



(19) 대한민국특허청(KR)  
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2023-0028363  
(43) 공개일자 2023년02월28일

- |  |   |
|--|---|
| <p>(51) 국제특허분류(Int. Cl.)<br/>C12N 15/10 (2017.01) C12P 21/02 (2006.01)<br/>C40B 30/04 (2006.01) C40B 40/10 (2006.01)</p> <p>(52) CPC특허분류<br/>C12N 15/1068 (2013.01)<br/>C12P 21/02 (2013.01)</p> <p>(21) 출원번호 10-2023-7000660</p> <p>(22) 출원일자(국제) 2021년06월25일<br/>심사청구일자 없음</p> <p>(85) 번역문제출일자 2023년01월06일</p> <p>(86) 국제출원번호 PCT/JP2021/024075</p> <p>(87) 국제공개번호 WO 2021/261577<br/>국제공개일자 2021년12월30일</p> <p>(30) 우선권주장<br/>JP-P-2020-109576 2020년06월25일 일본(JP)</p> | <p>(71) 출원인<br/>추가이 세이야쿠 가부시키키가이샤<br/>일본국 도쿄도 기타쿠 우키마 5초메 5반 1코</p> <p>(72) 발명자<br/>니시무라 가오리<br/>일본 가나가와켄 가마쿠라시 가지와라 200반치 추가이 세이야쿠 가부시키키가이샤 내</p> <p>다니구치 다카아키<br/>싱가포르 138623 바이오폴리스 드라이브 3 시넵스#07-11/16 추가이 파마보디 리서치 피티이 리미티드 내<br/>(뒷면에 계속)</p> <p>(74) 대리인<br/>제일특허법인(유)</p> |
|--|---|

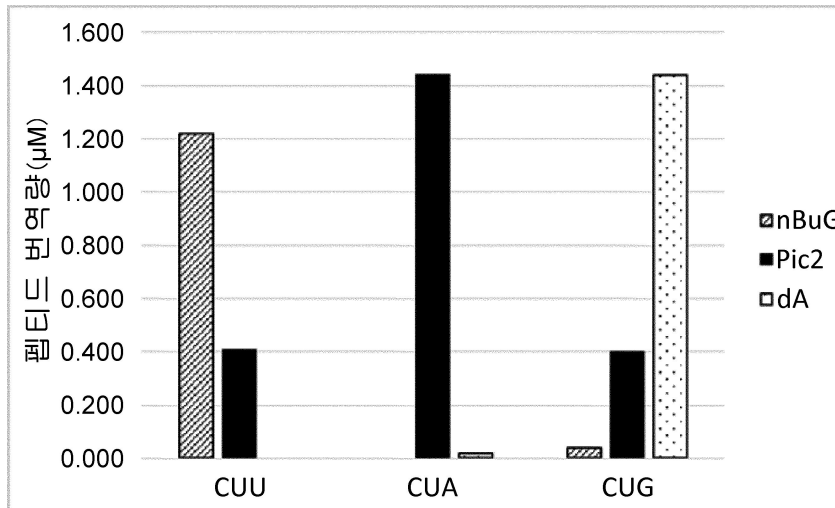
전체 청구항 수 : 총 26 항

(54) 발명의 명칭 **개변된 유전 암호표를 갖는 번역계**

(57) 요약

특정의 코돈 복스에 있어서, pCpA-아미노산과 3' 말단의 CA결손 tRNA를 ligase로 결합시켜 조제한 아미노아실화 tRNA를 사용함으로써, wobble 염기쌍의 존재에 의해 곤란했던 NNA와 NNG 코돈을 판독하는 것에 성공했다. 더욱이, 동일한 코돈 복스의 NNU 혹은 NNC 코돈에 별도의 아미노산을 할당하여, NNU, NNA 및 NNG 또는 NNC, NNA 및 NNG의 3개의 코돈을 포함하는 서열을 번역하여 코돈의 판독능을 평가한 바, 목적하는 코돈으로부터 그것에 대응하는 아미노산만이 특이적으로 번역되어, 정확한 판독에 성공했다. 또한 tRNA 보디의 서열을 변경해도 마찬가지로의 효과가 얻어짐이 확인되었다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

**C40B 30/04** (2013.01)

**C40B 40/10** (2013.01)

(72) 발명자

**시노하라 쇼지로**

일본 가나가와켄 가마쿠라시 가지와라 200반치 추  
가이 세이야쿠 가부시키키가이샤 내

**가코타니 마나**

일본 가나가와켄 가마쿠라시 가지와라 200반치 추  
가이 세이야쿠 가부시키키가이샤 내

**미사이즈 미키**

일본 가나가와켄 가마쿠라시 가지와라 200반치 추  
가이 세이야쿠 가부시키키가이샤 내

## 명세서

### 청구범위

#### 청구항 1

$M_1M_2A$ 로 표시되는 코돈에 상보적인 안티코돈을 갖는 tRNA 및  $M_1M_2G$ 로 표시되는 코돈에 상보적인 안티코돈을 갖는 tRNA를 포함하는 번역계로서,

$M_1$  및  $M_2$ 는 각각 코돈의 1문자째 및 2문자째의 뉴클레오티드를 나타내고,  $M_1$  및  $M_2$ 는 각각 독립적으로 아데노신(A), 구아노신(G), 시티딘(C), 유리딘(U) 중 어느 하나로부터 선택되고,

상기 2종류의 tRNA에는 각각 서로 상이한 아미노산 또는 아미노산 유연체(類緣體)가 결합하고 있는, 번역계.

#### 청구항 2

제 1 항에 있어서,

$M_1M_2U$ ,  $M_1M_2C$ ,  $M_1M_2A$ , 및  $M_1M_2G$ 에 의해 구성되는 코돈 복스로부터, 적어도 2종류의 아미노산 또는 아미노산 유연체가 번역 가능한, 번역계.

#### 청구항 3

(i)  $M_1M_2U$ 로 표시되는 코돈에 상보적인 안티코돈을 갖는 tRNA,  $M_1M_2A$ 로 표시되는 코돈에 상보적인 안티코돈을 갖는 tRNA, 및  $M_1M_2G$ 로 표시되는 코돈에 상보적인 안티코돈을 갖는 tRNA, 또는,

(ii)  $M_1M_2C$ 로 표시되는 코돈에 상보적인 안티코돈을 갖는 tRNA,  $M_1M_2A$ 로 표시되는 코돈에 상보적인 안티코돈을 갖는 tRNA, 및  $M_1M_2G$ 로 표시되는 코돈에 상보적인 안티코돈을 포함하는 번역계로서,

$M_1$  및  $M_2$ 는 각각 코돈의 1문자째 및 2문자째의 뉴클레오티드를 나타내고,  $M_1$  및  $M_2$ 는 각각 독립적으로 아데노신(A), 구아노신(G), 시티딘(C), 유리딘(U) 중 어느 하나로부터 선택되고,

상기 (i) 및 (ii)에 있어서의 3종류의 tRNA에는 각각 서로 상이한 아미노산 또는 아미노산 유연체가 결합하고 있는, 번역계.

#### 청구항 4

제 1 항 또는 제 3 항에 있어서,

$M_1M_2U$ ,  $M_1M_2C$ ,  $M_1M_2A$ , 및  $M_1M_2G$ 에 의해 구성되는 코돈 복스로부터, 적어도 3종류의 아미노산 또는 아미노산 유연체가 번역 가능한, 번역계.

#### 청구항 5

제 1 항 내지 제 4 항 중 어느 한 항에 있어서,

$M_1$  및  $M_2$ 가 이하의 (i) 내지 (v) 중 어느 것인, 번역계:

(i)  $M_1$ 이 유리딘(U)이며,  $M_2$ 가 유리딘(U)이다,

(ii)  $M_1$ 이 유리딘(U)이며,  $M_2$ 가 아데노신(A)이다,

(iii)  $M_1$ 이 유리딘(U)이며,  $M_2$ 가 구아노신(G)이다,

(iv)  $M_1$ 이 시티딘(C)이며,  $M_2$ 가 아데노신(A)이다,

(v)  $M_1$ 이 시티딘(C)이며,  $M_2$ 가 구아노신(G)이다,

- (vi)  $M_1$ 이 아데노신(A)이며,  $M_2$ 가 유리딘(U)이다,
- (vii)  $M_1$ 이 아데노신(A)이며,  $M_2$ 가 시티딘(C)이다,
- (viii)  $M_1$ 이 아데노신(A)이며,  $M_2$ 가 아데노신(A)이다,
- (ix)  $M_1$ 이 아데노신(A)이며,  $M_2$ 가 구아노신(G)이다, 또는
- (x)  $M_1$ 이 구아노신(G)이며,  $M_2$ 가 아데노신(A)이다.

**청구항 6**

제 5 항에 있어서,

$M_1$  및  $M_2$ 가 이하의 (i) 내지 (vii) 중 어느 것인, 번역계:

- (i)  $M_1$ 이 유리딘(U)이며,  $M_2$ 가 유리딘(U)이다,
- (ii)  $M_1$ 이 유리딘(U)이며,  $M_2$ 가 구아노신(G)이다,
- (iii)  $M_1$ 이 시티딘(C)이며,  $M_2$ 가 아데노신(A)이다,
- (iv)  $M_1$ 이 시티딘(C)이며,  $M_2$ 가 구아노신(G)이다,
- (v)  $M_1$ 이 아데노신(A)이며,  $M_2$ 가 아데노신(A)이다,
- (vi)  $M_1$ 이 아데노신(A)이며,  $M_2$ 가 구아노신(G)이다, 또는
- (vii)  $M_1$ 이 구아노신(G)이며,  $M_2$ 가 아데노신(A)이다.

**청구항 7**

제 1 항 내지 제 6 항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 번역계에 포함되는 상기 tRNA의 1코돈당의 농도가, (i) 0.8~1000  $\mu$ M, (ii) 1.6~500  $\mu$ M, (iii) 3.2~250  $\mu$ M, (iv) 6.4~150  $\mu$ M, 또는 (v) 10~100  $\mu$ M의 어느 것인, 번역계.

**청구항 8**

제 1 항 내지 제 7 항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 아미노산이, 천연 아미노산 또는 비천연 아미노산인, 번역계.

**청구항 9**

제 1 항 내지 제 8 항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 tRNA가 개시 tRNA 또는 신장 tRNA인, 번역계.

**청구항 10**

제 1 항 내지 제 9 항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 tRNA가 원핵생물 유래 또는 진핵생물 유래의 tRNA인, 번역계.

**청구항 11**

제 1 항 내지 제 10 항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 안티코돈이, 아데노신(A), 구아노신(G), 시티딘(C), 또는 유리딘(U)의 어느 1종 또는 복수종의 뉴클레오티드를 포함하는, 번역계.

**청구항 12**

제 1 항 내지 제 11 항 중 어느 한 항에 있어서,  
하나의 유전 암호표로부터, 20종류보다 많은 아미노산 또는 아미노산 유연체를 번역 가능한, 번역계.

**청구항 13**

제 1 항 내지 제 12 항 중 어느 한 항에 있어서,  
무세포 번역계인, 번역계.

**청구항 14**

제 13 항에 있어서,  
재구성형의 무세포 번역계인, 번역계.

**청구항 15**

제 13 항 또는 제 14 항에 있어서,  
대장균 유래의 리보솜을 포함하는, 번역계.

**청구항 16**

제 1 항 내지 제 15 항 중 어느 한 항에 있어서,  
상기 tRNA가, 번역계 외에서 상기 아미노산 또는 아미노산 유연체와 결합된 것인, 번역계.

**청구항 17**

제 1 항 내지 제 16 항 중 어느 한 항에 있어서,  
상기 tRNA 중,  $M_1M_2A$ 로 표시되는 코돈에 상보적인 안티코돈을 갖는 tRNA, 및  $M_1M_2G$ 로 표시되는 코돈에 상보적인 안티코돈을 갖는 tRNA가, 번역계 외에서 상기 아미노산 또는 아미노산 유연체와 결합된 것인, 번역계.

**청구항 18**

제 1 항 내지 제 17 항 중 어느 한 항에 있어서,  
상기 tRNA가, pCpA법, pdCpA법, 인공 RNA 촉매(플렉시자임)를 이용한 방법, 또는 아미노아실 tRNA 합성 효소(ARS)를 이용한 방법에 의해 얻어지는 것인, 번역계.

**청구항 19**

제 1 항 내지 제 18 항 중 어느 한 항에 기재된 번역계의 제조 방법으로서, 상기 아미노산 또는 아미노산 유연체를 번역계 외에서 tRNA에 결합시키는 것을 포함하는, 방법.

**청구항 20**

제 19 항에 있어서,  
상기 번역계 외에서의 아미노산 또는 아미노산 유연체의 tRNA에의 결합이, pCpA법, pdCpA법, 인공 RNA 촉매(플렉시자임)를 이용한 방법, 또는 아미노아실 tRNA 합성 효소(ARS)를 이용한 방법에 의한, 번역계의 제조 방법.

**청구항 21**

제 1 항 내지 제 18 항 중 어느 한 항에 기재된 번역계 또는 제 19 항 또는 제 20 항에 기재된 방법에 의해 얻어지는 번역계를 이용하여 핵산을 번역하는 것을 포함하는, 펩티드의 제조 방법.

**청구항 22**

제 21 항에 있어서,

펩티드가 환상부를 갖는 펩티드인, 방법.

**청구항 23**

제 21 항 또는 제 22 항에 기재된 방법에 의해 제조된 펩티드.

**청구항 24**

제 1 항 내지 제 18 항 중 어느 한 항에 기재된 번역계 또는 제 19 항 또는 제 20 항에 기재된 방법에 의해 얻어지는 번역계를 이용하여 핵산 라이브러리를 번역하는 것을 포함하는, 펩티드 라이브러리의 제조 방법.

**청구항 25**

제 24 항에 기재된 방법에 의해 제조된 펩티드 라이브러리.

**청구항 26**

제 25 항에 기재된 펩티드 라이브러리에 표적 분자를 접촉시키는 것을 포함하는, 당해 표적 분자에 대해서 결합 활성을 갖는 펩티드의 동정 방법.

**발명의 설명**

**기술 분야**

[0001] 본 개시는, 개변된 유전 암호표를 갖는 번역계, 및 그 사용 방법에 관한 것이다.

**배경 기술**

[0002] 디스플레이 라이브러리는, 표적 단백질에 결합하는 분자를 진화 공학적으로 효율 좋게 취득할 수 있는, 몹시 유용한 기술이다. 디스플레이 라이브러리를 이용하여, 임의의 표적 분자에 대해 고결합능을 나타내는 분자를 취득하거나, 혹은 복수의 에피토프에 대해서 각각 결합하는 분자를 다(多)종류 취득하거나 하기 위해서는, 높은 다양성을 가지는 라이브러리로부터의 패닝이 필요하다. 다양성이 높은 라이브러리를 구축하기 위해서는, 그 구성 단위(빌딩 블록)의 수를 늘리거나, 혹은 종류를 늘리는 것이 생각되지만, 막투과성의 관점에서 분자량에 제한이 있는 경우, 빌딩 블록의 수에도 제한이 걸린다. 따라서, 라이브러리의 다양성을 높이기 위해서 빌딩 블록의 종류를 늘린다고 하는 수단은 중요한 의미를 가진다.

[0003] PURESYSTEM(비특허문헌 1)과 같은 재구성된 무세포 번역계는, 아미노산, tRNA, 아미노아실 tRNA 합성 효소(aminoacyl-tRNA synthetase; ARS) 등의 구성 성분의 농도 조절이 가능하기 때문에, 천연의 코돈-아미노산의 대응을 변경할 수 있다. 이와 같은 번역계를 이용하는 것에 의해, 임의의 빌딩 블록을 20종류 이상 도입한 디스플레이 라이브러리를 구축하는 것도 가능해지고 있지만, 3염기 코돈을 이용한 대장균의 번역계에 있어서는, 워블(wobble) 법칙의 존재에 의해, 원리상은 32종류가 도입할 수 있는 빌딩 블록의 상한이라고 생각된다. 보다 구체적으로 설명하면, 코돈의 3문자째와 안티코돈의 1문자째의 짝짓기에는, "여유"가 존재하여, 왓슨-크릭(Watson-Crick) 염기쌍 이외에도, wobble 염기쌍으로 불리는 G·U간의 짝짓기가 가능해지고 있다. 그 때문에, 안티코돈 GNN은 NNU 및 NNC의 코돈을, 안티코돈 UNN은 NNA 및 NNG의 코돈을 해독(decode)해 버리기 때문에, 이들 코돈을 판독할 수 없어, 1개의 코돈 복스에 도입할 수 있는 아미노산의 종류는 최대 2아미노산으로 제한되어 버린다(비특허문헌 2).

[0004] 지금까지, 특정의 코돈 복스에 있어서, NNA와 NNG의 코돈에 상이한 아미노산을 할당한 보고(비특허문헌 3, 비특허문헌 4, 특허문헌 1)는 있지만, 추가로 동일한 코돈 복스에 있어서, 또 1개의 별도의 아미노산을 할당하여, 합계 3아미노산을 동시에 또한 정확하게 판독하여, 빌딩 블록의 수의 확장에 성공하고 있는 보고는 존재하지 않는다. 더욱이, 이미 보고된 방법에서는, 선택할 수 있는 아미노산의 범용성은 낮다고 생각된다. 또한, 계외에서 조제한 아미노아실 tRNA를 번역에 사용하는 경우, 계내에서 ARS에 의해 조제되는 아미노아실화 tRNA의 농도보다도 고농도의 아미노아실 tRNA가 필요해지고, 그 경우 NNA와 NNG 코돈의 판독이 어려워짐도 수학적으로 나타나 있다(비특허문헌 5).

[0005] 본 기술분야에 있어서는, 다양한 아미노산을 코돈 테이블에 적용시키는 것과, 각 코돈을 정확하게 판독하여 번

역을 행하는 것이 디스플레이 라이브러리의 질을 결정짓는다. 각 코돈에 할당한 아미노산이, 각각의 코돈으로부터 특이적으로 번역되는 것이 매우 중요하다.

**선행기술문헌**

**특허문헌**

[0006] (특허문헌 0001) W02016/154675

**비특허문헌**

- [0007] (비특허문헌 0001) Shimizu et al., Nat Biotechnol. 2001; 19(8): 751-755.
- (비특허문헌 0002) Iwane et al., Nat Chem. 2016; 8(4): 317-325.
- (비특허문헌 0003) Mukai et al., Nucleic Acids Res. 2015; 43(16): 8111-8122.
- (비특허문헌 0004) Cui et al., J Am Chem Soc. 2015; 137(13): 4404-4413.
- (비특허문헌 0005) Frenkel-Morgenstern et al., Mol Syst Biol. 2012; 8: 572.

**발명의 내용**

**해결하려는 과제**

[0008] 지금까지도 코돈 확장을 목적으로 한 여러 가지 시도가 이루어져 오고 있지만, NNA와 NNG의 코돈에 상이한 아미노산을 할당하고, 그것들이 정확하게 판독되고 있음을 명확하게 나타낸 보고는 존재하지 않는다. 또한, 동일한 코돈 박스 내에 3개의 아미노산을 할당하고, 그것들이 정확하게 판독되고 있음을 명확하게 나타낸 보고도 존재하지 않는다. 본 발명은 이와 같은 상황에 비추어 이루어진 것으로, 코돈의 판독을 가능하게 하는 새로운 수단을 제공하는 것을 목적의 하나로 하는 것이다.

**과제의 해결 수단**

[0009] 이번에 본 발명자들은, 특정의 코돈 박스에 있어서, wobble 염기쌍의 존재에 의해 곤란했던 NNA와 NNG 코돈의 판독에 성공했다. 더욱이, 동일한 코돈 박스의 NNU 혹은 NNC 코돈에 별도의 아미노산을 할당하는 것을 행했다. 이들 3개의 코돈을 포함하는 서열을 실제로 번역하여 판독능을 평가한 바, 목적하는 코돈으로부터 그것에 대응하는 아미노산만이 특이적으로 번역되어, 정확한 판독에 성공하고 있음이 수치적으로도 확인되었다.

[0010] 본 개시는 이와 같은 지견에 기초하는 것으로, 구체적으로는 이하 [1] ~ [32] 에 예시적으로 기재하는 실시태양을 포함하는 것이다.

[0011] [1]

[0012]  $M_1M_2A$ 로 표시되는 코돈에 상보적인 안티코돈을 갖는 tRNA 및  $M_1M_2G$ 로 표시되는 코돈에 상보적인 안티코돈을 갖는 tRNA를 포함하는 번역계로서,

[0013]  $M_1$  및  $M_2$ 는 각각 코돈의 1문자째 및 2문자째의 뉴클레오티드를 나타내고,  $M_1$  및  $M_2$ 는 각각 독립적으로 아데노신(A), 구아노신(G), 시티딘(C), 유리딘(U) 중 어느 하나로부터 선택되고,

[0014] 상기 2종류의 tRNA에는 각각 서로 상이한 아미노산 또는 아미노산 유연체(類緣體)가 결합하고 있는, 번역계.

[0015] [2]

[0016]  $M_1M_2U$ ,  $M_1M_2C$ ,  $M_1M_2A$ , 및  $M_1M_2G$ 에 의해 구성되는 코돈 박스로부터, 적어도 2종류의 아미노산 또는 아미노산 유연체가 번역 가능한, [1] 에 기재된 번역계.

[0017] [3]

- [0018] (i)  $M_1M_2U$ 로 표시되는 코돈에 상보적인 안티코돈을 갖는 tRNA,  $M_1M_2A$ 로 표시되는 코돈에 상보적인 안티코돈을 갖는 tRNA, 및  $M_1M_2G$ 로 표시되는 코돈에 상보적인 안티코돈을 갖는 tRNA, 또는,
- [0019] (ii)  $M_1M_2C$ 로 표시되는 코돈에 상보적인 안티코돈을 갖는 tRNA,  $M_1M_2A$ 로 표시되는 코돈에 상보적인 안티코돈을 갖는 tRNA, 및  $M_1M_2G$ 로 표시되는 코돈에 상보적인 안티코돈을 포함하는 번역계로서,
- [0020]  $M_1$  및  $M_2$ 는 각각 코돈의 1문자째 및 2문자째의 뉴클레오티드를 나타내고,  $M_1$  및  $M_2$ 는 각각 독립적으로 아데노신(A), 구아노신(G), 시티딘(C), 유리딘(U) 중 어느 하나로부터 선택되고,
- [0021] 상기 (i) 및 (ii)에 있어서의 3종류의 tRNA에는 각각 서로 상이한 아미노산 또는 아미노산 유연체가 결합하고 있는, 번역계.
- [0022] [4]
- [0023]  $M_1M_2U$ ,  $M_1M_2C$ ,  $M_1M_2A$ , 및  $M_1M_2G$ 에 의해 구성되는 코돈 복스로부터, 적어도 3종류의 아미노산 또는 아미노산 유연체가 번역 가능한, [1] 내지 [3] 중 어느 하나에 기재된 번역계.
- [0024] [5]
- [0025]  $M_1$  및  $M_2$ 가 이하의 (i) 내지 (x) 중 어느 것인, [1] 내지 [4] 중 어느 하나에 기재된 번역계:
- [0026] (i)  $M_1$ 이 유리딘(U)이며,  $M_2$ 가 유리딘(U)이다,
- [0027] (ii)  $M_1$ 이 유리딘(U)이며,  $M_2$ 가 아데노신(A)이다,
- [0028] (iii)  $M_1$ 이 유리딘(U)이며,  $M_2$ 가 구아노신(G)이다,
- [0029] (iv)  $M_1$ 이 시티딘(C)이며,  $M_2$ 가 아데노신(A)이다,
- [0030] (v)  $M_1$ 이 시티딘(C)이며,  $M_2$ 가 구아노신(G)이다,
- [0031] (vi)  $M_1$ 이 아데노신(A)이며,  $M_2$ 가 유리딘(U)이다,
- [0032] (vii)  $M_1$ 이 아데노신(A)이며,  $M_2$ 가 시티딘(C)이다,
- [0033] (viii)  $M_1$ 이 아데노신(A)이며,  $M_2$ 가 아데노신(A)이다,
- [0034] (ix)  $M_1$ 이 아데노신(A)이며,  $M_2$ 가 구아노신(G)이다, 또는
- [0035] (x)  $M_1$ 이 구아노신(G)이며,  $M_2$ 가 아데노신(A)이다.
- [0036] [6]
- [0037]  $M_1$  및  $M_2$ 가 이하의 (i) 내지 (vii) 중 어느 것인, [5] 에 기재된 번역계:
- [0038] (i)  $M_1$ 이 유리딘(U)이며,  $M_2$ 가 유리딘(U)이다,
- [0039] (ii)  $M_1$ 이 유리딘(U)이며,  $M_2$ 가 구아노신(G)이다,
- [0040] (iii)  $M_1$ 이 시티딘(C)이며,  $M_2$ 가 아데노신(A)이다,
- [0041] (iv)  $M_1$ 이 시티딘(C)이며,  $M_2$ 가 구아노신(G)이다,
- [0042] (v)  $M_1$ 이 아데노신(A)이며,  $M_2$ 가 아데노신(A)이다,
- [0043] (vi)  $M_1$ 이 아데노신(A)이며,  $M_2$ 가 구아노신(G)이다, 또는
- [0044] (vii)  $M_1$ 이 구아노신(G)이며,  $M_2$ 가 아데노신(A)이다.

- [0045] [7]
- [0046] 상기 번역계에 포함되는 상기 tRNA의 1코돈당의 농도가, (i) 0.8~1000 μM, (ii) 1.6~500 μM, (iii) 3.2~250 μM, (iv) 6.4~150 μM, 또는 (v) 10~100 μM의 어느 것인, [1] 내지 [6] 중 어느 하나에 기재된 번역계.
- [0047] [8]
- [0048] 상기 아미노산이, 천연 아미노산 또는 비천연 아미노산인, [1] 내지 [7] 중 어느 하나에 기재된 번역계.
- [0049] [9]
- [0050] 상기 tRNA가 개시 tRNA 또는 신장 tRNA인, [1] 내지 [8] 중 어느 하나에 기재된 번역계.
- [0051] [10]
- [0052] 상기 tRNA가 원핵생물 유래 또는 진핵생물 유래의 tRNA인, [1] 내지 [9] 중 어느 하나에 기재된 번역계.
- [0053] [11]
- [0054] 상기 안티코돈이, 아데노신(A), 구아노신(G), 시티딘(C), 또는 유리딘(U)의 어느 1종 또는 복수종의 뉴클레오티드를 포함하는, [1] 내지 [10] 중 어느 하나에 기재된 번역계.
- [0055] [12]
- [0056] 하나의 유전 암호표로부터, 20종류보다 많은 아미노산 또는 아미노산 유연체를 번역 가능한, [1] 내지 [11] 중 어느 하나에 기재된 번역계.
- [0057] [13]
- [0058] 무세포 번역계인, [1] 내지 [12] 중 어느 하나에 기재된 번역계.
- [0059] [14]
- [0060] 재구성형의 무세포 번역계인, [13] 에 기재된 번역계.
- [0061] [15]
- [0062] 대장균 유래의 리보솜을 포함하는, [13] 또는 [14] 에 기재된 번역계.
- [0063] [16]
- [0064] 상기 tRNA가, 번역계 외에서 상기 아미노산 또는 아미노산 유연체와 결합된 것인, [1] 내지 [15] 중 어느 하나에 기재된 번역계.
- [0065] [17]
- [0066] 상기 tRNA 중, M<sub>1</sub>M<sub>2</sub>A로 표시되는 코돈에 상보적인 안티코돈을 갖는 tRNA, 및 M<sub>1</sub>M<sub>2</sub>G로 표시되는 코돈에 상보적인 안티코돈을 갖는 tRNA가, 번역계 외에서 상기 아미노산 또는 아미노산 유연체와 결합된 것인, [1] 내지 [16] ] 중 어느 하나에 기재된 번역계.
- [0067] [18]
- [0068] 상기 tRNA가, pCpA법, pdCpA법, 인공 RNA 축매(플렉시자임)를 이용한 방법, 또는 아미노아실 tRNA 합성 효소(ARS)를 이용한 방법에 의해 얻어지는 것인, [1] 내지 [17] 중 어느 하나에 기재된 번역계.
- [0069] [19]
- [0070] [1] 내지 [18] 중 어느 하나에 기재된 번역계의 제조 방법으로서, 상기 아미노산 또는 아미노산 유연체를 번역계 외에서 tRNA에 결합시키는 것을 포함하는, 방법.
- [0071] [20]
- [0072] 상기 번역계 외에서의 아미노산 또는 아미노산 유연체의 tRNA에의 결합이, pCpA법, pdCpA법, 인공 RNA 축매(플렉시자임)를 이용한 방법, 또는 아미노아실 tRNA 합성 효소(ARS)를 이용한 방법에 의한, [19] 에 기재된 방법.
- [0073] [21]

- [0074] [1] 내지 [18] 중 어느 하나에 기재된 번역계 또는 [19] 혹은 [20] 에 기재된 방법에 의해 얻어지는 번역계를 이용하여 핵산을 번역하는 것을 포함하는, 펩티드의 제조 방법.
- [0075] [22]
- [0076] 펩티드가 환상부를 갖는 펩티드인, [21] 에 기재된 방법.
- [0077] [23]
- [0078] [21] 또는 [22] 에 기재된 방법에 의해 제조된 펩티드.
- [0079] [24]
- [0080] [1] 내지 [18] 중 어느 하나에 기재된 번역계 또는 [19] 혹은 [20] 에 기재된 방법에 의해 얻어지는 번역계를 이용하여 핵산 라이브러리를 번역하는 것을 포함하는, 펩티드 라이브러리의 제조 방법.
- [0081] [25]
- [0082] [24] 에 기재된 방법에 의해 제조된 펩티드 라이브러리.
- [0083] [26]
- [0084] [25] 에 기재된 펩티드 라이브러리에 표적 분자를 접촉시키는 것을 포함하는, 당해 표적 분자에 대해서 결합 활성을 갖는 펩티드의 동정 방법.
- [0085] [27]
- [0086] 상기 안티코돈이 라이시딘을 포함하지 않는, [1] 내지 [18] 중 어느 하나에 기재된 번역계.
- [0087] [28]
- [0088] 상기 안티코돈이 라이시딘 유도체를 포함하지 않는, [1] 내지 [18] 및 [27] 중 어느 하나에 기재된 번역계.
- [0089] [29]
- [0090] 상기 안티코돈이 아그마티딘을 포함하지 않는, [1] 내지 [18] , [27] 및 [28] 중 어느 하나에 기재된 번역계.
- [0091] [30]
- [0092] 상기 안티코돈이 아그마티딘 유도체를 포함하지 않는, [1] 내지 [18] 및 [27] 내지 [29] 중 어느 하나에 기재된 번역계.
- [0093] [31]
- [0094]  $M_1M_2A$ 로 표시되는 코돈 및  $M_1M_2G$ 로 표시되는 코돈을 포함하는 핵산을 추가로 포함하는, [1] 내지 [18] 및 [27] 내지 [30] 중 어느 하나에 기재된 번역계.
- [0095] [32]
- [0096] 상기 핵산이, (i)  $M_1M_2U$ 로 표시되는 코돈,  $M_1M_2A$ 로 표시되는 코돈, 및  $M_1M_2G$ 로 표시되는 코돈, 또는, (ii)  $M_1M_2C$ 로 표시되는 코돈,  $M_1M_2A$ 로 표시되는 코돈, 및  $M_1M_2G$ 로 표시되는 코돈을 포함하는, [31] 에 기재된 번역계.
- [0097] 또한 본 개시는, 이하 [101] ~ [120] 에 예시적으로 기재하는 실시태양을 포함하는 것이다.
- [0098] [101]
- [0099] 번역계를 이용하여 핵산을 번역하는 것을 포함하는, 펩티드의 제조 방법으로서,
- [0100] 상기 번역계가,  $M_1M_2A$ 로 표시되는 코돈에 상보적인 안티코돈을 갖는 tRNA, 및  $M_1M_2G$ 로 표시되는 코돈에 상보적인 안티코돈을 갖는 tRNA를 포함하고,
- [0101]  $M_1$  및  $M_2$ 는 각각 코돈의 1문자제 및 2문자제의 뉴클레오티드를 나타내고,  $M_1$  및  $M_2$ 는 각각 독립적으로 아데노신(A), 구아노신(G), 시티딘(C), 유리딘(U) 중 어느 하나로부터 선택되고

- [0102] 상기 2종류의 tRNA에는 각각 서로 상이한 아미노산 또는 아미노산 유연체가 결합하고 있는, 상기 제조 방법.
- [0103] [102]
- [0104]  $M_1M_2U$ ,  $M_1M_2C$ ,  $M_1M_2A$ , 및  $M_1M_2G$ 에 의해 구성되는 코돈 복스로부터, 적어도 2종류의 아미노산 또는 아미노산 유연체가 번역 가능한, [101]에 기재된 방법.
- [0105] [103]
- [0106] 번역계를 이용하여 핵산을 번역하는 것을 포함하는, 펩티드의 제조 방법으로서,
- [0107] 상기 번역계가,
- [0108] (i)  $M_1M_2U$ 로 표시되는 코돈에 상보적인 안티코돈을 갖는 tRNA,  $M_1M_2A$ 로 표시되는 코돈에 상보적인 안티코돈을 갖는 tRNA, 및  $M_1M_2G$ 로 표시되는 코돈에 상보적인 안티코돈을 갖는 tRNA, 또는,
- [0109] (ii)  $M_1M_2C$ 로 표시되는 코돈에 상보적인 안티코돈을 갖는 tRNA,  $M_1M_2A$ 로 표시되는 코돈에 상보적인 안티코돈을 갖는 tRNA, 및  $M_1M_2G$ 로 표시되는 코돈에 상보적인 안티코돈을 갖는 tRNA를 포함하고,
- [0110]  $M_1$  및  $M_2$ 는 각각 코돈의 1문자째 및 2문자째의 뉴클레오티드를 나타내고,  $M_1$  및  $M_2$ 는 각각 독립적으로 아데노신(A), 구아노신(G), 시티딘(C), 유리딘(U) 중 어느 하나로부터 선택되고,
- [0111] 상기 (i) 및 (ii)에 있어서의 3종류의 tRNA에는 각각 서로 상이한 아미노산 또는 아미노산 유연체가 결합하고 있는, 상기 제조 방법.
- [0112] [104]
- [0113]  $M_1M_2U$ ,  $M_1M_2C$ ,  $M_1M_2A$ , 및  $M_1M_2G$ 에 의해 구성되는 코돈 복스로부터, 적어도 3종류의 아미노산 또는 아미노산 유연체가 번역 가능한, [101] 내지 [103] 중 어느 하나에 기재된 방법.
- [0114] [105]
- [0115]  $M_1$  및  $M_2$ 가 이하의 (i) 내지 (x) 중 어느 것인, [101] 내지 [104] 중 어느 하나에 기재된 방법:
- [0116] (i)  $M_1$ 이 유리딘(U)이며,  $M_2$ 가 유리딘(U)이다,
- [0117] (ii)  $M_1$ 이 유리딘(U)이며,  $M_2$ 가 아데노신(A)이다,
- [0118] (iii)  $M_1$ 이 유리딘(U)이며,  $M_2$ 가 구아노신(G)이다,
- [0119] (iv)  $M_1$ 이 시티딘(C)이며,  $M_2$ 가 아데노신(A)이다,
- [0120] (v)  $M_1$ 이 시티딘(C)이며,  $M_2$ 가 구아노신(G)이다,
- [0121] (vi)  $M_1$ 이 아데노신(A)이며,  $M_2$ 가 유리딘(U)이다,
- [0122] (vii)  $M_1$ 이 아데노신(A)이며,  $M_2$ 가 시티딘(C)이다,
- [0123] (viii)  $M_1$ 이 아데노신(A)이며,  $M_2$ 가 아데노신(A)이다,
- [0124] (ix)  $M_1$ 이 아데노신(A)이며,  $M_2$ 가 구아노신(G)이다, 또는
- [0125] (x)  $M_1$ 이 구아노신(G)이며,  $M_2$ 가 아데노신(A)이다.
- [0126] [106]
- [0127]  $M_1$  및  $M_2$ 가 이하의 (i) 내지 (vii) 중 어느 것인, [105]에 기재된 방법:
- [0128] (i)  $M_1$ 이 유리딘(U)이며,  $M_2$ 가 유리딘(U)이다,

- [0129] (ii)  $M_1$ 이 유리딘(U)이며,  $M_2$ 가 구아노신(G)이다,
- [0130] (iii)  $M_1$ 이 시티딘(C)이며,  $M_2$ 가 아데노신(A)이다,
- [0131] (iv)  $M_1$ 이 시티딘(C)이며,  $M_2$ 가 구아노신(G)이다,
- [0132] (v)  $M_1$ 이 아데노신(A)이며,  $M_2$ 가 아데노신(A)이다,
- [0133] (vi)  $M_1$ 이 아데노신(A)이며,  $M_2$ 가 구아노신(G)이다, 또는
- [0134] (vii)  $M_1$ 이 구아노신(G)이며,  $M_2$ 가 아데노신(A)이다.
- [0135] [107]
- [0136] 상기 번역계에 포함되는 상기 tRNA의 1코돈당의 농도가, (i) 0.8~1000  $\mu$ M, (ii) 1.6~500  $\mu$ M, (iii) 3.2~250  $\mu$ M, (iv) 6.4~150  $\mu$ M, 또는 (v) 10~100  $\mu$ M의 어느 것인, [101] 내지 [106] 중 어느 하나에 기재된 방법.
- [0137] [108]
- [0138] 상기 아미노산이, 천연 아미노산 또는 비천연 아미노산인, [101] 내지 [107] 중 어느 하나에 기재된 방법.
- [0139] [109]
- [0140] 상기 tRNA가 개시 tRNA 또는 신장 tRNA인, [101] 내지 [108] 중 어느 하나에 기재된 방법.
- [0141] [110]
- [0142] 상기 tRNA가 원핵생물 유래 또는 진핵생물 유래의 tRNA인, [101] 내지 [109] 중 어느 하나에 기재된 방법.
- [0143] [111]
- [0144] 상기 안티코돈이, 아데노신(A), 구아노신(G), 시티딘(C), 또는 유리딘(U)의 어느 1종 또는 복수종의 뉴클레오티드를 포함하는, [101] 내지 [110] 중 어느 하나에 기재된 방법.
- [0145] [112]
- [0146] 하나의 유전 암호표로부터, 20종류보다 많은 아미노산을 번역 가능한, [101] 내지 [111] 중 어느 하나에 기재된 방법.
- [0147] [113]
- [0148] 번역계가 무세포 번역계인, [101] 내지 [112] 중 어느 하나에 기재된 방법.
- [0149] [114]
- [0150] 번역계가 재구성형의 무세포 번역계인, [113] 에 기재된 방법.
- [0151] [115]
- [0152] 번역계가 대장균 유래의 리보솜을 포함하는, [113] 또는 [114] 에 기재된 방법.
- [0153] [116]
- [0154] 상기 tRNA가, 번역계 외에서 상기 아미노산 또는 아미노산 유연체와 결합된 것인, [101] 내지 [115] 중 어느 하나에 기재된 방법.
- [0155] [117]
- [0156] 상기 tRNA 중,  $M_1M_2A$ 로 표시되는 코돈에 상보적인 안티코돈을 갖는 tRNA, 및  $M_1M_2G$ 로 표시되는 코돈에 상보적인 안티코돈을 갖는 tRNA가, 번역계 외에서 상기 아미노산 또는 아미노산 유연체와 결합된 것인, [101] 내지 [116] 중 어느 하나에 기재된 방법.
- [0157] [118]
- [0158] 상기 tRNA가, pCpA법, pdCpA법, 인공 RNA 촉매(플렉시자임)를 이용한 방법, 또는 아미노아실 tRNA 합성 효소

(ARS)를 이용한 방법에 의해 얻어지는 것인, [101] 내지 [117] 중 어느 하나에 기재된 방법.

- [0159] [119]
- [0160] 상기 핵산이,  $M_1M_2A$ 로 표시되는 코돈 및  $M_1M_2G$ 로 표시되는 코돈을 포함하는, [101] 내지 [118] 중 어느 하나에 기재된 방법.
- [0161] [120]
- [0162] 상기 핵산이, (i)  $M_1M_2U$ 로 표시되는 코돈,  $M_1M_2A$ 로 표시되는 코돈, 및  $M_1M_2G$ 로 표시되는 코돈, 또는, (ii)  $M_1M_2C$ 로 표시되는 코돈,  $M_1M_2A$ 로 표시되는 코돈, 및  $M_1M_2G$ 로 표시되는 코돈을 포함하는, [103] 내지 [118] 중 어느 하나에 기재된 방법.
- [0163] 또한 본 개시는, 이하 [201] ~ [218] 에 예시적으로 기재하는 실시태양을 포함하는 것이다.
- [0164] [201]
- [0165] 펩티드를 제조하기 위한 키트 또는 조성물로서,
- [0166]  $M_1M_2A$ 로 표시되는 코돈에 상보적인 안티코돈을 갖는 tRNA, 및  $M_1M_2G$ 로 표시되는 코돈에 상보적인 안티코돈을 갖는 tRNA를 포함하고,
- [0167]  $M_1$  및  $M_2$ 는 각각 코돈의 1문자째 및 2문자째의 뉴클레오티드를 나타내고,  $M_1$  및  $M_2$ 는 각각 독립적으로 아데노신(A), 구아노신(G), 시티딘(C), 유리딘(U) 중 어느 하나로부터 선택되고,
- [0168] 상기 2종류의 tRNA에는 각각 서로 상이한 아미노산 또는 아미노산 유연체가 결합하고 있는, 상기 키트 또는 조성물.
- [0169] [202]
- [0170]  $M_1M_2U$ ,  $M_1M_2C$ ,  $M_1M_2A$ , 및  $M_1M_2G$ 에 의해 구성되는 코돈 복스로부터, 적어도 2종류의 아미노산 또는 아미노산 유연체가 번역 가능한, [201] 에 기재된 방법.
- [0171] [203]
- [0172] 펩티드를 제조하기 위한 키트 또는 조성물로서,
- [0173] (i)  $M_1M_2U$ 로 표시되는 코돈에 상보적인 안티코돈을 갖는 tRNA,  $M_1M_2A$ 로 표시되는 코돈에 상보적인 안티코돈을 갖는 tRNA, 및  $M_1M_2G$ 로 표시되는 코돈에 상보적인 안티코돈을 갖는 tRNA, 또는,
- [0174] (ii)  $M_1M_2C$ 로 표시되는 코돈에 상보적인 안티코돈을 갖는 tRNA,  $M_1M_2A$ 로 표시되는 코돈에 상보적인 안티코돈을 갖는 tRNA, 및  $M_1M_2G$ 로 표시되는 코돈에 상보적인 안티코돈을 포함하고,
- [0175]  $M_1$  및  $M_2$ 는 각각 코돈의 1문자째 및 2문자째의 뉴클레오티드를 나타내고,  $M_1$  및  $M_2$ 는 각각 아데노신(A), 구아노신(G), 시티딘(C), 유리딘(U) 중 어느 하나로부터 독립적으로 선택되고,
- [0176] 상기 (i) 및 (ii)에 있어서의 3종류의 tRNA에는 각각 서로 상이한 아미노산 또는 아미노산 유연체가 결합하고 있는, 상기 키트 또는 조성물.
- [0177] [204]
- [0178]  $M_1M_2U$ ,  $M_1M_2C$ ,  $M_1M_2A$ , 및  $M_1M_2G$ 에 의해 구성되는 코돈 복스로부터, 적어도 3종류의 아미노산 또는 아미노산 유연체가 번역 가능한, [201] 내지 [203] 중 어느 하나에 기재된 키트 또는 조성물.
- [0179] [205]
- [0180]  $M_1$  및  $M_2$ 가 이하의 (i) 내지 (x) 중 어느 것인, [201] 내지 [204] 중 어느 하나에 기재된 키트 또는 조성물:
- [0181] (i)  $M_1$ 이 유리딘(U)이며,  $M_2$ 가 유리딘(U)이다,

- [0182] (ii) M<sub>1</sub>이 유리딘(U)이며, M<sub>2</sub>가 아데노신(A)이다,
- [0183] (iii) M<sub>1</sub>이 유리딘(U)이며, M<sub>2</sub>가 구아노신(G)이다,
- [0184] (iv) M<sub>1</sub>이 시티딘(C)이며, M<sub>2</sub>가 아데노신(A)이다,
- [0185] (v) M<sub>1</sub>이 시티딘(C)이며, M<sub>2</sub>가 구아노신(G)이다,
- [0186] (vi) M<sub>1</sub>이 아데노신(A)이며, M<sub>2</sub>가 유리딘(U)이다,
- [0187] (vii) M<sub>1</sub>이 아데노신(A)이며, M<sub>2</sub>가 시티딘(C)이다,
- [0188] (viii) M<sub>1</sub>이 아데노신(A)이며, M<sub>2</sub>가 아데노신(A)이다,
- [0189] (ix) M<sub>1</sub>이 아데노신(A)이며, M<sub>2</sub>가 구아노신(G)이다, 또는
- [0190] (x) M<sub>1</sub>이 구아노신(G)이며, M<sub>2</sub>가 아데노신(A)이다.
- [0191] [206]
- [0192] M<sub>1</sub> 및 M<sub>2</sub>가 이하의 (i) 내지 (vii) 중 어느 것인, [205] 에 기재된 키트 또는 조성물:
- [0193] (i) M<sub>1</sub>이 유리딘(U)이며, M<sub>2</sub>가 유리딘(U)이다,
- [0194] (ii) M<sub>1</sub>이 유리딘(U)이며, M<sub>2</sub>가 구아노신(G)이다,
- [0195] (iii) M<sub>1</sub>이 시티딘(C)이며, M<sub>2</sub>가 아데노신(A)이다,
- [0196] (iv) M<sub>1</sub>이 시티딘(C)이며, M<sub>2</sub>가 구아노신(G)이다,
- [0197] (v) M<sub>1</sub>이 아데노신(A)이며, M<sub>2</sub>가 아데노신(A)이다,
- [0198] (vi) M<sub>1</sub>이 아데노신(A)이며, M<sub>2</sub>가 구아노신(G)이다, 또는
- [0199] (vii) M<sub>1</sub>이 구아노신(G)이며, M<sub>2</sub>가 아데노신(A)이다.
- [0200] [207]
- [0201] 상기 tRNA의 1코돈당의 농도가, (i) 0.8~1000 μM, (ii) 1.6~500 μM, (iii) 3.2~250 μM, (iv) 6.4~150 μM, 또는 (v) 10~100 μM의 어느 것인, [201] 내지 [206] 중 어느 하나에 기재된 키트 또는 조성물.
- [0202] [208]
- [0203] 상기 아미노산이, 천연 아미노산 또는 비천연 아미노산인, [201] 내지 [207] 중 어느 하나에 기재된 키트 또는 조성물.
- [0204] [209]
- [0205] 상기 tRNA가 개시 tRNA 또는 신장 tRNA인, [201] 내지 [208] 중 어느 하나에 기재된 키트 또는 조성물.
- [0206] [210]
- [0207] 상기 tRNA가 원핵생물 유래 또는 진핵생물 유래의 tRNA인, [201] 내지 [209] 중 어느 하나에 기재된 키트 또는 조성물.
- [0208] [211]
- [0209] 상기 안티코돈이, 아데노신(A), 구아노신(G), 시티딘(C), 또는 유리딘(U)의 어느 1종 또는 복수종의 뉴클레오티드를 포함하는, [201] 내지 [210] 중 어느 하나에 기재된 키트 또는 조성물.
- [0210] [212]
- [0211] 하나의 유전 암호표로부터, 20종류보다 많은 아미노산을 번역 가능한, [201] 내지 [211] 중 어느 하나에 기

재된 키트 또는 조성물.

- [0212] [213]
- [0213] 번역계가 무세포 번역계인, [201] 내지 [212] 중 어느 하나에 기재된 키트 또는 조성물.
- [0214] [214]
- [0215] 번역계가 재구성형의 무세포 번역계인, [213] 에 기재된 키트 또는 조성물.
- [0216] [215]
- [0217] 번역계가 대장균 유래의 리보솜을 포함하는, [213] 또는 [214] 에 기재된 키트 또는 조성물.
- [0218] [216]
- [0219] 상기 tRNA가, 번역계 외에서 상기 아미노산 또는 아미노산 유연체와 결합된 것인, [201] 내지 [215] 중 어느 하나에 기재된 키트 또는 조성물.
- [0220] [217]
- [0221] 상기 tRNA 중, M<sub>1</sub>M<sub>2</sub>A로 표시되는 코돈에 상보적인 안티코돈을 갖는 tRNA, 및 M<sub>1</sub>M<sub>2</sub>G로 표시되는 코돈에 상보적인 안티코돈을 갖는 tRNA가, 번역계 외에서 상기 아미노산 또는 아미노산 유연체와 결합된 것인, [201] 내지 [216] 중 어느 하나에 기재된 키트 또는 조성물.
- [0222] [218]
- [0223] 상기 tRNA가, pCpA법, pdCpA법, 인공 RNA 촉매(플렉시자임)를 이용한 방법, 또는 아미노아실 tRNA 합성 효소(ARS)를 이용한 방법에 의해 얻어지는 것인, [201] 내지 [217] 중 어느 하나에 기재된 키트 또는 조성물.

**도면의 간단한 설명**

[0224] [도 1] 도 1은, 실시예 6~7에 기재되는 바와 같이, 1개의 코돈 복스에 있어서의 3종류의 아미노산 판독의 번역 평가의 결과를 나타내는 도면이다. 평가한 코돈은 CUU, CUA, CUG이다. 이하에 기재하는 tRNA 및 mRNA의 각각의 조합으로 번역을 행했을 경우에 얻어지는 펩티드의 번역량을 그래프의 세로축에 나타낸다(구체적인 측정치는 표 6을 참조).

- tRNA: 화합물 AAtR-1(안티코돈: aag, 아미노산: nBuG)
- 화합물 AAtR-2(안티코돈: uag, 아미노산: Pic2)
- 화합물 AAtR-3(안티코돈: cag, 아미노산: dA)
- mRNA: mR-1(CUU의 코돈을 포함한다)
- mR-2(CUA의 코돈을 포함한다)
- mR-3(CUG의 코돈을 포함한다)

[도 2] 도 2는, 실시예 6~7에 기재되는 바와 같이, 1개의 코돈 복스에 있어서의 3종류의 아미노산 판독의 번역 평가의 결과를 나타내는 도면이다. 평가한 코돈은 GUU, GUA, GUG이다. 이하에 기재하는 tRNA 및 mRNA의 각각의 조합으로 번역을 행했을 경우에 얻어지는 펩티드의 번역량을 그래프의 세로축에 나타낸다(구체적인 측정치는 표 7을 참조).

- tRNA: 화합물 AAtR-4(안티코돈: aac, 아미노산: nBuG)
- 화합물 AAtR-5(안티코돈: uac, 아미노산: Pic2)
- 화합물 AAtR-6(안티코돈: cac, 아미노산: dA)
- mRNA: mR-4(GUU의 코돈을 포함한다)
- mR-5(GUA의 코돈을 포함한다)
- mR-6(GUG의 코돈을 포함한다)

[도 3] 도 3은, 실시예 6~7에 기재되는 바와 같이, 1개의 코돈 복스에 있어서의 3종류의 아미노산 판독의 번역 평가의 결과를 나타내는 도면이다. 평가한 코돈은 CAU, CAA, CAG이다. 이하에 기재하는 tRNA 및 mRNA의 각각의 조합으로 번역을 행했을 경우에 얻어지는 펩티드의 번역량을 그래프의 세로축에 나타낸다(구체적인 측정치는 표 8을 참조).

tRNA: 화합물 AAtR-7(안티코돈: aug, 아미노산: nBuG)

화합물 AAtR-8(안티코돈: uug, 아미노산: Pic2)

화합물 AAtR-9(안티코돈: cug, 아미노산: dA)

mRNA: mR-7(CAU의 코돈을 포함한다)

mR-8(CAA의 코돈을 포함한다)

mR-9(CAG의 코돈을 포함한다)

[도 4] 도 4는, 실시예 6~7에 기재되는 바와 같이, 1개의 코돈 복스에 있어서의 3종류의 아미노산 판독의 번역 평가의 결과를 나타내는 도면이다. 평가한 코돈은 AAU, AAA, AAG이다. 이하에 기재하는 tRNA 및 mRNA의 각각의 조합으로 번역을 행했을 경우에 얻어지는 펩티드의 번역량을 그래프의 세로축에 나타낸다(구체적인 측정치는 표 9를 참조).

tRNA: 화합물 AAtR-10(안티코돈: auu, 아미노산: nBuG)

화합물 AAtR-11(안티코돈: uuu, 아미노산: Pic2)

화합물 AAtR-12(안티코돈: cuu, 아미노산: dA)

mRNA: mR-10(AAU의 코돈을 포함한다)

mR-11(AAA의 코돈을 포함한다)

mR-12(AAG의 코돈을 포함한다)

[도 5] 도 5는, 실시예 6~7에 기재되는 바와 같이, 1개의 코돈 복스에 있어서의 3종류의 아미노산 판독의 번역 평가의 결과를 나타내는 도면이다. 평가한 코돈은 GAU, GAA, GAG이다. 이하에 기재하는 tRNA 및 mRNA의 각각의 조합으로 번역을 행했을 경우에 얻어지는 펩티드의 번역량을 그래프의 세로축에 나타낸다(구체적인 측정치는 표 10을 참조).

tRNA: 화합물 AAtR-13(안티코돈: auc, 아미노산: nBuG)

화합물 AAtR-14(안티코돈: uuc, 아미노산: Pic2)

화합물 AAtR-15(안티코돈: cuc, 아미노산: dA)

mRNA: mR-13(GAU의 코돈을 포함한다)

mR-14(GAA의 코돈을 포함한다)

mR-15(GAG의 코돈을 포함한다)

[도 6] 도 6은, 실시예 6~7에 기재되는 바와 같이, 1개의 코돈 복스에 있어서의 3종류의 아미노산 판독의 번역 평가의 결과를 나타내는 도면이다. 평가한 코돈은 UUU, UUA, UUG이다. 이하에 기재하는 tRNA 및 mRNA의 각각의 조합으로 번역을 행했을 경우에 얻어지는 펩티드의 번역량을 그래프의 세로축에 나타낸다(구체적인 측정치는 표 11을 참조).

tRNA: 화합물 AAtR-16(안티코돈: aaa, 아미노산: nBuG)

화합물 AAtR-17(안티코돈: uaa, 아미노산: Pic2)

화합물 AAtR-18(안티코돈: caa, 아미노산: dA)

mRNA: mR-16(UUU의 코돈을 포함한다)

mR-17(UUA의 코돈을 포함한다)

mR-18(UUG의 코돈을 포함한다)

[도 7] 도 7은, 실시예 6~7에 기재되는 바와 같이, 1개의 코돈 복스에 있어서의 3종류의 아미노산 관독의 번역 평가의 결과를 나타내는 도면이다. 평가한 코돈은 AGU, AGA, AGG이다. 이하에 기재하는 tRNA 및 mRNA의 각각의 조합으로 번역을 행했을 경우에 얻어지는 펩티드의 번역량을 그래프의 세로축에 나타낸다(구체적인 측정치는 표 12를 참조).

tRNA: 화합물 AAtR-19(안티코돈: acu, 아미노산: nBuG)

화합물 AAtR-20(안티코돈: ucu, 아미노산: Pic2)

화합물 AAtR-21(안티코돈: ccu, 아미노산: dA)

mRNA: mR-19(AGU의 코돈을 포함한다)

mR-20(AGA의 코돈을 포함한다)

mR-21(AGG의 코돈을 포함한다)

[도 8] 도 8은, 실시예 6~7에 기재되는 바와 같이, 1개의 코돈 복스에 있어서의 3종류의 아미노산 관독의 번역 평가의 결과를 나타내는 도면이다. 평가한 코돈은 UGC, UGA, UGG이다. 이하에 기재하는 tRNA 및 mRNA의 각각의 조합으로 번역을 행했을 경우에 얻어지는 펩티드의 번역량을 그래프의 세로축에 나타낸다(구체적인 측정치는 표 13을 참조).

tRNA: 화합물 AAtR-22(안티코돈: gca, 아미노산: nBuG)

화합물 AAtR-23(안티코돈: uca, 아미노산: Pic2)

화합물 AAtR-24(안티코돈: cca, 아미노산: dA)

mRNA: mR-22(UGC의 코돈을 포함한다)

mR-23(UGA의 코돈을 포함한다)

mR-24(UGG의 코돈을 포함한다)

[도 9] 도 9는, 실시예 6~7에 기재되는 바와 같이, 1개의 코돈 복스에 있어서의 3종류의 아미노산 관독의 번역 평가의 결과를 나타내는 도면이다. 평가한 코돈은 CAC, CAA, CAG이다. 이하에 기재하는 tRNA 및 mRNA의 각각의 조합으로 번역을 행했을 경우에 얻어지는 펩티드의 번역량을 그래프의 세로축에 나타낸다(구체적인 측정치는 표 14를 참조).

tRNA: 화합물 AAtR-26(안티코돈: gug, 아미노산: nBuG)

화합물 AAtR-8(안티코돈: uug, 아미노산: Pic2)

화합물 AAtR-9(안티코돈: cug, 아미노산: dA)

mRNA: mR-25(CAC의 코돈을 포함한다)

mR-8(CAA의 코돈을 포함한다)

mR-9(CAG의 코돈을 포함한다)

[도 10] 도 10은, 실시예 6~7에 기재되는 바와 같이, 1개의 코돈 복스에 있어서의 3종류의 아미노산 관독의 번역 평가의 결과를 나타내는 도면이다. 평가한 코돈은 AAC, AAA, AAG이다. 이하에 기재하는 tRNA 및 mRNA의 각각의 조합으로 번역을 행했을 경우에 얻어지는 펩티드의 번역량을 그래프의 세로축에 나타낸다(구체적인 측정치는 표 15를 참조).

tRNA: 화합물 AAtR-27(안티코돈: guu, 아미노산: nBuG)

화합물 AAtR-11(안티코돈: uuu, 아미노산: Pic2)

화합물 AAtR-12(안티코돈: cuu, 아미노산: dA)

mRNA: mR-26(AAC의 코돈을 포함한다)

mR-11(AAA의 코돈을 포함한다)

mR-12(AAG의 코돈을 포함한다)

[도 11] 도 11은, 실시예 6~7에 기재되는 바와 같이, 1개의 코돈 박스에 있어서의 3종류의 아미노산 관독의 번역 평가의 결과를 나타내는 도면이다. 평가한 코돈은 AGC, AGA, AGG이다. 이하에 기재하는 tRNA 및 mRNA의 각각의 조합으로 번역을 행했을 경우에 얻어지는 펩티드의 번역량을 그래프의 세로축에 나타낸다(구체적인 측정치는 표 16을 참조).

tRNA: 화합물 AAtR-28(안티코돈: gcu, 아미노산: nBuG)

화합물 AAtR-20(안티코돈: ucu, 아미노산: Pic2)

화합물 AAtR-21(안티코돈: ccu, 아미노산: dA)

mRNA: mR-29(AGC의 코돈을 포함한다)

mR-20(AGA의 코돈을 포함한다)

mR-21(AGG의 코돈을 포함한다)

[도 12] 도 12는, 실시예 6~7에 기재되는 바와 같이, 1개의 코돈 박스에 있어서의 3종류의 아미노산 관독의 번역 평가의 결과를 나타내는 도면이다. 평가한 코돈은 CAU, CAA, CAG이다. 이하에 기재하는 tRNA 및 mRNA의 각각의 조합으로 번역을 행했을 경우에 얻어지는 펩티드의 번역량을 그래프의 세로축에 나타낸다(구체적인 측정치는 표 17을 참조).

tRNA: 화합물 AAtR-29(안티코돈: aug, 아미노산: MeA3Pyr)

화합물 AAtR-30(안티코돈: uug, 아미노산: StBuOH)

화합물 AAtR-31(안티코돈: cug, 아미노산: MeSnPr)

mRNA: mR-7(CAU의 코돈을 포함한다)

mR-8(CAA의 코돈을 포함한다)

mR-9(CAG의 코돈을 포함한다)

[도 13] 도 13은, 실시예 6~7에 기재되는 바와 같이, 1개의 코돈 박스에 있어서의 3종류의 아미노산 관독의 번역 평가의 결과를 나타내는 도면이다. 평가한 코돈은 AAU, AAA, AAG이다. 이하에 기재하는 tRNA 및 mRNA의 각각의 조합으로 번역을 행했을 경우에 얻어지는 펩티드의 번역량을 그래프의 세로축에 나타낸다(구체적인 측정치는 표 18을 참조).

tRNA: 화합물 AAtR-32(안티코돈: auu, 아미노산: MeA3Pyr)

화합물 AAtR-33(안티코돈: uuu, 아미노산: StBuOH)

화합물 AAtR-34(안티코돈: cuu, 아미노산: MeSnPr)

mRNA: mR-10(AAU의 코돈을 포함한다)

mR-11(AAA의 코돈을 포함한다)

mR-12(AAG의 코돈을 포함한다)

[도 14] 도 14는, 실시예 6~7에 기재되는 바와 같이, 1개의 코돈 박스에 있어서의 3종류의 아미노산 관독의 번역 평가의 결과를 나타내는 도면이다. 평가한 코돈은 GAU, GAA, GAG이다. 이하에 기재하는 tRNA 및 mRNA의 각각의 조합으로 번역을 행했을 경우에 얻어지는 펩티드의 번역량을 그래프의 세로축에 나타낸다(구체적인 측정치는 표 19를 참조).

tRNA: 화합물 AAtR-35(안티코돈: auc, 아미노산: MeA3Pyr)

화합물 AAtR-36(안티코돈: uuc, 아미노산: StBuOH)

화합물 AAtR-37(안티코돈: cuc, 아미노산: MeSnPr)

mRNA: mR-13(GAU의 코돈을 포함한다)

mR-14(GAA의 코돈을 포함한다)

mR-15(GAG의 코돈을 포함한다)

[도 15] 도 15는, 실시예 6~7에 기재되는 바와 같이, 1개의 코돈 박스에 있어서의 3종류의 아미노산 관독의 번역 평가의 결과를 나타내는 도면이다. 평가한 코돈은 UUU, UUA, UUG이다. 이하에 기재하는 tRNA 및 mRNA의 각각의 조합으로 번역을 행했을 경우에 얻어지는 펩티드의 번역량을 그래프의 세로축에 나타낸다(구체적인 측정치는 표 20을 참조).

tRNA: 화합물 AAtR-38(안티코돈: aaa, 아미노산: MeA3Pyr)

화합물 AAtR-39(안티코돈: uaa, 아미노산: StBuOH)

화합물 AAtR-40(안티코돈: caa, 아미노산: MeSnPr)

mRNA: mR-16(UUU의 코돈을 포함한다)

mR-17(UUA의 코돈을 포함한다)

mR-18(UUG의 코돈을 포함한다)

[도 16] 도 16은, 실시예 6~7에 기재되는 바와 같이, 1개의 코돈 박스에 있어서의 3종류의 아미노산 관독의 번역 평가의 결과를 나타내는 도면이다. 평가한 코돈은 AGU, AGA, AGG이다. 이하에 기재하는 tRNA 및 mRNA의 각각의 조합으로 번역을 행했을 경우에 얻어지는 펩티드의 번역량을 그래프의 세로축에 나타낸다(구체적인 측정치는 표 21을 참조).

tRNA: 화합물 AAtR-41(안티코돈: acu, 아미노산: MeA3Pyr)

화합물 AAtR-42(안티코돈: ucu, 아미노산: StBuOH)

화합물 AAtR-43(안티코돈: ccu, 아미노산: MeSnPr)

mRNA: mR-19(AGU의 코돈을 포함한다)

mR-20(AGA의 코돈을 포함한다)

mR-21(AGG의 코돈을 포함한다)

[도 17] 도 17은, 실시예 6~7에 기재되는 바와 같이, 1개의 코돈 박스에 있어서의 3종류의 아미노산 관독의 번역 평가의 결과를 나타내는 도면이다. 평가한 코돈은 UGC, UGA, UGG이다. 이하에 기재하는 tRNA 및 mRNA의 각각의 조합으로 번역을 행했을 경우에 얻어지는 펩티드의 번역량을 그래프의 세로축에 나타낸다(구체적인 측정치는 표 22를 참조).

tRNA: 화합물 AAtR-44(안티코돈: gca, 아미노산: MeA3Pyr)

화합물 AAtR-45(안티코돈: uca, 아미노산: StBuOH)

화합물 AAtR-46(안티코돈: cca, 아미노산: MeSnPr)

mRNA: mR-22(UGC의 코돈을 포함한다)

mR-23(UGA의 코돈을 포함한다)

mR-24(UGG의 코돈을 포함한다)

[도 18] 도 18은, 실시예 6~7에 기재되는 바와 같이, 1개의 코돈 박스에 있어서의 3종류의 아미노산 관독의 번역 평가의 결과를 나타내는 도면이다. 평가한 코돈은 CAC, CAA, CAG이다. 이하에 기재하는 tRNA 및 mRNA의 각각의 조합으로 번역을 행했을 경우에 얻어지는 펩티드의 번역량을 그래프의 세로축에 나타낸다(구체적인 측정치는 표 23을 참조).

tRNA: 화합물 AAtR-47(안티코돈: gug, 아미노산: MeA3Pyr)

화합물 AAtR-30(안티코돈: uug, 아미노산: StBuOH)

화합물 AAtR-31(안티코돈: cug, 아미노산: MeSnPr)

mRNA: mR-25(CAC의 코돈을 포함한다)

mR-8(CAA의 코돈을 포함한다)

mR-9(CAG의 코돈을 포함한다)

[도 19] 도 19는, 실시예 6~7에 기재되는 바와 같이, 1개의 코돈 복스에 있어서의 3종류의 아미노산 판독의 번역 평가의 결과를 나타내는 도면이다. 평가한 코돈은 AAC, AAA, AAG이다. 이하에 기재하는 tRNA 및 mRNA의 각각의 조합으로 번역을 행했을 경우에 얻어지는 펩티드의 번역량을 그래프의 세로축에 나타낸다(구체적인 측정치는 표 24를 참조).

tRNA: 화합물 AAtR-48(안티코돈: guu, 아미노산: MeA3Pyr)

화합물 AAtR-33(안티코돈: uuu, 아미노산: StBuOH)

화합물 AAtR-34(안티코돈: cuu, 아미노산: MeSnPr)

mRNA: mR-26(AAC의 코돈을 포함한다)

mR-11(AAA의 코돈을 포함한다)

mR-12(AAG의 코돈을 포함한다)

[도 20] 도 20은, 실시예 6~7에 기재되는 바와 같이, 1개의 코돈 복스에 있어서의 3종류의 아미노산 판독의 번역 평가의 결과를 나타내는 도면이다. 평가한 코돈은 GAC, GAA, GAG이다. 이하에 기재하는 tRNA 및 mRNA의 각각의 조합으로 번역을 행했을 경우에 얻어지는 펩티드의 번역량을 그래프의 세로축에 나타낸다(구체적인 측정치는 표 25를 참조).

tRNA: 화합물 AAtR-49(안티코돈: guc, 아미노산: MeA3Pyr)

화합물 AAtR-36(안티코돈: uuc, 아미노산: StBuOH)

화합물 AAtR-37(안티코돈: cuc, 아미노산: MeSnPr)

mRNA: mR-27(GAC의 코돈을 포함한다)

mR-14(GAA의 코돈을 포함한다)

mR-15(GAG의 코돈을 포함한다)

[도 21] 도 21은, 실시예 6~7에 기재되는 바와 같이, 1개의 코돈 복스에 있어서의 3종류의 아미노산 판독의 번역 평가의 결과를 나타내는 도면이다. 평가한 코돈은 UUC, UUA, UUG이다. 이하에 기재하는 tRNA 및 mRNA의 각각의 조합으로 번역을 행했을 경우에 얻어지는 펩티드의 번역량을 그래프의 세로축에 나타낸다(구체적인 측정치는 표 26을 참조).

tRNA: 화합물 AAtR-50(안티코돈: gaa, 아미노산: MeA3Pyr)

화합물 AAtR-39(안티코돈: uaa, 아미노산: StBuOH)

화합물 AAtR-40(안티코돈: caa, 아미노산: MeSnPr)

mRNA: mR-28(UUC의 코돈을 포함한다)

mR-17(UUA의 코돈을 포함한다)

mR-18(UUG의 코돈을 포함한다)

[도 22] 도 22는, 실시예 6~7에 기재되는 바와 같이, 1개의 코돈 복스에 있어서의 3종류의 아미노산 판독의 번역 평가의 결과를 나타내는 도면이다. 평가한 코돈은 AGC, AGA, AGG이다. 이하에 기재하는 tRNA 및 mRNA의 각각의 조합으로 번역을 행했을 경우에 얻어지는 펩티드의 번역량을 그래프의 세로축에 나타낸다(구체적인 측정치는 표 27을 참조).

tRNA: 화합물 AAtR-51(안티코돈: gcu, 아미노산: MeA3Pyr)

화합물 AAtR-42(안티코돈: ucu, 아미노산: StBuOH)

화합물 AAtR-43(안티코돈: ccu, 아미노산: MeSnPr)

mRNA: mR-29(AGC의 코돈을 포함한다)

mR-20(AGA의 코돈을 포함한다)

mR-21(AGG의 코돈을 포함한다)

[도 23a] 도 23a는, 실시예 6~7에 기재되는 바와 같이, 1개의 코돈 박스에 있어서의 3종류의 아미노산 관독의 번역 평가의 결과를 나타내는 도면이다. 평가한 코돈은 CGC, CGA, CGG이다. 이하에 기재하는 tRNA 및 mRNA의 각각의 조합으로 번역을 행했을 경우에 얻어지는 펩티드의 번역량을 그래프의 세로축에 나타낸다(구체적인 측정치는 표 28을 참조).

tRNA: 화합물 AAtR-57(안티코돈: gcg, 아미노산: nBuG)

화합물 AAtR-58(안티코돈: ucg, 아미노산: SPh2C1)

화합물 AAtR-59(안티코돈: ccg, 아미노산: dA)

mRNA: mR-42(CGU의 코돈을 포함한다)

mR-43(CGA의 코돈을 포함한다)

mR-44(CGG의 코돈을 포함한다)

[도 23b] 도 23b는, 실시예 6~7에 기재되는 바와 같이, 1개의 코돈 박스에 있어서의 3종류의 아미노산 관독의 번역 평가의 결과를 나타내는 도면이다. 평가한 코돈은 CAU, CAA, CAG이다. 이하에 기재하는 tRNA 및 mRNA의 각각의 조합으로 번역을 행했을 경우에 얻어지는 펩티드의 번역량을 그래프의 세로축에 나타낸다(구체적인 측정치는 표 28-2를 참조).

tRNA: 화합물 AAtR-60(안티코돈: aug, 아미노산: nBuGly)

화합물 AAtR-61(안티코돈: uug, 아미노산: Pic2)

화합물 AAtR-62(안티코돈: cug, 아미노산: dA)

mRNA: mR-7(CAU의 코돈을 포함한다)

mR-8(CAA의 코돈을 포함한다)

mR-9(CAG의 코돈을 포함한다)

[도 23c] 도 23c는, 실시예 6~7에 기재되는 바와 같이, 1개의 코돈 박스에 있어서의 3종류의 아미노산 관독의 번역 평가의 결과를 나타내는 도면이다. 평가한 코돈은 CAU, CAA, CAG이다. 이하에 기재하는 tRNA 및 mRNA의 각각의 조합으로 번역을 행했을 경우에 얻어지는 펩티드의 번역량을 그래프의 세로축에 나타낸다(구체적인 측정치는 표 28-3을 참조).

tRNA: 화합물 AAtR-63(안티코돈: aug, 아미노산: nBuGly)

화합물 AAtR-64(안티코돈: uug, 아미노산: Pic2)

화합물 AAtR-65(안티코돈: cug, 아미노산: dA)

mRNA: mR-7(CAU의 코돈을 포함한다)

mR-8(CAA의 코돈을 포함한다)

mR-9(CAG의 코돈을 포함한다)

[도 23d] 도 23d는, 실시예 6~7에 기재되는 바와 같이, 1개의 코돈 박스에 있어서의 3종류의 아미노산 관독의 번역 평가의 결과를 나타내는 도면이다. 평가한 코돈은 CAC, CAA, CAG이다. 이하에 기재하는 tRNA 및 mRNA의 각각의 조합으로 번역을 행했을 경우에 얻어지는 펩티드의 번역량을 그래프의 세로축에 나타낸다(구체적인 측정치는 표 28-4를 참조).

tRNA: 화합물 AAtR-66(안티코돈: gug, 아미노산: nBuGly)

화합물 AAtR-67(안티코돈: uug, 아미노산: Pic2)

화합물 AAtR-68(안티코돈: cug, 아미노산: dA)

mRNA: mR-25(CAC의 코돈을 포함한다)

mR-8(CAA의 코돈을 포함한다)

mR-9(CAG의 코돈을 포함한다)

[도 23e] 도 23e는, 실시예 6~7에 기재되는 바와 같이, 1개의 코돈 박스에 있어서의 3종류의 아미노산 관독의 번역 평가의 결과를 나타내는 도면이다. 평가한 코돈은 CAC, CAA, CAG이다. 이하에 기재하는 tRNA 및 mRNA의 각각의 조합으로 번역을 행했을 경우에 얻어지는 펩티드의 번역량을 그래프의 세로축에 나타낸다(구체적인 측정치는 표 28-5를 참조).

tRNA: 화합물 AAtR-69(안티코돈: gug, 아미노산: nBuGly)

화합물 AAtR-70(안티코돈: uug, 아미노산: Pic2)

화합물 AAtR-71(안티코돈: cug, 아미노산: dA)

mRNA: mR-25(CAC의 코돈을 포함한다)

mR-8(CAA의 코돈을 포함한다)

mR-9(CAG의 코돈을 포함한다)

[도 23f] 도 23f는, 실시예 6~7에 기재되는 바와 같이, 1개의 코돈 박스에 있어서의 3종류의 아미노산 관독의 번역 평가의 결과를 나타내는 도면이다. 평가한 코돈은 GAU, GAA, GAG이다. 이하에 기재하는 tRNA 및 mRNA의 각각의 조합으로 번역을 행했을 경우에 얻어지는 펩티드의 번역량을 그래프의 세로축에 나타낸다(구체적인 측정치는 표 28-6을 참조).

tRNA: 화합물 AAtR-72(안티코돈: auc, 아미노산: nBuGly)

화합물 AAtR-73(안티코돈: uuc, 아미노산: Pic2)

화합물 AAtR-74(안티코돈: cuc, 아미노산: dA)

mRNA: mR-13(GAU의 코돈을 포함한다)

mR-14(GAA의 코돈을 포함한다)

mR-15(GAG의 코돈을 포함한다)

[도 23g] 도 23g는, 실시예 6~7에 기재되는 바와 같이, 1개의 코돈 박스에 있어서의 3종류의 아미노산 관독의 번역 평가의 결과를 나타내는 도면이다. 평가한 코돈은 CAU, CAA, CAG이다. 이하에 기재하는 tRNA 및 mRNA의 각각의 조합으로 번역을 행했을 경우에 얻어지는 펩티드의 번역량을 그래프의 세로축에 나타낸다(구체적인 측정치는 표 28-7을 참조).

tRNA: 화합물 AAtR-75(안티코돈: aug, 아미노산: MeA3Pr)

화합물 AAtR-76(안티코돈: uug, 아미노산: StBuOH)

화합물 AAtR-77(안티코돈: cug, 아미노산: MeSnPr)

mRNA: mR-7(CAU의 코돈을 포함한다)

mR-8(CAA의 코돈을 포함한다)

mR-9(CAG의 코돈을 포함한다)

[도 23h] 도 23h는, 실시예 6~7에 기재되는 바와 같이, 1개의 코돈 박스에 있어서의 3종류의 아미노산 관독의 번역 평가의 결과를 나타내는 도면이다. 평가한 코돈은 CAC, CAA, CAG이다. 이하에 기재하는 tRNA 및 mRNA의 각각의 조합으로 번역을 행했을 경우에 얻어지는 펩티드의 번역량을 그래프의 세로축에 나타낸다(구체적인 측정

치는 표 28-8을 참조).

tRNA: 화합물 AAtR-78(안티코돈: gug, 아미노산: MeA3Pr)

화합물 AAtR-79(안티코돈: uug, 아미노산: StBuOH)

화합물 AAtR-80(안티코돈: cug, 아미노산: MeSnPr)

mRNA: mR-25(CAC의 코돈을 포함한다)

mR-8(CAA의 코돈을 포함한다)

mR-9(CAG의 코돈을 포함한다)

[도 23i] 도 23i는, 실시예 6~7에 기재되는 바와 같이, 1개의 코돈 복스에 있어서의 3종류의 아미노산 관독의 번역 평가의 결과를 나타내는 도면이다. 평가한 코돈은 GAU, GAA, GAG이다. 이하에 기재하는 tRNA 및 mRNA의 각각의 조합으로 번역을 행했을 경우에 얻어지는 펩티드의 번역량을 그래프의 세로축에 나타낸다(구체적인 측정치는 표 28-9를 참조).

tRNA: 화합물 AAtR-81(안티코돈: auc, 아미노산: MeA3Pr)

화합물 AAtR-82(안티코돈: uuc, 아미노산: StBuOH)

화합물 AAtR-83(안티코돈: cuc, 아미노산: MeSnPr)

mRNA: mR-13(GAU의 코돈을 포함한다)

mR-14(GAA의 코돈을 포함한다)

mR-15(GAG의 코돈을 포함한다)

[도 24a] 도 24a는, 실시예 6~7에 기재되는 바와 같이, 아미노아실화 tRNA의 농도가 상이한 조건하에 있어서의 목적하는 펩티드 및 크로스리드의 번역량의 각각의 변화를 평가한 결과를 나타내는 도면이다. 평가한 코돈은 UCU, UCC, UCA, UCG이다. 이하에 기재하는 tRNA 및 mRNA의 각각의 조합으로 번역을 행하고, 그 결과 얻어진 각 펩티드의 번역량을 그래프의 세로축에 나타낸다(구체적인 측정치는 표 29-1을 참조).

tRNA: 화합물 AAtR-52(안티코돈: uga, 아미노산: MeHph)

tRNA 농도: 12.8  $\mu$ M

6.4  $\mu$ M

3.2  $\mu$ M

1.6  $\mu$ M

0.8  $\mu$ M

mRNA: mR-30(UCU의 코돈을 포함한다)

mR-31(UCC의 코돈을 포함한다)

mR-32(UCA의 코돈을 포함한다)

mR-33(UCG의 코돈을 포함한다)

[도 24b] 도 24b는, 실시예 6~7에 기재되는 바와 같이, 아미노아실화 tRNA의 농도가 상이한 조건하에 있어서의 목적하는 펩티드 및 크로스리드의 번역량의 각각의 변화를 평가한 결과를 나타내는 도면이다. 평가한 코돈은 UCU, UCC, UCA, UCG이다. 이하에 기재하는 tRNA 및 mRNA의 각각의 조합으로 번역을 행하고, 그 결과 얻어진 [각 펩티드의 번역량]에 대한 [목적하는 펩티드의 번역량]의 비를 그래프의 세로축에 나타낸다(구체적인 측정치는 표 29-2를 참조).

tRNA: 화합물 AAtR-52(안티코돈: uga, 아미노산: MeHph)

tRNA 농도: 12.8  $\mu$ M

6.4  $\mu$ M

3.2  $\mu$  M

1.6  $\mu$  M

0.8  $\mu$  M

mRNA: mR-30(UCU의 코돈을 포함한다)

mR-31(UCC의 코돈을 포함한다)

mR-32(UCA의 코돈을 포함한다)

mR-33(UCG의 코돈을 포함한다)

[도 25a] 도 25a는, 실시예 6~7에 기재되는 바와 같이, 아미노아실화 tRNA의 농도가 상이한 조건하에 있어서의 목적하는 펩티드 및 크로스리드의 번역량의 각각의 변화를 평가한 결과를 나타내는 도면이다. 평가한 코돈은 ACU, ACC, ACA, ACG이다. 이하에 기재하는 tRNA 및 mRNA의 각각의 조합으로 번역을 행하고, 그 결과 얻어진 각 펩티드의 번역량을 그래프의 세로축에 나타낸다(구체적인 측정치는 표 30-1을 참조).

tRNA: 화합물 AAtR-53(안티코돈: ugu, 아미노산: MeHph)

tRNA 농도: 12.8  $\mu$  M

6.4  $\mu$  M

3.2  $\mu$  M

1.6  $\mu$  M

0.8  $\mu$  M

mRNA: mR-34(ACU의 코돈을 포함한다)

mR-35(ACC의 코돈을 포함한다)

mR-36(ACA의 코돈을 포함한다)

mR-37(ACG의 코돈을 포함한다)

[도 25b] 도 25b는, 실시예 6~7에 기재되는 바와 같이, 아미노아실화 tRNA의 농도가 상이한 조건하에 있어서의 목적하는 펩티드 및 크로스리드의 번역량의 각각의 변화를 평가한 결과를 나타내는 도면이다. 평가한 코돈은 ACU, ACC, ACA, ACG이다. 이하에 기재하는 tRNA 및 mRNA의 각각의 조합으로 번역을 행하고, 그 결과 얻어진 [각 펩티드의 번역량]에 대한 [목적하는 펩티드의 번역량]의 비를 그래프의 세로축에 나타낸다(구체적인 측정치는 표 30-2를 참조).

tRNA: 화합물 AAtR-53(안티코돈: ugu, 아미노산: MeHph)

tRNA 농도: 12.8  $\mu$  M

6.4  $\mu$  M

3.2  $\mu$  M

1.6  $\mu$  M

0.8  $\mu$  M

mRNA: mR-34(ACU의 코돈을 포함한다)

mR-35(ACC의 코돈을 포함한다)

mR-36(ACA의 코돈을 포함한다)

mR-37(ACG의 코돈을 포함한다)

[도 26a] 도 26a는, 실시예 6~7에 기재되는 바와 같이, 아미노아실화 tRNA의 농도가 상이한 조건하에 있어서의 목적하는 펩티드 및 크로스리드의 번역량의 각각의 변화를 평가한 결과를 나타내는 도면이다. 평가한 코돈은

AUU, AUC, AUA, AUG이다. 이하에 기재하는 tRNA 및 mRNA의 각각의 조합으로 번역을 행하고, 그 결과 얻어진 각 펩티드의 번역량을 그래프의 세로축에 나타낸다(구체적인 측정치는 표 31-1을 참조).

tRNA: 화합물 AAtR-54(안티코돈: uau, 아미노산: MeHph)

tRNA 농도: 12.8  $\mu$ M

6.4  $\mu$ M

3.2  $\mu$ M

1.6  $\mu$ M

0.8  $\mu$ M

mRNA: mR-38(AUU의 코돈을 포함한다)

mR-39(AUC의 코돈을 포함한다)

mR-40(AUA의 코돈을 포함한다)

mR-41(AUG의 코돈을 포함한다)

[도 26b] 도 26b는, 실시예 6~7에 기재되는 바와 같이, 아미노아실화 tRNA의 농도가 상이한 조건하에 있어서의 목적하는 펩티드 및 크로스리드의 번역량의 각각의 변화를 평가한 결과를 나타내는 도면이다. 평가한 코돈은 AUU, AUC, AUA, AUG이다. 이하에 기재하는 tRNA 및 mRNA의 각각의 조합으로 번역을 행하고, 그 결과 얻어진 [각 펩티드의 번역량]에 대한 [목적하는 펩티드의 번역량]의 비를 그래프의 세로축에 나타낸다(구체적인 측정치는 표 31-2를 참조).

tRNA: 화합물 AAtR-54(안티코돈: uau, 아미노산: MeHph)

tRNA 농도: 12.8  $\mu$ M

6.4  $\mu$ M

3.2  $\mu$ M

1.6  $\mu$ M

0.8  $\mu$ M

mRNA: mR-38(AUU의 코돈을 포함한다)

mR-39(AUC의 코돈을 포함한다)

mR-40(AUA의 코돈을 포함한다)

mR-41(AUG의 코돈을 포함한다)

[도 27a] 도 27a는, 실시예 6~7에 기재되는 바와 같이, 아미노아실화 tRNA의 농도가 상이한 조건하에 있어서의 목적하는 펩티드 및 크로스리드의 번역량의 각각의 변화를 평가한 결과를 나타내는 도면이다. 평가한 코돈은 AUU, AUC, AUA, AUG이다. 이하에 기재하는 tRNA 및 mRNA의 각각의 조합으로 번역을 행하고, 그 결과 얻어진 각 펩티드의 번역량을 그래프의 세로축에 나타낸다(구체적인 측정치는 표 32-1을 참조).

tRNA: 화합물 AAtR-55(안티코돈: uau, 아미노산: MeHph)

tRNA 농도: 12.8  $\mu$ M

6.4  $\mu$ M

3.2  $\mu$ M

1.6  $\mu$ M

0.8  $\mu$ M

mRNA: mR-38(AUU의 코돈을 포함한다)

mR-39(AUC의 코돈을 포함한다)

mR-40(AUA의 코돈을 포함한다)

mR-41(AUG의 코돈을 포함한다)

[도 27b] 도 27b는, 실시예 6~7에 기재되는 바와 같이, 아미노아실화 tRNA의 농도가 상이한 조건하에 있어서의 목적하는 펩티드 및 크로스리드의 번역량의 각각의 변화를 평가한 결과를 나타내는 도면이다. 평가한 코돈은 AUU, AUC, AUA, AUG이다. 이하에 기재하는 tRNA 및 mRNA의 각각의 조합으로 번역을 행하고, 그 결과 얻어진 [각 펩티드의 번역량]에 대한 [목적하는 펩티드의 번역량]의 비를 그래프의 세로축에 나타낸다(구체적인 측정치는 표 32-2를 참조).

tRNA: 화합물 AAtR-55(안티코돈: uau, 아미노산: MeHph)

tRNA 농도: 12.8 μM

6.4 μM

3.2 μM

1.6 μM

0.8 μM

mRNA: mR-38(AUU의 코돈을 포함한다)

mR-39(AUC의 코돈을 포함한다)

mR-40(AUA의 코돈을 포함한다)

mR-41(AUG의 코돈을 포함한다)

[도 28a] 도 28a는, 실시예 6~7에 기재되는 바와 같이, 아미노아실화 tRNA의 농도가 상이한 조건하에 있어서의 목적하는 펩티드 및 크로스리드의 번역량의 각각의 변화를 평가한 결과를 나타내는 도면이다. 평가한 코돈은 AUU, AUC, AUA, AUG이다. 이하에 기재하는 tRNA 및 mRNA의 각각의 조합으로 번역을 행하고, 그 결과 얻어진 각 펩티드의 번역량을 그래프의 세로축에 나타낸다(구체적인 측정치는 표 33-1을 참조).

tRNA: 화합물 AAtR-56(안티코돈: uau, 아미노산: Ile)

tRNA 농도: 12.8 μM

6.4 μM

3.2 μM

1.6 μM

0.8 μM

mRNA: mR-38(AUU의 코돈을 포함한다)

mR-39(AUC의 코돈을 포함한다)

mR-40(AUA의 코돈을 포함한다)

mR-41(AUG의 코돈을 포함한다)

[도 28b] 도 28b는, 실시예 6~7에 기재되는 바와 같이, 아미노아실화 tRNA의 농도가 상이한 조건하에 있어서의 목적하는 펩티드 및 크로스리드의 번역량의 각각의 변화를 평가한 결과를 나타내는 도면이다. 평가한 코돈은 AUU, AUC, AUA, AUG이다. 이하에 기재하는 tRNA 및 mRNA의 각각의 조합으로 번역을 행하고, 그 결과 얻어진 [각 펩티드의 번역량]에 대한 [목적하는 펩티드의 번역량]의 비를 그래프의 세로축에 나타낸다(구체적인 측정치는 표 33-2를 참조).

tRNA: 화합물 AAtR-56(안티코돈: uau, 아미노산: Ile)

tRNA 농도: 12.8 μM

6.4 μM

3.2 μM

1.6 μM

0.8 μM

mRNA: mR-38(AUU의 코돈을 포함한다)

mR-39(AUC의 코돈을 포함한다)

mR-40(AUA의 코돈을 포함한다)

mR-41(AUG의 코돈을 포함한다)

**발명을 실시하기 위한 구체적인 내용**

[0225] I. 정의

[0226] 본 명세서를 해석할 목적을 위해서, 이하의 정의가 적용되고, 해당하는 경우는 언제라도, 단수형으로 사용된 용어는 복수형도 포함하고, 그 반대도 또한 마찬가지이다. 본 명세서에서 사용되는 용어는, 특정의 태양을 설명하는 것만을 목적으로 하고 있고, 한정을 의도한 것이 아님이, 이해되어야 한다. 하기의 정의의 어느 것인가가, 참조에 의해 본 명세서에 인용된 임의의 문서와 모순되는 경우에는, 하기의 정의가 우선하는 것으로 한다.

