para deteção. Os resultados são resumidos na FIG. 35. Mostram um aumento surpreendente da semivida com o aumento do comprimento da sequência de XTEN. Por exemplo, uma semivida de 10 h foi determinada para GFP-XTEN_L288 (com 288 resíduos de aminoácidos no XTEN). Duplicando o comprimento do parceiro de fusão de polipéptido não estruturado para 576 aminoácidos, aumentou a semivida para 20-22 h para construções de proteínas de fusão múltiplas; isto é, GFP-XTEN_L576, GFP- XTEN_AF576, GFP-XTEN_Y576. Um aumento adicional do comprimento do parceiro de fusão de polipéptido não estruturado para 836 resíduos resultou numa semivida de 72-75 h para XTEN_AD836-GFP. Consequentemente, aumentando o comprimento do polímero em 288 resíduos de 288 para 576 resíduos, aumentou a semivida *in vivo* cerca de 10 h. Contudo, o aumento do comprimento do polipéptido em 260 resíduos de 576 resíduos para 836 resíduos aumentou a semivida em mais de 50 h. Estes resultados mostram que existe um surpreendente limiar de comprimento de polipéptido não estruturado que resulta num ganho maior do que proporcional na semivida *in vivo*. Consequentemente, espera-se que proteínas de fusão que compreendem polipéptidos não estruturados tenham a propriedade de

farmacocinética melhorada em comparação com polipéptidos de comprimentos mais curtos.

Exemplo 39: Estabilidade de XTEN no soro

Uma proteína de fusão contendo XTEN AE864 fundida com o terminal N de GFP foi incubada em plasma de macaco e lisado de rim de rato durante até 7 dias a 37 °C. As amostras foram retiradas no tempo 0, Dia 1 e Dia 7 e analisadas por SDS-PAGE seguido por deteção utilizando análise de Western e deteção com anticorpos contra GFP como mostrado na FIG. 14. A sequência de XTEN_AE864 mostrou sinais insignificantes de degradação durante 7 dias no plasma. Contudo, XTEN_AE864 foi rapidamente degradado no lisado de rim de rato ao longo de 3 dias. A estabilidade *in vivo* da proteína de fusão foi testada em amostras de plasma em que GFP_AE864 foi imunoprecipitado e analisado por SDS PAGE como descrito acima. Amostras que foram retiradas até 7 dias depois da injeção mostraram muitos poucos sinais de degradação. Os resultados demonstraram a resistência de GHXTEN frente à degradação devido às proteases séricas; um fator na potenciação das propriedades farmacocinéticas das proteínas de fusão de GHXTEN.

Exemplo 40: Análise PK da proteína de fusão Ex4-XTEN em múltiplas espécies e semivida humana prevista

Para determinar o perfil farmacocinético previsto em seres humanos de uma proteína terapêutica fundida em XTEN, os estudos foram realizados usando exendina-4 fundida com o AE864 XTEN como um único polipéptido de fusão. A construção Ex4-XTEN foi administrada a quatro espécies animais diferentes a 0,5-1,0 mg/kg, subcutaneamente e intravenosamente. As amostras de soro foram coletadas em intervalos após a administração, com concentrações séricas determinadas usando métodos padrão. A semivida para cada espécie foi determinada e está tabulada no Quadro 25. Os resultados foram utilizados para prever a semi-vida humana utilizando escalonamento alométrico da semivida terminal,

volume de distribuição e taxas de depuração com base na massa corporal média. A FIG. 36A mostra um gráfico da semivida terminal medida em função da massa corporal nas espécies de animais, com um $T_{1/2}$ predito num ser humano de 75 kg de 140 h, em comparação com a semivida relatada de exenatida de 2,4 h (Bond, A. Proc (Bayl Univ Med Cent) 19 (3): 281-284. (2006)). A FIG. 36B mostra a depuração do fármaco medida em função da massa corporal, com um valor de taxa de depuração predito de 30 ml/h num ser humano de 75 kg. A FIG 36C mostra o volume de distribuição medido em função da massa corporal, com um valor predito de 5970 ml num ser humano de 75 kg.

Conclusões: Pode-se concluir a partir dos resultados que a adição de um XTEN a um péptido regulador de glicose, tal como exendina-4, pode aumentar consideravelmente a semivida terminal em comparação com o péptido não ligado ao XTEN.

Quadro 25: Semivida de Ex4-XTEN

Espécie	**Semivida (h)**
Ratinho	13,5
Rato	31,7
Macaco	60,7
Cão	72,8
Anticorpos humano	140*
*Valor previsto com base na escala alométrica	

Exemplo 41: Aumento da solubilidade e estabilidade de uma carga útil de péptido ligando-se a XTEN

Com a finalidade de avaliar a capacidade do XTEN para melhorar as propriedades físicas/químicas da solubilidade e estabilidade, as proteínas de fusão de glucagon mais XTEN de comprimento mais curto foram preparadas e avaliadas. Os artigos de teste foram preparados em solução salina tamponada com Tris a pH neutro e a caracterização da solução de Gcg-XTEN foi por HPLC de fase reversa e

cromatografia de exclusão de tamanho para afirmar que a proteína era homogênea e não agregada em solução. Os dados são apresentados no Quadro 26. Para fins comparativos, o limite de solubilidade do glucagon não modificado no mesmo tampão foi medido a 60 µM (0,2 mg/mL) e o resultado demonstra que, para todos os comprimentos de XTEN adicionados, foi conseguido um aumento substancial em solubilidade. De forma importante, na maioria dos casos, as proteínas de fusão de glucagon-XTEN foram preparadas para atingir as concentrações alvo e não foram avaliadas para determinar os limites máximos de solubilidade para a construção fornecida. Contudo, no caso do glucagon ligado ao AF-144 XTEN, o limite de solubilidade foi determinado, com o resultado de um aumento da solubilidade de 60 vezes, em comparação com um glucagon não ligado a XTEN. Além disso, o glucagon-AF144 GHXTEN foi avaliado quanto à estabilidade, e foi encontrado estável em formulação líquida durante pelo menos 6 meses sob condições refrigeradas e por aproximadamente um mês a 37 °C (dados não mostrados).

Conclusões: Os dados suportam a conclusão de que a ligação de polipéptidos XTEN de curto comprimento a uma proteína biologicamente ativa, como o glucagon, pode aumentar marcadamente as propriedades de solubilidade da proteína pela proteína de fusão resultante, bem como conferem estabilidade nas maiores concentrações de proteína.

Quadro 26: Solubilidade de construções de glucagon-XTEN

Artigo de teste	Solubilidade
Glucagon	60 µm
Glucagon-Y36	>370 µM
Glucagon-Y72	>293 µM
Glucagon-AF108	>145 µM
Glucagon-AF120	>160 µM
Glucagon-Y144	>497 µM

Glucagon-AE144	>467 µM
Glucagon-AF144	>3600 µM
Glucagon-Y288	>163 µM

Exemplo 42: Caracterização da estrutura secundária da proteína de fusão XTEN

A proteína de fusão Ex4-AE864 foi avaliada quanto ao grau de estrutura secundária por espectroscopia de dicroísmo circular. A espectroscopia de CD foi realizada num Jasco J-715 (Jasco Corporation, Tóquio, Japão) espetropolarímetro equipado com controlador de temperatura Jasco Peltier (TPC-348WI). A concentração de proteína foi ajustada para 0,2 mg/mL em fosfato de sódio a 20 mM pH 7,0, NaCl a 50 mM. As experiências foram realizadas utilizando células de quartzo HELLMA com um comprimento de caminho ótico de 0,1 cm. Os espectros CD foram adquiridos a 5 °, 25°, 45 ° e 65 °C e processados utilizando o J-700 versão 1.08.01 (Build 1) Jasco software para Windows. As amostras foram equilibradas a cada temperatura durante 5 min antes de realizar medições de CD. Todos os espectros foram registados em duplicado de 300 nm a 185 nm utilizando uma largura de banda de 1 nm e uma constante de tempo de 2 segundos, a uma velocidade de varrimento de 100 nm/min. O espetro de CD mostrado na FIG. 37 não mostra evidências de estrutura secundária estável e é consistente com um polipéptido não estruturado.

Exemplo 43: Análise de sequências para estrutura secundária por algoritmos de predição

As sequências de aminoácidos podem ser avaliadas para estrutura secundária através de determinados programas de computador ou algoritmos, tal como o bem conhecido algoritmo de Chou-Fasman (Chou, P. Y., et al. (1974) Biochemistry, 13: 222-45) e o algoritmo de Garnier-Osguthorpe-Robson ou método de "GOR") (Gamier J, Gibrat JF, Robson B. (1996). GOR method for predicting protein

secondary structure from amino acid sequence. Methods Enzymol 266:540-553). Para uma dada sequência, os algoritmos podem prever se existe alguma ou nenhuma estrutura secundária, expresso como o total e/ou a percentagem de resíduos da sequência que se forma, por exemplo, alfa-hélices ou folhas beta ou a percentagem de resíduos da sequência prevista para resultar em formação de espirais aleatórias.

Várias sequências representativas de XTEN "famílias" foram avaliadas utilizando duas ferramentas de algoritmo para os métodos Chou-Fasman e GOR para avaliar o grau de estrutura secundária nessas sequências. A ferramenta Chou-Fasman foi fornecida por William R. Pearson e pela Universidade da Virgínia, no sítio de Internet "Biosupport", URL localizado na World Wide Web em .fasta.bioch.virginia.edu/fasta_www2/fasta_www.cgi?rm=misc1 conforme existia em 19 de junho de 2009. A ferramenta GOR foi fornecida pela Pole Informatique Lyonnais no sítio da Internet Network Protein Sequence Analysis, URL localizado na World Wide Web at .npsa-pbil.ibcp.fr/cgi-bin/secpred_gor4.p1 conforme existia em 19 de junho de 2008.

Como uma primeira etapa nas análises, uma única sequência XTEN foi analisada pelos dois algoritmos. A composição AE864 é um XTEN com 864 resíduos de aminoácidos criados a partir de cópias múltiplas de quatro motivos de sequência de 12 aminoácidos que consistem nos aminoácidos G, S, T, E, P e A. Os motivos de sequência são caracterizados pelo fato de que há repetitividade limitada dentro dos motivos e dentro da sequência geral, na medida em que a sequência de dois aminoácidos consecutivos não é repetida mais de duas vezes em qualquer motivo de 12 aminoácidos e que não há três aminoácidos contíguos de comprimento total, o XTEN são idênticos. As porções sucessivamente mais longas da sequência AF 864 do N-

terminal foram analisadas pelos algoritmos Chou-Fasman e GOR (o último requer um comprimento mínimo de 17 aminoácidos). As sequências foram analisadas digitando as sequências do formato FASTA nas ferramentas de predição e executando a análise. Os resultados das análises são apresentados no Quadro 27.

Os resultados indicam que, pelos cálculos Chou-Fasman, Os quatro motivos da família AE (Quadro 1) não possuem alfa-hélices ou folhas beta. Verificou-se que a sequência até 288 resíduos não possui hélices alfa ou folhas beta. A sequência de resíduo de 432 prevê ter uma pequena quantidade de estrutura secundária, com apenas 2 aminoácidos contribuindo para uma alfa-hélice para uma percentagem global de 0,5%. O polipéptido AF864 de comprimento total tem os mesmos dois aminoácidos que contribuem para uma alfa-hélice, para uma percentagem global de 0,2%. Os cálculos para a formação aleatória da bobina revelaram que, com o aumento do comprimento, a percentagem de formação de espiral aleatória aumentou. Os primeiros 24 aminoácidos da sequência apresentaram formação de espiral aleatória de 91%, o que aumentou com o aumento do comprimento até o valor de 99,77% para a sequência de comprimento total.

Numerosas sequências XTEN de 500 aminoácidos ou mais das outras famílias motivo também foram analisadas e revelou que a maioria apresentava formação de bobina aleatória maior que 95%. As exceções eram aquelas sequências com um ou mais casos de três resíduos de serina contíguos, que resultou na formação prevista de folhas beta. Contudo, mesmo essas sequências ainda tinham aproximadamente 99% de formação de espiral aleatória.

Ao contrário, uma sequência polipeptídica de 84 resíduos limitado a A, S e P aminoácidos foi avaliado pelo algoritmo de Chou-Fasman, que previa um alto grau de hélices alfa previstas. A sequência, que teve várias

seqüências de repetição "AA" e "AAA", teve uma percentagem prevista global de estrutura de alfa-hélice de 69%. O algoritmo GOR previu a formação de espiral aleatória de 78,57%; muito menos do que qualquer sequência consistindo de 12 motivos de sequência de aminoácidos constituídos pelos aminoácidos G, S, T, E, P, analisados no presente Exemplo.

Conclusões: A análise suporta a conclusão de que: 1) O XTEN criado a partir de motivos de sequência múltipla de G, S, T, E, P e A, que têm uma repetitividade limitada quanto a aminoácidos contíguos, preveem quantidades muito baixas de hélices alfa e folhas beta; 2) que aumentar o comprimento do XTEN não aumenta sensivelmente a probabilidade de formação de alfa-hélice ou folha beta; e 3) que aumentando progressivamente o comprimento da sequência XTEN por adição de 12-mers não repetitivos consistindo nos aminoácidos G, S, T, E, P e A resultam em aumento da porcentagem de formação de espiral aleatória. Ao contrário, polipéptidos criados a partir de aminoácidos limitados a A, S e P que têm um maior grau de repetitividade interna preveem ter uma percentagem elevada de hélices alfa, conforme determinado pelo algoritmo de Chou-Fasman, bem como a formação de espiral aleatória. Com base nas numerosas sequências avaliadas por esses métodos, conclui-se que XTEN criou a partir de motivos de sequência de G, S, T, E, P e A que têm uma repetição limitada (definida como não mais do que dois aminoácidos contíguos idênticos em qualquer motivo) superior a cerca de 400 resíduos de aminoácidos de comprimento, deverão ter uma estrutura secundária muito limitada. Com a exceção de motivos contendo três serinas contíguas, acredita-se que qualquer ordem ou combinação de motivos de sequência do Quadro 1 pode ser utilizada para criar um polipéptido XTEN de um comprimento maior que cerca de 400 resíduos que resultará em uma sequência XTEN que é substancialmente

desprovida de estrutura secundária. Espera-se que tais sequências tenham as características descritas nas formas de realização GHXTEN da invenção divulgadas no presente documento.

Quadro 27: Cálculos de previsão das sequências polipeptídicas de CHOU-FASMAN e GOR

NOME DA SEQ	Sequência	N° de Resíduos	Cálculo de Chou-Fasman	Cálculo de GOR
	GSTSESPSGTAP	12	Resíduos totais*: H: 0 E: 0 percentagem: H: 0,0 E: 0,0	Não determinado
	GTS TPESGSASP	12	Resíduos totais: H: 0 E: 0 percentagem: H: 0,0 E: 0,0	Não determinado
	GTSPSGESSTAP	12	Resíduos totais: H: 0 E: 0 percentagem: H: 0,0 E: 0,0	Não determinado
	GSTSSTAESPGP	12	Resíduos totais: H: 0 E: 0 percentagem: H: 0,0 E: 0,0	Não determinado

	GSPAGSPTSTEEG	24	Resíduos totais: H: 0 E: 0 percentagem: H: 0,0 E: 0,0	91,67 %
	GSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPG TSTEPSEGSAP	36	Resíduos totais: H: 0 E: 0 percentagem: H: 0,0 E: 0,0	94,44%
	GSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPG TSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEE	48	Resíduos totais: H: 0 E: 0 percentagem: H: 0,0 E: 0,0	93,75%
	GSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPG TSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTS TEPSEGSAP	60	Resíduos totais: H: 0 E: 0 percentagem: H: 0,0 E: 0,0	96,67%
	GSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPG TSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTS TEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSES ATPESGPGSEPATSGSE TPGSEPATSGSETP	108	Resíduos totais: H: 0 E: 0 percentagem: H: 0,0 E: 0,0	97,22%

	GSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPG TSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTS TEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSES	216	Resíduos totais: H: 0 E: 0 percentagem: H: 0,0 E: 0,0	99,07%
	ATPESGPGSEPATSGSETPGSEPAT SGSETPGSPAGSPTSTEEGTSESATP ESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGS APGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSA PGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGP GTSTEPSEGSAP			
	GSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPG TSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTS TEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSES ATPESGPGSEPATSGSETPGSEPAT SGSETPGSPAGSPTSTEEGTSESATP ESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGS APGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSA PGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGP GTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPG SEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTS TEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSES ATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSESA TPESGPGSEPATSGSETPGTSESATP ESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGS APGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSA PGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAP GSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAP	432	Resíduos totais: H: 2 E: percentagem: H: 0,5 E: 0,7	99,54%
AE864	GSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPG TSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTS TEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSES ATPESGPGSEPATSGSETPGSEPAT SGSETPGSPAGSPTSTEEGTSESATP ESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGS APGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSA PGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGP GTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPG SEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTS TEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSES ATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSESA TPESGPGSEPATSGSETPGTSESATP ESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGS APGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSA PGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAP GSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPG TSESATPESGPGSEPATSGSETPGTS ESATPESGPGSEPATSGSETPGTSES ATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESA TPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPT STEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPES GPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESG PGSEPATSGSETPGTSESATPESGP GSEPATSGSETPGTSESATPESGPG TSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTS ESATPESGPGSEPATSGSETPGTSES ATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGS PTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATP ESGPGTSESATPESGPGTSESATPES GPGSEPATSGSETPGSEPATSGSET PGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAP GTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPG TSESATPESGPGTSTEPSEGSAP	864	Resíduos totais: H: 2 E: percentagem: H: 0,2 E: 0,3	99,77%

AD 576	GSSESGSSEGGPGSGGEPSESGSSG	576	Resíduos totais: H: 7 E: 0	99,65%
	SSESGSSEGGPGSSESGSSEGGPGSS ESGSSEGGPGSSESGSSEGGPGSSE SGSSEGGPGESPGGSSGSESGSEGS SGPGESSGSSESGSSEGGPGSSESGS SEGGPGSSESGSSEGGPGSGGEPSE SGSSGESPGGSSGSESGESPGGSSG SESGSGGEPSESGSSGSSESGSSEG GPGSGGEPSESGSSGSGGEPSESGS SGSEGSSGPGESSGESPGGSSGSES GSGGEPSESGSSGSGGEPSESGSSG SGGEPSESGSSGSSESGSSEGGPGE SPGGSSGSESGESPGGSSGSESGESP GGSSGSESGESPGGSSGSESGESPG GSSGSESGSSESGSSEGGPGSGGEP SESGSSGSEGSSGPGESSGSSESGSS EGGPGSGGEPSESGSSGSSESGSSE GGPGSGGEPSESGSSGESPGGSSGS ESGESPGGSSGSESGSSESGSSEGG PGSGGEPSESGSSGSSESGSSEGGP GSGGEPSESGSSGSGGEPSESGSSG ESPGGSSGSESGSEGSSGPGESSGSS ESGSSEGGPGSEGSSGPGESS			
AE576	GSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPG TSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTS TEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSES ATPESGPGSEPATSGSETPGSEPAT SGSETPGSPAGSPTSTEEGTSESATP ESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGS APGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSA PGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGP GTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPG SEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTS TEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSES ATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSESA TPESGPGSEPATSGSETPGTSESATP ESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGS APGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSA PGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAP GSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPG TSESATPESGPGSEPATSGSETPGTS ESATPESGPGSEPATSGSETPGTSES ATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESA TPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPT STEEGSPAGSPTSTE7EGTSESATPE SGPGTSTEPSEGSAP	576	Resíduos totais: H: 2 E: 0 percentagem: H: 0,4 E: 0,0	99,65%
AF540	GSTSSTAESPGPGSTSSTAESPGPGS TSESPSGTAPGSTSSTAESPGPGSTS STAESPGPGTSTPESGSASPGSTSES PSGTAPGTSPSGESSTAPGSTSESPS GTAPGSTSESPSGTAPGTSPSGESST APGSTSESPSGTAPGSTSESPSGTAP GTSPSGESSTAPGSTSESPSGTAPGS TSESPSGTAPGSTSESPSGTAPGTST PESGSASPGSTSESPSGTAPGTSTPE SGSASPGSTSSTAESPGPGSTSSTAE SPGPGTSTPESGSASPGTSTPESGSA SPGSTSESPSGTAPGTSTPESGSASP GTSTPESGSASPGSTSESPSGTAPGS	540	Resíduos totais: H: 2 E: 0 percentagem: H: 0,4 E: 0,0	99,65

	TSESPSGTAPGSTSESPSGTAPGSTS STAESPGPGTSTPESGSASPGTSTPE SGSASPGSTSESPSGTAPGSTSESPS GTAPGTSTPESGSASPGSTSESPSGT APGSTSESPSGTAPGTSTPESGSASP GTSPSGESSTAPGSTSSTAESPGPGT SPSGESSTAPGSTSSTAESPGPGTST PESGSASPGSTSESPSGTAP			
AF504	GASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPG SSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGSS TPSGATGSPGSNPSASTGTGPGASP GTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPS GATGSPGTPGSGTASSSPGASPGTS STGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTA SSSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTG SPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSP GSNPSASTGTGPGSSPSASTGTGPG SSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGA SPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASP GTSSTGSPGTPGSGTASSSPGASPG TSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGT SSTGSPGSSPSASTGTGPGTPGSGT ASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSST GSPGASPGTSSTGSPGSSTPSGATG SPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSP GTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPG SSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGSS PSASTGTGPGASPGTSSTGSP	504	Resíduos totais: H: 0 E: percentagem: H: 0,0 E: 0,0	94,44%
AE864	GSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPG TSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTS TEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSES ATPESGPGSEPATSGSETPGSEPAT SGSETPGSPAGSPTSTEEGTSESATP ESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGS APGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSA PGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGP GTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPG SEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTS TEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSES ATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSESA TPESGPGSEPATSGSETPGTSESATP ESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGS APGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSA PGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAP GSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPG TSESATPESGPGSEPATSGSETPGTS ESATPESGPGSEPATSGSETPGTSES ATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESA TPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPT STEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPES GPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESG PGSEPATSGSETPGTSESATPESGP GSEPATSGSETPGTSESATPESGPG TSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTS ESATPESGPGSEPATSGSETPGTSES ATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGS PTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATP ESGPGTSESATPESGPGTSESATPES	864	Resíduos totais: H: 2 E: percentagem: H: 0,2 E: 0,4	99,77%
	GPGSEPATSGSETPGSEPATSGSET PGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAP GTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPG TSESATPESGPGTSTEPSEGSAP			

AF864	GSTSESPSGTAPGTSPSGESSTAPGS TSESPSGTAPGSTSESPSGTAPGTST PESGSASPGTSTPESGSASPGSTSES PSGTAPGSTSESPSGTAPGTSPSGES STAPGSTSESPSGTAPGTSPSGESST APGTSPSGESSTAPGSTSSTAESPGP GTSPSGESSTAPGTSPSGESSTAPGS TSSTAESPGPGTSTPESGSASPGTST PESGSASPGSTSESPSGTAPGSTSES PSGTAPGTSTPESGSASPGSTSSTAE SPGPGTSTPESGSASPGSTSESPSGT APGTSPSGESSTAPGSTSSTAESPGP GTSPSGESSTAPGTSTPESGSASPGS TSSTAESPGPGSTSSTAESPGPGSTS STAESPGPGSTSSTAESPGPGTSPSG ESSTAPGSTSESPSGTAPGSTSESPS GTAPGTSTPESGPXXXGASASGAP STXXXXSESPSGTAPGSTSESPSGT APGSTSESPSGTAPGSTSESPSGTAP GSTSESPSGTAPGSTSESPSGTAPGT STPESGSASPGTSPSGESSTAPGTSP SGESSTAPGSTSSTAESPGPGTSPSG ESSTAPGTSTPESGSASPGSTSESPS GTAPGSTSESPSGTAPGTSPSGESST APGSTSESPSGTAPGTSTPESGSASP GTSTPESGSASPGSTSESPSGTAPGT STPESGSASPGSTSSTAESPGPGSTS ESPSGTAPGSTSESPSGTAPGTSPSG ESSTAPGSTSSTAESPGPGTSPSGES STAPGTSTPESGSASPGTSPSGESST APGTSPSGESSTAPGTSPSGESSTAP GSTSSTAESPGPGSTSSTAESPGPGT SPSGESSTAPGSSPSASTGTGPGSST PSGATGSPGSSTPSGATGSP	875	Resíduos totais: H: 2 E: percentagem: H: 0,2 E: 0,0	95,20%
AG864	GGSPGASPGTSSTGSPGSSPSASTG TGPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASS SPGSSTPSGATGSPGSNPSASTGTG PGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSP GSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPG ASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGT PGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGAS PGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTP SGATGSPGSNPSASTGTGPGSSPSA STGTGPGSSTPSGATGSPGSSTPSG ATGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSS TGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTAS SSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGS PGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGP GTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPG ASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGSS TPSGATGSPGSSTPSGATGSPGASP GTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPS GATGSPGSSTPSGATGSPGSSTPSG ATGSPGSSPSASTGTGPGASPGTSS	868	Resíduos totais: H: 0 E: percentagem: H: 0,0 E: 0,0	94,70%
	TGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTAS SSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGS PGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSP GTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPG TPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGT PGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSST PSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSPS ASTGTGPGASPGTSSTGSPGTPGSG TASSSPGSSTPSGATGSPGSSPSAST GTGPGSSPSASTGTGPGASPGTSST GSPGASPGTSSTGSPGSSTPSGATG SPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSP GSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPG SSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGA SPGTSSTGSP			

AM875	GTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPG SPAGSPTSTEEGSTSSTAESPGPGTS TPESGSASPGSTSESPSGTAPGSTSE SPSGTAPGTSTPESGSASPGTSTPES GSASPGSEPATSGSETPGTSESATP ESGPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGS APGTSESATPESGPGTSTEPSEGSA PGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEE GTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPG TSESATPESGPGTSESATPESGPGTS TEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSES ATPESGPGTSTEPSEGSAPGSEPAT SGSETPGSPAGSPTSTEEGSSTPSGA TGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGAT GSPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGS APGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTE EGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAP GASASGAPSTGGTSESATPESGPGS PAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSTS STAESPGPGSTSESPSGTAPGTSPSG ESSTAPGTPGSGTASSSPGSSTPSG ATGSPGSSPSASTGTGPGSEPATSG SETPGTSESATPESGPGSEPATSGSE TPGSTSSTAESPGPGSTSSTAESPGP GTSPSGESSTAPGSEPATSGSETPGS EPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGSTS STAESPGPGTSTPESGSASPGSTSES PSGTAPGTSTGPSEGSAPGTSTEPSE GSAPGTSTEPSEGSAPGSSTPSGAT GSPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTG SPGSEPATSGSETPGTSESATPESGP GSPAGSPTSTEEGSSTPSGATGSPG SSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGT SESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTST EPSEGSAP	875	Resíduos totais: H: 7 E: 3 percentagem: H: 0,8 E: 0,3	98,63%
AM1318	GTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPG SPAGSPTSTEEGSTSSTAESPGPGTS TPESGSASPGSTSESPSGTAPGSTSE SPSGTAPGTSTPESGSASPGTSTPES GSASPGSEPATSGSETPGTSESATP ESGPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGS APGTSESATPESGPGTSTEPSEGSA PGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEE	1318	Resíduos totais: H: 7 E: 0 percentagem: H: 0,7 E: 0,0	99,17%

	GTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPG TSESATPESGPGTSESATPESGPGTS TEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSES ATPESGPGTSTEPSEGSAPGSEPAT SGSETPGSPAGSPTSTEEGSSTPSGA TGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGAT GSPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGS APGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTE EGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAP GPEPTGPAPSGGSEPATSGSETPGT SESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSE SATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAG SPTSTEEGTSESATPESGPGSPAGSP TSTEEGSPAGSPTSTEEGSTSSTAES PGPGSTSESPSGTAPGTSPSGESSTA PGSTSESPSGTAPGSTSESPSGTAPG TSPSGESSTAPGTSTEPSEGSAPGTS ESATPESGPGTSESATPESGPGSEP ATSGSETPGTSESATPESGPGTSES ATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESA TPESGPGTSTEPSEGSAPGTSPSGES STAPGTSPSGESSTAPGTSPSGESST APGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTE EGTSTEPSEGSAPGSSPSASTGTGP GSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPG SSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGA SPGTSSTGSPGASASGAPSTGGTSP SGESSTAPGSTSSTAESPGPGTSPSG ESSTAPGTSESATPESGPGTSTEPSE GSAPGTSTEPSEGSAPGSSPSASTG TGPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTG SPGTSTPESGSASPGTSPSGESSTAP GTSPSGESSTAPGTSESATPESGPGS EPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGSTS ESPSGTAPGSTSESPSGTAPGTSTPE SGSASPGSPAGSPTSTEEGTSESATP ESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTST EEGTSESATPESGPGSEPATSGSETP GSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPG SSTPSGATGSPGSTSESPSGTAPGTS PSGESSTAPGSTSSTAESPGPGSSTP SGATGSPGASPGTSSTGSPGTPGSG TASSSPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPT STEEGTSTEPSEGSAP			
AM923	MAEPAGSPTSTEEGASPGTSSTGSP GSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPG TSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGSP AGSPTSTEEGSTSSTAESPGPGTSTP ESGSASPGSTSESPSGTAPGSTSESP SGTAPGTSTPESGSASPGTSTPESGS ASPGSEPATSGSETPGTSESATPES GPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSA PGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAP GTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEG TSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTS ESATPESGPGTSESATPESGPGTSTE PSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESA TPESGPGTSTEPSEGSAPGSEPATS GSETPGSPAGSPTSTEEGSSTPSGA	924	Resíduos totais: H: 4 E: 3 percentagem: H: 0,4 E: 0,3	98,70%

	TGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGAT GSPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGS APGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTE EGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAP GASASGAPSTGGTSESATPESGPGS PAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSTS STAESPGPGSTSESPSGTAPGTSPSG ESSTAPGTPGSGTASSSPGSSTPSG ATGSPGSSPSASTGTGPGSEPATSG SETPGTSESATPESGPGSEPATSGSE TPGSTSSTAESPGPGSTSSTAESPGP GTSPSGESSTAPGSEPATSGSETPGS EPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGSTS STAESPGPGTSTPESGSASPGSTSES PSGTAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSE GSAPGTSTEPSEGSAPGSSTPSGAT GSPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTG SPGSEPATSGSETPGTSESATPESGP GSPAGSPTSTEEGSSTPSGATGSPG SSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGT SESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTST EPSEGSAP			
AE912	MAEPAGSPTSTEEGTPGSGTASSSP GSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPG SPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTS TEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTE PSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESA TPESGPGSEPATSGSETPGSEPATS GSETPGSPAGSPTSTEEGTSESATPE SGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGS APGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSA PGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGP GTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPG SEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTS TEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSES ATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSESA TPESGPGSEPATSGSETPGTSESATP ESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGS APGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSA PGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAP GSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPG TSESATPESGPGSEPATSGSETPGTS ESATPESGPGSEPATSGSETPGTSES ATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESA TPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPT STEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPES GPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESG PGSEPATSGSETPGTSESATPESGP GSEPATSGSETPGTSESATPESGPG TSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTS ESATPESGPGSEPATSGSETPGTSES ATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGS PTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATP ESGPGTSESATPESGPGTSESATPES GPGSEPATSGSETPGSEPATSGSET PGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAP GTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPG TSESATPESGPGTSTEPSEGSAP	913	Resíduos totais: H: 8 E: 3 percentagem: H: 0,9 E: 0,3	99,45%

BC 864	GTSTEPSEPGSAGTSTEPSEPGSAG SEPATSGTEPSGSGASEPTSTEPGSE PATSGTEPSGSEPATSGTEPSGSEP ATSGTEPSGSGASEPTSTEPGTSTEP SEPGSAGSEPATSGTEPSGTSTEPSE PGSAGSEPATSGTEPSGSEPATSGT EPSGTSTEPSEPGSAGTSTEPSEPGS AGSEPATSGTEPSGSEPATSGTEPS GTSEPSTSEPGAGSGASEPTSTEPG TSEPSTSEPGAGSEPATSGTEPSGSE PATSGTEPSGTSTEPSEPGSAGTSTE PSEPGSAGSGASEPTSTEPGSEPATS GTEPSGSEPATSGTEPSGSEPATSG TEPSGSEPATSGTEPSGTSTEPSEPG SAGSEPATSGTEPSGSGASEPTSTE PGTSTEPSEPGSAGSEPATSGTEPS GSGASEPTSTEPGTSTEPSEPGSAG SGASEPTSTEPGSEPATSGTEPSGS GASEPTSTEPGSEPATSGTEPSGSG ASEPTSTEPGTSTEPSEPGSAGSEPA TSGTEPSGSGASEPTSTEPGTSTEPS EPGSAGSEPATSGTEPSGTSTEPSEP GSAGSEPATSGTEPSGTSTEPSEPG SAGTSTEPSEPGSAGTSTEPSEPGS AGTSTEPSEPGSAGTSTEPSEPGSA GTSTEPSEPGSAGTSEPSTSEPGAG SGASEPTSTEPGTSTEPSEPGSAGTS TEPSEPGSAGTSTEPSEPGSAGSEP ATSGTEPSGSGASEPTSTEPGSEPA TSGTEPSGSEPATSGTEPSGSEPATS GTEPSGSEPATSGTEPSGTSEPSTSE PGAGSEPATSGTEPSGSGASEPTST EPGTSTEPSEPGSAGSEPATSGTEPS GSGASEPTSTEPGTSTEPSEPGSA		Resíduos totais: H: 0 E: 0 percentagem: H: 0 E: 0	99,77%
	ASPAAPAPASPAAPAPSAPAAAPA SPAPAAPSAPAPAAPSAASPAAPSA PPAAASPAAPSAPPAASAAAPAAA SAAASAPSAAA	84	Resíduos totais: H: 58 E: percentagem: H: 69,0 E: 0,0	78,57%
* H: alfa-hélice E: folha beta				

Exemplo 44: Análise de sequências de polipéptidos para repetitividade

As sequências de aminoácidos polipeptídicas podem ser avaliadas quanto à repetitividade quantificando o número de vezes que uma subsequência mais curta aparece no polipéptido global. Por exemplo, um polipéptido de 200 resíduos de aminoácidos tem 192 subsequências de 9 aminoácidos sobrepostas (ou "quadros" de 9 meros), mas o número de subsequências exclusivas de 9 meros dependerá da quantidade de repetição dentro da sequência. Na presente

análise, diferentes sequências foram avaliadas para repetição, somando a ocorrência de todas as subsequências únicas de 3 meros para cada quadro de 3 aminoácidos nos 200 primeiros aminoácidos da porção de polímero dividida pelo número absoluto de subsequências únicas de 3 meros dentro dos 200 aminoácidos sequência. O resultado da subsequência resultante é um reflexo do grau de repetição dentro do polipéptido.

Os resultados, mostrados no Quadro 28, indicam que os polipéptidos não estruturados que consistem em 2 ou 3 tipos de aminoácidos possuem altos índices de subsequência, enquanto que aqueles de constituídos por 12 aminoácidos motivos dos seis aminoácidos G, S, T, E, P e A com um baixo grau de repetitividade interna, tem subsequências de menos de 10, e em alguns casos, menos de 5. Por exemplo, a sequência L288 tem dois tipos de aminoácidos e tem sequências curtas e altamente repetitivas, resultando numa pontuação de subsequência de 50,0. O polipéptido J288 tem três tipos de aminoácidos, mas também tem sequências curtas repetitivas, resultando numa pontuação de subsequência de 33,3. Y576 também tem três tipos de aminoácidos, mas não é feito de repetições internas, refletido no resultado da subsequência de 15,7 nos primeiros 200 aminoácidos. W576 consiste em quatro tipos de aminoácidos, mas tem um maior grau de repetitividade interna, por exemplo, *"GGSG"*, resultando numa pontuação de subsequência de 23,4. O AD576 consiste em quatro tipos de 12 motivos de aminoácidos, cada um consistindo em quatro tipos de aminoácidos. Devido ao baixo grau de repetitividade interna dos motivos individuais, a pontuação geral da subsequência nos primeiros 200 aminoácidos é 13,6. Ao contrário, O XTEN composto por quatro motivos contém seis tipos de aminoácidos, cada um com um baixo grau de repetição interna tem pontuações de subsequência mais baixas; isto é, AE864 (6,1), AF864 (7,5) e AM875 (4,5).

Conclusões: Os resultados indicam que a combinação de 12 motivos de subsequência de aminoácidos, cada um consistindo em quatro a seis tipos de aminoácidos que são essencialmente não repetitivos, em um polipéptido XTEN mais longo resulta em uma sequência geral que não é repetitiva. Isto apesar do fato de cada motivo subsequente ser usado várias vezes na sequência. Ao contrário, os polímeros criados a partir de um menor número de tipos de aminoácidos resultaram em maiores pontuações de subsequência, embora a sequência real possa ser adaptada para reduzir o grau de repetição para resultar em menores resultados da subsequência.

Quadro 28: Cálculos de pontuação de subsequência de sequências de polipéptidos

Nome da Seq	Sequência de aminoácidos	Pontuação
J288	GSGGEGGSGGEGGSGGEGGSGGEGGSGGEGGSGGEGGSGGEGGSGGEGGSGGE GGSGGEGGSGGEGGSGGEGGSGGEGGSGGEGGSGGEGGSGGEGGSGGEGGSG GEGGSGGEGGSGGEGGSGGEGGSGGEGGSGGEGGSGGEGGSGGEGGSGGEGGS GGEGGSGGEGGSGGEGGSGGEGGSGGEGGSGGEGGSGGEGGSGGEGGSGGEG GSGGEGGSGGEGGSGGEGGSGGEGGSGGEGGSGGEGGSGGEGGSGGEGGSGGE GGSGGEGGSGGEGGSGGEGGSGGEG	33,3
K288	GEGEGGGEGGEGEGGGEGGEGEGGGEGGEGEGGGEGGEGEGGGEGGEGEGGG EGGEGEGGGEGGEGEGGGEGGEGEGGGEGGEGEGGGEGGEGEGGGEGGEGEG GGEGGEGEGGGEGGEGEGGGEGGEGEGGGEGGEGEGGGEGGEGEGGGEGGEG EGGGEGGEGEGGGEGGEGEGGGEGGEGEGGGEGGEGEGGGEGGEGEGGGEGG EGEGGGEGGEGEGGGEGGEGEGGGEGGEGEGGGEGGEGEGGGEGGEGEGGGE GGEGEGGGEGGEGEGGGEGGEGEGGGEG	46,9
L288	SSESSESSSSESSSESSESSSSESSSESSESSSSESSSESSESSSSESSSESSESSSSESSS ESSESSSSESSSESSESSSSESSSESSESSSSESSSESSESSSSESSSESSESSSSESSSES SESSSSESSSESSESSSSESSSESSESSSSESSSESSESSSSESSSESSESSSSESSSESSESSE SSSSESSSESSESSSSESSSESSESSSSESSSESSESSSSESSSESSESSSSESSSESSESS SSESSSESSESSSSESSSESSESSSSESSSESSESSSSES	50,0
Y288	GEGSGEGSEGEGSEGSGEGEGSEGSGEGEGGSEGSEGEGGSEGSEGEGGSEGSEG EGSGEGSEGEGGSEGSEGEGSGEGSEGEGSEGGSEGEGGSEGSEGEGSGEGSEGE GGEGGSEGEGSEGSGEGEGSGEGSEGEGSEGSGEGEGSGEGSEGEGSEGSGEGE GSEGSGEGEGGSEGSEGEGSEGSGEGEGGEGSGEGEGSGEGSEGEGGGEGSEGE GSGEGGEGEGSEGGSEGEGGSEGGEGEGSEGSGEGEGSEGGSEGEGSEGGSEGE GSEGSGEGEGSEGSGE	26,8
Q576	GGKPGEGGKPEGGGGKPGGKPEGEGEGKPGGKPEGGGKPGGGEGGKPEGGKPE GEGKPGGGEGKPGGKPEGGGGKPEGEGKPGGGGGKPGGKPEGEGKPGGGEGG KPEGKPGEGGEGKPGGKPEGGGEGKPGGGKPGEGGKPGEGKPGGGEGGKPEGG KPEGEGKPGGGEGKPGGKPGEGGKPEGGGEGKPGGKPGEGGEGKPGGGKPEGE	18,5
	GKPGGGKPGGGEGGKPEGEGKPGGKPEGGGEGKPGGKPEGGGKPEGGGEGKP GGGKPGEGGKPGEGEGKPGGKPEGEGKPGGEGGGKPEGKPGGGEGGKPEGGKP GEGGKPEGGKPGEGGEGKPGGGKPGEGGKPEGGGKPEGEGKPGGGGKPGEGG KPEGGKPEGGGEGKPGGGKPEGEGKPGGGEGKPGGKPEGGGGKPGEGGKPEGG KPGGEGGGKPEGEGKPGGKPGEGGGGKPGGKPEGEGKPGEGGEGKPGGKPEGG GEGKPGGKPEGGGEGKPGGGKPGEGGKPEGGGKPGEGGKPGEGGKPEGEGKPG GGEGKPGGKPGEGGKPEGGGEGKPGGKPGGEGGGKPEGGKPGEGGKPEG	

U576	GEGKPGGKPGSGGGKPGEGGKPGSGEGKPGGKPGSGGSGKPGGKPGEGGKPEG GSGGKPGGGGKPGGKPGGEGSGKPGGKPEGGGKPEGGSGGKPGGKPEGGSGG KPGGKPGSGEGGKPGGGKPGGEGKPGSGKPGGEGSGKPGGKPEGGSGGKPGGK PEGGSGGKPGGSGKPGGKPGEGGKPEGGSGGKPGGSGKPGGKPEGGGSGKPGG KPGEGGKPGSGEGGKPGGGKPGGEGKPGSGKPGGEGSGKPGGKPGSGGEGKPG GKPEGGSGGKPGGGKPGGEGKPGSGGKPGEGGKPGSGGGKPGGKPGGEGEGKP GGKPGEGGKPGGEGSGKPGGGGKPGGKPGGEGGKPEGSGKPGGGSGKPGGKPE GGGGKPEGSGKPGGGGKPEGSGKPGGGKPEGGSGGKPGGSGKPGGKPGEGGG KPEGSGKPGGGSGKPGGKPEGGGKPEGGSGGKPGGKPEGGSGGKPGGKPGGEG SGKPGGKPGSGEGGKPGGKPGEGSGGKPGGKPEGGSGGKPGGSGKPGGKPEGG GSGKPGGKPGEGGKPGGEGSGKPGGSGKPG	18,1
W576	GGSGKPGKPGGSGSGKPGSGKPGGGSGKPGSGKPGGGSGKPGSGKPGGGSGKP GSGKPGGGGKPGSGSGKPGGGKPGGSGGKPGGGSGKPGKPGSGGSGKPGSGKP GGGSGGKPGKPGSGGSGGKPGKPGSGGGSGKPGKPGSGGSGGKPGKPGSGGSG GKPGKPGSGGSGKPGSGKPGGGSGKPGSGKPGSGGSGKPGKPGSGGSGKPGSG KPGSGSGKPGSGKPGGGSGKPGSGKPGSGGSGKPGKPGSGGGKPGSGSGKPGG GKPGSGSGKPGGGKPGGSGGKPGGSGGKPGKPGSGGGSGKPGKPGSGGGSGKP GKPGGSGSGKPGSGKPGGGSGKPGSGKPGSGGSGKPGKPGSGGSGGKPGKPGS GGGKPGSGSGKPGGGKPGSGSGKPGGGKPGSGSGKPGGGKPGSGSGKPGGSGK PGSGKPGGGSGGKPGKPGSGGSGKPGSGKPGSGGSGKPGKPGGSGSGKPGSGKP GGGSGKPGSGKPGGGSGKPGSGKPGGGSGKPGSGKPGGGGKPGSGSGKPGGSG GKPGKPGSGGSGGKPGKPGSGGSGKPGSGKPGGGGSGGKPGKPGSGG	23,4
Y576	GEGSGEGSEGEGSEGSGEGEGSEGSGEGEGGSEGSEGEGSEGSGEGEGGEGSGE GEGSGEGSEGEGGGEGSEGEGSGEGGEGEGSEGGSEGEGGSEGGEGEGSEGSGE GEGSEGGSEGEGSEGGSEGEGSEGSGEGEGSEGSGEGEGSEGSGEGEGSEGSGEG EGSEGGSEGEGGSEGSEGEGSGEGSEGEGGSEGSEGEGGGEGSEGEGSGEGSEGE GGSEGSEGEGGSEGSEGEGGEGSGEGEGSEGSGEGEGSGEGSEGEGSEGSGEGE GSEGSGEGEGGSEGSEGEGSGEGSEGEGSEGSGEGEGSEGSGEGEGGSEGSEGEG GSEGSEGEGGSEGSEGEGGEGSGEGEGSEGSGEGEGSGEGSEGEGSEGSGEGEGS EGSGEGEGGSEGSEGEGSEGSGEGEGGEGSGEGEGSGEGSEGEGGGEGSEGEGS EGSGEGEGSEGSGEGEGSEGGSEGEGGSEGSEGEGSEGGSEGEGSEGGSEGEGSE GSGEGEGSEGSGEGEGSGEGSEGEGGSEGGEGEGSEGGSEGEGSEGGSEGEGGE GSGEGEGGGEGSEGEGSEGSGEGEGSGEGSE	
AD576	GSSESGSSEGGPGSGGEPSESGSSGSSESGSSEGGPGSSESGSSEGGPGSSESGSSE GGPGSSESGSSEGGPGSSESGSSEGGPGESPGGSSGSESGSEGSSGPGESSGSSESG SSEGGPGSSESGSSEGGPGSSESGSSEGGPGSGGEPSESGSSGESPGGSSGSESGES PGGSSGSESGSGGEPSESGSSGSSESGSSEGGPGSGGEPSESGSSGSGGEPSESGSS GSEGSSGPGESSGESPGGSSGSESGSGGEPSESGSSGSGGEPSESGSSGSGGEPSES GSSGSSESGSSEGGPGESPGGSSGSESGESPGGSSGSESGESPGGSSGSESGESPGG SSGSESGESPGGSSGSESGSSESGSSEGGPGSGGEPSESGSSGSEGSSGPGESSGSSE SGSSEGGPGSGGEPSESGSSGSSESGSSEGGPGSGGEPSESGSSGESPGGSSGSESG ESPGGSSGSESGSSESGSSEGGPGSGGEPSESGSSGSSESGSSEGGPGSGGEPSESG SSGSGGEPSESGSSGESPGGSSGSESGSEGSSGPGESSGSSESGSSEGGPGSEGSSG PGESS	
AE576	AGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSE GSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAG SPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTS TEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPG SEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESG PGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEG SAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPS EGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSES	6,1
	ATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSP AGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAP	
AF540	GSTSSTAESPGPGSTSSTAESPGPGSTSESPSGTAPGSTSSTAESPGPGSTSSTAESP GPGTSTPESGSASPGSTSESPSGTAPGTSPSGESSTAPGSTSESPSGTAPGSTSESPS GTAPGTSPSGESSTAPGSTSESPSGTAPGSTSESPSGTAPGTSPSGESSTAPGSTSES PSGTAPGSTSESPSGTAPGSTSESPSGTAPGTSTPESGSASPGSTSESPSGTAPGTST PESGSASPGSTSSTAESPGPGSTSSTAESPGPGTSTPESGSASPGTSTPESGSASPGS TSESPSGTAPGTSTPESGSASPGTSTPESGSASPGSTSESPSGTAPGSTSESPSGTAP GSTSESPSGTAPGSTSSTAESPGPGTSTPESGSASPGTSTPESGSASPGSTSESPSGT APGSTSESPSGTAPGTSTPESGSASPGSTSESPSGTAPGSTSESPSGTAPGTSTPESG SASPGTSPSGESSTAPGSTSSTAESPGPGTSPSGESSTAPGSTSSTAESPGPGTSTPE SGSASPGSTSESPSGTAP	8,8

AF504	GASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGSSTPSGAT GSPGSNPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSG TASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGAS PGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSNPSASTGTGPGSSPSASTGTGP GSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSST GSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGSSPSA STGTGPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGSS TPSGATGSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSP GSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSP	7,0
AE864	GSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGS APGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSP TSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTE PSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSE PATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPG SPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSA PGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEG SAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESAT PESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSPA GSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGT SESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGP GTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPES GPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATP ESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEP SEGSAP	6,1
AF864	GSTSESPSGTAPGTSPSGESSTAPGSTSESPSGTAPGSTSESPSGTAPGTSTPESGSA SPGTSTPESGSASPGSTSESPSGTAPGSTSESPSGTAPGTSPSGESSTAPGSTSESPS GTAPGTSPSGESSTAPGTSPSGESSTAPGSTSSTAESPGPGTSPSGESSTAPGTSPSG ESSTAPGSTSSTAESPGPGTSTPESGSASPGTSTPESGSASPGSTSESPSGTAPGSTS ESPSGTAPGTSTPESGSASPGSTSSTAESPGPGTSTPESGSASPGSTSESPSGTAPGT SPSGESSTAPGSTSSTAESPGPGTSPSGESSTAPGTSTPESGSASPGSTSSTAESPGP GSTSSTAESPGPGSTSSTAESPGPGSTSSTAESPGPGTSPSGESSTAPGSTSESPSGT APGSTSESPSGTAPGTSTPESGPXXXGASASGAPSTXXXXSESPSGTAPGSTSESPS GTAPGSTSESPSGTAPGSTSESPSGTAPGSTSESPSGTAPGSTSESPSGTAPGTSTPE SGSASPGTSPSGESSTAPGTSPSGESSTAPGSTSSTAESPGPGTSPSGESSTAPGTST PESGSASPGSTSESPSGTAPGSTSESPSGTAPGTSPSGESSTAPGSTSESPSGTAPGT STPESGSASPGTSTPESGSASPGSTSESPSGTAPGTSTPESGSASPGSTSSTAESPGP GSTSESPSGTAPGSTSESPSGTAPGTSPSGESSTAPGSTSSTAESPGPGTSPSGESST APGTSTPESGSASPGTSPSGESSTAPGTSPSGESSTAPGTSPSGESSTAPGSTSSTAE SPGPGSTSSTAESPGPGTSPSGESSTAPGSSPSASTGTGPGSSTPSGATGSPGSSTPS GATGSP	7,5
AG868	GGSPGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGSSTP SGATGSPGSNPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGT PGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGS PGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSNPSASTGTGPGSSPSAST GTGPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPG TSSTGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGSS PSASTGTGPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSP	7,5
	GSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGAT GSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGASPGT SSTGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGAS PGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSP GTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTG TGPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSPSA STGTGPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGAS PGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSP GASPGTSSTGSP	

AM875	GTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGSTSSTAESPGPGTSTPESGSA SPGSTSESPSGTAPGSTSESPSGTAPGTSTPESGSASPGTSTPESGSASPGSEPATSG SETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSTEP SEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSE SATPESGPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGT STEPSEGSAPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSP GSSTPSGATGSPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGSPAGSPTST EEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGASASGAPSTGGTSESATPESGPGSPAGSPT STEEGSPAGSPTSTEEGSTSSTAESPGPGSTSESPSGTAPGTSPSGESSTAPGTPGSG TASSSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEP ATSGSETPGSTSSTAESPGPGSTSSTAESPGPGTSPSGESSTAPGSEPATSGSETPGS EPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGSTSSTAESPGPGTSTPESGSASPGSTSESPSGTAP GTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGT GPGASPGTSSTGSPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSSTPSG ATGSPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTST EPSEGSAP	4,5
AM1318	GTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGSTSSTAESPGPGTSTPESGSA SPGSTSESPSGTAPGSTSESPSGTAPGTSTPESGSASPGTSTPESGSASPGSEPATSG SETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSTEP SEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSE SATPESGPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGT STEPSEGSAPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSP GSSTPSGATGSPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGSPAGSPTST EEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGPEPTGPAPSGGSEPATSGSETPGTSESATP ESGPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESA TPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSTSSTAESPGPGSTSESPSGTAPGTSP SGESSTAPGSTSESPSGTAPGSTSESPSGTAPGTSPSGESSTAPGTSTEPSEGSAPGT SESATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSESATPESGP GTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSPSGESSTAPGTSPSGESST APGTSPSGESSTAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGSSPSAST GTGPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGASPG TSSTGSPGASASGAPSTGGTSPSGESSTAPGSTSSTAESPGPGTSPSGESSTAPGTS ESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSSPSASTGTGPGSSTPSGATGSP GASPGTSSTGSPGTSTPESGSASPGTSPSGESSTAPGTSPSGESSTAPGTSESATPES GPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGSTSESPSGTAPGSTSESPSGTAPGTSTPESG SASPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESA TPESGPGSEPATSGSETPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGSSTPSGATGSPGSTS ESPSGTAPGTSPSGESSTAPGSTSSTAESPGPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGT PGSGTASSSPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAP	4,5

Exemplo 45: Cálculo de pontuações de TEPITOPE

As pontuações TEPITOPE da sequência peptídica 9 mero podem ser calculadas adicionando potenciais de bolso como descrito por Sturniolo [Sturniolo, T., et al. (1999) Nat Biotechnol, 17: 555]. No presente Exemplo, As pontuações de Tepitope separadas foram calculadas para alelos HLA individuais. O Quadro 29 mostra como exemplo os potenciais de bolso para HLA*0101B, que ocorre em alta freqüência na população caucasiana. Para calcular o escore TEPITOPE de um péptido com a sequência P1-P2-P3-P4-P5-P6-P7-P8-P9, foram adicionados os potenciais de bolso individuais correspondentes no Quadro 29. O escore HLA*0101B de um péptido 9 mero com a sequência FDKLPRTSG seria a soma de 0,

-1,3, 0, 0,9, 0, -1,8, 0,09, 0, 0.

Para avaliar as pontuações de TEPITOPE para peptídeos longos, pode-se repetir o processo para todas as subsequências de 9 mero das sequências. Este processo pode ser repetido para as proteínas codificadas por outros alelos HLA. Os quadros 30-33 oferecem potenciais de bolso para os produtos proteicos de alelos HLA que ocorrem com alta frequência na população caucasiana.

Os escores TEPITOPE calculados por este método variam de aproximadamente -10 a +10. Contudo, Os péptidos 9 mero que não possuem um aminoácido hidrofóbico (FKLMVWY) na posição P1 calcularam os escores TEPITOPE na faixa de -1009 a -989. Este valor é biologicamente sem sentido e reflete o fato de que um aminoácido hidrofóbico serve como um resíduo âncora para ligação HLA e os péptidos que não possuem um resíduo hidrofóbico em P1 são considerados não aglutinantes para HLA. Como a maioria das sequências de XTEN carecem de resíduos hidrofóbicos, todas as combinações de subsequências de 9mer terão TEPITOPEs no intervalo de -1009 a -989. Este método confirma que os polipéptidos XTEN podem ter poucos ou nenhum epítopo de células T previsto.

Quadro 29: Potencial de bolso para o alelo HLA*0101B.

Aminoácido	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9
A	-999	0	0	0	-	0	0	-	0
C	-999	0	0	0	-	0	0	-	0
D	-999	-1,3	-1,3	-2,4	-	-2,7	-2	-	-1,9
E	-999	0,1	-1,2	-0,4	-	-2,4	-0,6	-	-1,9
F	0	0,8	0,8	0,08	-	-2,1	0,3	-	-0,4
G	-999	0,5	0,2	-0,7	-	-0,3	-1,1	-	-0,8
H	-999	0,8	0,2	-0,7	-	-2,2	0,1	-	-1,1
I	-1	1,1	1,5	0,5	-	-1,9	0,6	-	0,7
K	-999	1,1	0	-2,1	-	-2	-0,2	-	-1,7
L	-1	1	1	0,9	-	-2	0,3	-	0,5
M	-1	1,1	1,4	0,8	-	-1,8	0,09	-	0,08
N	-999	0,8	0,5	0,04	-	-1,1	0,1	-	-1,2

P	-999	-0,5	0,3	-1,9	-	-0,2	0,07	-	-1,1
Q	-999	1,2	0	0,1	-	-1,8	0,2	-	-1,6
R	-999	2,2	0,7	-2,1	-	-1,8	0,09	-	-1
S	-999	-0,3	0,2	-0,7	-	-0,6	-0,2	-	-0,3
7*	-999	0	0	-1	-	-1,2	0,09	-	-0,2
V	-1	2,1	0,5	-0,1	-	-1,1	0,7	-	0,3
W	0	-0,1	0	-1,8	-	-2,4	-0,1	-	-1,4
Y	0	0,9	0,8	-1,1	-	-2	0,5	-	-0,9

Quadro 30: Potencial de bolso para o alelo HLA*0301B.

Aminoácido	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9
A	-999	0	0	0	-	0	0	-	0
C	-999	0	0	0	-	0	0	-	0
D	-999	-1,3	-1,3	2,3	-	-2,4	-0,6	-	-0,6
E	-999	0,1	-1,2	-1	-	-1,4	-0,2	-	-0,3
F	-1	0,8	0,8	-1	-	-1,4	0,5	-	0,9
G	-999	0,5	0,2	0,5	-	-0,7	0,1	-	0,4
H	-999	0,8	0,2	0	-	-0,1	-0,8	-	-0,5
I	0	1,1	1,5	0,5	-	0,7	0,4	-	0,6
K	-999	1,1	0	-1	-	1,3	-0,9	-	-0,2
L	0	1	1	0	-	0,2	0,2	-	-0
M	0	1,1	1,4	0	-	-0,9	1,1	-	1,1
N	-999	0,8	0,5	0,2	-	-0,6	-0,1	-	-0,6
P	-999	-0,5	0,3	-1	-	0,5	0,7	-	-0,3
Q	-999	1,2	0	0	-	-0,3	-0,1	-	-0,2
R	-999	2,2	0,7	-1	-	1	-0,9	-	0,5
S	-999	-0,3	0,2	0,7	-	-0,1	0,07	-	1,1
7*	-999	0	0	-1	-	0,8	-0,1	-	-0,5
V	0	2,1	0,5	0	-	1,2	0,2	-	0,3
W	-1	-0,1	0	-1	-	-1,4	-0,6	-	-1
Y	-1	0,9	0,8	-1	-	-1,4	-0,1	-	0,3

Quadro 31: Potencial de bolso para o alelo HLA*0401B.

Aminoácido	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9

A	-999	0	0	0	-	0	0	-	0
C	-999	0	0	0	-	0	0	-	0
D	-999	-1,3	-1,3	1,4	-	-1,1	-0,3	-	-1,7
E	-999	0,1	-1,2	1,5	-	-2,4	0,2	-	-1,7
F	0	0,8	0,8	-0,9	-	-1,1	-1	-	-1
G	-999	0,5	0,2	-1,6	-	-1,5	-1,3	-	-1
H	-999	0,8	0,2	1,1	-	-1,4	0	-	0,08
I	-1	1,1	1,5	0,8	-	-0,1	0,08	-	-0,3
K	-999	1,1	0	-1,7	-	-2,4	-0,3	-	-0,3
L	-1	1	1	0,8	-	-1,1	0,7	-	-1
M	-1	1,1	1,4	0,9	-	-1,1	0,8	-	-0,4
N	-999	0,8	0,5	0,9	-	1,3	0,6	-	-1,4
P	-999	-0,5	0,3	-1,6	-	0	-0,7	-	-1,3
Q	-999	1,2	0	0,8	-	-1,5	0	-	0,5
R	-999	2,2	0,7	-1,9	-	-2,4	-1,2	-	-1
S	-999	-0,3	0,2	0,8	-	1	-0,2	-	0,7
7*	-999	0	0	0,7	-	1,9	-0,1	-	-1,2
V	-1	2,1	0,5	-0,9	-	0,9	0,08	-	-0,7
W	0	-0,1	0	-1,2	-	-1	-1,4	-	-1
Y	0	0,9	0,8	-1,6	-	-1,5	-1,2	-	-1

Quadro 32: Potencial de bolso para o alelo HLA*0701B.

Aminoácido	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9
A	-999	0	0	0	-	0	0	-	0
C	-999	0	0	0	-	0	0	-	0
D	-999	-1,3	-1,3	-1,6	-	-2,5	-1,3	-	-1,2
E	-999	0,1	-1,2	-1,4	-	-2,5	0,9	-	-0,3
F	0	0,8	0,8	0,2	-	-0,8	2,1	-	2,1
G	-999	0,5	0,2	-1,1	-	-0,6	0	-	-0,6
H	-999	0,8	0,2	0,1	-	-0,8	0,9	-	-0,2
I	-1	1,1	1,5	1,1	-	-0,5	2,4	-	3,4
K	-999	1,1	0	-1,3	-	-1,1	0,5	-	-1,1
L	-1	1	1	-0,8	-	-0,9	2,2	-	3,4
M	-1	1,1	1,4	-0,4	-	-0,8	1,8	-	2

N	-999	0,8	0,5	-1,1	-	-0,6	1,4	-	-0,5
P	-999	-0,5	0,3	-1,2	-	-0,5	-0,2	-	-0,6
Q	-999	1,2	0	-1,5	-	-1,1	1,1	-	-0,9
R	-999	2,2	0,7	-1,1	-	-1,1	0,7	-	-0,8
S	-999	-0,3	0,2	1,5	-	0,6	0,4	-	-0,3
7*	-999	0	0	1,4	-	-0,1	0,9	-	0,4
V	-1	2,1	0,5	0,9	-	0,1	1,6	-	2
W	0	-0,1	0	-1,1	-	-0,9	1,4	-	0,8
Y	0	0,9	0,8	-0,9	-	-1	1,7	-	1,1

Quadro 33: Potencial de bolso para o alelo HLA*1501B.

Aminoácido	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9
A	-999	0	0	0	-	0	0	-	0
C	-999	0	0	0	-	0	0	-	0
D	-999	-1,3	-1,3	-0,4	-	-0,4	-0,7	-	-1,9
E	-999	0,1	-1,2	-0,6	-	-1	-0,7	-	-1,9
F	-1	0,8	0,8	2,4	-	-0,3	1,4	-	-0,4
G	-999	0,5	0,2	0	-	0,5	0	-	-0,8
H	-999	0,8	0,2	1,1	-	-0,5	0,6	-	-1,1
I	0	1,1	1,5	0,6	-	0,05	1,5	-	0,7
K	-999	1,1	0	-0,7	-	-0,3	-0,3	-	-1,7
L	0	1	1	0,5	-	0,2	1,9	-	0,5
M	0	1,1	1,4	1	-	0,1	1,7	-	0,08
N	-999	0,8	0,5	-0,2	-	0,7	0,7	-	-1,2
P	-999	-0,5	0,3	-0,3	-	-0,2	0,3	-	-1,1
Q	-999	1,2	0	-0,8	-	-0,8	-0,3	-	-1,6
R	-999	2,2	0,7	0,2	-	1	-0,5	-	-1
S	-999	-0,3	0,2	-0,3	-	0,6	0,3	-	-0,3
7*	-999	0	0	-0,3	-	-0	0,2	-	-0,2
V	0	2,1	0,5	0,2	-	-0,3	0,3	-	0,3
W	-1	-0,1	0	0,4	-	-0,4	0,6	-	-1,4
Y	-1	0,9	0,8	2,5	-	0,4	0,7	-	-0,9

Quadro 34: Atividade biológica de exemplo, ensaios biológicos e indicações preferidas

Proteína biologicamente ativa	Atividade Biológica	Ensaio de atividade de exemplo	Indicação preferida:
Fator de crescimento semelhante a insulina-1 (Mecasermin; Somazon; IGF-1; complexo IGF-1; CEP 151; CGP 35126;FK 780; Mecar; RHIGF-1; Somatomedina-1; Somatomedina-C; SOMATOKINE; MYOTROPHIN; IGEF; DepoIGF-1)	O IGF-1 é um polipéptido pleiotrópico com uma ampla gama de ações nos sistemas nervoso central e periférico. Está envolvido no crescimento e no desenvolvimento e protege os neurônios contra a morte celular através da ativação de caminhos intracelulares envolvendo fosfatidilinositide 3/Akt quinase.	A atividade de IGF-1 pode ser ensaiada in vitro utilizando um ensaio de proteção contra apoptose de retirada no soro. (J Endocrinol out de 2000; 167(1): 165-74). Ensaio de proliferação usando linha celular de carcinoma de mama MCF-7 (Karey 1988 Cancer Res. 48: 4083)	Diabetes mellitus; Distúrbios do crescimento; Fragilidade, Esclerose lateral amiotrófica; Osteoartrite; neuropatia e doença renal; Nanismo; Infeções por VIH-1; Isquemia do miocárdio; Osteoporose; Esclerose múltipla; Distúrbios nervosos; Queimaduras; diabetes; periférico

hormona do crescimento humano (Pegvisamont; Somatrem; Somatropina; TROVERT; PROTROPIN; BIOTROPIN; HUMATROPE; NUTROPIN; NUTROPINAQ; NUTROPHIN; NORDITROPIN; GENOTROPIN; SAIZEN; SEROSTIM)	Vincula-se a duas moléculas de GHR e induz a transdução de sinal através da dimerização do recetor	1) Ensaio de proliferação Ba/F3-hGHR, um novo bioensaio específico para hormona do crescimento humano sérico. J Clin Endocrinol Metab 2000 Nov; 85(11): 4274-9 Plasma growth hormone (GH) immunoassay and tibial bioassay, Appl Physiol (2000) 89(6); 2174-8. Growth hormone (hGH) receptor mediated cell mediated proliferation, Growth Horm IGF Res 2000 Oct; 10(5): 248-55 International standard for growth hormone, Horm Res 1999; 51 Suppl 1: 7-12	Acromegalia; Insuficiência de crescimento; Substituição de hormona do crescimento; Deficiência de hormona do crescimento; Deficiência de hormona do crescimento pediátrica; Deficiência de hormona do crescimento adulta; Deficiência de hormona do crescimento idiopática; Retardo no crescimento; Síndrome de Prader-Willi; Síndrome de Prader-Willi em crianças de 2 anos ou mais; Deficiências de crescimento; Insuficiência de crescimento

		2) Deteção de hormona do crescimento humano detetada por radioimunoensaio direto realizado em diluições em série de sobrenadantes de células lisadas utilizando Phadebas HGH	associada a insuficiência renal crónica; Osteoporose; Osteoporose pós-menopausa; Osteopenia, Osteoclstogénese; queimaduras; Caquexia; Caquexia com cancro; Nanismo; Distúrbios metabólicos; Obesidade; Insuficiência renal; Síndrome de Turner; Fibromialgia; Tratamento de fratura; Fragilidade, Definhamento por SIDA; Definhamento muscular; Baixa estatura; Agentes diagnósticos; Infertilidade feminina; lipodistrofia.
		PRIST kit (Farmacia). Oatente U.S. N.° 4.898.830	

Quadro 35: Exemplos de GHXTEN compreendendo hormonas do crescimento e XTEN único

Nome de GHXTEN*	Sequência de aminoácidos	Sequência de nucleótidos ADN
AE48-hGH	MAEPAGSPTSTEEGT PGSGTASSSPGSSTPS GATGSPGASPGTSST GSPGFPTIPLSRLFDN AMLRAHRLHQLAFD TYQEFEEAYIPKEQK YSFLQNPQTSLCFSE SIPTPSNREETQQKS NLELLRISLLLIQSWL EPVQFLRSVFANSLV YGASDSNVYDLLKD LEEGIQTLMGRLEDG SPRTGQIFKQTYSKF DTNSHNDDALLKNY GLLYCFRKDMDKVE TFLRIVQCRSVEGSC GF	ATGGCTGAACCTGCTGGCTCTCCAACCTCCACTGAGGAAGGTA CCCCGGGTAGCGGTACTGCTTCTTCCTCTCCAGGTAGCTCTACC CCTTCTGGTGCAACCGGCTCTCCAGGTGCTTCTCCGGGCACCAG CTCTACCGGTTCTCCAGGTTTTCCGACTATTCCGCTGTCTCGTCT GTTTGATAATGCTATGCTGCGTGCGCACCGTCTGCACCAGCTGG CCTTTGATACTTACCAGGAATTTGAAGAAGCcTACATTCCTAAA GAGCAGAAGTACTCTTTCCTGCAAAACCCACAGACTTCTCTCTG CTTCAGCGAATCTATTCCGACGCCTTCCAATCGCGAGGAAACTC AGCAAAAGTCCAATCTGGAACTACTCCGCATTTCTCTGCTTCTG ATTCAGAGCTGGCTAGAACCAGTGCAATTTCTGCGTTCCGTCTT CGCCAATAGCCTAGTTTATGGCGCATCCGACAGCAACGTATAC GATCTCCTGAAAGATCTCGAGGAAGGCATTCAGACCCTGATGG GTCGTCTCGAGGATGGCTCTCCGCGTACTGGTCAGATCTTCAAG CAGACTTACTCTAAATTTGATACTAACAGCCACAATGACGATGC GCTTCTAAAAAACTATGGTCTGCTGTATTGTTTTCGTAAAGATA TGGACAAAGTTGAAACCTTCCTGCGTATTGTTCAGTGTCGTTCC GTTGAGGGCAGCTGTGGTTTCTAA
AM48-hGH	MAEPAGSPTSTEEGA SPGTSSTGSPGSSTPS GATGSPGSSTPSGAT GSPGFPTIPLSRLFDN AMLRAHRLHQLAFD TYQEFEEAYIPKEQK YSFLQNPQTSLCFSE SIPTPSNREETQQKS NLELLRISLLLIQSWL EPVQFLRSVFANSLV YGASDSNVYDLLKD LEEGIQTLMGRLEDG SPRTGQIFKQTYSKF DTNSHNDDALLKNY GLLYCFRKDMDKVE TFLRIVQCRSVEGSC GF	ATGGCTGAACCTGCTGGCTCTCCAACCTCCACTGAGGAAGGTG CATCCCCGGGCACCAGCTCTACCGGTTCTCCAGGTAGCTCTACC CCGTCTGGTGCTACCGGCTCTCCAGGTAGCTCTACCCCGTCTGG TGCTACTGGCTCTCCAGGTTTTCCGACTATTCCGCTGTCTCGTCT GTTTGATAATGCTATGCTGCGTGCGCACCGTCTGCACCAGCTGG CCTTTGATACTTACCAGGAATTTGAAGAAGCcTACATTCCTAAA GAGCAGAAGTACTCTTTCCTGCAAAACCCACAGACTTCTCTCTG CTTCAGCGAATCTATTCCGACGCCTTCCAATCGCGAGGAAACTC AGCAAAAGTCCAATCTGGAACTACTCCGCATTTCTCTGCTTCTG ATTCAGAGCTGGCTAGAACCAGTGCAATTTCTGCGTTCCGTCTT CGCCAATAGCCTAGTTTATGGCGCATCCGACAGCAACGTATAC GATCTCCTGAAAGATCTCGAGGAAGGCATTCAGACCCTGATGG GTCGTCTCGAGGATGGCTCTCCGCGTACTGGTCAGATCTTCAAG CAGACTTACTCTAAATTTGATACTAACAGCCACAATGACGATGC GCTTCTAAAAAACTATGGTCTGCTGTATTGTTTTCGTAAAGATA TGGACAAAGTTGAAACCTTCCTGCGTATTGTTCAGTGTCGTTCC GTTGAGGGCAGCTGTGGTTTCTAA
AE144-hGH	GSEPATSGSETPGTS ESATPESGPGSEPAT SGSETPGSPAGSPTST EEGTSTEPSEGSAPG SEPATSGSETPGSEP ATSGSETPGSEPATS GSETPGTSTEPSEGS APGTSESATPESGPG SEPATSGSETPGTSTE PSEGSAPGFPTIPLSR LFDNAMLRAHRLHQ LAFDTYQEFEEAYIP	GGTAGCGAACCGGCAACTTCCGGCTCTGAAACCCCAGGTACTT CTGAAAGCGCTACTCCTGAGTCTGGCCCAGGTAGCGAACCTGC TACCTCTGGCTCTGAAACCCCAGGTAGCCCGGCAGGCTCTCCGA CTTCCACCGAGGAAGGTACCTCTACTGAACCTTCTGAGGGTAGC GCTCCAGGTAGCGAACCGGCAACCTCTGGCTCTGAAACCCCAG GTAGCGAACCTGCTACCTCCGGCTCTGAAACTCCAGGTAGCGA ACCGGCTACTTCCGGTTCTGAAACTCCAGGTACCTCTACCGAAC CTTCCGAAGGCAGCGCACCAGGTACTTCTGAAAGCGCAACCCC TGAATCCGGTCCAGGTAGCGAACCGGCTACTTCTGGCTCTGAG ACTCCAGGTACTTCTACCGAACCGTCCGAAGGTAGCGCACCAG GTTTTCCGACTATTCCGCTGTCTCGTCTGTTTGATAATGCTATGC TGCGTGCGCACCGTCTGCACCAGCTGGCCTTTGATACTTACCAG
	KEQKYSFLQNPQTSL CFSESIPTPSNREETQ QKSNLELLRISLLLIQ SWLEPVQFLRSVFA NSLVYGASDSNVYD LLKDLEEGIQTLMGR LEDGSPRTGQIFKQT YSKFDTNSHNDDAL LKNYGLLYCFRKDM DKVETFLRIVQCRSV EGSCGF	GAATTTGAAGAAGCcTACATTCCTAAAGAGCAGAAGTACTCTTT CCTGCAAAACCCACAGACTTCTCTCTGCTTCAGCGAATCTATTC CGACGCCTTCCAATCGCGAGGAAACTCAGCAAAAGTCCAATCT GGAACTACTCCGCATTTCTCTGCTTCTGATTCAGAGCTGGCTAG AACCAGTGCAATTTCTGCGTTCCGTCTTCGCCAATAGCCTAGTT TATGGCGCATCCGACAGCAACGTATACGATCTCCTGAAAGATC TCGAGGAAGGCATTCAGACCCTGATGGGTCGTCTCGAGGATGG CTCTCCGCGTACTGGTCAGATCTTCAAGCAGACTTACTCTAAAT TTGATACTAACAGCCACAATGACGATGCGCTTCTAAAAAACTA TGGTCTGCTGTATTGTTTTCGTAAAGATATGGACAAAGTTGAAA CCTTCCTGCGTATTGTTCAGTGTCGTTCCGTTGAGGGCAGCTGT GGTTTCTAA

AE288-hGH	GTSESATPESGPGSE PATSGSETPGTSESA TPESGPGSEPATSGS ETPGTSESATPESGP GTSTEPSEGSAPGSP AGSPTSTEEGTSESA TPESGPGSEPATSGS ETPGTSESATPESGP GSPAGSPTSTEEGSP AGSPTSTEEGTSTEPS EGSAPGTSESATPES GPGTSESATPESGPG TSESATPESGPGSEP ATSGSETPGSEPATS GSETPGSPAGSPTST EEGTSTEPSEGSAPG TSTEPSEGSAPGSEP ATSGSETPGTSESAT PESGPGTSTEPSEGS APGFPTIPLSRLFDNA MLRAHRLHQLAFDT YQEFEEAYIPKEQKY SFLQNPQTSLCFSESI PTPSNREETQQKSNL ELLRISLLLIQSWLEP VQFLRSVFANSLVY GASDSNVYDLLKDL EEGIQTLMGRLEDGS PRTGQIFKQTYSKFD TNSHNDDALLKNYG LLYCFRKDMDKVET FLRIVQCRSVEGSCG F	GGTACCTCTGAAAGCGCAACTCCTGAGTCTGGCCCAGGTAGCG AACCTGCTACCTCCGGCTCTGAGACTCCAGGTACCTCTGAAAGC GCAACCCCGGAATCTGGTCCAGGTAGCGAACCTGCAACCTCTG GCTCTGAAACCCCAGGTACCTCTGAAAGCGCTACTCCTGAATCT GGCCCAGGTACTTCTACTGAACCGTCCGAGGGCAGCGCACCAG GTAGCCCTGCTGGCTCTCCAACCTCCACCGAAGAAGGTACCTCT GAAAGCGCAACCCCTGAATCCGGCCCAGGTAGCGAACCGGCAA CCTCCGGTTCTGAAACCCCAGGTACTTCTGAAAGCGCTACTCCT GAGTCCGGCCCAGGTAGCCCGGCTGGCTCTCCGACTTCCACCG AGGAAGGTAGCCCGGCTGGCTCTCCAACTTCTACTGAAGAAGG TACTTCTACCGAACCTTCCGAGGGCAGCGCACCAGGTACTTCTG AAAGCGCTACCCCTGAGTCCGGCCCAGGTACTTCTGAAAGCGC TACTCCTGAATCCGGTCCAGGTACTTCTGAAAGCGCTACCCCGG AATCTGGCCCAGGTAGCGAACCGGCTACTTCTGGTTCTGAAACC CCAGGTAGCGAACCGGCTACCTCCGGTTCTGAAACTCCAGGTA GCCCAGCAGGCTCTCCGACTTCCACTGAGGAAGGTACTTCTACT GAACCTTCCGAAGGCAGCGCACCAGGTACCTCTACTGAACCTT CTGAGGGCAGCGCTCCAGGTAGCGAACCTGCAACCTCTGGCTC TGAAACCCCAGGTACCTCTGAAAGCGCTACTCCTGAATCTGGCC CAGGTACTTCTACTGAACCGTCCGAGGGCAGCGCACCAGGTTTT CCGACTATTCCGCTGTCTCGTCTGTTTGATAATGCTATGCTGCGT GCGCACCGTCTGCACCAGCTGGCCTTTGATACTTACCAGGAATT TGAAGAAGCcTACATTCCTAAAGAGCAGAAGTACTCTTTCCTGC AAAACCCACAGACTTCTCTCTGCTTCAGCGAATCTATTCCGACG CCTTCCAATCGCGAGGAAACTCAGCAAAAGTCCAATCTGGAAC TACTCCGCATTTCTCTGCTTCTGATTCAGAGCTGGCTAGAACCA GTGCAATTTCTGCGTTCCGTCTTCGCCAATAGCCTAGTTTATGG CGCATCCGACAGCAACGTATACGATCTCCTGAAAGATCTCGAG GAAGGCATTCAGACCCTGATGGGTCGTCTCGAGGATGGCTCTC CGCGTACTGGTCAGATCTTCAAGCAGACTTACTCTAAATTTGAT ACTAACAGCCACAATGACGATGCGCTTCTAAAAAACTATGGTC TGCTGTATTGTTTTCGTAAAGATATGGACAAAGTTGAAACCTTC CTGCGTATTGTTCAGTGTCGTTCCGTTGAGGGCAGCTGTGGTTT CTAA
AF144-hGH	GTSTPESGSASPGTSP SGESSTAPGTSPSGES STAPGSTSSTAESPGP GSTSESPSGTAPGSTS STAESPGPGTSPSGES STAPGTSTPESGSASP GSTSSTAESPGPGTSP SGESSTAPGTSPSGES STAPGTSPSGESSTAP GFPTIPLSRLFDNAM LRAHRLHQLAFDTY QEFEEAYIPKEQKYS FLQNPQTSLCFSESIP	GGTACTTCTACTCCGGAAAGCGGTTCCGCATCTCCAGGTACTTC TCCTAGCGGTGAATCTTCTACTGCTCCAGGTACCTCTCCTAGCG GCGAATCTTCTACTGCTCCAGGTTCTACCAGCTCTACCGCTGAA TCTCCTGGCCCAGGTTCTACCAGCGAATCCCCGTCTGGCACCGC ACCAGGTTCTACTAGCTCTACCGCAGAATCTCCGGGTCCAGGTA CTTCCCCTAGCGGTGAATCTTCTACTGCTCCAGGTACCTCTACT CCGGAAAGCGGCTCCGCATCTCCAGGTTCTACTAGCTCTACTGC TGAATCTCCTGGTCCAGGTACCTCCCCTAGCGGCGAATCTTCTA CTGCTCCAGGTACCTCTCCTAGCGGCGAATCTTCTACCGCTCCA GGTACCTCCCCTAGCGGTGAATCTTCTACCGCACCAGGTTTTCC GACTATTCCGCTGTCTCGTCTGTTTGATAATGCTATGCTGCGTG CGCACCGTCTGCACCAGCTGGCCTTTGATACTTACCAGGAATTT GAAGAAGCcTACATTCCTAAAGAGCAGAAGTACTCTTTCCTGCA
	TPSNREETQQKSNLE LLRISLLLIQSWLEPV QFLRSVFANSLVYG ASDSNVYDLLKDLE EGIQTLMGRLEDGSP RTGQIFKQTYSKFDT NSHNDDALLKNYGL LYCFRKDMDKVETF LRIVQCRSVEGSCGF	AAACCCACAGACTTCTCTCTGCTTCAGCGAATCTATTCCGACGC CTTCCAATCGCGAGGAAACTCAGCAAAAGTCCAATCTGGAACT ACTCCGCATTTCTCTGCTTCTGATTCAGAGCTGGCTAGAACCAG TGCAATTTCTGCGTTCCGTCTTCGCCAATAGCCTAGTTTATGGC GCATCCGACAGCAACGTATACGATCTCCTGAAAGATCTCGAGG AAGGCATTCAGACCCTGATGGGTCGTCTCGAGGATGGCTCTCC GCGTACTGGTCAGATCTTCAAGCAGACTTACTCTAAATTTGATA CTAACAGCCACAATGACGATGCGCTTCTAAAAAACTATGGTCT GCTGTATTGTTTTCGTAAAGATATGGACAAAGTTGAAACCTTCC TGCGTATTGTTCAGTGTCGTTCCGTTGAGGGCAGCTGTGGTTTC TAA

AD576-hGH	GSSESGSSEGGPGSG GEPSESGSSGSSESGS SEGGPGSSESGSSEG GPGSSESGSSEGGPG SSESGSSEGGPGSSES GSSEGGPGESPGGSS GSESGSEGSSGPGES SGSSESGSSEGGPGS SESGSSEGGPGSSES GSSEGGPGSGGEPSE SGSSGESPGGSSGSE SGESPGGSSGSESGS GGEPSESGSSGSSES GSSEGGPGSGGEPSE SGSSGSGGEPSESGS SGSEGSSGPGESSGE SPGGSSGSESGSGGE PSESGSSGSGGEPSES GSSGSGGEPSESGSS GSSESGSSEGGPGES PGGSSGSESGESPGG SSGSESGESPGGSSG SESGESPGGSSGSES GESPGGSSGSESGSS ESGSSEGGPGSGGEP SESGSSGSEGSSGPG ESSGSSESGSSEGGP GSGGEPSESGSSGSS ESGSSEGGPGSGGEP SESGSSGESPGGSSG SESGESPGGSSGSES GSSESGSSEGGPGSG GEPSESGSSGSSESGS SEGGPGSGGEPSESG SSGSGGEPSESGSSG ESPGGSSGSESGSEG SSGPGESSGSSESGSS EGGPGSEGSSGPGES SGFPTIPLSRLFDNA MLRAHRLHQLAFDT YQEFEEAYIPKEQKY SFLQNPQTSLCFSESI PTPSNREETQQKSNL ELLRISLLLIQSWLEP VQFLRSVFANSLVY GASDSNVYDLLKDL EEGIQTLMGRLEDGS PRTGQIFKQTYSKFD	GGTTCCTCTGAAAGCGGTTCTTCCGAAGGTGGTCCAGGTTCCTC TGAAAGCGGTTCTTCTGAGGGTGGTCCAGGTGAATCTCCGGGT GGCTCCAGCGGTTCCGAGTCAGGTTCTGGTGGCGAACCTTCCGA GTCTGGTAGCTCAGGTGAATCTCCGGGTGGTTCTAGCGGTTCCG AGTCAGGTGAATCTCCGGGTGGTTCCAGCGGTTCTGAGTCAGGT TCCTCCGAAAGCGGTTCTTCTGAGGGCGGTCCAGGTTCCTCCGA AAGCGGTTCTTCCGAGGGCGGTCCAGGTTCTTCTGAAAGCGGTT CTTCCGAGGGCGGTCCAGGTGAATCTCCTGGTGGTTCCAGCGGT TCCGAGTCAGGTGAATCTCCAGGTGGCTCTAGCGGTTCCGAGTC AGGTGAATCTCCTGGTGGTTCTAGCGGTTCTGAATCAGGTTCCT CCGAAAGCGGTTCTTCTGAGGGCGGTCCAGGTTCCTCCGAAAG CGGTTCTTCCGAGGGCGGTCCAGGTTCTTCTGAAAGCGGTTCTT CCGAGGGCGGTCCAGGTTCCTCTGAAAGCGGTTCTTCTGAGGG CGGTCCAGGTTCTTCCGAAAGCGGTTCTTCCGAGGGCGGTCCAG GTTCTTCCGAAAGCGGTTCTTCTGAAGGCGGTCCAGGTTCTGGT GGCGAACCGTCCGAGTCTGGTAGCTCAGGTGAATCTCCGGGTG GCTCTAGCGGTTCCGAGTCAGGTGAATCTCCTGGTGGTTCCAGC GGTTCCGAGTCAGGTTCCGGTGGCGAACCGTCCGAATCTGGTA GCTCAGGTAGCGAAGGTTCTTCTGGTCCAGGCGAATCTTCAGGT TCCTCTGAAAGCGGTTCTTCTGAGGGCGGTCCAGGTTCCGGTGG CGAACCGTCCGAATCTGGTAGCTCAGGTAGCGAAGGTTCTTCTG GTCCAGGCGAATCTTCAGGTTCCTCTGAAAGCGGTTCTTCTGAG GGCGGTCCAGGTTCCGGTGGCGAACCTTCCGAATCTGGTAGCTC AGGTGAATCTCCGGGTGGTTCTAGCGGTTCTGAGTCAGGTTCTG GTGGTGAACCTTCCGAGTCTGGTAGCTCAGGTTCTGGTGGCGAA CCATCCGAGTCTGGTAGCTCAGGTTCTTCCGAAAGCGGTTCTTC CGAAGGCGGTCCAGGTTCTGGTGGTGAACCGTCCGAATCTGGT AGCTCAGGTTCTGGTGGCGAACCATCCGAATCTGGTAGCTCAG GTAGCGAAGGTTCTTCTGGTCCTGGCGAATCTTCAGGTGAATCT CCAGGTGGCTCTAGCGGTTCCGAATCAGGTAGCGAAGGTTCTTC CGGTCCAGGTGAATCTTCAGGTAGCGAAGGTTCTTCTGGTCCTG GTGAATCCTCAGGTTCCGGTGGCGAACCATCTGAATCTGGTAGC TCAGGTTCCTCTGAAAGCGGTTCTTCCGAAGGTGGTCCAGGTTC CTCTGAAAGCGGTTCTTCTGAGGGTGGTCCAGGTGAATCTCCGG GTGGCTCCAGCGGTTCCGAGTCAGGTTCTGGTGGCGAACCATCC GAATCTGGTAGCTCAGGTAGCGAAGGTTCTTCTGGTCCTGGCGA ATCTTCAGGTGAATCTCCAGGTGGCTCTAGCGGTTCCGAATCAG GTAGCGAAGGTTCTTCCGGTCCTGGTGAGTCTTCAGGTGAATCT CCAGGTGGCTCTAGCGGTTCCGAGTCAGGTAGCGAAGGTTCTTC TGGTCCTGGCGAGTCCTCAGGTTTTCCGACTATTCCGCTGTCTC GTCTGTTTGATAATGCTATGCTGCGTGCGCACCGTCTGCACCAG CTGGCCTTTGATACTTACCAGGAATTTGAAGAAGCCTACATTCC TAAAGAGCAGAAGTACTCTTTCCTGCAAAACCCACAGACTTCTC TCTGCTTCAGCGAATCTATTCCGACGCCTTCCAATCGCGAGGAA ACTCAGCAAAAGTCCAATCTGGAACTACTCCGCATTTCTCTGCT TCTGATTCAGAGCTGGCTAGAACCAGTGCAATTTCTGCGTTCCG TCTTCGCCAATAGCCTAGTTTATGGCGCATCCGACAGCAACGTA TACGATCTCCTGAAAGATCTCGAGGAAGGCATTCAGACCCTGA
	TNSHNDDALLKNYG LLYCFRKDMDKVET FLRIVQCRSVEGSCG F	TGGGTCGTCTCGAGGATGGCTCTCCGCGTACTGGTCAGATCTTC AAGCAGACTTACTCTAAATTTGATACTAACAGCCACAATGACG ATGCGCTTCTAAAAAACTATGGTCTGCTGTATTGTTTTCGTAAA GATATGGACAAAGTTGAAACCTTCCTGCGTATTGTTCAGTGTCG TTCCGTTGAGGGCAGCTGTGGTTTCTAA

AE576-hGH	GSPAGSPTSTEEGTS ESATPESGPGTSTEPS EGSAPGSPAGSPTST EEGTSTEPSEGSAPG TSTEPSEGSAPGTSES ATPESGPGSEPATSG SETPGSEPATSGSETP GSPAGSPTSTEEGTS ESATPESGPGTSTEPS EGSAPGTSTEPSEGS APGSPAGSPTSTEEG TSTEPSEGSAPGTSTE PSEGSAPGTSESATP ESGPGTSTEPSEGSA PGTSESATPESGPGS EPATSGSETPGTSTEP SEGSAPGTSTEPSEG SAPGTSESATPESGP GTSESATPESGPGSP AGSPTSTEEGTSESA TPESGPGSEPATSGS ETPGTSESATPESGP GTSTEPSEGSAPGTS TEPSEGSAPGTSTEPS EGSAPGTSTEPSEGS APGTSTEPSEGSAPG TSTEPSEGSAPGSPA GSPTSTEEGTSTEPSE GSAPGTSESATPESG PGSEPATSGSETPGT SESATPESGPGSEPA TSGSETPGTSESATPE SGPGTSTEPSEGSAP GTSESATPESGPGSP AGSPTSTEEGSPAGS PTSTEEGSPAGSPTST EEGTSESATPESGPG TSTEPSEGSAPGFPTI PLSRLFDNAMLRAH RLHQLAFDTYQEFEE AYIPKEQKYSFLQNP QTSLCFSESIPTPSNR EETQQKSNLELLRIS LLLIQSWLEPVQFLR SVFANSLVYGASDS NVYDLLKDLEEGIQT LMGRLEDGSPRTGQI FKQTYSKFDTNSHN DDALLKNYGLLYCF RKDMDKVETFLRIV QCRSVEGSCGF	GGTAGCCCGGCTGGCTCTCCTACCTCTACTGAGGAAGGTACTTC TGAAAGCGCTACTCCTGAGTCTGGTCCAGGTACCTCTACTGAAC CGTCCGAAGGTAGCGCTCCAGGTAGCCCAGCAGGCTCTCCGAC TTCCACTGAGGAAGGTACTTCTACTGAACCTTCCGAAGGCAGC GCACCAGGTACCTCTACTGAACCTTCTGAGGGCAGCGCTCCAG GTACTTCTGAAAGCGCTACCCCGGAATCTGGCCCAGGTAGCGA ACCGGCTACTTCTGGTTCTGAAACCCCAGGTAGCGAACCGGCT ACCTCCGGTTCTGAAACTCCAGGTAGCCCGGCAGGCTCTCCGAC CTCTACTGAGGAAGGTACTTCTGAAAGCGCAACCCCGGAGTCC GGCCCAGGTACCTCTACCGAACCGTCTGAGGGCAGCGCACCAG GTACTTCTACCGAACCGTCCGAGGGTAGCGCACCAGGTAGCCC AGCAGGTTCTCCTACCTCCACCGAGGAAGGTACTTCTACCGAAC CGTCCGAGGGTAGCGCACCAGGTACCTCTACTGAACCTTCTGA GGGCAGCGCTCCAGGTACTTCTGAAAGCGCTACCCCGGAGTCC GGTCCAGGTACTTCTACTGAACCGTCCGAAGGTAGCGCACCAG GTACTTCTGAAAGCGCAACCCCTGAATCCGGTCCAGGTAGCGA ACCGGCTACTTCTGGCTCTGAGACTCCAGGTACTTCTACCGAAC CGTCCGAAGGTAGCGCACCAGGTACTTCTACTGAACCGTCTGA AGGTAGCGCACCAGGTACTTCTGAAAGCGCAACCCCGGAATCC GGCCCAGGTACCTCTGAAAGCGCAACCCCGGAGTCCGGCCCAG GTAGCCCTGCTGGCTCTCCAACCTCCACCGAAGAAGGTACCTCT GAAAGCGCAACCCCTGAATCCGGCCCAGGTAGCGAACCGGCAA CCTCCGGTTCTGAAACCCCAGGTACCTCTGAAAGCGCTACTCCG GAGTCTGGCCCAGGTACCTCTACTGAACCGTCTGAGGGTAGCG CTCCAGGTACTTCTACTGAACCGTCCGAAGGTAGCGCACCAGG TACTTCTACCGAACCGTCCGAAGGCAGCGCTCCAGGTACCTCTA CTGAACCTTCCGAGGGCAGCGCTCCAGGTACCTCTACCGAACCT TCTGAAGGTAGCGCACCAGGTACTTCTACCGAACCGTCCGAGG GTAGCGCACCAGGTAGCCCAGCAGGTTCTCCTACCTCCACCGA GGAAGGTACTTCTACCGAACCGTCCGAGGGTAGCGCACCAGGT ACCTCTGAAAGCGCAACTCCTGAGTCTGGCCCAGGTAGCGAAC CTGCTACCTCCGGCTCTGAGACTCCAGGTACCTCTGAAAGCGCA ACCCCGGAATCTGGTCCAGGTAGCGAACCTGCAACCTCTGGCT CTGAAACCCCAGGTACCTCTGAAAGCGCTACTCCTGAATCTGGC CCAGGTACTTCTACTGAACCGTCCGAGGGCAGCGCACCAGGTA CTTCTGAAAGCGCTACTCCTGAGTCCGGCCCAGGTAGCCCGGCT GGCTCTCCGACTTCCACCGAGGAAGGTAGCCCGGCTGGCTCTCC AACTTCTACTGAAGAAGGTAGCCCGGCAGGCTCTCCGACCTCT ACTGAGGAAGGTACTTCTGAAAGCGCAACCCCGGAGTCCGGCC CAGGTACCTCTACCGAACCGTCTGAGGGCAGCGCACCAGGTTT TCCGACTATTCCGCTGTCTCGTCTGTTTGATAATGCTATGCTGCG TGCGCACCGTCTGCACCAGCTGGCCTTTGATACTTACCAGGAAT TTGAAGAAGCcTACATTCCTAAAGAGCAGAAGTACTCTTTCCTG CAAAACCCACAGACTTCTCTCTGCTTCAGCGAATCTATTCCGAC GCCTTCCAATCGCGAGGAAACTCAGCAAAAGTCCAATCTGGAA CTACTCCGCATTTCTCTGCTTCTGATTCAGAGCTGGCTAGAACC AGTGCAATTTCTGCGTTCCGTCTTCGCCAATAGCCTAGTTTATG GCGCATCCGACAGCAACGTATACGATCTCCTGAAAGATCTCGA GGAAGGCATTCAGACCCTGATGGGTCGTCTCGAGGATGGCTCT CCGCGTACTGGTCAGATCTTCAAGCAGACTTACTCTAAATTTGA TACTAACAGCCACAATGACGATGCGCTTCTAAAAAACTATGGT CTGCTGTATTGTTTTCGTAAAGATATGGACAAAGTTGAAACCTT CCTGCGTATTGTTCAGTGTCGTTCCGTTGAGGGCAGCTGTGGTT TCTAA