[0227] 「코돈」이란, 생체 내의 유전 정보가 단백질로 번역될 때의, 각 아미노산에 대응하는 3개의 뉴클레오티드의 조합(트리플렛)이다. DNA의 경우는, 아데닌(A), 구아닌(G), 시토신(C), 및 티민(T)의 4종류의 염기가 이용되고, mRNA의 경우는, 아데닌(A), 구아닌(G), 시토신(C), 및 우라실(U)의 4종류의 염기가 이용된다. 각 코돈과 아미노산의 대응 관계를 나타낸 표는 유전 암호표 혹은 코돈표로 불리고, 중지 코돈을 제외한 61종류의 코돈에, 20종류의 아미노산이 할당되어 있다(표 1). 표 1에 기재된 유전 암호표는, 진핵생물 및 원핵생물(진정 세균 및 고세균)에 있어서의 거의 모든 생물에서 공통되게 사용되고 있으므로, 표준 유전 암호표 혹은 보편 유전 암호표라고도 불린다. 본 개시에 있어서는, 천연에 존재하는 생물에서 사용되고 있는 유전 암호표를 천연의 유전 암호표라고 칭하고, 인공적으로 리프로그래밍된(코돈과 아미노산의 대응 관계가 개변된) 유전 암호표와는 구별한다. 유전 암호표에 있어서는, 통상, 1문자짜리와 2문자짜리가 공통이고 3문자짜리만이 상이한 4개의 코돈이 하나의 복스에 한테 모여 있고, 이들을 코돈 복스라고 부른다.

**표 1**

		U		C		A		G		
U	UUU	Phe	UCU	Ser	UAU	Tyr	UGU	Cys	U	
	UUC		UCC		UAC		UGC		C	
	UUA	Leu	UCA		UAA	Stop	UGA	Stop	A	
	UUG		UCG		UAG		UGG	Trp	G	
C	CUU	Leu	CCU	Pro	CAU	His	CGU	Arg	U	
	CUC		CCC		CAC		CGC		C	
	CUA		CCA		CAA	Gln	CGA		CGG	A
	CUG		CCG		CAG		G			
A	AUU	Ile	ACU	Thr	AAU	Asn	AGU	Ser	U	
	AUC		ACC		AAC		AGC		C	
	AUA		ACA		AAA	Lys	AGA	Arg	A	
	AUG	Met	ACG		AAG		AGG		G	
G	GUU	Val	GCU	Ala	GAU	Asp	GGU	Gly	U	
	GUC		GCC		GAC		GGC		C	
	GUA		GCA		GAA	Glu	GGA		GGG	A
	GUG		GCG		GAG		G			

[0228]

- [0229] 본 개시에 있어서, mRNA에 있어서의 코돈은 「M<sub>1</sub>M<sub>2</sub>M<sub>3</sub>」으로 표시되는 경우가 있다. 여기에서, M<sub>1</sub>, M<sub>2</sub>, 및 M<sub>3</sub>은 각각 코돈의 1문자째, 2문자째, 및 3문자째의 뉴클레오티드를 나타낸다.
- [0230] 「안티코돈」이란, mRNA 상의 코돈에 대응하는, tRNA 상의 3개의 연속된 뉴클레오티드이다. mRNA와 마찬가지로, 안티코돈에는, 아데닌(A), 구아닌(G), 시토신(C), 및 우라실(U)의 4종류의 염기가 이용된다. 더욱이, 그들을 수식하여 얻어지는 수식 염기가 이용되는 경우도 있다. 코돈이 안티코돈에 의해 특이적으로 인식되는 것에 의해, mRNA 상의 유전 정보가 관독되어, 단백질로 번역된다. mRNA 상의 5'로부터 3' 방향의 코돈 서열과 tRNA 상의 5'로부터 3' 방향의 안티코돈 서열은 상보적으로 결합하기 때문에, 코돈의 1문자째, 2문자째, 및 3문자째의 뉴클레오티드와, 안티코돈의 3문자째, 2문자째, 및 1문자째의 뉴클레오티드 사이에서 각각 상보적인 염기쌍이 형성된다.
- [0231] 본 개시에 있어서, tRNA에 있어서의 안티코돈은 「N<sub>1</sub>N<sub>2</sub>N<sub>3</sub>」으로 표시되는 경우가 있다. 여기에서, N<sub>1</sub>, N<sub>2</sub>, 및 N<sub>3</sub>은 각각 안티코돈의 1문자째, 2문자째, 및 3문자째의 뉴클레오티드를 나타낸다. 후술하는 tRNA 넘버링 규칙에 따르면, N<sub>1</sub>, N<sub>2</sub>, 및 N<sub>3</sub>은 각각 tRNA의 34위, 35위, 및 36위로 번호 붙여진다.
- [0232] 본 개시에 있어서, 열역학적으로 안정된 염기쌍을 형성할 수 있는 핵산의 조합을 서로 「상보적」이라고 말한다. 아데노신과 유리딘(A-U), 구아노신과 시티딘(G-C)과 같은 왓슨-크릭형 염기쌍에 더하여, 구아노신과 유리딘(G-U), 이노신과 유리딘(I-U), 이노신과 아데노신(I-A), 이노신과 시티딘(I-C) 등의 비왓슨-크릭형 염기쌍을 형성하는 핵산의 조합도, 본 개시에 있어서의 「상보적」인 핵산의 조합에 포함된다. 특히, 코돈의 1문자째와 안티코돈의 3문자째, 코돈의 2문자째와 안티코돈의 2문자째의 사이에는 왓슨-크릭형 염기쌍의 형성만이 허용되는데 반해, 코돈의 3문자째와 안티코돈의 1문자째의 사이에는 공간적인 요동(wobble)이 존재하기 때문에, 상기와 같은 비왓슨-크릭형 염기쌍의 형성도 허용된다고 생각되고 있다(요동 가설).
- [0233] 「전령 RNA(messenger RNA; mRNA)」란, 단백질로 번역될 수 있는 유전 정보를 가진 RNA이다. 유전 정보는 코돈으로서 mRNA 상에 코딩되어 있고, 그들이 전체 20종류의 아미노산에 각각 대응하고 있다. 단백질의 번역은 개시 코돈으로부터 시작되어, 종지 코돈에서 종료한다. 진핵생물에 있어서의 개시 코돈은 원칙으로서 AUG이지만, 원핵생물(진정 세균 및 고세균)에서는 AUG 외에 GUG나 UUG 등도 개시 코돈으로서 사용되는 경우가 있다. AUG는 메티오닌(Met)을 코딩하는 코돈이며, 진핵생물 및 고세균에서는 그대로 메티오닌으로부터 번역이 개시된다. 한편, 진정 세균에서는, 개시 코돈의 AUG만 N-폼일메티오닌(fMet)에 대응하고 있기 때문에, 폼일메티오닌으로부터 번역이 개시된다. 종지 코돈에는, UAA(오커)·UAG(앰버)·UGA(오팔)의 3종이 있다. 종지 코돈이 번역 종결 인자(release factor; RF)로 불리는 단백질에 의해 인식되면, 그때까지 합성된 펩티드쇄가 tRNA로부터 해리되고, 번역 공정은 종료된다.
- [0234] 「전이 RNA(transfer RNA; tRNA)」란, mRNA를 주형으로 한 펩티드 합성을 중개하는 100염기 이하의 짧은 RNA이다. 2차 구조 상은, 3개의 스템 루프(D 압, 안티코돈 압, T 압)와 1개의 스템(역셉터 스템)으로 이루어지는, 클로버잎 형상의 구조를 갖고 있다. tRNA에 따라서는, 추가로 1개의 가변 루프가 포함되는 경우가 있다. 안티코돈 압에는, 안티코돈으로 불리는 3개의 연속된 뉴클레오티드로 이루어지는 영역이 존재하고, 안티코돈이 mRNA 상의 코돈과 염기쌍을 형성하는 것에 의해 코돈이 인식된다. 한편, tRNA의 3' 말단에는, 시티딘-시티딘-아데노신으로 이루어지는 핵산 서열(CCA 서열)이 존재하고, 그 말단의 아데노신 잔기에 아미노산이 부가된다(구체적으로는, 아데노신 잔기의 리보스의 2위 또는 3위의 하이드록실기와, 아미노산의 카복실기가 에스터 결합한다). 아미노산이 부가된 tRNA는 아미노아실 tRNA로 불린다. 본 개시에 있어서, 아미노아실 tRNA도 tRNA의 정의에 포함된다. 또한, 후술하는 바와 같이, tRNA의 CCA 서열로부터 말단의 2잔기(C 및 A)를 제거하여, 그것을 아미노아실 tRNA의 합성에 이용하는 방법이 알려져 있다. 그와 같은 3' 말단의 CA 서열이 제거된 tRNA도, 본 개시에 있어서의 tRNA의 정의에 포함된다. 생체 내에 있어서, tRNA에의 아미노산의 부가는, 아미노아실 tRNA 합성 효소(aminoacyl-tRNA synthetase; aaRS 또는 ARS)라고 하는 효소에 의해 행해진다. 통상, 아미노산마다 1종류의 아미노아실 tRNA 합성 효소가 존재하고 있고, 게다가 각각의 아미노아실 tRNA 합성 효소가 복수의 tRNA 중에서 특정의 tRNA만을 기질로서 특이적으로 인식하므로, tRNA와 아미노산의 대응 관계는 엄밀하게 제어되고 있다.
- [0235] tRNA에 있어서의 각 뉴클레오티드는, tRNA 넘버링 규칙에 따라 번호 붙이기가 되고 있다(Sprinzl et al., Nucleic Acids Res (1998) 26: 148-153). 예를 들어, 안티코돈은 34위~36위에, CCA 서열은 74~76위에 각각 번호 붙여져 있다.
- [0236] 「개시 tRNA(initiator tRNA)」란, mRNA의 번역의 개시 시에 사용되는 특정의 tRNA이다. 개시 아미노산을 결합한 개시 tRNA가, 번역 개시 인자(initiation factor; IF)로 촉매되어 리보솜에 도입되고, mRNA 상의 개시 코돈

에 결합함으로써, 번역이 시작된다. 개시 코돈으로서, 일반적으로는 메티오닌의 코돈인 AUG가 이용되기 때문에, 개시 tRNA는 AUG에 대응하는 안티코돈을 갖고 있고, 또한, 개시 아미노산으로서 메티오닌(원핵생물에서는 폼일메티오닌)을 결합하고 있다.

[0237] 「신장 tRNA(elongator tRNA)」란, 번역 공정에 있어서의 펩티드쇄의 신장 반응에 있어서 사용되는 tRNA이다. 펩티드 합성에 있어서는, 아미노산을 결합한 신장 tRNA가, GTP화된 번역 신장 인자(elongation factor; EF) EF-Tu/eEF-1에 의해 리보솜으로 순차적으로 옮겨지는 것에 의해, 펩티드쇄의 신장 반응이 진행된다.

[0238] 본 개시에 있어서의 「tRNA 보디(tRNA body)」란, 안티코돈(34~36위)을 제외하는 tRNA의 본체 부분(핵산으로 구성된 주요한 구조 부분)을 가리킨다. 몇몇 태양에 있어서, 본 개시의 tRNA 보디는, tRNA의 1~33위 및 37~76위를 가리킨다. 다른 태양에 있어서, 본 개시의 tRNA 보디는, tRNA의 1~33위 및 37~74위를 가리킨다.

[0239] 「라이시딘(lysidine)」은 수식 뉴클레오티드의 일종으로, 2-리실시티딘(2-lysylcytidine; k2C 혹은 L)으로도 표기된다. 라이시딘은, 진정 세균에 있어서의 아이소류신에 대응한 tRNA(tRNA Ile2)에 있어서, 안티코돈의 1문자체의 뉴클레오티드로서 이용되고 있다. tRNA Ile2는, CAU의 안티코돈을 가진 전구체 상태로 합성된 후, tRNA Ile-라이시딘 합성 효소(tRNA Ile-lysidine synthetase; Tils)로 불리는 효소의 작용에 의해, 안티코돈의 1문자체의 시티딘(C)이 라이시딘(k2C)으로 개변(변환)된다. 그 결과, k2CAU의 안티코돈을 가진 tRNA Ile2가 완성된다(Muramatsu et al., J Biol Chem (1988) 263: 9261-9267, Suzuki et al., FEBS Lett (2010) 584: 272-277). k2CAU의 안티코돈은, 아이소류신의 코돈 AUA만을 특이적으로 인식함이 알려져 있다. 또한, 안티코돈이 k2CAU로 개변되는 것에 의해 비로소, 아이소류실 tRNA 합성 효소에 의해 tRNA Ile2가 기질로서 인식되어, tRNA Ile2의 아미노아실화(아이소류신의 부가)가 일어난다고 생각되고 있다.

[0240] 「아그마티딘(agmatidine)」은 수식 뉴클레오티드의 일종으로, 2-아그마티닐시티딘(2-agmatinylcytidine; agm2C 혹은 Agm)이라고도 표기된다. 아그마티딘은, 고세균에 있어서의 아이소류신에 대응한 tRNA(tRNA Ile2)에 있어서, 안티코돈의 1문자체의 뉴클레오티드로서 이용되고 있다. tRNA Ile2는, CAU의 안티코돈을 가진 전구체 상태로 합성된 후, tRNA Ile-아그마티딘 합성 효소(tRNA Ile-agmatidine synthetase; TiaS)로 불리는 효소의 작용에 의해, 안티코돈의 1문자체의 시티딘(C)이 아그마티딘(agm2C)으로 개변(변환)된다. 그 결과, agm2CAU의 안티코돈을 가진 tRNA Ile2가 완성된다(Ikeuchi et al., Nat Chem Biol (2010) 6(4): 277-282). agm2CAU의 안티코돈은, 아이소류신의 코돈 AUA만을 특이적으로 인식함이 알려져 있다. 또한, 안티코돈이 agm2CAU로 개변되는 것에 의해 비로소, 아이소류실 tRNA 합성 효소에 의해 tRNA Ile2가 기질로서 인식되어, tRNA Ile2의 아미노아실화(아이소류신의 부가)가 일어난다고 생각되고 있다.

[0241] 본 개시에 있어서 「크로스리드」란, 어느 아미노아실 tRNA가, 본래 인식해야 할 코돈 이외의 코돈도 인식하는 것에 의해, 목적 이외의 아미노산이 여분으로 번역되는 현상을 의미한다. 목적 이외의 아미노산이 번역되는 정도는 특별히 한정되지 않지만, 통상은, 번역의 직교성이 충분히 달성되어 있지 않다고 판단되는 레벨의 것을 가리킨다.

[0242] 본 개시에 있어서 「알킬」이란, 지방족 탄화수소로부터 임의의 수소 원자를 1개 제거하여 유도되는 1가의 기이며, 골격 중에 헤테로원자 또는 불포화의 탄소-탄소 결합을 함유하지 않고, 수소 및 탄소 원자를 함유하는 하이드로카빌 또는 탄화수소기 구조의 부분 집합을 갖는다. 탄소쇄의 길이 n은 1~20개의 범위이며, 알킬로서는, 예를 들어 C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub> 알킬, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 알킬, C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub> 알킬 등을 들 수 있고, 구체적으로는, 메틸, 에틸, 프로필, 뷰틸, 펜틸, 헥실, 아이소프로필, t-뷰틸, sec-뷰틸, 1-메틸프로필, 1,1-다이메틸프로필, 2,2-다이메틸프로필, 1,2-다이메틸프로필, 1,1,2-트라이메틸프로필, 1,2,2-트라이메틸프로필, 1,1,2,2-테트라메틸프로필, 1-메틸뷰틸, 2-메틸뷰틸, 3-메틸뷰틸, 1,1-다이메틸뷰틸, 1,2-다이메틸뷰틸, 1,3-다이메틸뷰틸, 2,2-다이메틸뷰틸, 2,3-다이메틸뷰틸, 3,3-다이메틸뷰틸, 1-에틸뷰틸, 2-에틸뷰틸, 아이소펜틸, 네오펜틸 등을 들 수 있다.

[0243] 본 개시에 있어서 「사이클로알킬」이란, 포화 또는 부분적으로 포화된 환상의 1가의 지방족 탄화수소기를 의미하고, 단환, 바이사이클로환, 스파이로환을 포함한다. 사이클로알킬로서는, 예를 들어 C<sub>3</sub>-C<sub>10</sub> 사이클로알킬을 들 수 있고, 구체적으로는, 사이클로프로필, 사이클로뷰틸, 사이클로펜틸, 사이클로헥실, 사이클로헵틸, 사이클로옥틸, 바이사이클로 [2.2.1] 헵틸 등을 들 수 있다.

[0244] 본 개시에 있어서 「알켄일」이란, 적어도 1개의 이중 결합(2개의 인접 SP<sup>2</sup> 탄소 원자)을 갖는 1가의 기이다. 이중 결합 및 치환분(존재하는 경우)의 배치에 의해, 이중 결합의 기하학적 형태는, 엔트게겐(E) 또는 추잠멘(Z), 시스 또는 트랜스 배치를 취할 수 있다. 직쇄상 또는 분지쇄상의 알켄일을 들 수 있고, 내부 올레핀을 포함하는 직쇄 등을 포함한다. 알켄일로서는, 예를 들어 C<sub>2</sub>-C<sub>10</sub> 알켄일, C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub> 알켄일 등을 들 수 있고, 구체적으

로는, 바이닐, 알릴, 1-프로펜일, 2-프로펜일, 1-뷰텐일, 2-뷰텐일(시스, 트랜스를 포함한다), 3-뷰텐일, 펜텐일, 헥센일 등을 들 수 있다.

[0245] 본 개시에 있어서 「알킬일」이란, 적어도 1개의 삼중 결합(2개의 인접 SP 탄소 원자)을 갖는, 1가의 기이다. 직쇄상 또는 분지쇄상의 알킬일 를 들 수 있고, 내부 알킬렌을 포함한다. 알킬일로서는, 예를 들어 C<sub>2</sub>-C<sub>10</sub> 알킬일, C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub> 알킬일 등을 들 수 있고, 구체적으로는, 에틸일, 1-프로핀일, 프로파르길, 3-뷰텐일, 펜텐일, 헥신일, 3-페닐-2-프로핀일, 3-(2'-플루오로페닐)-2-프로핀일, 2-하이드록시-2-프로핀일, 3-(3-플루오로페닐)-2-프로핀일, 3-메틸-(5-페닐)-4-펜텐일 등을 들 수 있다.

[0246] 본 개시에 있어서 「아릴」이란, 1가의 방향족 탄화수소환을 의미한다. 아릴로서는, 예를 들어 C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub> 아릴을 들 수 있고, 구체적으로는, 페닐, 나프틸(예를 들어, 1-나프틸, 2-나프틸) 등을 들 수 있다.

[0247] 본 개시에 있어서 「헤테로아릴」이란, 환을 구성하는 원자 중에 헤테로원자를 함유하는 방향족성의 환의 1가의 기를 의미하고, 부분적으로 포화되어 있어도 된다. 환은 단환, 또는 2개의 축합환(예를 들어, 벤젠 또는 단환 헤테로아릴과 축합한 2환식 헤테로아릴)이어도 된다. 환을 구성하는 원자의 수는 예를 들어 5-10개이다(5원-10원 헤테로아릴). 환을 구성하는 원자 중에 포함되는 헤테로원자의 수는 예를 들어 1-5개이다. 헤테로아릴로서는, 구체적으로는, 퓨릴, 싸이엔일, 피롤릴, 이미다졸릴, 피라졸릴, 싸이아졸릴, 아이소싸이아졸릴, 옥사졸릴, 아이속사졸릴, 옥사다이아졸릴, 싸이아다이아졸릴, 트리아졸릴, 테트라조릴, 피리디, 피리미디, 피리다진일, 피라진일, 트리아진일, 벤조퓨란일, 벤조싸이엔일, 벤조싸이아다이아졸릴, 벤조싸이아졸릴, 벤즈옥사졸릴, 벤즈옥사다이아졸릴, 벤즈이미다졸릴, 인돌릴, 아이소인돌릴, 인다졸릴, 퀴놀릴, 아이소퀴놀릴, 신놀린일, 퀴나졸린일, 퀴녹살린일, 벤조다이옥솔릴, 인돌리진일, 이미다조피리디 등을 들 수 있다.

[0248] 본 개시에 있어서 「아릴알킬(아르알킬)」이란, 아릴과 알킬을 함께 포함하는 기이며, 예를 들어, 상기 알킬의 적어도 1개의 수소 원자가 아릴로 치환된 기를 의미한다. 아르알킬로서는, 예를 들어 C<sub>5</sub>-C<sub>10</sub> 아릴 C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 알킬을 들 수 있고, 구체적으로는, 벤질 등을 들 수 있다.

[0249] 본 개시에 있어서 「알킬렌」이란, 상기 「알킬」로부터 추가로 임의의 수소 원자를 1개 제거하여 유도되는 2가의 기를 의미하고, 직쇄상의 것이어도 분지쇄상의 것이어도 된다. 직쇄 알킬렌으로서, C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub> 직쇄 알킬렌, C<sub>4</sub>-C<sub>5</sub> 직쇄 알킬렌 등을 들 수 있고, 구체적으로는, -CH<sub>2</sub>-, -(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-, -(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>-, -(CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub>-, -(CH<sub>2</sub>)<sub>5</sub>-, -(CH<sub>2</sub>)<sub>6</sub>- 등을 들 수 있다. 분기 알킬렌으로서, C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub> 분기 알킬렌, C<sub>4</sub>-C<sub>5</sub> 분기 알킬렌 등을 들 수 있고, 구체적으로는, -CH(CH<sub>3</sub>)CH<sub>2</sub>-, -C(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>-, -CH(CH<sub>3</sub>)CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-, -C(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-, -CH<sub>2</sub>CH(CH<sub>3</sub>)CH<sub>2</sub>-, -CH<sub>2</sub>C(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>-, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH(CH<sub>3</sub>)- 등을 들 수 있다.

[0250] 본 개시에 있어서 「알켄일렌」은, 상기 「알켄일」로부터 추가로 임의의 수소 원자를 1개 제거하여 유도되는 2가의 기를 의미하고, 직쇄상의 것이어도 분지쇄상의 것이어도 된다. 이중 결합 및 치환기(존재하는 경우)의 배치에 의해, 엔트게젠(E) 또는 추잠멘(Z), 시스 또는 트랜스 배치를 취할 수 있다. 직쇄 알켄일렌으로서, C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub> 직쇄 알켄일렌, C<sub>4</sub>-C<sub>5</sub> 직쇄 알켄일렌 등을 들 수 있고, 구체적으로는, -CH=CH-, -CH=CHCH<sub>2</sub>-, -CH<sub>2</sub>CH=CH-, -CH=CHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-, -CH<sub>2</sub>CH=CHCH<sub>2</sub>-, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH=CH-, -CH=CHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-, -CH<sub>2</sub>CH=CHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH=CHCH<sub>2</sub>-, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH=CH- 등을 들 수 있다.

[0251] 본 개시에 있어서 「아릴렌」이란, 상기 아릴로부터 추가로 임의의 수소 원자를 1개 제거하여 유도되는 2가의 기를 의미한다. 환은 단환이어도 축합환이어도 된다. 환을 구성하는 원자의 수는 특별히 한정되지 않지만, 예를 들어 6-10개이다(C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub> 아릴렌). 아릴렌으로서, 구체적으로는, 페닐렌, 나프틸렌 등을 들 수 있다.

[0252] 본 개시에 있어서 「헤테로아릴렌」이란, 상기 헤테로아릴로부터 추가로 임의의 수소 원자를 1개 제거하여 유도되는 2가의 기를 의미한다. 환은 단환이어도 축합환이어도 된다. 환을 구성하는 원자의 수는 특별히 한정되지 않지만, 예를 들어 5-10개이다(5원~10원 헤테로아릴렌). 헤테로아릴렌으로서, 구체적으로는, 피롤다이일, 이미다졸다이일, 피라졸다이일, 피리딘다이일, 피리다진다이일, 피리미딘다이일, 피라진다이일, 트리아진다이일, 트리아진다이일, 아이소옥사졸다이일, 옥사졸다이일, 옥사다이아졸다이일, 아이소싸이아졸다이일, 싸이아졸다이일, 싸이아다이아졸다이일, 퓨란다이일, 싸이오펜다이일 등을 들 수 있다.

[0253] 본 개시에 있어서 「번역계」란, 펩티드를 번역하기 위한 방법 및 펩티드를 번역하기 위한 조성물 및 키트의

양쪽을 포함하는 개념으로서 정의된다. 번역계에는, 통상, 리보솜, 번역 인자, tRNA, 아미노산, 아미노아실 tRNA 합성 효소(aaRS), 및 ATP나 GTP 등의 펩티드의 번역 반응에 필요한 인자가 구성 성분으로서 포함된다. 번역계의 주된 종류로서는, 생세포를 이용한 번역계나, 세포 추출액을 이용한 번역계(무세포 번역계)가 있다. 생세포를 이용한 번역계로서는, 예를 들어, 아프리카밭뜯개구리 난모 세포나 포유동물 세포 등의 생세포에, 소량의 아미노아실 tRNA 및 mRNA를 마이크로인젝션법이나 리포펙션법에 의해 도입하여 펩티드 번역을 행하는 계가 알려져 있다(Nowak et al., Science (1995) 268: 439-442). 무세포 번역계의 예로서는, 대장균(Chen et al., Methods Enzymol (1983) 101: 674-690), 효모(Gasior et al., J Biol Chem (1979) 254: 3965-3969), 소맥 배아(Erickson et al., Methods Enzymol (1983) 96: 38-50), 토끼 망상 적혈구(Jackson et al., Methods Enzymol (1983) 96: 50-74), HeLa 세포(Barton et al., Methods Enzymol (1996) 275: 35-57), 혹은 곤충 세포(Swerdel et al., Comp Biochem Physiol B (1989) 93: 803-806) 등으로부터의 추출액을 이용한 번역계가 알려져 있다. 이와 같은 번역계는, 당업자에게 공지된 방법 또는 그것에 준하는 방법에 의해 적절히 조절할 수 있다. 무세포 번역계에는, 펩티드 번역에 필요한 인자를 각각 단리·정제하여, 그들을 재구성하여 구축된 번역계(재구성형의 무세포 번역계)도 포함된다(Shimizu et al., Nat Biotech (2001) 19: 751-755). 재구성형의 무세포 번역계에는, 통상, 리보솜, 아미노산, tRNA, 아미노아실 tRNA 합성 효소(aaRS), 번역 개시 인자(예를 들어, IF1, IF2, IF3), 번역 신장 인자(예를 들어 EF-Tu, EF-Ts, EF-G), 번역 종결 인자(예를 들어 RF1, RF2, RF3), 리보솜 재생 인자(ribosome recycling factor; RRF), 에너지원으로서의 NTP류, 에너지 재생계, 및 번역에 필요한 그 외의 인자 등이 포함될 수 있다. DNA로부터의 전사 반응을 아울러 행하는 경우는, 추가로 RNA 폴리메라제 등이 포함될 수 있다. 무세포 번역계에 포함되는 여러 가지 인자는, 당업자에게 주지된 방법에 의해 단리·정제하는 것이 가능하고, 그들을 이용하여 재구성형의 무세포 번역계를 적절히 구축할 수 있다. 혹은, 진 프린티어사의 PUREfrex(등록상표)나, New England BioLabs사의 PURExpress(등록상표) 등의 시판되고 있는 재구성형의 무세포 번역계를 이용할 수도 있다. 재구성형의 무세포 번역계의 경우, 번역계의 구성 성분 중 필요한 성분만을 재구성하여, 소량의 번역계를 구축할 수 있다.

[0254] 아미노산·tRNA·아미노아실 tRNA 합성 효소의 특이적인 조합에 의해, 아미노아실 tRNA가 합성되고, 그것이 펩티드의 번역에 이용된다. 상기의 조합 대신에, 아미노아실 tRNA를 그대로 번역계의 구성 성분으로서 이용할 수도 있다. 특히, 비천연 아미노산 등, 아미노아실 tRNA 합성 효소로 아미노아실화하는 것이 곤란한 아미노산이 번역에 이용되는 경우는, 미리 비천연 아미노산으로 아미노아실화된 tRNA를 구성 성분으로서 이용하는 것이 바람직하다.

[0255] 번역계에 mRNA를 가하는 것에 의해, 그 번역이 개시된다. mRNA에는, 통상, 목적하는 펩티드를 코딩하는 서열이 포함되어 있고, 더욱이, 번역 반응의 효율을 상승시키기 위한 서열(예를 들어, 원핵생물에 있어서의 샤인·달가르노(Shine-Dalgarno; SD) 서열, 진핵생물에 있어서의 코자크(Kozac) 서열 등)이 포함되어 있어도 된다. 미리 전사된 mRNA를 계에 직접 가해도 되고, mRNA 대신에, 프로모터를 포함하는 주형 DNA와 그것에 적합한 RNA 폴리메라제(예를 들어 T7 프로모터와 T7 RNA 폴리메라제 등)를 계에 가하는 것에 의해, mRNA가 주형 DNA로부터 전사되도록 해도 된다.

[0256] 본 명세서에 있어서, 수치 범위를 나타내는 「~」란 그 양단의 값을 포함하고, 예를 들어, 「A~B」는, A 이상이며, 또한 B 이하인 수치 범위를 의미한다.

[0257] 본 명세서에 있어서, 「및/또는」이라는 용어의 의미는, 「및」과 「또는」이 적절히 조합된 모든 조합을 포함한다. 구체적으로는, 예를 들어, 「A, B, 및/또는 C」에는, 이하의 7방법의 배리에이션이 포함된다;

[0258] (i) A, (ii) B, (iii) C, (iv) A 및 B, (v) A 및 C, (vi) B 및 C, (vii) A, B, 및 C.

[0259] II. 번역계 및 번역계의 제조 방법

[0260] 일 국면에 있어서, 본 개시는, M<sub>1</sub>M<sub>2</sub>A로 표시되는 코돈에 상보적인 안티코돈을 갖는 tRNA, 및, M<sub>1</sub>M<sub>2</sub>G로 표시되는 코돈에 상보적인 안티코돈을 갖는 tRNA를 포함하는 번역계를 제공한다. 일 국면에 있어서, 본 개시에 있어서는, M<sub>1</sub> 및 M<sub>2</sub>는 각각 코돈의 1문자째 및 2문자째의 뉴클레오티드를 나타내고, M<sub>1</sub> 및 M<sub>2</sub>는 각각 독립적으로 아데노신(A), 구아노신(G), 시티딘(C), 유리딘(U) 중 어느 하나로부터 선택된다. 본 개시에 있어서의 번역계에 포함되는 2종류의 tRNA의 각각은, 서로 상이한 아미노산 또는 아미노산 유연체가 결합된 아미노아실 tRNA일 수 있다. 본 개시에 있어서의 tRNA는, M<sub>1</sub>M<sub>2</sub>A로 표시되는 코돈 및 M<sub>1</sub>M<sub>2</sub>G로 표시되는 코돈을 선택적으로 번역할 수 있다. 따라서 본 개시의 tRNA를 포함하는 번역계를 사용하는 것에 의해, 하나의 코돈 복스(당해 코돈 복스는, M<sub>1</sub>M<sub>2</sub>U로 표시되는 코돈, M<sub>1</sub>M<sub>2</sub>C로 표시되는 코돈, M<sub>1</sub>M<sub>2</sub>A로 표시되는 코돈, 및 M<sub>1</sub>M<sub>2</sub>G로 표시되는 코돈으로 이루어진

다)로부터, 적어도 2종류의 아미노산 또는 아미노산 유연체를 번역할 수 있다.

[0261] 본 개시에 있어서의  $M_1M_2A$ 로 표시되는 코돈 및  $M_1M_2G$ 로 표시되는 코돈에는,  $M_1$ 을 아데노신(A), 구아노신(G), 시티딘(C), 유리딘(U) 중 어느 하나로부터 선택하고,  $M_2$ 를 아데노신(A), 구아노신(G), 시티딘(C), 유리딘(U) 중 어느 하나로부터 선택하는 것에 의해 특정하는 것이 가능한 모든 조합이 포함된다.

[0262] 한편 개시에 있어서 「코돈을 선택적으로 번역하는」의 표현은 「코돈을 관독하는」, 「크로스리드를 저감하는」이라고 바꾸어 말할 수 있고, 이들은 동일한 의미로 해석될 수 있다.

[0263] 일 국면에 있어서, 본 개시는,  $M_1M_2U$ 로 표시되는 코돈에 상보적인 안티코돈을 갖는 tRNA,  $M_1M_2A$ 로 표시되는 코돈에 상보적인 안티코돈을 갖는 tRNA, 및  $M_1M_2G$ 로 표시되는 코돈에 상보적인 안티코돈을 갖는 tRNA를 포함하는 번역계를 제공한다. 또한 일 국면에 있어서, 본 개시는,  $M_1M_2C$ 로 표시되는 코돈에 상보적인 안티코돈을 갖는 tRNA,  $M_1M_2A$ 로 표시되는 코돈에 상보적인 안티코돈을 갖는 tRNA, 및  $M_1M_2G$ 로 표시되는 코돈에 상보적인 안티코돈을 갖는 tRNA를 포함하는 번역계를 제공한다. 일 국면에 있어서, 본 개시에 있어서는,  $M_1$  및  $M_2$ 는 각각 코돈의 1문자째 및 2문자째의 뉴클레오티드를 나타내고,  $M_1$  및  $M_2$ 는 각각 독립적으로 아데노신(A), 구아노신(G), 시티딘(C), 유리딘(U) 중 어느 하나로부터 선택된다. 본 개시에 있어서의 번역계에 포함되는 3종류의 tRNA의 각각은, 서로 상이한 아미노산 또는 아미노산 유연체가 결합된 아미노아실 tRNA일 수 있다. 일 국면에 있어서 본 개시에 있어서의 tRNA는,  $M_1M_2U$ 로 표시되는 코돈,  $M_1M_2A$ 로 표시되는 코돈 및  $M_1M_2G$ 로 표시되는 코돈을 선택적으로 번역할 수 있다. 또한 일 국면에 있어서 본 개시에 있어서의 tRNA는,  $M_1M_2C$ 로 표시되는 코돈,  $M_1M_2A$ 로 표시되는 코돈 및  $M_1M_2G$ 로 표시되는 코돈을 선택적으로 번역할 수 있다. 따라서 본 개시의 tRNA를 포함하는 번역계를 사용하는 것에 의해, 하나의 코돈 박스(당해 코돈 박스는,  $M_1M_2U$ 로 표시되는 코돈,  $M_1M_2C$ 로 표시되는 코돈,  $M_1M_2A$ 로 표시되는 코돈, 및  $M_1M_2G$ 로 표시되는 코돈으로 이루어진다)로부터, 적어도 3종류의 아미노산 또는 아미노산 유연체를 번역할 수 있다.

[0264] 본 개시에 있어서의  $M_1M_2U$ 로 표시되는 코돈 및  $M_1M_2C$ 로 표시되는 코돈에는,  $M_1$ 을 아데노신(A), 구아노신(G), 시티딘(C), 유리딘(U) 중 어느 하나로부터 선택하고,  $M_2$ 를 아데노신(A), 구아노신(G), 시티딘(C), 유리딘(U) 중 어느 하나로부터 선택하는 것에 의해 특정하는 것이 가능한 모든 조합이 포함된다.

[0265] 본 개시에 있어서의 번역계에는 복수의 상이한 종류의 tRNA가 포함되고, 그들 tRNA로부터 복수의 상이한 종류의 아미노산 또는 아미노산 유연체를 번역할 수 있다. 일 국면에 있어서, 본 개시는, 펩티드 번역에 적합한 복수의 상이한 종류의 tRNA를 포함하는, 코돈을 선택적으로 번역하기 위한 조성물 및 키트를 제공한다. 다른 국면에 있어서, 본 개시는, 펩티드 번역에 적합한 복수의 상이한 종류의 tRNA를 포함하는 번역계에 있어서 핵산을 번역하는 공정을 포함하는, 코돈을 선택적으로 번역하기 위한 방법을 제공한다. 특정의 국면에 있어서, 상기의 복수의 상이한 종류의 tRNA 중에, 본 개시의 tRNA가 포함된다.

[0266] 본 개시에 있어서 선택적으로 번역하는 것이 가능한 코돈의 조합으로서,  $M_1M_2A$ 로 표시되는 코돈 및  $M_1M_2G$ 로 표시되는 코돈의 조합,  $M_1M_2U$ 로 표시되는 코돈,  $M_1M_2A$ 로 표시되는 코돈 및  $M_1M_2G$ 로 표시되는 코돈의 조합, 및  $M_1M_2C$ 로 표시되는 코돈,  $M_1M_2A$ 로 표시되는 코돈 및  $M_1M_2G$ 로 표시되는 코돈의 조합이 예시된다.

[0267] 본 개시에 있어서의 번역계에는, 일 태양에 있어서,  $M_1M_2A$ 로 표시되는 코돈 및  $M_1M_2G$ 로 표시되는 코돈을 각각 1개 또는 복수개 포함하는 핵산이 포함되어 있어도 된다. 또한 본 개시에 있어서의 번역계에는, 일 태양에 있어서, (i)  $M_1M_2U$ 로 표시되는 코돈,  $M_1M_2A$ 로 표시되는 코돈, 및  $M_1M_2G$ 로 표시되는 코돈을 각각 1개 또는 복수개 포함하는 핵산, 또는, (ii)  $M_1M_2C$ 로 표시되는 코돈,  $M_1M_2A$ 로 표시되는 코돈, 및  $M_1M_2G$ 로 표시되는 코돈을 각각 1개 또는 복수개 포함하는 핵산이 포함되어 있어도 된다. 또한 일 태양에 있어서, 본 개시에 있어서의 번역계에는,  $M_1M_2A$ 로 표시되는 코돈,  $M_1M_2G$ 로 표시되는 코돈,  $M_1M_2U$ 로 표시되는 코돈, 및  $M_1M_2C$ 로 표시되는 코돈을 각각 1개 또는 복수개 포함하는 핵산이 포함되어 있어도 된다. 일 태양에 있어서, 본 개시에 있어서의 번역계는, 이와 같은 핵산을 1종 또는 복수종 포함할 수 있다.

[0268] 일 국면에 있어서, 본 개시는, 번역계의 제조 방법에 관한 것이다. 본 개시에 있어서의 번역계의 제조 방법은,

아미노산 또는 아미노산 유연체를 번역계 외에서 및/또는 인공적으로 tRNA에 결합시키는 공정을 포함한다. 일국면에 있어서, 본 개시에 있어서의 번역계의 제조 방법은, 아미노산 또는 아미노산 유연체가 결합된 tRNA와 본 개시에 있어서의 번역계를 혼합하는 공정을 추가로 포함한다.

[0269] 번역계에는, 통상, 리보솜, 번역 인자, tRNA, 아미노산, 아미노아실 tRNA 합성 효소(aaRS), 및 ATP나 GTP 등의 펩티드의 번역 반응에 필요한 인자가 구성 성분으로서 포함된다. 특히, 재구성형의 무세포 번역계의 경우, 번역계의 구성 성분 중 필요한 성분만을 재구성하여, 소량의 번역계를 구축할 수 있다. 번역계 중에 있어서의 아미노아실 tRNA(아미노산 또는 아미노산 유연체가 부가한 tRNA)의 합성은, 번역계 내에서 행해져도 되고, 번역계 외에서 행해져도 된다. 또한, 번역계 내에서의 합성과 번역계 외에서의 합성이 병용되어도 된다.

[0270] 몇몇 태양에 있어서, 본 개시에 있어서의  $M_1M_2A$ 로 표시되는 코돈에 상보적인 안티코돈을 갖는 tRNA, 및,  $M_1M_2G$ 로 표시되는 코돈에 상보적인 안티코돈을 갖는 tRNA는, 번역계 외에서 아미노산 또는 아미노산 유연체에 결합된다. 몇몇 태양에 있어서, 본 개시에 있어서의  $M_1M_2U$ 로 표시되는 코돈에 상보적인 안티코돈을 갖는 tRNA,  $M_1M_2A$ 로 표시되는 코돈에 상보적인 안티코돈을 갖는 tRNA, 및  $M_1M_2G$ 로 표시되는 코돈에 상보적인 안티코돈을 갖는 tRNA는, 번역계 외에서 아미노산 또는 아미노산 유연체에 결합된다. 몇몇 태양에 있어서, 본 개시에 있어서의  $M_1M_2C$ 로 표시되는 코돈에 상보적인 안티코돈을 갖는 tRNA,  $M_1M_2A$ 로 표시되는 코돈에 상보적인 안티코돈을 갖는 tRNA, 및  $M_1M_2G$ 로 표시되는 코돈에 상보적인 안티코돈을 갖는 tRNA는, 번역계 외에서 아미노산 또는 아미노산 유연체에 결합된다. 추가적인 태양에 있어서, 번역계 중에 포함되는 상기 이외의 tRNA는, 번역계내에서 아미노산 또는 아미노산 유연체에 결합되어도 되고, 번역계 외에서 아미노산 또는 아미노산 유연체에 결합되어도 된다.

[0271] 본 개시에 있어서, tRNA는 아미노산 또는 아미노산 유연체가 인공적으로 연결된 것인 것이 바람직하다. tRNA는, 임의의 생물(예를 들어 대장균 등)에서 유래하는 천연 tRNA여도 되고, 또는 천연 tRNA와는 상이한 서열을 갖는, 인공적으로 합성된 비천연 tRNA여도 된다. 혹은, 천연 tRNA와 동일한 서열을 갖는, 인공적으로 합성된 tRNA여도 된다. 또한 본 개시에 있어서의 tRNA는, 「in vitro로 전사 합성된 tRNA」 여도 된다.

[0272] 몇몇 태양에 있어서, 본 개시에 있어서의 tRNA가 천연 tRNA와는 상이한 서열을 갖는 개변된 tRNA인 경우, 당해 개변된 tRNA는 tRNA를 구성하는 1개 이상의 뉴클레오티드에 대해서, 이하의 군으로부터 선택되는 적어도 1종류 이상의 개변을 포함할 수 있다: (i) 부가(기존의 tRNA에 임의의 새로운 뉴클레오티드를 첨가하는 것), (ii) 결실(기존의 tRNA로부터 임의의 뉴클레오티드를 삭제하는 것), (iii) 치환(기존의 tRNA에 있어서의 임의의 뉴클레오티드를 다른 임의의 뉴클레오티드로 치환하는 것), (iv) 삽입(기존의 tRNA에 있어서의 임의의 2개의 뉴클레오티드 사이에 새로운 임의의 뉴클레오티드를 추가하는 것), (v) 수식(기존의 tRNA에 있어서의 임의의 뉴클레오티드의 구조의 일부(예를 들어 염기 부분이나 당 부분)를 다른 구조로 변화시키는 것). 개변은 tRNA의 어느 구조(예를 들어 D 암, 안티코돈 암, T 암, 역셉터 스템, 가변 루프 등)에 대해서 행해져도 된다. 몇몇 태양에 있어서, 본 개시에 있어서의 tRNA의 개변은, 안티코돈 암에 포함되는 안티코돈에 대해서 행해진다. 추가적인 태양에 있어서, 본 개시에 있어서의 tRNA의 개변은, 안티코돈의 1문자째, 2문자째, 및 3문자째의 뉴클레오티드 중 적어도 1개에 대해서 행해진다. tRNA에 있어서의 뉴클레오티드의 넘버링 규칙에 따르면, 안티코돈의 1문자째, 2문자째, 및 3문자째의 뉴클레오티드는, 각각 tRNA의 34위, 35위, 및 36위에 해당한다. 본 명세서에 있어서, 안티코돈의 1문자째, 2문자째, 및 3문자째의 뉴클레오티드를 각각  $N_1$ ,  $N_2$ , 및  $N_3$ 이라고 표현하는 경우가 있다.

본 개시의 tRNA에 있어서 개변되는 뉴클레오티드의 수는 1 이상의 임의의 수일 수 있다. 몇몇 태양에 있어서, 본 개시의 tRNA에 있어서 개변되는 뉴클레오티드의 수는, 20 이하, 15 이하, 10 이하, 9 이하, 8 이하, 7 이하, 6 이하, 5 이하, 4 이하, 3 이하, 2 이하, 혹은 1이다. 다른 태양에 있어서, 개변 후의 tRNA의 핵산 서열은, 개변 전의 핵산 서열과 비교하여, 80% 이상, 85% 이상, 90% 이상, 91% 이상, 92% 이상, 93% 이상, 94% 이상, 95% 이상, 96% 이상, 97% 이상, 98% 이상, 혹은 99% 이상 동일하다. 본 개시에 있어서, 어느 염기 서열에 대한 「퍼센트(%) 서열 동일성」은, 최대의 퍼센트 서열 동일성을 얻도록 서열을 정렬시키고 또한 필요하면 갭을 도입한 후의, 또한, 어떠한 보존적 치환도 서열 동일성의 일부라고 생각하지 않는다고 했을 때의, 참조 염기 서열 중의 염기와 동일한 후보 서열 중의 염기의, 백분율비로서 정의된다. 염기 서열의 퍼센트 서열 동일성을 결정하는 목적하는 얼라인먼트는, 당해 기술 분야에 있어서의 기술의 범위 내에 있는 여러 가지 방법, 예를 들어, BLAST, BLAST-2, ALIGN, Megalign(DNASTAR) 소프트웨어, 또는 GENETYX(등록상표)(주식회사 제네텍스) 등의, 공적으로 입수 가능한 컴퓨터 소프트웨어를 사용하는 것에 의해 달성할 수 있다. 당업자는, 비교되는 서열의 전장에 걸쳐서 최대의 얼라인먼트를 달성하기 위해서 필요한 임의의 알고리즘을 포함하는, 서열의 얼라인먼트를 취하기 위한 적절한 파라미터를 결정할 수 있다.

[0273] 몇몇 태양에 있어서, 본 개시에 있어서의 tRNA의 개변이란, tRNA를 구성하는 1개 이상의 뉴클레오티드를 치환하는 것을 의미한다. 뉴클레오티드의 종류에 관해서, 치환된 후의 뉴클레오티드는, 천연 tRNA 중에 존재하는 어느 것인가의 뉴클레오티드여도 되고, 천연 tRNA 중에는 존재하지 않는 임의의 뉴클레오티드(인공적으로 합성된 뉴클레오티드)여도 된다. 천연 tRNA 중에는, 4개의 전형적인 뉴클레오티드인 아데노신, 구아노신, 시티딘 및 유리딘 외에, 그들을 수식하여 얻어지는 개변체(수식 뉴클레오티드)도 포함되어 있다. 몇몇 태양에 있어서, 천연 tRNA 중에 존재하는 뉴클레오티드는, 이하의 뉴클레오티드 중에서 선택될 수 있다: 아데노신(adenosine; A), 시티딘(cytidine; C), 구아노신(guanosine; G), 유리딘(uridine; U), 1-메틸아데노신(1-methyladenosine; m1A), 2-메틸아데노신(2-methyladenosine; m2A), N6-아이소펜텐일아데노신(N6-isopentenyladenosine; i6A), 2-메틸싸이오-N6-아이소펜텐일아데노신(2-methylthio-N6-isopentenyladenosine; ms2i6A), N6-메틸아데노신(N6-methyladenosine; m6A), N6-트레오닐카바모일아데노신(N6-threonylcarbamoyladenosine; t6A), N6-메틸-N6-트레오닐카바모일아데노신(N6-methyl-N6-threonylcarbamoyladenosine; m6t6A), 2-메틸싸이오-N6-트레오닐카바모일아데노신(2-methylthio-N6-threonylcarbamoyladenosine; ms2t6A), 2'-O-메틸아데노신(2'-O-methyladenosine; Am), 이노신(inosine; I), 1-메틸이노신(1-methylinosine; m1I), 2'-O-리보실아데노신(인산염)(2'-O-ribosyladenosine (phosphate); Ar(p)), N6-(cis-하이드록시아이소펜텐일)아데노신(N6-(cis-hydroxyisopentenyl) adenosine; io6A), 2-싸이오시티딘(2-thiocytydine; s2C), 2'-O-메틸시티딘(2'-O-methylcytydine; Cm), N4-아세틸시티딘(N4-acetylcytydine; ac4C), 5-메틸시티딘(5-methylcytydine; m5C), 3-메틸시티딘(3-methylcytydine; m3C), 라이시딘(lysidine; k2C), 5-폼일시티딘(5-formylcytydine; f5C), 2'-O-메틸-5-폼일시티딘(2'-O-methyl-5-formylcytydine; f5Cm), 아그마티딘(agmatidine; agm2C), 2'-O-리보실구아노신(인산염)(2'-O-ribosylguanosine(phosphate); Gr(p)), 1-메틸구아노신(1-methylguanosine; m1G), N2-메틸구아노신(N2-methylguanosine; m2G), 2'-O-메틸구아노신(2'-O-methylguanosine; Gm), N2,N2-디메틸구아노신(N2,N2-dimethylguanosine; m22G), N2,N2,2'-O-트라이메틸구아노신(N2,N2,2'-O-trimethylguanosine; m22Gm), 7-메틸구아노신(7-methylguanosine; m7G), 아키오신(archaeosine; G\*), 큐오신(queuosine; Q), 만노실큐오신(mannosylqueuosine; manQ), 갈락토실큐오신(galactosylqueuosine; galQ), 와이부토신(wybutosine; yW), 퍼옥시와이부토신(peroxywybutosine; o2yW), 5-메틸아미노메틸유리딘(5-methylaminomethyluridine; mnm5U), 2-싸이오유리딘(2-thiouridine; s2U), 2'-O-메틸유리딘(2'-O-methyluridine; Um), 4-싸이오유리딘(4-thiouridine; s4U), 5-카바모일메틸유리딘(5-carbamoylmethyluridine; ncm5U), 5-메톡시카보닐메틸유리딘(5-methoxycarbonylmethyluridine; mcm5U), 5-메틸아미노메틸-2-싸이오유리딘(5-methylaminomethyl-2-thiouridine; mnm5s2U), 5-메톡시카보닐메틸-2-싸이오유리딘(5-methoxycarbonylmethyl-2-thiouridine; mcm5s2U), 유리딘 5-옥시아세트산(uridine 5-oxycetic acid; cmo5U), 5-메톡시유리딘(5-methoxyuridine; mo5U), 5-카복시메틸아미노메틸유리딘(5-carboxymethylaminomethyluridine; cmm5U), 5-카복시메틸아미노메틸-2-싸이오유리딘(5-carboxymethylaminomethyl-2-thiouridine; cmm5s2U), 3-(3-아미노-3-카복시프로필) 유리딘(3-(3-amino-3-carboxypropyl) uridine; acp3U), 5-(카복시하이드록시메틸) 유리딘메틸 에스터(5-(carboxyhydroxymethyl) uridinemethyl ester; mchm5U), 5-카복시메틸아미노메틸-2'-O-메틸유리딘(5-carboxymethylaminomethyl-2'-O-methyluridine; cmm5Um), 5-카바모일메틸-2'-O-메틸유리딘(5-carbamoylmethyl-2'-O-methyluridine; ncm5Um), 다이하이드로유리딘(dihydrouridine; D), 슈도유리딘(pseudouridine; Ψ), 1-메틸슈도유리딘(1-methylpseudouridine; m1Ψ), 2'-O-메틸슈도유리딘(2'-O-methylpseudouridine; Ψm), 5-메틸유리딘(5-methyluridine; m5U), 5-메틸-2-싸이오유리딘(5-methyl-2-thiouridine; m5s2U), 5,2'-O-다이메틸유리딘(5,2'-O-dimethyluridine; m5Um).

[0274] 본 개시에 있어서 개변되는 tRNA는, 임의의 핵산 서열을 갖는 tRNA 중에서 적절히 선택할 수 있다. 몇몇 태양에 있어서, tRNA는 tRNA Ala, tRNA Arg, tRNA Asn, tRNA Asp, tRNA Cys, tRNA Gln, tRNA Glu, tRNA Gly, tRNA His, tRNA Ile, tRNA Leu, tRNA Lys, tRNA Met, tRNA Phe, tRNA Pro, tRNA Ser, tRNA Thr, tRNA Trp, tRNA Tyr, tRNA Val의 어느 것이다. 상기의 20종류의 tRNA 이외에도, tRNA fMet나 tRNA Sec(셀레노시스테인), tRNA Pyl(피롤리신), tRNA AsnE2 등도 사용할 수 있다. 특정의 태양에 있어서, tRNA는 tRNA Glu, tRNA Asp, tRNA AsnE2, tRNA(fMet), tRNA(Ile)의 어느 것이다. tRNA의 본체 부분(핵산으로 구성된 주요한 구조 부분)을 가리켜 tRNA body라는 용어가 이용되는 경우도 있다.

[0275] 한편, 본 개시에 있어서, tRNA는 이하와 같이 표기되는 경우가 있다.

[0276] · 「tRNA Xxx」 혹은 「tRNA(Xxx)」 ··· 아미노산 Xxx에 대응한 tRNA(전장)를 나타낸다(예를 들어 tRNA Glu나 tRNA(Glu) 등).

[0277] · 「tRNA(Xxx)nnn」 ··· 아미노산 Xxx에 대응한 tRNA로서, 안티코돈 서열이 nnn인 tRNA(전장)를 나타낸다(예

를 들어 tRNA(Glu)uga나 tRNA(Glu)Lga 등).

- [0278] · 「tRNA(Xxx)nnn-CA」 · · · 아미노산 Xxx에 대응한 tRNA로서, 안티코돈 서열이 nnn인 tRNA(3' 말단의 CA 서열이 제거된 것)를 나타낸다(예를 들어 tRNA(Glu)uga-CA나 tRNA(Glu)Lga-CA 등).
- [0279] 몇몇 태양에 있어서, 본 개시의 tRNA는, 개시 tRNA 또는 신장 tRNA이다. 개시 tRNA 또는 신장 tRNA를 개변하는 것에 의해 tRNA를 제작해도 되고, 개변에 의해 제작된 tRNA가 개시 tRNA 또는 신장 tRNA로서의 기능을 갖고 있어도 된다. 어느 tRNA가 개시 tRNA로서의 기능을 갖고 있는지 여부는, 당해 tRNA를 번역계에서 이용했을 경우에, (i) IF2를 개제시켜 리보솜에 도입되고, 게다가 (ii) 당해 tRNA에 결합하고 있는 아미노산을 개시 아미노산으로서 이용하여, 펩티드 번역을 개시시킬 수 있는지 여부에 의해 판단할 수 있다. 또한, 어느 tRNA가 신장 tRNA로서의 기능을 갖고 있는지 여부는, 당해 tRNA를 번역계에서 이용했을 경우에, (i) EF-Tu를 개제시켜 리보솜에 도입되고, 게다가 (ii) 당해 tRNA에 결합하고 있는 아미노산을 펩티드쇄에 흡수시켜, 펩티드쇄를 신장시킬 수 있는지 여부에 의해 판단할 수 있다.
- [0280] 몇몇 태양에 있어서, 본 개시의 tRNA는, 원핵생물 유래의 tRNA 또는 진핵생물 유래의 tRNA이다. 원핵생물 유래의 tRNA 또는 진핵생물 유래의 tRNA를 개변하는 것에 의해 변이 tRNA를 제작해도 되고, 개변에 의해 제작된 tRNA가, 원핵생물 유래의 tRNA 또는 진핵생물 유래의 tRNA와 가장 높은 핵산 서열 동일성을 갖고 있어도 된다. 진핵생물은 또한 동물, 식물, 균류 및 원생 생물로 분류된다. 본 개시의 tRNA는, 예를 들어 인간 유래의 tRNA여도 된다. 원핵생물은, 추가로 진정 세균과 고세균으로 분류된다. 진정 세균으로서는, 예를 들어 대장균, 고초균, 유산균, 또는 *Desulfitobacterium hafniense* 등을 들 수 있다. 고세균으로서는, 예를 들어 고도호염균, 호열균, 또는 메테인균(예를 들어 *Methanosarcina mazei*, *Methanosarcina barkeri*, *Methanocaldococcus jannaschii*) 등을 들 수 있다. 본 개시의 tRNA는, 예를 들어 대장균이나 *Desulfitobacterium hafniense*, *Methanosarcina mazei* 유래의 tRNA여도 된다.
- [0281] 몇몇 태양에 있어서, 본 개시에 있어서의 tRNA는, 안티코돈, 예를 들어 그 1문자째(N<sub>1</sub>)에 라이시딘(k2C), 라이시딘 유도체, 아그마티딘(aggm2C), 또는 아그마티딘 유도체의 어느 것인가를 갖지 않는 것이어도 된다. 특정의 태양에 있어서, 본 개시에 있어서의 tRNA는, 안티코돈, 예를 들어, 그 1문자째(N<sub>1</sub>)에 라이시딘(k2C), 라이시딘 유도체, 아그마티딘(aggm2C), 또는 아그마티딘 유도체의 어느 것도 갖지 않는 것이어도 된다.
- [0282] tRNA는, 예를 들어, 소량의 tRNA 유전자를 코딩하는 DNA를 준비하고, 그 상류에 T7, T3, 혹은 SP6 등의 적절한 프로모터를 배치하여, 당해 DNA를 주형에 각 프로모터에 적응한 RNA 폴리메라제를 이용하여 전사 반응을 행하는 것에 의해 합성할 수 있다. 또한, tRNA는 생물학적 재료로부터의 정제에 의해서도 조제할 수 있다. 예를 들어, 세포 등의 tRNA를 포함하는 재료로부터 추출액을 조제하고, 그것에 tRNA의 핵산 서열에 상보적인 서열을 포함하는 프로브를 첨가하는 것에 의해 tRNA를 회수할 수 있다. 이 때, 소량의 tRNA를 발현 가능한 발현 벡터를 준비하여, 당해 발현 벡터로 형질 전환한 세포를 재료로 조제를 행할 수도 있다. *in vitro*의 전사에 의해 합성된 tRNA에는, 통상, 4개의 전형적인 뉴클레오티드인 아데노신, 구아노신, 시티딘, 및 유리딘만이 포함되어 있다. 한편, 세포 내에서 합성된 tRNA에는, 그들을 수식하여 얻어진 수식 뉴클레오티드 등도 포함되어 있는 경우가 있다. 혹은, 전사에 의해 합성된 단편 혹은, 후술하는 실시예에 기재하는 바와 같이, 화학 합성된 단편 등을 효소 반응에 의해 연결하는 수법에 의해서도 tRNA를 조제할 수 있다.
- [0283] 아미노아실 tRNA도 화학적 및/또는 생물학적인 합성법에 의해 조제할 수 있다. 예를 들어, 아미노아실 tRNA 합성 효소(ARS)를 이용하여, tRNA에 아미노산을 결합시키는 것에 의해 아미노아실 tRNA를 합성할 수 있다. 아미노산은 ARS의 기질이 될 수 있는 것이면, 천연 아미노산이어도, 비천연 아미노산이어도 된다. 혹은, 천연 아미노산을 tRNA에 결합시킨 후에, 아미노산에 화학적인 수식을 가해도 된다. 또한, ARS에 아미노산 변이를 도입하는 것에 의해, 비천연 아미노산에 대한 작용이 높여진 예도 다수 보고되어 있고(예를 들어 WO2006/135096, WO2007/061136, WO2007/103307, WO2008/001947, WO2010/141851, WO2015/120287 등을 참조), 그와 같은 변이 ARS를 이용하여, tRNA에 아미노산을 결합시켜도 된다. ARS를 이용하는 방법 이외에도, 예를 들어, tRNA의 3' 말단으로부터 CA 서열을 제거하고, 거기에 아미노아실화된 pdCpA(테옥시시티딘 및 아데노신으로 구성되는 다이뉴클레오티드)를 RNA 리가제를 이용하여 결합시키는 것에 의해 아미노아실 tRNA를 합성할 수 있다(pdCpA법; Hecht et al., *J Biol Chem* (1978) 253: 4517-4520). pdCpA 대신에 pCpA(시티딘 및 아데노신으로 구성되는 다이뉴클레오티드)를 이용하는 방법도 알려져 있다(pCpA법; Wang et al., *ACS Chem Biol* (2015) 10: 2187-2192). 즉, pCpA-아미노산과 3' 말단의 CA결손 tRNA를 RNA 리가제로 결합시켜 아미노아실화 tRNA를 조제할 수 있다. 또한, 미리 에스터화에 의해 활성화한 비천연형 아미노산을 인공 RNA 촉매(플렉시자임)를 이용하여 tRNA에 결합시키는 것에 의해서도 아미노아실 tRNA를 합성할 수 있다(WO2007/066627, WO2012/026566, H. Murakami et al.,

Chemistry & Biology, Vol. 10, 2003, 655-662; H. Murakami et al., Chemistry & Biology, Vol. 10, 2003, 1077-1084; H. Murakami et al., Nature Methods 3, 2006, 357-359; N. Niwa et al., Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters 19, 2009, 3892-3894). 플렉시자임은, tRNA에 아미노산 또는 하이드록시산을 연결할 수 있는 인공 RNA 촉매이다. 본 개시에 있어서의 플렉시자임에는, 원형의 플렉시자임(Fx), 및, 지금부터 개변된 다이아이트로벤질 플렉시자임(dFx), 인헨스드 플렉시자임(eFx), 아미노플렉시자임(aFx) 등도 포함된다.

[0284] 몇몇 태양에 있어서, 본 개시의 tRNA에는 아미노산 또는 아미노산 유연체가 결합하고 있다. 아미노산 또는 아미노산 유연체는, 통상, tRNA의 3' 말단에, 보다 구체적으로는, 3' 말단의 CCA 서열의 아데노신 잔기에 결합하고 있다. tRNA에 결합하고 있는 아미노산 또는 아미노산 유연체의 구체적인 종류는, 이하에 기재하는 아미노산 또는 아미노산 유연체 중에서 각각 적절히 선택할 수 있다.

[0285] 본 개시에 있어서의 아미노산에는, α-아미노산, β-아미노산, γ-아미노산 등이 포함된다. 입체 구조로서는, L형 아미노산, D형 아미노산의 어느 것도 포함된다. 또한, 본 개시에 있어서의 아미노산은, 천연 아미노산 및 비천연 아미노산을 포함한다. 특정의 태양에 있어서, 천연 아미노산은, 이하의 20종류의 α-아미노산: 글리신(Gly), 알라닌(Ala), 세린(Ser), 트레오닌(Thr), 발린(Val), 류신(Leu), 아이소류신(Ile), 페닐알라닌(Phe), 티로신(Tyr), 트립토판(Trp), 히스티딘(His), 글루타민산(Glu), 아스파라긴산(Asp), 글루타민(Gln), 아스파라긴(Asn), 시스테인(Cys), 메티오닌(Met), 리신(Lys), 아르기닌(Arg), 및 프롤린(Pro)으로 이루어진다. 혹은, 전술한 20종류의 아미노산으로부터, 임의의 1종류 이상의 아미노산을 제외한 것을, 본 개시에 있어서의 천연 아미노산으로 해도 된다. 일 태양에 있어서, 천연 아미노산은, 아이소류신을 제외한 19종류의 아미노산으로 이루어진다. 일 태양에 있어서, 천연 아미노산은, 메티오닌을 제외한 19종류의 아미노산으로 이루어진다. 추가적인 태양에 있어서, 천연 아미노산은, 아이소류신 및 메티오닌을 제외한 18종류의 아미노산으로 이루어진다. 천연 아미노산은 통상, L형 아미노산이다.

[0286] 본 개시에 있어서, 비천연 아미노산이란, 상기의 20종류의 α-아미노산으로 이루어지는 천연 아미노산을 제외한 모든 아미노산을 나타낸다. 비천연 아미노산의 예로서, β-아미노산, γ-아미노산, D형 아미노산, 천연 아미노산과는 측쇄가 상이한 α-아미노산, α, α-2치환 아미노산, 주쇄의 아미노기가 치환기를 갖는 아미노산(N치환 아미노산) 등을 들 수 있다. 비천연 아미노산의 측쇄는, 특별히 한정되지 않지만, 수소 원자 외에, 예를 들어 알킬, 알켄일, 알킨일, 아릴, 헤테로아릴, 아르알킬, 사이클로알킬 등을 갖고 있어도 된다. 또한, α, α-2치환 아미노산의 경우, 2개의 측쇄가 환을 형성하고 있어도 된다. 더욱이, 이들 측쇄는, 1개 이상의 치환기를 갖고 있어도 된다. 특정의 태양에 있어서, 치환기는, 할로젠 원자, O 원자, S 원자, N 원자, B 원자, Si 원자, 또는 P 원자를 포함하는 임의의 작용기 중에서 선택할 수 있다. 예를 들어, 본 개시에 있어서 「할로젠을 치환기에 갖는 C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 알킬」이란, 알킬에 있어서의 적어도 1개의 수소 원자가 할로젠 원자로 치환된 「C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 알킬」을 의미하고, 구체적으로는, 예를 들어, 트라이플루오로메틸, 다이플루오로메틸, 플루오로메틸, 펜타플루오로에틸, 테트라플루오로에틸, 트라이플루오로에틸, 다이플루오로에틸, 플루오로에틸, 트라이클로로메틸, 다이클로로메틸, 클로로메틸, 펜타클로로에틸, 테트라클로로에틸, 트라이클로로에틸, 다이클로로에틸, 클로로에틸 등을 포함한다. 또한, 예를 들어 「치환기를 갖는 C<sub>5</sub>-C<sub>10</sub> 아릴 C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 알킬」이란, 아릴 및/또는 알킬에 있어서의 적어도 1개의 수소 원자가 치환기에 의해 치환된 「C<sub>5</sub>-C<sub>10</sub> 아릴 C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 알킬」을 의미한다. 더욱이, 「치환기를 2개 이상 갖고 있는」이란, 어느 작용기(예를 들어 S 원자를 포함하는 작용기)를 치환기로서 갖고, 추가로 그 작용기가 별도의 치환기(예를 들어 아미노나 할로젠 등의 치환기)를 갖고 있는 경우도 포함한다. 비천연 아미노산의 구체적인 예로서는, W02013/100132나 W02018/143145 등도 참조할 수 있다.

[0287] 비천연 아미노산의 주쇄의 아미노기는, 비치환의 아미노기(NH<sub>2</sub>기)여도 되고, 치환된 아미노기(NHR기)여도 된다. 여기에서, R은, 치환기를 갖고 있어도 되는 알킬, 알켄일, 알킨일, 아릴, 헤테로아릴, 아르알킬, 사이클로알킬을 나타낸다. 또한, 프롤린과 같이 주쇄의 아미노기의 N 원자에 결합한 탄소쇄와 α 위의 탄소 원자가 환을 형성하고 있어도 된다. 치환기는, 할로젠 원자, O 원자, S 원자, N 원자, B 원자, Si 원자, 또는 P 원자를 포함하는 임의의 작용기 중에서 선택할 수 있다. 아미노기의 알킬 치환의 예로서는, N-메틸화, N-에틸화, N-프로필화, N-부틸화 등을, 아르알킬 치환의 예로서는, N-벤질화 등을 들 수 있다. N-메틸아미노산의 구체적인 예로서는, N-메틸알라닌, N-메틸글리신, N-메틸페닐알라닌, N-메틸티로신, N-메틸-3-클로로페닐알라닌, N-메틸-4-클로로페닐알라닌, N-메틸-4-메톡시페닐알라닌, N-메틸-4-싸이아졸알라닌, N-메틸히스티딘, N-메틸세린, N-메틸아스파라긴산 등을 들 수 있다.

[0288] 할로젠 원자를 포함하는 치환기의 예로서는, 플루오로(-F), 클로로(-Cl), 브로모(-Br), 아이오도(-I) 등을 들

수 있다.

- [0289] O 원자를 포함하는 치환기의 예로서는, 하이드록실(-OH), 옥시(-OR), 카보닐(-C=O-R), 카복실(-CO<sub>2</sub>H), 옥시카보닐(-C=O-OR), 카보닐옥시(-O-C=O-R), 싸이오카보닐(-C=O-SR), 카보닐싸이오(-S-C=O-R), 아미노카보닐(-C=O-NHR), 카보닐아미노(-NH-C=O-R), 옥시카보닐아미노(-NH-C=O-OR), 설펜일아미노(-NH-SO<sub>2</sub>-R), 아미노설펜일(-SO<sub>2</sub>-NHR), 설펜아미노(-NH-SO<sub>2</sub>-NHR), 싸이오카복실(-C(=O)-SH), 카복실카보닐(-C(=O)-CO<sub>2</sub>H) 등을 들 수 있다.
- [0290] 옥시(-OR)의 예로서는, 알콕시, 사이클로알콕시, 알켄일옥시, 알킨일옥시, 아릴옥시, 헤테로아릴옥시, 아르알킬옥시 등을 들 수 있다.
- [0291] 카보닐(-C=O-R)의 예로서는, 폼일(-C=O-H), 알킬카보닐, 사이클로알킬카보닐, 알켄일카보닐, 알킨일카보닐, 아릴카보닐, 헤테로아릴카보닐, 아르알킬카보닐 등을 들 수 있다.
- [0292] 옥시카보닐(-C=O-OR)의 예로서는, 알킬옥시카보닐, 사이클로알킬옥시카보닐, 알켄일옥시카보닐, 알킨일옥시카보닐, 아릴옥시카보닐, 헤테로아릴옥시카보닐, 아르알킬옥시카보닐 등을 들 수 있다.
- [0293] 카보닐옥시(-O-C=O-R)의 예로서는, 알킬카보닐옥시, 사이클로알킬카보닐옥시, 알켄일카보닐옥시, 알킨일카보닐옥시, 아릴카보닐옥시, 헤테로아릴카보닐옥시, 아르알킬카보닐옥시 등을 들 수 있다.
- [0294] 싸이오카보닐(-C=O-SR)의 예로서는, 알킬싸이오카보닐, 사이클로알킬싸이오카보닐, 알켄일싸이오카보닐, 알킨일싸이오카보닐, 아릴싸이오카보닐, 헤테로아릴싸이오카보닐, 아르알킬싸이오카보닐 등을 들 수 있다.
- [0295] 카보닐싸이오(-S-C=O-R)의 예로서는, 알킬카보닐싸이오, 사이클로알킬카보닐싸이오, 알켄일카보닐싸이오, 알킨일카보닐싸이오, 아릴카보닐싸이오, 헤테로아릴카보닐싸이오, 아르알킬카보닐싸이오 등을 들 수 있다.
- [0296] 아미노카보닐(-C=O-NHR)의 예로서는, 알킬아미노카보닐, 사이클로알킬아미노카보닐, 알켄일아미노카보닐, 알킨일아미노카보닐, 아릴아미노카보닐, 헤테로아릴아미노카보닐, 아르알킬아미노카보닐 등을 들 수 있다. 더욱이, -C=O-NHR 중의 N 원자와 결합한 H 원자는, 알킬, 사이클로알킬, 알켄일, 알킨일, 아릴, 헤테로아릴, 및 아르알킬로 이루어지는 군으로부터 선택되는 치환기로 치환되어 있어도 된다.
- [0297] 카보닐아미노(-NH-C=O-R)의 예로서는, 알킬카보닐아미노, 사이클로알킬카보닐아미노, 알켄일카보닐아미노, 알킨일카보닐아미노, 아릴카보닐아미노, 헤테로아릴카보닐아미노, 아르알킬카보닐아미노 등을 들 수 있다. 더욱이, -NH-C=O-R 중의 N 원자와 결합한 H 원자는, 알킬, 사이클로알킬, 알켄일, 알킨일, 아릴, 헤테로아릴, 및 아르알킬로 이루어지는 군으로부터 선택되는 치환기로 치환되어 있어도 된다.
- [0298] 옥시카보닐아미노(-NH-C=O-OR)의 예로서는, 알콕시카보닐아미노, 사이클로알콕시카보닐아미노, 알켄일옥시카보닐아미노, 알킨일옥시카보닐아미노, 아릴옥시카보닐아미노, 헤테로아릴옥시카보닐아미노, 아르알킬옥시카보닐아미노 등을 들 수 있다. 더욱이, -NH-C=O-OR 중의 N 원자와 결합한 H 원자는, 알킬, 사이클로알킬, 알켄일, 알킨일, 아릴, 헤테로아릴, 및 아르알킬로 이루어지는 군으로부터 선택되는 치환기로 치환되어 있어도 된다.
- [0299] 설펜일아미노(-NH-SO<sub>2</sub>-R)의 예로서는, 알킬설펜일아미노, 사이클로알킬설펜일아미노, 알켄일설펜일아미노, 알킨일설펜일아미노, 아릴설펜일아미노, 헤테로아릴설펜일아미노, 아르알킬설펜일아미노 등을 들 수 있다. 더욱이, -NH-SO<sub>2</sub>-R 중의 N 원자와 결합한 H 원자는, 알킬, 사이클로알킬, 알켄일, 알킨일, 아릴, 헤테로아릴, 및 아르알킬로 이루어지는 군으로부터 선택되는 치환기로 치환되어 있어도 된다.
- [0300] 아미노설펜일(-SO<sub>2</sub>-NHR)의 예로서는, 알킬아미노설펜일, 사이클로알킬아미노설펜일, 알켄일아미노설펜일, 알킨일아미노설펜일, 아릴아미노설펜일, 헤테로아릴아미노설펜일, 아르알킬아미노설펜일 등을 들 수 있다. 더욱이, -SO<sub>2</sub>-NHR 중의 N 원자와 결합한 H 원자는, 알킬, 사이클로알킬, 알켄일, 알킨일, 아릴, 헤테로아릴, 및 아르알킬로 이루어지는 군으로부터 선택되는 치환기로 치환되어 있어도 된다.
- [0301] 설펜아미노(-NH-SO<sub>2</sub>-NHR)의 예로서는, 알킬설펜아미노, 사이클로알킬설펜아미노, 알켄일설펜아미노, 알킨일설펜아미노, 아릴설펜아미노, 헤테로아릴설펜아미노, 아르알킬설펜아미노 등을 들 수 있다. 더욱이, -NH-SO<sub>2</sub>-NHR 중의 N 원자와 결합한 2개의 H 원자 중 적어도 하나는, 알킬, 사이클로알킬, 알켄일, 알킨일, 아릴, 헤테로아릴, 및 아르알킬로 이루어지는 군으로부터 선택되는 치환기로 치환되어 있어도 된다. 2개의 H 원자가 함께 치환되어 있는 경우는, 각각 독립적으로 치환기를 선택해도 되고, 또한, 이들 2개의 치환기는 환을 형성하고 있어도 된다.

- [0302] S 원자를 포함하는 치환기의 예로서는, 싸이올(-SH), 싸이오(-S-R), 설펜일(-S=O-R), 설펜일(-S(O)<sub>2</sub>-R), 설펜(-SO<sub>3</sub>H) 등을 들 수 있다.
- [0303] 싸이오(-S-R)의 예로서는, 알킬싸이오, 사이클로알킬싸이오, 알켄일싸이오, 알킨일싸이오, 아릴싸이오, 헤테로아릴싸이오, 아르알킬싸이오 등을 들 수 있다.
- [0304] 설펜일(-S=O-R)의 예로서는, 알킬설펜일, 사이클로알킬설펜일, 알켄일설펜일, 알킨일설펜일, 아릴설펜일, 헤테로아릴설펜일, 아르알킬설펜일 등을 들 수 있다.
- [0305] 설펜일(-S(O)<sub>2</sub>-R)의 예로서는, 알킬설펜일, 사이클로알킬설펜일, 알켄일설펜일, 알킨일설펜일, 아릴설펜일, 헤테로아릴설펜일, 아르알킬설펜일 등을 들 수 있다.
- [0306] N 원자를 포함하는 치환기의 예로서는, 아자이드(-N<sub>3</sub>), 사이아노(-CN), 1급 아미노(-NH<sub>2</sub>), 2급 아미노(-NH-R), 3급 아미노(-NR(R')), 아미디노(-C(=NH)-NH<sub>2</sub>), 치환 아미디노(-C(=NH)-NR(R')), 구아니디노(-NH-C(=NH)-NH<sub>2</sub>), 치환 구아니디노(-NR-C(=NR''')-NR(R'')) 등을 들 수 있다.
- [0307] 2급 아미노(-NH-R)의 예로서는, 알킬아미노, 사이클로알킬아미노, 알켄일아미노, 알킨일아미노, 아릴아미노, 헤테로아릴아미노, 아르알킬아미노 등을 들 수 있다.
- [0308] 3급 아미노(-NR(R'))에 있어서의 N 원자 상의 2개의 치환기 R 및 R'는, 알킬, 사이클로알킬, 알켄일, 알킨일, 아릴, 헤테로아릴, 및 아르알킬로 이루어지는 군으로부터 각각 독립적으로 선택할 수 있다. 3급 아미노의 예로서는, 예를 들어 알킬(아르알킬)아미노 등을 들 수 있다. 이들 2개의 치환기는 환을 형성하고 있어도 된다.
- [0309] 치환 아미디노(-C(=NR)-NR(R'))에 있어서의 N 원자 상의 3개의 치환기 R, R', 및 R''는, 수소 원자, 알킬, 사이클로알킬, 알켄일, 알킨일, 아릴, 헤테로아릴, 및 아르알킬로 이루어지는 군으로부터 각각 독립적으로 선택할 수 있다. 치환 아미디노의 예로서는, 예를 들어 알킬(아르알킬)(아릴)아미디노 등을 들 수 있다. 이들 치환기는 서로 환을 형성하고 있어도 된다.
- [0310] 치환 구아니디노(-NR-C(=NR''')-NR(R''))에 있어서의 N 원자 상의 4개의 치환기 R, R', R'', 및 R'''는, 수소 원자, 알킬, 사이클로알킬, 알켄일, 알킨일, 아릴, 헤테로아릴, 및 아르알킬로 이루어지는 군으로부터 각각 독립적으로 선택할 수 있다. 이들 치환기는 서로 환을 형성하고 있어도 된다.
- [0311] 아미노카보닐아미노(-NR-CO-NR(R''))에 있어서의 N 원자 상의 3개의 치환기 R, R', 및 R''는, 수소 원자, 알킬, 사이클로알킬, 알켄일, 알킨일, 아릴, 헤테로아릴, 및 아르알킬로 이루어지는 군으로부터 각각 독립적으로 선택할 수 있다. 이들 치환기는 서로 환을 형성하고 있어도 된다.
- [0312] B 원자를 포함하는 치환기의 예로서는, 보릴(-BR(R'))이나 다이옥시보릴(-B(OR)(OR')) 등을 들 수 있다. B 원자 상의 2개의 치환기 R 및 R'는, 수소 원자, 알킬, 사이클로알킬, 알켄일, 알킨일, 아릴, 헤테로아릴, 및 아르알킬로 이루어지는 군으로부터 각각 독립적으로 선택할 수 있다. 이들 치환기는 서로 환을 형성하고 있어도 된다.
- [0313] 몇몇 태양에 있어서, 본 개시에 있어서의 아미노산으로서, nBuG(2-(butylamino)acetic acid), Pic2((2S)-piperidine-2-carboxylic acid), dA((2R)-2-aminopropanoic acid), MeA3Pyr((2S)-2-(methylamino)-3-(3-pyridyl)propanoic acid), StBuOH((2S)-3-(2-hydroxy-2-methyl-propoxy)-2-(methylamino)propanoic acid), MeSnPr((2S)-2-(methylamino)-3-propoxy-propanoic acid), SPh2Cl((2S)-2-amino-3-(2-chlorophenoxy)propanoic acid), MeHph((2S)-2-(methylamino)-4-phenyl-butanoic acid), 및 Ile 등을 예시할 수 있다.
- [0314] 본 개시에 있어서의 아미노산 유연체의 예로서, 예를 들어 하이드록시카복실산(하이드록시산)을 들 수 있다. 하이드록시카복실산에는, α-하이드록시카복실산, β-하이드록시카복실산, γ-하이드록시카복실산 등이 포함된다. 하이드록시카복실산에 있어서의 α 위의 탄소에는, 아미노산과 마찬가지로, 수소 원자 이외의 측쇄가 결합하고 있어도 된다. 입체 구조로서는, L형 및 D형의 어느 것도 포함될 수 있다. 측쇄의 구조는, 전술한 천연 아미노산 또는 비천연 아미노산의 측쇄와 마찬가지로 정의할 수 있다. 하이드록시카복실산의 예로서, 하이드록시아세트산, 락트산, 페닐락트산 등을 들 수 있다.
- [0315] 본 개시에 있어서의 아미노산은, 번역 가능한 아미노산이어도 되고, 아미노산 유연체는, 번역 가능한 아미노산 유연체여도 된다. 본 명세서에 있어서 「번역 가능한」 아미노산 또는 아미노산 유연체(통틀어 아미노산 등이

라고 부르는 경우가 있다)란, 번역 합성에 의해(예를 들어, 본 개시에 기재의 번역계를 이용하여) 펩티드에 짜 넣는 것이 가능한 아미노산 등을 의미한다. 어느 아미노산 등이 번역 가능한지 여부는, 당해 아미노산 등을 결합시킨 tRNA를 이용한 번역 합성 실험에 의해 확인할 수 있다. 번역 합성 실험에는 재구성의 무세포 번역계를 이용해도 된다(예를 들어, W02013100132를 참조).

[0316] 본 개시에 있어서의 비천연 아미노산이나 아미노산 유연체는, 종래 공지된 화학적인 합성법이나, 후술하는 실시예에 기재하는 합성법, 그들에 준하는 합성법에 의해 조제할 수 있다.

[0317] 몇몇 태양에 있어서, 본 개시의 tRNA는,  $M_1M_2A$ 로 표시되는 코돈 및  $M_1M_2G$ 로 표시되는 코돈을 관독하여, 이들 코돈의 각각에 대해 상이한 아미노산 또는 아미노산 유연체를 번역할 수 있다. 몇몇 태양에 있어서, 본 개시의 tRNA는,  $M_1M_2U$ 로 표시되는 코돈,  $M_1M_2A$ 로 표시되는 코돈 및  $M_1M_2G$ 로 표시되는 코돈을 관독하여, 이들 코돈의 각각에 대해 상이한 아미노산 또는 아미노산 유연체를 번역할 수 있다. 몇몇 태양에 있어서, 본 개시의 tRNA는,  $M_1M_2C$ 로 표시되는 코돈,  $M_1M_2A$ 로 표시되는 코돈 및  $M_1M_2G$ 로 표시되는 코돈을 관독하여, 이들 코돈의 각각에 대해 상이한 아미노산 또는 아미노산 유연체를 번역할 수 있다. 여기에서, 코돈의 1문자째의 뉴클레오티드( $M_1$ ) 및 2문자째의 뉴클레오티드( $M_2$ )는, 각각 독립적으로 아데노신(A), 구아노신(G), 시티딘(C), 유리딘(U) 중 어느 하나로부터 선택된다. 다른 태양에 있어서, 본 개시의 tRNA는,  $M_1M_2A$ 로 표시되는 특정의 코돈,  $M_1M_2G$ 로 표시되는 특정의 코돈에 상보적인 안티코돈을 갖는다. 또 다른 태양에 있어서, 본 개시의 tRNA는,  $M_1M_2U$ 로 표시되는 특정의 코돈,  $M_1M_2A$ 로 표시되는 특정의 코돈,  $M_1M_2G$ 로 표시되는 특정의 코돈에 상보적인 안티코돈을 갖는다. 또 다른 태양에 있어서, 본 개시의 tRNA는,  $M_1M_2C$ 로 표시되는 특정의 코돈,  $M_1M_2A$ 로 표시되는 특정의 코돈,  $M_1M_2G$ 로 표시되는 특정의 코돈에 상보적인 안티코돈을 갖는다. 추가적인 태양에 있어서, tRNA에 있어서의 안티코돈의 3문자째의 뉴클레오티드( $N_3$ ) 및 2문자째의 뉴클레오티드( $N_2$ )는,  $M_1$  및  $M_2$ 와 각각 상보적인 뉴클레오티드로서 선택할 수 있고,  $N_2$  및  $N_3$ 은, 각각 독립적으로 아데노신(A), 구아노신(G), 시티딘(C), 유리딘(U) 중 어느 하나로부터 선택될 수 있다. 구체적으로는,  $M_2$ (또는  $M_1$ )가 아데노신일 때,  $N_2$ (또는  $N_3$ )는 유리딘이다.  $M_2$ (또는  $M_1$ )가 구아노신일 때,  $N_2$ (또는  $N_3$ )는 시티딘이다.  $M_2$ (또는  $M_1$ )가 시티딘일 때,  $N_2$ (또는  $N_3$ )는 구아노신이다.  $M_2$ (또는  $M_1$ )가 유리딘일 때,  $N_2$ (또는  $N_3$ )는 아데노신이다.

[0318] 본 개시의 문맥에 있어서, 「어느 tRNA가 특정의 코돈을 번역 가능한」이라는 태양은, 「어느 tRNA가 특정의 코돈에 상보적인 안티코돈을 갖고 있는」이라는 태양을 본질적으로 내포하는 것이고, 당해 tRNA 상의 안티코돈의 서열에 대해 언급하는 한에 있어서, 이들 표현은 치환이 가능하다.

[0319] 본 개시에 있어서의 번역계를 구성하는 tRNA가 번역 가능한 코돈의 1문자째의 뉴클레오티드( $M_1$ ) 및 2문자째의 뉴클레오티드( $M_2$ )는, 유전 암호표에 있어서의 특정의 코돈 박스를 구성하는 코돈의 1문자째의 뉴클레오티드( $M_1$ ) 및 2문자째의 뉴클레오티드( $M_2$ )로부터 각각 선택할 수 있다. 특정의 태양에 있어서, 유전 암호표는 표준 유전 암호표이다. 다른 태양에 있어서, 유전 암호표는 천연의 유전 암호표이다.