AF576-hGH	GSTSSTAESPGPGSTS STAESPGPGSTSESPS GTAPGSTSSTAESPG PGSTSSTAESPGPGTS TPESGSASPGSTSESP SGTAPGTSPSGESST APGSTSESPSGTAPG STSESPSGTAPGTSPS GESSTAPGSTSESPSG TAPGSTSESPSGTAP GTSPSGESSTAPGSTS ESPSGTAPGSTSESPS GTAPGSTSESPSGTA PGTSTPESGSASPGST SESPSGTAPGTSTPES GSASPGSTSSTAESP GPGSTSSTAESPGPG TSTPESGSASPGTSTP ESGSASPGSTSESPSG TAPGTSTPESGSASP GTSTPESGSASPGSTS ESPSGTAPGSTSESPS GTAPGSTSESPSGTA PGSTSSTAESPGPGTS TPESGSASPGTSTPES GSASPGSTSESPSGT APGSTSESPSGTAPG TSTPESGSASPGSTSE SPSGTAPGSTSESPSG TAPGTSTPESGSASP GTSPSGESSTAPGSTS STAESPGPGTSPSGES STAPGSTSSTAESPGP GTSTPESGSASPGSTS ESPSGTAPGSTSSTA ESPGPGTSTPESGSAS PGTSTPESGSASPGFP TIPLSRLFDNAMLRA HRLHQLAFDTYQEF EEAYIPKEQKYSFLQ NPQTSLCFSESIPTPS NREETQQKSNLELLR ISLLLIQSWLEPVQFL RSVFANSLVYGASD SNVYDLLKDLEEGIQ TLMGRLEDGSPRTG QIFKQTYSKFDTNSH NDDALLKNYGLLYC FRKDMDKVETFLRI VQCRSVEGSCGF	GGTTCTACTAGCTCTACCGCTGAATCTCCTGGCCCAGGTTCCAC TAGCTCTACCGCAGAATCTCCGGGCCCAGGTTCTACTAGCGAAT CCCCTTCTGGTACCGCTCCAGGTTCTACTAGCTCTACCGCTGAA TCTCCGGGTCCAGGTTCTACCAGCTCTACTGCAGAATCTCCTGG CCCAGGTACTTCTACTCCGGAAAGCGGTTCCGCTTCTCCAGGTT CTACCAGCGAATCTCCTTCTGGCACCGCTCCAGGTACCTCTCCT AGCGGCGAATCTTCTACCGCTCCAGGTTCTACTAGCGAATCTCC TTCTGGCACTGCACCAGGTTCTACCAGCGAATCTCCTTCTGGCA CCGCTCCAGGTACCTCTCCTAGCGGCGAATCTTCTACCGCTCCA GGTTCTACTAGCGAATCTCCTTCTGGCACTGCACCAGGTTCTAC CAGCGAATCTCCTTCTGGCACCGCTCCAGGTACCTCTCCTAGCG GCGAATCTTCTACCGCTCCAGGTTCTACTAGCGAATCTCCTTCT GGCACTGCACCAGGTTCTACTAGCGAATCTCCTTCTGGCACTGC ACCAGGTTCTACCAGCGAATCTCCGTCTGGCACTGCACCAGGTA CCTCTACCCCTGAAAGCGGTTCCGCTTCTCCAGGTTCTACTAGC GAATCTCCTTCTGGTACCGCTCCAGGTACTTCTACCCCTGAAAG CGGCTCCGCTTCTCCAGGTTCCACTAGCTCTACCGCTGAATCTC CGGGTCCAGGTTCTACTAGCTCTACTGCAGAATCTCCTGGCCCA GGTACCTCTACTCCGGAAAGCGGCTCTGCATCTCCAGGTACTTC TACCCCTGAAAGCGGTTCTGCATCTCCAGGTTCTACTAGCGAAT CCCCGTCTGGTACCGCACCAGGTACTTCTACCCCGGAAAGCGG CTCTGCTTCTCCAGGTACTTCTACCCCGGAAAGCGGCTCCGCAT CTCCAGGTTCTACTAGCGAATCTCCTTCTGGTACCGCTCCAGGT TCTACCAGCGAATCCCCGTCTGGTACTGCTCCAGGTTCTACCAG CGAATCTCCTTCTGGTACTGCACCAGGTTCTACTAGCTCTACTG CAGAATCTCCTGGCCCAGGTACCTCTACTCCGGAAAGCGGCTCT GCATCTCCAGGTACTTCTACCCCTGAAAGCGGTTCTGCATCTCC AGGTTCTACTAGCGAATCTCCTTCTGGCACTGCACCAGGTTCTA CCAGCGAATCTCCGTCTGGCACTGCACCAGGTACCTCTACCCCT GAAAGCGGTTCCGCTTCTCCAGGTTCTACTAGCGAATCTCCTTC TGGCACTGCACCAGGTTCTACCAGCGAATCTCCGTCTGGCACTG CACCAGGTACCTCTACCCCTGAAAGCGGTTCCGCTTCTCCAGGT ACTTCTCCGAGCGGTGAATCTTCTACCGCACCAGGTTCTACTAG CTCTACCGCTGAATCTCCGGGCCCAGGTACTTCTCCGAGCGGTG AATCTTCTACTGCTCCAGGTTCCACTAGCTCTACTGCTGAATCT CCTGGCCCAGGTACTTCTACTCCGGAAAGCGGTTCCGCTTCTCC AGGTTCTACTAGCGAATCTCCGTCTGGCACCGCACCAGGTTCTA CTAGCTCTACTGCAGAATCTCCTGGCCCAGGTACCTCTACTCCG GAAAGCGGCTCTGCATCTCCAGGTACTTCTACCCCTGAAAGCG GTTCTGCATCTCCAGGTTTTCCGACTATTCCGCTGTCTCGTCTGT TTGATAATGCTATGCTGCGTGCGCACCGTCTGCACCAGCTGGCC TTTGATACTTACCAGGAATTTGAAGAAGCcTACATTCCTAAAGA GCAGAAGTACTCTTTCCTGCAAAACCCACAGACTTCTCTCTGCT TCAGCGAATCTATTCCGACGCCTTCCAATCGCGAGGAAACTCA GCAAAAGTCCAATCTGGAACTACTCCGCATTTCTCTGCTTCTGA TTCAGAGCTGGCTAGAACCAGTGCAATTTCTGCGTTCCGTCTTC GCCAATAGCCTAGTTTATGGCGCATCCGACAGCAACGTATACG ATCTCCTGAAAGATCTCGAGGAAGGCATTCAGACCCTGATGGG TCGTCTCGAGGATGGCTCTCCGCGTACTGGTCAGATCTTCAAGC AGACTTACTCTAAATTTGATACTAACAGCCACAATGACGATGC GCTTCTAAAAAAACTATGGTCTGCTGTATTGTTTTCGTAAAGATA TGGACAAAGTTGAAACCTTCCTGCGTATTGTTCAGTGTCGTTCC GTTGAGGGCAGCTGTGGTTTCTAA
AE624-hGH	MAEPAGSPTSTEEGT PGSGTASSSPGSSTPS GATGSPGASPGTSST GSPGSPAGSPTSTEE GTSESATPESGPGTS TEPSEGSAPGSPAGS	ATGGCTGAACCTGCTGGCTCTCCAACCTCCACTGAGGAAGGTA CCCCGGGTAGCGGTACTGCTTCTTCCTCTCCAGGTAGCTCTACC CCTTCTGGTGCAACCGGCTCTCCAGGTGCTTCTCCGGGCACCAG CTCTACCGGTTCTCCAGGTAGCCCGGCTGGCTCTCCTACCTCTA CTGAGGAAGGTACTTCTGAAAGCGCTACTCCTGAGTCTGGTCCA GGTACCTCTACTGAACCGTCCGAAGGTAGCGCTCCAGGTAGCC

	PTSTEEGTSTEPSEGS APGTSTEPSEGSAPG TSESATPESGPGSEP ATSGSETPGSEPATS GSETPGSPAGSPTST EEGTSESATPESGPG TSTEPSEGSAPGTSTE PSEGSAPGSPAGSPT STEEGTSTEPSEGSAP GTSTEPSEGSAPGTS ESATPESGPGTSTEPS EGSAPGTSESATPES GPGSEPATSGSETPG TSTEPSEGSAPGTSTE PSEGSAPGTSESATP ESGPGTSESATPESG PGSPAGSPTSTEEGT SESATPESGPGSEPA TSGSETPGTSESATPE SGPGTSTEPSEGSAP GTSTEPSEGSAPGTS TEPSEGSAPGTSTEPS EGSAPGTSTEPSEGS APGTSTEPSEGSAPG SPAGSPTSTEEGTSTE PSEGSAPGTSESATP ESGPGSEPATSGSET PGTSESATPESGPGS EPATSGSETPGTSES ATPESGPGTSTEPSE GSAPGTSESATPESG PGSPAGSPTSTEEGSP AGSPTSTEEGSPAGS PTSTEEGTSESATPES GPGTSTEPSEGSAPG FPTIPLSRLFDNAML RAHRLHQLAFDTYQ EFEEAYIPKEQKYSF LQNPQTSLCFSESIPT PSNREETQQKSNLEL LRISLLLIQSWLEPVQ FLRSVFANSLVYGAS DSNVYDLLKDLEEGI QTLMGRLEDGSPRT GQIFKQTYSKFDTNS HNDDALLKNYGLLY CFRKDMDKVETFLRI VQCRSVEGSCGF	CAGCAGGCTCTCCGACTTCCACTGAGGAAGGTACTTCTACTGAA CCTTCCGAAGGCAGCGCACCAGGTACCTCTACTGAACCTTCTGA GGGCAGCGCTCCAGGTACTTCTGAAAGCGCTACCCCGGAATCT GGCCCAGGTAGCGAACCGGCTACTTCTGGTTCTGAAACCCCAG GTAGCGAACCGGCTACCTCCGGTTCTGAAACTCCAGGTAGCCC GGCAGGCTCTCCGACCTCTACTGAGGAAGGTACTTCTGAAAGC GCAACCCCGGAGTCCGGCCCAGGTACCTCTACCGAACCGTCTG AGGGCAGCGCACCAGGTACTTCTACCGAACCGTCCGAGGGTAG CGCACCAGGTAGCCCAGCAGGTTCTCCTACCTCCACCGAGGAA GGTACTTCTACCGAACCGTCCGAGGGTAGCGCACCAGGTACCT CTACTGAACCTTCTGAGGGCAGCGCTCCAGGTACTTCTGAAAGC GCTACCCCGGAGTCCGGTCCAGGTACTTCTACTGAACCGTCCGA AGGTAGCGCACCAGGTACTTCTGAAAGCGCAACCCCTGAATCC GGTCCAGGTAGCGAACCGGCTACTTCTGGCTCTGAGACTCCAG GTACTTCTACCGAACCGTCCGAAGGTAGCGCACCAGGTACTTCT ACTGAACCGTCTGAAGGTAGCGCACCAGGTACTTCTGAAAGCG CAACCCCGGAATCCGGCCCAGGTACCTCTGAAAGCGCAACCCC GGAGTCCGGCCCAGGTAGCCCTGCTGGCTCTCCAACCTCCACCG AAGAAGGTACCTCTGAAAGCGCAACCCCTGAATCCGGCCCAGG TAGCGAACCGGCAACCTCCGGTTCTGAAACCCCAGGTACCTCT GAAAGCGCTACTCCGGAGTCTGGCCCAGGTACCTCTACTGAAC CGTCTGAGGGTAGCGCTCCAGGTACTTCTACTGAACCGTCCGAA GGTAGCGCACCAGGTACTTCTACCGAACCGTCCGAAGGCAGCG CTCCAGGTACCTCTACTGAACCTTCCGAGGGCAGCGCTCCAGGT ACCTCTACCGAACCTTCTGAAGGTAGCGCACCAGGTACTTCTAC CGAACCGTCCGAGGGTAGCGCACCAGGTAGCCCAGCAGGTTCT CCTACCTCCACCGAGGAAGGTACTTCTACCGAACCGTCCGAGG GTAGCGCACCAGGTACCTCTGAAAGCGCAACTCCTGAGTCTGG CCCAGGTAGCGAACCTGCTACCTCCGGCTCTGAGACTCCAGGT ACCTCTGAAAGCGCAACCCCGGAATCTGGTCCAGGTAGCGAAC CTGCAACCTCTGGCTCTGAAACCCCAGGTACCTCTGAAAGCGCT ACTCCTGAATCTGGCCCAGGTACTTCTACTGAACCGTCCGAGGG CAGCGCACCAGGTACTTCTGAAAGCGCTACTCCTGAGTCCGGC CCAGGTAGCCCGGCTGGCTCTCCGACTTCCACCGAGGAAGGTA GCCCGGCTGGCTCTCCAACTTCTACTGAAGAAGGTAGCCCGGC AGGCTCTCCGACCTCTACTGAGGAAGGTACTTCTGAAAGCGCA ACCCCGGAGTCCGGCCCAGGTACCTCTACCGAACCGTCTGAGG GCAGCGCACCAGGTTTTCCGACTATTCCGCTGTCTCGTCTGTTT GATAATGCTATGCTGCGTGCGCACCGTCTGCACCAGCTGGCCTT TGATACTTACCAGGAATTTGAAGAAGCcTACATTCCTAAAGAGC AGAAGTACTCTTTCCTGCAAAACCCACAGACTTCTCTCTGCTTC AGCGAATCTATTCCGACGCCTTCCAATCGCGAGGAAACTCAGC AAAAGTCCAATCTGGAACTACTCCGCATTTCTCTGCTTCTGATT CAGAGCTGGCTAGAACCAGTGCAATTTCTGCGTTCCGTCTTCGC CAATAGCCTAGTTTATGGCGCATCCGACAGCAACGTATACGAT CTCCTGAAAGATCTCGAGGAAGGCATTCAGACCCTGATGGGTC GTCTCGAGGATGGCTCTCCGCGTACTGGTCAGATCTTCAAGCAG ACTTACTCTAAATTTGATACTAACAGCCACAATGACGATGCGCT TCTAAAAAACTATGGTCTGCTGTATTGTTTTCGTAAAGATATGG ACAAAGTTGAAACCTTCCTGCGTATTGTTCAGTGTCGTTCCGTT GAGGGCAGCTGTGGTTTCTAA
AD836-hGH	GSSESGSSEGGPGSS ESGSSEGGPGESPGG SSGSESGSGGEPSES GSSGESPGGSSGSES GESPGGSSGSESGSS ESGSSEGGPGSSESG SSEGGPGSSESGSSE GGPGESPGGSSGSES	GGTTCCTCTGAAAGCGGTTCTTCCGAAGGTGGTCCAGGTTCCTC TGAAAGCGGTTCTTCTGAGGGTGGTCCAGGTGAATCTCCGGGT GGCTCCAGCGGTTCCGAGTCAGGTTCTGGTGGCGAACCTTCCGA GTCTGGTAGCTCAGGTGAATCTCCGGGTGGTTCTAGCGGTTCCG AGTCAGGTGAATCTCCGGGTGGTTCCAGCGGTTCTGAGTCAGGT TCCTCCGAAAGCGGTTCTTCTGAGGGCGGTCCAGGTTCCTCCGA AAGCGGTTCTTCCGAGGGCGGTCCAGGTTCTTCTGAAAGCGGTT CTTCCGAGGGCGGTCCAGGTGAATCTCCTGGTGGTTCCAGCGGT

	GESPGGSSGSESGES PGGSSGSESGSSESG SSEGGPGSSESGSSE GGPGSSESGSSEGGP GSSESGSSEGGPGSS ESGSSEGGPGSSESG SSEGGPGSGGEPSES GSSGESPGGSSGSES GESPGGSSGSESGSG GEPSESGSSGSEGSS GPGESSGSSESGSSE GGPGSGGEPSESGSS GSEGSSGPGESSGSS ESGSSEGGPGSGGEP SESGSSGESPGGSSG SESGSGGEPSESGSS GSGGEPSESGSSGSS ESGSSEGGPGSGGEP SESGSSGSGGEPSES GSSGSEGSSGPGESS GESPGGSSGSESGSE GSSGPGESSGSEGSS GPGESSGSGGEPSES GSSGSSESGSSEGGP GSSESGSSEGGPGES PGGSSGSESGSGGEP SESGSSGSEGSSGPG ESSGESPGGSSGSES GSEGSSGPGSSESGS SEGGPGSGGEPSESG SSGSEGSSGPGESSG SEGSSGPGESSGSEG SSGPGESSGSGGEPS ESGSSGSGGEPSESG SSGESPGGSSGSESG ESPGGSSGSESGSGG EPSESGSSGSEGSSGP GESSGESPGGSSGSE SGSSESGSSEGGPGS SESGSSEGGPGSSES GSSEGGPGSGGEPSE SGSSGSSESGSSEGG PGESPGGSSGSESGS GGEPSESGSSGSSES GSSEGGPGESPGGSS GSESGSGGEPSESGS SGESPGGSSGSESGS GGEPSESGSSGFPTIP LSRLFDNAMLRAHR LHQLAFDTYQEFEE AYIPKEQKYSFLQNP QTSLCFSESIPTPSNR EETQQKSNLELLRIS LLLIQSWLEPVQFLR SVFANSLVYGASDS NVYDLLKDLEEGIQT LMGRLEDGSPRTGQI FKQTYSKFDTNSHN DDALLKNYGLLYCF	TCCGAGTCAGGTGAATCTCCAGGTGGCTCTAGCGGTTCCGAGTC AGGTGAATCTCCTGGTGGTTCTAGCGGTTCTGAATCAGGTTCCT CCGAAAGCGGTTCTTCTGAGGGCGGTCCAGGTTCCTCCGAAAG CGGTTCTTCCGAGGGCGGTCCAGGTTCTTCTGAAAGCGGTTCTT CCGAGGGCGGTCCAGGTTCCTCTGAAAGCGGTTCTTCTGAGGG CGGTCCAGGTTCTTCCGAAAGCGGTTCTTCCGAGGGCGGTCCAG GTTCTTCCGAAAGCGGTTCTTCTGAAGGCGGTCCAGGTTCTGGT GGCGAACCGTCCGAGTCTGGTAGCTCAGGTGAATCTCCGGGTG GCTCTAGCGGTTCCGAGTCAGGTGAATCTCCTGGTGGTTCCAGC GGTTCCGAGTCAGGTTCCGGTGGCGAACCGTCCGAATCTGGTA GCTCAGGTAGCGAAGGTTCTTCTGGTCCAGGCGAATCTTCAGGT TCCTCTGAAAGCGGTTCTTCTGAGGGCGGTCCAGGTTCCGGTGG CGAACCGTCCGAATCTGGTAGCTCAGGTAGCGAAGGTTCTTCTG GTCCAGGCGAATCTTCAGGTTCCTCTGAAAGCGGTTCTTCTGAG GGCGGTCCAGGTTCCGGTGGCGAACCTTCCGAATCTGGTAGCTC AGGTGAATCTCCGGGTGGTTCTAGCGGTTCTGAGTCAGGTTCTG GTGGTGAACCTTCCGAGTCTGGTAGCTCAGGTTCTGGTGGCGAA CCATCCGAGTCTGGTAGCTCAGGTTCTTCCGAAAGCGGTTCTTC CGAAGGCGGTCCAGGTTCTGGTGGTGAACCGTCCGAATCTGGT AGCTCAGGTTCTGGTGGCGAACCATCCGAATCTGGTAGCTCAG GTAGCGAAGGTTCTTCTGGTCCTGGCGAATCTTCAGGTGAATCT CCAGGTGGCTCTAGCGGTTCCGAATCAGGTAGCGAAGGTTCTTC CGGTCCAGGTGAATCTTCAGGTAGCGAAGGTTCTTCTGGTCCTG GTGAATCCTCAGGTTCCGGTGGCGAACCATCTGAATCTGGTAGC TCAGGTTCCTCTGAAAGCGGTTCTTCCGAAGGTGGTCCAGGTTC CTCTGAAAGCGGTTCTTCTGAGGGTGGTCCAGGTGAATCTCCGG GTGGCTCCAGCGGTTCCGAGTCAGGTTCTGGTGGCGAACCATCC GAATCTGGTAGCTCAGGTAGCGAAGGTTCTTCTGGTCCTGGCGA ATCTTCAGGTGAATCTCCAGGTGGCTCTAGCGGTTCCGAATCAG GTAGCGAAGGTTCTTCCGGTCCaGGTTCCTCTGAAAGCGGTTCT TCTGAGGGCGGTCCAGGTTCTGGTGGCGAACCATCTGAATCTG GTAGCTCAGGTAGCGAAGGTTCTTCCGGTCCGGGTGAATCTTCA GGTAGCGAAGGTTCTTCCGGTCCAGGTGAATCTTCAGGTAGCG AAGGTTCTTCTGGTCCTGGTGAATCCTCAGGTTCCGGTGGCGAA CCATCTGAATCTGGTAGCTCAGGTTCTGGTGGCGAACCATCCGA ATCTGGTAGCTCAGGTGAATCTCCGGGTGGCTCCAGCGGTTCTG AATCAGGTGAATCTCCTGGTGGCTCCAGCGGTTCTGAGTCAGGT TCTGGTGGCGAACCATCCGAATCTGGTAGCTCAGGTAGCGAAG GTTCTTCTGGTCCTGGCGAATCTTCAGGTGAATCTCCAGGTGGC TCTAGCGGTTCCGAATCAGGTTCCTCTGAAAGCGGTTCTTCTGA GGGCGGTCCAGGTTCTTCCGAAAGCGGTTCTTCCGAGGGCGGT CCAGGTTCTTCCGAAAGCGGTTCTTCTGAAGGCGGTCCAGGTTC TGGTGGCGAACCGTCCGAATCTGGTAGCTCAGGTTCCTCCGAA AGCGGTTCTTCTGAAGGTGGTCCAGGTGAATCTCCAGGTGGTTC TAGCGGTTCTGAATCAGGTTCTGGTGGCGAACCGTCCGAATCTG GTAGCTCAGGTTCCTCCGAAAGCGGTTCTTCTGAAGGTGGTCCA GGTGAATCTCCAGGTGGTTCTAGCGGTTCTGAATCAGGTTCTGG TGGCGAACCGTCCGAATCTGGTAGCTCAGGTGAATCTCCTGGTG GTTCCAGCGGTTCCGAGTCAGGTTCTGGTGGCGAACCTTCCGAA TCTGGTAGCTCAGGTTTTCCGACTATTCCGCTGTCTCGTCTGTTT GATAATGCTATGCTGCGTGCGCACCGTCTGCACCAGCTGGCCTT TGATACTTACCAGGAATTTGAAGAAGCcTACATTCCTAAAGAGC AGAAGTACTCTTTCCTGCAAAACCCACAGACTTCTCTCTGCTTC AGCGAATCTATTCCGACGCCTTCCAATCGCGAGGAAACTCAGC AAAAGTCCAATCTGGAACTACTCCGCATTTCTCTGCTTCTGATT CAGAGCTGGCTAGAACCAGTGCAATTTCTGCGTTCCGTCTTCGC CAATAGCCTAGTTTATGGCGCATCCGACAGCAACGTATACGAT CTCCTGAAAGATCTCGAGGAAGGCATTCAGACCCTGATGGGTC GTCTCGAGGATGGCTCTCCGCGTACTGGTCAGATCTTCAAGCAG
	RKDMDKVETFLRIV QCRSVEGSCGF	ACTTACTCTAAATTTGATACTAACAGCCACAATGACGATGCGCT TCTAAAAAACTATGGTCTGCTGTATTGTTTTCGTAAAGATATGG ACAAAGTTGAAACCTTCCTGCGTATTGTTCAGTGTCGTTCCGTT GAGGGCAGCTGTGGTTTCTAA

AE864-hGH	GSPAGSPTSTEEGTS	GGTAGCCCGGCTGGCTCTCCTACCTCTACTGAGGAAGGTACTTC
	ESATPESGPGTSTEPS	TGAAAGCGCTACTCCTGAGTCTGGTCCAGGTACCTCTACTGAAC
	EGSAPGSPAGSPTST	CGTCCGAAGGTAGCGCTCCAGGTAGCCCAGCAGGCTCTCCGAC
	EEGTSTEPSEGSAPG	TTCCACTGAGGAAGGTACTTCTACTGAACCTTCCGAAGGCAGC
	TSTEPSEGSAPGTSES	GCACCAGGTACCTCTACTGAACCTTCTGAGGGCAGCGCTCCAG
	ATPESGPGSEPATSG	GTACTTCTGAAAGCGCTACCCCGGAATCTGGCCCAGGTAGCGA
	SETPGSEPATSGSETP	ACCGGCTACTTCTGGTTCTGAAACCCCAGGTAGCGAACCGGCT
	GSPAGSPTSTEEGTS	ACCTCCGGTTCTGAAACTCCAGGTAGCCCGGCAGGCTCTCCGAC
	ESATPESGPGTSTEPS	CTCTACTGAGGAAGGTACTTCTGAAAGCGCAACCCCGGAGTCC
	EGSAPGTSTEPSEGS	GGCCCAGGTACCTCTACCGAACCGTCTGAGGGCAGCGCACCAG
	APGSPAGSPTSTEEG	GTACTTCTACCGAACCGTCCGAGGGTAGCGCACCAGGTAGCCC
	TSTEPSEGSAPGTSTE	AGCAGGTTCTCCTACCTCCACCGAGGAAGGTACTTCTACCGAAC
	PSEGSAPGTSESATP	CGTCCGAGGGTAGCGCACCAGGTACCTCTACTGAACCTTCTGA
	ESGPGTSTEPSEGSA	GGGCAGCGCTCCAGGTACTTCTGAAAGCGCTACCCCGGAGTCC
	PGTSESATPESGPGS	GGTCCAGGTACTTCTACTGAACCGTCCGAAGGTAGCGCACCAG
	EPATSGSETPGTSTEP	GTACTTCTGAAAGCGCAACCCCTGAATCCGGTCCAGGTAGCGA
	SEGSAPGTSTEPSEG	ACCGGCTACTTCTGGCTCTGAGACTCCAGGTACTTCTACCGAAC
	SAPGTSESATPESGP	CGTCCGAAGGTAGCGCACCAGGTACTTCTACTGAACCGTCTGA
	GTSESATPESGPGSP	AGGTAGCGCACCAGGTACTTCTGAAAGCGCAACCCCGGAATCC
	AGSPTSTEEGTSESA	GGCCCAGGTACCTCTGAAAGCGCAACCCCGGAGTCCGGCCCAG
	TPESGPGSEPATSGS	GTAGCCCTGCTGGCTCTCCAACCTCCACCGAAGAAGGTACCTCT
	ETPGTSESATPESGP	GAAAGCGCAACCCCTGAATCCGGCCCAGGTAGCGAACCGGCAA
	GTSTEPSEGSAPGTS	CCTCCGGTTCTGAAACCCCAGGTACCTCTGAAAGCGCTACTCCG
	TEPSEGSAPGTSTEPS	GAGTCTGGCCCAGGTACCTCTACTGAACCGTCTGAGGGTAGCG
	EGSAPGTSTEPSEGS	CTCCAGGTACTTCTACTGAACCGTCCGAAGGTAGCGCACCAGG
	APGTSTEPSEGSAPG	TACTTCTACCGAACCGTCCGAAGGCAGCGCTCCAGGTACCTCTA
	TSTEPSEGSAPGSPA	CTGAACCTTCCGAGGGCAGCGCTCCAGGTACCTCTACCGAACCT
	GSPTSTEEGTSTEPSE	TCTGAAGGTAGCGCACCAGGTACTTCTACCGAACCGTCCGAGG
	GSAPGTSESATPESG	GTAGCGCACCAGGTAGCCCAGCAGGTTCTCCTACCTCCACCGA
	PGSEPATSGSETPGT	GGAAGGTACTTCTACCGAACCGTCCGAGGGTAGCGCACCAGGT
	SESATPESGPGSEPA	ACCTCTGAAAGCGCAACTCCTGAGTCTGGCCCAGGTAGCGAAC
	TSGSETPGTSESATPE	CTGCTACCTCCGGCTCTGAGACTCCAGGTACCTCTGAAAGCGCA
	SGPGTSTEPSEGSAP	ACCCCGGAATCTGGTCCAGGTAGCGAACCTGCAACCTCTGGCT
	GTSESATPESGPGSP	CTGAAACCCCAGGTACCTCTGAAAGCGCTACTCCTGAATCTGGC
	AGSPTSTEEGSPAGS	CCAGGTACTTCTACTGAACCGTCCGAGGGCAGCGCACCAGGTA
	PTSTEEGSPAGSPTST	CTTCTGAAAGCGCTACTCCTGAGTCCGGCCCAGGTAGCCCGGCT
	EEGTSESATPESGPG	GGCTCTCCGACTTCCACCGAGGAAGGTAGCCCGGCTGGCTCTCC
	TSTEPSEGSAPGTSES	AACTTCTACTGAAGAAGGTAGCCCGGCAGGCTCTCCGACCTCT
	ATPESGPGSEPATSG	ACTGAGGAAGGTACTTCTGAAAGCGCAACCCCGGAGTCCGGCC
	SETPGTSESATPESGP	CAGGTACCTCTACCGAACCGTCTGAGGGCAGCGCACCAGGTAC
	GSEPATSGSETPGTS	CTCTGAAAGCGCAACTCCTGAGTCTGGCCCAGGTAGCGAACCT
	ESATPESGPGTSTEPS	GCTACCTCCGGCTCTGAGACTCCAGGTACCTCTGAAAGCGCAA
	EGSAPGSPAGSPTST	CCCCGGAATCTGGTCCAGGTAGCGAACCTGCAACCTCTGGCTCT
	EEGTSESATPESGPG	GAAACCCCAGGTACCTCTGAAAGCGCTACTCCTGAATCTGGCC
	SEPATSGSETPGTSES	CAGGTACTTCTACTGAACCGTCCGAGGGCAGCGCACCAGGTAG
	ATPESGPGSPAGSPT	CCCTGCTGGCTCTCCAACCTCCACCGAAGAAGGTACCTCTGAAA
	STEEGSPAGSPTSTEE	GCGCAACCCCTGAATCCGGCCCAGGTAGCGAACCGGCAACCTC
	GTSTEPSEGSAPGTS	CGGTTCTGAAACCCCAGGTACTTCTGAAAGCGCTACTCCTGAGT
	ESATPESGPGTSESA	CCGGCCCAGGTAGCCCGGCTGGCTCTCCGACTTCCACCGAGGA
	TPESGPGTSESATPES	AGGTAGCCCGGCTGGCTCTCCAACTTCTACTGAAGAAGGTACTT
	GPGSEPATSGSETPG	CTACCGAACCTTCCGAGGGCAGCGCACCAGGTACTTCTGAAAG
	SEPATSGSETPGSPA	CGCTACCCCTGAGTCCGGCCCAGGTACTTCTGAAAGCGCTACTC
	GSPTSTEEGTSTEPSE	CTGAATCCGGTCCAGGTACTTCTGAAAGCGCTACCCCGGAATCT
	GSAPGTSTEPSEGSA	GGCCCAGGTAGCGAACCGGCTACTTCTGGTTCTGAAACCCCAG
	PGSEPATSGSETPGT	GTAGCGAACCGGCTACCTCCGGTTCTGAAACTCCAGGTAGCCC

	SESATPESGPGTSTEP SEGSAPGFPTIPLSRL FDNAMLRAHRLHQL AFDTYQEFEEAYIPK EQKYSFLQNPQTSLC FSESIPTPSNREETQQ KSNLELLRISLLLIQS WLEPVQFLRSVFAN SLVYGASDSNVYDL LKDLEEGIQTLMGRL EDGSPRTGQIFKQTY SKFDTNSHNDDALL KNYGLLYCFRKDMD KVETFLRIVQCRSVE GSCGF	AGCAGGCTCTCCGACTTCCACTGAGGAAGGTACTTCTACTGAAC CTTCCGAAGGCAGCGCACCAGGTACCTCTACTGAACCTTCTGAG GGCAGCGCTCCAGGTAGCGAACCTGCAACCTCTGGCTCTGAAA CCCCAGGTACCTCTGAAAGCGCTACTCCTGAATCTGGCCCAGGT ACTTCTACTGAACCGTCCGAGGGCAGCGCACCAGGTTTTCCGAC TATTCCGCTGTCTCGTCTGTTTGATAATGCTATGCTGCGTGCGC ACCGTCTGCACCAGCTGGCCTTTGATACTTACCAGGAATTTGAA GAAGCcTACATTCCTAAAGAGCAGAAGTACTCTTTCCTGCAAAA CCCACAGACTTCTCTCTGCTTCAGCGAATCTATTCCGACGCCTT CCAATCGCGAGGAAACTCAGCAAAAGTCCAATCTGGAACTACT CCGCATTTCTCTGCTTCTGATTCAGAGCTGGCTAGAACCAGTGC AATTTCTGCGTTCCGTCTTCGCCAATAGCCTAGTTTATGGCGCA TCCGACAGCAACGTATACGATCTCCTGAAAGATCTCGAGGAAG GCATTCAGACCCTGATGGGTCGTCTCGAGGATGGCTCTCCGCGT ACTGGTCAGATCTTCAAGCAGACTTACTCTAAATTTGATACTAA CAGCCACAATGACGATGCGCTTCTAAAAAACTATGGTCTGCTGT ATTGTTTTCGTAAAGATATGGACAAAGTTGAAACCTTCCTGCGT ATTGTTCAGTGTCGTTCCGTTGAGGGCAGCTGTGGTTTCTAA
AF864- hGH	GSTSESPSGTAPGTSP SGESSTAPGSTSESPS GTAPGSTSESPSGTA PGTSTPESGSASPGTS TPESGSASPGSTSESP SGTAPGSTSESPSGT APGTSPSGESSTAPG STSESPSGTAPGTSPS GESSTAPGTSPSGESS TAPGSTSSTAESPGP GTSPSGESSTAPGTSP SGESSTAPGSTSSTA ESPGPGTSTPESGSAS PGTSTPESGSASPGST SESPSGTAPGSTSESP SGTAPGTSTPESGSA SPGSTSSTAESPGPGT STPESGSASPGSTSES PSGTAPGTSPSGESST APGSTSSTAESPGPG TSPSGESSTAPGTSTP ESGSASPGSTSSTAES PGPGSTSSTAESPGP GSTSSTAESPGPGSTS STAESPGPGTSPSGES STAPGSTSESPSGTAP GSTSESPSGTAPGTS TPESGPXXXGASASG APSTXXXXSESPSGT APGSTSESPSGTAPG STSESPSGTAPGSTSE SPSGTAPGSTSESPSG TAPGSTSESPSGTAP GTSTPESGSASPGTSP SGESSTAPGTSPSGES STAPGSTSSTAESPGP GTSPSGESSTAPGTS TPESGSASPGSTSESP SGTAPGSTSESPSGT APGTSPSGESSTAPG STSESPSGTAPGTSTP	GGTTCTACCAGCGAATCTCCTTCTGGCACCGCTCCAGGTACCTC TCCTAGCGGCGAATCTTCTACCGCTCCAGGTTCTACTAGCGAAT CTCCTTCTGGCACTGCACCAGGTTCTACTAGCGAATCCCCGTCT GGTACTGCTCCAGGTACTTCTACTCCTGAAAGCGGTTCCGCTTC TCCAGGTACCTCTACTCCGGAAAGCGGTTCTGCATCTCCAGGTT CTACCAGCGAATCTCCTTCTGGCACCGCTCCAGGTTCTACTAGC GAATCCCCGTCTGGTACCGCACCAGGTACTTCTCCTAGCGGCGA ATCTTCTACCGCACCAGGTTCTACTAGCGAATCTCCGTCTGGCA CTGCTCCAGGTACTTCTCCTAGCGGTGAATCTTCTACCGCTCCA GGTACTTCCCCTAGCGGCGAATCTTCTACCGCTCCAGGTTCTAC TAGCTCTACTGCAGAATCTCCGGGCCCAGGTACCTCTCCTAGCG GTGAATCTTCTACCGCTCCAGGTACTTCTCCGAGCGGTGAATCT TCTACCGCTCCAGGTTCTACTAGCTCTACTGCAGAATCTCCTGG CCCAGGTACCTCTACTCCGGAAAGCGGCTCTGCATCTCCAGGTA CTTCTACCCCTGAAAGCGGTTCTGCATCTCCAGGTTCTACTAGC GAATCTCCTTCTGGCACTGCACCAGGTTCTACCAGCGAATCTCC GTCTGGCACTGCACCAGGTACCTCTACCCCTGAAAGCGGTTCCG CTTCTCCAGGTTCTACCAGCTCTACCGCAGAATCTCCTGGTCCA GGTACCTCTACTCCGGAAAGCGGCTCTGCATCTCCAGGTTCTAC TAGCGAATCTCCTTCTGGCACTGCACCAGGTACTTCTCCGAGCG GTGAATCTTCTACCGCACCAGGTTCTACTAGCTCTACCGCTGAA TCTCCGGGCCCAGGTACTTCTCCGAGCGGTGAATCTTCTACTGC TCCAGGTACCTCTACTCCTGAAAGCGGTTCTGCATCTCCAGGTT CCACTAGCTCTACCGCAGAATCTCCGGGCCCAGGTTCTACTAGC TCTACTGCTGAATCTCCTGGCCCAGGTTCTACTAGCTCTACTGC TGAATCTCCGGGTCCAGGTTCTACCAGCTCTACTGCTGAATCTC CTGGTCCAGGTACCTCCCCGAGCGGTGAATCTTCTACTGCACCA GGTTCTACTAGCGAATCTCCTTCTGGCACTGCACCAGGTTCTAC CAGCGAATCTCCGTCTGGCACTGCACCAGGTACCTCTACCCCTG AAAGCGGTCCXXXXXXXXXXXXTGCAAGCGCAAGCGGCGCGC CAAGCACGGGAXXXXXXXXTAGCGAATCTCCTTCTGGTACCGC TCCAGGTTCTACCAGCGAATCCCCGTCTGGTACTGCTCCAGGTT CTACCAGCGAATCTCCTTCTGGTACTGCACCAGGTTCTACTAGC GAATCTCCTTCTGGTACCGCTCCAGGTTCTACCAGCGAATCCCC GTCTGGTACTGCTCCAGGTTCTACCAGCGAATCTCCTTCTGGTA CTGCACCAGGTACTTCTACTCCGGAAAGCGGTTCCGCATCTCCA GGTACTTCTCCTAGCGGTGAATCTTCTACTGCTCCAGGTACCTC TCCTAGCGGCGAATCTTCTACTGCTCCAGGTTCTACCAGCTCTA CTGCTGAATCTCCGGGTCCAGGTACTTCCCCGAGCGGTGAATCT TCTACTGCACCAGGTACTTCTACTCCGGAAAGCGGTTCCGCTTC TCCAGGTTCTACCAGCGAATCTCCTTCTGGCACCGCTCCAGGTT

	ESGSASPGTSTPESGS ASPGSTSESPSGTAP GTSTPESGSASPGSTS STAESPGPGSTSESPS GTAPGSTSESPSGTA PGTSPSGESSTAPGST SSTAESPGPGTSPSGE SSTAPGTSTPESGSAS PGTSPSGESSTAPGTS PSGESSTAPGTSPSGE SSTAPGSTSSTAESPG PGSTSSTAESPGPGTS PSGESSTAPGSSPSAS TGTGPGSSTPSGATG SPGSSTPSGATGSPG FPTIPLSRLFDNAML RAHRLHQLAFDTYQ EFEEAYIPKEQKYSF LQNPQTSLCFSESIPT PSNREETQQKSNLEL LRISLLLIQSWLEPVQ FLRSVFANSLVYGAS DSNVYDLLKDLEEGI QTLMGRLEDGSPRT GQIFKQTYSKFDTNS HNDDALLKNYGLLY CFRKDMDKVETFLRI VQCRSVEGSCGF	CTACTAGCGAATCCCCGTCTGGTACCGCACCAGGTACTTCTCCT AGCGGCGAATCTTCTACCGCACCAGGTTCTACTAGCGAATCCCC GTCTGGTACCGCACCAGGTACTTCTACCCCGGAAAGCGGCTCTG CTTCTCCAGGTACTTCTACCCCGGAAAGCGGCTCCGCATCTCCA GGTTCTACTAGCGAATCTCCTTCTGGTACCGCTCCAGGTACTTC TACCCCTGAAAGCGGCTCCGCTTCTCCAGGTTCCACTAGCTCTA CCGCTGAATCTCCGGGTCCAGGTTCTACCAGCGAATCTCCTTCT GGCACCGCTCCAGGTTCTACTAGCGAATCCCCGTCTGGTACCGC ACCAGGTACTTCTCCTAGCGGCGAATCTTCTACCGCACCAGGTT CTACCAGCTCTACTGCTGAATCTCCGGGTCCAGGTACTTCCCCG AGCGGTGAATCTTCTACTGCACCAGGTACTTCTACTCCGGAAAG CGGTTCCGCTTCTCCAGGTACCTCCCCTAGCGGCGAATCTTCTA CTGCTCCAGGTACCTCTCCTAGCGGCGAATCTTCTACCGCTCCA GGTACCTCCCCTAGCGGTGAATCTTCTACCGCACCAGGTTCTAC TAGCTCTACTGCTGAATCTCCGGGTCCAGGTTCTACCAGCTCTA CTGCTGAATCTCCTGGTCCAGGTACCTCCCCGAGCGGTGAATCT TCTACTGCACCAGGTTCTAGCCCTTCTGCTTCCACCGGTACCGG CCCAGGTAGCTCTACTCCGTCTGGTGCAACTGGCTCTCCAGGTA GCTCTACTCCGTCTGGTGCAACCGGCTCCCCAGGTTTTCCGACT ATTCCGCTGTCTCGTCTGTTTGATAATGCTATGCTGCGTGCGCA CCGTCTGCACCAGCTGGCCTTTGATACTTACCAGGAATTTGAAG AAGCcTACATTCCTAAAGAGCAGAAGTACTCTTTCCTGCAAAAC CCACAGACTTCTCTCTGCTTCAGCGAATCTATTCCGACGCCTTC CAATCGCGAGGAAACTCAGCAAAAGTCCAATCTGGAACTACTC CGCATTTCTCTGCTTCTGATTCAGAGCTGGCTAGAACCAGTGCA ATTTCTGCGTTCCGTCTTCGCCAATAGCCTAGTTTATGGCGCAT CCGACAGCAACGTATACGATCTCCTGAAAGATCTCGAGGAAGG CATTCAGACCCTGATGGGTCGTCTCGAGGATGGCTCTCCGCGTA CTGGTCAGATCTTCAAGCAGACTTACTCTAAATTTGATACTAAC AGCCACAATGACGATGCGCTTCTAAAAAACTATGGTCTGCTGT ATTGTTTTCGTAAAGATATGGACAAAGTTGAAACCTTCCTGCGT ATTGTTCAGTGTCGTTCCGTTGAGGGCAGCTGTGGTTTCTAA
AG864-hGH	GASPGTSSTGSPGSS PSASTGTGPGSSPSA STGTGPGTPGSGTAS SSPGSSTPSGATGSP GSNPSASTGTGPGAS PGTSSTGSPGTPGSG TASSSPGSSTPSGAT GSPGTPGSGTASSSP GASPGTSSTGSPGAS PGTSSTGSPGTPGSG TASSSPGSSTPSGAT GSPGASPGTSSTGSP GTPGSGTASSSPGSS TPSGATGSPGSNPSA STGTGPGSSPSASTG TGPGSSTPSGATGSP GSSTPSGATGSPGAS PGTSSTGSPGASPGT SSTGSPGASPGTSST GSPGTPGSGTASSSP GASPGTSSTGSPGAS PGTSSTGSPGASPGT SSTGSPGSSPSASTGT GPGTPGSGTASSSPG ASPGTSSTGSPGASP GTSSTGSPGASPGTS STGSPGSSTPSGATG	GGTGCTTCCCCGGGCACCAGCTCTACTGGTTCTCCAGGTTCTAG CCCGTCTGCTTCTACTGGTACTGGTCCAGGTTCTAGCCCTTCTGC TTCCACTGGTACTGGTCCAGGTACCCCGGGTAGCGGTACCGCTT CTTCTTCTCCAGGTAGCTCTACTCCGTCTGGTGCTACCGGCTCTC CAGGTTCTAACCCTTCTGCATCCACCGGTACCGGCCCAGGTGCT TCTCCGGGCACCAGCTCTACTGGTTCTCCAGGTACCCCGGGCAG CGGTACCGCATCTTCTTCTCCAGGTAGCTCTACTCCTTCTGGTGC AACTGGTTCTCCAGGTACTCCTGGCAGCGGTACCGCTTCTTCTT CTCCAGGTGCTTCTCCTGGTACTAGCTCTACTGGTTCTCCAGGT GCTTCTCCGGGCACTAGCTCTACTGGTTCTCCAGGTACCCCGGG TAGCGGTACTGCTTCTTCCTCTCCAGGTAGCTCTACCCCTTCTGG TGCAACCGGCTCTCCAGGTGCTTCTCCGGGCACCAGCTCTACCG GTTCTCCAGGTACCCCGGGTAGCGGTACCGCTTCTTCTTCTCCA GGTAGCTCTACTCCGTCTGGTGCTACCGGCTCTCCAGGTTCTAA CCCTTCTGCATCCACCGGTACCGGCCCAGGTTCTAGCCCTTCTG CTTCCACCGGTACTGGCCCAGGTAGCTCTACCCCTTCTGGTGCT ACCGGCTCCCCAGGTAGCTCTACTCCTTCTGGTGCAACTGGCTC TCCAGGTGCATCTCCGGGCACTAGCTCTACTGGTTCTCCAGGTG CATCCCCTGGCACTAGCTCTACTGGTTCTCCAGGTGCTTCTCCT GGTACCAGCTCTACTGGTTCTCCAGGTACTCCTGGCAGCGGTAC CGCTTCTTCTTCTCCAGGTGCTTCTCCTGGTACTAGCTCTACTGG TTCTCCAGGTGCTTCTCCGGGCACTAGCTCTACTGGTTCTCCAG GTGCTTCCCCGGGCACTAGCTCTACCGGTTCTCCAGGTTCTAGC CCTTCTGCATCTACTGGTACTGGCCCAGGTACTCCGGGCAGCGG TACTGCTTCTTCCTCTCCAGGTGCATCTCCGGGCACTAGCTCTA CTGGTTCTCCAGGTGCATCCCCTGGCACTAGCTCTACTGGTTCT CCAGGTGCTTCTCCTGGTACCAGCTCTACTGGTTCTCCAGGTAG

	SPGSSTPSGATGSPG ASPGTSSTGSPGTPG SGTASSSPGSSTPSG ATGSPGSSTPSGATG SPGSSTPSGATGSPG SSPSASTGTGPGASP GTSSTGSPGASPGTS STGSPGTPGSGTASS SPGASPGTSSTGSPG ASPGTSSTGSPGASP GTSSTGSPGASPGTS STGSPGTPGSGTASS SPGSSTPSGATGSPG TPGSGTASSSPGSSTP SGATGSPGTPGSGTA SSSPGSSTPSGATGSP GSSTPSGATGSPGSS PSASTGTGPGSSPSA STGTGPGASPGTSST GSPGTPGSGTASSSP GSSTPSGATGSPGSS PSASTGTGPGSSPSA STGTGPGASPGTSST GSPGASPGTSSTGSP GSSTPSGATGSPGSS PSASTGTGPGASPGT SSTGSPGSSPSASTGT GPGTPGSGTASSSPG SSTPSGATGSPGSSTP SGATGSPGASPGTSS TGSPGFPTIPLSRLFD NAMLRAHRLHQLAF DTYQEFEEAYIPKEQ KYSFLQNPQTSLCFS ESIPTPSNREETQQKS NLELLRISLLLIQSWL EPVQFLRSVFANSLV YGASDSNVYDLLKD LEEGIQTLMGRLEDG SPRTGQIFKQTYSKF DTNSHNDDALLKNY GLLYCFRKDMDKVE TFLRIVQCRSVEGSC GF	CTCTACTCCGTCTGGTGCAACCGGTTCCCCAGGTAGCTCTACTC CTTCTGGTGCTACTGGCTCCCCAGGTGCATCCCCTGGCACCAGC TCTACCGGTTCTCCAGGTACCCCGGGCAGCGGTACCGCATCTTC CTCTCCAGGTAGCTCTACCCCGTCTGGTGCTACCGGTTCCCCAG GTAGCTCTACCCCGTCTGGTGCAACCGGCTCCCCAGGTAGCTCT ACTCCGTCTGGTGCAACCGGCTCCCCAGGTTCTAGCCCGTCTGC TTCCACTGGTACTGGCCCAGGTGCTTCCCCGGGCACCAGCTCTA CTGGTTCTCCAGGTGCATCCCCGGGTACCAGCTCTACCGGTTCT CCAGGTACTCCTGGCAGCGGTACTGCATCTTCCTCTCCAGGTGC TTCTCCGGGCACCAGCTCTACTGGTTCTCCAGGTGCATCTCCGG GCACTAGCTCTACTGGTTCTCCAGGTGCATCCCCTGGCACTAGC TCTACTGGTTCTCCAGGTGCTTCTCCTGGTACCAGCTCTACTGGT TCTCCAGGTACCCCTGGTAGCGGTACTGCTTCTTCCTCTCCAGG TAGCTCTACTCCGTCTGGTGCTACCGGTTCTCCAGGTACCCCGG GTAGCGGTACCGCATCTTCTTCTCCAGGTAGCTCTACCCCGTCT GGTGCTACTGGTTCTCCAGGTACTCCGGGCAGCGGTACTGCTTC TTCCTCTCCAGGTAGCTCTACCCCTTCTGGTGCTACTGGCTCTCC AGGTAGCTCTACCCCGTCTGGTGCTACTGGCTCCCCAGGTTCTA GCCCTTCTGCATCCACCGGTACCGGTCCAGGTTCTAGCCCGTCT GCATCTACTGGTACTGGTCCAGGTGCATCCCCGGGCACTAGCTC TACCGGTTCTCCAGGTACTCCTGGTAGCGGTACTGCTTCTTCTTC TCCAGGTAGCTCTACTCCTTCTGGTGCTACTGGTTCTCCAGGTTC TAGCCCTTCTGCATCCACCGGTACCGGCCCAGGTTCTAGCCCGT CTGCTTCTACCGGTACTGGTCCAGGTGCTTCTCCGGGTACTAGC TCTACTGGTTCTCCAGGTGCATCTCCTGGTACTAGCTCTACTGG TTCTCCAGGTAGCTCTACTCCGTCTGGTGCAACCGGCTCTCCAG GTTCTAGCCCTTCTGCATCTACCGGTACTGGTCCAGGTGCATCC CCTGGTACCAGCTCTACCGGTTCTCCAGGTTCTAGCCCTTCTGC TTCTACCGGTACCGGTCCAGGTACCCCTGGCAGCGGTACCGCAT CTTCCTCTCCAGGTAGCTCTACTCCGTCTGGTGCAACCGGTTCC CCAGGTAGCTCTACTCCTTCTGGTGCTACTGGCTCCCCAGGTGC ATCCCCTGGCACCAGCTCTACCGGTTCTCCAGGTTTTCCGACTA TTCCGCTGTCTCGTCTGTTTGATAATGCTATGCTGCGTGCGCAC CGTCTGCACCAGCTGGCCTTTGATACTTACCAGGAATTTGAAGA AGCcTACATTCCTAAAGAGCAGAAGTACTCTTTCCTGCAAAACC CACAGACTTCTCTCTGCTTCAGCGAATCTATTCCGACGCCTTCC AATCGCGAGGAAACTCAGCAAAAGTCCAATCTGGAACTACTCC GCATTTCTCTGCTTCTGATTCAGAGCTGGCTAGAACCAGTGCAA TTTCTGCGTTCCGTCTTCGCCAATAGCCTAGTTTATGGCGCATCC GACAGCAACGTATACGATCTCCTGAAAGATCTCGAGGAAGGCA TTCAGACCCTGATGGGTCGTCTCGAGGATGGCTCTCCGCGTACT GGTCAGATCTTCAAGCAGACTTACTCTAAATTTGATACTAACAG CCACAATGACGATGCGCTTCTAAAAAACTATGGTCTGCTGTATT GTTTTCGTAAAGATATGGACAAAGTTGAAACCTTCCTGCGTATT GTTCAGTGTCGTTCCGTTGAGGGCAGCTGTGGTTTCTAA
AM875-hGH	GTSTEPSEGSAPGSE PATSGSETPGSPAGS PTSTEEGSTSSTAESP GPGTSTPESGSASPG STSESPSGTAPGSTSE SPSGTAPGTSTPESGS ASPGTSTPESGSASP GSEPATSGSETPGTS ESATPESGPGSPAGS PTSTEEGTSTEPSEGS APGTSESATPESGPG TSTEPSEGSAPGTSTE PSEGSAPGSPAGSPT STEEGTSTEPSEGSAP	GGTACTTCTACTGAACCGTCTGAAGGCAGCGCACCAGGTAGCG AACCGGCTACTTCCGGTTCTGAAACCCCAGGTAGCCCAGCAGG TTCTCCAACTTCTACTGAAGAAGGTTCTACCAGCTCTACCGCAG AATCTCCTGGTCCAGGTACCTCTACTCCGGAAAGCGGCTCTGCA TCTCCAGGTTCTACTAGCGAATCTCCTTCTGGCACTGCACCAGG TTCTACTAGCGAATCCCCGTCTGGTACTGCTCCAGGTACTTCTA CTCCTGAAAGCGGTTCCGCTTCTCCAGGTACCTCTACTCCGGAA AGCGGTTCTGCATCTCCAGGTAGCGAACCGGCAACCTCCGGCT CTGAAACCCCAGGTACCTCTGAAAGCGCTACTCCTGAATCCGG CCCAGGTAGCCCGGCAGGTTCTCCGACTTCCACTGAGGAAGGT ACCTCTACTGAACCTTCTGAGGGCAGCGCTCCAGGTACTTCTGA AAGCGCTACCCCGGAGTCCGGTCCAGGTACTTCTACTGAACCGT CCGAAGGTAGCGCACCAGGTACTTCTACCGAACCGTCCGAGGG TAGCGCACCAGGTAGCCCAGCAGGTTCTCCTACCTCCACCGAG

	GTSTEPSEGSAPGTS ESATPESGPGTSESA TPESGPGTSTEPSEGS APGTSTEPSEGSAPG TSESATPESGPGTSTE PSEGSAPGSEPATSG SETPGSPAGSPTSTEE GSSTPSGATGSPGTP GSGTASSSPGSSTPS GATGSPGTSTEPSEG SAPGTSTEPSEGSAP GSEPATSGSETPGSP AGSPTSTEEGSPAGS PTSTEEGTSTEPSEGS APGASASGAPSTGGT SESATPESGPGSPAG SPTSTEEGSPAGSPTS TEEGSTSSTAESPGP GSTSESPSGTAPGTSP SGESSTAPGTPGSGT ASSSPGSSTPSGATG SPGSSPSASTGTGPG SEPATSGSETPGTSES ATPESGPGSEPATSG SETPGSTSSTAESPGP GSTSSTAESPGPGTSP SGESSTAPGSEPATS GSETPGSEPATSGSE TPGTSTEPSEGSAPG STSSTAESPGPGTSTP ESGSASPGSTSESPSG TAPGTSTEPSEGSAP GTSTEPSEGSAPGTS TEPSEGSAPGSSTPSG ATGSPGSSPSASTGT GPGASPGTSSTGSPG SEPATSGSETPGTSES ATPESGPGSPAGSPT STEEGSSTPSGATGS PGSSPSASTGTGPGA SPGTSSTGSPGTSESA TPESGPGTSTEPSEGS APGTSTEPSEGSAPG FPTIPLSRLFDNAML RAHRLHQLAFDTYQ EFEEAYIPKEQKYSF LQNPQTSLCFSESIPT PSNREETQQKSNLEL LRISLLLIQSWLEPVQ FLRSVFANSLVYGAS DSNVYDLLKDLEEGI QTLMGRLEDGSPRT GQIFKQTYSKFDTNS HNDDALLKNYGLLY CFRKDMDKVETFLRI VQCRSVEGSCGF	GAAGGTACTTCTACCGAACCGTCCGAGGGTAGCGCACCAGGTA CTTCTACCGAACCTTCCGAGGGCAGCGCACCAGGTACTTCTGAA AGCGCTACCCCTGAGTCCGGCCCAGGTACTTCTGAAAGCGCTA CTCCTGAATCCGGTCCAGGTACCTCTACTGAACCTTCCGAAGGC AGCGCTCCAGGTACCTCTACCGAACCGTCCGAGGGCAGCGCAC CAGGTACTTCTGAAAGCGCAACCCCTGAATCCGGTCCAGGTAC TTCTACTGAACCTTCCGAAGGTAGCGCTCCAGGTAGCGAACCTG CTACTTCTGGTTCTGAAACCCCAGGTAGCCCGGCTGGCTCTCCG ACCTCCACCGAGGAAGGTAGCTCTACCCCGTCTGGTGCTACTGG TTCTCCAGGTACTCCGGGCAGCGGTACTGCTTCTTCCTCTCCAG GTAGCTCTACCCCTTCTGGTGCTACTGGCTCTCCAGGTACCTCT ACCGAACCGTCCGAGGGTAGCGCACCAGGTACCTCTACTGAAC CGTCTGAGGGTAGCGCTCCAGGTAGCGAACCGGCAACCTCCGG TTCTGAAACTCCAGGTAGCCCTGCTGGCTCTCCGACTTCTACTG AGGAAGGTAGCCCGGCTGGTTCTCCGACTTCTACTGAGGAAGG TACTTCTACCGAACCTTCCGAAGGTAGCGCTCCAGGTGCAAGC GCAAGCGGCGCGCCAAGCACGGGAGGTACTTCTGAAAGCGCTA CTCCTGAGTCCGGCCCAGGTAGCCCGGCTGGCTCTCCGACTTCC ACCGAGGAAGGTAGCCCGGCTGGCTCTCCAACTTCTACTGAAG AAGGTTCTACCAGCTCTACCGCTGAATCTCCTGGCCCAGGTTCT ACTAGCGAATCTCCGTCTGGCACCGCACCAGGTACTTCCCCTAG CGGTGAATCTTCTACTGCACCAGGTACCCCTGGCAGCGGTACCG CTTCTTCCTCTCCAGGTAGCTCTACCCCGTCTGGTGCTACTGGCT CTCCAGGTTCTAGCCCGTCTGCATCTACCGGTACCGGCCCAGGT AGCGAACCGGCAACCTCCGGCTCTGAAACTCCAGGTACTTCTG AAAGCGCTACTCCGGAATCCGGCCCAGGTAGCGAACCGGCTAC TTCCGGCTCTGAAACCCCAGGTTCCACCAGCTCTACTGCAGAAT CTCCGGGCCCAGGTTCTACTAGCTCTACTGCAGAATCTCCGGGT CCAGGTACTTCTCCTAGCGGCGAATCTTCTACCGCTCCAGGTAG CGAACCGGCAACCTCTGGCTCTGAAACTCCAGGTAGCGAACCT GCAACCTCCGGCTCTGAAACCCCAGGTACTTCTACTGAACCTTC TGAGGGCAGCGCACCAGGTTCTACCAGCTCTACCGCAGAATCT CCTGGTCCAGGTACCTCTACTCCGGAAAGCGGCTCTGCATCTCC AGGTTCTACTAGCGAATCTCCTTCTGGCACTGCACCAGGTACTT CTACCGAACCGTCCGAAGGCAGCGCTCCAGGTACCTCTACTGA ACCTTCCGAGGGCAGCGCTCCAGGTACCTCTACCGAACCTTCTG AAGGTAGCGCACCAGGTAGCTCTACTCCGTCTGGTGCAACCGG CTCCCCAGGTTCTAGCCCGTCTGCTTCCACTGGTACTGGCCCAG GTGCTTCCCCGGGCACCAGCTCTACTGGTTCTCCAGGTAGCGAA CCTGCTACCTCCGGTTCTGAAACCCCAGGTACCTCTGAAAGCGC AACTCCGGAGTCTGGTCCAGGTAGCCCTGCAGGTTCTCCTACCT CCACTGAGGAAGGTAGCTCTACTCCGTCTGGTGCAACCGGCTCC CCAGGTTCTAGCCCGTCTGCTTCCACTGGTACTGGCCCAGGTGC TTCCCCGGGCACCAGCTCTACTGGTTCTCCAGGTACCTCTGAAA GCGCTACTCCGGAGTCTGGCCCAGGTACCTCTACTGAACCGTCT GAGGGTAGCGCTCCAGGTACTTCTACTGAACCGTCCGAAGGTA GCGCACCAGGTTTTCCGACTATTCCGCTGTCTCGTCTGTTTGAT AATGCTATGCTGCGTGCGCACCGTCTGCACCAGCTGGCCTTTGA TACTTACCAGGAATTTGAAGAAGCcTACATTCCTAAAGAGCAGA AGTACTCTTTCCTGCAAAACCCACAGACTTCTCTCTGCTTCAGC GAATCTATTCCGACGCCTTCCAATCGCGAGGAAACTCAGCAAA AGTCCAATCTGGAACTACTCCGCATTTCTCTGCTTCTGATTCAG AGCTGGCTAGAACCAGTGCAATTTCTGCGTTCCGTCTTCGCCAA TAGCCTAGTTTATGGCGCATCCGACAGCAACGTATACGATCTCC TGAAAGATCTCGAGGAAGGCATTCAGACCCTGATGGGTCGTCT CGAGGATGGCTCTCCGCGTACTGGTCAGATCTTCAAGCAGACTT ACTCTAAATTTGATACTAACAGCCACAATGACGATGCGCTTCTA AAAAACTATGGTCTGCTGTATTGTTTTCGTAAAGATATGGACAA AGTTGAAACCTTCCTGCGTATTGTTCAGTGTCGTTCCGTTGAGG
		GCAGGCTGTGGTTTCTA/

AE912-hGH	MAEPAGSPTSTEEGT PGSGTASSSPGSSTPS GATGSPGASPGTSST GSPGSPAGSPTSTEE GTSESATPESGPGTS TEPSEGSAPGSPAGS PTSTEEGTSTEPSEGS APGTSTEPSEGSAPG TSESATPESGPGSEP ATSGSETPGSEPATS GSETPGSPAGSPTST EEGTSESATPESGPG TSTEPSEGSAPGTSTE PSEGSAPGSPAGSPT STEEGTSTEPSEGSAP GTSTEPSEGSAPGTS ESATPESGPGTSTEPS EGSAPGTSESATPES GPGSEPATSGSETPG TSTEPSEGSAPGTSTE PSEGSAPGTSESATP ESGPGTSESATPESG PGSPAGSPTSTEEGT SESATPESGPGSEPA TSGSETPGTSESATPE SGPGTSTEPSEGSAP GTSTEPSEGSAPGTS TEPSEGSAPGTSTEPS EGSAPGTSTEPSEGS APGTSTEPSEGSAPG SPAGSPTSTEEGTSTE PSEGSAPGTSESATP ESGPGSEPATSGSET PGTSESATPESGPGS EPATSGSETPGTSES ATPESGPGTSTEPSE GSAPGTSESATPESG PGSPAGSPTSTEEGSP AGSPTSTEEGSPAGS PTSTEEGTSESATPES GPGTSTEPSEGSAPG TSESATPESGPGSEP ATSGSETPGTSESAT PESGPGSEPATSGSE TPGTSESATPESGPG TSTEPSEGSAPGSPA GSPTSTEEGTSESATP ESGPGSEPATSGSET PGTSESATPESGPGSP AGSPTSTEEGSPAGS PTSTEEGTSTEPSEGS APGTSESATPESGPG TSESATPESGPGTSES ATPESGPGSEPATSG SETPGSEPATSGSETP GSPAGSPTSTEEGTS TEPSEGSAPGTSTEPS EGSAPGSEPATSGSE	ATGGCTGAACCTGCTGGCTCTCCAACCTCCACTGAGGAAGGTA CCCCGGGTAGCGGTACTGCTTCTTCCTCTCCAGGTAGCTCTACC CCTTCTGGTGCAACCGGCTCTCCAGGTGCTTCTCCGGGCACCAG CTCTACCGGTTCTCCAGGTAGCCCGGCTGGCTCTCCTACCTCTA CTGAGGAAGGTACTTCTGAAAGCGCTACTCCTGAGTCTGGTCCA GGTACCTCTACTGAACCGTCCGAAGGTAGCGCTCCAGGTAGCC CAGCAGGCTCTCCGACTTCCACTGAGGAAGGTACTTCTACTGAA CCTTCCGAAGGCAGCGCACCAGGTACCTCTACTGAACCTTCTGA GGGCAGCGCTCCAGGTACTTCTGAAAGCGCTACCCCGGAATCT GGCCCAGGTAGCGAACCGGCTACTTCTGGTTCTGAAACCCCAG GTAGCGAACCGGCTACCTCCGGTTCTGAAACTCCAGGTAGCCC GGCAGGCTCTCCGACCTCTACTGAGGAAGGTACTTCTGAAAGC GCAACCCCGGAGTCCGGCCCAGGTACCTCTACCGAACCGTCTG AGGGCAGCGCACCAGGTACTTCTACCGAACCGTCCGAGGGTAG CGCACCAGGTAGCCCAGCAGGTTCTCCTACCTCCACCGAGGAA GGTACTTCTACCGAACCGTCCGAGGGTAGCGCACCAGGTACCT CTACTGAACCTTCTGAGGGCAGCGCTCCAGGTACTTCTGAAAGC GCTACCCCGGAGTCCGGTCCAGGTACTTCTACTGAACCGTCCGA AGGTAGCGCACCAGGTACTTCTGAAAGCGCAACCCCTGAATCC GGTCCAGGTAGCGAACCGGCTACTTCTGGCTCTGAGACTCCAG GTACTTCTACCGAACCGTCCGAAGGTAGCGCACCAGGTACTTCT ACTGAACCGTCTGAAGGTAGCGCACCAGGTACTTCTGAAAGCG CAACCCCGGAATCCGGCCCAGGTACCTCTGAAAGCGCAACCCC GGAGTCCGGCCCAGGTAGCCCTGCTGGCTCTCCAACCTCCACCG AAGAAGGTACCTCTGAAAGCGCAACCCCTGAATCCGGCCCAGG TAGCGAACCGGCAACCTCCGGTTCTGAAACCCCAGGTACCTCT GAAAGCGCTACTCCGGAGTCTGGCCCAGGTACCTCTACTGAAC CGTCTGAGGGTAGCGCTCCAGGTACTTCTACTGAACCGTCCGAA GGTAGCGCACCAGGTACTTCTACCGAACCGTCCGAAGGCAGCG CTCCAGGTACCTCTACTGAACCTTCCGAGGGCAGCGCTCCAGGT ACCTCTACCGAACCTTCTGAAGGTAGCGCACCAGGTACTTCTAC CGAACCGTCCGAGGGTAGCGCACCAGGTAGCCCAGCAGGTTCT CCTACCTCCACCGAGGAAGGTACTTCTACCGAACCGTCCGAGG GTAGCGCACCAGGTACCTCTGAAAGCGCAACTCCTGAGTCTGG CCCAGGTAGCGAACCTGCTACCTCCGGCTCTGAGACTCCAGGT ACCTCTGAAAGCGCAACCCCGGAATCTGGTCCAGGTAGCGAAC CTGCAACCTCTGGCTCTGAAACCCCAGGTACCTCTGAAAGCGCT ACTCCTGAATCTGGCCCAGGTACTTCTACTGAACCGTCCGAGGG CAGCGCACCAGGTACTTCTGAAAGCGCTACTCCTGAGTCCGGC CCAGGTAGCCCGGCTGGCTCTCCGACTTCCACCGAGGAAGGTA GCCCGGCTGGCTCTCCAACTTCTACTGAAGAAGGTAGCCCGGC AGGCTCTCCGACCTCTACTGAGGAAGGTACTTCTGAAAGCGCA ACCCCGGAGTCCGGCCCAGGTACCTCTACCGAACCGTCTGAGG GCAGCGCACCAGGTACCTCTGAAAGCGCAACTCCTGAGTCTGG CCCAGGTAGCGAACCTGCTACCTCCGGCTCTGAGACTCCAGGT ACCTCTGAAAGCGCAACCCCGGAATCTGGTCCAGGTAGCGAAC CTGCAACCTCTGGCTCTGAAACCCCAGGTACCTCTGAAAGCGCT ACTCCTGAATCTGGCCCAGGTACTTCTACTGAACCGTCCGAGGG CAGCGCACCAGGTAGCCCTGCTGGCTCTCCAACCTCCACCGAA GAAGGTACCTCTGAAAGCGCAACCCCTGAATCCGGCCCAGGTA GCGAACCGGCAACCTCCGGTTCTGAAACCCCAGGTACTTCTGA AAGCGCTACTCCTGAGTCCGGCCCAGGTAGCCCGGCTGGCTCTC CGACTTCCACCGAGGAAGGTAGCCCGGCTGGCTCTCCAACTTCT ACTGAAGAAGGTACTTCTACCGAACCTTCCGAGGGCAGCGCAC CAGGTACTTCTGAAAGCGCTACCCCTGAGTCCGGCCCAGGTACT TCTGAAAGCGCTACTCCTGAATCCGGTCCAGGTACTTCTGAAAG CGCTACCCCGGAATCTGGCCCAGGTAGCGAACCGGCTACTTCT GGTTCTGAAACCCCAGGTAGCGAACCGGCTACCTCCGGTTCTG

	TPGTSESATPESGPG TSTEPSEGSAPGFPTI PLSRLFDNAMLRAH RLHQLAFDTYQEFEE AYIPKEQKYSFLQNP QTSLCFSESIPTPSNR EETQQKSNLELLRIS LLLIQSWLEPVQFLR SVFANSLVYGASDS NVYDLLKDLEEGIQT LMGRLEDGSPRTGQI FKQTYSKFDTNSHN DDALLKNYGLLYCF RKDMDKVETFLRIV QCRSVEGSCGF	AAACTCCAGGTAGCCCAGCAGGCTCTCCGACTTCCACTGAGGA AGGTACTTCTACTGAACCTTCCGAAGGCAGCGCACCAGGTACC TCTACTGAACCTTCTGAGGGCAGCGCTCCAGGTAGCGAACCTG CAACCTCTGGCTCTGAAACCCCAGGTACCTCTGAAAGCGCTACT CCTGAATCTGGCCCAGGTACTTCTACTGAACCGTCCGAGGGCA GCGCACCAGGTTTTCCGACTATTCCGCTGTCTCGTCTGTTTGAT AATGCTATGCTGCGTGCGCACCGTCTGCACCAGCTGGCCTTTGA TACTTACCAGGAATTTGAAGAAGCcTACATTCCTAAAGAGCAGA AGTACTCTTTCCTGCAAAACCCACAGACTTCTCTCTGCTTCAGC GAATCTATTCCGACGCCTTCCAATCGCGAGGAAACTCAGCAAA AGTCCAATCTGGAACTACTCCGCATTTCTCTGCTTCTGATTCAG AGCTGGCTAGAACCAGTGCAATTTCTGCGTTCCGTCTTCGCCAA TAGCCTAGTTTATGGCGCATCCGACAGCAACGTATACGATCTCC TGAAAGATCTCGAGGAAGGCATTCAGACCCTGATGGGTCGTCT CGAGGATGGCTCTCCGCGTACTGGTCAGATCTTCAAGCAGACTT ACTCTAAATTTGATACTAACAGCCACAATGACGATGCGCTTCTA AAAAACTATGGTCTGCTGTATTGTTTTCGTAAAGATATGGACAA AGTTGAAACCTTCCTGCGTATTGTTCAGTGTCGTTCCGTTGAGG GCAGCTGTGGTTTCTAA
AM923-hGH	MAEPAGSPTSTEEGA SPGTSSTGSPGSSTPS GATGSPGSSTPSGAT GSPGTSTEPSEGSAP GSEPATSGSETPGSP AGSPTSTEEGSTSST AESPGPGTSTPESGS ASPGSTSESPSGTAP GSTSESPSGTAPGTS TPESGSASPGTSTPES GSASPGSEPATSGSE TPGTSESATPESGPG SPAGSPTSTEEGTSTE PSEGSAPGTSESATP ESGPGTSTEPSEGSA PGTSTEPSEGSAPGSP AGSPTSTEEGTSTEPS EGSAPGTSTEPSEGS APGTSESATPESGPG TSESATPESGPGTSTE PSEGSAPGTSTEPSE GSAPGTSESATPESG PGTSTEPSEGSAPGS EPATSGSETPGSPAG SPTSTEEGSSTPSGAT GSPGTPGSGTASSSP GSSTPSGATGSPGTS TEPSEGSAPGTSTEPS EGSAPGSEPATSGSE TPGSPAGSPTSTEEG SPAGSPTSTEEGTSTE PSEGSAPGASASGAP STGGTSESATPESGP GSPAGSPTSTEEGSP AGSPTSTEEGSTSST AESPGPGSTSESPSGT APGTSPSGESSTAPG TPGSGTASSSPGSSTP SGATGSPGSSPSAST GTGPGSEPATSGSET	ATGGCTGAACCTGCTGGCTCTCCAACCTCCACTGAGGAAGGTG CATCCCCGGGCACCAGCTCTACCGGTTCTCCAGGTAGCTCTACC CCGTCTGGTGCTACCGGCTCTCCAGGTAGCTCTACCCCGTCTGG TGCTACTGGCTCTCCAGGTACTTCTACTGAACCGTCTGAAGGCA GCGCACCAGGTAGCGAACCGGCTACTTCCGGTTCTGAAACCCC AGGTAGCCCAGCAGGTTCTCCAACTTCTACTGAAGAAGGTTCTA CCAGCTCTACCGCAGAATCTCCTGGTCCAGGTACCTCTACTCCG GAAAGCGGCTCTGCATCTCCAGGTTCTACTAGCGAATCTCCTTC TGGCACTGCACCAGGTTCTACTAGCGAATCCCCGTCTGGTACTG CTCCAGGTACTTCTACTCCTGAAAGCGGTTCCGCTTCTCCAGGT ACCTCTACTCCGGAAAGCGGTTCTGCATCTCCAGGTAGCGAACC GGCAACCTCCGGCTCTGAAACCCCAGGTACCTCTGAAAGCGCT ACTCCTGAATCCGGCCCAGGTAGCCCGGCAGGTTCTCCGACTTC CACTGAGGAAGGTACCTCTACTGAACCTTCTGAGGGCAGCGCT CCAGGTACTTCTGAAAGCGCTACCCCGGAGTCCGGTCCAGGTA CTTCTACTGAACCGTCCGAAGGTAGCGCACCAGGTACTTCTACC GAACCGTCCGAGGGTAGCGCACCAGGTAGCCCAGCAGGTTCTC CTACCTCCACCGAGGAAGGTACTTCTACCGAACCGTCCGAGGG TAGCGCACCAGGTACTTCTACCGAACCTTCCGAGGGCAGCGCA CCAGGTACTTCTGAAAGCGCTACCCCTGAGTCCGGCCCAGGTA CTTCTGAAAGCGCTACTCCTGAATCCGGTCCAGGTACCTCTACT GAACCTTCCGAAGGCAGCGCTCCAGGTACCTCTACCGAACCGT CCGAGGGCAGCGCACCAGGTACTTCTGAAAGCGCAACCCCTGA ATCCGGTCCAGGTACTTCTACTGAACCTTCCGAAGGTAGCGCTC CAGGTAGCGAACCTGCTACTTCTGGTTCTGAAACCCCAGGTAGC CCGGCTGGCTCTCCGACCTCCACCGAGGAAGGTAGCTCTACCCC GTCTGGTGCTACTGGTTCTCCAGGTACTCCGGGCAGCGGTACTG CTTCTTCCTCTCCAGGTAGCTCTACCCCTTCTGGTGCTACTGGCT CTCCAGGTACCTCTACCGAACCGTCCGAGGGTAGCGCACCAGG TACCTCTACTGAACCGTCTGAGGGTAGCGCTCCAGGTAGCGAA CCGGCAACCTCCGGTTCTGAAACTCCAGGTAGCCCTGCTGGCTC TCCGACTTCTACTGAGGAAGGTAGCCCGGCTGGTTCTCCGACTT CTACTGAGGAAGGTACTTCTACCGAACCTTCCGAAGGTAGCGC TCCAGGTGCAAGCGCAAGCGGCGCGCCAAGCACGGGAGGTACT TCTGAAAGCGCTACTCCTGAGTCCGGCCCAGGTAGCCCGGCTG GCTCTCCGACTTCCACCGAGGAAGGTAGCCCGGCTGGCTCTCCA ACTTCTACTGAAGAAGGTTCTACCAGCTCTACCGCTGAATCTCC TGGCCCAGGTTCTACTAGCGAATCTCCGTCTGGCACCGCACCAG GTACTTCCCCTAGCGGTGAATCTTCTACTGCACCAGGTACCCCT GGCAGCGGTACCGCTTCTTCCTCTCCAGGTAGCTCTACCCCGTC

	PGTSESATPESGPGS EPATSGSETPGSTSST AESPGPGSTSSTAESP GPGTSPSGESSTAPG SEPATSGSETPGSEP ATSGSETPGTSTEPSE GSAPGSTSSTAESPG PGTSTPESGSASPGST SESPSGTAPGTSTEPS EGSAPGTSTEPSEGS APGTSTEPSEGSAPG SSTPSGATGSPGSSPS ASTGTGPGASPGTSS TGSPGSEPATSGSET PGTSESATPESGPGSP AGSPTSTEEGSSTPS GATGSPGSSPSASTG TGPGASPGTSSTGSP GTSESATPESGPGTS TEPSEGSAPGTSTEPS EGSAPGFPTIPLSRLF DNAMLRAHRLHQL AFDTYQEFEEAYIPK EQKYSFLQNPQTSLC FSESIPTPSNREETQQ KSNLELLRISLLLIQS WLEPVQFLRSVFAN SLVYGASDSNVYDL LKDLEEGIQTLMGRL EDGSPRTGQIFKQTY SKFDTNSHNDDALL KNYGLLYCFRKDMD KVETFLRIVQCRSVE GSCGF	TGGTGCTACTGGCTCTCCAGGTTCTAGCCCGTCTGCATCTACCG GTACCGGCCCAGGTAGCGAACCGGCAACCTCCGGCTCTGAAAC TCCAGGTACTTCTGAAAGCGCTACTCCGGAATCCGGCCCAGGT AGCGAACCGGCTACTTCCGGCTCTGAAACCCCAGGTTCCACCA GCTCTACTGCAGAATCTCCGGGCCCAGGTTCTACTAGCTCTACT GCAGAATCTCCGGGTCCAGGTACTTCTCCTAGCGGCGAATCTTC TACCGCTCCAGGTAGCGAACCGGCAACCTCTGGCTCTGAAACT CCAGGTAGCGAACCTGCAACCTCCGGCTCTGAAACCCCAGGTA CTTCTACTGAACCTTCTGAGGGCAGCGCACCAGGTTCTACCAGC TCTACCGCAGAATCTCCTGGTCCAGGTACCTCTACTCCGGAAAG CGGCTCTGCATCTCCAGGTTCTACTAGCGAATCTCCTTCTGGCA CTGCACCAGGTACTTCTACCGAACCGTCCGAAGGCAGCGCTCC AGGTACCTCTACTGAACCTTCCGAGGGCAGCGCTCCAGGTACCT CTACCGAACCTTCTGAAGGTAGCGCACCAGGTAGCTCTACTCCG TCTGGTGCAACCGGCTCCCCAGGTTCTAGCCCGTCTGCTTCCAC TGGTACTGGCCCAGGTGCTTCCCCGGGCACCAGCTCTACTGGTTT CTCCAGGTAGCGAACCTGCTACCTCCGGTTCTGAAACCCCAGGT ACCTCTGAAAGCGCAACTCCGGAGTCTGGTCCAGGTAGCCCTG CAGGTTCTCCTACCTCCACTGAGGAAGGTAGCTCTACTCCGTCT GGTGCAACCGGCTCCCCAGGTTCTAGCCCGTCTGCTTCCACTGG TACTGGCCCAGGTGCTTCCCCGGGCACCAGCTCTACTGGTTCTC CAGGTACCTCTGAAAGCGCTACTCCGGAGTCTGGCCCAGGTAC CTCTACTGAACCGTCTGAGGGTAGCGCTCCAGGTACTTCTACTG AACCGTCCGAAGGTAGCGCACCAGGTTTTCCGACTATTCCGCTG TCTCGTCTGTTTGATAATGCTATGCTGCGTGCGCACCGTCTGCA CCAGCTGGCCTTTGATACTTACCAGGAATTTGAAGAAGCCTACA TTCCTAAAGAGCAGAAGTACTCTTTCCTGCAAAACCCACAGACT TCTCTCTGCTTCAGCGAATCTATTCCGACGCCTTCCAATCGCGA GGAAACTCAGCAAAAGTCCAATCTGGAACTACTCCGCATTTCTC TGCTTCTGATTCAGAGCTGGCTAGAACCAGTGCAATTTCTGCGT TCCGTCTTCGCCAATAGCCTAGTTTATGGCGCATCCGACAGCAA CGTATACGATCTCCTGAAAGATCTCGAGGAAGGCATTCAGACC CTGATGGGTCGTCTCGAGGATGGCTCTCCGCGTACTGGTCAGAT CTTCAAGCAGACTTACTCTAAATTTGATACTAACAGCCACAATG ACGATGCGCTTCTAAAAAACTATGGTCTGCTGTATTGTTTTCGT AAAGATATGGACAAAGTTGAAACCTTCCTGCGTATTGTTCAGTG TCGTTCCGTTGAGGGCAGCTGTGGTTTCTAA
AM1318- hGH	GTSTEPSEGSAPGSE PATSGSETPGSPAGS PTSTEEGSTSSTAESP GPGTSTPESGSASPG STSESPSGTAPGSTSE SPSGTAPGTSTPESGS ASPGTSTPESGSASP GSEPATSGSETPGTS ESATPESGPGSPAGS PTSTEEGTSTEPSEGS APGTSESATPESGPG TSTEPSEGSAPGTSTE PSEGSAPGSPAGSPT STEEGTSTEPSEGSAP GTSTEPSEGSAPGTS ESATPESGPGTSESA TPESGPGTSTEPSEGS APGTSTEPSEGSAPG TSESATPESGPGTSTE PSEGSAPGSEPATSG SETPGSPAGSPTSTEE GSSTPSGATGSPGTP	GGTACTTCTACTGAACCGTCTGAAGGCAGCGCACCAGGTAGCG AACCGGCTACTTCCGGTTCTGAAACCCCAGGTAGCCCAGCAGG TTCTCCAACTTCTACTGAAGAAGGTTCTACCAGCTCTACCGCAG AATCTCCTGGTCCAGGTACCTCTACTCCGGAAAGCGGCTCTGCA TCTCCAGGTTCTACTAGCGAATCTCCTTCTGGCACTGCACCAGG TTCTACTAGCGAATCCCCGTCTGGTACTGCTCCAGGTACTTCTA CTCCTGAAAGCGGTTCCGCTTCTCCAGGTACCTCTACTCCGGAA AGCGGTTCTGCATCTCCAGGTAGCGAACCGGCAACCTCCGGCT CTGAAACCCCAGGTACCTCTGAAAGCGCTACTCCTGAATCCGG CCCAGGTAGCCCGGCAGGTTCTCCGACTTCCACTGAGGAAGGT ACCTCTACTGAACCTTCTGAGGGCAGCGCTCCAGGTACTTCTGA AAGCGCTACCCCGGAGTCCGGTCCAGGTACTTCTACTGAACCGT CCGAAGGTAGCGCACCAGGTACTTCTACCGAACCGTCCGAGGG TAGCGCACCAGGTAGCCCAGCAGGTTCTCCTACCTCCACCGAG GAAGGTACTTCTACCGAACCGTCCGAGGGTAGCGCACCAGGTA CTTCTACCGAACCTTCCGAGGGCAGCGCACCAGGTACTTCTGAA AGCGCTACCCCTGAGTCCGGCCCAGGTACTTCTGAAAGCGCTA CTCCTGAATCCGGTCCAGGTACCTCTACTGAACCTTCCGAAGGC AGCGCTCCAGGTACCTCTACCGAACCGTCCGAGGGCAGCGCAC CAGGTACTTCTGAAAGCGCAACCCCTGAATCCGGTCCAGGTAC TTCTACTGAACCTTCCGAAGGTAGCGCTCCAGGTAGCGAACCTG CTACTTCTGGTTCTGAAACCCCAGGTAGCCCGGCTGGCTCTCCG

	GSGTASSSPGSSTPS	ACCTCCACCGAGGAAGGTAGCTCTACCCCGTCTGGTGCTACTGG
	GATGSPGTSTEPSEG	TTCTCCAGGTACTCCGGGCAGCGGTACTGCTTCTTCCTCTCCAG
	SAPGTSTEPSEGSAP	GTAGCTCTACCCCTTCTGGTGCTACTGGCTCTCCAGGTACCTCT
	GSEPATSGSETPGSP	ACCGAACCGTCCGAGGGTAGCGCACCAGGTACCTCTACTGAAC
	AGSPTSTEEGSPAGS	CGTCTGAGGGTAGCGCTCCAGGTAGCGAACCGGCAACCTCCGG
	PTSTEEGTSTEPSEGS	TTCTGAAACTCCAGGTAGCCCTGCTGGCTCTCCGACTTCTACTG
	APGPEPTGPAPSGGS	AGGAAGGTAGCCCGGCTGGTTCTCCGACTTCTACTGAGGAAGG
	EPATSGSETPGTSES	TACTTCTACCGAACCTTCCGAAGGTAGCGCTCCAGGTCCAGAAC
	ATPESGPGSPAGSPT	CAACGGGGCCGGCCCCAAGCGGAGGTAGCGAACCGGCAACCTC
	STEEGTSESATPESGP	CGGCTCTGAAACCCCAGGTACCTCTGAAAGCGCTACTCCTGAAT
	GSPAGSPTSTEEGSP	CCGGCCCAGGTAGCCCGGCAGGTTCTCCGACTTCCACTGAGGA
	AGSPTSTEEGTSESA	AGGTACTTCTGAAAGCGCTACTCCTGAGTCCGGCCCAGGTAGC
	TPESGPGSPAGSPTST	CCGGCTGGCTCTCCGACTTCCACCGAGGAAGGTAGCCCGGCTG
	EEGSPAGSPTSTEEG	GCTCTCCAACTTCTACTGAAGAAGGTACTTCTGAAAGCGCTACT
	STSSTAESPGPGSTSE	CCTGAGTCCGGCCCAGGTAGCCCGGCTGGCTCTCCGACTTCCAC
	SPSGTAPGTSPSGESS	CGAGGAAGGTAGCCCGGCTGGCTCTCCAACTTCTACTGAAGAA
	TAPGSTSESPSGTAP	GGTTCTACCAGCTCTACCGCTGAATCTCCTGGCCCAGGTTCTAC
	GSTSESPSGTAPGTSP	TAGCGAATCTCCGTCTGGCACCGCACCAGGTACTTCCCCTAGCG
	SGESSTAPGTSTEPSE	GTGAATCTTCTACTGCACCAGGTTCTACCAGCGAATCTCCTTCT
	GSAPGTSESATPESG	GGCACCGCTCCAGGTTCTACTAGCGAATCCCCGTCTGGTACCGC
	PGTSESATPESGPGS	ACCAGGTACTTCTCCTAGCGGCGAATCTTCTACCGCACCAGGTA
	EPATSGSETPGTSES	CTTCTACCGAACCTTCCGAGGGCAGCGCACCAGGTACTTCTGAA
	ATPESGPGTSESATP	AGCGCTACCCCTGAGTCCGGCCCAGGTACTTCTGAAAGCGCTA
	ESGPGTSTEPSEGSA	CTCCTGAATCCGGTCCAGGTAGCGAACCGGCAACCTCTGGCTCT
	PGTSESATPESGPGT	GAAACCCCAGGTACCTCTGAAAGCGCTACTCCGGAATCTGGTC
	STEPSEGSAPGTSPSG	CAGGTACTTCTGAAAGCGCTACTCCGGAATCCGGTCCAGGTAC
	ESSTAPGTSPSGESST	CTCTACTGAACCTTCTGAGGGCAGCGCTCCAGGTACTTCTGAAA
	APGTSPSGESSTAPG	GCGCTACCCCGGAGTCCGGTCCAGGTACTTCTACTGAACCGTCC
	TSTEPSEGSAPGSPA	GAAGGTAGCGCACCAGGTACCTCCCCTAGCGGCGAATCTTCTA
	GSPTSTEEGTSTEPSE	CTGCTCCAGGTACCTCTCCTAGCGGCGAATCTTCTACCGCTCCA
	GSAPGSSPSASTGTG	GGTACCTCCCCTAGCGGTGAATCTTCTACCGCACCAGGTACTTC
	PGSSTPSGATGSPGS	TACCGAACCGTCCGAGGGTAGCGCACCAGGTAGCCCAGCAGGT
	STPSGATGSPGSSTPS	TCTCCTACCTCCACCGAGGAAGGTACTTCTACCGAACCGTCCGA
	GATGSPGSSTPSGAT	GGGTAGCGCACCAGGTTCTAGCCCTTCTGCTTCCACCGGTACCG
	GSPGASPGTSSTGSP	GCCCAGGTAGCTCTACTCCGTCTGGTGCAACTGGCTCTCCAGGT
	GASASGAPSTGGTSP	AGCTCTACTCCGTCTGGTGCAACCGGCTCCCCAGGTAGCTCTAC
	SGESSTAPGSTSSTA	CCCGTCTGGTGCTACCGGCTCTCCAGGTAGCTCTACCCCGTCTG
	ESPGPGTSPSGESSTA	GTGCAACCGGCTCCCCAGGTGCATCCCCGGGTACTAGCTCTACC
	PGTSESATPESGPGT	GGTTCTCCAGGTGCAAGCGCAAGCGGCGCGCCAAGCACGGGAG
	STEPSEGSAPGTSTEP	GTACTTCTCCGAGCGGTGAATCTTCTACCGCACCAGGTTCTACT
	SEGSAPGSSPSASTG	AGCTCTACCGCTGAATCTCCGGGCCCAGGTACTTCTCCGAGCGG
	TGPGSSTPSGATGSP	TGAATCTTCTACTGCTCCAGGTACCTCTGAAAGCGCTACTCCGG
	GASPGTSSTGSPGTS	AGTCTGGCCCAGGTACCTCTACTGAACCGTCTGAGGGTAGCGCT
	TPESGSASPGTSPSGE	CCAGGTACTTCTACTGAACCGTCCGAAGGTAGCGCACCAGGTT
	SSTAPGTSPSGESSTA	CTAGCCCTTCTGCATCTACTGGTACTGGCCCAGGTAGCTCTACT
	PGTSESATPESGPGS	CCTTCTGGTGCTACCGGCTCTCCAGGTGCTTCTCCGGGTACTAG
	EPATSGSETPGTSTEP	CTCTACCGGTTCTCCAGGTACTTCTACTCCGGAAAGCGGTTCCG
	SEGSAPGSTSESPSGT	CATCTCCAGGTACTTCTCCTAGCGGTGAATCTTCTACTGCTCCA
	APGSTSESPSGTAPG	GGTACCTCTCCTAGCGGCGAATCTTCTACTGCTCCAGGTACTTC
	TSTPESGSASPGSPA	TGAAAGCGCAACCCCTGAATCCGGTCCAGGTAGCGAACCGGCT
	GSPTSTEEGTSESATP	ACTTCTGGCTCTGAGACTCCAGGTACTTCTACCGAACCGTCCGA
	ESGPGTSTEPSEGSA	AGGTAGCGCACCAGGTTCTACCAGCGAATCCCCTTCTGGTACTG
	PGSPAGSPTSTEEGT	CTCCAGGTTCTACCAGCGAATCCCCTTCTGGCACCGCACCAGGT
	SESATPESGPGSEPA	ACTTCTACCCCTGAAAGCGGCTCCGCTTCTCCAGGTAGCCCGGC
	TSGSETPGSSTPSGA	AGGCTCTCCGACCTCTACTGAGGAAGGTACTTCTGAAAGCGCA
	TGSPGASPGTSSTGS	ACCCCGGAGTCCGGCCCAGGTACCTCTACCGAACCGTCTGAGG
	PGSSTPSGATGSPGS	GCAGCGCACCAGGTAGCCCTGCTGGCTCTCCAACCTCCACCGA
	TSESPSGTAPGTSPSG	AGAAGGTACCTCTGAAAGCGCAACCCCTGAATCCGGCCCAGGT
	ESSTAPGSTSSTAESP	AGCGAACCGGCAACCTCCGGTTCTGAAACCCCAGGTAGCTCTA

	GPGSSTPSGATGSPG ASPGTSSTGSPGTPG SGTASSSPGSPAGSP TSTEEGSPAGSPTSTE EGTSTEPSEGSAPGF PTIPLSRLFDNAMLR AHRLHQLAFDTYQE FEEAYIPKEQKYSFL QNPQTSLCFSESIPTP SNREETQQKSNLELL RISLLLIQSWLEPVQF LRSVFANSLVYGAS DSNVYDLLKDLEEGI QTLMGRLEDGSPRT GQIFKQTYSKFDTNS HNDDALLKNYGLLY CFRKDMDKVETFLRI VQCRSVEGSCGF	CCCCGTCTGGTGCTACCGGTTCCCCAGGTGCTTCTCCTGGTACT AGCTCTACCGGTTCTCCAGGTAGCTCTACCCCGTCTGGTGCTAC TGGCTCTCCAGGTTCTACTAGCGAATCCCCGTCTGGTACTGCTC CAGGTACTTCCCCTAGCGGTGAATCTTCTACTGCTCCAGGTTCT ACCAGCTCTACCGCAGAATCTCCGGGTCCAGGTAGCTCTACCCC TTCTGGTGCAACCGGCTCTCCAGGTGCATCCCCGGGTACCAGCT CTACCGGTTCTCCAGGTACTCCGGGTAGCGGTACCGCTTCTTCC TCTCCAGGTAGCCCTGCTGGCTCTCCGACTTCTACTGAGGAAGG TAGCCCGGCTGGTTCTCCGACTTCTACTGAGGAAGGTACTTCTA CCGAACCTTCCGAAGGTAGCGCTCCAGGTTTTCCGACTATTCCG CTGTCTCGTCTGTTTGATAATGCTATGCTGCGTGCGCACCGTCT GCACCAGCTGGCCTTTGATACTTACCAGGAATTTGAAGAAGCcT ACATTCCTAAAGAGCAGAAGTACTCTTTCCTGCAAAACCCACA GACTTCTCTCTGCTTCAGCGAATCTATTCCGACGCCTTCCAATC GCGAGGAAACTCAGCAAAAGTCCAATCTGGAACTACTCCGCAT TTCTCTGCTTCTGATTCAGAGCTGGCTAGAACCAGTGCAATTTC TGCGTTCCGTCTTCGCCAATAGCCTAGTTTATGGCGCATCCGAC AGCAACGTATACGATCTCCTGAAAGATCTCGAGGAAGGCATTC AGACCCTGATGGGTCGTCTCGAGGATGGCTCTCCGCGTACTGGT CAGATCTTCAAGCAGACTTACTCTAAATTTGATACTAACAGCCA CAATGACGATGCGCTTCTAAAAAACTATGGTCTGCTGTATTGTT TTCGTAAAGATATGGACAAAGTTGAAACCTTCCTGCGTATTGTT CAGTGTCGTTCCGTTGAGGGCAGCTGTGGTTTCTAA
hGH- AE144	FPTIPLSRLFDNAML RAHRLHQLAFDTYQ EFEEAYIPKEQKYSF LQNPQTSLCFSESIPT PSNREETQQKSNLEL LRISLLLIQSWLEPVQ FLRSVFANSLVYGAS DSNVYDLLKDLEEGI QTLMGRLEDGSPRT GQIFKQTYSKFDTNS HNDDALLKNYGLLY CFRKDMDKVETFLRI VQCRSVEGSCGFGG SEPATSGSETPGTSES ATPESGPGSEPATSG SETPGSPAGSPTSTEE GTSTEPSEGSAPGSE PATSGSETPGSEPAT SGSETPGSEPATSGS ETPGTSTEPSEGSAP GTSESATPESGPGSE PATSGSETPGTSTEPS EGSAP	TTTCCGACTATTCCGCTGTCTCGTCTGTTTGATAATGCTATGCTG CGTGCGCACCGTCTGCACCAGCTGGCCTTTGATACTTACCAGGA ATTTGAAGAAGCcTACATTCCTAAAGAGCAGAAGTACTCTTTCC TGCAAAACCCACAGACTTCTCTCTGCTTCAGCGAATCTATTCCG ACGCCTTCCAATCGCGAGGAAACTCAGCAAAAGTCCAATCTGG AACTACTCCGCATTTCTCTGCTTCTGATTCAGAGCTGGCTAGAA CCAGTGCAATTTCTGCGTTCCGTCTTCGCCAATAGCCTAGTTTA TGGCGCATCCGACAGCAACGTATACGATCTCCTGAAAGATCTC GAGGAAGGCATTCAGACCCTGATGGGTCGTCTCGAGGATGGCT CTCCGCGTACTGGTCAGATCTTCAAGCAGACTTACTCTAAATTT GATACTAACAGCCACAATGACGATGCGCTTCTAAAAAACTATG GTCTGCTGTATTGTTTTCGTAAAGATATGGACAAAGTTGAAACC TTCCTGCGTATTGTTCAGTGTCGTTCCGTTGAGGGCAGCTGTGG TTTCTAAGGTGGTAGCGAACCGGCAACTTCCGGCTCTGAAACCC CAGGTACTTCTGAAAGCGCTACTCCTGAGTCTGGCCCAGGTAGC GAACCTGCTACCTCTGGCTCTGAAACCCCAGGTAGCCCGGCAG GCTCTCCGACTTCCACCGAGGAAGGTACCTCTACTGAACCTTCT GAGGGTAGCGCTCCAGGTAGCGAACCGGCAACCTCTGGCTCTG AAACCCCAGGTAGCGAACCTGCTACCTCCGGCTCTGAAACTCC AGGTAGCGAACCGGCTACTTCCGGTTCTGAAACTCCAGGTACCT CTACCGAACCTTCCGAAGGCAGCGCACCAGGTACTTCTGAAAG CGCAACCCCTGAATCCGGTCCAGGTAGCGAACCGGCTACTTCT GGCTCTGAGACTCCAGGTACTTCTACCGAACCGTCCGAAGGTA GCGCACCA
hGH- AE288	FPTIPLSRLFDNAML RAHRLHQLAFDTYQ EFEEAYIPKEQKYSF LQNPQTSLCFSESIPT PSNREETQQKSNLEL LRISLLLIQSWLEPVQ FLRSVFANSLVYGAS DSNVYDLLKDLEEGI QTLMGRLEDGSPRT GQIFKQTYSKFDTNS HNDDALLKNYGLLY CFRKDMDKVETFLRI	TTTCCGACTATTCCGCTGTCTCGTCTGTTTGATAATGCTATGCTG CGTGCGCACCGTCTGCACCAGCTGGCCTTTGATACTTACCAGGA ATTTGAAGAAGCcTACATTCCTAAAGAGCAGAAGTACTCTTTCC TGCAAAACCCACAGACTTCTCTCTGCTTCAGCGAATCTATTCCG ACGCCTTCCAATCGCGAGGAAACTCAGCAAAAGTCCAATCTGG AACTACTCCGCATTTCTCTGCTTCTGATTCAGAGCTGGCTAGAA CCAGTGCAATTTCTGCGTTCCGTCTTCGCCAATAGCCTAGTTTA TGGCGCATCCGACAGCAACGTATACGATCTCCTGAAAGATCTC GAGGAAGGCATTCAGACCCTGATGGGTCGTCTCGAGGATGGCT CTCCGCGTACTGGTCAGATCTTCAAGCAGACTTACTCTAAATTT GATACTAACAGCCACAATGACGATGCGCTTCTAAAAAACTATG GTCTGCTGTATTGTTTTCGTAAAGATATGGACAAAGTTGAAACC

	VQCRSVEGSCGFGG TSESATPESGPGSEP ATSGSETPGTSESAT PESGPGSEPATSGSE TPGTSESATPESGPG TSTEPSEGSAPGSPA GSPTSTEEGTSESATP ESGPGSEPATSGSET PGTSESATPESGPGSP AGSPTSTEEGSPAGS PTSTEEGTSTEPSEGS APGTSESATPESGPG TSESATPESGPGTSES ATPESGPGSEPATSG SETPGSEPATSGSETP GSPAGSPTSTEEGTS TEPSEGSAPGTSTEPS EGSAPGSEPATSGSE TPGTSESATPESGPG TSTEPSEGSAP	TTCCTGCGTATTGTTCAGTGTCGTTCCGTTGAGGGCAGCTGTGG TTTCTAAGGTGGTACCTCTGAAAGCGCAACTCCTGAGTCTGGCC CAGGTAGCGAACCTGCTACCTCCGGCTCTGAGACTCCAGGTAC CTCTGAAAGCGCAACCCCGGAATCTGGTCCAGGTAGCGAACCT GCAACCTCTGGCTCTGAAACCCCAGGTACCTCTGAAAGCGCTA CTCCTGAATCTGGCCCAGGTACTTCTACTGAACCGTCCGAGGGC AGCGCACCAGGTAGCCCTGCTGGCTCTCCAACCTCCACCGAAG AAGGTACCTCTGAAAGCGCAACCCCTGAATCCGGCCCAGGTAG CGAACCGGCAACCTCCGGTTCTGAAACCCCAGGTACTTCTGAA AGCGCTACTCCTGAGTCCGGCCCAGGTAGCCCGGCTGGCTCTCC GACTTCCACCGAGGAAGGTAGCCCGGCTGGCTCTCCAACTTCTA CTGAAGAAGGTACTTCTACCGAACCTTCCGAGGGCAGCGCACC AGGTACTTCTGAAAGCGCTACCCCTGAGTCCGGCCCAGGTACTT CTGAAAGCGCTACTCCTGAATCCGGTCCAGGTACTTCTGAAAGC GCTACCCCGGAATCTGGCCCAGGTAGCGAACCGGCTACTTCTG GTTCTGAAACCCCAGGTAGCGAACCGGCTACCTCCGGTTCTGA AACTCCAGGTAGCCCAGCAGGCTCTCCGACTTCCACTGAGGAA GGTACTTCTACTGAACCTTCCGAAGGCAGCGCACCAGGTACCTC TACTGAACCTTCTGAGGGCAGCGCTCCAGGTAGCGAACCTGCA ACCTCTGGCTCTGAAACCCCAGGTACCTCTGAAAGCGCTACTCC TGAATCTGGCCCAGGTACTTCTACTGAACCGTCCGAGGGCAGC GCACCA
hGH- AF144	FPTIPLSRLFDNAML RAHRLHQLAFDTYQ EFEEAYIPKEQKYSF LQNPQTSLCFSESIPT PSNREETQQKSNLEL LRISLLLIQSWLEPVQ FLRSVFANSLVYGAS DSNVYDLLKDLEEGI QTLMGRLEDGSPRT GQIFKQTYSKFDTNS HNDDALLKNYGLLY CFRKDMDKVETFLRI VQCRSVEGSCGFGG TSTPESGSASPGTSPS GESSTAPGTSPSGESS TAPGSTSSTAESPGP GSTSESPSGTAPGSTS STAESPGPGTSPSGES STAPGTSTPESGSASP GSTSSTAESPGPGTSP SGESSTAPGTSPSGES STAPGTSPSGESSTAP	TTTCCGACTATTCCGCTGTCTCGTCTGTTTGATAATGCTATGCTG CGTGCGCACCGTCTGCACCAGCTGGCCTTTGATACTTACCAGGA ATTTGAAGAAGCcTACATTCCTAAAGAGCAGAAGTACTCTTTCC TGCAAAACCCACAGACTTCTCTCTGCTTCAGCGAATCTATTCCG ACGCCTTCCAATCGCGAGGAAACTCAGCAAAAGTCCAATCTGG AACTACTCCGCATTTCTCTGCTTCTGATTCAGAGCTGGCTAGAA CCAGTGCAATTTCTGCGTTCCGTCTTCGCCAATAGCCTAGTTTA TGGCGCATCCGACAGCAACGTATACGATCTCCTGAAAGATCTC GAGGAAGGCATTCAGACCCTGATGGGTCGTCTCGAGGATGGCT CTCCGCGTACTGGTCAGATCTTCAAGCAGACTTACTCTAAATTT GATACTAACAGCCACAATGACGATGCGCTTCTAAAAAACTATG GTCTGCTGTATTGTTTTCGTAAAGATATGGACAAAGTTGAAACC TTCCTGCGTATTGTTCAGTGTCGTTCCGTTGAGGGCAGCTGTGG TTTCTAAGGTGGTACTTCTACTCCGGAAAGCGGTTCCGCATCTC CAGGTACTTCTCCTAGCGGTGAATCTTCTACTGCTCCAGGTACC TCTCCTAGCGGCGAATCTTCTACTGCTCCAGGTTCTACCAGCTC TACCGCTGAATCTCCTGGCCCAGGTTCTACCAGCGAATCCCCGT CTGGCACCGCACCAGGTTCTACTAGCTCTACCGCAGAATCTCCG GGTCCAGGTACTTCCCCTAGCGGTGAATCTTCTACTGCTCCAGG TACCTCTACTCCGGAAAGCGGCTCCGCATCTCCAGGTTCTACTA GCTCTACTGCTGAATCTCCTGGTCCAGGTACCTCCCCTAGCGGC GAATCTTCTACTGCTCCAGGTACCTCTCCTAGCGGCGAATCTTC TACCGCTCCAGGTACCTCCCCTAGCGGTGAATCTTCTACCGCAC CA
hGH- AD576	FPTIPLSRLFDNAML RAHRLHQLAFDTYQ EFEEAYIPKEQKYSF LQNPQTSLCFSESIPT PSNREETQQKSNLEL LRISLLLIQSWLEPVQ FLRSVFANSLVYGAS DSNVYDLLKDLEEGI QTLMGRLEDGSPRT GQIFKQTYSKFDTNS HNDDALLKNYGLLY CFRKDMDKVETFLRI VQCRSVEGSCGFGG	TTTCCGACTATTCCGCTGTCTCGTCTGTTTGATAATGCTATGCTG CGTGCGCACCGTCTGCACCAGCTGGCCTTTGATACTTACCAGGA ATTTGAAGAAGCcTACATTCCTAAAGAGCAGAAGTACTCTTTCC TGCAAAACCCACAGACTTCTCTCTGCTTCAGCGAATCTATTCCG ACGCCTTCCAATCGCGAGGAAACTCAGCAAAAGTCCAATCTGG AACTACTCCGCATTTCTCTGCTTCTGATTCAGAGCTGGCTAGAA CCAGTGCAATTTCTGCGTTCCGTCTTCGCCAATAGCCTAGTTTA TGGCGCATCCGACAGCAACGTATACGATCTCCTGAAAGATCTC GAGGAAGGCATTCAGACCCTGATGGGTCGTCTCGAGGATGGCT CTCCGCGTACTGGTCAGATCTTCAAGCAGACTTACTCTAAATTT GATACTAACAGCCACAATGACGATGCGCTTCTAAAAAACTATG GTCTGCTGTATTGTTTTCGTAAAGATATGGACAAAGTTGAAACC TTCCTGCGTATTGTTCAGTGTCGTTCCGTTGAGGGCAGCTGTGG

	SSESGSSEGGPGSGG EPSESGSSGSSESGSS EGGPGSSESGSSEGG PGSSESGSSEGGPGS SESGSSEGGPGSSES GSSEGGPGESPGGSS GSESGSEGSSGPGES SGSSESGSSEGGPGS SESGSSEGGPGSSES GSSEGGPGSGGEPSE SGSSGESPGGSSGSE SGESPGGSSGSESGS GGEPSESGSSGSSES GSSEGGPGSGGEPSE SGSSGSGGEPSESGS SGSEGSSGPGESSGE SPGGSSGSESGSGGE PSESGSSGSGGEPSES GSSGSGGEPSESGSS GSSESGSSEGGPGES PGGSSGSESGESPGG SSGSESGESPGGSSG SESGESPGGSSGSES GESPGGSSGSESGSS ESGSSEGGPGSGGEP SESGSSGSEGSSGPG ESSGSSESGSSEGGP GSGGEPSESGSSGSS ESGSSEGGPGSGGEP SESGSSGESPGGSSG SESGESPGGSSGSES GSSESGSSEGGPGSG GEPSESGSSGSSESGS SEGGPGSGGEPSESG SSGSGGEPSESGSSG ESPGGSSGSESGSEG SSGPGESSGSSESGSS EGGPGSEGSSGPGES S	TTTCTAAGGTGGTTCCTCTGAAAGCGGTTCTTCCGAAGGTGGTC CAGGTTCCTCTGAAAGCGGTTCTTCTGAGGGTGGTCCAGGTGAA TCTCCGGGTGGCTCCAGCGGTTCCGAGTCAGGTTCTGGTGGCGA ACCTTCCGAGTCTGGTAGCTCAGGTGAATCTCCGGGTGGTTCTA GCGGTTCCGAGTCAGGTGAATCTCCGGGTGGTTCCAGCGGTTCT GAGTCAGGTTCCTCCGAAAGCGGTTCTTCTGAGGGCGGTCCAG GTTCCTCCGAAAGCGGTTCTTCCGAGGGCGGTCCAGGTTCTTCT GAAAGCGGTTCTTCCGAGGGCGGTCCAGGTGAATCTCCTGGTG GTTCCAGCGGTTCCGAGTCAGGTGAATCTCCAGGTGGCTCTAGC GGTTCCGAGTCAGGTGAATCTCCTGGTGGTTCTAGCGGTTCTGA ATCAGGTTCCTCCGAAAGCGGTTCTTCTGAGGGCGGTCCAGGTT CCTCCGAAAGCGGTTCTTCCGAGGGCGGTCCAGGTTCTTCTGAA AGCGGTTCTTCCGAGGGCGGTCCAGGTTCCTCTGAAAGCGGTTC TTCTGAGGGCGGTCCAGGTTCTTCCGAAAGCGGTTCTTCCGAGG GCGGTCCAGGTTCTTCCGAAAGCGGTTCTTCTGAAGGCGGTCCA GGTTCTGGTGGCGAACCGTCCGAGTCTGGTAGCTCAGGTGAAT CTCCGGGTGGCTCTAGCGGTTCCGAGTCAGGTGAATCTCCTGGT GGTTCCAGCGGTTCCGAGTCAGGTTCCGGTGGCGAACCGTCCG AATCTGGTAGCTCAGGTAGCGAAGGTTCTTCTGGTCCAGGCGA ATCTTCAGGTTCCTCTGAAAGCGGTTCTTCTGAGGGCGGTCCAG GTTCCGGTGGCGAACCGTCCGAATCTGGTAGCTCAGGTAGCGA AGGTTCTTCTGGTCCAGGCGAATCTTCAGGTTCCTCTGAAAGCG GTTCTTCTGAGGGCGGTCCAGGTTCCGGTGGCGAACCTTCCGAA TCTGGTAGCTCAGGTGAATCTCCGGGTGGTTCTAGCGGTTCTGA GTCAGGTTCTGGTGGTGAACCTTCCGAGTCTGGTAGCTCAGGTT CTGGTGGCGAACCATCCGAGTCTGGTAGCTCAGGTTCTTCCGAA AGCGGTTCTTCCGAAGGCGGTCCAGGTTCTGGTGGTGAACCGTC CGAATCTGGTAGCTCAGGTTCTGGTGGCGAACCATCCGAATCTG GTAGCTCAGGTAGCGAAGGTTCTTCTGGTCCTGGCGAATCTTCA GGTGAATCTCCAGGTGGCTCTAGCGGTTCCGAATCAGGTAGCG AAGGTTCTTCCGGTCCAGGTGAATCTTCAGGTAGCGAAGGTTCT TCTGGTCCTGGTGAATCCTCAGGTTCCGGTGGCGAACCATCTGA ATCTGGTAGCTCAGGTTCCTCTGAAAGCGGTTCTTCCGAAGGTG GTCCAGGTTCCTCTGAAAGCGGTTCTTCTGAGGGTGGTCCAGGT GAATCTCCGGGTGGCTCCAGCGGTTCCGAGTCAGGTTCTGGTGG CGAACCATCCGAATCTGGTAGCTCAGGTAGCGAAGGTTCTTCTG GTCCTGGCGAATCTTCAGGTGAATCTCCAGGTGGCTCTAGCGGT TCCGAATCAGGTAGCGAAGGTTCTTCCGGTCCTGGTGAGTCTTC AGGTGAATCTCCAGGTGGCTCTAGCGGTTCCGAGTCAGGTAGC GAAGGTTCTTCTGGTCCTGGCGAGTCCTCA
hGH- AE576	FPTIPLSRLFDNAML RAHRLHQLAFDTYQ EFEEAYIPKEQKYSF LQNPQTSLCFSESIPT PSNREETQQKSNLEL LRISLLLIQSWLEPVQ FLRSVFANSLVYGAS DSNVYDLLKDLEEGI QTLMGRLEDGSPRT GQIFKQTYSKFDTNS HNDDALLKNYGLLY CFRKDMDKVETFLRI VQCRSVEGSCGFGG SPAGSPTSTEEGTSES ATPESGPGTSTEPSE GSAPGSPAGSPTSTE EGTSTEPSEGSAPGT STEPSEGSAPGTSES ATPESGPGSEPATSG	TTTCCGACTATTCCGCTGTCTCGTCTGTTTGATAATGCTATGCTG CGTGCGCACCGTCTGCACCAGCTGGCCTTTGATACTTACCAGGA ATTTGAAGAAGCcTACATTCCTAAAGAGCAGAAGTACTCTTTCC TGCAAAACCCACAGACTTCTCTCTGCTTCAGCGAATCTATTCCG ACGCCTTCCAATCGCGAGGAAACTCAGCAAAAGTCCAATCTGG AACTACTCCGCATTTCTCTGCTTCTGATTCAGAGCTGGCTAGAA CCAGTGCAATTTCTGCGTTCCGTCTTCGCCAATAGCCTAGTTTA TGGCGCATCCGACAGCAACGTATACGATCTCCTGAAAGATCTC GAGGAAGGCATTCAGACCCTGATGGGTCGTCTCGAGGATGGCT CTCCGCGTACTGGTCAGATCTTCAAGCAGACTTACTCTAAATTT GATACTAACAGCCACAATGACGATGCGCTTCTAAAAAACTATG GTCTGCTGTATTGTTTTCGTAAAGATATGGACAAAGTTGAAACC TTCCTGCGTATTGTTCAGTGTCGTTCCGTTGAGGGCAGCTGTGG TTTCTAAGGTGGTAGCCCGGCTGGCTCTCCTACCTCTACTGAGG AAGGTACTTCTGAAAGCGCTACTCCTGAGTCTGGTCCAGGTACC TCTACTGAACCGTCCGAAGGTAGCGCTCCAGGTAGCCCAGCAG GCTCTCCGACTTCCACTGAGGAAGGTACTTCTACTGAACCTTCC GAAGGCAGCGCACCAGGTACCTCTACTGAACCTTCTGAGGGCA GCGCTCCAGGTACTTCTGAAAGCGCTACCCCGGAATCTGGCCC

	SETPGSEPATSGSETP GSPAGSPTSTEEGTS ESATPESGPGTSTEPS EGSAPGTSTEPSEGS APGSPAGSPTSTEEG TSTEPSEGSAPGTSTE PSEGSAPGTSESATP ESGPGTSTEPSEGSA PGTSESATPESGPGS EPATSGSETPGTSTEP SEGSAPGTSTEPSEG SAPGTSESATPESGP GTSESATPESGPGSP AGSPTSTEEGTSESA TPESGPGSEPATSGS ETPGTSESATPESGP GTSTEPSEGSAPGTS TEPSEGSAPGTSTEPS EGSAPGTSTEPSEGS APGTSTEPSEGSAPG TSTEPSEGSAPGSPA GSPTSTEEGTSTEPSE GSAPGTSESATPESG PGSEPATSGSETPGT SESATPESGPGSEPA TSGSETPGTSESATPE SGPGTSTEPSEGSAP GTSESATPESGPGSP AGSPTSTEEGSPAGS PTSTEEGSPAGSPTST EEGTSESATPESGPG TSTEPSEGSAP	AGGTAGCGAACCGGCTACTTCTGGTTCTGAAACCCCAGGTAGC GAACCGGCTACCTCCGGTTCTGAAACTCCAGGTAGCCCGGCAG GCTCTCCGACCTCTACTGAGGAAGGTACTTCTGAAAGCGCAAC CCCGGAGTCCGGCCCAGGTACCTCTACCGAACCGTCTGAGGGC AGCGCACCAGGTACTTCTACCGAACCGTCCGAGGGTAGCGCAC CAGGTAGCCCAGCAGGTTCTCCTACCTCCACCGAGGAAGGTAC TTCTACCGAACCGTCCGAGGGTAGCGCACCAGGTACCTCTACTG AACCTTCTGAGGGCAGCGCTCCAGGTACTTCTGAAAGCGCTAC CCCGGAGTCCGGTCCAGGTACTTCTACTGAACCGTCCGAAGGT AGCGCACCAGGTACTTCTGAAAGCGCAACCCCTGAATCCGGTC CAGGTAGCGAACCGGCTACTTCTGGCTCTGAGACTCCAGGTACT TCTACCGAACCGTCCGAAGGTAGCGCACCAGGTACTTCTACTG AACCGTCTGAAGGTAGCGCACCAGGTACTTCTGAAAGCGCAAC CCCGGAATCCGGCCCAGGTACCTCTGAAAGCGCAACCCCGGAG TCCGGCCCAGGTAGCCCTGCTGGCTCTCCAACCTCCACCGAAGA AGGTACCTCTGAAAGCGCAACCCCTGAATCCGGCCCAGGTAGC GAACCGGCAACCTCCGGTTCTGAAACCCCAGGTACCTCTGAAA GCGCTACTCCGGAGTCTGGCCCAGGTACCTCTACTGAACCGTCT GAGGGTAGCGCTCCAGGTACTTCTACTGAACCGTCCGAAGGTA GCGCACCAGGTACTTCTACCGAACCGTCCGAAGGCAGCGCTCC AGGTACCTCTACTGAACCTTCCGAGGGCAGCGCTCCAGGTACCT CTACCGAACCTTCTGAAGGTAGCGCACCAGGTACTTCTACCGA ACCGTCCGAGGGTAGCGCACCAGGTAGCCCAGCAGGTTCTCCT ACCTCCACCGAGGAAGGTACTTCTACCGAACCGTCCGAGGGTA GCGCACCAGGTACCTCTGAAAGCGCAACTCCTGAGTCTGGCCC AGGTAGCGAACCTGCTACCTCCGGCTCTGAGACTCCAGGTACCT CTGAAAGCGCAACCCCGGAATCTGGTCCAGGTAGCGAACCTGC AACCTCTGGCTCTGAAACCCCAGGTACCTCTGAAAGCGCTACTC CTGAATCTGGCCCAGGTACTTCTACTGAACCGTCCGAGGGCAG CGCACCAGGTACTTCTGAAAGCGCTACTCCTGAGTCCGGCCCA GGTAGCCCGGCTGGCTCTCCGACTTCCACCGAGGAAGGTAGCC CGGCTGGCTCTCCAACTTCTACTGAAGAAGGTAGCCCGGCAGG CTCTCCGACCTCTACTGAGGAAGGTACTTCTGAAAGCGCAACCC CGGAGTCCGGCCCAGGTACCTCTACCGAACCGTCTGAGGGCAG CGCACCA
hGH- AF576	FPTIPLSRLFDNAML RAHRLHQLAFDTYQ EFEEAYIPKEQKYSF LQNPQTSLCFSESIPT PSNREETQQKSNLEL LRISLLLIQSWLEPVQ FLRSVFANSLVYGAS DSNVYDLLKDLEEGI QTLMGRLEDGSPRT GQIFKQTYSKFDTNS HNDDALLKNYGLLY CFRKDMDKVETFLRI VQCRSVEGSCGFGG STSSTAESPGPGSTSS TAESPGPGSTSESPSG TAPGSTSSTAESPGP GSTSSTAESPGPGTS TPESGSASPGSTSESP SGTAPGTSPSGESST APGSTSESPSGTAPG STSESPSGTAPGTSPS GESSTAPGSTSESPSG TAPGSTSESPSGTAP GTSPSGESSTAPGSTS	TTTCCGACTATTCCGCTGTCTCGTCTGTTTGATAATGCTATGCTG CGTGCGCACCGTCTGCACCAGCTGGCCTTTGATACTTACCAGGA ATTTGAAGAAGCcTACATTCCTAAAGAGCAGAAGTACTCTTTCC TGCAAAACCCACAGACTTCTCTCTGCTTCAGCGAATCTATTCCG ACGCCTTCCAATCGCGAGGAAACTCAGCAAAAGTCCAATCTGG AACTACTCCGCATTTCTCTGCTTCTGATTCAGAGCTGGCTAGAA CCAGTGCAATTTCTGCGTTCCGTCTTCGCCAATAGCCTAGTTTA TGGCGCATCCGACAGCAACGTATACGATCTCCTGAAAGATCTC GAGGAAGGCATTCAGACCCTGATGGGTCGTCTCGAGGATGGCT CTCCGCGTACTGGTCAGATCTTCAAGCAGACTTACTCTAAATTT GATACTAACAGCCACAATGACGATGCGCTTCTAAAAAACTATG GTCTGCTGTATTGTTTTCGTAAAGATATGGACAAAGTTGAAACC TTCCTGCGTATTGTTCAGTGTCGTTCCGTTGAGGGCAGCTGTGG TTTCTAAGGTGGTTCTACTAGCTCTACCGCTGAATCTCCTGGCC CAGGTTCCACTAGCTCTACCGCAGAATCTCCGGGCCCAGGTTCT ACTAGCGAATCCCCTTCTGGTACCGCTCCAGGTTCTACTAGCTC TACCGCTGAATCTCCGGGTCCAGGTTCTACCAGCTCTACTGCAG AATCTCCTGGCCCAGGTACTTCTACTCCGGAAAGCGGTTCCGCT TCTCCAGGTTCTACCAGCGAATCTCCTTCTGGCACCGCTCCAGG TACCTCTCCTAGCGGCGAATCTTCTACCGCTCCAGGTTCTACTA GCGAATCTCCTTCTGGCACTGCACCAGGTTCTACCAGCGAATCT CCTTCTGGCACCGCTCCAGGTACCTCTCCTAGCGGCGAATCTTC TACCGCTCCAGGTTCTACTAGCGAATCTCCTTCTGGCACTGCAC CAGGTTCTACCAGCGAATCTCCTTCTGGCACCGCTCCAGGTACC

	ESPSGTAPGSTSESPS GTAPGSTSESPSGTA PGTSTPESGSASPGST SESPSGTAPGTSTPES GSASPGSTSSTAESP GPGSTSSTAESPGPG TSTPESGSASPGTSTP ESGSASPGSTSESPSG TAPGTSTPESGSASP GTSTPESGSASPGSTS ESPSGTAPGSTSESPS GTAPGSTSESPSGTA PGSTSSTAESPGPGTS TPESGSASPGTSTPES GSASPGSTSESPSGT APGSTSESPSGTAPG TSTPESGSASPGSTSE SPSGTAPGSTSESPSG TAPGTSTPESGSASP GTSPSGESSTAPGSTS STAESPGPGTSPSGES STAPGSTSSTAESPGP GTSTPESGSASPGSTS ESPSGTAPGSTSSTA ESPGPGTSTPESGSAS PGTSTPESGSASP	TCTCCTAGCGGCGAATCTTCTACCGCTCCAGGTTCTACTAGCGA ATCTCCTTCTGGCACTGCACCAGGTTCTACTAGCGAATCTCCTT CTGGCACTGCACCAGGTTCTACCAGCGAATCTCCGTCTGGCACT GCACCAGGTACCTCTACCCCTGAAAGCGGTTCCGCTTCTCCAGG TTCTACTAGCGAATCTCCTTCTGGTACCGCTCCAGGTACTTCTA CCCCTGAAAGCGGCTCCGCTTCTCCAGGTTCCACTAGCTCTACC GCTGAATCTCCGGGTCCAGGTTCTACTAGCTCTACTGCAGAATC TCCTGGCCCAGGTACCTCTACTCCGGAAAGCGGCTCTGCATCTC CAGGTACTTCTACCCCTGAAAGCGGTTCTGCATCTCCAGGTTCT ACTAGCGAATCCCCGTCTGGTACCGCACCAGGTACTTCTACCCC GGAAAGCGGCTCTGCTTCTCCAGGTACTTCTACCCCGGAAAGC GGCTCCGCATCTCCAGGTTCTACTAGCGAATCTCCTTCTGGTAC CGCTCCAGGTTCTACCAGCGAATCCCCGTCTGGTACTGCTCCAG GTTCTACCAGCGAATCTCCTTCTGGTACTGCACCAGGTTCTACT AGCTCTACTGCAGAATCTCCTGGCCCAGGTACCTCTACTCCGGA AAGCGGCTCTGCATCTCCAGGTACTTCTACCCCTGAAAGCGGTT CTGCATCTCCAGGTTCTACTAGCGAATCTCCTTCTGGCACTGCA CCAGGTTCTACCAGCGAATCTCCGTCTGGCACTGCACCAGGTAC CTCTACCCCTGAAAGCGGTTCCGCTTCTCCAGGTTCTACTAGCG AATCTCCTTCTGGCACTGCACCAGGTTCTACCAGCGAATCTCCG TCTGGCACTGCACCAGGTACCTCTACCCCTGAAAGCGGTTCCGC TTCTCCAGGTACTTCTCCGAGCGGTGAATCTTCTACCGCACCAG GTTCTACTAGCTCTACCGCTGAATCTCCGGGCCCAGGTACTTCT CCGAGCGGTGAATCTTCTACTGCTCCAGGTTCCACTAGCTCTAC TGCTGAATCTCCTGGCCCAGGTACTTCTACTCCGGAAAGCGGTT CCGCTTCTCCAGGTTCTACTAGCGAATCTCCGTCTGGCACCGCA CCAGGTTCTACTAGCTCTACTGCAGAATCTCCTGGCCCAGGTAC CTCTACTCCGGAAAGCGGCTCTGCATCTCCAGGTACTTCTACCC CTGAAAGCGGTTCTGCATCTCCA
hGH- AE624	FPTIPLSRLFDNAML RAHRLHQLAFDTYQ EFEEAYIPKEQKYSF LQNPQTSLCFSESIPT PSNREETQQKSNLEL LRISLLLIQSWLEPVQ FLRSVFANSLVYGAS DSNVYDLLKDLEEGI QTLMGRLEDGSPRT GQIFKQTYSKFDTNS HNDDALLKNYGLLY CFRKDMDKVETFLRI VQCRSVEGSCGFGM AEPAGSPTSTEEGTP GSGTASSSPGSSTPS GATGSPGASPGTSST GSPGSPAGSPTSTEE GTSESATPESGPGTS TEPSEGSAPGSPAGS PTSTEEGTSTEPSEGS APGTSTEPSEGSAPG TSESATPESGPGSEP ATSGSETPGSEPATS GSETPGSPAGSPTST EEGTSESATPESGPG TSTEPSEGSAPGTSTE PSEGSAPGSPAGSPT STEEGTSTEPSEGSAP GTSTEPSEGSAPGTS ESATPESGPGTSTEPS	TTTCCGACTATTCCGCTGTCTCGTCTGTTTGATAATGCTATGCTG CGTGCGCACCGTCTGCACCAGCTGGCCTTTGATACTTACCAGGA ATTTGAAGAAGCcTACATTCCTAAAGAGCAGAAGTACTCTTTCC TGCAAAACCCACAGACTTCTCTCTGCTTCAGCGAATCTATTCCG ACGCCTTCCAATCGCGAGGAAACTCAGCAAAAGTCCAATCTGG AACTACTCCGCATTTCTCTGCTTCTGATTCAGAGCTGGCTAGAA CCAGTGCAATTTCTGCGTTCCGTCTTCGCCAATAGCCTAGTTTA TGGCGCATCCGACAGCAACGTATACGATCTCCTGAAAGATCTC GAGGAAGGCATTCAGACCCTGATGGGTCGTCTCGAGGATGGCT CTCCGCGTACTGGTCAGATCTTCAAGCAGACTTACTCTAAATTT GATACTAACAGCCACAATGACGATGCGCTTCTAAAAAACTATG GTCTGCTGTATTGTTTTCGTAAAGATATGGACAAAGTTGAAACC TTCCTGCGTATTGTTCAGTGTCGTTCCGTTGAGGGCAGCTGTGG TTTCTAAGGTATGGCTGAACCTGCTGGCTCTCCAACCTCCACTG AGGAAGGTACCCCGGGTAGCGGTACTGCTTCTTCCTCTCCAGGT AGCTCTACCCCTTCTGGTGCAACCGGCTCTCCAGGTGCTTCTCC GGGCACCAGCTCTACCGGTTCTCCAGGTAGCCCGGCTGGCTCTC CTACCTCTACTGAGGAAGGTACTTCTGAAAGCGCTACTCCTGAG TCTGGTCCAGGTACCTCTACTGAACCGTCCGAAGGTAGCGCTCC AGGTAGCCCAGCAGGCTCTCCGACTTCCACTGAGGAAGGTACT TCTACTGAACCTTCCGAAGGCAGCGCACCAGGTACCTCTACTGA ACCTTCTGAGGGCAGCGCTCCAGGTACTTCTGAAAGCGCTACCC CGGAATCTGGCCCAGGTAGCGAACCGGCTACTTCTGGTTCTGA AACCCCAGGTAGCGAACCGGCTACCTCCGGTTCTGAAACTCCA GGTAGCCCGGCAGGCTCTCCGACCTCTACTGAGGAAGGTACTT CTGAAAGCGCAACCCCGGAGTCCGGCCCAGGTACCTCTACCGA ACCGTCTGAGGGCAGCGCACCAGGTACTTCTACCGAACCGTCC GAGGGTAGCGCACCAGGTAGCCCAGCAGGTTCTCCTACCTCCA CCGAGGAAGGTACTTCTACCGAACCGTCCGAGGGTAGCGCACC AGGTACCTCTACTGAACCTTCTGAGGGCAGCGCTCCAGGTACTT

	EGSAPGTSESATPES GPGSEPATSGSETPG TSTEPSEGSAPGTSTE PSEGSAPGTSESATP ESGPGTSESATPESG PGSPAGSPTSTEEGT SESATPESGPGSEPA TSGSETPGTSESATPE SGPGTSTEPSEGSAP GTSTEPSEGSAPGTS TEPSEGSAPGTSTEPS EGSAPGTSTEPSEGS APGTSTEPSEGSAPG SPAGSPTSTEEGTSTE PSEGSAPGTSESATP ESGPGSEPATSGSET PGTSESATPESGPGS EPATSGSETPGTSES ATPESGPGTSTEPSE GSAPGTSESATPESG PGSPAGSPTSTEEGSP AGSPTSTEEGSPAGS PTSTEEGTSESATPES GPGTSTEPSEGSAP	CTGAAAGCGCTACCCCGGAGTCCGGTCCAGGTACTTCTACTGA ACCGTCCGAAGGTAGCGCACCAGGTACTTCTGAAAGCGCAACC CCTGAATCCGGTCCAGGTAGCGAACCGGCTACTTCTGGCTCTGA GACTCCAGGTACTTCTACCGAACCGTCCGAAGGTAGCGCACCA GGTACTTCTACTGAACCGTCTGAAGGTAGCGCACCAGGTACTTC TGAAAGCGCAACCCCGGAATCCGGCCCAGGTACCTCTGAAAGC GCAACCCCGGAGTCCGGCCCAGGTAGCCCTGCTGGCTCTCCAA CCTCCACCGAAGAAGGTACCTCTGAAAGCGCAACCCCTGAATC CGGCCCAGGTAGCGAACCGGCAACCTCCGGTTCTGAAACCCCA GGTACCTCTGAAAGCGCTACTCCGGAGTCTGGCCCAGGTACCTC TACTGAACCGTCTGAGGGTAGCGCTCCAGGTACTTCTACTGAAC CGTCCGAAGGTAGCGCACCAGGTACTTCTACCGAACCGTCCGA AGGCAGCGCTCCAGGTACCTCTACTGAACCTTCCGAGGGCAGC GCTCCAGGTACCTCTACCGAACCTTCTGAAGGTAGCGCACCAG GTACTTCTACCGAACCGTCCGAGGGTAGCGCACCAGGTAGCCC AGCAGGTTCTCCTACCTCCACCGAGGAAGGTACTTCTACCGAAC CGTCCGAGGGTAGCGCACCAGGTACCTCTGAAAGCGCAACTCC TGAGTCTGGCCCAGGTAGCGAACCTGCTACCTCCGGCTCTGAG ACTCCAGGTACCTCTGAAAGCGCAACCCCGGAATCTGGTCCAG GTAGCGAACCTGCAACCTCTGGCTCTGAAACCCCAGGTACCTCT GAAAGCGCTACTCCTGAATCTGGCCCAGGTACTTCTACTGAACC GTCCGAGGGCAGCGCACCAGGTACTTCTGAAAGCGCTACTCCT GAGTCCGGCCCAGGTAGCCCGGCTGGCTCTCCGACTTCCACCG AGGAAGGTAGCCCGGCTGGCTCTCCAACTTCTACTGAAGAAGG TAGCCCGGCAGGCTCTCCGACCTCTACTGAGGAAGGTACTTCTG AAAGCGCAACCCCGGAGTCCGGCCCAGGTACCTCTACCGAACC GTCTGAGGGCAGCGCACCA
hGH- AD836	FPTIPLSRLFDNAML RAHRLHQLAFDTYQ EFEEAYIPKEQKYSF LQNPQTSLCFSESIPT PSNREETQQKSNLEL LRISLLLIQSWLEPVQ FLRSVFANSLVYGAS DSNVYDLLKDLEEGI QTLMGRLEDGSPRT GQIFKQTYSKFDTNS HNDDALLKNYGLLY CFRKDMDKVETFLRI VQCRSVEGSCGFGG SSESGSSEGGPGSSES GSSEGGPGESPGGSS GSESGSGGEPSESGS SGESPGGSSGSESGE SPGGSSGSESGSSES GSSEGGPGSSESGSS EGGPGSSESGSSEGG PGESPGGSSGSESGE SPGGSSGSESGESPG GSSGSESGSSESGSSE GGPGSSESGSSEGGP GSSESGSSEGGPGSS ESGSSEGGPGSSESG SSEGGPGSSESGSSE GGPGSGGEPSESGSS GESPGGSSGSESGES PGGSSGSESGSGGEP SESGSSGSEGSSGPG ESSGSSESGSSEGGP	TTTCCGACTATTCCGCTGTCTCGTCTGTTTGATAATGCTATGCTG CGTGCGCACCGTCTGCACCAGCTGGCCTTTGATACTTACCAGGA ATTTGAAGAAGCeTACATTCCTAAAGAGCAGAAGTACTCTTTCC TGCAAAACCCACAGACTTCTCTCTGCTTCAGCGAATCTATTCCG ACGCCTTCCAATCGCGAGGAAACTCAGCAAAAGTCCAATCTGG AACTACTCCGCATTTCTCTGCTTCTGATTCAGAGCTGGCTAGAA CCAGTGCAATTTCTGCGTTCCGTCTTCGCCAATAGCCTAGTTTA TGGCGCATCCGACAGCAACGTATACGATCTCCTGAAAGATCTC GAGGAAGGCATTCAGACCCTGATGGGTCGTCTCGAGGATGGCT CTCCGCGTACTGGTCAGATCTTCAAGCAGACTTACTCTAAATTT GATACTAACAGCCACAATGACGATGCGCTTCTAAAAAACTATG GTCTGCTGTATTGTTTTCGTAAAGATATGGACAAAGTTGAAACC TTCCTGCGTATTGTTCAGTGTCGTTCCGTTGAGGGCAGCTGTGG TTTCTAAGGTGGTTCCTCTGAAAGCGGTTCTTCCGAAGGTGGTC CAGGTTCCTCTGAAAGCGGTTCTTCTGAGGGTGGTCCAGGTGAA TCTCCGGGTGGCTCCAGCGGTTCCGAGTCAGGTTCTGGTGGCGA ACCTTCCGAGTCTGGTAGCTCAGGTGAATCTCCGGGTGGTTCTA GCGGTTCCGAGTCAGGTGAATCTCCGGGTGGTTCCAGCGGTTCT GAGTCAGGTTCCTCCGAAAGCGGTTCTTCTGAGGGCGGTCCAG GTTCCTCCGAAAGCGGTTCTTCCGAGGGCGGTCCAGGTTCTTCT GAAAGCGGTTCTTCCGAGGGCGGTCCAGGTGAATCTCCTGGTG GTTCCAGCGGTTCCGAGTCAGGTGAATCTCCAGGTGGCTCTAGC GGTTCCGAGTCAGGTGAATCTCCTGGTGGTTCTAGCGGTTCTGA ATCAGGTTCCTCCGAAAGCGGTTCTTCTGAGGGCGGTCCAGGTT CCTCCGAAAGCGGTTCTTCCGAGGGCGGTCCAGGTTCTTCTGAA AGCGGTTCTTCCGAGGGCGGTCCAGGTTCCTCTGAAAGCGGTTC TTCTGAGGGCGGTCCAGGTTCTTCCGAAAGCGGTTCTTCCGAGG GCGGTCCAGGTTCTTCCGAAAGCGGTTCTTCTGAAGGCGGTCCA GGTTCTGGTGGCGAACCGTCCGAGTCTGGTAGCTCAGGTGAAT CTCCGGGTGGCTCTAGCGGTTCCGAGTCAGGTGAATCTCCTGGT GGTTCCAGCGGTTCCGAGTCAGGTTCCGGTGGCGAACCGTCCG AATCTGGTAGCTCAGGTAGCGAAGGTTCTTCTGGTCCAGGCGA

	GSGGEPSESGSSGSE GSSGPGESSGSSESG SSEGGPGSGGEPSES GSSGESPGGSSGSES GSGGEPSESGSSGSG GEPSESGSSGSSESGS SEGGPGSGGEPSESG SSGSGGEPSESGSSG SEGSSGPGESSGESP GGSSGSESGSEGSSG PGESSGSEGSSGPGE SSGSGGEPSESGSSG SSESGSSEGGPGSSES GSSEGGPGESPGGSS GSESGSGGEPSESGS SGSEGSSGPGESSGE SPGGSSGSESGSEGS SGPGSSESGSSEGGP GSGGEPSESGSSGSE GSSGPGESSGSEGSS GPGESSGSEGSSGPG ESSGSGGEPSESGSS GSGGEPSESGSSGES PGGSSGSESGESPGG SSGSESGSGGEPSES GSSGSEGSSGPGESS GESPGGSSGSESGSS ESGSSEGGPGSSESG SSEGGPGSSESGSSE GGPGSGGEPSESGSS GSSESGSSEGGPGES PGGSSGSESGSGGEP SESGSSGSSESGSSEG GPGESPGGSSGSESG SGGEPSESGSSGESP GGSSGSESGSGGEPS ESGSS	ATCTTCAGGTTCCTCTGAAAGCGGTTCTTCTGAGGGCGGTCCAG GTTCCGGTGGCGAACCGTCCGAATCTGGTAGCTCAGGTAGCGA AGGTTCTTCTGGTCCAGGCGAATCTTCAGGTTCCTCTGAAAGCG GTTCTTCTGAGGGCGGTCCAGGTTCCGGTGGCGAACCTTCCGAA TCTGGTAGCTCAGGTGAATCTCCGGGTGGTTCTAGCGGTTCTGA GTCAGGTTCTGGTGGTGAACCTTCCGAGTCTGGTAGCTCAGGTT CTGGTGGCGAACCATCCGAGTCTGGTAGCTCAGGTTCTTCCGAA AGCGGTTCTTCCGAAGGCGGTCCAGGTTCTGGTGGTGAACCGTC CGAATCTGGTAGCTCAGGTTCTGGTGGCGAACCATCCGAATCTG GTAGCTCAGGTAGCGAAGGTTCTTCTGGTCCTGGCGAATCTTCA GGTGAATCTCCAGGTGGCTCTAGCGGTTCCGAATCAGGTAGCG AAGGTTCTTCCGGTCCAGGTGAATCTTCAGGTAGCGAAGGTTCT TCTGGTCCTGGTGAATCCTCAGGTTCCGGTGGCGAACCATCTGA ATCTGGTAGCTCAGGTTCCTCTGAAAGCGGTTCTTCCGAAGGTG GTCCAGGTTCCTCTGAAAGCGGTTCTTCTGAGGGTGGTCCAGGT GAATCTCCGGGTGGCTCCAGCGGTTCCGAGTCAGGTTCTGGTGG CGAACCATCCGAATCTGGTAGCTCAGGTAGCGAAGGTTCTTCTG GTCCTGGCGAATCTTCAGGTGAATCTCCAGGTGGCTCTAGCGGT TCCGAATCAGGTAGCGAAGGTTCTTCCGGTCCaGGTTCCTCTGA AAGCGGTTCTTCTGAGGGCGGTCCAGGTTCTGGTGGCGAACCA TCTGAATCTGGTAGCTCAGGTAGCGAAGGTTCTTCCGGTCCGGG TGAATCTTCAGGTAGCGAAGGTTCTTCCGGTCCAGGTGAATCTT CAGGTAGCGAAGGTTCTTCTGGTCCTGGTGAATCCTCAGGTTCC GGTGGCGAACCATCTGAATCTGGTAGCTCAGGTTCTGGTGGCG AACCATCCGAATCTGGTAGCTCAGGTGAATCTCCGGGTGGCTCC AGCGGTTCTGAATCAGGTGAATCTCCTGGTGGCTCCAGCGGTTC TGAGTCAGGTTCTGGTGGCGAACCATCCGAATCTGGTAGCTCA GGTAGCGAAGGTTCTTCTGGTCCTGGCGAATCTTCAGGTGAATC TCCAGGTGGCTCTAGCGGTTCCGAATCAGGTTCCTCTGAAAGCG GTTCTTCTGAGGGCGGTCCAGGTTCTTCCGAAAGCGGTTCTTCC GAGGGCGGTCCAGGTTCTTCCGAAAGCGGTTCTTCTGAAGGCG GTCCAGGTTCTGGTGGCGAACCGTCCGAATCTGGTAGCTCAGGT TCCTCCGAAAGCGGTTCTTCTGAAGGTGGTCCAGGTGAATCTCC AGGTGGTTCTAGCGGTTCTGAATCAGGTTCTGGTGGCGAACCGT CCGAATCTGGTAGCTCAGGTTCCTCCGAAAGCGGTTCTTCTGAA GGTGGTCCAGGTGAATCTCCAGGTGGTTCTAGCGGTTCTGAATC AGGTTCTGGTGGCGAACCGTCCGAATCTGGTAGCTCAGGTGAA TCTCCTGGTGGTTCCAGCGGTTCCGAGTCAGGTTCTGGTGGCGA ACCTTCCGAATCTGGTAGCTCA
hGH- AE864	FPTIPLSRLFDNAML RAHRLHQLAFDTYQ EFEEAYIPKEQKYSF LQNPQTSLCFSESIPT PSNREETQQKSNLEL LRISLLLIQSWLEPVQ FLRSVFANSLVYGAS DSNVYDLLKDLEEGI QTLMGRLEDGSPRT GQIFKQTYSKFDTNS HNDDALLKNYGLLY CFRKDMDKVETFLRI VQCRSVEGSCGFGG SPAGSPTSTEEGTSES ATPESGPGTSTEPSE GSAPGSPAGSPTSTE EGTSTEPSEGSAPGT STEPSEGSAPGTSES ATPESGPGSEPATSG SETPGSEPATSGSETP	TTTCCGACTATTCCGCTGTCTCGTCTGTTTGATAATGCTATGCTG CGTGCGCACCGTCTGCACCAGCTGGCCTTTGATACTTACCAGGA ATTTGAAGAAGCcTACATTCCTAAAGAGCAGAAGTACTCTTTCC TGCAAAACCCACAGACTTCTCTCTGCTTCAGCGAATCTATTCCG ACGCCTTCCAATCGCGAGGAAACTCAGCAAAAGTCCAATCTGG AACTACTCCGCATTTCTCTGCTTCTGATTCAGAGCTGGCTAGAA CCAGTGCAATTTCTGCGTTCCGTCTTCGCCAATAGCCTAGTTTA TGGCGCATCCGACAGCAACGTATACGATCTCCTGAAAGATCTC GAGGAAGGCATTCAGACCCTGATGGGTCGTCTCGAGGATGGCT CTCCGCGTACTGGTCAGATCTTCAAGCAGACTTACTCTAAATTT GATACTAACAGCCACAATGACGATGCGCTTCTAAAAAACTATG GTCTGCTGTATTGTTTTCGTAAAGATATGGACAAAGTTGAAACC TTCCTGCGTATTGTTCAGTGTCGTTCCGTTGAGGGCAGCTGTGG TTTCTAAGGTGGTAGCCCGGCTGGCTCTCCTACCTCTACTGAGG AAGGTACTTCTGAAAGCGCTACTCCTGAGTCTGGTCCAGGTACC TCTACTGAACCGTCCGAAGGTAGCGCTCCAGGTAGCCCAGCAG GCTCTCCGACTTCCACTGAGGAAGGTACTTCTACTGAACCTTCC GAAGGCAGCGCACCAGGTACCTCTACTGAACCTTCTGAGGGCA GCGCTCCAGGTACTTCTGAAAGCGCTACCCCCGGAATCTGGCCC AGGTAGCGAACCGGCTACTTCTGGTTCTGAAACCCCAGGTAGC

	GSPAGSPTSTEEGTS ESATPESGPGTSTEPS EGSAPGTSTEPSEGS APGSPAGSPTSTEEG TSTEPSEGSAPGTSTE PSEGSAPGTSESATP ESGPGTSTEPSEGSA PGTSESATPESGPGS EPATSGSETPGTSTEP SEGSAPGTSTEPSEG SAPGTSESATPESGP GTSESATPESGPGSP AGSPTSTEEGTSESA TPESGPGSEPATSGS ETPGTSESATPESGP GTSTEPSEGSAPGTS TEPSEGSAPGTSTEPS EGSAPGTSTEPSEGS APGTSTEPSEGSAPG TSTEPSEGSAPGSPA GSPTSTEEGTSTEPSE GSAPGTSESATPESG PGSEPATSGSETPGT SESATPESGPGSEPA TSGSETPGTSESATPE SGPGTSTEPSEGSAP GTSESATPESGPGSP AGSPTSTEEGSPAGS PTSTEEGSPAGSPTST EEGTSESATPESGPG TSTEPSEGSAPGTSES ATPESGPGSEPATSG SETPGTSESATPESGP GSEPATSGSETPGTS ESATPESGPGTSTEPS EGSAPGSPAGSPTST EEGTSESATPESGPG SEPATSGSETPGTSES ATPESGPGSPAGSPT STEEGSPAGSPTSTEE GTSTEPSEGSAPGTS ESATPESGPGTSESA TPESGPGTSESATPES GPGSEPATSGSETPG SEPATSGSETPGSPA GSPTSTEEGTSTEPSE GSAPGTSTEPSEGSA PGSEPATSGSETPGT SESATPESGPGTSTEP SEGSAP	GAACCGGCTACCTCCGGTTCTGAAACTCCAGGTAGCCCGGCAG GCTCTCCGACCTCTACTGAGGAAGGTACTTCTGAAAGCGCAAC CCCGGAGTCCGGCCCAGGTACCTCTACCGAACCGTCTGAGGGC AGCGCACCAGGTACTTCTACCGAACCGTCCGAGGGTAGCGCAC CAGGTAGCCCAGCAGGTTCTCCTACCTCCACCGAGGAAGGTAC TTCTACCGAACCGTCCGAGGGTAGCGCACCAGGTACCTCTACTG AACCTTCTGAGGGCAGCGCTCCAGGTACTTCTGAAAGCGCTAC CCCGGAGTCCGGTCCAGGTACTTCTACTGAACCGTCCGAAGGT AGCGCACCAGGTACTTCTGAAAGCGCAACCCCTGAATCCGGTC CAGGTAGCGAACCGGCTACTTCTGGCTCTGAGACTCCAGGTACT TCTACCGAACCGTCCGAAGGTAGCGCACCAGGTACTTCTACTG AACCGTCTGAAGGTAGCGCACCAGGTACTTCTGAAAGCGCAAC CCCGGAATCCGGCCCAGGTACCTCTGAAAGCGCAACCCCGGAG TCCGGCCCAGGTAGCCCTGCTGGCTCTCCAACCTCCACCGAAGA AGGTACCTCTGAAAGCGCAACCCCTGAATCCGGCCCAGGTAGC GAACCGGCAACCTCCGGTTCTGAAACCCCAGGTACCTCTGAAA GCGCTACTCCGGAGTCTGGCCCAGGTACCTCTACTGAACCGTCT GAGGGTAGCGCTCCAGGTACTTCTACTGAACCGTCCGAAGGTA GCGCACCAGGTACTTCTACCGAACCGTCCGAAGGCAGCGCTCC AGGTACCTCTACTGAACCTTCCGAGGGCAGCGCTCCAGGTACCT CTACCGAACCTTCTGAAGGTAGCGCACCAGGTACTTCTACCGA ACCGTCCGAGGGTAGCGCACCAGGTAGCCCAGCAGGTTCTCCT ACCTCCACCGAGGAAGGTACTTCTACCGAACCGTCCGAGGGTA GCGCACCAGGTACCTCTGAAAGCGCAACTCCTGAGTCTGGCCC AGGTAGCGAACCTGCTACCTCCGGCTCTGAGACTCCAGGTACCT CTGAAAGCGCAACCCCGGAATCTGGTCCAGGTAGCGAACCTGC AACCTCTGGCTCTGAAACCCCAGGTACCTCTGAAAGCGCTACTC CTGAATCTGGCCCAGGTACTTCTACTGAACCGTCCGAGGGCAG CGCACCAGGTACTTCTGAAAGCGCTACTCCTGAGTCCGGCCCA GGTAGCCCGGCTGGCTCTCCGACTTCCACCGAGGAAGGTAGCC CGGCTGGCTCTCCAACTTCTACTGAAGAAGGTAGCCCGGCAGG CTCTCCGACCTCTACTGAGGAAGGTACTTCTGAAAGCGCAACCC CGGAGTCCGGCCCAGGTACCTCTACCGAACCGTCTGAGGGCAG CGCACCAGGTACCTCTGAAAGCGCAACTCCTGAGTCTGGCCCA GGTAGCGAACCTGCTACCTCCGGCTCTGAGACTCCAGGTACCTC TGAAAGCGCAACCCCGGAATCTGGTCCAGGTAGCGAACCTGCA ACCTCTGGCTCTGAAACCCCAGGTACCTCTGAAAGCGCTACTCC TGAATCTGGCCCAGGTACTTCTACTGAACCGTCCGAGGGCAGC GCACCAGGTAGCCCTGCTGGCTCTCCAACCTCCACCGAAGAAG GTACCTCTGAAAGCGCAACCCCTGAATCCGGCCCAGGTAGCGA ACCGGCAACCTCCGGTTCTGAAACCCCAGGTACTTCTGAAAGC GCTACTCCTGAGTCCGGCCCAGGTAGCCCGGCTGGCTCTCCGAC TTCCACCGAGGAAGGTAGCCCGGCTGGCTCTCCAACTTCTACTG AAGAAGGTACTTCTACCGAACCTTCCGAGGGCAGCGCACCAGG TACTTCTGAAAGCGCTACCCCTGAGTCCGGCCCAGGTACTTCTG AAAGCGCTACTCCTGAATCCGGTCCAGGTACTTCTGAAAGCGCT ACCCCGGAATCTGGCCCAGGTAGCGAACCGGCTACTTCTGGTTC TGAAACCCCAGGTAGCGAACCGGCTACCTCCGGTTCTGAAACT CCAGGTAGCCCAGCAGGCTCTCCGACTTCCACTGAGGAAGGTA CTTCTACTGAACCTTCCGAAGGCAGCGCACCAGGTACCTCTACT GAACCTTCTGAGGGCAGCGCTCCAGGTAGCGAACCTGCAACCT CTGGCTCTGAAACCCCAGGTACCTCTGAAAGCGCTACTCCTGAA TCTGGCCCAGGTACTTCTACTGAACCGTCCGAGGGCAGCGCAC CA
hGH- AF864	FPTIPLSRLFDNAML RAHRLHQLAFDTYQ EFEEAYIPKEQKYSF LQNPQTSLCFSESIPT PSNREETQQKSNLEL	TTTCCGACTATTCCGCTGTCTCGTCTGTTTGATAATGCTATGCTG CGTGCGCACCGTCTGCACCAGCTGGCCTTTGATACTTACCAGGA ATTTGAAGAAGCCTACATTCCTAAAGAGCAGAAGTACTCTTTCC TGCAAAACCCACAGACTTCTCTCTGCTTCAGCGAATCTATTCCG ACGCCTTCCAATCGCGAGGAAACTCAGCAAAAGTCCAATCTGG

	LRISLLLIQSWLEPVQ FLRSVFANSLVYGAS DSNVYDLLKDLEEGI QTLMGRLEDGSPRT GQIFKQTYSKFDTNS HNDDALLKNYGLLY CFRKDMDKVETFLRI VQCRSVEGSCGFGG STSESPSGTAPGTSPS GESSTAPGSTSESPSG TAPGSTSESPSGTAP GTSTPESGSASPGTS TPESGSASPGSTSESP SGTAPGSTSESPSGT APGTSPSGESSTAPG STSESPSGTAPGTSPS GESSTAPGTSPSGESS TAPGSTSSTAESPGP GTSPSGESSTAPGTSP SGESSTAPGSTSSTA ESPGPGTSTPESGSAS PGTSTPESGSASPGST SESPSGTAPGSTSESP SGTAPGTSTPESGSA SPGSTSSTAESPGPGT STPESGSASPGSTSES PSGTAPGTSPSGESST APGSTSSTAESPGPG TSPSGESSTAPGTSTP ESGSASPGSTSSTAES PGPGSTSSTAESPGP GSTSSTAESPGPGSTS STAESPGPGTSPSGES STAPGSTSESPSGTAP GSTSESPSGTAPGTS TPESGPXXXGASASG APSTXXXXSESPSGT APGSTSESPSGTAPG STSESPSGTAPGSTSE SPSGTAPGSTSESPSG TAPGSTSESPSGTAP GTSTPESGSASPGTSP SGESSTAPGTSPSGES STAPGSTSSTAESPGP GTSPSGESSTAPGTS TPESGSASPGSTSESP SGTAPGSTSESPSGT APGTSPSGESSTAPG STSESPSGTAPGTSTP ESGSASPGTSTPESGS ASPGSTSESPSGTAP GTSTPESGSASPGSTS STAESPGPGSTSESPS GTAPGSTSESPSGTA PGTSPSGESSTAPGST SSTAESPGPGTSPSGE SSTAPGTSTPESGSAS PGTSPSGESSTAPGTS PSGESSTAPGTSPSGE	AACTACTCCGCATTTCTCTGCTTCTGATTCAGAGCTGGCTAGAA CCAGTGCAATTTCTGCGTTCCGTCTTCGCCAATAGCCTAGTTTA TGGCGCATCCGACAGCAACGTATACGATCTCCTGAAAGATCTC GAGGAAGGCATTCAGACCCTGATGGGTCGTCTCGAGGATGGCT CTCCGCGTACTGGTCAGATCTTCAAGCAGACTTACTCTAAATTT GATACTAACAGCCACAATGACGATGCGCTTCTAAAAAACTATG GTCTGCTGTATTGTTTTCGTAAAGATATGGACAAAGTTGAAACC TTCCTGCGTATTGTTCAGTGTCGTTCCGTTGAGGGCAGCTGTGG TTTCTAAGGTGGTTCTACCAGCGAATCTCCTTCTGGCACCGCTC CAGGTACCTCTCCTAGCGGCGAATCTTCTACCGCTCCAGGTTCT ACTAGCGAATCTCCTTCTGGCACTGCACCAGGTTCTACTAGCGA ATCCCCGTCTGGTACTGCTCCAGGTACTTCTACTCCTGAAAGCG GTTCCGCTTCTCCAGGTACCTCTACTCCGGAAAGCGGTTCTGCA TCTCCAGGTTCTACCAGCGAATCTCCTTCTGGCACCGCTCCAGG TTCTACTAGCGAATCCCCGTCTGGTACCGCACCAGGTACTTCTC CTAGCGGCGAATCTTCTACCGCACCAGGTTCTACTAGCGAATCT CCGTCTGGCACTGCTCCAGGTACTTCTCCTAGCGGTGAATCTTC TACCGCTCCAGGTACTTCCCCTAGCGGCGAATCTTCTACCGCTC CAGGTTCTACTAGCTCTACTGCAGAATCTCCGGGCCCAGGTACC TCTCCTAGCGGTGAATCTTCTACCGCTCCAGGTACTTCTCCGAG CGGTGAATCTTCTACCGCTCCAGGTTCTACTAGCTCTACTGCAG AATCTCCTGGCCCAGGTACCTCTACTCCGGAAAGCGGCTCTGCA TCTCCAGGTACTTCTACCCCTGAAAGCGGTTCTGCATCTCCAGG TTCTACTAGCGAATCTCCTTCTGGCACTGCACCAGGTTCTACCA GCGAATCTCCGTCTGGCACTGCACCAGGTACCTCTACCCCTGAA AGCGGTTCCGCTTCTCCAGGTTCTACCAGCTCTACCGCAGAATC TCCTGGTCCAGGTACCTCTACTCCGGAAAGCGGCTCTGCATCTC CAGGTTCTACTAGCGAATCTCCTTCTGGCACTGCACCAGGTACT TCTCCGAGCGGTGAATCTTCTACCGCACCAGGTTCTACTAGCTC TACCGCTGAATCTCCGGGCCCAGGTACTTCTCCGAGCGGTGAAT CTTCTACTGCTCCAGGTACCTCTACTCCTGAAAGCGGTTCTGCA TCTCCAGGTTCCACTAGCTCTACCGCAGAATCTCCGGGCCCAGG TTCTACTAGCTCTACTGCTGAATCTCCTGGCCCAGGTTCTACTA GCTCTACTGCTGAATCTCCGGGTCCAGGTTCTACCAGCTCTACT GCTGAATCTCCTGGTCCAGGTACCTCCCCGAGCGGTGAATCTTC TACTGCACCAGGTTCTACTAGCGAATCTCCTTCTGGCACTGCAC CAGGTTCTACCAGCGAATCTCCGTCTGGCACTGCACCAGGTACC TCTACCCCTGAAAGCGGTCCXXXXXXXXXXXXXTGCAAGCGCAA GCGGCGCGCCAAGCACGGGAXXXXXXXXTAGCGAATCTCCTTC TGGTACCGCTCCAGGTTCTACCAGCGAATCCCCGTCTGGTACTG CTCCAGGTTCTACCAGCGAATCTCCTTCTGGTACTGCACCAGGT TCTACTAGCGAATCTCCTTCTGGTACCGCTCCAGGTTCTACCAG CGAATCCCCGTCTGGTACTGCTCCAGGTTCTACCAGCGAATCTC CTTCTGGTACTGCACCAGGTACTTCTACTCCGGAAAGCGGTTCC GCATCTCCAGGTACTTCTCCTAGCGGTGAATCTTCTACTGCTCC AGGTACCTCTCCTAGCGGCGAATCTTCTACTGCTCCAGGTTCTA CCAGCTCTACTGCTGAATCTCCGGGTCCAGGTACTTCCCCGAGC GGTGAATCTTCTACTGCACCAGGTACTTCTACTCCGGAAAGCGG TTCCGCTTCTCCAGGTTCTACCAGCGAATCTCCTTCTGGCACCG CTCCAGGTTCTACTAGCGAATCCCCGTCTGGTACCGCACCAGGT ACTTCTCCTAGCGGCGAATCTTCTACCGCACCAGGTTCTACTAG CGAATCCCCGTCTGGTACCGCACCAGGTACTTCTACCCCGGAAA GCGGCTCTGCTTCTCCAGGTACTTCTACCCCGGAAAGCGGCTCC GCATCTCCAGGTTCTACTAGCGAATCTCCTTCTGGTACCGCTCC AGGTACTTCTACCCCTGAAAGCGGCTCCGCTTCTCCAGGTTCCA CTAGCTCTACCGCTGAATCTCCGGGTCCAGGTTCTACCAGCGAA TCTCCTTCTGGCACCGCTCCAGGTTCTACTAGCGAATCCCCGTC TGGTACCGCACCAGGTACTTCTCCTAGCGGCGAATCTTCTACCG CACCAGGTTCTACCAGCTCTACTGCTGAATCTCCGGGTCCAGGT
	SSTAPGSTSSTAESPG PGSTSSTAESPGPGTS PSGESSTAPGSSPSAS TGTGPGSSTPSGATG SPGSSTPSGATGSP	ACTTCCCCGAGCGGTGAATCTTCTACTGCACCAGGTACTTCTAC TCCGGAAAGCGGTTCCGCTTCTCCAGGTACCTCCCCTAGCGGCG AATCTTCTACTGCTCCAGGTACCTCTCCTAGCGGCGAATCTTCT ACCGCTCCAGGTACCTCCCCTAGCGGTGAATCTTCTACCGCACC AGGTTCTACTAGCTCTACTGCTGAATCTCCGGGTCCAGGTTCTA CCAGCTCTACTGCTGAATCTCCTGGTCCAGGTACCTCCCCGAGC GGTGAATCTTCTACTGCACCAGGTTCTAGCCCTTCTGCTTCCAC CGGTACCGGCCCAGGTAGCTCTACTCCGTCTGGTGCAACTGGCT CTCCAGGTAGCTCTACTCCGTCTGGTGCAACCGGCTCCCCA

hGH- AG864	FPTIPLSRLFDNAML RAHRLHQLAFDTYQ EFEEAYIPKEQKYSF LQNPQTSLCFSESIPT PSNREETQQKSNLEL LRISLLLIQSWLEPVQ FLRSVFANSLVYGAS DSNVYDLLKDLEEGI QTLMGRLEDGSPRT GQIFKQTYSKFDTNS HNDDALLKNYGLLY CFRKDMDKVETFLRI VQCRSVEGSCGFGG ASPGTSSTGSPGSSPS ASTGTGPGSSPSAST GTGPGTPGSGTASSS PGSSTPSGATGSPGS NPSASTGTGPGASPG TSSTGSPGTPGSGTA SSSPGSSTPSGATGSP GTPGSGTASSSPGAS PGTSSTGSPGASPGT SSTGSPGTPGSGTAS SSPGSSTPSGATGSP GASPGTSSTGSPGTP GSGTASSSPGSSTPS GATGSPGSNPSASTG TGPGSSPSASTGTGP GSSTPSGATGSPGSS TPSGATGSPGASPGT SSTGSPGASPGTSST GSPGASPGTSSTGSP GTPGSGTASSSPGAS PGTSSTGSPGASPGT SSTGSPGASPGTSST GSPGSSPSASTGTGP GTPGSGTASSSPGAS PGTSSTGSPGASPGT SSTGSPGASPGTSST GSPGSSTPSGATGSP GSSTPSGATGSPGAS PGTSSTGSPGTPGSG TASSSPGSSTPSGAT GSPGSSTPSGATGSP GSSTPSGATGSPGSS PSASTGTGPGASPGT SSTGSPGASPGTSST GSPGTPGSGTASSSP GASPGTSSTGSPGAS PGTSSTGSPGASPGT	TTTCCGACTATTCCGCTGTCTCGTCTGTTTGATAATGCTATGCTG CGTGCGCACCGTCTGCACCAGCTGGCCTTTGATACTTACCAGGA ATTTGAAGAAGCCTACATTCCTAAAGAGCAGAAGTACTCTTTCC TGCAAAACCCACAGACTTCTCTCTGCTTCAGCGAATCTATTCCG ACGCCTTCCAATCGCGAGGAAACTCAGCAAAAGTCCAATCTGG AACTACTCCGCATTTCTCTGCTTCTGATTCAGAGGCTGGCTAGAA CCAGTGCAATTTCTGCGTTCCGTCTTCGCCAATAGCCTAGTTTA TGGCGCATCCGACAGCAACGTATACGATCTCCTGAAAGATCTC GAGGAAGGCATTCAGACCCTGATGGGTCGTCTCGAGGATGGCT CTCCGCGTACTGGTCAGATCTTCAAGCAGACTTACTCTAAATTT GATACTAACAGCCACAATGACGATGCGCTTCTAAAAAACTATG GTCTGCTGTATTGTTTTCGTAAAGATATGGACAAAGTTGAAACC TTCCTGCGTATTGTTCAGTGTCGTTCCGTTGAGGGCAGCTGTGG TTTCTAAGGTGGTGCTTCCCCGGGCACCAGCTCTACTGGTTCTC CAGGTTCTAGCCCGTCTGCTTCTACTGGTACTGGTCCAGGTTCT AGCCCTTCTGCTTCCACTGGTACTGGTCCAGGTACCCCGGGTAG CGGTACCGCTTCTTCTTCTCCAGGTAGCTCTACTCCGTCTGGTGC TACCGGCTCTCCAGGTTCTAACCCTTCTGCATCCACCGGTACCG GCCCAGGTGCTTCTCCGGGCACCAGCTCTACTGGTTCTCCAGGT ACCCCGGGCAGCGGTACCGCATCTTCTTCTCCAGGTAGCTCTAC TCCTTCTGGTGCAACTGGTTCTCCAGGTACTCCTGGCAGCGGTA CCGCTTCTTCTTCTCCAGGTGCTTCTCCTGGTACTAGCTCTACTG GTTCTCCAGGTGCTTCTCCGGGCACTAGCTCTACTGGTTCTCCA GGTACCCCGGGTAGCGGTACTGCTTCTTCCTCTCCAGGTAGCTC TACCCCTTCTGGTGCAACCGGCTCTCCAGGTGCTTCTCCGGGCA CCAGCTCTACCGGTTCTCCAGGTACCCCGGGTAGCGGTACCGCT TCTTCTTCTCCAGGTAGCTCTACTCCGTCTGGTGCTACCGGCTCT CCAGGTTCTAACCCTTCTGCATCCACCGGTACCGGCCCAGGTTC TAGCCCTTCTGCTTCCACCGGTACTGGCCCAGGTAGCTCTACCC CTTCTGGTGCTACCGGCTCCCCAGGTAGCTCTACTCCTTCTGGT GCAACTGGCTCTCCAGGTGCATCTCCGGGCACTAGCTCTACTGG TTCTCCAGGTGCATCCCCTGGCACTAGCTCTACTGGTTCTCCAG GTGCTTCTCCTGGTACCAGCTCTACTGGTTCTCCAGGTACTCCT GGCAGCGGTACCGCTTCTTCTTCTCCAGGTGCTTCTCCTGGTAC TAGCTCTACTGGTTCTCCAGGTGCTTCTCCGGGCACTAGCTCTA CTGGTTCTCCAGGTGCTTCCCCGGGCACTAGCTCTACCGGTTCT CCAGGTTCTAGCCCTTCTGCATCTACTGGTACTGGCCCAGGTAC TCCGGGCAGCGGTACTGCTTCTTCCTCTCCAGGTGCATCTCCGG GCACTAGCTCTACTGGTTCTCCAGGTGCATCCCCTGGCACTAGC TCTACTGGTTCTCCAGGTGCTTCTCCTGGTACCAGCTCTACTGGT TCTCCAGGTAGCTCTACTCCGTCTGGTGCAACCGGTTCCCCAGG TAGCTCTACTCCTTCTGGTGCTACTGGCTCCCCAGGTGCATCCC CTGGCACCAGCTCTACCGGTTCTCCAGGTACCCCGGGCAGCGGT ACCGCATCTTCCTCTCCAGGTAGCTCTACCCCGTCTGGTGCTAC CGGTTCCCCAGGTAGCTCTACCCCGTCTGGTGCAACCGGCTCCC CAGGTAGCTCTACTCCGTCTGGTGCAACCGGCTCCCCAGGTTCT AGCCCGTCTGCTTCCACTGGTACTGGCCCAGGTGCTTCCCCGGG CACCAGCTCTACTGGTTCTCCAGGTGCATCCCCGGGTACCAGCT CTACCGGTTCTCCAGGTACTCCTGGCAGCGGTACTGCATCTTCC TCTCCAGGTGCTTCTCCGGGCACCAGCTCTACTGGTTCTCCAGG

	SSTGSPGASPGTSST GSPGTPGSGTASSSP GSSTPSGATGSPGTP GSGTASSSPGSSTPS GATGSPGTPGSGTAS SSPGSSTPSGATGSP GSSTPSGATGSPGSS PSASTGTGPGSSPSA STGTGPGASPGTSST GSPGTPGSGTASSSP GSSTPSGATGSPGSS PSASTGTGPGSSPSA STGTGPGASPGTSST GSPGASPGTSSTGSP GSSTPSGATGSPGSS PSASTGTGPGASPGT SSTGSPGSSPSASTGT GPGTPGSGTASSSPG SSTPSGATGSPGSSTP SGATGSPGASPGTSS TGSP	TGCATCTCCGGGCACTAGCTCTACTGGTTCTCCAGGTGCATCCC CTGGCACTAGCTCTACTGGTTCTCCAGGTGCTTCTCCTGGTACC AGCTCTACTGGTTCTCCAGGTACCCCTGGTAGCGGTACTGCTTC TTCCTCTCCAGGTAGCTCTACTCCGTCTGGTGCTACCGGTTCTCC AGGTACCCCGGGTAGCGGTACCGCATCTTCTTCTCCAGGTAGCT CTACCCCGTCTGGTGCTACTGGTTCTCCAGGTACTCCGGGCAGC GGTACTGCTTCTTCCTCTCCAGGTAGCTCTACCCCTTCTGGTGCT ACTGGCTCTCCAGGTAGCTCTACCCCGTCTGGTGCTACTGGCTC CCCAGGTTCTAGCCCTTCTGCATCCACCGGTACCGGTCCAGGTT CTAGCCCGTCTGCATCTACTGGTACTGGTCCAGGTGCATCCCCG GGCACTAGCTCTACCGGTTCTCCAGGTACTCCTGGTAGCGGTAC TGCTTCTTCTTCTCCAGGTAGCTCTACTCCTTCTGGTGCTACTGG TTCTCCAGGTTCTAGCCCTTCTGCATCCACCGGTACCGGCCCAG GTTCTAGCCCGTCTGCTTCTACCGGTACTGGTCCAGGTGCTTCT CCGGGTACTAGCTCTACTGGTTCTCCAGGTGCATCTCCTGGTAC TAGCTCTACTGGTTCTCCAGGTAGCTCTACTCCGTCTGGTGCAA CCGGCTCTCCAGGTTCTAGCCCTTCTGCATCTACCGGTACTGGT CCAGGTGCATCCCCTGGTACCAGCTCTACCGGTTCTCCAGGTTC TAGCCCTTCTGCTTCTACCGGTACCGGTCCAGGTACCCCTGGCA GCGGTACCGCATCTTCCTCTCCAGGTAGCTCTACTCCGTCTGGT GCAACCGGTTCCCCAGGTAGCTCTACTCCTTCTGGTGCTACTGG CTCCCCAGGTGCATCCCCTGGCACCAGCTCTACCGGTTCTCCA
hGH- AM875	FPTIPLSRLFDNAML RAHRLHQLAFDTYQ EFEEAYIPKEQKYSF LQNPQTSLCFSESIPT PSNREETQQKSNLEL LRISLLLIQSWLEPVQ FLRSVFANSLVYGAS DSNVYDLLKDLEEGI QTLMGRLEDGSPRT GQIFKQTYSKFDTNS HNDDALLKNYGLLY CFRKDMDKVETFLRI VQCRSVEGSCGFGG TSTEPSEGSAPGSEP ATSGSETPGSPAGSP TSTEEGSTSSTAESPG PGTSTPESGSASPGST SESPSGTAPGSTSESP SGTAPGTSTPESGSA SPGTSTPESGSASPGS EPATSGSETPGTSES ATPESGPGSPAGSPT STEEGTSTEPSEGSAP GTSESATPESGPGTS TEPSEGSAPGTSTEPS EGSAPGSPAGSPTST EEGTSTEPSEGSAPG TSTEPSEGSAPGTSES ATPESGPGTSESATP ESGPGTSTEPSEGSA PGTSTEPSEGSAPGT SESATPESGPGTSTEP SEGSAPGSEPATSGS ETPGSPAGSPTSTEE GSSTPSGATGSPGTP GSGTASSSPGSSTPS GATGSPGTSTEPSEG	TTTCCGACTATTCCGCTGTCTCGTCTGTTTGATAATGCTATGCTG CGTGCGCACCGTCTGCACCAGCTGGCCTTTGATACTTACCAGGA ATTTGAAGAAGCcTACATTCCTAAAGAGCAGAAGTACTCTTTCC TGCAAAACCCACAGACTTCTCTCTGCTTCAGCGAATCTATTCCG ACGCCTTCCAATCGCGAGGAAACTCAGCAAAAGTCCAATCTGG AACTACTCCGCATTTCTCTGCTTCTGATTCAGAGCTGGCTAGAA CCAGTGCAATTTCTGCGTTCCGTCTTCGCCAATAGCCTAGTTTA TGGCGCATCCGACAGCAACGTATACGATCTCCTGAAAGATCTC GAGGAAGGCATTCAGACCCTGATGGGTCGTCTCGAGGATGGCT CTCCGCGTACTGGTCAGATCTTCAAGCAGACTTACTCTAAATTT GATACTAACAGCCACAATGACGATGCGCTTCTAAAAAACTATG GTCTGCTGTATTGTTTTCGTAAAGATATGGACAAAGTTGAAACC TTCCTGCGTATTGTTCAGTGTCGTTCCGTTGAGGGCAGCTGTGG TTTCTAAGGTGGTACTTCTACTGAACCGTCTGAAGGCAGCGCAC CAGGTAGCGAACCGGCTACTTCCGGTTCTGAAACCCCAGGTAG CCCAGCAGGTTCTCCAACTTCTACTGAAGAAGGTTCTACCAGCT CTACCGCAGAATCTCCTGGTCCAGGTACCTCTACTCCGGAAAGC GGCTCTGCATCTCCAGGTTCTACTAGCGAATCTCCTTCTGGCAC TGCACCAGGTTCTACTAGCGAATCCCCGTCTGGTACTGCTCCAG GTACTTCTACTCCTGAAAGCGGTTCCGCTTCTCCAGGTACCTCT ACTCCGGAAAGCGGTTCTGCATCTCCAGGTAGCGAACCGGCAA CCTCCGGCTCTGAAACCCCAGGTACCTCTGAAAGCGCTACTCCT GAATCCGGCCCAGGTAGCCCGGCAGGTTCTCCGACTTCCACTG AGGAAGGTACCTCTACTGAACCTTCTGAGGGCAGCGCTCCAGG TACTTCTGAAAGCGCTACCCCGGAGTCCGGTCCAGGTACTTCTA CTGAACCGTCCGAAGGTAGCGCACCAGGTACTTCTACCGAACC GTCCGAGGGTAGCGCACCAGGTAGCCCAGCAGGTTCTCCTACC TCCACCGAGGAAGGTACTTCTACCGAACCGTCCGAGGGTAGCG CACCAGGTACTTCTACCGAACCTTCCGAGGGCAGCGCACCAGG TACTTCTGAAAGCGCTACCCCTGAGTCCGGCCCAGGTACTTCTG AAAGCGCTACTCCTGAATCCGGTCCAGGTACCTCTACTGAACCT TCCGAAGGCAGCGCTCCAGGTACCTCTACCGAACCGTCCGAGG GCAGCGCACCAGGTACTTCTGAAAGCGCAACCCCTGAATCCGG TCCAGGTACTTCTACTGAACCTTCCGAAGGTAGCGCTCCAGGTA GCGAACCTGCTACTTCTGGTTCTGAAACCCCAGGTAGCCCGGCT GGCTCTCCGACCTCCACCGAGGAAGGTAGCTCTACCCCGTCTGG TGCTACTGGTTCTCCAGGTACTCCGGGCAGCGGTACTGCTTCTT

	SAPGTSTEPSEGSAP GSEPATSGSETPGSP AGSPTSTEEGSPAGS PTSTEEGTSTEPSEGS APGASASGAPSTGGT SESATPESGPGSPAG SPTSTEEGSPAGSPTS TEEGSTSSTAESPGP GSTSESPSGTAPGTSP SGESSTAPGTPGSGT ASSSPGSSTPSGATG SPGSSPSASTGTGPG SEPATSGSETPGTSES ATPESGPGSEPATSG SETPGSTSSTAESPGP GSTSSTAESPGPGTSP SGESSTAPGSEPATS GSETPGSEPATSGSE TPGTSTEPSEGSAPG STSSTAESPGPGTSTP ESGSASPGSTSESPSG TAPGTSTEPSEGSAP GTSTEPSEGSAPGTS TEPSEGSAPGSSTPSG ATGSPGSSPSASTGT GPGASPGTSSTGSPG SEPATSGSETPGTSES ATPESGPGSPAGSPT STEEGSSTPSGATGS PGSSPSASTGTGPGA SPGTSSTGSPGTSESA TPESGPGTSTEPSEGS APGTSTEPSEGSAP	CCTCTCCAGGTAGCTCTACCCCTTCTGGTGCTACTGGCTCTCCA GGTACCTCTACCGAACCGTCCGAGGGTAGCGCACCAGGTACCT CTACTGAACCGTCTGAGGGTAGCGCTCCAGGTAGCGAACCGGC AACCTCCGGTTCTGAAACTCCAGGTAGCCCTGCTGGCTCTCCGA CTTCTACTGAGGAAGGTAGCCCGGCTGGTTCTCCGACTTCTACT GAGGAAGGTACTTCTACCGAACCTTCCGAAGGTAGCGCTCCAG GTGCAAGCGCAAGCGGCGCGCCAAGCACGGGAGGTACTTCTGA AAGCGCTACTCCTGAGTCCGGCCCAGGTAGCCCGGCTGGCTCTC CGACTTCCACCGAGGAAGGTAGCCCGGCTGGCTCTCCAACTTCT ACTGAAGAAGGTTCTACCAGCTCTACCGCTGAATCTCCTGGCCC AGGTTCTACTAGCGAATCTCCGTCTGGCACCGCACCAGGTACTT CCCCTAGCGGTGAATCTTCTACTGCACCAGGTACCCCTGGCAGC GGTACCGCTTCTTCCTCTCCAGGTAGCTCTACCCCGTCTGGTGC TACTGGCTCTCCAGGTTCTAGCCCGTCTGCATCTACCGGTACCG GCCCAGGTAGCGAACCGGCAACCTCCGGCTCTGAAACTCCAGG TACTTCTGAAAGCGCTACTCCGGAATCCGGCCCAGGTAGCGAA CCGGCTACTTCCGGCTCTGAAACCCCAGGTTCCACCAGCTCTAC TGCAGAATCTCCGGGCCCAGGTTCTACTAGCTCTACTGCAGAAT CTCCGGGTCCAGGTACTTCTCCTAGCGGCGAATCTTCTACCGCT CCAGGTAGCGAACCGGCAACCTCTGGCTCTGAAACTCCAGGTA GCGAACCTGCAACCTCCGGCTCTGAAACCCCAGGTACTTCTACT GAACCTTCTGAGGGCAGCGCACCAGGTTCTACCAGCTCTACCG CAGAATCTCCTGGTCCAGGTACCTCTACTCCGGAAAGCGGCTCT GCATCTCCAGGTTCTACTAGCGAATCTCCTTCTGGCACTGCACC AGGTACTTCTACCGAACCGTCCGAAGGCAGCGCTCCAGGTACC TCTACTGAACCTTCCGAGGGCAGCGCTCCAGGTACCTCTACCGA ACCTTCTGAAGGTAGCGCACCAGGTAGCTCTACTCCGTCTGGTG CAACCGGCTCCCCAGGTTCTAGCCCGTCTGCTTCCACTGGTACT GGCCCAGGTGCTTCCCCGGGCACCAGCTCTACTGGTTCTCCAGG TAGCGAACCTGCTACCTCCGGTTCTGAAACCCCAGGTACCTCTG AAAGCGCAACTCCGGAGTCTGGTCCAGGTAGCCCTGCAGGTTC TCCTACCTCCACTGAGGAAGGTAGCTCTACTCCGTCTGGTGCAA CCGGCTCCCCAGGTTCTAGCCCGTCTGCTTCCACTGGTACTGGC CCAGGTGCTTCCCCGGGCACCAGCTCTACTGGTTCTCCAGGTAC CTCTGAAAGCGCTACTCCGGAGTCTGGCCCAGGTACCTCTACTG AACCGTCTGAGGGTAGCGCTCCAGGTACTTCTACTGAACCGTCC GAAGGTAGCGCACCA
hGH-AM1318	FPTIPLSRLFDNAML RAHRLHQLAFDTYQ EFEEAYIPKEQKYSF LQNPQTSLCFSESIPT PSNREETQQKSNLEL LRISLLLIQSWLEPVQ FLRSVFANSLVYGAS DSNVYDLLKDLEEGI QTLMGRLEDGSPRT GQIFKQTYSKFDTNS HNDDALLKNYGLLY CFRKDMDKVETFLRI VQCRSVEGSCGFGG TSTEPSEGSAPGSEP ATSGSETPGSPAGSP TSTEEGSTSSTAESPG PGTSTPESGSASPGST SESPSGTAPGSTSESP SGTAPGTSTPESGSA SPGTSTPESGSASPGS EPATSGSETPGTSES ATPESGPGSPAGSPT	TTTCCGACTATTCCGCTGTCTCGTCTGTTTGATAATGCTATGCTG CGTGCGCACCGTCTGCACCAGCTGGCCTTTGATACTTACCAGGA ATTTGAAGAAGCcTACATTCCTAAAGAGCAGAAGTACTCTTTCC TGCAAAACCCACAGACTTCTCTCTGCTTCAGCGAATCTATTCCG ACGCCTTCCAATCGCGAGGAAACTCAGCAAAAGTCCAATCTGG AACTACTCCGCATTTCTCTGCTTCTGATTCAGAGCTGGCTAGAA CCAGTGCAATTTCTGCGTTCCGTCTTCGCCAATAGCCTAGTTTA TGGCGCATCCGACAGCAACGTATACGATCTCCTGAAAGATCTC GAGGAAGGCATTCAGACCCTGATGGGTCGTCTCGAGGATGGCT CTCCGCGTACTGGTCAGATCTTCAAGCAGACTTACTCTAAATTT GATACTAACAGCCACAATGACGATGCGCTTCTAAAAAACTATG GTCTGCTGTATTGTTTTCGTAAAGATATGGACAAAGTTGAAACC TTCCTGCGTATTGTTCAGTGTCGTTCCGTTGAGGGCAGCTGTGG TTTCTAAGGTGGTACTTCTACTGAACCGTCTGAAGGCAGCGCAC CAGGTAGCGAACCGGCTACTTCCGGTTCTGAAACCCCAGGTAG CCCAGCAGGTTCTCCAACTTCTACTGAAGAAGGTTCTACCAGCT CTACCGCAGAATCTCCTGGTCCAGGTACCTCTACTCCGGAAAGC GGCTCTGCATCTCCAGGTTCTACTAGCGAATCTCCTTCTGGCAC TGCACCAGGTTCTACTAGCGAATCCCCGTCTGGTACTGCTCCAG GTACTTCTACTCCTGAAAGCGGTTCCGCTTCTCCAGGTACCTCT ACTCCGGAAAGCGGTTCTGCATCTCCAGGTAGCGAACCGGCAA CCTCCGGCTCTGAAACCCCAGGTACCTCTGAAAGCGCTACTCCT