[0320] 다른 태양에 있어서, 본 개시에 있어서의  $M_1$  및  $M_2$ 는, 천연의 유전 암호표에 있어서  $M_1M_2A$ 로 표시되는 코돈에 종지 코돈이 할당되어 있고, 또한  $M_1M_2G$ 로 표시되는 코돈에 아미노산이 할당되어 있는 코돈 박스로부터 선택할 수 있다. 다른 태양에 있어서, 본 개시에 있어서의  $M_1$  및  $M_2$ 는, 천연의 유전 암호표에 있어서  $M_1M_2A$ 로 표시되는 코돈과  $M_1M_2G$ 로 표시되는 코돈에 함께 종지 코돈이 할당되어 있는 코돈 박스로부터 선택할 수 있다.

[0321] 몇몇 태양에 있어서, 유전 암호표가 천연의 유전 암호표와 동일한 번역계는, 본 개시에 있어서의 번역계로부터 제외된다. 몇몇 태양에 있어서, 유전 암호표가 표 1에 기재된 유전 암호표와 동일한 번역계는, 본 개시에 있어서의 번역계로부터 제외된다.

[0322] 일 태양에 있어서,  $M_1$  및  $M_2$ 는, 3문자째가 A인 코돈과 G인 코돈이 함께 동일한 아미노산을 코딩하고 있는 코돈 박스를 구성하는 코돈의  $M_1$  및  $M_2$ 로부터 각각 선택될 수 있다. 일례로서, 코돈이 UUM<sub>3</sub>으로 표시되는 코돈 박스에 있어서, 3문자째가 A인 코돈(UUA)과 G인 코돈(UUG)이 함께 동일한 아미노산(Leu)을 코딩하고 있으므로, 동 코돈 박스를 구성하는 코돈에 있어서의 1문자째의 뉴클레오티드(U) 및 2문자째의 뉴클레오티드(U)를 각각  $M_1$  및

M<sub>2</sub>로서 선택할 수 있다.

- [0323] 일 태양에 있어서, M<sub>1</sub> 및 M<sub>2</sub>는, 3문자짜가 U인 코돈과 A인 코돈이 함께 동일한 아미노산을 코딩하고 있는 코돈 박스를 구성하는 코돈의 M<sub>1</sub> 및 M<sub>2</sub>로부터 각각 선택될 수 있다. 일례로서, 코돈이 AUM<sub>3</sub>으로 표시되는 코돈 박스에 있어서는, 3문자짜가 U인 코돈(AUU)과 A인 코돈(AUA)이 함께 동일한 아미노산(Ile)을 코딩하고 있으므로, 동 코돈 박스를 구성하는 코돈에 있어서의 1문자짜의 뉴클레오티드(A) 및 2문자짜의 뉴클레오티드(U)를 각각 M<sub>1</sub> 및 M<sub>2</sub>로서 선택할 수 있다.
- [0324] 일 태양에 있어서, M<sub>1</sub> 및 M<sub>2</sub>는, 3문자짜가 A인 코돈과 G인 코돈이 서로 상이한 아미노산을 코딩하고 있는 코돈 박스를 구성하는 코돈의 M<sub>1</sub> 및 M<sub>2</sub>로부터 각각 선택될 수 있다. 일례로서, 코돈이 AUM<sub>3</sub>으로 표시되는 코돈 박스에 있어서는, 3문자짜가 A인 코돈(AUA)과 G인 코돈(AUG)이 서로 상이한 아미노산(Ile와 Met)을 코딩하고 있으므로, 동 코돈 박스를 구성하는 코돈에 있어서의 1문자짜의 뉴클레오티드(A) 및 2문자짜의 뉴클레오티드(U)를 각각 M<sub>1</sub> 및 M<sub>2</sub>로서 선택할 수 있다.
- [0325] 일 태양에 있어서, M<sub>1</sub> 및 M<sub>2</sub>는, 3문자짜가 A인 코돈 및/또는 G인 코돈이 종지 코돈인 코돈 박스를 구성하는 코돈의 M<sub>1</sub> 및 M<sub>2</sub>로부터 각각 선택될 수 있다. 일례로서, 코돈이 UGM<sub>3</sub>으로 표시되는 코돈 박스에 있어서는, 3문자짜가 A인 코돈(UGA)이 종지 코돈(오팔)이므로, 동 코돈 박스를 구성하는 코돈에 있어서의 1문자짜의 뉴클레오티드(U) 및 2문자짜의 뉴클레오티드(G)를 각각 M<sub>1</sub> 및 M<sub>2</sub>로서 선택할 수 있다.
- [0326] 추가적인 태양에 있어서, M<sub>1</sub> 및 M<sub>2</sub>는, 코돈이 UUM<sub>3</sub>으로 표시되는 코돈 박스를 구성하는 코돈의 M<sub>1</sub> 및 M<sub>2</sub>로부터 각각 선택될 수 있다. 구체적으로는, 당해 코돈에 있어서의 1문자짜의 뉴클레오티드(U) 및 2문자짜의 뉴클레오티드(U)를 각각 M<sub>1</sub> 및 M<sub>2</sub>로서 선택할 수 있다.
- [0327] 추가적인 태양에 있어서, M<sub>1</sub> 및 M<sub>2</sub>는, 코돈이 UAM<sub>3</sub>으로 표시되는 코돈 박스를 구성하는 코돈의 M<sub>1</sub> 및 M<sub>2</sub>로부터 각각 선택될 수 있다. 구체적으로는, 당해 코돈에 있어서의 1문자짜의 뉴클레오티드(U) 및 2문자짜의 뉴클레오티드(A)를 각각 M<sub>1</sub> 및 M<sub>2</sub>로서 선택할 수 있다.
- [0328] 추가적인 태양에 있어서, M<sub>1</sub> 및 M<sub>2</sub>는, 코돈이 UGM<sub>3</sub>으로 표시되는 코돈 박스를 구성하는 코돈의 M<sub>1</sub> 및 M<sub>2</sub>로부터 각각 선택될 수 있다. 구체적으로는, 당해 코돈에 있어서의 1문자짜의 뉴클레오티드(U) 및 2문자짜의 뉴클레오티드(G)를 각각 M<sub>1</sub> 및 M<sub>2</sub>로서 선택할 수 있다.
- [0329] 추가적인 태양에 있어서, M<sub>1</sub> 및 M<sub>2</sub>는, 코돈이 CAM<sub>3</sub>으로 표시되는 코돈 박스를 구성하는 코돈의 M<sub>1</sub> 및 M<sub>2</sub>로부터 각각 선택될 수 있다. 구체적으로는, 당해 코돈에 있어서의 1문자짜의 뉴클레오티드(C) 및 2문자짜의 뉴클레오티드(A)를 각각 M<sub>1</sub> 및 M<sub>2</sub>로서 선택할 수 있다.
- [0330] 추가적인 태양에 있어서, M<sub>1</sub> 및 M<sub>2</sub>는, 코돈이 CGM<sub>3</sub>으로 표시되는 코돈 박스를 구성하는 코돈의 M<sub>1</sub> 및 M<sub>2</sub>로부터 각각 선택될 수 있다. 구체적으로는, 당해 코돈에 있어서의 1문자짜의 뉴클레오티드(C) 및 2문자짜의 뉴클레오티드(G)를 각각 M<sub>1</sub> 및 M<sub>2</sub>로서 선택할 수 있다.
- [0331] 추가적인 태양에 있어서, M<sub>1</sub> 및 M<sub>2</sub>는, 코돈이 AUM<sub>3</sub>으로 표시되는 코돈 박스를 구성하는 코돈의 M<sub>1</sub> 및 M<sub>2</sub>로부터 각각 선택될 수 있다. 구체적으로는, 당해 코돈에 있어서의 1문자짜의 뉴클레오티드(A) 및 2문자짜의 뉴클레오티드(U)를 각각 M<sub>1</sub> 및 M<sub>2</sub>로서 선택할 수 있다.
- [0332] 추가적인 태양에 있어서, M<sub>1</sub> 및 M<sub>2</sub>는, 코돈이 ACM<sub>3</sub>으로 표시되는 코돈 박스를 구성하는 코돈의 M<sub>1</sub> 및 M<sub>2</sub>로부터 각각 선택될 수 있다. 구체적으로는, 당해 코돈에 있어서의 1문자짜의 뉴클레오티드(A) 및 2문자짜의 뉴클레오티드(C)를 각각 M<sub>1</sub> 및 M<sub>2</sub>로서 선택할 수 있다.
- [0333] 추가적인 태양에 있어서, M<sub>1</sub> 및 M<sub>2</sub>는, 코돈이 AAM<sub>3</sub>으로 표시되는 코돈 박스를 구성하는 코돈의 M<sub>1</sub> 및 M<sub>2</sub>로부터 각각 선택될 수 있다. 구체적으로는, 당해 코돈에 있어서의 1문자짜의 뉴클레오티드(A) 및 2문자짜의 뉴클레오티드(A)를 각각 M<sub>1</sub> 및 M<sub>2</sub>로서 선택할 수 있다.

- [0334] 추가적인 태양에 있어서,  $M_1$  및  $M_2$ 는, 코돈이  $AGM_3$ 으로 표시되는 코돈 박스를 구성하는 코돈의  $M_1$  및  $M_2$ 로부터 각각 선택될 수 있다. 구체적으로는, 당해 코돈에 있어서의 1문자체의 뉴클레오티드(A) 및 2문자체의 뉴클레오티드(G)를 각각  $M_1$  및  $M_2$ 로서 선택할 수 있다.
- [0335] 추가적인 태양에 있어서,  $M_1$  및  $M_2$ 는, 코돈이  $GAM_3$ 으로 표시되는 코돈 박스를 구성하는 코돈의  $M_1$  및  $M_2$ 로부터 각각 선택될 수 있다. 구체적으로는, 당해 코돈에 있어서의 1문자체의 뉴클레오티드(G) 및 2문자체의 뉴클레오티드(A)를 각각  $M_1$  및  $M_2$ 로서 선택할 수 있다.
- [0336] 본 개시의 tRNA에 있어서의 안티코돈의 3문자체의 뉴클레오티드( $N_3$ ) 및 2문자체의 뉴클레오티드( $N_2$ )는,  $M_1$  및  $M_2$ 와 각각 상보적인 뉴클레오티드로서 선택할 수 있다.
- [0337] 일 태양에 있어서,  $N_3$  및  $N_2$ 는, 코돈이  $UUM_3$ 으로 표시되는 코돈 박스를 구성하는 코돈에 있어서의 1문자체의 뉴클레오티드(U) 및 2문자체의 뉴클레오티드(U)와 각각 상보적인 뉴클레오티드로서 선택될 수 있다. 구체적으로는,  $N_3$ 으로서 A를,  $N_2$ 로서 A를 각각 선택할 수 있다.
- [0338] 일 태양에 있어서,  $N_3$  및  $N_2$ 는, 코돈이  $UAM_3$ 으로 표시되는 코돈 박스를 구성하는 코돈에 있어서의 1문자체의 뉴클레오티드(U) 및 2문자체의 뉴클레오티드(A)와 각각 상보적인 뉴클레오티드로서 선택될 수 있다. 구체적으로는,  $N_3$ 으로서 A를,  $N_2$ 로서 U를 각각 선택할 수 있다.
- [0339] 일 태양에 있어서,  $N_3$  및  $N_2$ 는, 코돈이  $UGM_3$ 으로 표시되는 코돈 박스를 구성하는 코돈에 있어서의 1문자체의 뉴클레오티드(U) 및 2문자체의 뉴클레오티드(G)와 각각 상보적인 뉴클레오티드로서 선택될 수 있다. 구체적으로는,  $N_3$ 으로서 A를,  $N_2$ 로서 C를 각각 선택할 수 있다.
- [0340] 일 태양에 있어서,  $N_3$  및  $N_2$ 는, 코돈이  $CAM_3$ 으로 표시되는 코돈 박스를 구성하는 코돈에 있어서의 1문자체의 뉴클레오티드(C) 및 2문자체의 뉴클레오티드(A)와 각각 상보적인 뉴클레오티드로서 선택될 수 있다. 구체적으로는,  $N_3$ 으로서 G를,  $N_2$ 로서 U를 각각 선택할 수 있다.
- [0341] 일 태양에 있어서,  $N_3$  및  $N_2$ 는, 코돈이  $CGM_3$ 으로 표시되는 코돈 박스를 구성하는 코돈에 있어서의 1문자체의 뉴클레오티드(C) 및 2문자체의 뉴클레오티드(G)와 각각 상보적인 뉴클레오티드로서 선택될 수 있다. 구체적으로는,  $N_3$ 으로서 G를,  $N_2$ 로서 C를 각각 선택할 수 있다.
- [0342] 일 태양에 있어서,  $N_3$  및  $N_2$ 는, 코돈이  $AUM_3$ 으로 표시되는 코돈 박스를 구성하는 코돈에 있어서의 1문자체의 뉴클레오티드(A) 및 2문자체의 뉴클레오티드(U)와 각각 상보적인 뉴클레오티드로서 선택될 수 있다. 구체적으로는,  $N_3$ 으로서 U를,  $N_2$ 로서 A를 각각 선택할 수 있다.
- [0343] 일 태양에 있어서,  $N_3$  및  $N_2$ 는, 코돈이  $ACM_3$ 으로 표시되는 코돈 박스를 구성하는 코돈에 있어서의 1문자체의 뉴클레오티드(A) 및 2문자체의 뉴클레오티드(C)와 각각 상보적인 뉴클레오티드로서 선택될 수 있다. 구체적으로는,  $N_3$ 으로서 U를,  $N_2$ 로서 G를 각각 선택할 수 있다.
- [0344] 일 태양에 있어서,  $N_3$  및  $N_2$ 는, 코돈이  $AAM_3$ 으로 표시되는 코돈 박스를 구성하는 코돈에 있어서의 1문자체의 뉴클레오티드(A) 및 2문자체의 뉴클레오티드(A)와 각각 상보적인 뉴클레오티드로서 선택될 수 있다. 구체적으로는,  $N_3$ 으로서 U를,  $N_2$ 로서 U를 각각 선택할 수 있다.
- [0345] 일 태양에 있어서,  $N_3$  및  $N_2$ 는, 코돈이  $AGM_3$ 으로 표시되는 코돈 박스를 구성하는 코돈에 있어서의 1문자체의 뉴클레오티드(A) 및 2문자체의 뉴클레오티드(G)와 각각 상보적인 뉴클레오티드로서 선택될 수 있다. 구체적으로는,  $N_3$ 으로서 U를,  $N_2$ 로서 C를 각각 선택할 수 있다.
- [0346] 일 태양에 있어서,  $N_3$  및  $N_2$ 는, 코돈이  $GAM_3$ 으로 표시되는 코돈 박스를 구성하는 코돈에 있어서의 1문자체의 뉴클레오티드(G) 및 2문자체의 뉴클레오티드(A)와 각각 상보적인 뉴클레오티드로서 선택될 수 있다. 구체적으로는,  $N_3$ 으로서 C를,  $N_2$ 로서 U를 각각 선택할 수 있다.

- [0347] 몇몇 태양에 있어서, 본 개시에 있어서의  $M_1M_2A$ 로 표시되는 코돈에 상보적인 안티코돈을 갖는 tRNA는, 다른 코돈에 비해,  $M_1M_2A$ 로 표시되는 코돈을 선택적으로 번역할 수 있다. 다른 코돈이란,  $M_1M_2A$ 로 표시되는 코돈과는 상이한 코돈, 예를 들어  $M_1M_2U$ ,  $M_1M_2C$ , 또는  $M_1M_2G$ 로 표시되는 코돈의 어느 것인가일 수 있다. 특정의 태양에 있어서, 본 개시에 있어서의  $M_1M_2A$ 로 표시되는 코돈에 상보적인 안티코돈을 갖는 tRNA는,  $M_1M_2U$ ,  $M_1M_2C$ , 및  $M_1M_2G$ 로 표시되는 어느 코돈과 비교해도,  $M_1M_2A$ 로 표시되는 코돈을 선택적으로 번역할 수 있다.
- [0348] 본 개시의 일 태양에 있어서, 어느 tRNA가,  $M_1M_2A$ 의 코돈을 선택적으로 번역할 수 있다는 것은, [당해 tRNA에 의한  $M_1M_2A$ 의 코돈의 번역량] 이, [당해 tRNA에 의한 다른 코돈의 번역량] 보다도, 예를 들어 2배 이상, 3배 이상, 4배 이상, 5배 이상, 6배 이상, 7배 이상, 8배 이상, 9배 이상, 10배 이상, 15배 이상, 20배 이상, 30배 이상, 40배 이상, 50배 이상, 60배 이상, 70배 이상, 80배 이상, 90배 이상, 혹은 100배 이상 많은 것을 의미한다. 일례로서, 어느 tRNA가 CUA로 표시되는 코돈을 선택적으로 번역할 수 있는지 여부는, [당해 tRNA에 의한 CUA의 코돈의 번역량] 이 [당해 tRNA에 의한 CUG의 코돈의 번역량] 보다도, 예를 들어 2배 이상, 3배 이상, 4배 이상, 5배 이상, 6배 이상, 7배 이상, 8배 이상, 9배 이상, 10배 이상, 15배 이상, 20배 이상, 30배 이상, 40배 이상, 50배 이상, 60배 이상, 70배 이상, 80배 이상, 90배 이상, 혹은 100배 이상 많은지 여부에 의해 판단할 수 있다.
- [0349] 어느 특정의 코돈(예를 들어  $M_1M_2A$ )이 번역되는 양과, 그 이외의 코돈(예를 들어  $M_1M_2G$ )이 번역되는 양을 비교할 때에는, 예를 들어, 어느 펩티드를 코딩하는 mRNA로서,  $M_1M_2A$ 의 코돈이 포함되어 있는 mRNA와,  $M_1M_2A$ 의 코돈이  $M_1M_2G$ 의 코돈으로 치환되어 있는 것 이외에는 모두 상기 mRNA와 동일한 핵산 서열을 갖는 별도의 mRNA를 준비하고, 동일한 조건하에서 그들 2개의 mRNA를 번역하여, 그 결과 얻어진 2개의 펩티드의 합성량을 비교하는 것에 의해 행할 수 있다.
- [0350] 다른 태양에 있어서,  $M_1M_2A$ 로 표시되는 코돈은, 다른 tRNA보다도, 본 개시에 있어서의  $M_1M_2A$ 로 표시되는 코돈에 상보적인 안티코돈을 갖는 tRNA에 의해 선택적으로 번역될 수 있다. 다른 tRNA란,  $M_1M_2A$ 로 표시되는 코돈과는 상이한 코돈에 상보적인 안티코돈을 갖는 tRNA, 예를 들어  $M_1M_2U$ ,  $M_1M_2C$ , 또는  $M_1M_2G$ 의 어느 것인가의 코돈에 상보적인 안티코돈을 갖는 tRNA일 수 있다. 특정의 태양에 있어서,  $M_1M_2A$ 로 표시되는 코돈은,  $M_1M_2U$ 의 코돈에 상보적인 안티코돈을 갖는 tRNA,  $M_1M_2C$ 의 코돈에 상보적인 안티코돈을 갖는 tRNA, 및  $M_1M_2G$ 의 코돈에 상보적인 안티코돈을 갖는 tRNA의 어느 tRNA보다도, 본 개시에 있어서의  $M_1M_2A$ 로 표시되는 코돈에 상보적인 안티코돈을 갖는 tRNA에 의해 선택적으로 번역될 수 있다.
- [0351] 본 개시의 일 태양에 있어서,  $M_1M_2A$ 로 표시되는 코돈이, 어느 tRNA에 의해 선택적으로 번역될 수 있다는 것은, [당해 tRNA에 의한  $M_1M_2A$ 의 코돈의 번역량] 이, [다른 tRNA에 의한  $M_1M_2A$ 의 코돈의 번역량] 보다도, 예를 들어 2배 이상, 3배 이상, 4배 이상, 5배 이상, 6배 이상, 7배 이상, 8배 이상, 9배 이상, 10배 이상, 15배 이상, 20배 이상, 30배 이상, 40배 이상, 50배 이상, 60배 이상, 70배 이상, 80배 이상, 90배 이상, 혹은 100배 이상 많은 것을 의미한다. 일례로서, CUA로 표시되는 코돈이, 어느 tRNA에 의해 선택적으로 번역될 수 있는지 여부는, [당해 tRNA에 의한 CUA의 코돈의 번역량] 이 [CUG의 코돈에 상보적인 안티코돈을 갖는 tRNA(예를 들어 CAG의 안티코돈을 갖는 tRNA)에 의한 CUA의 코돈의 번역량] 보다도, 예를 들어 2배 이상, 3배 이상, 4배 이상, 5배 이상, 6배 이상, 7배 이상, 8배 이상, 9배 이상, 10배 이상, 15배 이상, 20배 이상, 30배 이상, 40배 이상, 50배 이상, 60배 이상, 70배 이상, 80배 이상, 90배 이상, 혹은 100배 이상 많은지 여부에 의해 판단할 수 있다.
- [0352] 본 개시의 번역계는, 상기의 2개의 특징을 겸비하고 있어도 된다. 즉, 특정의 태양에 있어서, 본 개시의 번역계에 있어서는, (i)  $M_1M_2A$ 로 표시되는 코돈에 상보적인 안티코돈을 갖는 tRNA가, 다른 코돈에 비해,  $M_1M_2A$ 로 표시되는 코돈을 선택적으로 번역할 수 있고, 게다가, (ii)  $M_1M_2A$ 로 표시되는 코돈이, 다른 tRNA보다도,  $M_1M_2A$ 로 표시되는 코돈에 상보적인 안티코돈을 갖는 tRNA에 의해 선택적으로 번역될 수 있다. 이와 같은 관계가 성립하고 있는 경우, 본 개시의 번역계에 있어서는,  $M_1M_2A$ 로 표시되는 코돈에 상보적인 안티코돈을 갖는 tRNA를 이용한 펩티드 번역과 그 이외의 tRNA를 이용한 펩티드 번역이, 서로 상호작용을 일으키지 않는 독립된 관계, 즉 직교성을 갖는(오소고닐한) 관계에 있다고 할 수 있다. 천연에 존재하는 생물의 번역계에 있어서는, 본래, 코돈과 아미노산 사이에 엄밀한 대응 관계가 확립되어 있기 때문에, 직교성이 없는 tRNA가 거기에 가해지는 것에 의해,

그 대응 관계가 무너져, 번역계의 기능에 치명적인 영향이 나올 우려가 있다. 따라서, 본 개시의 번역계에 있어서,  $M_1M_2A$ 로 표시되는 코돈에 상보적인 안티코돈을 갖는 tRNA와 그 이외의 tRNA 사이에 직교성이 확립되어 있는 것은, 중요한 특징의 하나가 될 수 있다.

[0353] 일 태양에 있어서, 본 개시에 있어서의 번역계는, (a)  $M_1M_2A$ 로 표시되는 코돈에 상보적인 안티코돈을 갖는 tRNA, 및 (b)  $M_1M_2G$ 로 표시되는 코돈에 상보적인 안티코돈을 갖는 tRNA의 적어도 2개의 tRNA를 포함한다. 본 개시에 있어서의  $M_1M_2A$ 로 표시되는 코돈에 상보적인 안티코돈을 갖는 tRNA 및  $M_1M_2G$ 로 표시되는 코돈에 상보적인 안티코돈을 갖는 tRNA는, 안티코돈 이외의 핵산 서열이 함께 동일해지고, 서로 상이해진다. 안티코돈 이외의 핵산 서열이 동일한 경우, 이들 2개의 tRNA의 물리화학적 성질이 서로 유사한 것이 될 수 있기 때문에, 반응성이 보다 균질하여 안정된 번역계를 구축할 수 있을 가능성이 있다.

[0354] 몇몇 태양에 있어서, 본 개시에 있어서의  $M_1M_2G$ 로 표시되는 코돈에 상보적인 안티코돈을 갖는 tRNA는, 다른 코돈에 비해,  $M_1M_2G$ 로 표시되는 코돈을 선택적으로 번역할 수 있다. 다른 코돈이란,  $M_1M_2G$ 로 표시되는 코돈과는 상이한 코돈, 예를 들어  $M_1M_2U$ ,  $M_1M_2C$ , 또는  $M_1M_2A$ 로 표시되는 코돈의 어느 것인가일 수 있다. 특징의 태양에 있어서, 본 개시에 있어서의  $M_1M_2G$ 로 표시되는 코돈에 상보적인 안티코돈을 갖는 tRNA는,  $M_1M_2U$ ,  $M_1M_2C$ , 및  $M_1M_2A$ 로 표시되는 어느 코돈과 비교해도,  $M_1M_2G$ 로 표시되는 코돈을 선택적으로 번역할 수 있다.

[0355] 본 개시의 일 태양에 있어서, 어느 tRNA가,  $M_1M_2G$ 의 코돈을 선택적으로 번역할 수 있다는 것은, [당해 tRNA에 의한  $M_1M_2G$ 의 코돈의 번역량] 이, [당해 tRNA에 의한 다른 코돈의 번역량] 보다도, 예를 들어 2배 이상, 3배 이상, 4배 이상, 5배 이상, 6배 이상, 7배 이상, 8배 이상, 9배 이상, 10배 이상, 15배 이상, 20배 이상, 30배 이상, 40배 이상, 50배 이상, 60배 이상, 70배 이상, 80배 이상, 90배 이상, 혹은 100배 이상 많은 것을 의미한다. 일례로서, 어느 tRNA가 CUG로 표시되는 코돈을 선택적으로 번역할 수 있는지 여부는, [당해 tRNA에 의한 CUG의 코돈의 번역량] 이 [당해 tRNA에 의한 CUA의 코돈의 번역량] 보다도, 예를 들어 2배 이상, 3배 이상, 4배 이상, 5배 이상, 6배 이상, 7배 이상, 8배 이상, 9배 이상, 10배 이상, 15배 이상, 20배 이상, 30배 이상, 40배 이상, 50배 이상, 60배 이상, 70배 이상, 80배 이상, 90배 이상, 혹은 100배 이상 많은지 여부에 의해 판단할 수 있다.

[0356] 다른 태양에 있어서,  $M_1M_2G$ 로 표시되는 코돈은, 다른 tRNA보다도, 본 개시에 있어서의  $M_1M_2G$ 로 표시되는 코돈에 상보적인 안티코돈을 갖는 tRNA에 의해 선택적으로 번역될 수 있다. 다른 tRNA란,  $M_1M_2G$ 로 표시되는 코돈과는 상이한 코돈에 상보적인 안티코돈을 갖는 tRNA, 예를 들어  $M_1M_2U$ ,  $M_1M_2C$ , 또는  $M_1M_2A$ 의 어느 것인가의 코돈에 상보적인 안티코돈을 갖는 tRNA일 수 있다. 특징의 태양에 있어서,  $M_1M_2G$ 로 표시되는 코돈은,  $M_1M_2U$ 의 코돈에 상보적인 안티코돈을 갖는 tRNA,  $M_1M_2C$ 의 코돈에 상보적인 안티코돈을 갖는 tRNA, 및  $M_1M_2A$ 의 코돈에 상보적인 안티코돈을 갖는 tRNA의 어느 tRNA보다도, 본 개시에 있어서의  $M_1M_2G$ 로 표시되는 코돈에 상보적인 안티코돈을 갖는 tRNA에 의해 선택적으로 번역될 수 있다.

[0357] 본 개시의 일 태양에 있어서,  $M_1M_2G$ 로 표시되는 코돈이, 어느 tRNA에 의해 선택적으로 번역될 수 있다는 것은, [당해 tRNA에 의한  $M_1M_2G$ 의 코돈의 번역량] 이, [다른 tRNA에 의한  $M_1M_2G$ 의 코돈의 번역량] 보다도, 예를 들어 2배 이상, 3배 이상, 4배 이상, 5배 이상, 6배 이상, 7배 이상, 8배 이상, 9배 이상, 10배 이상, 15배 이상, 20배 이상, 30배 이상, 40배 이상, 50배 이상, 60배 이상, 70배 이상, 80배 이상, 90배 이상, 혹은 100배 이상 많은 것을 의미한다. 일례로서 CUG로 표시되는 코돈이, 어느 tRNA에 의해 선택적으로 번역될 수 있는지 여부는, [당해 tRNA에 의한 CUG의 코돈의 번역량] 이 [CUA의 코돈에 상보적인 안티코돈을 갖는 tRNA(예를 들어 UAG의 안티코돈을 갖는 tRNA)에 의한 CUG의 코돈의 번역량] 보다도, 예를 들어 2배 이상, 3배 이상, 4배 이상, 5배 이상, 6배 이상, 7배 이상, 8배 이상, 9배 이상, 10배 이상, 15배 이상, 20배 이상, 30배 이상, 40배 이상, 50배 이상, 60배 이상, 70배 이상, 80배 이상, 90배 이상, 혹은 100배 이상 많은지 여부에 의해 판단할 수 있다.

[0358] 본 개시의 번역계는, 상기의 2개의 특징을 겸비하고 있어도 된다. 즉, 특징의 태양에 있어서, 본 개시의 번역계에 있어서, (i)  $M_1M_2G$ 로 표시되는 코돈에 상보적인 안티코돈을 갖는 tRNA가, 다른 코돈에 비해,  $M_1M_2G$ 로 표시되는 코돈을 선택적으로 번역할 수 있고, 게다가, (ii)  $M_1M_2G$ 로 표시되는 코돈이, 다른 tRNA보다도,  $M_1M_2G$ 로 표시되는 코돈에 상보적인 안티코돈을 갖는 tRNA에 의해 선택적으로 번역될 수 있다. 이와 같은 관계가 성립하

고 있는 경우, 본 개시의 번역계에 있어서는,  $M_1M_2G$ 로 표시되는 코돈에 상보적인 안티코돈을 갖는 tRNA를 이용한 펩티드 번역과 그 이외의 tRNA를 이용한 펩티드 번역이, 서로 상호작용을 일으키지 않는 독립된 관계, 즉 직교성을 갖는(오소고닐한) 관계에 있다고 할 수 있다. 본 개시의 번역계에 있어서,  $M_1M_2G$ 로 표시되는 코돈에 상보적인 안티코돈을 갖는 tRNA와 그 이외의 tRNA의 사이에 직교성이 확립되어 있는 것은, 중요한 특징의 하나가 될 수 있다.

[0359] 추가적인 태양에 있어서, 본 개시에 있어서의  $M_1M_2A$ 로 표시되는 코돈에 상보적인 안티코돈을 갖는 tRNA에 결합하고 있는 아미노산(이후, 본 아미노산을 “아미노산-A” 라고도 표기한다)과,  $M_1M_2G$ 로 표시되는 코돈에 상보적인 안티코돈을 갖는 tRNA에 결합하고 있는 아미노산(이후, 본 아미노산을 “아미노산-G” 라고도 표기한다)은, 아미노산의 종류가 서로 상이하다. 본 개시에 있어서의  $M_1M_2A$ 로 표시되는 코돈에 상보적인 안티코돈을 갖는 tRNA와  $M_1M_2G$ 로 표시되는 코돈에 상보적인 안티코돈을 갖는 tRNA에 관해서, 전술과 같은 오소고닐한 관계가 성립하고 있는 경우, 본번역계에 있어서는,  $M_1M_2A$ 의 코돈과 아미노산-A, 및  $M_1M_2G$ 의 코돈과 아미노산-G는 모두 일대일의 대응 관계에 있다. 즉, 본 개시의 번역계에 있어서는, 동일한 코돈 박스 내에 존재하는 (i)  $M_1M_2A$  및 (ii)  $M_1M_2G$ 의 2개의 코돈으로부터, 2종류의 상이한 아미노산을 번역하는 것이 가능하다.

[0360] 일 태양에 있어서, 본 개시에 있어서의 번역계는, (a)  $M_1M_2A$ 로 표시되는 코돈에 상보적인 안티코돈을 갖는 tRNA, (b)  $M_1M_2G$ 로 표시되는 코돈에 상보적인 안티코돈을 갖는 tRNA, 및 (c)  $M_1M_2U$ 로 표시되는 코돈에 상보적인 안티코돈을 갖는 tRNA의 적어도 3개의 tRNA를 포함한다. 본 개시에 있어서의  $M_1M_2A$ 로 표시되는 코돈에 상보적인 안티코돈을 갖는 tRNA,  $M_1M_2G$ 로 표시되는 코돈에 상보적인 안티코돈을 갖는 tRNA, 및  $M_1M_2U$ 로 표시되는 코돈에 상보적인 안티코돈을 갖는 tRNA는, 안티코돈 이외의 핵산 서열이 모두 동일해도 되고, 서로 상이해도 된다. 안티코돈 이외의 핵산 서열이 동일한 경우, 이들 3개의 tRNA의 물리화학적 성질이 서로 유사한 것이 될 수 있기 때문에, 반응성이 보다 균질하여 안정된 번역계를 구축할 수 있을 가능성이 있다.

[0361] 몇몇 태양에 있어서, 본 개시에 있어서의  $M_1M_2U$ 로 표시되는 코돈에 상보적인 안티코돈을 갖는 tRNA는, 다른 코돈에 비해,  $M_1M_2U$ 로 표시되는 코돈을 선택적으로 번역할 수 있다. 다른 코돈이란,  $M_1M_2U$ 로 표시되는 코돈과는 상이한 코돈, 예를 들어  $M_1M_2A$  또는  $M_1M_2G$ 로 표시되는 코돈의 어느 것인가일 수 있다. 특정의 태양에 있어서, 본 개시에 있어서의  $M_1M_2U$ 로 표시되는 코돈에 상보적인 안티코돈을 갖는 tRNA는,  $M_1M_2A$  및  $M_1M_2G$ 로 표시되는 어느 코돈과 비교해도,  $M_1M_2U$ 로 표시되는 코돈을 선택적으로 번역할 수 있다.

[0362] 본 개시의 일 태양에 있어서, 어느 tRNA가,  $M_1M_2U$ 의 코돈을 선택적으로 번역할 수 있다는 것은, [당해 tRNA에 의한  $M_1M_2U$ 의 코돈의 번역량] 이, [당해 tRNA에 의한 다른 코돈의 번역량] 보다도, 예를 들어 2배 이상, 3배 이상, 4배 이상, 5배 이상, 6배 이상, 7배 이상, 8배 이상, 9배 이상, 10배 이상, 15배 이상, 20배 이상, 30배 이상, 40배 이상, 50배 이상, 60배 이상, 70배 이상, 80배 이상, 90배 이상, 혹은 100배 이상 많은 것을 의미한다. 일례로서, 어느 tRNA가 CUU로 표시되는 코돈을 선택적으로 번역할 수 있는지 여부는, [당해 tRNA에 의한 CUU의 코돈의 번역량] 이 [당해 tRNA에 의한 CUA의 코돈의 번역량] 보다도, 예를 들어 2배 이상, 3배 이상, 4배 이상, 5배 이상, 6배 이상, 7배 이상, 8배 이상, 9배 이상, 10배 이상, 15배 이상, 20배 이상, 30배 이상, 40배 이상, 50배 이상, 60배 이상, 70배 이상, 80배 이상, 90배 이상, 혹은 100배 이상 많은지 여부에 의해 판단할 수 있다.

[0363] 다른 태양에 있어서,  $M_1M_2U$ 로 표시되는 코돈은, 다른 tRNA보다도, 본 개시에 있어서의  $M_1M_2U$ 로 표시되는 코돈에 상보적인 안티코돈을 갖는 tRNA에 의해 선택적으로 번역될 수 있다. 다른 tRNA란,  $M_1M_2U$ 로 표시되는 코돈과는 상이한 코돈에 상보적인 안티코돈을 갖는 tRNA, 예를 들어  $M_1M_2A$  또는  $M_1M_2G$ 의 어느 것인가의 코돈에 상보적인 안티코돈을 갖는 tRNA일 수 있다. 특정의 태양에 있어서,  $M_1M_2U$ 로 표시되는 코돈은,  $M_1M_2A$ 의 코돈에 상보적인 안티코돈을 갖는 tRNA 및  $M_1M_2G$ 의 코돈에 상보적인 안티코돈을 갖는 tRNA의 어느 tRNA보다도, 본 개시에 있어서의  $M_1M_2U$ 로 표시되는 코돈에 상보적인 안티코돈을 갖는 tRNA에 의해 선택적으로 번역될 수 있다.

[0364] 본 개시의 일 태양에 있어서,  $M_1M_2U$ 로 표시되는 코돈이, 어느 tRNA에 의해 선택적으로 번역될 수 있다는 것은,

[당해 tRNA에 의한  $M_1M_2U$ 의 코돈의 번역량] 이, [다른 tRNA에 의한  $M_1M_2U$ 의 코돈의 번역량] 보다도, 예를 들어 2배 이상, 3배 이상, 4배 이상, 5배 이상, 6배 이상, 7배 이상, 8배 이상, 9배 이상, 10배 이상, 15배 이상, 20배 이상, 30배 이상, 40배 이상, 50배 이상, 60배 이상, 70배 이상, 80배 이상, 90배 이상, 혹은 100배 이상 많은 것을 의미한다. 일례로서, CUU로 표시되는 코돈이, 어느 tRNA에 의해 선택적으로 번역될 수 있는지 여부는, [당해 tRNA에 의한 CUU의 코돈의 번역량] 이 [CUA의 코돈에 상보적인 안티코돈을 갖는 tRNA(예를 들어 UAG의 안티코돈을 갖는 tRNA)에 의한 CUU의 코돈의 번역량] 보다도, 예를 들어 2배 이상, 3배 이상, 4배 이상, 5배 이상, 6배 이상, 7배 이상, 8배 이상, 9배 이상, 10배 이상, 15배 이상, 20배 이상, 30배 이상, 40배 이상, 50배 이상, 60배 이상, 70배 이상, 80배 이상, 90배 이상, 혹은 100배 이상 많은지 여부에 의해 판단할 수 있다.

[0365] 본 개시의 번역계는, 상기의 2개의 특징을 겸비하고 있어도 된다. 즉, 특징의 태양에 있어서, 본 개시의 번역계에 있어서는, (i)  $M_1M_2U$ 로 표시되는 코돈에 상보적인 안티코돈을 갖는 tRNA가, 다른 코돈에 비해,  $M_1M_2U$ 로 표시되는 코돈을 선택적으로 번역할 수 있고, 게다가, (ii)  $M_1M_2U$ 로 표시되는 코돈이, 다른 tRNA보다도,  $M_1M_2U$ 로 표시되는 코돈에 상보적인 안티코돈을 갖는 tRNA에 의해 선택적으로 번역될 수 있다. 이와 같은 관계가 성립하고 있는 경우, 본 개시의 번역계에 있어서는,  $M_1M_2U$ 로 표시되는 코돈에 상보적인 안티코돈을 갖는 tRNA를 이용한 펩티드 번역과 그 이외의 tRNA를 이용한 펩티드 번역이, 서로 상호작용을 일으키지 않는 독립된 관계, 즉 직교성을 갖는(오소고닐한) 관계에 있다고 할 수 있다. 본 개시의 번역계에 있어서,  $M_1M_2U$ 로 표시되는 코돈에 상보적인 안티코돈을 갖는 tRNA와 그 이외의 tRNA 사이에 직교성이 확립되어 있는 것은, 중요한 특징의 하나가 될 수 있다.

[0366] 추가적인 태양에 있어서, 본 개시에 있어서의  $M_1M_2A$ 로 표시되는 코돈에 상보적인 안티코돈을 갖는 tRNA에 결합하고 있는 아미노산(“아미노산-A”),  $M_1M_2G$ 로 표시되는 코돈에 상보적인 안티코돈을 갖는 tRNA에 결합하고 있는 아미노산(“아미노산-G”), 및  $M_1M_2U$ 로 표시되는 코돈에 상보적인 안티코돈을 갖는 tRNA에 결합하고 있는 아미노산(이후, 본 아미노산을 “아미노산-U” 라고도 표기한다)은, 아미노산의 종류가 모두 서로 상이하다. 본 개시에 있어서의  $M_1M_2A$ 로 표시되는 코돈에 상보적인 안티코돈을 갖는 tRNA,  $M_1M_2G$ 로 표시되는 코돈에 상보적인 안티코돈을 갖는 tRNA, 및  $M_1M_2U$ 로 표시되는 코돈에 상보적인 안티코돈을 갖는 tRNA에 관해서, 전술과 같은 오소고닐한 관계가 성립하고 있는 경우, 본 번역계에 있어서는,  $M_1M_2A$ 의 코돈과 아미노산-A,  $M_1M_2G$ 의 코돈과 아미노산-G, 및  $M_1M_2U$ 의 코돈과 아미노산-U는 모두 일대일의 대응 관계에 있다. 즉, 본 개시의 번역계에 있어서는, 동일한 코돈 박스 내에 존재하는 (i)  $M_1M_2A$ , (ii)  $M_1M_2G$ , 및 (iii)  $M_1M_2U$ 의 3개의 코돈으로부터, 3종류의 상이한 아미노산을 번역하는 것이 가능하다. 혹은, 본 개시의 번역계에 있어서는,  $M_1M_2U$ ,  $M_1M_2C$ ,  $M_1M_2A$ , 및  $M_1M_2G$ 에 의해 구성되는 코돈 박스로부터, 3종류의 상이한 아미노산을 번역하는 것이 가능하다.

[0367] 일 태양에 있어서, 본 개시에 있어서의 번역계는, (a)  $M_1M_2A$ 로 표시되는 코돈에 상보적인 안티코돈을 갖는 tRNA, (b)  $M_1M_2G$ 로 표시되는 코돈에 상보적인 안티코돈을 갖는 tRNA, 및 (c)  $M_1M_2C$ 로 표시되는 코돈에 상보적인 안티코돈을 갖는 tRNA의 적어도 3개의 tRNA를 포함한다. 본 개시에 있어서의  $M_1M_2A$ 로 표시되는 코돈에 상보적인 안티코돈을 갖는 tRNA,  $M_1M_2G$ 로 표시되는 코돈에 상보적인 안티코돈을 갖는 tRNA, 및  $M_1M_2C$ 로 표시되는 코돈에 상보적인 안티코돈을 갖는 tRNA는, 안티코돈 이외의 핵산 서열이 모두 동일해도 되고, 서로 상이해도 된다. 안티코돈 이외의 핵산 서열이 동일한 경우, 이들 3개의 tRNA의 물리화학적 성질이 서로 유사한 것이 될 수 있기 때문에, 반응성이 보다 균질하여 안정된 번역계를 구축할 수 있을 가능성이 있다.

[0368] 몇몇 태양에 있어서, 본 개시에 있어서의  $M_1M_2C$ 로 표시되는 코돈에 상보적인 안티코돈을 갖는 tRNA는, 다른 코돈에 비해,  $M_1M_2C$ 로 표시되는 코돈을 선택적으로 번역할 수 있다. 다른 코돈이란,  $M_1M_2C$ 로 표시되는 코돈과는 상이한 코돈, 예를 들어  $M_1M_2A$  또는  $M_1M_2G$ 로 표시되는 코돈의 어느 것인가일 수 있다. 특징의 태양에 있어서, 본 개시에 있어서의  $M_1M_2C$ 로 표시되는 코돈에 상보적인 안티코돈을 갖는 tRNA는,  $M_1M_2A$  및  $M_1M_2G$ 로 표시되는 어느 코돈과 비교해도,  $M_1M_2C$ 로 표시되는 코돈을 선택적으로 번역할 수 있다.

[0369] 본 개시의 일 태양에 있어서, 어느 tRNA가,  $M_1M_2C$ 의 코돈을 선택적으로 번역할 수 있다는 것은, [당해 tRNA에 의한  $M_1M_2C$ 의 코돈의 번역량] 이, [당해 tRNA에 의한 다른 코돈의 번역량] 보다도, 예를 들어 2배 이상, 3배 이

상, 4배 이상, 5배 이상, 6배 이상, 7배 이상, 8배 이상, 9배 이상, 10배 이상, 15배 이상, 20배 이상, 30배 이상, 40배 이상, 50배 이상, 60배 이상, 70배 이상, 80배 이상, 90배 이상, 혹은 100배 이상 많은 것을 의미한다. 일례로서, 어느 tRNA가 CUC로 표시되는 코돈을 선택적으로 번역할 수 있는지 여부는, [당해 tRNA에 의한 CUC의 코돈의 번역량]이 [당해 tRNA에 의한 CUA의 코돈의 번역량]보다도, 예를 들어 2배 이상, 3배 이상, 4배 이상, 5배 이상, 6배 이상, 7배 이상, 8배 이상, 9배 이상, 10배 이상, 15배 이상, 20배 이상, 30배 이상, 40배 이상, 50배 이상, 60배 이상, 70배 이상, 80배 이상, 90배 이상, 혹은 100배 이상 많은지 여부에 의해 판단할 수 있다.

[0370] 다른 태양에 있어서,  $M_1M_2C$ 로 표시되는 코돈은, 다른 tRNA보다도, 본 개시에 있어서의  $M_1M_2C$ 로 표시되는 코돈에 상보적인 안티코돈을 갖는 tRNA에 의해 선택적으로 번역될 수 있다. 다른 tRNA란,  $M_1M_2C$ 로 표시되는 코돈과는 상이한 코돈에 상보적인 안티코돈을 갖는 tRNA, 예를 들어  $M_1M_2A$  또는  $M_1M_2G$ 의 어느 것인가의 코돈에 상보적인 안티코돈을 갖는 tRNA일 수 있다. 특정의 태양에 있어서,  $M_1M_2C$ 로 표시되는 코돈은,  $M_1M_2A$ 의 코돈에 상보적인 안티코돈을 갖는 tRNA 및  $M_1M_2G$ 의 코돈에 상보적인 안티코돈을 갖는 tRNA의 어느 tRNA보다도, 본 개시에 있어서의  $M_1M_2C$ 로 표시되는 코돈에 상보적인 안티코돈을 갖는 tRNA에 의해 선택적으로 번역될 수 있다.

[0371] 본 개시의 일 태양에 있어서,  $M_1M_2C$ 로 표시되는 코돈이, 어느 tRNA에 의해 선택적으로 번역될 수 있다는 것은, [당해 tRNA에 의한  $M_1M_2C$ 의 코돈의 번역량]이, [다른 tRNA에 의한  $M_1M_2C$ 의 코돈의 번역량]보다도, 예를 들어 2배 이상, 3배 이상, 4배 이상, 5배 이상, 6배 이상, 7배 이상, 8배 이상, 9배 이상, 10배 이상, 15배 이상, 20배 이상, 30배 이상, 40배 이상, 50배 이상, 60배 이상, 70배 이상, 80배 이상, 90배 이상, 혹은 100배 이상 많은 것을 의미한다. 일례로서, CUC로 표시되는 코돈이, 어느 tRNA에 의해 선택적으로 번역될 수 있는지 여부는, [당해 tRNA에 의한 CUC의 코돈의 번역량]이 [CUA의 코돈에 상보적인 안티코돈을 갖는 tRNA(예를 들어 UAG의 안티코돈을 갖는 tRNA)에 의한 CUC의 코돈의 번역량]보다도, 예를 들어 2배 이상, 3배 이상, 4배 이상, 5배 이상, 6배 이상, 7배 이상, 8배 이상, 9배 이상, 10배 이상, 15배 이상, 20배 이상, 30배 이상, 40배 이상, 50배 이상, 60배 이상, 70배 이상, 80배 이상, 90배 이상, 혹은 100배 이상 많은지 여부에 의해 판단할 수 있다.

[0372] 본 개시의 번역계는, 상기의 2개의 특징을 겸비하고 있어도 된다. 즉, 특정의 태양에 있어서, 본 개시의 번역계에 있어서는, (i)  $M_1M_2C$ 로 표시되는 코돈에 상보적인 안티코돈을 갖는 tRNA가, 다른 코돈에 비해,  $M_1M_2C$ 로 표시되는 코돈을 선택적으로 번역할 수 있고, 게다가, (ii)  $M_1M_2C$ 로 표시되는 코돈이, 다른 tRNA보다도,  $M_1M_2C$ 로 표시되는 코돈에 상보적인 안티코돈을 갖는 tRNA에 의해 선택적으로 번역될 수 있다. 이와 같은 관계가 성립하고 있는 경우, 본 개시의 번역계에 있어서는,  $M_1M_2C$ 로 표시되는 코돈에 상보적인 안티코돈을 갖는 tRNA를 이용한 펩티드 번역과 그 이외의 tRNA를 이용한 펩티드 번역이, 서로 상호작용을 일으키지 않는 독립된 관계, 즉 직교성을 갖는(오소고닐한) 관계에 있다고 할 수 있다. 본 개시의 번역계에 있어서,  $M_1M_2C$ 로 표시되는 코돈에 상보적인 안티코돈을 갖는 tRNA와 그 이외의 tRNA와의 사이에 직교성이 확립되어 있는 것은, 중요한 특징의 하나가 될 수 있다.

[0373] 추가적인 태양에 있어서, 본 개시에 있어서의  $M_1M_2A$ 로 표시되는 코돈에 상보적인 안티코돈을 갖는 tRNA에 결합하고 있는 아미노산(“아미노산-A”),  $M_1M_2G$ 로 표시되는 코돈에 상보적인 안티코돈을 갖는 tRNA에 결합하고 있는 아미노산(“아미노산-G”), 및  $M_1M_2C$ 로 표시되는 코돈에 상보적인 안티코돈을 갖는 tRNA에 결합하고 있는 아미노산(이후, 본 아미노산을 “아미노산-C”라고도 표기한다)은, 아미노산의 종류가 모두 서로 상이하다. 본 개시에 있어서의  $M_1M_2A$ 로 표시되는 코돈에 상보적인 안티코돈을 갖는 tRNA,  $M_1M_2G$ 로 표시되는 코돈에 상보적인 안티코돈을 갖는 tRNA, 및  $M_1M_2C$ 로 표시되는 코돈에 상보적인 안티코돈을 갖는 tRNA에 관해서, 전술과 같은 오소고닐한 관계가 성립하고 있는 경우, 본 번역계에 있어서는,  $M_1M_2A$ 의 코돈과 아미노산-A,  $M_1M_2G$ 의 코돈과 아미노산-G, 및  $M_1M_2C$ 의 코돈과 아미노산-C는 모두 일대일의 대응 관계에 있다. 즉, 본 개시의 번역계에 있어서는, 동일한 코돈 박스 내에 존재하는 (i)  $M_1M_2A$ , (ii)  $M_1M_2G$ , 및 (iii)  $M_1M_2C$ 의 3개의 코돈으로부터, 3종류의 상이한 아미노산을 번역하는 것이 가능하다. 혹은, 본 개시의 번역계에 있어서는,  $M_1M_2U$ ,  $M_1M_2C$ ,  $M_1M_2A$ , 및  $M_1M_2G$ 에 의해 구성되는 코돈 박스로부터, 3종류의 상이한 아미노산을 번역하는 것이 가능하다.

[0374] 몇몇 태양에 있어서, 본 개시에 있어서의  $M_1M_2A$ 로 표시되는 코돈에 상보적인 안티코돈을 갖는 tRNA,  $M_1M_2G$ 로 표

시되는 코돈에 상보적인 안티코돈을 갖는 tRNA,  $M_1M_2U$ 로 표시되는 코돈에 상보적인 안티코돈을 갖는 tRNA, 및  $M_1M_2C$ 로 표시되는 코돈에 상보적인 안티코돈을 갖는 tRNA 중, 적어도 1개에 비천연 아미노산이 결합하고 있어도 된다.

[0375] 몇몇 태양에 있어서, 유전 암호표에 있어서의 적어도 1개의 코돈 박스를 구성하는 코돈에, 본 개시의 tRNA가 할당되어 있어도 된다. 추가적인 태양에 있어서, 유전 암호표에 있어서의 복수의 코돈 박스를 구성하는 코돈에, 본 개시의 tRNA가 할당되어 있어도 된다. 복수의 코돈 박스로서는, 예를 들어 2개, 3개, 4개, 5개, 6개, 7개, 8개, 9개, 10개, 11개, 12개, 13개, 14개, 15개, 또는 16개의 코돈 박스일 수 있다. 각각의 tRNA가 어느 코돈 박스를 구성하는 코돈에 할당되는지 여부는, 당해 tRNA가 가지는 안티코돈의 2문자쌍의 뉴클레오티드( $N_2$ ) 및 3문자쌍의 뉴클레오티드( $N_3$ )에 의해 결정된다. 상이한 코돈 박스를 구성하는 코돈에 할당되는 tRNA끼리이면, 서로 상이한  $N_2$  및  $N_3$ 을 갖고 있다. 또한, 상이한 코돈 박스를 구성하는 코돈에 할당되는 tRNA끼리는, 안티코돈 이외의 핵산 서열이 동일해도 되고, 서로 상이해도 된다. 안티코돈 이외의 핵산 서열이 동일한 경우, 이들의 tRNA의 물리화학적 성질이 서로 유사한 것이 될 수 있기 때문에, 반응성이 보다 균질하여 안정된 번역계를 구축할 수 있을 가능성이 있다.

[0376] 특정의 태양에 있어서, 유전 암호표에 있어서의 이하의 (i)~(x)으로부터 선택되는 적어도 1개의 코돈 박스를 구성하는 코돈에, 본 개시의 tRNA가 할당되어 있어도 된다. 추가적인 태양에 있어서, 유전 암호표에 있어서의 이하의 (i)~(x)으로부터 선택되는 적어도 2개, 3개, 4개, 5개, 6개, 7개, 8개, 9개, 또는 10개의 코돈 박스를 구성하는 코돈에, 본 개시의 tRNA가 할당되어 있어도 된다.

[0377] (i) 코돈이  $UUM_3$ 으로 표시되는 코돈 박스,

[0378] (ii) 코돈이  $UAM_3$ 으로 표시되는 코돈 박스,

[0379] (iii) 코돈이  $UGM_3$ 으로 표시되는 코돈 박스,

[0380] (iv) 코돈이  $CAM_3$ 으로 표시되는 코돈 박스,

[0381] (v) 코돈이  $CGM_3$ 으로 표시되는 코돈 박스,

[0382] (vi) 코돈이  $AUM_3$ 으로 표시되는 코돈 박스,

[0383] (vii) 코돈이  $ACM_3$ 으로 표시되는 코돈 박스,

[0384] (viii) 코돈이  $AAM_3$ 으로 표시되는 코돈 박스,

[0385] (ix) 코돈이  $AGM_3$ 으로 표시되는 코돈 박스,

[0386] (x) 코돈이  $GAM_3$ 으로 표시되는 코돈 박스.

[0387] 특정의 태양에 있어서, 유전 암호표에 있어서의 이하의 (i)~(vii)로부터 선택되는 적어도 1개의 코돈 박스를 구성하는 코돈에, 본 개시의 tRNA가 할당되어 있어도 된다. 추가적인 태양에 있어서, 유전 암호표에 있어서의 이하의 (i)~(vii)로부터 선택되는 적어도 2개, 3개, 4개, 5개, 6개, 또는 7개의 코돈 박스를 구성하는 코돈에, 본 개시의 tRNA가 할당되어 있어도 된다.

[0388] (i) 코돈이  $UUM_3$ 으로 표시되는 코돈 박스,

[0389] (ii) 코돈이  $UGM_3$ 으로 표시되는 코돈 박스,

[0390] (iii) 코돈이  $CAM_3$ 으로 표시되는 코돈 박스,

[0391] (iv) 코돈이  $CGM_3$ 으로 표시되는 코돈 박스,

[0392] (v) 코돈이  $AAM_3$ 으로 표시되는 코돈 박스,

[0393] (vi) 코돈이  $AGM_3$ 으로 표시되는 코돈 박스,

- [0394] (vii) 코돈이  $GAM_3$ 으로 표시되는 코돈 박스.
- [0395] 몇몇 태양에 있어서, 본 개시의 tRNA가 할당되지 않았던 나머지의 코돈 박스를 구성하는 코돈에 대해서는, 임의의 tRNA를 할당할 수 있다. 바람직하게는, 나머지의 코돈 박스를 구성하는 코돈에 대해서, 각 코돈을 어떠한 아미노산으로 번역 가능한 임의의 tRNA 세트를 할당할 수 있다. 그와 같은 tRNA 세트는, 천연 tRNA에서 유래하는 것이어도 되고, 인공적으로 합성된 tRNA여도 된다.
- [0396] 몇몇 태양에 있어서, 본 개시의 번역계로부터, 1종류, 2종류, 3종류, 4종류, 5종류, 6종류, 7종류, 8종류, 9종류, 10종류, 11종류, 12종류, 13종류, 14종류, 15종류, 16종류, 17종류, 18종류, 19종류, 또는 20종류의 아미노산 또는 아미노산 유연체를 번역할 수 있다. 혹은, 본 개시의 tRNA를 이용하여, 1개의 코돈 박스에 있어서의  $M_1M_2A$ 와  $M_1M_2G$ 의 코돈,  $M_1M_2U$ ,  $M_1M_2A$  및  $M_1M_2G$ 의 코돈, 또는  $M_1M_2C$ ,  $M_1M_2A$  및  $M_1M_2G$ 의 코돈의 판독을 행하면, 20종류보다 많은 아미노산 또는 아미노산 유연체를 번역하는 것도 가능하다. 추가적인 태양에 있어서, 본 개시의 번역계로부터, 예를 들어 21종류, 22종류, 23종류, 24종류, 25종류, 26종류, 27종류, 28종류, 29종류, 30종류, 31종류, 32종류, 33종류, 34종류, 35종류, 36종류, 37종류, 38종류, 39종류, 40종류, 41종류, 42종류, 43종류, 44종류, 45종류, 46종류, 47종류, 또는 48종류의 아미노산 또는 아미노산 유연체를 번역하는 것이 가능하다.
- [0397] 몇몇 태양에 있어서, 본 개시의 번역계는, 무세포 번역계이다. 추가적인 태양에 있어서, 본 개시의 번역계는, 재구성형의 무세포 번역계이다. 무세포 번역계에 있어서의 세포 추출액이나 펩티드 번역에 필요한 인자(예를 들어 리보솜 등)는, 여러 가지 생물 재료에서 유래하는 것을 이용할 수 있다. 그와 같은 생물 재료로서 예를 들어, 대장균, 효모, 소맥 배아, 토끼 망상 적혈구, HeLa 세포, 혹은 곤충 세포 등을 들 수 있다. 몇몇 태양에 있어서, 본 개시의 무세포 번역계는, 대장균 유래의 리보솜을 포함한다.
- [0398] 몇몇 태양에 있어서 본 개시의 번역계는, 1코돈당의 tRNA(각 코돈에 대응하는 tRNA)를, 0.8  $\mu$ M, 1.6  $\mu$ M, 2.4  $\mu$ M, 3.2  $\mu$ M, 4.0  $\mu$ M, 4.8  $\mu$ M, 5.6  $\mu$ M, 6.4  $\mu$ M 및 10  $\mu$ M로 이루어지는 군으로부터 선택되는 하한, 및, 100  $\mu$ M, 150  $\mu$ M, 200  $\mu$ M, 250  $\mu$ M, 300  $\mu$ M, 350  $\mu$ M, 400  $\mu$ M, 450  $\mu$ M, 500  $\mu$ M, 550  $\mu$ M, 600  $\mu$ M, 650  $\mu$ M, 700  $\mu$ M, 750  $\mu$ M, 800  $\mu$ M, 850  $\mu$ M, 900  $\mu$ M, 950  $\mu$ M, 1000  $\mu$ M로 이루어지는 군으로부터 선택되는 상한에 의해 특정 가능한 범위의 농도로 포함할 수 있다. 구체적으로는, 예를 들어, 0.8~1000  $\mu$ M, 바람직하게는 1.6~500  $\mu$ M, 보다 바람직하게는 3.2~250  $\mu$ M, 더 바람직하게는 6.4~150  $\mu$ M, 특히 바람직하게는 10~100  $\mu$ M의 농도로 포함할 수 있다.
- [0399] 특정의 태양에 있어서, 본 개시의 번역계에 있어서의 코돈은,  $M_1$ 이 유리딘(U)이며,  $M_2$ 가 유리딘(U)인 코돈이다. 즉, 코돈이  $UUM_3$ 으로 표시되는 코돈 박스에 본 개시의 tRNA를 할당할 수 있다. 본 개시에 있어서의 tRNA를 포함하는 번역계를 이용하는 것에 의해, UUA 및 UUG의 코돈의 조합으로부터 2종류의 아미노산을 선택적으로 번역할 수 있다. 혹은, UUU, UUA, UUG의 코돈의 조합, 또는 UUC, UUA, UUG의 코돈의 조합으로부터 3종류의 아미노산을 선택적으로 번역할 수 있다. 이들 코돈을 선택적으로 번역하기 위해서는, 본 개시의 tRNA로서, 인공적으로 합성한 tRNA(예를 들어 전사 합성한 tRNA)를 이용하는 것이 바람직하다. 그 경우, 천연의 tRNA의 서열을 이용하는 것 외에, 안티코돈 이외의 부분에 임의의 tRNA(예를 들어 tRNA(Glu), tRNA(AsnE2), tRNA(Asp) 등)에서 유래하는 서열을 이용하고, 거기에 소망의 안티코돈의 서열을 연결하여 이용할 수도 있다. 본 개시의 tRNA는, 안티코돈의 부분도 포함하고, 아데노신(A), 구아노신(G), 시티딘(C), 유리딘(U)의 4종류의 뉴클레오티드만으로 구성되어 있는 것이 바람직하고, 그들 이외의 수식 뉴클레오티드는 포함되어 있지 않은 것이 바람직하다. 본 개시의 번역계로서는, 무세포 번역계, 특히 재구성형의 무세포 번역계가 바람직하다. 각 tRNA를 아미노아실화할 때에는, 번역계 외에서 아미노산을 결합시키는 것이 바람직하고, 그를 위한 방법으로서, 예를 들어 pCpA법, pdCpA법, 인공 RNA 촉매(플렉시자임)를 이용한 방법, 또는 아미노아실 tRNA 합성 효소(ARS)를 이용한 방법이 바람직하다. 각 tRNA에 결합시키는 아미노산으로서는, 천연 아미노산, 비천연 아미노산의 어느 것도 이용할 수 있지만, 천연의 유전 암호표에는 포함되어 있지 않은 비천연 아미노산을 이용하는 것이 본 개시의 목적의 관점에서 바람직하다. 번역계 중에 포함되는 본 개시의 tRNA의 1코돈당의 농도는, 예를 들어 0.8~1000  $\mu$ M의 범위 내인 것이 바람직하다.
- [0400] 특정의 태양에 있어서, 본 개시의 번역계에 있어서의 코돈은,  $M_1$ 이 유리딘(U)이며,  $M_2$ 가 아데노신(A)인 코돈이다. 즉, 코돈이  $UAM_3$ 으로 표시되는 코돈 박스에 본 개시의 tRNA를 할당할 수 있다. 본 개시에 있어서의 tRNA를 포함하는 번역계를 이용하는 것에 의해, UAA 및 UAG의 코돈의 조합으로부터 2종류의 아미노산을 선택적으로 번역할 수 있다. 혹은, UAU, UAA, UAG의 코돈의 조합, 또는 UAC, UAA, UAG의 코돈의 조합으로부터 3종류의 아미노산을 선택적으로 번역할 수 있다. 본 개시의 tRNA로서, 인공적으로 합성한 tRNA(예를 들어 전사 합성한 tRNA)를 이용하는 것이 바람직하다. 그 경우, 천연의 tRNA의 서열을 이용하는 것 외에, 안티코돈 이외의 부

분에 임의의 tRNA(예를 들어 tRNA(Glu), tRNA(AsnE2), tRNA(Asp) 등)에서 유래하는 서열을 이용하고, 거기에 소망의 안티코돈의 서열을 연결하여 이용할 수도 있다. 본 개시의 tRNA는, 안티코돈의 부분도 포함하고, 아데노신(A), 구아노신(G), 시티딘(C), 유리딘(U)의 4종류의 뉴클레오티드만으로 구성되어 있는 것이 바람직하고, 그들 이외의 수식 뉴클레오티드는 포함되어 있지 않은 것이 바람직하다. 본 개시의 번역계로서는, 무세포 번역계, 특히 재구성형의 무세포 번역계가 바람직하다. 각 tRNA를 아미노아실화할 때에는, 번역계 외에서 아미노산을 결합시키는 것이 바람직하고, 그를 위한 방법으로서, 예를 들어 pCpA법, pdCpA법, 인공 RNA 축매(플렉시자임)를 이용한 방법, 또는 아미노아실 tRNA 합성 효소(ARS)를 이용한 방법이 바람직하다. 각 tRNA에 결합시키는 아미노산으로서, 천연 아미노산, 비천연 아미노산의 어느 것도 이용할 수 있지만, 천연의 유전 암호표에는 포함되어 있지 않은 비천연 아미노산을 이용하는 것이 본 개시의 목적의 관점에서도 바람직하다. 번역계 중에 포함되는 본 개시의 tRNA의 1코돈당의 농도는, 예를 들어 0.8~1000 μM의 범위 내인 것이 바람직하다.

[0401] 특정의 태양에 있어서, 본 개시의 번역계에 있어서의 코돈은, M<sub>1</sub>이 유리딘(U)이며, M<sub>2</sub>가 구아노신(G)인 코돈이다. 즉, 코돈이 UGM<sub>3</sub>으로 표시되는 코돈 복스에 본 개시의 tRNA를 할당할 수 있다. 본 개시에 있어서의 tRNA를 포함하는 번역계를 이용하는 것에 의해, UGA 및 UGG의 코돈의 조합으로부터 2종류의 아미노산을 선택적으로 번역할 수 있다. 혹은, UGU, UGA, UGG의 코돈의 조합, 또는 UGC, UGA, UGG의 코돈의 조합으로부터 3종류의 아미노산을 선택적으로 번역할 수 있다. 본 개시의 tRNA로서, 인공적으로 합성한 tRNA(예를 들어 전사 합성한 tRNA)를 이용하는 것이 바람직하다. 그 경우, 천연의 tRNA의 서열을 이용하는 것 외에, 안티코돈 이외의 부분에 임의의 tRNA(예를 들어 tRNA(Glu), tRNA(AsnE2), tRNA(Asp) 등)에서 유래하는 서열을 이용하고, 거기에 소망의 안티코돈의 서열을 연결하여 이용할 수도 있다. 본 개시의 tRNA는, 안티코돈의 부분도 포함하고, 아데노신(A), 구아노신(G), 시티딘(C), 유리딘(U)의 4종류의 뉴클레오티드만으로 구성되어 있는 것이 바람직하고, 그들 이외의 수식 뉴클레오티드는 포함되어 있지 않은 것이 바람직하다. 본 개시의 번역계로서는, 무세포 번역계, 특히 재구성형의 무세포 번역계가 바람직하다. 각 tRNA를 아미노아실화할 때에는, 번역계 외에서 아미노산을 결합시키는 것이 바람직하고, 그를 위한 방법으로서, 예를 들어 pCpA법, pdCpA법, 인공 RNA 축매(플렉시자임)를 이용한 방법, 또는 아미노아실 tRNA 합성 효소(ARS)를 이용한 방법이 바람직하다. 각 tRNA에 결합시키는 아미노산으로서, 천연 아미노산, 비천연 아미노산의 어느 것도 이용할 수 있지만, 천연의 유전 암호표에는 포함되어 있지 않은 비천연 아미노산을 이용하는 것이 본 개시의 목적의 관점에서도 바람직하다. 번역계 중에 포함되는 본 개시의 tRNA의 1코돈당의 농도는, 예를 들어 0.8~1000 μM의 범위 내인 것이 바람직하다.

[0402] 특정의 태양에 있어서, 본 개시의 번역계에 있어서의 코돈은, M<sub>1</sub>이 시티딘(C)이며, M<sub>2</sub>가 아데노신(A)인 코돈이다. 즉, 코돈이 CAM<sub>3</sub>으로 표시되는 코돈 복스에 본 개시의 tRNA를 할당할 수 있다. 본 개시에 있어서의 tRNA를 포함하는 번역계를 이용하는 것에 의해, CAA 및 CAG의 코돈의 조합으로부터 2종류의 아미노산을 선택적으로 번역할 수 있다. 혹은, CAU, CAA, CAG의 코돈의 조합, 또는 CAC, CAA, CAG의 코돈의 조합으로부터 3종류의 아미노산을 선택적으로 번역할 수 있다. 본 개시의 tRNA로서, 인공적으로 합성한 tRNA(예를 들어 전사 합성한 tRNA)를 이용하는 것이 바람직하다. 그 경우, 천연의 tRNA의 서열을 이용하는 것 외에, 안티코돈 이외의 부분에 임의의 tRNA(예를 들어 tRNA(Glu), tRNA(AsnE2), tRNA(Asp) 등)에서 유래하는 서열을 이용하고, 거기에 소망의 안티코돈의 서열을 연결하여 이용할 수도 있다. 본 개시의 tRNA는, 안티코돈의 부분도 포함하고, 아데노신(A), 구아노신(G), 시티딘(C), 유리딘(U)의 4종류의 뉴클레오티드만으로 구성되어 있는 것이 바람직하고, 그들 이외의 수식 뉴클레오티드는 포함되어 있지 않은 것이 바람직하다. 본 개시의 번역계로서는, 무세포 번역계, 특히 재구성형의 무세포 번역계가 바람직하다. 각 tRNA를 아미노아실화할 때에는, 번역계 외에서 아미노산을 결합시키는 것이 바람직하고, 그를 위한 방법으로서, 예를 들어 pCpA법, pdCpA법, 인공 RNA 축매(플렉시자임)를 이용한 방법, 또는 아미노아실 tRNA 합성 효소(ARS)를 이용한 방법이 바람직하다. 각 tRNA에 결합시키는 아미노산으로서, 천연 아미노산, 비천연 아미노산의 어느 것도 이용할 수 있지만, 천연의 유전 암호표에는 포함되어 있지 않은 비천연 아미노산을 이용하는 것이 본 개시의 목적의 관점에서도 바람직하다. 번역계 중에 포함되는 본 개시의 tRNA의 1코돈당의 농도는, 예를 들어 0.8~1000 μM의 범위 내인 것이 바람직하다.

[0403] 특정의 태양에 있어서, 본 개시의 번역계에 있어서의 코돈은, M<sub>1</sub>이 시티딘(C)이며, M<sub>2</sub>가 구아노신(G)인 코돈이다. 즉, 코돈이 CGM<sub>3</sub>으로 표시되는 코돈 복스에 본 개시의 tRNA를 할당할 수 있다. 본 개시에 있어서의 tRNA를 포함하는 번역계를 이용하는 것에 의해, CGA 및 CGG의 코돈의 조합으로부터 2종류의 아미노산을 선택적

으로 번역할 수 있다. 혹은, CGU, CGA, CGG의 코돈의 조합, 또는 CGC, CGA, CGG의 코돈의 조합으로부터 3종류의 아미노산을 선택적으로 번역할 수 있다. 본 개시의 tRNA로서, 인공적으로 합성한 tRNA(예를 들어 전사 합성한 tRNA)를 이용하는 것이 바람직하다. 그 경우, 천연의 tRNA의 서열을 이용하는 것 외에, 안티코돈 이외의 부분에 임의의 tRNA(예를 들어 tRNA(Glu), tRNA(AsnE2), tRNA(Asp) 등)에서 유래하는 서열을 이용하고, 거기에 소망의 안티코돈의 서열을 연결하여 이용할 수도 있다. 본 개시의 tRNA는, 안티코돈의 부분도 포함하고, 아데노신(A), 구아노신(G), 시티딘(C), 유리딘(U)의 4종류의 뉴클레오티드만으로 구성되어 있는 것이 바람직하고, 그들 이외의 수식 뉴클레오티드는 포함되어 있지 않은 것이 바람직하다. 본 개시의 번역계로서는, 무세포 번역계, 특히 재구성형의 무세포 번역계가 바람직하다. 각 tRNA를 아미노아실화할 때에는, 번역계 외에서 아미노산을 결합시키는 것이 바람직하고, 그를 위한 방법으로서, 예를 들어 pCpA법, pdCpA법, 인공 RNA 축매(플렉시자임)를 이용한 방법, 또는 아미노아실 tRNA 합성 효소(ARS)를 이용한 방법이 바람직하다. 각 tRNA에 결합시키는 아미노산으로서, 천연 아미노산, 비천연 아미노산의 어느 것도 이용할 수 있지만, 천연의 유전 암호표에는 포함되어 있지 않은 비천연 아미노산을 이용하는 것이 본 개시의 목적의 관점에서도 바람직하다. 번역계 중에 포함되는 본 개시의 tRNA의 1코돈당의 농도는, 예를 들어 0.8~1000  $\mu$ M의 범위 내인 것이 바람직하다.

[0404] 특정의 태양에 있어서, 본 개시의 번역계에 있어서의 코돈은,  $M_1$ 이 아데노신(A)이며,  $M_2$ 가 유리딘(U)인 코돈이다. 즉, 코돈이  $AUM_3$ 으로 표시되는 코돈 박스에 본 개시의 tRNA를 할당할 수 있다. 본 개시에 있어서의 tRNA를 포함하는 번역계를 이용하는 것에 의해, AUA 및 AUG의 코돈의 조합으로부터 2종류의 아미노산을 선택적으로 번역할 수 있다. 혹은, AUU, AUA, AUG의 코돈의 조합, 또는 AUC, AUA, AUG의 코돈의 조합으로부터 3종류의 아미노산을 선택적으로 번역할 수 있다. 본 개시의 tRNA로서, 인공적으로 합성한 tRNA(예를 들어 전사 합성한 tRNA)를 이용하는 것이 바람직하다. 그 경우, 천연의 tRNA의 서열을 이용하는 것 외에, 안티코돈 이외의 부분에 임의의 tRNA(예를 들어 tRNA(Glu), tRNA(AsnE2), tRNA(Asp) 등)에서 유래하는 서열을 이용하고, 거기에 소망의 안티코돈의 서열을 연결하여 이용할 수도 있다. 본 개시의 tRNA는, 안티코돈의 부분도 포함하고, 아데노신(A), 구아노신(G), 시티딘(C), 유리딘(U)의 4종류의 뉴클레오티드만으로 구성되어 있는 것이 바람직하고, 그들 이외의 수식 뉴클레오티드는 포함되어 있지 않은 것이 바람직하다. 본 개시의 번역계로서는, 무세포 번역계, 특히 재구성형의 무세포 번역계가 바람직하다. 각 tRNA를 아미노아실화할 때에는, 번역계 외에서 아미노산을 결합시키는 것이 바람직하고, 그를 위한 방법으로서, 예를 들어 pCpA법, pdCpA법, 인공 RNA 축매(플렉시자임)를 이용한 방법, 또는 아미노아실 tRNA 합성 효소(ARS)를 이용한 방법이 바람직하다. 각 tRNA에 결합시키는 아미노산으로서, 천연 아미노산, 비천연 아미노산의 어느 것도 이용할 수 있지만, 천연의 유전 암호표에는 포함되어 있지 않은 비천연 아미노산을 이용하는 것이 본 개시의 목적의 관점에서도 바람직하다. 번역계 중에 포함되는 본 개시의 tRNA의 1코돈당의 농도는, 예를 들어 0.8~1000  $\mu$ M의 범위 내인 것이 바람직하다.

[0405] 특정의 태양에 있어서, 본 개시의 번역계에 있어서의 코돈은,  $M_1$ 이 아데노신(A)이며,  $M_2$ 가 시티딘(C)인 코돈이다. 즉, 코돈이  $ACM_3$ 으로 표시되는 코돈 박스에 본 개시의 tRNA를 할당할 수 있다. 본 개시에 있어서의 tRNA를 포함하는 번역계를 이용하는 것에 의해, ACA 및 ACG의 코돈의 조합으로부터 2종류의 아미노산을 선택적으로 번역할 수 있다. 혹은, ACU, ACA, ACG의 코돈의 조합, 또는 ACC, ACA, ACG의 코돈의 조합으로부터 3종류의 아미노산을 선택적으로 번역할 수 있다. 본 개시의 tRNA로서, 인공적으로 합성한 tRNA(예를 들어 전사 합성한 tRNA)를 이용하는 것이 바람직하다. 그 경우, 천연의 tRNA의 서열을 이용하는 것 외에, 안티코돈 이외의 부분에 임의의 tRNA(예를 들어 tRNA(Glu), tRNA(AsnE2), tRNA(Asp) 등)에서 유래하는 서열을 이용하고, 거기에 소망의 안티코돈의 서열을 연결하여 이용할 수도 있다. 본 개시의 tRNA는, 안티코돈의 부분도 포함하고, 아데노신(A), 구아노신(G), 시티딘(C), 유리딘(U)의 4종류의 뉴클레오티드만으로 구성되어 있는 것이 바람직하고, 그들 이외의 수식 뉴클레오티드는 포함되어 있지 않은 것이 바람직하다. 본 개시의 번역계로서는, 무세포 번역계, 특히 재구성형의 무세포 번역계가 바람직하다. 각 tRNA를 아미노아실화할 때에는, 번역계 외에서 아미노산을 결합시키는 것이 바람직하고, 그를 위한 방법으로서, 예를 들어 pCpA법, pdCpA법, 인공 RNA 축매(플렉시자임)를 이용한 방법, 또는 아미노아실 tRNA 합성 효소(ARS)를 이용한 방법이 바람직하다. 각 tRNA에 결합시키는 아미노산으로서, 천연 아미노산, 비천연 아미노산의 어느 것도 이용할 수 있지만, 천연의 유전 암호표에는 포함되어 있지 않은 비천연 아미노산을 이용하는 것이 본 개시의 목적의 관점에서도 바람직하다. 번역계 중에 포함되는 본 개시의 tRNA의 1코돈당의 농도는, 예를 들어 0.8~1000  $\mu$ M의 범위 내인 것이 바람직하다.

[0406] 특정의 태양에 있어서, 본 개시의 번역계에 있어서의 코돈은,  $M_1$ 이 아데노신(A)이며,  $M_2$ 가 아데노신(A)인 코돈이다. 즉, 코돈이  $AAM_3$ 으로 표시되는 코돈 복스에 본 개시의 tRNA를 할당할 수 있다. 본 개시에 있어서의 tRNA를 포함하는 번역계를 이용하는 것에 의해, AAA 및 AAG의 코돈의 조합으로부터 2종류의 아미노산을 선택적으로 번역할 수 있다. 혹은, AAU, AAA, AAG의 코돈의 조합, 또는 AAC, AAA, AAG의 코돈의 조합으로부터 3종류의 아미노산을 선택적으로 번역할 수 있다. 본 개시의 tRNA로서, 인공적으로 합성한 tRNA(예를 들어 전사 합성한 tRNA)를 이용하는 것이 바람직하다. 그 경우, 천연의 tRNA의 서열을 이용하는 것 외에, 안티코돈 이외의 부분에 임의의 tRNA(예를 들어 tRNA(Glu), tRNA(AsnE2), tRNA(Asp) 등)에서 유래하는 서열을 이용하고, 거기에 소망의 안티코돈의 서열을 연결하여 이용할 수도 있다. 본 개시의 tRNA는, 안티코돈의 부분도 포함하고, 아데노신(A), 구아노신(G), 시티딘(C), 유리딘(U)의 4종류의 뉴클레오티드만으로 구성되어 있는 것이 바람직하고, 그들 이외의 수식 뉴클레오티드는 포함되어 있지 않은 것이 바람직하다. 본 개시의 번역계로서는, 무세포 번역계, 특히 재구성형의 무세포 번역계가 바람직하다. 각 tRNA를 아미노아실화할 때에는, 번역계 외에서 아미노산을 결합시키는 것이 바람직하고, 그를 위한 방법으로서, 예를 들어 pCpA법, pdCpA법, 인공 RNA 촉매(플렉시자임)를 이용한 방법, 또는 아미노아실 tRNA 합성 효소(ARS)를 이용한 방법이 바람직하다. 각 tRNA에 결합시키는 아미노산으로서는, 천연 아미노산, 비천연 아미노산의 어느 것도 이용할 수 있지만, 천연의 유전 암호표에는 포함되어 있지 않은 비천연 아미노산을 이용하는 것이 본 개시의 목적의 관점에서도 바람직하다. 번역계 중에 포함되는 본 개시의 tRNA의 1코돈당의 농도는, 예를 들어 0.8~1000  $\mu$ M의 범위 내인 것이 바람직하다.

[0407] 특정의 태양에 있어서, 본 개시의 번역계에 있어서의 코돈은,  $M_1$ 이 아데노신(A)이며,  $M_2$ 가 구아노신(G)인 코돈이다. 즉, 코돈이  $AGM_3$ 으로 표시되는 코돈 복스에 본 개시의 tRNA를 할당할 수 있다. 본 개시에 있어서의 tRNA를 포함하는 번역계를 이용하는 것에 의해, AGA 및 AGG의 코돈의 조합으로부터 2종류의 아미노산을 선택적으로 번역할 수 있다. 혹은, AGU, AGA, AGG의 코돈의 조합, 또는 AGC, AGA, AGG의 코돈의 조합으로부터 3종류의 아미노산을 선택적으로 번역할 수 있다. 본 개시의 tRNA로서, 인공적으로 합성한 tRNA(예를 들어 전사 합성한 tRNA)를 이용하는 것이 바람직하다. 그 경우, 천연의 tRNA의 서열을 이용하는 것 외에, 안티코돈 이외의 부분에 임의의 tRNA(예를 들어 tRNA(Glu), tRNA(AsnE2), tRNA(Asp) 등)에서 유래하는 서열을 이용하고, 거기에 소망의 안티코돈의 서열을 연결하여 이용할 수도 있다. 본 개시의 tRNA는, 안티코돈의 부분도 포함하고, 아데노신(A), 구아노신(G), 시티딘(C), 유리딘(U)의 4종류의 뉴클레오티드만으로 구성되어 있는 것이 바람직하고, 그들 이외의 수식 뉴클레오티드는 포함되어 있지 않은 것이 바람직하다. 본 개시의 번역계로서는, 무세포 번역계, 특히 재구성형의 무세포 번역계가 바람직하다. 각 tRNA를 아미노아실화할 때에는, 번역계 외에서 아미노산을 결합시키는 것이 바람직하고, 그를 위한 방법으로서, 예를 들어 pCpA법, pdCpA법, 인공 RNA 촉매(플렉시자임)를 이용한 방법, 또는 아미노아실 tRNA 합성 효소(ARS)를 이용한 방법이 바람직하다. 각 tRNA에 결합시키는 아미노산으로서는, 천연 아미노산, 비천연 아미노산의 어느 것도 이용할 수 있지만, 천연의 유전 암호표에는 포함되어 있지 않은 비천연 아미노산을 이용하는 것이 본 개시의 목적의 관점에서도 바람직하다. 번역계 중에 포함되는 본 개시의 tRNA의 1코돈당의 농도는, 예를 들어 0.8~1000  $\mu$ M의 범위 내인 것이 바람직하다.

[0408] 특정의 태양에 있어서, 본 개시의 번역계에 있어서의 코돈은,  $M_1$ 이 구아노신(G)이며,  $M_2$ 가 아데노신(A)인 코돈이다. 즉, 코돈이  $GAM_3$ 으로 표시되는 코돈 복스에 본 개시의 tRNA를 할당할 수 있다. 본 개시에 있어서의 tRNA를 포함하는 번역계를 이용하는 것에 의해, GAA 및 GAG의 코돈의 조합으로부터 2종류의 아미노산을 선택적으로 번역할 수 있다. 혹은, GAU, GAA, GAG의 코돈의 조합, 또는 GAC, GAA, GAG의 코돈의 조합으로부터 3종류의 아미노산을 선택적으로 번역할 수 있다. 본 개시의 tRNA로서, 인공적으로 합성한 tRNA(예를 들어 전사 합성한 tRNA)를 이용하는 것이 바람직하다. 그 경우, 천연의 tRNA의 서열을 이용하는 것 외에, 안티코돈 이외의 부분에 임의의 tRNA(예를 들어 tRNA(Glu), tRNA(AsnE2), tRNA(Asp) 등)에서 유래하는 서열을 이용하고, 거기에 소망의 안티코돈의 서열을 연결하여 이용할 수도 있다. 본 개시의 tRNA는, 안티코돈의 부분도 포함하고, 아데노신(A), 구아노신(G), 시티딘(C), 유리딘(U)의 4종류의 뉴클레오티드만으로 구성되어 있는 것이 바람직하고, 그들 이외의 수식 뉴클레오티드는 포함되어 있지 않은 것이 바람직하다. 본 개시의 번역계로서는, 무세포 번역계, 특히 재구성형의 무세포 번역계가 바람직하다. 각 tRNA를 아미노아실화할 때에는, 번역계 외에서 아미노산을 결합시키는 것이 바람직하고, 그를 위한 방법으로서, 예를 들어 pCpA법, pdCpA법, 인공 RNA 촉매(플렉시자임)를 이용한 방법, 또는 아미노아실 tRNA 합성 효소(ARS)를 이용한 방법이 바람직하다. 각 tRNA에 결합시키는 아미노산으로서는, 천연 아미노산, 비천연 아미노산의 어느 것도 이용할 수 있지만, 천연의 유전 암호표에는 포함되어 있지 않은 비천연 아미노산을 이용하는 것이 본 개시의 목적의 관점에서도 바람직하다. 번역계 중에 포함되는 본 개시의 tRNA의 1코돈당의 농도는, 예를 들어 0.8~1000  $\mu$ M의 범위 내인 것이 바람직하다.

[0409] III. 펩티드의 제조 방법, 조성물 및 키트

[0410] 일 국면에 있어서, 본 개시는, 펩티드의 제조 방법으로서, 본 개시에 있어서의 번역계를 이용하여 핵산을 번역하는 것을 포함하는 방법을 제공한다. 구체적으로는, 본 개시는,  $M_1M_2A$ 로 표시되는 코돈에 상보적인 안티코돈을 갖는 tRNA, 및,  $M_1M_2G$ 로 표시되는 코돈에 상보적인 안티코돈을 갖는 tRNA를 포함하는 번역계에 있어서 핵산을 번역하는 것을 포함하는, 펩티드의 제조 방법에 관한 것이다. 일 국면에 있어서, 본 개시에 있어서,  $M_1$  및  $M_2$ 는 각각 코돈의 1문자째 및 2문자째의 뉴클레오티드를 나타내고,  $M_1$  및  $M_2$ 는 각각 독립적으로 아데노신(A), 구아노신(G), 시티딘(C), 유리딘(U) 중 어느 하나로부터 선택된다. 일 국면에 있어서, 상기 2종류의 tRNA의 각각은 서로 상이한 아미노산 또는 아미노산 유연체가 결합되어 있다. 또한 일 국면에 있어서, 본 개시에 있어서의 제조 방법에 있어서는,  $M_1M_2U$ 로 표시되는 코돈,  $M_1M_2C$ 로 표시되는 코돈,  $M_1M_2A$ 로 표시되는 코돈, 및  $M_1M_2G$ 로 표시되는 코돈으로부터 적어도 2종류의 아미노산 또는 아미노산 유연체가 번역될 수 있다.

[0411] 일 국면에 있어서, 본 개시는,  $M_1M_2U$ 로 표시되는 코돈에 상보적인 안티코돈을 갖는 tRNA,  $M_1M_2A$ 로 표시되는 코돈에 상보적인 안티코돈을 갖는 tRNA, 및  $M_1M_2G$ 로 표시되는 코돈에 상보적인 안티코돈을 갖는 tRNA를 포함하는 번역계에 있어서 핵산을 번역하는 것을 포함하는, 펩티드의 제조 방법에 관한 것이다. 또한 일 국면에 있어서, 본 개시는,  $M_1M_2C$ 로 표시되는 코돈에 상보적인 안티코돈을 갖는 tRNA,  $M_1M_2A$ 로 표시되는 코돈에 상보적인 안티코돈을 갖는 tRNA, 및  $M_1M_2G$ 로 표시되는 코돈에 상보적인 안티코돈을 갖는 tRNA를 포함하는 번역계에 있어서 핵산을 번역하는 것을 포함하는, 펩티드의 제조 방법에 관한 것이다. 일 국면에 있어서, 본 개시에 있어서는,  $M_1$  및  $M_2$ 는 각각 코돈의 1문자째 및 2문자째의 뉴클레오티드를 나타내고,  $M_1$  및  $M_2$ 는 각각 독립적으로 아데노신(A), 구아노신(G), 시티딘(C), 유리딘(U) 중 어느 하나로부터 선택된다. 일 국면에 있어서, 상기 3종류의 tRNA의 각각은 서로 상이한 아미노산 또는 아미노산 유연체가 결합되어 있다. 또한 일 국면에 있어서, 본 개시에 있어서의 제조 방법에 있어서는,  $M_1M_2U$ 로 표시되는 코돈,  $M_1M_2C$ 로 표시되는 코돈,  $M_1M_2A$ 로 표시되는 코돈, 및  $M_1M_2G$ 로 표시되는 코돈으로부터, 적어도 3종류의 아미노산 또는 아미노산 유연체가 번역될 수 있다.

[0412] 본 개시에 있어서의 핵산에는,  $M_1M_2A$ 로 표시되는 코돈 및  $M_1M_2G$ 로 표시되는 코돈이 각각 1개 또는 복수개 포함될 수 있다. 본 개시에 있어서의 펩티드의 제조 방법은, 본 개시에 있어서의 tRNA가, 당해 핵산에 포함될 수 있는  $M_1M_2A$ 로 표시되는 코돈 및  $M_1M_2G$ 로 표시되는 코돈을 각각 1회 또는 복수회, 선택적으로 번역하는 프로세스(혹은 관독하는 프로세스)를 포함할 수 있다. 일 태양에 있어서, 본 개시에 있어서의 펩티드의 제조 방법에 있어서는, 이들 코돈을 포함하는 1종 또는 복수종의 핵산이 번역될 수 있다.

[0413] 본 개시에 있어서의 핵산에는,  $M_1M_2U$ 로 표시되는 코돈,  $M_1M_2A$ 로 표시되는 코돈, 및  $M_1M_2G$ 로 표시되는 코돈이 각각 1개 또는 복수개 포함될 수 있다. 본 개시에 있어서의 펩티드의 제조 방법은, 본 개시에 있어서의 tRNA가, 당해 핵산에 포함될 수 있는  $M_1M_2U$ 로 표시되는 코돈,  $M_1M_2A$ 로 표시되는 코돈, 및  $M_1M_2G$ 로 표시되는 코돈을 각각 1회 또는 복수회, 선택적으로 번역하는 프로세스(혹은 관독하는 프로세스)를 포함할 수 있다. 일 태양에 있어서, 본 개시에 있어서의 펩티드의 제조 방법에 있어서는, 이들 코돈을 포함하는 1종 또는 복수종의 핵산이 번역될 수 있다.

[0414] 본 개시에 있어서의 핵산에는,  $M_1M_2C$ 로 표시되는 코돈,  $M_1M_2A$ 로 표시되는 코돈, 및  $M_1M_2G$ 로 표시되는 코돈이 각각 1개 또는 복수개 포함될 수 있다. 본 개시에 있어서의 펩티드의 제조 방법은, 본 개시에 있어서의 tRNA가, 당해 핵산에 포함될 수 있는  $M_1M_2C$ 로 표시되는 코돈,  $M_1M_2A$ 로 표시되는 코돈, 및  $M_1M_2G$ 로 표시되는 코돈을 각각 1회 또는 복수회, 선택적으로 번역하는 프로세스(혹은 관독하는 프로세스)를 포함할 수 있다. 일 태양에 있어서, 본 개시에 있어서의 펩티드의 제조 방법에 있어서는, 이들 코돈을 포함하는 1종 또는 복수종의 핵산이 번역될 수 있다.

[0415] 본 개시에 있어서의 핵산에는,  $M_1M_2U$ 로 표시되는 코돈,  $M_1M_2C$ 로 표시되는 코돈,  $M_1M_2A$ 로 표시되는 코돈, 및  $M_1M_2G$ 로 표시되는 코돈이 각각 1개 또는 복수개 포함될 수 있다. 본 개시에 있어서의 펩티드의 제조 방법은, 본 개시에 있어서의 tRNA가, 당해 핵산에 포함될 수 있는  $M_1M_2U$ 로 표시되는 코돈,  $M_1M_2C$ 로 표시되는 코돈,  $M_1M_2A$ 로 표시되는 코돈 및  $M_1M_2G$ 로 표시되는 코돈을 각각 1회 또는 복수회, 선택적으로 번역하는 프로세스(혹은 관독하는

프로세스)를 포함할 수 있다. 일 태양에 있어서, 본 개시에 있어서의 펩티드의 제조 방법에 있어서는, 이들 코돈을 포함하는 1종 또는 복수종의 핵산이 번역될 수 있다.

[0416] 일 국면에 있어서, 본 개시는,  $M_1M_2A$ 로 표시되는 코돈에 상보적인 안티코돈을 갖는 tRNA, 및,  $M_1M_2G$ 로 표시되는 코돈에 상보적인 안티코돈을 갖는 tRNA를 포함하는, 펩티드를 제조하기 위한 조성물 및 키트에 관한 것이다. 일 국면에 있어서, 본 개시에 있어서는,  $M_1$  및  $M_2$ 는 각각 코돈의 1문자째 및 2문자째의 뉴클레오티드를 나타내고,  $M_1$  및  $M_2$ 는 각각 독립적으로 아데노신(A), 구아노신(G), 시티딘(C), 유리딘(U) 중 어느 하나로부터 선택된다. 일 국면에 있어서, 상기 2종류의 tRNA의 각각은 서로 상이한 아미노산 또는 아미노산 유연체가 결합되어 있다. 또한 일 국면에 있어서, 본 개시에 있어서의 조성물 및 키트를 사용하는 것에 의해,  $M_1M_2U$ 로 표시되는 코돈,  $M_1M_2C$ 로 표시되는 코돈,  $M_1M_2A$ 로 표시되는 코돈, 및  $M_1M_2G$ 로 표시되는 코돈으로부터 적어도 2종류의 아미노산 또는 아미노산 유연체가 번역될 수 있다.

[0417] 일 국면에 있어서, 본 개시는,  $M_1M_2U$ 로 표시되는 코돈에 상보적인 안티코돈을 갖는 tRNA,  $M_1M_2A$ 로 표시되는 코돈에 상보적인 안티코돈을 갖는 tRNA, 및  $M_1M_2G$ 로 표시되는 코돈에 상보적인 안티코돈을 갖는 tRNA를 포함하는, 펩티드를 제조하기 위한 조성물 및 키트에 관한 것이다. 또한 일 국면에 있어서, 본 개시는,  $M_1M_2C$ 로 표시되는 코돈에 상보적인 안티코돈을 갖는 tRNA,  $M_1M_2A$ 로 표시되는 코돈에 상보적인 안티코돈을 갖는 tRNA, 및  $M_1M_2G$ 로 표시되는 코돈에 상보적인 안티코돈을 갖는 tRNA를 포함하는, 펩티드를 제조하기 위한 조성물 및 키트에 관한 것이다. 일 국면에 있어서, 본 개시에 있어서는,  $M_1$  및  $M_2$ 는 각각 코돈의 1문자째 및 2문자째의 뉴클레오티드를 나타내고,  $M_1$  및  $M_2$ 는 각각 독립적으로 아데노신(A), 구아노신(G), 시티딘(C), 유리딘(U) 중 어느 하나로부터 선택된다. 일 국면에 있어서, 상기 3종류의 tRNA의 각각은 서로 상이한 아미노산 또는 아미노산 유연체가 결합되어 있다. 또한 일 국면에 있어서, 본 개시에 있어서의 제조 방법에 있어서는,  $M_1M_2U$ 로 표시되는 코돈,  $M_1M_2C$ 로 표시되는 코돈,  $M_1M_2A$ 로 표시되는 코돈, 및  $M_1M_2G$ 로 표시되는 코돈으로부터, 적어도 3종류의 아미노산 또는 아미노산 유연체가 번역될 수 있다.

[0418] 본 개시에 있어서의 번역계를 구성하는 tRNA는, 핵산의 번역에 통상 이용되는 버퍼나 물질 등을 포함하는 조성물을 구성할 수 있다. 또한 본 개시에 있어서의 번역계를 구성하는 tRNA는, 펩티드의 번역에 통상 이용되는 각종의 물질 등과 함께 미리 패키징하여 키트로서 공급할 수 있다. 또한 키트에 포함되는 각종의 물질은, 그 사용 태양에 따라서 분말상 혹은 액상으로 할 수 있다. 또한 이들을 적당한 용기에 수납하여, 적시에 사용할 수 있다.

[0419] 본 개시에 있어서는, 2개 이상의 아미노산이 아마이드 결합에 의해 결합한 화합물이, 본 개시의 펩티드에 포함될 수 있다. 또한, 아미노산 대신에 하이드록시카복실산 등의 아미노산 유연체가 에스터 결합에 의해 결합한 화합물도, 본 개시의 펩티드에 포함될 수 있다. 펩티드에 포함되는 아미노산 또는 아미노산 유연체의 수는 2개 이상이면 특별히 한정되지 않지만, 예를 들어 2개 이상, 3개 이상, 4개 이상, 5개 이상, 6개 이상, 7개 이상, 8개 이상, 9개 이상, 10개 이상, 11개 이상등을 들 수 있어 또한, 100개 이하, 80개 이하, 50개 이하, 30개 이하, 25개 이하, 20개 이하, 19개 이하, 18개 이하, 17개 이하, 16개 이하, 15개 이하, 14개 이하, 13개 이하, 12개 이하 등을 들 수 있다. 혹은, 9개, 10개, 11개, 12개 중에서 선택할 수도 있다.

[0420] 일 국면에 있어서, 본 개시에 있어서의 조성물 및 키트에는 핵산이 포함되어 있어도 된다. 일 태양에 있어서, 본 개시에 있어서의 조성물 및 키트를 구성하는 핵산은,  $M_1M_2A$ 로 표시되는 코돈 및  $M_1M_2G$ 로 표시되는 코돈을 각각 1개 또는 복수개 포함할 수 있다. 또한 일 국면에 있어서, 본 개시에 있어서의 조성물 및 키트를 구성하는 핵산은, (i)  $M_1M_2U$ 로 표시되는 코돈,  $M_1M_2A$ 로 표시되는 코돈, 및  $M_1M_2G$ 로 표시되는 코돈, 또는, (ii)  $M_1M_2C$ 로 표시되는 코돈,  $M_1M_2A$ 로 표시되는 코돈, 및  $M_1M_2G$ 로 표시되는 코돈을 각각 1개 또는 복수개 포함할 수 있다. 또한 일 국면에 있어서, 본 개시에 있어서의 조성물 및 키트를 구성하는 핵산은,  $M_1M_2A$ 로 표시되는 코돈,  $M_1M_2G$ 로 표시되는 코돈,  $M_1M_2U$ 로 표시되는 코돈, 및  $M_1M_2C$ 로 표시되는 코돈을 각각 1개 또는 복수개 포함할 수 있다. 일 태양에 있어서, 본 개시에 있어서의 조성물 및 키트는, 이와 같은 핵산을 1종 또는 복수종 포함할 수 있다.

[0421] 일 태양에 있어서, 본 개시의 펩티드는, N치환 아미노산을 포함하고 있어도 되고, 펩티드에 포함되는 N치환 아미노산의 수는, 예를 들어 2개, 3개, 4개, 5개, 6개, 7개, 8개, 9개, 10개 등일 수 있다. 또한, 다른 태양에

있어서, 본 개시의 펩티드는, N치환되어 있지 않은 아미노산을 포함하고 있어도 되고, N치환되어 있지 않은 아미노산의 수는, 예를 들어 1개, 2개, 3개, 4개 등일 수 있다. 추가적인 태양에 있어서, 본 개시의 펩티드는, N치환 아미노산과 N치환되어 있지 않은 아미노산의 양쪽을 포함하고 있어도 된다.

[0422] 몇몇 태양에 있어서, 본 개시의 펩티드는, 직쇄상의 펩티드여도 되고, 환상부를 갖는 펩티드여도 된다. 환상부를 갖는 펩티드란, 펩티드쇄 상에 존재하는 어느 아미노산 또는 아미노산 유연체의 주쇄 혹은 측쇄가, 동일한 펩티드쇄 상에 존재하는 별도의 아미노산 또는 아미노산 유연체의 주쇄 혹은 측쇄와 결합하는 것에 의해, 분자 내에 환상 구조가 형성된 펩티드를 의미한다. 환상부를 갖는 펩티드는, 환상부만으로 구성되어 있어도 되고, 환상부와 직쇄부를 함께 포함하고 있어도 된다. 환상부에 포함되는 아미노산 또는 아미노산 유연체의 수는, 예를 들어 4개 이상, 5개 이상, 6개 이상, 7개 이상, 8개 이상, 9개 이상 등이고, 또한, 14개 이하, 13개 이하, 12개 이하, 11개 이하 등일 수 있다. 혹은, 9개, 10개, 11개 중에서 선택할 수도 있다. 또한, 직쇄부에 포함되는 아미노산 또는 아미노산 유연체의 수는, 예를 들어 0개 이상이며, 또한, 8개 이하, 7개 이하, 6개 이하, 5개 이하, 4개 이하 등일 수 있다. 혹은, 0개, 1개, 2개, 3개 중에서 선택할 수도 있다.

[0423] 환상부를 형성하기 위한 결합으로서, 예를 들어, 아미노기와 카복실기로부터 형성되는 펩티드 결합을 이용할 수 있다. 그 이외에도, 적절한 작용기의 조합으로부터 형성되는 아미이드 결합, 다이설파이드 결합, 에터 결합, 싸이오에터 결합, 에스터 결합, 싸이오에스터 결합, 탄소-탄소 결합, 알킬 결합, 알켄일 결합, 포스포네이트 에터 결합, 아조 결합, 아민 결합, C=N-C 결합, 락탐 가교, 카바모일 결합, 요소 결합, 싸이오요소 결합, 싸이오아미이드 결합, 설펜일 결합, 설펜일 결합, 트리아아졸 결합, 벤즈옥사졸 결합 등을 이용할 수 있다. 탄소-탄소 결합은, 스즈키(Suzuki) 반응, Heck 반응, 소노가시라(Sonogashira) 반응 등의 전이 금속을 촉매로 한 반응에 의해 형성할 수 있다. 일 태양에 있어서, 본 개시의 펩티드는, 분자 내에 있어서 상기의 결합을 형성하는 것이 가능한 적어도 1조의 작용기를 포함하고 있다. 환상부의 형성은, 본 개시의 번역계를 이용하여 직쇄상의 펩티드가 제조된 후에, 상기의 작용기끼리를 결합시키기 위한 반응을 별도 행하는 것에 의해 이루어져도 된다. 환상부를 갖는 펩티드의 합성에 대해서는, WO2013/100132, WO2012/026566, WO2012/033154, WO2012/074130, WO2015/030014, WO2018/052002, Comb Chem High Throughput Screen (2010)13: 75-87, Nat Chem Biol (2009) 5: 502-507, Nat Chem Biol (2009) 5: 888-90, Bioconjug Chem (2007) 18: 469-476, ChemBioChem (2009) 10: 787-798, Chem Commun (Camb) (2011) 47: 9946-9958 등도 참조할 수 있다.

[0424] 몇몇 태양에 있어서, 본 개시의 번역계에 있어서 번역되는 핵산은 mRNA이다. mRNA에는, 소망의 아미노산 서열을 갖는 펩티드가 코딩되어 있어도 된다. mRNA를 본 개시의 번역계에 첨가하는 것에 의해, 당해 mRNA의 펩티드에의 번역을 행할 수 있다. 한편, DNA를 mRNA에 전사하기 위한 RNA 폴리메라제가 번역계에 포함되어 있는 경우, DNA를 본 개시의 번역계에 첨가하는 것에 의해, 당해 DNA의 mRNA에의 전사, 및 당해 mRNA의 펩티드에의 번역을 아울러 행할 수 있다. mRNA는 적어도, M<sub>1</sub>M<sub>2</sub>A로 표시되는 코돈 및 M<sub>1</sub>M<sub>2</sub>G로 표시되는 코돈, M<sub>1</sub>M<sub>2</sub>U로 표시되는 코돈, M<sub>1</sub>M<sub>2</sub>A로 표시되는 코돈 및 M<sub>1</sub>M<sub>2</sub>G로 표시되는 코돈, 또는, M<sub>1</sub>M<sub>2</sub>C로 표시되는 코돈, M<sub>1</sub>M<sub>2</sub>A로 표시되는 코돈 및 M<sub>1</sub>M<sub>2</sub>G로 표시되는 코돈을 포함하는 것이어도 된다.

[0425] 번역되는 펩티드의 N말단에는 통상, 개시 아미노산으로서 메티오닌이 존재하고 있지만, 메티오닌 이외의 아미노산을 N말단에 도입하기 위한 방법도 몇몇 보고되어 있다. 그들을 본 개시에 있어서의 펩티드의 제조 방법과 조합하여 이용해도 된다. 그와 같은 방법으로서, 예를 들어, 메티오닌 이외의 아미노산으로 아미노아실화된 개시 tRNA를 이용하여, 소망의 아미노산으로부터 개시되는 핵산을 번역하는 방법을 들 수 있다(Initiation suppression). 특히, 외래성의 아미노산을 허용할 수 있는 정도로서는, 펩티드쇄의 신장 시보다도 번역 개시 시 쪽이 높으므로, N말단에서는, 천연 아미노산과 크게 구조가 상이한 아미노산이어도 이용할 수 있을 가능성이 있다(Goto & Suga, J Am Chem Soc (2009) 131(14): 5040-5041). 다른 방법으로서, 번역계로부터 개시 메티오닌 tRNA를 제거하는 것에 의해, 혹은, 개시 아미노산을 메티오닌 이외의 번역 효율이 낮은 아미노산으로 치환하는 것에 의해, 2번째 이후의 코돈으로부터 번역을 개시하는 방법을 들 수 있다(Initiation read-through; 개시 코돈의 번역초과). 추가로 별법으로서, 펩티드 데폼일라제(peptide deformylase) 및 메티오닌 아미노펩티다제(Methionine aminopeptidase) 등의 효소를 작용시키는 것에 의해, 펩티드의 N말단의 메티오닌을 삭제하는 방법을 들 수도 있다(Meinzel et al., Biochimie (1993) 75: 1061-1075). 메티오닌으로부터 개시되는 펩티드 라이브러리를 준비하고, 이것에 상기의 효소를 작용시키는 것에 의해, N말단이 랜덤인 아미노산으로부터 개시되는 펩티드 라이브러리를 조절할 수 있다.

[0426] 다른 국면에 있어서, 본 개시는, 본 개시에 있어서의 펩티드의 제조 방법에 의해 제조된 펩티드를 제공한다. 본 개시에 있어서의 방법에 의해 제조된 펩티드에 대해서, 추가로 화학 수식을 행하는 등 하여 얻어진 펩티드도

또한, 본 개시가 제공하는 펩티드에 포함된다.

[0427] 일 국면에 있어서, 본 개시는, 펩티드 라이브러리의 제조 방법으로서, 본 개시에 있어서의 번역계를 이용하여 핵산 라이브러리를 번역하는 것을 포함하는 방법을 제공한다. 펩티드를 각각 코딩하는 핵산 분자로서, 핵산 서열의 다양성이 풍부한 복수의 핵산 분자를 준비하고, 그들을 각각 펩티드로 번역하는 것에 의해, 아미노산 서열의 다양성이 풍부한 복수의 펩티드 분자를 제조할 수 있다. 라이브러리의 사이즈는 특별히 한정되지 않지만, 예를 들어,  $10^6$  이상,  $10^7$  이상,  $10^8$  이상,  $10^9$  이상,  $10^{10}$  이상,  $10^{11}$  이상,  $10^{12}$  이상,  $10^{13}$  이상,  $10^{14}$  이상 등일 수 있다. 핵산은 DNA여도 되고, RNA여도 된다. RNA는 통상 mRNA이다. DNA는 mRNA에의 전사를 개재시켜 펩티드에의 번역이 행해진다. 그와 같은 핵산 라이브러리는, 당업자에게 공지된 방법 또는 그것에 준하는 방법에 의해 조제할 수 있다. 핵산 라이브러리를 합성할 때, 소망의 위치에 혼합 염기를 이용하는 것에 의해, 핵산 서열의 다양성이 풍부한 복수의 핵산 분자를 용이하게 조제할 수 있다. 혼합 염기를 이용한 코돈의 예로서, 예를 들어 NNN(여기에서, N은 A, T, G, C의 4염기의 혼합을 나타낸다)이나 NNW(여기에서, W는 A, T의 2염기의 혼합을 나타낸다), NNM(여기에서, W는 A, C의 2염기의 혼합을 나타낸다), NNK(여기에서, K는 G, T의 2염기의 혼합을 나타낸다), NNS(여기에서, S는 C, G의 2염기의 혼합을 나타낸다) 등을 들 수 있다. 혹은, 코돈의 3문자짜에서 이용되는 염기를, A, T, G, C 중 어느 1종류로 한정함으로써, 일부의 특정의 아미노산만이 코딩된 핵산 라이브러리를 합성하는 것도 가능하다. 더욱이, 혼합 염기를 포함하는 코돈을 작성할 때, 복수의 염기를 등비는 아닌 상이한 비율로 혼합하는 것에 의해, 그 코돈으로부터 얻어지는 아미노산의 출현 빈도를 임의로 조절하는 것도 가능하다. 상기와 같은 코돈을 1단위(유닛)로 하여, 종류가 상이한 코돈 유닛을 복수 준비하고, 그들을 소망의 순서로 연결하면, 포함되는 아미노산의 출현 위치나 출현 빈도가 제어된 라이브러리를 디자인하는 것도 가능해진다.

[0428] 몇몇 태양에 있어서, 본 개시에 있어서의 펩티드 라이브러리는, 펩티드가 핵산 상에 제시된 라이브러리(핵산 디스플레이 라이브러리, 혹은 간단히 디스플레이 라이브러리)이다. 디스플레이 라이브러리는, 펩티드와 그것을 코딩하는 핵산이 결합하여 1개의 복합체를 형성하는 것에 의해, 표현형과 유전자형이 대응 붙여져 있는 것을 특징으로 하는 라이브러리이다. 주된 디스플레이 라이브러리의 예로서, mRNA 디스플레이법(Roberts and Szostak, Proc Natl Acad Sci USA (1997) 94: 12297-12302), in vitro 바이러스법(Nemoto et al., FEBS Lett (1997) 414: 405-408), cDNA 디스플레이법(Yamaguchi et al., Nucleic Acids Res (2009) 37: e108), 리보솜 디스플레이법(Mattheakis et al, Proc Natl Acad Sci USA (1994) 91: 9022-9026), covalent 디스플레이법(Reiersen et al., Nucleic Acids Res (2005) 33: e10), CIS 디스플레이법(Odegrip et al., Proc Natl Acad Sci USA (2004) 101: 2806-2810) 등으로 제작된 라이브러리를 들 수 있다. 혹은, in vitro compartmentalization법(Tawfik and Griffiths, Nat Biotechnol (1998) 16: 652-656)를 이용하여 제작된 라이브러리로, 디스플레이 라이브러리의 일 태양으로서 들 수 있다.

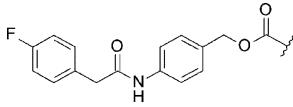
[0429] 다른 국면에 있어서, 본 개시는, 본 개시에 있어서의 펩티드 라이브러리의 제조 방법에 의해 제조된 펩티드 라이브러리를 제공한다.

[0430] 일 국면에 있어서, 본 개시는, 표적 분자에 대해서 결합 활성을 갖는 펩티드의 동정 방법으로서, 본 개시에 있어서의 펩티드 라이브러리에 표적 분자를 접촉시키는 것을 포함하는 방법을 제공한다. 표적 분자는 특별히 한정되지 않고, 예를 들어 저분자 화합물, 고분자 화합물, 핵산, 펩티드, 단백질, 당, 지질 등 중으로부터 적절히 선택할 수 있다. 표적 분자는 세포 외에 존재하는 분자여도 되고, 세포 내에 존재하는 분자여도 된다. 혹은 세포막에 존재하는 분자여도 되고, 그 경우, 세포외 도메인, 막관통 도메인, 세포내 도메인의 어느 것인가가 표적이 되어도 된다. 펩티드 라이브러리와 표적 분자를 접촉시키는 공정에 있어서, 통상, 표적 분자는 어떠한 고상 담체(예를 들어 마이크로타이터 플레이트나 마이크로비즈 등)에 고정된다. 그 후, 표적 분자에 결합하고 있지 않는 펩티드를 제거하고, 표적 분자에 결합하고 있는 펩티드만을 회수하는 것에 의해, 표적 분자에 대해서 결합 활성을 갖는 펩티드를 선택적으로 농축할 수 있다(패닝법). 이용한 펩티드 라이브러리가 핵산 디스플레이 라이브러리의 경우, 회수된 펩티드에 그 유전 정보가 코딩된 핵산이 결합하고 있으므로, 그들을 단리하여 해석하는 것에 의해, 회수된 펩티드를 코딩하는 핵산 서열 및 아미노산 서열을 용이하게 동정할 수 있다. 더욱이, 얻어진 핵산 서열 혹은 아미노산 서열을 기초로, 화학 합성 혹은 유전자 조작 수법 등에 의해, 동정된 펩티드를 개별적으로 제조할 수도 있다.

[0431] 일 국면에 있어서, 본 개시는, 펩티드 및 해당 펩티드를 코딩하는 핵산을 포함하는 핵산-펩티드 복합체로서, 이하의 특징을 갖는 복합체를 제공한다:

- [0432] (i) 펩티드를 코딩하는 핵산 서열 중에,  $M_1M_2A$  및  $M_1M_2G$ 의 2개의 코돈이 포함되어 있고, 또한,
- [0433] (ii) 펩티드의 아미노산 서열에 있어서,  $M_1M_2A$ 의 코돈에 대응하는 아미노산 또는 아미노산 유연체 및  $M_1M_2G$ 의 코돈에 대응하는 아미노산 또는 아미노산 유연체의 종류가 서로 상이하다.
- [0434] 여기에서,  $M_1$  및  $M_2$ 는, 어느 특정의 코돈의 1문자째 및 2문자째를 각각 나타낸다(단,  $M_1$ 이 A이며, 또한  $M_2$ 가 U인 코돈은 제외한다).
- [0435] 추가적인 국면에 있어서, 본 개시는, 펩티드 및 해당 펩티드를 코딩하는 핵산을 포함하는 핵산-펩티드 복합체로서, 이하의 특징을 갖는 복합체를 제공한다:
- [0436] (i) 펩티드를 코딩하는 핵산 서열 중에,  $M_1M_2U$ ,  $M_1M_2A$  및  $M_1M_2G$ 의 3개의 코돈이 포함되어 있고, 또한,
- [0437] (ii) 펩티드의 아미노산 서열에 있어서,  $M_1M_2U$ 의 코돈에 대응하는 아미노산 또는 아미노산 유연체,  $M_1M_2A$ 의 코돈에 대응하는 아미노산 또는 아미노산 유연체, 및  $M_1M_2G$ 의 코돈에 대응하는 아미노산 또는 아미노산 유연체의 종류가 모두 서로 상이하다.
- [0438] 여기에서,  $M_1$  및  $M_2$ 는, 어느 특정의 코돈의 1문자째 및 2문자째를 각각 나타낸다.
- [0439] 다른 국면에 있어서, 본 개시는, 펩티드 및 해당 펩티드를 코딩하는 핵산을 포함하는 핵산-펩티드 복합체로서, 이하의 특징을 갖는 복합체를 제공한다:
- [0440] (i) 펩티드를 코딩하는 핵산 서열 중에,  $M_1M_2C$ ,  $M_1M_2A$  및  $M_1M_2G$ 의 3개의 코돈이 포함되어 있고, 또한,
- [0441] (ii) 펩티드의 아미노산 서열에 있어서,  $M_1M_2C$ 의 코돈에 대응하는 아미노산 또는 아미노산 유연체,  $M_1M_2A$ 의 코돈에 대응하는 아미노산 또는 아미노산 유연체, 및  $M_1M_2G$ 의 코돈에 대응하는 아미노산 또는 아미노산 유연체의 종류가 모두 서로 상이하다.
- [0442] 여기에서,  $M_1$  및  $M_2$ 는, 어느 특정의 코돈의 1문자째 및 2문자째를 각각 나타낸다.
- [0443] 몇몇 태양에 있어서, 전술한 핵산-펩티드 복합체는, 펩티드 라이브러리(특히 핵산 디스플레이 라이브러리)를 구성하는 요소의 하나로서 거기에 포함될 수 있다. 일 태양에 있어서, 본 개시는, 본 개시에 있어서의 핵산-펩티드 복합체를 포함하는 라이브러리(펩티드 라이브러리 혹은 핵산 디스플레이 라이브러리)를 제공한다. 특정의 태양에 있어서, 전술한 핵산-펩티드 복합체 및 라이브러리는, 본 개시에 있어서의 tRNA, 혹은 본 개시에 있어서의 번역계를 이용하여 제작될 수 있다.
- [0444] 한편, 본 명세서에 있어서 인용된 모든 선행 기술 문헌은, 참조로서 본 명세서에 원용된다.
- [0445] **실시예**
- [0446] 본 발명은, 이하의 실시예에 의해 더 예시되지만, 하기의 실시예로 한정되는 것은 아니다.
- [0447] 한편, 실시예 중에서는 이하의 약호를 사용했다.
- [0448] AA 아세트산 암모늄
- [0449]  $CH_2CN$  사이아노메틸기
- [0450] DBU 1,8-다이아자바이사이클로 [5.4.0] -7-운데센
- [0451] DCM 다이클로로메테인
- [0452] DIC N,N-다이아이소프로필카보다이이미드
- [0453] DIPEA N,N-다이아이소프로필에틸아민
- [0454] DMF 다이메틸폼아마이드
- [0455] DMSO 다이메틸설폭사이드
- [0456] FA 폼산

- [0457] Fmoc 9-플루오렌일메틸옥시카보닐기
- [0458] F-Pnaz 4-(2-(4-플루오로페닐)아세트아마이드)벤질옥시카보닐기:



- [0459]
- [0460] HFIP 1,1,1,3,3,3-헥사플루오로-2-프로판올
- [0461] MeCN 아세트나이트릴
- [0462] NMP N-메틸-2-피롤리돈
- [0463] TEA 트라이에틸아민
- [0464] TFA 트라이플루오로아세트산
- [0465] TFE 2,2,2-트라이플루오로에탄올
- [0466] THF 테트라하이드로퓨란

[0467] 또한, 본 실시예에서는, 이하의 약호를 이용했다. Gly 또는 G(글리신), Ile 또는 I(아이소류신), Leu 또는 L(류신), Phe 또는 F(페닐알라닌), Pro 또는 P(프롤린), Thr 또는 T(트레오닌). 이들에 더하여, 표 2에 기재된 약호를 이용했다.

표 2

Biocode	Structure	Biocode	Structure
BdpFL -Phe		nBuG	
MeA3Pyr		Pic2	
StBuOH		dA	
MeSnPr		MeHph	
SPh2Cl		Thr (THP)	

- [0468]
- [0469] 또한, LCMS의 분석 조건을, 하기의 표 3에 나타낸다.

표 3

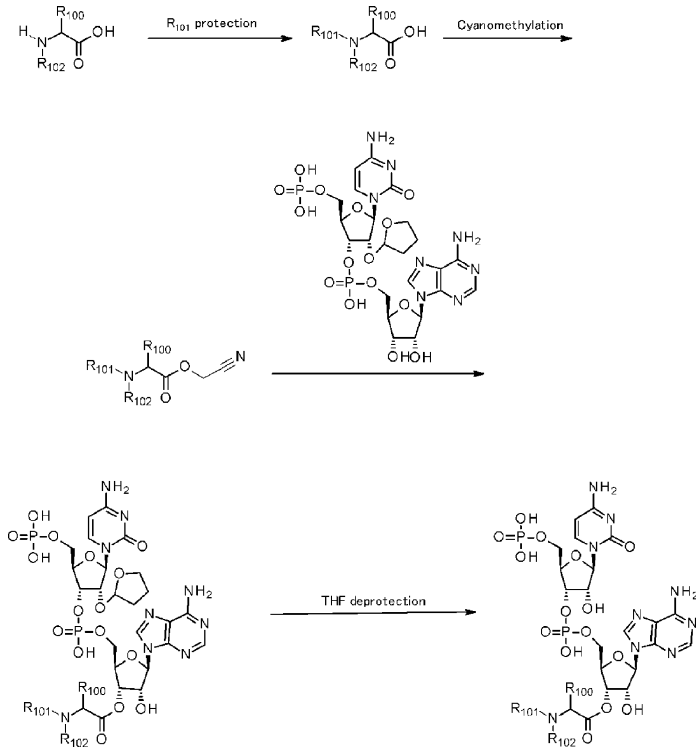
분취 조건	장치	칼럼 (I.D. x 길이 (mm))	이동상	구배 (A/B)	유속 (ml/분)	칼럼 온도 (°C)	패장
S/D FA05_01	Aequity UP/LC/S/D	Aldrich AscenTis Express C18 1.7 μm (2.1 x 50)	A) 0.1% FA, H2O B) 0.1% TFA, CH3CN	95/5 => 0/100 (1.0분 간) => 0/100 (0.4분 간)	1	35	210-400nm PDA total
S/D FA05_02	Aequity UP/LC/S/D2	Aldrich AscenTis Express C18 2.7 μm (2.1 x 50)	A) 0.1% FA, H2O B) 0.1% TFA, CH3CN	95/5 => 0/100 (1.0분 간) => 0/100 (0.4분 간)	0.9	35	210-400nm PDA total
S/D method 1	Shimadzu LOMS-2020 LC-30AD	Kinetex 2. bu XB-C18 100Å 2.6 μm (3.0 x 50)	A) 0.1% FA, H2O B) 0.1% TFA, CH3CN	90/10 => 0/100 (1.2 분간) => 0/100 (0.5분 간)	1.5	40	190-400nm PDA total
S/D method 2	Shimadzu LOMS-2020 LC-30AD	Kinetex 2. bu XB-C18 100Å 2.6 μm (2.1 x 50)	A) 0.05% TFA, H2O B) 0.05% TFA, CH3CN	95/5 => 0/100 (1.1분 간) => 0/100 (0.5분 간)	1.0	40	190-400nm PDA total
S/D method 3	Shimadzu LOMS-2020 LC-30AD	Shim-Pack XF-095 2.2 μm (3.0 x 50)	A) 0.05% TFA, H2O B) 0.05% TFA, CH3CN	95/5 => 0/100 (1.1분 간) => 0/100 (0.6분 간)	1.2	40	190-400nm PDA total
S/D method 4	Shimadzu LOMS-2020 LC-30AD	GRTeGS G18 2.7 μm (2.1 x 50)	A) 0.1% FA, H2O B) 0.1% TFA, CH3CN	90/10 => 0/100 (1.2 분간) => 0/100 (0.5분 간)	1.0	40	190-400nm PDA total
S/D method 5	Shimadzu LOMS-2020 LC-30AD	AscenTis Express C18 2.7 μm (2.1 x 50)	A) 0.05% TFA, H2O B) 0.05% TFA, CH3CN	95/5 => 0/100 (1.1분 간) => 0/100 (0.5분 간)	1.0	40	190-400nm PDA total

[0470]

[0471]

실시예 1. 무세포 번역계에 이용하는 pCpA-아미노산의 합성

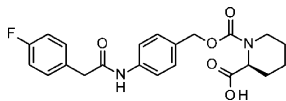
[0472] 이하의 스킴에 따라, 아미노아실화 pCpA(SS14, SS15, SS16, SS48, SS49, SS50, SS51)를 합성했다.



[0473]

[0474] (S)-1-(((4-(2-(4-플루오로페닐)아세트아마이드)벤질)옥시)카보닐)피페리딘-2-카복실산(화합물 SS17, F-Pnaz-Pic2-OH)의 합성

[0475]



[0476]

질소 분위기하, (S)-피페리딘-2-카복실산(42.6mg, 0.33mmol), 특허문헌(WO2018143145A1) 기재의 방법으로 합성한 탄산-(4-나이트로페닐)-4-(2-(4-플루오로페닐)아세트아마이드)벤질(화합물 ts11)(140mg, 0.44mmol)의 혼합물에 실온에서 DMF(330  $\mu$ L)를 첨가했다. 실온에서 5분 교반한 후, 트라이에틸아민(105.6  $\mu$ L, 2.25mmol)을 0 $^{\circ}$ C에서 첨가했다. 반응 혼합물을 실온에 있어서 30분간 교반한 후, 역상 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피(0.1% 폼산 수용액/0.1% 폼산 아세트나이트릴 용액)로 정제하여, (S)-1-(((4-(2-(4-플루오로페닐)아세트아마이드)벤질)옥시)카보닐)피페리딘-2-카복실산(화합물 SS17, F-Pnaz-Pic2-OH)(92mg, 67%)을 얻었다.

[0477]

LCMS(ESI) m/z = 413 (M-H)<sup>-</sup>

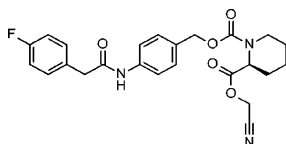
[0478]

유지 시간: 0.70분 (분석 조건 SQDFA05\_01)

[0479]

(S)-피페리딘-1,2-다이카복실산 1-(4-(2-(4-플루오로페닐)아세트아마이드)벤질) 2-(사이아노메틸)(화합물 SS18, F-Pnaz-Pic2-OCH<sub>2</sub>CN)의 합성

[0480]



[0481]

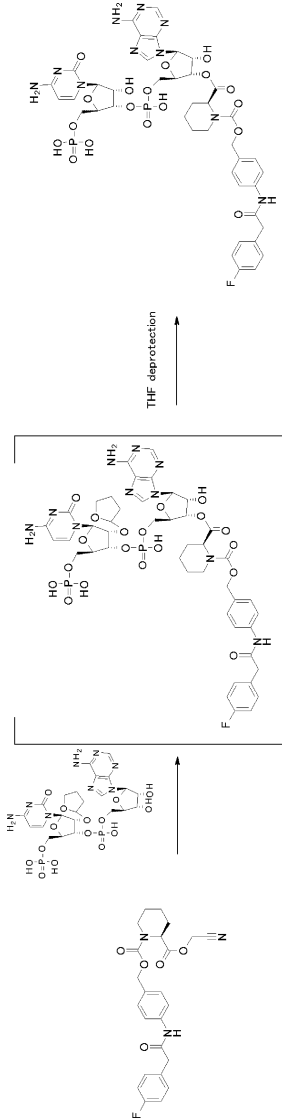
질소 분위기하, ((S)-1-(((4-(2-(4-플루오로페닐)아세트아마이드)벤질)옥시)카보닐)피페리딘-2-카복실산(화합물 SS17, F-Pnaz-Pic2-OH)(30mg, 0.072mmol) 및 N-에틸-아이소프로필프로페인-2-아민(DIPEA)(20.23  $\mu$ L, 0.116mmol)을 아세트나이트릴(90  $\mu$ L)에 용해하고, 2-브로모아세트나이트릴(5.34  $\mu$ L, 0.080mmol)을 0 $^{\circ}$ C에 있어서 가하고 실온에서 2시간 교반했다. 반응액을 농축하여, 조생성물 (S)-피페리딘-1,2-다이카복실산 1-(4-(2-(4-플루오로페닐)아세트아마이드)벤질) 2-(사이아노메틸)(화합물 SS18, F-Pnaz-Pic2-OCH<sub>2</sub>CN)을 얻었다. 얻어진 조생

성물을 아세트나이트릴(2.00mL)에 용해하고, 그대로 다음 공정에 이용했다.

[0482] LCMS(ESI) m/z = 452 (M-H)<sup>-</sup>

[0483] 유지 시간: 0.79분 (분석 조건 SQDFA05\_01)

[0484] (2S)-피페리딘-1,2-다이카복실산 1-(4-(2-(4-플루오로페닐)아세트아마이드)벤질) 2-(((2R,3S,4R,5R)-2-((((2R,3S,4R,5R)-5-(4-아미노-2-옥소피리미딘-1(2H)-일)-4-하이드록시-2-((포스포노옥시)메틸)테트라하이드로퓨란-3-일)옥시)(하이드록시)포스포틸)옥시)메틸)-5-(6-아미노-9H-퓨린-9-일)-4-하이드록시테트라하이드로퓨란-3-일)(화합물 SS14, F-Pnaz-Pic2-pCpA)의 합성



[0485]

[0486] 완충액 A(40mL)에, 문헌(Helv. Chim. Acta, 90, 297-310) 기재의 방법으로 합성한 인산이수소((2R,3R,4R,5R)-5-(4-아미노-2-옥소피리미딘-1(2H)-일)-3-((((2R,3S,4R,5R)-5-(6-아미노-9H-퓨린-9-일)-3,4-다이하이드록시테트라하이드로퓨란-2-일)메톡시)(하이드록시)포스포틸)옥시)-4-((테트라하이드로퓨란-2-일)옥시)테트라하이드로퓨란-2-일)메틸(화합물 pc01)(113mg, 0.156mmol)을 용해시키고, (S)-피페리딘-1,2-다이카복실산 1-(4-(2-(4-플루오로페닐)아세트아마이드)벤질) 2-(사이아노메틸)(화합물 SS18, F-Pnaz-Pic2-OCH<sub>2</sub>CN)(35.4mg, 0.078mmol)의 아세트나이트릴 용액(2.00mL)을 투여하고, 실온에서 150분 교반했다. 반응액을 0℃로 냉각한 후에, 트라이플루오로아세트산(2.00mL)을 가했다. 반응액을 0℃에서 45분 교반한 후에, 반응액을 역상 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피(0.05% 트라이플루오로아세트산 수용액/0.05% 트라이플루오로아세트산 아세트나이트릴)로 정제하여, 표제 화합물(화합물 SS14, F-Pnaz-Pic2-pCpA)(6.0mg, 7.3%)을 얻었다.

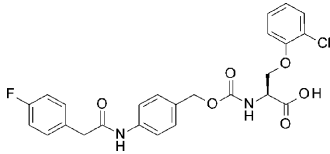
[0487] LCMS(ESI) m/z = 1047.5 (M-H)<sup>-</sup>

[0488] 유지 시간: 0.50분 (분석 조건 SQDFA05\_01)

[0489] 한편, 완충액 A는 이하와 같이 조제했다.

[0490] N,N,N-트라이메틸헥사데케인-1-아미늄 염화물(6.40g, 20mmol)과 이미다졸(6.81g, 100mmol)의 수용액에 아세트산을 첨가하고, pH8, 20mM N,N,N-트라이메틸헥사데케인-1-아미늄, 100mM 이미다졸의 완충액 A(1L)를 얻었다.

[0491] 0-(2-클로로페닐)-N-(((4-(2-(4-플루오로페닐)아세트아마이드)벤질)옥시)카보닐)-L-세린(화합물 SS19, F-Pnaz-SPh2C1-OH)의 합성



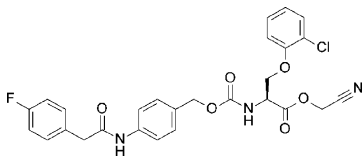
[0492]

[0493] 질소 분위기하, 특허문헌(WO2018225864) 기재의 방법으로 합성한 0-(2-클로로페닐)-L-세린(화합물 aa63)(1.25g, 5.80mmol), 특허문헌(WO2018143145A1) 기재의 방법으로 합성한 탄산-(4-나이트로페닐)-4-(2-(4-플루오로페닐)아세트아마이드)벤질(화합물 ts11)(2g, 4.71mmol)의 혼합물에 실온에서 DMSO(15mL), 트라이에틸아민(0.95g, 9.42mmol)을 첨가했다. 반응 혼합물을 실온에 있어서 16시간 교반한 후, 역상 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피(0.1% 폼산 수용액/0.1% 폼산 아세토나이트릴 용액)로 정제하여, 0-(2-클로로페닐)-N-(((4-(2-(4-플루오로페닐)아세트아마이드)벤질)옥시)카보닐)-L-세린(화합물 SS19, F-Pnaz-SPh2C1-OH)(1.8g, 73%)을 얻었다.

[0494] LCMS(ESI) m/z = 523 (M+Na) +

[0495] 유지 시간: 1.26분 (분석 조건 SMD method6)

[0496] 사이아노메틸 0-(2-클로로페닐)-N-(((4-(2-(4-플루오로페닐)아세트아마이드)벤질)옥시)카보닐)-L-세리네이트(화합물 SS20, F-Pnaz-SPh2C1-OCH<sub>2</sub>CN)의 합성



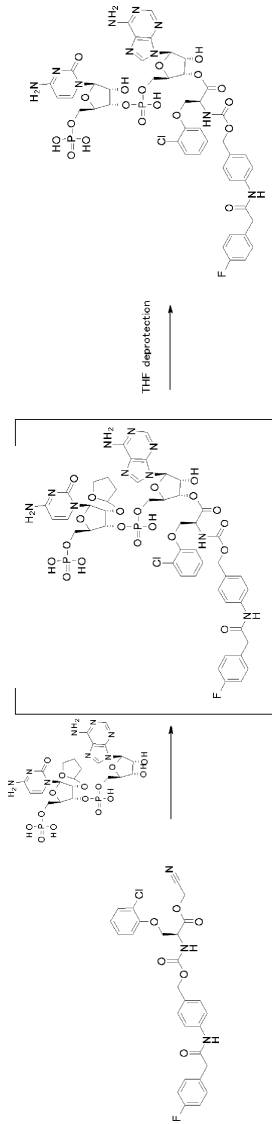
[0497]

[0498] 질소 분위기하, 0-(2-클로로페닐)-N-(((4-(2-(4-플루오로페닐)아세트아마이드)벤질)옥시)카보닐)-L-세린(화합물 SS19, F-Pnaz-SPh2C1-OH)(800mg, 1.60mmol) 및 N-에틸-아이소프로필프로페인-2-아민(DIPEA)(0.412g, 3.19mmol)을 DCM(15mL)에 용해하고, 2-브로모아세토나이트릴(760mg, 6.34mmol)을 실온에 있어서 가하고, 실온에서 16시간 교반했다. 반응액을 농축하고, 역상 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피(0.1% 폼산 수용액/0.1% 폼산 아세토나이트릴 용액)로 정제하여, 사이아노메틸 0-(2-클로로페닐)-N-(((4-(2-(4-플루오로페닐)아세트아마이드)벤질)옥시)카보닐)-L-세리네이트(화합물 SS20, F-Pnaz-SPh2C1-OCH<sub>2</sub>CN)(220mg, 26%)를 얻었다. 얻어진 생성물을 아세토나이트릴(5mL)에 용해하고, 다음 공정에 이용했다.

[0499] LCMS(ESI) m/z = 562 (M+Na) +

[0500] 유지 시간: 1.15분 (분석 조건 SMD method4)

[0501] (2R,3S,4R,5R)-2-((((((2R,3S,4R,5R)-5-(4-아미노-2-옥소피리미딘-1(2H)-일)-4-하이드록시-2-((포스포노옥시)메틸)테트라하이드로퓨란-3-일)옥시)(하이드록시)포스포릴)옥시)메틸)-5-(6-아미노-9H-퓨린-9-일)-4-하이드록시테트라하이드로퓨란-3-일 0-(2-클로로페닐)-N-(((4-(2-(4-플루오로페닐)아세트아마이드)벤질)옥시)카보닐)-L-세리네이트(화합물 SS15, F-Pnaz-SPh2C1-pCpA)의 합성



[0502]

[0503]

완충액 A(100mL)에, 인산이 수소((2R,3R,4R,5R)-5-(4-아미노-2-옥소피리미딘-1(2H)-일)-3-((((2R,3S,4R,5R)-5-(6-아미노-9H-퓨린-9-일)-3,4-다이하이드록시테트라하이드로퓨란-2-일)메톡시)(하이드록시)포스포릴)옥시)-4-((테트라하이드로퓨란-2-일)옥시)테트라하이드로퓨란-2-일)메틸(화합물 pc01)(400mg, 0.55mmol)을 용해시키고, 사이아노메틸 0-(2-클로로페닐)-N-(((4-(2-(4-플루오로페닐)아세트아마이드)벤질)옥시)카보닐)-L-세리네이트(화합물 SS20, F-Pnaz-SPh2Cl-OCH<sub>2</sub>CN)(220mg, 0.41mmol)의 아세트나이트릴 용액(5mL)을 시린지 펌프를 사용하여 15분 이상에 걸쳐 적하하고, 실온에서 5분 교반했다. 계속해서, 반응액에 트라이플루오로아세트산(2.3mL)을 가했다. 반응액을 동결 건조한 후에, 역상 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피(0.05% 트라이플루오로아세트산 수용액/0.05% 트라이플루오로아세트산 아세트나이트릴)로 정제하여, 표제 화합물(화합물 SS15, F-Pnaz-SPh2Cl-pCpA)(20.7mg, 2%)을 얻었다.

[0504]

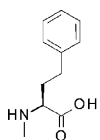
LCMS(ESI) m/z = 1133.4 (M-H)<sup>-</sup>

[0505]

유지 시간: 0.55분 (분석 조건 SQDFA05\_01)

[0506]

((S)-2-(메틸아미노)-4-페닐бут탄산(화합물 SS21, MeHph-OH)의 합성



[0507]

[0508]

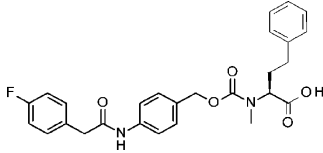
특허문헌(WO2018225864) 기재의 방법으로 합성한 (S)-2-(((9H-플루오렌-9-일)메톡시)카보닐)(메틸)아미노)-4-페닐бут탄산(화합물 aa11)(150mg, 0.361mmol)에 실온에서 DCM(903 μL), 물(903 μL) 및 피페리딘(178 μL,

1.805mmol)을 실온에서 첨가했다. 반응 혼합물을 실온에 있어서 30분간 교반한 후, 역상 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피(0.1% 폼산 수용액/0.1% 폼산 아세토나이트릴 용액)로 정제하여, ((S)-2-(메틸아미노)-4-페닐бут탄산(화합물 SS21, MeHph-OH)(55mg, 79%)을 얻었다.

[0509] LCMS(ESI) m/z = 192 (M-H)-

[0510] 유지 시간: 0.15분 (분석 조건 SQDFA05\_02)

[0511] (S)-2-(((4-(2-(4-플루오로페닐)아세트아마이드)벤질)옥시)카보닐)(메틸)아미노)-4-페닐бут탄산(화합물 SS22, F-Pnaz-MeHph-OH)의 합성



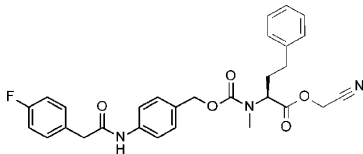
[0512]

[0513] 질소 분위기하, ((S)-2-(메틸아미노)-4-페닐бут탄산(화합물 SS21, MeHph-OH)(35.1mg, 0.182mmol), 특허문헌(WO2018143145A1) 기재의 방법으로 합성한 탄산-(4-나이트로페닐)-4-(2-(4-플루오로페닐)아세트아마이드)벤질(화합물 ts11)(85mg, 0.20mmol)의 혼합물에 실온에서 DMSO(727 μL)를 첨가했다. 트라이에틸아민(76 μL, 0.545mmol)을 50℃에서 첨가했다. 반응 혼합물을 40℃에 있어서 16시간 교반한 후, 역상 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피(0.1% 폼산 수용액/0.1% 폼산 아세토나이트릴 용액)로 정제하여, (S)-2-(((4-(2-(4-플루오로페닐)아세트아마이드)벤질)옥시)카보닐)(메틸)아미노)-4-페닐бут탄산(화합물 SS22, F-Pnaz-MeHph-OH)(80mg, 92%)을 얻었다.

[0514] LCMS(ESI) m/z = 477 (M-H)-

[0515] 유지 시간: 0.85분 (분석 조건 SQDFA05\_02)

[0516] (S)-2-(((4-(2-(4-플루오로페닐)아세트아마이드)벤질)옥시)카보닐)(메틸)아미노)-4-페닐бут탄산 사이아노메틸(화합물 SS23, F-Pnaz-MeHph-OCH<sub>2</sub>CN)의 합성



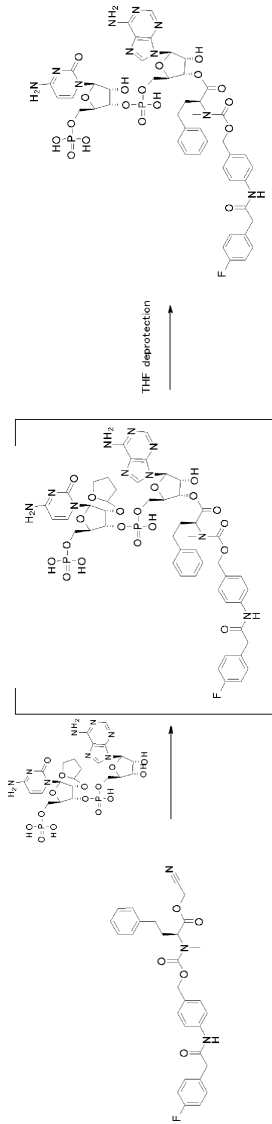
[0517]

[0518] 질소 분위기하, (S)-2-(((4-(2-(4-플루오로페닐)아세트아마이드)벤질)옥시)카보닐)(메틸)아미노)-4-페닐бут탄산(화합물 SS22, F-Pnaz-MeHph-OH)(77mg, 0.16mmol) 및 N-에틸-아이소프로필프로페인-2-아민(DIPEA)(31 μL, 0.176mmol)의 혼합물에 아세토나이트릴(533 μL)을 실온에서 가했다. 그 후, 2-브로모아세토나이트릴(86 μL, 1.280mmol)을 실온에 있어서 가하고 반응 혼합물을 40℃에 있어서 1시간 교반했다. 반응액을 농축하고, 조생성물 (S)-2-(((4-(2-(4-플루오로페닐)아세트아마이드)벤질)옥시)카보닐)(메틸)아미노)-4-페닐бут탄산 사이아노메틸(화합물 SS23, F-Pnaz-MeHph-OCH<sub>2</sub>CN)을 얻었다. 얻어진 조생성물을 아세토나이트릴(5.00mL)에 용해하고, 그 대로 다음 공정에 이용했다.

[0519] LCMS(ESI) m/z = 516 (M-H)-

[0520] 유지 시간: 0.92분 (분석 조건 SQDFA05\_02)

[0521] (2S)-2-(((4-(2-(4-플루오로페닐)아세트아마이드)벤질)옥시)카보닐)(메틸)아미노)-4-페닐бут탄산(2R,3S,4R,5R)-2-((((2R,3S,4R,5R)-5-(4-아미노-2-옥소피리미딘-1(2H)-일)-4-하이드록시-2-(포스포노옥시)메틸)테트라하이드로퓨란-3-일)옥시)(하이드록시)포스포릴)옥시)메틸)-5-(6-아미노-9H-퓨린-9-일)-4-하이드록시테트라하이드로퓨란-3-일(화합물 SS16, F-Pnaz-MeHph-pCpA)의 합성



[0522]

[0523]

완충액 A(100mL)에, 인산이수소((2R,3R,4R,5R)-5-(4-아미노-2-옥소피리미딘-1(2H)-일)-3-((((2R,3S,4R,5R)-5-(6-아미노-9H-퓨린-9-일)-3,4-다이하이드록시테트라하이드로퓨란-2-일)메톡시)(하이드록시)포스포릴)옥시)-4-((테트라하이드로퓨란-2-일)옥시)테트라하이드로퓨란-2-일)메틸(화합물 pc01)(127mg, 0.176mmol)을 용해시키고, (S)-2-((((4-(2-(4-플루오로페닐)아세트아마이드)벤질)옥시)카보닐)(메틸)아미노)-4-페닐뷰탄산 사이아노메틸(화합물 SS23, F-Pnaz-MeHph-OCH<sub>2</sub>CN)(83mg, 0.16mmol)의 아세트로나이트릴 용액(5.00mL)을 투여하고, 실온에서 1시간 교반했다. 반응액을 0℃로 냉각한 후에, 트라이플루오로아세트산(5.00mL)을 가했다. 반응액을 0℃에서 1시간 교반한 후에, 반응액을 역상 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피(0.05% 트라이플루오로아세트산 수용액/0.05% 트라이플루오로아세트산 아세트로나이트릴)로 정제하고, 그 후 추가로 역상 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피(0.1% 폼산 수용액/0.1% 폼산 아세트로나이트릴 용액)로 정제하여, 표제 화합물(화합물 SS16, F-Pnaz-MeHph-pCpA)(26mg, 14.6%)을 얻었다.

[0524]

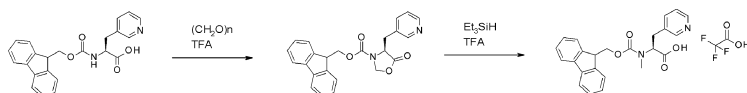
LCMS(ESI) m/z = 1111.5 (M-H)<sup>-</sup>

[0525]

유지 시간: 0.64분 (분석 조건 SQDFA05\_02)

[0526]

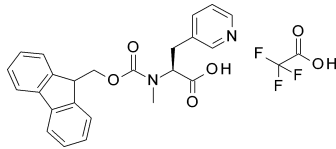
화합물 SS48의 합성 중간체는, 이하의 스킴에 따라 합성했다.



[0527]

[0528]

(S)-2-((((9H-플루오렌-9-일)메톡시)카보닐)(메틸)아미노)-3-(피리딘-3-일)프로판산 화합물 2,2,2-트라이플루오로아세트산염(화합물 SS52, Fmoc-MeA3Pyr-OH · TFA)의 합성



[0529]

[0530]

(S)-2-((((9H-플루오렌-9-일)메톡시)카보닐)아미노)-3-(피리딘-3-일)프로판산(15g, 38.62mmol), 트라이플루오로아세트산(27mL, 348mmol) 및 파라폼알데하이드((CH<sub>2</sub>O)<sub>n</sub>)(3.48g, 116mmol)를 톨루엔(50mL)에 현탁시키고, 질소 분위기하, 40°C에서 16시간 교반했다. 실온에서 냉각 후, 반응액을 감압 농축했다. 잔사를 DCM에 용해하고, 포화 탄산수소 나트륨 수용액으로 세정했다. 유기층을 무수 황산 나트륨으로 건조 후, 여과 및 감압 농축함으로써 용매를 제거하여, (S)-5-옥소-4-(피리딘-3-일메틸)옥사졸리딘-3-카복실산 (9H-플루오렌-9-일)메틸을 조생성물로서 얻었다.

[0531]

얻어진 조생성물인 (S)-5-옥소-4-(피리딘-3-일메틸)옥사졸리딘-3-카복실산 (9H-플루오렌-9-일)(18g, 44.95mmol)을 다이클로로에테인(100mL)에 용해하고, 트라이에틸실레인(Et<sub>3</sub>SiH)(47g, 404.20mmol) 및 트라이플루오로아세트산(100mL)을 실온에서 가했다. 반응액을 질소 분위기하, 70°C에서 16시간 교반한 후, 반응액을 감압 농축했다. 얻어진 잔사를 아세트산 아이소프로필에 용해하고, t-부틸 메틸 에터와 헥세인의 혼합 용액(9:1)을 가했다. 그 용액을 실온에서 20분간 교반한 후, 4°C에서 1시간 정치했다. 생긴 침전물을 여과로 회수하고, 냉각한 t-부틸 메틸 에터와 헥세인의 혼합 용액(9:1)으로 세정하여, (S)-2-((((9H-플루오렌-9-일)메톡시)카보닐)(메틸)아미노)-3-(피리딘-3-일)프로판산 화합물 2,2,2-트라이플루오로아세트산염(화합물 SS52, Fmoc-MeA3Pyr-OH · TFA)(19g, 95%)을 얻었다.

[0532]

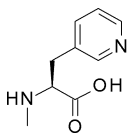
LCMS(ESI) m/z = 403 (M+H) +

[0533]

유지 시간: 0.77분 (분석 조건 SMD method1)

[0534]

(S)-2-(메틸아미노)-3-(피리딘-3-일)프로판산(화합물 SS53, MeA3Pyr-OH)의 합성



[0535]

[0536]

(S)-2-((((9H-플루오렌-9-일)메톡시)카보닐)(메틸)아미노)-3-(피리딘-3-일)프로판산 화합물 2,2,2-트라이플루오로아세트산염(화합물 SS52, Fmoc-MeA3Pyr-OH · TFA)(19g, 47.21mmol)에 실온에서 DMF(72mL) 및 피페리딘(28.5mL)을 첨가하고, 반응 혼합물을 실온에 있어서 3시간 교반했다. 디에틸 에터(140mL) 및 헥세인(280mL)을 가하고, 실온에 있어서 추가로 3시간 교반했다. 생긴 침전물을 여과로 회수하여, (S)-2-(메틸아미노)-3-(피리딘-3-일)프로판산(화합물 SS53, MeA3Pyr-OH)(7g)을 정량적으로 얻었다.

[0537]

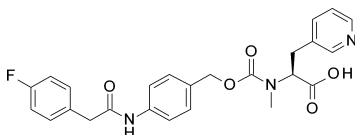
LCMS(ESI) m/z = 181 (M+H) +

[0538]

유지 시간: 0.15분 (분석 조건 SMD method2)

[0539]

(S)-2-((((4-(2-(4-플루오로페닐)아세트아마이드)벤질)옥시)카보닐)(메틸)아미노)-3-(피리딘-3-일)프로판산(화합물 SS54, F-Pnaz-MeA3Pyr-OH)의 합성



[0540]

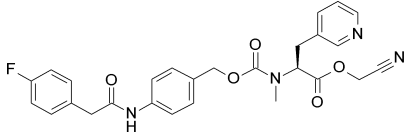
[0541]

질소 분위기하, (S)-2-(메틸아미노)-3-(피리딘-3-일)프로판산(화합물 SS53, MeA3Pyr-OH)(970mg, 5.38mmol), 특허문헌(WO2018143145A1) 기재의 방법으로 합성한 탄산-(4-나이트로페닐)-4-(2-(4-플루오로페닐)아세트아마이드)벤질(화합물 ts11)(2g, 4.71mmol)의 혼합물에 실온에서 DMSO(15mL), 트라이에틸아민(950mg, 9.43mmol)을 첨가했다. 반응 혼합물을 40°C에 있어서 16시간 교반한 후, 역상 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피(0.1% 폼산 수용액/0.1% 폼산 아세트나이트릴 용액)로 정제하여, (S)-2-((((4-(2-(4-플루오로페닐)아세트아마이드)벤질)옥시)카보닐)(메틸)아미노)-3-(피리딘-3-일)프로판산(화합물 SS54, F-Pnaz-MeA3Pyr-OH)(1.0g, 46%)을 얻었다.

[0542] LCMS(ESI) m/z = 466 (M+H)+

[0543] 유지 시간: 0.98분 (분석 조건 SMD method3)

[0544] (S)-2-((((4-(2-(4-플루오로페닐)아세트아마이드)벤질)옥시)카보닐)(메틸)아미노)-3-(피리딘-3-일)프로판산 사이아노메틸(화합물 SS55, F-Pnaz-MeA3Pyr-OCH<sub>2</sub>CN)의 합성



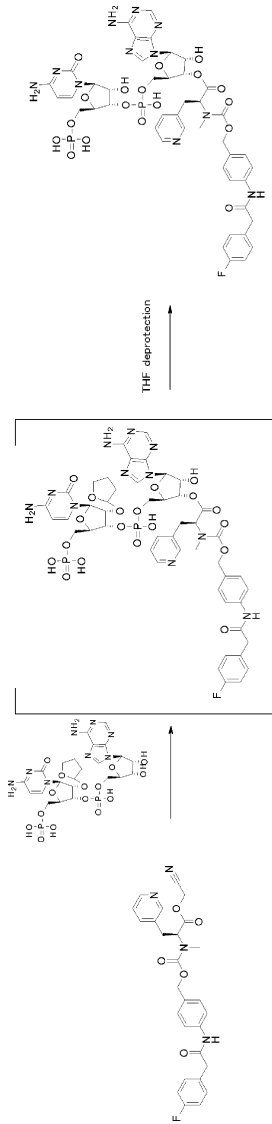
[0545]

[0546] 질소 분위기하, (S)-2-((((4-(2-(4-플루오로페닐)아세트아마이드)벤질)옥시)카보닐)(메틸)아미노)-3-(피리딘-3-일)프로판산(화합물 SS54, F-Pnaz-MeA3Pyr-OH)(800mg, 1.72mmol) 및 N-에틸-아이소프로필프로페인-2-아민(DIPEA)(444mg, 3.44mmol)의 혼합물을 DCM(20mL)에 용해하고, 2-브로모아세트나이트릴(818mg, 6.82mmol)을 실온에 있어서 가하고, 실온에서 6시간 교반했다. 반응액을 농축하고, 순상 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피(아세트산 에틸/석유 에터)로 정제하여, (S)-2-((((4-(2-(4-플루오로페닐)아세트아마이드)벤질)옥시)카보닐)(메틸)아미노)-3-(피리딘-3-일)프로판산 사이아노메틸(화합물 SS55, F-Pnaz-MeA3Pyr-OCH<sub>2</sub>CN)(221mg, 25%)을 얻었다.

[0547] LCMS(ESI) m/z = 505 (M+H)+

[0548] 유지 시간: 0.83분 (분석 조건 SMD method4)

[0549] (2S)-2-((((4-(2-(4-플루오로페닐)아세트아마이드)벤질)옥시)카보닐)(메틸)아미노)-3-(피리딘-3-일)프로판산(2R,3S,4R,5R)-2-((((2R,3S,4R,5R)-5-(4-아미노-2-옥소피리미딘-1(2H)-일)-4-하이드록시-2-((포스포노옥시)메틸)테트라하이드로퓨란-3-일)옥시)(하이드록시)포스포틸)옥시)메틸)-5-(6-아미노-9H-퓨린-9-일)-4-하이드록시테트라하이드로퓨란-3-일(화합물 SS48, F-Pnaz-MeA3Pyr-pCpA)의 합성



[0550]

[0551]

완충액 A(100mL)에, 문헌(Helv. Chim. Acta, 90, 297-310) 기재의 방법으로 합성한 인산이수소((2R,3R,4R,5R)-5-(4-아미노-2-옥소피리미딘-1(2H)-일)-3-((((2R,3S,4R,5R)-5-(6-아미노-9H-퓨린-9-일)-3,4-다이하이드록시 테트라하이드로퓨란-2-일)메톡시)(하이드록시)포스포릴)옥시)-4-((테트라하이드로퓨란-2-일)옥시)테트라하이드로퓨란-2-일)메틸(화합물 pc01)(400mg, 0.55mmol)을 용해시키고, (S)-2-(((4-(2-(4-플루오로페닐)아세트아마이드)벤질)옥시)카보닐)-(메틸)아미노)-3-(피리딘-3-일)프로판산 사이아노메틸(화합물 SS55, F-Pnaz-MeA3Pyr-OCH<sub>2</sub>CN)(146mg, 0.29mmol)의 아세트나이트릴 용액(5mL)을 시린지 펌프를 이용하여 15분 이상에 걸쳐 적하하고, 실온에서 1시간 교반했다. 반응액에 트라이플루오로아세트산(2.3mL)을 가하고 반응액을 동결 건조한 후에, 역상 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피(0.05% 트라이플루오로아세트산 수용액/0.05% 트라이플루오로아세트산 아세트나이트릴)로 정제하여, 표제 화합물(화합물 SS48, F-Pnaz-MeA3Pyr-pCpA)(64.4mg, 5%)을 얻었다.

[0552]

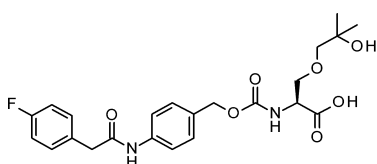
LCMS(ESI) m/z = 1098.5 (M-H)-

[0553]

유지 시간: 0.39분 (분석 조건 SQDFA05\_01)

[0554]

N-(((4-(2-(4-플루오로페닐)아세트아마이드)벤질)옥시)카보닐)-0-(2-하이드록시-2-메틸프로필)-L-세린(화합물 SS56, F-Pnaz-StBuOH-OH)의 합성



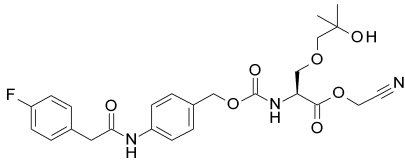
[0555]

[0556] 질소 분위기하, 특허문헌(WO2018225864) 기재의 방법으로 합성한 0-(2-하이드록시-2-메틸프로필)-L-세린(0.5g, 2.83mmol), 특허문헌(WO2018143145A1) 기재의 방법으로 합성한 탄산-(4-나이트로페닐)-4-(2-(4-플루오로페닐)아세트아마이드)벤질(화합물 ts11)(1g, 2.36mmol)의 혼합물에 실온에서 DMSO(7mL), 트라이에틸아민(0.65mL, 4.72mmol)을 첨가했다. 반응 혼합물을 실온에 있어서 16시간 교반한 후, 역상 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피(0.1% 폼산 수용액/0.1% 폼산 아세트나이트릴 용액)로 정제하여, N-(((4-(2-(4-플루오로페닐)아세트아마이드)벤질)옥시)카보닐)-0-(2-하이드록시-2-메틸프로필)-L-세린(화합물 SS56, F-Pnaz-StBuOH-OH)(1g, 92%)을 얻었다.

[0557] LCMS(ESI) m/z = 485 (M+Na) +

[0558] 유지 시간: 0.80분 (분석 조건 SMD method5)

[0559] 사이아노메틸 N-(((4-(2-(4-플루오로페닐)아세트아마이드)벤질)옥시)카보닐)-0-(2-하이드록시-2-메틸프로필)-L-세리네이트(화합물 SS57, F-Pnaz-StBuOH-OCH<sub>2</sub>CN)의 합성



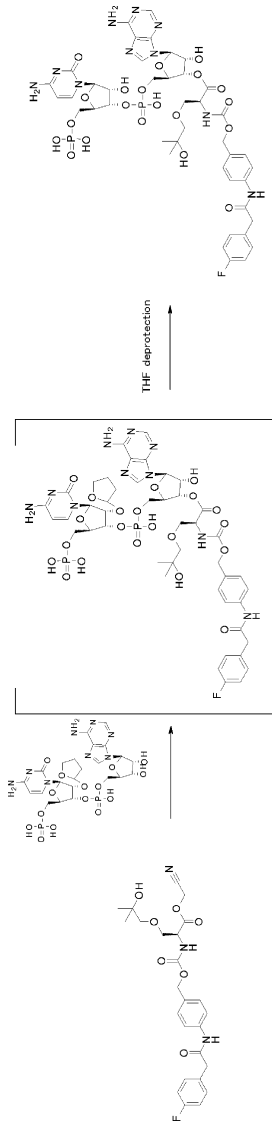
[0560]

[0561] 질소 분위기하, N-(((4-(2-(4-플루오로페닐)아세트아마이드)벤질)옥시)카보닐)-0-(2-하이드록시-2-메틸프로필)-L-세린(화합물 SS56, F-Pnaz-StBuOH-OH)(1.2g, 2.59mmol) 및 N-에틸-아이소프로필프로페인-2-아민(DIPEA)(670mg, 5.18mmol)을 DCM(36mL)에 용해하고, 2-브로모아세트나이트릴(1.23g, 10.25mmol)을 실온에 있어서 가하고, 실온에서 48시간 교반했다. 반응액을 농축하고, 순상 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피(아세트산 에틸/석유 에터)로 정제하여, 사이아노메틸 N-(((4-(2-(4-플루오로페닐)아세트아마이드)벤질)옥시)카보닐)-0-(2-하이드록시-2-메틸프로필)-L-세리네이트(화합물 SS57, F-Pnaz-StBuOH-OCH<sub>2</sub>CN)(1g, 77%)를 얻었다.

[0562] LCMS(ESI) m/z = 524 (M+Na) +

[0563] 유지 시간: 0.97분 (분석 조건 SMD method4)

[0564] (2R,3S,4R,5R)-2-((((((2R,3S,4R,5R)-5-(4-아미노-2-옥소피리미딘-1(2H)-일)-4-하이드록시-2-((포스포노옥시)메틸)테트라하이드로퓨란-3-일)옥시)(하이드록시)포스포릴)옥시)메틸)-5-(6-아미노-9H-퓨린-9-일)-4-하이드록시테트라하이드로퓨란-3-일 N-(((4-(2-(4-플루오로페닐)아세트아마이드)벤질)옥시)카보닐)-0-(2-하이드록시-2-메틸프로필)-L-세리네이트(화합물 SS49, F-Pnaz-StBuOH-pCpA)의 합성



[0565]

[0566]

완충액 A(100mL)에, 문헌(Helv. Chim. Acta, 90, 297-310) 기재의 방법으로 합성한 인산이수소((2R,3R,4R,5R)-5-(4-아미노-2-옥소피리미딘-1(2H)-일)-3-((((2R,3S,4R,5R)-5-(6-아미노-9H-퓨린-9-일)-3,4-다이하이드록시 테트라하이드로퓨란-2-일)메톡시)(하이드록시)포스포릴)옥시)-4-((테트라하이드로퓨란-2-일)옥시)테트라하이드로퓨란-2-일)메틸(화합물 pc01)(400mg, 0.55mmol)을 용해시키고, 사이아노메틸 N-((4-(2-(4-플루오로페닐)아세트아미드)벤질)옥시)카보닐)-O-(2-하이드록시-2-메틸프로필)-L-세리네이트(화합물 SS57, F-Pnaz-StBuOH-OCH<sub>2</sub>CN)(139mg, 0.28mmol)의 아세트나이트릴 용액(5mL)을 시린지 펌프를 이용하여 15분 이상에 걸쳐 적하하고, 실온에서 1시간 교반했다. 반응액에 트라이플루오로아세트산(2.3mL)을 가하고 반응액을 동결 건조한 후에, 역상 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피(0.05% 트라이플루오로아세트산 수용액/0.05% 트라이플루오로아세트산 아세트나이트릴)로 정제하여, 표제 화합물(화합물 SS49, F-Pnaz-StBuOH-pCpA)(55.3mg, 5%)을 얻었다.

[0567]

LCMS(ESI) m/z = 1095.4 (M-H)<sup>-</sup>

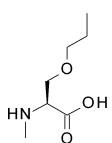
[0568]

유지 시간: 0.46분 (분석 조건 SQDFA05\_01)

[0569]

N-메틸-O-프로필-L-세린(화합물 SS58, MeSnPr-OH)의 합성

[0570]



[0571]

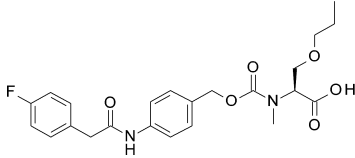
특허문헌(WO2018225864) 기재의 방법으로 합성한 (S)-2-(((9H-플루오렌-9-일)메톡시)카보닐)(메틸)아미노)-4-페닐뷰탄산(화합물 aa52)(20g, 52.16mmol)에 실온에서 DMF(80mL) 및 피페리딘(30mL)을 첨가하고, 반응 혼합

물을 실온에 있어서 3시간 교반했다. 다이에틸 에터(160mL) 및 헥세인(500mL)을 가하고, 실온에 있어서 추가로 3시간 교반했다. 생긴 침전물을 여과로 회수하여, N-메틸-O-프로필-L-세린(화합물 SS58, MeSnPr-OH)(7g, 83%)을 얻었다.

[0572] LCMS(ESI) m/z = 162 (M+H) +

[0573] 유지 시간: 0.34분 (분석 조건 SMD method2)

[0574] N-(((4-(2-(4-플루오로페닐)아세트아마이드)벤질)옥시)카보닐)-N-메틸-O-프로필-L-세린(화합물 SS59, F-Pnaz-MeSnPr-OH)의 합성



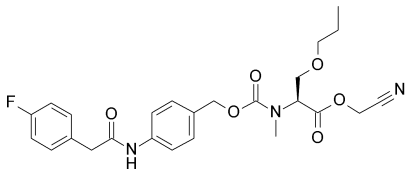
[0575]

[0576] 질소 분위기하, N-메틸-O-프로필-L-세린(화합물 SS58, MeSnPr-OH)(920mg, 5.71mmol), 특허문헌 (W02018143145A1) 기재의 방법으로 합성한 탄산-(4-나이트로페닐)-4-(2-(4-플루오로페닐)아세트아마이드)벤질(화합물 ts11)(2g, 4.71mmol)의 혼합물에 실온에서 DMSO(15mL), 트라이에틸아민(1.3mL, 9.43mmol)을 첨가했다. 반응 혼합물을 실온에 있어서 16시간 교반한 후, 역상 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피(0.1% 폼산 수용액/0.1% 폼산 아세트아니트릴 용액)로 정제하여, N-(((4-(2-(4-플루오로페닐)아세트아마이드)벤질)옥시)카보닐)-N-메틸-O-프로필-L-세린(화합물 SS59, F-Pnaz-MeSnPr-OH)(2g, 95%)을 얻었다.

[0577] LCMS(ESI) m/z = 469 (M+Na) +

[0578] 유지 시간: 1.23분 (분석 조건 SMD method3)

[0579] 사이아노메틸 N-(((4-(2-(4-플루오로페닐)아세트아마이드)벤질)옥시)카보닐)-N-메틸-O-프로필-L-세리네이트(화합물 SS60, F-Pnaz-MeSnPr-OCH<sub>2</sub>CN)의 합성



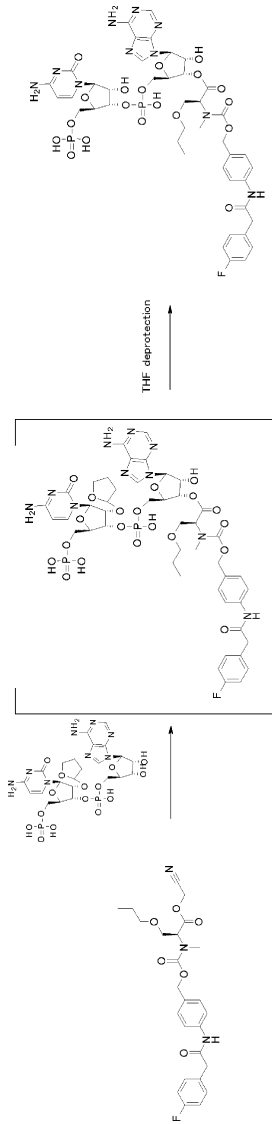
[0580]

[0581] 질소 분위기하, N-(((4-(2-(4-플루오로페닐)아세트아마이드)벤질)옥시)카보닐)-N-메틸-O-프로필-L-세린(화합물 SS59, F-Pnaz-MeSnPr-OH)(2.2g, 4.93mmol) 및 N-에틸-아이소프로필프로페인-2-아민(DIPEA)(1.28g, 9.90mmol)의 혼합물을 DCM(40mL)에 용해하고, 2-브로모아세트아니트릴(2.35g, 19.59mmol)을 실온에 있어서 가하고, 실온에서 48시간 교반했다. 반응액을 농축하고, 순상 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피(아세트산 에틸/석유 에터)로 정제하여, 사이아노메틸 N-(((4-(2-(4-플루오로페닐)아세트아마이드)벤질)옥시)카보닐)-N-메틸-O-프로필-L-세리네이트(화합물 SS60, F-Pnaz-MeSnPr-OCH<sub>2</sub>CN)(2g, 84%)를 얻었다.

[0582] LCMS(ESI) m/z = 508 (M+Na) +

[0583] 유지 시간: 1.32분 (분석 조건 SMD method3)

[0584] (2R,3S,4R,5R)-2-((((((2R,3S,4R,5R)-5-(4-아미노-2-옥소피리미딘-1(2H)-일)-4-하이드록시-2-((포스포노옥시)메틸)테트라하이드로퓨란-3-일)옥시)(하이드록시)포스포릴)옥시)메틸)-5-(6-아미노-9H-퓨린-9-일)-4-하이드록시테트라하이드로퓨란-3-일 N-(((4-(2-(4-플루오로페닐)아세트아마이드)벤질)옥시)카보닐)-N-메틸-O-프로필-L-세리네이트(화합물 SS50, F-Pnaz-MeSnPr-pCpA)의 합성



[0585]

[0586]

완충액 A(100mL)에, 문헌(Helv. Chim. Acta, 90, 297-310) 기재의 방법으로 합성한 인산이수소((2R,3R,4R,5R)-5-(4-아미노-2-옥소피리미딘-1(2H)-일)-3-((((2R,3S,4R,5R)-5-(6-아미노-9H-퓨린-9-일)-3,4-다이하이드록시 테트라하이드로퓨란-2-일)메톡시)(하이드록시)포스포릴)옥시)-4-((테트라하이드로퓨란-2-일)옥시)테트라하이드로퓨란-2-일)메틸(화합물 pc01)(400mg, 0.55mmol)을 용해시키고, 사이아노메틸 N-((4-(2-(4-플루오로페닐)아세트아마이드)벤질)옥시)카보닐)-N-메틸-0-프로필-L-세리네이트(화합물 SS60, F-Pnaz-MeSnPr-OCH<sub>2</sub>CN)(135mg, 0.28mmol)의 아세트나이트릴 용액(5mL)을 시린지 펌프를 이용하여 15분 이상에 걸쳐 적하하고, 실온에서 4시간 교반했다. 반응액에 트라이플루오로아세트산(2.3mL)을 가하고, 반응액을 동결 건조한 후에, 역상 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피(0.05% 트라이플루오로아세트산 수용액/0.05% 트라이플루오로아세트산 아세트나이트릴)로 정제하여, 표제 화합물(화합물 SS50, F-Pnaz-MeSnPr-pCpA)(70.2mg, 6%)을 얻었다.

[0587]

LCMS(ESI) m/z = 1079.5 (M-H)<sup>-</sup>

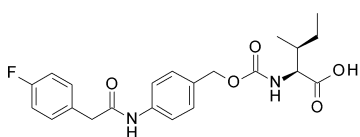
[0588]

유지 시간: 0.52분 (분석 조건 SQDFA05\_01)

[0589]

(((4-(2-(4-플루오로페닐)아세트아마이드)벤질)옥시)카보닐)-L-아이소류신(화합물 SS61, F-Pnaz-Ile-OH)의 합성

[0590]



[0591]

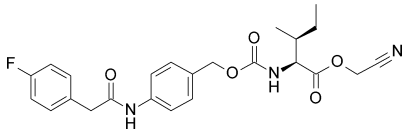
질소 분위기하, L-아이소류신(52.5mg, 0.40mmol), 특허문헌(WO2018143145A1) 기재의 방법으로 합성한 탄산-(4-나이트로페닐)-4-(2-(4-플루오로페닐)아세트아마이드)벤질(화합물 ts11)(178mg, 0.42mmol)의 혼합물에 실온에서

DMSO(2mL), 트라이에틸아민(128  $\mu$ L, 0.92mmol)을 첨가했다. 반응 혼합물을 실온에서 2.5일간 교반한 후, 역상 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피(0.1% 폼산 수용액/0.1% 폼산 아세트나이트릴 용액)로 정제하여, (((4-(2-(4-플루오로페닐)아세트아마이드)벤질)옥시)카보닐)-L-아이소류신(화합물 SS61, F-Pnaz-Ile-OH)(125mg, 75%)을 얻었다.

[0592] LCMS(ESI) m/z = 415.4 (M-H)-

[0593] 유지 시간: 0.74분 (분석 조건 SQDFA05\_02)

[0594] 사이아노메틸 (((4-(2-(4-플루오로페닐)아세트아마이드)벤질)옥시)카보닐)-L-아이소류시네이트(화합물 SS62, F-Pnaz-Ile-OCH<sub>2</sub>CN)의 합성



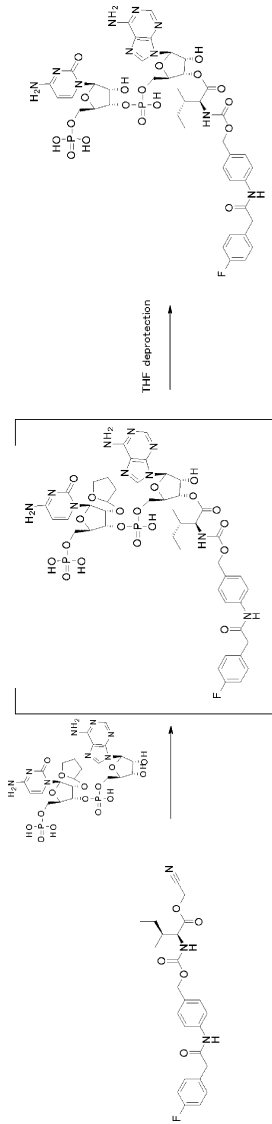
[0595]

[0596] 질소 분위기하, (((4-(2-(4-플루오로페닐)아세트아마이드)벤질)옥시)카보닐)-L-아이소류신(화합물 SS61, F-Pnaz-Ile-OH)(42mg, 0.1mmol) 및 2-브로모아세트나이트릴(13  $\mu$ L, 0.200mmol)을 아세트나이트릴(500  $\mu$ L)에 용해하고, N-에틸-아이소프로필프로페인-2-아민(DIPEA)(35  $\mu$ L, 0.200mmol)를 실온에 있어서 가하고, 실온에서 16시간 교반했다. 반응액을 농축하고, 조생성물 사이아노메틸 (((4-(2-(4-플루오로페닐)아세트아마이드)벤질)옥시)카보닐)-L-아이소류시네이트(화합물 SS62, F-Pnaz-Ile-OCH<sub>2</sub>CN)를 얻었다. 얻어진 조생성물을 아세트나이트릴(3.00mL)에 용해하고, 그대로 다음 공정에 이용했다.