	STEEGTSTEPSEGSAP	GAATCCGGCCCAGGTAGCCCGGCAGGTTCTCCGACTTCCACTG
	GTSESATPESGPGTS	AGGAAGGTACCTCTACTGAACCTTCTGAGGGCAGCGCTCCAGG
	TEPSEGSAPGTSTEPS	TACTTCTGAAAGCGCTACCCCGGAGTCCGGTCCAGGTACTTCTA
	EGSAPGSPAGSPTST	CTGAACCGTCCGAAGGTAGCGCACCAGGTACTTCTACCGAACC
	EEGTSTEPSEGSAPG	GTCCGAGGGTAGCGCACCAGGTAGCCCAGCAGGTTCTCCTACC
	TSTEPSEGSAPGTSES	TCCACCGAGGAAGGTACTTCTACCGAACCGTCCGAGGGTAGCG
	ATPESGPGTSESATP	CACCAGGTACTTCTACCGAACCTTCCGAGGGCAGCGCACCAGG
	ESGPGTSTEPSEGSA	TACTTCTGAAAGCGCTACCCCTGAGTCCGGCCCAGGTACTTCTG
	PGTSTEPSEGSAPGT	AAAGCGCTACTCCTGAATCCGGTCCAGGTACCTCTACTGAACCT
	SESATPESGPGTSTEP	TCCGAAGGCAGCGCTCCAGGTACCTCTACCGAACCGTCCGAGG
	SEGSAPGSEPATSGS	GCAGCGCACCAGGTACTTCTGAAAGCGCAACCCCTGAATCCGG
	ETPGSPAGSPTSTEE	TCCAGGTACTTCTACTGAACCTTCCGAAGGTAGCGCTCCAGGTA
	GSSTPSGATGSPGTP	GCGAACCTGCTACTTCTGGTTCTGAAACCCCAGGTAGCCCGGCT
	GSGTASSSPGSSTPS	GGCTCTCCGACCTCCACCGAGGAAGGTAGCTCTACCCCGTCTGG
	GATGSPGTSTEPSEG	TGCTACTGGTTCTCCAGGTACTCCGGGCAGCGGTACTGCTTCTT
	SAPGTSTEPSEGSAP	CCTCTCCAGGTAGCTCTACCCCTTCTGGTGCTACTGGCTCTCCA
	GSEPATSGSETPGSP	GGTACCTCTACCGAACCGTCCGAGGGTAGCGCACCAGGTACCT
	AGSPTSTEEGSPAGS	CTACTGAACCGTCTGAGGGTAGCGCTCCAGGTAGCGAACCGGC
	PTSTEEGTSTEPSEGS	AACCTCCGGTTCTGAAACTCCAGGTAGCCCTGCTGGCTCTCCGA
	APGPEPTGPAPSGGS	CTTCTACTGAGGAAGGTAGCCCGGCTGGTTCTCCGACTTCTACT
	EPATSGSETPGTSES	GAGGAAGGTACTTCTACCGAACCTTCCGAAGGTAGCGCTCCAG
	ATPESGPGSPAGSPT	GTCCAGAACCAACGGGGCCGGCCCCAAGCGGAGGTAGCGAAC
	STEEGTSESATPESGP	CGGCAACCTCCGGCTCTGAAACCCCAGGTACCTCTGAAAGCGC
	GSPAGSPTSTEEGSP	TACTCCTGAATCCGGCCCAGGTAGCCCGGCAGGTTCTCCGACTT
	AGSPTSTEEGTSESA	CCACTGAGGAAGGTACTTCTGAAAGCGCTACTCCTGAGTCCGG
	TPESGPGSPAGSPTST	CCCAGGTAGCCCGGCTGGCTCTCCGACTTCCACCGAGGAAGGT
	EEGSPAGSPTSTEEG	AGCCCGGCTGGCTCTCCAACTTCTACTGAAGAAGGTACTTCTGA
	STSSTAESPGPGSTSE	AAGCGCTACTCCTGAGTCCGGCCCAGGTAGCCCGGCTGGCTCTC
	SPSGTAPGTSPSGESS	CGACTTCCACCGAGGAAGGTAGCCCGGCTGGCTCTCCAACTTCT
	TAPGSTSESPSGTAP	ACTGAAGAAGGTTCTACCAGCTCTACCGCTGAATCTCCTGGCCC
	GSTSESPSGTAPGTSP	AGGTTCTACTAGCGAATCTCCGTCTGGCACCGCACCAGGTACTT
	SGESSTAPGTSTEPSE	CCCCTAGCGGTGAATCTTCTACTGCACCAGGTTCTACCAGCGAA
	GSAPGTSESATPESG	TCTCCTTCTGGCACCGCTCCAGGTTCTACTAGCGAATCCCCGTC
	PGTSESATPESGPGS	TGGTACCGCACCAGGTACTTCTCCTAGCGGCGAATCTTCTACCG
	EPATSGSETPGTSES	CACCAGGTACTTCTACCGAACCTTCCGAGGGCAGCGCACCAGG
	ATPESGPGTSESATP	TACTTCTGAAAGCGCTACCCCTGAGTCCGGCCCAGGTACTTCTG
	ESGPGTSTEPSEGSA	AAAGCGCTACTCCTGAATCCGGTCCAGGTAGCGAACCGGCAAC
	PGTSESATPESGPGT	CTCTGGCTCTGAAACCCCAGGTACCTCTGAAAGCGCTACTCCGG
	STEPSEGSAPGTSPSG	AATCTGGTCCAGGTACTTCTGAAAGCGCTACTCCGGAATCCGGT
	ESSTAPGTSPSGESST	CCAGGTACCTCTACTGAACCTTCTGAGGGCAGCGCTCCAGGTAC
	APGTSPSGESSTAPG	TTCTGAAAGCGCTACCCCGGAGTCCGGTCCAGGTACTTCTACTG
	TSTEPSEGSAPGSPA	AACCGTCCGAAGGTAGCGCACCAGGTACCTCCCCTAGCGGCGA
	GSPTSTEEGTSTEPSE	ATCTTCTACTGCTCCAGGTACCTCTCCTAGCGGCGAATCTTCTA
	GSAPGSSPSASTGTG	CCGCTCCAGGTACCTCCCCTAGCGGTGAATCTTCTACCGCACCA
	PGSSTPSGATGSPGS	GGTACTTCTACCGAACCGTCCGAGGGTAGCGCACCAGGTAGCC
	STPSGATGSPGSSTPS	CAGCAGGTTCTCCTACCTCCACCGAGGAAGGTACTTCTACCGAA
	GATGSPGSSTPSGAT	CCGTCCGAGGGTAGCGCACCAGGTTCTAGCCCTTCTGCTTCCAC
	GSPGASPGTSSTGSP	CGGTACCGGCCCAGGTAGCTCTACTCCGTCTGGTGCAACTGGCT
	GASASGAPSTGGTSP	CTCCAGGTAGCTCTACTCCGTCTGGTGCAACCGGCTCCCCAGGT
	SGESSTAPGSTSSTA	AGCTCTACCCCGTCTGGTGCTACCGGCTCTCCAGGTAGCTCTAC
	ESPGPGTSPSGESSTA	CCCGTCTGGTGCAACCGGCTCCCCAGGTGCATCCCCGGGTACTA
	PGTSESATPESGPGT	GCTCTACCGGTTCTCCAGGTGCAAGCGCAAGCGGCGCGCCAAG
	STEPSEGSAPGTSTEP	CACGGGAGGTACTTCTCCGAGCGGTGAATCTTCTACCGCACCA
	SEGSAPGSSPSASTG	GGTTCTACTAGCTCTACCGCTGAATCTCCGGGCCCAGGTACTTC
	TGPGSSTPSGATGSP	TCCGAGCGGTGAATCTTCTACTGCTCCAGGTACCTCTGAAAGCG
	GASPGTSSTGSPGTS	CTACTCCGGAGTCTGGCCCAGGTACCTCTACTGAACCGTCTGAG
	TPESGSASPGTSPSGE	GGTAGCGCTCCAGGTACTTCTACTGAACCGTCCGAAGGTAGCG
	SSTAPGTSPSGESSTA	CACCAGGTTCTAGCCCTTCTGCATCTACTGGTACTGGCCCAGGT
	PGTSESATPESGPGS	AGCTCTACTCCTTCTGGTGCTACCGGCTCTCCAGGTGCTTCTCC

	EPATSGSETPGTSTEP SEGSAPGSTSESPSGT APGSTSESPSGTAPG TSTPESGSASPGSPA GSPTSTEEGTSESATP ESGPGTSTEPSEGSA PGSPAGSPTSTEEGT SESATPESGPGSEPA TSGSETPGSSTPSGA TGSPGASPGTSSTGS PGSSTPSGATGSPGS TSESPSGTAPGTSPSG ESSTAPGSTSSTAESP GPGSSTPSGATGSPG ASPGTSSTGSPGTPG SGTASSSPGSPAGSP TSTEEGSPAGSPTSTE EGTSTEPSEGSAP	GGGTACTAGCTCTACCGGTTCTCCAGGTACTTCTACTCCGGAAA GCGGTTCCGCATCTCCAGGTACTTCTCCTAGCGGTGAATCTTCT ACTGCTCCAGGTACCTCTCCTAGCGGCGAATCTTCTACTGCTCC AGGTACTTCTGAAAGCGCAACCCCTGAATCCGGTCCAGGTAGC GAACCGGCTACTTCTGGCTCTGAGACTCCAGGTACTTCTACCGA ACCGTCCGAAGGTAGCGCACCAGGTTCTACCAGCGAATCCCCT TCTGGTACTGCTCCAGGTTCTACCAGCGAATCCCCTTCTGGCAC CGCACCAGGTACTTCTACCCCTGAAAGCGGCTCCGCTTCTCCAG GTAGCCCGGCAGGCTCTCCGACCTCTACTGAGGAAGGTACTTCT GAAAGCGCAACCCCGGAGTCCGGCCCAGGTACCTCTACCGAAC CGTCTGAGGGCAGCGCACCAGGTAGCCCTGCTGGCTCTCCAAC CTCCACCGAAGAAGGTACCTCTGAAAGCGCAACCCCTGAATCC GGCCCAGGTAGCGAACCGGCAACCTCCGGTTCTGAAACCCCAG GTAGCTCTACCCCGTCTGGTGCTACCGGTTCCCCAGGTGCTTCT CCTGGTACTAGCTCTACCGGTTCTCCAGGTAGCTCTACCCCGTC TGGTGCTACTGGCTCTCCAGGTTCTACTAGCGAATCCCCGTCTG GTACTGCTCCAGGTACTTCCCCTAGCGGTGAATCTTCTACTGCT CCAGGTTCTACCAGCTCTACCGCAGAATCTCCGGGTCCAGGTAG CTCTACCCCTTCTGGTGCAACCGGCTCTCCAGGTGCATCCCCGG GTACCAGCTCTACCGGTTCTCCAGGTACTCCGGGTAGCGGTACC GCTTCTTCCTCTCCAGGTAGCCCTGCTGGCTCTCCGACTTCTACT GAGGAAGGTAGCCCGGCTGGTTCTCCGACTTCTACTGAGGAAG GTACTTCTACCGAACCTTCCGAAGGTAGCGCTCCA
* O nome da sequência reflete a configuração N-C para o terminal do fator de crescimento e os componentes XTEN		

Quadro 36: Exemplos de GHXTEN compreendendo hormonas do crescimento e duas sequências de XTEN

Nome de GHXTEN*	Sequência de aminoácidos	Sequência de nucleótidos ADN
AE48- hGH- AE144	MAEPAGSPTSTEEGT PGSGTASSSPGSSTPS GATGSPGASPGTSST GSPGFPTIPLSRLFDN AMLRAHRLHQLAFD TYQEFEEAYIPKEQK YSFLQNPQTSLCFSE SIPTPSNREETQQKS NLELLRISLLLIQSWL EPVQFLRSVFANSLV YGASDSNVYDLLKD LEEGIQTLMGRLEDG SPRTGQIFKQTYSKF DTNSHNDDALLKNY GLLYCFRKDMDKVE TFLRIVQCRSVEGSC GFGGSEPATSGSETP GTSESATPESGPGSE PATSGSETPGSPAGS PTSTEEGTSTEPSEGS APGSEPATSGSETPG SEPATSGSETPGSEP ATSGSETPGTSTEPSE GSAPGTSESATPESG PGSEPATSGSETPGT STEPSEGSAP	ATGGCTGAACCTGCTGGCTCTCCAACCTCCACTGAGGAAGGTA CCCCGGGTAGCGGTACTGCTTCTTCCTCTCCAGGTAGCTCTACC CCTTCTGGTGCAACCGGCTCTCCAGGTGCTTCTCCGGGCACCAG CTCTACCGGTTCTCCAGGTTTTCCGACTATTCCGCTGTCTCGTCT GTTTGATAATGCTATGCTGCGTGCGCACCGTCTGCACCAGCTGG CCTTTGATACTTACCAGGAATTTGAAGAAGCCTACATTCCTAAA GAGCAGAAGTACTCTTTCCTGCAAAACCCACAGACTTCTCTCTG CTTCAGCGAATCTATTCCGACGCCTTCCAATCGCGAGGAAACTC AGCAAAAGTCCAATCTGGAACTACTCCGCATTTCTCTGCTTCTG ATTCAGAGCTGGCTAGAACCAGTGCAATTTCTGCGTTCCGTCTT CGCCAATAGCCTAGTTTATGGCGCATCCGACAGCAACGTATAC GATCTCCTGAAAGATCTCGAGGAAGGCATTCAGACCCTGATGG GTCGTCTCGAGGATGGCTCTCCGCGTACTGGTCAGATCTTCAAG CAGACTTACTCTAAATTTGATACTAACAGCCACAATGACGATGC GCTTCTAAAAAACTATGGTCTGCTGTATTGTTTTCGTAAAGATA TGGACAAAGTTGAAACCTTCCTGCGTATTGTTCAGTGTCGTTCC GTTGAGGGCAGCTGTGGTTTCTAAGGTGGTAGCGAACCGGCAA CTTCCGGCTCTGAAACCCCAGGTACTTCTGAAAGCGCTACTCCT GAGTCTGGCCCAGGTAGCGAACCTGCTACCTCTGGCTCTGAAA CCCCAGGTAGCCCGGCAGGCTCTCCGACTTCCACCGAGGAAGG TACCTCTACTGAACCTTCTGAGGGTAGCGCTCCAGGTAGCGAAC CGGCAACCTCTGGCTCTGAAACCCCAGGTAGCGAACCTGCTAC CTCCGGCTCTGAAACTCCAGGTAGCGAACCGGCTACTTCCGGTT CTGAAACTCCAGGTACCTCTACCGAACCTTCCGAAGGCAGCGC ACCAGGTACTTCTGAAAGCGCAACCCCTGAATCCGGTCCAGGT AGCGAACCGGCTACTTCTGGCTCTGAGACTCCAGGTACTTCTAC CGAACCGTCCGAAGGTAGCGCACCA
AM48-	MAEPAGSPTSTEEGA	ATGGCTGAACCTGCTGGCTCTCCAACCTCCACTGAGGAAGGTG

hGH-AE144	SPGTSSTGSPGSSTPS GATGSPGSSTPSGAT GSPGFPTIPLSRLFDN AMLRAHRLHQLAFD TYQEFEEAYIPKEQK YSFLQNPQTSLCFSE SIPTPSNREETQQKS NLELLRISLLLIQSWL EPVQFLRSVFANSLV YGASDSNVYDLLKD LEEGIQTLMGRLEDG SPRTGQIFKQTYSKF DTNSHNDDALLKNY GLLYCFRKDMDKVE TFLRIVQCRSVEGSC GFGGSEPATSGSETP GTSESATPESGPGSE PATSGSETPGSPAGS PTSTEEGTSTEPSEGS APGSEPATSGSETPG SEPATSGSETPGSEP ATSGSETPGTSTEPSE GSAPGTSESATPESG PGSEPATSGSETPGT STEPSEGSAP	CATCCCCGGGCACCAGCTCTACCGGTTCTCCAGGTAGCTCTACC CCGTCTGGTGCTACCGGCTCTCCAGGTAGCTCTACCCCGTCTGG TGCTACTGGCTCTCCAGGTTTTCCGACTATTCCGCTGTCTCGTCT GTTTGATAATGCTATGCTGCGTGCGCACCGTCTGCACCAGCTGG CCTTTGATACTTACCAGGAATTTGAAGAAGCcTACATTCCTAAA GAGCAGAAGTACTCTTTCCTGCAAAACCCACAGACTTCTCTCTG CTTCAGCGAATCTATTCCGACGCCTTCCAATCGCGAGGAAACTC AGCAAAAGTCCAATCTGGAACTACTCCGCATTTCTCTGCTTCTG ATTCAGAGCTGGCTAGAACCAGTGCAATTTCTGCGTTCCGTCTT CGCCAATAGCCTAGTTTATGGCGCATCCGACAGCAACGTATAC GATCTCCTGAAAGATCTCGAGGAAGGCATTCAGACCCTGATGG GTCGTCTCGAGGATGGCTCTCCGCGTACTGGTCAGATCTTCAAG CAGACTTACTCTAAATTTGATACTAACAGCCACAATGACGATGC GCTTCTAAAAAAACTATGGTCTGCTGTATTGTTTTCGTAAAGATA TGGACAAAGTTGAAACCTTCCTGCGTATTGTTCAGTGTCGTTCC GTTGAGGGCAGCTGTGGTTTCTAAGGTGGTAGCGAACCGGCAA CTTCCGGCTCTGAAACCCCAGGTACTTCTGAAAGCGCTACTCCT GAGTCTGGCCCAGGTAGCGAACCTGCTACCTCTGGCTCTGAAA CCCCAGGTAGCCCGGCAGGCTCTCCGACTTCCACCGAGGAAGG TACCTCTACTGAACCTTCTGAGGGTAGCGCTCCAGGTAGCGAAC CGGCAACCTCTGGCTCTGAAACCCCAGGTAGCGAACCTGCTAC CTCCGGCTCTGAAACTCCAGGTAGCGAACCGGCTACTTCCGGTT CTGAAACTCCAGGTACCTCTACCGAACCTTCCGAAGGCAGCGC ACCAGGTACTTCTGAAAGCGCAACCCCTGAATCCGGTCCAGGT AGCGAACCGGCTACTTCTGGCTCTGAGACTCCAGGTACTTCTAC CGAACCGTCCGAAGGTAGCGCACCA
AE144-hGH-AE144	GSEPATSGSETPGTS ESATPESGPGSEPAT SGSETPGSPAGSPTST EEGTSTEPSEGSAPG SEPATSGSETPGSEP ATSGSETPGSEPATS GSETPGTSTEPSEGS APGTSESATPESGPG SEPATSGSETPGTSTE PSEGSAPGFPTIPLSR LFDNAMLRAHRLHQ LAFDTYQEFEEAYIP KEQKYSFLQNPQTSL CFSESIPTPSNREETQ QKSNLELLRISLLLIQ SWLEPVQFLRSVFA NSLVYGASDSNVYD LLKDLEEGIQTLMGR LEDGSPRTGQIFKQT YSKFDTNSHNDDAL LKNYGLLYCFRKDM DKVETFLRIVQCRSV EGSCGFGGSEPATSG SETPGTSESATPESGP GSEPATSGSETPGSP AGSPTSTEEGTSTEPS EGSAPGSEPATSGSE TPGSEPATSGSETPG SEPATSGSETPGTSTE PSEGSAPGTSESATP ESGPGSEPATSGSET PGTSTEPSEGSAP	GGTAGCGAACCGGCAACTTCCGGCTCTGAAACCCCAGGTACTT CTGAAAGCGCTACTCCTGAGTCTGGCCCAGGTAGCGAACCTGC TACCTCTGGCTCTGAAACCCCAGGTAGCCCGGCAGGCTCTCCGA CTTCCACCGAGGAAGGTACCTCTACTGAACCTTCTGAGGGTAGC GCTCCAGGTAGCGAACCGGCAACCTCTGGCTCTGAAACCCCAG GTAGCGAACCTGCTACCTCCGGCTCTGAAACTCCAGGTAGCGA ACCGGCTACTTCCGGTTCTGAAACTCCAGGTACCTCTACCGAAC CTTCCGAAGGCAGCGCACCAGGTACTTCTGAAAGCGCAACCCC TGAATCCGGTCCAGGTAGCGAACCGGCTACTTCTGGCTCTGAG ACTCCAGGTACTTCTACCGAACCGTCCGAAGGTAGCGCACCAG GTTTTCCGACTATTCCGCTGTCTCGTCTGTTTGATAATGCTATGC TGCGTGCGCACCGTCTGCACCAGCTGGCCTTTGATACTTACCAG GAATTTGAAGAAGCcTACATTCCTAAAGAGCAGAAGTACTCTTT CCTGCAAAACCCACAGACTTCTCTCTGCTTCAGCGAATCTATTC CGACGCCTTCCAATCGCGAGGAAACTCAGCAAAAGTCCAATCT GGAACTACTCCGCATTTCTCTGCTTCTGATTCAGAGCTGGCTAG AACCAGTGCAATTTCTGCGTTCCGTCTTCGCCAATAGCCTAGTT TATGGCGCATCCGACAGCAACGTATACGATCTCCTGAAAGATC TCGAGGAAGGCATTCAGACCCTGATGGGTCGTCTCGAGGATGG CTCTCCGCGTACTGGTCAGATCTTCAAGCAGACTTACTCTAAAT TTGATACTAACAGCCACAATGACGATGCGCTTCTAAAAAACTA TGGTCTGCTGTATTGTTTTCGTAAAGATATGGACAAAGTTGAAA CCTTCCTGCGTATTGTTCAGTGTCGTTCCGTTGAGGGCAGCTGT GGTTTCTAAGGTGGTAGCGAACCGGCAACTTCCGGCTCTGAAA CCCCAGGTACTTCTGAAAGCGCTACTCCTGAGTCTGGCCCAGGT AGCGAACCTGCTACCTCTGGCTCTGAAACCCCAGGTAGCCCGG CAGGCTCTCCGACTTCCACCGAGGAAGGTACCTCTACTGAACCT TCTGAGGGTAGCGCTCCAGGTAGCGAACCGGCAACCTCTGGCT CTGAAACCCCAGGTAGCGAACCTGCTACCTCCGGCTCTGAAAC TCCAGGTAGCGAACCGGCTACTTCCGGTTCTGAAACTCCAGGTA CCTCTACCGAACCTTCCGAAGGCAGCGCACCAGGTACTTCTGA AAGCGCAACCCCTGAATCCGGTCCAGGTAGCGAACCGGCTACT TCTGGCTCTGAGACTCCAGGTACTTCTACCGAACCGTCCGAAGG
		TAGCGCACCA

AE288-hGH-AE144	GTSESATPESGPGSE PATSGSETPGTSESA TPESGPGSEPATSGS ETPGTSESATPESGP GTSTEPSEGSAPGSP AGSPTSTEEGTSESA TPESGPGSEPATSGS ETPGTSESATPESGP GSPAGSPTSTEEGSP AGSPTSTEEGTSTEPS EGSAPGTSESATPES GPGTSESATPESGPG TSESATPESGPGSEP ATSGSETPGSEPATS GSETPGSPAGSPTST EEGTSTEPSEGSAPG TSTEPSEGSAPGSEP ATSGSETPGTSESAT PESGPGTSTEPSEGS APGFPTIPLSRLFDNA MLRAHRLHQLAFDT YQEFEEAYIPKEQKY SFLQNPQTSLCFSESI PTPSNREETQQKSNL ELLRISLLLIQSWLEP VQFLRSVFANSLVY GASDSNVYDLLKDL EEGIQTLMGRLEDGS PRTGQIFKQTYSKFD TNSHNDDALLKNYG LLYCFRKDMDKVET FLRIVQCRSVEGSCG FGGSEPATSGSETPG TSESATPESGPGSEP ATSGSETPGSPAGSP TSTEEGTSTEPSEGS APGSEPATSGSETPG SEPATSGSETPGSEP ATSGSETPGTSTEPSE GSAPGTSESATPESG PGSEPATSGSETPGT STEPSEGSAP	GGTACCTCTGAAAGCGCAACTCCTGAGTCTGGCCCAGGTAGCG AACCTGCTACCTCCGGCTCTGAGACTCCAGGTACCTCTGAAAGC GCAACCCCGGAATCTGGTCCAGGTAGCGAACCTGCAACCTCTG GCTCTGAAACCCCAGGTACCTCTGAAAGCGCTACTCCTGAATCT GGCCCAGGTACTTCTACTGAACCGTCCGAGGGCAGCGCACCAG GTAGCCCTGCTGGCTCTCCAACCTCCACCGAAGAAGGTACCTCT GAAAGCGCAACCCCTGAATCCGGCCCAGGTAGCGAACCGGCAA CCTCCGGTTCTGAAACCCCAGGTACTTCTGAAAGCGCTACTCCT GAGTCCGGCCCAGGTAGCCCGGCTGGCTCTCCGACTTCCACCG AGGAAGGTAGCCCGGCTGGCTCTCCAACTTCTACTGAAGAAGG TACTTCTACCGAACCTTCCGAGGGCAGCGCACCAGGTACTTCTG AAAGCGCTACCCCTGAGTCCGGCCCAGGTACTTCTGAAAGCGC TACTCCTGAATCCGGTCCAGGTACTTCTGAAAGCGCTACCCCGG AATCTGGCCCAGGTAGCGAACCGGCTACTTCTGGTTCTGAAACC CCAGGTAGCGAACCGGCTACCTCCGGTTCTGAAACTCCAGGTA GCCCAGCAGGCTCTCCGACTTCCACTGAGGAAGGTACTTCTACT GAACCTTCCGAAGGCAGCGCACCAGGTACCTCTACTGAACCTT CTGAGGGCAGCGCTCCAGGTAGCGAACCTGCAACCTCTGGCTC TGAAACCCCAGGTACCTCTGAAAGCGCTACTCCTGAATCTGGCC CAGGTACTTCTACTGAACCGTCCGAGGGCAGCGCACCAGGTTTT CCGACTATTCCGCTGTCTCGTCTGTTTGATAATGCTATGCTGCGT GCGCACCGTCTGCACCAGCTGGCCTTTGATACTTACCAGGAATT TGAAGAAGCcTACATTCCTAAAGAGCAGAAGTACTCTTTCCTGC AAAACCCACAGACTTCTCTCTGCTTCAGCGAATCTATTCCGACG CCTTCCAATCGCGAGGAAACTCAGCAAAAGTCCAATCTGGAAC TACTCCGCATTTCTCTGCTTCTGATTCAGAGCTGGCTAGAACCA GTGCAATTTCTGCGTTCCGTCTTCGCCAATAGCCTAGTTTATGG CGCATCCGACAGCAACGTATACGATCTCCTGAAAGATCTCGAG GAAGGCATTCAGACCCTGATGGGTCGTCTCGAGGATGGCTCTC CGCGTACTGGTCAGATCTTCAAGCAGACTTACTCTAAATTTGAT ACTAACAGCCACAATGACGATGCGCTTCTAAAAAACTATGGTC TGCTGTATTGTTTTCGTAAAGATATGGACAAAGTTGAAACCTTC CTGCGTATTGTTCAGTGTCGTTCCGTTGAGGGCAGCTGTGGTTT CTAAGGTGGTAGCGAACCGGCAACTTCCGGCTCTGAAACCCCA GGTACTTCTGAAAGCGCTACTCCTGAGTCTGGCCCAGGTAGCG AACCTGCTACCTCTGGCTCTGAAACCCCAGGTAGCCCGGCAGG CTCTCCGACTTCCACCGAGGAAGGTACCTCTACTGAACCTTCTG AGGGTAGCGCTCCAGGTAGCGAACCGGCAACCTCTGGCTCTGA AACCCCAGGTAGCGAACCTGCTACCTCCGGCTCTGAAACTCCA GGTAGCGAACCGGCTACTTCCGGTTCTGAAACTCCAGGTACCTC TACCGAACCTTCCGAAGGCAGCGCACCAGGTACTTCTGAAAGC GCAACCCCTGAATCCGGTCCAGGTAGCGAACCGGCTACTTCTG GCTCTGAGACTCCAGGTACTTCTACCGAACCGTCCGAAGGTAG CGCACCA
AF144-hGH-AE144	GTSTPESGSASPGTSP SGESSTAPGTSPSGES STAPGSTSSTAESPGP GSTSESPSGTAPGSTS STAESPGPGTSPSGES STAPGTSTPESGSASP GSTSSTAESPGPGTSP SGESSTAPGTSPSGES STAPGTSPSGESSTAP GFPTIPLSRLFDNAM LRAHRLHQLAFDTY QEFEEAYIPKEQKYS FLQNPQTSLCFSESIP TPSNREETQQKSNLE	GGTACTTCTACTCCGGAAAGCGGTTCCGCATCTCCAGGTACTTC TCCTAGCGGTGAATCTTCTACTGCTCCAGGTACCTCTCCTAGCG GCGAATCTTCTACTGCTCCAGGTTCTACCAGCTCTACCGCTGAA TCTCCTGGCCCAGGTTCTACCAGCGAATCCCCGTCTGGCACCGC ACCAGGTTCTACTAGCTCTACCGCAGAATCTCCGGGTCCAGGTA CTTCCCCTAGCGGTGAATCTTCTACTGCTCCAGGTACCTCTACT CCGGAAAGCGGCTCCGCATCTCCAGGTTCTACTAGCTCTACTGC TGAATCTCCTGGTCCAGGTACCTCCCCTAGCGGCGAATCTTCTA CTGCTCCAGGTACCTCTCCTAGCGGCGAATCTTCTACCGCTCCA GGTACCTCCCCTAGCGGTGAATCTTCTACCGCACCAGGTTTTCC GACTATTCCGCTGTCTCGTCTGTTTGATAATGCTATGCTGCGTG CGCACCGTCTGCACCAGCTGGCCTTTGATACTTACCAGGAATTT GAAGAAGCcTACATTCCTAAAGAGCAGAAGTACTCTTTCCTGCA AAACCCACAGACTTCTCTCTGCTTCAGCGAATCTATTCCGACGC

	LLRISLLLIQSWLEPV QFLRSVFANSLVYG ASDSNVYDLLKDLE EGIQTLMGRLEDGSP RTGQIFKQTYSKFDT NSHNDDALLKNYGL LYCFRKDMDKVETF LRIVQCRSVEGSCGF GGSEPATSGSETPGT SESATPESGPGSEPA TSGSETPGSPAGSPTS TEEGTSTEPSEGSAP GSEPATSGSETPGSE PATSGSETPGSEPAT SGSETPGTSTEPSEGS APGTSESATPESGPG SEPATSGSETPGTSTE PSEGSAP	CTTCCAATCGCGAGGAAACTCAGCAAAAGTCCAATCTGGAACT ACTCCGCATTTCTCTGCTTCTGATTCAGAGCTGGCTAGAACCAG TGCAATTTCTGCGTTCCGTCTTCGCCAATAGCCTAGTTTATGGC GCATCCGACAGCAACGTATACGATCTCCTGAAAGATCTCGAGG AAGGCATTCAGACCCTGATGGGTCGTCTCGAGGATGGCTCTCC GCGTACTGGTCAGATCTTCAAGCAGACTTACTCTAAATTTGATA CTAACAGCCACAATGACGATGCGCTTCTAAAAAACTATGGTCT GCTGTATTGTTTTCGTAAAGATATGGACAAAGTTGAAACCTTCC TGCGTATTGTTCAGTGTCGTTCCGTTGAGGGCAGCTGTGGTTTC TAAGGTGGTAGCGAACCGGCAACTTCCGGCTCTGAAACCCCAG GTACTTCTGAAAGCGCTACTCCTGAGTCTGGCCCAGGTAGCGA ACCTGCTACCTCTGGCTCTGAAACCCCAGGTAGCCCGGCAGGCT CTCCGACTTCCACCGAGGAAGGTACCTCTACTGAACCTTCTGAG GGTAGCGCTCCAGGTAGCGAACCGGCAACCTCTGGCTCTGAAA CCCCAGGTAGCGAACCTGCTACCTCCGGCTCTGAAACTCCAGGT AGCGAACCGGCTACTTCCGGTTCTGAAACTCCAGGTACCTCTAC CGAACCTTCCGAAGGCAGCGCACCAGGTACTTCTGAAAGCGCA ACCCCTGAATCCGGTCCAGGTAGCGAACCGGCTACTTCTGGCTC TGAGACTCCAGGTACTTCTACCGAACCGTCCGAAGGTAGCGCA CCA
AD576- hGH- AE144	GSSESGSSEGGPGSG GEPSESGSSGSSESGS SEGGPGSSESGSSEG GPGSSESGSSEGGPG SSESGSSEGGPGSSES GSSEGGPGESPGGSS GSESGSEGSSGPGES SGSSESGSSEGGPGS SESGSSEGGPGSSES GSSEGGPGSGGEPSE SGSSGESPGGSSGSE SGESPGGSSGSESGS GGEPSESGSSGSSES GSSEGGPGSGGEPSE SGSSGSGGEPSESGS SGSEGSSGPGESSGE SPGGSSGSESGSGGE PSESGSSGSGGEPSES GSSGSGGEPSESGSS GSSESGSSEGGPGES PGGSSGSESGESPGG SSGSESGESPGGSSG SESGESPGGSSGSES GESPGGSSGSESGSS ESGSSEGGPGSGGEP SESGSSGSEGSSGPG ESSGSSESGSSEGGP GSGGEPSESGSSGSS ESGSSEGGPGSGGEP SESGSSGESPGGSSG SESGESPGGSSGSES GSSESGSSEGGPGSG GEPSESGSSGSSESGS SEGGPGSGGEPSESG SSGSGGEPSESGSSG ESPGGSSGSESGSEG SSGPGESSGSSESGSS EGGPGSEGSSGPGES SGFPTIPLSRLFDNA	GGTTCCTCTGAAAGCGGTTCTTCCGAAGGTGGTCCAGGTTCCTC TGAAAGCGGTTCTTCTGAGGGTGGTCCAGGTGAATCTCCGGGT GGCTCCAGCGGTTCCGAGTCAGGTTCTGGTGGCGAACCTTCCGA GTCTGGTAGCTCAGGTGAATCTCCGGGTGGTTCTAGCGGTTCCG AGTCAGGTGAATCTCCGGGTGGTTCCAGCGGTTCTGAGTCAGGT TCCTCCGAAAGCGGTTCTTCTGAGGGCGGTCCAGGTTCCTCCGA AAGCGGTTCTTCCGAGGGCGGTCCAGGTTCTTCTGAAAGCGGTT CTTCCGAGGGCGGTCCAGGTGAATCTCCTGGTGGTTCCAGCGGT TCCGAGTCAGGTGAATCTCCAGGTGGCTCTAGCGGTTCCGAGTC AGGTGAATCTCCTGGTGGTTCTAGCGGTTCTGAATCAGGTTCCT CCGAAAGCGGTTCTTCTGAGGGCGGTCCAGGTTCCTCCGAAAG CGGTTCTTCCGAGGGCGGTCCAGGTTCTTCTGAAAGCGGTTCTT CCGAGGGCGGTCCAGGTTCCTCTGAAAGCGGTTCTTCTGAGGG CGGTCCAGGTTCTTCCGAAAGCGGTTCTTCCGAGGGCGGTCCAG GTTCTTCCGAAAGCGGTTCTTCTGAAGGCGGTCCAGGTTCTGGT GGCGAACCGTCCGAGTCTGGTAGCTCAGGTGAATCTCCGGGTG GCTCTAGCGGTTCCGAGTCAGGTGAATCTCCTGGTGGTTCCAGC GGTTCCGAGTCAGGTTCCGGTGGCGAACCGTCCGAATCTGGTA GCTCAGGTAGCGAAGGTTCTTCTGGTCCAGGCGAATCTTCAGGT TCCTCTGAAAGCGGTTCTTCTGAGGGCGGTCCAGGTTCCGGTGG CGAACCGTCCGAATCTGGTAGCTCAGGTAGCGAAGGTTCTTCTG GTCCAGGCGAATCTTCAGGTTCCTCTGAAAGCGGTTCTTCTGAG GGCGGTCCAGGTTCCGGTGGCGAACCTTCCGAATCTGGTAGCTC AGGTGAATCTCCGGGTGGTTCTAGCGGTTCTGAGTCAGGTTCTG GTGGTGAACCTTCCGAGTCTGGTAGCTCAGGTTCTGGTGGCGAA CCATCCGAGTCTGGTAGCTCAGGTTCTTCCGAAAGCGGTTCTTC CGAAGGCGGTCCAGGTTCTGGTGGTGAACCGTCCGAATCTGGT AGCTCAGGTTCTGGTGGCGAACCATCCGAATCTGGTAGCTCAG GTAGCGAAGGTTCTTCTGGTCCTGGCGAATCTTCAGGTGAATCT CCAGGTGGCTCTAGCGGTTCCGAATCAGGTAGCGAAGGTTCTTC CGGTCCAGGTGAATCTTCAGGTAGCGAAGGTTCTTCTGGTCCTG GTGAATCCTCAGGTTCCGGTGGCGAACCATCTGAATCTGGTAGC TCAGGTTCCTCTGAAAGCGGTTCTTCCGAAGGTGGTCCAGGTTC CTCTGAAAGCGGTTCTTCTGAGGGTGGTCCAGGTGAATCTCCGG GTGGCTCCAGCGGTTCCGAGTCAGGTTCTGGTGGCGAACCATCC GAATCTGGTAGCTCAGGTAGCGAAGGTTCTTCTGGTCCTGGCGA ATCTTCAGGTGAATCTCCAGGTGGCTCTAGCGGTTCCGAATCAG GTAGCGAAGGTTCTTCCGGTCCTGGTGAGTCTTCAGGTGAATCT CCAGGTGGCTCTAGCGGTTCCGAGTCAGGTAGCGAAGGTTCTTC

	MLRAHRLHQLAFDT YQEFEEAYIPKEQKY SFLQNPQTSLCFSESI PTPSNREETQQKSNL ELLRISLLLIQSWLEP VQFLRSVFANSLVY GASDSNVYDLLKDL EEGIQTLMGRLEDGS PRTGQIFKQTYSKFD TNSHNDDALLKNYG LLYCFRKDMDKVET FLRIVQCRSVEGSCG FGGSEPATSGSETPG TSESATPESGPGSEP ATSGSETPGSPAGSP TSTEEGTSTEPSEGS APGSEPATSGSETPG SEPATSGSETPGSEP ATSGSETPGTSTEPSE GSAPGTSESATPESG PGSEPATSGSETPGT STEPSEGSAP	TGGTCCTGGCGAGTCCTCAGGTTTTCCGACTATTCCGCTGTCTC GTCTGTTTGATAATGCTATGCTGCGTGCGCACCGTCTGCACCAG CTGGCCTTTGATACTTACCAGGAATTTGAAGAAGCcTACATTCC TAAAGAGCAGAAGTACTCTTTCCTGCAAAACCCACAGACTTCTC TCTGCTTCAGCGAATCTATTCCGACGCCTTCCAATCGCGAGGAA ACTCAGCAAAAGTCCAATCTGGAACTACTCCGCATTTCTCTGCT TCTGATTCAGAGCTGGCTAGAACCAGTGCAATTTCTGCGTTCCG TCTTCGCCAATAGCCTAGTTTATGGCGCATCCGACAGCAACGTA TACGATCTCCTGAAAGATCTCGAGGAAGGCATTCAGACCCTGA TGGGTCGTCTCGAGGATGGCTCTCCGCGTACTGGTCAGATCTTC AAGCAGACTTACTCTAAATTTGATACTAACAGCCACAATGACG ATGCGCTTCTAAAAAACTATGGTCTGCTGTATTGTTTTCGTAAA GATATGGACAAAGTTGAAACCTTCCTGCGTATTGTTCAGTGTCG TTCCGTTGAGGGCAGCTGTGGTTTCTAAGGTGGTAGCGAACCG GCAACTTCCGGCTCTGAAACCCCAGGTACTTCTGAAAGCGCTAC TCCTGAGTCTGGCCCAGGTAGCGAACCTGCTACCTCTGGCTCTG AAACCCCAGGTAGCCCGGCAGGCTCTCCGACTTCCACCGAGGA AGGTACCTCTACTGAACCTTCTGAGGGTAGCGCTCCAGGTAGC GAACCGGCAACCTCTGGCTCTGAAACCCCAGGTAGCGAACCTG CTACCTCCGGCTCTGAAACTCCAGGTAGCGAACCGGCTACTTCC GGTTCTGAAACTCCAGGTACCTCTACCGAACCTTCCGAAGGCA GCGCACCAGGTACTTCTGAAAGCGCAACCCCTGAATCCGGTCC AGGTAGCGAACCGGCTACTTCTGGCTCTGAGACTCCAGGTACTT CTACCGAACCGTCCGAAGGTAGCGCACCA
AE576- hGH- AE144	GSPAGSPTSTEEGTS ESATPESGPGTSTEPS EGSAPGSPAGSPTST EEGTSTEPSEGSAPG TSTEPSEGSAPGTSES ATPESGPGSEPATSG SETPGSEPATSGSETP GSPAGSPTSTEEGTS ESATPESGPGTSTEPS EGSAPGTSTEPSEGS APGSPAGSPTSTEEG TSTEPSEGSAPGTSTE PSEGSAPGTSESATP ESGPGTSTEPSEGSA PGTSESATPESGPGS EPATSGSETPGTSTEP SEGSAPGTSTEPSEG SAPGTSESATPESGP GTSESATPESGPGSP AGSPTSTEEGTSESA TPESGPGSEPATSGS ETPGTSESATPESGP GTSTEPSEGSAPGTS TEPSEGSAPGTSTEPS EGSAPGTSTEPSEGS APGTSTEPSEGSAPG TSTEPSEGSAPGSPA GSPTSTEEGTSTEPSE GSAPGTSESATPESG PGSEPATSGSETPGT SESATPESGPGSEPA TSGSETPGTSESATPE SGPGTSTEPSEGSAP GTSESATPESGPGSP AGSPTSTEEGSPAGS	GGTAGCCCGGCTGGCTCTCCTACCTCTACTGAGGAAGGTACTTC TGAAAGCGCTACTCCTGAGTCTGGTCCAGGTACCTCTACTGAAC CGTCCGAAGGTAGCGCTCCAGGTAGCCCAGCAGGCTCTCCGAC TTCCACTGAGGAAGGTACTTCTACTGAACCTTCCGAAGGCAGC GCACCAGGTACCTCTACTGAACCTTCTGAGGGCAGCGCTCCAG GTACTTCTGAAAGCGCTACCCCGGAATCTGGCCCAGGTAGCGA ACCGGCTACTTCTGGTTCTGAAACCCCAGGTAGCGAACCGGCT ACCTCCGGTTCTGAAACTCCAGGTAGCCCGGCAGGCTCTCCGAC CTCTACTGAGGAAGGTACTTCTGAAAGCGCAACCCCGGAGTCC GGCCCAGGTACCTCTACCGAACCGTCTGAGGGCAGCGCACCAG GTACTTCTACCGAACCGTCCGAGGGTAGCGCACCAGGTAGCCC AGCAGGTTCTCCTACCTCCACCGAGGAAGGTACTTCTACCGAAC CGTCCGAGGGTAGCGCACCAGGTACCTCTACTGAACCTTCTGA GGGCAGCGCTCCAGGTACTTCTGAAAGCGCTACCCCGGAGTCC GGTCCAGGTACTTCTACTGAACCGTCCGAAGGTAGCGCACCAG GTACTTCTGAAAGCGCAACCCCTGAATCCGGTCCAGGTAGCGA ACCGGCTACTTCTGGCTCTGAGACTCCAGGTACTTCTACCGAAC CGTCCGAAGGTAGCGCACCAGGTACTTCTACTGAACCGTCTGA AGGTAGCGCACCAGGTACTTCTGAAAGCGCAACCCCGGAATCC GGCCCAGGTACCTCTGAAAGCGCAACCCCGGAGTCCGGCCCAG GTAGCCCTGCTGGCTCTCCAACCTCCACCGAAGAAGGTACCTCT GAAAGCGCAACCCCTGAATCCGGCCCAGGTAGCGAACCGGCAA CCTCCGGTTCTGAAACCCCAGGTACCTCTGAAAGCGCTACTCCG GAGTCTGGCCCAGGTACCTCTACTGAACCGTCTGAGGGTAGCG CTCCAGGTACTTCTACTGAACCGTCCGAAGGTAGCGCACCAGG TACTTCTACCGAACCGTCCGAAGGCAGCGCTCCAGGTACCTCTA CTGAACCTTCCGAGGGCAGCGCTCCAGGTACCTCTACCGAACCT TCTGAAGGTAGCGCACCAGGTACTTCTACCGAACCGTCCGAGG GTAGCGCACCAGGTAGCCCAGCAGGTTCTCCTACCTCCACCGA GGAAGGTACTTCTACCGAACCGTCCGAGGGTAGCGCACCAGGT ACCTCTGAAAGCGCAACTCCTGAGTCTGGCCCAGGTAGCGAAC CTGCTACCTCCGGCTCTGAGACTCCAGGTACCTCTGAAAGCGCA ACCCCGGAATCTGGTCCAGGTAGCGAACCTGCAACCTCTGGCT CTGAAACCCCAGGTACCTCTGAAAGCGCTACTCCTGAATCTGGC CCAGGTACTTCTACTGAACCGTCCGAGGGCAGCGCACCAGGTA

	PTSTEEGSPAGSPTST EEGTSESATPESGPG TSTEPSEGSAPGFPTI PLSRLFDNAMLRAH RLHQLAFDTYQEFEE AYIPKEQKYSFLQNP QTSLCFSESIPTPSNR EETQQKSNLELLRIS LLLIQSWLEPVQFLR SVFANSLVYGASDS NVYDLLKDLEEGIQT LMGRLEDGSPRTGQI FKQTYSKFDTNSHN DDALLKNYGLLYCF RKDMDKVETFLRIV QCRSVEGSCGFGGSE PATSGSETPGTSESA TPESGPGSEPATSGS ETPGSPAGSPTSTEE GTSTEPSEGSAPGSE PATSGSETPGSEPAT SGSETPGSEPATSGS ETPGTSTEPSEGSAP GTSESATPESGPGSE PATSGSETPGTSTEPS EGSAP	CTTCTGAAAGCGCTACTCCTGAGTCCGGCCCAGGTAGCCCGGCT GGCTCTCCGACTTCCACCGAGGAAGGTAGCCCGGCTGGCTCTCC AACTTCTACTGAAGAAGGTAGCCCGGCAGGCTCTCCGACCTCT ACTGAGGAAGGTACTTCTGAAAGCGCAACCCCGGAGTCCGGCC CAGGTACCTCTACCGAACCGTCTGAGGGCAGCGCACCAGGTTT TCCGACTATTCCGCTGTCTCGTCTGTTTGATAATGCTATGCTGCG TGCGCACCGTCTGCACCAGCTGGCCTTTGATACTTACCAGGAAT TTGAAGAAGCCTACATTCCTAAAGAGCAGAAGTACTCTTTCCTG CAAAACCCACAGACTTCTCTCTGCTTCAGCGAATCTATTCCGAC GCCTTCCAATCGCGAGGAAACTCAGCAAAAGTCCAATCTGGAA CTACTCCGCATTTCTCTGCTTCTGATTCAGAGCTGGCTAGAACC AGTGCAATTTCTGCGTTCCGTCTTCGCCAATAGCCTAGTTTATG GCGCATCCGACAGCAACGTATACGATCTCCTGAAAGATCTCGA GGAAGGCATTCAGACCCTGATGGGTCGTCTCGAGGATGGCTCT CCGCGTACTGGTCAGATCTTCAAGCAGACTTACTCTAAATTTGA TACTAACAGCCACAATGACGATGCGCTTCTAAAAAACTATGGT CTGCTGTATTGTTTTCGTAAAGATATGGACAAAGTTGAAACCTT CCTGCGTATTGTTCAGTGTCGTTCCGTTGAGGGCAGCTGTGGTT TCTAAGGTGGTAGCGAACCGGCAACTTCCGGCTCTGAAACCCC AGGTACTTCTGAAAGCGCTACTCCTGAGTCTGGCCCAGGTAGC GAACCTGCTACCTCTGGCTCTGAAACCCCAGGTAGCCCGGCAG GCTCTCCGACTTCCACCGAGGAAGGTACCTCTACTGAACCTTCT GAGGGTAGCGCTCCAGGTAGCGAACCGGCAACCTCTGGCTCTG AAACCCCAGGTAGCGAACCTGCTACCTCCGGCTCTGAAACTCC AGGTAGCGAACCGGCTACTTCCGGTTCTGAAACTCCAGGTACCT CTACCGAACCTTCCGAAGGCAGCGCACCAGGTACTTCTGAAAG CGCAACCCCTGAATCCGGTCCAGGTAGCGAACCGGCTACTTCT GGCTCTGAGACTCCAGGTACTTCTACCGAACCGTCCGAAGGTA GCGCACCA
AF576-hGH-AE144	GSTSSTAESPGPGSTS STAESPGPGSTSESPS GTAPGSTSSTAESPG PGSTSSTAESPGPGTS TPESGSASPGSTSESP SGTAPGTSPSGESST APGSTSESPSGTAPG STSESPSGTAPGTSPS GESSTAPGSTSESPSG TAPGSTSESPSGTAP GTSPSGESSTAPGSTS ESPSGTAPGSTSESPS GTAPGSTSESPSGTA PGTSTPESGSASPGST SESPSGTAPGTSTPES GSASPGSTSSTAESP GPGSTSSTAESPGPG TSTPESGSASPGTSTP ESGSASPGSTSESPSG TAPGTSTPESGSASP GTSTPESGSASPGSTS ESPSGTAPGSTSESPS GTAPGSTSESPSGTA PGSTSSTAESPGPGTS TPESGSASPGTSTPES GSASPGSTSESPSGT APGSTSESPSGTAPG TSTPESGSASPGSTSE SPSGTAPGSTSESPSG TAPGTSTPESGSASP	GGTTCTACTAGCTCTACCGCTGAATCTCCTGGCCCAGGTTCCAC TAGCTCTACCGCAGAATCTCCGGGCCCAGGTTCTACTAGCGAAT CCCCTTCTGGTACCGCTCCAGGTTCTACTAGCTCTACCGCTGAA TCTCCGGGTCCAGGTTCTACCAGCTCTACTGCAGAATCTCCTGG CCCAGGTACTTCTACTCCGGAAAGCGGTTCCGCTTCTCCAGGTT CTACCAGCGAATCTCCTTCTGGCACCGCTCCAGGTACCTCTCCT AGCGGCGAATCTTCTACCGCTCCAGGTTCTACTAGCGAATCTCC TTCTGGCACTGCACCAGGTTCTACCAGCGAATCTCCTTCTGGCA CCGCTCCAGGTACCTCTCCTAGCGGCGAATCTTCTACCGCTCCA GGTTCTACTAGCGAATCTCCTTCTGGCACTGCACCAGGTTCTAC CAGCGAATCTCCTTCTGGCACCGCTCCAGGTACCTCTCCTAGCG GCGAATCTTCTACCGCTCCAGGTTCTACTAGCGAATCTCCTTCT GGCACTGCACCAGGTTCTACTAGCGAATCTCCTTCTGGCACTGC ACCAGGTTCTACCAGCGAATCTCCGTCTGGCACTGCACCAGGTA CCTCTACCCCTGAAAGCGGTTCCGCTTCTCCAGGTTCTACTAGC GAATCTCCTTCTGGTACCGCTCCAGGTACTTCTACCCCTGAAAG CGGCTCCGCTTCTCCAGGTTCCACTAGCTCTACCGCTGAATCTC CGGGTCCAGGTTCTACTAGCTCTACTGCAGAATCTCCTGGCCCA GGTACCTCTACTCCGGAAAGCGGCTCTGCATCTCCAGGTACTTC TACCCCTGAAAGCGGTTCTGCATCTCCAGGTTCTACTAGCGAAT CCCCGTCTGGTACCGCACCAGGTACTTCTACCCCGGAAAGCGG CTCTGCTTCTCCAGGTACTTCTACCCCGGAAAGCGGCTCCGCAT CTCCAGGTTCTACTAGCGAATCTCCTTCTGGTACCGCTCCAGGT TCTACCAGCGAATCCCCGTCTGGTACTGCTCCAGGTTCTACCAG CGAATCTCCTTCTGGTACTGCACCAGGTTCTACTAGCTCTACTG CAGAATCTCCTGGCCCAGGTACCTCTACTCCGGAAAGCGGCTCT GCATCTCCAGGTACTTCTACCCCTGAAAGCGGTTCTGCATCTCC AGGTTCTACTAGCGAATCTCCTTCTGGCACTGCACCAGGTTCTA CCAGCGAATCTCCGTCTGGCACTGCACCAGGTACCTCTACCCCT GAAAGCGGTTCCGCTTCTCCAGGTTCTACTAGCGAATCTCCTTC

	GTSPSGESSTAPGSTS STAESPGPGTSPSGES STAPGSTSSTAESPGP GTSTPESGSASPGSTS ESPSGTAPGSTSSTA ESPGPGTSTPESGSAS PGTSTPESGSASPGFP TIPLSRLFDNAMLRA HRLHQLAFDTYQEF EEAYIPKEQKYSFLQ NPQTSLCFSESIPTPS NREETQQKSNLELLR ISLLLIQSWLEPVQFL RSVFANSLVYGASD SNVYDLLKDLEEGIQ TLMGRLEDGSPRTG QIFKQTYSKFDTNSH NDDALLKNYGLLYC FRKDMDKVETFLRI VQCRSVEGSCGFGG SEPATSGSETPGTSES ATPESGPGSEPATSG SETPGSPAGSPTSTEE GTSTEPSEGSAPGSE PATSGSETPGSEPAT SGSETPGSEPATSGS ETPGTSTEPSEGSAP GTSESATPESGPGSE PATSGSETPGTSTEPS EGSAP	TGGCACTGCACCAGGTTCTACCAGCGAATCTCCGTCTGGCACTG CACCAGGTACCTCTACCCCTGAAAGCGGTTCCGCTTCTCCAGGT ACTTCTCCGAGCGGTGAATCTTCTACCGCACCAGGTTCTACTAG CTCTACCGCTGAATCTCCGGGCCCAGGTACTTCTCCGAGCGGTG AATCTTCTACTGCTCCAGGTTCCACTAGCTCTACTGCTGAATCT CCTGGCCCAGGTACTTCTACTCCGGAAAGCGGTTCCGCTTCTCC AGGTTCTACTAGCGAATCTCCGTCTGGCACCGCACCAGGTTCTA CTAGCTCTACTGCAGAATCTCCTGGCCCAGGTACCTCTACTCCG GAAAGCGGCTCTGCATCTCCAGGTACTTCTACCCCTGAAAGCG GTTCTGCATCTCCAGGTTTTCCGACTATTCCGCTGTCTCGTCTGT TTGATAATGCTATGCTGCGTGCGCACCGTCTGCACCAGCTGGCC TTTGATACTTACCAGGAATTTGAAGAAGCcTACATTCCTAAAGA GCAGAAGTACTCTTTCCTGCAAAACCCACAGACTTCTCTCTGCT TCAGCGAATCTATTCCGACGCCTTCCAATCGCGAGGAAACTCA GCAAAAGTCCAATCTGGAACTACTCCGCATTTCTCTGCTTCTGA TTCAGAGCTGGCTAGAACCAGTGCAATTTCTGCGTTCCGTCTTC GCCAATAGCCTAGTTTATGGCGCATCCGACAGCAACGTATACG ATCTCCTGAAAGATCTCGAGGAAGGCATTCAGACCCTGATGGG TCGTCTCGAGGATGGCTCTCCGCGTACTGGTCAGATCTTCAAGC AGACTTACTCTAAATTTGATACTAACAGCCACAATGACGATGC GCTTCTAAAAAACTATGGTCTGCTGTATTGTTTTCGTAAAGATA TGGACAAAGTTGAAACCTTCCTGCGTATTGTTCAGTGTCGTTCC GTTGAGGGCAGCTGTGGTTTCTAAGGTGGTAGCGAACCGGCAA CTTCCGGCTCTGAAACCCCAGGTACTTCTGAAAGCGCTACTCCT GAGTCTGGCCCAGGTAGCGAACCTGCTACCTCTGGCTCTGAAA CCCCAGGTAGCCCGGCAGGCTCTCCGACTTCCACCGAGGAAGG TACCTCTACTGAACCTTCTGAGGGTAGCGCTCCAGGTAGCGAAC CGGCAACCTCTGGCTCTGAAACCCCAGGTAGCGAACCTGCTAC CTCCGGCTCTGAAACTCCAGGTAGCGAACCGGCTACTTCCGGTT CTGAAACTCCAGGTACCTCTACCGAACCTTCCGAAGGCAGCGC ACCAGGTACTTCTGAAAGCGCAACCCCTGAATCCGGTCCAGGT AGCGAACCGGCTACTTCTGGCTCTGAGACTCCAGGTACTTCTAC CGAACCGTCCGAAGGTAGCGCACCA
AE624- hGH- AE144	MAEPAGSPTSTEEGT PGSGTASSSPGSSTPS GATGSPGASPGTSST GSPGSPAGSPTSTEE GTSESATPESGPGTS TEPSEGSAPGSPAGS PTSTEEGTSTEPSEGS APGTSTEPSEGSAPG TSESATPESGPGSEP ATSGSETPGSEPATS GSETPGSPAGSPTST EEGTSESATPESGPG TSTEPSEGSAPGTSTE PSEGSAPGSPAGSPT STEEGTSTEPSEGSAP GTSTEPSEGSAPGTS ESATPESGPGTSTEPS EGSAPGTSESATPES GPGSEPATSGSETPG TSTEPSEGSAPGTSTE PSEGSAPGTSESATP ESGPGTSESATPESG PGSPAGSPTSTEEGT SESATPESGPGSEPA TSGSETPGTSESATPE SGPGTSTEPSEGSAP	ATGGCTGAACCTGCTGGCTCTCCAACCTCCACTGAGGAAGGTA CCCCGGGTAGCGGTACTGCTTCTTCCTCTCCAGGTAGCTCTACC CCTTCTGGTGCAACCGGCTCTCCAGGTGCTTCTCCGGGCACCAG CTCTACCGGTTCTCCAGGTAGCCCGGCTGGCTCTCCTACCTCTA CTGAGGAAGGTACTTCTGAAAGCGCTACTCCTGAGTCTGGTCCA GGTACCTCTACTGAACCGTCCGAAGGTAGCGCTCCAGGTAGCC CAGCAGGCTCTCCGACTTCCACTGAGGAAGGTACTTCTACTGAA CCTTCCGAAGGCAGCGCACCAGGTACCTCTACTGAACCTTCTGA GGGCAGCGCTCCAGGTACTTCTGAAAGCGCTACCCCGGAATCT GGCCCAGGTAGCGAACCGGCTACTTCTGGTTCTGAAACCCCAG GTAGCGAACCGGCTACCTCCGGTTCTGAAACTCCAGGTAGCCC GGCAGGCTCTCCGACCTCTACTGAGGAAGGTACTTCTGAAAGC GCAACCCCGGAGTCCGGCCCAGGTACCTCTACCGAACCGTCTG AGGGCAGCGCACCAGGTACTTCTACCGAACCGTCCGAGGGTAG CGCACCAGGTAGCCCAGCAGGTTCTCCTACCTCCACCGAGGAA GGTACTTCTACCGAACCGTCCGAGGGTAGCGCACCAGGTACCT CTACTGAACCTTCTGAGGGCAGCGCTCCAGGTACTTCTGAAAGC GCTACCCCGGAGTCCGGTCCAGGTACTTCTACTGAACCGTCCGA AGGTAGCGCACCAGGTACTTCTGAAAGCGCAACCCCTGAATCC GGTCCAGGTAGCGAACCGGCTACTTCTGGCTCTGAGACTCCAG GTACTTCTACCGAACCGTCCGAAGGTAGCGCACCAGGTACTTCT ACTGAACCGTCTGAAGGTAGCGCACCAGGTACTTCTGAAAGCG CAACCCCGGAATCCGGCCCAGGTACCTCTGAAAGCGCAACCCC GGAGTCCGGCCCAGGTAGCCCTGCTGGCTCTCCAACCTCCACCG AAGAAGGTACCTCTGAAAGCGCAACCCCTGAATCCGGCCCAGG TAGCGAACCGGCAACCTCCGGTTCTGAAACCCCAGGTACCTCT

	GTSTEPSEGSAPGTS TEPSEGSAPGTSTEPS EGSAPGTSTEPSEGS APGTSTEPSEGSAPG SPAGSPTSTEEGTSTE PSEGSAPGTSESATP ESGPGSEPATSGSET PGTSESATPESGPGS EPATSGSETPGTSES ATPESGPGTSTEPSE GSAPGTSESATPESG PGSPAGSPTSTEEGSP AGSPTSTEEGSPAGS PTSTEEGTSESATPES GPGTSTEPSEGSAPG FPTIPLSRLFDNAML RAHRLHQLAFDTYQ EFEEAYIPKEQKYSF LQNPQTSLCFSESIPT PSNREETQQKSNLEL LRISLLLIQSWLEPVQ FLRSVFANSLVYGAS DSNVYDLLKDLEEGI QTLMGRLEDGSPRT GQIFKQTYSKFDTNS HNDDALLKNYGLLY CFRKDMDKVETFLRI VQCRSVEGSCGFGG SEPATSGSETPGTSES ATPESGPGSEPATSG SETPGSPAGSPTSTEE GTSTEPSEGSAPGSE PATSGSETPGSEPAT SGSETPGSEPATSGS ETPGTSTEPSEGSAP GTSESATPESGPGSE PATSGSETPGTSTEPS EGSAP	GAAAGCGCTACTCCGGAGTCTGGCCCAGGTACCTCTACTGAAC CGTCTGAGGGTAGCGCTCCAGGTACTTCTACTGAACCGTCCGAA GGTAGCGCACCAGGTACTTCTACCGAACCGTCCGAAGGCAGCG CTCCAGGTACCTCTACTGAACCTTCCGAGGGCAGCGCTCCAGGT ACCTCTACCGAACCTTCTGAAGGTAGCGCACCAGGTACTTCTAC CGAACCGTCCGAGGGTAGCGCACCAGGTAGCCCAGCAGGTTCT CCTACCTCCACCGAGGAAGGTACTTCTACCGAACCGTCCGAGG GTAGCGCACCAGGTACCTCTGAAAGCGCAACTCCTGAGTCTGG CCCAGGTAGCGAACCTGCTACCTCCGGCTCTGAGACTCCAGGT ACCTCTGAAAGCGCAACCCCCGGAATCTGGTCCAGGTAGCGAAC CTGCAACCTCTGGCTCTGAAACCCCAGGTACCTCTGAAAGCGCT ACTCCTGAATCTGGCCCAGGTACTTCTACTGAACCGTCCGAGGG CAGCGCACCAGGTACTTCTGAAAGCGCTACTCCTGAGTCCGGC CCAGGTAGCCCGGCTGGCTCTCCGACTTCCACCGAGGAAGGTA GCCCGGCTGGCTCTCCAACTTCTACTGAAGAAGGTAGCCCGGC AGGCTCTCCGACCTCTACTGAGGAAGGTACTTCTGAAAGCGCA ACCCCGGAGTCCGGCCCAGGTACCTCTACCGAACCGTCTGAGG GCAGCGCACCAGGTTTTCCGACTATTCCGCTGTCTCGTCTGTTT GATAATGCTATGCTGCGTGCGCACCGTCTGCACCAGCTGGCCTT TGATACTTACCAGGAATTTGAAGAAGCcTACATTCCTAAAGAGC AGAAGTACTCTTTCCTGCAAAACCCACAGACTTCTCTCTGCTTC AGCGAATCTATTCCGACGCCTTCCAATCGCGAGGAAACTCAGC AAAAGTCCAATCTGGAACTACTCCGCATTTCTCTGCTTCTGATT CAGAGCTGGCTAGAACCAGTGCAATTTCTGCGTTCCGTCTTCGC CAATAGCCTAGTTTATGGCGCATCCGACAGCAACGTATACGAT CTCCTGAAAGATCTCGAGGAAGGCATTCAGACCCTGATGGGTC GTCTCGAGGATGGCTCTCCGCGTACTGGTCAGATCTTCAAGCAG ACTTACTCTAAATTTGATACTAACAGCCACAATGACGATGCGCT TCTAAAAAACTATGGTCTGCTGTATTGTTTTCGTAAAGATATGG ACAAAGTTGAAACCTTCCTGCGTATTGTTCAGTGTCGTTCCGTT GAGGGCAGCTGTGGTTTCTAAGGTGGTAGCGAACCGGCAACTT CCGGCTCTGAAACCCCAGGTACTTCTGAAAGCGCTACTCCTGAG TCTGGCCCAGGTAGCGAACCTGCTACCTCTGGCTCTGAAACCCC AGGTAGCCCGGCAGGCTCTCCGACTTCCACCGAGGAAGGTACC TCTACTGAACCTTCTGAGGGTAGCGCTCCAGGTAGCGAACCGG CAACCTCTGGCTCTGAAACCCCAGGTAGCGAACCTGCTACCTCC GGCTCTGAAACTCCAGGTAGCGAACCGGCTACTTCCGGTTCTGA AACTCCAGGTACCTCTACCGAACCTTCCGAAGGCAGCGCACCA GGTACTTCTGAAAGCGCAACCCCTGAATCCGGTCCAGGTAGCG AACCGGCTACTTCTGGCTCTGAGACTCCAGGTACTTCTACCGAA CCGTCCGAAGGTAGCGCACCA
AD836-hGH-AE144	GSSESGSSEGGPGSS ESGSSEGGPGESPGG SSGSESGSGGEPSES GSSGESPGGSSGSES GESPGGSSGSESGSS ESGSSEGGPGSSESG SSEGGPGSSESGSSE GGPGESPGGSSGSES GESPGGSSGSESGES PGGSSGSESGSSESG SSEGGPGSSESGSSE GGPGSSESGSSEGGP GSSESGSSEGGPGSS ESGSSEGGPGSSESG SSEGGPGSGGEPSES GSSGESPGGSSGSES GESPGGSSGSESGSG GEPSESGSSGSEGSS	GGTTCCTCTGAAAGCGGTTCTTCCGAAGGTGGTCCAGGTTCCTC TGAAAGCGGTTCTTCTGAGGGTGGTCCAGGTGAATCTCCGGGT GGCTCCAGCGGTTCCGAGTCAGGTTCTGGTGGCGAACCTTCCGA GTCTGGTAGCTCAGGTGAATCTCCGGGTGGTTCTAGCGGTTCCG AGTCAGGTGAATCTCCGGGTGGTTCCAGCGGTTCTGAGTCAGGT TCCTCCGAAAGCGGTTCTTCTGAGGGCGGTCCAGGTTCCTCCGA AAGCGGTTCTTCCGAGGGCGGTCCAGGTTCTTCTGAAAGCGGTT CTTCCGAGGGCGGTCCAGGTGAATCTCCTGGTGGTTCCAGCGGT TCCGAGTCAGGTGAATCTCCAGGTGGCTCTAGCGGTTCCGAGTC AGGTGAATCTCCTGGTGGTTCTAGCGGTTCTGAATCAGGTTCCT CCGAAAGCGGTTCTTCTGAGGGCGGTCCAGGTTCCTCCGAAAG CGGTTCTTCCGAGGGCGGTCCAGGTTCTTCTGAAAGCGGTTCTT CCGAGGGCGGTCCAGGTTCCTCTGAAAGCGGTTCTTCTGAGGG CGGTCCAGGTTCTTCCGAAAGCGGTTCTTCCGAGGGCGGTCCAG GTTCTTCCGAAAGCGGTTCTTCTGAAGGCGGTCCAGGTTCTGGT GGCGAACCGTCCGAGTCTGGTAGCTCAGGTGAATCTCCGGGTG GCTCTAGCGGTTCCGAGTCAGGTGAATCTCCTGGTGGTTCCAGC GGTTCCGAGTCAGGTTCCGGTGGCGAACCGTCCGAATCTGGTA

	GPGESSGSSESGSSE	GCTCAGGTAGCGAAGGTTCTTCTGGTCCAGGCGAATCTTCAGGT
	GGPGSGGEPSESGSS	TCCTCTGAAAGCGGTTCTTCTGAGGGCGGTCCAGGTTCCGGTGG
	GSEGSSGPGESSGSS	CGAACCGTCCGAATCTGGTAGCTCAGGTAGCGAAGGTTCTTCTG
	ESGSSEGGPGSGGEP	GTCCAGGCGAATCTTCAGGTTCCTCTGAAAGCGGTTCTTCTGAG
	SESGSSGESPGGSSG	GGCGGTCCAGGTTCCGGTGGCGAACCTTCCGAATCTGGTAGCTC
	SESGSGGEPSESGSS	AGGTGAATCTCCGGGTGGTTCTAGCGGTTCTGAGTCAGGTTCTG
	GSGGEPSESGSSGSS	GTGGTGAACCTTCCGAGTCTGGTAGCTCAGGTTCTGGTGGCGAA
	ESGSSEGGPGSGGEP	CCATCCGAGTCTGGTAGCTCAGGTTCTTCCGAAAGCGGTTCTTC
	SESGSSGSGGEPSES	CGAAGGCGGTCCAGGTTCTGGTGGTGAACCGTCCGAATCTGGT
	GSSGSEGSSGPGESS	AGCTCAGGTTCTGGTGGCGAACCATCCGAATCTGGTAGCTCAG
	GESPGGSSGSESGSE	GTAGCGAAGGTTCTTCTGGTCCTGGCGAATCTTCAGGTGAATCT
	GSSGPGESSGSEGSS	CCAGGTGGCTCTAGCGGTTCCGAATCAGGTAGCGAAGGTTCTTC
	GPGESSGSGGEPSES	CGGTCCAGGTGAATCTTCAGGTAGCGAAGGTTCTTCTGGTCCTG
	GSSGSSESGSSEGGP	GTGAATCCTCAGGTTCCGGTGGCGAACCATCTGAATCTGGTAGC
	GSSESGSSEGGPGES	TCAGGTTCCTCTGAAAGCGGTTCTTCCGAAGGTGGTCCAGGTTC
	PGGSSGSESGSGGEP	CTCTGAAAGCGGTTCTTCTGAGGGTGGTCCAGGTGAATCTCCGG
	SESGSSGSEGSSGPG	GTGGCTCCAGCGGTTCCGAGTCAGGTTCTGGTGGCGAACCATCC
	ESSGESPGGSSGSES	GAATCTGGTAGCTCAGGTAGCGAAGGTTCTTCTGGTCCTGGCGA
	GSEGSSGPGSSESGS	ATCTTCAGGTGAATCTCCAGGTGGCTCTAGCGGTTCCGAATCAG
	SEGGPGSGGEPSESG	GTAGCGAAGGTTCTTCCGGTCCaGGTTCCTCTGAAAGCGGTTCT
	SSGSEGSSGPGESSG	TCTGAGGGCGGTCCAGGTTCTGGTGGCGAACCATCTGAATCTG
	SEGSSGPGESSGSEG	GTAGCTCAGGTAGCGAAGGTTCTTCCGGTCCGGGTGAATCTTCA
	SSGPGESSGSGGEPS	GGTAGCGAAGGTTCTTCCGGTCCAGGTGAATCTTCAGGTAGCG
	ESGSSGSGGEPSESG	AAGGTTCTTCTGGTCCTGGTGAATCCTCAGGTTCCGGTGGCGAA
	SSGESPGGSSGSESG	CCATCTGAATCTGGTAGCTCAGGTTCTGGTGGCGAACCATCCGA
	ESPGGSSGSESGSGG	ATCTGGTAGCTCAGGTGAATCTCCGGGTGGCTCCAGCGGTTCTG
	EPSESGSSGSEGSSGP	AATCAGGTGAATCTCCTGGTGGCTCCAGCGGTTCTGAGTCAGGT
	GESSGESPGGSSGSE	TCTGGTGGCGAACCATCCGAATCTGGTAGCTCAGGTAGCGAAG
	SGSSESGSSEGGPGS	GTTCTTCTGGTCCTGGCGAATCTTCAGGTGAATCTCCAGGTGGC
	SESGSSEGGPGSSES	TCTAGCGGTTCCGAATCAGGTTCCTCTGAAAGCGGTTCTTCTGA
	GSSEGGPGSGGEPSE	GGGCGGTCCAGGTTCTTCCGAAAGCGGTTCTTCCGAGGGCGGT
	SGSSGSSESGSSEGG	CCAGGTTCTTCCGAAAGCGGTTCTTCTGAAGGCGGTCCAGGTTC
	PGESPGGSSGSESGS	TGGTGGCGAACCGTCCGAATCTGGTAGCTCAGGTTCCTCCGAA
	GGEPSESGSSGSSES	AGCGGTTCTTCTGAAGGTGGTCCAGGTGAATCTCCAGGTGGTTC
	GSSEGGPGESPGGSS	TAGCGGTTCTGAATCAGGTTCTGGTGGCGAACCGTCCGAATCTG
	GSESGSGGEPSESGS	GTAGCTCAGGTTCCTCCGAAAGCGGTTCTTCTGAAGGTGGTCCA
	SGESPGGSSGSESGS	GGTGAATCTCCAGGTGGTTCTAGCGGTTCTGAATCAGGTTCTGG
	GGEPSESGSSGFPTIP	TGGCGAACCGTCCGAATCTGGTAGCTCAGGTGAATCTCCTGGTG
	LSRLFDNAMLRAHR	GTTCCAGCGGTTCCGAGTCAGGTTCTGGTGGCGAACCTTCCGAA
	LHQLAFDTYQEFEE	TCTGGTAGCTCAGGTTTTCCGACTATTCCGCTGTCTCGTCTGTTT
	AYIPKEQKYSFLQNP	GATAATGCTATGCTGCGTGCGCACCGTCTGCACCAGCTGGCCTT
	QTSLCFSESIPTPSNR	TGATACTTACCAGGAATTTGAAGAAGCcTACATTCCTAAAGAGC
	EETQQKSNLELLRIS	AGAAGTACTCTTTCCTGCAAAACCCACAGACTTCTCTCTGCTTC
	LLLIQSWLEPVQFLR	AGCGAATCTATTCCGACGCCTTCCAATCGCGAGGAAACTCAGC
	SVFANSLVYGASDS	AAAAGTCCAATCTGGAACTACTCCGCATTTCTCTGCTTCTGATT
	NVYDLLKDLEEGIQT	CAGAGCTGGCTAGAACCAGTGCAATTTCTGCGTTCCGTCTTCGC
	LMGRLEDGSPRTGQI	CAATAGCCTAGTTTATGGCGCATCCGACAGCAACGTATACGAT
	FKQTYSKFDTNSHN	CTCCTGAAAGATCTCGAGGAAGGCATTCAGACCCTGATGGGTC
	DDALLKNYGLLYCF	GTCTCGAGGATGGCTCTCCGCGTACTGGTCAGATCTTCAAGCAG
	RKDMDKVETFLRIV	ACTTACTCTAAATTTGATACTAACAGCCACAATGACGATGCGCT
	QCRSVEGSCGFGGSE	TCTAAAAAACTATGGTCTGCTGTATTGTTTTCGTAAAGATATGG
	PATSGSETPGTSESA	ACAAAGTTGAAACCTTCCTGCGTATTGTTCAGTGTCGTTCCGTT
	TPESGPGSEPATSGS	GAGGGCAGCTGTGGTTTCTAAGGTGGTAGCGAACCGGCAACTT
	ETPGSPAGSPTSTEE	CCGGCTCTGAAACCCCAGGTACTTCTGAAAGCGCTACTCCTGAG
	GTSTEPSEGSAPGSE	TCTGGCCCAGGTAGCGAACCTGCTACCTCTGGCTCTGAAACCCC
	PATSGSETPGSEPAT	AGGTAGCCCGGCAGGCTCTCCGACTTCCACCGAGGAAGGTACC
	SGSETPGSEPATSGS	TCTACTGAACCTTCTGAGGGTAGCGCTCCAGGTAGCGAACCGG
	ETPGTSTEPSEGSAP	CAACCTCTGGCTCTGAAACCCCAGGTAGCGAACCTGCTACCTCC
	GTSESATPESGPGSE	GGCTCTGAAACTCCAGGTAGCGAACCGGCTACTTCCGGTTCTGA
	PATSGSETPGTSTEPS EGSAP	AACTCCAGGTACCTCTACCGAACCTTCCGAAGGCAGCGCACCA GGTACTTCTGAAAGCGCAACCCCTGAATCCGGTCCAGGTAGCG AACCGGCTACTTCTGGCTCTGAGACTCCAGGTACTTCTACCGAA CCGTCCGAAGGTAGCGCACCA

AE864-hGH-AE144	GSPAGSPTSTEEGTS	GGTAGCCCGGCTGGCTCTCCTACCTCTACTGAGGAAGGTACTTC
	ESATPESGPGTSTEPS	TGAAAGCGCTACTCCTGAGTCTGGTCCAGGTACCTCTACTGAAC
	EGSAPGSPAGSPTST	CGTCCGAAGGTAGCGCTCCAGGTAGCCCAGCAGGCTCTCCGAC
	EEGTSTEPSEGSAPG	TTCCACTGAGGAAGGTACTTCTACTGAACCTTCCGAAGGCAGC
	TSTEPSEGSAPGTSES	GCACCAGGTACCTCTACTGAACCTTCTGAGGGCAGCGCTCCAG
	ATPESGPGSEPATSG	GTACTTCTGAAAGCGCTACCCCGGAATCTGGCCCAGGTAGCGA
	SETPGSEPATSGSETP	ACCGGCTACTTCTGGTTCTGAAACCCCAGGTAGCGAACCGGCT
	GSPAGSPTSTEEGTS	ACCTCCGGTTCTGAAACTCCAGGTAGCCCGGCAGGCTCTCCGAC
	ESATPESGPGTSTEPS	CTCTACTGAGGAAGGTACTTCTGAAAGCGCAACCCCCGGAGTCC
	EGSAPGTSTEPSEGS	GGCCCAGGTACCTCTACCGAACCGTCTGAGGGCAGCGCACCAG
	APGSPAGSPTSTEEG	GTACTTCTACCGAACCGTCCGAGGGTAGCGCACCAGGTAGCCC
	TSTEPSEGSAPGTSTE	AGCAGGTTCTCCTACCTCCACCGAGGAAGGTACTTCTACCGAAC
	PSEGSAPGTSESATP	CGTCCGAGGGTAGCGCACCAGGTACCTCTACTGAACCTTCTGA
	ESGPGTSTEPSEGSA	GGGCAGCGCTCCAGGTACTTCTGAAAGCGCTACCCCGGAGTCC
	PGTSESATPESGPGS	GGTCCAGGTACTTCTACTGAACCGTCCGAAGGTAGCGCACCAG
	EPATSGSETPGTSTEP	GTACTTCTGAAAGCGCAACCCCTGAATCCGGTCCAGGTAGCGA
	SEGSAPGTSTEPSEG	ACCGGCTACTTCTGGCTCTGAGACTCCAGGTACTTCTACCGAAC
	SAPGTSESATPESGP	CGTCCGAAGGTAGCGCACCAGGTACTTCTACTGAACCGTCTGA
	GTSESATPESGPGSP	AGGTAGCGCACCAGGTACTTCTGAAAGCGCAACCCCGGAATCC
	AGSPTSTEEGTSESA	GGCCCAGGTACCTCTGAAAGCGCAACCCCCGGAGTCCGGCCCAG
	TPESGPGSEPATSGS	GTAGCCCTGCTGGCTCTCCAACCTCCACCGAAGAAGGTACCTCT
	ETPGTSESATPESGP	GAAAGCGCAACCCCTGAATCCGGCCCAGGTAGCGAACCGGCAA
	GTSTEPSEGSAPGTS	CCTCCGGTTCTGAAACCCCAGGTACCTCTGAAAGCGCTACTCCG
	TEPSEGSAPGTSTEPS	GAGTCTGGCCCAGGTACCTCTACTGAACCGTCTGAGGGTAGCG
	EGSAPGTSTEPSEGS	CTCCAGGTACTTCTACTGAACCGTCCGAAGGTAGCGCACCAGG
	APGTSTEPSEGSAPG	TACTTCTACCGAACCGTCCGAAGGCAGCGCTCCAGGTACCTCTA
	TSTEPSEGSAPGSPA	CTGAACCTTCCGAGGGCAGCGCTCCAGGTACCTCTACCGAACCT
	GSPTSTEEGTSTEPSE	TCTGAAGGTAGCGCACCAGGTACTTCTACCGAACCGTCCGAGG
	GSAPGTSESATPESG	GTAGCGCACCAGGTAGCCCAGCAGGTTCTCCTACCTCCACCGA
	PGSEPATSGSETPGT	GGAAGGTACTTCTACCGAACCGTCCGAGGGTAGCGCACCAGGT
	SESATPESGPGSEPA	ACCTCTGAAAGCGCAACTCCTGAGTCTGGCCCAGGTAGCGAAC
	TSGSETPGTSESATPE	CTGCTACCTCCGGCTCTGAGACTCCAGGTACCTCTGAAAGCGCA
	SGPGTSTEPSEGSAP	ACCCCGGAATCTGGTCCAGGTAGCGAACCTGCAACCTCTGGCT
	GTSESATPESGPGSP	CTGAAACCCCAGGTACCTCTGAAAGCGCTACTCCTGAATCTGGC
	AGSPTSTEEGSPAGS	CCAGGTACTTCTACTGAACCGTCCGAGGGCAGCGCACCAGGTA
	PTSTEEGSPAGSPTST	CTTCTGAAAGCGCTACTCCTGAGTCCGGCCCAGGTAGCCCGGCT
	EEGTSESATPESGPG	GGCTCTCCGACTTCCACCGAGGAAGGTAGCCCGGCTGGCTCTCC
	TSTEPSEGSAPGTSES	AACTTCTACTGAAGAAGGTAGCCCGGCAGGCTCTCCGACCTCT
	ATPESGPGSEPATSG	ACTGAGGAAGGTACTTCTGAAAGCGCAACCCCGGAGTCCGGCC
	SETPGTSESATPESGP	CAGGTACCTCTACCGAACCGTCTGAGGGCAGCGCACCAGGTAC
	GSEPATSGSETPGTS	CTCTGAAAGCGCAACTCCTGAGTCTGGCCCAGGTAGCGAACCT
	ESATPESGPGTSTEPS	GCTACCTCCGGCTCTGAGACTCCAGGTACCTCTGAAAGCGCAA
	EGSAPGSPAGSPTST	CCCCGGAATCTGGTCCAGGTAGCGAACCTGCAACCTCTGGCTCT
	EEGTSESATPESGPG	GAAACCCCAGGTACCTCTGAAAGCGCTACTCCTGAATCTGGCC
	SEPATSGSETPGTSES	CAGGTACTTCTACTGAACCGTCCGAGGGCAGCGCACCAGGTAG
	ATPESGPGSPAGSPT	CCCTGCTGGCTCTCCAACCTCCACCGAAGAAGGTACCTCTGAAA
	STEEGSPAGSPTSTEE	GCGCAACCCCTGAATCCGGCCCAGGTAGCGAACCGGCAACCTC
	GTSTEPSEGSAPGTS	CGGTTCTGAAACCCCAGGTACTTCTGAAAGCGCTACTCCTGAGT
	ESATPESGPGTSESA	CCGGCCCAGGTAGCCCGGCTGGCTCTCCGACTTCCACCGAGGA
	TPESGPGTSESATPES	AGGTAGCCCGGCTGGCTCTCCAACTTCTACTGAAGAAGGTACTT
	GPGSEPATSGSETPG	CTACCGAACCTTCCGAGGGCAGCGCACCAGGTACTTCTGAAAG
	SEPATSGSETPGSPA	CGCTACCCCTGAGTCCGGCCCAGGTACTTCTGAAAGCGCTACTC
	GSPTSTEEGTSTEPSE	CTGAATCCGGTCCAGGTACTTCTGAAAGCGCTACCCCGGAATCT
	GSAPGTSTEPSEGSA	GGCCCAGGTAGCGAACCGGCTACTTCTGGTTCTGAAACCCCAG
	PGSEPATSGSETPGT	GTAGCGAACCGGCTACCTCCGGTTCTGAAACTCCAGGTAGCCC

	SESATPESGPGTSTEP SEGSAPGFPTIPLSRL FDNAMLRAHRLHQL AFDTYQEFEEAYIPK EQKYSFLQNPQTSLC FSESIPTPSNREETQQ KSNLELLRISLLLIQS WLEPVQFLRSVFAN SLVYGASDSNVYDL LKDLEEGIQTLMGRL EDGSPRTGQIFKQTY SKFDTNSHNDDALL KNYGLLYCFRKDMD KVETFLRIVQCRSVE GSCGFGGSEPATSGS ETPGTSESATPESGP GSEPATSGSETPGSP AGSPTSTEEGTSTEPS EGSAPGSEPATSGSE TPGSEPATSGSETPG SEPATSGSETPGTSTE PSEGSAPGTSESATP ESGPGSEPATSGSET PGTSTEPSEGSAP	AGCAGGCTCTCCGACTTCCACTGAGGAAGGTACTTCTACTGAAC CTTCCGAAGGCAGCGCACCAGGTACCTCTACTGAACCTTCTGAG GGCAGCGCTCCAGGTAGCGAACCTGCAACCTCTGGCTCTGAAA CCCCAGGTACCTCTGAAAGCGCTACTCCTGAATCTGGCCCAGGT ACTTCTACTGAACCGTCCGAGGGCAGCGCACCAGGTTTTCCGAC TATTCCGCTGTCTCGTCTGTTTGATAATGCTATGCTGCGTGCGC ACCGTCTGCACCAGCTGGCCTTTGATACTTACCAGGAATTTGAA GAAGCcTACATTCCTAAAGAGCAGAAGTACTCTTTCCTGCAAAA CCCACAGACTTCTCTCTGCTTCAGCGAATCTATTCCGACGCCTT CCAATCGCGAGGAAACTCAGCAAAAGTCCAATCTGGAACTACT CCGCATTTCTCTGCTTCTGATTCAGAGCTGGCTAGAACCAGTGC AATTTCTGCGTTCCGTCTTCGCCAATAGCCTAGTTTATGGCGCA TCCGACAGCAACGTATACGATCTCCTGAAAGATCTCGAGGAAG GCATTCAGACCCTGATGGGTCGTCTCGAGGATGGCTCTCCGCGT ACTGGTCAGATCTTCAAGCAGACTTACTCTAAATTTGATACTAA CAGCCACAATGACGATGCGCTTCTAAAAAACTATGGTCTGCTGT ATTGTTTTCGTAAAGATATGGACAAAGTTGAAACCTTCCTGCGT ATTGTTCAGTGTCGTTCCGTTGAGGGCAGCTGTGGTTTCTAAGG TGGTAGCGAACCGGCAACTTCCGGCTCTGAAACCCCAGGTACT TCTGAAAGCGCTACTCCTGAGTCTGGCCCAGGTAGCGAACCTG CTACCTCTGGCTCTGAAACCCCAGGTAGCCCGGCAGGCTCTCCG ACTTCCACCGAGGAAGGTACCTCTACTGAACCTTCTGAGGGTA GCGCTCCAGGTAGCGAACCGGCAACCTCTGGCTCTGAAACCCC AGGTAGCGAACCTGCTACCTCCGGCTCTGAAACTCCAGGTAGC GAACCGGCTACTTCCGGTTCTGAAACTCCAGGTACCTCTACCGA ACCTTCCGAAGGCAGCGCACCAGGTACTTCTGAAAGCGCAACC CCTGAATCCGGTCCAGGTAGCGAACCGGCTACTTCTGGCTCTGA GACTCCAGGTACTTCTACCGAACCGTCCGAAGGTAGCGCACCA
AF864- hGH- AE144	GSTSESPSGTAPGTSP SGESSTAPGSTSESPS GTAPGSTSESPSGTA PGTSTPESGSASPGTS TPESGSASPGSTSESP SGTAPGSTSESPSGT APGTSPSGESSTAPG STSESPSGTAPGTSPS GESSTAPGTSPSGESS TAPGSTSSTAESPGP GTSPSGESSTAPGTSP SGESSTAPGSTSSTA ESPGPGTSTPESGSAS PGTSTPESGSASPGST SESPSGTAPGSTSESP SGTAPGTSTPESGSA SPGSTSSTAESPGPGT STPESGSASPGSTSES PSGTAPGTSPSGESST APGSTSSTAESPGPG TSPSGESSTAPGTSTP ESGSASPGSTSSTAES PGPGSTSSTAESPGP GSTSSTAESPGPGSTS STAESPGPGTSPSGES STAPGSTSESPSGTAP GSTSESPSGTAPGTS TPESGPXXXGASASG APSTXXXXSESPSGT APGSTSESPSGTAPG STSESPSGTAPGSTSE	GGTTCTACCAGCGAATCTCCTTCTGGCACCGCTCCAGGTACCTC TCCTAGCGGCGAATCTTCTACCGCTCCAGGTTCTACTAGCGAAT CTCCTTCTGGCACTGCACCAGGTTCTACTAGCGAATCCCCGTCT GGTACTGCTCCAGGTACTTCTACTCCTGAAAGCGGTTCCGCTTC TCCAGGTACCTCTACTCCGGAAAGCGGTTCTGCATCTCCAGGTT CTACCAGCGAATCTCCTTCTGGCACCGCTCCAGGTTCTACTAGC GAATCCCCGTCTGGTACCGCACCAGGTACTTCTCCTAGCGGCGA ATCTTCTACCGCACCAGGTTCTACTAGCGAATCTCCGTCTGGCA CTGCTCCAGGTACTTCTCCTAGCGGTGAATCTTCTACCGCTCCA GGTACTTCCCCTAGCGGCGAATCTTCTACCGCTCCAGGTTCTAC TAGCTCTACTGCAGAATCTCCGGGCCCAGGTACCTCTCCTAGCG GTGAATCTTCTACCGCTCCAGGTACTTCTCCGAGCGGTGAATCT TCTACCGCTCCAGGTTCTACTAGCTCTACTGCAGAATCTCCTGG CCCAGGTACCTCTACTCCGGAAAGCGGCTCTGCATCTCCAGGTA CTTCTACCCCTGAAAGCGGTTCTGCATCTCCAGGTTCTACTAGC GAATCTCCTTCTGGCACTGCACCAGGTTCTACCAGCGAATCTCC GTCTGGCACTGCACCAGGTACCTCTACCCCTGAAAGCGGTTCCG CTTCTCCAGGTTCTACCAGCTCTACCGCAGAATCTCCTGGTCCA GGTACCTCTACTCCGGAAAGCGGCTCTGCATCTCCAGGTTCTAC TAGCGAATCTCCTTCTGGCACTGCACCAGGTACTTCTCCGAGCG GTGAATCTTCTACCGCACCAGGTTCTACTAGCTCTACCGCTGAA TCTCCGGGCCCAGGTACTTCTCCGAGCGGTGAATCTTCTACTGC TCCAGGTACCTCTACTCCTGAAAGCGGTTCTGCATCTCCAGGTT CCACTAGCTCTACCGCAGAATCTCCGGGCCCAGGTTCTACTAGC TCTACTGCTGAATCTCCTGGCCCAGGTTCTACTAGCTCTACTGC TGAATCTCCGGGTCCAGGTTCTACCAGCTCTACTGCTGAATCTC CTGGTCCAGGTACCTCCCCGAGCGGTGAATCTTCTACTGCACCA GGTTCTACTAGCGAATCTCCTTCTGGCACTGCACCAGGTTCTAC CAGCGAATCTCCGTCTGGCACTGCACCAGGTACCTCTACCCCTG AAAGCGGTCCXXXXXXXXXXXXTGCAAGCGCAAGCGGCGCGC CAAGCACGGGAXXXXXXXXTAGCGAATCTCCTTCTGGTACCGC

	SPSGTAPGSTSESPSG TAPGSTSESPSGTAP GTSTPESGSASPGTSP SGESSTAPGTSPSGES STAPGSTSSTAESPGP GTSPSGESSTAPGTS TPESGSASPGSTSESP SGTAPGSTSESPSGT APGTSPSGESSTAPG STSESPSGTAPGTSTP ESGSASPGTSTPESGS ASPGSTSESPSGTAP GTSTPESGSASPGSTS STAESPGPGSTSESPS GTAPGSTSESPSGTA PGTSPSGESSTAPGST SSTAESPGPGTSPSGE SSTAPGTSTPESGSAS PGTSPSGESSTAPGTS PSGESSTAPGTSPSGE SSTAPGSTSSTAESPG PGSTSSTAESPGPGTS PSGESSTAPGSSPSAS TGTGPGSSTPSGATG SPGSSTPSGATGSPG FPTIPLSRLFDNAML RAHRLHQLAFDTYQ EFEEAYIPKEQKYSF LQNPQTSLCFSESIPT PSNREETQQKSNLEL LRISLLLIQSWLEPVQ FLRSVFANSLVYGAS DSNVYDLLKDLEEGI QTLMGRLEDGSPRT GQIFKQTYSKFDTNS HNDDALLKNYGLLY CFRKDMDKVETFLRI VQCRSVEGSCGFGG SEPATSGSETPGTSES ATPESGPGSEPATSG SETPGSPAGSPTSTEE GTSTEPSEGSAPGSE PATSGSETPGSEPAT SGSETPGSEPATSGS ETPGTSTEPSEGSAP GTSESATPESGPGSE PATSGSETPGTSTEPS EGSAP	TCCAGGTTCTACCAGCGAATCCCCGTCTGGTACTGCTCCAGGTT CTACCAGCGAATCTCCTTCTGGTACTGCACCAGGTTCTACTAGC GAATCTCCTTCTGGTACCGCTCCAGGTTCTACCAGCGAATCCCC GTCTGGTACTGCTCCAGGTTCTACCAGCGAATCTCCTTCTGGTA CTGCACCAGGTACTTCTACTCCGGAAAGCGGTTCCGCATCTCCA GGTACTTCTCCTAGCGGTGAATCTTCTACTGCTCCAGGTACCTC TCCTAGCGGCGAATCTTCTACTGCTCCAGGTTCTACCAGCTCTA CTGCTGAATCTCCGGGTCCAGGTACTTCCCCGAGCGGTGAATCT TCTACTGCACCAGGTACTTCTACTCCGGAAAGCGGTTCCGCTTC TCCAGGTTCTACCAGCGAATCTCCTTCTGGCACCGCTCCAGGTT CTACTAGCGAATCCCCGTCTGGTACCGCACCAGGTACTTCTCCT AGCGGCGAATCTTCTACCGCACCAGGTTCTACTAGCGAATCCCC GTCTGGTACCGCACCAGGTACTTCTACCCCGGAAAGCGGCTCTG CTTCTCCAGGTACTTCTACCCCGGAAAGCGGCTCCGCATCTCCA GGTTCTACTAGCGAATCTCCTTCTGGTACCGCTCCAGGTACTTC TACCCCTGAAAGCGGCTCCGCTTCTCCAGGTTCCACTAGCTCTA CCGCTGAATCTCCGGGTCCAGGTTCTACCAGCGAATCTCCTTCT GGCACCGCTCCAGGTTCTACTAGCGAATCCCCGTCTGGTACCGC ACCAGGTACTTCTCCTAGCGGCGAATCTTCTACCGCACCAGGTT CTACCAGCTCTACTGCTGAATCTCCGGGTCCAGGTACTTCCCCG AGCGGTGAATCTTCTACTGCACCAGGTACTTCTACTCCGGAAAG CGGTTCCGCTTCTCCAGGTACCTCCCCTAGCGGCGAATCTTCTA CTGCTCCAGGTACCTCTCCTAGCGGCGAATCTTCTACCGCTCCA GGTACCTCCCCTAGCGGTGAATCTTCTACCGCACCAGGTTCTAC TAGCTCTACTGCTGAATCTCCGGGTCCAGGTTCTACCAGCTCTA CTGCTGAATCTCCTGGTCCAGGTACCTCCCCGAGCGGTGAATCT TCTACTGCACCAGGTTCTAGCCCTTCTGCTTCCACCGGTACCGG CCCAGGTAGCTCTACTCCGTCTGGTGCAACTGGCTCTCCAGGTA GCTCTACTCCGTCTGGTGCAACCGGCTCCCCAGGTTTTCCGACT ATTCCGCTGTCTCGTCTGTTTGATAATGCTATGCTGCGTGCGCA CCGTCTGCACCAGCTGGCCTTTGATACTTACCAGGAATTTGAAG AAGCcTACATTCCTAAAGAGCAGAAGTACTCTTTCCTGCAAAAC CCACAGACTTCTCTCTGCTTCAGCGAATCTATTCCGACGCCTTC CAATCGCGAGGAAACTCAGCAAAAGTCCAATCTGGAACTACTC CGCATTTCTCTGCTTCTGATTCAGAGCTGGCTAGAACCAGTGCA ATTTCTGCGTTCCGTCTTCGCCAATAGCCTAGTTTATGGCGCAT CCGACAGCAACGTATACGATCTCCTGAAAGATCTCGAGGAAGG CATTCAGACCCTGATGGGTCGTCTCGAGGATGGCTCTCCGCGTA CTGGTCAGATCTTCAAGCAGACTTACTCTAAATTTGATACTAAC AGCCACAATGACGATGCGCTTCTAAAAAACTATGGTCTGCTGT ATTGTTTTCGTAAAGATATGGACAAAGTTGAAACCTTCCTGCGT ATTGTTCAGTGTCGTTCCGTTGAGGGCAGCTGTGGTTTCTAAGG TGGTAGCGAACCGGCAACTTCCGGCTCTGAAACCCCAGGTACT TCTGAAAGCGCTACTCCTGAGTCTGGCCCAGGTAGCGAACCTG CTACCTCTGGCTCTGAAACCCCAGGTAGCCCGGCAGGCTCTCCG ACTTCCACCGAGGAAGGTACCTCTACTGAACCTTCTGAGGGTA GCGCTCCAGGTAGCGAACCGGCAACCTCTGGCTCTGAAACCCC AGGTAGCGAACCTGCTACCTCCGGCTCTGAAACTCCAGGTAGC GAACCGGCTACTTCCGGTTCTGAAACTCCAGGTACCTCTACCGA ACCTTCCGAAGGCAGCGCACCAGGTACTTCTGAAAGCGCAACC CCTGAATCCGGTCCAGGTAGCGAACCGGCTACTTCTGGCTCTGA GACTCCAGGTACTTCTACCGAACCGTCCGAAGGTAGCGCACCA
AG864-hGH-AE144	GASPGTSSTGSPGSS PSASTGTGPGSSPSA STGTGPGTPGSGTAS SSPGSSTPSGATGSP GSNPSASTGTGPGAS PGTSSTGSPGTPGSG TASSSPGSSTPSGAT	GGTGCTTCCCCGGGCACCAGCTCTACTGGTTCTCCAGGTTCTAG CCCGTCTGCTTCTACTGGTACTGGTCCAGGTTCTAGCCCTTCTGC TTCCACTGGTACTGGTCCAGGTACCCCGGGTAGCGGTACCGCTT CTTCTTCTCCAGGTAGCTCTACTCCGTCTGGTGCTACCGGCTCTC CAGGTTCTAACCCTTCTGCATCCACCGGTACCGGCCCAGGTGCT TCTCCGGGCACCAGCTCTACTGGTTCTCCAGGTACCCCGGGCAG CGGTACCGCATCTTCTTCTCCAGGTAGCTCTACTCCTTCTGGTGC

	GSPGTPGSGTASSSP	AACTGGTTCTCCAGGTACTCCTGGCAGCGGTACCGCTTCTTCTT
	GASPGTSSTGSPGAS	CTCCAGGTGCTTCTCCTGGTACTAGCTCTACTGGTTCTCCAGGT
	PGTSSTGSPGTPGSG	GCTTCTCCGGGCACTAGCTCTACTGGTTCTCCAGGTACCCCGGG
	TASSSPGSSTPSGAT	TAGCGGTACTGCTTCTTCCTCTCCAGGTAGCTCTACCCCTTCTGG
	GSPGASPGTSSTGSP	TGCAACCGGCTCTCCAGGTGCTTCTCCGGGCACCAGCTCTACCG
	GTPGSGTASSSPGSS	GTTCTCCAGGTACCCCGGGTAGCGGTACCGCTTCTTCTTCTCCA
	TPSGATGSPGSNPSA	GGTAGCTCTACTCCGTCTGGTGCTACCGGCTCTCCAGGTTCTAA
	STGTGPGSSPSASTG	CCCTTCTGCATCCACCGGTACCGGCCCAGGTTCTAGCCCTTCTG
	TGPGSSTPSGATGSP	CTTCCACCGGTACTGGCCCAGGTAGCTCTACCCCTTCTGGTGCT
	GSSTPSGATGSPGAS	ACCGGCTCCCCAGGTAGCTCTACTCCTTCTGGTGCAACTGGCTC
	PGTSSTGSPGASPGT	TCCAGGTGCATCTCCGGGCACTAGCTCTACTGGTTCTCCAGGTG
	SSTGSPGASPGTSST	CATCCCCTGGCACTAGCTCTACTGGTTCTCCAGGTGCTTCTCCT
	GSPGTPGSGTASSSP	GGTACCAGCTCTACTGGTTCTCCAGGTACTCCTGGCAGCGGTAC
	GASPGTSSTGSPGAS	CGCTTCTTCTTCTCCAGGTGCTTCTCCTGGTACTAGCTCTACTGG
	PGTSSTGSPGASPGT	TTCTCCAGGTGCTTCTCCGGGCACTAGCTCTACTGGTTCTCCAG
	SSTGSPGSSPSASTGT	GTGCTTCCCCGGGCACTAGCTCTACCGGTTCTCCAGGTTCTAGC
	GPGTPGSGTASSSPG	CCTTCTGCATCTACTGGTACTGGCCCAGGTACTCCGGGCAGCGG
	ASPGTSSTGSPGASP	TACTGCTTCTTCCTCTCCAGGTGCATCTCCGGGCACTAGCTCTA
	GTSSTGSPGASPGTS	CTGGTTCTCCAGGTGCATCCCCTGGCACTAGCTCTACTGGTTCT
	STGSPGSSTPSGATG	CCAGGTGCTTCTCCTGGTACCAGCTCTACTGGTTCTCCAGGTAG
	SPGSSTPSGATGSPG	CTCTACTCCGTCTGGTGCAACCGGTTCCCCAGGTAGCTCTACTC
	ASPGTSSTGSPGTPG	CTTCTGGTGCTACTGGCTCCCCAGGTGCATCCCCTGGCACCAGC
	SGTASSSPGSSTPSG	TCTACCGGTTCTCCAGGTACCCCGGGCAGCGGTACCGCATCTTC
	ATGSPGSSTPSGATG	CTCTCCAGGTAGCTCTACCCCGTCTGGTGCTACCGGTTCCCCAG
	SPGSSTPSGATGSPG	GTAGCTCTACCCCGTCTGGTGCAACCGGCTCCCCAGGTAGCTCT
	SSPSASTGTGPGASP	ACTCCGTCTGGTGCAACCGGCTCCCCAGGTTCTAGCCCGTCTGC
	GTSSTGSPGASPGTS	TTCCACTGGTACTGGCCCAGGTGCTTCCCCGGGCACCAGCTCTA
	STGSPGTPGSGTASS	CTGGTTCTCCAGGTGCATCCCCGGGTACCAGCTCTACCGGTTCT
	SPGASPGTSSTGSPG	CCAGGTACTCCTGGCAGCGGTACTGCATCTTCCTCTCCAGGTGC
	ASPGTSSTGSPGASP	TTCTCCGGGCACCAGCTCTACTGGTTCTCCAGGTGCATCTCCGG
	GTSSTGSPGASPGTS	GCACTAGCTCTACTGGTTCTCCAGGTGCATCCCCTGGCACTAGC
	STGSPGTPGSGTASS	TCTACTGGTTCTCCAGGTGCTTCTCCTGGTACCAGCTCTACTGGT
	SPGSSTPSGATGSPG	TCTCCAGGTACCCCTGGTAGCGGTACTGCTTCTTCCTCTCCAGG
	TPGSGTASSSPGSSTP	TAGCTCTACTCCGTCTGGTGCTACCGGTTCTCCAGGTACCCCGG
	SGATGSPGTPGSGTA	GTAGCGGTACCGCATCTTCTTCTCCAGGTAGCTCTACCCCGTCT
	SSSPGSSTPSGATGSP	GGTGCTACTGGTTCTCCAGGTACTCCGGGCAGCGGTACTGCTTC
	GSSTPSGATGSPGSS	TTCCTCTCCAGGTAGCTCTACCCCTTCTGGTGCTACTGGCTCTCC
	PSASTGTGPGSSPSA	AGGTAGCTCTACCCCGTCTGGTGCTACTGGCTCCCCAGGTTCTA
	STGTGPGASPGTSST	GCCCTTCTGCATCCACCGGTACCGGTCCAGGTTCTAGCCCGTCT
	GSPGTPGSGTASSSP	GCATCTACTGGTACTGGTCCAGGTGCATCCCCGGGCACTAGCTC
	GSSTPSGATGSPGSS	TACCGGTTCTCCAGGTACTCCTGGTAGCGGTACTGCTTCTTCTTC
	PSASTGTGPGSSPSA	TCCAGGTAGCTCTACTCCTTCTGGTGCTACTGGTTCTCCAGGTTC
	STGTGPGASPGTSST	TAGCCCTTCTGCATCCACCGGTACCGGCCCAGGTTCTAGCCCGT
	GSPGASPGTSSTGSP	CTGCTTCTACCGGTACTGGTCCAGGTGCTTCTCCGGGTACTAGC
	GSSTPSGATGSPGSS	TCTACTGGTTCTCCAGGTGCATCTCCTGGTACTAGCTCTACTGG
	PSASTGTGPGASPGT	TTCTCCAGGTAGCTCTACTCCGTCTGGTGCAACCGGCTCTCCAG
	SSTGSPGSSPSASTGT	GTTCTAGCCCTTCTGCATCTACCGGTACTGGTCCAGGTGCATCC
	GPGTPGSGTASSSPG	CCTGGTACCAGCTCTACCGGTTCTCCAGGTTCTAGCCCTTCTGC
	SSTPSGATGSPGSSTP	TTCTACCGGTACCGGTCCAGGTACCCCTGGCAGCGGTACCGCAT
	SGATGSPGASPGTSS	CTTCCTCTCCAGGTAGCTCTACTCCGTCTGGTGCAACCGGTTCC
	TGSPGFPTIPLSRLFD	CCAGGTAGCTCTACTCCTTCTGGTGCTACTGGCTCCCCAGGTGC
	NAMLRAHRLHQLAF	ATCCCCTGGCACCAGCTCTACCGGTTCTCCAGGTTTTCCGACTA
	DTVQEFEEAYIPKEQ	TTCCGCTGTCTCGTCTGTTTGATAATGCTATGCTGCGTGCGCAC
	KVSFLQNPQTSLCFS	CGTCTGCACCAGCTGGCCTTTGATACTTACCAGGAATTTGAAGA
	ESIPTPSNREETQQKS	AGCcTACATTCCTAAAGAGCAGAAGTACTCTTTCCTGCAAAACC
	NLELLRISLLLIQSWL	CACAGACTTCTCTCTGCTTCAGCGAATCTATTCCGACGCCTTCC
	EPVQFLRSVFANSLV	AATCGCGAGGAAACTCAGCAAAAGTCCAATCTGGAACTACTCC
	YGASDSNVYDLLKD	GCATTTCTCTGCTTCTGATTCAGAGCTGGCTAGAACCAGTGCAA
	LEEGIQTLMGRLEDG	TTTCTGCGTTCCGTCTTCGCCAATAGCCTAGTTTATGGCGCATCC

	SPRTGQIFKQTYSKF DTNSHNDDALLKNY GLLYCFRKDMDKVE TFLRIVQCRSVEGSC GFGGSEPATSGSETP GTSESATPESGPGSE PATSGSETPGSPAGS PTSTEEGTSTEPSEGS APGSEPATSGSETPG SEPATSGSETPGSEP ATSGSETPGTSTEPSE GSAPGTSESATPESG PGSEPATSGSETPGT STEPSEGSAP	GACAGCAACGTATACGATCTCCTGAAAGATCTCGAGGAAGGCA TTCAGACCCTGATGGGTCGTCTCGAGGATGGCTCTCCGCGTACT GGTCAGATCTTCAAGCAGACTTACTCTAAATTTGATACTAACAG CCACAATGACGATGCGCTTCTAAAAAACTATGGTCTGCTGTATT GTTTTCGTAAAGATATGGACAAAGTTGAAACCTTCCTGCGTATT GTTCAGTGTCGTTCCGTTGAGGGCAGCTGTGGTTTCTAAGGTGG TAGCGAACCGGCAACTTCCGGCTCTGAAACCCCAGGTACTTCTG AAAGCGCTACTCCTGAGTCTGGCCCAGGTAGCGAACCTGCTAC CTCTGGCTCTGAAACCCCAGGTAGCCCGGCAGGCTCTCCGACTT CCACCGAGGAAGGTACCTCTACTGAACCTTCTGAGGGTAGCGC TCCAGGTAGCGAACCGGCAACCTCTGGCTCTGAAACCCCAGGT AGCGAACCTGCTACCTCCGGCTCTGAAACTCCAGGTAGCGAAC CGGCTACTTCCGGTTCTGAAACTCCAGGTACCTCTACCGAACCT TCCGAAGGCAGCGCACCAGGTACTTCTGAAAGCGCAACCCCTG AATCCGGTCCAGGTAGCGAACCGGCTACTTCTGGCTCTGAGACT CCAGGTACTTCTACCGAACCGTCCGAAGGTAGCGCACCA
AM875- hGH- AE144	GTSTEPSEGSAPGSE PATSGSETPGSPAGS PTSTEEGSTSSTAESP GPGTSTPESGSASPG STSESPSGTAPGSTSE SPSGTAPGTSTPESGS ASPGTSTPESGSASP GSEPATSGSETPGTS ESATPESGPGSPAGS PTSTEEGTSTEPSEGS APGTSESATPESGPG TSTEPSEGSAPGTSTE PSEGSAPGSPAGSPT STEEGTSTEPSEGSAP GTSTEPSEGSAPGTS ESATPESGPGTSESA TPESGPGTSTEPSEGS APGTSTEPSEGSAPG TSESATPESGPGTSTE PSEGSAPGSEPATSG SETPGSPAGSPTSTEE GSSTPSGATGSPGTP GSGTASSSPGSSTPS GATGSPGTSTEPSEG SAPGTSTEPSEGSAP GSEPATSGSETPGSP AGSPTSTEEGSPAGS PTSTEEGTSTEPSEGS APGASASGAPSTGGT SESATPESGPGSPAG SPTSTEEGSPAGSPTS TEEGSTSSTAESPGP GSTSESPSGTAPGTSP SGESSTAPGTPGSGT ASSSPGSSTPSGATG SPGSSPSASTGTGPG SEPATSGSETPGTSES ATPESGPGSEPATSG SETPGSTSSTAESPGP GSTSSTAESPGPGTSP SGESSTAPGSEPATS GSETPGSEPATSGSE TPGTSTEPSEGSAPG	GGTACTTCTACTGAACCGTCTGAAGGCAGCGCACCAGGTAGCG AACCGGCTACTTCCGGTTCTGAAACCCCAGGTAGCCCAGCAGG TTCTCCAACTTCTACTGAAGAAGGTTCTACCAGCTCTACCGCAG AATCTCCTGGTCCAGGTACCTCTACTCCGGAAAGCGGCTCTGCA TCTCCAGGTTCTACTAGCGAATCTCCTTCTGGCACTGCACCAGG TTCTACTAGCGAATCCCCGTCTGGTACTGCTCCAGGTACTTCTA CTCCTGAAAGCGGTTCCGCTTCTCCAGGTACCTCTACTCCGGAA AGCGGTTCTGCATCTCCAGGTAGCGAACCGGCAACCTCCGGCT CTGAAACCCCAGGTACCTCTGAAAGCGCTACTCCTGAATCCGG CCCAGGTAGCCCGGCAGGTTCTCCGACTTCCACTGAGGAAGGT ACCTCTACTGAACCTTCTGAGGGCAGCGCTCCAGGTACTTCTGA AAGCGCTACCCCGGAGTCCGGTCCAGGTACTTCTACTGAACCGT CCGAAGGTAGCGCACCAGGTACTTCTACCGAACCGTCCGAGGG TAGCGCACCAGGTAGCCCAGCAGGTTCTCCTACCTCCACCGAG GAAGGTACTTCTACCGAACCGTCCGAGGGTAGCGCACCAGGTA CTTCTACCGAACCTTCCGAGGGCAGCGCACCAGGTACTTCTGAA AGCGCTACCCCTGAGTCCGGCCCAGGTACTTCTGAAAGCGCTA CTCCTGAATCCGGTCCAGGTACCTCTACTGAACCTTCCGAAGGC AGCGCTCCAGGTACCTCTACCGAACCGTCCGAGGGCAGCGCAC CAGGTACTTCTGAAAGCGCAACCCCTGAATCCGGTCCAGGTAC TTCTACTGAACCTTCCGAAGGTAGCGCTCCAGGTAGCGAACCTG CTACTTCTGGTTCTGAAACCCCAGGTAGCCCGGCTGGCTCTCCG ACCTCCACCGAGGAAGGTAGCTCTACCCCGTCTGGTGCTACTGG TTCTCCAGGTACTCCGGGCAGCGGTACTGCTTCTTCCTCTCCAG GTAGCTCTACCCCTTCTGGTGCTACTGGCTCTCCAGGTACCTCT ACCGAACCGTCCGAGGGTAGCGCACCAGGTACCTCTACTGAAC CGTCTGAGGGTAGCGCTCCAGGTAGCGAACCGGCAACCTCCGG TTCTGAAACTCCAGGTAGCCCTGCTGGCTCTCCGACTTCTACTG AGGAAGGTAGCCCGGCTGGTTCTCCGACTTCTACTGAGGAAGG TACTTCTACCGAACCTTCCGAAGGTAGCGCTCCAGGTGCAAGC GCAAGCGGCGCGCCAAGCACGGGAGGTACTTCTGAAAGCGCTA CTCCTGAGTCCGGCCCAGGTAGCCCGGCTGGCTCTCCGACTTCC ACCGAGGAAGGTAGCCCGGCTGGCTCTCCAACTTCTACTGAAG AAGGTTCTACCAGCTCTACCGCTGAATCTCCTGGCCCAGGTTCT ACTAGCGAATCTCCGTCTGGCACCGCACCAGGTACTTCCCCTAG CGGTGAATCTTCTACTGCACCAGGTACCCCTGGCAGCGGTACCG CTTCTTCCTCTCCAGGTAGCTCTACCCCGTCTGGTGCTACTGGCT CTCCAGGTTCTAGCCCGTCTGCATCTACCGGTACCGGCCCAGGT AGCGAACCGGCAACCTCCGGCTCTGAAACTCCAGGTACTTCTG AAAGCGCTACTCCGGAATCCGGCCCAGGTAGCGAACCGGCTAC TTCCGGCTCTGAAACCCCAGGTTCCACCAGCTCTACTGCAGAAT CTCCGGGCCCAGGTTCTACTAGCTCTACTGCAGAATCTCCGGGT CCAGGTACTTCTCCTAGCGGCGAATCTTCTACCGCTCCAGGTAG

	STSSTAESPGPGTSTP ESGSASPGSTSESPSG TAPGTSTEPSEGSAP GTSTEPSEGSAPGTS TEPSEGSAPGSSTPSG ATGSPGSSPSASTGT GPGASPGTSSTGSPG SEPATSGSETPGTSES ATPESGPGSPAGSPT STEEGSSTPSGATGS PGSSPSASTGTGPGA SPGTSSTGSPGTSESA TPESGPGTSTEPSEGS APGTSTEPSEGSAPG FPTIPLSRLFDNAML RAHRLHQLAFDTYQ EFEEAYIPKEQKYSF LQNPQTSLCFSESIPT PSNREETQQKSNLEL LRISLLLIQSWLEPVQ FLRSVFANSLVYGAS DSNVYDLLKDLEEGI QTLMGRLEDGSPRT GQIFKQTYSKFDTNS HNDDALLKNYGLLY CFRKDMDKVETFLRI VQCRSVEGSCGFGG SEPATSGSETPGTSES ATPESGPGSEPATSG SETPGSPAGSPTSTEE GTSTEPSEGSAPGSE PATSGSETPGSEPAT SGSETPGSEPATSGS ETPGTSTEPSEGSAP GTSESATPESGPGSE PATSGSETPGTSTEPS EGSAP	CGAACCGGCAACCTCTGGCTCTGAAACTCCAGGTAGCGAACCT GCAACCTCCGGCTCTGAAACCCCAGGTACTTCTACTGAACCTTC TGAGGGCAGCGCACCAGGTTCTACCAGCTCTACCGCAGAATCT CCTGGTCCAGGTACCTCTACTCCGGAAAGCGGCTCTGCATCTCC AGGTTCTACTAGCGAATCTCCTTCTGGCACTGCACCAGGTACTT CTACCGAACCGTCCGAAGGCAGCGCTCCAGGTACCTCTACTGA ACCTTCCGAGGGCAGCGCTCCAGGTACCTCTACCGAACCTTCTG AAGGTAGCGCACCAGGTAGCTCTACTCCGTCTGGTGCAACCGG CTCCCCAGGTTCTAGCCCGTCTGCTTCCACTGGTACTGGCCCAG GTGCTTCCCCGGGCACCAGCTCTACTGGTTCTCCAGGTAGCGAA CCTGCTACCTCCGGTTCTGAAACCCCAGGTACCTCTGAAAGCGC AACTCCGGAGTCTGGTCCAGGTAGCCCTGCAGGTTCTCCTACCT CCACTGAGGAAGGTAGCTCTACTCCGTCTGGTGCAACCGGCTCC CCAGGTTCTAGCCCGTCTGCTTCCACTGGTACTGGCCCAGGTGC TTCCCCGGGCACCAGCTCTACTGGTTCTCCAGGTACCTCTGAAA GCGCTACTCCGGAGTCTGGCCCAGGTACCTCTACTGAACCGTCT GAGGGTAGCGCTCCAGGTACTTCTACTGAACCGTCCGAAGGTA GCGCACCAGGTTTTCCGACTATTCCGCTGTCTCGTCTGTTTGAT AATGCTATGCTGCGTGCGCACCGTCTGCACCAGCTGGCCTTTGA TACTTACCAGGAATTTGAAGAAGCcTACATTCCTAAAGAGCAGA AGTACTCTTTCCTGCAAAACCCACAGACTTCTCTCTGCTTCAGC GAATCTATTCCGACGCCTTCCAATCGCGAGGAAACTCAGCAAA AGTCCAATCTGGAACTACTCCGCATTTCTCTGCTTCTGATTCAG AGCTGGCTAGAACCAGTGCAATTTCTGCGTTCCGTCTTCGCCAA TAGCCTAGTTTATGGCGCATCCGACAGCAACGTATACGATCTCC TGAAAGATCTCGAGGAAGGCATTCAGACCCTGATGGGTCGTCT CGAGGATGGCTCTCCGCGTACTGGTCAGATCTTCAAGCAGACTT ACTCTAAATTTGATACTAACAGCCACAATGACGATGCGCTTCTA AAAAACTATGGTCTGCTGTATTGTTTTCGTAAAGATATGGACAA AGTTGAAACCTTCCTGCGTATTGTTCAGTGTCGTTCCGTTGAGG GCAGCTGTGGTTTCTAAGGTGGTAGCGAACCGGCAACTTCCGG CTCTGAAACCCCAGGTACTTCTGAAAGCGCTACTCCTGAGTCTG GCCCAGGTAGCGAACCTGCTACCTCTGGCTCTGAAACCCCAGG TAGCCCGGCAGGCTCTCCGACTTCCACCGAGGAAGGTACCTCT ACTGAACCTTCTGAGGGTAGCGCTCCAGGTAGCGAACCGGCAA CCTCTGGCTCTGAAACCCCAGGTAGCGAACCTGCTACCTCCGGC TCTGAAACTCCAGGTAGCGAACCGGCTACTTCCGGTTCTGAAAC TCCAGGTACCTCTACCGAACCTTCCGAAGGCAGCGCACCAGGT ACTTCTGAAAGCGCAACCCCTGAATCCGGTCCAGGTAGCGAAC CGGCTACTTCTGGCTCTGAGACTCCAGGTACTTCTACCGAACCG TCCGAAGGTAGCGCACCA
AE912-hGH-AE144	MAEPAGSPTSTEEGT PGSGTASSSPGSSTPS GATGSPGASPGTSST GSPGSPAGSPTSTEE GTSESATPESGPGTS TEPSEGSAPGSPAGS PTSTEEGTSTEPSEGS APGTSTEPSEGSAPG TSESATPESGPGSEP ATSGSETPGSEPATS GSETPGSPAGSPTST EEGTSESATPESGPG TSTEPSEGSAPGTSTE PSEGSAPGSPAGSPT STEEGTSTEPSEGSAP GTSTEPSEGSAPGTS ESATPESGPGTSTEPS EGSAPGTSESATPES	ATGGCTGAACCTGCTGGCTCTCCAACCTCCACTGAGGAAGGTA CCCCGGGTAGCGGTACTGCTTCTTCCTCTCCAGGTAGCTCTACC CCTTCTGGTGCAACCGGCTCTCCAGGTGCTTCTCCGGGCACCAG CTCTACCGGTTCTCCAGGTAGCCCGGCTGGCTCTCCTACCTCTA CTGAGGAAGGTACTTCTGAAAGCGCTACTCCTGAGTCTGGTCCA GGTACCTCTACTGAACCGTCCGAAGGTAGCGCTCCAGGTAGCC CAGCAGGCTCTCCGACTTCCACTGAGGAAGGTACTTCTACTGAA CCTTCCGAAGGCAGCGCACCAGGTACCTCTACTGAACCTTCTGA GGGCAGCGCTCCAGGTACTTCTGAAAGCGCTACCCCGGAATCT GGCCCAGGTAGCGAACCGGCTACTTCTGGTTCTGAAACCCCAG GTAGCGAACCGGCTACCTCCGGTTCTGAAACTCCAGGTAGCCC GGCAGGCTCTCCGACCTCTACTGAGGAAGGTACTTCTGAAAGC GCAACCCCGGAGTCCGGCCCAGGTACCTCTACCGAACCGTCTG AGGGCAGCGCACCAGGTACTTCTACCGAACCGTCCGAGGGTAG CGCACCAGGTAGCCCAGCAGGTTCTCCTACCTCCACCGAGGAA GGTACTTCTACCGAACCGTCCGAGGGTAGCGCACCAGGTACCT CTACTGAACCTTCTGAGGGCAGCGCTCCAGGTACTTCTGAAAGC GCTACCCCGGAGTCCGGTCCAGGTACTTCTACTGAACCGTCCGA

	GPGSEPATSGSETPG	AGGTAGCGCACCAGGTACTTCTGAAAGCGCAACCCCTGAATCC
	TSTEPSEGSAPGTSTE	GGTCCAGGTAGCGAACCGGCTACTTCTGGCTCTGAGACTCCAG
	PSEGSAPGTSESATP	GTACTTCTACCGAACCGTCCGAAGGTAGCGCACCAGGTACTTCT
	ESGPGTSESATPESG	ACTGAACCGTCTGAAGGTAGCGCACCAGGTACTTCTGAAAGCG
	PGSPAGSPTSTEEGT	CAACCCCGGAATCCGGCCCAGGTACCTCTGAAAGCGCAACCCC
	SESATPESGPGSEPA	GGAGTCCGGCCCAGGTAGCCCTGCTGGCTCTCCAACCTCCACCG
	TSGSETPGTSESATPE	AAGAAGGTACCTCTGAAAGCGCAACCCCTGAATCCGGCCCAGG
	SGPGTSTEPSEGSAP	TAGCGAACCGGCAACCTCCGGTTCTGAAACCCCAGGTACCTCT
	GTSTEPSEGSAPGTS	GAAAGCGCTACTCCGGAGTCTGGCCCAGGTACCTCTACTGAAC
	TEPSEGSAPGTSTEPS	CGTCTGAGGGTAGCGCTCCAGGTACTTCTACTGAACCGTCCGAA
	EGSAPGTSTEPSEGS	GGTAGCGCACCAGGTACTTCTACCGAACCGTCCGAAGGCAGCG
	APGTSTEPSEGSAPG	CTCCAGGTACCTCTACTGAACCTTCCGAGGGCAGCGCTCCAGGT
	SPAGSPTSTEEGTSTE	ACCTCTACCGAACCTTCTGAAGGTAGCGCACCAGGTACTTCTAC
	PSEGSAPGTSESATP	CGAACCGTCCGAGGGTAGCGCACCAGGTAGCCCAGCAGGTTCT
	ESGPGSEPATSGSET	CCTACCTCCACCGAGGAAGGTACTTCTACCGAACCGTCCGAGG
	PGTSESATPESGPGS	GTAGCGCACCAGGTACCTCTGAAAGCGCAACTCCTGAGTCTGG
	EPATSGSETPGTSES	CCCAGGTAGCGAACCTGCTACCTCCGGCTCTGAGACTCCAGGT
	ATPESGPGTSTEPSE	ACCTCTGAAAGCGCAACCCCGGAATCTGGTCCAGGTAGCGAAC
	GSAPGTSESATPESG	CTGCAACCTCTGGCTCTGAAACCCCAGGTACCTCTGAAAGCGCT
	PGSPAGSPTSTEEGSP	ACTCCTGAATCTGGCCCAGGTACTTCTACTGAACCGTCCGAGGG
	AGSPTSTEEGSPAGS	CAGCGCACCAGGTACTTCTGAAAGCGCTACTCCTGAGTCCGGC
	PTSTEEGTSESATPES	CCAGGTAGCCCGGCTGGCTCTCCGACTTCCACCGAGGAAGGTA
	GPGTSTEPSEGSAPG	GCCCGGCTGGCTCTCCAACTTCTACTGAAGAAGGTAGCCCGGC
	TSESATPESGPGSEP	AGGCTCTCCGACCTCTACTGAGGAAGGTACTTCTGAAAGCGCA
	ATSGSETPGTSESAT	ACCCCGGAGTCCGGCCCAGGTACCTCTACCGAACCGTCTGAGG
	PESGPGSEPATSGSE	GCAGCGCACCAGGTACCTCTGAAAGCGCAACTCCTGAGTCTGG
	TPGTSESATPESGPG	CCCAGGTAGCGAACCTGCTACCTCCGGCTCTGAGACTCCAGGT
	TSTEPSEGSAPGSPA	ACCTCTGAAAGCGCAACCCCGGAATCTGGTCCAGGTAGCGAAC
	GSPTSTEEGTSESATP	CTGCAACCTCTGGCTCTGAAACCCCAGGTACCTCTGAAAGCGCT
	ESGPGSEPATSGSET	ACTCCTGAATCTGGCCCAGGTACTTCTACTGAACCGTCCGAGGG
	PGTSESATPESGPGSP	CAGCGCACCAGGTAGCCCTGCTGGCTCTCCAACCTCCACCGAA
	AGSPTSTEEGSPAGS	GAAGGTACCTCTGAAAGCGCAACCCCTGAATCCGGCCCAGGTA
	PTSTEEGTSTEPSEGS	GCGAACCGGCAACCTCCGGTTCTGAAACCCCAGGTACTTCTGA
	APGTSESATPESGPG	AAGCGCTACTCCTGAGTCCGGCCCAGGTAGCCCGGCTGGCTCTC
	TSESATPESGPGTSES	CGACTTCCACCGAGGAAGGTAGCCCGGCTGGCTCTCCAACTTCT
	ATPESGPGSEPATSG	ACTGAAGAAGGTACTTCTACCGAACCTTCCGAGGGCAGCGCAC
	SETPGSEPATSGSETP	CAGGTACTTCTGAAAGCGCTACCCCTGAGTCCGGCCCAGGTACT
	GSPAGSPTSTEEGTS	TCTGAAAGCGCTACTCCTGAATCCGGTCCAGGTACTTCTGAAAG
	TEPSEGSAPGTSTEPS	CGCTACCCCGGAATCTGGCCCAGGTAGCGAACCGGCTACTTCT
	EGSAPGSEPATSGSE	GGTTCTGAAACCCCAGGTAGCGAACCGGCTACCTCCGGTTCTG
	TPGTSESATPESGPG	AAACTCCAGGTAGCCCAGCAGGCTCTCCGACTTCCACTGAGGA
	TSTEPSEGSAPGFPTI	AGGTACTTCTACTGAACCTTCCGAAGGCAGCGCACCAGGTACC
	PLSRLFDNAMLRAH	TCTACTGAACCTTCTGAGGGCAGCGCTCCAGGTAGCGAACCTG
	RLHQLAFDTYQEFEE	CAACCTCTGGCTCTGAAACCCCAGGTACCTCTGAAAGCGCTACT
	AYIPKEQKYSFLQNP	CCTGAATCTGGCCCAGGTACTTCTACTGAACCGTCCGAGGGCA
	QTSLCFSESIPTPSNR	GCGCACCAGGTTTTCCGACTATTCCGCTGTCTCGTCTGTTTGAT
	EETQQKSNLELLRIS	AATGCTATGCTGCGTGCGCACCGTCTGCACCAGCTGGCCTTTGA
	LLLIQSWLEPVQFLR	TACTTACCAGGAATTTGAAGAAGCcTACATTCCTAAAGAGCAGA
	SVFANSLVYGASDS	AGTACTCTTTCCTGCAAAACCCACAGACTTCTCTCTGCTTCAGC
	NVYDLLKDLEEGIQT	GAATCTATTCCGACGCCTTCCAATCGCGAGGAAACTCAGCAAA
	LMGRLEDGSPRTGQI	AGTCCAATCTGGAACTACTCCGCATTTCTCTGCTTCTGATTCAG
	FKQTYSKFDTNSHN	AGCTGGCTAGAACCAGTGCAATTTCTGCGTTCCGTCTTCGCCAA
	DDALLKNYGLLYCF	TAGCCTAGTTTATGGCGCATCCGACAGCAACGTATACGATCTCC
	RKDMDKVETFLRIV	TGAAAGATCTCGAGGAAGGCATTCAGACCCTGATGGGTCGTCT
	QCRSVEGSCGFGGTS	CGAGGATGGCTCTCCGCGTACTGGTCAGATCTTCAAGCAGACTT
	ESATPESGPGTSTEPS	ACTCTAAATTTGATACTAACAGCCACAATGACGATGCGCTTCTA
	EGSAPGTSTEPSEGS	AAAAACTATGGTCTGCTGTATTGTTTTCGTAAAGATATGGACAA
	APGTSESATPESGPG	AGTTGAAACCTTCCTGCGTATTGTTCAGTGTCGTTCCGTTGAGG
	TSTEPSEGSAPGTSTE	GCAGCTGTGGTTTCTAAGGTGGTAGCGAACCGGCAACTTCCGG
	PSEGSAPGTSESATP	CTCTGAAACCCCAGGTACTTCTGAAAGCGCTACTCCTGAGTCTG
	ESGPGTSTEPSEGSA	GCCCAGGTAGCGAACCTGCTACCTCTGGCTCTGAAACCCCAGG
	PGTSTEPSEGSAPGT	TAGCCCGGCAGGCTCTCCGACTTCCACCGAGGAAGGTACCTCT
	STEPSEGSAPGSPAG	ACTGAACCTTCTGAGGGTAGCGCTCCAGGTAGCGAACCGGCAA
	SPTSTEEGTSTEPSEG	CCTCTGGCTCTGAAACCCCAGGTAGCGAACCTGCTACCTCCGGC
	SAPG	TCTGAAACTCCAGGTAGCGAACCGGCTACTTCCGGTTCTGAAAC
		TCCAGGTACCTCTACCGAACCTTCCGAAGGCAGCGCACCAGGT
		ACTTCTGAAAGCGCAACCCCTGAATCCGGTCCAGGTAGCGAAC
		CGGCTACTTCTGGCTCTGAGACTCCAGGTACTTCTACCGAACCG
		TCCGAAGGTAGCGCACCA

AM923-hGH-AE144	MAEPAGSPTSTEEGA	ATGGCTGAACCTGCTGGCTCTCCAACCTCCACTGAGGAAGGTA
	SPGTSSTGSPGSSTPS	CCCCGGGTAGCGGTACTGCTTCTTCCTCTCCAGGTAGCTCTACC
	GATGSPGSSTPSGAT	CCTTCTGGTGCAACCGGCTCTCCAGGTGCTTCTCCGGGCACCAG
	GSPGTSTEPSEGSAP	CTCTACCGGTTCTCCAGGTAGCCCGGCTGGCTCTCCTACCTCTA
	GSEPATSGSETPGSP	CTGAGGAAGGTACTTCTGAAAGCGCTACTCCTGAGTCTGGTCCA
	AGSPTSTEEGSTSST	GGTACCTCTACTGAACCGTCCGAAGGTAGCGCTCCAGGTAGCC
	AESPGPGTSTPESGS	CAGCAGGCTCTCCGACTTCCACTGAGGAAGGTACTTCTACTGAA
	ASPGSTSESPSGTAP	CCTTCCGAAGGCAGCGCACCAGGTACCTCTACTGAACCTTCTGA
	GSTSESPSGTAPGTS	GGGCAGCGCTCCAGGTACTTCTGAAAGCGCTACCCCCGGAATCT
	TPESGSASPGTSTPES	GGCCCAGGTAGCGAACCGGCTACTTCTGGTTCTGAAACCCCAG
	GSASPGSEPATSGSE	GTAGCGAACCGGCTACCTCCGGTTCTGAAACTCCAGGTAGCCC
	TPGTSESATPESGPG	GGCAGGCTCTCCGACCTCTACTGAGGAAGGTACTTCTGAAAGC
	SPAGSPTSTEEGTSTE	GCAACCCCCGGAGTCCGGCCCAGGTACCTCTACCGAACCGTCTG
	PSEGSAPGTSESATP	AGGGCAGCGCACCAGGTACTTCTACCGAACCGTCCGAGGGTAG
	ESGPGTSTEPSEGSA	CGCACCAGGTAGCCCAGCAGGTTCTCCTACCTCCACCGAGGAA
	PGTSTEPSEGSAPGSP	GGTACTTCTACCGAACCGTCCGAGGGTAGCGCACCAGGTACCT
	AGSPTSTEEGTSTEPS	CTACTGAACCTTCTGAGGGCAGCGCTCCAGGTACTTCTGAAAGC
	EGSAPGTSTEPSEGS	GCTACCCCCGGAGTCCGGTCCAGGTACTTCTACTGAACCGTCCGA
	APGTSESATPESGPG	AGGTAGCGCACCAGGTACTTCTGAAAGCGCAACCCCTGAATCC
	TSESATPESGPGTSTE	GGTCCAGGTAGCGAACCGGCTACTTCTGGCTCTGAGACTCCAG
	PSEGSAPGTSTEPSE	GTACTTCTACCGAACCGTCCGAAGGTAGCGCACCAGGTACTTCT
	GSAPGTSESATPESG	ACTGAACCGTCTGAAGGTAGCGCACCAGGTACTTCTGAAAGCG
	PGTSTEPSEGSAPGS	CAACCCCGGAATCCGGCCCAGGTACCTCTGAAAGCGCAACCCC
	EPATSGSETPGSPAG	GGAGTCCGGCCCAGGTAGCCCTGCTGGCTCTCCAACCTCCACCG
	SPTSTEEGSSTPSGAT	AAGAAGGTACCTCTGAAAGCGCAACCCCTGAATCCGGCCCAGG
	GSPGTPGSGTASSSP	TAGCGAACCGGCAACCTCCGGTTCTGAAACCCCAGGTACCTCT
	GSSTPSGATGSPGTS	GAAAGCGCTACTCCGGAGTCTGGCCCAGGTACCTCTACTGAAC
	TEPSEGSAPGTSTEPS	CGTCTGAGGGTAGCGCTCCAGGTACTTCTACTGAACCGTCCGAA
	EGSAPGSEPATSGSE	GGTAGCGCACCAGGTACTTCTACCGAACCGTCCGAAGGCAGCG
	TPGSPAGSPTSTEEG	CTCCAGGTACCTCTACTGAACCTTCCGAGGGCAGCGCTCCAGGT
	SPAGSPTSTEEGTSTE	ACCTCTACCGAACCTTCTGAAGGTAGCGCACCAGGTACTTCTAC
	PSEGSAPGASASGAP	CGAACCGTCCGAGGGTAGCGCACCAGGTAGCCCAGCAGGTTCT
	STGGTSESATPESGP	CCTACCTCCACCGAGGAAGGTACTTCTACCGAACCGTCCGAGG
	GSPAGSPTSTEEGSP	GTAGCGCACCAGGTACCTCTGAAAGCGCAACTCCTGAGTCTGG
	AGSPTSTEEGSTSST	CCCAGGTAGCGAACCTGCTACCTCCGGCTCTGAGACTCCAGGT
	AESPGPGSTSESPSGT	ACCTCTGAAAGCGCAACCCCGGAATCTGGTCCAGGTAGCGAAC
	APGTSPSGESSTAPG	CTGCAACCTCTGGCTCTGAAACCCCAGGTACCTCTGAAAGCGCT
	TPGSGTASSSPGSSTP	ACTCCTGAATCTGGCCCAGGTACTTCTACTGAACCGTCCGAGGG
	SGATGSPGSSPSAST	CAGCGCACCAGGTACTTCTGAAAGCGCTACTCCTGAGTCCGGC
	GTGPGSEPATSGSET	CCAGGTAGCCCGGCTGGCTCTCCGACTTCCACCGAGGAAGGTA
	PGTSESATPESGPGS	GCCCGGCTGGCTCTCCAACTTCTACTGAAGAAGGTAGCCCGGC
	EPATSGSETPGSTSST	AGGCTCTCCGACCTCTACTGAGGAAGGTACTTCTGAAAGCGCA
	AESPGPGSTSSTAESP	ACCCCGGAGTCCGGCCCAGGTACCTCTACCGAACCGTCTGAGG
	GPGTSPSGESSTAPG	GCAGCGCACCAGGTACCTCTGAAAGCGCAACTCCTGAGTCTGG
	SEPATSGSETPGSEP	CCCAGGTAGCGAACCTGCTACCTCCGGCTCTGAGACTCCAGGT
	ATSGSETPGTSTEPSE	ACCTCTGAAAGCGCAACCCCGGAATCTGGTCCAGGTAGCGAAC
	GSAPGSTSSTAESPG	CTGCAACCTCTGGCTCTGAAACCCCAGGTACCTCTGAAAGCGCT
	PGTSTPESGSASPGST	ACTCCTGAATCTGGCCCAGGTACTTCTACTGAACCGTCCGAGGG
	SESPSGTAPGTSTEPS	CAGCGCACCAGGTAGCCCTGCTGGCTCTCCAACCTCCACCGAA

	EGSAPGTSTEPSEGS APGTSTEPSEGSAPG SSTPSGATGSPGSSPS ASTGTGPGASPGTSS TGSPGSEPATSGSET PGTSESATPESGPGSP AGSPTSTEEGSSTPS GATGSPGSSPSASTG TGPGASPGTSSTGSP GTSESATPESGPGTS TEPSEGSAPGTSTEPS EGSAPGFPTIPLSRLF DNAMLRAHRLHQL AFDTYQEFEEAYIPK EQKYSFLQNPQTSLC FSESIPTPSNREETQQ KSNLELLRISLLLIQS WLEPVQFLRSVFAN SLVYGASDSNVYDL LKDLEEGIQTLMGRL EDGSPRTGQIFKQTY SKFDTNSHNDDALL KNYGLLYCFRKDMD KVETFLRIVQCRSVE GSCGFGGSEPATSGS ETPGTSESATPESGP GSEPATSGSETPGSP AGSPTSTEEGTSTEPS EGSAPGSEPATSGSE TPGSEPATSGSETPG SEPATSGSETPGTSTE PSEGSAPGTSESATP ESGPGSEPATSGSET PGTSTEPSEGSAP	GAAGGTACCTCTGAAAGCGCAACCCCTGAATCCGGCCCAGGTA GCGAACCGGCAACCTCCGGTTCTGAAACCCCAGGTACTTCTGA AAGCGCTACTCCTGAGTCCGGCCCAGGTAGCCCGGCTGGCTCTC CGACTTCCACCGAGGAAGGTAGCCCGGCTGGCTCTCCAACTTCT ACTGAAGAAGGTACTTCTACCGAACCTTCCGAGGGCAGCGCAC CAGGTACTTCTGAAAGCGCTACCCCTGAGTCCGGCCCAGGTACT TCTGAAAGCGCTACTCCTGAATCCGGTCCAGGTACTTCTGAAAG CGCTACCCCGGAATCTGGCCCAGGTAGCGAACCGGCTACTTCT GGTTCTGAAACCCCAGGTAGCGAACCGGCTACCTCCGGTTCTG AAACTCCAGGTAGCCCAGCAGGCTCTCCGACTTCCACTGAGGA AGGTACTTCTACTGAACCTTCCGAAGGCAGCGCACCAGGTACC TCTACTGAACCTTCTGAGGGCAGCGCTCCAGGTAGCGAACCTG CAACCTCTGGCTCTGAAACCCCAGGTACCTCTGAAAGCGCTACT CCTGAATCTGGCCCAGGTACTTCTACTGAACCGTCCGAGGGCA GCGCACCAGGTTTTCCGACTATTCCGCTGTCTCGTCTGTTTGAT AATGCTATGCTGCGTGCGCACCGTCTGCACCAGCTGGCCTTTGA TACTTACCAGGAATTTGAAGAAGCcTACATTCCTAAAGAGCAGA AGTACTCTTTCCTGCAAAACCCACAGACTTCTCTCTGCTTCAGC GAATCTATTCCGACGCCTTCCAATCGCGAGGAAACTCAGCAAA AGTCCAATCTGGAACTACTCCGCATTTCTCTGCTTCTGATTCAG AGCTGGCTAGAACCAGTGCAATTTCTGCGTTCCGTgTTCGCCAA TAGCCTAGTTTATGGCGCATCCGACAGCAACGTATACGATCTCC TGAAAGATCTCGAGGAAGGCATTCAGACCCTGATGGGTCGTCT CGAGGATGGCTCTCCGCGTACTGGTCAGATCTTCAAGCAGACTT ACTCTAAATTTGATACTAACAGCCACAATGACGATGCGCTTCTA AAAAACTATGGTCTGCTGTATTGTTTTCGTAAAGATATGGACAA AGTTGAAACCTTCCTGCGTATTGTTCAGTGTCGTTCCGTTGAGG GCAGCTGTGGTTTCGGAGGTACTTCTGAAAGCGCTACTCCGGA GTCCGGTCCAGGTACCTCTACCGAACCGTCCGAAGGCAGCGCT CCAGGTACTTCTACTGAACCTTCTGAGGGTAGCGCTCCAGGTAC TTCTGAAAGCGCTACTCCGGAGTCCGGTCCAGGTACCTCTACCG AACCGTCCGAAGGCAGCGCTCCAGGTACTTCTACTGAACCTTCT GAGGGTAGCGCTCCAGGTACCTCTGAAAGCGCTACTCCGGAGT CTGGCCCAGGTACCTCTACTGAACCGTCTGAGGGTAGCGCTCCA GGTACTTCTACTGAACCGTCCGAAGGTAGCGCACCAGGTACTTC TACCGAACCGTCCGAGGGTAGCGCACCAGGTAGCCCAGCAGGT TCTCCTACCTCCACCGAGGAAGGTACTTCTACCGAACCGTCCGA GGGTAGCGCACCAGGTTAA
AM1318-hGH-AE144	GTSTEPSEGSAPGSE PATSGSETPGSPAGS PTSTEEGSTSSTAESP GPGTSTPESGSASPG STSESPSGTAPGSTSE SPSGTAPGTSTPESGS ASPGTSTPESGSASP GSEPATSGSETPGTS ESATPESGPGSPAGS PTSTEEGTSTEPSEGS APGTSESATPESGPG TSTEPSEGSAPGTSTE PSEGSAPGSPAGSPT STEEGTSTEPSEGSAP GTSTEPSEGSAPGTS ESATPESGPGTSESA TPESGPGTSTEPSEGS APGTSTEPSEGSAPG TSESATPESGPGTSTE PSEGSAPGSEPATSG	GGTACTTCTACTGAACCGTCTGAAGGCAGCGCACCAGGTAGCG AACCGGCTACTTCCGGTTCTGAAACCCCAGGTAGCCCAGCAGG TTCTCCAACTTCTACTGAAGAAGGTTCTACCAGCTCTACCGCAG AATCTCCTGGTCCAGGTACCTCTACTCCGGAAAGCGGCTCTGCA TCTCCAGGTTCTACTAGCGAATCTCCTTCTGGCACTGCACCAGG TTCTACTAGCGAATCCCCGTCTGGTACTGCTCCAGGTACTTCTA CTCCTGAAAGCGGTTCCGCTTCTCCAGGTACCTCTACTCCGGAA AGCGGTTCTGCATCTCCAGGTAGCGAACCGGCAACCTCCGGCT CTGAAACCCCAGGTACCTCTGAAAGCGCTACTCCTGAATCCGG CCCAGGTAGCCCGGCAGGTTCTCCGACTTCCACTGAGGAAGGT ACCTCTACTGAACCTTCTGAGGGCAGCGCTCCAGGTACTTCTGA AAGCGCTACCCCGGAGTCCGGTCCAGGTACTTCTACTGAACCGT CCGAAGGTAGCGCACCAGGTACTTCTACCGAACCGTCCGAGGG TAGCGCACCAGGTAGCCCAGCAGGTTCTCCTACCTCCACCGAG GAAGGTACTTCTACCGAACCGTCCGAGGGTAGCGCACCAGGTA CTTCTACCGAACCTTCCGAGGGCAGCGCACCAGGTACTTCTGAA AGCGCTACCCCTGAGTCCGGCCCAGGTACTTCTGAAAGCGCTA CTCCTGAATCCGGTCCAGGTACCTCTACTGAACCTTCCGAAGGC AGCGCTCCAGGTACCTCTACCGAACCGTCCGAGGGCAGCGCAC CAGGTACTTCTGAAAGCGCAACCCCTGAATCCGGTCCAGGTAC

	SETPGSPAGSPTSTEE	TTCTACTGAACCTTCCGAAGGTAGCGCTCCAGGTAGCGAACCTG
	GSSTPSGATGSPGTP	CTACTTCTGGTTCTGAAACCCCAGGTAGCCCGGCTGGCTCTCCG
	GSGTASSSPGSSTPS	ACCTCCACCGAGGAAGGTAGCTCTACCCCGTCTGGTGCTACTGG
	GATGSPGTSTEPSEG	TTCTCCAGGTACTCCGGGCAGCGGTACTGCTTCTTCCTCTCCAG
	SAPGTSTEPSEGSAP	GTAGCTCTACCCCTTCTGGTGCTACTGGCTCTCCAGGTACCTCT
	GSEPATSGSETPGSP	ACCGAACCGTCCGAGGGTAGCGCACCAGGTACCTCTACTGAAC
	AGSPTSTEEGSPAGS	CGTCTGAGGGTAGCGCTCCAGGTAGCGAACCGGCAACCTCCGG
	PTSTEEGTSTEPSEGS	TTCTGAAACTCCAGGTAGCCCTGCTGGCTCTCCGACTTCTACTG
	APGPEPTGPAPSGGS	AGGAAGGTAGCCCGGCTGGTTCTCCGACTTCTACTGAGGAAGG
	EPATSGSETPGTSES	TACTTCTACCGAACCTTCCGAAGGTAGCGCTCCAGGTCCAGAAC
	ATPESGPGSPAGSPT	CAACGGGGCCGGCCCCAAGCGGAGGTAGCGAACCGGCAACCTC
	STEEGTSESATPESGP	CGGCTCTGAAACCCCAGGTACCTCTGAAAGCGCTACTCCTGAAT
	GSPAGSPTSTEEGSP	CCGGCCCAGGTAGCCCGGCAGGTTCTCCGACTTCCACTGAGGA
	AGSPTSTEEGTSESA	AGGTACTTCTGAAAGCGCTACTCCTGAGTCCGGCCCAGGTAGC
	TPESGPGSPAGSPTST	CCGGCTGGCTCTCCGACTTCCACCGAGGAAGGTAGCCCGGCTG
	EEGSPAGSPTSTEEG	GCTCTCCAACTTCTACTGAAGAAGGTACTTCTGAAAGCGCTACT
	STSSTAESPGPGSTSE	CCTGAGTCCGGCCCAGGTAGCCCGGCTGGCTCTCCGACTTCCAC
	SPSGTAPGTSPSGESS	CGAGGAAGGTAGCCCGGCTGGCTCTCCAACTTCTACTGAAGAA
	TAPGSTSESPSGTAP	GGTTCTACCAGCTCTACCGCTGAATCTCCTGGCCCAGGTTCTAC
	GSTSESPSGTAPGTSP	TAGCGAATCTCCGTCTGGCACCGCACCAGGTACTTCCCCTAGCG
	SGESSTAPGTSTEPSE	GTGAATCTTCTACTGCACCAGGTTCTACCAGCGAATCTCCTTCT
	GSAPGTSESATPESG	GGCACCGCTCCAGGTTCTACTAGCGAATCCCCGTCTGGTACCGC
	PGTSESATPESGPGS	ACCAGGTACTTCTCCTAGCGGCGAATCTTCTACCGCACCAGGTA
	EPATSGSETPGTSES	CTTCTACCGAACCTTCCGAGGGCAGCGCACCAGGTACTTCTGAA
	ATPESGPGTSESATP	AGCGCTACCCCTGAGTCCGGCCCAGGTACTTCTGAAAGCGCTA
	ESGPGTSTEPSEGSA	CTCCTGAATCCGGTCCAGGTAGCGAACCGGCAACCTCTGGCTCT
	PGTSESATPESGPGT	GAAACCCCAGGTACCTCTGAAAGCGCTACTCCGGAATCTGGTC
	STEPSEGSAPGTSPSG	CAGGTACTTCTGAAAGCGCTACTCCGGAATCCGGTCCAGGTAC
	ESSTAPGTSPSGESST	CTCTACTGAACCTTCTGAGGGCAGCGCTCCAGGTACTTCTGAAA
	APGTSPSGESSTAPG	GCGCTACCCCGGAGTCCGGTCCAGGTACTTCTACTGAACCGTCC
	TSTEPSEGSAPGSPA	GAAGGTAGCGCACCAGGTACCTCCCCTAGCGGCGAATCTTCTA
	GSPTSTEEGTSTEPSE	CTGCTCCAGGTACCTCTCCTAGCGGCGAATCTTCTACCGCTCCA
	GSAPGSSPSASTGTG	GGTACCTCCCCTAGCGGTGAATCTTCTACCGCACCAGGTACTTC
	PGSSTPSGATGSPGS	TACCGAACCGTCCGAGGGTAGCGCACCAGGTAGCCCAGCAGGT
	STPSGATGSPGSSTPS	TCTCCTACCTCCACCGAGGAAGGTACTTCTACCGAACCGTCCGA
	GATGSPGSSTPSGAT	GGGTAGCGCACCAGGTTCTAGCCCTTCTGCTTCCACCGGTACCG
	GSPGASPGTSSTGSP	GCCCAGGTAGCTCTACTCCGTCTGGTGCAACTGGCTCTCCAGGT
	GASASGAPSTGGTSP	AGCTCTACTCCGTCTGGTGCAACCGGCTCCCCAGGTAGCTCTAC
	SGESSTAPGSTSSTA	CCCGTCTGGTGCTACCGGCTCTCCAGGTAGCTCTACCCCGTCTG
	ESPGPGTSPSGESSTA	GTGCAACCGGCTCCCCAGGTGCATCCCCGGGTACTAGCTCTACC
	PGTSESATPESGPGT	GGTTCTCCAGGTGCAAGCGCAAGCGGCGCGCCAAGCACGGGAG
	STEPSEGSAPGTSTEP	GTACTTCTCCGAGCGGTGAATCTTCTACCGCACCAGGTTCTACT
	SEGSAPGSSPSASTG	AGCTCTACCGCTGAATCTCCGGGCCCAGGTACTTCTCCGAGCGG
	TGPGSSTPSGATGSP	TGAATCTTCTACTGCTCCAGGTACCTCTGAAAGCGCTACTCCGG
	GASPGTSSTGSPGTS	AGTCTGGCCCAGGTACCTCTACTGAACCGTCTGAGGGTAGCGCT
	TPESGSASPGTSPSGE	CCAGGTACTTCTACTGAACCGTCCGAAGGTAGCGCACCAGGTT
	SSTAPGTSPSGESSTA	CTAGCCCTTCTGCATCTACTGGTACTGGCCCAGGTAGCTCTACT
	PGTSESATPESGPGS	CCTTCTGGTGCTACCGGCTCTCCAGGTGCTTCTCCGGGTACTAG
	EPATSGSETPGTSTEP	CTCTACCGGTTCTCCAGGTACTTCTACTCCGGAAAGCGGTTCCG
	SEGSAPGSTSESPSGT	CATCTCCAGGTACTTCTCCTAGCGGTGAATCTTCTACTGCTCCA
	APGSTSESPSGTAPG	GGTACCTCTCCTAGCGGCGAATCTTCTACTGCTCCAGGTACTTC
	TSTPESGSASPGSPA	TGAAAGCGCAACCCCTGAATCCGGTCCAGGTAGCGAACCGGCT
	GSPTSTEEGTSESATP	ACTTCTGGCTCTGAGACTCCAGGTACTTCTACCGAACCGTCCGA
	ESGPGTSTEPSEGSA	AGGTAGCGCACCAGGTTCTACCAGCGAATCCCCTTCTGGTACTG
	PGSPAGSPTSTEEGT	CTCCAGGTTCTACCAGCGAATCCCCTTCTGGCACCGCACCAGGT
	SESATPESGPGSEPA	ACTTCTACCCCTGAAAGCGGCTCCGCTTCTCCAGGTAGCCCGGC
	TSGSETPGSSTPSGA	AGGCTCTCCGACCTCTACTGAGGAAGGTACTTCTGAAAGCGCA
	TGSPGASPGTSSTGS	ACCCCGGAGTCCGGCCCAGGTACCTCTACCGAACCGTCTGAGG
	PGSSTPSGATGSPGS	GCAGCGCACCAGGTAGCCCTGCTGGCTCTCCAACCTCCACCGA

	TSESPSGTAPGTSPSG ESSTAPGSTSSTAESP GPGSSTPSGATGSPG ASPGTSSTGSPGTPG SGTASSSPGSPAGSP TSTEEGSPAGSPTSTE EGTSTEPSEGSAPGF PTIPLSRLFDNAMLR AHRLHQLAFDTYQE FEEAYIPKEQKYSFL QNPQTSLCFSESIPTP SNREETQQKSNLELL RISLLLIQSWLEPVQF LRSVFANSLVYGAS DSNVYDLLKDLEEGI QTLMGRLEDGSPRT GQIFKQTYSKFDTNS HNDDALLKNYGLLY CFRKDMDKVETFLRI VQCRSVEGSCGFGG SEPATSGSETPGTSES ATPESGPGSEPATSG SETPGSPAGSPTSTEE GTSTEPSEGSAPGSE PATSGSETPGSEPAT SGSETPGSEPATSGS ETPGTSTEPSEGSAP GTSESATPESGPGSE PATSGSETPGTSTEPS EGSAP	AGAAGGTACCTCTGAAAGCGCAACCCCTGAATCCGGCCCAGGT AGCGAACCGGCAACCTCCGGTTCTGAAACCCCAGGTAGCTCTA CCCCGTCTGGTGCTACCGGTTCCCCAGGTGCTTCTCCTGGTACT AGCTCTACCGGTTCTCCAGGTAGCTCTACCCCGTCTGGTGCTAC TGGCTCTCCAGGTTCTACTAGCGAATCCCCGTCTGGTACTGCTC CAGGTACTTCCCCTAGCGGTGAATCTTCTACTGCTCCAGGTTCT ACCAGCTCTACCGCAGAATCTCCGGGTCCAGGTAGCTCTACCCC TTCTGGTGCAACCGGCTCTCCAGGTGCATCCCCGGGTACCAGCT CTACCGGTTCTCCAGGTACTCCGGGTAGCGGTACCGCTTCTTCC TCTCCAGGTAGCCCTGCTGGCTCTCCGACTTCTACTGAGGAAGG TAGCCCGGCTGGTTCTCCGACTTCTACTGAGGAAGGTACTTCTA CCGAACCTTCCGAAGGTAGCGCTCCAGGTTTTCCGACTATTCCG CTGTCTCGTCTGTTTGATAATGCTATGCTGCGTGCGCACCGTCT GCACCAGCTGGCCTTTGATACTTACCAGGAATTTGAAGAAGCcT ACATTCCTAAAGAGCAGAAGTACTCTTTCCTGCAAAACCCACA GACTTCTCTCTGCTTCAGCGAATCTATTCCGACGCCTTCCAATC GCGAGGAAACTCAGCAAAAGTCCAATCTGGAACTACTCCGCAT TTCTCTGCTTCTGATTCAGAGCTGGCTAGAACCAGTGCAATTTC TGCGTTCCGTCTTCGCCAATAGCCTAGTTTATGGCGCATCCGAC AGCAACGTATACGATCTCCTGAAAGATCTCGAGGAAGGCATTC AGACCCTGATGGGTCGTCTCGAGGATGGCTCTCCGCGTACTGGT CAGATCTTCAAGCAGACTTACTCTAAATTTGATACTAACAGCCA CAATGACGATGCGCTTCTAAAAAACTATGGTCTGCTGTATTGTT TTCGTAAAGATATGGACAAAGTTGAAACCTTCCTGCGTATTGTT CAGTGTCGTTCCGTTGAGGGCAGCTGTGGTTTCTAAGGTGGTAG CGAACCGGCAACTTCCGGCTCTGAAACCCCAGGTACTTCTGAA AGCGCTACTCCTGAGTCTGGCCCAGGTAGCGAACCTGCTACCTC TGGCTCTGAAACCCCAGGTAGCCCGGCAGGCTCTCCGACTTCCA CCGAGGAAGGTACCTCTACTGAACCTTCTGAGGGTAGCGCTCC AGGTAGCGAACCGGCAACCTCTGGCTCTGAAACCCCAGGTAGC GAACCTGCTACCTCCGGCTCTGAAACTCCAGGTAGCGAACCGG CTACTTCCGGTTCTGAAACTCCAGGTACCTCTACCGAACCTTCC GAAGGCAGCGCACCAGGTACTTCTGAAAGCGCAACCCCTGAAT CCGGTCCAGGTAGCGAACCGGCTACTTCTGGCTCTGAGACTCCA GGTACTTCTACCGAACCGTCCGAAGGTAGCGCACCA
AE48- hGH- AE288	MAEPAGSPTSTEEGT PGSGTASSSPGSSTPS GATGSPGASPGTSST GSPGFPTIPLSRLFDN AMLRAHRLHQLAFD TYQEFEEAYIPKEQK YSFLQNPQTSLCFSE SIPTPSNREETQQKS NLELLRISLLLIQSWL EPVQFLRSVFANSLV YGASDSNVYDLLKD LEEGIQTLMGRLEDG SPRTGQIFKQTYSKF DTNSHNDDALLKNY GLLYCFRKDMDKVE TFLRIVQCRSVEGSC GFGGTSESATPESGP GSEPATSGSETPGTS ESATPESGPGSEPAT SGSETPGTSESATPES GPGTSTEPSEGSAPG SPAGSPTSTEEGTSES ATPESGPGSEPATSG SETPGTSESATPESGP	ATGGCTGAACCTGCTGGCTCTCCAACCTCCACTGAGGAAGGTA CCCCGGGTAGCGGTACTGCTTCTTCCTCTCCAGGTAGCTCTACC CCTTCTGGTGCAACCGGCTCTCCAGGTGCTTCTCCGGGCACCAG CTCTACCGGTTCTCCAGGTTTTCCGACTATTCCGCTGTCTCGTCT GTTTGATAATGCTATGCTGCGTGCGCACCGTCTGCACCAGCTGG CCTTTGATACTTACCAGGAATTTGAAGAAGCcTACATTCCTAAA GAGCAGAAGTACTCTTTCCTGCAAAACCCACAGACTTCTCTCTG CTTCAGCGAATCTATTCCGACGCCTTCCAATCGCGAGGAAACTC AGCAAAAGTCCAATCTGGAACTACTCCGCATTTCTCTGCTTCTG ATTCAGAGCTGGCTAGAACCAGTGCAATTTCTGCGTTCCGTCTT CGCCAATAGCCTAGTTTATGGCGCATCCGACAGCAACGTATAC GATCTCCTGAAAGATCTCGAGGAAGGCATTCAGACCCTGATGG GTCGTCTCGAGGATGGCTCTCCGCGTACTGGTCAGATCTTCAAG CAGACTTACTCTAAATTTGATACTAACAGCCACAATGACGATGC GCTTCTAAAAAACTATGGTCTGCTGTATTGTTTTCGTAAAGATA TGGACAAAGTTGAAACCTTCCTGCGTATTGTTCAGTGTCGTTCC GTTGAGGGCAGCTGTGGTTTCTAAGGTGGTACCTCTGAAAGCG CAACTCCTGAGTCTGGCCCAGGTAGCGAACCTGCTACCTCCGGC TCTGAGACTCCAGGTACCTCTGAAAGCGCAACCCCGGAATCTG GTCCAGGTAGCGAACCTGCAACCTCTGGCTCTGAAACCCCAGG TACCTCTGAAAGCGCTACTCCTGAATCTGGCCCAGGTACTTCTA CTGAACCGTCCGAGGGCAGCGCACCAGGTAGCCCTGCTGGCTC TCCAACCTCCACCGAAGAAGGTACCTCTGAAAGCGCAACCCCT GAATCCGGCCCAGGTAGCGAACCGGCAACCTCCGGTTCTGAAA

	GSPAGSPTSTEEGSP AGSPTSTEEGTSTEPS EGSAPGTSESATPES GPGTSESATPESGPG TSESATPESGPGSEP ATSGSETPGSEPATS GSETPGSPAGSPTST EEGTSTEPSEGSAPG TSTEPSEGSAPGSEP ATSGSETPGTSESAT PESGPGTSTEPSEGS AP	CCCCAGGTACTTCTGAAAGCGCTACTCCTGAGTCCGGCCCAGGT AGCCCGGCTGGCTCTCCGACTTCCACCGAGGAAGGTAGCCCGG CTGGCTCTCCAACTTCTACTGAAGAAGGTACTTCTACCGAACCT TCCGAGGGCAGCGCACCAGGTACTTCTGAAAGCGCTACCCCTG AGTCCGGCCCAGGTACTTCTGAAAGCGCTACTCCTGAATCCGGT CCAGGTACTTCTGAAAGCGCTACCCCGGAATCTGGCCCAGGTA GCGAACCGGCTACTTCTGGTTCTGAAACCCCAGGTAGCGAACC GGCTACCTCCGGTTCTGAAACTCCAGGTAGCCCAGCAGGCTCTC CGACTTCCACTGAGGAAGGTACTTCTACTGAACCTTCCGAAGGC AGCGCACCAGGTACCTCTACTGAACCTTCTGAGGGCAGCGCTC CAGGTAGCGAACCTGCAACCTCTGGCTCTGAAACCCCAGGTAC CTCTGAAAGCGCTACTCCTGAATCTGGCCCAGGTACTTCTACTG AACCGTCCGAGGGCAGCGCACCA
AM48- hGH- AE288	MAEPAGSPTSTEEGA SPGTSSTGSPGSSTPS GATGSPGSSTPSGAT GSPGFPTIPLSRLFDN AMLRAHRLHQLAFD TYQEFEEAYIPKEQK YSFLQNPQTSLCFSE SIPTPSNREETQQKS NLELLRISLLLIQSWL EPVQFLRSVFANSLV YGASDSNVYDLLKD LEEGIQTLMGRLEDG SPRTGQIFKQTYSKF DTNSHNDDALLKNY GLLYCFRKDMDKVE TFLRIVQCRSVEGSC GFGGTSESATPESGP GSEPATSGSETPGTS ESATPESGPGSEPAT SGSETPGTSESATPES GPGTSTEPSEGSAPG SPAGSPTSTEEGTSES ATPESGPGSEPATSG SETPGTSESATPESGP GSPAGSPTSTEEGSP AGSPTSTEEGTSTEPS EGSAPGTSESATPES GPGTSESATPESGPG TSESATPESGPGSEP ATSGSETPGSEPATS GSETPGSPAGSPTST EEGTSTEPSEGSAPG TSTEPSEGSAPGSEP ATSGSETPGTSESAT PESGPGTSTEPSEGS AP	ATGGCTGAACCTGCTGGCTCTCCAACCTCCACTGAGGAAGGTG CATCCCCGGGCACCAGCTCTACCGGTTCTCCAGGTAGCTCTACC CCGTCTGGTGCTACCGGCTCTCCAGGTAGCTCTACCCCGTCTGG TGCTACTGGCTCTCCAGGTTTTCCGACTATTCCGCTGTCTCGTCT GTTTGATAATGCTATGCTGCGTGCGCACCGTCTGCACCAGCTGG CCTTTGATACTTACCAGGAATTTGAAGAAGCcTACATTCCTAAA GAGCAGAAGTACTCTTTCCTGCAAAACCCACAGACTTCTCTCTG CTTCAGCGAATCTATTCCGACGCCTTCCAATCGCGAGGAAACTC AGCAAAAGTCCAATCTGGAACTACTCCGCATTTCTCTGCTTCTG ATTCAGAGCTGGCTAGAACCAGTGCAATTTCTGCGTTCCGTCTT CGCCAATAGCCTAGTTTATGGCGCATCCGACAGCAACGTATAC GATCTCCTGAAAGATCTCGAGGAAGGCATTCAGACCCTGATGG GTCGTCTCGAGGATGGCTCTCCGCGTACTGGTCAGATCTTCAAG CAGACTTACTCTAAATTTGATACTAACAGCCACAATGACGATGC GCTTCTAAAAAACTATGGTCTGCTGTATTGTTTTCGTAAAGATA TGGACAAAGTTGAAACCTTCCTGCGTATTGTTCAGTGTCGTTCC GTTGAGGGCAGCTGTGGTTTCTAAGGTGGTACCTCTGAAAGCG CAACTCCTGAGTCTGGCCCAGGTAGCGAACCTGCTACCTCCGGC TCTGAGACTCCAGGTACCTCTGAAAGCGCAACCCCGGAATCTG GTCCAGGTAGCGAACCTGCAACCTCTGGCTCTGAAACCCCAGG TACCTCTGAAAGCGCTACTCCTGAATCTGGCCCAGGTACTTCTA CTGAACCGTCCGAGGGCAGCGCACCAGGTAGCCCTGCTGGCTC TCCAACCTCCACCGAAGAAGGTACCTCTGAAAGCGCAACCCCT GAATCCGGCCCAGGTAGCGAACCGGCAACCTCCGGTTCTGAAA CCCCAGGTACTTCTGAAAGCGCTACTCCTGAGTCCGGCCCAGGT AGCCCGGCTGGCTCTCCGACTTCCACCGAGGAAGGTAGCCCGG CTGGCTCTCCAACTTCTACTGAAGAAGGTACTTCTACCGAACCT TCCGAGGGCAGCGCACCAGGTACTTCTGAAAGCGCTACCCCTG AGTCCGGCCCAGGTACTTCTGAAAGCGCTACTCCTGAATCCGGT CCAGGTACTTCTGAAAGCGCTACCCCGGAATCTGGCCCAGGTA GCGAACCGGCTACTTCTGGTTCTGAAACCCCAGGTAGCGAACC GGCTACCTCCGGTTCTGAAACTCCAGGTAGCCCAGCAGGCTCTC CGACTTCCACTGAGGAAGGTACTTCTACTGAACCTTCCGAAGGC AGCGCACCAGGTACCTCTACTGAACCTTCTGAGGGCAGCGCTC CAGGTAGCGAACCTGCAACCTCTGGCTCTGAAACCCCAGGTAC CTCTGAAAGCGCTACTCCTGAATCTGGCCCAGGTACTTCTACTG AACCGTCCGAGGGCAGCGCACCA
AE144- hGH- AE288	GSEPATSGSETPGTS ESATPESGPGSEPAT SGSETPGSPAGSPTST EEGTSTEPSEGSAPG SEPATSGSETPGSEP ATSGSETPGSEPATS GSETPGTSTEPSEGS APGTSESATPESGPG SEPATSGSETPGTSTE	GGTAGCGAACCGGCAACTTCCGGCTCTGAAACCCCAGGTACTT CTGAAAGCGCTACTCCTGAGTCTGGCCCAGGTAGCGAACCTGC TACCTCTGGCTCTGAAACCCCAGGTAGCCCGGCAGGCTCTCCGA CTTCCACCGAGGAAGGTACCTCTACTGAACCTTCTGAGGGTAGC GCTCCAGGTAGCGAACCGGCAACCTCTGGCTCTGAAACCCCAG GTAGCGAACCTGCTACCTCCGGCTCTGAAACTCCAGGTAGCGA ACCGGCTACTTCCGGTTCTGAAACTCCAGGTACCTCTACCGAAC CTTCCGAAGGCAGCGCACCAGGTACTTCTGAAAGCGCAACCCC TGAATCCGGTCCAGGTAGCGAACCGGCTACTTCTGGCTCTGAG

	PSEGSAPGFPTIPLSR LFDNAMLRAHRLHQ LAFDTYQEFEEAYIP KEQKYSFLQNPQTSL CFSESIPTPSNREETQ QKSNLELLRISLLLIQ SWLEPVQFLRSVFA NSLVYGASDSNVYD LLKDLEEGIQTLMGR LEDGSPRTGQIFKQT YSKFDTNSHNDDAL LKNYGLLYCFRKDM DKVETFLRIVQCRSV EGSCGFGGTSESATP ESGPGSEPATSGSET PGTSESATPESGPGS EPATSGSETPGTSES ATPESGPGTSTEPSE GSAPGSPAGSPTSTE EGTSESATPESGPGS EPATSGSETPGTSES ATPESGPGSPAGSPT STEEGSPAGSPTSTEE GTSTEPSEGSAPGTS ESATPESGPGTSESA TPESGPGTSESATPES GPGSEPATSGSETPG SEPATSGSETPGSPA GSPTSTEEGTSTEPSE GSAPGTSTEPSEGSA PGSEPATSGSETPGT SESATPESGPGTSTEP SEGSAP	ACTCCAGGTACTTCTACCGAACCGTCCGAAGGTAGCGCACCAG GTTTTCCGACTATTCCGCTGTCTCGTCTGTTTGATAATGCTATGC TGCGTGCGCACCGTCTGCACCAGCTGGCCTTTGATACTTACCAG GAATTTGAAGAAGCcTACATTCCTAAAGAGCAGAAGTACTCTTT CCTGCAAAACCCACAGACTTCTCTCTGCTTCAGCGAATCTATTC CGACGCCTTCCAATCGCGAGGAAACTCAGCAAAAGTCCAATCT GGAACTACTCCGCATTTCTCTGCTTCTGATTCAGAGCTGGCTAG AACCAGTGCAATTTCTGCGTTCCGTCTTCGCCAATAGCCTAGTT TATGGCGCATCCGACAGCAACGTATACGATCTCCTGAAAGATC TCGAGGAAGGCATTCAGACCCTGATGGGTCGTCTCGAGGATGG CTCTCCGCGTACTGGTCAGATCTTCAAGCAGACTTACTCTAAAT TTGATACTAACAGCCACAATGACGATGCGCTTCTAAAAAACTA TGGTCTGCTGTATTGTTTTCGTAAAGATATGGACAAAGTTGAAA CCTTCCTGCGTATTGTTCAGTGTCGTTCCGTTGAGGGCAGCTGT GGTTTCTAAGGTGGTACCTCTGAAAGCGCAACTCCTGAGTCTGG CCCAGGTAGCGAACCTGCTACCTCCGGCTCTGAGACTCCAGGT ACCTCTGAAAGCGCAACCCCGGAATCTGGTCCAGGTAGCGAAC CTGCAACCTCTGGCTCTGAAACCCCAGGTACCTCTGAAAGCGCT ACTCCTGAATCTGGCCCAGGTACTTCTACTGAACCGTCCGAGGG CAGCGCACCAGGTAGCCCTGCTGGCTCTCCAACCTCCACCGAA GAAGGTACCTCTGAAAGCGCAACCCCTGAATCCGGCCCAGGTA GCGAACCGGCAACCTCCGGTTCTGAAACCCCAGGTACTTCTGA AAGCGCTACTCCTGAGTCCGGCCCAGGTAGCCCGGCTGGCTCTC CGACTTCCACCGAGGAAGGTAGCCCGGCTGGCTCTCCAACTTCT ACTGAAGAAGGTACTTCTACCGAACCTTCCGAGGGCAGCGCAC CAGGTACTTCTGAAAGCGCTACCCCTGAGTCCGGCCCAGGTACT TCTGAAAGCGCTACTCCTGAATCCGGTCCAGGTACTTCTGAAAG CGCTACCCCGGAATCTGGCCCAGGTAGCGAACCGGCTACTTCT GGTTCTGAAACCCCAGGTAGCGAACCGGCTACCTCCGGTTCTG AAACTCCAGGTAGCCCAGCAGGCTCTCCGACTTCCACTGAGGA AGGTACTTCTACTGAACCTTCCGAAGGCAGCGCACCAGGTACC TCTACTGAACCTTCTGAGGGCAGCGCTCCAGGTAGCGAACCTG CAACCTCTGGCTCTGAAACCCCAGGTACCTCTGAAAGCGCTACT CCTGAATCTGGCCCAGGTACTTCTACTGAACCGTCCGAGGGCA GCGCACCA
AE288- hGH- AE288	GTSESATPESGPGSE PATSGSETPGTSESA TPESGPGSEPATSGS ETPGTSESATPESGP GTSTEPSEGSAPGSP AGSPTSTEEGTSESA TPESGPGSEPATSGS ETPGTSESATPESGP GSPAGSPTSTEEGSP AGSPTSTEEGTSTEPS EGSAPGTSESATPES GPGTSESATPESGPG TSESATPESGPGSEP ATSGSETPGSEPATS GSETPGSPAGSPTST EEGTSTEPSEGSAPG TSTEPSEGSAPGSEP ATSGSETPGTSESAT PESGPGTSTEPSEGS APGFPTIPLSRLFDNA MLRAHRLHQLAFDT YQEFEEAYIPKEQKY SFLQNPQTSLCFSESI PTPSNREETQQKSNL	GGTACCTCTGAAAGCGCAACTCCTGAGTCTGGCCCAGGTAGCG AACCTGCTACCTCCGGCTCTGAGACTCCAGGTACCTCTGAAAGC GCAACCCCGGAATCTGGTCCAGGTAGCGAACCTGCAACCTCTG GCTCTGAAACCCCAGGTACCTCTGAAAGCGCTACTCCTGAATCT GGCCCAGGTACTTCTACTGAACCGTCCGAGGGCAGCGCACCAG GTAGCCCTGCTGGCTCTCCAACCTCCACCGAAGAAGGTACCTCT GAAAGCGCAACCCCTGAATCCGGCCCAGGTAGCGAACCGGCAA CCTCCGGTTCTGAAACCCCAGGTACTTCTGAAAGCGCTACTCCT GAGTCCGGCCCAGGTAGCCCGGCTGGCTCTCCGACTTCCACCG AGGAAGGTAGCCCGGCTGGCTCTCCAACTTCTACTGAAGAAGG TACTTCTACCGAACCTTCCGAGGGCAGCGCACCAGGTACTTCTG AAAGCGCTACCCCTGAGTCCGGCCCAGGTACTTCTGAAAGCGC TACTCCTGAATCCGGTCCAGGTACTTCTGAAAGCGCTACCCCGG AATCTGGCCCAGGTAGCGAACCGGCTACTTCTGGTTCTGAAACC CCAGGTAGCGAACCGGCTACCTCCGGTTCTGAAACTCCAGGTA GCCCAGCAGGCTCTCCGACTTCCACTGAGGAAGGTACTTCTACT GAACCTTCCGAAGGCAGCGCACCAGGTACCTCTACTGAACCTT CTGAGGGCAGCGCTCCAGGTAGCGAACCTGCAACCTCTGGCTC TGAAACCCCAGGTACCTCTGAAAGCGCTACTCCTGAATCTGGCC CAGGTACTTCTACTGAACCGTCCGAGGGCAGCGCACCAGGTTTT CCGACTATTCCGCTGTCTCGTCTGTTTGATAATGCTATGCTGCGT GCGCACCGTCTGCACCAGCTGGCCTTTGATACTTACCAGGAATT TGAAGAAGCcTACATTCCTAAAGAGCAGAAGTACTCTTTCCTGC AAAACCCACAGACTTCTCTCTGCTTCAGCGAATCTATTCCGACG

	ELLRISLLLIQSWLEP VQFLRSVFANSLVY GASDSNVYDLLKDL EEGIQTLMGRLEDGS PRTGQIFKQTYSKFD TNSHNDDALLKNYG LLYCFRKDMDKVET FLRIVQCRSVEGSCG FGGTSESATPESGPG SEPATSGSETPGTSES ATPESGPGSEPATSG SETPGTSESATPESGP GTSTEPSEGSAPGSP AGSPTSTEEGTSESA TPESGPGSEPATSGS ETPGTSESATPESGP GSPAGSPTSTEEGSP AGSPTSTEEGTSTEPS EGSAPGTSESATPES GPGTSESATPESGPG TSESATPESGPGSEP ATSGSETPGSEPATS GSETPGSPAGSPTST EEGTSTEPSEGSAPG TSTEPSEGSAPGSEP ATSGSETPGTSESAT PESGPGTSTEPSEGS AP	CCTTCCAATCGCGAGGAAACTCAGCAAAAGTCCAATCTGGAAC TACTCCGCATTTCTCTGCTTCTGATTCAGAGCTGGCTAGAACCA GTGCAATTTCTGCGTTCCGTCTTCGCCAATAGCCTAGTTTATGG CGCATCCGACAGCAACGTATACGATCTCCTGAAAGATCTCGAG GAAGGCATTCAGACCCTGATGGGTCGTCTCGAGGATGGCTCTC CGCGTACTGGTCAGATCTTCAAGCAGACTTACTCTAAATTTGAT ACTAACAGCCACAATGACGATGCGCTTCTAAAAAACTATGGTC TGCTGTATTGTTTTCGTAAAGATATGGACAAAGTTGAAACCTTC CTGCGTATTGTTCAGTGTCGTTCCGTTGAGGGCAGCTGTGGTTT CTAAGGTGGTACCTCTGAAAGCGCAACTCCTGAGTCTGGCCCA GGTAGCGAACCTGCTACCTCCGGCTCTGAGACTCCAGGTACCTC TGAAAGCGCAACCCCGGAATCTGGTCCAGGTAGCGAACCTGCA ACCTCTGGCTCTGAAACCCCAGGTACCTCTGAAAGCGCTACTCC TGAATCTGGCCCAGGTACTTCTACTGAACCGTCCGAGGGCAGC GCACCAGGTAGCCCTGCTGGCTCTCCAACCTCCACCGAAGAAG GTACCTCTGAAAGCGCAACCCCTGAATCCGGCCCAGGTAGCGA ACCGGCAACCTCCGGTTCTGAAACCCCAGGTACTTCTGAAAGC GCTACTCCTGAGTCCGGCCCAGGTAGCCCGGCTGGCTCTCCGAC TTCCACCGAGGAAGGTAGCCCGGCTGGCTCTCCAACTTCTACTG AAGAAGGTACTTCTACCGAACCTTCCGAGGGCAGCGCACCAGG TACTTCTGAAAGCGCTACCCCTGAGTCCGGCCCAGGTACTTCTG AAAGCGCTACTCCTGAATCCGGTCCAGGTACTTCTGAAAGCGCT ACCCCGGAATCTGGCCCAGGTAGCGAACCGGCTACTTCTGGTTC TGAAACCCCAGGTAGCGAACCGGCTACCTCCGGTTCTGAAACT CCAGGTAGCCCAGCAGGCTCTCCGACTTCCACTGAGGAAGGTA CTTCTACTGAACCTTCCGAAGGCAGCGCACCAGGTACCTCTACT GAACCTTCTGAGGGCAGCGCTCCAGGTAGCGAACCTGCAACCT CTGGCTCTGAAACCCCAGGTACCTCTGAAAGCGCTACTCCTGAA TCTGGCCCAGGTACTTCTACTGAACCGTCCGAGGGCAGCGCAC CA
AF144- hGH- AE288	GTSTPESGSASPGTSP SGESSTAPGTSPSGES STAPGSTSSTAESPGP GSTSESPSGTAPGSTS STAESPGPGTSPSGES STAPGTSTPESGSASP GSTSSTAESPGPGTSP SGESSTAPGTSPSGES STAPGTSPSGESSTAP GFPTIPLSRLFDNAM LRAHRLHQLAFDTY QEFEEAYIPKEQKYS FLQNPQTSLCFSESIP TPSNREETQQKSNLE LLRISLLLIQSWLEPV QFLRSVFANSLVYG ASDSNVYDLLKDLE EGIQTLMGRLEDGSP RTGQIFKQTYSKFDT NSHNDDALLKNYGL LYCFRKDMDKVETF LRIVQCRSVEGSCGF GGTSESATPESGPGS EPATSGSETPGTSES ATPESGPGSEPATSG SETPGTSESATPESGP GTSTEPSEGSAPGSP AGSPTSTEEGTSESA TPESGPGSEPATSGS	GGTACTTCTACTCCGGAAAGCGGTTCCGCATCTCCAGGTACTTC TCCTAGCGGTGAATCTTCTACTGCTCCAGGTACCTCTCCTAGCG GCGAATCTTCTACTGCTCCAGGTTCTACCAGCTCTACCGCTGAA TCTCCTGGCCCAGGTTCTACCAGCGAATCCCCGTCTGGCACCGC ACCAGGTTCTACTAGCTCTACCGCAGAATCTCCGGGTCCAGGTA CTTCCCCTAGCGGTGAATCTTCTACTGCTCCAGGTACCTCTACT CCGGAAAGCGGCTCCGCATCTCCAGGTTCTACTAGCTCTACTGC TGAATCTCCTGGTCCAGGTACCTCCCCTAGCGGCGAATCTTCTA CTGCTCCAGGTACCTCTCCTAGCGGCGAATCTTCTACCGCTCCA GGTACCTCCCCTAGCGGTGAATCTTCTACCGCACCAGGTTTTCC GACTATTCCGCTGTCTCGTCTGTTTGATAATGCTATGCTGCGTG CGCACCGTCTGCACCAGCTGGCCTTTGATACTTACCAGGAATTT GAAGAAGCcTACATTCCTAAAGAGCAGAAGTACTCTTTCCTGCA AAACCCACAGACTTCTCTCTGCTTCAGCGAATCTATTCCGACGC CTTCCAATCGCGAGGAAACTCAGCAAAAGTCCAATCTGGAACT ACTCCGCATTTCTCTGCTTCTGATTCAGAGCTGGCTAGAACCAG TGCAATTTCTGCGTTCCGTCTTCGCCAATAGCCTAGTTTATGGC GCATCCGACAGCAACGTATACGATCTCCTGAAAGATCTCGAGG AAGGCATTCAGACCCTGATGGGTCGTCTCGAGGATGGCTCTCC GCGTACTGGTCAGATCTTCAAGCAGACTTACTCTAAATTTGATA CTAACAGCCACAATGACGATGCGCTTCTAAAAAACTATGGTCT GCTGTATTGTTTTCGTAAAGATATGGACAAAGTTGAAACCTTCC TGCGTATTGTTCAGTGTCGTTCCGTTGAGGGCAGCTGTGGTTTC TAAGGTGGTACCTCTGAAAGCGCAACTCCTGAGTCTGGCCCAG GTAGCGAACCTGCTACCTCCGGCTCTGAGACTCCAGGTACCTCT GAAAGCGCAACCCCGGAATCTGGTCCAGGTAGCGAACCTGCAA CCTCTGGCTCTGAAACCCCAGGTACCTCTGAAAGCGCTACTCCT GAATCTGGCCCAGGTACTTCTACTGAACCGTCCGAGGGCAGCG CACCAGGTAGCCCTGCTGGCTCTCCAACCTCCACCGAAGAAGG