[0597] LCMS(ESI) m/z = 454 (M-H)-

[0598] 유지 시간: 0.83분 (분석 조건 SQDFA05\_02)

[0599] (2R,3S,4R,5R)-2-((((((2R,3S,4R,5R)-5-(4-아미노-2-옥소피리미딘-1(2H)-일)-4-하이드록시-2-((포스포노옥시)메틸)테트라하이드로퓨란-3-일)옥시)(하이드록시)포스포릴)옥시)메틸)-5-(6-아미노-9H-퓨린-9-일)-4-하이드록시테트라하이드로퓨란-3-일 (((4-(2-(4-플루오로페닐)아세트아마이드)벤질)옥시)카보닐)-L-아이소류시네이트(화합물 SS51, F-Pnaz-Ile-pCpA)의 합성



[0600]

[0601]

완충액 A(60mL)에, 문헌(Helv. Chim. Acta, 90, 297-310) 기재의 방법으로 합성한 인산이수소((2R,3R,4R,5R)-5-(4-아미노-2-옥소피리미딘-1(2H)-일)-3-((((2R,3S,4R,5R)-5-(6-아미노-9H-퓨린-9-일)-3,4-다이하이드록시 테트라하이드로퓨란-2-일)메톡시)(하이드록시)포스포릴)옥시)-4-((테트라하이드로퓨란-2-일)옥시)테트라하이드로퓨란-2-일)메틸(화합물 pc01)(72.2mg, 0.100mmol)을 용해시키고, 사이아노메틸 (((4-(2-(4-플루오로페닐)아세트아미드)벤질)옥시)카보닐)-L-아이소류시네이트(화합물 SS62, F-Pnaz-Ile-OCH<sub>2</sub>CN)(45.5mg, 0.100mmol)의 아세트나이트릴 용액(3.00mL)을 투여하고, 실온에서 20시간 교반했다. 반응액을 0℃로 냉각한 후에, 트라이플루오로아세트산(3.00mL)을 가했다. 반응액을 실온에서 30분 교반한 후에, 반응액을 역상 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피(0.05% 트라이플루오로아세트산 수용액/0.05% 트라이플루오로아세트산 아세트나이트릴)로 정제하여, 표제 화합물(화합물 SS51, F-Pnaz-Ile-pCpA)(12mg, 11.4%)을 얻었다.

[0602]

LCMS(ESI) m/z = 1049.4 (M-H)-

[0603]

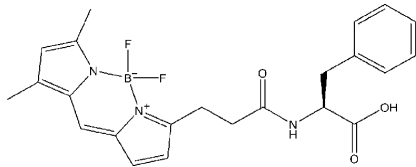
유지 시간: 0.54분 (분석 조건 SQDFA05\_02)

[0604]

실시예 2. BdpFL-Phe-pCpA(MT01)의 합성

[0605]

(3-(5,5-다이플루오로-7,9-다이메틸-5H-4λ4,5λ4-다이피롤로[1,2-c:2', 1'-f][1,3,2]다이아자보리닌-3-일)프 로파노일)-L-페닐알라닌(화합물 MT02, BdpFL-Phe-OH)의 합성



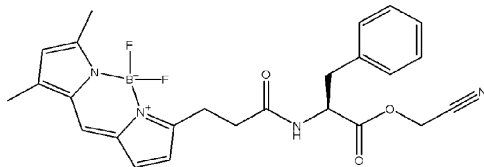
[0606]

[0607] 질소 분위기하, 3-(2-카복시 에틸)-5,5-다이플루오로-7,9-다이메틸-5H-5λ4-다이피롤로[1,2-c:2',1'-f][1,3,2]다이아자보리닌-4-움(200mg, 0.685mmol)과 1-하이드록시피롤리딘-2,5-다이온(87mg, 0.753mmol)의 NMP(4.5mL) 용액에 DIC(0.128mL, 0.822mmol)를 실온에서 가한 후, 40℃에서 종야 교반했다. 실온으로 되돌린 후, 반응액에 L-페닐알라닌(113mg, 0.685mmol)과 TEA(0.191mL, 1.369mmol)를 가하고, 40℃에서 종야 교반했다. 반응액을 역상 칼럼 크로마토그래피(0.1%FA MeCN/H<sub>2</sub>O)로 정제하여, (3-(5,5-다이플루오로-7,9-다이메틸-5H-4λ4,5λ4-다이피롤로[1,2-c:2',1'-f][1,3,2]다이아자보리닌-3-일)프로파노일)-L-페닐알라닌(화합물 MT02, BdpFL-Phe-OH)(102mg, 34% 수율)을 얻었다.

[0608] LCMS(ESI) m/z = 438.3 (M-H)-

[0609] 유지 시간: 0.78분 (분석 조건 SQDFA05\_02)

[0610] (3-(5,5-다이플루오로-7,9-다이메틸-5H-4λ4,5λ4-다이피롤로[1,2-c:2',1'-f][1,3,2]다이아자보리닌-3-일)프로파노일)-L-페닐알라닌 사이아노메틸 에스터(화합물 MT03, BdpFL-Phe-OCH<sub>2</sub>CN)의 합성



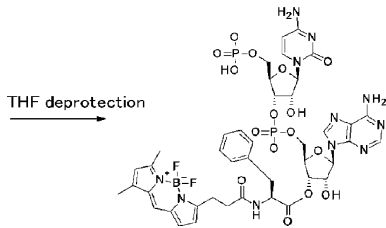
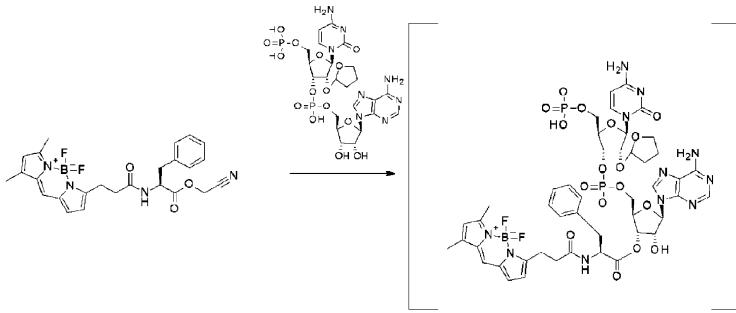
[0611]

[0612] 질소 분위기하, (3-(5,5-다이플루오로-7,9-다이메틸-5H-4λ4,5λ4-다이피롤로[1,2-c:2',1'-f][1,3,2]다이아자보리닌-3-일)프로파노일)-L-페닐알라닌(50mg, 0.114mmol) 및 N-에틸-아이소프로필프로페인-2-아민(DIPEA)(31.0 μL, 0.177mmol)를 아세트나이트릴(500 μL)에 용해하고, 2-브로모아세트나이트릴(12 μL, 0.177mmol)을 0℃에서 가한 후, 40℃에서 3시간 교반했다. 반응액을 농축하여, (3-(5,5-다이플루오로-7,9-다이메틸-5H-4λ4,5λ4-다이피롤로[1,2-c:2',1'-f][1,3,2]다이아자보리닌-3-일)프로파노일)-L-페닐알라닌 사이아노메틸 에스터(화합물 MT03, BdpFL-Phe-OCH<sub>2</sub>CN)를 조생성물로서 얻었다. 얻어진 조생성물은, 그대로 다음 공정에 이용했다.

[0613] LCMS(ESI) m/z = 477.3(M-H)-

[0614] 유지 시간: 0.86분 (분석 조건 SQDFA05\_01)

[0615] 3-(3-(((2S)-1-(((2R,3S,4R,5R)-2-((((2R,3S,4R,5R)-5-(4-아미노-2-옥소피리미딘-1(2H)-일)-4-하이드록시-2-((포스포노옥시)메틸)테트라하이드로퓨란-3-일)옥시)(하이드록시)포스포릴)옥시)메틸)-5-(6-아미노-9H-퓨린-9-일)-4-하이드록시테트라하이드로퓨란-3-일)옥시)-1-옥소-3-페닐프로판-2-일)아미노)-3-옥소프로필)-5,5-다이플루오로-7,9-다이메틸-5H-5λ4-다이피롤로 [1,2-c:2',1'-f][1,3,2]다이아자보리닌-4-움(화합물 MT01, BdpFL-Phe-pCpA)의 합성



[0616]

[0617] 완충액 A(11.3mL)에, 인산이수소((2R,3R,4R,5R)-5-(4-아미노-2-옥소피리미딘-1(2H)-일)-3-((((2R,3S,4R,5R)-5-(6-아미노-9H-퓨린-9-일)-3,4-다이하이드록시테트라하이드로퓨란-2-일)메톡시)(하이드록시)포스포릴)옥시)-4-((테트라하이드로퓨란-2-일)옥시)테트라하이드로퓨란-2-일)메틸(화합물 pc01)(33.2mg, 0.046mmol)을 용해시키고, (3-(5,5-다이플루오로-7,9-다이메틸-5H-4λ,5λ4-다이피롤로[1,2-c:2',1'-f][1,3,2]다이아자보리딘-3-일)프로파노일)-L-페닐알라닌 사이아노메틸 에스터(화합물 MT03, BdpFL-Phe-OCH<sub>2</sub>CN)(11mg, 0.023mmol)의 아세트나이트릴 용액(0.13mL)을 가한 후, 실온에서 45분 교반했다. 반응액에 0°C에서 TFA(0.56mL)를 가하고 5분 교반한 후, 실온에서 10분 교반했다. 반응액을 역상 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피(0.05% TFA MeCN/H<sub>2</sub>O)로 정제하여, 표제 화합물(화합물 MT01, BdpFL-Phe-pCpA)(2.1mg, 8.5% 수율)을 얻었다.

[0618]

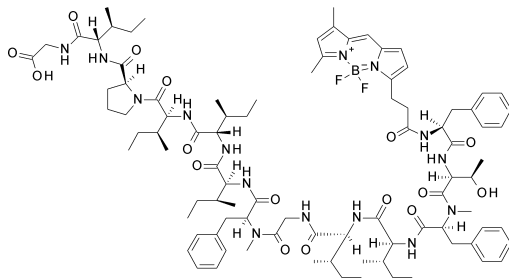
LCMS(ESI) m/z = 1072.5 (M-H)<sup>-</sup>

[0619]

유지 시간: 0.56분 (분석 조건 SQDFA05\_02)

[0620]

실시예 3. LC/MS의 표품으로서 이용하는 N말단에 BdpFL를 가지는 펩티드(LCT-67)의 합성



[0621]

[0622]

Fmoc-Gly-OH를 담지시킨 2-클로로트라이틸 레진(100mg)을 이용하여, Fmoc 아미노산으로서 Fmoc-Gly-OH, 특허문헌(WO2018225864) 기재의 방법으로 합성한 Fmoc-Thr(THP)-OH(aa01), Fmoc-Ile-OH, Fmoc-Leu-OH, Fmoc-Phe-OH, Fmoc-MePhe-OH, Fmoc-Pro-OH를 이용하여 펩티드 합성기로 펩티드의 신장을 행했다(아미노산의 약호에 대해서는 본 명세서 중에 별도 기재). Fmoc법에 의한 펩티드 합성법에 따라, 펩티드의 신장을 행했다(WO2013100132B2). 펩티드의 신장 후, N말단의 Fmoc기의 제거를 펩티드 합성기 상에서 행한 후, 레진을 DCM으로 세정했다.

[0623]

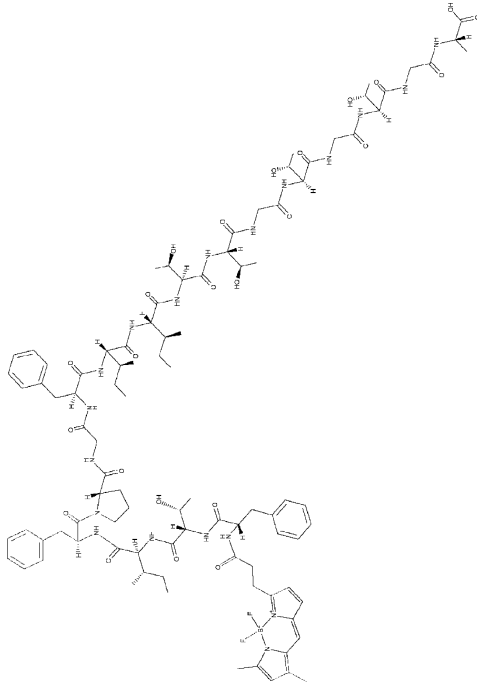
레진에 TFE/DCM(1:1, v/v, 2mL)을 가하고 1시간 진탕하여, 펩티드의 레진으로부터의 절출을 행했다. 반응 종료 후, 튜브 내의 용액을 합성용 칼럼으로 여과하는 것에 의해 레진을 제거하고, 레진을 TFE/DCM(1:1, v/v, 1mL)으로 2회 세정했다. 모든 추출액을 혼합하고, DMF(2mL)를 가한 후, 감압하 농축했다. 얻어진 잔사를 NMP(1mL)에 용해하고, 4,4-다이플루오로-5,7-다이메틸-4-보라-3a,4a-다이아자-s-인다센-3-프로피온산 N-석신이미딜 에스터(5mg, 0.013mmol)를 실온에서 가하고, 19시간 교반한 후, 반응액을 역상 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피(0.1% FA MeCN/H<sub>2</sub>O)에 통과시키고, 중간체를 포함하는 프랙션을 감압하 농축했다. 얻어진 잔사를 5% TFA in DCM(2mL)에 용해하고, 실온에서 2시간 교반했다. 반응액을 감압하 농축한 후, 얻어진 잔사를 역상 실리카 겔 칼럼 크

로마토그래피(0.1% FA MeCN/H<sub>2</sub>O)로 정제하여, 표제 화합물(LCT-67)(13mg)을 얻었다. LCT-67의 아미노산 서열을 서열 번호: 223에 나타낸다.

[0624] LCMS(ESI) m/z = 1751.2(M-H)-

[0625] 유지 시간: 0.97분 (분석 조건 SQDFA05\_02)

[0626] 실시예 4. LC/MS의 표품으로서 이용하는 N말단에 BdpFL를 가지는 펩티드(LCT-12)의 합성



[0627]

[0628] Fmoc-Ala-OH를 담지시킨 2-클로로트라이틸 레진(100mg)을 이용하고, Fmoc 아미노산으로서 Fmoc-Gly-OH, Fmoc-Thr(THP)-OH, Fmoc-Ile-OH, Fmoc-Phe-OH, Fmoc-Pro-OH를 이용하여 펩티드 합성기로 펩티드의 신장을 행했다(아미노산의 약화에 대해서는 본 명세서 중에 별도 기재). Fmoc법에 의한 펩티드 합성법에 따라, 펩티드의 신장을 행했다(WO2013100132B2). 펩티드의 신장 후, N말단의 Fmoc기의 제거를 펩티드 합성기 상에서 행한 후, 레진을 DCM으로 세정했다.

[0629] 레진에 TFE/DCM(1:1, v/v, 2mL)를 가하고 1시간 진탕하여, 펩티드의 레진으로부터의 절출을 행했다. 반응 종료 후, 튜브 내의 용액을 합성용 칼럼으로 여과하는 것에 의해 레진을 제거하고, 레진을 TFE/DCM(1:1, v/v, 1mL)으로 2회 세정했다. 모든 추출액을 혼합하고, DMF(2mL)를 가한 후, 감압하 농축했다. 얻어진 잔사를 NMP(0.5mL)에 용해하고, 그 중 1/4(125 μL)을 다음의 반응에 사용했다. 펩티드의 NMP 용액에 76.5mM로 조제한 BdpFL 석신이미드 에스터(140 μL)를 실온에서 가하고 40℃에서 종야 교반한 후, 감압하 농축했다. 얻어진 잔사를 0.05M 테트라메틸암모늄 황산수소염 in HFIP(1.2mL, 0.060mmol)에 용해하고, 실온에서 2시간 교반했다. 반응액을 역상 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피(0.1% FA MeCN/H<sub>2</sub>O)로 정제하여, 표제 화합물(LCT-12)(0.3mg)을 얻었다. LCT-12의 아미노산 서열을 서열 번호: 222에 나타낸다.

[0630] LCMS(ESI) m/z = 1972.9 (M-H)-

[0631] 유지 시간: 0.74분 (분석 조건 SQDFA05\_01)

[0632] 실시예 5. 아미노아실 tRNA의 합성

[0633] 주형 DNA(서열 번호: 1(D-1)~서열 번호: 34(D-34), 서열 번호: 35(D-76)~서열 번호: 37(D-78) 및 서열 번호: 224(D-82)~서열 번호: 241(D-99))로부터, T7 RNA polymerase를 이용한 in vitro 전사 반응에 의해 tRNA(서열 번호: 38(TR-1)~서열 번호: 74(TR-37) 및 서열 번호: 242(TR-38)~서열 번호: 259(TR-55))를 합성하고, RNeasy kit(Qiagen사)에 의해 정제했다.

[0634] 주형 DNA 서열 번호: 1(D-1)

[0635] DNA 서열:

- [0636] GGCCTAATACGACTCACTATAGTCCCCTTCGTCTAGAGGCCAGGACACCGCCCTAAGACGGCGGTAACAGGGGTTTGAATCCCCTAGGGGACGC
- [0637] 주형 DNA 서열 번호: 2(D-2)
- [0638] DNA 서열:
- [0639] GGCCTAATACGACTCACTATAGTCCCCTTCGTCTAGAGGCCAGGACACCGCCCTAAGACGGCGGTAACAGGGGTTTGAATCCCCTAGGGGACGC
- [0640] 주형 DNA 서열 번호: 3(D-3)
- [0641] DNA 서열:
- [0642] GGCCTAATACGACTCACTATAGTCCCCTTCGTCTAGAGGCCAGGACACCGCCCTAAGACGGCGGTAACAGGGGTTTGAATCCCCTAGGGGACGC
- [0643] 주형 DNA 서열 번호: 4(D-4)
- [0644] DNA 서열:
- [0645] GGCCTAATACGACTCACTATAGTCCCCTTCGTCTAGAGGCCAGGACACCGCCCTAAGACGGCGGTAACAGGGGTTTGAATCCCCTAGGGGACGC
- [0646] 주형 DNA 서열 번호: 5(D-5)
- [0647] DNA 서열:
- [0648] GGCCTAATACGACTCACTATAGTCCCCTTCGTCTAGAGGCCAGGACACCGCCCTAAGACGGCGGTAACAGGGGTTTGAATCCCCTAGGGGACGC
- [0649] 주형 DNA 서열 번호: 6(D-6)
- [0650] DNA 서열:
- [0651] GGCCTAATACGACTCACTATAGTCCCCTTCGTCTAGAGGCCAGGACACCGCCCTAAGACGGCGGTAACAGGGGTTTGAATCCCCTAGGGGACGC
- [0652] 주형 DNA 서열 번호: 7(D-7)
- [0653] DNA 서열:
- [0654] GGCCTAATACGACTCACTATAGTCCCCTTCGTCTAGAGGCCAGGACACCGCCCTAAGACGGCGGTAACAGGGGTTTGAATCCCCTAGGGGACGC
- [0655] 주형 DNA 서열 번호: 8(D-8)
- [0656] DNA 서열:
- [0657] GGCCTAATACGACTCACTATAGTCCCCTTCGTCTAGAGGCCAGGACACCGCCCTAAGACGGCGGTAACAGGGGTTTGAATCCCCTAGGGGACGC
- [0658] 주형 DNA 서열 번호: 9(D-9)
- [0659] DNA 서열:
- [0660] GGCCTAATACGACTCACTATAGTCCCCTTCGTCTAGAGGCCAGGACACCGCCCTAAGACGGCGGTAACAGGGGTTTGAATCCCCTAGGGGACGC
- [0661] 주형 DNA 서열 번호: 10(D-10)
- [0662] DNA 서열:
- [0663] GGCCTAATACGACTCACTATAGTCCCCTTCGTCTAGAGGCCAGGACACCGCCCTAAGACGGCGGTAACAGGGGTTTGAATCCCCTAGGGGACGC
- [0664] 주형 DNA 서열 번호: 11(D-11)
- [0665] DNA 서열:
- [0666] GGCCTAATACGACTCACTATAGTCCCCTTCGTCTAGAGGCCAGGACACCGCCCTAAGACGGCGGTAACAGGGGTTTGAATCCCCTAGGGGACGC
- [0667] 주형 DNA 서열 번호: 12(D-12)
- [0668] DNA 서열:
- [0669] GGCCTAATACGACTCACTATAGTCCCCTTCGTCTAGAGGCCAGGACACCGCCCTAAGACGGCGGTAACAGGGGTTTGAATCCCCTAGGGGACGC
- [0670] 주형 DNA 서열 번호: 13(D-13)
- [0671] DNA 서열:

- [0672] GGC GTAATACGACTCACTATAGTCCCCTTCGTCTAGAGGCCAGGACACCGCCTATCACGGCGGTAACAGGGGTTCGAATCCCCTAGGGGACGC
- [0673] 주형 DNA 서열 번호: 14(D-14)
- [0674] DNA 서열:
- [0675] GGC GTAATACGACTCACTATAGTCCCCTTCGTCTAGAGGCCAGGACACCGCCTTTCACGGCGGTAACAGGGGTTCGAATCCCCTAGGGGACGC
- [0676] 주형 DNA 서열 번호: 15(D-15)
- [0677] DNA 서열:
- [0678] GGC GTAATACGACTCACTATAGTCCCCTTCGTCTAGAGGCCAGGACACCGCCTCTCACGGCGGTAACAGGGGTTCGAATCCCCTAGGGGACGC
- [0679] 주형 DNA 서열 번호: 16(D-16)
- [0680] DNA 서열:
- [0681] GGC GTAATACGACTCACTATAGTCCCCTTCGTCTAGAGGCCAGGACACCGCCTAAAACGGCGGTAACAGGGGTTCGAATCCCCTAGGGGACGC
- [0682] 주형 DNA 서열 번호: 17(D-17)
- [0683] DNA 서열:
- [0684] GGC GTAATACGACTCACTATAGTCCCCTTCGTCTAGAGGCCAGGACACCGCCTTAAACGGCGGTAACAGGGGTTCGAATCCCCTAGGGGACGC
- [0685] 주형 DNA 서열 번호: 18(D-18)
- [0686] DNA 서열:
- [0687] GGC GTAATACGACTCACTATAGTCCCCTTCGTCTAGAGGCCAGGACACCGCCTCAAACGGCGGTAACAGGGGTTCGAATCCCCTAGGGGACGC
- [0688] 주형 DNA 서열 번호: 19(D-19)
- [0689] DNA 서열:
- [0690] GGC GTAATACGACTCACTATAGTCCCCTTCGTCTAGAGGCCAGGACACCGCCTACTACGGCGGTAACAGGGGTTCGAATCCCCTAGGGGACGC
- [0691] 주형 DNA 서열 번호: 20(D-20)
- [0692] DNA 서열:
- [0693] GGC GTAATACGACTCACTATAGTCCCCTTCGTCTAGAGGCCAGGACACCGCCTTCTACGGCGGTAACAGGGGTTCGAATCCCCTAGGGGACGC
- [0694] 주형 DNA 서열 번호: 21(D-21)
- [0695] DNA 서열:
- [0696] GGC GTAATACGACTCACTATAGTCCCCTTCGTCTAGAGGCCAGGACACCGCCTCTACGGCGGTAACAGGGGTTCGAATCCCCTAGGGGACGC
- [0697] 주형 DNA 서열 번호: 22(D-22)
- [0698] DNA 서열:
- [0699] GGC GTAATACGACTCACTATAGTCCCCTTCGTCTAGAGGCCAGGACACCGCCTGCAACGGCGGTAACAGGGGTTCGAATCCCCTAGGGGACGC
- [0700] 주형 DNA 서열 번호: 23(D-23)
- [0701] DNA 서열:
- [0702] GGC GTAATACGACTCACTATAGTCCCCTTCGTCTAGAGGCCAGGACACCGCCTTCAACGGCGGTAACAGGGGTTCGAATCCCCTAGGGGACGC
- [0703] 주형 DNA 서열 번호: 24(D-24)
- [0704] DNA 서열:
- [0705] GGC GTAATACGACTCACTATAGTCCCCTTCGTCTAGAGGCCAGGACACCGCCTCCAACGGCGGTAACAGGGGTTCGAATCCCCTAGGGGACGC
- [0706] 주형 DNA 서열 번호: 25(D-25)
- [0707] DNA 서열:

- [0708] GGCCTAATACGACTCACTATAGGCGGGTGGAGCAGCCTGGTAGCTCGTCGGGCTCATAACCCGAAGATCGTCGGTTCAAATCCGGCCCCCGCAA
- [0709] 주형 DNA 서열 번호: 26(D-26)
- [0710] DNA 서열:
- [0711] GGCCTAATACGACTCACTATAGTCCCCTTCGTCTAGAGGCCAGGACACCGCCTGTGACGGCGGTAACAGGGGTTCGAATCCCCTAGGGGACGC
- [0712] 주형 DNA 서열 번호: 27(D-27)
- [0713] DNA 서열:
- [0714] GGCCTAATACGACTCACTATAGTCCCCTTCGTCTAGAGGCCAGGACACCGCCTGTACGGCGGTAACAGGGGTTCGAATCCCCTAGGGGACGC
- [0715] 주형 DNA 서열 번호: 28(D-28)
- [0716] DNA 서열:
- [0717] GGCCTAATACGACTCACTATAGTCCCCTTCGTCTAGAGGCCAGGACACCGCCTGTACGGCGGTAACAGGGGTTCGAATCCCCTAGGGGACGC
- [0718] 주형 DNA 서열 번호: 29(D-29)
- [0719] DNA 서열:
- [0720] GGCCTAATACGACTCACTATAGTCCCCTTCGTCTAGAGGCCAGGACACCGCCTGAAACGGCGGTAACAGGGGTTCGAATCCCCTAGGGGACGC
- [0721] 주형 DNA 서열 번호: 30(D-30)
- [0722] DNA 서열:
- [0723] GGCCTAATACGACTCACTATAGTCCCCTTCGTCTAGAGGCCAGGACACCGCCTGTACGGCGGTAACAGGGGTTCGAATCCCCTAGGGGACGC
- [0724] 주형 DNA 서열 번호: 31(D-31)
- [0725] DNA 서열:
- [0726] GGCCTAATACGACTCACTATAGTCCCCTTCGTCTAGAGGCCAGGACACCGCCTTGAAACGGCGGTAACAGGGGTTCGAATCCCCTAGGGGACGC
- [0727] 주형 DNA 서열 번호: 32(D-32)
- [0728] DNA 서열:
- [0729] GGCCTAATACGACTCACTATAGTCCCCTTCGTCTAGAGGCCAGGACACCGCCTTGACGGCGGTAACAGGGGTTCGAATCCCCTAGGGGACGC
- [0730] 주형 DNA 서열 번호: 33(D-33)
- [0731] DNA 서열:
- [0732] GGCCTAATACGACTCACTATAGTCCCCTTCGTCTAGAGGCCAGGACACCGCCTTATACGGCGGTAACAGGGGTTCGAATCCCCTAGGGGACGC
- [0733] 주형 DNA 서열 번호: 34(D-34)
- [0734] DNA 서열:
- [0735] GGCCTAATACGACTCACTATAGGCCCTTAGCTCAGTGGTTAGAGCAGGCGACTTATAATCGCTTGGTCGCTGGTTCAAGTCCAGCAGGGGCCAC
- [0736] 주형 DNA 서열 번호: 35(D-76)
- [0737] DNA 서열:
- [0738] GGCCTAATACGACTCACTATAGTCCCCTTCGTCTAGAGGCCAGGACACCGCCTGCGACGGCGGTAACAGGGGTTCGAATCCCCTAGGGGACGC
- [0739] 주형 DNA 서열 번호: 36(D-77)
- [0740] DNA 서열:
- [0741] GGCCTAATACGACTCACTATAGTCCCCTTCGTCTAGAGGCCAGGACACCGCCTTCGACGGCGGTAACAGGGGTTCGAATCCCCTAGGGGACGC
- [0742] 주형 DNA 서열 번호: 37(D-78)
- [0743] DNA 서열:

- [0744] GGCCTAATACGACTCACTATAGTCCCTTCGTCTAGAGGCCAGGACACCGCCTCCGACGGCGGTAACAGGGGTTCGAATCCCCTAGGGGACGC
- [0745] 주형 DNA 서열 번호: 224(D-82)
- [0746] DNA 서열:
- [0747] GGCCTAATACGACTCACTATAGGAGCGGTAGTTCAGTCGGTTAGAATACCTGCCTAUGACGCAGGGGGTCGCGGGTTCGAGTCCCCTCCGTTCCGC
- [0748] 주형 DNA 서열 번호: 225(D-83)
- [0749] DNA 서열:
- [0750] GGCCTAATACGACTCACTATAGGAGCGGTAGTTCAGTCGGTTAGAATACCTGCCTAUGATGCAGGGGGTCGCGGGTTCGAGTCCCCTCCGTTCCGC
- [0751] 주형 DNA 서열 번호: 226(D-84)
- [0752] DNA 서열:
- [0753] GGCCTAATACGACTCACTATAGGAGCGGTAGTTCAGTCGGTTAGAATACCTGCCTGUGACGCAGGGGGTCGCGGGTTCGAGTCCCCTCCGTTCCGC
- [0754] 주형 DNA 서열 번호: 227(D-85)
- [0755] DNA 서열:
- [0756] GGCCTAATACGACTCACTATAGGAGCGGTAGTTCAGTCGGTTAGAATACCTGCCTGUGATGCAGGGGGTCGCGGGTTCGAGTCCCCTCCGTTCCGC
- [0757] 주형 DNA 서열 번호: 228(D-86)
- [0758] DNA 서열:
- [0759] GGCCTAATACGACTCACTATAGGAGCGGTAGTTCAGTCGGTTAGAATACCTGCCTUUGACGCAGGGGGTCGCGGGTTCGAGTCCCCTCCGTTCCGC
- [0760] 주형 DNA 서열 번호: 229(D-87)
- [0761] DNA 서열:
- [0762] GGCCTAATACGACTCACTATAGGAGCGGTAGTTCAGTCGGTTAGAATACCTGCCTUUGATGCAGGGGGTCGCGGGTTCGAGTCCCCTCCGTTCCGC
- [0763] 주형 DNA 서열 번호: 230(D-88)
- [0764] DNA 서열:
- [0765] GGCCTAATACGACTCACTATAGGAGCGGTAGTTCAGTCGGTTAGAATACCTGCCTUUGACGCAGGGGGTCGCGGGTTCGAGTCCCCTCCGTTCCGC
- [0766] 주형 DNA 서열 번호: 231(D-89)
- [0767] DNA 서열:
- [0768] GGCCTAATACGACTCACTATAGGAGCGGTAGTTCAGTCGGTTAGAATACCTGCCTUUGATGCAGGGGGTCGCGGGTTCGAGTCCCCTCCGTTCCGC
- [0769] 주형 DNA 서열 번호: 232(D-90)
- [0770] DNA 서열:
- [0771] GGCCTAATACGACTCACTATAGGAGCGGTAGTTCAGTCGGTTAGAATACCTGCCTAUCACGCAGGGGGTCGCGGGTTCGAGTCCCCTCCGTTCCGC
- [0772] 주형 DNA 서열 번호: 233(D-91)
- [0773] DNA 서열:
- [0774] GGCCTAATACGACTCACTATAGGAGCGGTAGTTCAGTCGGTTAGAATACCTGCCTUUCACGCAGGGGGTCGCGGGTTCGAGTCCCCTCCGTTCCGC
- [0775] 주형 DNA 서열 번호: 234(D-92)
- [0776] DNA 서열:
- [0777] GGCCTAATACGACTCACTATAGGAGCGGTAGTTCAGTCGGTTAGAATACCTGCCTCUCACGCAGGGGGTCGCGGGTTCGAGTCCCCTCCGTTCCGC
- [0778] 주형 DNA 서열 번호: 235(D-93)
- [0779] DNA 서열:

- [0780] GGC GTAATACGACTCACTATAGGCTCTGTAGTTCAGTCGGTAGAACGGCGGATTATGATTCCGTATGTCACTGGTTCGAGTCCAGTCAGAGCCGC
- [0781] 주형 DNA 서열 번호: 236(D-94)
- [0782] DNA 서열:
- [0783] GGC GTAATACGACTCACTATAGGCTCTGTAGTTCAGTCGGTAGAACGGCGGATTGTGATTCCGTATGTCACTGGTTCGAGTCCAGTCAGAGCCGC
- [0784] 주형 DNA 서열 번호: 237(D-95)
- [0785] DNA 서열:
- [0786] GGC GTAATACGACTCACTATAGGCTCTGTAGTTCAGTCGGTAGAACGGCGGATTTTGATTCCGTATGTCACTGGTTCGAGTCCAGTCAGAGCCGC
- [0787] 주형 DNA 서열 번호: 238(D-96)
- [0788] DNA 서열:
- [0789] GGC GTAATACGACTCACTATAGGCTCTGTAGTTCAGTCGGTAGAACGGCGGATTCTGATTCCGTATGTCACTGGTTCGAGTCCAGTCAGAGCCGC
- [0790] 주형 DNA 서열 번호: 239(D-97)
- [0791] DNA 서열:
- [0792] GGC GTAATACGACTCACTATAGGCTCTGTAGTTCAGTCGGTAGAACGGCGGACTATCACTCCGTATGTCACTGGTTCGAGTCCAGTCAGAGCCGC
- [0793] 주형 DNA 서열 번호: 240(D-98)
- [0794] DNA 서열:
- [0795] GGC GTAATACGACTCACTATAGGCTCTGTAGTTCAGTCGGTAGAACGGCGGACTTCTCACTCCGTATGTCACTGGTTCGAGTCCAGTCAGAGCCGC
- [0796] 주형 DNA 서열 번호: 241(D-99)
- [0797] DNA 서열:
- [0798] GGC GTAATACGACTCACTATAGGCTCTGTAGTTCAGTCGGTAGAACGGCGGACTCTCACTCCGTATGTCACTGGTTCGAGTCCAGTCAGAGCCGC
- [0799] tRNA 서열 번호: 38(TR-1)
- [0800] tRNA(Glu)aag-CA RNA 서열:
- [0801] GUCCCUUCGUCUAGAGGCCAGGACACCGCCCUAAGACGGCGGUAACAGGGGUUCGAAUCCCUAGGGGACGC
- [0802] tRNA 서열 번호: 39(TR-2)
- [0803] tRNA(Glu)uag-CA RNA 서열:
- [0804] GUCCCUUCGUCUAGAGGCCAGGACACCGCCCUAAGACGGCGGUAACAGGGGUUCGAAUCCCUAGGGGACGC
- [0805] tRNA 서열 번호: 40(TR-3)
- [0806] tRNA(Glu)cag-CA RNA 서열:
- [0807] GUCCCUUCGUCUAGAGGCCAGGACACCGCCUCAGACGGCGGUAACAGGGGUUCGAAUCCCUAGGGGACGC
- [0808] tRNA 서열 번호: 41(TR-4)
- [0809] tRNA(Glu)aac-CA RNA 서열:
- [0810] GUCCCUUCGUCUAGAGGCCAGGACACCGCCCUAACACGGCGGUAACAGGGGUUCGAAUCCCUAGGGGACGC
- [0811] tRNA 서열 번호: 42(TR-5)
- [0812] tRNA(Glu)uac-CA RNA 서열:
- [0813] GUCCCUUCGUCUAGAGGCCAGGACACCGCCCUAACACGGCGGUAACAGGGGUUCGAAUCCCUAGGGGACGC
- [0814] tRNA 서열 번호: 43(TR-6)
- [0815] tRNA(Glu)cac-CA RNA 서열:

- [0816] GUCCCUUCGUCUAGAGGCCAGGACACCGCCUCACACGGCGGUAACAGGGGUUCGAAUCCCUAGGGGACGC
- [0817] tRNA 서열 번호: 44(TR-7)
- [0818] tRNA(Glu)aug-CA RNA 서열:
- [0819] GUCCCUUCGUCUAGAGGCCAGGACACCGCCUUAUGACGGCGGUAACAGGGGUUCGAAUCCCUAGGGGACGC
- [0820] tRNA 서열 번호: 45(TR-8)
- [0821] tRNA(Glu)uug-CA RNA 서열:
- [0822] GUCCCUUCGUCUAGAGGCCAGGACACCGCCUUUGACGGCGGUAACAGGGGUUCGAAUCCCUAGGGGACGC
- [0823] tRNA 서열 번호: 46(TR-9)
- [0824] tRNA(Glu)cug-CA RNA 서열:
- [0825] GUCCCUUCGUCUAGAGGCCAGGACACCGCCUCUGACGGCGGUAACAGGGGUUCGAAUCCCUAGGGGACGC
- [0826] tRNA 서열 번호: 47(TR-10)
- [0827] tRNA(Glu)auu-CA RNA 서열:
- [0828] GUCCCUUCGUCUAGAGGCCAGGACACCGCCUAUUACGGCGGUAACAGGGGUUCGAAUCCCUAGGGGACGC
- [0829] tRNA 서열 번호: 48(TR-11)
- [0830] tRNA(Glu)uuu-CA RNA 서열:
- [0831] GUCCCUUCGUCUAGAGGCCAGGACACCGCCUUUACGGCGGUAACAGGGGUUCGAAUCCCUAGGGGACGC
- [0832] tRNA 서열 번호: 49(TR-12)
- [0833] tRNA(Glu)cuu-CA RNA 서열:
- [0834] GUCCCUUCGUCUAGAGGCCAGGACACCGCCUUAACGGCGGUAACAGGGGUUCGAAUCCCUAGGGGACGC
- [0835] tRNA 서열 번호: 50(TR-13)
- [0836] tRNA(Glu)auc-CA RNA 서열:
- [0837] GUCCCUUCGUCUAGAGGCCAGGACACCGCCUAUCACGGCGGUAACAGGGGUUCGAAUCCCUAGGGGACGC
- [0838] tRNA 서열 번호: 51(TR-14)
- [0839] tRNA(Glu)uuc-CA RNA 서열:
- [0840] GUCCCUUCGUCUAGAGGCCAGGACACCGCCUUAACGGCGGUAACAGGGGUUCGAAUCCCUAGGGGACGC
- [0841] tRNA 서열 번호: 52(TR-15)
- [0842] tRNA(Glu)cuc-CA RNA 서열:
- [0843] GUCCCUUCGUCUAGAGGCCAGGACACCGCCUCUCACGGCGGUAACAGGGGUUCGAAUCCCUAGGGGACGC
- [0844] tRNA 서열 번호: 53(TR-16)
- [0845] tRNA(Glu)aaa-CA RNA 서열:
- [0846] GUCCCUUCGUCUAGAGGCCAGGACACCGCCUAAAACGGCGGUAACAGGGGUUCGAAUCCCUAGGGGACGC
- [0847] tRNA 서열 번호: 54(TR-17)
- [0848] tRNA(Glu)uaa-CA RNA 서열:
- [0849] GUCCCUUCGUCUAGAGGCCAGGACACCGCCUAAACGGCGGUAACAGGGGUUCGAAUCCCUAGGGGACGC
- [0850] tRNA 서열 번호: 55(TR-18)
- [0851] tRNA(Glu)caa-CA RNA 서열:

- [0852] GUCCCUUCGUCUAGAGGCCAGGACACCGCCCUCAAACGGCGGUAACAGGGGUUCGAAUCCCUAGGGGACGC
- [0853] tRNA 서열 번호: 56(TR-19)
- [0854] tRNA(Glu)acu-CA RNA 서열:
- [0855] GUCCCUUCGUCUAGAGGCCAGGACACCGCCCUACUACGGCGGUAACAGGGGUUCGAAUCCCUAGGGGACGC
- [0856] tRNA 서열 번호: 57(TR-20)
- [0857] tRNA(Glu)ucu-CA RNA 서열:
- [0858] GUCCCUUCGUCUAGAGGCCAGGACACCGCCCUUACUACGGCGGUAACAGGGGUUCGAAUCCCUAGGGGACGC
- [0859] tRNA 서열 번호: 58(TR-21)
- [0860] tRNA(Glu)ccu-CA RNA 서열:
- [0861] GUCCCUUCGUCUAGAGGCCAGGACACCGCCCUUACUACGGCGGUAACAGGGGUUCGAAUCCCUAGGGGACGC
- [0862] tRNA 서열 번호: 59(TR-22)
- [0863] tRNA(Glu)gca-CA RNA 서열:
- [0864] GUCCCUUCGUCUAGAGGCCAGGACACCGCCCUCAACGGCGGUAACAGGGGUUCGAAUCCCUAGGGGACGC
- [0865] tRNA 서열 번호: 60(TR-23)
- [0866] tRNA(Glu)uca-CA RNA 서열:
- [0867] GUCCCUUCGUCUAGAGGCCAGGACACCGCCCUUACUACGGCGGUAACAGGGGUUCGAAUCCCUAGGGGACGC
- [0868] tRNA 서열 번호: 61(TR-24)
- [0869] tRNA(Glu)cca-CA RNA 서열:
- [0870] GUCCCUUCGUCUAGAGGCCAGGACACCGCCCUCAACGGCGGUAACAGGGGUUCGAAUCCCUAGGGGACGC
- [0871] tRNA 서열 번호: 62(TR-25)
- [0872] tRNA(fMet)cau-CA RNA 서열:
- [0873] GGCGGGUGGAGCAGCCUGGUAGCUCGUCGGCUCUAACCCGAAGAUUCGCGGUCAAUCCGGCCCCCGCAA
- [0874] tRNA 서열 번호: 63(TR-26)
- [0875] tRNA(Glu)gug-CA RNA 서열:
- [0876] GUCCCUUCGUCUAGAGGCCAGGACACCGCCCUUGACGGCGGUAACAGGGGUUCGAAUCCCUAGGGGACGC
- [0877] tRNA 서열 번호: 64(TR-27)
- [0878] tRNA(Glu)guu-CA RNA 서열:
- [0879] GUCCCUUCGUCUAGAGGCCAGGACACCGCCCUUACGGCGGUAACAGGGGUUCGAAUCCCUAGGGGACGC
- [0880] tRNA 서열 번호: 65(TR-28)
- [0881] tRNA(Glu)guc-CA RNA 서열:
- [0882] GUCCCUUCGUCUAGAGGCCAGGACACCGCCCUUACGGCGGUAACAGGGGUUCGAAUCCCUAGGGGACGC
- [0883] tRNA 서열 번호: 66(TR-29)
- [0884] tRNA(Glu)gaa-CA RNA 서열:
- [0885] GUCCCUUCGUCUAGAGGCCAGGACACCGCCCUAAACGGCGGUAACAGGGGUUCGAAUCCCUAGGGGACGC
- [0886] tRNA 서열 번호: 67(TR-30)
- [0887] tRNA(Glu)gcu-CA RNA 서열:

- [0888] GUCCCUUCGUCUAGAGGCCAGGACACCGCCUGCUACGGCGGUAACAGGGGUUCGAAUCCCUAGGGGACGC
- [0889] tRNA 서열 번호: 68(TR-31)
- [0890] tRNA(Glu)uga-CA RNA 서열:
- [0891] GUCCCUUCGUCUAGAGGCCAGGACACCGCCUUGAACGGCGGUAACAGGGGUUCGAAUCCCUAGGGGACGC
- [0892] tRNA 서열 번호: 69(TR-32)
- [0893] tRNA(Glu)ugu-CA RNA 서열:
- [0894] GUCCCUUCGUCUAGAGGCCAGGACACCGCCUUGUACGGCGGUAACAGGGGUUCGAAUCCCUAGGGGACGC
- [0895] tRNA 서열 번호: 70(TR-33)
- [0896] tRNA(Glu)uau-CA RNA 서열:
- [0897] GUCCCUUCGUCUAGAGGCCAGGACACCGCCUUAUACGGCGGUAACAGGGGUUCGAAUCCCUAGGGGACGC
- [0898] tRNA 서열 번호: 71(TR-34)
- [0899] tRNA(Ile)uau-CA RNA 서열:
- [0900] GGCCCUUAGCUCAGUGGUAGAGCAGGCGACUUAUAAUCGCUUGGUCGUGGUUCAAGUCCAGCAGGGGCCAC
- [0901] tRNA 서열 번호: 72(TR-35)
- [0902] tRNA(Glu)gcg-CA RNA 서열:
- [0903] GUCCCUUCGUCUAGAGGCCAGGACACCGCCUGCGACGGCGGUAACAGGGGUUCGAAUCCCUAGGGGACGC
- [0904] tRNA 서열 번호: 73(TR-36)
- [0905] tRNA(Glu)ucg-CA RNA 서열:
- [0906] GUCCCUUCGUCUAGAGGCCAGGACACCGCCUUCGACGGCGGUAACAGGGGUUCGAAUCCCUAGGGGACGC
- [0907] tRNA 서열 번호: 74(TR-37)
- [0908] tRNA(Glu)ccg-CA RNA 서열:
- [0909] GUCCCUUCGUCUAGAGGCCAGGACACCGCCUCCGACGGCGGUAACAGGGGUUCGAAUCCCUAGGGGACGC
- [0910] tRNA 서열 번호: 242(TR-38)
- [0911] tRNA(Asp)aug-CA RNA 서열:
- [0912] GGAGCGGUAGUUCAGUCGGUAGAAUACCGCCUUAUGACGCAGGGGGUCGCGGUUCGAGUCCCGUCCGUUCCGC
- [0913] tRNA 서열 번호: 243(TR-39)
- [0914] tRNA(Asp)ccg-CA RNA 서열:
- [0915] GGAGCGGUAGUUCAGUCGGUAGAAUACCGCUUAUGAUGCAGGGGGUCGCGGUUCGAGUCCCGUCCGUUCCGC
- [0916] tRNA 서열 번호: 244(TR-40)
- [0917] tRNA(Asp)gug-CA RNA 서열:
- [0918] GGAGCGGUAGUUCAGUCGGUAGAAUACCGCCUGUGACGCAGGGGGUCGCGGUUCGAGUCCCGUCCGUUCCGC
- [0919] tRNA 서열 번호: 245(TR-41)
- [0920] tRNA(Asp)gug-CA RNA 서열:
- [0921] GGAGCGGUAGUUCAGUCGGUAGAAUACCGCUUGUGAUGCAGGGGGUCGCGGUUCGAGUCCCGUCCGUUCCGC
- [0922] tRNA 서열 번호: 246(TR-42)
- [0923] tRNA(Asp)uug-CA RNA 서열:

- [0924] GGAGCGGUAGUUCAGUCGGUAGAAUACCUGCCUUUGACGCAGGGGGUCGCGGGUUCGAGUCCCGUCCGUUCCGC
- [0925] tRNA 서열 번호: 247(TR-43)
- [0926] tRNA(Asp)uug-CA RNA 서열:
- [0927] GGAGCGGUAGUUCAGUCGGUAGAAUACCUGCCUUUGAUGCAGGGGGUCGCGGGUUCGAGUCCCGUCCGUUCCGC
- [0928] tRNA 서열 번호: 248(TR-44)
- [0929] tRNA(Asp)cug-CA RNA 서열:
- [0930] GGAGCGGUAGUUCAGUCGGUAGAAUACCUGCCUCUGACGCAGGGGGUCGCGGGUUCGAGUCCCGUCCGUUCCGC
- [0931] tRNA 서열 번호: 249(TR-45)
- [0932] tRNA(Asp)cug-CA RNA 서열:
- [0933] GGAGCGGUAGUUCAGUCGGUAGAAUACCUGCCUUCUGAUGCAGGGGGUCGCGGGUUCGAGUCCCGUCCGUUCCGC
- [0934] tRNA 서열 번호: 250(TR-46)
- [0935] tRNA(Asp)auc-CA RNA 서열:
- [0936] GGAGCGGUAGUUCAGUCGGUAGAAUACCUGCCUAUCACGCAGGGGGUCGCGGGUUCGAGUCCCGUCCGUUCCGC
- [0937] tRNA 서열 번호: 251(TR-47)
- [0938] tRNA(Asp)uuc-CA RNA 서열:
- [0939] GGAGCGGUAGUUCAGUCGGUAGAAUACCUGCCUUUCACGCAGGGGGUCGCGGGUUCGAGUCCCGUCCGUUCCGC
- [0940] tRNA 서열 번호: 252(TR-48)
- [0941] tRNA(Asp)cuc-CA RNA 서열:
- [0942] GGAGCGGUAGUUCAGUCGGUAGAAUACCUGCCUCUCACGCAGGGGGUCGCGGGUUCGAGUCCCGUCCGUUCCGC
- [0943] tRNA 서열 번호: 253(TR-49)
- [0944] tRNA(AsnE2)aug-CA RNA 서열:
- [0945] GGCUCUGUAGUUCAGUCGGUAGAACGGCGGAUUUUGAUUCCGUUUGUCACUGGUUCGAGUCCAGUCAGAGCCGC
- [0946] tRNA 서열 번호: 254(TR-50)
- [0947] tRNA(AsnE2)gug-CA RNA 서열:
- [0948] GGCUCUGUAGUUCAGUCGGUAGAACGGCGGAUUUGAUUCCGUUUGUCACUGGUUCGAGUCCAGUCAGAGCCGC
- [0949] tRNA 서열 번호: 255(TR-51)
- [0950] tRNA(AsnE2)uug-CA RNA 서열:
- [0951] GGCUCUGUAGUUCAGUCGGUAGAACGGCGGAUUUUGAUUCCGUUUGUCACUGGUUCGAGUCCAGUCAGAGCCGC
- [0952] tRNA 서열 번호: 256(TR-52)
- [0953] tRNA(AsnE2)cug-CA RNA 서열:
- [0954] GGCUCUGUAGUUCAGUCGGUAGAACGGCGGAUUCUGAUUCCGUUUGUCACUGGUUCGAGUCCAGUCAGAGCCGC
- [0955] tRNA 서열 번호: 257(TR-53)
- [0956] tRNA(AsnE2)auc-CA RNA 서열:
- [0957] GGCUCUGUAGUUCAGUCGGUAGAACGGCGGACUACUCUGUUGUCACUGGUUCGAGUCCAGUCAGAGCCGC
- [0958] tRNA 서열 번호: 258(TR-54)
- [0959] tRNA(AsnE2)uuc-CA RNA 서열:

- [0960] GGCUCUGUAGUUCAGUCGGUAGAACGGCGGACUUUCACUCCGUAUGUCACUGGUUCGAGUCCAGUCAGAGCCGC
- [0961] tRNA 서열 번호: 259(TR-55)
- [0962] tRNA(AsnE2)cuc-CA RNA 서열:
- [0963] GGCUCUGUAGUUCAGUCGGUAGAACGGCGGACUCUCACUCCGUAUGUCACUGGUUCGAGUCCAGUCAGAGCCGC
- [0964] 아미노아실 pCpA를 이용한 아미노아실 tRNA 혼합액의 조제
- [0965] 화합물 AAtR-1을 조제하기 위해서, 25 μM 전사 tRNA(Glu)aag-CA(서열 번호: 38(TR-1)), 50mM HEPES-KOH pH7.5, 20mM MgCl<sub>2</sub>, 1mM ATP, 0.6unit/μl T4 RNA 리가제(New england bio lab.사), 0.25mM 아미노아실화 pCpA(특허 기재(WO2018143145A1) 방법으로 합성한 WO2018143145A1에 기재된 화합물 ts14의 DMSO 용액)가 되도록, Nuclease free water로 메스업한 반응액을 조제하고, 15℃에서 45분간 라이게이션 반응을 행했다. 단, T4 RNA 리가제 및 아미노아실화 pCpA를 가하기 전의 반응액은, 95℃에서 2분간 가열 후, 실온에서 5분간 방치하여, 미리 tRNA의 리폴딩을 행했다. 한편, 이후 「ts」 또는 「TS」로부터 시작되는 아미노아실화 pCpA는 모두 WO2018143145A1에 기재된 방법으로 합성한 WO2018143145A1에 기재된 화합물이다.
- [0966] 마찬가지로, 화합물 AAtR-2를 조제하기 위해서, 전사 tRNA(Glu)uag-CA(서열 번호: 39(TR-2))에 대해서, 아미노아실화 pCpA(SS14)를 전술한 방법으로 라이게이션 반응을 행했다.
- [0967] 마찬가지로, 화합물 AAtR-3을 조제하기 위해서, 전사 tRNA(Glu)cag-CA(서열 번호: 40(TR-3))에 대해서, 아미노아실화 pCpA(TS24)를 전술한 방법으로 라이게이션 반응을 행했다.
- [0968] 마찬가지로, 화합물 AAtR-4를 조제하기 위해서, 전사 tRNA(Glu)aac-CA(서열 번호: 41(TR-4))에 대해서, 아미노아실화 pCpA(ts14)를 전술한 방법으로 라이게이션 반응을 행했다.
- [0969] 마찬가지로, 화합물 AAtR-5를 조제하기 위해서, 전사 tRNA(Glu)uac-CA(서열 번호: 42(TR-5))에 대해서, 아미노아실화 pCpA(SS14)를 전술한 방법으로 라이게이션 반응을 행했다.
- [0970] 마찬가지로, 화합물 AAtR-6을 조제하기 위해서, 전사 tRNA(Glu)cac-CA(서열 번호: 43(TR-6))에 대해서, 아미노아실화 pCpA(TS24)를 전술한 방법으로 라이게이션 반응을 행했다.
- [0971] 마찬가지로, 화합물 AAtR-7을 조제하기 위해서, 전사 tRNA(Glu)aug-CA(서열 번호: 44(TR-7))에 대해서, 아미노아실화 pCpA(ts14)를 전술한 방법으로 라이게이션 반응을 행했다.
- [0972] 마찬가지로, 화합물 AAtR-8을 조제하기 위해서, 전사 tRNA(Glu)uug-CA(서열 번호: 45(TR-8))에 대해서, 아미노아실화 pCpA(SS14)를 전술한 방법으로 라이게이션 반응을 행했다.
- [0973] 마찬가지로, 화합물 AAtR-9를 조제하기 위해서, 전사 tRNA(Glu)cug-CA(서열 번호: 46(TR-9))에 대해서, 아미노아실화 pCpA(TS24)를 전술한 방법으로 라이게이션 반응을 행했다.
- [0974] 마찬가지로, 화합물 AAtR-10을 조제하기 위해서, 전사 tRNA(Glu)auu-CA(서열 번호: 47(TR-10))에 대해서, 아미노아실화 pCpA(ts14)를 전술한 방법으로 라이게이션 반응을 행했다.
- [0975] 마찬가지로, 화합물 AAtR-11을 조제하기 위해서, 전사 tRNA(Glu)uuu-CA(서열 번호: 48(TR-11))에 대해서, 아미노아실화 pCpA(SS14)를 전술한 방법으로 라이게이션 반응을 행했다.
- [0976] 마찬가지로, 화합물 AAtR-12를 조제하기 위해서, 전사 tRNA(Glu)cuu-CA(서열 번호: 49(TR-12))에 대해서, 아미노아실화 pCpA(TS24)를 전술한 방법으로 라이게이션 반응을 행했다.
- [0977] 마찬가지로, 화합물 AAtR-13을 조제하기 위해서, 전사 tRNA(Glu)auc-CA(서열 번호: 50(TR-13))에 대해서, 아미노아실화 pCpA(ts14)를 전술한 방법으로 라이게이션 반응을 행했다.
- [0978] 마찬가지로, 화합물 AAtR-14를 조제하기 위해서, 전사 tRNA(Glu)uuc-CA(서열 번호: 51(TR-14))에 대해서, 아미노아실화 pCpA(SS14)를 전술한 방법으로 라이게이션 반응을 행했다.
- [0979] 마찬가지로, 화합물 AAtR-15를 조제하기 위해서, 전사 tRNA(Glu)cuc-CA(서열 번호: 52(TR-15))에 대해서, 아미노아실화 pCpA(TS24)를 전술한 방법으로 라이게이션 반응을 행했다.
- [0980] 마찬가지로, 화합물 AAtR-16을 조제하기 위해서, 전사 tRNA(Glu)aaa-CA(서열 번호: 53(TR-16))에 대해서, 아미노아실화 pCpA(ts14)를 전술한 방법으로 라이게이션 반응을 행했다.

- [0981] 마찬가지로, 화합물 AAtR-17을 조제하기 위해서, 전사 tRNA(Glu)uaa-CA(서열 번호: 54(TR-17))에 대해서, 아미노아실화 pCpA(SS14)를 전술한 방법으로 라이게이션 반응을 행했다.
- [0982] 마찬가지로, 화합물 AAtR-18을 조제하기 위해서, 전사 tRNA(Glu)caa-CA(서열 번호: 55(TR-18))에 대해서, 아미노아실화 pCpA(TS24)를 전술한 방법으로 라이게이션 반응을 행했다.
- [0983] 마찬가지로, 화합물 AAtR-19를 조제하기 위해서, 전사 tRNA(Glu)acu-CA(서열 번호: 56(TR-19))에 대해서, 아미노아실화 pCpA(ts14)를 전술한 방법으로 라이게이션 반응을 행했다.
- [0984] 마찬가지로, 화합물 AAtR-20을 조제하기 위해서, 전사 tRNA(Glu)ucu-CA(서열 번호: 57(TR-20))에 대해서, 아미노아실화 pCpA(SS14)를 전술한 방법으로 라이게이션 반응을 행했다.
- [0985] 마찬가지로, 화합물 AAtR-21을 조제하기 위해서, 전사 tRNA(Glu)ccu-CA(서열 번호: 58(TR-21))에 대해서, 아미노아실화 pCpA(TS24)를 전술한 방법으로 라이게이션 반응을 행했다.
- [0986] 마찬가지로, 화합물 AAtR-22를 조제하기 위해서, 전사 tRNA(Glu)gca-CA(서열 번호: 59(TR-22))에 대해서, 아미노아실화 pCpA(ts14)를 전술한 방법으로 라이게이션 반응을 행했다.
- [0987] 마찬가지로, 화합물 AAtR-23을 조제하기 위해서, 전사 tRNA(Glu)uca-CA(서열 번호: 60(TR-23))에 대해서, 아미노아실화 pCpA(SS14)를 전술한 방법으로 라이게이션 반응을 행했다.
- [0988] 마찬가지로, 화합물 AAtR-24를 조제하기 위해서, 전사 tRNA(Glu)cca-CA(서열 번호: 61(TR-24))에 대해서, 아미노아실화 pCpA(TS24)를 전술한 방법으로 라이게이션 반응을 행했다.
- [0989] 마찬가지로, 화합물 AAtR-26을 조제하기 위해서, 전사 tRNA(Glu)gug-CA(서열 번호: 63(TR-26))에 대해서, 아미노아실화 pCpA(ts14)를 전술한 방법으로 라이게이션 반응을 행했다.
- [0990] 마찬가지로, 화합물 AAtR-27을 조제하기 위해서, 전사 tRNA(Glu)guu-CA(서열 번호: 64(TR-27))에 대해서, 아미노아실화 pCpA(ts14)를 전술한 방법으로 라이게이션 반응을 행했다.
- [0991] 마찬가지로, 화합물 AAtR-28을 조제하기 위해서, 전사 tRNA(Glu)gcu-CA(서열 번호: 67(TR-30))에 대해서, 아미노아실화 pCpA(ts14)를 전술한 방법으로 라이게이션 반응을 행했다.
- [0992] 마찬가지로, 화합물 AAtR-29를 조제하기 위해서, 전사 tRNA(Glu)aug-CA(서열 번호: 44(TR-7))에 대해서, 아미노아실화 pCpA(SS48)를 전술한 방법으로 라이게이션 반응을 행했다.
- [0993] 마찬가지로, 화합물 AAtR-30을 조제하기 위해서, 전사 tRNA(Glu)uug-CA(서열 번호: 45(TR-8))에 대해서, 아미노아실화 pCpA(SS49)를 전술한 방법으로 라이게이션 반응을 행했다.
- [0994] 마찬가지로, 화합물 AAtR-31을 조제하기 위해서, 전사 tRNA(Glu)cug-CA(서열 번호: 46(TR-9))에 대해서, 아미노아실화 pCpA(SS50)를 전술한 방법으로 라이게이션 반응을 행했다.
- [0995] 마찬가지로, 화합물 AAtR-32를 조제하기 위해서, 전사 tRNA(Glu)auu-CA(서열 번호: 47(TR-10))에 대해서, 아미노아실화 pCpA(SS48)를 전술한 방법으로 라이게이션 반응을 행했다.
- [0996] 마찬가지로, 화합물 AAtR-33을 조제하기 위해서, 전사 tRNA(Glu)uuu-CA(서열 번호: 48(TR-11))에 대해서, 아미노아실화 pCpA(SS49)를 전술한 방법으로 라이게이션 반응을 행했다.
- [0997] 마찬가지로, 화합물 AAtR-34를 조제하기 위해서, 전사 tRNA(Glu)cuu-CA(서열 번호: 49(TR-12))에 대해서, 아미노아실화 pCpA(SS50)를 전술한 방법으로 라이게이션 반응을 행했다.
- [0998] 마찬가지로, 화합물 AAtR-35를 조제하기 위해서, 전사 tRNA(Glu)auc-CA(서열 번호: 50(TR-13))에 대해서, 아미노아실화 pCpA(SS48)를 전술한 방법으로 라이게이션 반응을 행했다.
- [0999] 마찬가지로, 화합물 AAtR-36을 조제하기 위해서, 전사 tRNA(Glu)uuc-CA(서열 번호: 51(TR-14))에 대해서, 아미노아실화 pCpA(SS49)를 전술한 방법으로 라이게이션 반응을 행했다.
- [1000] 마찬가지로, 화합물 AAtR-37을 조제하기 위해서, 전사 tRNA(Glu)cuc-CA(서열 번호: 52(TR-15))에 대해서, 아미노아실화 pCpA(SS50)를 전술한 방법으로 라이게이션 반응을 행했다.
- [1001] 마찬가지로, 화합물 AAtR-38을 조제하기 위해서, 전사 tRNA(Glu)aaa-CA(서열 번호: 53(TR-16))에 대해서, 아미노아실화 pCpA(SS48)를 전술한 방법으로 라이게이션 반응을 행했다.

- [1002] 마찬가지로, 화합물 AAtR-39를 조제하기 위해서, 전사 tRNA(Glu)uaa-CA(서열 번호: 54(TR-17))에 대해서, 아미노아실화 pCpA(SS49)를 전술한 방법으로 라이게이션 반응을 행했다.
- [1003] 마찬가지로, 화합물 AAtR-40을 조제하기 위해서, 전사 tRNA(Glu)caa-CA(서열 번호: 55(TR-18))에 대해서, 아미노아실화 pCpA(SS50)를 전술한 방법으로 라이게이션 반응을 행했다.
- [1004] 마찬가지로, 화합물 AAtR-41을 조제하기 위해서, 전사 tRNA(Glu)acu-CA(서열 번호: 56(TR-19))에 대해서, 아미노아실화 pCpA(SS48)를 전술한 방법으로 라이게이션 반응을 행했다.
- [1005] 마찬가지로, 화합물 AAtR-42를 조제하기 위해서, 전사 tRNA(Glu)ucu-CA(서열 번호: 57(TR-20))에 대해서, 아미노아실화 pCpA(SS49)를 전술한 방법으로 라이게이션 반응을 행했다.
- [1006] 마찬가지로, 화합물 AAtR-43을 조제하기 위해서, 전사 tRNA(Glu)ccu-CA(서열 번호: 58(TR-21))에 대해서, 아미노아실화 pCpA(SS50)를 전술한 방법으로 라이게이션 반응을 행했다.
- [1007] 마찬가지로, 화합물 AAtR-44를 조제하기 위해서, 전사 tRNA(Glu)gca-CA(서열 번호: 59(TR-22))에 대해서, 아미노아실화 pCpA(SS48)를 전술한 방법으로 라이게이션 반응을 행했다.
- [1008] 마찬가지로, 화합물 AAtR-45를 조제하기 위해서, 전사 tRNA(Glu)uca-CA(서열 번호: 60(TR-23))에 대해서, 아미노아실화 pCpA(SS49)를 전술한 방법으로 라이게이션 반응을 행했다.
- [1009] 마찬가지로, 화합물 AAtR-46을 조제하기 위해서, 전사 tRNA(Glu)cca-CA(서열 번호: 61(TR-24))에 대해서, 아미노아실화 pCpA(SS50)를 전술한 방법으로 라이게이션 반응을 행했다.
- [1010] 마찬가지로, 화합물 AAtR-47을 조제하기 위해서, 전사 tRNA(Glu)gug-CA(서열 번호: 63(TR-26))에 대해서, 아미노아실화 pCpA(SS48)를 전술한 방법으로 라이게이션 반응을 행했다.
- [1011] 마찬가지로, 화합물 AAtR-48을 조제하기 위해서, 전사 tRNA(Glu)guu-CA(서열 번호: 64(TR-27))에 대해서, 아미노아실화 pCpA(SS48)를 전술한 방법으로 라이게이션 반응을 행했다.
- [1012] 마찬가지로, 화합물 AAtR-49를 조제하기 위해서, 전사 tRNA(Glu)guc-CA(서열 번호: 65(TR-28))에 대해서, 아미노아실화 pCpA(SS48)를 전술한 방법으로 라이게이션 반응을 행했다.
- [1013] 마찬가지로, 화합물 AAtR-50을 조제하기 위해서, 전사 tRNA(Glu)gaa-CA(서열 번호: 66(TR-29))에 대해서, 아미노아실화 pCpA(SS48)를 전술한 방법으로 라이게이션 반응을 행했다.
- [1014] 마찬가지로, 화합물 AAtR-51을 조제하기 위해서, 전사 tRNA(Glu)gcu-CA(서열 번호: 67(TR-30))에 대해서, 아미노아실화 pCpA(SS48)를 전술한 방법으로 라이게이션 반응을 행했다.
- [1015] 마찬가지로, 화합물 AAtR-52를 조제하기 위해서, 전사 tRNA(Glu)uga-CA(서열 번호: 68(TR-31))에 대해서, 아미노아실화 pCpA(SS16)를 전술한 방법으로 라이게이션 반응을 행했다.
- [1016] 마찬가지로, 화합물 AAtR-53을 조제하기 위해서, 전사 tRNA(Glu)ugu-CA(서열 번호: 69(TR-32))에 대해서, 아미노아실화 pCpA(SS16)를 전술한 방법으로 라이게이션 반응을 행했다.
- [1017] 마찬가지로, 화합물 AAtR-54를 조제하기 위해서, 전사 tRNA(Glu)uau-CA(서열 번호: 70(TR-33))에 대해서, 아미노아실화 pCpA(SS16)를 전술한 방법으로 라이게이션 반응을 행했다.
- [1018] 마찬가지로, 화합물 AAtR-55를 조제하기 위해서, 전사 tRNA(Ile) uau-CA(서열 번호: 71(TR-34))에 대해서, 아미노아실화 pCpA(SS16)를 전술한 방법으로 라이게이션 반응을 행했다.
- [1019] 마찬가지로, 화합물 AAtR-56을 조제하기 위해서, 전사 tRNA(Ile) uau-CA(서열 번호: 71(TR-34))에 대해서, 아미노아실화 pCpA(SS51)를 전술한 방법으로 라이게이션 반응을 행했다.
- [1020] 마찬가지로, 화합물 AAtR-57을 조제하기 위해서, 전사 tRNA(Glu)gcg-CA(서열 번호: 72(TR-35))에 대해서, 아미노아실화 pCpA(ts14)를 전술한 방법으로 라이게이션 반응을 행했다.
- [1021] 마찬가지로, 화합물 AAtR-58을 조제하기 위해서, 전사 tRNA(Glu)ucg-CA(서열 번호: 73(TR-36))에 대해서, 아미노아실화 pCpA(SS15)를 전술한 방법으로 라이게이션 반응을 행했다.
- [1022] 마찬가지로, 화합물 AAtR-59를 조제하기 위해서, 전사 tRNA(Glu)ccg-CA(서열 번호: 74(TR-37))에 대해서, 아미노아실화 pCpA(TS24)를 전술한 방법으로 라이게이션 반응을 행했다.

- [1023] 마찬가지로, 화합물 AAtR-60을 조제하기 위해서, 전사 tRNA(Asp) aug-CA(서열 번호: 242(TR-38))에 대해서, 아미노아실화 pCpA(ts14)를 전술한 방법으로 라이게이션 반응을 행했다.
- [1024] 마찬가지로, 화합물 AAtR-61을 조제하기 위해서, 전사 tRNA(Asp) uug-CA(서열 번호: 246(TR-42))에 대해서, 아미노아실화 pCpA(SS14)를 전술한 방법으로 라이게이션 반응을 행했다.
- [1025] 마찬가지로, 화합물 AAtR-62를 조제하기 위해서, 전사 tRNA(Asp) cug-CA(서열 번호: 248(TR-44))에 대해서, 아미노아실화 pCpA(TS24)를 전술한 방법으로 라이게이션 반응을 행했다.
- [1026] 마찬가지로, 화합물 AAtR-63을 조제하기 위해서, 전사 tRNA(Asp) aug-CA(서열 번호: 243(TR-39))에 대해서, 아미노아실화 pCpA(ts14)를 전술한 방법으로 라이게이션 반응을 행했다.
- [1027] 마찬가지로, 화합물 AAtR-64를 조제하기 위해서, 전사 tRNA(Asp) uug-CA(서열 번호: 247(TR-43))에 대해서, 아미노아실화 pCpA(SS14)를 전술한 방법으로 라이게이션 반응을 행했다.
- [1028] 마찬가지로, 화합물 AAtR-65를 조제하기 위해서, 전사 tRNA(Asp) cug-CA(서열 번호: 249(TR-45))에 대해서, 아미노아실화 pCpA(TS24)를 전술한 방법으로 라이게이션 반응을 행했다.
- [1029] 마찬가지로, 화합물 AAtR-66을 조제하기 위해서, 전사 tRNA(Asp) gug-CA(서열 번호: 244(TR-40))에 대해서, 아미노아실화 pCpA(ts14)를 전술한 방법으로 라이게이션 반응을 행했다.
- [1030] 마찬가지로, 화합물 AAtR-67을 조제하기 위해서, 전사 tRNA(Asp) uug-CA(서열 번호: 246(TR-42))에 대해서, 아미노아실화 pCpA(SS14)를 전술한 방법으로 라이게이션 반응을 행했다.
- [1031] 마찬가지로, 화합물 AAtR-68을 조제하기 위해서, 전사 tRNA(Asp) cug-CA(서열 번호: 248(TR-44))에 대해서, 아미노아실화 pCpA(TS24)를 전술한 방법으로 라이게이션 반응을 행했다.
- [1032] 마찬가지로, 화합물 AAtR-69를 조제하기 위해서, 전사 tRNA(Asp) gug-CA(서열 번호: 245(TR-41))에 대해서, 아미노아실화 pCpA(ts14)를 전술한 방법으로 라이게이션 반응을 행했다.
- [1033] 마찬가지로, 화합물 AAtR-70을 조제하기 위해서, 전사 tRNA(Asp) uug-CA(서열 번호: 247(TR-43))에 대해서, 아미노아실화 pCpA(SS14)를 전술한 방법으로 라이게이션 반응을 행했다.
- [1034] 마찬가지로, 화합물 AAtR-71을 조제하기 위해서, 전사 tRNA(Asp) cug-CA(서열 번호: 249(TR-45))에 대해서, 아미노아실화 pCpA(TS24)를 전술한 방법으로 라이게이션 반응을 행했다.
- [1035] 마찬가지로, 화합물 AAtR-72를 조제하기 위해서, 전사 tRNA(Asp) auc-CA(서열 번호: 250(TR-46))에 대해서, 아미노아실화 pCpA(ts14)를 전술한 방법으로 라이게이션 반응을 행했다.
- [1036] 마찬가지로, 화합물 AAtR-73을 조제하기 위해서, 전사 tRNA(Asp) uuc-CA(서열 번호: 251(TR-47))에 대해서, 아미노아실화 pCpA(SS14)를 전술한 방법으로 라이게이션 반응을 행했다.
- [1037] 마찬가지로, 화합물 AAtR-74를 조제하기 위해서, 전사 tRNA(Asp) cuc-CA(서열 번호: 252(TR-48))에 대해서, 아미노아실화 pCpA(TS24)를 전술한 방법으로 라이게이션 반응을 행했다.
- [1038] 마찬가지로, 화합물 AAtR-75를 조제하기 위해서, 전사 tRNA(AsnE2) aug-CA(서열 번호: 253(TR-49))에 대해서, 아미노아실화 pCpA(SS48)를 전술한 방법으로 라이게이션 반응을 행했다.
- [1039] 마찬가지로, 화합물 AAtR-76을 조제하기 위해서, 전사 tRNA(AsnE2) uug-CA(서열 번호: 255(TR-51))에 대해서, 아미노아실화 pCpA(SS49)를 전술한 방법으로 라이게이션 반응을 행했다.
- [1040] 마찬가지로, 화합물 AAtR-77을 조제하기 위해서, 전사 tRNA(AsnE2) cug-CA(서열 번호: 256(TR-52))에 대해서, 아미노아실화 pCpA(SS50)를 전술한 방법으로 라이게이션 반응을 행했다.
- [1041] 마찬가지로, 화합물 AAtR-78을 조제하기 위해서, 전사 tRNA(AsnE2) gug-CA(서열 번호: 254(TR-50))에 대해서, 아미노아실화 pCpA(SS48)를 전술한 방법으로 라이게이션 반응을 행했다.
- [1042] 마찬가지로, 화합물 AAtR-79를 조제하기 위해서, 전사 tRNA(AsnE2) uug-CA(서열 번호: 255(TR-51))에 대해서, 아미노아실화 pCpA(SS49)를 전술한 방법으로 라이게이션 반응을 행했다.
- [1043] 마찬가지로, 화합물 AAtR-80을 조제하기 위해서, 전사 tRNA(AsnE2) cug-CA(서열 번호: 256(TR-52))에 대해서, 아미노아실화 pCpA(SS50)를 전술한 방법으로 라이게이션 반응을 행했다.

- [1044] 마찬가지로, 화합물 AAtR-81을 조제하기 위해서, 전사 tRNA(AsnE2) auc-CA(서열 번호: 257(TR-53))에 대해서, 아미노아실화 pCpA(SS48)를 전술한 방법으로 라이게이션 반응을 행했다.
- [1045] 마찬가지로, 화합물 AAtR-82를 조제하기 위해서, 전사 tRNA(AsnE2) uuc-CA(서열 번호: 258(TR-54))에 대해서, 아미노아실화 pCpA(SS49)를 전술한 방법으로 라이게이션 반응을 행했다.
- [1046] 마찬가지로, 화합물 AAtR-83을 조제하기 위해서, 전사 tRNA(AsnE2) cuc-CA(서열 번호: 259(TR-55))에 대해서, 아미노아실화 pCpA(SS50)를 전술한 방법으로 라이게이션 반응을 행했다.
- [1047] 각각의 ligation 반응 후의 용액에 0.3M 아세트산 나트륨을 가한 후, 페놀·클로로포름 용액을 가한 단계에서, 각 ligation 산물을 혼합하고, 혼합물 상태에서, 혹은 단일한 상태인 채로, 페놀·클로로포름 추출 및 에탄올 침전을 행하고, 회수했다.
- [1048] 구체적으로는, 화합물 AAtR-1, 화합물 AAtR-2, 화합물 AAtR-3의 3종류의 ligation 산물에 0.3M 아세트산 나트륨을 가하고, 페놀·클로로포름 용액을 가한 액을, 등량으로 혼합하고, 페놀·클로로포름 추출 및 에탄올 침전을 행하여, 아미노아실화 tRNA 혼합액(화합물 AAtR-1, 화합물 AAtR-2, 화합물 AAtR-3의 혼합액)을 조제했다.
- [1049] 마찬가지로, 화합물 AAtR-4, 화합물 AAtR-5, 화합물 AAtR-6의 3종류의 ligation 산물에 0.3M 아세트산 나트륨을 가하고, 페놀·클로로포름 용액을 가한 액을, 등량으로 혼합하고, 페놀·클로로포름 추출 및 에탄올 침전을 행하여, 아미노아실화 tRNA 혼합액(화합물 AAtR-4, 화합물 AAtR-5, 화합물 AAtR-6의 혼합액)을 조제했다.
- [1050] 마찬가지로, 화합물 AAtR-7, 화합물 AAtR-8, 화합물 AAtR-9의 3종류의 ligation 산물에 0.3M 아세트산 나트륨을 가하고, 페놀·클로로포름 용액을 가한 액을, 등량으로 혼합하고, 페놀·클로로포름 추출 및 에탄올 침전을 행하여, 아미노아실화 tRNA 혼합액(화합물 AAtR-7, 화합물 AAtR-8, 화합물 AAtR-9의 혼합액)을 조제했다.
- [1051] 마찬가지로, 화합물 AAtR-10, 화합물 AAtR-11, 화합물 AAtR-12의 3종류의 ligation 산물에 0.3M 아세트산 나트륨을 가하고, 페놀·클로로포름 용액을 가한 액을, 등량으로 혼합하고, 페놀·클로로포름 추출 및 에탄올 침전을 행하여, 아미노아실화 tRNA 혼합액(화합물 AAtR-10, 화합물 AAtR-11, 화합물 AAtR-12의 혼합액)을 조제했다.
- [1052] 마찬가지로, 화합물 AAtR-13, 화합물 AAtR-14, 화합물 AAtR-15의 3종류의 ligation 산물에 0.3M 아세트산 나트륨을 가하고, 페놀·클로로포름 용액을 가한 액을, 등량으로 혼합하고, 페놀·클로로포름 추출 및 에탄올 침전을 행하여, 아미노아실화 tRNA 혼합액(화합물 AAtR-13, 화합물 AAtR-14, 화합물 AAtR-15의 혼합액)을 조제했다.
- [1053] 마찬가지로, 화합물 AAtR-16, 화합물 AAtR-17, 화합물 AAtR-18의 3종류의 ligation 산물에 0.3M 아세트산 나트륨을 가하고, 페놀·클로로포름 용액을 가한 액을, 등량으로 혼합하고, 페놀·클로로포름 추출 및 에탄올 침전을 행하여, 아미노아실화 tRNA 혼합액(화합물 AAtR-16, 화합물 AAtR-17, 화합물 AAtR-18의 혼합액)을 조제했다.
- [1054] 마찬가지로, 화합물 AAtR-19, 화합물 AAtR-20, 화합물 AAtR-21의 3종류의 ligation 산물에 0.3M 아세트산 나트륨을 가하고, 페놀·클로로포름 용액을 가한 액을, 등량으로 혼합하고, 페놀·클로로포름 추출 및 에탄올 침전을 행하여, 아미노아실화 tRNA 혼합액(화합물 AAtR-19, 화합물 AAtR-20, 화합물 AAtR-21의 혼합액)을 조제했다.
- [1055] 마찬가지로, 화합물 AAtR-22, 화합물 AAtR-23, 화합물 AAtR-24의 3종류의 ligation 산물에 0.3M 아세트산 나트륨을 가하고, 페놀·클로로포름 용액을 가한 액을, 등량으로 혼합하고, 페놀·클로로포름 추출 및 에탄올 침전을 행하여, 아미노아실화 tRNA 혼합액(화합물 AAtR-22, 화합물 AAtR-23, 화합물 AAtR-24의 혼합액)을 조제했다.
- [1056] 마찬가지로, 화합물 AAtR-26, 화합물 AAtR-8, 화합물 AAtR-9의 3종류의 ligation 산물에 0.3M 아세트산 나트륨을 가하고, 페놀·클로로포름 용액을 가한 액을, 등량으로 혼합하고, 페놀·클로로포름 추출 및 에탄올 침전을 행하여, 아미노아실화 tRNA 혼합액(화합물 AAtR-26, 화합물 AAtR-8, 화합물 AAtR-9의 혼합액)을 조제했다.
- [1057] 마찬가지로, 화합물 AAtR-27, 화합물 AAtR-11, 화합물 AAtR-12의 3종류의 ligation 산물에 0.3M 아세트산 나트륨을 가하고, 페놀·클로로포름 용액을 가한 액을, 등량으로 혼합하고, 페놀·클로로포름 추출 및 에탄올 침전을 행하여, 아미노아실화 tRNA 혼합액(화합물 AAtR-27, 화합물 AAtR-11, 화합물 AAtR-12의 혼합액)을 조제했다.
- [1058] 마찬가지로, 화합물 AAtR-28, 화합물 AAtR-20, 화합물 AAtR-21의 3종류의 ligation 산물에 0.3M 아세트산 나트륨을 가하고, 페놀·클로로포름 용액을 가한 액을, 등량으로 혼합하고, 페놀·클로로포름 추출 및 에탄올 침전을 행하여, 아미노아실화 tRNA 혼합액(화합물 AAtR-28, 화합물 AAtR-20, 화합물 AAtR-21의 혼합액)을 조제했다.
- [1059] 마찬가지로, 화합물 AAtR-29, 화합물 AAtR-30, 화합물 AAtR-31의 3종류의 ligation 산물에 0.3M 아세트산 나트륨을 가하고, 페놀·클로로포름 용액을 가한 액을, 등량으로 혼합하고, 페놀·클로로포름 추출 및 에탄올 침전을 행



를 가하고, 페놀·클로로포름 용액을 가한 액을, 등량으로 혼합하고, 페놀·클로로포름 추출 및 에탄올 침전을 행하여, 아미노아실화 tRNA 혼합액(화합물 AAtR-69, 화합물 AAtR-70, 화합물 AAtR-71의 혼합액)을 조제했다.

[1075] 마찬가지로, 화합물 AAtR-72, 화합물 AAtR-73, 화합물 AAtR-74의 3종류의 ligation 산물에 0.3M 아세트산 나트륨을 가하고, 페놀·클로로포름 용액을 가한 액을, 등량으로 혼합하고, 페놀·클로로포름 추출 및 에탄올 침전을 행하여, 아미노아실화 tRNA 혼합액(화합물 AAtR-72, 화합물 AAtR-73, 화합물 AAtR-74의 혼합액)을 조제했다.

[1076] 마찬가지로, 화합물 AAtR-75, 화합물 AAtR-76, 화합물 AAtR-77의 3종류의 ligation 산물에 0.3M 아세트산 나트륨을 가하고, 페놀·클로로포름 용액을 가한 액을, 등량으로 혼합하고, 페놀·클로로포름 추출 및 에탄올 침전을 행하여, 아미노아실화 tRNA 혼합액(화합물 AAtR-75, 화합물 AAtR-76, 화합물 AAtR-77의 혼합액)을 조제했다.

[1077] 마찬가지로, 화합물 AAtR-78, 화합물 AAtR-79, 화합물 AAtR-80의 3종류의 ligation 산물에 0.3M 아세트산 나트륨을 가하고, 페놀·클로로포름 용액을 가한 액을, 등량으로 혼합하고, 페놀·클로로포름 추출 및 에탄올 침전을 행하여, 아미노아실화 tRNA 혼합액(화합물 AAtR-78, 화합물 AAtR-79, 화합물 AAtR-80의 혼합액)을 조제했다.

[1078] 마찬가지로, 화합물 AAtR-81, 화합물 AAtR-82, 화합물 AAtR-83의 3종류의 ligation 산물에 0.3M 아세트산 나트륨을 가하고, 페놀·클로로포름 용액을 가한 액을, 등량으로 혼합하고, 페놀·클로로포름 추출 및 에탄올 침전을 행하여, 아미노아실화 tRNA 혼합액(화합물 AAtR-81, 화합물 AAtR-82, 화합물 AAtR-83의 혼합액)을 조제했다.

[1079] 이하의 화합물은 혼합하지 않고 정제하여, 조제했다.

[1080] 화합물 AAtR-52의 ligation 산물에 0.3M이 되도록 아세트산 나트륨을 가하고, 페놀·클로로포름 용액을 가한 액을, 페놀·클로로포름 추출 및 에탄올 침전을 행하여, 화합물 AAtR-52를 조제했다.

[1081] 화합물 AAtR-53의 ligation 산물에 0.3M이 되도록 아세트산 나트륨을 가하고, 페놀·클로로포름 용액을 가한 액을, 페놀·클로로포름 추출 및 에탄올 침전을 행하여, 화합물 AAtR-53을 조제했다.

[1082] 화합물 AAtR-54의 ligation 산물에 0.3M이 되도록 아세트산 나트륨을 가하고, 페놀·클로로포름 용액을 가한 액을, 페놀·클로로포름 추출 및 에탄올 침전을 행하여, 화합물 AAtR-54를 조제했다.

[1083] 화합물 AAtR-55의 ligation 산물에 0.3M이 되도록 아세트산 나트륨을 가하고, 페놀·클로로포름 용액을 가한 액을, 페놀·클로로포름 추출 및 에탄올 침전을 행하여, 화합물 AAtR-55를 조제했다.

[1084] 화합물 AAtR-56의 ligation 산물에 0.3M이 되도록 아세트산 나트륨을 가하고, 페놀·클로로포름 용액을 가한 액을, 페놀·클로로포름 추출 및 에탄올 침전을 행하여, 화합물 AAtR-56을 조제했다.

[1085] 화합물 AAtR-58의 ligation 산물에 0.3M이 되도록 아세트산 나트륨을 가하고, 페놀·클로로포름 용액을 가한 액을, 페놀·클로로포름 추출 및 에탄올 침전을 행하여, 화합물 AAtR-58을 조제했다.

[1086] 아미노아실 pCpA를 이용한 initiator 아미노아실 tRNA의 조제

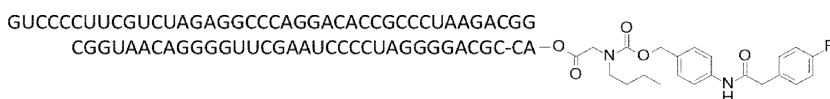
[1087] 25 μM 전사 tRNA(fMet) cau-CA(서열 번호: 62(TR-25), 50mM HEPES-KOH pH7.5, 20mM MgCl<sub>2</sub>, 1mM ATP, 0.6unit/l T4 RNA 리가제(New england bio lab.사), 0.25mM 아미노아실화 pCpA(MT01의 DMSO 용액)가 되도록, Nuclease free water로 메스업한 반응액을 조제하고, 15°C에서 45분간 라이게이션 반응을 행했다. 단, T4 RNA 리가제 및 아미노아실화 pCpA를 가하기 전의 반응액은, 95°C에서 2분간 가열 후, 실온에서 5분간 방치하여, 미리 tRNA의 리폴딩을 행했다.

[1088] 라이게이션 반응액에, 아세트산 나트륨을 0.3M이 되도록 가하고, 페놀·클로로포름 추출하고, initiator 아미노아실 tRNA(화합물 AAtR-25)를 에탄올 침전에 의해 회수했다.

[1089] initiator 아미노아실화 tRNA는, 번역 혼합물에 첨가하기 직전에 1mM 아세트산 나트륨에 용해했다.