	ETPGTSESATPESGP GSPAGSPTSTEEGSP AGSPTSTEEGTSTEPS EGSAPGTSESATPES GPGTSESATPESGPG TSESATPESGPGSEP ATSGSETPGSEPATS GSETPGSPAGSPTST EEGTSTEPSEGSAPG TSTEPSEGSAPGSEP ATSGSETPGTSESAT PESGPGTSTEPSEGS AP	TACCTCTGAAAGCGCAACCCCTGAATCCGGCCCAGGTAGCGAA CCGGCAACCTCCGGTTCTGAAACCCCAGGTACTTCTGAAAGCG CTACTCCTGAGTCCGGCCCAGGTAGCCCGGCTGGCTCTCCGACT TCCACCGAGGAAGGTAGCCCGGCTGGCTCTCCAACTTCTACTGA AGAAGGTACTTCTACCGAACCTTCCGAGGGCAGCGCACCAGGT ACTTCTGAAAGCGCTACCCCTGAGTCCGGCCCAGGTACTTCTGA AAGCGCTACTCCTGAATCCGGTCCAGGTACTTCTGAAAGCGCTA CCCCGGAATCTGGCCCAGGTAGCGAACCGGCTACTTCTGGTTCT GAAACCCCAGGTAGCGAACCGGCTACCTCCGGTTCTGAAACTC CAGGTAGCCCAGCAGGCTCTCCGACTTCCACTGAGGAAGGTAC TTCTACTGAACCTTCCGAAGGCAGCGCACCAGGTACCTCTACTG AACCTTCTGAGGGCAGCGCTCCAGGTAGCGAACCTGCAACCTC TGGCTCTGAAACCCCAGGTACCTCTGAAAGCGCTACTCCTGAAT CTGGCCCAGGTACTTCTACTGAACCGTCCGAGGGCAGCGCACC A
AD576- hGH- AE288	GSSESGSSEGGPGSG GEPSESGSSGSSESGS SEGGPGSSESGSSEG GPGSSESGSSEGGPG SSESGSSEGGPGSSES GSSEGGPGESPGGSS GSESGSEGSSGPGES SGSSESGSSEGGPGS SESGSSEGGPGSSES GSSEGGPGSGGEPSE SGSSGESPGGSSGSE SGESPGGSSGSESGS GGEPSESGSSGSSES GSSEGGPGSGGEPSE SGSSGSGGEPSESGS SGSEGSSGPGESSGE SPGGSSGSESGSGGE PSESGSSGSGGEPSES GSSGSGGEPSESGSS GSSESGSSEGGPGES PGGSSGSESGESPGG SSGSESGESPGGSSG SESGESPGGSSGSES GESPGGSSGSESGSS ESGSSEGGPGSGGEP SESGSSGSEGSSGPG ESSGSSESGSSEGGP GSGGEPSESGSSGSS ESGSSEGGPGSGGEP SESGSSGESPGGSSG SESGESPGGSSGSES GSSESGSSEGGPGSG GEPSESGSSGSSESGS SEGGPGSGGEPSESG SSGSGGEPSESGSSG ESPGGSSGSESGSEG SSGPGESSGSSESGSS EGGPGSEGSSGPGES SGFPTIPLSRLFDNA MLRAHRLHQLAFDT YQEFEEAYIPKEQKY SFLQNPQTSLCFSESI PTPSNREETQQKSNL ELLRISLLLIQSWLEP	GGTTCCTCTGAAAGCGGTTCTTCCGAAGGTGGTCCAGGTTCCTC TGAAAGCGGTTCTTCTGAGGGTGGTCCAGGTGAATCTCCGGGT GGCTCCAGCGGTTCCGAGTCAGGTTCTGGTGGCGAACCTTCCGA GTCTGGTAGCTCAGGTGAATCTCCGGGTGGTTCTAGCGGTTCCG AGTCAGGTGAATCTCCGGGTGGTTCCAGCGGTTCTGAGTCAGGT TCCTCCGAAAGCGGTTCTTCTGAGGGCGGTCCAGGTTCCTCCGA AAGCGGTTCTTCCGAGGGCGGTCCAGGTTCTTCTGAAAGCGGTT CTTCCGAGGGCGGTCCAGGTGAATCTCCTGGTGGTTCCAGCGGT TCCGAGTCAGGTGAATCTCCAGGTGGCTCTAGCGGTTCCGAGTC AGGTGAATCTCCTGGTGGTTCTAGCGGTTCTGAATCAGGTTCCT CCGAAAGCGGTTCTTCTGAGGGCGGTCCAGGTTCCTCCGAAAG CGGTTCTTCCGAGGGCGGTCCAGGTTCTTCTGAAAGCGGTTCTT CCGAGGGCGGTCCAGGTTCCTCTGAAAGCGGTTCTTCTGAGGG CGGTCCAGGTTCTTCCGAAAGCGGTTCTTCCGAGGGCGGTCCAG GTTCTTCCGAAAGCGGTTCTTCTGAAGGCGGTCCAGGTTCTGGT GGCGAACCGTCCGAGTCTGGTAGCTCAGGTGAATCTCCGGGTG GCTCTAGCGGTTCCGAGTCAGGTGAATCTCCTGGTGGTTCCAGC GGTTCCGAGTCAGGTTCCGGTGGCGAACCGTCCGAATCTGGTA GCTCAGGTAGCGAAGGTTCTTCTGGTCCAGGCGAATCTTCAGGT TCCTCTGAAAGCGGTTCTTCTGAGGGCGGTCCAGGTTCCGGTGG CGAACCGTCCGAATCTGGTAGCTCAGGTAGCGAAGGTTCTTCTG GTCCAGGCGAATCTTCAGGTTCCTCTGAAAGCGGTTCTTCTGAG GGCGGTCCAGGTTCCGGTGGCGAACCTTCCGAATCTGGTAGCTC AGGTGAATCTCCGGGTGGTTCTAGCGGTTCTGAGTCAGGTTCTG GTGGTGAACCTTCCGAGTCTGGTAGCTCAGGTTCTGGTGGCGAA CCATCCGAGTCTGGTAGCTCAGGTTCTTCCGAAAGCGGTTCTTC CGAAGGCGGTCCAGGTTCTGGTGGTGAACCGTCCGAATCTGGT AGCTCAGGTTCTGGTGGCGAACCATCCGAATCTGGTAGCTCAG GTAGCGAAGGTTCTTCTGGTCCTGGCGAATCTTCAGGTGAATCT CCAGGTGGCTCTAGCGGTTCCGAATCAGGTAGCGAAGGTTCTTC CGGTCCAGGTGAATCTTCAGGTAGCGAAGGTTCTTCTGGTCCTG GTGAATCCTCAGGTTCCGGTGGCGAACCATCTGAATCTGGTAGC TCAGGTTCCTCTGAAAGCGGTTCTTCCGAAGGTGGTCCAGGTTC CTCTGAAAGCGGTTCTTCTGAGGGTGGTCCAGGTGAATCTCCGG GTGGCTCCAGCGGTTCCGAGTCAGGTTCTGGTGGCGAACCATCC GAATCTGGTAGCTCAGGTAGCGAAGGTTCTTCTGGTCCTGGCGA ATCTTCAGGTGAATCTCCAGGTGGCTCTAGCGGTTCCGAATCAG GTAGCGAAGGTTCTTCCGGTCCTGGTGAGTCTTCAGGTGAATCT CCAGGTGGCTCTAGCGGTTCCGAGTCAGGTAGCGAAGGTTCTTC TGGTCCTGGCGAGTCCTCAGGTTTTCCGACTATTCCGCTGTCTC GTCTGTTTGATAATGCTATGCTGCGTGCGCACCGTCTGCACCAG CTGGCCTTTGATACTTACCAGGAATTTGAAGAAGCcTACATTCC TAAAGAGCAGAAGTACTCTTTCCTGCAAAACCCACAGACTTCTC TCTGCTTCAGCGAATCTATTCCGACGCCTTCCAATCGCGAGGAA

	VQFLRSVFANSLVY GASDSNVYDLLKDL EEGIQTLMGRLEDGS PRTGQIFKQTYSKFD TNSHNDDALLKNYG LLYCFRKDMDKVET FLRIVQCRSVEGSCG FGGTSESATPESGPG SEPATSGSETPGTSES ATPESGPGSEPATSG SETPGTSESATPESGP GTSTEPSEGSAPGSP AGSPTSTEEGTSESA TPESGPGSEPATSGS ETPGTSESATPESGP GSPAGSPTSTEEGSP AGSPTSTEEGTSTEPS EGSAPGTSESATPES GPGTSESATPESGPG TSESATPESGPGSEP ATSGSETPGSEPATS GSETPGSPAGSPTST EEGTSTEPSEGSAPG TSTEPSEGSAPGSEP ATSGSETPGTSESAT PESGPGTSTEPSEGS AP	ACTCAGCAAAAGTCCAATCTGGAACTACTCCGCATTTCTCTGCT TCTGATTCAGAGCTGGCTAGAACCAGTGCAATTTCTGCGTTCCG TCTTCGCCAATAGCCTAGTTTATGGCGCATCCGACAGCAACGTA TACGATCTCCTGAAAGATCTCGAGGAAGGCATTCAGACCCTGA TGGGTCGTCTCGAGGATGGCTCTCCGCGTACTGGTCAGATCTTC AAGCAGACTTACTCTAAATTTGATACTAACAGCCACAATGACG ATGCGCTTCTAAAAAACTATGGTCTGCTGTATTGTTTTCGTAAA GATATGGACAAAGTTGAAACCTTCCTGCGTATTGTTCAGTGTCG TTCCGTTGAGGGCAGCTGTGGTTTCTAAGGTGGTACCTCTGAAA GCGCAACTCCTGAGTCTGGCCCAGGTAGCGAACCTGCTACCTCC GGCTCTGAGACTCCAGGTACCTCTGAAAGCGCAACCCCGGAAT CTGGTCCAGGTAGCGAACCTGCAACCTCTGGCTCTGAAACCCC AGGTACCTCTGAAAGCGCTACTCCTGAATCTGGCCCAGGTACTT CTACTGAACCGTCCGAGGGCAGCGCACCAGGTAGCCCTGCTGG CTCTCCAACCTCCACCGAAGAAGGTACCTCTGAAAGCGCAACC CCTGAATCCGGCCCAGGTAGCGAACCGGCAACCTCCGGTTCTG AAACCCCAGGTACTTCTGAAAGCGCTACTCCTGAGTCCGGCCC AGGTAGCCCGGCTGGCTCTCCGACTTCCACCGAGGAAGGTAGC CCGGCTGGCTCTCCAACTTCTACTGAAGAAGGTACTTCTACCGA ACCTTCCGAGGGCAGCGCACCAGGTACTTCTGAAAGCGCTACC CCTGAGTCCGGCCCAGGTACTTCTGAAAGCGCTACTCCTGAATC CGGTCCAGGTACTTCTGAAAGCGCTACCCCGGAATCTGGCCCA GGTAGCGAACCGGCTACTTCTGGTTCTGAAACCCCAGGTAGCG AACCGGCTACCTCCGGTTCTGAAACTCCAGGTAGCCCAGCAGG CTCTCCGACTTCCACTGAGGAAGGTACTTCTACTGAACCTTCCG AAGGCAGCGCACCAGGTACCTCTACTGAACCTTCTGAGGGCAG CGCTCCAGGTAGCGAACCTGCAACCTCTGGCTCTGAAACCCCA GGTACCTCTGAAAGCGCTACTCCTGAATCTGGCCCAGGTACTTC TACTGAACCGTCCGAGGGCAGCGCACCA
AE576-hGH-AE288	GSPAGSPTSTEEGTS ESATPESGPGTSTEPS EGSAPGSPAGSPTST EEGTSTEPSEGSAPG TSTEPSEGSAPGTSES ATPESGPGSEPATSG SETPGSEPATSGSETP GSPAGSPTSTEEGTS ESATPESGPGTSTEPS EGSAPGTSTEPSEGS APGSPAGSPTSTEEG TSTEPSEGSAPGTSTE PSEGSAPGTSESATP ESGPGTSTEPSEGSA PGTSESATPESGPGS EPATSGSETPGTSTEP SEGSAPGTSTEPSEG SAPGTSESATPESGP GTSESATPESGPGSP AGSPTSTEEGTSESA TPESGPGSEPATSGS ETPGTSESATPESGP GTSTEPSEGSAPGTS TEPSEGSAPGTSTEPS EGSAPGTSTEPSEGS APGTSTEPSEGSAPG TSTEPSEGSAPGSPA GSPTSTEEGTSTEPSE GSAPGTSESATPESG PGSEPATSGSETPGT	GGTAGCCCGGCTGGCTCTCCTACCTCTACTGAGGAAGGTACTTC TGAAAGCGCTACTCCTGAGTCTGGTCCAGGTACCTCTACTGAAC CGTCCGAAGGTAGCGCTCCAGGTAGCCCAGCAGGCTCTCCGAC TTCCACTGAGGAAGGTACTTCTACTGAACCTTCCGAAGGCAGC GCACCAGGTACCTCTACTGAACCTTCTGAGGGCAGCGCTCCAG GTACTTCTGAAAGCGCTACCCCGGAATCTGGCCCAGGTAGCGA ACCGGCTACTTCTGGTTCTGAAACCCCAGGTAGCGAACCGGCT ACCTCCGGTTCTGAAACTCCAGGTAGCCCGGCAGGCTCTCCGAC CTCTACTGAGGAAGGTACTTCTGAAAGCGCAACCCCGGAGTCC GGCCCAGGTACCTCTACCGAACCGTCTGAGGGCAGCGCACCAG GTACTTCTACCGAACCGTCCGAGGGTAGCGCACCAGGTAGCCC AGCAGGTTCTCCTACCTCCACCGAGGAAGGTACTTCTACCGAAC CGTCCGAGGGTAGCGCACCAGGTACCTCTACTGAACCTTCTGA GGGCAGCGCTCCAGGTACTTCTGAAAGCGCTACCCCGGAGTCC GGTCCAGGTACTTCTACTGAACCGTCCGAAGGTAGCGCACCAG GTACTTCTGAAAGCGCAACCCCTGAATCCGGTCCAGGTAGCGA ACCGGCTACTTCTGGCTCTGAGACTCCAGGTACTTCTACCGAAC CGTCCGAAGGTAGCGCACCAGGTACTTCTACTGAACCGTCTGA AGGTAGCGCACCAGGTACTTCTGAAAGCGCAACCCCGGAATCC GGCCCAGGTACCTCTGAAAGCGCAACCCCGGAGTCCGGCCCAG GTAGCCCTGCTGGCTCTCCAACCTCCACCGAAGAAGGTACCTCT GAAAGCGCAACCCCTGAATCCGGCCCAGGTAGCGAACCGGCAA CCTCCGGTTCTGAAACCCCAGGTACCTCTGAAAGCGCTACTCCG GAGTCTGGCCCAGGTACCTCTACTGAACCGTCTGAGGGTAGCG CTCCAGGTACTTCTACTGAACCGTCCGAAGGTAGCGCACCAGG TACTTCTACCGAACCGTCCGAAGGCAGCGCTCCAGGTACCTCTA CTGAACCTTCCGAGGGCAGCGCTCCAGGTACCTCTACCGAACCT TCTGAAGGTAGCGCACCAGGTACTTCTACCGAACCGTCCGAGG GTAGCGCACCAGGTAGCCCAGCAGGTTCTCCTACCTCCACCGA GGAAGGTACTTCTACCGAACCGTCCGAGGGTAGCGCACCAGGT

	SESATPESGPGSEPA TSGSETPGTSESATPE SGPGTSTEPSEGSAP GTSESATPESGPGSP AGSPTSTEEGSPAGS PTSTEEGSPAGSPTST EEGTSESATPESGPG TSTEPSEGSAPGFPTI PLSRLFDNAMLRAH RLHQLAFDTYQEFEE AYIPKEQKYSFLQNP QTSLCFSESIPTPSNR EETQQKSNLELLRIS LLLIQSWLEPVQFLR SVFANSLVYGASDS NVYDLLKDLEEGIQT LMGRLEDGSPRTGQI FKQTYSKFDTNSHN DDALLKNYGLLYCF RKDMDKVETFLRIV QCRSVEGSCGFGGTS ESATPESGPGSEPAT SGSETPGTSESATPES GPGSEPATSGSETPG TSESATPESGPGTSTE PSEGSAPGSPAGSPT STEEGTSESATPESGP GSEPATSGSETPGTS ESATPESGPGSPAGS PTSTEEGSPAGSPTST EEGTSTEPSEGSAPG TSESATPESGPGTSES ATPESGPGTSESATP ESGPGSEPATSGSET PGSEPATSGSETPGSP AGSPTSTEEGTSTEPS EGSAPGTSTEPSEGS APGSEPATSGSETPG TSESATPESGPGTSTE PSEGSAP	ACCTCTGAAAGCGCAACTCCTGAGTCTGGCCCAGGTAGCGAAC CTGCTACCTCCGGCTCTGAGACTCCAGGTACCTCTGAAAGCGCA ACCCCGGAATCTGGTCCAGGTAGCGAACCTGCAACCTCTGGCT CTGAAACCCCAGGTACCTCTGAAAGCGCTACTCCTGAATCTGGC CCAGGTACTTCTACTGAACCGTCCGAGGGCAGCGCACCAGGTA CTTCTGAAAGCGCTACTCCTGAGTCCGGCCCAGGTAGCCCGGCT GGCTCTCCGACTTCCACCGAGGAAGGTAGCCCGGCTGGCTCTCC AACTTCTACTGAAGAAGGTAGCCCGGCAGGCTCTCCGACCTCT ACTGAGGAAGGTACTTCTGAAAGCGCAACCCCGGAGTCCGGCC CAGGTACCTCTACCGAACCGTCTGAGGGCAGCGCACCAGGTTT TCCGACTATTCCGCTGTCTCGTCTGTTTGATAATGCTATGCTGCG TGCGCACCGTCTGCACCAGCTGGCCTTTGATACTTACCAGGAAT TTGAAGAAGCcTACATTCCTAAAGAGCAGAAGTACTCTTTCCTG CAAAACCCACAGACTTCTCTCTGCTTCAGCGAATCTATTCCGAC GCCTTCCAATCGCGAGGAAACTCAGCAAAAGTCCAATCTGGAA CTACTCCGCATTTCTCTGCTTCTGATTCAGAGCTGGCTAGAACC AGTGCAATTTCTGCGTTCCGTCTTCGCCAATAGCCTAGTTTATG GCGCATCCGACAGCAACGTATACGATCTCCTGAAAGATCTCGA GGAAGGCATTCAGACCCTGATGGGTCGTCTCGAGGATGGCTCT CCGCGTACTGGTCAGATCTTCAAGCAGACTTACTCTAAATTTGA TACTAACAGCCACAATGACGATGCGCTTCTAAAAAACTATGGT CTGCTGTATTGTTTTCGTAAAGATATGGACAAAGTTGAAACCTT CCTGCGTATTGTTCAGTGTCGTTCCGTTGAGGGCAGCTGTGGTT TCTAAGGTGGTACCTCTGAAAGCGCAACTCCTGAGTCTGGCCCA GGTAGCGAACCTGCTACCTCCGGCTCTGAGACTCCAGGTACCTC TGAAAGCGCAACCCCGGAATCTGGTCCAGGTAGCGAACCTGCA ACCTCTGGCTCTGAAACCCCAGGTACCTCTGAAAGCGCTACTCC TGAATCTGGCCCAGGTACTTCTACTGAACCGTCCGAGGGCAGC GCACCAGGTAGCCCTGCTGGCTCTCCAACCTCCACCGAAGAAG GTACCTCTGAAAGCGCAACCCCTGAATCCGGCCCAGGTAGCGA ACCGGCAACCTCCGGTTCTGAAACCCCAGGTACTTCTGAAAGC GCTACTCCTGAGTCCGGCCCAGGTAGCCCGGCTGGCTCTCCGAC TTCCACCGAGGAAGGTAGCCCGGCTGGCTCTCCAACTTCTACTG AAGAAGGTACTTCTACCGAACCTTCCGAGGGCAGCGCACCAGG TACTTCTGAAAGCGCTACCCCTGAGTCCGGCCCAGGTACTTCTG AAAGCGCTACTCCTGAATCCGGTCCAGGTACTTCTGAAAGCGCT ACCCCGGAATCTGGCCCAGGTAGCGAACCGGCTACTTCTGGTTC TGAAACCCCAGGTAGCGAACCGGCTACCTCCGGTTCTGAAACT CCAGGTAGCCCAGCAGGCTCTCCGACTTCCACTGAGGAAGGTA CTTCTACTGAACCTTCCGAAGGCAGCGCACCAGGTACCTCTACT GAACCTTCTGAGGGCAGCGCTCCAGGTAGCGAACCTGCAACCT CTGGCTCTGAAACCCCAGGTACCTCTGAAAGCGCTACTCCTGAA TCTGGCCCAGGTACTTCTACTGAACCGTCCGAGGGCAGCGCAC CA
AF576- hGH- AE288	GSTSSTAESPGPGSTS STAESPGPGSTSESPS GTAPGSTSSTAESPG PGSTSSTAESPGPGTS TPESGSASPGSTSESP SGTAPGTSPSGESST APGSTSESPSGTAPG STSESPSGTAPGTSPS GESSTAPGSTSESPSG TAPGSTSESPSGTAP GTSPSGESSTAPGSTS ESPSGTAPGSTSESPS GTAPGSTSESPSGTA PGTSTPESGSASPGST SESPSGTAPGTSTPES	GGTTCTACTAGCTCTACCGCTGAATCTCCTGGCCCAGGTTCCAC TAGCTCTACCGCAGAATCTCCGGGCCCAGGTTCTACTAGCGAAT CCCCTTCTGGTACCGCTCCAGGTTCTACTAGCTCTACCGCTGAA TCTCCGGGTCCAGGTTCTACCAGCTCTACTGCAGAATCTCCTGG CCCAGGTACTTCTACTCCGGAAAGCGGTTCCGCTTCTCCAGGTT CTACCAGCGAATCTCCTTCTGGCACCGCTCCAGGTACCTCTCCT AGCGGCGAATCTTCTACCGCTCCAGGTTCTACTAGCGAATCTCC TTCTGGCACTGCACCAGGTTCTACCAGCGAATCTCCTTCTGGCA CCGCTCCAGGTACCTCTCCTAGCGGCGAATCTTCTACCGCTCCA GGTTCTACTAGCGAATCTCCTTCTGGCACTGCACCAGGTTCTAC CAGCGAATCTCCTTCTGGCACCGCTCCAGGTACCTCTCCTAGCG GCGAATCTTCTACCGCTCCAGGTTCTACTAGCGAATCTCCTTCT GGCACTGCACCAGGTTCTACTAGCGAATCTCCTTCTGGCACTGC ACCAGGTTCTACCAGCGAATCTCCGTCTGGCACTGCACCAGGTA CCTCTACCCCTGAAAGCGGTTCCGCTTCTCCAGGTTCTACTAGC

	GSASPGSTSSTAESP GPGSTSSTAESPGPG TSTPESGSASPGTSTP ESGSASPGSTSESPSG TAPGTSTPESGSASP GTSTPESGSASPGSTS ESPSGTAPGSTSESPS GTAPGSTSESPSGTA PGSTSSTAESPGPGTS TPESGSASPGTSTPES GSASPGSTSESPSGT APGSTSESPSGTAPG TSTPESGSASPGSTSE SPSGTAPGSTSESPSG TAPGTSTPESGSASP GTSPSGESSTAPGSTS STAESPGPGTSPSGES STAPGSTSSTAESPGP GTSTPESGSASPGSTS ESPSGTAPGSTSSTA ESPGPGTSTPESGSAS PGTSTPESGSASPGFP TIPLSRLFDNAMLRA HRLHQLAFDTYQEF EEAYIPKEQKYSFLQ NPQTSLCFSESIPTPS NREETQQKSNLELLR ISLLLIQSWLEPVQFL RSVFANSLVYGASD SNVYDLLKDLEEGIQ TLMGRLEDGSPRTG QIFKQTYSKFDTNSH NDDALLKNYGLLYC FRKDMDKVETFLRI VQCRSVEGSCGFGG TSESATPESGPGSEP ATSGSETPGTSESAT PESGPGSEPATSGSE TPGTSESATPESGPG TSTEPSEGSAPGSPA GSPTSTEEGTSESATP ESGPGSEPATSGSET PGTSESATPESGPGSP AGSPTSTEEGSPAGS PTSTEEGTSTEPSEGS APGTSESATPESGPG TSESATPESGPGTSES ATPESGPGSEPATSG SETPGSEPATSGSETP GSPAGSPTSTEEGTS TEPSEGSAPGTSTEPS EGSAPGSEPATSGSE TPGTSESATPESGPG TSTEPSEGSAP	GAATCTCCTTCTGGTACCGCTCCAGGTACTTCTACCCCTGAAAG CGGCTCCGCTTCTCCAGGTTCCACTAGCTCTACCGCTGAATCTC CGGGTCCAGGTTCTACTAGCTCTACTGCAGAATCTCCTGGCCCA GGTACCTCTACTCCGGAAAGCGGCTCTGCATCTCCAGGTACTTC TACCCCTGAAAGCGGTTCTGCATCTCCAGGTTCTACTAGCGAAT CCCCGTCTGGTACCGCACCAGGTACTTCTACCCCGGAAAGCGG CTCTGCTTCTCCAGGTACTTCTACCCCGGAAAGCGGCTCCGCAT CTCCAGGTTCTACTAGCGAATCTCCTTCTGGTACCGCTCCAGGT TCTACCAGCGAATCCCCGTCTGGTACTGCTCCAGGTTCTACCAG CGAATCTCCTTCTGGTACTGCACCAGGTTCTACTAGCTCTACTG CAGAATCTCCTGGCCCAGGTACCTCTACTCCGGAAAGCGGCTCT GCATCTCCAGGTACTTCTACCCCTGAAAGCGGTTCTGCATCTCC AGGTTCTACTAGCGAATCTCCTTCTGGCACTGCACCAGGTTCTA CCAGCGAATCTCCGTCTGGCACTGCACCAGGTACCTCTACCCCT GAAAGCGGTTCCGCTTCTCCAGGTTCTACTAGCGAATCTCCTTC TGGCACTGCACCAGGTTCTACCAGCGAATCTCCGTCTGGCACTG CACCAGGTACCTCTACCCCTGAAAGCGGTTCCGCTTCTCCAGGT ACTTCTCCGAGCGGTGAATCTTCTACCGCACCAGGTTCTACTAG CTCTACCGCTGAATCTCCGGGCCCAGGTACTTCTCCGAGCGGTG AATCTTCTACTGCTCCAGGTTCCACTAGCTCTACTGCTGAATCT CCTGGCCCAGGTACTTCTACTCCGGAAAGCGGTTCCGCTTCTCC AGGTTCTACTAGCGAATCTCCGTCTGGCACCGCACCAGGTTCTA CTAGCTCTACTGCAGAATCTCCTGGCCCAGGTACCTCTACTCCG GAAAGCGGCTCTGCATCTCCAGGTACTTCTACCCCTGAAAGCG GTTCTGCATCTCCAGGTTTTCCGACTATTCCGCTGTCTCGTCTGT TTGATAATGCTATGCTGCGTGCGCACCGTCTGCACCAGCTGGCC TTTGATACTTACCAGGAATTTGAAGAAGCcTACATTCCTAAAGA GCAGAAGTACTCTTTCCTGCAAAACCCACAGACTTCTCTCTGCT TCAGCGAATCTATTCCGACGCCTTCCAATCGCGAGGAAACTCA GCAAAAGTCCAATCTGGAACTACTCCGCATTTCTCTGCTTCTGA TTCAGAGCTGGCTAGAACCAGTGCAATTTCTGCGTTCCGTCTTC GCCAATAGCCTAGTTTATGGCGCATCCGACAGCAACGTATACG ATCTCCTGAAAGATCTCGAGGAAGGCATTCAGACCCTGATGGG TCGTCTCGAGGATGGCTCTCCGCGTACTGGTCAGATCTTCAAGC AGACTTACTCTAAATTTGATACTAACAGCCACAATGACGATGC GCTTCTAAAAAACTATGGTCTGCTGTATTGTTTTCGTAAAGATA TGGACAAAGTTGAAACCTTCCTGCGTATTGTTCAGTGTCGTTCC GTTGAGGGCAGCTGTGGTTTCTAAGGTGGTACCTCTGAAAGCG CAACTCCTGAGTCTGGCCCAGGTAGCGAACCTGCTACCTCCGGC TCTGAGACTCCAGGTACCTCTGAAAGCGCAACCCCGGAATCTG GTCCAGGTAGCGAACCTGCAACCTCTGGCTCTGAAACCCCAGG TACCTCTGAAAGCGCTACTCCTGAATCTGGCCCAGGTACTTCTA CTGAACCGTCCGAGGGCAGCGCACCAGGTAGCCCTGCTGGCTC TCCAACCTCCACCGAAGAAGGTACCTCTGAAAGCGCAACCCCT GAATCCGGCCCAGGTAGCGAACCGGCAACCTCCGGTTCTGAAA CCCCAGGTACTTCTGAAAGCGCTACTCCTGAGTCCGGCCCAGGT AGCCCGGCTGGCTCTCCGACTTCCACCGAGGAAGGTAGCCCGG CTGGCTCTCCAACTTCTACTGAAGAAGGTACTTCTACCGAACCT TCCGAGGGCAGCGCACCAGGTACTTCTGAAAGCGCTACCCCTG AGTCCGGCCCAGGTACTTCTGAAAGCGCTACTCCTGAATCCGGT CCAGGTACTTCTGAAAGCGCTACCCCGGAATCTGGCCCAGGTA GCGAACCGGCTACTTCTGGTTCTGAAACCCCAGGTAGCGAACC GGCTACCTCCGGTTCTGAAACTCCAGGTAGCCCAGCAGGCTCTC CGACTTCCACTGAGGAAGGTACTTCTACTGAACCTTCCGAAGGC AGCGCACCAGGTACCTCTACTGAACCTTCTGAGGGCAGCGCTC CAGGTAGCGAACCTGCAACCTCTGGCTCTGAAACCCCAGGTAC CTCTGAAAGCGCTACTCCTGAATCTGGCCCAGGTACTTCTACTG AACCGTCCGAGGGCAGCGCACCA
AE624-	MAEPAGSPTSTEEGT	ATGGCTGAACCTGCTGGCTCTCCAACCTCCACTGAGGAAGGTA

hGH-AE288	PGSGTASSSPGSSTPS	CCCCGGGTAGCGGTACTGCTTCTTCCTCTCCAGGTAGCTCTACC
	GATGSPGASPGTSST	CCTTCTGGTGCAACCGGCTCTCCAGGTGCTTCTCCGGGCACCAG
	GSPGSPAGSPTSTEE	CTCTACCGGTTCTCCAGGTAGCCCGGCTGGCTCTCCTACCTCTA
	GTSESATPESGPGTS	CTGAGGAAGGTACTTCTGAAAGCGCTACTCCTGAGTCTGGTCCA
	TEPSEGSAPGSPAGS	GGTACCTCTACTGAACCGTCCGAAGGTAGCGCTCCAGGTAGCC
	PTSTEEGTSTEPSEGS	CAGCAGGCTCTCCGACTTCCACTGAGGAAGGTACTTCTACTGAA
	APGTSTEPSEGSAPG	CCTTCCGAAGGCAGCGCACCAGGTACCTCTACTGAACCTTCTGA
	TSESATPESGPGSEP	GGGCAGCGCTCCAGGTACTTCTGAAAGCGCTACCCCGGAATCT
	ATSGSETPGSEPATS	GGCCCAGGTAGCGAACCGGCTACTTCTGGTTCTGAAACCCCAG
	GSETPGSPAGSPTST	GTAGCGAACCGGCTACCTCCGGTTCTGAAACTCCAGGTAGCCC
	EEGTSESATPESGPG	GGCAGGCTCTCCGACCTCTACTGAGGAAGGTACTTCTGAAAGC
	TSTEPSEGSAPGTSTE	GCAACCCCGGAGTCCGGCCCAGGTACCTCTACCGAACCGTCTG
	PSEGSAPGSPAGSPT	AGGGCAGCGCACCAGGTACTTCTACCGAACCGTCCGAGGGTAG
	STEEGTSTEPSEGSAP	CGCACCAGGTAGCCCAGCAGGTTCTCCTACCTCCACCGAGGAA
	GTSTEPSEGSAPGTS	GGTACTTCTACCGAACCGTCCGAGGGTAGCGCACCAGGTACCT
	ESATPESGPGTSTEPS	CTACTGAACCTTCTGAGGGCAGCGCTCCAGGTACTTCTGAAAGC
	EGSAPGTSESATPES	GCTACCCCGGAGTCCGGTCCAGGTACTTCTACTGAACCGTCCGA
	GPGSEPATSGSETPG	AGGTAGCGCACCAGGTACTTCTGAAAGCGCAACCCCTGAATCC
	TSTEPSEGSAPGTSTE	GGTCCAGGTAGCGAACCGGCTACTTCTGGCTCTGAGACTCCAG
	PSEGSAPGTSESATP	GTACTTCTACCGAACCGTCCGAAGGTAGCGCACCAGGTACTTCT
	ESGPGTSESATPESG	ACTGAACCGTCTGAAGGTAGCGCACCAGGTACTTCTGAAAGCG
	PGSPAGSPTSTEEGT	CAACCCCGGAATCCGGCCCAGGTACCTCTGAAAGCGCAACCCC
	SESATPESGPGSEPA	GGAGTCCGGCCCAGGTAGCCCTGCTGGCTCTCCAACCTCCACCG
	TSGSETPGTSESATPE	AAGAAGGTACCTCTGAAAGCGCAACCCCTGAATCCGGCCCAGG
	SGPGTSTEPSEGSAP	TAGCGAACCGGCAACCTCCGGTTCTGAAACCCCAGGTACCTCT
	GTSTEPSEGSAPGTS	GAAAGCGCTACTCCGGAGTCTGGCCCAGGTACCTCTACTGAAC
	TEPSEGSAPGTSTEPS	CGTCTGAGGGTAGCGCTCCAGGTACTTCTACTGAACCGTCCGAA
	EGSAPGTSTEPSEGS	GGTAGCGCACCAGGTACTTCTACCGAACCGTCCGAAGGCAGCG
	APGTSTEPSEGSAPG	CTCCAGGTACCTCTACTGAACCTTCCGAGGGCAGCGCTCCAGGT
	SPAGSPTSTEEGTSTE	ACCTCTACCGAACCTTCTGAAGGTAGCGCACCAGGTACTTCTAC
	PSEGSAPGTSESATP	CGAACCGTCCGAGGGTAGCGCACCAGGTAGCCCAGCAGGTTCT
	ESGPGSEPATSGSET	CCTACCTCCACCGAGGAAGGTACTTCTACCGAACCGTCCGAGG
	PGTSESATPESGPGS	GTAGCGCACCAGGTACCTCTGAAAGCGCAACTCCTGAGTCTGG
	EPATSGSETPGTSES	CCCAGGTAGCGAACCTGCTACCTCCGGCTCTGAGACTCCAGGT
	ATPESGPGTSTEPSE	ACCTCTGAAAGCGCAACCCCGGAATCTGGTCCAGGTAGCGAAC
	GSAPGTSESATPESG	CTGCAACCTCTGGCTCTGAAACCCCAGGTACCTCTGAAAGCGCT
	PGSPAGSPTSTEEGSP	ACTCCTGAATCTGGCCCAGGTACTTCTACTGAACCGTCCGAGGG
	AGSPTSTEEGSPAGS	CAGCGCACCAGGTACTTCTGAAAGCGCTACTCCTGAGTCCGGC
	PTSTEEGTSESATPES	CCAGGTAGCCCGGCTGGCTCTCCGACTTCCACCGAGGAAGGTA
	GPGTSTEPSEGSAPG	GCCCGGCTGGCTCTCCAACTTCTACTGAAGAAGGTAGCCCGGC
	FPTIPLSRLFDNAML	AGGCTCTCCGACCTCTACTGAGGAAGGTACTTCTGAAAGCGCA
	RAHRLHQLAFDTYQ	ACCCCGGAGTCCGGCCCAGGTACCTCTACCGAACCGTCTGAGG
	EFEEAYIPKEQKYSF	GCAGCGCACCAGGTTTTCCGACTATTCCGCTGTCTCGTCTGTTT
	LQNPQTSLCFSESIPT	GATAATGCTATGCTGCGTGCGCACCGTCTGCACCAGCTGGCCTT
	PSNREETQQKSNLEL	TGATACTTACCAGGAATTTGAAGAAGCcTACATTCCTAAAGAGC
	LRISLLLIQSWLEPVQ	AGAAGTACTCTTTCCTGCAAAACCCACAGACTTCTCTCTGCTTC
	FLRSVFANSLVYGAS	AGCGAATCTATTCCGACGCCTTCCAATCGCGAGGAAACTCAGC
	DSNVYDLLKDLEEGI	AAAAGTCCAATCTGGAACTACTCCGCATTTCTCTGCTTCTGATT
	QTLMGRLEDGSPRT	CAGAGCTGGCTAGAACCAGTGCAATTTCTGCGTTCCGTCTTCGC
	GQIFKQTYSKFDTNS	CAATAGCCTAGTTTATGGCGCATCCGACAGCAACGTATACGAT
	HNDDALLKNYGLLY	CTCCTGAAAGATCTCGAGGAAGGCATTCAGACCCTGATGGGTC
	CFRKDMDKVETFLRI	GTCTCGAGGATGGCTCTCCGCGTACTGGTCAGATCTTCAAGCAG
	VQCRSVEGSCGFGG	ACTTACTCTAAATTTGATACTAACAGCCACAATGACGATGCGCT
	TSESATPESGPGSEP	TCTAAAAAACTATGGTCTGCTGTATTGTTTTCGTAAAGATATGG
	ATSGSETPGTSESAT	ACAAAGTTGAAACCTTCCTGCGTATTGTTCAGTGTCGTTCCGTT
	PESGPGSEPATSGSE	GAGGGCAGCTGTGGTTTCTAAGGTGGTACCTCTGAAAGCGCAA
	TPGTSESATPESGPG	CTCCTGAGTCTGGCCCAGGTAGCGAACCTGCTACCTCCGGCTCT
	TSTEPSEGSAPGSPA	GAGACTCCAGGTACCTCTGAAAGCGCAACCCCGGAATCTGGTC
	GSPTSTEEGTSESATP	CAGGTAGCGAACCTGCAACCTCTGGCTCTGAAACCCCAGGTAC

	ESGPGSEPATSGSET PGTSESATPESGPGSP AGSPTSTEEGSPAGS PTSTEEGTSTEPSEGS APGTSESATPESGPG TSESATPESGPGTSES ATPESGPGSEPATSG SETPGSEPATSGSETP GSPAGSPTSTEEGTS TEPSEGSAPGTSTEPS EGSAPGSEPATSGSE TPGTSESATPESGPG TSTEPSEGSAP	CTCTGAAAGCGCTACTCCTGAATCTGGCCCAGGTACTTCTACTG AACCGTCCGAGGGCAGCGCACCAGGTAGCCCTGCTGGCTCTCC AACCTCCACCGAAGAAGGTACCTCTGAAAGCGCAACCCCTGAA TCCGGCCCAGGTAGCGAACCGGCAACCTCCGGTTCTGAAACCC CAGGTACTTCTGAAAGCGCTACTCCTGAGTCCGGCCCAGGTAG CCCGGCTGGCTCTCCGACTTCCACCGAGGAAGGTAGCCCGGCT GGCTCTCCAACTTCTACTGAAGAAGGTACTTCTACCGAACCTTC CGAGGGCAGCGCACCAGGTACTTCTGAAAGCGCTACCCCTGAG TCCGGCCCAGGTACTTCTGAAAGCGCTACTCCTGAATCCGGTCC AGGTACTTCTGAAAGCGCTACCCCGGAATCTGGCCCAGGTAGC GAACCGGCTACTTCTGGTTCTGAAACCCCAGGTAGCGAACCGG CTACCTCCGGTTCTGAAACTCCAGGTAGCCCAGCAGGCTCTCCG ACTTCCACTGAGGAAGGTACTTCTACTGAACCTTCCGAAGGCA GCGCACCAGGTACCTCTACTGAACCTTCTGAGGGCAGCGCTCC AGGTAGCGAACCTGCAACCTCTGGCTCTGAAACCCCAGGTACC TCTGAAAGCGCTACTCCTGAATCTGGCCCAGGTACTTCTACTGA ACCGTCCGAGGGCAGCGCACCA
AD836-hGH-AE288	GSSESGSSEGGPGSS ESGSSEGGPGESPGG SSGSESGSGGEPSES GSSGESPGGSSGSES GESPGGSSGSESGSS ESGSSEGGPGSSESG SSEGGPGSSESGSSE GGPGESPGGSSGSES GESPGGSSGSESGES PGGSSGSESGSSESG SSEGGPGSSESGSSE GGPGSSESGSSEGGP GSSESGSSEGGPGSS ESGSSEGGPGSSESG SSEGGPGSGGEPSES GSSGESPGGSSGSES GESPGGSSGSESGSG GEPSESGSSGSEGSS GPGESSGSSESGSSE GGPGSGGEPSESGSS GSEGSSGPGESSGSS ESGSSEGGPGSGGEP SESGSSGESPGGSSG SESGSGGEPSESGSS GSGGEPSESGSSGSS ESGSSEGGPGSGGEP SESGSSGSGGEPSES GSSGSEGSSGPGESS GESPGGSSGSESGSE GSSGPGESSGSEGSS GPGESSGSGGEPSES GSSGSSESGSSEGGP GSSESGSSEGGPGES PGGSSGSESGSGGEP SESGSSGSEGSSGPG ESSGESPGGSSGSES GSEGSSGPGSSESGS SEGGPGSGGEPSESG SSGSEGSSGPGESSG SEGSSGPGESSGSEG SSGPGESSGSGGEPS ESGSSGSGGEPSESG	GGTTCCTCTGAAAGCGGTTCTTCCGAAGGTGGTCCAGGTTCCTC TGAAAGCGGTTCTTCTGAGGGTGGTCCAGGTGAATCTCCGGGT GGCTCCAGCGGTTCCGAGTCAGGTTCTGGTGGCGAACCTTCCGA GTCTGGTAGCTCAGGTGAATCTCCGGGTGGTTCTAGCGGTTCCG AGTCAGGTGAATCTCCGGGTGGTTCCAGCGGTTCTGAGTCAGGT TCCTCCGAAAGCGGTTCTTCTGAGGGCGGTCCAGGTTCCTCCGA AAGCGGTTCTTCCGAGGGCGGTCCAGGTTCTTCTGAAAGCGGTT CTTCCGAGGGCGGTCCAGGTGAATCTCCTGGTGGTTCCAGCGGT TCCGAGTCAGGTGAATCTCCAGGTGGCTCTAGCGGTTCCGAGTC AGGTGAATCTCCTGGTGGTTCTAGCGGTTCTGAATCAGGTTCCT CCGAAAGCGGTTCTTCTGAGGGCGGTCCAGGTTCCTCCGAAAG CGGTTCTTCCGAGGGCGGTCCAGGTTCTTCTGAAAGCGGTTCTT CCGAGGGCGGTCCAGGTTCCTCTGAAAGCGGTTCTTCTGAGGG CGGTCCAGGTTCTTCCGAAAGCGGTTCTTCCGAGGGCGGTCCAG GTTCTTCCGAAAGCGGTTCTTCTGAAGGCGGTCCAGGTTCTGGT GGCGAACCGTCCGAGTCTGGTAGCTCAGGTGAATCTCCGGGTG GCTCTAGCGGTTCCGAGTCAGGTGAATCTCCTGGTGGTTCCAGC GGTTCCGAGTCAGGTTCCGGTGGCGAACCGTCCGAATCTGGTA GCTCAGGTAGCGAAGGTTCTTCTGGTCCAGGCGAATCTTCAGGT TCCTCTGAAAGCGGTTCTTCTGAGGGCGGTCCAGGTTCCGGTGG CGAACCGTCCGAATCTGGTAGCTCAGGTAGCGAAGGTTCTTCTG GTCCAGGCGAATCTTCAGGTTCCTCTGAAAGCGGTTCTTCTGAG GGCGGTCCAGGTTCCGGTGGCGAACCTTCCGAATCTGGTAGCTC AGGTGAATCTCCGGGTGGTTCTAGCGGTTCTGAGTCAGGTTCTG GTGGTGAACCTTCCGAGTCTGGTAGCTCAGGTTCTGGTGGCGAA CCATCCGAGTCTGGTAGCTCAGGTTCTTCCGAAAGCGGTTCTTC CGAAGGCGGTCCAGGTTCTGGTGGTGAACCGTCCGAATCTGGT AGCTCAGGTTCTGGTGGCGAACCATCCGAATCTGGTAGCTCAG GTAGCGAAGGTTCTTCTGGTCCTGGCGAATCTTCAGGTGAATCT CCAGGTGGCTCTAGCGGTTCCGAATCAGGTAGCGAAGGTTCTTC CGGTCCAGGTGAATCTTCAGGTAGCGAAGGTTCTTCTGGTCCTG GTGAATCCTCAGGTTCCGGTGGCGAACCATCTGAATCTGGTAGC TCAGGTTCCTCTGAAAGCGGTTCTTCCGAAGGTGGTCCAGGTTC CTCTGAAAGCGGTTCTTCTGAGGGTGGTCCAGGTGAATCTCCGG GTGGCTCCAGCGGTTCCGAGTCAGGTTCTGGTGGCGAACCATCC GAATCTGGTAGCTCAGGTAGCGAAGGTTCTTCTGGTCCTGGCGA ATCTTCAGGTGAATCTCCAGGTGGCTCTAGCGGTTCCGAATCAG GTAGCGAAGGTTCTTCCGGTCCaGGTTCCTCTGAAAGCGGTTCT TCTGAGGGCGGTCCAGGTTCTGGTGGCGAACCATCTGAATCTG GTAGCTCAGGTAGCGAAGGTTCTTCCGGTCCGGGTGAATCTTCA GGTAGCGAAGGTTCTTCCGGTCCAGGTGAATCTTCAGGTAGCG AAGGTTCTTCTGGTCCTGGTGAATCCTCAGGTTCCGGTGGCGAA

	SSGESPGGSSGSESG ESPGGSSGSESGSGG EPSESGSSGSEGSSGP GESSGESPGGSSGSE SGSSESGSSEGGPGS SESGSSEGGPGSSES GSSEGGPGSGGEPSE SGSSGSSESGSSEGG PGESPGGSSGSESGS GGEPSESGSSGSSES GSSEGGPGESPGGSS GSESGSGGEPSESGS SGESPGGSSGSESGS GGEPSESGSSGFPTIP LSRLFDNAMLRAHR LHQLAFDTYQEFEE AYIPKEQKYSFLQNP QTSLCFSESIPTPSNR EETQQKSNLELLRIS LLLIQSWLEPVQFLR SVFANSLVYGASDS NVYDLLKDLEEGIQT LMGRLEDGSPRTGQI FKQTYSKFDTNSHN DDALLKNYGLLYCF RKDMDKVETFLRIV QCRSVEGSCGFGGTS ESATPESGPGSEPAT SGSETPGTSESATPES GPGSEPATSGSETPG TSESATPESGPGTSTE PSEGSAPGSPAGSPT STEEGTSESATPESGP GSEPATSGSETPGTS ESATPESGPGSPAGS PTSTEEGSPAGSPTST EEGTSTEPSEGSAPG TSESATPESGPGTSES ATPESGPGTSESATP ESGPGSEPATSGSET PGSEPATSGSETPGSP AGSPTSTEEGTSTEPS EGSAPGTSTEPSEGS APGSEPATSGSETPG TSESATPESGPGTSTE PSEGSAP	CCATCTGAATCTGGTAGCTCAGGTTCTGGTGGCGAACCATCCGA ATCTGGTAGCTCAGGTGAATCTCCGGGTGGCTCCAGCGGTTCTG AATCAGGTGAATCTCCTGGTGGCTCCAGCGGTTCTGAGTCAGGT TCTGGTGGCGAACCATCCGAATCTGGTAGCTCAGGTAGCGAAG GTTCTTCTGGTCCTGGCGAATCTTCAGGTGAATCTCCAGGTGGC TCTAGCGGTTCCGAATCAGGTTCCTCTGAAAGCGGTTCTTCTGA GGGCGGTCCAGGTTCTTCCGAAAGCGGTTCTTCCGAGGGCGGT CCAGGTTCTTCCGAAAGCGGTTCTTCTGAAGGCGGTCCAGGTTC TGGTGGCGAACCGTCCGAATCTGGTAGCTCAGGTTCCTCCGAA AGCGGTTCTTCTGAAGGTGGTCCAGGTGAATCTCCAGGTGGTTC TAGCGGTTCTGAATCAGGTTCTGGTGGCGAACCGTCCGAATCTG GTAGCTCAGGTTCCTCCGAAAGCGGTTCTTCTGAAGGTGGTCCA GGTGAATCTCCAGGTGGTTCTAGCGGTTCTGAATCAGGTTCTGG TGGCGAACCGTCCGAATCTGGTAGCTCAGGTGAATCTCCTGGTG GTTCCAGCGGTTCCGAGTCAGGTTCTGGTGGCGAACCTTCCGAA TCTGGTAGCTCAGGTTTTCCGACTATTCCGCTGTCTCGTCTGTTT GATAATGCTATGCTGCGTGCGCACCGTCTGCACCAGCTGGCCTT TGATACTTACCAGGAATTTGAAGAAGCcTACATTCCTAAAGAGC AGAAGTACTCTTTCCTGCAAAACCCACAGACTTCTCTCTGCTTC AGCGAATCTATTCCGACGCCTTCCAATCGCGAGGAAACTCAGC AAAAGTCCAATCTGGAACTACTCCGCATTTCTCTGCTTCTGATT CAGAGCTGGCTAGAACCAGTGCAATTTCTGCGTTCCGTCTTCGC CAATAGCCTAGTTTATGGCGCATCCGACAGCAACGTATACGAT CTCCTGAAAGATCTCGAGGAAGGCATTCAGACCCTGATGGGTC GTCTCGAGGATGGCTCTCCGCGTACTGGTCAGATCTTCAAGCAG ACTTACTCTAAATTTGATACTAACAGCCACAATGACGATGCGCT TCTAAAAAAACTATGGTCTGCTGTATTGTTTTCGTAAAGATATGG ACAAAGTTGAAACCTTCCTGCGTATTGTTCAGTGTCGTTCCGTT GAGGGCAGCTGTGGTTTCTAAGGTGGTACCTCTGAAAGCGCAA CTCCTGAGTCTGGCCCAGGTAGCGAACCTGCTACCTCCGGCTCT GAGACTCCAGGTACCTCTGAAAGCGCAACCCCGGAATCTGGTC CAGGTAGCGAACCTGCAACCTCTGGCTCTGAAACCCCAGGTAC CTCTGAAAGCGCTACTCCTGAATCTGGCCCAGGTACTTCTACTG AACCGTCCGAGGGCAGCGCACCAGGTAGCCCTGCTGGCTCTCC AACCTCCACCGAAGAAGGTACCTCTGAAAGCGCAACCCCTGAA TCCGGCCCAGGTAGCGAACCGGCAACCTCCGGTTCTGAAACCC CAGGTACTTCTGAAAGCGCTACTCCTGAGTCCGGCCCAGGTAG CCCGGCTGGCTCTCCGACTTCCACCGAGGAAGGTAGCCCGGCT GGCTCTCCAACTTCTACTGAAGAAGGTACTTCTACCGAACCTTC CGAGGGCAGCGCACCAGGTACTTCTGAAAGCGCTACCCCTGAG TCCGGCCCAGGTACTTCTGAAAGCGCTACTCCTGAATCCGGTCC AGGTACTTCTGAAAGCGCTACCCCCGGAATCTGGCCCAGGTAGC GAACCGGCTACTTCTGGTTCTGAAACCCCAGGTAGCGAACCGG CTACCTCCGGTTCTGAAACTCCAGGTAGCCCAGCAGGCTCTCCG ACTTCCACTGAGGAAGGTACTTCTACTGAACCTTCCGAAGGCA GCGCACCAGGTACCTCTACTGAACCTTCTGAGGGCAGCGCTCC AGGTAGCGAACCTGCAACCTCTGGCTCTGAAACCCCAGGTACC TCTGAAAGCGCTACTCCTGAATCTGGCCCAGGTACTTCTACTGA ACCGTCCGAGGGCAGCGCACCA
AE864- hGH- AE288	GSPAGSPTSTEEGTS ESATPESGPGTSTEPS EGSAPGSPAGSPTST EEGTSTEPSEGSAPG TSTEPSEGSAPGTSES ATPESGPGSEPATSG SETPGSEPATSGSETP GSPAGSPTSTEEGTS ESATPESGPGTSTEPS EGSAPGTSTEPSEGS	GGTAGCCCGGCTGGCTCTCCTACCTCTACTGAGGAAGGTACTTC TGAAAGCGCTACTCCTGAGTCTGGTCCAGGTACCTCTACTGAAC CGTCCGAAGGTAGCGCTCCAGGTAGCCCAGCAGGCTCTCCGAC TTCCACTGAGGAAGGTACTTCTACTGAACCTTCCGAAGGCAGC GCACCAGGTACCTCTACTGAACCTTCTGAGGGCAGCGCTCCAG GTACTTCTGAAAGCGCTACCCCGGAATCTGGCCCAGGTAGCGA ACCGGCTACTTCTGGTTCTGAAACCCCAGGTAGCGAACCGGCT ACCTCCGGTTCTGAAACTCCAGGTAGCCCGGCAGGCTCTCCGAC CTCTACTGAGGAAGGTACTTCTGAAAGCGCAACCCCGGAGTCC GGCCCAGGTACCTCTACCGAACCGTCTGAGGGCAGCGCACCAG

	APGSPAGSPTSTEEG	GTACTTCTACCGAACCGTCCGAGGGTAGCGCACCAGGTAGCCC
	TSTEPSEGSAPGTSTE	AGCAGGTTCTCCTACCTCCACCGAGGAAGGTACTTCTACCGAAC
	PSEGSAPGTSESATP	CGTCCGAGGGTAGCGCACCAGGTACCTCTACTGAACCTTCTGA
	ESGPGTSTEPSEGSA	GGGCAGCGCTCCAGGTACTTCTGAAAGCGCTACCCCGGAGTCC
	PGTSESATPESGPGS	GGTCCAGGTACTTCTACTGAACCGTCCGAAGGTAGCGCACCAG
	EPATSGSETPGTSTEP	GTACTTCTGAAAGCGCAACCCCTGAATCCGGTCCAGGTAGCGA
	SEGSAPGTSTEPSEG	ACCGGCTACTTCTGGCTCTGAGACTCCAGGTACTTCTACCGAAC
	SAPGTSESATPESGP	CGTCCGAAGGTAGCGCACCAGGTACTTCTACTGAACCGTCTGA
	GTSESATPESGPGSP	AGGTAGCGCACCAGGTACTTCTGAAAGCGCAACCCCGGAATCC
	AGSPTSTEEGTSESA	GGCCCAGGTACCTCTGAAAGCGCAACCCCGGAGTCCGGCCCAG
	TPESGPGSEPATSGS	GTAGCCCTGCTGGCTCTCCAACCTCCACCGAAGAAGGTACCTCT
	ETPGTSESATPESGP	GAAAGCGCAACCCCTGAATCCGGCCCAGGTAGCGAACCGGCAA
	GTSTEPSEGSAPGTS	CCTCCGGTTCTGAAACCCCAGGTACCTCTGAAAGCGCTACTCCG
	TEPSEGSAPGTSTEPS	GAGTCTGGCCCAGGTACCTCTACTGAACCGTCTGAGGGTAGCG
	EGSAPGTSTEPSEGS	CTCCAGGTACTTCTACTGAACCGTCCGAAGGTAGCGCACCAGG
	APGTSTEPSEGSAPG	TACTTCTACCGAACCGTCCGAAGGCAGCGCTCCAGGTACCTCTA
	TSTEPSEGSAPGSPA	CTGAACCTTCCGAGGGCAGCGCTCCAGGTACCTCTACCGAACCT
	GSPTSTEEGTSTEPSE	TCTGAAGGTAGCGCACCAGGTACTTCTACCGAACCGTCCGAGG
	GSAPGTSESATPESG	GTAGCGCACCAGGTAGCCCAGCAGGTTCTCCTACCTCCACCGA
	PGSEPATSGSETPGT	GGAAGGTACTTCTACCGAACCGTCCGAGGGTAGCGCACCAGGT
	SESATPESGPGSEPA	ACCTCTGAAAGCGCAACTCCTGAGTCTGGCCCAGGTAGCGAAC
	TSGSETPGTSESATPE	CTGCTACCTCCGGCTCTGAGACTCCAGGTACCTCTGAAAGCGCA
	SGPGTSTEPSEGSAP	ACCCCGGAATCTGGTCCAGGTAGCGAACCTGCAACCTCTGGCT
	GTSESATPESGPGSP	CTGAAACCCCAGGTACCTCTGAAAGCGCTACTCCTGAATCTGGC
	AGSPTSTEEGSPAGS	CCAGGTACTTCTACTGAACCGTCCGAGGGCAGCGCACCAGGTA
	PTSTEEGSPAGSPTST	CTTCTGAAAGCGCTACTCCTGAGTCCGGCCCAGGTAGCCCGGCT
	EEGTSESATPESGPG	GGCTCTCCGACTTCCACCGAGGAAGGTAGCCCGGCTGGCTCTCC
	TSTEPSEGSAPGTSES	AACTTCTACTGAAGAAGGTAGCCCGGCAGGCTCTCCGACCTCT
	ATPESGPGSEPATSG	ACTGAGGAAGGTACTTCTGAAAGCGCAACCCCGGAGTCCGGCC
	SETPGTSESATPESGP	CAGGTACCTCTACCGAACCGTCTGAGGGCAGCGCACCAGGTAC
	GSEPATSGSETPGTS	CTCTGAAAGCGCAACTCCTGAGTCTGGCCCAGGTAGCGAACCT
	ESATPESGPGTSTEPS	GCTACCTCCGGCTCTGAGACTCCAGGTACCTCTGAAAGCGCAA
	EGSAPGSPAGSPTST	CCCCGGAATCTGGTCCAGGTAGCGAACCTGCAACCTCTGGCTCT
	EEGTSESATPESGPG	GAAACCCCAGGTACCTCTGAAAGCGCTACTCCTGAATCTGGCC
	SEPATSGSETPGTSES	CAGGTACTTCTACTGAACCGTCCGAGGGCAGCGCACCAGGTAG
	ATPESGPGSPAGSPT	CCCTGCTGGCTCTCCAACCTCCACCGAAGAAGGTACCTCTGAAA
	STEEGSPAGSPTSTEE	GCGCAACCCCTGAATCCGGCCCAGGTAGCGAACCGGCAACCTC
	GTSTEPSEGSAPGTS	CGGTTCTGAAACCCCAGGTACTTCTGAAAGCGCTACTCCTGAGT
	ESATPESGPGTSESA	CCGGCCCAGGTAGCCCGGCTGGCTCTCCGACTTCCACCGAGGA
	TPESGPGTSESATPES	AGGTAGCCCGGCTGGCTCTCCAACTTCTACTGAAGAAGGTACTT
	GPGSEPATSGSETPG	CTACCGAACCTTCCGAGGGCAGCGCACCAGGTACTTCTGAAAG
	SEPATSGSETPGSPA	CGCTACCCCTGAGTCCGGCCCAGGTACTTCTGAAAGCGCTACTC
	GSPTSTEEGTSTEPSE	CTGAATCCGGTCCAGGTACTTCTGAAAGCGCTACCCCGGAATCT
	GSAPGTSTEPSEGSA	GGCCCAGGTAGCGAACCGGCTACTTCTGGTTCTGAAACCCCAG
	PGSEPATSGSETPGT	GTAGCGAACCGGCTACCTCCGGTTCTGAAACTCCAGGTAGCCC
	SESATPESGPGTSTEP	AGCAGGCTCTCCGACTTCCACTGAGGAAGGTACTTCTACTGAAC
	SEGSAPGFPTIPLSRL	CTTCCGAAGGCAGCGCACCAGGTACCTCTACTGAACCTTCTGAG
	FDNAMLRAHRLHQL	GGCAGCGCTCCAGGTAGCGAACCTGCAACCTCTGGCTCTGAAA
	AFDTYQEFEEAYIPK	CCCCAGGTACCTCTGAAAGCGCTACTCCTGAATCTGGCCCAGGT
	EQKYSFLQNPQTSLC	ACTTCTACTGAACCGTCCGAGGGCAGCGCACCAGGTTTTCCGAC
	FSESIPTPSNREETQQ	TATTCCGCTGTCTCGTCTGTTTGATAATGCTATGCTGCGTGCGC
	KSNLELLRISLLLIQS	ACCGTCTGCACCAGCTGGCCTTTGATACTTACCAGGAATTTGAA
	WLEPVQFLRSVFAN	GAAGCcTACATTCCTAAAGAGCAGAAGTACTCTTTCCTGCAAAA
	SLVYGASDSNVYDL	CCCACAGACTTCTCTCTGCTTCAGCGAATCTATTCCGACGCCTT
	LKDLEEGIQTLMGRL	CCAATCGCGAGGAAACTCAGCAAAAGTCCAATCTGGAACTACT
	EDGSPRTGQIFKQTY	CCGCATTTCTCTGCTTCTGATTCAGAGCTGGCTAGAACCAGTGC
	SKFDTNSHNDDALL	AATTTCTGCGTTCCGTCTTCGCCAATAGCCTAGTTTATGGCGCA
	KNYGLLYCFRKDMD	TCCGACAGCAACGTATACGATCTCCTGAAAGATCTCGAGGAAG
	KVETFLRIVQCRSVE	GCATTCAGACCCTGATGGGTCGTCTCGAGGATGGCTCTCCGCGT

	GSCGFGGTSESATPE SGPGSEPATSGSETP GTSESATPESGPGSE PATSGSETPGTSESA TPESGPGTSTEPSEGS APGSPAGSPTSTEEG TSESATPESGPGSEP ATSGSETPGTSESAT PESGPGSPAGSPTSTE EGSPAGSPTSTEEGT STEPSEGSAPGTSES ATPESGPGTSESATP ESGPGTSESATPESG PGSEPATSGSETPGS EPATSGSETPGSPAG SPTSTEEGTSTEPSEG SAPGTSTEPSEGSAP GSEPATSGSETPGTS ESATPESGPGTSTEPS EGSAP	ACTGGTCAGATCTTCAAGCAGACTTACTCTAAATTTGATACTAA CAGCCACAATGACGATGCGCTTCTAAAAAACTATGGTCTGCTGT ATTGTTTTCGTAAAGATATGGACAAAGTTGAAACCTTCCTGCGT ATTGTTCAGTGTCGTTCCGTTGAGGGCAGCTGTGGTTTCTAAGG TGGTACCTCTGAAAGCGCAACTCCTGAGTCTGGCCCAGGTAGC GAACCTGCTACCTCCGGCTCTGAGACTCCAGGTACCTCTGAAAG CGCAACCCCCGGAATCTGGTCCAGGTAGCGAACCTGCAACCTCT GGCTCTGAAACCCCAGGTACCTCTGAAAGCGCTACTCCTGAATC TGGCCCAGGTACTTCTACTGAACCGTCCGAGGGCAGCGCACCA GGTAGCCCTGCTGGCTCTCCAACCTCCACCGAAGAAGGTACCTC TGAAAGCGCAACCCCTGAATCCGGCCCAGGTAGCGAACCGGCA ACCTCCGGTTCTGAAACCCCAGGTACTTCTGAAAGCGCTACTCC TGAGTCCGGCCCAGGTAGCCCGGCTGGCTCTCCGACTTCCACCG AGGAAGGTAGCCCGGCTGGCTCTCCAACTTCTACTGAAGAAGG TACTTCTACCGAACCTTCCGAGGGCAGCGCACCAGGTACTTCTG AAAGCGCTACCCCTGAGTCCGGCCCAGGTACTTCTGAAAGCGC TACTCCTGAATCCGGTCCAGGTACTTCTGAAAGCGCTACCCCGG AATCTGGCCCAGGTAGCGAACCGGCTACTTCTGGTTCTGAAACC CCAGGTAGCGAACCGGCTACCTCCGGTTCTGAAACTCCAGGTA GCCCAGCAGGCTCTCCGACTTCCACTGAGGAAGGTACTTCTACT GAACCTTCCGAAGGCAGCGCACCAGGTACCTCTACTGAACCTT CTGAGGGCAGCGCTCCAGGTAGCGAACCTGCAACCTCTGGCTC TGAAACCCCAGGTACCTCTGAAAGCGCTACTCCTGAATCTGGCC CAGGTACTTCTACTGAACCGTCCGAGGGCAGCGCACCA
AF864- hGH- AE288	GSTSESPSGTAPGTSP SGESSTAPGSTSESPS GTAPGSTSESPSGTA PGTSTPESGSASPGTS TPESGSASPGSTSESP SGTAPGSTSESPSGT APGTSPSGESSTAPG STSESPSGTAPGTSPS GESSTAPGTSPSGESS TAPGSTSSTAESPGP GTSPSGESSTAPGTSP SGESSTAPGSTSSTA ESPGPGTSTPESGSAS PGTSTPESGSASPGST SESPSGTAPGSTSESP SGTAPGTSTPESGSA SPGSTSSTAESPGPGT STPESGSASPGSTSES PSGTAPGTSPSGESST APGSTSSTAESPGPG TSPSGESSTAPGTSTP ESGSASPGSTSSTAES PGPGSTSSTAESPGP GSTSSTAESPGPGSTS STAESPGPGTSPSGES STAPGSTSESPSGTAP GSTSESPSGTAPGTS TPESGPXXXGASASG APSTXXXXSESPSGT APGSTSESPSGTAPG STSESPSGTAPGSTSE SPSGTAPGSTSESPSG TAPGSTSESPSGTAP GTSTPESGSASPGTSP SGESSTAPGTSPSGES	GGTTCTACCAGCGAATCTCCTTCTGGCACCGCTCCAGGTACCTC TCCTAGCGGCGAATCTTCTACCGCTCCAGGTTCTACTAGCGAAT CTCCTTCTGGCACTGCACCAGGTTCTACTAGCGAATCCCCGTCT GGTACTGCTCCAGGTACTTCTACTCCTGAAAGCGGTTCCGCTTC TCCAGGTACCTCTACTCCGGAAAGCGGTTCTGCATCTCCAGGTT CTACCAGCGAATCTCCTTCTGGCACCGCTCCAGGTTCTACTAGC GAATCCCCGTCTGGTACCGCACCAGGTACTTCTCCTAGCGGCGA ATCTTCTACCGCACCAGGTTCTACTAGCGAATCTCCGTCTGGCA CTGCTCCAGGTACTTCTCCTAGCGGTGAATCTTCTACCGCTCCA GGTACTTCCCCTAGCGGCGAATCTTCTACCGCTCCAGGTTCTAC TAGCTCTACTGCAGAATCTCCGGGCCCAGGTACCTCTCCTAGCG GTGAATCTTCTACCGCTCCAGGTACTTCTCCGAGCGGTGAATCT TCTACCGCTCCAGGTTCTACTAGCTCTACTGCAGAATCTCCTGG CCCAGGTACCTCTACTCCGGAAAGCGGCTCTGCATCTCCAGGTA CTTCTACCCCTGAAAGCGGTTCTGCATCTCCAGGTTCTACTAGC GAATCTCCTTCTGGCACTGCACCAGGTTCTACCAGCGAATCTCC GTCTGGCACTGCACCAGGTACCTCTACCCCTGAAAGCGGTTCCG CTTCTCCAGGTTCTACCAGCTCTACCGCAGAATCTCCTGGTCCA GGTACCTCTACTCCGGAAAGCGGCTCTGCATCTCCAGGTTCTAC TAGCGAATCTCCTTCTGGCACTGCACCAGGTACTTCTCCGAGCG GTGAATCTTCTACCGCACCAGGTTCTACTAGCTCTACCGCTGAA TCTCCGGGCCCAGGTACTTCTCCGAGCGGTGAATCTTCTACTGC TCCAGGTACCTCTACTCCTGAAAGCGGTTCTGCATCTCCAGGTT CCACTAGCTCTACCGCAGAATCTCCGGGCCCAGGTTCTACTAGC TCTACTGCTGAATCTCCTGGCCCAGGTTCTACTAGCTCTACTGC TGAATCTCCGGGTCCAGGTTCTACCAGCTCTACTGCTGAATCTC CTGGTCCAGGTACCTCCCCGAGCGGTGAATCTTCTACTGCACCA GGTTCTACTAGCGAATCTCCTTCTGGCACTGCACCAGGTTCTAC CAGCGAATCTCCGTCTGGCACTGCACCAGGTACCTCTACCCCTG AAAGCGGTCCXXXXXXXXXXXXTGCAAGCGCAAGCGGCGCGC CAAGCACGGGAXXXXXXXXXTAGCGAATCTCCTTCTGGTACCGC TCCAGGTTCTACCAGCGAATCCCCGTCTGGTACTGCTCCAGGTT CTACCAGCGAATCTCCTTCTGGTACTGCACCAGGTTCTACTAGC GAATCTCCTTCTGGTACCGCTCCAGGTTCTACCAGCGAATCCCC GTCTGGTACTGCTCCAGGTTCTACCAGCGAATCTCCTTCTGGTA

	STAPGSTSSTAESPGP GTSPSGESSTAPGTS TPESGSASPGSTSESP SGTAPGSTSESPSGT APGTSPSGESSTAPG STSESPSGTAPGTSTP ESGSASPGTSTPESGS ASPGSTSESPSGTAP GTSTPESGSASPGSTS STAESPGPGSTSESPS GTAPGSTSESPSGTA PGTSPSGESSTAPGST SSTAESPGPGTSPSGE SSTAPGTSTPESGSAS PGTSPSGESSTAPGTS PSGESSTAPGTSPSGE SSTAPGSTSSTAESPG PGSTSSTAESPGPGTS PSGESSTAPGSSPSAS TGTGPGSSTPSGATG SPGSSTPSGATGSPG FPTIPLSRLFDNAML RAHRLHQLAFDTYQ EFEEAYIPKEQKYSF LQNPQTSLCFSESIPT PSNREETQQKSNLEL LRISLLLIQSWLEPVQ FLRSVFANSLVYGAS DSNVYDLLKDLEEGI QTLMGRLEDGSPRT GQIFKQTYSKFDTNS HNDDALLKNYGLLY CFRKDMDKVETFLRI VQCRSVEGSCGFGG TSESATPESGPGSEP ATSGSETPGTSESAT PESGPGSEPATSGSE TPGTSESATPESGPG TSTEPSEGSAPGSPA GSPTSTEEGTSESATP ESGPGSEPATSGSET PGTSESATPESGPGSP AGSPTSTEEGSPAGS PTSTEEGTSTEPSEGS APGTSESATPESGPG TSESATPESGPGTSES ATPESGPGSEPATSG SETPGSEPATSGSETP GSPAGSPTSTEEGTS TEPSEGSAPGTSTEPS EGSAPGSEPATSGSE TPGTSESATPESGPG TSTEPSEGSAP	CTGCACCAGGTACTTCTACTCCGGAAAGCGGTTCCGCATCTCCA GGTACTTCTCCTAGCGGTGAATCTTCTACTGCTCCAGGTACCTC TCCTAGCGGCGAATCTTCTACTGCTCCAGGTTCTACCAGCTCTA CTGCTGAATCTCCGGGTCCAGGTACTTCCCCGAGCGGTGAATCT TCTACTGCACCAGGTACTTCTACTCCGGAAAGCGGTTCCGCTTC TCCAGGTTCTACCAGCGAATCTCCTTCTGGCACCGCTCCAGGTT CTACTAGCGAATCCCCGTCTGGTACCGCACCAGGTACTTCTCCT AGCGGCGAATCTTCTACCGCACCAGGTTCTACTAGCGAATCCCC GTCTGGTACCGCACCAGGTACTTCTACCCCGGAAAGCGGCTCTG CTTCTCCAGGTACTTCTACCCCGGAAAGCGGCTCCGCATCTCCA GGTTCTACTAGCGAATCTCCTTCTGGTACCGCTCCAGGTACTTC TACCCCTGAAAGCGGCTCCGCTTCTCCAGGTTCCACTAGCTCTA CCGCTGAATCTCCGGGTCCAGGTTCTACCAGCGAATCTCCTTCT GGCACCGCTCCAGGTTCTACTAGCGAATCCCCGTCTGGTACCGC ACCAGGTACTTCTCCTAGCGGCGAATCTTCTACCGCACCAGGTT CTACCAGCTCTACTGCTGAATCTCCGGGTCCAGGTACTTCCCCG AGCGGTGAATCTTCTACTGCACCAGGTACTTCTACTCCGGAAAG CGGTTCCGCTTCTCCAGGTACCTCCCCTAGCGGCGAATCTTCTA CTGCTCCAGGTACCTCTCCTAGCGGCGAATCTTCTACCGCTCCA GGTACCTCCCCTAGCGGTGAATCTTCTACCGCACCAGGTTCTAC TAGCTCTACTGCTGAATCTCCGGGTCCAGGTTCTACCAGCTCTA CTGCTGAATCTCCTGGTCCAGGTACCTCCCCGAGCGGTGAATCT TCTACTGCACCAGGTTCTAGCCCTTCTGCTTCCACCGGTACCGG CCCAGGTAGCTCTACTCCGTCTGGTGCAACTGGCTCTCCAGGTA GCTCTACTCCGTCTGGTGCAACCGGCTCCCCAGGTTTTCCGACT ATTCCGCTGTCTCGTCTGTTTGATAATGCTATGCTGCGTGCGCA CCGTCTGCACCAGCTGGCCTTTGATACTTACCAGGAATTTGAAG AAGCcTACATTCCTAAAGAGCAGAAGTACTCTTTCCTGCAAAAC CCACAGACTTCTCTCTGCTTCAGCGAATCTATTCCGACGCCTTC CAATCGCGAGGAAACTCAGCAAAAGTCCAATCTGGAACTACTC CGCATTTCTCTGCTTCTGATTCAGAGCTGGCTAGAACCAGTGCA ATTTCTGCGTTCCGTCTTCGCCAATAGCCTAGTTTATGGCGCAT CCGACAGCAACGTATACGATCTCCTGAAAGATCTCGAGGAAGG CATTCAGACCCTGATGGGTCGTCTCGAGGATGGCTCTCCGCGTA CTGGTCAGATCTTCAAGCAGACTTACTCTAAATTTGATACTAAC AGCCACAATGACGATGCGCTTCTAAAAAACTATGGTCTGCTGT ATTGTTTTCGTAAAGATATGGACAAAGTTGAAACCTTCCTGCGT ATTGTTCAGTGTCGTTCCGTTGAGGGCAGCTGTGGTTTCTAAGG TGGTACCTCTGAAAGCGCAACTCCTGAGTCTGGCCCAGGTAGC GAACCTGCTACCTCCGGCTCTGAGACTCCAGGTACCTCTGAAAG CGCAACCCCCGGAATCTGGTCCAGGTAGCGAACCTGCAACCTCT GGCTCTGAAACCCCAGGTACCTCTGAAAGCGCTACTCCTGAATC TGGCCCAGGTACTTCTACTGAACCGTCCGAGGGCAGCGCACCA GGTAGCCCTGCTGGCTCTCCAACCTCCACCGAAGAAGGTACCTC TGAAAGCGCAACCCCTGAATCCGGCCCAGGTAGCGAACCGGCA ACCTCCGGTTCTGAAACCCCAGGTACTTCTGAAAGCGCTACTCC TGAGTCCGGCCCAGGTAGCCCGGCTGGCTCTCCGACTTCCACCG AGGAAGGTAGCCCGGCTGGCTCTCCAACTTCTACTGAAGAAGG TACTTCTACCGAACCTTCCGAGGGCAGCGCACCAGGTACTTCTG AAAGCGCTACCCCTGAGTCCGGCCCAGGTACTTCTGAAAGCGC TACTCCTGAATCCGGTCCAGGTACTTCTGAAAGCGCTACCCCGG AATCTGGCCCAGGTAGCGAACCGGCTACTTCTGGTTCTGAAACC CCAGGTAGCGAACCGGCTACCTCCGGTTCTGAAACTCCAGGTA GCCCAGCAGGCTCTCCGACTTCCACTGAGGAAGGTACTTCTACT GAACCTTCCGAAGGCAGCGCACCAGGTACCTCTACTGAACCTT CTGAGGGCAGCGCTCCAGGTAGCGAACCTGCAACCTCTGGCTC TGAAACCCCAGGTACCTCTGAAAGCGCTACTCCTGAATCTGGCC CAGGTACTTCTACTGAACCGTCCGAGGGCAGCGCACCA
AG864-	GASPGTSSTGSPGSS	GGTGCTTCCCCGGGCACCAGCTCTACTGGTTCTCCAGGTTCTAG

hGH-AE288	PSASTGTGPGSSPSA	CCCGTCTGCTTCTACTGGTACTGGTCCAGGTTCTAGCCCTTCTGC
	STGTGPGTPGSGTAS	TTCCACTGGTACTGGTCCAGGTACCCCGGGTAGCGGTACCGCTT
	SSPGSSTPSGATGSP	CTTCTTCTCCAGGTAGCTCTACTCCGTCTGGTGCTACCGGCTCTC
	GSNPSASTGTGPGAS	CAGGTTCTAACCCTTCTGCATCCACCGGTACCGGCCCAGGTGCT
	PGTSSTGSPGTPGSG	TCTCCGGGCACCAGCTCTACTGGTTCTCCAGGTACCCCGGGCAG
	TASSSPGSSTPSGAT	CGGTACCGCATCTTCTTCTCCAGGTAGCTCTACTCCTTCTGGTGC
	GSPGTPGSGTASSSP	AACTGGTTCTCCAGGTACTCCTGGCAGCGGTACCGCTTCTTCTT
	GASPGTSSTGSPGAS	CTCCAGGTGCTTCTCCTGGTACTAGCTCTACTGGTTCTCCAGGT
	PGTSSTGSPGTPGSG	GCTTCTCCGGGCACTAGCTCTACTGGTTCTCCAGGTACCCCGGG
	TASSSPGSSTPSGAT	TAGCGGTACTGCTTCTTCCTCTCCAGGTAGCTCTACCCCTTCTGG
	GSPGASPGTSSTGSP	TGCAACCGGCTCTCCAGGTGCTTCTCCGGGCACCAGCTCTACCG
	GTPGSGTASSSPGSS	GTTCTCCAGGTACCCCGGGTAGCGGTACCGCTTCTTCTTCTCCA
	TPSGATGSPGSNPSA	GGTAGCTCTACTCCGTCTGGTGCTACCGGCTCTCCAGGTTCTAA
	STGTGPGSSPSASTG	CCCTTCTGCATCCACCGGTACCGGCCCAGGTTCTAGCCCTTCTG
	TGPGSSTPSGATGSP	CTTCCACCGGTACTGGCCCAGGTAGCTCTACCCCTTCTGGTGCT
	GSSTPSGATGSPGAS	ACCGGCTCCCCAGGTAGCTCTACTCCTTCTGGTGCAACTGGCTC
	PGTSSTGSPGASPGT	TCCAGGTGCATCTCCGGGCACTAGCTCTACTGGTTCTCCAGGTG
	SSTGSPGASPGTSST	CATCCCCTGGCACTAGCTCTACTGGTTCTCCAGGTGCTTCTCCT
	GSPGTPGSGTASSSP	GGTACCAGCTCTACTGGTTCTCCAGGTACTCCTGGCAGCGGTAC
	GASPGTSSTGSPGAS	CGCTTCTTCTTCTCCAGGTGCTTCTCCTGGTACTAGCTCTACTGG
	PGTSSTGSPGASPGT	TTCTCCAGGTGCTTCTCCGGGCACTAGCTCTACTGGTTCTCCAG
	SSTGSPGSSPSASTGT	GTGCTTCCCCGGGCACTAGCTCTACCGGTTCTCCAGGTTCTAGC
	GPGTPGSGTASSSPG	CCTTCTGCATCTACTGGTACTGGCCCAGGTACTCCGGGCAGCGG
	ASPGTSSTGSPGASP	TACTGCTTCTTCCTCTCCAGGTGCATCTCCGGGCACTAGCTCTA
	GTSSTGSPGASPGTS	CTGGTTCTCCAGGTGCATCCCCTGGCACTAGCTCTACTGGTTCT
	STGSPGSSTPSGATG	CCAGGTGCTTCTCCTGGTACCAGCTCTACTGGTTCTCCAGGTAG
	SPGSSTPSGATGSPG	CTCTACTCCGTCTGGTGCAACCGGTTCCCCAGGTAGCTCTACTC
	ASPGTSSTGSPGTPG	CTTCTGGTGCTACTGGCTCCCCAGGTGCATCCCCTGGCACCAGC
	SGTASSSPGSSTPSG	TCTACCGGTTCTCCAGGTACCCCGGGCAGCGGTACCGCATCTTC
	ATGSPGSSTPSGATG	CTCTCCAGGTAGCTCTACCCCGTCTGGTGCTACCGGTTCCCCAG
	SPGSSTPSGATGSPG	GTAGCTCTACCCCGTCTGGTGCAACCGGCTCCCCAGGTAGCTCT
	SSPSASTGTGPGASP	ACTCCGTCTGGTGCAACCGGCTCCCCAGGTTCTAGCCCGTCTGC
	GTSSTGSPGASPGTS	TTCCACTGGTACTGGCCCAGGTGCTTCCCCGGGCACCAGCTCTA
	STGSPGTPGSGTASS	CTGGTTCTCCAGGTGCATCCCCGGGTACCAGCTCTACCGGTTCT
	SPGASPGTSSTGSPG	CCAGGTACTCCTGGCAGCGGTACTGCATCTTCCTCTCCAGGTGC
	ASPGTSSTGSPGASP	TTCTCCGGGCACCAGCTCTACTGGTTCTCCAGGTGCATCTCCGG
	GTSSTGSPGASPGTS	GCACTAGCTCTACTGGTTCTCCAGGTGCATCCCCTGGCACTAGC
	STGSPGTPGSGTASS	TCTACTGGTTCTCCAGGTGCTTCTCCTGGTACCAGCTCTACTGGT
	SPGSSTPSGATGSPG	TCTCCAGGTACCCCTGGTAGCGGTACTGCTTCTTCCTCTCCAGG
	TPGSGTASSSPGSSTP	TAGCTCTACTCCGTCTGGTGCTACCGGTTCTCCAGGTACCCCGG
	SGATGSPGTPGSGTA	GTAGCGGTACCGCATCTTCTTCTCCAGGTAGCTCTACCCCGTCT
	SSSPGSSTPSGATGSP	GGTGCTACTGGTTCTCCAGGTACTCCGGGCAGCGGTACTGCTTC
	GSSTPSGATGSPGSS	TTCCTCTCCAGGTAGCTCTACCCCTTCTGGTGCTACTGGCTCTCC
	PSASTGTGPGSSPSA	AGGTAGCTCTACCCCGTCTGGTGCTACTGGCTCCCCAGGTTCTA
	STGTGPGASPGTSST	GCCCTTCTGCATCCACCGGTACCGGTCCAGGTTCTAGCCCGTCT
	GSPGTPGSGTASSSP	GCATCTACTGGTACTGGTCCAGGTGCATCCCCGGGCACTAGCTC
	GSSTPSGATGSPGSS	TACCGGTTCTCCAGGTACTCCTGGTAGCGGTACTGCTTCTTCTTC
	PSASTGTGPGSSPSA	TCCAGGTAGCTCTACTCCTTCTGGTGCTACTGGTTCTCCAGGTTC
	STGTGPGASPGTSST	TAGCCCTTCTGCATCCACCGGTACCGGCCCAGGTTCTAGCCCGT
	GSPGASPGTSSTGSP	CTGCTTCTACCGGTACTGGTCCAGGTGCTTCTCCGGGTACTAGC
	GSSTPSGATGSPGSS	TCTACTGGTTCTCCAGGTGCATCTCCTGGTACTAGCTCTACTGG
	PSASTGTGPGASPGT	TTCTCCAGGTAGCTCTACTCCGTCTGGTGCAACCGGCTCTCCAG
	SSTGSPGSSPSASTGT	GTTCTAGCCCTTCTGCATCTACCGGTACTGGTCCAGGTGCATCC
	GPGTPGSGTASSSPG	CCTGGTACCAGCTCTACCGGTTCTCCAGGTTCTAGCCCTTCTGC
	SSTPSGATGSPGSSTP	TTCTACCGGTACCGGTCCAGGTACCCCTGGCAGCGGTACCGCAT
	SGATGSPGASPGTSS	CTTCCTCTCCAGGTAGCTCTACTCCGTCTGGTGCAACCGGTTCC
	TGSPGFPTIPLSRLFD	CCAGGTAGCTCTACTCCTTCTGGTGCTACTGGCTCCCCAGGTGC
	NAMLRAHRLHQLAF	ATCCCCTGGCACCAGCTCTACCGGTTCTCCAGGTTTTCCGACTA
	DTYQEFEEAYIPKEQ	TTCCGCTGTCTCGTCTGTTTGATAATGCTATGCTGCGTGCGCAC

	KYSFLQNPQTSLCFS ESIPTPSNREETQQKS NLELLRISLLLIQSWL EPVQFLRSVFANSLV YGASDSNVYDLLKD LEEGIQTLMGRLEDG SPRTGQIFKQTYSKF DTNSHNDDALLKNY GLLYCFRKDMDKVE TFLRIVQCRSVEGSC GFGGTSESATPESGP GSEPATSGSETPGTS ESATPESGPGSEPAT SGSETPGTSESATPES GPGTSTEPSEGSAPG SPAGSPTSTEEGTSES ATPESGPGSEPATSG SETPGTSESATPESGP GSPAGSPTSTEEGSP AGSPTSTEEGTSTEPS EGSAPGTSESATPES GPGTSESATPESGPG TSESATPESGPGSEP ATSGSETPGSEPATS GSETPGSPAGSPTST EEGTSTEPSEGSAPG TSTEPSEGSAPGSEP ATSGSETPGTSESAT PESGPGTSTEPSEGS AP	CGTCTGCACCAGCTGGCCTTTGATACTTACCAGGAATTTGAAGA AGCcTACATTCCTAAAGAGCAGAAGTACTCTTTCCTGCAAAACC CACAGACTTCTCTCTGCTTCAGCGAATCTATTCCGACGCCTTCC AATCGCGAGGAAACTCAGCAAAAGTCCAATCTGGAACTACTCC GCATTTCTCTGCTTCTGATTCAGAGCTGGCTAGAACCAGTGCAA TTTCTGCGTTCCGTCTTCGCCAATAGCCTAGTTTATGGCGCATCC GACAGCAACGTATACGATCTCCTGAAAGATCTCGAGGAAGGCA TTCAGACCCTGATGGGTCGTCTCGAGGATGGCTCTCCGCGTACT GGTCAGATCTTCAAGCAGACTTACTCTAAATTTGATACTAACAG CCACAATGACGATGCGCTTCTAAAAAACTATGGTCTGCTGTATT GTTTTCGTAAAGATATGGACAAAGTTGAAACCTTCCTGCGTATT GTTCAGTGTCGTTCCGTTGAGGGCAGCTGTGGTTTCTAAGGTGG TACCTCTGAAAGCGCAACTCCTGAGTCTGGCCCAGGTAGCGAA CCTGCTACCTCCGGCTCTGAGACTCCAGGTACCTCTGAAAGCGC AACCCCGGAATCTGGTCCAGGTAGCGAACCTGCAACCTCTGGC TCTGAAACCCCAGGTACCTCTGAAAGCGCTACTCCTGAATCTGG CCCAGGTACTTCTACTGAACCGTCCGAGGGCAGCGCACCAGGT AGCCCTGCTGGCTCTCCAACCTCCACCGAAGAAGGTACCTCTGA AAGCGCAACCCCCTGAATCCGGCCCAGGTAGCGAACCGGCAACC TCCGGTTCTGAAACCCCAGGTACTTCTGAAAGCGCTACTCCTGA GTCCGGCCCAGGTAGCCCGGCTGGCTCTCCGACTTCCACCGAG GAAGGTAGCCCGGCTGGCTCTCCAACTTCTACTGAAGAAGGTA CTTCTACCGAACCTTCCGAGGGCAGCGCACCAGGTACTTCTGAA AGCGCTACCCCTGAGTCCGGCCCAGGTACTTCTGAAAGCGCTA CTCCTGAATCCGGTCCAGGTACTTCTGAAAGCGCTACCCCGGAA TCTGGCCCAGGTAGCGAACCGGCTACTTCTGGTTCTGAAACCCC AGGTAGCGAACCGGCTACCTCCGGTTCTGAAACTCCAGGTAGC CCAGCAGGCTCTCCGACTTCCACTGAGGAAGGTACTTCTACTGA ACCTTCCGAAGGCAGCGCACCAGGTACCTCTACTGAACCTTCTG AGGGCAGCGCTCCAGGTAGCGAACCTGCAACCTCTGGCTCTGA AACCCCAGGTACCTCTGAAAGCGCTACTCCTGAATCTGGCCCA GGTACTTCTACTGAACCGTCCGAGGGCAGCGCACCA
AM875-hGH-AE288	GTSTEPSEGSAPGSE PATSGSETPGSPAGS PTSTEEGSTSSTAESP GPGTSTPESGSASPG STSESPSGTAPGSTSE SPSGTAPGTSTPESGS ASPGTSTPESGSASP GSEPATSGSETPGTS ESATPESGPGSPAGS PTSTEEGTSTEPSEGS APGTSESATPESGPG TSTEPSEGSAPGTSTE PSEGSAPGSPAGSPT STEEGTSTEPSEGSAP GTSTEPSEGSAPGTS ESATPESGPGTSESA TPESGPGTSTEPSEGS APGTSTEPSEGSAPG TSESATPESGPGTSTE PSEGSAPGSEPATSG SETPGSPAGSPTSTEE GSSTPSGATGSPGTP GSGTASSSPGSSTPS GATGSPGTSTEPSEG SAPGTSTEPSEGSAP GSEPATSGSETPGSP AGSPTSTEEGSPAGS	GGTACTTCTACTGAACCGTCTGAAGGCAGCGCACCAGGTAGCG AACCGGCTACTTCCGGTTCTGAAACCCCAGGTAGCCCAGCAGG TTCTCCAACTTCTACTGAAGAAGGTTCTACCAGCTCTACCGCAG AATCTCCTGGTCCAGGTACCTCTACTCCGGAAAGCGGCTCTGCA TCTCCAGGTTCTACTAGCGAATCTCCTTCTGGCACTGCACCAGG TTCTACTAGCGAATCCCCGTCTGGTACTGCTCCAGGTACTTCTA CTCCTGAAAGCGGTTCCGCTTCTCCAGGTACCTCTACTCCGGAA AGCGGTTCTGCATCTCCAGGTAGCGAACCGGCAACCTCCGGCT CTGAAACCCCAGGTACCTCTGAAAGCGCTACTCCTGAATCCGG CCCAGGTAGCCCGGCAGGTTCTCCGACTTCCACTGAGGAAGGT ACCTCTACTGAACCTTCTGAGGGCAGCGCTCCAGGTACTTCTGA AAGCGCTACCCCCGGAGTCCGGTCCAGGTACTTCTACTGAACCGT CCGAAGGTAGCGCACCAGGTACTTCTACCGAACCGTCCGAGGG TAGCGCACCAGGTAGCCCAGCAGGTTCTCCTACCTCCACCGAG GAAGGTACTTCTACCGAACCGTCCGAGGGTAGCGCACCAGGTA CTTCTACCGAACCTTCCGAGGGCAGCGCACCAGGTACTTCTGAA AGCGCTACCCCTGAGTCCGGCCCAGGTACTTCTGAAAGCGCTA CTCCTGAATCCGGTCCAGGTACCTCTACTGAACCTTCCGAAGGC AGCGCTCCAGGTACCTCTACCGAACCGTCCGAGGGCAGCGCAC CAGGTACTTCTGAAAGCGCAACCCCTGAATCCGGTCCAGGTAC TTCTACTGAACCTTCCGAAGGTAGCGCTCCAGGTAGCGAACCTG CTACTTCTGGTTCTGAAACCCCAGGTAGCCCGGCTGGCTCTCCG ACCTCCACCGAGGAAGGTAGCTCTACCCCGTCTGGTGCTACTGG TTCTCCAGGTACTCCGGGCAGCGGTACTGCTTCTTCCTCTCCAG GTAGCTCTACCCCTTCTGGTGCTACTGGCTCTCCAGGTACCTCT ACCGAACCGTCCGAGGGTAGCGCACCAGGTACCTCTACTGAAC CGTCTGAGGGTAGCGCTCCAGGTAGCGAACCGGCAACCTCCGG