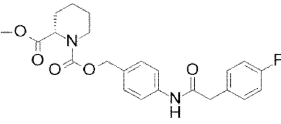
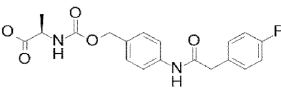
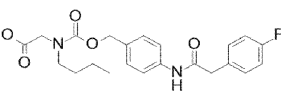
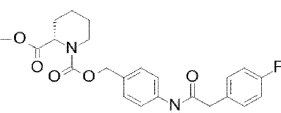
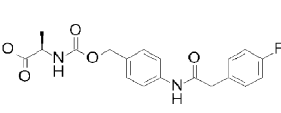
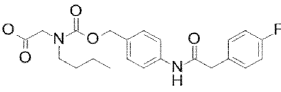
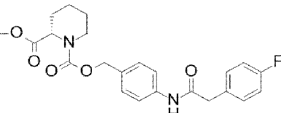
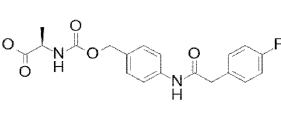
[1090] 화합물 AAtR-1 서열 번호: 75

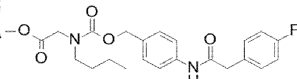
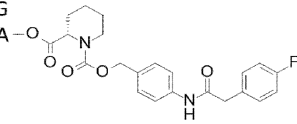
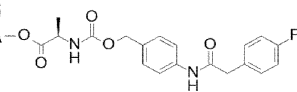
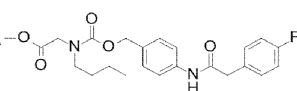
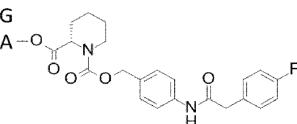
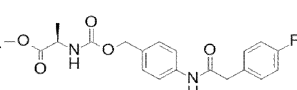
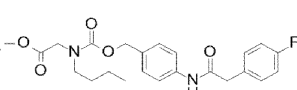
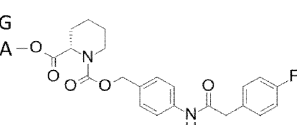
[1091] nBuG-tRNA(Glu)aag

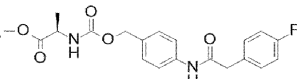
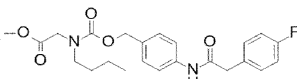
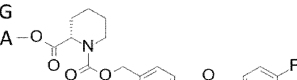
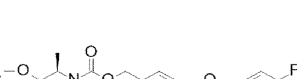
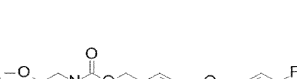





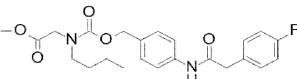
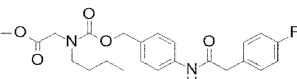
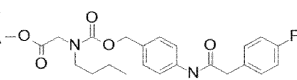
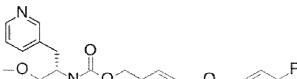



[1092]

[1093] 화합물 AAtR-2 서열 번호: 76

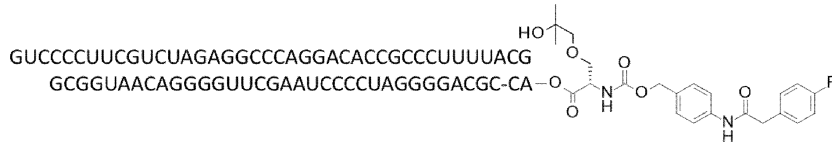
- [1094] Pic2-tRNA(Glu)uag  
 GUCCCCUUCGUCUAGAGGCCAGGACACCGCCUAGACGG  
 CGGUAACAGGGGUUCGAAUCCCUAGGGGACGC-CA-O-  

- [1095] 화합물 AAtR-3 서열 번호: 77
- [1096] dA-tRNA(Glu)cag  
 GUCCCCUUCGUCUAGAGGCCAGGACACCGCCUAGACGG  
 CGGUAACAGGGGUUCGAAUCCCUAGGGGACGC-CA-O-  

- [1098] 화합물 AAtR-4 서열 번호: 78
- [1099] nBuG-tRNA(Glu)aac  
 GUCCCCUUCGUCUAGAGGCCAGGACACCGCCUAAACACGG  
 CGGUAACAGGGGUUCGAAUCCCUAGGGGACGC-CA-O-  

- [1101] 화합물 AAtR-5 서열 번호: 79
- [1103] Pic2-tRNA(Glu)uac  
 GUCCCCUUCGUCUAGAGGCCAGGACACCGCCUACACGG  
 CGGUAACAGGGGUUCGAAUCCCUAGGGGACGC-CA-O-  

- [1104] 화합물 AAtR-6 서열 번호: 80
- [1106] dA-tRNA(Glu)cac  
 GUCCCCUUCGUCUAGAGGCCAGGACACCGCCUCACACGG  
 CGGUAACAGGGGUUCGAAUCCCUAGGGGACGC-CA-O-  

- [1107] 화합물 AAtR-7 서열 번호: 81
- [1109] nBuG-tRNA(Glu)aug  
 GUCCCCUUCGUCUAGAGGCCAGGACACCGCCUAGACGG  
 CGGUAACAGGGGUUCGAAUCCCUAGGGGACGC-CA-O-  

- [1110] 화합물 AAtR-8 서열 번호: 82
- [1112] Pic2-tRNA(Glu)uug  
 GUCCCCUUCGUCUAGAGGCCAGGACACCGCCUUGACG  
 GCGGUAACAGGGGUUCGAAUCCCUAGGGGACGC-CA-O-  

- [1113] 화합물 AAtR-9 서열 번호: 83
- [1115] dA-tRNA(Glu)cug  
 GUCCCCUUCGUCUAGAGGCCAGGACACCGCCUCUGACGG  
 CGGUAACAGGGGUUCGAAUCCCUAGGGGACGC-CA-O-  

- [1116] 화합물 AAtR-10 서열 번호: 84

- [1118] nBuG-tRNA(Glu)auu  
 GUCCCCUUCGUCUAGAGGCCAGGACACCGCCUAAUACGG  
 CGGUAACAGGGGUUCGAAUCCCUAGGGGACGC-CA-O-
- [1119] 화합물 AAtR-11 서열 번호: 85
- [1120] Pic2-tRNA(Glu)uuu  
 GUCCCCUUCGUCUAGAGGCCAGGACACCGCCUUUUACG  
 GCGUAACAGGGGUUCGAAUCCCUAGGGGACGC-CA-O-
- [1121] 화합물 AAtR-12 서열 번호: 86
- [1122] dA-tRNA(Glu)cuu  
 GUCCCCUUCGUCUAGAGGCCAGGACACCGCCUUCUACGG  
 CGGUAACAGGGGUUCGAAUCCCUAGGGGACGC-CA-O-
- [1123] 화합물 AAtR-13 서열 번호: 87
- [1124] nBuG-tRNA(Glu)auc  
 GUCCCCUUCGUCUAGAGGCCAGGACACCGCCUUAUCACGG  
 CGGUAACAGGGGUUCGAAUCCCUAGGGGACGC-CA-O-
- [1125] 화합물 AAtR-14 서열 번호: 88
- [1126] Pic2-tRNA(Glu)uuc  
 GUCCCCUUCGUCUAGAGGCCAGGACACCGCCUUCACGG  
 CGGUAACAGGGGUUCGAAUCCCUAGGGGACGC-CA-O-
- [1127] 화합물 AAtR-15 서열 번호: 89
- [1128] dA-tRNA(Glu)cuc  
 GUCCCCUUCGUCUAGAGGCCAGGACACCGCCUUCUCACGG  
 CGGUAACAGGGGUUCGAAUCCCUAGGGGACGC-CA-O-
- [1129] 화합물 AAtR-16 서열 번호: 90
- [1130] nBuG-tRNA(Glu)aaa  
 GUCCCCUUCGUCUAGAGGCCAGGACACCGCCUAAAACGG  
 CGGUAACAGGGGUUCGAAUCCCUAGGGGACGC-CA-O-
- [1131] 화합물 AAtR-17 서열 번호: 91
- [1132] Pic2-tRNA(Glu)uua  
 GUCCCCUUCGUCUAGAGGCCAGGACACCGCCUUAACGG  
 CGGUAACAGGGGUUCGAAUCCCUAGGGGACGC-CA-O-
- [1133] 화합물 AAtR-18 서열 번호: 92

- [1142] dA-tRNA(Glu)caa  
 GUCCCCUUCGUCUAGAGGCCAGGACACCGCCUCAACCGG  
 CGGUAACAGGGGUUCGAAUCCCUAGGGGACGC-CA-O-  

- [1143] 화합물 AAtR-19 서열 번호: 93
- [1144] nBuG-tRNA(Glu)acu  
 GUCCCCUUCGUCUAGAGGCCAGGACACCGCCUACUACGG  
 CGGUAACAGGGGUUCGAAUCCCUAGGGGACGC-CA-O-  

- [1145] 화합물 AAtR-20 서열 번호: 94
- [1146] Pic2-tRNA(Glu)ucu  
 GUCCCCUUCGUCUAGAGGCCAGGACACCGCCUUCUACGG  
 CGGUAACAGGGGUUCGAAUCCCUAGGGGACGC-CA-O-  

- [1147] 화합물 AAtR-21 서열 번호: 95
- [1148] dA-tRNA(Glu)ccu  
 GUCCCCUUCGUCUAGAGGCCAGGACACCGCCUCCUACGG  
 CGGUAACAGGGGUUCGAAUCCCUAGGGGACGC-CA-O-  

- [1149] 화합물 AAtR-22 서열 번호: 96
- [1150] nBuG-tRNA(Glu)gca  
 GUCCCCUUCGUCUAGAGGCCAGGACACCGCCUGCAACGG  
 CGGUAACAGGGGUUCGAAUCCCUAGGGGACGC-CA-O-  

- [1151] 화합물 AAtR-23 서열 번호: 97
- [1152] Pic2-tRNA(Glu)uca  
 GUCCCCUUCGUCUAGAGGCCAGGACACCGCCUUCAACGG  
 CGGUAACAGGGGUUCGAAUCCCUAGGGGACGC-CA-O-  

- [1153] 화합물 AAtR-24 서열 번호: 98
- [1154] dA-tRNA(Glu)cca  
 GUCCCCUUCGUCUAGAGGCCAGGACACCGCCUCCAACGG  
 CGGUAACAGGGGUUCGAAUCCCUAGGGGACGC-CA-O-  

- [1155] 화합물 AAtR-25 서열 번호: 99
- [1156] BdpFL-Phe-tRNA(fMet)cau  
 GGCGGGGUGGAGCAGCCUGGUAGCUCGUCGGGCUCAUAAC  
 CCGAAGAUCGUCGGUCAAUCCGGCCCCCGCAA-CA-O-  

- [1157] 화합물 AAtR-26 서열 번호: 100

- [1166] nBuG-tRNA(Glu)gug  
 GUCCCCUUCGUCUAGAGGGCCAGGACACCGCCUGUGACG  
 GCGGUAACAGGGGUUCGAAUCCCUAGGGGACGC-CA-O-  

- [1167] 화합물 AAtR-27 서열 번호: 101
- [1168] nBuG-tRNA(Glu)guu  
 GUCCCCUUCGUCUAGAGGGCCAGGACACCGCCUGUACG  
 GCGGUAACAGGGGUUCGAAUCCCUAGGGGACGC-CA-O-  

- [1170] 화합물 AAtR-28 서열 번호: 102
- [1171] nBuG-tRNA(Glu)gcu  
 GUCCCCUUCGUCUAGAGGGCCAGGACACCGCCUGCUACGG  
 CGGUAACAGGGGUUCGAAUCCCUAGGGGACGC-CA-O-  

- [1173] 화합물 AAtR-29 서열 번호: 103
- [1175] MeA3Pr-tRNA(Glu)aug  
 GUCCCCUUCGUCUAGAGGGCCAGGACACCGCCUUAUGACGG  
 CCGGUAACAGGGGUUCGAAUCCCUAGGGGACGC-CA-O-  

- [1176] 화합물 AAtR-30 서열 번호: 104
- [1178] StBuOH-tRNA(Glu)uug  
 GUCCCCUUCGUCUAGAGGGCCAGGACACCGCCUUUGACG  
 GCGGUAACAGGGGUUCGAAUCCCUAGGGGACGC-CA-O-  

- [1179] 화합물 AAtR-31 서열 번호: 105
- [1181] MeSnPr-tRNA(Glu)cug  
 GUCCCCUUCGUCUAGAGGGCCAGGACACCGCCUCUGACGG  
 CCGGUAACAGGGGUUCGAAUCCCUAGGGGACGC-CA-O-  

- [1182] 화합물 AAtR-32 서열 번호: 106
- [1184] MeA3Pr-tRNA(Glu)auu  
 GUCCCCUUCGUCUAGAGGGCCAGGACACCGCCUUAUACGG  
 CCGGUAACAGGGGUUCGAAUCCCUAGGGGACGC-CA-O-  

- [1185] 화합물 AAtR-33 서열 번호: 107

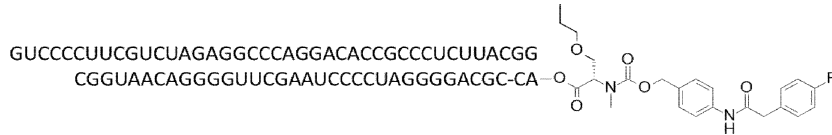
[1187] StBuOH-tRNA(Glu)uuu



[1188]

[1189] 화합물 AAtR-34 서열 번호: 108

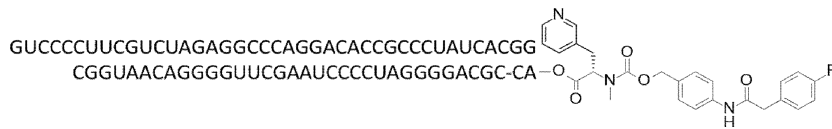
[1190] MeSnPr-tRNA(Glu)cuu



[1191]

[1192] 화합물 AAtR-35 서열 번호: 109

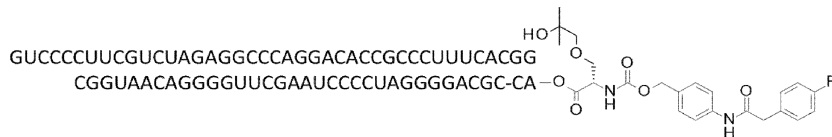
[1193] MeA3Pr-tRNA(Glu)auc



[1194]

[1195] 화합물 AAtR-36 서열 번호: 110

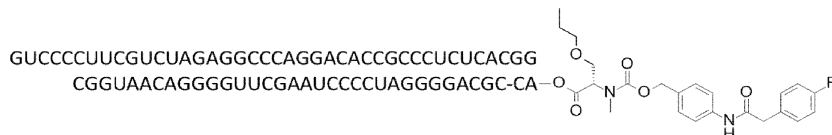
[1196] StBuOH-tRNA(Glu)uuc



[1197]

[1198] 화합물 AAtR-37 서열 번호: 111

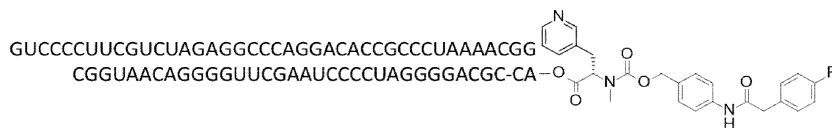
[1199] MeSnPr-tRNA(Glu)cuc



[1200]

[1201] 화합물 AAtR-38 서열 번호: 112

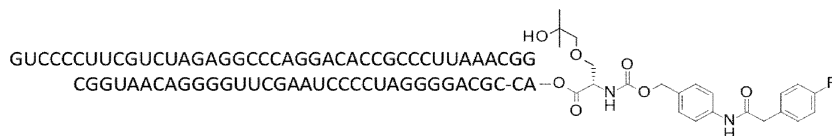
[1202] MeA3Pr-tRNA(Glu)aaa



[1203]

[1204] 화합물 AAtR-39 서열 번호: 113

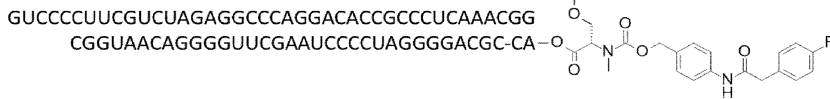
[1205] StBuOH-tRNA(Glu)uaa



[1206]

[1207] 화합물 AAtR-40 서열 번호: 114

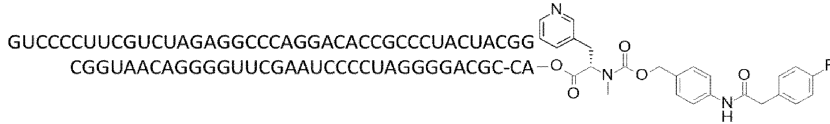
[1208] MeSnPr-tRNA(Glu)caa



[1209]

[1210] 화합물 AAtR-41 서열 번호: 115

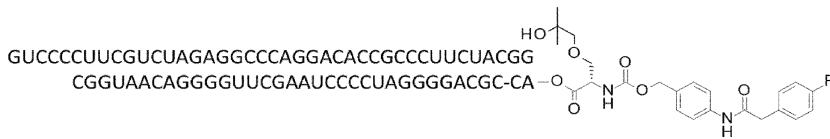
[1211] MeA3Pr-tRNA(Glu)acu



[1212]

[1213] 화합물 AAtR-42 서열 번호: 116

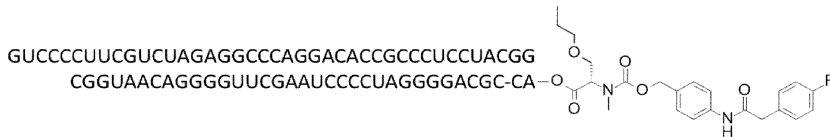
[1214] StBuOH-tRNA(Glu)ucu



[1215]

[1216] 화합물 AAtR-43 서열 번호: 117

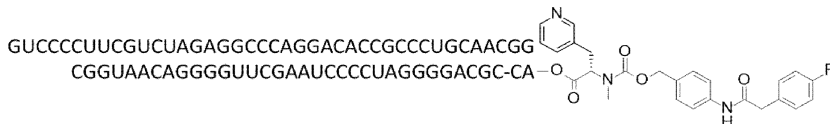
[1217] MeSnPr-tRNA(Glu)ccu



[1218]

[1219] 화합물 AAtR-44 서열 번호: 118

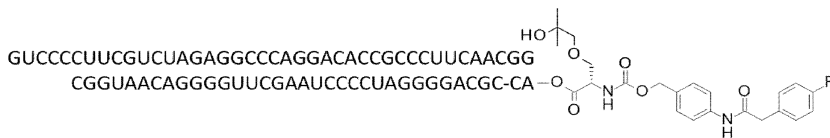
[1220] MeA3Pr-tRNA(Glu)gca



[1221]

[1222] 화합물 AAtR-45 서열 번호: 119

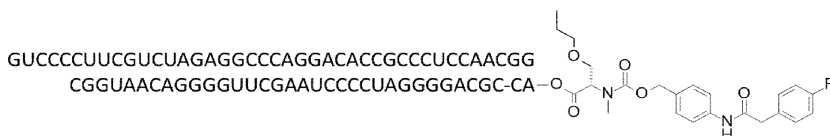
[1223] StBuOH-tRNA(Glu)uca



[1224]

[1225] 화합물 AAtR-46 서열 번호: 120

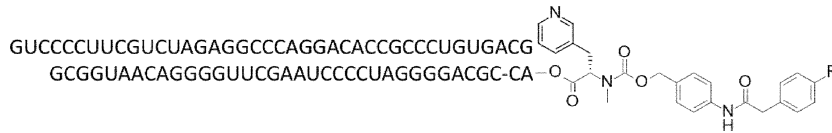
[1226] MeSnPr-tRNA(Glu)cca



[1227]

[1228] 화합물 AAtR-47 서열 번호: 121

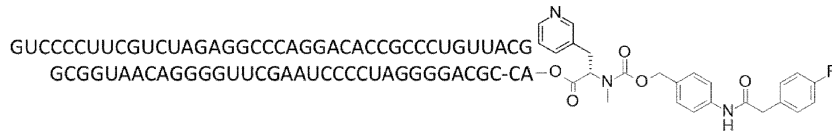
[1229] MeA3Pr-tRNA(Glu)gug



[1230]

[1231] 화합물 AAtR-48 서열 번호: 122

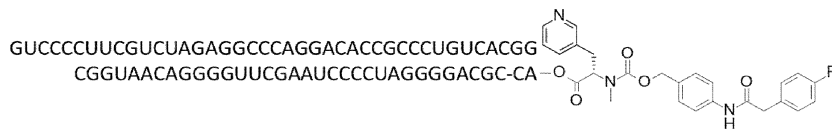
[1232] MeA3Pr-tRNA(Glu)guu



[1233]

[1234] 화합물 AAtR-49 서열 번호: 123

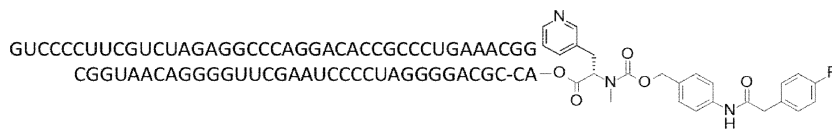
[1235] MeA3Pr-tRNA(Glu)guc



[1236]

[1237] 화합물 AAtR-50 서열 번호: 124

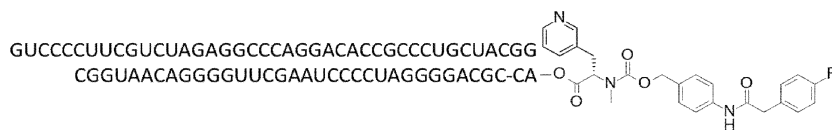
[1238] MeA3Pr-tRNA(Glu)gaa



[1239]

[1240] 화합물 AAtR-51 서열 번호: 125

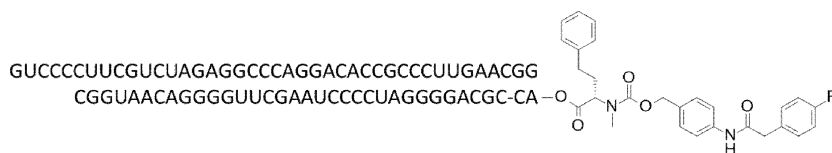
[1241] MeA3Pr-tRNA(Glu)gcu



[1242]

[1243] 화합물 AAtR-52 서열 번호: 126

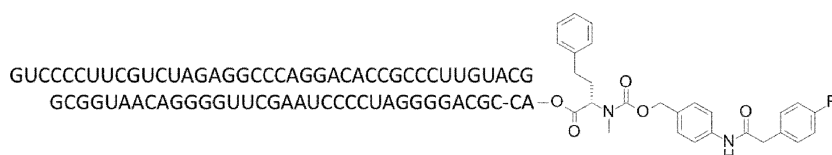
[1244] MeHph-tRNA(Glu)uga



[1245]

[1246] 화합물 AAtR-53 서열 번호: 127

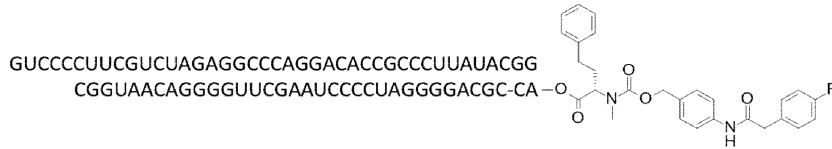
[1247] MeHph-tRNA(Glu)ugu



[1248]

[1249] 화합물 AAtR-54 서열 번호: 128

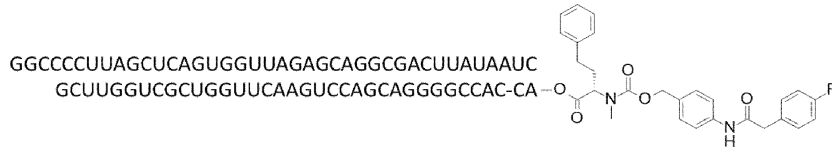
[1250] MeHph-tRNA(Glu)uau



[1251]

[1252] 화합물 AAtR-55 서열 번호: 129

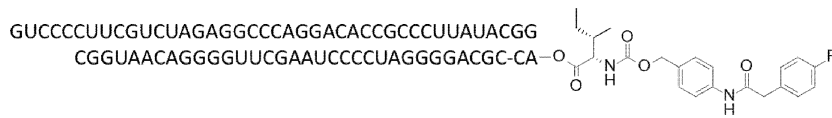
[1253] MeHph-tRNA(Ile2)uau



[1254]

[1255] 화합물 AAtR-56 서열 번호: 130

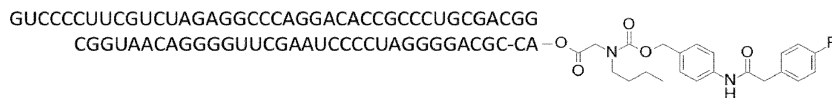
[1256] Ile-tRNA(Ile2)uau



[1257]

[1258] 화합물 AAtR-57 서열 번호: 131

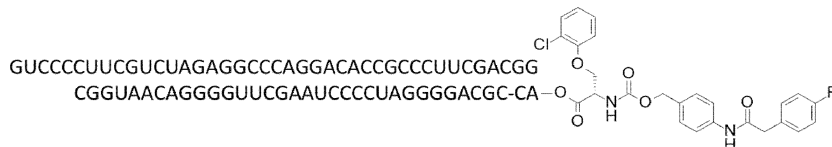
[1259] nBuG-tRNA(Glu)gcg



[1260]

[1261] 화합물 AAtR-58 서열 번호: 132

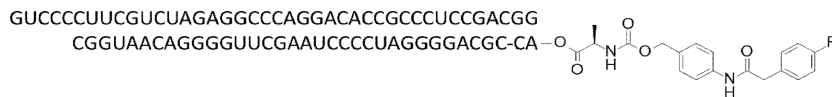
[1262] SPh2C1-tRNA(Glu)ucg



[1263]

[1264] 화합물 AAtR-59 서열 번호: 133

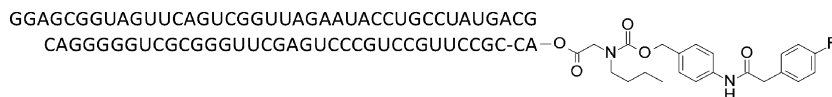
[1265] dA-tRNA(Glu)cgg



[1266]

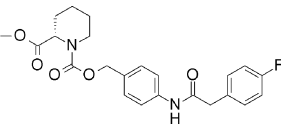
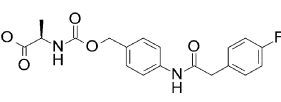
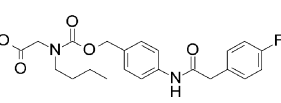
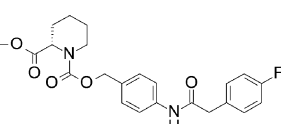
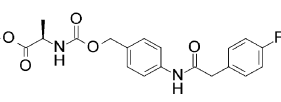
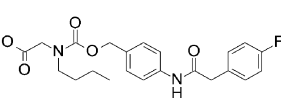
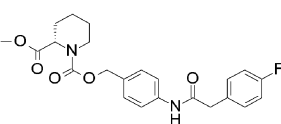
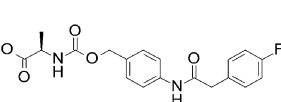
[1267] 화합물 AAtR-60 서열 번호: 260

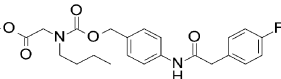
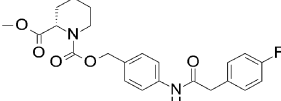
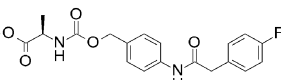
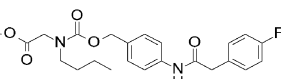
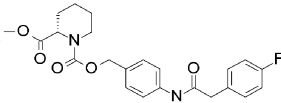
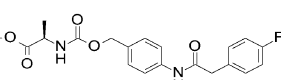
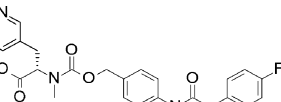
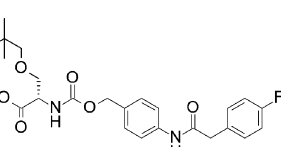
[1268] nBuGly-tRNA(Asp1)\_aug



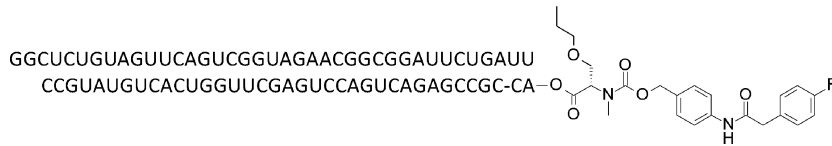
[1269]

[1270] 화합물 AAtR-61 서열 번호: 261

- [1271] Pic2-tRNA(Asp1)\_uug  
 GGAGCGGUAGUUCAGUCGGUUAGAAUACCGCCUUUGACG  
 CAGGGGGUCGCGGGUUCGAGUCCCGUCCGUUCCGC-CA-O-  

- [1272] 화합물 AAtR-62 서열 번호: 262
- [1274] dA-tRNA(Asp1)\_cug  
 GGAGCGGUAGUUCAGUCGGUUAGAAUACCGCCUCUGACG  
 CAGGGGGUCGCGGGUUCGAGUCCCGUCCGUUCCGC-CA-O-  

- [1275] 화합물 AAtR-63 서열 번호: 263
- [1277] nBuGly-tRNA(Asp1-ACL7U)\_aug  
 GGAGCGGUAGUUCAGUCGGUUAGAAUACCGCUUAUGAU  
 GCAGGGGGUCGCGGGUUCGAGUCCCGUCCGUUCCGC-CA-O-  

- [1278] 화합물 AAtR-64 서열 번호: 264
- [1280] Pic2-tRNA(Asp1-ACL7A)\_uug  
 GGAGCGGUAGUUCAGUCGGUUAGAAUACCGCUUUUGAU  
 GCAGGGGGUCGCGGGUUCGAGUCCCGUCCGUUCCGC-CA-O-  

- [1281] 화합물 AAtR-65 서열 번호: 265
- [1283] dA-tRNA(Asp1-ACL7G)\_cug  
 GGAGCGGUAGUUCAGUCGGUUAGAAUACCGCUUCUGAUG  
 CAGGGGGUCGCGGGUUCGAGUCCCGUCCGUUCCGC-CA-O-  

- [1284] 화합물 AAtR-66 서열 번호: 266
- [1286] nBuGly-tRNA(Asp1)\_gug  
 GGAGCGGUAGUUCAGUCGGUUAGAAUACCGCCUGUGACG  
 CAGGGGGUCGCGGGUUCGAGUCCCGUCCGUUCCGC-CA-O-  

- [1287] 화합물 AAtR-67 서열 번호: 267
- [1289] Pic2-tRNA(Asp1)\_uug  
 GGAGCGGUAGUUCAGUCGGUUAGAAUACCGCCUUUGACG  
 CAGGGGGUCGCGGGUUCGAGUCCCGUCCGUUCCGC-CA-O-  

- [1290] 화합물 AAtR-68 서열 번호: 268
- [1292] dA-tRNA(Asp1)\_cug  
 GGAGCGGUAGUUCAGUCGGUUAGAAUACCGCCUCUGACG  
 CAGGGGGUCGCGGGUUCGAGUCCCGUCCGUUCCGC-CA-O-  

- [1293] 화합물 AAtR-69 서열 번호: 269

- [1295] nBuGly-tRNA(Asp1-ACL7C)\_gug  
 GGAGCGGUAGUUCAGUCGGUUAGAAUACCGCUUGUGAUG  
 CAGGGGGUCGCGGGUUCGAGUCCCGUCCGUUCCGC-CA-O-  

- [1296] 화합물 AAtR-70 서열 번호: 270
- [1297] Pic2-tRNA(Asp1-ACL7A)\_uug  
 GGAGCGGUAGUUCAGUCGGUUAGAAUACCGCUUUUGAUG  
 CAGGGGGUCGCGGGUUCGAGUCCCGUCCGUUCCGC-CA-O-  

- [1299] 화합물 AAtR-71 서열 번호: 271
- [1300] dA-tRNA(Asp1-ACL7G)\_cug  
 GGAGCGGUAGUUCAGUCGGUUAGAAUACCGCUUCUGAUG  
 CAGGGGGUCGCGGGUUCGAGUCCCGUCCGUUCCGC-CA-O-  

- [1301] 화합물 AAtR-72 서열 번호: 272
- [1302] nBuGly-tRNA(Asp1)\_auc  
 GGAGCGGUAGUUCAGUCGGUUAGAAUACCGCCUAUCACGC  
 AGGGGGUCGCGGGUUCGAGUCCCGUCCGUUCCGC-CA-O-  

- [1303] 화합물 AAtR-73 서열 번호: 273
- [1304] Pic2-tRNA(Asp1)\_uuc  
 GGAGCGGUAGUUCAGUCGGUUAGAAUACCGCCUUCACGC  
 AGGGGGUCGCGGGUUCGAGUCCCGUCCGUUCCGC-CA-O-  

- [1305] 화합물 AAtR-74 서열 번호: 274
- [1306] nBuGly-tRNA(Asp1)\_cuc  
 GGAGCGGUAGUUCAGUCGGUUAGAAUACCGCCUCACGC  
 AGGGGGUCGCGGGUUCGAGUCCCGUCCGUUCCGC-CA-O-  

- [1307] 화합물 AAtR-75 서열 번호: 275
- [1308] MeA3Pr-tRNA(AsnE2+ACL)\_aug  
 GGCUCUGUAGUUCAGUCGGUAGAACGGCGGAUUUUGAUU  
 CCGUAUGUCACUGGUUCGAGUCCAGUCAGAGCCGC-CA-O-  

- [1309] 화합물 AAtR-76 서열 번호: 276
- [1310] StBuOH-tRNA(AsnE2+ACL)\_uug  
 GGCUCUGUAGUUCAGUCGGUAGAACGGCGGAUUUUGAUU  
 CCGUAUGUCACUGGUUCGAGUCCAGUCAGAGCCGC-CA-O-  

- [1311] 화합물 AAtR-77 서열 번호: 277

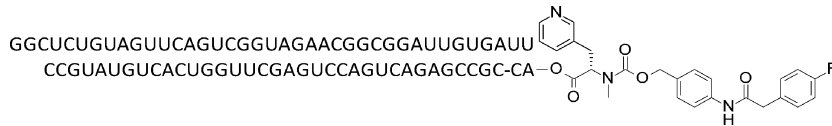
[1319] MeSnPr-tRNA(AsnE2+ACL)\_cug



[1320]

[1321] 화합물 AAtR-78 서열 번호: 278

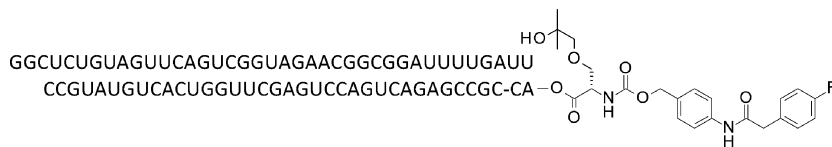
[1322] MeA3Pr-tRNA(AsnE2+ACL)\_gug



[1323]

[1324] 화합물 AAtR-79 서열 번호: 279

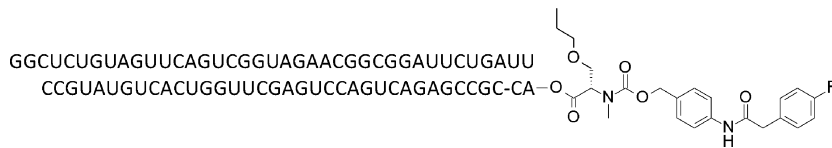
[1325] StBuOH-tRNA(AsnE2+ACL)\_uug



[1326]

[1327] 화합물 AAtR-80 서열 번호: 280

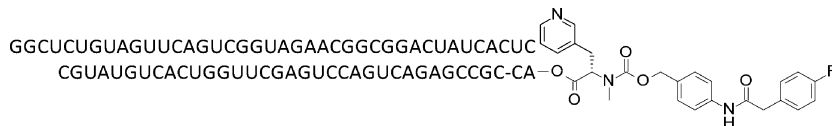
[1328] MeSnPr-tRNA(AsnE2+ACL)\_cug



[1329]

[1330] 화합물 AAtR-81 서열 번호: 281

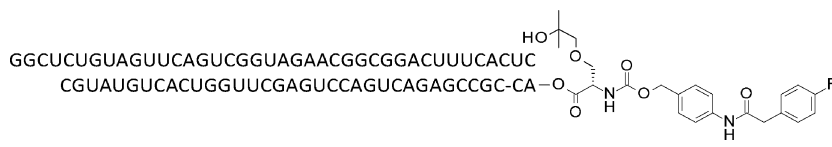
[1331] MeA3Pr-tRNA(AsnE2+ACL)\_auc



[1332]

[1333] 화합물 AAtR-82 서열 번호: 282

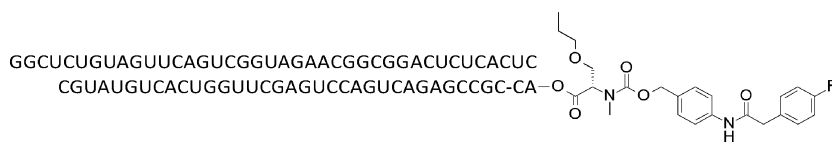
[1334] StBuOH-tRNA(AsnE2+ACL)\_uuc



[1335]

[1336] 화합물 AAtR-83 서열 번호: 283

[1337] MeSnPr-tRNA(AsnE2+ACL)\_cuc



[1338]

[1339] 실시예 6. 펩티드의 번역 합성

- [1340] 다음에, 3종류의 아미노아실화 tRNA가 존재하는 상황에서, 1개의 코돈 박스에 있어서의 3종류의 아미노산의 관독을 확인하기 위한 실험을 실시했다. 구체적으로는, 동일 코돈 박스 내의 3종류의 코돈 중 어느 1개를 포함하고, 그 이외는 동일 서열의 주형 mRNA(주형 mRNA 서열 번호: 134(mR-1)~서열 번호: 162(mR-29), 서열 번호: 219(mR-42)~서열 번호: 221(mR-44))을, 아미노아실화 tRNA 혼합액을 이용하여 번역하여, 펩티드 화합물을 번역 합성했다. 특정의 코돈 박스에서는, wobble 코돈끼리를 관독하고, 추가로 다른 하나의 별도의 코돈도 동시에 관독할 수 있었다. 아미노산은 두 방법의 조합으로 검증하여, 어느 조건에서도, 특정의 코돈 박스에 있어서, 1코돈 박스 내에서 3아미노산의 관독이 가능하다는 것이 나타났다.
- [1341] 번역계는, 원핵생물 유래의 재구성 무세포 단백질 합성계인 PURE system을 이용했다.
- [1342] 구체적으로는, 번역액(1mM GTP, 1mM ATP, 20mM 크레아틴 인산, 50mM HEPES-KOH pH7.6, 100mM 아세트산 칼륨, 10mM 아세트산 마그네슘, 2mM 스페르미딘, 1mM 다이싸이오트레이톨, 1.5mg/ml E. coli MRE600(RNase 네거티브) 유래 tRNA(Roche사), 0.26 μM EF-G, 0.24 μM RF2, 0.17 μM RF3, 0.5 μM RRF, 4 μg/ml 크레아틴 키나제, 3 μg/ml 미오키나제, 2unit/ml 무기 피로포스파타제, 1.1 μg/ml 뉴클레오티드 2인산 키나제, 2.7 μM IF1, 0.4 μM IF2, 1.5 μM IF3, 40 μM EF-Tu, 35 μM EF-Ts, 1 μM EF-P-Lys, 0.4unit/l RNasein Ribonuclease inhibitor(Promega사, N2111), 1.2 μM 리보솜, 0.5mM PGA, 0.09 μM GlyRS, 0.4 μM IleRS, 0.68 μM PheRS, 0.16 μM ProRS, 0.09 μM ThrRS)에, 1 μM 주형 mRNA(서열 번호: 134(mR-1), 서열 번호: 135(mR-2), 혹은 서열 번호: 136(mR-3)), 각각의 주형 mRNA에 코딩되어 있는 천연 아미노산군을 각각 0.25mM씩, initiator 아미노아실화 tRNA(화합물 AAtR-25)를 10 μM, 아미노아실화 tRNA 혼합액(화합물 AAtR-1, 화합물 AAtR-2, 화합물 AAtR-3의 혼합액)을 30 μM이 되도록 번역 반응 혼합물에 첨가하고, 37°C에서 1시간 정치함으로써 행했다.
- [1343] 그 외의 서열(서열 번호: 137(mR-4), 서열 번호: 138(mR-5), 서열 번호: 139(mR-6))에 관해서도 무세포 번역을 행했다.
- [1344] 구체적으로는, 번역액(1mM GTP, 1mM ATP, 20mM 크레아틴 인산, 50mM HEPES-KOH pH7.6, 100mM 아세트산 칼륨, 10mM 아세트산 마그네슘, 2mM 스페르미딘, 1mM 다이싸이오트레이톨, 1.5mg/ml E. coli MRE600(RNase 네거티브) 유래 tRNA(Roche사), 0.26 μM EF-G, 0.24 μM RF2, 0.17 μM RF3, 0.5 μM RRF, 4 μg/ml 크레아틴 키나제, 3 μg/ml 미오키나제, 2unit/ml 무기 피로포스파타제, 1.1 μg/ml 뉴클레오티드 2인산 키나제, 2.7 μM IF1, 0.4 μM IF2, 1.5 μM IF3, 40 μM EF-Tu, 35 μM EF-Ts, 1 μM EF-P-Lys, 0.4unit/l RNasein Ribonuclease inhibitor(Promega사, N2111), 1.2 μM 리보솜, 0.5mM PGA, 0.09 μM GlyRS, 0.4 μM IleRS, 0.68 μM PheRS, 0.16 μM ProRS, 0.09 μM ThrRS)에, 1 μM 주형 mRNA(서열 번호: 137(mR-4), 서열 번호: 138(mR-5), 혹은 서열 번호: 139(mR-6)), 각각의 주형 mRNA에 코딩되어 있는 천연 아미노산군을 각각 0.25mM씩, initiator 아미노아실화 tRNA(화합물 AAtR-25)를 10 μM, 아미노아실화 tRNA 혼합액(화합물 AAtR-4, 화합물 AAtR-5, 화합물 AAtR-6의 혼합액)을 30 μM이 되도록 번역 반응 혼합물에 첨가하고, 37°C에서 1시간 정치함으로써 행했다.
- [1345] 그 외의 서열(서열 번호: 140(mR-7), 서열 번호: 141(mR-8), 서열 번호: 142(mR-9))에 관해서도 무세포 번역을 행했다.
- [1346] 구체적으로는, 번역액(1mM GTP, 1mM ATP, 20mM 크레아틴 인산, 50mM HEPES-KOH pH7.6, 100mM 아세트산 칼륨, 10mM 아세트산 마그네슘, 2mM 스페르미딘, 1mM 다이싸이오트레이톨, 1.5mg/ml E. coli MRE600(RNase 네거티브) 유래 tRNA(Roche사), 0.26 μM EF-G, 0.24 μM RF2, 0.17 μM RF3, 0.5 μM RRF, 4 μg/ml 크레아틴 키나제, 3 μg/ml 미오키나제, 2unit/ml 무기 피로포스파타제, 1.1 μg/ml 뉴클레오티드 2인산 키나제, 2.7 μM IF1, 0.4 μM IF2, 1.5 μM IF3, 40 μM EF-Tu, 54 μM EF-Ts, 1 μM EF-P-Lys, 0.4unit/l RNasein Ribonuclease inhibitor(Promega사, N2111), 1.2 μM 리보솜, 0.5mM PGA, 0.09 μM GlyRS, 0.4 μM IleRS, 0.68 μM PheRS, 0.16 μM ProRS, 0.09 μM ThrRS)에, 1 μM 주형 mRNA(서열 번호: 140(mR-7), 서열 번호: 141(mR-8), 혹은 서열 번호: 142(mR-9)), 각각의 주형 mRNA에 코딩되어 있는 천연 아미노산군을 각각 0.25mM씩, initiator 아미노아실화 tRNA(화합물 AAtR-25)를 10 μM, 아미노아실화 tRNA 혼합액(화합물 AAtR-7, 화합물 AAtR-8, 화합물 AAtR-9의 혼합액, 화합물 AAtR-29, 화합물 AAtR-30, 화합물 AAtR-31의 혼합액, 화합물 AAtR-60, 화합물 AAtR-61, 화합물 AAtR-62의 혼합액, 화합물 AAtR-63, 화합물 AAtR-64, 화합물 AAtR-65의 혼합액 혹은 화합물 AAtR-75, 화합물 AAtR-76, 화합물 AAtR-77의 혼합액)을 30 μM이 되도록 번역 반응 혼합물에 첨가하고, 37°C에서 1시간 정치함으로써 행했다.
- [1347] 그 외의 서열(서열 번호: 143(mR-10), 서열 번호: 144(mR-11), 서열 번호: 145(mR-12))에 관해서도 무세포 번역을 행했다.

- [1348] 구체적으로는, 번역액(1mM GTP, 1mM ATP, 20mM 크레아틴 인산, 50mM HEPES-KOH pH7.6, 100mM 아세트산 칼륨, 10mM 아세트산 마그네슘, 2mM 스페르미딘, 1mM 다이싸이오트레이톨, 1.5mg/ml E. coli MRE600(RNase 네거티브) 유래 tRNA(Roche사), 0.26  $\mu$ M EF-G, 0.24  $\mu$ M RF2, 0.17  $\mu$ M RF3, 0.5  $\mu$ M RRF, 4  $\mu$ g/ml 크레아틴 키나제, 3  $\mu$ g/ml 미오키나제, 2unit/ml 무기 피로포스파타제, 1.1  $\mu$ g/ml 뉴클레오티드 2인산 키나제, 2.7  $\mu$ M IF1, 0.4  $\mu$ M IF2, 1.5  $\mu$ M IF3, 40  $\mu$ M EF-Tu, 54  $\mu$ M EF-Ts, 1  $\mu$ M EF-P-Lys, 0.4unit/l RNasein Ribonuclease inhibitor(Promega사, N2111), 1.2  $\mu$ M 리보솜, 0.5mM PGA, 0.09  $\mu$ M GlyRS, 0.4  $\mu$ M IleRS, 0.68  $\mu$ M PheRS, 0.16  $\mu$ M ProRS, 0.09  $\mu$ M ThrRS)에, 1  $\mu$ M 주형 mRNA(서열 번호: 143(mR-10), 서열 번호: 144(mR-11), 혹은 서열 번호: 145(mR-12)), 각각의 주형 mRNA에 코딩되어 있는 천연 아미노산군을 각각 0.25mM씩, initiator 아미노아실화 tRNA(화합물 AAtR-25)를 10  $\mu$ M, 아미노아실화 tRNA 혼합액(화합물 AAtR-10, 화합물 AAtR-11, 화합물 AAtR-12의 혼합액, 혹은 화합물 AAtR-32, 화합물 AAtR-33, 화합물 AAtR-34의 혼합액)을 30  $\mu$ M이 되도록 번역 반응 혼합물에 첨가하고, 37°C에서 1시간 정치함으로써 행했다.
- [1349] 그 외의 서열(서열 번호: 146(mR-13), 서열 번호: 147(mR-14), 서열 번호: 148(mR-15))에 관해서도 무세포 번역을 행했다.
- [1350] 구체적으로는, 번역액(1mM GTP, 1mM ATP, 20mM 크레아틴 인산, 50mM HEPES-KOH pH7.6, 100mM 아세트산 칼륨, 10mM 아세트산 마그네슘, 2mM 스페르미딘, 1mM 다이싸이오트레이톨, 1.5mg/ml E. coli MRE600(RNase 네거티브) 유래 tRNA(Roche사), 0.26  $\mu$ M EF-G, 0.24  $\mu$ M RF2, 0.17  $\mu$ M RF3, 0.5  $\mu$ M RRF, 4  $\mu$ g/ml 크레아틴 키나제, 3  $\mu$ g/ml 미오키나제, 2unit/ml 무기 피로포스파타제, 1.1  $\mu$ g/ml 뉴클레오티드 2인산 키나제, 2.7  $\mu$ M IF1, 0.4  $\mu$ M IF2, 1.5  $\mu$ M IF3, 40  $\mu$ M EF-Tu, 49  $\mu$ M EF-Ts, 1  $\mu$ M EF-P-Lys, 0.4unit/l RNasein Ribonuclease inhibitor(Promega사, N2111), 1.2  $\mu$ M 리보솜, 0.5mM PGA, 0.09  $\mu$ M GlyRS, 0.4  $\mu$ M IleRS, 0.68  $\mu$ M PheRS, 0.16  $\mu$ M ProRS, 0.09  $\mu$ M ThrRS)에, 1  $\mu$ M 주형 mRNA(서열 번호: 146(mR-13), 서열 번호: 147(mR-14), 혹은 서열 번호: 148(mR-15)), 각각의 주형 mRNA에 코딩되어 있는 천연 아미노산군을 각각 0.25mM씩, initiator 아미노아실화 tRNA(화합물 AAtR-25)를 10  $\mu$ M, 아미노아실화 tRNA 혼합액(화합물 AAtR-13, 화합물 AAtR-14, 화합물 AAtR-15의 혼합액, 화합물 AAtR-72, 화합물 AAtR-73, 화합물 AAtR-74의 혼합액 혹은 화합물 AAtR-81, 화합물 AAtR-82, 화합물 AAtR-83의 혼합액)을 30  $\mu$ M이 되도록 번역 반응 혼합물에 첨가하고, 37°C에서 1시간 정치함으로써 행했다.
- [1351] 그 외의 서열(서열 번호: 149(mR-16), 서열 번호: 150(mR-17), 서열 번호: 151(mR-18))에 관해서도 무세포 번역을 행했다.
- [1352] 구체적으로는, 번역액(1mM GTP, 1mM ATP, 20mM 크레아틴 인산, 50mM HEPES-KOH pH7.6, 100mM 아세트산 칼륨, 10mM 아세트산 마그네슘, 2mM 스페르미딘, 1mM 다이싸이오트레이톨, 1.5mg/ml E. coli MRE600(RNase 네거티브) 유래 tRNA(Roche사), 0.26  $\mu$ M EF-G, 0.24  $\mu$ M RF2, 0.17  $\mu$ M RF3, 0.5  $\mu$ M RRF, 4  $\mu$ g/ml 크레아틴 키나제, 3  $\mu$ g/ml 미오키나제, 2unit/ml 무기 피로포스파타제, 1.1  $\mu$ g/ml 뉴클레오티드 2인산 키나제, 2.7  $\mu$ M IF1, 0.4  $\mu$ M IF2, 1.5  $\mu$ M IF3, 40  $\mu$ M EF-Tu, 54  $\mu$ M EF-Ts, 1  $\mu$ M EF-P-Lys, 0.4unit/l RNasein Ribonuclease inhibitor(Promega사, N2111), 1.2  $\mu$ M 리보솜, 0.5mM PGA, 0.09  $\mu$ M GlyRS, 0.4  $\mu$ M IleRS, 0.68  $\mu$ M PheRS, 0.16  $\mu$ M ProRS, 0.02  $\mu$ M ValRS)에, 1  $\mu$ M 주형 mRNA(서열 번호: 149(mR-16), 서열 번호: 150(mR-17), 서열 번호: 151(mR-18)), 각각의 주형 mRNA에 코딩되어 있는 천연 아미노산군을 각각 0.25mM씩, initiator 아미노아실화 tRNA(화합물 AAtR-25)를 10  $\mu$ M, 아미노아실화 tRNA 혼합액(화합물 AAtR-16, 화합물 AAtR-17, 화합물 AAtR-18의 혼합액, 혹은 화합물 AAtR-38, 화합물 AAtR-39, 화합물 AAtR-40의 혼합액)을 30  $\mu$ M이 되도록 번역 반응 혼합물에 첨가하고, 37°C에서 1시간 정치함으로써 행했다.
- [1353] 그 외의 서열(서열 번호: 152(mR-19), 서열 번호: 153(mR-20), 서열 번호: 154(mR-21))에 관해서도 무세포 번역을 행했다.
- [1354] 구체적으로는, 번역액(1mM GTP, 1mM ATP, 20mM 크레아틴 인산, 50mM HEPES-KOH pH7.6, 100mM 아세트산 칼륨, 10mM 아세트산 마그네슘, 2mM 스페르미딘, 1mM 다이싸이오트레이톨, 1.5mg/ml E. coli MRE600(RNase 네거티브) 유래 tRNA(Roche사), 0.26  $\mu$ M EF-G, 0.24  $\mu$ M RF2, 0.17  $\mu$ M RF3, 0.5  $\mu$ M RRF, 4  $\mu$ g/ml 크레아틴 키나제, 3  $\mu$ g/ml 미오키나제, 2unit/ml 무기 피로포스파타제, 1.1  $\mu$ g/ml 뉴클레오티드 2인산 키나제, 2.7  $\mu$ M IF1, 0.4  $\mu$ M IF2, 1.5  $\mu$ M IF3, 40  $\mu$ M EF-Tu, 35  $\mu$ M EF-Ts, 1  $\mu$ M EF-P-Lys, 0.4unit/l RNasein Ribonuclease inhibitor(Promega사, N2111), 1.2  $\mu$ M 리보솜, 0.5mM PGA, 0.09  $\mu$ M GlyRS, 0.4  $\mu$ M IleRS, 0.68  $\mu$ M PheRS, 0.16  $\mu$ M ProRS, 0.09  $\mu$ M ThrRS)에, 1  $\mu$ M 주형 mRNA(서열 번호: 152(mR-19), 서열 번호: 153(mR-20), 혹은 서열 번호: 154(mR-21)), 각각의 주형 mRNA에 코딩되어 있는 천연 아미노산군을 각각 0.25mM씩, initiator 아미노아

실화 tRNA(화합물 AAtR-25)를 10 μM, 아미노아실화 tRNA 혼합액(화합물 AAtR-19, 화합물 AAtR-20, 화합물 AAtR-21의 혼합액 혹은 화합물 AAtR-41, 화합물 AAtR-42, 화합물 AAtR-43의 혼합액)을 30 μM이 되도록 번역 반응 혼합물에 첨가하고, 37°C에서 1시간 정치함으로써 행했다.

[1355] 그 외의 서열(서열 번호: 155(mR-22), 서열 번호: 156(mR-23), 서열 번호: 157(mR-24))에 관해서도 무세포 번역을 행했다.

[1356] 구체적으로는, 번역액(1mM GTP, 1mM ATP, 20mM 크레아틴 인산, 50mM HEPES-KOH pH7.6, 100mM 아세트산 칼륨, 10mM 아세트산 마그네슘, 2mM 스페르미딘, 1mM 다이싸이오트레이톨, 1.5mg/ml E. coli MRE600(RNase 네거티브) 유래 tRNA(Roche사), 0.26 μM EF-G, 0.25 μM RF1, 4 μg/ml 크레아틴 키나제, 3 μg/ml 미오키나제, 2unit/ml 무기 피로포스파타제, 1.1 μg/ml 뉴클레오티드 2인산 키나제, 2.7 μM IF1, 0.4 μM IF2, 1.5 μM IF3, 40 μM EF-Tu, 34.6 μM EF-Ts, 0.4unit/l RNasein Ribonuclease inhibitor(Promega사, N2111), 1.2 μM 리보솜, 0.5mM PGA, 0.09 μM GlyRS, 0.4 μM IleRS, 0.68 μM PheRS, 0.16 μM ProRS, 0.09 μM ThrRS)에, 1 μM 주형 mRNA(서열 번호: 155(mR-22), 서열 번호: 156(mR-23), 혹은 서열 번호: 157(mR-24)), 각각의 주형 mRNA에 코딩되어 있는 천연 아미노산군을 각각 0.25mM씩, initiator 아미노아실화 tRNA(화합물 AAtR-25)를 10 μM, 아미노아실화 tRNA 혼합액(화합물 AAtR-22, 화합물 AAtR-23, 화합물 AAtR-24의 혼합액 혹은 화합물 AAtR-44, 화합물 AAtR-45, 화합물 AAtR-46의 혼합액)을 30 μM이 되도록 번역 반응 혼합물에 첨가하고, 37°C에서 1시간 정치함으로써 행했다.

[1357] 그 외의 서열(서열 번호: 158(mR-25), 서열 번호: 141(mR-8), 서열 번호: 142(mR-9))에 관해서도 무세포 번역을 행했다.

[1358] 구체적으로는, 번역액(1mM GTP, 1mM ATP, 20mM 크레아틴 인산, 50mM HEPES-KOH pH7.6, 100mM 아세트산 칼륨, 10mM 아세트산 마그네슘, 2mM 스페르미딘, 1mM 다이싸이오트레이톨, 3 μM Ala1BtRNA 1.5mg/ml E. coli MRE600(RNase 네거티브) 유래 tRNA(Roche사), 0.26 μM EF-G, 0.24 μM RF2, 0.17 μM RF3, 0.5 μM RRF, 4 μg/ml 크레아틴 키나제, 3 μg/ml 미오키나제, 2unit/ml 무기 피로포스파타제, 1.1 μg/ml 뉴클레오티드 2인산 키나제, 2.7 μM IF1, 0.4 μM IF2, 1.5 μM IF3, 40 μM EF-Tu, 35 μM EF-Ts, 1 μM EF-P-Lys, 0.4unit/l RNasein Ribonuclease inhibitor(Promega사, N2111), 1.2 μM 리보솜, 0.5mM PGA, 0.09 μM GlyRS, 0.4 μM IleRS, 0.68 μM PheRS, 0.16 μM ProRS, 0.09 μM ThrRS)에, 1 μM 주형 mRNA(서열 번호: 158(mR-25), 서열 번호: 141(mR-8), 혹은 서열 번호: 142(mR-9)), 각각의 주형 mRNA에 코딩되어 있는 천연 아미노산군을 각각 0.25mM씩, initiator 아미노아실화 tRNA(화합물 AAtR-25)를 10 μM, 아미노아실화 tRNA 혼합액(화합물 AAtR-26, 화합물 AAtR-8, 화합물 AAtR-9의 혼합액, 화합물 AAtR-47, 화합물 AAtR-30, 화합물 AAtR-31의 혼합액, 화합물 AAtR-66, 화합물 AAtR-67, 화합물 AAtR-68의 혼합액, 화합물 AAtR-69, 화합물 AAtR-70, 화합물 AAtR-71의 혼합액 혹은 화합물 AAtR-78, 화합물 AAtR-79, 화합물 AAtR-80의 혼합액)을 30 μM이 되도록 번역 반응 혼합물에 첨가하고, 37°C에서 1시간 정치함으로써 행했다.

[1359] 그 외의 서열(서열 번호: 159(mR-26), 서열 번호: 144(mR-11), 서열 번호: 145(mR-12))에 관해서도 무세포 번역을 행했다.

[1360] 구체적으로는, 번역액(1mM GTP, 1mM ATP, 20mM 크레아틴 인산, 50mM HEPES-KOH pH7.6, 100mM 아세트산 칼륨, 10mM 아세트산 마그네슘, 2mM 스페르미딘, 1mM 다이싸이오트레이톨, 3 μM Ala1BtRNA 1.5mg/ml E. coli MRE600(RNase 네거티브) 유래 tRNA(Roche사), 0.26 μM EF-G, 0.24 μM RF2, 0.17 μM RF3, 0.5 μM RRF, 4 μg/ml 크레아틴 키나제, 3 μg/ml 미오키나제, 2unit/ml 무기 피로포스파타제, 1.1 μg/ml 뉴클레오티드 2인산 키나제, 2.7 μM IF1, 0.4 μM IF2, 1.5 μM IF3, 40 μM EF-Tu, 35 μM EF-Ts, 1 μM EF-P-Lys, 0.4unit/l RNasein Ribonuclease inhibitor(Promega사, N2111), 1.2 μM 리보솜, 0.5mM PGA, 0.09 μM GlyRS, 0.4 μM IleRS, 0.68 μM PheRS, 0.16 μM ProRS, 0.09 μM ThrRS)에, 1 μM 주형 mRNA(서열 번호: 159(mR-26), 서열 번호: 144(mR-11), 혹은 서열 번호: 145(mR-12)), 각각의 주형 mRNA에 코딩되어 있는 천연 아미노산군을 각각 0.25mM씩, initiator 아미노아실화 tRNA(화합물 AAtR-25)를 10 μM, 아미노아실화 tRNA 혼합액(화합물 AAtR-27, 화합물 AAtR-11, 화합물 AAtR-12의 혼합액, 혹은 화합물 AAtR-48, 화합물 AAtR-33, 화합물 AAtR-34의 혼합액)을 30 μM이 되도록 번역 반응 혼합물에 첨가하고, 37°C에서 1시간 정치함으로써 행했다.

[1361] 그 외의 서열(서열 번호: 162(mR-29), 서열 번호: 153(mR-20), 서열 번호: 154(mR-21))에 관해서도 무세포 번역을 행했다.

[1362] 구체적으로는, 번역액(1mM GTP, 1mM ATP, 20mM 크레아틴 인산, 50mM HEPES-KOH pH7.6, 100mM 아세트산 칼륨, 10mM 아세트산 마그네슘, 2mM 스페르미딘, 1mM 다이싸이오트레이톨, 3 μM Ala1BtRNA 1.5mg/ml E. coli

MRE600(RNase 네거티브) 유래 tRNA(Roche사), 0.26  $\mu$ M EF-G, 0.24  $\mu$ M RF2, 0.17  $\mu$ M RF3, 0.5  $\mu$ M RRF, 4  $\mu$ g/ml 크레아틴 키나제, 3  $\mu$ g/ml 미오키나제, 2unit/ml 무기 피로포스파타제, 1.1  $\mu$ g/ml 뉴클레오티드 2인산 키나제, 2.7  $\mu$ M IF1, 0.4  $\mu$ M IF2, 1.5  $\mu$ M IF3, 40  $\mu$ M EF-Tu, 35  $\mu$ M EF-Ts, 1  $\mu$ M EF-P-Lys, 0.4unit/l RNasein Ribonuclease inhibitor(Promega사, N2111), 1.2  $\mu$ M 리보솜, 0.5mM PGA, 0.09  $\mu$ M GlyRS, 0.4  $\mu$ M IleRS, 0.68  $\mu$ M PheRS, 0.16  $\mu$ M ProRS, 0.09  $\mu$ M ThrRS)에, 1  $\mu$ M 주형 mRNA(서열 번호: 162(mR-29), 서열 번호: 153(mR-20), 혹은 서열 번호: 154(mR-21)), 각각의 주형 mRNA에 코딩되어 있는 천연 아미노산군을 각각 0.25mM씩, initiator 아미노아실화 tRNA(화합물 AAtR-25)를 10  $\mu$ M, 아미노아실화 tRNA 혼합액(화합물 AAtR-28, 화합물 AAtR-20, 화합물 AAtR-21의 혼합액, 혹은 화합물 AAtR-51, 화합물 AAtR-42, 화합물 AAtR-43의 혼합액)을 30  $\mu$ M 이 되도록 번역 반응 혼합물에 첨가하고, 37°C에서 1시간 정치함으로써 행했다.

[1363] 그 외의 서열(서열 번호: 146(mR-13), 서열 번호: 147(mR-14), 서열 번호: 148(mR-15))에 관해서도 무세포 번역을 행했다.

[1364] 구체적으로는, 번역액(1mM GTP, 1mM ATP, 20mM 크레아틴 인산, 50mM HEPES-KOH pH7.6, 100mM 아세트산 칼륨, 10mM 아세트산 마그네슘, 2mM 스페르미딘, 1mM 다이싸이오트레이톨, 1.5mg/ml E. coli MRE600(RNase 네거티브) 유래 tRNA(Roche사), 0.26  $\mu$ M EF-G, 0.24  $\mu$ M RF2, 0.17  $\mu$ M RF3, 0.5  $\mu$ M RRF, 4  $\mu$ g/ml 크레아틴 키나제, 3  $\mu$ g/ml 미오키나제, 2unit/ml 무기 피로포스파타제, 1.1  $\mu$ g/ml 뉴클레오티드 2인산 키나제, 2.7  $\mu$ M IF1, 0.4  $\mu$ M IF2, 1.5  $\mu$ M IF3, 40  $\mu$ M EF-Tu, 54  $\mu$ M EF-Ts, 1  $\mu$ M EF-P-Lys, 0.4unit/l RNasein Ribonuclease inhibitor(Promega사, N2111), 1.2  $\mu$ M 리보솜, 0.5mM PGA, 0.09  $\mu$ M GlyRS, 0.4  $\mu$ M IleRS, 0.68  $\mu$ M PheRS, 0.16  $\mu$ M ProRS, 0.09  $\mu$ M ThrRS)에, 1  $\mu$ M 주형 mRNA(서열 번호: 146(mR-13), 서열 번호: 147(mR-14), 혹은 서열 번호: 148(mR-15)), 각각의 주형 mRNA에 코딩되어 있는 천연 아미노산군을 각각 0.25mM씩, initiator 아미노아실화 tRNA(화합물 AAtR-25)를 10  $\mu$ M, 아미노아실화 tRNA 혼합액(화합물 AAtR-35, 화합물 AAtR-36, 화합물 AAtR-37의 혼합액)을 30  $\mu$ M이 되도록 번역 반응 혼합물에 첨가하고, 37°C에서 1시간 정치함으로써 행했다.

[1365] 그 외의 서열(서열 번호: 152(mR-19), 서열 번호: 153(mR-20), 서열 번호: 154(mR-21))에 관해서도 무세포 번역을 행했다.

[1366] 구체적으로는, 번역액(1mM GTP, 1mM ATP, 20mM 크레아틴 인산, 50mM HEPES-KOH pH7.6, 100mM 아세트산 칼륨, 10mM 아세트산 마그네슘, 2mM 스페르미딘, 1mM 다이싸이오트레이톨, 1.5mg/ml E. coli MRE600(RNase 네거티브) 유래 tRNA(Roche사), 0.26  $\mu$ M EF-G, 0.24  $\mu$ M RF2, 0.17  $\mu$ M RF3, 0.5  $\mu$ M RRF, 4  $\mu$ g/ml 크레아틴 키나제, 3  $\mu$ g/ml 미오키나제, 2unit/ml 무기 피로포스파타제, 1.1  $\mu$ g/ml 뉴클레오티드 2인산 키나제, 2.7  $\mu$ M IF1, 0.4  $\mu$ M IF2, 1.5  $\mu$ M IF3, 40  $\mu$ M EF-Tu, 54  $\mu$ M EF-Ts, 1  $\mu$ M EF-P-Lys, 0.4unit/l RNasein Ribonuclease inhibitor(Promega사, N2111), 1.2  $\mu$ M 리보솜, 0.5mM PGA, 0.09  $\mu$ M GlyRS, 0.4  $\mu$ M IleRS, 0.68  $\mu$ M PheRS, 0.16  $\mu$ M ProRS, 0.09  $\mu$ M ThrRS)에, 1  $\mu$ M 주형 mRNA(서열 번호: 152(mR-19), 서열 번호: 153(mR-20), 혹은 서열 번호: 154(mR-21)), 각각의 주형 mRNA에 코딩되어 있는 천연 아미노산군을 각각 0.25mM씩, initiator 아미노아실화 tRNA(화합물 AAtR-25)를 10  $\mu$ M, 아미노아실화 tRNA 혼합액(화합물 AAtR-41, 화합물 AAtR-42, 화합물 AAtR-43의 혼합액)을 30  $\mu$ M이 되도록 번역 반응 혼합물에 첨가하고, 37°C에서 1시간 정치함으로써 행했다.

[1367] 그 외의 서열(서열 번호: 155(mR-22), 서열 번호: 156(mR-23), 서열 번호: 157(mR-24))에 관해서도 무세포 번역을 행했다.

[1368] 구체적으로는, 번역액(1mM GTP, 1mM ATP, 20mM 크레아틴 인산, 50mM HEPES-KOH pH7.6, 100mM 아세트산 칼륨, 10mM 아세트산 마그네슘, 2mM 스페르미딘, 1mM 다이싸이오트레이톨, 1.5mg/ml E. coli MRE600(RNase 네거티브) 유래 tRNA(Roche사), 0.26  $\mu$ M EF-G, 0.25  $\mu$ M RF1, 4  $\mu$ g/ml 크레아틴 키나제, 3  $\mu$ g/ml 미오키나제, 2unit/ml 무기 피로포스파타제, 1.1  $\mu$ g/ml 뉴클레오티드 2인산 키나제, 2.7  $\mu$ M IF1, 0.4  $\mu$ M IF2, 1.5  $\mu$ M IF3, 40  $\mu$ M EF-Tu, 34.6  $\mu$ M EF-Ts, 0.4unit/l RNasein Ribonuclease inhibitor(Promega사, N2111), 1.2  $\mu$ M 리보솜, 0.5mM PGA, 0.09  $\mu$ M GlyRS, 0.4  $\mu$ M IleRS, 0.68  $\mu$ M PheRS, 0.16  $\mu$ M ProRS, 0.09  $\mu$ M ThrRS)에, 1  $\mu$ M 주형 mRNA(서열 번호: 155(mR-22), 서열 번호: 156(mR-23), 혹은 서열 번호: 157(mR-24)), 각각의 주형 mRNA에 코딩되어 있는 천연 아미노산군을 각각 0.25mM씩, initiator 아미노아실화 tRNA(화합물 AAtR-25)를 10  $\mu$ M, 아미노아실화 tRNA 혼합액(화합물 AAtR-44, 화합물 AAtR-45, 화합물 AAtR-46의 혼합액)을 30  $\mu$ M이 되도록 번역 반응 혼합물에 첨가하고, 37°C에서 1시간 정치함으로써 행했다.

[1369] 그 외의 서열(서열 번호: 160(mR-27), 서열 번호: 147(mR-14), 서열 번호: 148(mR-15))에 관해서도 무세포 번역을 행했다.

- [1370] 구체적으로는, 번역액(1mM GTP, 1mM ATP, 20mM 크레아틴 인산, 50mM HEPES-KOH pH7.6, 100mM 아세트산 칼륨, 10mM 아세트산 마그네슘, 2mM 스페르미딘, 1mM 다이싸이오트레이톨, 3 $\mu$ M Ala1BtRNA 1.5mg/ml E. coli MRE600(RNase 네거티브) 유래 tRNA(Roche사), 0.26 $\mu$ M EF-G, 0.24 $\mu$ M RF2, 0.17 $\mu$ M RF3, 0.5 $\mu$ M RRF, 4 $\mu$ g/ml 크레아틴 키나제, 3 $\mu$ g/ml 미오키나제, 2unit/ml 무기 피로포스파타제, 1.1 $\mu$ g/ml 뉴클레오티드 2인산 키나제, 2.7 $\mu$ M IF1, 0.4 $\mu$ M IF2, 1.5 $\mu$ M IF3, 40 $\mu$ M EF-Tu, 35 $\mu$ M EF-Ts, 1 $\mu$ M EF-P-Lys, 0.4unit/l RNasein Ribonuclease inhibitor(Promega사, N2111), 1.2 $\mu$ M 리보솜, 0.5mM PGA, 0.09 $\mu$ M GlyRS, 0.4 $\mu$ M IleRS, 0.68 $\mu$ M PheRS, 0.16 $\mu$ M ProRS, 0.09 $\mu$ M ThrRS)에, 1 $\mu$ M 주형 mRNA(서열 번호: 160(mR-27), 서열 번호: 147(mR-14), 혹은 서열 번호: 148(mR-15)), 각각의 주형 mRNA에 코딩되어 있는 천연 아미노산군을 각각 0.25mM씩, initiator 아미노아실화 tRNA(화합물 AAtR-25)를 10 $\mu$ M, 아미노아실화 tRNA 혼합액(화합물 AAtR-49, 화합물 AAtR-36, 화합물 AAtR-37의 혼합액)을 30 $\mu$ M이 되도록 번역 반응 혼합물에 첨가하고, 37°C에서 1시간 정치함으로써 행했다.
- [1371] 그 외의 서열(서열 번호: 161(mR-28), 서열 번호: 150(mR-17), 서열 번호: 151(mR-18))에 관해서도 무세포 번역을 행했다.
- [1372] 구체적으로는, 번역액(1mM GTP, 1mM ATP, 20mM 크레아틴 인산, 50mM HEPES-KOH pH7.6, 100mM 아세트산 칼륨, 10mM 아세트산 마그네슘, 2mM 스페르미딘, 1mM 다이싸이오트레이톨, 1.5mg/ml E. coli MRE600(RNase 네거티브) 유래 tRNA(Roche사), 0.26 $\mu$ M EF-G, 0.24 $\mu$ M RF2, 0.17 $\mu$ M RF3, 0.5 $\mu$ M RRF, 4 $\mu$ g/ml 크레아틴 키나제, 3 $\mu$ g/ml 미오키나제, 2unit/ml 무기 피로포스파타제, 1.1 $\mu$ g/ml 뉴클레오티드 2인산 키나제, 2.7 $\mu$ M IF1, 0.4 $\mu$ M IF2, 1.5 $\mu$ M IF3, 40 $\mu$ M EF-Tu, 35 $\mu$ M EF-Ts, 1 $\mu$ M EF-P-Lys, 0.4unit/l RNasein Ribonuclease inhibitor(Promega사, N2111), 1.2 $\mu$ M 리보솜, 0.5mM PGA, 0.09 $\mu$ M GlyRS, 0.4 $\mu$ M IleRS, 0.68 $\mu$ M PheRS, 0.16 $\mu$ M ProRS, 0.02 $\mu$ M ValRS)에, 1 $\mu$ M 주형 mRNA(서열 번호: 161(mR-28), 서열 번호: 150(mR-17), 서열 번호: 151(mR-18)), 각각의 주형 mRNA에 코딩되어 있는 천연 아미노산군을 각각 0.25mM씩, initiator 아미노아실화 tRNA(화합물 AAtR-25)를 10 $\mu$ M, 아미노아실화 tRNA 혼합액(화합물 AAtR-50, 화합물 AAtR-39, 화합물 AAtR-40의 혼합액)을 30 $\mu$ M이 되도록 번역 반응 혼합물에 첨가하고, 37°C에서 1시간 정치함으로써 행했다.
- [1373] 그 외의 서열(서열 번호: 219(mR-42), 서열 번호: 220(mR-43), 서열 번호: 221(mR-44))에 관해서도 무세포 번역을 행했다.
- [1374] 구체적으로는, 번역액(1mM GTP, 1mM ATP, 20mM 크레아틴 인산, 50mM HEPES-KOH pH7.6, 100mM 아세트산 칼륨, 10mM 아세트산 마그네슘, 2mM 스페르미딘, 1mM 다이싸이오트레이톨, 3 $\mu$ M Ala1BtRNA 1.5mg/ml E. coli MRE600(RNase 네거티브) 유래 tRNA(Roche사), 0.26 $\mu$ M EF-G, 0.24 $\mu$ M RF2, 0.17 $\mu$ M RF3, 0.5 $\mu$ M RRF, 4 $\mu$ g/ml 크레아틴 키나제, 3 $\mu$ g/ml 미오키나제, 2unit/ml 무기 피로포스파타제, 1.1 $\mu$ g/ml 뉴클레오티드 2인산 키나제, 2.7 $\mu$ M IF1, 0.4 $\mu$ M IF2, 1.5 $\mu$ M IF3, 40 $\mu$ M EF-Tu, 49 $\mu$ M EF-Ts, 1 $\mu$ M EF-P-Lys, 0.4unit/l RNasein Ribonuclease inhibitor(Promega사, N2111), 1.2 $\mu$ M 리보솜, 0.5mM PGA, 0.09 $\mu$ M GlyRS, 0.4 $\mu$ M IleRS, 0.68 $\mu$ M PheRS, 0.16 $\mu$ M ProRS, 0.09 $\mu$ M ThrRS)에, 1 $\mu$ M 주형 mRNA(서열 번호: 219(mR-42), 서열 번호: 220(mR-43), 혹은 서열 번호: 221(mR-44)), 각각의 주형 mRNA에 코딩되어 있는 천연 아미노산군을 각각 0.25mM씩, initiator 아미노아실화 tRNA(화합물 AAtR-25)를 10 $\mu$ M, 아미노아실화 tRNA 혼합액(화합물 AAtR-57, 화합물 AAtR-59의 혼합액)을 20 $\mu$ M, 아미노아실화 tRNA(화합물 AAtR-58)를 20 $\mu$ M이 되도록 번역 반응 혼합물에 첨가하고, 37°C에서 1시간 정치함으로써 행했다.
- [1375] 다음에, 아미노아실화 tRNA의 농도에 의존하여 코돈 박스 내의 판독 효율에 차이가 생기는지 검증하기 위해, XXA의 안티코돈을 갖는 아미노아실 tRNA만이 번역계 중에 존재하는 상황에서, 코돈 박스 내의 XXA 코돈 이외의 코돈에 있어서의 크로스리드의 비율을 번역량으로 확인했다. 구체적으로는, 동일 코돈 박스 내의 4종류의 코돈 중 어느 1개를 포함하고, 그 이외는 동일 서열의 주형 mRNA(주형 mRNA 서열 번호: 163(mR-30)~서열 번호: 174(mR-41))를, XXA 코돈의 안티코돈을 갖는 아미노아실화 tRNA(화합물 AAtR-52, 혹은 화합물 AAtR-53, 혹은 화합물 AAtR-54, 혹은 화합물 AAtR-55, 혹은 화합물 AAtR-56)를, 상이한 농도 조건에서 가하여, 펩티드 화합물을 번역 합성했다.
- [1376] 아미노아실 tRNA의 농도 의존적으로 코돈 박스 내의 판독 비율이 변화됨이 나타났다. 또한 이 현상은, tRNA의 body 서열이나, 차지(charge)하는 아미노산에 의하지 않음도 나타났다.
- [1377] 번역계는, 원핵생물 유래의 재구성 무세포 단백질 합성계인 PURE system을 이용했다. 구체적으로는, 번역액(1mM GTP, 1mM ATP, 20mM 크레아틴 인산, 50mM HEPES-KOH pH7.6, 100mM 아세트산 칼륨, 10mM 아세트산 마그네슘, 2mM 스페르미딘, 1mM 다이싸이오트레이톨, 3 $\mu$ M Ala1BtRNA 1.5mg/ml E. coli MRE600(RNase 네거티브) 유래

tRNA(Roche사), 0.26  $\mu$ M EF-G, 0.24  $\mu$ M RF2, 0.17  $\mu$ M RF3, 0.5  $\mu$ M RRF, 4  $\mu$ g/ml 크레아틴 키나제, 3  $\mu$ g/ml 미오키나제, 2unit/ml 무기 피로포스파타제, 1.1  $\mu$ g/ml 뉴클레오티드 2인산 키나제, 2.7  $\mu$ M IF1, 0.4  $\mu$ M IF2, 1.5  $\mu$ M IF3, 40  $\mu$ M EF-Tu, 35  $\mu$ M EF-Ts, 1  $\mu$ M EF-P-Lys, 0.4unit/l RNasein Ribonuclease inhibitor(Promega사, N2111), 1.2  $\mu$ M 리보솜, 0.5mM PGA, 0.09  $\mu$ M GlyRS, 0.4  $\mu$ M IleRS, 0.68  $\mu$ M PheRS, 0.16  $\mu$ M ProRS, 0.09  $\mu$ M ThrRS)에, 1  $\mu$ M 주형 mRNA(서열 번호: 163(mR-30), 서열 번호: 164(mR-31), 서열 번호: 165(mR-32), 서열 번호: 166(mR-33)), 각각의 주형 mRNA에 코딩되어 있는 천연 아미노산균을 각각 0.25mM씩, initiator 아미노아실화 tRNA(화합물 AAtR-25)를 10  $\mu$ M, 아미노아실화 tRNA(화합물 AAtR-52)를 0.8  $\mu$ M 혹은 1.6  $\mu$ M 혹은 3.2  $\mu$ M, 6.4  $\mu$ M 혹은, 12.8  $\mu$ M이 되도록 번역 반응 혼합물에 첨가하고, 37°C에서 1시간 정치함으로써 행했다.

[1378] 그 외의 코돈 박스에 대해서도 마찬가지로의 검증을 행했다.

[1379] 구체적으로는, 번역액(1mM GTP, 1mM ATP, 20mM 크레아틴 인산, 50mM HEPES-KOH pH7.6, 100mM 아세트산 칼륨, 10mM 아세트산 마그네슘, 2mM 스페르미딘, 1mM 다이싸이오트레이톨, 3  $\mu$ M Ala1BtRNA 1.5mg/ml E. coli MRE600(RNase 네거티브) 유래 tRNA(Roche사), 0.26  $\mu$ M EF-G, 0.24  $\mu$ M RF2, 0.17  $\mu$ M RF3, 0.5  $\mu$ M RRF, 4  $\mu$ g/ml 크레아틴 키나제, 3  $\mu$ g/ml 미오키나제, 2unit/ml 무기 피로포스파타제, 1.1  $\mu$ g/ml 뉴클레오티드 2인산 키나제, 2.7  $\mu$ M IF1, 0.4  $\mu$ M IF2, 1.5  $\mu$ M IF3, 40  $\mu$ M EF-Tu, 35  $\mu$ M EF-Ts, 1  $\mu$ M EF-P-Lys, 0.4unit/l RNasein Ribonuclease inhibitor(Promega사, N2111), 1.2  $\mu$ M 리보솜, 0.5mM PGA, 0.09  $\mu$ M GlyRS, 0.4  $\mu$ M IleRS, 0.68  $\mu$ M PheRS, 0.16  $\mu$ M ProRS)에, 1  $\mu$ M 주형 mRNA(서열 번호: 167(mR-34), 서열 번호: 168(mR-35), 서열 번호: 169(mR-36), 서열 번호: 170(mR-37)) 각각의 주형 mRNA에 코딩되어 있는 천연 아미노산균을 각각 0.25mM씩, initiator 아미노아실화 tRNA(화합물 AAtR-25)를 10  $\mu$ M, 아미노아실화 tRNA(화합물 AAtR-53)를 0.8  $\mu$ M 혹은 1.6  $\mu$ M 혹은 3.2  $\mu$ M, 6.4  $\mu$ M 혹은, 12.8  $\mu$ M이 되도록 번역 반응 혼합물에 첨가하고, 37°C에서 1시간 정치함으로써 행했다.

[1380] 그 외의 코돈 박스에 대해서도 마찬가지로의 검증을 행했다.

[1381] 구체적으로는, 번역액(1mM GTP, 1mM ATP, 20mM 크레아틴 인산, 50mM HEPES-KOH pH7.6, 100mM 아세트산 칼륨, 10mM 아세트산 마그네슘, 2mM 스페르미딘, 1mM 다이싸이오트레이톨, 3  $\mu$ M Ala1BtRNA 1.5mg/ml E. coli MRE600(RNase 네거티브) 유래 tRNA(Roche사), 0.26  $\mu$ M EF-G, 0.24  $\mu$ M RF2, 0.17  $\mu$ M RF3, 0.5  $\mu$ M RRF, 4  $\mu$ g/ml 크레아틴 키나제, 3  $\mu$ g/ml 미오키나제, 2unit/ml 무기 피로포스파타제, 1.1  $\mu$ g/ml 뉴클레오티드 2인산 키나제, 2.7  $\mu$ M IF1, 0.4  $\mu$ M IF2, 1.5  $\mu$ M IF3, 40  $\mu$ M EF-Tu, 35  $\mu$ M EF-Ts, 1  $\mu$ M EF-P-Lys, 0.4unit/l RNasein Ribonuclease inhibitor(Promega사, N2111), 1.2  $\mu$ M 리보솜, 0.5mM PGA, 0.09  $\mu$ M GlyRS, 0.68  $\mu$ M LeuRS, 0.68  $\mu$ M PheRS, 0.16  $\mu$ M ProRS)에, 1  $\mu$ M 주형 mRNA(서열 번호: 171(mR-38), 서열 번호: 172(mR-39), 서열 번호: 173(mR-40), 서열 번호: 174(mR-41)), 각각의 주형 mRNA에 코딩되어 있는 천연 아미노산균을 각각 0.25mM씩, initiator 아미노아실화 tRNA(화합물 AAtR-25)를 10  $\mu$ M, 아미노아실화 tRNA(화합물 AAtR-54, 혹은 화합물 AAtR-55, 혹은 화합물 AAtR-56)를 0.8  $\mu$ M 혹은 1.6  $\mu$ M 혹은 3.2  $\mu$ M, 6.4  $\mu$ M 혹은, 12.8  $\mu$ M이 되도록 번역 반응 혼합물에 첨가하고, 37°C에서 1시간 정치함으로써 행했다.

[1382] 주형 mRNA라고 기대되는 번역 펩티드 화합물, 그 분자량에 관해서는, 이하의 표 4에 기재했다.

표 4

아미노아실화 tRNA	주형mRNA서열	기대되는 번역 펩티드 화합물	m/z [M-H]	R. T. (method1)
화합물 AA t R-1	m R-1	BdpFL-Phe-TF11GF-nBuG-11PIG	1723.8	3.0
화합물 AA t R-2	m R-2	BdpFL-Phe-TF11GF-Pic2-11PIG	1721.8	3.0
화합물 AA t R-3	m R-3	BdpFL-Phe-TF11GF-dA-11PIG	1681.8	2.8
화합물 AA t R-4	m R-4	BdpFL-Phe-TF11GF-nBuG-11PIG	1723.8	3.0
화합물 AA t R-5	m R-5	BdpFL-Phe-TF11GF-Pic2-11PIG	1721.8	3.0
화합물 AA t R-6	m R-6	BdpFL-Phe-TF11GF-dA-11PIG	1681.8	2.8
화합물 AA t R-7	m R-7	BdpFL-Phe-TF11GF-nBuG-11PIG	1722.8	3.0
화합물 AA t R-8	m R-8	BdpFL-Phe-TF11GF-Pic2-11PIG	1720.8	3.0
화합물 AA t R-9	m R-9	BdpFL-Phe-TF11GF-dA-11PIG	1680.7	2.8
화합물 AA t R-10	m R-10	BdpFL-Phe-TF11GF-nBuG-11PIG	1722.8	3.0
화합물 AA t R-11	m R-11	BdpFL-Phe-TF11GF-Pic2-11PIG	1720.8	3.0
화합물 AA t R-12	m R-12	BdpFL-Phe-TF11GF-dA-11PIG	1681.8	2.8
화합물 AA t R-13	m R-13	BdpFL-Phe-TF11GF-nBuG-11PIG	1724.0	3.0
화합물 AA t R-14	m R-14	BdpFL-Phe-TF11GF-Pic2-11PIG	1721.0	3.0
화합물 AA t R-15	m R-15	BdpFL-Phe-TF11GF-dA-11PIG	1680.9	2.8
화합물 AA t R-16	m R-16	BdpFL-Phe-TV11GV-nBuG-11PIG	1626.8	2.8
화합물 AA t R-17	m R-17	BdpFL-Phe-TV11GV-Pic2-11PIG	1624.7	2.7
화합물 AA t R-18	m R-18	BdpFL-Phe-TV11GV-dA-11PIG	1584.7	2.6
화합물 AA t R-19	m R-19	BdpFL-Phe-TF11GF-nBuG-11PIG	1722.8	3.0
화합물 AA t R-20	m R-20	BdpFL-Phe-TF11GF-Pic2-11PIG	1720.8	3.0
화합물 AA t R-21	m R-21	BdpFL-Phe-TF11GF-dA-11PIG	1680.8	2.9
화합물 AA t R-22	m R-22	BdpFL-Phe-TF11GF-nBuG-11PIG	1723.7	3.0
화합물 AA t R-23	m R-23	BdpFL-Phe-TF11GF-Pic2-11PIG	1720.7	3.0
화합물 AA t R-24	m R-24	BdpFL-Phe-TF11GF-dA-11PIG	1680.7	2.8
화합물 AA t R-26	m R-25	BdpFL-Phe-TF11GF-nBuG-11PIG	1724.0	3.0
화합물 AA t R-27	m R-26	BdpFL-Phe-TF11GF-nBuG-11PIG	1723.0	3.0
화합물 AA t R-28	m R-29	BdpFL-Phe-TF11GF-nBuG-11PIG	1723.0	3.0
화합물 AA t R-29	m R-7	BdpFL-Phe-TF11GF-MeA3Pr-11PIG	1772.7	2.6
화합물 AA t R-30	m R-8	BdpFL-Phe-TF11GF-StBuOH-11PIG	1768.7	2.9
화합물 AA t R-31	m R-9	BdpFL-Phe-TF11GF-MeSnPr-11PIG	1753.7	3.1
화합물 AA t R-32	m R-10	BdpFL-Phe-TF11GF-MeA3Pr-11PIG	1771.7	2.6
화합물 AA t R-33	m R-11	BdpFL-Phe-TF11GF-StBuOH-11PIG	1769.7	2.9
화합물 AA t R-34	m R-12	BdpFL-Phe-TF11GF-MeSnPr-11PIG	1752.7	3.1
화합물 AA t R-35	m R-13	BdpFL-Phe-TF11GF-MeA3Pr-11PIG	1772.7	2.6
화합물 AA t R-36	m R-14	BdpFL-Phe-TF11GF-StBuOH-11PIG	1769.7	2.9
화합물 AA t R-37	m R-15	BdpFL-Phe-TF11GF-MeSnPr-11PIG	1752.7	3.1
화합물 AA t R-38	m R-16	BdpFL-Phe-TV11GV-MeA3Pr-11PIG	1675.7	2.4
화합물 AA t R-39	m R-17	BdpFL-Phe-TV11GV-StBuOH-11PIG	1673.8	2.7
화합물 AA t R-40	m R-18	BdpFL-Phe-TV11GV-MeSnPr-11PIG	1656.8	2.9
화합물 AA t R-41	m R-19	BdpFL-Phe-TF11GF-MeA3Pr-11PIG	1771.7	2.6
화합물 AA t R-42	m R-20	BdpFL-Phe-TF11GF-StBuOH-11PIG	1768.7	2.9
화합물 AA t R-43	m R-21	BdpFL-Phe-TF11GF-MeSnPr-11PIG	1752.7	3.1
화합물 AA t R-44	m R-22	BdpFL-Phe-TF11GF-MeA3Pr-11PIG	1773.0	2.6

[1383]

화합물 AA t R-45	mR-23	BdpFL-Phe-TF11GF-StBuOH-IIP1G	1770.0	2.9
화합물 AA t R-46	mR-24	BdpFL-Phe-TF11GF-MeSnPr-IIP1G	1754.0	3.1
화합물 AA t R-47	mR-25	BdpFL-Phe-TF11GF-MeA3Pr-IIP1G	1773.1	2.6
화합물 AA t R-48	mR-26	BdpFL-Phe-TF11GF-MeA3Pr-IIP1G	1773.0	2.6
화합물 AA t R-49	mR-27	BdpFL-Phe-TF11GF-MeA3Pr-IIP1G	1773.0	2.6
화합물 AA t R-50	mR-28	BdpFL-Phe-TV11GV-MeA3Pr-IIP1G	1676.0	2.4
화합물 AA t R-51	mR-29	BdpFL-Phe-TF11GF-MeA3Pr-IIP1G	1773.0	2.6
화합물 AA t R-52	mR-32	BdpFL-Phe-TF11GF-MeHph-IIP1G	1786.0	3.1
화합물 AA t R-53	mR-36	BdpFL-Phe-PF11GF-MeHph-IIP1G	1782.0	3.2
화합물 AA t R-54	mR-40	BdpFL-Phe-TFLLGF-MeHph-LLPLG	17860.0	3.3
화합물 AA t R-55	mR-40	BdpFL-Phe-TFLLGF-MeHph-LLPLG	1786.0	3.3
화합물 AA t R-56	mR-40	BdpFL-Phe-TFLLGF-Ile-LLPLG	1724.0	3.4
화합물 AA t R-57	mR-42	BdpFL-Phe-TF11GF-nBuG-IIP1G	1724.0	3.1
화합물 AA t R-58	mR-43	BdpFL-Phe-TF11GF-SPh2Cl-IIP1G	1807.9	3.2
화합물 AA t R-59	mR-44	BdpFL-Phe-TF11GF-dA-IIP1G	1680.9	2.9
화합물 AA t R-60	mR-7	BdpFL-Phe-TF11GF-nBuG-IIP1G	1723.96	3.0
화합물 AA t R-61	mR-8	BdpFL-Phe-TF11GF-Pic2-IIP1G	1720.95	3.0
화합물 AA t R-62	mR-9	BdpFL-Phe-TF11GF-dA-IIP1G	1680.91	2.9
화합물 AA t R-63	mR-7	BdpFL-Phe-TF11GF-nBuG-IIP1G	1723.95	3.0
화합물 AA t R-64	mR-8	BdpFL-Phe-TF11GF-Pic2-IIP1G	1721.94	3.0
화합물 AA t R-65	mR-9	BdpFL-Phe-TF11GF-dA-IIP1G	1680.91	2.8
화합물 AA t R-66	mR-25	BdpFL-Phe-TF11GF-nBuG-IIP1G	1723.95	3.0
화합물 AA t R-67	mR-8	BdpFL-Phe-TF11GF-Pic2-IIP1G	1721.94	3.0
화합물 AA t R-68	mR-9	BdpFL-Phe-TF11GF-dA-IIP1G	1681.91	2.8
화합물 AA t R-69	mR-25	BdpFL-Phe-TF11GF-nBuG-IIP1G	1723.95	3.0
화합물 AA t R-70	mR-8	BdpFL-Phe-TF11GF-Pic2-IIP1G	1721.94	3.0
화합물 AA t R-71	mR-9	BdpFL-Phe-TF11GF-dA-IIP1G	1681.91	2.8
화합물 AA t R-72	mR-13	BdpFL-Phe-TF11GF-nBuG-IIP1G	1723.95	3.0
화합물 AA t R-73	mR-14	BdpFL-Phe-TF11GF-Pic2-IIP1G	1723.95	3.0
화합물 AA t R-74	mR-15	BdpFL-Phe-TF11GF-dA-IIP1G	1680.9	2.8
화합물 AA t R-75	mR-7	BdpFL-Phe-TF11GF-MeA3Pr-IIP1G	1772.96	2.6
화합물 AA t R-76	mR-8	BdpFL-Phe-TF11GF-StBuOH-IIP1G	1769.97	2.9
화합물 AA t R-77	mR-9	BdpFL-Phe-TF11GF-MeSnPr-IIP1G	1753.98	3.1
화합물 AA t R-78	mR-25	BdpFL-Phe-TF11GF-MeA3Pr-IIP1G	1772.96	2.6
화합물 AA t R-79	mR-8	BdpFL-Phe-TF11GF-StBuOH-IIP1G	1769.96	2.9
화합물 AA t R-80	mR-9	BdpFL-Phe-TF11GF-MeSnPr-IIP1G	1753.97	3.1
화합물 AA t R-81	mR-13	BdpFL-Phe-TF11GF-MeA3Pr-IIP1G	1772.95	2.6
화합물 AA t R-82	mR-14	BdpFL-Phe-TF11GF-StBuOH-IIP1G	1769.97	2.9
화합물 AA t R-83	mR-15	BdpFL-Phe-TF11GF-MeSnPr-IIP1G	1753.97	3.1

[1384]

[1385]

주형 DNA(서열 번호: 175(D-35)~서열 번호: 215(D-75) 및 서열 번호: 216(D-79)~서열 번호: 218(D-81))으로부터, RiboMAX Large Scale RNA production System T7(Promega사, P1300)를 이용한 in vitro 전사 반응에 의해 주형 mRNA(서열 번호: 134(mR-1)~서열 번호: 174(mR-41), 서열 번호: 219(mR-42)~서열 번호: 221(mR-44))을 합성하고, RNeasy Mini kit(Qiagen사)에 의해 정제했다.

[1386]

주형 DNA 서열 번호: 175(D-35)

[1387]

DNA 서열:

[1388]

GCGTAATACGACTCACTATAGGGTTAACTTTAAGAAGGAGATATACATATGACTTTTATTATTGGTTTTCTATTATTCCGATTGGTTAAGCTTCG

[1389]

주형 DNA 서열 번호: 176(D-36)

[1390]

DNA 서열:

[1391]

GCGTAATACGACTCACTATAGGGTTAACTTTAAGAAGGAGATATACATATGACTTTTATTATTGGTTTTCTAATTATTCCGATTGGTTAAGCTTCG

[1392]

주형 DNA 서열 번호: 177(D-37)

[1393]

DNA 서열:

[1394]

GCGTAATACGACTCACTATAGGGTTAACTTTAAGAAGGAGATATACATATGACTTTTATTATTGGTTTTCTGATTATTCCGATTGGTTAAGCTTCG

[1395]

주형 DNA 서열 번호: 178(D-38)

[1396]

DNA 서열:

[1397]

GCGTAATACGACTCACTATAGGGTTAACTTTAAGAAGGAGATATACATATGACTTTTATTATTGGTTTTGTTATTATTCCGATTGGTTAAGCTTCG

[1398]

주형 DNA 서열 번호: 179(D-39)

- [1399] DNA 서열:
- [1400] GGCCTAATACGACTCACTATAGGGTTAACTTTAAGAAGGAGATACATATGACTTTTATTATTGGTTTTGTAATTATCCGATTGGTTAAGCTTCG
- [1401] 주형 DNA 서열 번호: 180(D-40)
- [1402] DNA 서열:
- [1403] GGCCTAATACGACTCACTATAGGGTTAACTTTAAGAAGGAGATACATATGACTTTTATTATTGGTTTTGTGATTATCCGATTGGTTAAGCTTCG
- [1404] 주형 DNA 서열 번호: 181(D-41)
- [1405] DNA 서열:
- [1406] GGCCTAATACGACTCACTATAGGGTTAACTTTAAGAAGGAGATACATATGACTTTTATTATTGGTTTTCATATTATCCGATTGGTTAAGCTTCG
- [1407] 주형 DNA 서열 번호: 182(D-42)
- [1408] DNA 서열:
- [1409] GGCCTAATACGACTCACTATAGGGTTAACTTTAAGAAGGAGATACATATGACTTTTATTATTGGTTTTCAAATTATCCGATTGGTTAAGCTTCG
- [1410] 주형 DNA 서열 번호: 183(D-43)
- [1411] DNA 서열:
- [1412] GGCCTAATACGACTCACTATAGGGTTAACTTTAAGAAGGAGATACATATGACTTTTATTATTGGTTTTCAGATTATCCGATTGGTTAAGCTTCG
- [1413] 주형 DNA 서열 번호: 184(D-44)
- [1414] DNA 서열:
- [1415] GGCCTAATACGACTCACTATAGGGTTAACTTTAAGAAGGAGATACATATGACTTTTATTATTCTATTTAATATTATCCGATTCTATAAGCTTCG
- [1416] 주형 DNA 서열 번호: 185(D-45)
- [1417] DNA 서열:
- [1418] GGCCTAATACGACTCACTATAGGGTTAACTTTAAGAAGGAGATACATATGACTTTTATTATTCTATTTAAAATTATCCGATTCTATAAGCTTCG
- [1419] 주형 DNA 서열 번호: 186(D-46)
- [1420] DNA 서열:
- [1421] GGCCTAATACGACTCACTATAGGGTTAACTTTAAGAAGGAGATACATATGACTTTTATTATTCTATTTAAGATTATCCGATTCTATAAGCTTCG
- [1422] 주형 DNA 서열 번호: 187(D-47)
- [1423] DNA 서열:
- [1424] GGCCTAATACGACTCACTATAGGGTTAACTTTAAGAAGGAGATACATATGACTTTTATTATTGGTTTTCATATTATCCGATTGGTTAAGCTTCG
- [1425] 주형 DNA 서열 번호: 188(D-48)
- [1426] DNA 서열:
- [1427] GGCCTAATACGACTCACTATAGGGTTAACTTTAAGAAGGAGATACATATGACTTTTATTATTGGTTTTCAAATTATCCGATTGGTTAAGCTTCG
- [1428] 주형 DNA 서열 번호: 189(D-49)
- [1429] DNA 서열:
- [1430] GGCCTAATACGACTCACTATAGGGTTAACTTTAAGAAGGAGATACATATGACTTTTATTATTGGTTTTCAGATTATCCGATTGGTTAAGCTTCG
- [1431] 주형 DNA 서열 번호: 190(D-50)
- [1432] DNA 서열:
- [1433] GGCCTAATACGACTCACTATAGGGTTAACTTTAAGAAGGAGATACATATGACTGTTATTATTGGTGTTTTTATTATCCGATTGGTTAAGCTTCG
- [1434] 주형 DNA 서열 번호: 191(D-51)

- [1435] DNA 서열:
- [1436] GGCCTAATACGACTCACTATAGGGTTAACTTTAAGAAGGAGATACATATGACTGTTATTATTGGTGTTTAAATTATCCGATTGGTTAAGCTTCG
- [1437] 주형 DNA 서열 번호: 192(D-52)
- [1438] DNA 서열:
- [1439] GGCCTAATACGACTCACTATAGGGTTAACTTTAAGAAGGAGATACATATGACTGTTATTATTGGTGTTTGGATTATCCGATTGGTTAAGCTTCG
- [1440] 주형 DNA 서열 번호: 193(D-53)
- [1441] DNA 서열:
- [1442] GGCCTAATACGACTCACTATAGGGTTAACTTTAAGAAGGAGATACATATGACTTTTATTATTGGTTTTAGTATTATCCGATTGGTTAAGCTTCG
- [1443] 주형 DNA 서열 번호: 194(D-54)
- [1444] DNA 서열:
- [1445] GGCCTAATACGACTCACTATAGGGTTAACTTTAAGAAGGAGATACATATGACTTTTATTATTGGTTTTAGAATTATCCGATTGGTTAAGCTTCG
- [1446] 주형 DNA 서열 번호: 195(D-55)
- [1447] DNA 서열:
- [1448] GGCCTAATACGACTCACTATAGGGTTAACTTTAAGAAGGAGATACATATGACTTTTATTATTGGTTTTAGGATTATCCGATTGGTTAAGCTTCG
- [1449] 주형 DNA 서열 번호: 196(D-56)
- [1450] DNA 서열:
- [1451] GGCCTAATACGACTCACTATAGGGTTAACTTTAAGAAGGAGATACATATGACTTTTATTATTCTATTTGCATTATCCGATTCTATAAGCTTCG
- [1452] 주형 DNA 서열 번호: 197(D-57)
- [1453] DNA 서열:
- [1454] GGCCTAATACGACTCACTATAGGGTTAACTTTAAGAAGGAGATACATATGACTTTTATTATTCTATTTGAATTATCCGATTCTATAAGCTTCG
- [1455] 주형 DNA 서열 번호: 198(D-58)
- [1456] DNA 서열:
- [1457] GGCCTAATACGACTCACTATAGGGTTAACTTTAAGAAGGAGATACATATGACTTTTATTATTCTATTTGGATTATCCGATTCTATAAGCTTC
- [1458] 주형 DNA 서열 번호: 199(D-59)
- [1459] DNA 서열:
- [1460] GGCCTAATACGACTCACTATAGGGTTAACTTTAAGAAGGAGATACATATGACTTTTATTATTGGTTTTACATTATCCGATTGGTTAAGCTTCG
- [1461] 주형 DNA 서열 번호: 200(D-60)
- [1462] DNA 서열:
- [1463] GGCCTAATACGACTCACTATAGGGTTAACTTTAAGAAGGAGATACATATGACTTTTATTATTGGTTTTAACATTATCCGATTGGTTAAGCTTCG
- [1464] 주형 DNA 서열 번호: 201(D-61)
- [1465] DNA 서열:
- [1466] GGCCTAATACGACTCACTATAGGGTTAACTTTAAGAAGGAGATACATATGACTTTTATTATTCTATTTGACATTATCCGATTCTATAAGCTTCG
- [1467] 주형 DNA 서열 번호: 202(D-62)
- [1468] DNA 서열:
- [1469] GGCCTAATACGACTCACTATAGGGTTAACTTTAAGAAGGAGATACATATGACTGTTATTATTGGTGTTTTTCATTATCCGATTGGTTAAGCTTCG
- [1470] 주형 DNA 서열 번호: 203(D-63)

- [1471] DNA 서열:
- [1472] GGCCTAATACGACTCACTATAGGGTAACTTAAAGAAGGAGATACATATGACTTTTATTATTCTATTTAGCATTATCCGATTCTATAAGCTTC
- [1473] 주형 DNA 서열 번호: 204(D-64)
- [1474] DNA 서열:
- [1475] GGCCTAATACGACTCACTATAGGGTAACTTAAAGAAGGAGATACATATGACTTTTATTATTGGTTTTCTATTATCCGATTGGTTAAGCTTCG
- [1476] 주형 DNA 서열 번호: 205(D-65)
- [1477] DNA 서열:
- [1478] GGCCTAATACGACTCACTATAGGGTAACTTAAAGAAGGAGATACATATGACTTTTATTATTGGTTTTCCATTATCCGATTGGTTAAGCTTCG
- [1479] 주형 DNA 서열 번호: 206(D-66)
- [1480] DNA 서열:
- [1481] GGCCTAATACGACTCACTATAGGGTAACTTAAAGAAGGAGATACATATGACTTTTATTATTGGTTTTCAATTATCCGATTGGTTAAGCTTCG
- [1482] 주형 DNA 서열 번호: 207(D-67)
- [1483] DNA 서열:
- [1484] GGCCTAATACGACTCACTATAGGGTAACTTAAAGAAGGAGATACATATGACTTTTATTATTGGTTTTCGATTATCCGATTGGTTAAGCTTCG
- [1485] 주형 DNA 서열 번호: 208(D-68)
- [1486] DNA 서열:
- [1487] GGCCTAATACGACTCACTATAGGGTAACTTAAATAAGGAGATATAAATATGCCGTTTATTATTGGTTTTACTATTATCCGATTGGTTAAGCTTCG
- [1488] 주형 DNA 서열 번호: 209(D-69)
- [1489] DNA 서열:
- [1490] GGCCTAATACGACTCACTATAGGGTAACTTAAATAAGGAGATATAAATATGCCGTTTATTATTGGTTTTACCATTATCCGATTGGTTAAGCTTCG
- [1491] 주형 DNA 서열 번호: 210(D-70)
- [1492] DNA 서열:
- [1493] GGCCTAATACGACTCACTATAGGGTAACTTAAATAAGGAGATATAAATATGCCGTTTATTATTGGTTTTACAATTATCCGATTGGTTAAGCTTCG
- [1494] 주형 DNA 서열 번호: 211(D-71)
- [1495] DNA 서열:
- [1496] GGCCTAATACGACTCACTATAGGGTAACTTAAATAAGGAGATATAAATATGCCGTTTATTATTGGTTTTACGATTATCCGATTGGTTAAGCTTCG
- [1497] 주형 DNA 서열 번호: 212(D-72)
- [1498] DNA 서열:
- [1499] GGCCTAATACGACTCACTATAGGGTAACTTAAAGAAGGAGATACATATGACTTTTCTACTAGGTTTTATTCTACTACCGCTAGGTTAAGCTTCG
- [1500] 주형 DNA 서열 번호: 213(D-73)
- [1501] DNA 서열:
- [1502] GGCCTAATACGACTCACTATAGGGTAACTTAAAGAAGGAGATACATATGACTTTTCTACTAGGTTTTATCCTACTACCGCTAGGTTAAGCTTCG
- [1503] 주형 DNA 서열 번호: 214(D-74)
- [1504] DNA 서열:
- [1505] GGCCTAATACGACTCACTATAGGGTAACTTAAAGAAGGAGATACATATGACTTTTCTACTAGGTTTTATACTACTACCGCTAGGTTAAGCTTCG
- [1506] 주형 DNA 서열 번호: 215(D-75)

- [1507] DNA 서열:
- [1508] GGCCTAATACGACTCACTATAGGGTTAACTTTAAGAAGGAGATATACATATGACTTTTCTACTAGGTTTTATGCTACTACCGCTAGGTTAAGCTTCG
- [1509] 주형 DNA 서열 번호: 216(D-79)
- [1510] DNA 서열:
- [1511] GGCCTAATACGACTCACTATAGGGTTAACTTTAAGAAGGAGATATACATATGACTTTTATTATTGGTTTTCGTATTATCCGATTGGTTAAGCTTCG
- [1512] 주형 DNA 서열 번호: 217(D-80)
- [1513] DNA 서열:
- [1514] GGCCTAATACGACTCACTATAGGGTTAACTTTAAGAAGGAGATATACATATGACTTTTATTATTGGTTTTCGAATTATCCGATTGGTTAAGCTTCG
- [1515] 주형 DNA 서열 번호: 218(D-81)
- [1516] DNA 서열:
- [1517] GGCCTAATACGACTCACTATAGGGTTAACTTTAAGAAGGAGATATACATATGACTTTTATTATTGGTTTTCGGATTATCCGATTGGTTAAGCTTCG
- [1518] 주형 mRNA 서열 번호: 134(mR-1)
- [1519] RNA 서열:
- [1520] GGGUUAACUUUAAGAAGGAGAUUACAUUGACUUUUAUUAUUGGUUUUCUUAUUAUCCGAUUGGUUAAGCUUCG
- [1521] 주형 mRNA 서열 번호: 135(mR-2)
- [1522] RNA 서열:
- [1523] GGGUUAACUUUAAGAAGGAGAUUACAUUGACUUUUAUUAUUGGUUUUCUUAUUAUCCGAUUGGUUAAGCUUCG
- [1524] 주형 mRNA 서열 번호: 136(mR-3)
- [1525] RNA 서열:
- [1526] GGGUUAACUUUAAGAAGGAGAUUACAUUGACUUUUAUUAUUGGUUUUCUGAUUAUCCGAUUGGUUAAGCUUCG
- [1527] 주형 mRNA 서열 번호: 137(mR-4)
- [1528] RNA 서열:
- [1529] GGGUUAACUUUAAGAAGGAGAUUACAUUGACUUUUAUUAUUGGUUUUGUUAUUAUCCGAUUGGUUAAGCUUCG
- [1530] 주형 mRNA 서열 번호: 138(mR-5)
- [1531] RNA 서열:
- [1532] GGGUUAACUUUAAGAAGGAGAUUACAUUGACUUUUAUUAUUGGUUUUGUAAUUAUCCGAUUGGUUAAGCUUCG
- [1533] 주형 mRNA 서열 번호: 139(mR-6)
- [1534] RNA 서열:
- [1535] GGGUUAACUUUAAGAAGGAGAUUACAUUGACUUUUAUUAUUGGUUUUGUGAUUAUCCGAUUGGUUAAGCUUCG
- [1536] 주형 mRNA 서열 번호: 140(mR-7)
- [1537] RNA 서열:
- [1538] GGGUUAACUUUAAGAAGGAGAUUACAUUGACUUUUAUUAUUGGUUUUCAUUAUUAUCCGAUUGGUUAAGCUUCG
- [1539] 주형 mRNA 서열 번호: 141(mR-8)
- [1540] RNA 서열:
- [1541] GGGUUAACUUUAAGAAGGAGAUUACAUUGACUUUUAUUAUUGGUUUUCAAAUUAUCCGAUUGGUUAAGCUUCG
- [1542] 주형 mRNA 서열 번호: 142(mR-9)

- [1543] RNA 서열:  
 [1544] GGGUUAACUUUAAGAAGGAGAUUACAUUAGACUUUUAUUUUAUUGGUUUUCAGAUUAUCCGAUUGGUUAAGCUUCG  
 [1545] 주형 mRNA 서열 번호: 143(mR-10)
- [1546] RNA 서열:  
 [1547] GGGUUAACUUUAAGAAGGAGAUUACAUUAGACUUUUAUUUUAUUCUAAUUAAUUAUCCGAUUCUAAAGCUUCG  
 [1548] 주형 mRNA 서열 번호: 144(mR-11)
- [1549] RNA 서열:  
 [1550] GGGUUAACUUUAAGAAGGAGAUUACAUUAGACUUUUAUUUUAUUCUAAUUAAAAUUAUCCGAUUCUAAAGCUUCG  
 [1551] 주형 mRNA 서열 번호: 145(mR-12)
- [1552] RNA 서열:  
 [1553] GGGUUAACUUUAAGAAGGAGAUUACAUUAGACUUUUAUUUUAUUCUAAUUAAAGAUUAUCCGAUUCUAAAGCUUCG  
 [1554] 주형 mRNA 서열 번호: 146(mR-13)
- [1555] RNA 서열:  
 [1556] GGGUUAACUUUAAGAAGGAGAUUACAUUAGACUUUUAUUUUAUUGGUUUUGAUAAUUAUCCGAUUGGUUAAGCUUCG  
 [1557] 주형 mRNA 서열 번호: 147(mR-14)
- [1558] RNA 서열:  
 [1559] GGGUUAACUUUAAGAAGGAGAUUACAUUAGACUUUUAUUUUAUUGGUUUUGAAAUAUCCGAUUGGUUAAGCUUCG  
 [1560] 주형 mRNA 서열 번호: 148(mR-15)
- [1561] RNA 서열:  
 [1562] GGGUUAACUUUAAGAAGGAGAUUACAUUAGACUUUUAUUUUAUUGGUUUUGAGAUUAUCCGAUUGGUUAAGCUUCG  
 [1563] 주형 mRNA 서열 번호: 149(mR-16)
- [1564] RNA 서열:  
 [1565] GGGUUAACUUUAAGAAGGAGAUUACAUUAGACUGUUUAUUUUAUUGGUGUUUUAAUUAUCCGAUUGGUUAAGCUUCG  
 [1566] 주형 mRNA 서열 번호: 150(mR-17)
- [1567] RNA 서열:  
 [1568] GGGUUAACUUUAAGAAGGAGAUUACAUUAGACUGUUUAUUUUAUUGGUGUUUUAAUUAUCCGAUUGGUUAAGCUUCG  
 [1569] 주형 mRNA 서열 번호: 151(mR-18)
- [1570] RNA 서열:  
 [1571] GGGUUAACUUUAAGAAGGAGAUUACAUUAGACUGUUUAUUUUAUUGGUGUUUUGAUUAUCCGAUUGGUUAAGCUUCG  
 [1572] 주형 mRNA 서열 번호: 152(mR-19)
- [1573] RNA 서열:  
 [1574] GGGUUAACUUUAAGAAGGAGAUUACAUUAGACUUUUAUUUUAUUGGUUUUAGUAAUUAUCCGAUUGGUUAAGCUUCG  
 [1575] 주형 mRNA 서열 번호: 153(mR-20)
- [1576] RNA 서열:  
 [1577] GGGUUAACUUUAAGAAGGAGAUUACAUUAGACUUUUAUUUUAUUGGUUUUAGAAUUAUCCGAUUGGUUAAGCUUCG  
 [1578] 주형 mRNA 서열 번호: 154(mR-21)

- [1579] RNA 서열:  
 [1580] GGGUUAACUUUAAGAAGGAGAUUACAUAUGACUUUUAUUUAUUGGUUUUAGGAUUAUCCGAUUGGUUAAGCUUCG  
 [1581] 주형 mRNA 서열 번호: 155(mR-22)  
 [1582] RNA 서열:  
 [1583] GGGUUAACUUUAAGAAGGAGAUUACAUAUGACUUUUAUUUAUCUUAUUUGCAUUAUCCGAUUCUUAAGCUUCG  
 [1584] 주형 mRNA 서열 번호: 156(mR-23)  
 [1585] RNA 서열:  
 [1586] GGGUUAACUUUAAGAAGGAGAUUACAUAUGACUUUUAUUUAUCUUAUUUGAAUUAUCCGAUUCUUAAGCUUCG  
 [1587] 주형 mRNA 서열 번호: 157(mR-24)  
 [1588] RNA 서열:  
 [1589] GGGUUAACUUUAAGAAGGAGAUUACAUAUGACUUUUAUUUAUCUUAUUUGGAUUAUCCGAUUCUUAAGCUUCG  
 [1590] 주형 mRNA 서열 번호: 158(mR-25)  
 [1591] RNA 서열:  
 [1592] GGGUUAACUUUAAGAAGGAGAUUACAUAUGACUUUUAUUUAUUGGUUUUCACAUUAUCCGAUUGGUUAAGCUUCG  
 [1593] 주형 mRNA 서열 번호: 159(mR-26)  
 [1594] RNA 서열:  
 [1595] GGGUUAACUUUAAGAAGGAGAUUACAUAUGACUUUUAUUUAUUGGUUUUAACAUAUCCGAUUGGUUAAGCUUCG  
 [1596] 주형 mRNA 서열 번호: 160(mR-27)  
 [1597] RNA 서열:  
 [1598] GGGUUAACUUUAAGAAGGAGAUUACAUAUGACUUUUAUUUAUUGGUUUUGACAUAUCCGAUUGGUUAAGCUUCG  
 [1599] 주형 mRNA 서열 번호: 161(mR-28)  
 [1600] RNA 서열:  
 [1601] GGGUUAACUUUAAGAAGGAGAUUACAUAUGACUGUUUAUUUAUUGGUGUUUCAUAUCCGAUUGGUUAAGCUUCG  
 [1602] 주형 mRNA 서열 번호: 162(mR-29)  
 [1603] RNA 서열:  
 [1604] GGGUUAACUUUAAGAAGGAGAUUACAUAUGACUUUUAUUUAUCUUAUUAGCAUUAUCCGAUUCUUAAGCUUCG  
 [1605] 주형 mRNA 서열 번호: 163(mR-30)  
 [1606] RNA 서열:  
 [1607] GGGUUAACUUUAAGAAGGAGAUUACAUAUGACUUUUAUUUAUUGGUUUUCUUAUUAUCCGAUUGGUUAAGCUUCG  
 [1608] 주형 mRNA 서열 번호: 164(mR-31)  
 [1609] RNA 서열:  
 [1610] GGGUUAACUUUAAGAAGGAGAUUACAUAUGACUUUUAUUUAUUGGUUUUCCAUAUUAUCCGAUUGGUUAAGCUUCG  
 [1611] 주형 mRNA 서열 번호: 165(mR-32)  
 [1612] RNA 서열:  
 [1613] GGGUUAACUUUAAGAAGGAGAUUACAUAUGACUUUUAUUUAUUGGUUUUCAUAUUAUCCGAUUGGUUAAGCUUCG  
 [1614] 주형 mRNA 서열 번호: 166(mR-33)

- [1615] RNA 서열:  
 [1616] GGGUUAACUUUAAGAAGGAGAUUACAUUAGACUUUUAUUUUGGUUUUUCGAUUAUUCGGAUUGGUUAAGCUUCG  
 [1617] 주형 mRNA 서열 번호: 167(mR-34)  
 [1618] RNA 서열:  
 [1619] GGGUUAACUUUAUAAGAAGGAGAUUAAAUAUGCCGUUUUAUUUUGGUUUUACUUAUUAUUCGGAUUGGUUAAGCUUCG  
 [1620] 주형 mRNA 서열 번호: 168(mR-35)  
 [1621] RNA 서열:  
 [1622] GGGUUAACUUUAUAAGAAGGAGAUUAAAUAUGCCGUUUUAUUUUGGUUUUACCAUUAUUCGGAUUGGUUAAGCUUCG  
 [1623] 주형 mRNA 서열 번호: 169(mR-36)  
 [1624] RNA 서열:  
 [1625] GGGUUAACUUUAUAAGAAGGAGAUUAAAUAUGCCGUUUUAUUUUGGUUUUACAAUUAUUCGGAUUGGUUAAGCUUCG  
 [1626] 주형 mRNA 서열 번호: 170(mR-37)  
 [1627] RNA 서열:  
 [1628] GGGUUAACUUUAUAAGAAGGAGAUUAAAUAUGCCGUUUUAUUUUGGUUUUACGAUUAUUCGGAUUGGUUAAGCUUCG  
 [1629] 주형 mRNA 서열 번호: 171(mR-38)  
 [1630] RNA 서열:  
 [1631] GGGUUAACUUUAAGAAGGAGAUUACAUUAGACUUUUCUACUAGGUUUUAUUCUACUACCGCUAGGUUAAGCUUCG  
 [1632] 주형 mRNA 서열 번호: 172(mR-39)  
 [1633] RNA 서열:  
 [1634] GGGUUAACUUUAAGAAGGAGAUUACAUUAGACUUUUCUACUAGGUUUUAUCCUACUACCGCUAGGUUAAGCUUCG  
 [1635] 주형 mRNA 서열 번호: 173(mR-40)  
 [1636] RNA 서열:  
 [1637] GGGUUAACUUUAAGAAGGAGAUUACAUUAGACUUUUCUACUAGGUUUUAUACUACUACCGCUAGGUUAAGCUUCG  
 [1638] 주형 mRNA 서열 번호: 174(mR-41)  
 [1639] RNA 서열:  
 [1640] GGGUUAACUUUAAGAAGGAGAUUACAUUAGACUUUUCUACUAGGUUUUAUGCUACUACCGCUAGGUUAAGCUUCG  
 [1641] 주형 mRNA 서열 번호: 219(mR-42)  
 [1642] RNA 서열:  
 [1643] GGGUUAACUUUAAGAAGGAGAUUACAUUAGACUUUUAUUUUGGUUUUCGUUAUUAUUCGGAUUGGUUAAGCUUCG  
 [1644] 주형 mRNA 서열 번호: 220(mR-43)  
 [1645] RNA 서열:  
 [1646] GGGUUAACUUUAAGAAGGAGAUUACAUUAGACUUUUAUUUUGGUUUUCGAAUUAUUCGGAUUGGUUAAGCUUCG  
 [1647] 주형 mRNA 서열 번호: 221(mR-44)  
 [1648] RNA 서열:  
 [1649] GGGUUAACUUUAAGAAGGAGAUUACAUUAGACUUUUAUUUUGGUUUUCGGAUUAUUCGGAUUGGUUAAGCUUCG  
 [1650] 실시예 7. 번역 펩티드의 분석

[1651] 실시예 6에서 조제한 비천연 펩티드 번역 용액을 10배 희석하고, LC-FLR-MS의 장치를 이용하여 분석했다. 분석 데이터는 MS 데이터로부터 대상이 되는 번역 펩티드의 유지 시간을 동정하고, 해당 유지 시간의 형광 피크를 정량함으로써, 펩티드 번역량을 평가했다. 한편, 정량 평가는 실시예 4에서 합성한 LCT12, 혹은 실시예 3에서 합성한 LCT067을 표준으로 하여 검량선을 작성하고, 상대 정량에 의해 함유량을 산출했다. LC-MS는 하기의 표 5의 조건에 따라, 대상이 되는 샘플에 따라서 최적의 조건을 선택하여 분석했다.

표 5

분석 조건	장치	칼럼	이동상	그라디언트 (%B)	유속 (mL/min)	칼럼 온도	형광 측정 파장 (Ex/Em)	MS mode
Method1	Aquity UPLC-FLR -Xevo G2-XS Tof	waters BEH C18 (2.1 x 50mm, φ 1.7um)	A=0.1%FA with H2O B=0.1%FA with CH3CN	0-0.2min=10% 0.2-3.6min=98% 3.6-4.0 min=10%	0.5	40	491 nm/ 515 nm	ESI-

[1652]

[1653] 평가한 결과를 표 6~표 33, 도 1~도 28에 나타낸다. 시험한 코돈 박스 중, CUX 및 GUX에서는, 크로스리드에 의해 목적 외의 아미노산이 약간 많이 번역되어, 충분한 판독 효과는 관찰되지 않았다(표 6~표 7, 도 1~도 2). 한편, 그들 이외의 코돈 박스에서는 모두 3종류의 코돈에 대응한 특이적인 아미노산의 번역이 관찰되어, 충분한 판독 효과가 확인되었다. 한편, tRNA 보디(안티코돈 이외의 서열 부분)를 변경해도, 마찬가지로의 효과가 얻어짐이 확인되었다. (표 8~표 28-9, 도 3~도 23i). 또한, 번역계 중에 첨가하는 tRNA의 농도를 증대시키면, 목적하는 펩티드 및 크로스리드의 번역량이 함께 증가하지만, 그 증가의 비율은 서로 상이할 가능성이 시사되었다(표 29~표 33, 도 24~도 28). 이것으로부터, tRNA 농도의 극히 적합한 조건(크로스리드에 비해 목적하는 펩티드가 보다 효율 좋게 번역될 수 있는 조건)을 설정하는 것도 가능하다고 생각되었다.

[1652]

표 6

아미노아실화 tRNA	주형 mRNA 서열	번역 펩티드 화합물	번역량 (μM)
화합물 AA t R-1 화합물 AA t R-2 화합물 AA t R-3	mR-1	B dpFL-P he-TF IG F-nBuG -IP G	1.22
		B dpFL-P he-TF IG F-P ic2-IP G	0.41
		B dpFL-P he-TF IG F-dA -IP G	0.00
	mR-2	B dpFL-P he-TF IG F-nBuG -IP G	0.00
		B dpFL-P he-TF IG F-P ic2-IP G	1.44
		B dpFL-P he-TF IG F-dA -IP G	0.02
	mR-3	B dpFL-P he-TF IG F-nBuG -IP G	0.04
		B dpFL-P he-TF IG F-P ic2-IP G	0.40
		B dpFL-P he-TF IG F-dA -IP G	1.44

[1654]

[1655] 1 코돈 박스에 있어서의 3 아미노산 판독의 번역 평가 결과의 표이다(평가한 코돈: CUU, CUA, CUG).

[1655]

표 7

아미노아실화 tRNA	주형 mRNA 서열	번역 펩티드 화합물	번역량 (μM)
화합물 AA t R-4 화합물 AA t R-5 화합물 AA t R-6	mR-4	B dpFL-P he-TF IG F-nBuG -IP G	0.76
		B dpFL-P he-TF IG F-P ic2-IP G	0.26
		B dpFL-P he-TF IG F-dA -IP G	0.01
	mR-5	B dpFL-P he-TF IG F-nBuG -IP G	0.00
		B dpFL-P he-TF IG F-P ic2-IP G	1.19
		B dpFL-P he-TF IG F-dA -IP G	0.01
	mR-6	B dpFL-P he-TF IG F-nBuG -IP G	0.00
		B dpFL-P he-TF IG F-P ic2-IP G	0.32
		B dpFL-P he-TF IG F-dA -IP G	0.73

[1656]

[1657] 1 코돈 박스에 있어서의 3 아미노산 판독의 번역 평가 결과의 표이다(평가한 코돈: GUU, GUA, GUG).

[1657]

표 8

아미노아실화 RNA	주형 mRNA 서열	번역 펩티드 화합물	번역량 (μM)
화합물 AA t R-7 화합물 AA t R-8 화합물 AA t R-9	mR-7	BdpFL-Phe-TF IG F-nBuG -IP IG	1.11
		BdpFL-Phe-TF IG F-P ic2-IP IG	0.03
		BdpFL-Phe-TF IG F-dA -IP IG	0.01
	mR-8	BdpFL-Phe-TF IG F-nBuG -IP IG	0.04
		BdpFL-Phe-TF IG F-P ic2-IP IG	1.45
		BdpFL-Phe-TF IG F-dA -IP IG	0.03
	mR-9	BdpFL-Phe-TF IG F-nBuG -IP IG	0.01
		BdpFL-Phe-TF IG F-P ic2-IP IG	0.13
		BdpFL-Phe-TF IG F-dA -IP IG	1.28

[1658]

[1659] 1 코돈 복스에 있어서의 3 아미노산 관독의 번역 평가 결과의 표이다(평가한 코돈: CAU, CAA, CAG).

표 9

아미노아실화 RNA	주형 mRNA 서열	번역 펩티드 화합물	번역량 (μM)
화합물 AA t R-10 화합물 AA t R-11 화합물 AA t R-12	mR-10	BdpFL-Phe-TF IG F-nBuG -IP IG	0.84
		BdpFL-Phe-TF IG F-P ic2-IP IG	0.04
		BdpFL-Phe-TF IG F-dA -IP IG	0.04
	mR-11	BdpFL-Phe-TF IG F-nBuG -IP IG	0.04
		BdpFL-Phe-TF IG F-P ic2-IP IG	1.15
		BdpFL-Phe-TF IG F-dA -IP IG	0.02
	mR-12	BdpFL-Phe-TF IG F-nBuG -IP IG	0.01
		BdpFL-Phe-TF IG F-P ic2-IP IG	0.05
		BdpFL-Phe-TF IG F-dA -IP IG	1.41

[1660]

[1661] 1 코돈 복스에 있어서의 3 아미노산 관독의 번역 평가 결과의 표이다(평가한 코돈: AAU, AAA, AAG).

표 10

아미노아실화 RNA	주형 mRNA 서열	번역 펩티드 화합물	번역량 (μM)
화합물 AA t R-13 화합물 AA t R-14 화합물 AA t R-15	mR-13	BdpFL-Phe-TF IG F-nBuG -IP IG	1.19
		BdpFL-Phe-TF IG F-P ic2-IP IG	0.00
		BdpFL-Phe-TF IG F-dA -IP IG	0.00
	mR-14	BdpFL-Phe-TF IG F-nBuG -IP IG	0.00
		BdpFL-Phe-TF IG F-P ic2-IP IG	2.38
		BdpFL-Phe-TF IG F-dA -IP IG	0.02
	mR-15	BdpFL-Phe-TF IG F-nBuG -IP IG	0.01
		BdpFL-Phe-TF IG F-P ic2-IP IG	0.12
		BdpFL-Phe-TF IG F-dA -IP IG	1.36

[1662]

[1663] 1 코돈 복스에 있어서의 3 아미노산 관독의 번역 평가 결과의 표이다(평가한 코돈: GAU, GAA, GAG).

표 11

아미노아실화 RNA	주형 mRNA 서열	번역 펩티드 화합물	번역량 (μM)
화합물 AA t R-16 화합물 AA t R-17 화합물 AA t R-18	mR-16	BdpFL-Phe-TV IG V-nBuG -IP IG	0.49
		BdpFL-Phe-TV IG V-P ic2-IP IG	0.00
		BdpFL-Phe-TV IG V-dA -IP IG	0.00
	mR-17	BdpFL-Phe-TV IG V-nBuG -IP IG	0.04
		BdpFL-Phe-TV IG V-P ic2-IP IG	1.53
		BdpFL-Phe-TV IG V-dA -IP IG	0.00
	mR-18	BdpFL-Phe-TV IG V-nBuG -IP IG	0.02
		BdpFL-Phe-TV IG V-P ic2-IP IG	0.11
		BdpFL-Phe-TV IG V-dA -IP IG	1.17

[1664]

[1665] 1 코돈 복스에 있어서의 3 아미노산 관독의 번역 평가 결과의 표이다(평가한 코돈: UUU, UUA, UUG).

표 12

아미노아실화 RNA	주형 mRNA 서열	번역 펩티드 화합물	번역량 (μM)
화합물 AA t R-19 화합물 AA t R-20 화합물 AA t R-21	mR-19	BdpFL-Phe-TF IG F-nBuG -IP G	0.85
		BdpFL-Phe-TF IG F-P ic2-IP G	0.00
		BdpFL-Phe-TF IG F-dA -IP G	0.01
	mR-20	BdpFL-Phe-TF IG F-nBuG -IP G	0.00
		BdpFL-Phe-TF IG F-P ic2-IP G	1.62
		BdpFL-Phe-TF IG F-dA -IP G	0.02
	mR-21	BdpFL-Phe-TF IG F-nBuG -IP G	0.00
		BdpFL-Phe-TF IG F-P ic2-IP G	0.02
		BdpFL-Phe-TF IG F-dA -IP G	1.35

[1666]

[1667]

1 코돈 복스에 있어서의 3 아미노산 관독의 번역 평가 결과의 표이다(평가한 코돈: AGU, AGA, AGG).

표 13

아미노아실화 RNA	주형 mRNA 서열	번역 펩티드 화합물	번역량 (μM)
화합물 AA t R-22 화합물 AA t R-23 화합물 AA t R-24	mR-22	BdpFL-Phe-TF IG F-nBuG -IP G	1.18
		BdpFL-Phe-TF IG F-P ic2-IP G	0.00
		BdpFL-Phe-TF IG F-dA -IP G	0.03
	mR-23	BdpFL-Phe-TF IG F-nBuG -IP G	0.03
		BdpFL-Phe-TF IG F-P ic2-IP G	1.27
		BdpFL-Phe-TF IG F-dA -IP G	0.01
	mR-24	BdpFL-Phe-TF IG F-nBuG -IP G	0.01
		BdpFL-Phe-TF IG F-P ic2-IP G	0.05
		BdpFL-Phe-TF IG F-dA -IP G	1.53

[1668]

[1669]

1 코돈 복스에 있어서의 3 아미노산 관독의 번역 평가 결과의 표이다(평가한 코돈: UGC, UGA, UGG).

표 14

아미노아실화 RNA	주형 mRNA 서열	번역 펩티드 화합물	번역량 (μM)
화합물 AA t R-26 화합물 AA t R-8 화합물 AA t R-9	mR-25	BdpFL-Phe-TF IG F-nBuG -IP G	0.19
		BdpFL-Phe-TF IG F-P ic2-IP G	0.00
		BdpFL-Phe-TF IG F-dA -IP G	0.00
	mR-8	BdpFL-Phe-TF IG F-nBuG -IP G	0.00
		BdpFL-Phe-TF IG F-P ic2-IP G	0.39
		BdpFL-Phe-TF IG F-dA -IP G	0.00
	mR-9	BdpFL-Phe-TF IG F-nBuG -IP G	0.00
		BdpFL-Phe-TF IG F-P ic2-IP G	0.03
		BdpFL-Phe-TF IG F-dA -IP G	0.27

[1670]

[1671]

1 코돈 복스에 있어서의 3 아미노산 관독의 번역 평가 결과의 표이다(평가한 코돈: CAC, CAA, CAG).

표 15

아미노아실화 RNA	주형 mRNA 서열	번역 펩티드 화합물	번역량 (μM)
화합물 AA t R-27 화합물 AA t R-11 화합물 AA t R-12	mR-26	BdpFL-Phe-TF IG F-nBuG -IP G	0.16
		BdpFL-Phe-TF IG F-P ic2-IP G	0.00
		BdpFL-Phe-TF IG F-dA -IP G	0.01
	mR-11	BdpFL-Phe-TF IG F-nBuG -IP G	0.00
		BdpFL-Phe-TF IG F-P ic2-IP G	0.26
		BdpFL-Phe-TF IG F-dA -IP G	0.00
	mR-12	BdpFL-Phe-TF IG F-nBuG -IP G	0.00
		BdpFL-Phe-TF IG F-P ic2-IP G	0.00
		BdpFL-Phe-TF IG F-dA -IP G	0.21

[1672]

[1673]

1 코돈 복스에 있어서의 3 아미노산 관독의 번역 평가 결과의 표이다(평가한 코돈: AAC, AAA, AAG).

표 16

아미노아실화 RNA	주형 mRNA 서열	번역 펩티드 화합물	번역량 (μM)
화합물 AA t R-28 화합물 AA t R-20 화합물 AA t R-21	mR-29	BdpFL-Phe-TF IG F-nBuG -IP IG	0.20
		BdpFL-Phe-TF IG F-P ic2-IP IG	0.00
		BdpFL-Phe-TF IG F-dA -IP IG	0.00
	mR-20	BdpFL-Phe-TF IG F-nBuG -IP IG	0.00
		BdpFL-Phe-TF IG F-P ic2-IP IG	0.36
		BdpFL-Phe-TF IG F-dA -IP IG	0.00
	mR-21	BdpFL-Phe-TF IG F-nBuG -IP IG	0.00
		BdpFL-Phe-TF IG F-P ic2-IP IG	0.00
		BdpFL-Phe-TF IG F-dA -IP IG	0.11

[1674]

[1675] 1 코돈 복스에 있어서의 3 아미노산 관독의 번역 평가 결과의 표이다(평가한 코돈: AGC, AGA, AGG).

표 17

아미노아실화 RNA	주형 mRNA 서열	번역 펩티드 화합물	번역량 (μM)
화합물 AA t R-29 화합물 AA t R-30 화합물 AA t R-31	mR-7	BdpFL-Phe-TF IG F-M eA3Pr-IP IG	1.29
		BdpFL-Phe-TF IG F-S tBuO H -IP IG	0.05
		BdpFL-Phe-TF IG F-M eSnPr-IP IG	0.01
	mR-8	BdpFL-Phe-TF IG F-M eA3Pr-IP IG	0.00
		BdpFL-Phe-TF IG F-S tBuO H -IP IG	1.31
		BdpFL-Phe-TF IG F-M eSnPr-IP IG	0.03
	mR-9	BdpFL-Phe-TF IG F-M eA3Pr-IP IG	0.00
		BdpFL-Phe-TF IG F-S tBuO H -IP IG	0.10
		BdpFL-Phe-TF IG F-M eSnPr-IP IG	1.80

[1676]

[1677] 1 코돈 복스에 있어서의 3 아미노산 관독의 번역 평가 결과의 표이다(평가한 코돈: CAU, CAA, CAG).

표 18

아미노아실화 RNA	주형 mRNA 서열	번역 펩티드 화합물	번역량 (μM)
화합물 AA t R-32 화합물 AA t R-33 화합물 AA t R-34	mR-10	BdpFL-Phe-TF IG F-M eA3Pr-IP IG	0.74
		BdpFL-Phe-TF IG F-S tBuO H -IP IG	0.04
		BdpFL-Phe-TF IG F-M eSnPr-IP IG	0.01
	mR-11	BdpFL-Phe-TF IG F-M eA3Pr-IP IG	0.00
		BdpFL-Phe-TF IG F-S tBuO H -IP IG	0.77
		BdpFL-Phe-TF IG F-M eSnPr-IP IG	0.01
	mR-12	BdpFL-Phe-TF IG F-M eA3Pr-IP IG	0.00
		BdpFL-Phe-TF IG F-S tBuO H -IP IG	0.06
		BdpFL-Phe-TF IG F-M eSnPr-IP IG	1.64

[1678]

[1679] 1 코돈 복스에 있어서의 3 아미노산 관독의 번역 평가 결과의 표이다(평가한 코돈: AAU, AAA, AAG).

표 19

아미노아실화 RNA	주형 mRNA 서열	번역 펩티드 화합물	번역량 (μM)
화합물 AA t R-35 화합물 AA t R-36 화합물 AA t R-37	mR-13	BdpFL-Phe-TF IG F-M eA3Pr-IP IG	0.91
		BdpFL-Phe-TF IG F-S tBuO H -IP IG	0.03
		BdpFL-Phe-TF IG F-M eSnPr-IP IG	0.01
	mR-14	BdpFL-Phe-TF IG F-M eA3Pr-IP IG	0.00
		BdpFL-Phe-TF IG F-S tBuO H -IP IG	1.50
		BdpFL-Phe-TF IG F-M eSnPr-IP IG	0.07
	mR-15	BdpFL-Phe-TF IG F-M eA3Pr-IP IG	0.01
		BdpFL-Phe-TF IG F-S tBuO H -IP IG	0.13
		BdpFL-Phe-TF IG F-M eSnPr-IP IG	1.87

[1680]

[1681] 1 코돈 복스에 있어서의 3 아미노산 관독의 번역 평가 결과의 표이다(평가한 코돈: GAU, GAA, GAG).

표 20

아미노아실화 tRNA	주형mRNA서열	번역 펩티드 화합물	번역량 (μM)
화합물 AA t R-38 화합물 AA t R-39 화합물 AA t R-40	mR-16	BdpFL-Phe-TV IG V-M eA3Pr-IP IG	0.50
		BdpFL-Phe-TV IG V-S tBuOH-IP IG	0.00
		BdpFL-Phe-TV IG V-M eSnPr-IP IG	0.01
	mR-17	BdpFL-Phe-TV IG V-M eA3Pr-IP IG	0.02
		BdpFL-Phe-TV IG V-S tBuOH-IP IG	0.96
		BdpFL-Phe-TV IG V-M eSnPr-IP IG	0.03
	mR-18	BdpFL-Phe-TV IG V-M eA3Pr-IP IG	0.02
		BdpFL-Phe-TV IG V-S tBuOH-IP IG	0.14
		BdpFL-Phe-TV IG V-M eSnPr-IP IG	1.77

[1682]

[1683] 1 코돈 복스에 있어서의 3 아미노산 관독의 번역 평가 결과의 표이다(평가한 코돈: UUU, UUA, UUG).

표 21

아미노아실화 tRNA	주형mRNA서열	번역 펩티드 화합물	번역량 (μM)
화합물 AA t R-41 화합물 AA t R-42 화합물 AA t R-43	mR-19	BdpFL-Phe-TF IG F-M eA3Pr-IP IG	0.95
		BdpFL-Phe-TF IG F-S tBuOH-IP IG	0.02
		BdpFL-Phe-TF IG F-M eSnPr-IP IG	0.01
	mR-20	BdpFL-Phe-TF IG F-M eA3Pr-IP IG	0.00
		BdpFL-Phe-TF IG F-S tBuOH-IP IG	1.16
		BdpFL-Phe-TF IG F-M eSnPr-IP IG	0.02
	mR-21	BdpFL-Phe-TF IG F-M eA3Pr-IP IG	0.01
		BdpFL-Phe-TF IG F-S tBuOH-IP IG	0.08
		BdpFL-Phe-TF IG F-M eSnPr-IP IG	1.50

[1684]

[1685] 1 코돈 복스에 있어서의 3 아미노산 관독의 번역 평가 결과의 표이다(평가한 코돈: AGU, AGA, AGG).

표 22

아미노아실화 tRNA	주형mRNA서열	번역 펩티드 화합물	번역량 (μM)
화합물 AA t R-44 화합물 AA t R-45 화합물 AA t R-46	mR-22	BdpFL-Phe-TF IG F-M eA3Pr-IP IG	1.39
		BdpFL-Phe-TF IG F-S tBuOH-IP IG	0.00
		BdpFL-Phe-TF IG F-M eSnPr-IP IG	0.00
	mR-23	BdpFL-Phe-TF IG F-M eA3Pr-IP IG	0.00
		BdpFL-Phe-TF IG F-S tBuOH-IP IG	0.99
		BdpFL-Phe-TF IG F-M eSnPr-IP IG	0.01
	mR-24	BdpFL-Phe-TF IG F-M eA3Pr-IP IG	0.00
		BdpFL-Phe-TF IG F-S tBuOH-IP IG	0.07
		BdpFL-Phe-TF IG F-M eSnPr-IP IG	1.82

[1686]

[1687] 1 코돈 복스에 있어서의 3 아미노산 관독의 번역 평가 결과의 표이다(평가한 코돈: UGC, UGA, UGG).

표 23

아미노아실화 tRNA	주형mRNA서열	번역 펩티드 화합물	번역량 (μM)
화합물 AA t R-47 화합물 AA t R-30 화합물 AA t R-31	mR-25	BdpFL-Phe-TF IIGF-MeA3Pr-IP IG	0.58
		BdpFL-Phe-TF IIGF-StBuOH-IP IG	0.00
		BdpFL-Phe-TF IIGF-MeSnPr-IP IG	0.00
	mR-8	BdpFL-Phe-TF IIGF-MeA3Pr-IP IG	0.00
		BdpFL-Phe-TF IIGF-StBuOH-IP IG	0.39
		BdpFL-Phe-TF IIGF-MeSnPr-IP IG	0.00
	mR-9	BdpFL-Phe-TF IIGF-MeA3Pr-IP IG	0.00
		BdpFL-Phe-TF IIGF-StBuOH-IP IG	0.05
		BdpFL-Phe-TF IIGF-MeSnPr-IP IG	0.59

[1688]

[1689] 1 코돈 복스에 있어서의 3 아미노산 관독의 번역 평가 결과의 표이다(평가한 코돈: CAC, CAA, CAG).

표 24

아미노아실화 tRNA	주형mRNA서열	번역 펩티드 화합물	번역량 ( $\mu$ M )
화합물 A A t R-48 화합물 A A t R-33 화합물 A A t R-34	mR - 2 6	BdpFL-Phe-TFIIIGF-MeA3Pr-IIPIG	0.55
		BdpFL-Phe-TFIIIGF-StBuOH-IIPIG	0.01
		BdpFL-Phe-TFIIIGF-MeSnPr-IIPIG	0.01
	mR - 1 1	BdpFL-Phe-TFIIIGF-MeA3Pr-IIPIG	0.01
		BdpFL-Phe-TFIIIGF-StBuOH-IIPIG	0.22
		BdpFL-Phe-TFIIIGF-MeSnPr-IIPIG	0.00
	mR - 1 2	BdpFL-Phe-TFIIIGF-MeA3Pr-IIPIG	0.00
		BdpFL-Phe-TFIIIGF-StBuOH-IIPIG	0.04
		BdpFL-Phe-TFIIIGF-MeSnPr-IIPIG	0.50

[1690]

[1691] 1 코돈 복스에 있어서의 3 아미노산 관독의 번역 평가 결과의 표이다(평가한 코돈: AAC, AAA, AAG).

표 25

아미노아실화 tRNA	주형mRNA서열	번역 펩티드 화합물	번역량 ( $\mu$ M )
화합물 A A t R-49 화합물 A A t R-36 화합물 A A t R-37	mR - 2 7	BdpFL-Phe-TFIIIGF-MeA3Pr-IIPIG	0.47
		BdpFL-Phe-TFIIIGF-StBuOH-IIPIG	0.01
		BdpFL-Phe-TFIIIGF-MeSnPr-IIPIG	0.01
	mR - 1 4	BdpFL-Phe-TFIIIGF-MeA3Pr-IIPIG	0.01
		BdpFL-Phe-TFIIIGF-StBuOH-IIPIG	0.40
		BdpFL-Phe-TFIIIGF-MeSnPr-IIPIG	0.01
	mR - 1 5	BdpFL-Phe-TFIIIGF-MeA3Pr-IIPIG	0.00
		BdpFL-Phe-TFIIIGF-StBuOH-IIPIG	0.05
		BdpFL-Phe-TFIIIGF-MeSnPr-IIPIG	0.35

[1692]

[1693] 1 코돈 복스에 있어서의 3 아미노산 관독의 번역 평가 결과의 표이다(평가한 코돈: GAC, GAA, GAG).

표 26

아미노아실화 tRNA	주형mRNA서열	번역 펩티드 화합물	번역량 ( $\mu$ M )
화합물 A A t R-50 화합물 A A t R-39 화합물 A A t R-40	mR - 2 8	BdpFL-Phe-TVIIIGV-MeA3Pr-IIPIG	0.65
		BdpFL-Phe-TVIIIGV-StBuOH-IIPIG	0.00
		BdpFL-Phe-TVIIIGV-MeSnPr-IIPIG	0.00
	mR - 1 7	BdpFL-Phe-TVIIIGV-MeA3Pr-IIPIG	0.03
		BdpFL-Phe-TVIIIGV-StBuOH-IIPIG	0.33
		BdpFL-Phe-TVIIIGV-MeSnPr-IIPIG	0.00
	mR - 1 8	BdpFL-Phe-TVIIIGV-MeA3Pr-IIPIG	0.01
		BdpFL-Phe-TVIIIGV-StBuOH-IIPIG	0.04
		BdpFL-Phe-TVIIIGV-MeSnPr-IIPIG	0.58

[1694]

[1695] 1 코돈 복스에 있어서의 3 아미노산 관독의 번역 평가 결과의 표이다(평가한 코돈: UUC, UUA, UUG).

표 27

아미노아실화 tRNA	주형mRNA서열	번역 펩티드 화합물	번역량 ( $\mu$ M )
화합물 A A t R-51 화합물 A A t R-42 화합물 A A t R-43	mR - 2 9	BdpFL-Phe-TFIIIGF-MeA3Pr-IIPIG	0.55
		BdpFL-Phe-TFIIIGF-StBuOH-IIPIG	0.00
		BdpFL-Phe-TFIIIGF-MeSnPr-IIPIG	0.00
	mR - 2 0	BdpFL-Phe-TFIIIGF-MeA3Pr-IIPIG	0.01
		BdpFL-Phe-TFIIIGF-StBuOH-IIPIG	0.36
		BdpFL-Phe-TFIIIGF-MeSnPr-IIPIG	0.02
	mR - 2 1	BdpFL-Phe-TFIIIGF-MeA3Pr-IIPIG	0.00
		BdpFL-Phe-TFIIIGF-StBuOH-IIPIG	0.05
		BdpFL-Phe-TFIIIGF-MeSnPr-IIPIG	0.35

[1696]

[1697] 1 코돈 복스에 있어서의 3 아미노산 관독의 번역 평가 결과의 표이다(평가한 코돈: AGC, AGA, AGG).

표 28

아미노아실화 tRNA	주형mRNA서열	번역 펩티드 화합물	번역량 ( $\mu\text{M}$ )
화합물 AA t R-57 화합물 AA t R-58 화합물 AA t R-59	mR-42	BdpFL-Phe-TF IG F-nBuG -IP IG	0.49
		BdpFL-Phe-TF IG F-Ph2C-IP IG	0.02
		BdpFL-Phe-TF IG F-dA-IP IG	0.01
	mR-43	BdpFL-Phe-TF IG F-nBuG -IP IG	0.09
		BdpFL-Phe-TF IG F-Ph2C-IP IG	1.62
		BdpFL-Phe-TF IG F-dA-IP IG	0.01
	mR-44	BdpFL-Phe-TF IG F-nBuG -IP IG	0.02
		BdpFL-Phe-TF IG F-Ph2C-IP IG	0.15
		BdpFL-Phe-TF IG F-dA-IP IG	1.68

[1698]

[1699]

1 코돈 복스에 있어서의 3 아미노산 관독의 번역 평가 결과의 표이다(평가한 코돈: CGU, CGA, CGG).

[1700]

[표 28-2]

아미노아실화 tRNA	주형mRNA서열	번역 펩티드 화합물	번역량 ( $\mu\text{M}$ )
화합물 AA t R-60 화합물 AA t R-61 화합물 AA t R-62	mR-7	BdpFL-Phe-TF11GF-nBuG-IIPIG	0.55
		BdpFL-Phe-TF11GF-Pic2-IIPIG	0.00
		BdpFL-Phe-TF11GF-dA-IIPIG	0.00
	mR-8	BdpFL-Phe-TF11GF-nBuG-IIPIG	0.00
		BdpFL-Phe-TF11GF-Pic2-IIPIG	0.27
		BdpFL-Phe-TF11GF-dA-IIPIG	0.00
	mR-9	BdpFL-Phe-TF11GF-nBuG-IIPIG	0.00
		BdpFL-Phe-TF11GF-Pic2-IIPIG	0.03
		BdpFL-Phe-TF11GF-dA-IIPIG	0.35

[1701]

[1702]

1 코돈 복스에 있어서의 3 아미노산 관독의 번역 평가 결과의 표이다(평가한 코돈: CAU, CAA, CAG).

[1703]

[표 28-3]

아미노아실화 tRNA	주형mRNA서열	번역 펩티드 화합물	번역량 ( $\mu\text{M}$ )
화합물 AA t R-63 화합물 AA t R-64 화합물 AA t R-65	mR-7	BdpFL-Phe-TF11GF-nBuG-IIPIG	0.58
		BdpFL-Phe-TF11GF-Pic2-IIPIG	0.00
		BdpFL-Phe-TF11GF-dA-IIPIG	0.00
	mR-8	BdpFL-Phe-TF11GF-nBuG-IIPIG	0.00
		BdpFL-Phe-TF11GF-Pic2-IIPIG	0.31
		BdpFL-Phe-TF11GF-dA-IIPIG	0.00
	mR-9	BdpFL-Phe-TF11GF-nBuG-IIPIG	0.00
		BdpFL-Phe-TF11GF-Pic2-IIPIG	0.00
		BdpFL-Phe-TF11GF-dA-IIPIG	0.41

[1704]

[1705]

1 코돈 복스에 있어서의 3 아미노산 관독의 번역 평가 결과의 표이다(평가한 코돈: CAU, CAA, CAG).

[1706]

[표 28-4]

아미노아실화 tRNA	주형mRNA서열	번역 펩티드 화합물	번역량 ( $\mu\text{M}$ )
화합물 AA t R-66 화합물 AA t R-67 화합물 AA t R-68	mR-25	BdpFL-Phe-TF11GF-nBuG-IIPIG	0.60
		BdpFL-Phe-TF11GF-Pic2-IIPIG	0.00
		BdpFL-Phe-TF11GF-dA-IIPIG	0.00
	mR-8	BdpFL-Phe-TF11GF-nBuG-IIPIG	0.00
		BdpFL-Phe-TF11GF-Pic2-IIPIG	0.29
		BdpFL-Phe-TF11GF-dA-IIPIG	0.00
	mR-9	BdpFL-Phe-TF11GF-nBuG-IIPIG	0.00
		BdpFL-Phe-TF11GF-Pic2-IIPIG	0.00
		BdpFL-Phe-TF11GF-dA-IIPIG	0.36

[1707]

[1708]

1 코돈 복스에 있어서의 3 아미노산 관독의 번역 평가 결과의 표이다(평가한 코돈: CAC, CAA, CAG).

[1709]

[표 28-5]

아미노아실화 tRNA	주형mRNA서열	번역 펩티드 화합물	번역량 ( $\mu\text{M}$ )
화합물 AA t R-69 화합물 AA t R-70 화합물 AA t R-71	mR-25	BdpFL-Phe-TF11GF-nBuG-IIPIG	0.62
		BdpFL-Phe-TF11GF-Pic2-IIPIG	0.00
		BdpFL-Phe-TF11GF-dA-IIPIG	0.00
	mR-8	BdpFL-Phe-TF11GF-nBuG-IIPIG	0.00
		BdpFL-Phe-TF11GF-Pic2-IIPIG	0.30
		BdpFL-Phe-TF11GF-dA-IIPIG	0.00
	mR-9	BdpFL-Phe-TF11GF-nBuG-IIPIG	0.00
		BdpFL-Phe-TF11GF-Pic2-IIPIG	0.00
		BdpFL-Phe-TF11GF-dA-IIPIG	0.42

[1710]

[1711] 1 코돈 복스에 있어서의 3 아미노산 관독의 번역 평가 결과의 표이다(평가한 코돈: CAC, CAA, CAG).

[1712] [표 28-6]

아미노아실화 tRNA	주형 mRNA서열	번역 펩티드 화합물	번역량 ( $\mu\text{M}$ )
화합물 AA t R-72 화합물 AA t R-73 화합물 AA t R-74	m R - 1 3	BdpFL-Phe-TF11GF-nBuG-I1PIG	0.76
		BdpFL-Phe-TF11GF-Pic2-I1PIG	0.00
		BdpFL-Phe-TF11GF-dA-I1PIG	0.00
	m R - 1 4	BdpFL-Phe-TF11GF-nBuG-I1PIG	0.00
		BdpFL-Phe-TF11GF-Pic2-I1PIG	0.33
		BdpFL-Phe-TF11GF-dA-I1PIG	0.00
	m R - 1 5	BdpFL-Phe-TF11GF-nBuG-I1PIG	0.00
		BdpFL-Phe-TF11GF-Pic2-I1PIG	0.00
		BdpFL-Phe-TF11GF-dA-I1PIG	0.37

[1713]

[1714] 1 코돈 복스에 있어서의 3 아미노산 관독의 번역 평가 결과의 표이다(평가한 코돈: GAU, GAA, GAG).

[1715] [표 28-7]

아미노아실화 tRNA	주형 mRNA서열	번역 펩티드 화합물	번역량 ( $\mu\text{M}$ )
화합물 AA t R-75 화합물 AA t R-76 화합물 AA t R-77	m R - 7	BdpFL-Phe-TF11GF-MeA3Pr-I1PIG	0.31
		BdpFL-Phe-TF11GF-StBuOH-I1PIG	0.00
		BdpFL-Phe-TF11GF-MeSnPr-I1PIG	0.00
	m R - 8	BdpFL-Phe-TF11GF-MeA3Pr-I1PIG	0.01
		BdpFL-Phe-TF11GF-StBuOH-I1PIG	0.86
		BdpFL-Phe-TF11GF-MeSnPr-I1PIG	0.02
	m R - 9	BdpFL-Phe-TF11GF-MeA3Pr-I1PIG	0.00
		BdpFL-Phe-TF11GF-StBuOH-I1PIG	0.00
		BdpFL-Phe-TF11GF-MeSnPr-I1PIG	0.55

[1716]

[1717] 1 코돈 복스에 있어서의 3 아미노산 관독의 번역 평가 결과의 표이다(평가한 코돈: CAU, CAA, CAG).

[1718] [표 28-8]

아미노아실화 tRNA	주형 mRNA서열	번역 펩티드 화합물	번역량 ( $\mu\text{M}$ )
화합물 AA t R-78 화합물 AA t R-79 화합물 AA t R-80	m R - 2 5	BdpFL-Phe-TF11GF-MeA3Pr-I1PIG	0.31
		BdpFL-Phe-TF11GF-StBuOH-I1PIG	0.00
		BdpFL-Phe-TF11GF-MeSnPr-I1PIG	0.00
	m R - 8	BdpFL-Phe-TF11GF-MeA3Pr-I1PIG	0.01
		BdpFL-Phe-TF11GF-StBuOH-I1PIG	0.80
		BdpFL-Phe-TF11GF-MeSnPr-I1PIG	0.00
	m R - 9	BdpFL-Phe-TF11GF-MeA3Pr-I1PIG	0.01
		BdpFL-Phe-TF11GF-StBuOH-I1PIG	0.02
		BdpFL-Phe-TF11GF-MeSnPr-I1PIG	0.46

[1719]

[1720] 1 코돈 복스에 있어서의 3 아미노산 관독의 번역 평가 결과의 표이다(평가한 코돈: CAC, CAA, CAG).

[1721] [표 28-9]

아미노아실화 tRNA	주형 mRNA서열	번역 펩티드 화합물	번역량 ( $\mu\text{M}$ )
화합물 AA t R-81 화합물 AA t R-82 화합물 AA t R-83	m R - 1 3	BdpFL-Phe-TF11GF-MeA3Pr-I1PIG	0.32
		BdpFL-Phe-TF11GF-StBuOH-I1PIG	0.00
		BdpFL-Phe-TF11GF-MeSnPr-I1PIG	0.00
	m R - 1 4	BdpFL-Phe-TF11GF-MeA3Pr-I1PIG	0.05
		BdpFL-Phe-TF11GF-StBuOH-I1PIG	0.75
		BdpFL-Phe-TF11GF-MeSnPr-I1PIG	0.02
	m R - 1 5	BdpFL-Phe-TF11GF-MeA3Pr-I1PIG	0.00
		BdpFL-Phe-TF11GF-StBuOH-I1PIG	0.01
		BdpFL-Phe-TF11GF-MeSnPr-I1PIG	0.52

[1722]

[1723] 1 코돈 복스에 있어서의 3 아미노산 관독의 번역 평가 결과의 표이다(평가한 코돈: GAU, GAA, GAG).

[1724] [표 29-1]

아미노아실화 tRNA	아미노아실화 tRNA 농도	주형 mRNA 서열	번역 펩티드 회합물	번역량 (μM)
회합물 AA tR-52	12.8 μM	mR-30	BdpFL-Phe-TFDFM eHph-IP E	1.26
		mR-31		0.18
		mR-32		1.22
		mR-33		0.62
	6.4 μM	mR-30		0.82
		mR-31		0.09
		mR-32		1.24
		mR-33		0.36
	3.2 μM	mR-30		0.80
		mR-31		0.05
		mR-32		0.86
		mR-33		0.22
	1.6 μM	mR-30		0.50
		mR-31		0.03
		mR-32		0.45
		mR-33		0.11
	0.8 μM	mR-30		0.30
		mR-31		0.02
		mR-32		0.31
		mR-33		0.08

[1725]

[1726] 단일 코돈에 대한 아미노아실화 tRNA 농도 의존적인, 목적 산물 및 동 코돈 복스 내의 크로스리드 번역물의 번역량의 변화를, 번역 실험으로 검증한 결과의 표이다(평가한 코돈: UCU, UCC, UCA, UCG).

[1727] [표 29-2]

아미노아실화 tRNA	아미노아실화 tRNA 농도	주형 mRNA 서열	번역 펩티드 회합물	XXA 번역량에 대한 비율 (%)
회합물 AA tR-52	12.8 μM	mR-30	BdpFL-Phe-TFDFM eHph-IP E	103.71
		mR-31		15.04
		mR-32		100.00
		mR-33		51.25
	6.4 μM	mR-30		65.60
		mR-31		7.24
		mR-32		100.00
		mR-33		28.77
	3.2 μM	mR-30		93.81
		mR-31		5.72
		mR-32		100.00
		mR-33		26.15
	1.6 μM	mR-30		109.74
		mR-31		6.94
		mR-32		100.00
		mR-33		25.36
	0.8 μM	mR-30		95.28
		mR-31		5.34
		mR-32		100.00
		mR-33		24.15

[1728]

[1729] 단일 코돈에 대한 아미노아실화 tRNA 농도 의존적인, 목적 산물 및 동 코돈 복스 내의 크로스리드 번역물의 번역량의 변화를, 번역 실험으로 검증하여, 목적 산물량과의 비율 산출한 결과의 표이다(평가한 코돈: UCU, UCC, UCA, UCG).

[1730] [표 30-1]

아미노아실화 tRNA	아미노아실화 tRNA 농도	주형 mRNA 서열	번역 펩티드 회합물	번역량 (μM)
회합물 AA tR-53	12.8 μM	mR-34	BdpFL-Phe-PFDFM eHph-IP E	0.79
		mR-35		0.50
		mR-36		0.98
		mR-37		0.61
	6.4 μM	mR-34		0.88
		mR-35		0.30
		mR-36		0.85
		mR-37		0.54
	3.2 μM	mR-34		0.64
		mR-35		0.25
		mR-36		1.09
		mR-37		0.44
	1.6 μM	mR-34		0.55
		mR-35		0.14
		mR-36		0.64
		mR-37		0.29
	0.8 μM	mR-34		0.26
		mR-35		0.07
		mR-36		0.32
		mR-37		0.15

[1731]

[1732] 단일 코돈에 대한 아미노아실화 tRNA 농도 의존적인, 목적 산물 및 동 코돈 복스 내의 크로스리드 번역물의 번역량의 변화를, 번역 실험으로 검증한 결과의 표이다(평가한 코돈: ACU, ACC, ACA, ACG).

[1733] [표 30-2]

아미노아실화 tRNA	아미노아실화 tRNA 농도	주형 mRNA 서열	번역 펩티드 회합물	XXA 번역량에 대한 비율 (%)
회합물 AA tR-53	12.8 μM	mR-34	BdpFL-Phe-PFLLG F-M eHph-IPG	81.10
		mR-35		50.86
		mR-36		100.00
		mR-37		62.59
	6.4 μM	mR-34		102.50
		mR-35		35.06
		mR-36		100.00
		mR-37		63.60
	3.2 μM	mR-34		58.61
		mR-35		23.37
		mR-36		100.00
		mR-37		40.64
	1.6 μM	mR-34		86.06
		mR-35		21.38
		mR-36		100.00
		mR-37		45.21
	0.8 μM	mR-34		80.76
		mR-35		20.68
		mR-36		100.00
		mR-37		46.62

[1734]

[1735]

단일 코돈에 대한 아미노아실화 tRNA 농도 의존적인, 목적 산물 및 동 코돈 복스 내의 크로스리드 번역물의 번역량의 변화를, 번역 실험으로 검증하여, 목적 산물량과의 비율 산출한 결과의 표이다(평가한 코돈: ACU, ACC, ACA, ACG).

[1736]

[표 31-1]

아미노아실화 tRNA	아미노아실화 tRNA 농도	주형 mRNA 서열	번역 펩티드 회합물	번역량 (μM)
회합물 AA tR-54	12.8 μM	mR-38	BdpFL-Phe-TFLLG F-M eHph-LLPLG	0.30
		mR-39		0.01
		mR-40		0.70
		mR-41		0.56
	6.4 μM	mR-38		0.20
		mR-39		0.00
		mR-40		0.47
		mR-41		0.31
	3.2 μM	mR-38		0.11
		mR-39		0.00
		mR-40		0.30
		mR-41		0.17
	1.6 μM	mR-38		0.06
		mR-39		0.00
		mR-40		0.16
		mR-41		0.09
	0.8 μM	mR-38		0.03
		mR-39		0.00
		mR-40		0.09
		mR-41		0.05

[1737]

[1738]

단일 코돈에 대한 아미노아실화 tRNA 농도 의존적인, 목적 산물 및 동 코돈 복스 내의 크로스리드 번역물의 번역량의 변화를, 번역 실험으로 검증한 결과의 표이다(평가한 코돈: AUU, AUC, AUA, AUG).

[1739]

[표 31-2]

아미노아실화 tRNA	아미노아실화 tRNA 농도	주형 mRNA 서열	번역 펩티드 회합물	XXA 번역량에 대한 비율 (%)
회합물 AA tR-54	12.8 μM	mR-38	BdpFL-Phe-TFLLG F-M eHph-LLPLG	42.15
		mR-39		1.31
		mR-40		100.00
		mR-41		79.24
	6.4 μM	mR-38		42.10
		mR-39		0.00
		mR-40		100.00
		mR-41		65.60
	3.2 μM	mR-38		35.22
		mR-39		0.00
		mR-40		100.00
		mR-41		57.26
	1.6 μM	mR-38		37.49
		mR-39		0.00
		mR-40		100.00
		mR-41		53.26
	0.8 μM	mR-38		33.80
		mR-39		0.00
		mR-40		100.00
		mR-41		55.92

[1740]

[1741]

단일 코돈에 대한 아미노아실화 tRNA 농도 의존적인, 목적 산물 및 동 코돈 복스 내의 크로스리드 번역물의 번역량의 변화를, 번역 실험으로 검증하여, 목적 산물량과의 비율 산출한 결과의 표이다(평가한 코돈: AUU, AUC, AUA, AUG).

[1742] [표 32-1]

아미노아실화 tRNA	아미노아실화 tRNA 농도	주형 mRNA 서열	번역 펩티드 화합물	번역량 (μM)
화합물 AA tR-55	12.8 μM	mR-38	BdpFL-Phe-TFLLGF-M eHph-LLPLG	0.21
		mR-39		0.00
		mR-40		0.77
		mR-41		0.43
	6.4 μM	mR-38		0.13
		mR-39		0.00
		mR-40		0.53
		mR-41		0.24
	3.2 μM	mR-38		0.08
		mR-39		0.00
		mR-40		0.36
		mR-41		0.12
	1.6 μM	mR-38		0.04
		mR-39		0.00
		mR-40		0.19
		mR-41		0.04
	0.8 μM	mR-38		0.02
		mR-39		0.00
		mR-40		0.11
		mR-41		0.03

[1743]

[1744] 단일 코돈에 대한 아미노아실화 tRNA 농도 의존적인, 목적 산물 및 동 코돈 복스 내의 크로스리드 번역물의 번역량의 변화를, 번역 실험으로 검증한 결과의 표이다(평가한 코돈: AUU, AUC, AUA, AUG).

[1745] [표 32-2]

아미노아실화 tRNA	아미노아실화 tRNA 농도	주형 mRNA 서열	번역 펩티드 화합물	XXA 번역량에 대한 비율 (%)
화합물 AA tR-55	12.8 μM	mR-38	BdpFL-Phe-TFLLGF-M eHph-LLPLG	27.95
		mR-39		0.00
		mR-40		100.00
		mR-41		56.55
	6.4 μM	mR-38		24.78
		mR-39		0.00
		mR-40		100.00
		mR-41		44.82
	3.2 μM	mR-38		22.45
		mR-39		0.00
		mR-40		100.00
		mR-41		34.96
	1.6 μM	mR-38		21.43
		mR-39		0.00
		mR-40		100.00
		mR-41		21.04
	0.8 μM	mR-38		16.07
		mR-39		0.00
		mR-40		100.00
		mR-41		25.31

[1746]

[1747] 단일 코돈에 대한 아미노아실화 tRNA 농도 의존적인, 목적 산물 및 동 코돈 복스 내의 크로스리드 번역물의 번역량의 변화를, 번역 실험으로 검증하여, 목적 산물량과의 비율 산출한 결과의 표이다(평가한 코돈: AUU, AUC, AUA, AUG).

[1748] [표 33-1]

아미노아실화 tRNA	아미노아실화 tRNA 농도	주형 mRNA 서열	번역 펩티드 화합물	번역량 (μM)
화합물 AA tR-56	12.8 μM	mR-38	BdpFL-Phe-TFLLGF-Ib-LLPLG	0.91
		mR-39		0.55
		mR-40		1.11
		mR-41		1.25
	6.4 μM	mR-38		0.82
		mR-39		0.47
		mR-40		0.95
		mR-41		1.09
	3.2 μM	mR-38		0.69
		mR-39		0.34
		mR-40		0.76
		mR-41		0.62
	1.6 μM	mR-38		0.39
		mR-39		0.25
		mR-40		0.53
		mR-41		0.31
	0.8 μM	mR-38		0.23
		mR-39		0.13
		mR-40		0.25
		mR-41		0.14

[1749]

[1750] 단일 코돈에 대한 아미노아실화 tRNA 농도 의존적인, 목적 산물 및 동 코돈 복스 내의 크로스리드 번역물의 번역량의 변화를, 번역 실험으로 검증한 결과의 표이다(평가한 코돈: AUU, AUC, AUA, AUG).

[1751] [표 33-2]

아미노아실화 tRNA	아미노아실화 tRNA 농도	주형 mRNA 서열	번역 캡티드 화합물	XXA 번역량에 대한 비율 (%)
화합물 AA tR-56	12.8 μM	mR-38	BdpFL-Phe-TFLLGF-Je-LLPLG	82.07
		mR-39		49.45
		mR-40		100.00
		mR-41		112.80
	6.4 μM	mR-38		86.46
		mR-39		49.15
		mR-40		100.00
		mR-41		115.09
	3.2 μM	mR-38		90.81
		mR-39		44.24
		mR-40		100.00
		mR-41		82.09
	1.6 μM	mR-38		73.46
		mR-39		47.96
		mR-40		100.00
		mR-41		58.19
	0.8 μM	mR-38		89.86
		mR-39		50.80
		mR-40		100.00
		mR-41		54.77

[1752]

[1753]

단일 코돈에 대한 아미노아실화 tRNA 농도 의존적인, 목적 산물 및 동 코돈 박스 내의 크로스리드 번역물의 번역량의 변화를, 번역 실험으로 검증하여, 목적 산물량과의 비율 산출한 결과의 표이다(평가한 코돈: AUU, AUC, AUA, AUG).

[1754]

전술한 발명은, 명확한 이해를 돕는 목적 아래, 실례 및 예시를 이용하여 상세히 기재했지만, 본 명세서에 있어서의 기재 및 예시는, 본 발명의 범위를 한정하는 것이라고 해석되어서는 안 된다. 본 명세서에서 인용한 모든 특허문헌 및 과학문헌의 개시는, 그 전체에 걸쳐서, 참조에 의해 명시적으로 본 명세서에 인용된다.

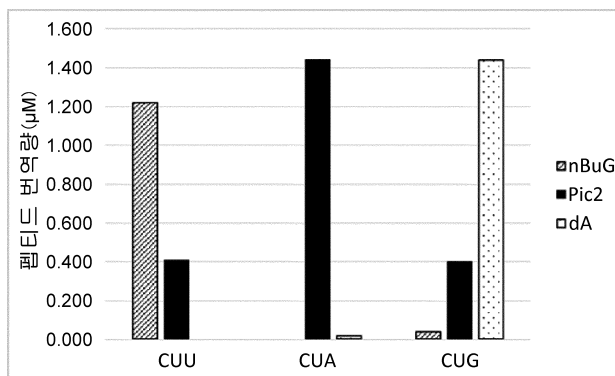
**산업상 이용가능성**

[1755]

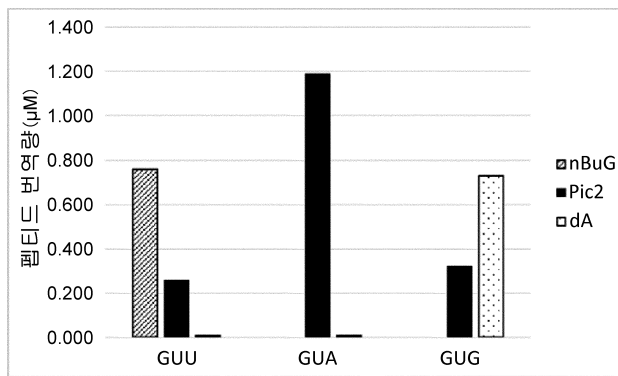
일 태양에 있어서, 본 개시의 tRNA는, 천연의 유전 암호표에서는 판독되어 있지 않은 NNA의 코돈과 NNG의 코돈, NNU의 코돈과 NNA의 코돈과 NNG의 코돈, 및 NNC의 코돈과 NNA의 코돈과 NNG의 코돈의 판독이 가능한 점에서 유용하다. 일 태양에 있어서, 본 개시의 번역계는, 천연의 유전 암호표를 이용한 번역계보다도 많은 종류의 아미노산을 번역하는 것(코돈 확장)이 가능한 점에서 유용하다.