	PTSTEEGTSTEPSEGS	TTCTGAAACTCCAGGTAGCCCTGCTGGCTCTCCGACTTCTACTG
	APGASASGAPSTGGT	AGGAAGGTAGCCCGGCTGGTTCTCCGACTTCTACTGAGGAAGG
	SESATPESGPGSPAG	TACTTCTACCGAACCTTCCGAAGGTAGCGCTCCAGGTGCAAGC
	SPTSTEEGSPAGSPTS	GCAAGCGGCGCGCCAAGCACGGGAGGTACTTCTGAAAGCGCTA
	TEEGSTSSTAESPGP	CTCCTGAGTCCGGCCCAGGTAGCCCGGCTGGCTCTCCGACTTCC
	GSTSESPSGTAPGTSP	ACCGAGGAAGGTAGCCCGGCTGGCTCTCCAACTTCTACTGAAG
	SGESSTAPGTPGSGT	AAGGTTCTACCAGCTCTACCGCTGAATCTCCTGGCCCAGGTTCT
	ASSSPGSSTPSGATG	ACTAGCGAATCTCCGTCTGGCACCGCACCAGGTACTTCCCCTAG
	SPGSSPSASTGTGPG	CGGTGAATCTTCTACTGCACCAGGTACCCCTGGCAGCGGTACCG
	SEPATSGSETPGTSES	CTTCTTCCTCTCCAGGTAGCTCTACCCCGTCTGGTGCTACTGGCT
	ATPESGPGSEPATSG	CTCCAGGTTCTAGCCCGTCTGCATCTACCGGTACCGGCCCAGGT
	SETPGSTSSTAESPGP	AGCGAACCGGCAACCTCCGGCTCTGAAACTCCAGGTACTTCTG
	GSTSSTAESPGPGTSP	AAAGCGCTACTCCGGAATCCGGCCCAGGTAGCGAACCGGCTAC
	SGESSTAPGSEPATS	TTCCGGCTCTGAAACCCCAGGTTCCACCAGCTCTACTGCAGAAT
	GSETPGSEPATSGSE	CTCCGGGCCCAGGTTCTACTAGCTCTACTGCAGAATCTCCGGGT
	TPGTSTEPSEGSAPG	CCAGGTACTTCTCCTAGCGGCGAATCTTCTACCGCTCCAGGTAG
	STSSTAESPGPGTSTP	CGAACCGGCAACCTCTGGCTCTGAAACTCCAGGTAGCGAACCT
	ESGSASPGSTSESPSG	GCAACCTCCGGCTCTGAAACCCCAGGTACTTCTACTGAACCTTC
	TAPGTSTEPSEGSAP	TGAGGGCAGCGCACCAGGTTCTACCAGCTCTACCGCAGAATCT
	GTSTEPSEGSAPGTS	CCTGGTCCAGGTACCTCTACTCCGGAAAGCGGCTCTGCATCTCC
	TEPSEGSAPGSSTPSG	AGGTTCTACTAGCGAATCTCCTTCTGGCACTGCACCAGGTACTT
	ATGSPGSSPSASTGT	CTACCGAACCGTCCGAAGGCAGCGCTCCAGGTACCTCTACTGA
	GPGASPGTSSTGSPG	ACCTTCCGAGGGCAGCGCTCCAGGTACCTCTACCGAACCTTCTG
	SEPATSGSETPGTSES	AAGGTAGCGCACCAGGTAGCTCTACTCCGTCTGGTGCAACCGG
	ATPESGPGSPAGSPT	CTCCCCAGGTTCTAGCCCGTCTGCTTCCACTGGTACTGGCCCAG
	STEEGSSTPSGATGS	GTGCTTCCCCGGGCACCAGCTCTACTGGTTCTCCAGGTAGCGAA
	PGSSPSASTGTGPGA	CCTGCTACCTCCGGTTCTGAAACCCCAGGTACCTCTGAAAGCGC
	SPGTSSTGSPGTSESA	AACTCCGGAGTCTGGTCCAGGTAGCCCTGCAGGTTCTCCTACCT
	TPESGPGTSTEPSEGS	CCACTGAGGAAGGTAGCTCTACTCCGTCTGGTGCAACCGGCTCC
	APGTSTEPSEGSAPG	CCAGGTTCTAGCCCGTCTGCTTCCACTGGTACTGGCCCAGGTGC
	FPTIPLSRLFDNAML	TTCCCCGGGCACCAGCTCTACTGGTTCTCCAGGTACCTCTGAAA
	RAHRLHQLAFDTYQ	GCGCTACTCCGGAGTCTGGCCCAGGTACCTCTACTGAACCGTCT
	EFEEAYIPKEQKYSF	GAGGGTAGCGCTCCAGGTACTTCTACTGAACCGTCCGAAGGTA
	LQNPQTSLCFSESIPT	GCGCACCAGGTTTTCCGACTATTCCGCTGTCTCGTCTGTTTGAT
	PSNREETQQKSNLEL	AATGCTATGCTGCGTGCGCACCGTCTGCACCAGCTGGCCTTTGA
	LRISLLLIQSWLEPVQ	TACTTACCAGGAATTTGAAGAAGCcTACATTCCTAAAGAGCAGA
	FLRSVFANSLVYGAS	AGTACTCTTTCCTGCAAAACCCACAGACTTCTCTCTGCTTCAGC
	DSNVYDLLKDLEEGI	GAATCTATTCCGACGCCTTCCAATCGCGAGGAAACTCAGCAAA
	QTLMGRLEDGSPRT	AGTCCAATCTGGAACTACTCCGCATTTCTCTGCTTCTGATTCAG
	GQIFKQTYSKFDTNS	AGCTGGCTAGAACCAGTGCAATTTCTGCGTTCCGTCTTCGCCAA
	HNDDALLKNYGLLY	TAGCCTAGTTTATGGCGCATCCGACAGCAACGTATACGATCTCC
	CFRKDMDKVETFLRI	TGAAAGATCTCGAGGAAGGCATTCAGACCCTGATGGGTCGTCT
	VQCRSVEGSCGFGG	CGAGGATGGCTCTCCGCGTACTGGTCAGATCTTCAAGCAGACTT
	TSESATPESGPGSEP	ACTCTAAATTTGATACTAACAGCCACAATGACGATGCGCTTCTA
	ATSGSETPGTSESAT	AAAAACTATGGTCTGCTGTATTGTTTTCGTAAAGATATGGACAA
	PESGPGSEPATSGSE	AGTTGAAACCTTCCTGCGTATTGTTCAGTGTCGTTCCGTTGAGG
	TPGTSESATPESGPG	GCAGCTGTGGTTTCTAAGGTGGTACCTCTGAAAGCGCAACTCCT
	TSTEPSEGSAPGSPA	GAGTCTGGCCCAGGTAGCGAACCTGCTACCTCCGGCTCTGAGA
	GSPTSTEEGTSESATP	CTCCAGGTACCTCTGAAAGCGCAACCCCGGAATCTGGTCCAGG
	ESGPGSEPATSGSET	TAGCGAACCTGCAACCTCTGGCTCTGAAACCCCAGGTACCTCTG
	PGTSESATPESGPGSP	AAAGCGCTACTCCTGAATCTGGCCCAGGTACTTCTACTGAACCG
	AGSPTSTEEGSPAGS	TCCGAGGGCAGCGCACCAGGTAGCCCTGCTGGCTCTCCAACCT
	PTSTEEGTSTEPSEGS	CCACCGAAGAAGGTACCTCTGAAAGCGCAACCCCTGAATCCGG
	APGTSESATPESGPG	CCCAGGTAGCGAACCGGCAACCTCCGGTTCTGAAACCCCAGGT
	TSESATPESGPGTSES	ACTTCTGAAAGCGCTACTCCTGAGTCCGGCCCAGGTAGCCCGG
	ATPESGPGSEPATSG	CTGGCTCTCCGACTTCCACCGAGGAAGGTAGCCCGGCTGGCTCT
	SETPGSEPATSGSETP	CCAACTTCTACTGAAGAAGGTACTTCTACCGAACCTTCCGAGGG
	GSPAGSPTSTEEGTS	CAGCGCACCAGGTACTTCTGAAAGCGCTACCCCTGAGTCCGGC
	TEPSEGSAPGTSTEPS	CCAGGTACTTCTGAAAGCGCTACTCCTGAATCCGGTCCAGGTAC
	EGSAPGSEPATSGSE	TTCTGAAAGCGCTACCCCGGAATCTGGCCCAGGTAGCGAACCG
	TPGTSESATPESGPG	GCTACTTCTGGTTCTGAAACCCCAGGTAGCGAACCGGCTACCTC
	TSTEPSEGSAP	CGGTTCTGAAACTCCAGGTAGCCCAGCAGGCTCTCCGACTTCCA
		CTGAGGAAGGTACTTCTACTGAACCTTCCGAAGGCAGCGCACC
		AGGTACCTCTACTGAACCTTCTGAGGGCAGCGCTCCAGGTAGC
		GAACCTGCAACCTCTGGCTCTGAAACCCCAGGTACCTCTGAAA
		GCGCTACTCCTGAATCTGGCCCAGGTACTTCTACTGAACCGTCC
		GAGGGCAGCGCACCA

AE912-hGH-AE288	MAEPAGSPTSTEEGT	ATGGCTGAACCTGCTGGCTCTCCAACCTCCACTGAGGAAGGTA
	PGSGTASSSPGSSTPS	CCCCGGGTAGCGGTACTGCTTCTTCCTCTCCAGGTAGCTCTACC
	GATGSPGASPGTSST	CCTTCTGGTGCAACCGGCTCTCCAGGTGCTTCTCCGGGCACCAG
	GSPGSPAGSPTSTEE	CTCTACCGGTTCTCCAGGTAGCCCGGCTGGCTCTCCTACCTCTA
	GTSESATPESGPGTS	CTGAGGAAGGTACTTCTGAAAGCGCTACTCCTGAGTCTGGTCCA
	TEPSEGSAPGSPAGS	GGTACCTCTACTGAACCGTCCGAAGGTAGCGCTCCAGGTAGCC
	PTSTEEGTSTEPSEGS	CAGCAGGCTCTCCGACTTCCACTGAGGAAGGTACTTCTACTGAA
	APGTSTEPSEGSAPG	CCTTCCGAAGGCAGCGCACCAGGTACCTCTACTGAACCTTCTGA
	TSESATPESGPGSEP	GGGCAGCGCTCCAGGTACTTCTGAAAGCGCTACCCCGGAATCT
	ATSGSETPGSEPATS	GGCCCAGGTAGCGAACCGGCTACTTCTGGTTCTGAAACCCCAG
	GSETPGSPAGSPTST	GTAGCGAACCGGCTACCTCCGGTTCTGAAACTCCAGGTAGCCC
	EEGTSESATPESGPG	GGCAGGCTCTCCGACCTCTACTGAGGAAGGTACTTCTGAAAGC
	TSTEPSEGSAPGTSTE	GCAACCCCGGAGTCCGGCCCAGGTACCTCTACCGAACCGTCTG
	PSEGSAPGSPAGSPT	AGGGCAGCGCACCAGGTACTTCTACCGAACCGTCCGAGGGTAG
	STEEGTSTEPSEGSAP	CGCACCAGGTAGCCCAGCAGGTTCTCCTACCTCCACCGAGGAA
	GTSTEPSEGSAPGTS	GGTACTTCTACCGAACCGTCCGAGGGTAGCGCACCAGGTACCT
	ESATPESGPGTSTEPS	CTACTGAACCTTCTGAGGGCAGCGCTCCAGGTACTTCTGAAAGC
	EGSAPGTSESATPES	GCTACCCCGGAGTCCGGTCCAGGTACTTCTACTGAACCGTCCGA
	GPGSEPATSGSETPG	AGGTAGCGCACCAGGTACTTCTGAAAGCGCAACCCCTGAATCC
	TSTEPSEGSAPGTSTE	GGTCCAGGTAGCGAACCGGCTACTTCTGGCTCTGAGACTCCAG
	PSEGSAPGTSESATP	GTACTTCTACCGAACCGTCCGAAGGTAGCGCACCAGGTACTTCT
	ESGPGTSESATPESG	ACTGAACCGTCTGAAGGTAGCGCACCAGGTACTTCTGAAAGCG
	PGSPAGSPTSTEEGT	CAACCCCGGAATCCGGCCCAGGTACCTCTGAAAGCGCAACCCC
	SESATPESGPGSEPA	GGAGTCCGGCCCAGGTAGCCCTGCTGGCTCTCCAACCTCCACCG
	TSGSETPGTSESATPE	AAGAAGGTACCTCTGAAAGCGCAACCCCTGAATCCGGCCCAGG
	SGPGTSTEPSEGSAP	TAGCGAACCGGCAACCTCCGGTTCTGAAACCCCAGGTACCTCT
	GTSTEPSEGSAPGTS	GAAAGCGCTACTCCGGAGTCTGGCCCAGGTACCTCTACTGAAC
	TEPSEGSAPGTSTEPS	CGTCTGAGGGTAGCGCTCCAGGTACTTCTACTGAACCGTCCGAA
	EGSAPGTSTEPSEGS	GGTAGCGCACCAGGTACTTCTACCGAACCGTCCGAAGGCAGCG
	APGTSTEPSEGSAPG	CTCCAGGTACCTCTACTGAACCTTCCGAGGGCAGCGCTCCAGGT
	SPAGSPTSTEEGTSTE	ACCTCTACCGAACCTTCTGAAGGTAGCGCACCAGGTACTTCTAC
	PSEGSAPGTSESATP	CGAACCGTCCGAGGGTAGCGCACCAGGTAGCCCAGCAGGTTCT
	ESGPGSEPATSGSET	CCTACCTCCACCGAGGAAGGTACTTCTACCGAACCGTCCGAGG
	PGTSESATPESGPGS	GTAGCGCACCAGGTACCTCTGAAAGCGCAACTCCTGAGTCTGG
	EPATSGSETPGTSES	CCCAGGTAGCGAACCTGCTACCTCCGGCTCTGAGACTCCAGGT
	ATPESGPGTSTEPSE	ACCTCTGAAAGCGCAACCCCGGAATCTGGTCCAGGTAGCGAAC
	GSAPGTSESATPESG	CTGCAACCTCTGGCTCTGAAACCCCAGGTACCTCTGAAAGCGCT
	PGSPAGSPTSTEEGSP	ACTCCTGAATCTGGCCCAGGTACTTCTACTGAACCGTCCGAGGG
	AGSPTSTEEGSPAGS	CAGCGCACCAGGTACTTCTGAAAGCGCTACTCCTGAGTCCGGC
	PTSTEEGTSESATPES	CCAGGTAGCCCGGCTGGCTCTCCGACTTCCACCGAGGAAGGTA
	GPGTSTEPSEGSAPG	GCCCGGCTGGCTCTCCAACTTCTACTGAAGAAGGTAGCCCGGC
	TSESATPESGPGSEP	AGGCTCTCCGACCTCTACTGAGGAAGGTACTTCTGAAAGCGCA
	ATSGSETPGTSESAT	ACCCCGGAGTCCGGCCCAGGTACCTCTACCGAACCGTCTGAGG
	PESGPGSEPATSGSE	GCAGCGCACCAGGTACCTCTGAAAGCGCAACTCCTGAGTCTGG
	TPGTSESATPESGPG	CCCAGGTAGCGAACCTGCTACCTCCGGCTCTGAGACTCCAGGT
	TSTEPSEGSAPGSPA	ACCTCTGAAAGCGCAACCCCGGAATCTGGTCCAGGTAGCGAAC
	GSPTSTEEGTSESATP	CTGCAACCTCTGGCTCTGAAACCCCAGGTACCTCTGAAAGCGCT
	ESGPGSEPATSGSET	ACTCCTGAATCTGGCCCAGGTACTTCTACTGAACCGTCCGAGGG
	PGTSESATPESGPGSP	CAGCGCACCAGGTAGCCCTGCTGGCTCTCCAACCTCCACCGAA
	AGSPTSTEEGSPAGS	GAAGGTACCTCTGAAAGCGCAACCCCTGAATCCGGCCCAGGTA
	PTSTEEGTSTEPSEGS	GCGAACCGGCAACCTCCGGTTCTGAAACCCCAGGTACTTCTGA

	APGTSESATPESGPG TSESATPESGPGTSES ATPESGPGSEPATSG SETPGSEPATSGSETP GSPAGSPTSTEEGTS TEPSEGSAPGTSTEPS EGSAPGSEPATSGSE TPGTSESATPESGPG TSTEPSEGSAPGFPTI PLSRLFDNAMLRAH RLHQLAFDTYQEFEE AYIPKEQKYSFLQNP QTSLCFSESIPTPSNR EETQQKSNLELLRIS LLLIQSWLEPVQFLR SVFANSLVYGASDS NVYDLLKDLEEGIQT LMGRLEDGSPRTGQI FKQTYSKFDTNSHN DDALLKNYGLLYCF RKDMDKVETFLRIV QCRSVEGSCGFGGTS ESATPESGPGSEPAT SGSETPGTSESATPES GPGSEPATSGSETPG TSESATPESGPGTSTE PSEGSAPGSPAGSPT STEEGTSESATPESGP GSEPATSGSETPGTS ESATPESGPGSPAGS PTSTEEGSPAGSPTST EEGTSTEPSEGSAPG TSESATPESGPGTSES ATPESGPGTSESATP ESGPGSEPATSGSET PGSEPATSGSETPGSP AGSPTSTEEGTSTEPS EGSAPGTSTEPSEGS APGSEPATSGSETPG TSESATPESGPGTSTE PSEGSAP	AAGCGCTACTCCTGAGTCCGGCCCAGGTAGCCCGGCTGGCTCTC CGACTTCCACCGAGGAAGGTAGCCCGGCTGGCTCTCCAACTTCT ACTGAAGAAGGTACTTCTACCGAACCTTCCGAGGGCAGCGCAC CAGGTACTTCTGAAAGCGCTACCCCTGAGTCCGGCCCAGGTACT TCTGAAAGCGCTACTCCTGAATCCGGTCCAGGTACTTCTGAAAG CGCTACCCCGGAATCTGGCCCAGGTAGCGAACCGGCTACTTCT GGTTCTGAAACCCCAGGTAGCGAACCGGCTACCTCCGGTTCTG AAACTCCAGGTAGCCCAGCAGGCTCTCCGACTTCCACTGAGGA AGGTACTTCTACTGAACCTTCCGAAGGCAGCGCACCAGGTACC TCTACTGAACCTTCTGAGGGCAGCGCTCCAGGTAGCGAACCTG CAACCTCTGGCTCTGAAACCCCAGGTACCTCTGAAAGCGCTACT CCTGAATCTGGCCCAGGTACTTCTACTGAACCGTCCGAGGGCA GCGCACCAGGTTTTCCGACTATTCCGCTGTCTCGTCTGTTTGAT AATGCTATGCTGCGTGCGCACCGTCTGCACCAGCTGGCCTTTGA TACTTACCAGGAATTTGAAGAAGCcTACATTCCTAAAGAGCAGA AGTACTCTTTCCTGCAAAACCCACAGACTTCTCTCTGCTTCAGC GAATCTATTCCGACGCCTTCCAATCGCGAGGAAACTCAGCAAA AGTCCAATCTGGAACTACTCCGCATTTCTCTGCTTCTGATTCAG AGCTGGCTAGAACCAGTGCAATTTCTGCGTTCCGTCTTCGCCAA TAGCCTAGTTTATGGCGCATCCGACAGCAACGTATACGATCTCC TGAAAGATCTCGAGGAAGGCATTCAGACCCTGATGGGTCGTCT CGAGGATGGCTCTCCGCGTACTGGTCAGATCTTCAAGCAGACTT ACTCTAAATTTGATACTAACAGCCACAATGACGATGCGCTTCTA AAAAACTATGGTCTGCTGTATTGTTTTCGTAAAGATATGGACAA AGTTGAAACCTTCCTGCGTATTGTTCAGTGTCGTTCCGTTGAGG GCAGCTGTGGTTTCTAAGGTGGTACCTCTGAAAGCGCAACTCCT GAGTCTGGCCCAGGTAGCGAACCTGCTACCTCCGGCTCTGAGA CTCCAGGTACCTCTGAAAGCGCAACCCCGGAATCTGGTCCAGG TAGCGAACCTGCAACCTCTGGCTCTGAAACCCCAGGTACCTCTG AAAGCGCTACTCCTGAATCTGGCCCAGGTACTTCTACTGAACCG TCCGAGGGCAGCGCACCAGGTAGCCCTGCTGGCTCTCCAACCT CCACCGAAGAAGGTACCTCTGAAAGCGCAACCCCTGAATCCGG CCCAGGTAGCGAACCGGCAACCTCCGGTTCTGAAACCCCAGGT ACTTCTGAAAGCGCTACTCCTGAGTCCGGCCCAGGTAGCCCGG CTGGCTCTCCGACTTCCACCGAGGAAGGTAGCCCGGCTGGCTCT CCAACTTCTACTGAAGAAGGTACTTCTACCGAACCTTCCGAGGG CAGCGCACCAGGTACTTCTGAAAGCGCTACCCCTGAGTCCGGC CCAGGTACTTCTGAAAGCGCTACTCCTGAATCCGGTCCAGGTAC TTCTGAAAGCGCTACCCCGGAATCTGGCCCAGGTAGCGAACCG GCTACTTCTGGTTCTGAAACCCCAGGTAGCGAACCGGCTACCTC CGGTTCTGAAACTCCAGGTAGCCCAGCAGGCTCTCCGACTTCCA CTGAGGAAGGTACTTCTACTGAACCTTCCGAAGGCAGCGCACC AGGTACCTCTACTGAACCTTCTGAGGGCAGCGCTCCAGGTAGC GAACCTGCAACCTCTGGCTCTGAAACCCCAGGTACCTCTGAAA GCGCTACTCCTGAATCTGGCCCAGGTACTTCTACTGAACCGTCC GAGGGCAGCGCACCA
AM923-hGH-AE288	MAEPAGSPTSTEEGA SPGTSSTGSPGSSTPS GATGSPGSSTPSGAT GSPGTSTEPSEGSAP GSEPATSGSETPGSP AGSPTSTEEGSTSST AESPGPGTSTPESGS ASPGSTSESPSGTAP GSTSESPSGTAPGTS TPESGSASPGTSTPES GSASPGSEPATSGSE TPGTSESATPESGPG SPAGSPTSTEEGTSTE	ATGGCTGAACCTGCTGGCTCTCCAACCTCCACTGAGGAAGGTG CATCCCCGGGCACCAGCTCTACCGGTTCTCCAGGTAGCTCTACC CCGTCTGGTGCTACCGGCTCTCCAGGTAGCTCTACCCCGTCTGG TGCTACTGGCTCTCCAGGTACTTCTACTGAACCGTCTGAAGGCA GCGCACCAGGTAGCGAACCGGCTACTTCCGGTTCTGAAACCCC AGGTAGCCCAGCAGGTTCTCCAACTTCTACTGAAGAAGGTTCTA CCAGCTCTACCGCAGAATCTCCTGGTCCAGGTACCTCTACTCCG GAAAGCGGCTCTGCATCTCCAGGTTCTACTAGCGAATCTCCTTC TGGCACTGCACCAGGTTCTACTAGCGAATCCCCGTCTGGTACTG CTCCAGGTACTTCTACTCCTGAAAGCGGTTCCGCTTCTCCAGGT ACCTCTACTCCGGAAAGCGGTTCTGCATCTCCAGGTAGCGAACC GGCAACCTCCGGCTCTGAAACCCCAGGTACCTCTGAAAGCGCT ACTCCTGAATCCGGCCCAGGTAGCCCGGCAGGTTCTCCGACTTC

	PSEGSAPGTSESATP	CACTGAGGAAGGTACCTCTACTGAACCTTCTGAGGGCAGCGCT
	ESGPGTSTEPSEGSA	CCAGGTACTTCTGAAAGCGCTACCCCGGAGTCCGGTCCAGGTA
	PGTSTEPSEGSAPGSP	CTTCTACTGAACCGTCCGAAGGTAGCGCACCAGGTACTTCTACC
	AGSPTSTEEGTSTEPS	GAACCGTCCGAGGGTAGCGCACCAGGTAGCCCAGCAGGTTCTC
	EGSAPGTSTEPSEGS	CTACCTCCACCGAGGAAGGTACTTCTACCGAACCGTCCGAGGG
	APGTSESATPESGPG	TAGCGCACCAGGTACTTCTACCGAACCTTCCGAGGGCAGCGCA
	TSESATPESGPGTSTE	CCAGGTACTTCTGAAAGCGCTACCCCTGAGTCCGGCCCAGGTA
	PSEGSAPGTSTEPSE	CTTCTGAAAGCGCTACTCCTGAATCCGGTCCAGGTACCTCTACT
	GSAPGTSESATPESG	GAACCTTCCGAAGGCAGCGCTCCAGGTACCTCTACCGAACCGT
	PGTSTEPSEGSAPGS	CCGAGGGCAGCGCACCAGGTACTTCTGAAAGCGCAACCCCTGA
	EPATSGSETPGSPAG	ATCCGGTCCAGGTACTTCTACTGAACCTTCCGAAGGTAGCGCTC
	SPTSTEEGSSTPSGAT	CAGGTAGCGAACCTGCTACTTCTGGTTCTGAAACCCCAGGTAGC
	GSPGTPGSGTASSSP	CCGGCTGGCTCTCCGACCTCCACCGAGGAAGGTAGCTCTACCCC
	GSSTPSGATGSPGTS	GTCTGGTGCTACTGGTTCTCCAGGTACTCCGGGCAGCGGTACTG
	TEPSEGSAPGTSTEPS	CTTCTTCCTCTCCAGGTAGCTCTACCCCTTCTGGTGCTACTGGCT
	EGSAPGSEPATSGSE	CTCCAGGTACCTCTACCGAACCGTCCGAGGGTAGCGCACCAGG
	TPGSPAGSPTSTEEG	TACCTCTACTGAACCGTCTGAGGGTAGCGCTCCAGGTAGCGAA
	SPAGSPTSTEEGTSTE	CCGGCAACCTCCGGTTCTGAAACTCCAGGTAGCCCTGCTGGCTC
	PSEGSAPGASASGAP	TCCGACTTCTACTGAGGAAGGTAGCCCGGCTGGTTCTCCGACTT
	STGGTSESATPESGP	CTACTGAGGAAGGTACTTCTACCGAACCTTCCGAAGGTAGCGC
	GSPAGSPTSTEEGSP	TCCAGGTGCAAGCGCAAGCGGCGCGCCAAGCACGGGAGGTACT
	AGSPTSTEEGSTSST	TCTGAAAGCGCTACTCCTGAGTCCGGCCCAGGTAGCCCGGCTG
	AESPGPGSTSESPSGT	GCTCTCCGACTTCCACCGAGGAAGGTAGCCCGGCTGGCTCTCCA
	APGTSPSGESSTAPG	ACTTCTACTGAAGAAGGTTCTACCAGCTCTACCGCTGAATCTCC
	TPGSGTASSSPGSSTP	TGGCCCAGGTTCTACTAGCGAATCTCCGTCTGGCACCGCACCAG
	SGATGSPGSSPSAST	GTACTTCCCCTAGCGGTGAATCTTCTACTGCACCAGGTACCCCT
	GTGPGSEPATSGSET	GGCAGCGGTACCGCTTCTTCCTCTCCAGGTAGCTCTACCCCGTC
	PGTSESATPESGPGS	TGGTGCTACTGGCTCTCCAGGTTCTAGCCCGTCTGCATCTACCG
	EPATSGSETPGSTSST	GTACCGGCCCAGGTAGCGAACCGGCAACCTCCGGCTCTGAAAC
	AESPGPGSTSSTAESP	TCCAGGTACTTCTGAAAGCGCTACTCCGGAATCCGGCCCAGGT
	GPGTSPSGESSTAPG	AGCGAACCGGCTACTTCCGGCTCTGAAACCCCAGGTTCCACCA
	SEPATSGSETPGSEP	GCTCTACTGCAGAATCTCCGGGCCCAGGTTCTACTAGCTCTACT
	ATSGSETPGTSTEPSE	GCAGAATCTCCGGGTCCAGGTACTTCTCCTAGCGGCGAATCTTC
	GSAPGSTSSTAESPG	TACCGCTCCAGGTAGCGAACCGGCAACCTCTGGCTCTGAAACT
	PGTSTPESGSASPGST	CCAGGTAGCGAACCTGCAACCTCCGGCTCTGAAACCCCAGGTA
	SESPSGTAPGTSTEPS	CTTCTACTGAACCTTCTGAGGGCAGCGCACCAGGTTCTACCAGC
	EGSAPGTSTEPSEGS	TCTACCGCAGAATCTCCTGGTCCAGGTACCTCTACTCCGGAAAG
	APGTSTEPSEGSAPG	CGGCTCTGCATCTCCAGGTTCTACTAGCGAATCTCCTTCTGGCA
	SSTPSGATGSPGSSPS	CTGCACCAGGTACTTCTACCGAACCGTCCGAAGGCAGCGCTCC
	ASTGTGPGASPGTSS	AGGTACCTCTACTGAACCTTCCGAGGGCAGCGCTCCAGGTACCT
	TGSPGSEPATSGSET	CTACCGAACCTTCTGAAGGTAGCGCACCAGGTAGCTCTACTCCG
	PGTSESATPESGPGSP	TCTGGTGCAACCGGCTCCCCAGGTTCTAGCCCGTCTGCTTCCAC
	AGSPTSTEEGSSTPS	TGGTACTGGCCCAGGTGCTTCCCCGGGCACCAGCTCTACTGGTT
	GATGSPGSSPSASTG	CTCCAGGTAGCGAACCTGCTACCTCCGGTTCTGAAACCCCAGGT
	TGPGASPGTSSTGSP	ACCTCTGAAAGCGCAACTCCGGAGTCTGGTCCAGGTAGCCCTG
	GTSESATPESGPGTS	CAGGTTCTCCTACCTCCACTGAGGAAGGTAGCTCTACTCCGTCT
	TEPSEGSAPGTSTEPS	GGTGCAACCGGCTCCCCAGGTTCTAGCCCGTCTGCTTCCACTGG
	EGSAPGFPTIPLSRLF	TACTGGCCCAGGTGCTTCCCCGGGCACCAGCTCTACTGGTTCTC
	DNAMLRAHRLHQL	CAGGTACCTCTGAAAGCGCTACTCCGGAGTCTGGCCCAGGTAC
	AFDTYQEFEEAYIPK	CTCTACTGAACCGTCTGAGGGTAGCGCTCCAGGTACTTCTACTG
	EQKYSFLQNPQTSLC	AACCGTCCGAAGGTAGCGCACCAGGTTTTCCGACTATTCCGCTG
	FSESIPTPSNREETQQ	TCTCGTCTGTTTGATAATGCTATGCTGCGTGCGCACCGTCTGCA
	KSNLELLRISLLLIQS	CCAGCTGGCCTTTGATACTTACCAGGAATTTGAAGAAGCcTACA
	WLEPVQFLRSVFAN	TTCCTAAAGAGCAGAAGTACTCTTTCCTGCAAAACCCACAGACT
	SLVYGASDSNVYDL	TCTCTCTGCTTCAGCGAATCTATTCCGACGCCTTCCAATCGCGA
	LKDLEEGIQTLMGRL	GGAAACTCAGCAAAAGTCCAATCTGGAACTACTCCGCATTTCTC
	EDGSPRTGQIFKQTY	TGCTTCTGATTCAGAGCTGGCTAGAACCAGTGCAATTTCTGCGT
	SKFDTNSHNDDALL	TCCGTCTTCGCCAATAGCCTAGTTTATGGCGCATCCGACAGCAA
	KNYGLLYCFRKDMD	CGTATACGATCTCCTGAAAGATCTCGAGGAAGGCATTCAGACC

	KVETFLRIVQCRSVE GSCGFGGTSESATPE SGPGSEPATSGSETP GTSESATPESGPGSE PATSGSETPGTSESA TPESGPGTSTEPSEGS APGSPAGSPTSTEEG TSESATPESGPGSEP ATSGSETPGTSESAT PESGPGSPAGSPTSTE EGSPAGSPTSTEEGT STEPSEGSAPGTSES ATPESGPGTSESATP ESGPGTSESATPESG PGSEPATSGSETPGS EPATSGSETPGSPAG SPTSTEEGTSTEPSEG SAPGTSTEPSEGSAP GSEPATSGSETPGTS ESATPESGPGTSTEPS EGSAP	CTGATGGGTCGTCTCGAGGATGGCTCTCCGCGTACTGGTCAGAT CTTCAAGCAGACTTACTCTAAATTTGATACTAACAGCCACAATG ACGATGCGCTTCTAAAAAACTATGGTCTGCTGTATTGTTTTCGT AAAGATATGGACAAAGTTGAAACCTTCCTGCGTATTGTTCAGTG TCGTTCCGTTGAGGGCAGCTGTGGTTTCTAAGGTGGTACCTCTG AAAGCGCAACTCCTGAGTCTGGCCCAGGTAGCGAACCTGCTAC CTCCGGCTCTGAGACTCCAGGTACCTCTGAAAGCGCAACCCCG GAATCTGGTCCAGGTAGCGAACCTGCAACCTCTGGCTCTGAAA CCCCAGGTACCTCTGAAAGCGCTACTCCTGAATCTGGCCCAGGT ACTTCTACTGAACCGTCCGAGGGCAGCGCACCAGGTAGCCCTG CTGGCTCTCCAACCTCCACCGAAGAAGGTACCTCTGAAAGCGC AACCCCTGAATCCGGCCCAGGTAGCGAACCGGCAACCTCCGGT TCTGAAAACCCCAGGTACTTCTGAAAGCGCTACTCCTGAGTCCGG CCCAGGTAGCCCGGCTGGCTCTCCGACTTCCACCGAGGAAGGT AGCCCGGCTGGCTCTCCAACTTCTACTGAAGAAGGTACTTCTAC CGAACCTTCCGAGGGCAGCGCACCAGGTACTTCTGAAAGCGCT ACCCCTGAGTCCGGCCCAGGTACTTCTGAAAGCGCTACTCCTGA ATCCGGTCCAGGTACTTCTGAAAGCGCTACCCCGGAATCTGGCC CAGGTAGCGAACCGGCTACTTCTGGTTCTGAAACCCCAGGTAG CGAACCGGCTACCTCCGGTTCTGAAACTCCAGGTAGCCCAGCA GGCTCTCCGACTTCCACTGAGGAAGGTACTTCTACTGAACCTTC CGAAGGCAGCGCACCAGGTACCTCTACTGAACCTTCTGAGGGC AGCGCTCCAGGTAGCGAACCTGCAACCTCTGGCTCTGAAACCC CAGGTACCTCTGAAAGCGCTACTCCTGAATCTGGCCCAGGTACT TCTACTGAACCGTCCGAGGGCAGCGCACCA
AM1318- hGH- AE288	GTSTEPSEGSAPGSE PATSGSETPGSPAGS PTSTEEGSTSSTAESP GPGTSTPESGSASPG STSESPSGTAPGSTSE SPSGTAPGTSTPESGS ASPGTSTPESGSASP GSEPATSGSETPGTS ESATPESGPGSPAGS PTSTEEGTSTEPSEGS APGTSESATPESGPG TSTEPSEGSAPGTSTE PSEGSAPGSPAGSPT STEEGTSTEPSEGSAP GTSTEPSEGSAPGTS ESATPESGPGTSESA TPESGPGTSTEPSEGS APGTSTEPSEGSAPG TSESATPESGPGTSTE PSEGSAPGSEPATSG SETPGSPAGSPTSTEE GSSTPSGATGSPGTP GSGTASSSPGSSTPS GATGSPGTSTEPSEG SAPGTSTEPSEGSAP GSEPATSGSETPGSP AGSPTSTEEGSPAGS PTSTEEGTSTEPSEGS APGPEPTGPAPSGGS EPATSGSETPGTSES ATPESGPGSPAGSPT STEEGTSESATPESGP GSPAGSPTSTEEGSP AGSPTSTEEGTSESA	GGTACTTCTACTGAACCGTCTGAAGGCAGCGCACCAGGTAGCG AACCGGCTACTTCCGGTTCTGAAACCCCAGGTAGCCCAGCAGG TTCTCCAACTTCTACTGAAGAAGGTTCTACCAGCTCTACCGCAG AATCTCCTGGTCCAGGTACCTCTACTCCGGAAAGCGGCTCTGCA TCTCCAGGTTCTACTAGCGAATCTCCTTCTGGCACTGCACCAGG TTCTACTAGCGAATCCCCGTCTGGTACTGCTCCAGGTACTTCTA CTCCTGAAAGCGGTTCCGCTTCTCCAGGTACCTCTACTCCGGAA AGCGGTTCTGCATCTCCAGGTAGCGAACCGGCAACCTCCGGCT CTGAAACCCCAGGTACCTCTGAAAGCGCTACTCCTGAATCCGG CCCAGGTAGCCCGGCAGGTTCTCCGACTTCCACTGAGGAAGGT ACCTCTACTGAACCTTCTGAGGGCAGCGCTCCAGGTACTTCTGA AAGCGCTACCCCGGAGTCCGGTCCAGGTACTTCTACTGAACCGT CCGAAGGTAGCGCACCAGGTACTTCTACCGAACCGTCCGAGGG TAGCGCACCAGGTAGCCCAGCAGGTTCTCCTACCTCCACCGAG GAAGGTACTTCTACCGAACCGTCCGAGGGTAGCGCACCAGGTA CTTCTACCGAACCTTCCGAGGGCAGCGCACCAGGTACTTCTGAA AGCGCTACCCCTGAGTCCGGCCCAGGTACTTCTGAAAGCGCTA CTCCTGAATCCGGTCCAGGTACCTCTACTGAACCTTCCGAAGGC AGCGCTCCAGGTACCTCTACCGAACCGTCCGAGGGCAGCGCAC CAGGTACTTCTGAAAGCGCAACCCCTGAATCCGGTCCAGGTAC TTCTACTGAACCTTCCGAAGGTAGCGCTCCAGGTAGCGAACCTG CTACTTCTGGTTCTGAAACCCCAGGTAGCCCGGCTGGCTCTCCG ACCTCCACCGAGGAAGGTAGCTCTACCCCCGTCTGGTGCTACTGG TTCTCCAGGTACTCCGGGCAGCGGTACTGCTTCTTCCTCTCCAG GTAGCTCTACCCCTTCTGGTGCTACTGGCTCTCCAGGTACCTCT ACCGAACCGTCCGAGGGTAGCGCACCAGGTACCTCTACTGAAC CGTCTGAGGGTAGCGCTCCAGGTAGCGAACCGGCAACCTCCGG TTCTGAAACTCCAGGTAGCCCTGCTGGCTCTCCGACTTCTACTG AGGAAGGTAGCCCGGCTGGTTCTCCGACTTCTACTGAGGAAGG TACTTCTACCGAACCTTCCGAAGGTAGCGCTCCAGGTCCAGAAC CAACGGGGCCGGCCCCAAGCGGAGGTAGCGAACCGGCAACCTC CGGCTCTGAAACCCCAGGTACCTCTGAAAGCGCTACTCCTGAAT CCGGCCCAGGTAGCCCGGCAGGTTCTCCGACTTCCACTGAGGA AGGTACTTCTGAAAGCGCTACTCCTGAGTCCGGCCCAGGTAGC

	TPESGPGSPAGSPTST	CCGGCTGGCTCTCCGACTTCCACCGAGGAAGGTAGCCCGGCTG
	EEGSPAGSPTSTEEG	GCTCTCCAACTTCTACTGAAGAAGGTACTTCTGAAAGCGCTACT
	STSSTAESPGPGSTSE	CCTGAGTCCGGCCCAGGTAGCCCGGCTGGCTCTCCGACTTCCAC
	SPSGTAPGTSPSGESS	CGAGGAAGGTAGCCCGGCTGGCTCTCCAACTTCTACTGAAGAA
	TAPGSTSESPSGTAP	GGTTCTACCAGCTCTACCGCTGAATCTCCTGGCCCAGGTTCTAC
	GSTSESPSGTAPGTSP	TAGCGAATCTCCGTCTGGCACCGCACCAGGTACTTCCCCTAGCG
	SGESSTAPGTSTEPSE	GTGAATCTTCTACTGCACCAGGTTCTACCAGCGAATCTCCTTCT
	GSAPGTSESATPESG	GGCACCGCTCCAGGTTCTACTAGCGAATCCCCGTCTGGTACCGC
	PGTSESATPESGPGS	ACCAGGTACTTCTCCTAGCGGCGAATCTTCTACCGCACCAGGTA
	EPATSGSETPGTSES	CTTCTACCGAACCTTCCGAGGGCAGCGCACCAGGTACTTCTGAA
	ATPESGPGTSESATP	AGCGCTACCCCTGAGTCCGGCCCAGGTACTTCTGAAAGCGCTA
	ESGPGTSTEPSEGSA	CTCCTGAATCCGGTCCAGGTAGCGAACCGGCAACCTCTGGCTCT
	PGTSESATPESGPGT	GAAACCCCAGGTACCTCTGAAAGCGCTACTCCGGAATCTGGTC
	STEPSEGSAPGTSPSG	CAGGTACTTCTGAAAGCGCTACTCCGGAATCCGGTCCAGGTAC
	ESSTAPGTSPSGESST	CTCTACTGAACCTTCTGAGGGCAGCGCTCCAGGTACTTCTGAAA
	APGTSPSGESSTAPG	GCGCTACCCCGGAGTCCGGTCCAGGTACTTCTACTGAACCGTCC
	TSTEPSEGSAPGSPA	GAAGGTAGCGCACCAGGTACCTCCCCTAGCGGCGAATCTTCTA
	GSPTSTEEGTSTEPSE	CTGCTCCAGGTACCTCTCCTAGCGGCGAATCTTCTACCGCTCCA
	GSAPGSSPSASTGTG	GGTACCTCCCCTAGCGGTGAATCTTCTACCGCACCAGGTACTTC
	PGSSTPSGATGSPGS	TACCGAACCGTCCGAGGGTAGCGCACCAGGTAGCCCAGCAGGT
	STPSGATGSPGSSTPS	TCTCCTACCTCCACCGAGGAAGGTACTTCTACCGAACCGTCCGA
	GATGSPGSSTPSGAT	GGGTAGCGCACCAGGTTCTAGCCCTTCTGCTTCCACCGGTACCG
	GSPGASPGTSSTGSP	GCCCAGGTAGCTCTACTCCGTCTGGTGCAACTGGCTCTCCAGGT
	GASASGAPSTGGTSP	AGCTCTACTCCGTCTGGTGCAACCGGCTCCCCAGGTAGCTCTAC
	SGESSTAPGSTSSTA	CCCGTCTGGTGCTACCGGCTCTCCAGGTAGCTCTACCCCGTCTG
	ESPGPGTSPSGESSTA	GTGCAACCGGCTCCCCAGGTGCATCCCCGGGTACTAGCTCTACC
	PGTSESATPESGPGT	GGTTCTCCAGGTGCAAGCGCAAGCGGCGCGCCAAGCACGGGAG
	STEPSEGSAPGTSTEP	GTACTTCTCCGAGCGGTGAATCTTCTACCGCACCAGGTTCTACT
	SEGSAPGSSPSASTG	AGCTCTACCGCTGAATCTCCGGGCCCAGGTACTTCTCCGAGCGG
	TGPGSSTPSGATGSP	TGAATCTTCTACTGCTCCAGGTACCTCTGAAAGCGCTACTCCGG
	GASPGTSSTGSPGTS	AGTCTGGCCCAGGTACCTCTACTGAACCGTCTGAGGGTAGCGCT
	TPESGSASPGTSPSGE	CCAGGTACTTCTACTGAACCGTCCGAAGGTAGCGCACCAGGTT
	SSTAPGTSPSGESSTA	CTAGCCCTTCTGCATCTACTGGTACTGGCCCAGGTAGCTCTACT
	PGTSESATPESGPGS	CCTTCTGGTGCTACCGGCTCTCCAGGTGCTTCTCCGGGTACTAG
	EPATSGSETPGTSTEP	CTCTACCGGTTCTCCAGGTACTTCTACTCCGGAAAGCGGTTCCG
	SEGSAPGSTSESPSGT	CATCTCCAGGTACTTCTCCTAGCGGTGAATCTTCTACTGCTCCA
	APGSTSESPSGTAPG	GGTACCTCTCCTAGCGGCGAATCTTCTACTGCTCCAGGTACTTC
	TSTPESGSASPGSPA	TGAAAGCGCAACCCCTGAATCCGGTCCAGGTAGCGAACCGGCT
	GSPTSTEEGTSESATP	ACTTCTGGCTCTGAGACTCCAGGTACTTCTACCGAACCGTCCGA
	ESGPGTSTEPSEGSA	AGGTAGCGCACCAGGTTCTACCAGCGAATCCCCTTCTGGTACTG
	PGSPAGSPTSTEEGT	CTCCAGGTTCTACCAGCGAATCCCCTTCTGGCACCGCACCAGGT
	SESATPESGPGSEPA	ACTTCTACCCCTGAAAGCGGCTCCGCTTCTCCAGGTAGCCCGGC
	TSGSETPGSSTPSGA	AGGCTCTCCGACCTCTACTGAGGAAGGTACTTCTGAAAGCGCA
	TGSPGASPGTSSTGS	ACCCCGGAGTCCGGCCCAGGTACCTCTACCGAACCGTCTGAGG
	PGSSTPSGATGSPGS	GCAGCGCACCAGGTAGCCCTGCTGGCTCTCCAACCTCCACCGA
	TSESPSGTAPGTSPSG	AGAAGGTACCTCTGAAAGCGCAACCCCTGAATCCGGCCCAGGT
	ESSTAPGSTSSTAESP	AGCGAACCGGCAACCTCCGGTTCTGAAACCCCAGGTAGCTCTA
	GPGSSTPSGATGSPG	CCCCGTCTGGTGCTACCGGTTCCCCAGGTGCTTCTCCTGGTACT
	ASPGTSSTGSPGTPG	AGCTCTACCGGTTCTCCAGGTAGCTCTACCCCGTCTGGTGCTAC
	SGTASSSPGSPAGSP	TGGCTCTCCAGGTTCTACTAGCGAATCCCCGTCTGGTACTGCTC
	TSTEEGSPAGSPTSTE	CAGGTACTTCCCCTAGCGGTGAATCTTCTACTGCTCCAGGTTCT
	EGTSTEPSEGSAPGF	ACCAGCTCTACCGCAGAATCTCCGGGTCCAGGTAGCTCTACCCC
	PTIPLSRLFDNAMLR	TTCTGGTGCAACCGGCTCTCCAGGTGCATCCCCGGGTACCAGCT
	AHRLHQLAFDTYQE	CTACCGGTTCTCCAGGTACTCCGGGTAGCGGTACCGCTTCTTCC
	FEEAYIPKEQKYSFL	TCTCCAGGTAGCCCTGCTGGCTCTCCGACTTCTACTGAGGAAGG
	QNPQTSLCFSESIPTP	TAGCCCGGCTGGTTCTCCGACTTCTACTGAGGAAGGTACTTCTA
	SNREETQQKSNLELL	CCGAACCTTCCGAAGGTAGCGCTCCAGGTTTTCCGACTATTCCG
	RISLLLIQSWLEPVQF	CTGTCTCGTCTGTTTGATAATGCTATGCTGCGTGCGCACCGTCT
	LRSVFANSLVYGAS	GCACCAGCTGGCCTTTGATACTTACCAGGAATTTGAAGAAGCcT

	DSNVYDLLKDLEEGI QTLMGRLEDGSPRT GQIFKQTYSKFDTNS HNDDALLKNYGLLY CFRKDMDKVETFLRI VQCRSVEGSCGFGG TSESATPESGPGSEP ATSGSETPGTSESAT PESGPGSEPATSGSE TPGTSESATPESGPG TSTEPSEGSAPGSPA GSPTSTEEGTSESATP ESGPGSEPATSGSET PGTSESATPESGPGSP AGSPTSTEEGSPAGS PTSTEEGTSTEPSEGS APGTSESATPESGPG TSESATPESGPGTSES ATPESGPGSEPATSG SETPGSEPATSGSETP GSPAGSPTSTEEGTS TEPSEGSAPGTSTEPS EGSAPGSEPATSGSE TPGTSESATPESGPG TSTEPSEGSAP	ACATTCCTAAAGAGCAGAAGTACTCTTTCCTGCAAAACCCACA GACTTCTCTCTGCTTCAGCGAATCTATTCCGACGCCTTCCAATC GCGAGGAAACTCAGCAAAAGTCCAATCTGGAACTACTCCGCAT TTCTCTGCTTCTGATTCAGAGCTGGCTAGAACCAGTGCAATTTC TGCGTTCCGTCTTCGCCAATAGCCTAGTTTATGGCGCATCCGAC AGCAACGTATACGATCTCCTGAAAGATCTCGAGGAAGGCATTC AGACCCTGATGGGTCGTCTCGAGGATGGCTCTCCGCGTACTGGT CAGATCTTCAAGCAGACTTACTCTAAATTTGATACTAACAGCCA CAATGACGATGCGCTTCTAAAAAACTATGGTCTGCTGTATTGTT TTCGTAAAGATATGGACAAAGTTGAAACCTTCCTGCGTATTGTT CAGTGTCGTTCCGTTGAGGGCAGCTGTGGTTTCTAAGGTGGTAC CTCTGAAAGCGCAACTCCTGAGTCTGGCCCAGGTAGCGAACCT GCTACCTCCGGCTCTGAGACTCCAGGTACCTCTGAAAGCGCAA CCCCGGAATCTGGTCCAGGTAGCGAACCTGCAACCTCTGGCTCT GAAACCCCAGGTACCTCTGAAAGCGCTACTCCTGAATCTGGCC CAGGTACTTCTACTGAACCGTCCGAGGGCAGCGCACCAGGTAG CCCTGCTGGCTCTCCAACCTCCACCGAAGAAGGTACCTCTGAAA GCGCAACCCCTGAATCCGGCCCAGGTAGCGAACCGGCAACCTC CGGTTCTGAAACCCCAGGTACTTCTGAAAGCGCTACTCCTGAGT CCGGCCCAGGTAGCCCGGCTGGCTCTCCGACTTCCACCGAGGA AGGTAGCCCGGCTGGCTCTCCAACTTCTACTGAAGAAGGTACTT CTACCGAACCTTCCGAGGGCAGCGCACCAGGTACTTCTGAAAG CGCTACCCCTGAGTCCGGCCCAGGTACTTCTGAAAGCGCTACTC CTGAATCCGGTCCAGGTACTTCTGAAAGCGCTACCCCGGAATCT GGCCCAGGTAGCGAACCGGCTACTTCTGGTTCTGAAACCCCAG GTAGCGAACCGGCTACCTCCGGTTCTGAAACTCCAGGTAGCCC AGCAGGCTCTCCGACTTCCACTGAGGAAGGTACTTCTACTGAAC CTTCCGAAGGCAGCGCACCAGGTACCTCTACTGAACCTTCTGAG GGCAGCGCTCCAGGTAGCGAACCTGCAACCTCTGGCTCTGAAA CCCCAGGTACCTCTGAAAGCGCTACTCCTGAATCTGGCCCAGGT ACTTCTACTGAACCGTCCGAGGGCAGCGCACCA
* O nome da sequência reflete a configuração N-C para o terminal do fator de crescimento e os componentes XTEN		

DOCUMENTOS REFERIDOS NA DESCRIÇÃO

Esta lista de documentos referidos pelo autor do presente pedido de patente foi elaborada apenas para informação do leitor. Não é parte integrante do documento de patente europeia. Não obstante o cuidado na sua elaboração, o IEP não assume qualquer responsabilidade por eventuais erros ou omissões.

Documentos de patente referidos na descrição

- WO 2007103515 A [0007]
- US 6406632 B [0076] [0142]
- US 7294513 B [0076] [0142]
- US 4898830 A [0091] [0351]
- US 20030228309 A1 [0109]
- WO 9852976 A [0138]
- WO 02079232 A [0138]
- WO 003317 A [0138]
- US 5364934 A [0144]
- US 5534617 A [0169]
- EP 36776 A [0217]
- EP 139383 A [0230]
- US 4943529 A [0230]
- EP 402226 A [0230]
- EP 183070 A [0230]
- EP 244234 A [0230]
- EP 394538 A [0230]
- WO 9100357 A [0230]
- US 6316024 B [0243] [0245]
- US 6126966 A [0243] [0245]
- US 6056973 A [0243] [0244] [0245]
- US 6043094 A [0243] [0245]
- US 5874104 A [0244] [0245]
- US 5916588 A [0244] [0245]
- US 6759057 B [0245]
- US 6406713 B [0245]

- US 6352716 B [0245]
- US 6294191 B [0245]
- US 5965156 A [0245]
- US 5215680 A [0245]
- US 4684479 A [0245]
- US 5186938 A [0247]
- US 6183770 B [0247]
- US 4861800 A [0247]
- US 6743211 B [0247]
- US 6945952 B [0247]
- US 4284444 A [0247]
- WO 8909051 A [0247]
- US 6715485 B [0248]
- US 3992518 A [0248]
- US 5660848 A [0248]
- US 5756115 A [0248]
- US 6890918 B [0249]
- US 6838093 B [0249]
- US 6814979 B [0249]
- US 6713086 B [0249]
- US 6534090 B [0249]
- US 6514532 B [0249]
- US 6361796 B [0249]
- US 6352721 B [0249]
- US 6294201 B [0249]
- US 6284276 B [0249]
- US 6110498 A [0249]
- US 5573776 A [0249]
- US 42000984 B [0249]
- US 4088864 A [0249]
- US 4976696 A [0250]
- US 4933185 A [0250]
- US 5017378 A [0250]
- US 6309370 B [0250]
- US 6254573 B [0250]

- US 4435173 A **[0250]**
- US 4398908 A **[0250]**
- US 6572585 B **[0250]**
- US 5298022 A **[0250]**
- US 5176502 A **[0250]**
- US 5492534 A **[0250]**
- US 5318540 A **[0250]**
- US 4988337 A **[0250]**

Documentos de não patente citados na descrição

- **CHAWLA, R, K.** *Ann. Rev. Med,* 1983, vol. 34, 519 **[0001]**
- **EDWARDS, C. K. et al.** *Science,* 1988, vol. 239, 769 **[0001]**
- **THORNER, M. O. et al.** *J. Clin. Invest.,* 1988, vol. 81, 745 **[0001]**
- **CALICETI.** *Adv Drug Deliv Rev,* 2003, vol. 55, 1261-1277 **[0006]**
- **LEVITT, M et al.** *J Mol Biol,* 1976, vol. 104, 59 **[0053]**
- **HOPP, TP et al.** *Proc Natl Acad Sci USA,* 1981, vol. 78, 3824 **[0053]**
- **SAMBROOK, J. et al.** Molecular Cloning: A Laboratory Manual. Cold Spring Harbor Press, 1989, vol. 1-3 **[0068]**
- **SAMBROOK, J. et al.** Molecular Cloning: A Laboratory Manual. Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2001 **[0089]**
- Current protocols in molecular biology. 1987 **[0089]**
- Methods in Enzymology. Academic Press **[0089]**
- PCR 2: a practical approach. Oxford University Press, 1995 **[0089]**
- Antibodies, a laboratory manual. Cold Spring Harbor Laboratory, 1988 **[0089]**
- Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics. McGraw-Hill, 2005 **[0089]**
- **FRESHNEY, R.I.** Culture of Animal Cells: A Manual of Basic Technique. John Wiley & Sons, 2000 **[0089]**
- **CHANG, C. N. et al.** *Gene,* 1987, vol. 55, 189 **[0091]**

- **GOEDDEL et al.** *Nature*, 1979, vol. 281, 544 **[0091] [0217]**
- **GRAY et al.** *Gene*, 1985, vol. 39, 247 **[0091]**
- *Genetics and Molecular Biology*, 2003, vol. 26, 295-300 **[0092]**
- *Journal of Evolutionary Biology*, 2006, vol. 19, 844-854 **[0092]**
- **ARNAU et al.** *Prot Expr and Purif*, 2006, vol. 48, 1-13 **[0107] [0165]**
- **CHOU, P. Y. et al.** *Biochemistry*, 1974, vol. 13, 222-45 **[0109] [0339]**
- **GAMIER J; GIBRAT JF; ROBSON B.** GOR method for predicting protein secondary structure from amino acid sequence. *Methods Enzymol*, 1996, vol. 266, 540-553 **[0109]**
- **JOHANSSON, J. et al.** *Vaccine*, 2007, vol. 25, 1676-82 **[0114]**
- **YANKAI, Z. et al.** *Biochem Biophys Res Commun*, 2006, vol. 345, 1365-71 **[0114]**
- **HSU, C. T. et al.** *Cancer Res*, 2000, vol. 60, 3701-5 **[0114]**
- **BACHMANN MF et al.** *Eur J Immunol.*, 1995, vol. 25 (12), 3445-3451 **[0114]**
- **STICKLER, M. et al.** *J Immunol Methods*, 2003, vol. 281, 95-108 **[0138]**
- **STURNIOLO, T. et al.** *Nat Biotechnol*, 1999, vol. 17, 555-61 **[0138]**
- **STURNIOLO, T. et al.** *Nature Biotechnology*, 1999, vol. 17, 555 **[0138]**
- **CALICETI.** Pharmacokinetic and biodistribution properties of poly(ethylene glycol)-protein conjugates. *Adv Drug Deliv Rev*, 2003, vol. 55, 1261-1277 **[0142]**
- **GEORGE et al.** *Protein Engineering*, 2003, vol. 15, 871-879 **[0156]**
- **HINDMARCH, P.C. et al.** *Clinical Endocrinology*, 2008, vol. 30 (4), 443-450 **[0161] [0318]**
- **SINGH, S. M. et al.** *J Biosci Bioeng*, 2005, vol. 99, 303

[0166] [0306]

- **PATRA, A. K. et al.** *Protein Expr Purif*, 2000, vol. 18, 182 **[0166] [0306]**
- **GOODMAN; GILMAN'S.** The Pharmacological Basis of Therapeutics. McGraw-Hill, 2005 **[0171]**
- **ENGELS et al.** *Agnew. Chem. Int. Ed. Engl.*, 1989, vol. 28, 716-734 **[0198]**
- **GUSTAFSSON, C. et al.** *Trends Biotechnol*, 2004, vol. 22, 346-53 **[0207]**
- **SMITH; WATERMAN.** *Advances in Applied Mathematics*, 1981, vol. 2, 482-489 **[0213]**
- **NEEDLEMAN; WUNSCH.** *Journal of Molecular Biology*, 1970, vol. 48, 443-453 **[0213]**
- **SMITH et al.** *Gene*, 1988, vol. 57, 31-40 **[0216]**
- **CHANG et al.** *Nature*, 1978, vol. 275, 615 **[0217]**
- **GOEDDEL.** *Nucleic Acids Res.*, 1980, vol. 8, 4057 **[0217]**
- **DEBOER et al.** *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1983, vol. 80, 21-25 **[0217]**
- **SUMMERS et al.** *Virology*, 1978, vol. 84, 390-402 **[0218]**
- **SUMMERS et al.** *Virology*, 1978, vol. 84, 390-402 **[0218]**
- **RANDAL J. KAUFMAN.** *Current Protocols in Molecular Biology*, 1991, vol. 16, 12 **[0219]**
- **RANDALL J. KAUFMAN et al.** Current Protocols in Molecular Biology 16.12. Wiley, 1991 **[0220]**
- **ARNAU et al.** *Protein Expression and Purification*, 2006, vol. 48, 1-13 **[0225]**
- **BEACH; NURSE.** *Nature*, 1981, vol. 290, 140 **[0230]**
- **FLEER et al.** *Bio/Technology*, 1991, vol. 9, 968-975 **[0230]**
- **LOUVENCOURT et al.** *J. Bacteriol.*, 1983, vol. 737 **[0230]**
- **VAN DEN BERG et al.** *Bio/Technology*, 1990, vol. 8, 135 **[0230]**
- **SREEKRISHNA et al.** *J. Basic Microbiol.*, 1988, vol. 28, 265-278 **[0230]**
- **CASE et al.** *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1979, vol. 76, 5259-5263 **[0230]**

- **BALLANCE et al.** *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1983, vol. 112, 284-289 **[0230]**
- **TILBURN et al.** *Gene*, 1983, vol. 26, 205-221 **[0230]**
- **YELTON et al.** *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1984, vol. 81, 1470-1474 **[0230]**
- **KELLY; HYNES.** *EMBO J*, 1985, vol. 4, 475-479 **[0230]**
- **C. ANTHONY.** *The Biochemistry of Methylotrophs*, 1982, vol. 269 **[0230]**
- **THOMAS**. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1980, vol. 77, 5201-5205 **[0233] [0294]**
- **ROBERT K. SCOPES.** Protein Purification: Principles and Practice. Springer-Verlag, 1994 **[0235] [0295]**
- **BARON et al.** *Crit. Rev. Biotechnol.*, 1990, vol. 10, 179-90 **[0235] [0295]**
- **BELOW et al.** *J. Chromatogr. A.*, 1994, vol. 679, 67-83 **[0235] [0295]**
- Remington's Pharmaceutical Sciences. 1980 **[0236]**
- **FRANZ et al.** *J. Invest. Derm.*, 1975, vol. 64, 194-195 **[0247]**
- **OFIR, K. et al.** *Proteomics*, 2005, vol. 5, 1806 **[0299]**
- **BOND, A.** *Proc (Bayl Univ Med Cent)*, 2006, vol. 19 (3), 281-284 **[0334]**
- **GARNER J; GIBRAT JF; ROBSON B.** GOR method for predicting protein secondary structure from amino acid sequence. *Methods Enzymol*, 1996, vol. 266, 540-553 **[0339]**
- **STURNIOLO, T. et al.** *Nat Biotechnol*, 1999, vol. 17, 555 **[0349]**
- *J Endocrinol*, Outubro de 2000, vol. 167 (1), 165-74 **[0351]**
- **KAREY**. *Cancer Res.*, 1988, vol. 48, 4083 **[0351]**
- *J Clin Endocrinol Metab*, novembro de 2000, vol. 85 (11), 4274-9 **[0351]**
- *Appl Physiol*, 2000, vol. 89 (6), 2174-8 **[0351]**
- *Growth Horm IGF Res*, Outubro de 2000, vol. 10 (5), 248-55 **[0351]**

• *Horm Res*, 1999, vol. 51 (1), 7-12 **[0351]**

REIVINDICAÇÕES

1. Uma proteína de fusão, que compreende uma sequência de hormona do crescimento (GH) selecionada a partir de hormona do crescimento humano como mostrado no Quadro 1 e uma variante de sequência da mesma que é pelo menos 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência de aminoácidos da hormona do crescimento humano como mostrado no Quadro 1,
em que a dita GH está ligado a um polipéptido recombinante estendido (XTEN) de pelo menos 200 resíduos de aminoácidos, em que o XTEN é **caracterizado por:**

(a) a sequência XTEN compreender pelo menos 200 aminoácidos contíguos que exibem pelo menos 90% de identidade de sequência a um comprimento comparável de uma sequência de aminoácidos selecionada do grupo que consiste em AE912, AE288, AD576, AE576, AE624, AD836, AE864, AF864, AG864, AM875, AM923 e AM1318 conforme é mostrado no Quadro 3;

(b) a sequências de XTEN não possuir um epítopo de células T predito quando analisado pelo algoritmo TEPITOPE, em que a predição do algoritmo TEPITOPE para epítopos dentro da sequência XTEN é baseada numa pontuação de -6 ou superior;

(c) ter uma pontuação subsequência inferior a 10; e

(d) a soma de resíduos de glicina (G), alanina (A), serina (S), treonina (T), glutamato (E) e prolina (P) constituir mais de cerca de 90% dos resíduos de aminoácidos totais do XTEN.

2. A proteína de fusão de acordo com a reivindicação 1, que compreende ainda uma segunda XTEN, em que o dito segundo XTEN compreende uma sequência de aminoácidos que exibe pelo menos 90% de identidade de sequência com uma sequência de aminoácidos selecionada a partir do grupo que

consiste em

(a) GTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAP;

(b) GTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAP;

(c) AE144 conforme é mostrado no Quadro 3; e

(d) AE288 conforme é mostrado no Quadro 3,

e em que a proteína de fusão adota uma configuração múltipla XTEN mostrada no Quadro 5.

3. A proteína de fusão de acordo com a reivindicação 1 ou reivindicação 2, em que a proteína de fusão se liga ao(s) recetor(es) do hormona do crescimento com uma afinidade de ligação reduzida em comparação com a GH correspondente que não possui o XTEN, em que a afinidade de ligação é opcionalmente reduzida em pelo menos cerca de 10 vezes.

4. A proteína de fusão de acordo com a reivindicação 1, que compreende uma sequência de aminoácidos que é pelo menos 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% de identidade de sequência com uma sequência de aminoácidos selecionada a partir do grupo que consiste em AE912-hGH, AE288-hGH, AD576-hGH, AE576-hGH, AE624-hGH, AD836-hGH, AE864-hGH, AF864-hGH, AG864- hGH, AM875-hGH, AM923-hGH e AM1318 conforme é mostrado no Quadro 35, em que a proteína de fusão compreende opcionalmente:

(i) uma sequência de aminoácidos que tem pelo menos 90% de identidade de sequência com uma sequência de aminoácidos selecionada a partir de AE912-hGH-AE144 e AE912-hGH-AE288 como mostrado no Quadro 36; ou

(ii) uma sequência de aminoácidos selecionada a partir de AE912-hGH-AE144 e AE912-hGH-AE288 como mostrado no Quadro 36; ou

(i) uma sequência de aminoácidos que tem pelo menos 99% de identidade de sequência com a sequência de aminoácidos de AE912-hGH-AE144 como mostrado no Quadro 36.

5. A proteína de fusão de acordo com a reivindicação 4, que compreende uma sequência de aminoácidos que tem pelo menos 90% de identidade de sequência com a sequência de aminoácidos de AE912-hGH-AE144 ou AE912-hGH-AE288 como mostrado no Quadro 36.

6. A proteína de fusão de acordo com a reivindicação 5, que compreende uma sequência de aminoácidos que tem pelo menos 99% de identidade de sequência com a sequência de aminoácidos de AE912-hGH-AE144 ou AE912-hGH-AE288 como mostrado no Quadro 36.

7. Uma proteína de fusão que compreende uma sequência de aminoácidos possuindo pelo menos 90% de identidade de sequência com a sequência de hormona do crescimento humano como mostrado no Quadro 1 ligada a uma sequência de polipéptido recombinante prolongado (XTEN) com pelo menos 90% de identidade de sequência com a sequência de AE912 como mostrado no Quadro 3.

8. A proteína de fusão de acordo com a reivindicação 7, que compreende ainda um segundo XTEN compreendendo uma sequência de aminoácidos com pelo menos 90% de identidade de sequência com a sequência de aminoácidos de:
GTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPG.

9. A proteína de fusão de acordo com a reivindicação 1, configurada de acordo com a fórmula I:

$$(XTEN)_x\text{-}GH\text{-}(XTEN)_y \quad (I)$$

em que independentemente para cada ocorrência:

(a) x é 0 ou 1; e

(b) y é 0 ou 1, em que $x+y \geq 1$.

10. A proteína de fusão de acordo com qualquer das

reivindicações anteriores, **caracterizada por** ter uma semivida terminal mais longa quando administrada a um indivíduo em comparação com a GH correspondente que não possui o XTEN quando administrado a um indivíduo com uma dose molar comparável.

11. A proteína de fusão de acordo com qualquer uma das reivindicações 1-9, **caracterizada por**

(i) quando uma quantidade molar menor da proteína de fusão do que a GH correspondente que não possui o XTEN é administrada a um indivíduo, a proteína de fusão atinge uma área sob a curva comparável (AUC) em comparação com a GH correspondente que não possui o XTEN;

(ii) quando uma quantidade molar menor da proteína de fusão do que a GH correspondente que não possui o XTEN é administrada a um indivíduo, a proteína de fusão atinge um efeito terapêutico comparável com a GH correspondente que não possui o XTEN;

(iii) quando a proteína de fusão é administrada a um indivíduo em comparação com a GH correspondente que não possui o XTEN administrado a um indivíduo utilizando um regime de dose de outra quantidade molar equivalente, a proteína de fusão atinge uma área sob a curva comparável (AUC) em comparação com a GH correspondente que não possui o XTEN;

(iv) quando a proteína de fusão é administrada a um indivíduo em comparação com a GH correspondente que não possui o XTEN administrado a um indivíduo utilizando um regime de dose de outra quantidade molar equivalente, a proteína de fusão atinge um efeito terapêutico comparável com a GH correspondente que não possui o XTEN.

12. A proteína de fusão de acordo com a reivindicação 1, que compreende ainda uma segunda XTEN, em que o dito segundo XTEN compreende uma sequência de aminoácidos que

exibe pelo menos 90% de identidade de sequência com GTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPG.

13. Uma proteína de fusão que compreende uma sequência de aminoácidos que tem pelo menos 99% de identidade de sequência com a sequência de AE912-hGH-AE144 como mostrado no Quadro 36.

14. Uma composição farmacêutica que compreende a proteína de fusão de acordo com qualquer das reivindicações anteriores e um veículo farmaceuticamente aceitável.

15. A composição farmacêutica de acordo com a reivindicação 14, em que a administração da referida composição a um indivíduo produz uma concentração aumentada de IGF-1 em comparação com a concentração de IGF-1 antes da dosagem.

16. Um método de produção de uma proteína de fusão que compreende hormona do crescimento humano (GH) fundida com um ou mais polipéptidos recombinantes estendidos (XTEN), compreendendo:

(a) proporcionar uma célula hospedeira compreendendo uma molécula de polinucleótido recombinante que codifica a proteína de fusão de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 13;

(b) cultivar a célula hospedeira sob condições que permitem a expressão da proteína de fusão; e

(c) recuperar a proteína de fusão.

17. O método de acordo com a reivindicação 16, em que:

(i) a célula hospedeira é uma célula procariótica; ou

(ii) a proteína de fusão é recuperada do citoplasma da célula hospedeira sob uma forma substancialmente solúvel.

18. Uma proteína de fusão de acordo com qualquer uma das reivindicações 1-13 para utilização num método de tratamento de uma condição patológica relacionada à hormona do crescimento num indivíduo, que compreende administrar ao indivíduo uma quantidade terapeuticamente eficaz da proteína de fusão.

19. A proteína de fusão para utilização de acordo com a reivindicação 18, em que

(a) a condição patológica relacionada à hormona do crescimento é selecionada a partir de deficiência de hormona do crescimento, síndrome de Turner, síndrome de Prader-Willi, insuficiência renal crónica, retardo do crescimento intrauterino, baixa estatura idiopática, definhamento por SIDA, obesidade, esclerose múltipla, fibromialgia, doença de Crohn, colite ulcerativa, distrofia muscular, baixa massa muscular, baixa densidade óssea; ou

(ii) a administração de duas ou mais doses consecutivas da proteína de fusão administrada utilizando um regime de dose terapeuticamente eficaz para um indivíduo resulta num período prolongado entre picos de C_{max} e/ou rebaixos C_{min} consecutivos para níveis sanguíneos da proteína de fusão em comparação com a GH correspondente que não possui o XTEN e administrado utilizando um regime terapêutico eficaz de dose estabelecido para a GH; ou

(iii) uma quantidade molar menor da proteína de fusão é administrada a um indivíduo em comparação com a GH correspondente que não possui o XTEN administrado a um indivíduo sob um regime de dose de outra forma equivalente e a proteína de fusão atinge um efeito terapêutico comparável como GH correspondente que não possui o XTEN; ou

(iv) a proteína de fusão é administrada com menos frequência a um indivíduo em comparação com a GH

correspondente que não possui o XTEN administrado a um indivíduo usando uma dose molar equivalente de outra forma, e a proteína de fusão atinge um efeito terapêutico comparável como a GH correspondente que não possui XTEN; ou

(v) o efeito terapêutico é um parâmetro de medida selecionado a partir de concentrações de IGF-1, concentração de IGFBP3, velocidade de altura, massa corporal magra, gordura corporal total, gordura do tronco, resposta ao desafio de insulina, taxa de divisão de condrócitos, números de condrócitos, densidade óssea, crescimento ósseo e aumento na largura da placa epifísea.

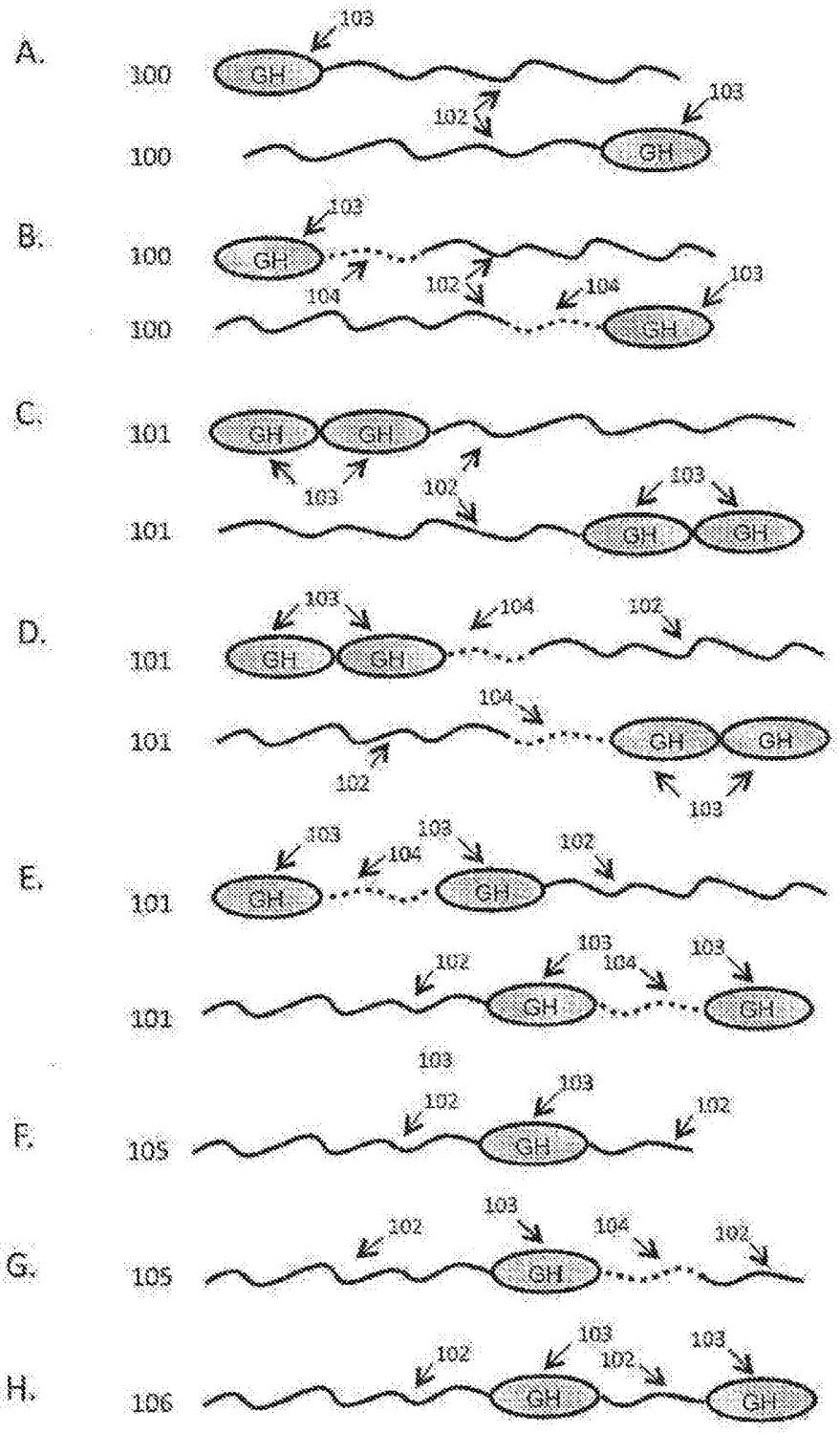

A.
100
GH
103
102
100
GH
103
B.
100
GH
102
104
102
104
103
100
GH
C.
101
GH
GH
103
102
103
101
GH
GH
D.
101
GH
GH
103
104
102
101
104
GH
GH
102
103
E.
101
GH
103
104
GH
103
102
101
102
103
104
GH
103
GH
F.
103
102
103
105
GH
102
G.
102
103
104
105
GH
102
H.
102
103
103
106
GH
102
GH

FIG. 1

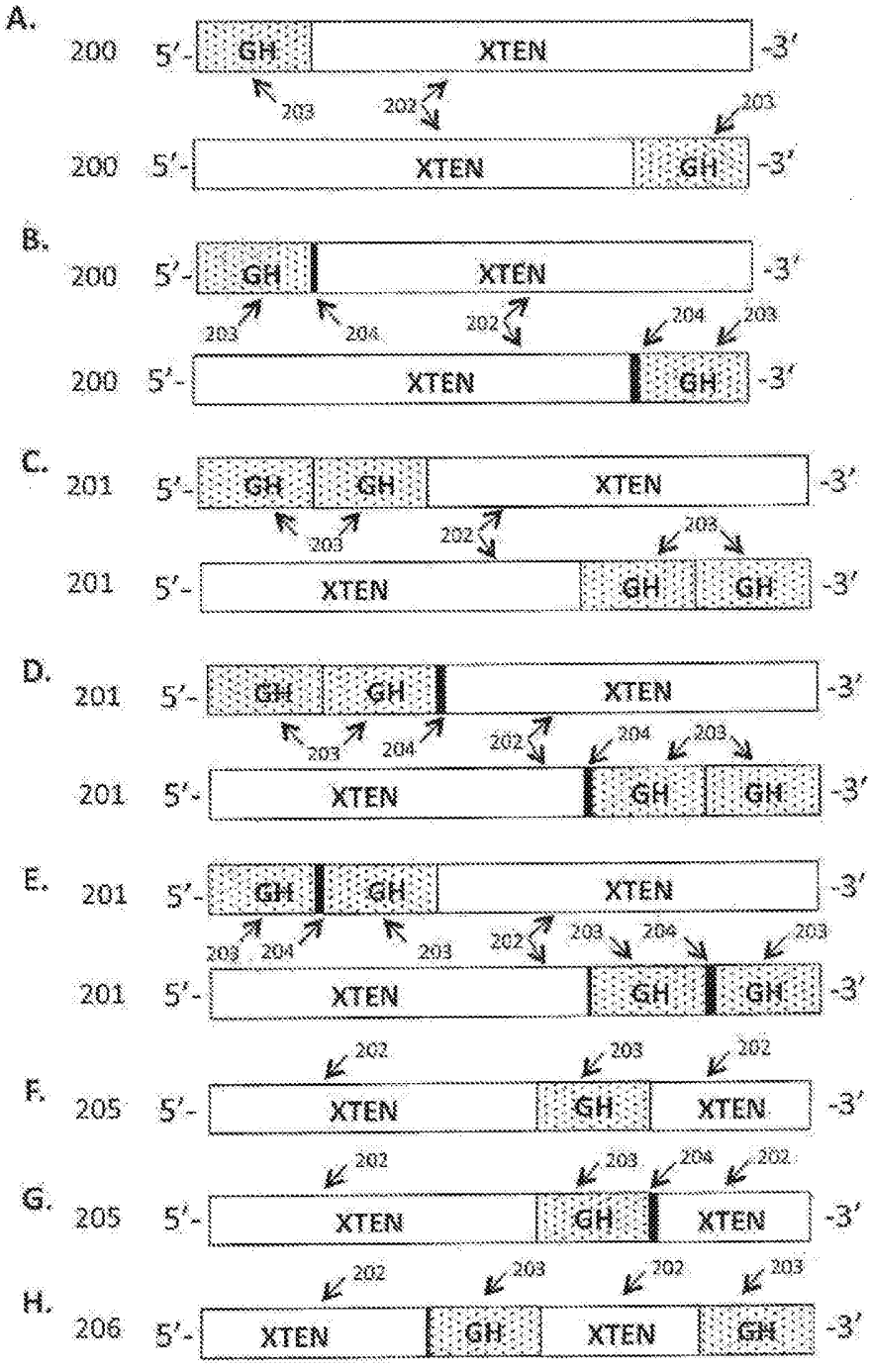

A.
200 5'- GH XTEN -3'
203 202 203
200 5'- XTEN GH -3'
B.
200 5'- GH XTEN -3'
203 204 202 204 203
200 5'- XTEN GH -3'
C.
201 5'- GH GH XTEN -3'
203 202 203
201 5'- XTEN GH GH -3'
D.
201 5'- GH GH XTEN -3'
203 204 202 204 203
201 5'- XTEN GH GH -3'
E.
201 5'- GH GH XTEN -3'
203 204 203 202 203 204 203
201 5'- XTEN GH GH -3'
F.
202 203 202
205 5'- XTEN GH XTEN -3'
G.
202 203 204 202
205 5'- XTEN GH XTEN -3'
H.
202 203 202 203
206 5'- XTEN GH XTEN GH -3'

FIG. 2

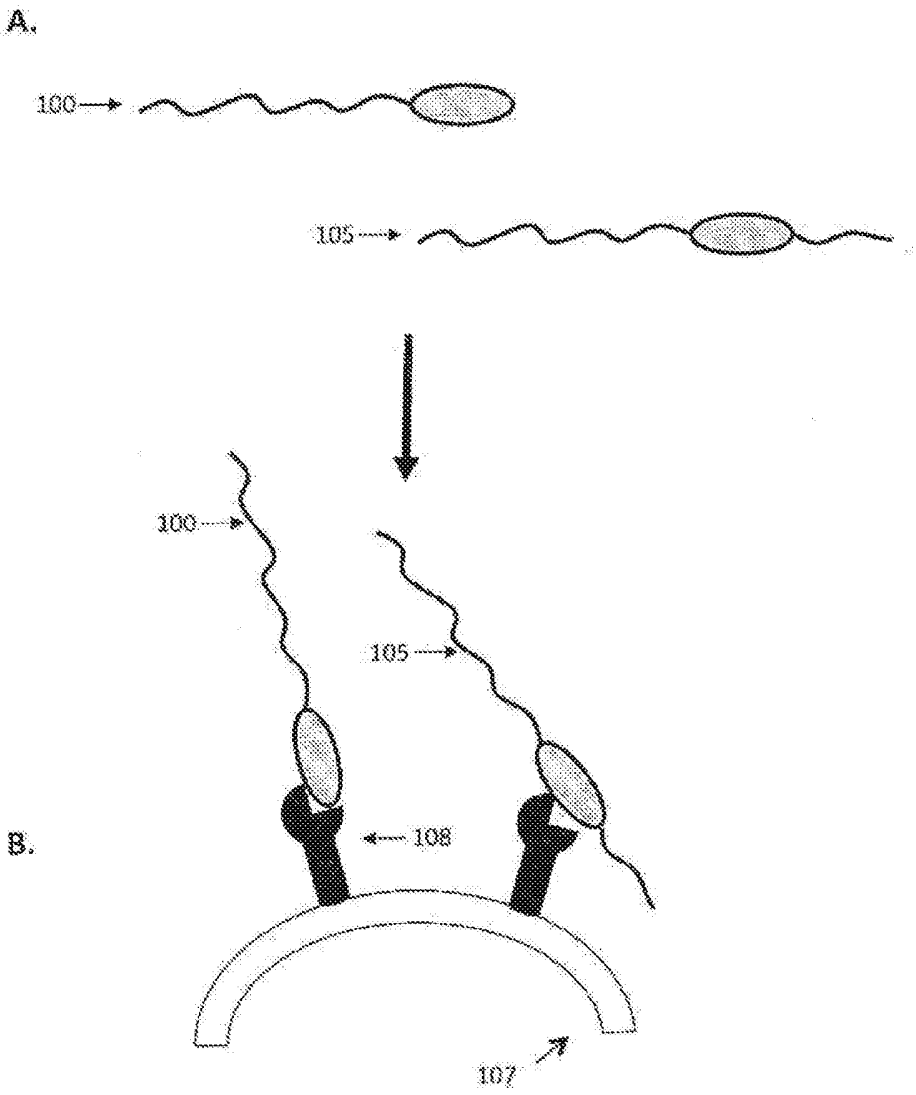


FIG. 3

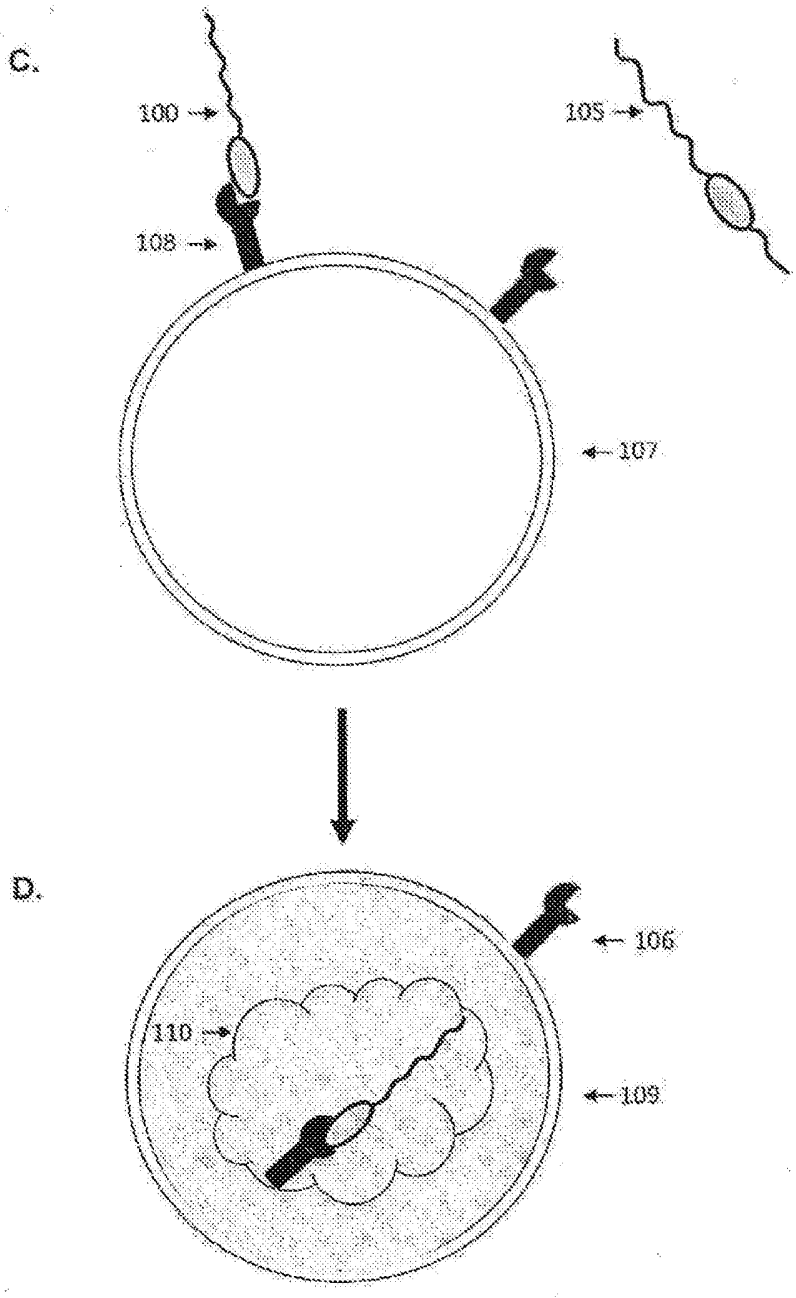


FIG. 3

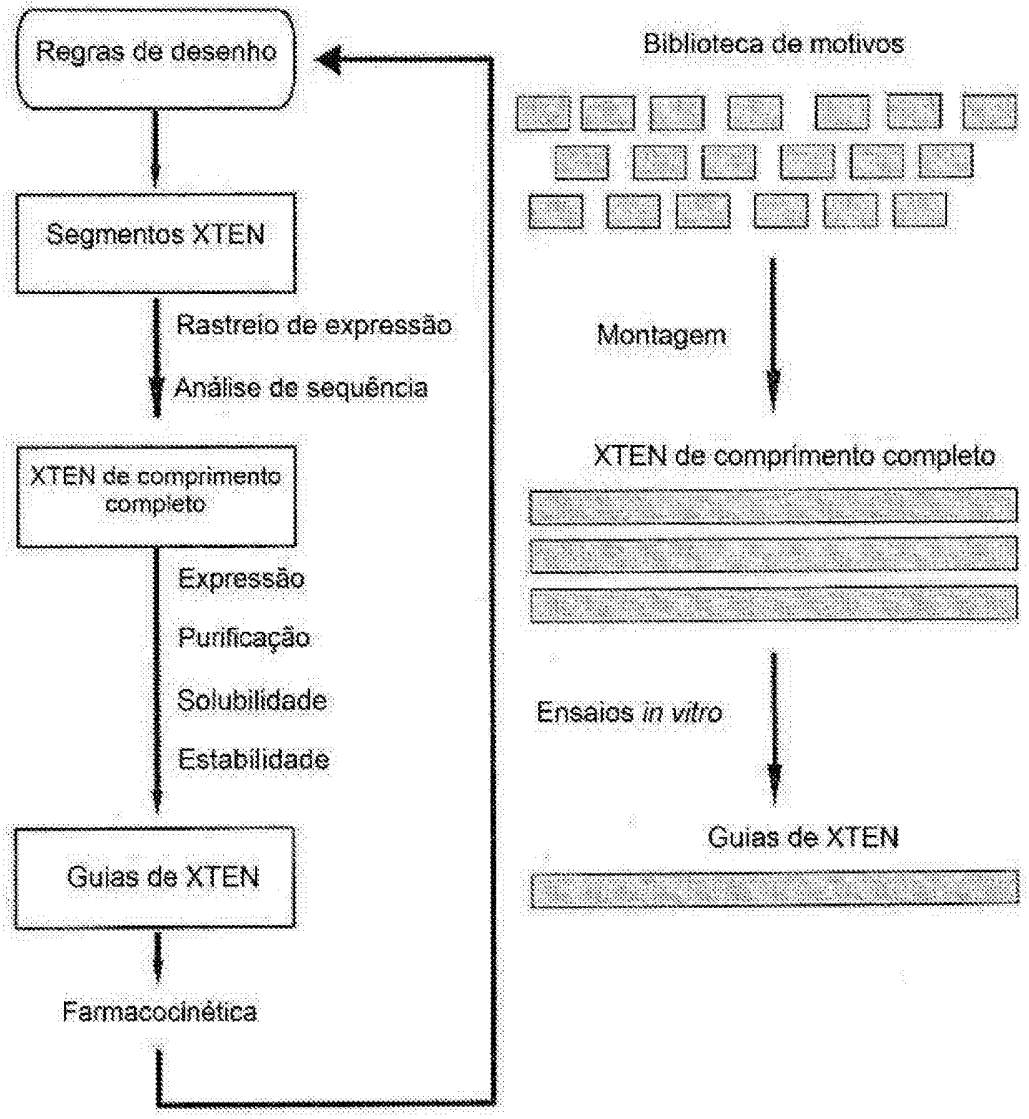

Regras de desenho
Segmentos XTEN
Rastreio de expressão
Análise de sequência
XTEN de comprimento completo
Expressão
Purificação
Solubilidade
Estabilidade
Guias de XTEN
Farmacocinética
Biblioteca de motivos
Montagem
XTEN de comprimento completo
Ensaios *in vitro*
Guias de XTEN

FIG. 4

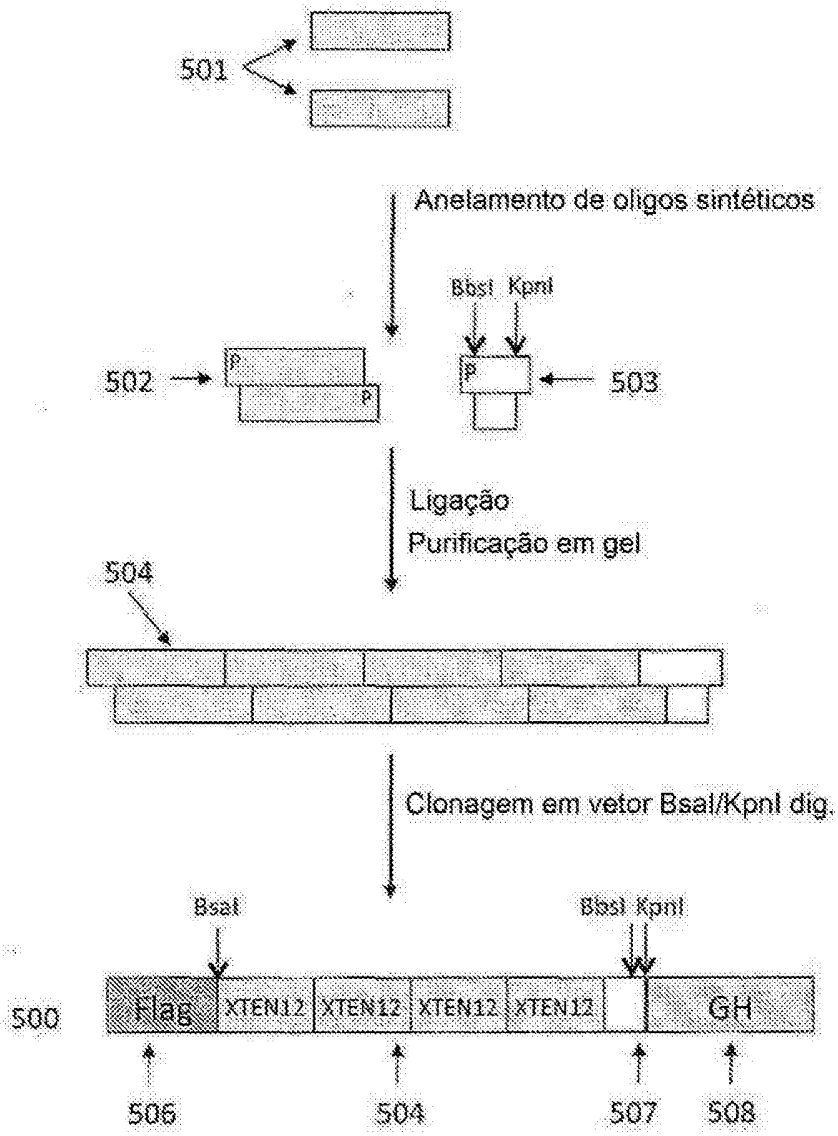

501
Anelamento de oligos sintéticos
BbsI KpnI
502
P
P
P
503
Ligação
Purificação em gel
504
Clonagem em vetor BsaI/KpnI dig.
BsaI
BbsI KpnI
500
Flag
XTEN12
XTEN12
XTEN12
XTEN12
GH
506
504
507
508

FIG. 5

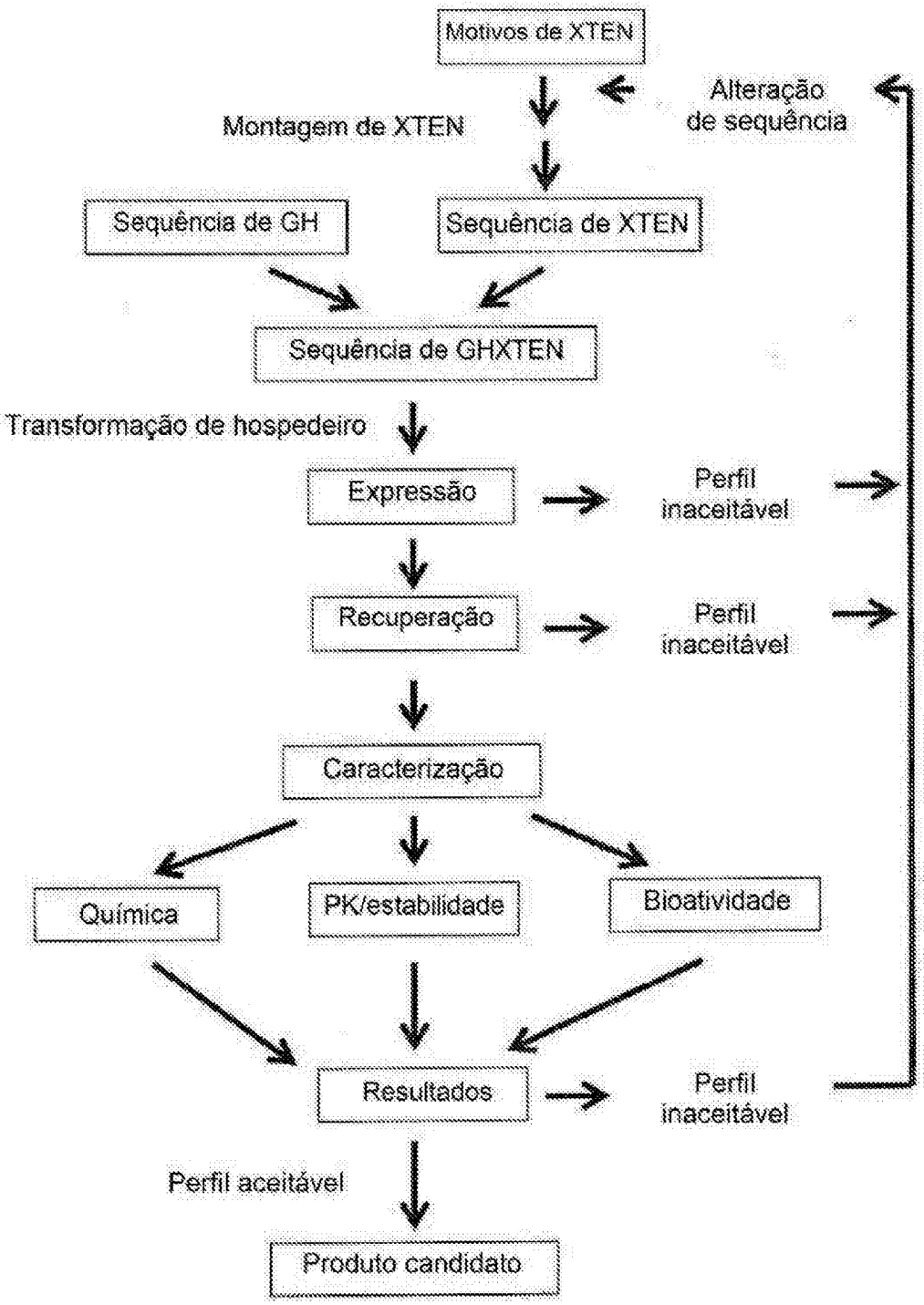

Motivos de XTEN
Montagem de XTEN
Alteração de sequência
Sequência de GH
Sequência de XTEN
Sequência de GHXTEN
Transformação de hospedeiro
Expressão
Perfil inaceitável
Recuperação
Perfil inaceitável
Caracterização
Química
PK/estabilidade
Bioatividade
Resultados
Perfil inaceitável
Perfil aceitável
Produto candidato

FIG. 6

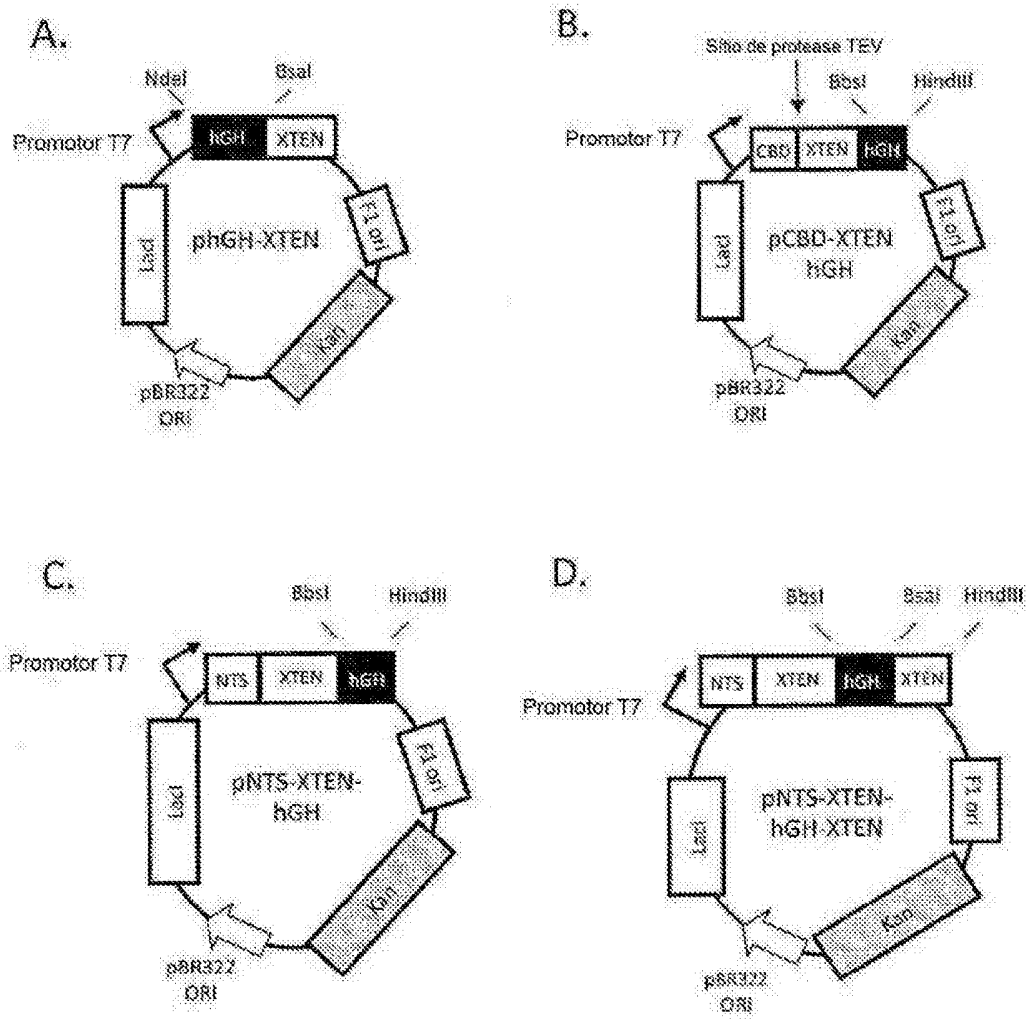

A.
NdeI
BsaI
Promotor T7
hGH
XTEN
phGH-XTEN
LacI
F1 ori
KanR
pBR322 ORI
B.
Sitio de proteasa TEV
BbsI
HindIII
Promotor T7
CBD
XTEN
hGH
pCBD-XTEN hGH
LacI
F1 ori
KanR
pBR322 ORI
C.
BbsI
HindIII
Promotor T7
NTS
XTEN
hGH
pNTS-XTEN-hGH
LacI
F1 ori
KanR
pBR322 ORI
D.
BbsI
BsaI
HindIII
Promotor T7
NTS
XTEN
hGH
XTEN
pNTS-XTEN-hGH-XTEN
LacI
F1 ori
KanR
pBR322 ORI

FIG. 7

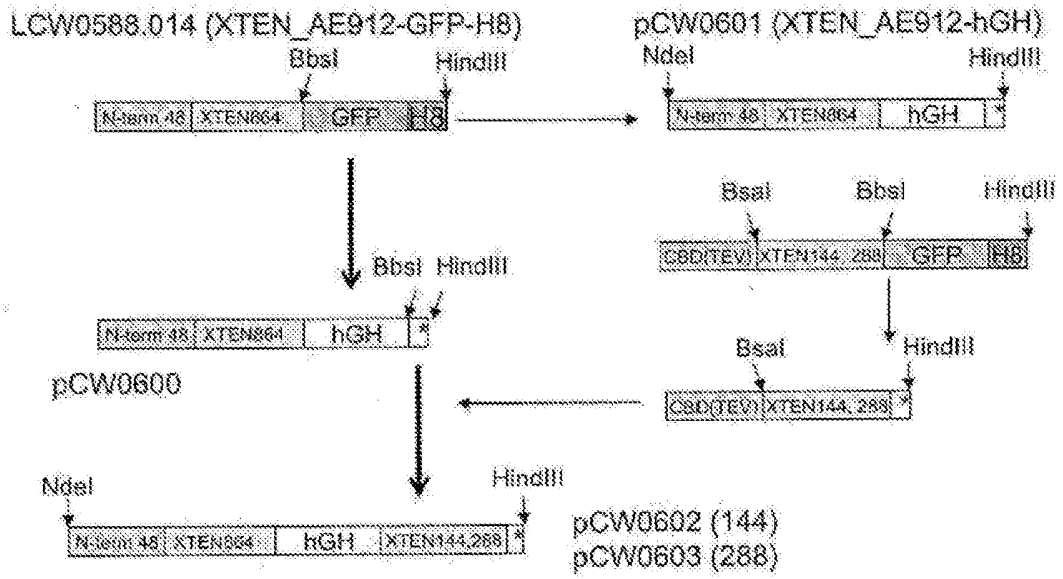

LCW0588.014 (XTEN_AE912-GFP-H8)
BbsI
HindIII
N-term 48
XTEN864
GFP
H8
pCW0601 (XTEN_AE912-hGH)
NdeI
HindIII
N-term 48
XTEN864
hGH
BsaI
BbsI
HindIII
CBD(TEV)
XTEN144_288
GFP
H8
BbsI
HindIII
N-term 48
XTEN864
hGH
pCW0600
BsaI
HindIII
CBD(TEV)
XTEN144_288
NdeI
HindIII
N-term 48
XTEN864
hGH
XTEN144_288
pCW0602 (144)
pCW0603 (288)

FIG. 8

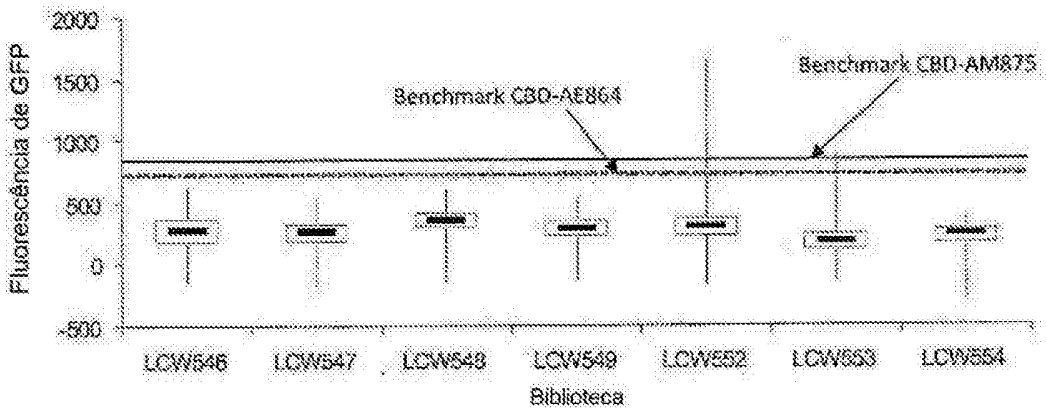
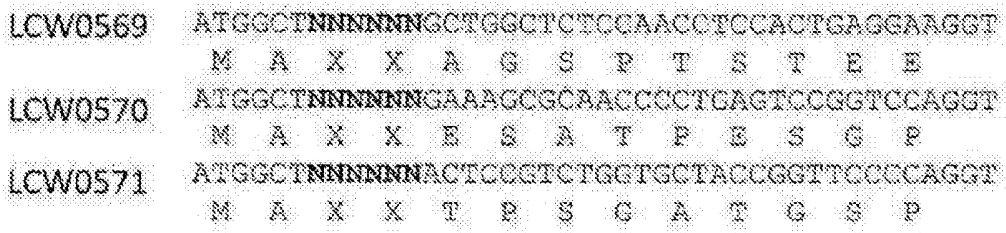

2000
1500
1000
500
0
-500
Fluorescência de GFP
Benchmark CBD-AE864
Benchmark CBD-AM875
LCW546
LCW547
LCW548
LCW549
LCW652
LCW653
LCW654
Biblioteca

FIG. 9



X = APST,	GS	or	GE
TCAG/C/TCAG,	AG/G/TC	or	G/AG/AG
Diversidade:	16	4	4

- Lotes de 2 bibliotecas são baseadas nos 3 melhores clones de rastreio do lote 1.
- Todos os 24 codões para 6 aminoácidos G,E,S,P,A,T são incluídos.
- Cada nova biblioteca está composta de 3x3=9 pares de oligos anelados.

FIG. 10

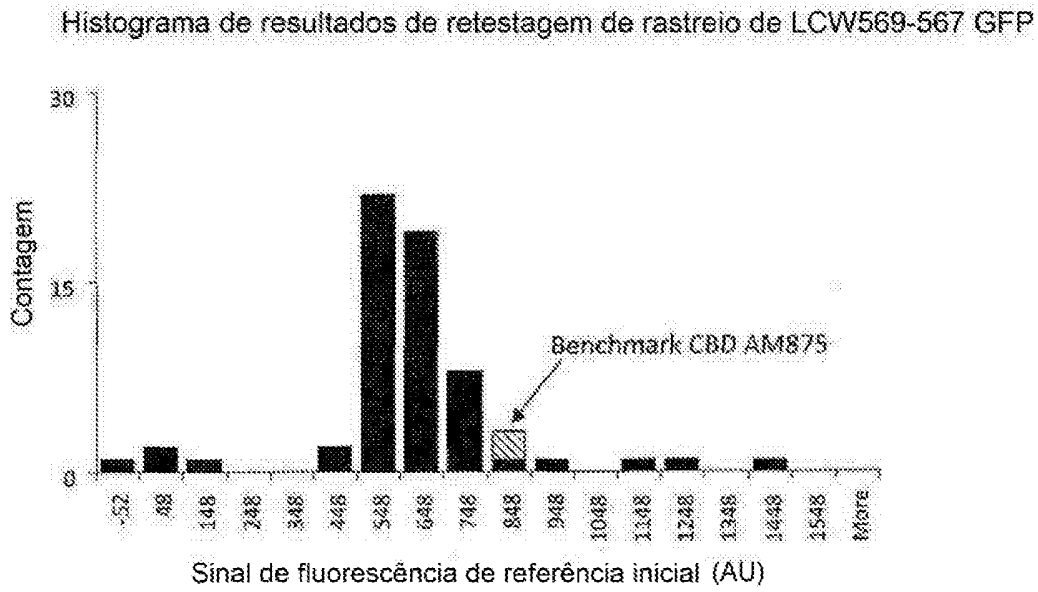

Histograma de resultados de retestagem de rastreio de LCW569-567 GFP
Contagem
30
15
0
Benchmark CBD AM875
-52
48
148
248
348
448
548
648
748
848
948
1048
1148
1248
1348
1448
1548
More
Sinal de fluorescência de referência inicial (AU)

FIG. 11

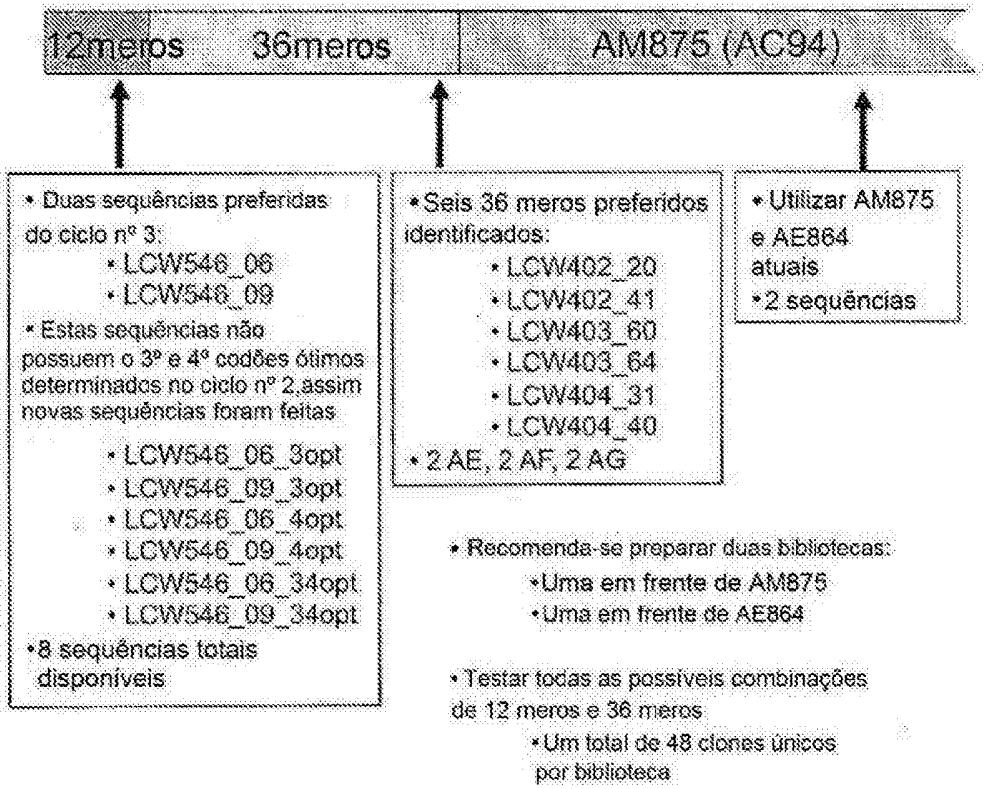

12meros
36meros
AM875 (AC94)
• Duas sequências preferidas do ciclo nº 3:
• LCW546_06
• LCW546_09
• Estas sequências não possuem o 3º e 4º codões ótimos determinados no ciclo nº 2,assim novas sequências foram feitas
• LCW546_06_3opt
• LCW546_09_3opt
• LCW546_06_4opt
• LCW546_09_4opt
• LCW546_06_34opt
• LCW546_09_34opt
•8 sequências totais disponíveis
• Seis 36 meros preferidos identificados:
• LCW402_20
• LCW402_41
• LCW403_60
• LCW403_64
• LCW404_31
• LCW404_40
• 2 AE, 2 AF, 2 AG
• Utilizar AM875 e AE864 atuais
•2 sequências
• Recomenda-se preparar duas bibliotecas:
•Uma em frente de AM875
•Uma em frente de AE864
• Testar todas as possíveis combinações de 12 meros e 36 meros
•Um total de 48 clones únicos por biblioteca

FIG. 12

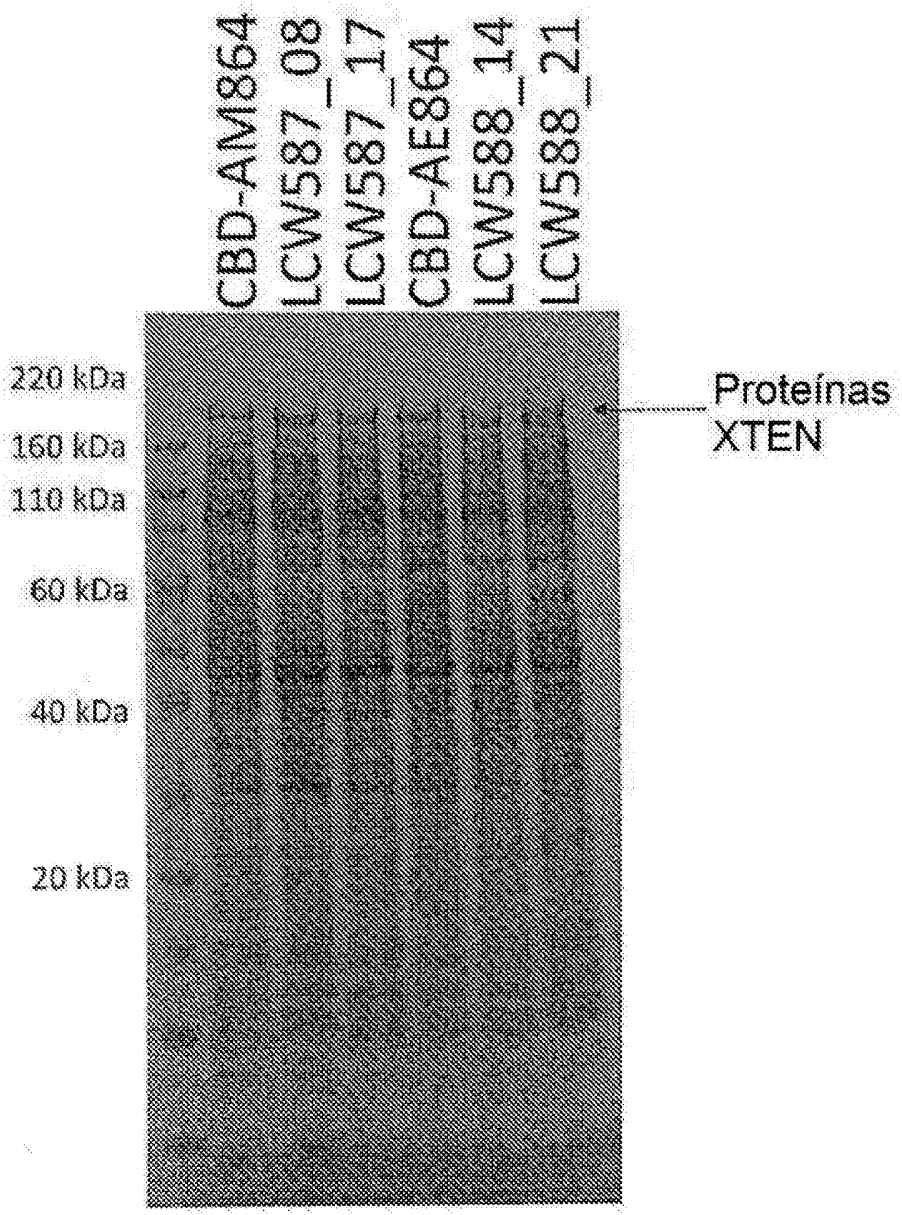

CBD-AM864
LCW587_08
LCW587_17
CBD-AE864
LCW588_14
LCW588_21
220 kDa
160 kDa
110 kDa
60 kDa
40 kDa
20 kDa
Proteínas XTEN

FIG. 13

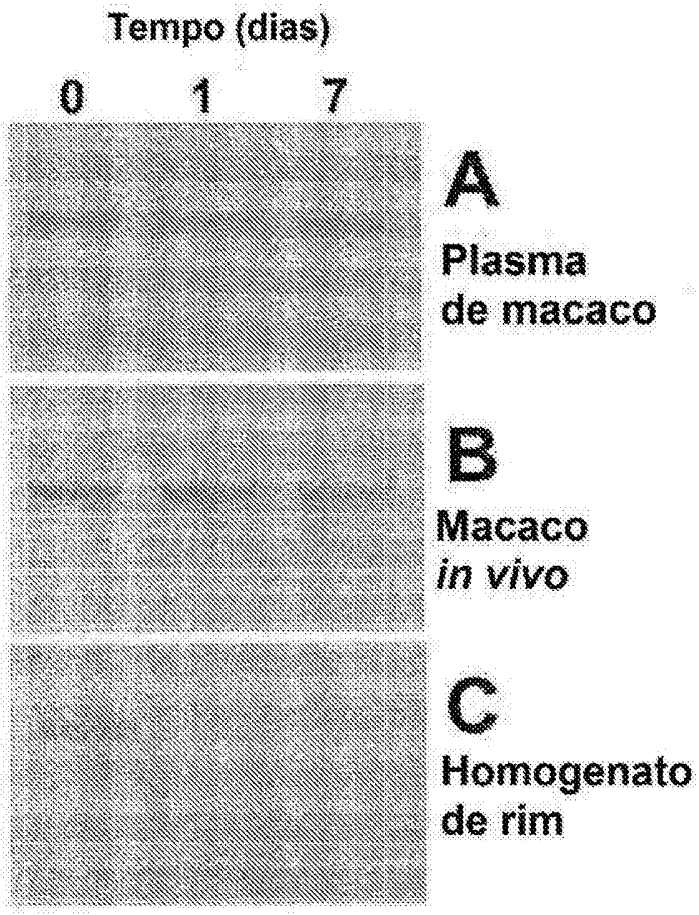

Tempo (dias)
0
1
7
A
Plasma
de macaco
B
Macaco
in vivo
C
Homogenato
de rim

FIG. 14

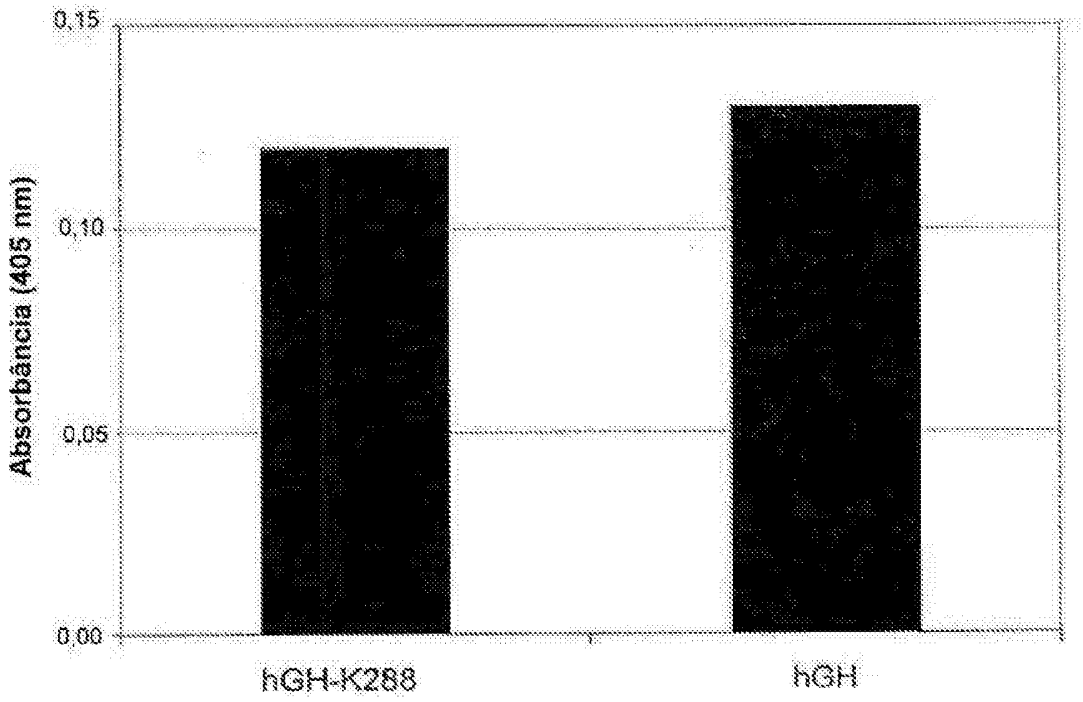


FIG. 15

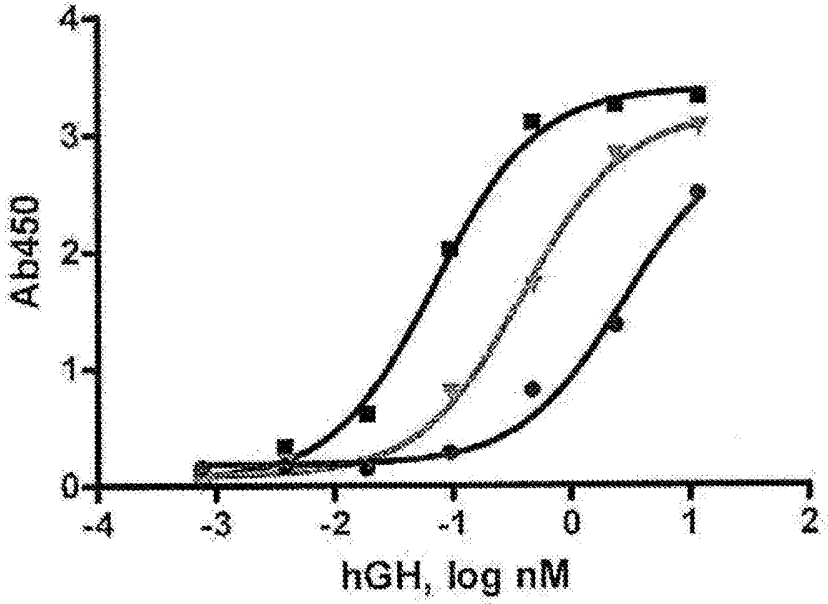


FIG. 16

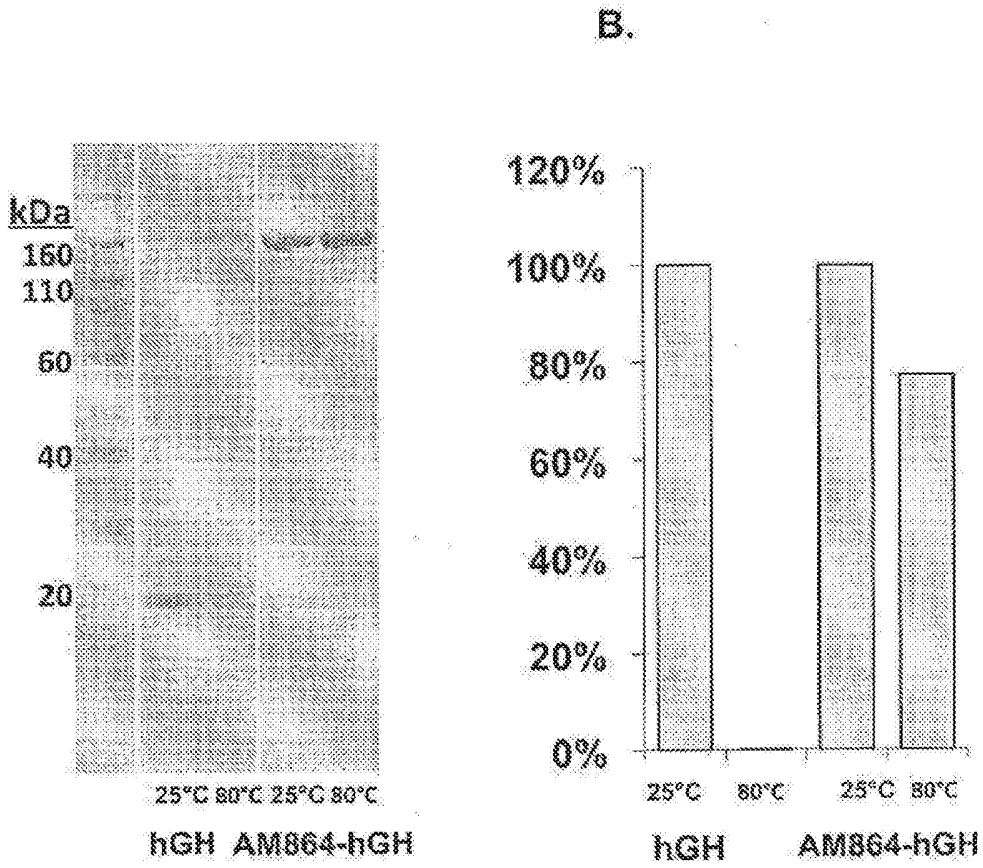

A.
B.
kDa
160
110
60
40
20
25°C 80°C 25°C 80°C
hGH AM864-hGH
120%
100%
80%
60%
40%
20%
0%
25°C 80°C 25°C 80°C
hGH AM864-hGH

FIG. 17

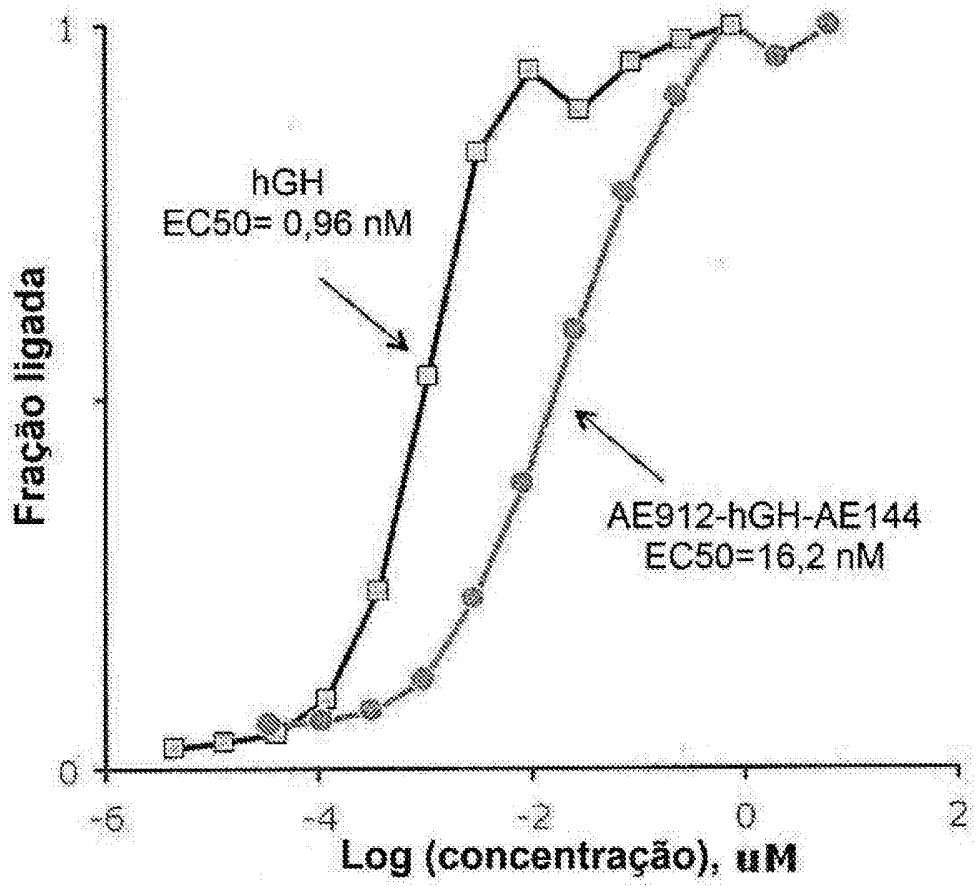

1
0
Fração ligada
hGH
EC50= 0,96 nM
AE912-hGH-AE144
EC50=16,2 nM
-6
-4
-2
0
2
Log (concentração), uM

FIG. 18

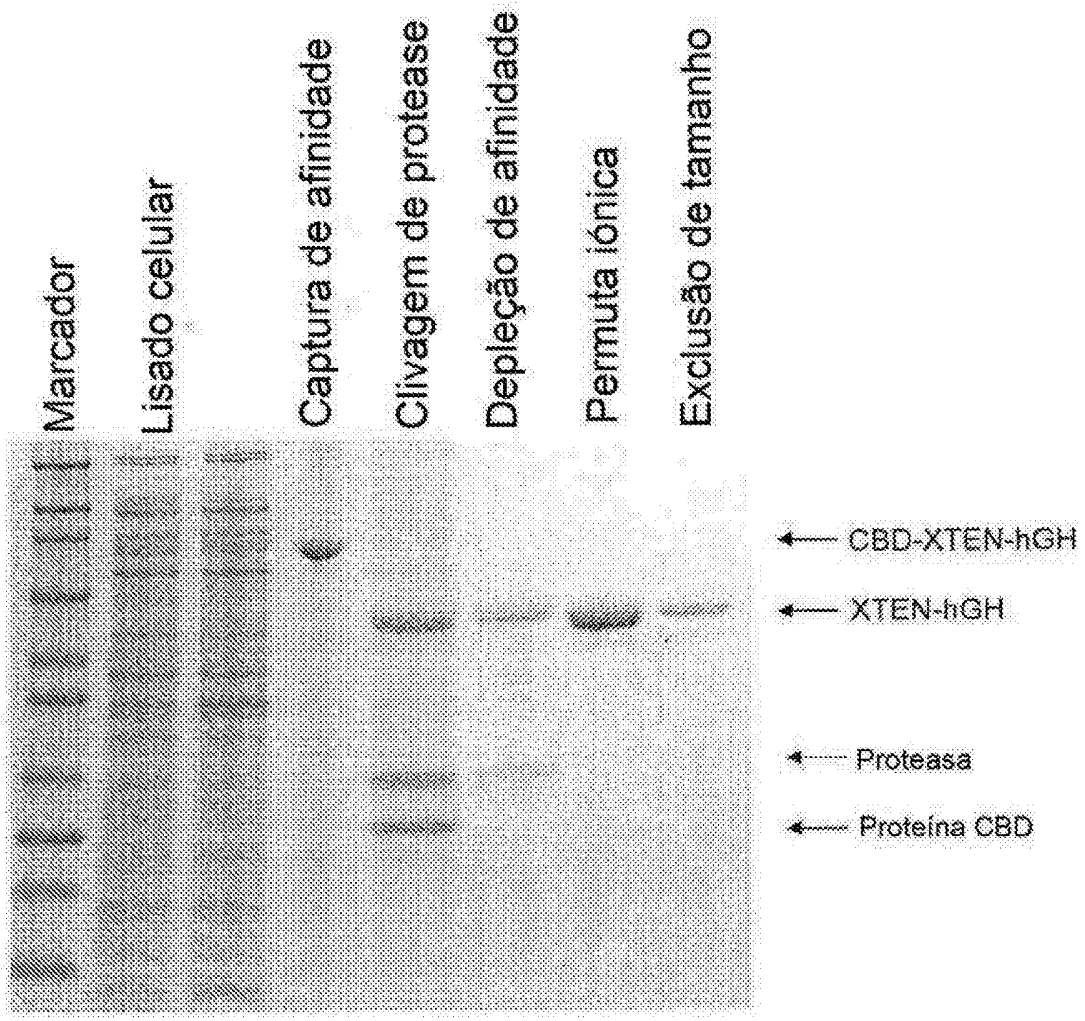

Marcador
Lisado celular
Captura de afinidade
Clivagem de protease
Depleção de afinidade
Permuta iónica
Exclusão de tamanho
CBD-XTEN-hGH
XTEN-hGH
Proteasa
Proteína CBD

FIG. 19

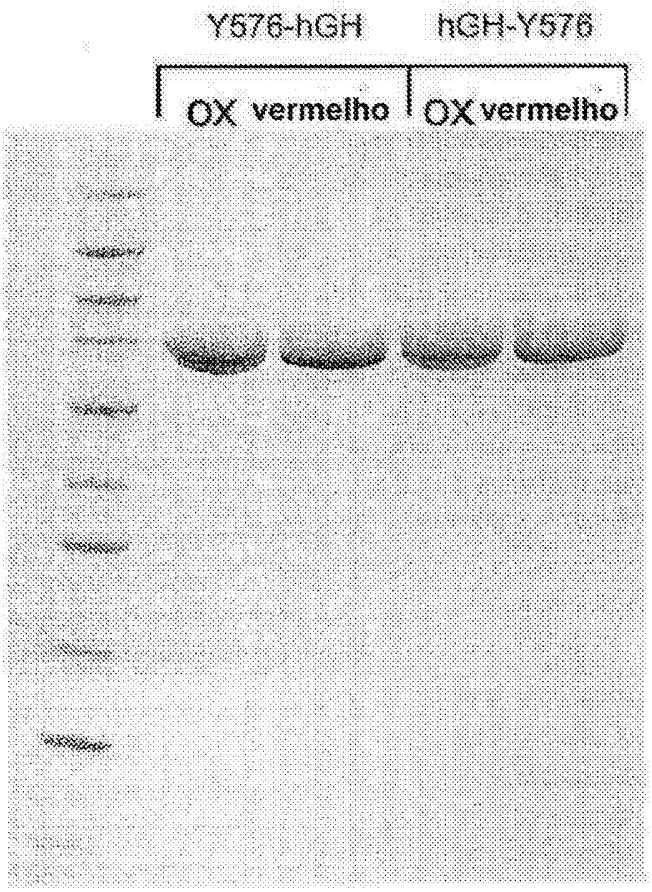


FIG. 20

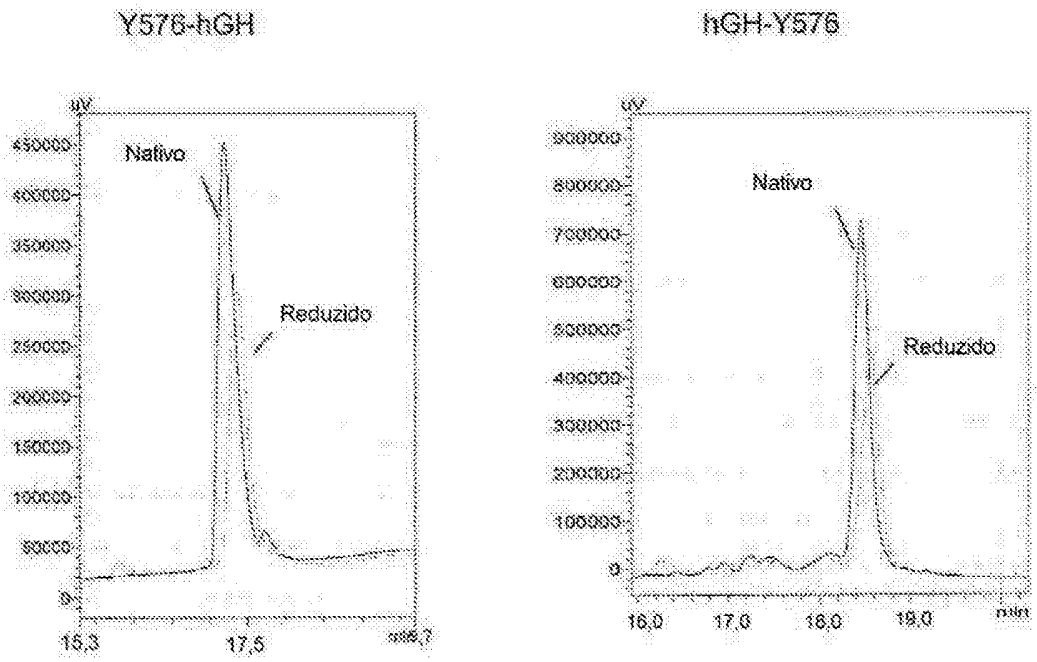

Y576-hGH
hGH-Y576
uV
Nativo
Reduzido
15,3
17,5
16,0
17,0
18,0
19,0
min

FIG. 21

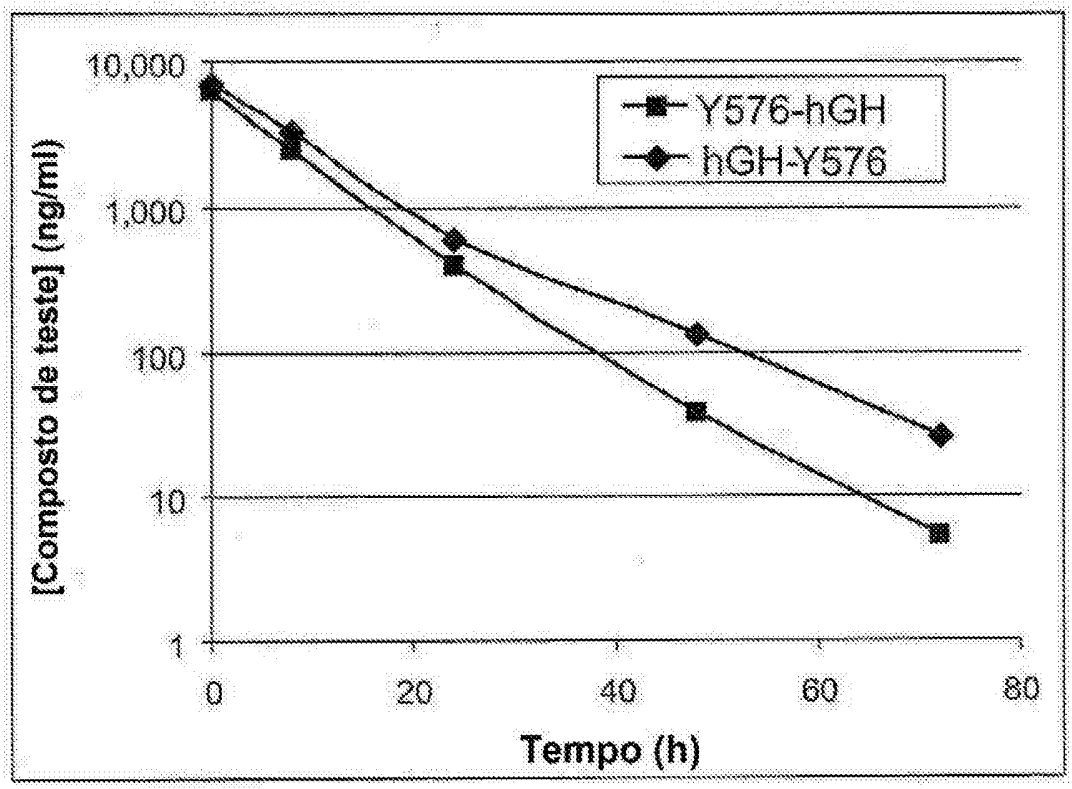

10,000
1,000
100
10
1
[Composto de teste] (ng/ml)
0
20
40
60
80
Tempo (h)
Y576-hGH
hGH-Y576

FIG. 22

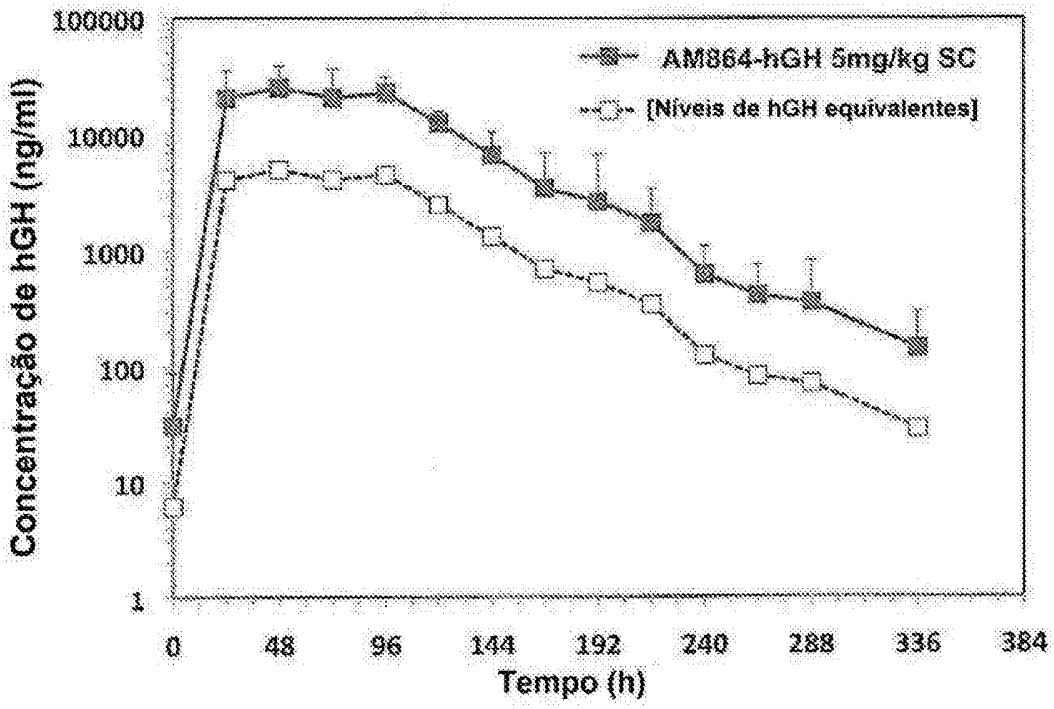

100000
10000
1000
100
10
1
Concentração de hGH (ng/ml)
AM864-hGH 5mg/kg SC
[Níveis de hGH equivalentes]
0
48
96
144
192
240
288
336
384
Tempo (h)

FIG. 23

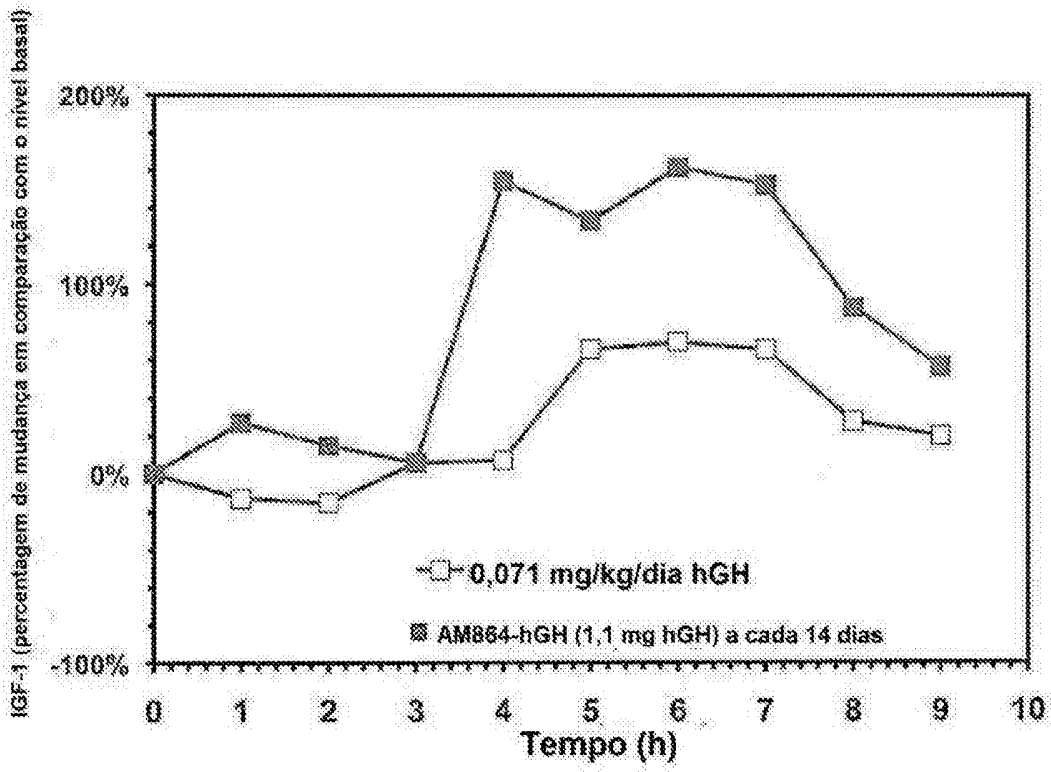

IGF-1 (percentagem de mudança em comparação com o nível basal)
200%
100%
0%
-100%
0
1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
Tempo (h)
0,071 mg/kg/dia hGH
AM864-hGH (1,1 mg hGH) a cada 14 dias

FIG. 24

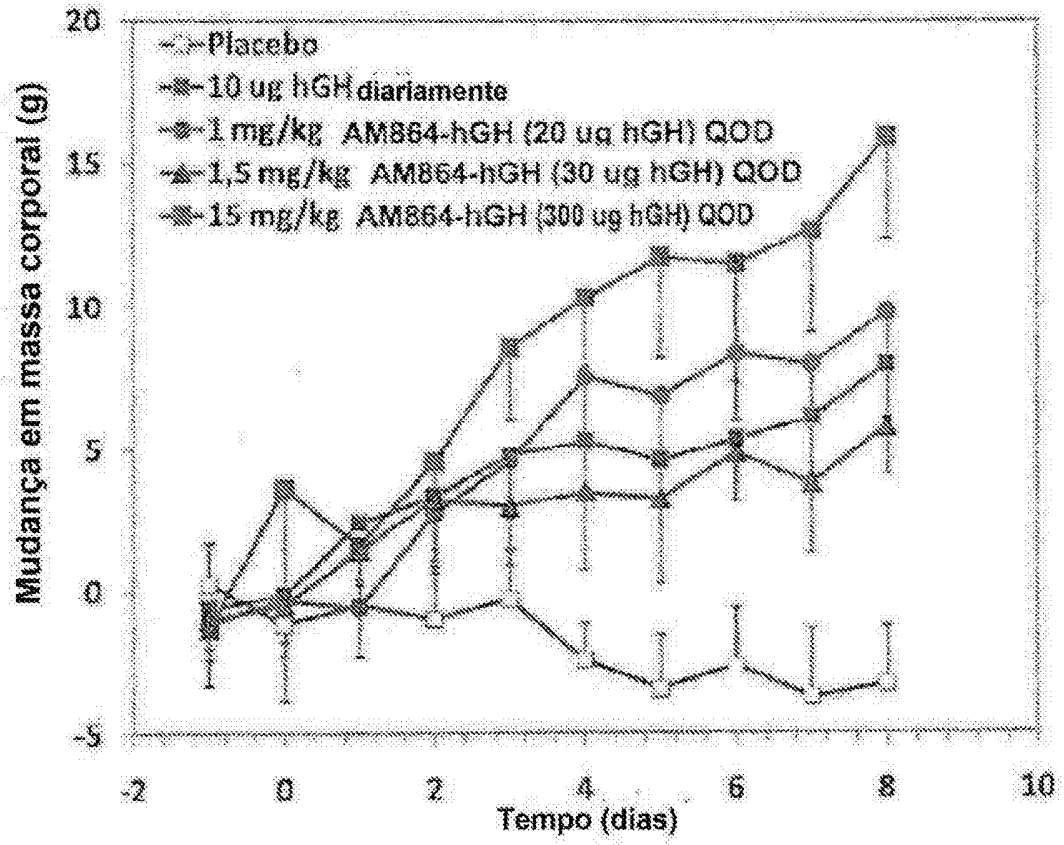
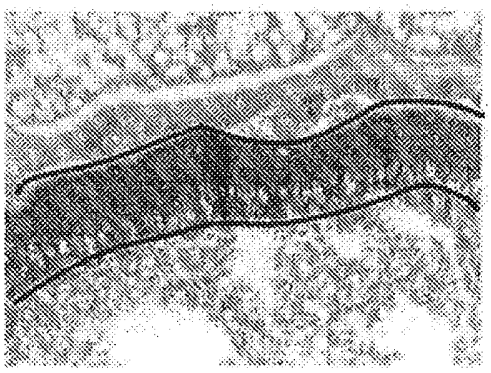
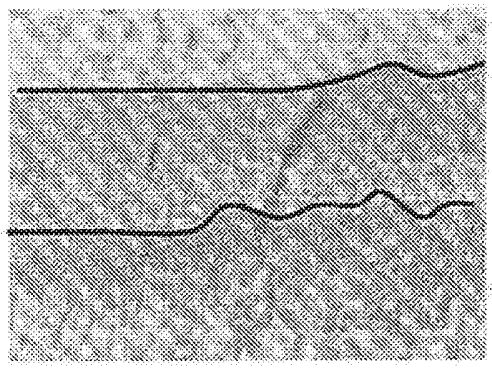

Placebo
10 ug hGH diariamente
1 mg/kg AM864-hGH (20 ug hGH) QOD
1,5 mg/kg AM864-hGH (30 ug hGH) QOD
15 mg/kg AM864-hGH (300 ug hGH) QOD
Mudança em massa corporal (g)
20
15
10
5
0
-5
-2
0
2
4
6
8
10
Tempo (dias)

FIG. 25

A.



B.



C.

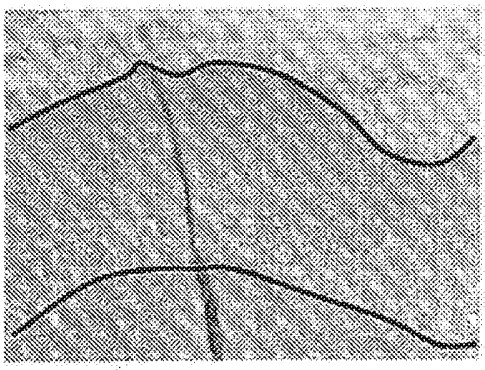


FIG. 26

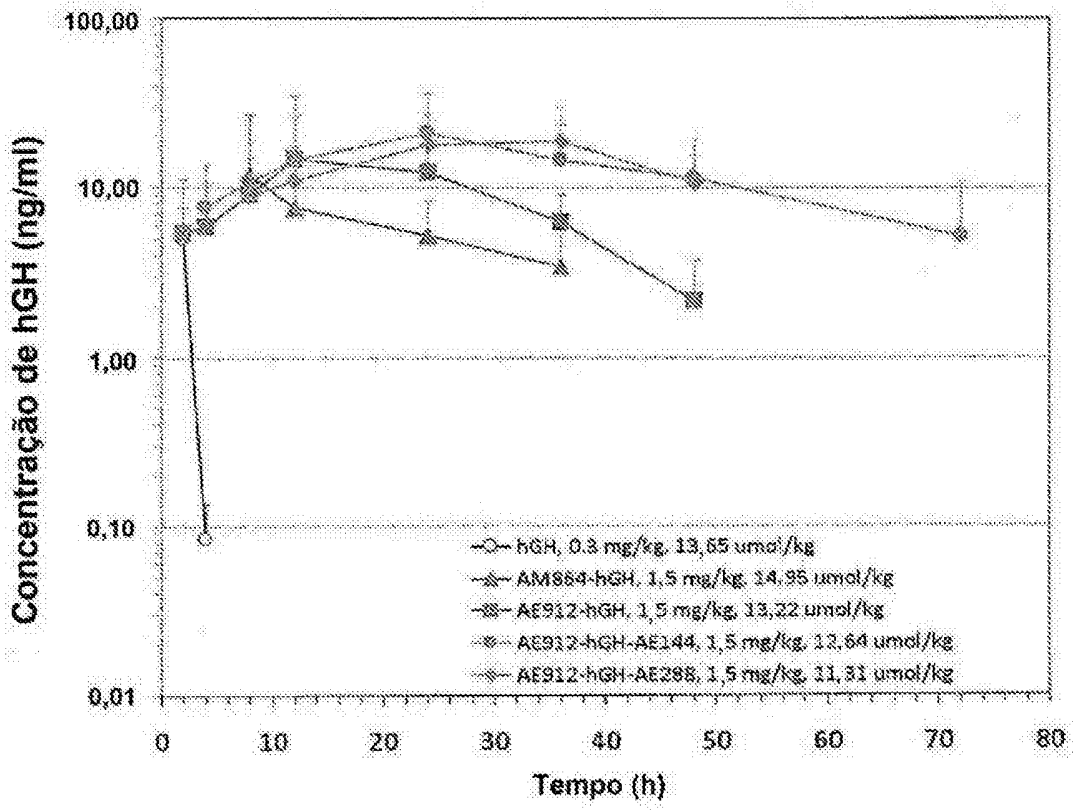

100,00
10,00
1,00
0,10
0,01
Concentração de hGH (ng/ml)
0
10
20
30
40
50
60
70
80
Tempo (h)
hGH, 0,3 mg/kg, 13,65 umol/kg
AM884-hGH, 1,5 mg/kg, 14,95 umol/kg
AE912-hGH, 1,5 mg/kg, 13,22 umol/kg
AE912-hGH-AE144, 1,5 mg/kg, 12,64 umol/kg
AE912-hGH-AE288, 1,5 mg/kg, 11,31 umol/kg

FIG. 27

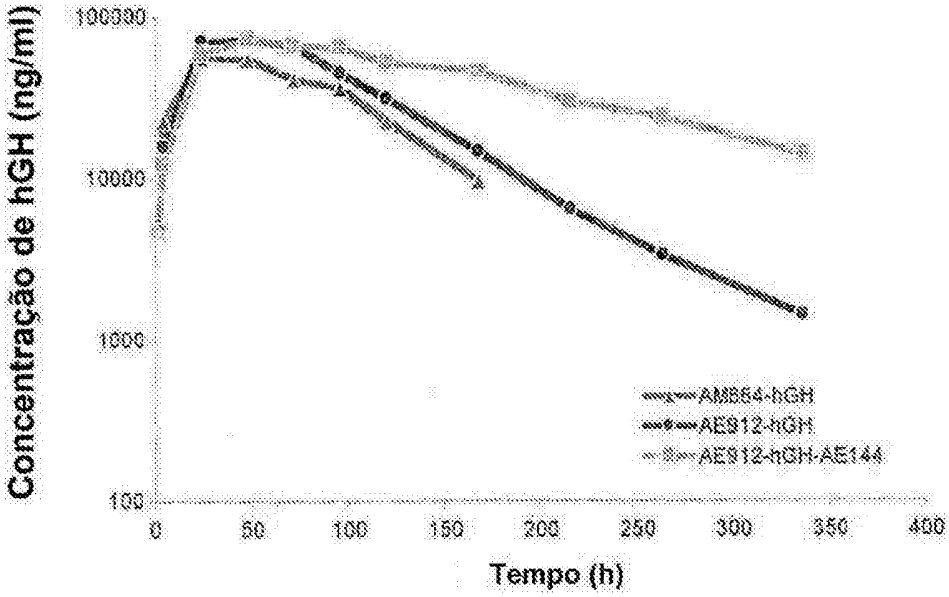

Concentração de hGH (ng/ml)
100000
10000
1000
100
0
50
100
150
200
250
300
350
400
Tempo (h)
AM864-hGH
AE912-hGH
AE912-hGH-AE144

FIG. 28

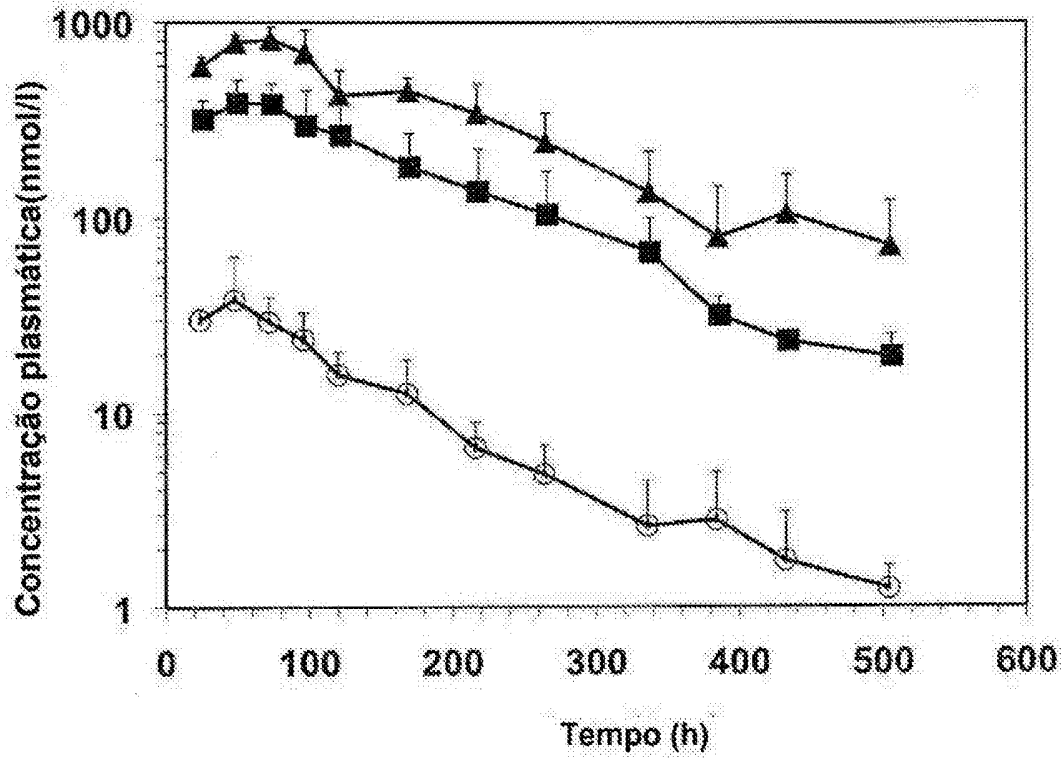

1000
100
10
1
Concentração plasmática(nmol/l)
0
100
200
300
400
500
600
Tempo (h)

FIG. 29

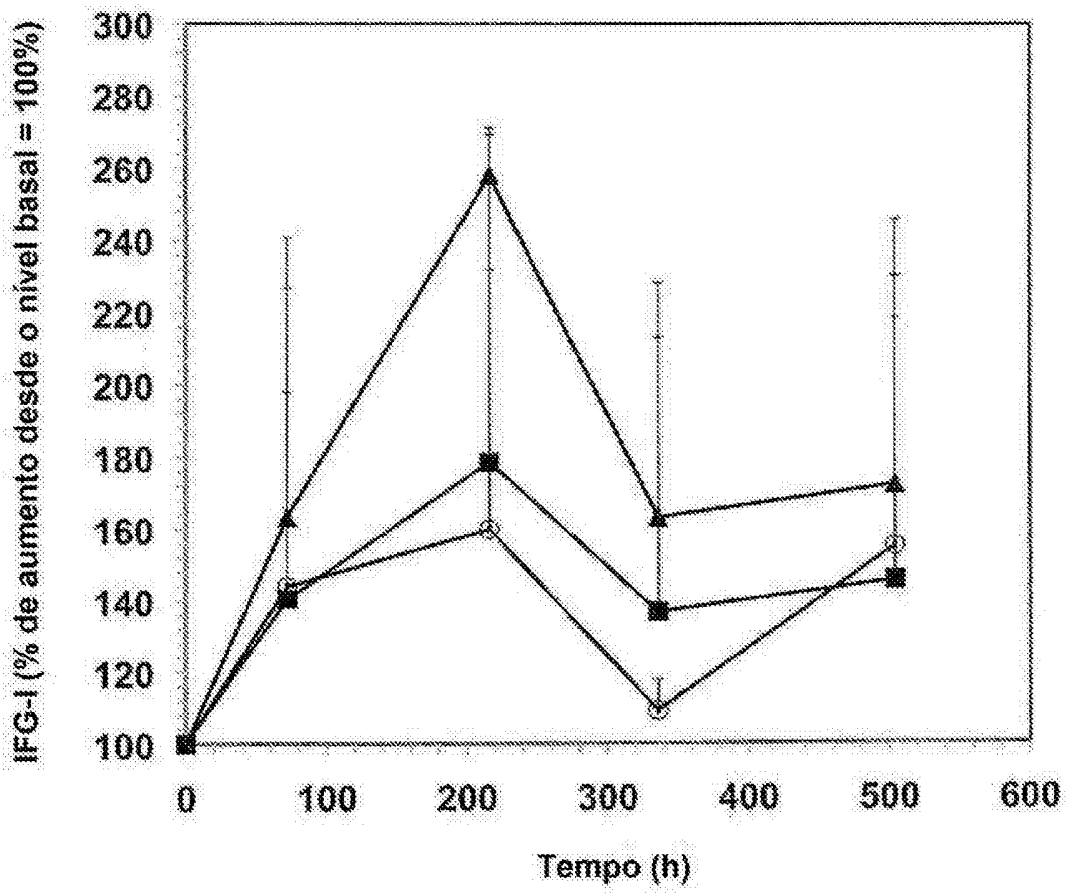

IFG-I (% de aumento desde o nível basal = 100%)
300
280
260
240
220
200
180
160
140
120
100
0
100
200
300
400
500
600
Tempo (h)

FIG. 30

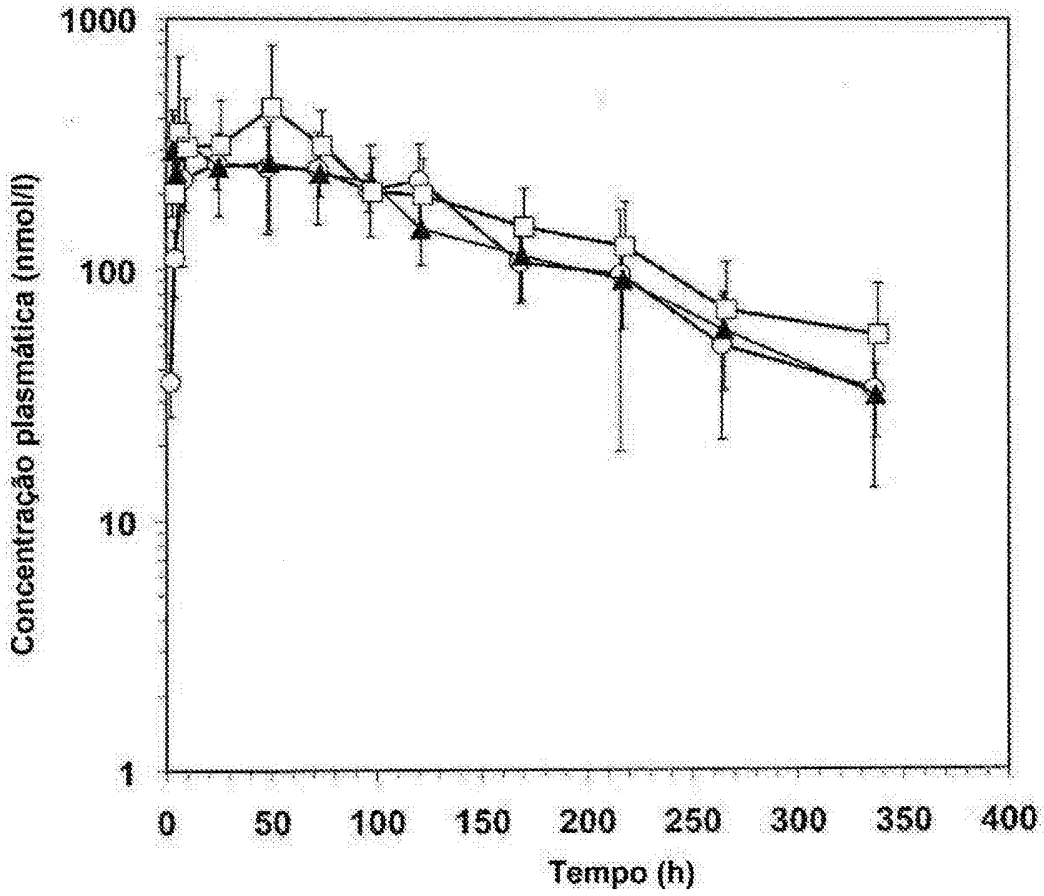

1000
100
10
1
Concentração plasmática (nmol/l)
0
50
100
150
200
250
300
350
400
Tempo (h)

FIG. 31

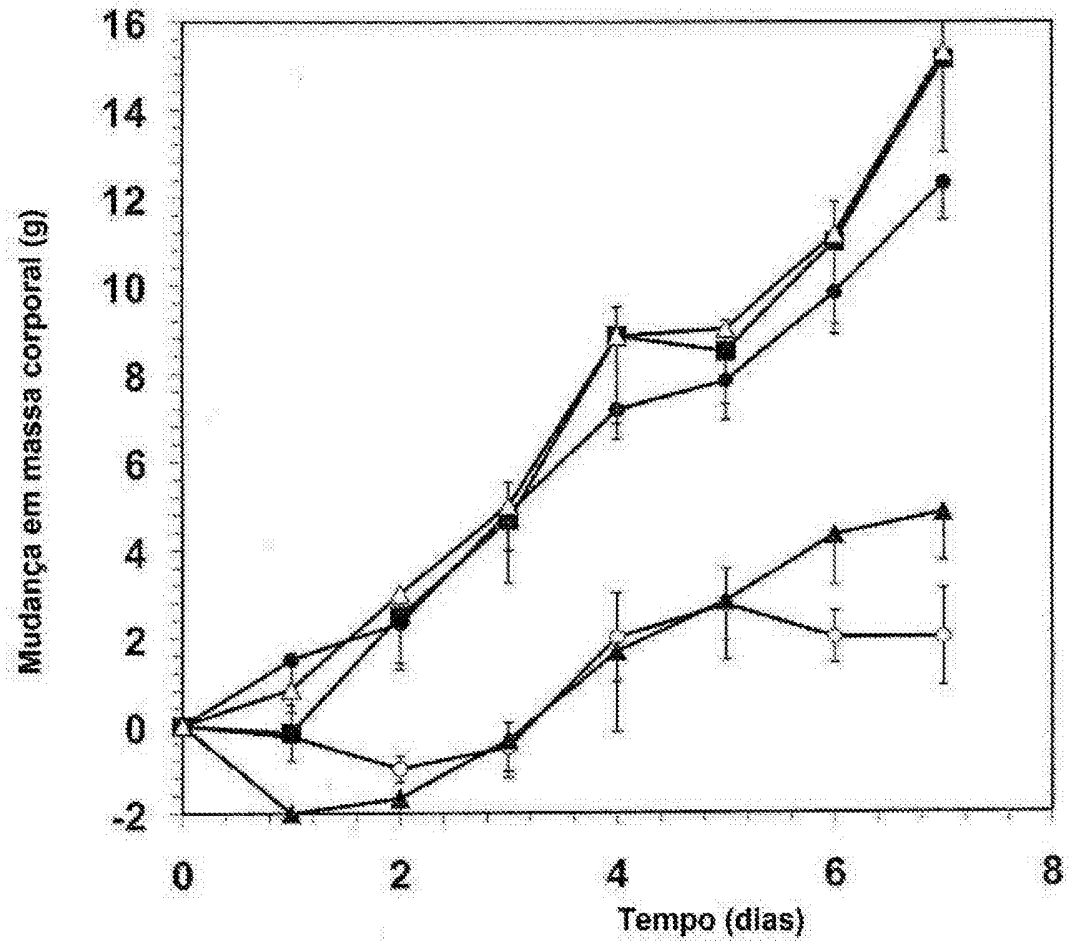

16
14
12
10
8
6
4
2
0
-2
0
2
4
6
8
Mudança em massa corporal (g)
Tempo (dias)

FIG. 32

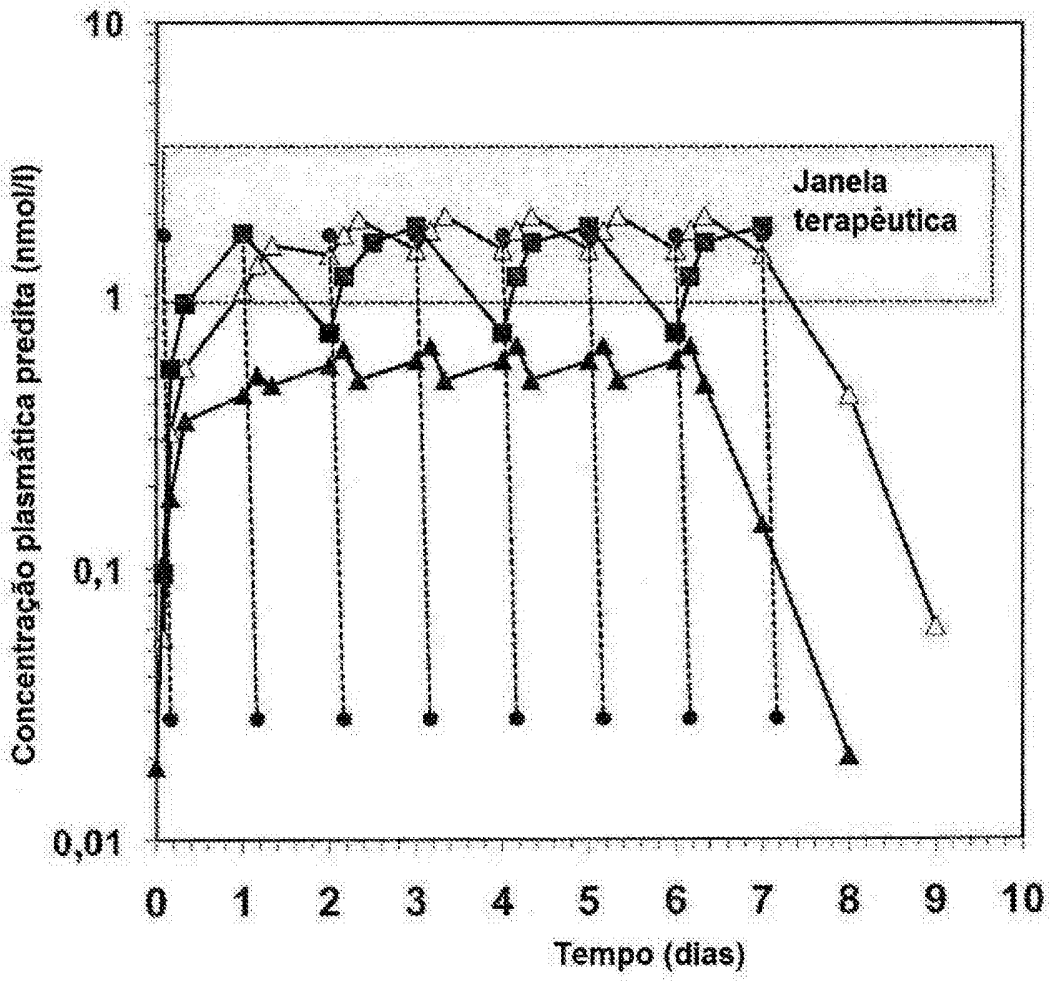
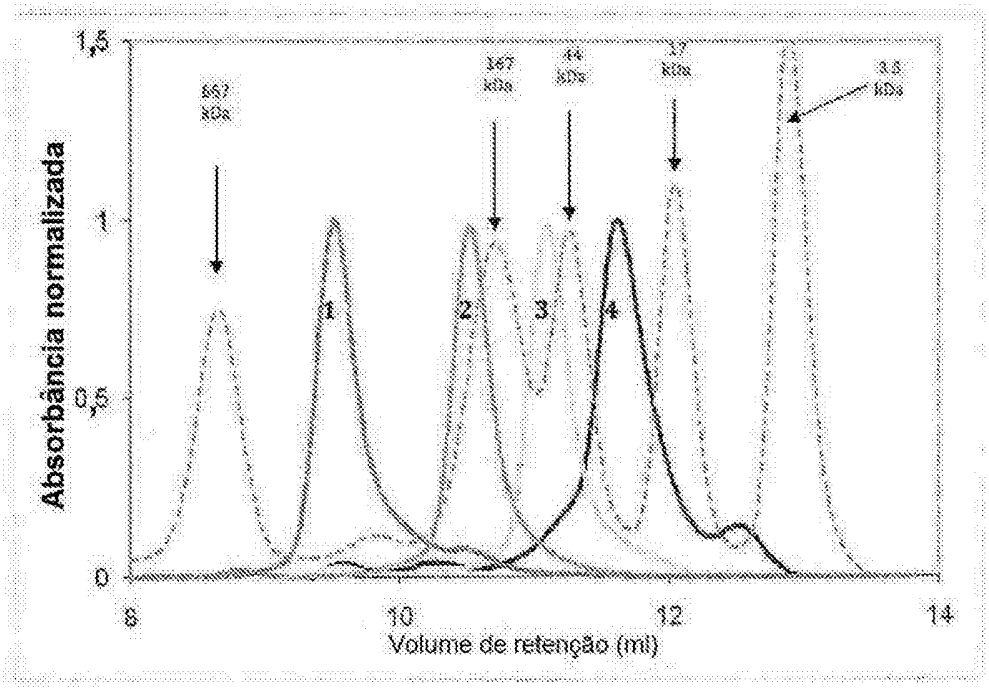

10
1
0,1
0,01
Concentração plasmática predita (nmol/l)
Janela terapêutica
0
1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
Tempo (dias)

FIG. 33



1. Glucagão-Y288
2. Glucagão-Y144
3. Glucagão-Y72
4. Glucagão-Y36

- - - - = Padrões

FIG. 34

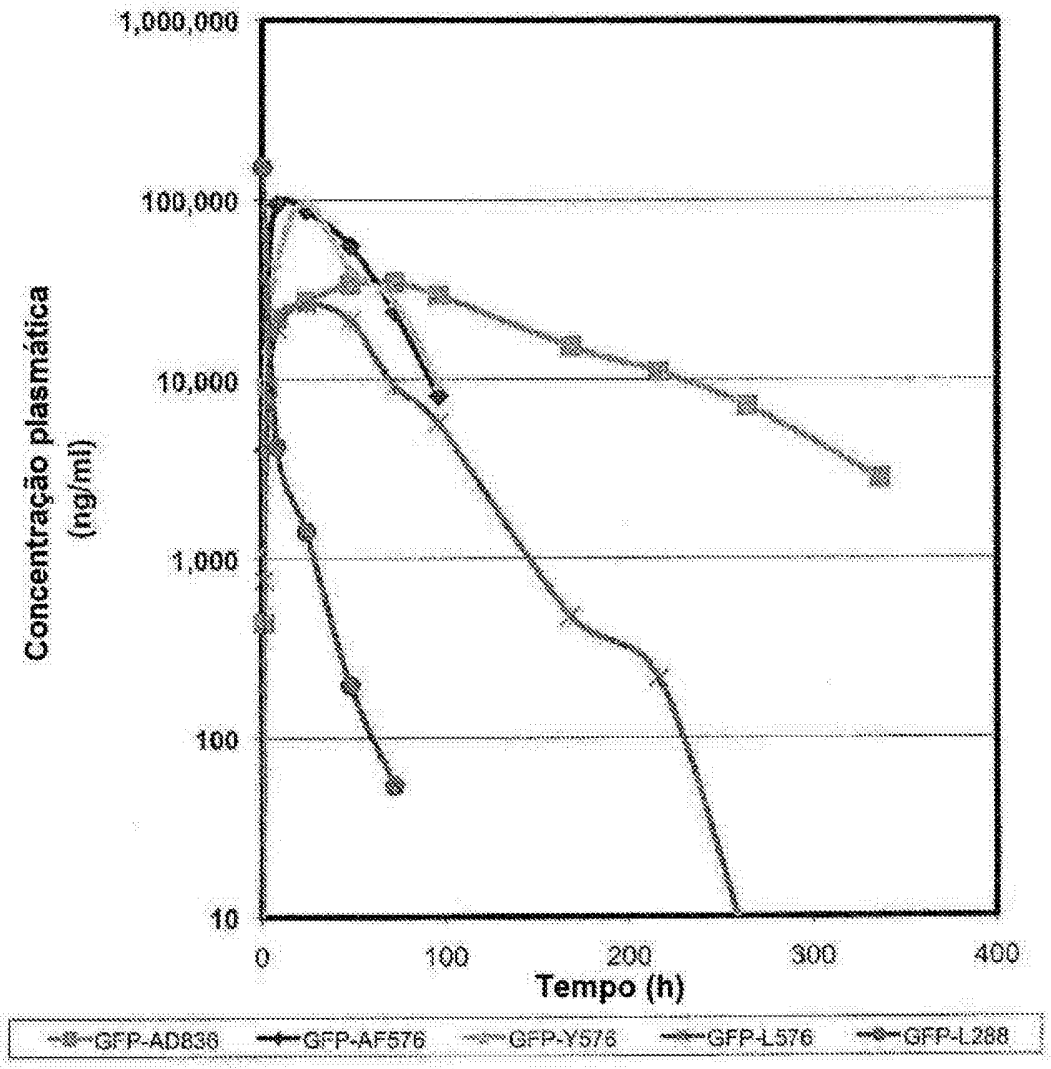

1,000,000
100,000
10,000
1,000
100
10
Concentração plasmática (ng/ml)
0
100
200
300
400
Tempo (h)
GFP-AD836
GFP-AF576
GFP-Y576
GFP-L576
GFP-L288

FIG. 35

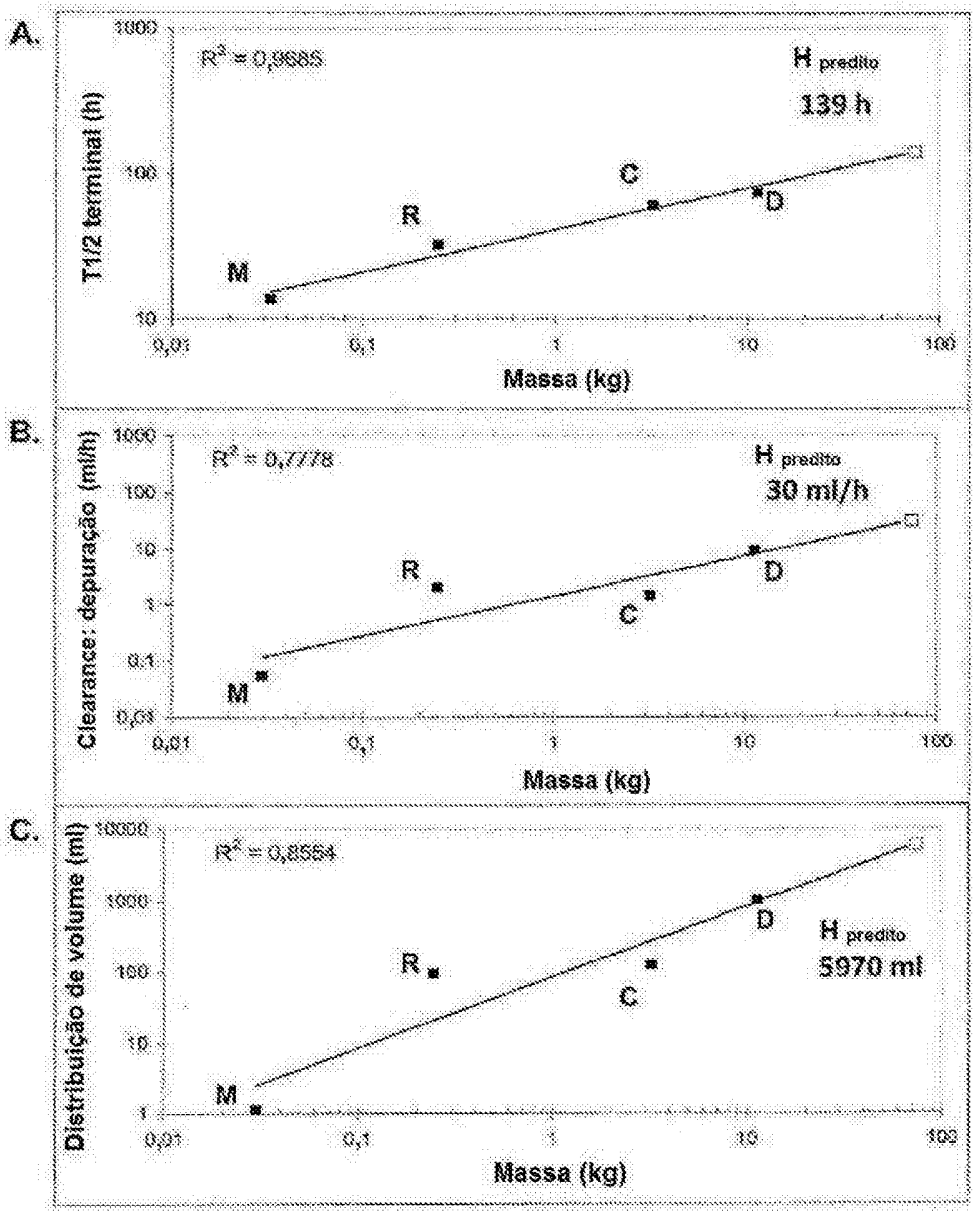

A.
T1/2 terminal (h)
1000
100
10
R^2 = 0,9585
H predito
139 h
C
R
D
M
0,01
0,1
1
10
100
Massa (kg)
B.
Clearance: depuração (ml/h)
1000
100
10
1
0,1
0,01
R^2 = 0,7778
H predito
30 ml/h
R
D
C
M
0,01
0,1
1
10
100
Massa (kg)
C.
Distribuição de volume (ml)
10000
1000
100
10
1
R^2 = 0,8584
D
H predito
5970 ml
R
C
M
0,01
0,1
1
10
100
Massa (kg)

FIG. 36

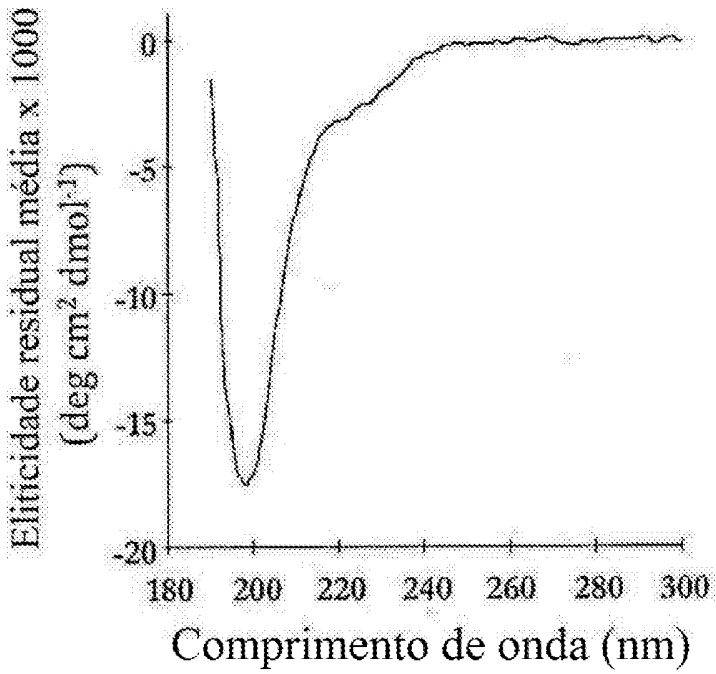

Elipticidade residual média x 1000
(deg cm² dmol⁻¹)
0
-5
-10
-15
-20
180
200
220
240
260
280
300
Comprimento de onda (nm)

FIG. 37