**도면**

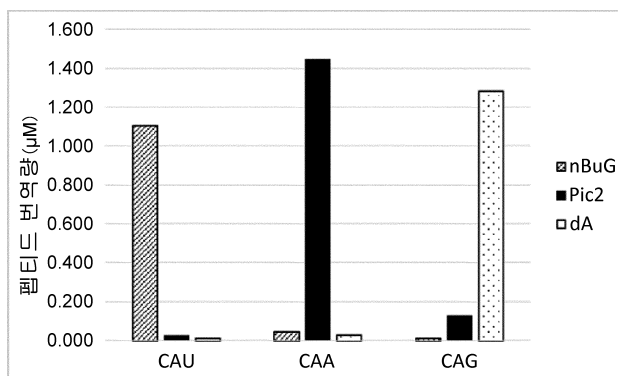
**도면1**



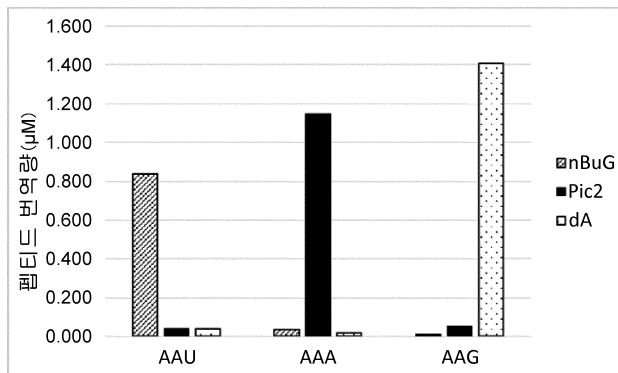
도면2



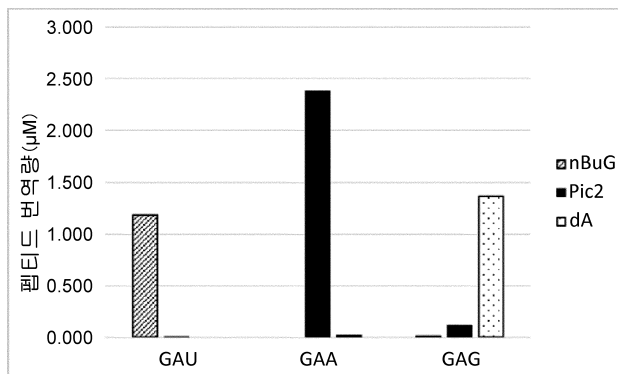
도면3



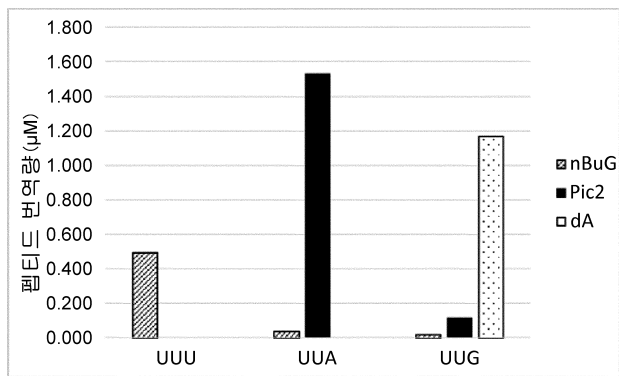
도면4



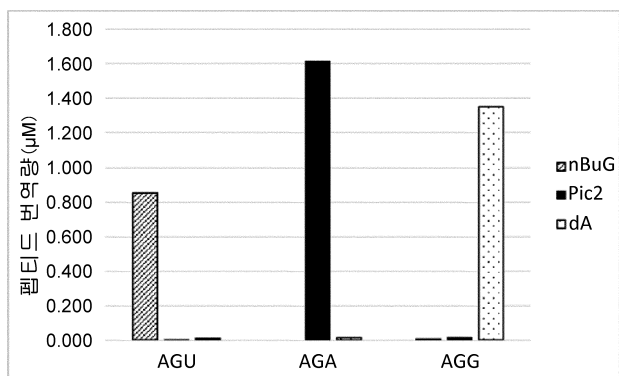
도면5



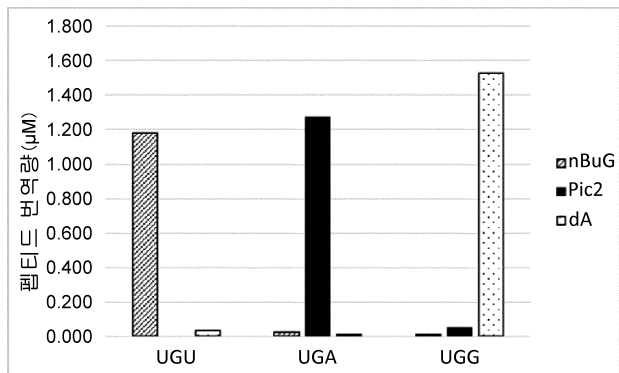
도면6



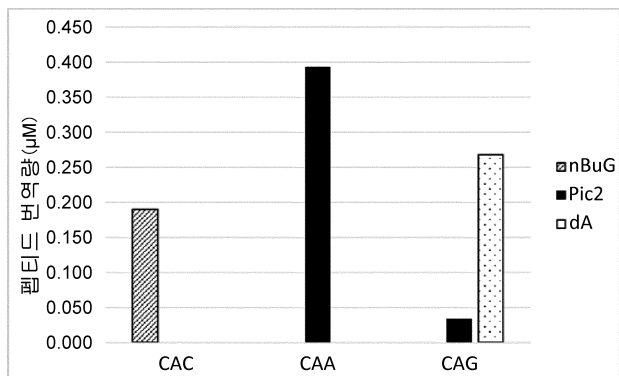
도면7



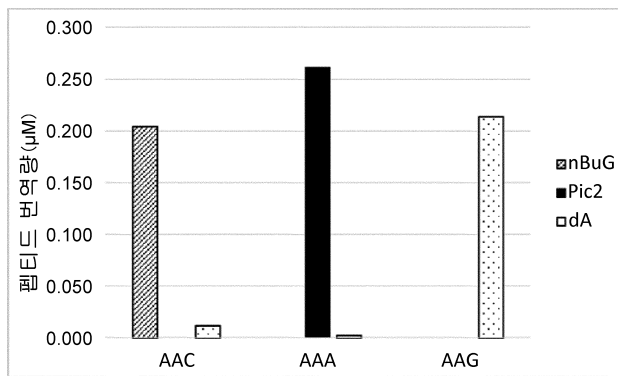
도면8



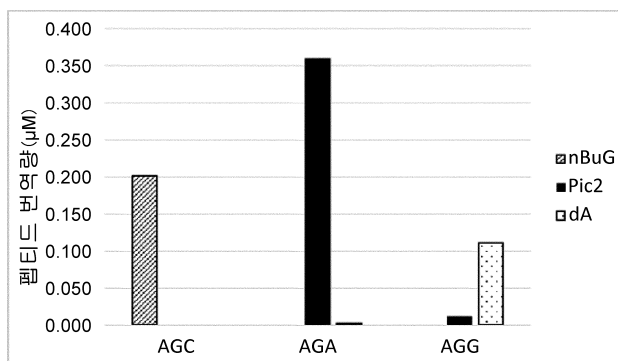
도면9



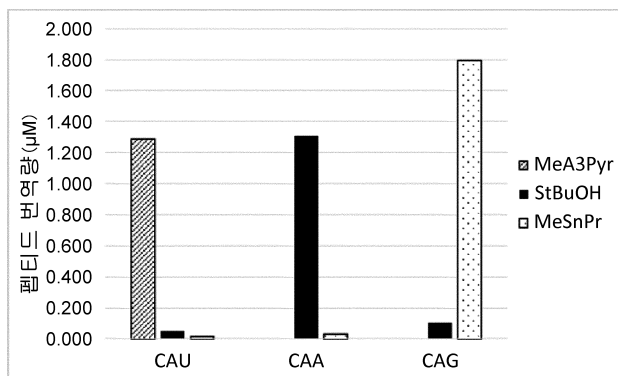
도면10



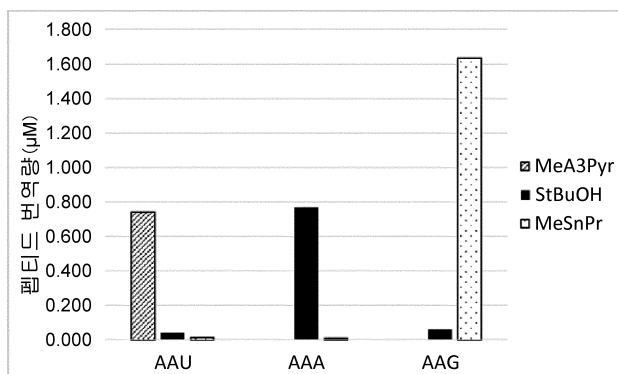
도면11



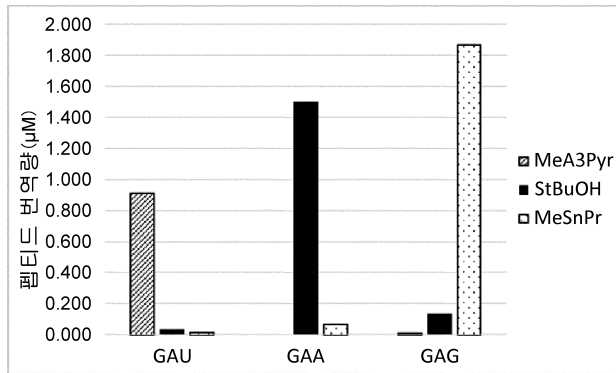
도면12



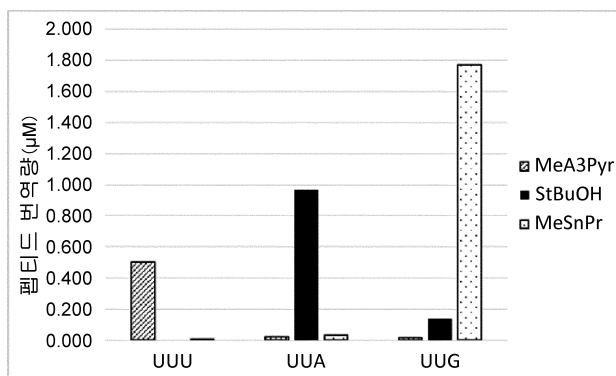
도면13



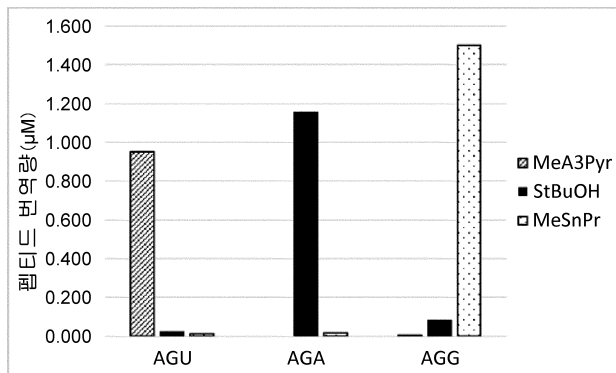
도면14



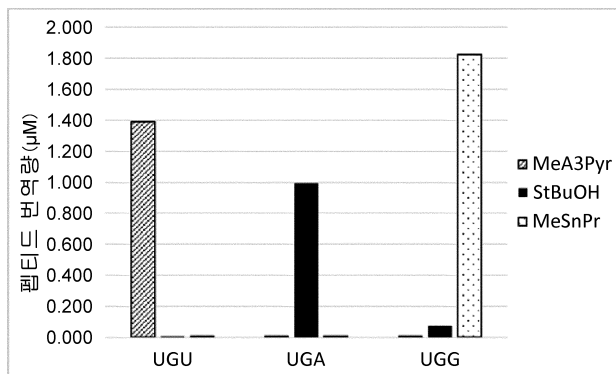
도면15



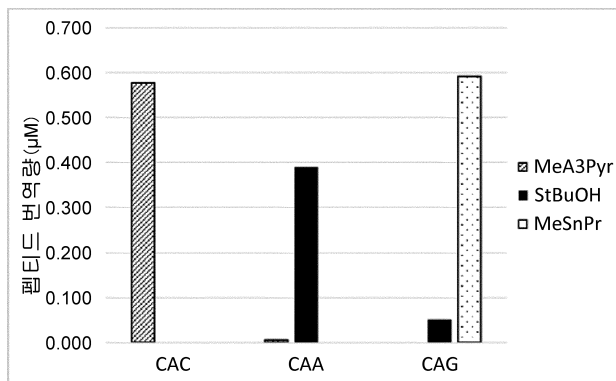
도면16



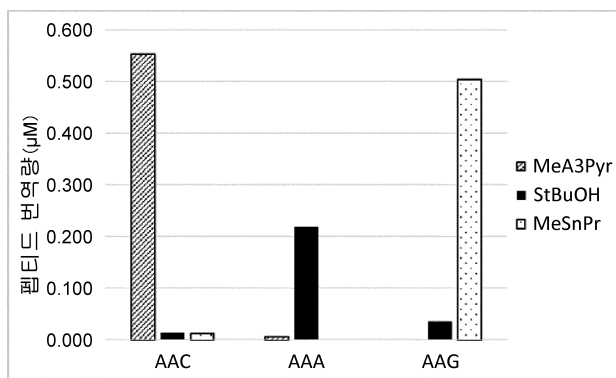
도면17



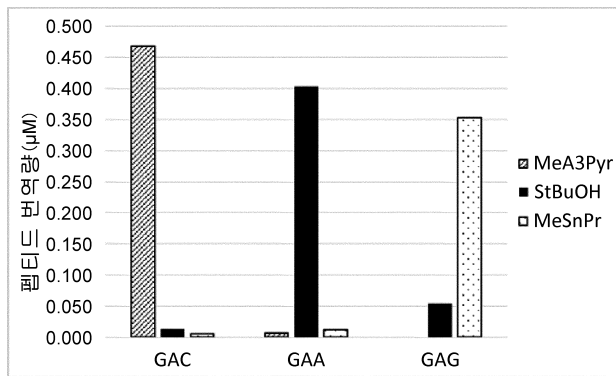
도면18



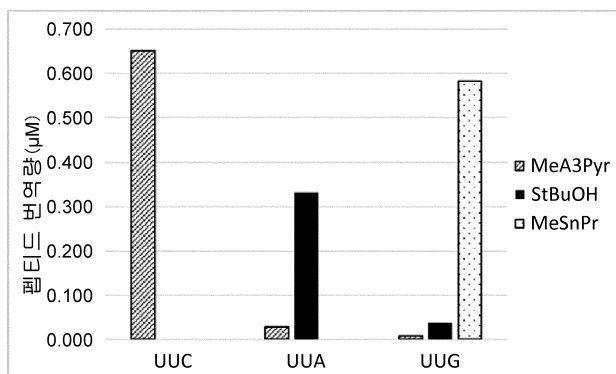
도면19



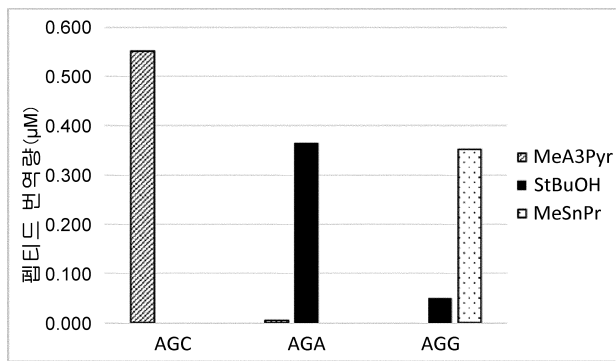
도면20



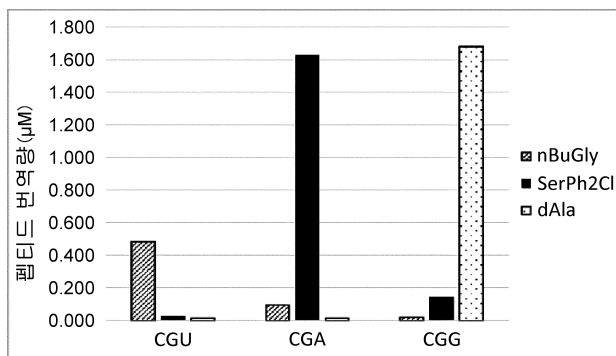
도면21



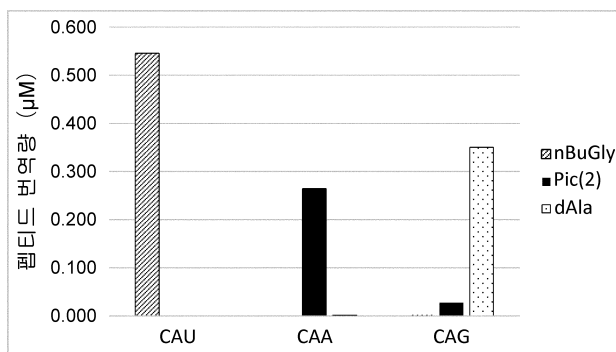
도면22



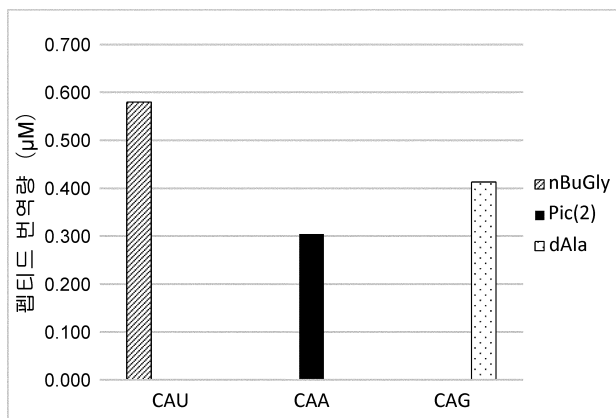
도면23a



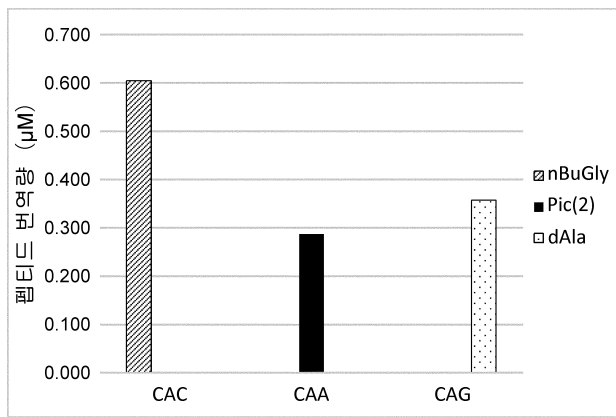
도면23b



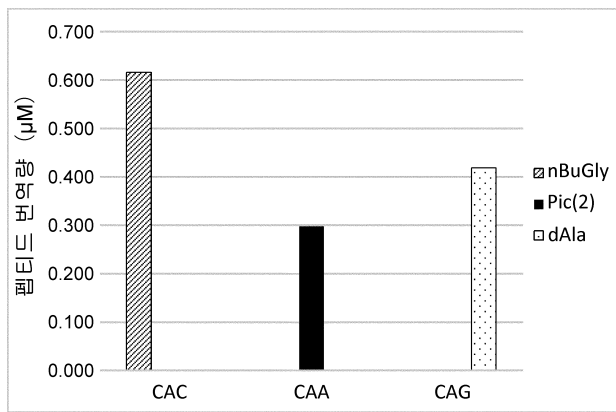
도면23c



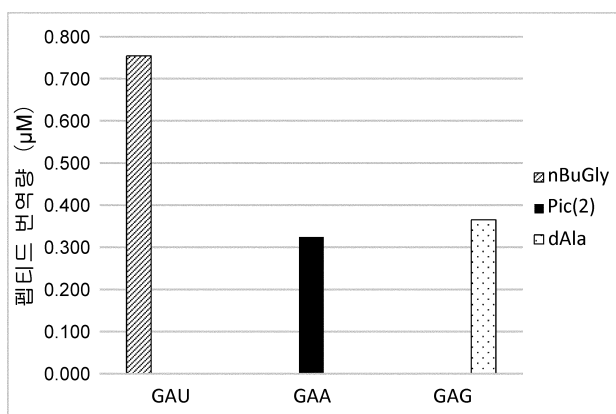
도면23d



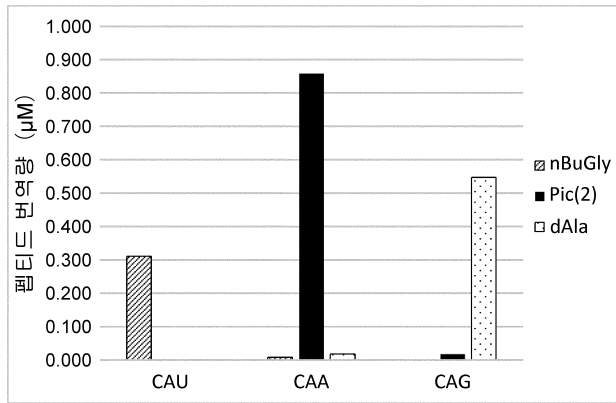
도면23e



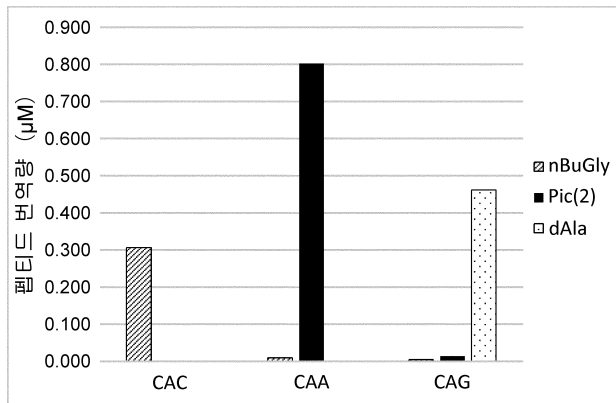
도면23f



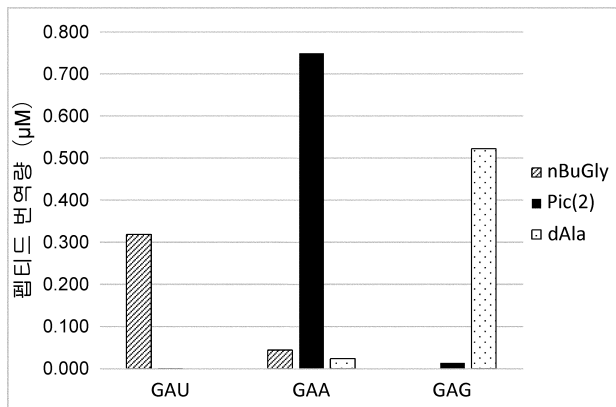
도면23g



도면23h

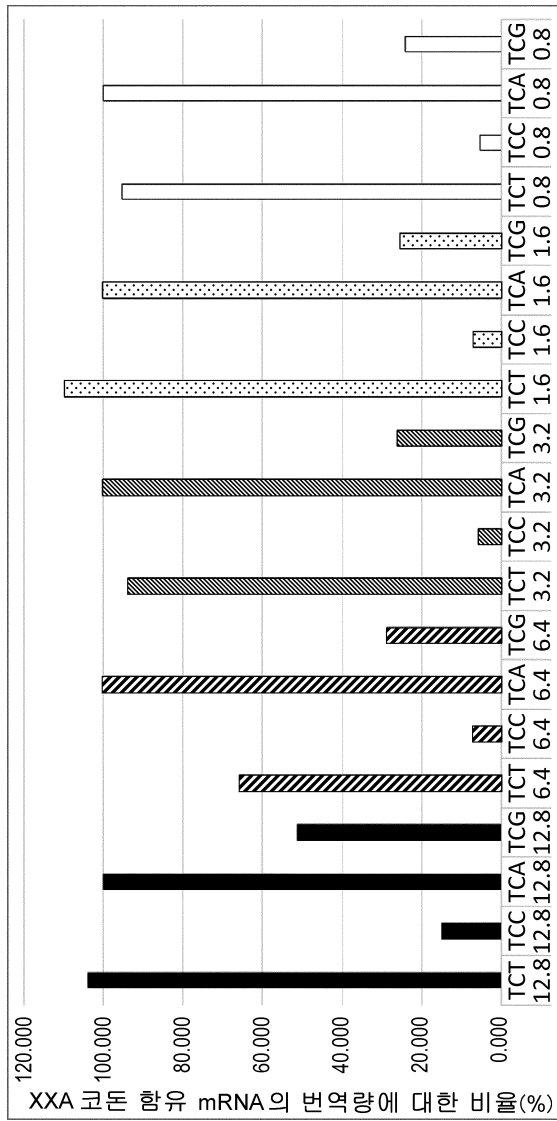


도면23i



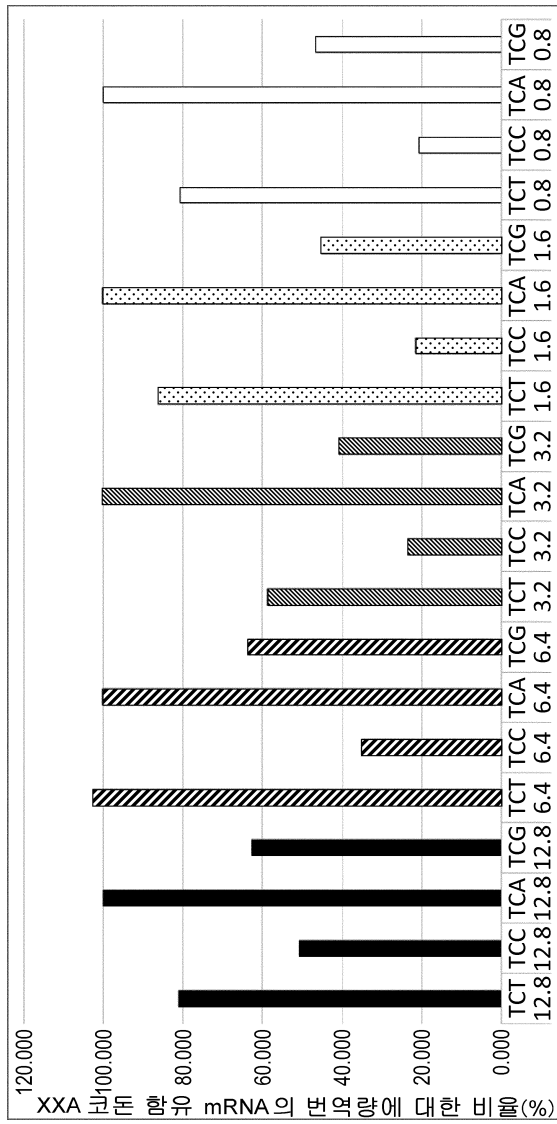


도면24b

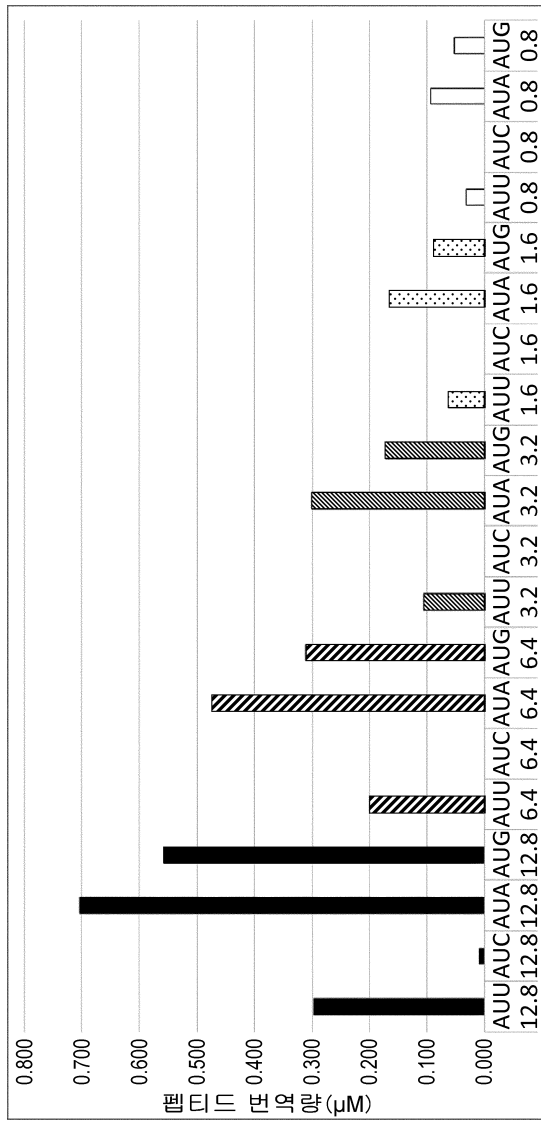




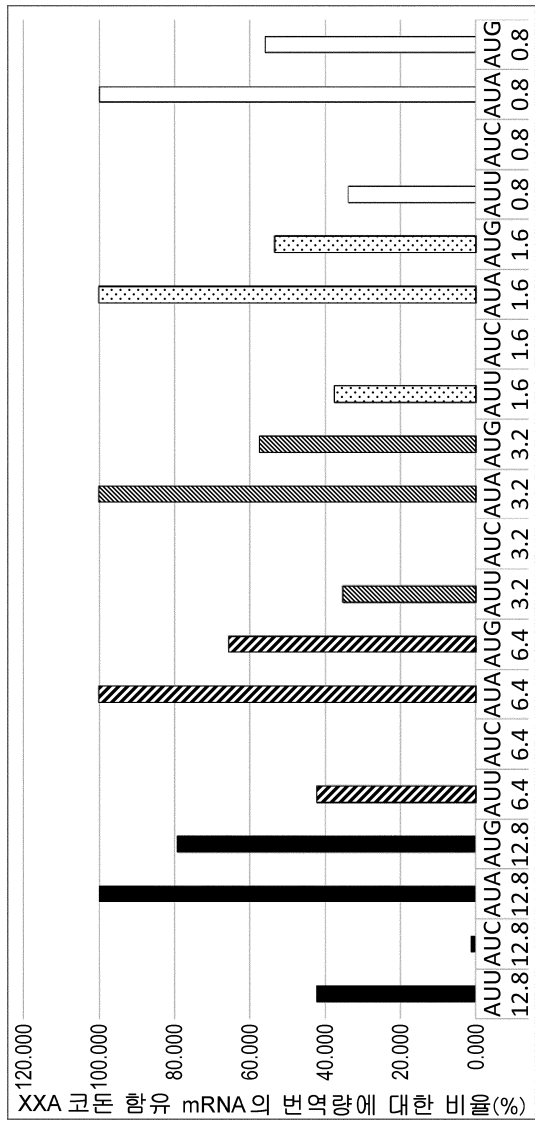
도면25b



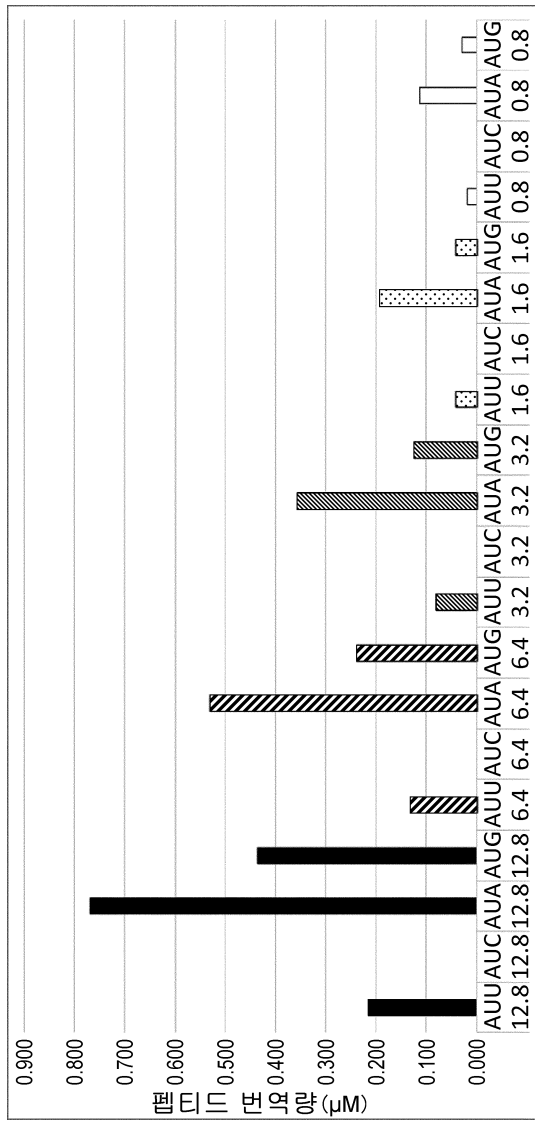
도면26a



도면26b



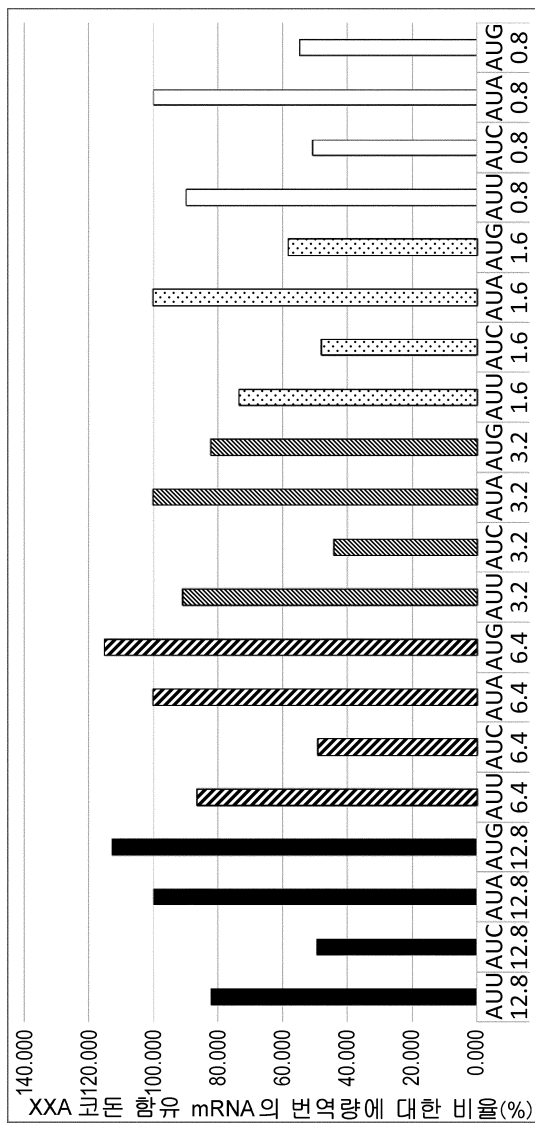
도면27a







도면28b



서열목록

SEQUENCE LISTING

- <110> CHUGAI SEIYAKU KABUSHIKI KAISHA
- <120> Translation system with altered genetic code table
- <130> C1-A2018P
- <150> JP 2020-109576
- <151> 2020-06-25
- <160> 283
- <170> PatentIn version 3.5
- <210> 1
- <211> 95
- <212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> D-1

<400> 1

ggcgtataac gactcactat agtccccttc gtctagaggc ccaggacacc gcctaagac 60

ggcgtataca ggggttcgaa tcccctaggg gacgc 95

<210> 2

<211> 95

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> D-2

<400> 2

ggcgtataac gactcactat agtccccttc gtctagaggc ccaggacacc gccttagac 60

ggcgtataca ggggttcgaa tcccctaggg gacgc 95

<210> 3

<211> 95

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> D-3

<400> 3

ggcgtataac gactcactat agtccccttc gtctagaggc ccaggacacc gcctcagac 60

ggcgtataca ggggttcgaa tcccctaggg gacgc 95

<210> 4

<211> 95

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> D-4

<400> 4

ggcgtataac gactcactat agtccccttc gtctagaggc ccaggacacc gcctaacac 60

ggcgtataca ggggttcgaa tcccctaggg gacgc 95

<210> 5

<211> 95

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> D-5  
 <400> 5  
 ggcgtaatac gactcactat agtccccttc gtctagaggc ccaggacacc gccttacac 60  
 ggcggaaca ggggttcgaa tcccctaggg gacgc 95  
 <210> 6  
 <211> 95  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> D-6  
 <400> 6  
 ggcgtaatac gactcactat agtccccttc gtctagaggc ccaggacacc gcctcacac 60  
 ggcggaaca ggggttcgaa tcccctaggg gacgc 95  
 <210> 7  
 <211> 95  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> D-7  
 <400> 7  
 ggcgtaatac gactcactat agtccccttc gtctagaggc ccaggacacc gcctatgac 60  
 ggcggaaca ggggttcgaa tcccctaggg gacgc 95  
 <210> 8  
 <211> 95  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> D-8  
 <400> 8  
 ggcgtaatac gactcactat agtccccttc gtctagaggc ccaggacacc gcctttgac 60  
 ggcggaaca ggggttcgaa tcccctaggg gacgc 95  
 <210> 9  
 <211> 95  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> D-9

<400> 9  
 ggcgtaatac gactcactat agtccccttc gtctagaggc ccaggacacc gcctctgac 60  
 ggcggttaaca ggggttcgaa tcccctaggg gacgc 95  
 <210> 10  
 <211> 95  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> D-10  
 <400> 10  
 ggcgtaatac gactcactat agtccccttc gtctagaggc ccaggacacc gcctattac 60  
 ggcggttaaca ggggttcgaa tcccctaggg gacgc 95  
 <210> 11  
 <211> 95  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> D-11  
 <400> 11  
 ggcgtaatac gactcactat agtccccttc gtctagaggc ccaggacacc gccttttac 60  
 ggcggttaaca ggggttcgaa tcccctaggg gacgc 95  
 <210> 12  
 <211> 95  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> D-12  
 <400> 12  
 ggcgtaatac gactcactat agtccccttc gtctagaggc ccaggacacc gcctcttac 60  
 ggcggttaaca ggggttcgaa tcccctaggg gacgc 95  
 <210> 13  
 <211> 95  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> D-13  
 <400> 13

ggcgtataac gactcaactat agtccccttc gtctagagge ccaggacacc gcctatcac 60  
ggcgtataca ggggttcgaa tcccctaggg gacgc 95  
<210> 14  
<211> 95  
<212> DNA  
<213> Artificial Sequence  
<220><223> D-14  
<400> 14  
ggcgtataac gactcaactat agtccccttc gtctagagge ccaggacacc gcctttcac 60  
ggcgtataca ggggttcgaa tcccctaggg gacgc 95  
<210> 15  
<211> 95  
<212> DNA  
<213> Artificial Sequence  
<220><223> D-15  
<400> 15  
ggcgtataac gactcaactat agtccccttc gtctagagge ccaggacacc gcctctcac 60  
ggcgtataca ggggttcgaa tcccctaggg gacgc 95  
<210> 16  
<211> 95  
<212> DNA  
<213> Artificial Sequence  
<220><223> D-16  
<400> 16  
ggcgtataac gactcaactat agtccccttc gtctagagge ccaggacacc gcctaaaac 60  
ggcgtataca ggggttcgaa tcccctaggg gacgc 95  
<210> 17  
<211> 95  
<212> DNA  
<213> Artificial Sequence  
<220><223> D-17  
<400> 17  
ggcgtataac gactcaactat agtccccttc gtctagagge ccaggacacc gccttaaac 60

ggcggtaaca ggggttcgaa tcccctaggg gacgc 95  
 <210> 18  
 <211> 95  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> D-18  
 <400> 18  
 ggcgtaatac gactcactat agtccccttc gtctagaggc ccaggacacc gcctcaaac 60  
 ggcggtaaca ggggttcgaa tcccctaggg gacgc 95  
 <210> 19  
 <211> 95  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> D-19  
 <400> 19  
 ggcgtaatac gactcactat agtccccttc gtctagaggc ccaggacacc gcctactac 60  
 ggcggtaaca ggggttcgaa tcccctaggg gacgc 95  
 <210> 20  
 <211> 95  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> D-20  
 <400> 20  
 ggcgtaatac gactcactat agtccccttc gtctagaggc ccaggacacc gccttctac 60  
 ggcggtaaca ggggttcgaa tcccctaggg gacgc 95  
 <210> 21  
 <211> 95  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> D-21  
 <400> 21  
 ggcgtaatac gactcactat agtccccttc gtctagaggc ccaggacacc gcctcctac 60  
 ggcggtaaca ggggttcgaa tcccctaggg gacgc 95

<210> 22  
 <211> 95  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> D-22  
 <400> 22  
 ggcgtaatac gactcactat agtccccttc gtctagaggc ccaggacacc gccttcaac 60  
 ggcgtaaca ggggttcgaa tcccctaggg gacgc 95  
 <210> 23  
 <211> 95  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> D-23  
 <400> 23  
  
 ggcgtaatac gactcactat agtccccttc gtctagaggc ccaggacacc gccttcaac 60  
 ggcgtaaca ggggttcgaa tcccctaggg gacgc 95  
 <210> 24  
 <211> 95  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> D-24  
 <400> 24  
 ggcgtaatac gactcactat agtccccttc gtctagaggc ccaggacacc gcctccaac 60  
 ggcgtaaca ggggttcgaa tcccctaggg gacgc 95  
 <210> 25  
 <211> 95  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> D-25  
 <400> 25  
 ggcgtaatac gactcactat aggcggggtg gagcagcctg gtagctcgtc gggtcataa 60  
  
 cccgaagatc gtcggttcaa atccggcccc cgcaa 95  
 <210> 26

<211> 95  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> D-26  
 <400> 26  
 ggcgtaatac gactcactat agtccccttc gtctagagge ccaggacacc gcctgtgac 60  
 ggcgtaaca ggggttcgaa tcccctaggg gacgc 95  
 <210> 27  
 <211> 95  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> D-27  
 <400> 27  
 ggcgtaatac gactcactat agtccccttc gtctagagge ccaggacacc gcctgttac 60  
 ggcgtaaca ggggttcgaa tcccctaggg gacgc 95  
  
 <210> 28  
 <211> 95  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> D-28  
 <400> 28  
 ggcgtaatac gactcactat agtccccttc gtctagagge ccaggacacc gcctgtcac 60  
 ggcgtaaca ggggttcgaa tcccctaggg gacgc 95  
 <210> 29  
 <211> 95  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> D-29  
 <400> 29  
 ggcgtaatac gactcactat agtccccttc gtctagagge ccaggacacc gcctgaaac 60  
 ggcgtaaca ggggttcgaa tcccctaggg gacgc 95  
 <210> 30  
  
 <211> 95

<212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> D-30  
 <400> 30  
 ggcgtaatac gactcactat agtccccttc gtctagaggc ccaggacacc gccttgetac 60  
 ggcggtaaca ggggttcgaa tcccctaggg gacgc 95  
 <210> 31  
 <211> 95  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> D-31  
 <400> 31  
 ggcgtaatac gactcactat agtccccttc gtctagaggc ccaggacacc gccttgaac 60  
 ggcggtaaca ggggttcgaa tcccctaggg gacgc 95  
 <210> 32  
 <211> 95  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> D-32  
 <400> 32  
 ggcgtaatac gactcactat agtccccttc gtctagaggc ccaggacacc gccttgtac 60  
 ggcggtaaca ggggttcgaa tcccctaggg gacgc 95  
 <210> 33  
 <211> 95  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> D-33  
 <400> 33  
 ggcgtaatac gactcactat agtccccttc gtctagaggc ccaggacacc gccttatac 60  
 ggcggtaaca ggggttcgaa tcccctaggg gacgc 95  
 <210> 34  
 <211> 95  
 <212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> D-34

<400> 34

ggcgtaatac gactcactat aggcccctta gctcagtggg tagagcaggc gacttataat 60

cgcttggtcg ctggttcaag tccagcaggg gccac 95

<210> 35

<211> 95

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> D-76

<400> 35

ggcgtaatac gactcactat agtccccttc gtctagaggc ccaggacacc gccttgcgac 60

ggcgtaaca ggggttcgaa tcccctaggg gacgc 95

<210> 36

<211> 95

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> D-77

<400> 36

ggcgtaatac gactcactat agtccccttc gtctagaggc ccaggacacc gccttgcgac 60

ggcgtaaca ggggttcgaa tcccctaggg gacgc 95

<210> 37

<211> 95

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> D-78

<400> 37

ggcgtaatac gactcactat agtccccttc gtctagaggc ccaggacacc gcctccgac 60

ggcgtaaca ggggttcgaa tcccctaggg gacgc 95

<210> 38

<211> 74

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> TR-1

<400> 38

guccccuucg ucuagaggcc caggacaccg ccuaagacg gcgguaacag gguucgaau 60

cccuagggg acgc 74

<210> 39

<211> 74

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> TR-2

<400> 39

guccccuucg ucuagaggcc caggacaccg ccuaagacg gcgguaacag gguucgaau 60

cccuagggg acgc 74

<210> 40

<211> 74

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> TR-3

<400> 40

guccccuucg ucuagaggcc caggacaccg ccucagacg gcgguaacag gguucgaau 60

cccuagggg acgc 74

<210> 41

<211> 74

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> TR-4

<400> 41

guccccuucg ucuagaggcc caggacaccg ccuaacacg gcgguaacag gguucgaau 60

cccuagggg acgc 74

<210> 42

<211> 74

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> TR-5

<400> 42  
 guccccuucg ucuagaggcc caggacaccg ccuuacacg gcgguaacag gggucgaau 60

ccccuagggg acgc 74

<210> 43  
 <211> 74  
 <212> RNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> TR-6

<400> 43  
 guccccuucg ucuagaggcc caggacaccg ccucacacg gcgguaacag gggucgaau 60  
 ccccuagggg acgc 74

<210> 44  
 <211> 74  
 <212> RNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> TR-7

<400> 44  
 guccccuucg ucuagaggcc caggacaccg ccuugacg gcgguaacag gggucgaau 60  
 ccccuagggg acgc 74

<210> 45  
 <211> 74  
 <212> RNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> TR-8

<400> 45  
 guccccuucg ucuagaggcc caggacaccg ccuuugacg gcgguaacag gggucgaau 60  
 ccccuagggg acgc 74

<210> 46  
 <211> 74  
 <212> RNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> TR-9

<400> 46

guccccuucg ucuagaggcc caggacaccg ccucugacg gcgguaacag gggucgaau 60  
 cccuagggg acgc 74  
 <210> 47

<211> 74  
 <212> RNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> TR-10  
 <400> 47

guccccuucg ucuagaggcc caggacaccg ccuauuacg gcgguaacag gggucgaau 60  
 cccuagggg acgc 74  
 <210> 48  
 <211> 74  
 <212> RNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> TR-11  
 <400> 48

guccccuucg ucuagaggcc caggacaccg ccuuuuacg gcgguaacag gggucgaau 60  
 cccuagggg acgc 74  
 <210> 49  
 <211> 74

<212> RNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> TR-12  
 <400> 49

guccccuucg ucuagaggcc caggacaccg ccucuuacg gcgguaacag gggucgaau 60  
 cccuagggg acgc 74  
 <210> 50  
 <211> 74  
 <212> RNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> TR-13  
 <400> 50

guccccuucg ucuagaggcc caggacaccg ccuauacg gcgguaacag gggucgaau 60

cccuagggg acgc	74
<210> 51	
<211> 74	
<212> RNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> TR-14	
<400> 51	
gucuccuucg ucuagaggcc caggacaccg ccuuucacg gcgguaacag gguucgaau	60
cccuagggg acgc	74
<210> 52	
<211> 74	
<212> RNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> TR-15	
<400> 52	
gucuccuucg ucuagaggcc caggacaccg ccucucacg gcgguaacag gguucgaau	60
cccuagggg acgc	74
<210> 53	
<211> 74	
<212> RNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> TR-16	
<400> 53	
gucuccuucg ucuagaggcc caggacaccg ccuuaaacg gcgguaacag gguucgaau	60
cccuagggg acgc	74
<210> 54	
<211> 74	
<212> RNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> TR-17	
<400> 54	
gucuccuucg ucuagaggcc caggacaccg ccuuaaacg gcgguaacag gguucgaau	60
cccuagggg acgc	74

<210> 55  
 <211> 74  
 <212> RNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223>  
 > TR-18  
 <400> 55  
 guccccuucg ucuagaggcc caggacaccg ccucaaacg gcgguaacag gguucgaau 60  
 cccuagggg acgc 74  
 <210> 56  
 <211> 74  
 <212> RNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> TR-19  
 <400> 56  
 guccccuucg ucuagaggcc caggacaccg ccuacuacg gcgguaacag gguucgaau 60  
 cccuagggg acgc 74  
 <210> 57  
 <211> 74  
 <212> RNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> TR-20  
  
 <400> 57  
 guccccuucg ucuagaggcc caggacaccg ccuucuacg gcgguaacag gguucgaau 60  
 cccuagggg acgc 74  
 <210> 58  
 <211> 74  
 <212> RNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> TR-21  
 <400> 58  
 guccccuucg ucuagaggcc caggacaccg ccuccuacg gcgguaacag gguucgaau 60  
 cccuagggg acgc 74  
 <210> 59

<211> 74  
 <212> RNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> TR-22  
 <400> 59

guccccuucg ucuagaggcc caggacaccg ccugcaacg gcgguaacag ggguucgaau 60  
 ccccuagggg acgc 74

<210> 60  
 <211> 74  
 <212> RNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> TR-23  
 <400> 60

guccccuucg ucuagaggcc caggacaccg ccucucaacg gcgguaacag ggguucgaau 60  
 ccccuagggg acgc 74

<210> 61  
 <211> 74  
 <212> RNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> TR-24  
 <400> 61

guccccuucg ucuagaggcc caggacaccg ccuccaacg gcgguaacag ggguucgaau 60  
 ccccuagggg acgc 74

<210> 62  
 <211> 74  
 <212> RNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> TR-25  
 <400> 62

ggcggggugg agcagccugg uagcucgucg ggcucuaaac ccgaagaucg ucgguucaaa 60  
 uccggccccc gcaa 74

<210> 63  
 <211> 74

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> TR-26

<400> 63

guccccuucg ucuagaggcc caggacaccg ccugugacg gcgguaacag gguucgaau 60

cccuagggg acgc 74

<210> 64

<211> 74

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> TR-27

<400> 64

guccccuucg ucuagaggcc caggacaccg ccuguuacg gcgguaacag gguucgaau 60

cccuagggg acgc 74

<210> 65

<211> 74

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> TR-28

<400> 65

guccccuucg ucuagaggcc caggacaccg ccugucacg gcgguaacag gguucgaau 60

cccuagggg acgc 74

<210> 66

<211> 74

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> TR-29

<400> 66

guccccuucg ucuagaggcc caggacaccg ccugaaacg gcgguaacag gguucgaau 60

cccuagggg acgc 74

<210> 67

<211> 74

<212> RNA

<213> Artificial Sequence  
 <220><223> TR-30  
 <400> 67  
 guccccuucg ucuagaggcc caggacaccg ccugcuacg gcgguaacag gguucgaau 60  
 ccccuagggg acgc 74  
 <210> 68  
 <211> 74

<212> RNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> TR-31  
 <400> 68  
 guccccuucg ucuagaggcc caggacaccg ccuugaacg gcgguaacag gguucgaau 60  
 ccccuagggg acgc 74  
 <210> 69  
 <211> 74  
 <212> RNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> TR-32  
 <400> 69  
 guccccuucg ucuagaggcc caggacaccg ccuuguacg gcgguaacag gguucgaau 60  
 ccccuagggg acgc 74  
 <210> 70  
 <211> 74  
 <212> RNA

<213> Artificial Sequence  
 <220><223> TR-33  
 <400> 70  
 guccccuucg ucuagaggcc caggacaccg ccuuauacg gcgguaacag gguucgaau 60  
 ccccuagggg acgc 74  
 <210> 71  
 <211> 74  
 <212> RNA  
 <213> Artificial Sequence

<220><223> TR-34  
 <400> 71  
 ggcccuuag cucagugguu agagcaggcg acuuuaaau gcuuggucgc ugguucaagu 60  
 ccagcagggg ccac 74  
 <210> 72  
 <211> 74  
 <212> RNA  
 <213> Artificial Sequence

<220><223> TR-35  
 <400> 72  
 gucccuucg ucuagaggcc caggacaccg ccugcgacg gcgguaacag gguucgaau 60  
 cccuagggg acgc 74  
 <210> 73  
 <211> 74  
 <212> RNA  
 <213> Artificial Sequence

<220><223> TR-36  
 <400> 73  
 gucccuucg ucuagaggcc caggacaccg ccuucgacg gcgguaacag gguucgaau 60  
 cccuagggg acgc 74  
 <210> 74  
 <211> 74  
 <212> RNA  
 <213> Artificial Sequence

<220><223>  
 > TR-37  
 <400> 74  
 gucccuucg ucuagaggcc caggacaccg ccuucgacg gcgguaacag gguucgaau 60  
 cccuagggg acgc 74  
 <210> 75  
 <211> 76  
 <212> RNA  
 <213> Artificial Sequence

<220><223> AAtR-1

<400> 75  
 guccccuucg ucuagaggcc caggacaccg ccuaagacg gcgguaacag gggucgaau 60  
 ccccuagggg acgcca 76  
 <210> 76  
 <211> 76  
 <212> RNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> AAtR-2

<400> 76  
 guccccuucg ucuagaggcc caggacaccg ccuaagacg gcgguaacag gggucgaau 60  
 ccccuagggg acgcca 76  
 <210> 77  
 <211> 76  
 <212> RNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> AAtR-3

<400> 77  
 guccccuucg ucuagaggcc caggacaccg ccucagacg gcgguaacag gggucgaau 60  
 ccccuagggg acgcca 76  
 <210> 78  
 <211> 76  
 <212> RNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> AAtR-4

<400> 78  
 guccccuucg ucuagaggcc caggacaccg ccuaacacg gcgguaacag gggucgaau 60  
 ccccuagggg acgcca 76  
 <210> 79  
 <211> 76  
 <212> RNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> AAtR-5

<400> 79

guccccuucg ucuagaggcc caggacaccg ccuuacacg gcgguaacag ggguucgaau	60
cccuagggg acgcca	76
<210> 80	
<211> 76	
<212> RNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> AAtR-6	
<400> 80	
guccccuucg ucuagaggcc caggacaccg ccucacacg gcgguaacag ggguucgaau	60
cccuagggg acgcca	76
<210> 81	
<211> 76	
<212> RNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> AAtR-7	
<400> 81	
guccccuucg ucuagaggcc caggacaccg ccuauagacg gcgguaacag ggguucgaau	60
cccuagggg acgcca	76
<210> 82	
<211> 76	
<212> RNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> AAtR-8	
<400> 82	
guccccuucg ucuagaggcc caggacaccg ccuuugacg gcgguaacag ggguucgaau	60
cccuagggg acgcca	76
<210> 83	
<211> 76	
<212> RNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> AAtR-9	
<400> 83	
guccccuucg ucuagaggcc caggacaccg ccucugacg gcgguaacag ggguucgaau	60

ccccuagggg acgcca 76  
 <210> 84  
 <211> 76  
 <212> RNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> AAtR-10  
 <400> 84  
 gucccuucg ucuagaggcc caggacaccg ccuauuacg gcgguaacag gggucgaau 60  
 ccccuagggg acgcca 76  
 <210> 85  
  
 <211> 76  
 <212> RNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> AAtR-11  
 <400> 85  
 gucccuucg ucuagaggcc caggacaccg ccuuuuacg gcgguaacag gggucgaau 60  
 ccccuagggg acgcca 76  
 <210> 86  
 <211> 76  
 <212> RNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> AAtR-12  
 <400> 86  
 gucccuucg ucuagaggcc caggacaccg ccucuuacg gcgguaacag gggucgaau 60  
 ccccuagggg acgcca 76  
 <210> 87  
 <211>  
 76  
 <212> RNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> AAtR-13  
 <400> 87  
 gucccuucg ucuagaggcc caggacaccg ccuauacg gcgguaacag gggucgaau 60  
 ccccuagggg acgcca 76

<210> 88  
 <211> 76  
 <212> RNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> AAtR-14  
 <400> 88  
 guccccuucg ucuagaggcc caggacaccg ccuuucacg gcgguaacag gggucgaau 60  
 ccccuagggg acgcca 76  
 <210> 89  
 <211> 76  
 <212> RNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> AAtR-15  
 <400> 89  
 guccccuucg ucuagaggcc caggacaccg ccucucacg gcgguaacag gggucgaau 60  
 ccccuagggg acgcca 76  
 <210> 90  
 <211> 76  
 <212> RNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> AAtR-16  
 <400> 90  
 guccccuucg ucuagaggcc caggacaccg ccuuaaacg gcgguaacag gggucgaau 60  
 ccccuagggg acgcca 76  
 <210> 91  
 <211> 76  
 <212>  
 RNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> AAtR-17  
 <400> 91  
 guccccuucg ucuagaggcc caggacaccg ccuuaaacg gcgguaacag gggucgaau 60  
 ccccuagggg acgcca 76  
 <210> 92

<211> 76  
 <212> RNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> AAtR-18  
 <400> 92  
 gucccuucg ucuagaggcc caggacaccg ccucaaacg gcgguaacag ggguucgaau 60  
 cccuagggg acgcca 76  
 <210> 93  
 <211> 76  
 <212> RNA  
  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> AAtR-19  
 <400> 93  
 gucccuucg ucuagaggcc caggacaccg ccuacuacg gcgguaacag ggguucgaau 60  
 cccuagggg acgcca 76  
 <210> 94  
 <211> 76  
 <212> RNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> AAtR-20  
 <400> 94  
 gucccuucg ucuagaggcc caggacaccg ccuucuacg gcgguaacag ggguucgaau 60  
 cccuagggg acgcca 76  
 <210> 95  
 <211> 76  
 <212> RNA  
 <213>  
 Artificial Sequence  
 <220><223> AAtR-21  
 <400> 95  
 gucccuucg ucuagaggcc caggacaccg ccuucuacg gcgguaacag ggguucgaau 60  
 cccuagggg acgcca 76  
 <210> 96  
 <211> 76

<212> RNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> AAtR-22  
 <400> 96  
 guccccuucg ucuagaggcc caggacaccg ccugcaacg gcgguaacag gggucgaau 60  
 ccccuagggg acgcca 76  
 <210> 97  
 <211> 76  
 <212> RNA  
 <213> Artificial Sequence  
  
 <220><223> AAtR-23  
 <400> 97  
 guccccuucg ucuagaggcc caggacaccg ccucucaacg gcgguaacag gggucgaau 60  
 ccccuagggg acgcca 76  
 <210> 98  
 <211> 76  
 <212> RNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> AAtR-24  
 <400> 98  
 guccccuucg ucuagaggcc caggacaccg ccuccaaccg gcgguaacag gggucgaau 60  
 ccccuagggg acgcca 76  
 <210> 99  
 <211> 76  
 <212> RNA  
 <213> Artificial Sequence  
  
 <220>  
 <223> AAtR-25  
 <400> 99  
 ggcggggugg agcagccugg uagcucgucg ggcucaaac ccgaagaucg ucgguucaaa 60  
 uccggcccc gcaaca 76  
 <210> 100  
 <211> 76  
 <212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> AAtR-26

<400> 100

guccccuucg ucuagaggcc caggacaccg ccugugacg gcgguaacag gguucgaau 60

cccuagggg acgcca 76

<210> 101

<211> 76

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223>

> AAtR-27

<400> 101

guccccuucg ucuagaggcc caggacaccg ccuguuacg gcgguaacag gguucgaau 60

cccuagggg acgcca 76

<210> 102

<211> 76

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> AAtR-28

<400> 102

guccccuucg ucuagaggcc caggacaccg ccugcuacg gcgguaacag gguucgaau 60

cccuagggg acgcca 76

<210> 103

<211> 76

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223>

AAtR-29

<400> 103

guccccuucg ucuagaggcc caggacaccg ccuauacg gcgguaacag gguucgaau 60

cccuagggg acgcca 76

<210> 104

<211> 76

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> AAtR-30  
 <400> 104  
 gucccccucg ucuagaggcc caggacaccg cccuuugacg gcgguaacag ggguucgaau 60  
 ccccuagggg acgcca 76  
 <210> 105  
 <211> 76  
 <212> RNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> AAtR-31  
  
 <400> 105  
 gucccccucg ucuagaggcc caggacaccg cccucugacg gcgguaacag ggguucgaau 60  
 ccccuagggg acgcca 76  
 <210> 106  
 <211> 76  
 <212> RNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> AAtR-32  
 <400> 106  
 gucccccucg ucuagaggcc caggacaccg cccuauuacg gcgguaacag ggguucgaau 60  
 ccccuagggg acgcca 76  
 <210> 107  
 <211> 76  
 <212> RNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> AAtR-33  
 <  
 400> 107  
 gucccccucg ucuagaggcc caggacaccg cccuuuuacg gcgguaacag ggguucgaau 60  
 ccccuagggg acgcca 76  
 <210> 108  
 <211> 76  
 <212> RNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> AAtR-34

<400> 108  
 gucccccucg ucuagaggcc caggacaccg ccucucacg gcgguaacag gggucgaau 60  
 ccccuagggg acgcca 76  
 <210> 109  
 <211> 76  
 <212> RNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> AAtR-35  
 <400>  
 > 109  
 gucccccucg ucuagaggcc caggacaccg ccuucacg gcgguaacag gggucgaau 60  
 ccccuagggg acgcca 76  
 <210> 110  
 <211> 76  
 <212> RNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> AAtR-36  
 <400> 110  
 gucccccucg ucuagaggcc caggacaccg ccuucacg gcgguaacag gggucgaau 60  
 ccccuagggg acgcca 76  
 <210> 111  
 <211> 76  
 <212> RNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> AAtR-37  
 <400>  
 111  
 gucccccucg ucuagaggcc caggacaccg ccucucacg gcgguaacag gggucgaau 60  
 ccccuagggg acgcca 76  
 <210> 112  
 <211> 76  
 <212> RNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> AAtR-38  
 <400> 112

guccccuucg ucuagaggcc caggacaccg ccuuaaacg gcgguaacag ggguucgaau	60
cccuagggg acgcca	76
<210> 113	
<211> 76	
<212> RNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> AAtR-39	
<400> 113	
guccccuucg ucuagaggcc caggacaccg ccuuaaacg gcgguaacag ggguucgaau	60
cccuagggg acgcca	76
<210> 114	
<211> 76	
<212> RNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> AAtR-40	
<400> 114	
guccccuucg ucuagaggcc caggacaccg ccuuaaacg gcgguaacag ggguucgaau	60
cccuagggg acgcca	76
<210> 115	
<211> 76	
<212> RNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> AAtR-41	
<400> 115	
guccccuucg ucuagaggcc caggacaccg ccuacuacg gcgguaacag ggguucgaau	60
cccuagggg acgcca	76
<210> 116	
<211> 76	
<212> RNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> AAtR-42	
<400> 116	
guccccuucg ucuagaggcc caggacaccg ccuucuacg gcgguaacag ggguucgaau	60

ccccuagggg acgcca	76
<210> 117	
<211> 76	
<212> RNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> AAtR-43	
<400> 117	
guccccuucg ucuagaggcc caggacaccg ccucuccuacg gcgguaacag gggguucgaau	60
ccccuagggg acgcca	76
<210> 118	
<211> 76	
<212> RNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> AAtR-44	
<400> 118	
guccccuucg ucuagaggcc caggacaccg ccugcaacg gcgguaacag gggguucgaau	60
ccccuagggg acgcca	76
<210> 119	
<211> 76	
<212> RNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> AAtR-45	
<400> 119	
guccccuucg ucuagaggcc caggacaccg ccucucaacg gcgguaacag gggguucgaau	60
ccccuagggg acgcca	76
<	
210> 120	
<211> 76	
<212> RNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> AAtR-46	
<400> 120	
guccccuucg ucuagaggcc caggacaccg ccuccaacg gcgguaacag gggguucgaau	60
ccccuagggg acgcca	76

<210> 121  
 <211> 76  
 <212> RNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> AAtR-47  
 <400> 121  
 guccccuucg ucuagaggcc caggacaccg ccugugacg gcgguaacag gguucgaau 60  
 ccccuagggg acgcca 76  
 <210>  
 > 122  
 <211> 76  
 <212> RNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> AAtR-48  
 <400> 122  
 guccccuucg ucuagaggcc caggacaccg ccuguuacg gcgguaacag gguucgaau 60  
 ccccuagggg acgcca 76  
 <210> 123  
 <211> 76  
 <212> RNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> AAtR-49  
 <400> 123  
 guccccuucg ucuagaggcc caggacaccg ccugucacg gcgguaacag gguucgaau 60  
 ccccuagggg acgcca 76  
 <210>  
 124  
 <211> 76  
 <212> RNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> AAtR-50  
 <400> 124  
 guccccuucg ucuagaggcc caggacaccg ccugaaacg gcgguaacag gguucgaau 60  
 ccccuagggg acgcca 76  
 <210> 125

<211> 76  
 <212> RNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> AAtR-51  
 <400> 125  
 guccccuucg ucuagaggcc caggacaccg ccugcuacg gcgguaacag ggguucgaau 60  
 ccccuagggg acgcca 76  
 <210> 126

<211> 76  
 <212> RNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> AAtR-52  
 <400> 126  
 guccccuucg ucuagaggcc caggacaccg ccuugaacg gcgguaacag ggguucgaau 60  
 ccccuagggg acgcca 76  
 <210> 127

<211> 76  
 <212> RNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> AAtR-53  
 <400> 127  
 guccccuucg ucuagaggcc caggacaccg ccuuguacg gcgguaacag ggguucgaau 60  
 ccccuagggg acgcca 76  
 <210> 128

<  
 211> 76  
 <212> RNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> AAtR-54  
 <400> 128  
 guccccuucg ucuagaggcc caggacaccg ccuuauacg gcgguaacag ggguucgaau 60  
 ccccuagggg acgcca 76  
 <210> 129  
 <211> 76

<212> RNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> AAtR-55  
 <400> 129  
 ggcccuuag cucagugguu agagcaggcg acuuauaauc gcuuggucgc ugguucaagu 60  
 ccagcagggg ccacca 76  
 <210> 130  
 <211>  
 > 76  
 <212> RNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> AAtR-56  
 <400> 130  
 ggcccuuag cucagugguu agagcaggcg acuuauaauc gcuuggucgc ugguucaagu 60  
 ccagcagggg ccacca 76  
 <210> 131  
 <211> 76  
 <212> RNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> AAtR-57  
 <400> 131  
 gucccuucg ucuagaggcc caggacaccg ccugcgacg gcgguaacag gguucgaau 60  
 cccuagggg acgcca 76  
 <210> 132  
 <211>  
 76  
 <212> RNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> AAtR-58  
 <400> 132  
 gucccuucg ucuagaggcc caggacaccg ccuucgacg gcgguaacag gguucgaau 60  
 cccuagggg acgcca 76  
 <210> 133  
 <211> 76  
 <212> RNA

<213> Artificial Sequence  
 <220><223> AAtR-59  
 <400> 133  
 gucccuucg ucuagaggcc caggacaccg ccuuccgacg gcgguaacag gguucgaau 60  
 cccuagggg acgcca 76  
 <210> 134  
 <211> 76

<212> RNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> mR-1  
 <400> 134  
 ggguaacu uagaaggag auauacauau gacuuuuuuu auugguuuuc uauuuauucc 60  
 gauugguuaa gcuucg 76  
 <210> 135  
 <211> 76  
 <212> RNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> mR-2  
 <400> 135  
 ggguaacu uagaaggag auauacauau gacuuuuuuu auugguuuuc uauuuauucc 60  
 gauugguuaa gcuucg 76  
 <210> 136  
 <211> 76  
 <212> RNA

<213> Artificial Sequence  
 <220><223> mR-3  
 <400> 136  
 ggguaacu uagaaggag auauacauau gacuuuuuuu auugguuuuc ugauuuuucc 60  
 gauugguuaa gcuucg 76  
 <210> 137  
 <211> 76  
 <212> RNA  
 <213> Artificial Sequence

<220><223> mR-4  
 <400> 137  
 ggguaaacuu uaagaaggag auauacauau gacuuuuuuu auugguuuug uauuuauucc 60  
 gauugguuaa gcuucg 76  
 <210> 138  
 <211> 76  
 <212> RNA  
 <213> Artificial Sequence

<220><223> mR-5  
 <400> 138  
 ggguaaacuu uaagaaggag auauacauau gacuuuuuuu auugguuuug uauuuauucc 60  
 gauugguuaa gcuucg 76  
 <210> 139  
 <211> 76  
 <212> RNA  
 <213> Artificial Sequence

<220><223> mR-6  
 <400> 139  
 ggguaaacuu uaagaaggag auauacauau gacuuuuuuu auugguuuug ugauuuauucc 60  
 gauugguuaa gcuucg 76  
 <210> 140  
 <211> 76  
 <212> RNA  
 <213> Artificial Sequence

<220><223>  
 > mR-7  
 <400> 140  
 ggguaaacuu uaagaaggag auauacauau gacuuuuuuu auugguuuuc auuuuuuucc 60  
 gauugguuaa gcuucg 76  
 <210> 141  
 <211> 76  
 <212> RNA  
 <213> Artificial Sequence

<220><223> mR-8

<400> 141  
 ggguaaacuu uaagaaggag auauacauau gacuuuuuuu auugguuuuc aaauuauucc 60  
 gauugguuua gcuucg 76

<210> 142  
 <211> 76  
 <212> RNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> mR-9

<400> 142  
 ggguaaacuu uaagaaggag auauacauau gacuuuuuuu auugguuuuc agauuauucc 60  
 gauugguuua gcuucg 76

<210> 143  
 <211> 76  
 <212> RNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> mR-10

<400> 143  
 ggguaaacuu uaagaaggag auauacauau gacuuuuuuu auugguuuuu aaauuauucc 60  
 gauugguuua gcuucg 76

<210> 144  
 <211> 76  
 <212> RNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> mR-11

<400>  
 144  
 ggguaaacuu uaagaaggag auauacauau gacuuuuuuu auugguuuuu aaauuauucc 60  
 gauugguuua gcuucg 76

<210> 145  
 <211> 76  
 <212> RNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> mR-12  
 <400> 145

ggguuaacuu uaagaaggag auauacauau gacuuuuuuu auugguuuuu agauuuuucc	60
gauugguuuaa gcuucg	76
<210> 146	
<211> 76	
<212> RNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> mR-13	
<400> 146	
ggguuaacuu uaagaaggag auauacauau gacuuuuuuu auugguuuug auuuuuuucc	60
gauugguuuaa gcuucg	76
<210> 147	
<211> 76	
<212> RNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> mR-14	
<400> 147	
ggguuaacuu uaagaaggag auauacauau gacuuuuuuu auugguuuug aaauuuuucc	60
gauugguuuaa gcuucg	76
<210> 148	
<211> 76	
<212> RNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> mR-15	
<400> 148	
ggguuaacuu uaagaaggag auauacauau gacuuuuuuu auugguuuug agauuuuucc	60
gauugguuuaa gcuucg	76
<210> 149	
<211> 76	
<212> RNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> mR-16	
<400> 149	
ggguuaacuu uaagaaggag auauacauau gacuguuuuu auugguuuuu uuuuuuuucc	60

gauugguuaa gcuucg 76  
 <210> 150  
 <211> 76  
 <212> RNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> mR-17  
 <400> 150  
 ggguuaacuu uaagaaggag auauacauau gacuguuuuu auugguguuu uauuuauucc 60  
 gauugguuaa gcuucg 76  
  
 <210> 151  
 <211> 76  
 <212> RNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> mR-18  
 <400> 151  
 ggguuaacuu uaagaaggag auauacauau gacuguuuuu auugguguuu ugauuuauucc 60  
 gauugguuaa gcuucg 76  
  
 <210> 152  
 <211> 76  
 <212> RNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> mR-19  
 <400> 152  
 ggguuaacuu uaagaaggag auauacauau gacuuuuuuu auugguuuuu gaauuuauucc 60  
 gauugguuaa gcuucg 76  
  
 <210>  
 153  
 <211> 76  
 <212> RNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> mR-20  
 <400> 153  
 ggguuaacuu uaagaaggag auauacauau gacuuuuuuu auugguuuuu gaauuuauucc 60  
 gauugguuaa gcuucg 76

<210> 154  
 <211> 76  
 <212> RNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> mR-21  
 <400> 154  
 ggguaaacuu uaagaaggag auauacauau gacuuuuuuu auugguuuuu ggauuuuucc 60  
 gauugguuaa gcuucg 76  
 <210> 155  
  
 <211> 76  
 <212> RNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> mR-22  
 <400> 155  
 ggguaaacuu uaagaaggag auauacauau gacuuuuuuu auugguuuuu gcauuuuucc 60  
 gauugguuaa gcuucg 76  
 <210> 156  
 <211> 76  
 <212> RNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> mR-23  
 <400> 156  
 ggguaaacuu uaagaaggag auauacauau gacuuuuuuu auugguuuuu gaauuuuucc 60  
 gauugguuaa gcuucg 76  
 <210> 157  
 <211>  
 76  
 <212> RNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> mR-24  
 <400> 157  
 ggguaaacuu uaagaaggag auauacauau gacuuuuuuu auugguuuuu ggauuuuucc 60  
 gauugguuaa gcuucg 76  
 <210> 158

<211> 76  
 <212> RNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> mR-25  
 <400> 158  
 ggguuaacuu uaagaaggag auauacauau gacuuuuuuu auugguuuuc acauuuauucc 60  
 gauugguuuaa gcuucg 76  
 <210> 159  
 <211> 76  
  
 <212> RNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> mR-26  
 <400> 159  
 ggguuaacuu uaagaaggag auauacauau gacuuuuuuu auugguuuuu acauuuauucc 60  
 gauugguuuaa gcuucg 76  
 <210> 160  
 <211> 76  
 <212> RNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> mR-27  
 <400> 160  
 ggguuaacuu uaagaaggag auauacauau gacuuuuuuu auugguuuuu acauuuauucc 60  
 gauugguuuaa gcuucg 76  
 <210> 161  
 <211> 76  
 <212>  
 RNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> mR-28  
 <400> 161  
 ggguuaacuu uaagaaggag auauacauau gacuuuuuuu auugguuuuu ucauuuuuucc 60  
 gauugguuuaa gcuucg 76  
 <210> 162  
 <211> 76

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> mR-29

<400> 162

ggguuaacuu uaagaaggag auauacauau gacuuuuuuu auugguuuuu gcauuauucc 60

gauugguuuaa gcuucg 76

<210> 163

<211> 76

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> mR-30

<400> 163

ggguuaacuu uaagaaggag auauacauau gacuuuuuuu auugguuuuu cuuuuauucc 60

gauugguuuaa gcuucg 76

<210> 164

<211> 76

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> mR-31

<400> 164

ggguuaacuu uaagaaggag auauacauau gacuuuuuuu auugguuuuu ccauuauucc 60

gauugguuuaa gcuucg 76

<210> 165

<211> 76

<212> RNA

<213>

Artificial Sequence

<220><223> mR-32

<400> 165

ggguuaacuu uaagaaggag auauacauau gacuuuuuuu auugguuuuu cauuuauucc 60

gauugguuuaa gcuucg 76

<210> 166

<211> 76

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> mR-33

<400> 166

ggguuaacuu uaagaaggag auauacauau gacuuuuuuu auugguuuuu cgauuuuucc 60

gauugguuaa gcuucg 76

<210> 167

<211> 76

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> mR-34

<400> 167

ggguuaacuu uaauaaggag auauaaauau gccguuuuuu auugguuuua cuuuuuuucc 60

gauugguuaa gcuucg 76

<210> 168

<211> 76

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> mR-35

<400> 168

ggguuaacuu uaauaaggag auauaaauau gccguuuuuu auugguuuua ccauuuuucc 60

gauugguuaa gcuucg 76

<210> 169

<211> 76

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> mR-36

<400> 169

ggguuaacuu uaauaaggag auauaaauau gccguuuuuu auugguuuua cauuuuuucc 60

gauugguuaa gcuucg 76

<210> 170

<211> 76

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> mR-37  
 <400> 170  
 ggguaaacuu uaauaaggag auauaaaau gccguuuuuu auugguuuuu cgauuuauucc 60  
 gauugguuuaa gcuucg 76  
 <210> 171  
 <211> 76  
 <212> RNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223>  
 mR-38  
 <400> 171  
 ggguaaacuu uaagaaggag auauacauau gacuuuuucua cuagguuuuuu uucucuacc 60  
 gcuagguuaa gcuucg 76  
 <210> 172  
 <211> 76  
 <212> RNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> mR-39  
 <400> 172  
 ggguaaacuu uaagaaggag auauacauau gacuuuuucua cuagguuuuuu uccucuacc 60  
 gcuagguuaa gcuucg 76  
 <210> 173  
 <211> 76  
 <212> RNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> mR-40  
 <400> 173  
 ggguaaacuu uaagaaggag auauacauau gacuuuuucua cuagguuuuuu uacucuacc 60  
 gcuagguuaa gcuucg 76  
 <210> 174  
 <211> 76  
 <212> RNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> mR-41

<400> 174  
 ggguaaacuu uaagaaggag auauacauau gacuuuucua cuagguuuua ugcuaacuacc 60  
 gcuagguuaa gcuucg 76  
 <210> 175  
 <211> 97  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> D-35  
 <400> 175  
  
 ggcgtaatac gactcactat agggttaact ttaagaagga gatatacata tgacttttat 60  
 tattggtttt cttattattc cgattgggta agcttcg 97  
 <210> 176  
 <211> 97  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> D-36  
 <400> 176  
 ggcgtaatac gactcactat agggttaact ttaagaagga gatatacata tgacttttat 60  
 tattggtttt ctaattattc cgattgggta agcttcg 97  
 <210> 177  
 <211> 97  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> D-37  
 <400> 177  
 ggcgtaatac gactcactat agggttaact ttaagaagga gatatacata tgacttttat 60  
  
 tattggtttt ctgattattc cgattgggta agcttcg 97  
 <210> 178  
 <211> 97  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> D-38  
 <400> 178

ggcgtaac gactcactat agggttaact ttaagaagga gatatacata tgactttat 60  
tattggtttt gttattattc cgattgggta agcttcg 97  
<210> 179  
<211> 97  
<212> DNA  
<213> Artificial Sequence  
<220><223> D-39  
<400> 179  
ggcgtaac gactcactat agggttaact ttaagaagga gatatacata tgactttat 60  
tattggtttt gtaattattc cgattgggta agcttcg 97  
<210> 180  
<211> 97  
<212> DNA  
<213> Artificial Sequence  
<220><223> D-40  
<400> 180  
ggcgtaac gactcactat agggttaact ttaagaagga gatatacata tgactttat 60  
tattggtttt gtgattattc cgattgggta agcttcg 97  
<210> 181  
<211> 97  
<212> DNA  
<213> Artificial Sequence  
<220><223> D-41  
<400> 181  
ggcgtaac gactcactat agggttaact ttaagaagga gatatacata tgactttat 60  
tattggtttt catattattc cgattgggta agcttcg 97  
<210> 182  
<211> 97  
<212> DNA  
<213> Artificial Sequence  
<220><223> D-42  
<400> 182  
ggcgtaac gactcactat agggttaact ttaagaagga gatatacata tgactttat 60

tattggtttt caaattattc cgattggtta agcttcg 97

<210> 183

<211> 97

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> D-43

<400> 183

ggcgtaacat gactcactat agggttaact ttaagaagga gatatacata tgacttttat 60

tattggtttt cagattattc cgattggtta agcttcg 97

<210> 184

<211> 97

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> D-44

<400> 184

ggcgtaacat gactcactat agggttaact ttaagaagga gatatacata tgacttttat 60

tattggtttt aatattattc cgattggtta agcttcg 97

<210> 185

<211> 97

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> D-45

<400> 185

ggcgtaacat gactcactat agggttaact ttaagaagga gatatacata tgacttttat 60

tattggtttt aaaattattc cgattggtta agcttcg 97

<210> 186

<211> 97

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> D-46

<400> 186

ggcgtaacat gactcactat agggttaact ttaagaagga gatatacata tgacttttat 60

tattggtttt aagattattc cgattggtta agcttcg 97

<210> 187  
 <211> 97  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> D-47  
 <400> 187  
 ggcgtaatac gactcactat aggggtaact ttaagaagga gatatacata tgacttttat 60  
 tattggtttt gatattattc cgattgggta agcttcg 97  
 <210> 188  
 <211> 97  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> D-48  
 <400> 188  
 ggcgtaatac gactcactat aggggtaact ttaagaagga gatatacata tgacttttat 60  
 tattggtttt gaaattattc cgattgggta agcttcg 97  
 <210> 189  
 <211> 97  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> D-49  
 <400> 189  
 ggcgtaatac gactcactat aggggtaact ttaagaagga gatatacata tgacttttat 60  
 tattggtttt gagattattc cgattgggta agcttcg 97  
 <210> 190  
 <211> 97  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223>  
 > D-50  
 <400> 190  
 ggcgtaatac gactcactat aggggtaact ttaagaagga gatatacata tgactgttat 60  
 tattgggtgtt tttattattc cgattgggta agcttcg 97  
 <210> 191

<211> 97  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> D-51  
 <400> 191  
 ggcgtaatac gactcactat agggttaact ttaagaagga gatatacata tgactgttat 60  
 tattggtggtt ttaattattc cgattgggta agcttcg 97  
 <210> 192  
 <211> 97  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> D-52  
 <400> 192  
 ggcgtaatac gactcactat agggttaact ttaagaagga gatatacata tgactgttat 60  
 tattggtggtt ttgattattc cgattgggta agcttcg 97  
 <210> 193  
 <211> 97  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> D-53  
 <400> 193  
 ggcgtaatac gactcactat agggttaact ttaagaagga gatatacata tgacttttat 60  
 tattggtttt agtattattc cgattgggta agcttcg 97  
 <210> 194  
 <211> 97  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> D-54  
 <400> 194  
 ggcgtaatac gactcactat agggttaact ttaagaagga gatatacata tgacttttat 60  
 tattggtttt agaattattc cgattgggta agcttcg 97  
 <210> 195  
 <211> 97

<212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> D-55  
 <400> 195  
 ggcgtaatac gactcactat agggttaact ttaagaagga gatatacata tgacttttat 60  
 tattggtttt aggattattc cgattgggta agcttcg 97  
 <210> 196  
 <211> 97  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> D-56  
 <400> 196  
 ggcgtaatac gactcactat agggttaact ttaagaagga gatatacata tgacttttat 60  
  
 tattggtttt tgcattattc cgattgggta agcttcg 97  
 <210> 197  
 <211> 97  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> D-57  
 <400> 197  
 ggcgtaatac gactcactat agggttaact ttaagaagga gatatacata tgacttttat 60  
 tattggtttt tgaattattc cgattgggta agcttcg 97  
 <210> 198  
 <211> 97  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> D-58  
 <400> 198  
 ggcgtaatac gactcactat agggttaact ttaagaagga gatatacata tgacttttat 60  
 tattggtttt tggattattc cgattgggta agcttcg 97  
  
 <210> 199  
 <211> 97  
 <212> DNA

<213> Artificial Sequence  
 <220><223> D-59  
 <400> 199  
 ggcgtaatac gactcactat agggttaact ttaagaagga gatatacata tgacttttat 60  
 tattggtttt cacattattc cgattgggta agcttcg 97  
 <210> 200  
 <211> 97  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> D-60  
 <400> 200  
 ggcgtaatac gactcactat agggttaact ttaagaagga gatatacata tgacttttat 60  
 tattggtttt aacattattc cgattgggta agcttcg 97  
 <210> 201  
  
 <211> 97  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> D-61  
 <400> 201  
 ggcgtaatac gactcactat agggttaact ttaagaagga gatatacata tgacttttat 60  
 tattggtttt gacattattc cgattgggta agcttcg 97  
 <210> 202  
 <211> 97  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> D-62  
 <400> 202  
 ggcgtaatac gactcactat agggttaact ttaagaagga gatatacata tgactgttat 60  
 tattggtggtt ttcattattc cgattgggta agcttcg 97  
 <210> 203  
 <211> 97  
  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence

<220><223> D-63  
 <400> 203  
 ggcgtaatac gactcactat agggttaact ttaagaagga gatatacata tgacttttat 60  
 tattggtttt agcattattc cgattgggta agcttcg 97  
 <210> 204  
 <211> 97  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> D-64  
 <400> 204  
 ggcgtaatac gactcactat agggttaact ttaagaagga gatatacata tgacttttat 60  
 tattggtttt tctattattc cgattgggta agcttcg 97  
 <210> 205  
 <211> 97  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> D-65  
 <400> 205  
 ggcgtaatac gactcactat agggttaact ttaagaagga gatatacata tgacttttat 60  
 tattggtttt tccattattc cgattgggta agcttcg 97  
 <210> 206  
 <211> 97  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> D-66  
 <400> 206  
 ggcgtaatac gactcactat agggttaact ttaagaagga gatatacata tgacttttat 60  
 tattggtttt tcaattattc cgattgggta agcttcg 97  
 <210> 207  
 <211> 97  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> D-67

<400> 207  
 ggcgtaatac gactcactat agggttaact ttaagaagga gatatacata tgactttat 60  
 tattggtttt tcgattattc cgattggtta agcttcg 97

<210> 208  
 <211> 97  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> D-68

<400> 208  
 ggcgtaatac gactcactat agggttaact ttaataagga gatataaata tgccgtttat 60  
 tattggtttt actattattc cgattggtta agcttcg 97

<210> 209  
 <211> 97  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223>  
 > D-69

<400> 209  
 ggcgtaatac gactcactat agggttaact ttaataagga gatataaata tgccgtttat 60  
 tattggtttt accattattc cgattggtta agcttcg 97

<210> 210  
 <211> 97  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> D-70

<400> 210  
 ggcgtaatac gactcactat agggttaact ttaataagga gatataaata tgccgtttat 60  
 tattggtttt acaattattc cgattggtta agcttcg 97

<210> 211  
 <211> 97  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> D-71

<400> 211

ggcgtaac gactcactat agggttaact ttaataagga gatataaata tgccgtttat 60  
tattggtttt acgattattc cgattgggta agcttcg 97  
<210> 212  
<211> 97  
<212> DNA  
<213> Artificial Sequence  
<220><223> D-72  
<400> 212  
ggcgtaac gactcactat agggttaact ttaagaagga gatatacata tgacttttct 60  
actaggtttt attctactac cgctagggta agcttcg 97  
<210> 213  
<211> 97  
<212> DNA  
<213> Artificial Sequence  
<220><223> D-73  
<400> 213  
ggcgtaac gactcactat agggttaact ttaagaagga gatatacata tgacttttct 60  
actaggtttt atctactac cgctagggta agcttcg 97  
<210> 214  
<211> 97  
<212> DNA  
<213> Artificial Sequence  
<220><223> D-74  
<400> 214  
ggcgtaac gactcactat agggttaact ttaagaagga gatatacata tgacttttct 60  
actaggtttt atactactac cgctagggta agcttcg 97  
<210> 215  
<211> 97  
<212> DNA  
<213> Artificial Sequence  
<220><223> D-75  
<400> 215  
ggcgtaac gactcactat agggttaact ttaagaagga gatatacata tgacttttct 60

actaggtttt atgctactac cgctaggtta agcttcg 97

<210> 216

<211> 97

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> D-79

<400> 216

ggcgtaacat gactcactat agggttaact ttaagaagga gatatacata tgacttttat 60

tattggtttt cgtattattc cgattggtta agcttcg 97

<210> 217

<211> 97

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> D-80

<400> 217

ggcgtaacat gactcactat agggttaact ttaagaagga gatatacata tgacttttat 60

tattggtttt cgaattattc cgattggtta agcttcg 97

<210> 218

<211> 97

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> D-81

<400> 218

ggcgtaacat gactcactat agggttaact ttaagaagga gatatacata tgacttttat 60

tattggtttt cggattattc cgattggtta agcttcg 97

<210> 219

<211> 76

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> mR-42

<400> 219

ggguuaacuu uaagaaggag auauacauau gacuuuuuuu auugguuuuc guauuuuucc 60

gauugguuuaa gcuucg 76

<210> 220

<211> 76

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> mR-43

<400> 220

ggguuaacuu uaagaaggag auauacauau gacuuuuuuu auugguuuuc gaauuauucc 60

gauugguuuaa gcuucg 76

<210> 221

<211> 76

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> mR-44

<400> 221

ggguuaacuu uaagaaggag auauacauau gacuuuuuuu auugguuuuc ggauuauucc 60

gauugguuuaa gcuucg 76

<210> 222

<211>

18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> LCT12

<220><221> misc\_feature

<222> (1)..(1)

<223> Xaa = BdpFL

<400> 222

Xaa Phe Thr Ile Phe Pro Gly Phe Ile Ile Thr Thr Gly Thr Gly Thr

1                    5                    10                    15

Gly Ala

<210> 223

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence



<212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> D-85  
 <400> 227  
 ggcgtaatac gactcactat aggagcggta gttcagtcgg ttagaatacc tgcttgugat 60  
 gcagggggtc gcgggttcga gtcccgtccg ttccgc 96  
 <210> 228

<211> 96  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> D-86  
 <400> 228  
 ggcgtaatac gactcactat aggagcggta gttcagtcgg ttagaatacc tgcttuugac 60  
 gcagggggtc gcgggttcga gtcccgtccg ttccgc 96  
 <210> 229

<211> 96  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> D-87  
 <400> 229  
 ggcgtaatac gactcactat aggagcggta gttcagtcgg ttagaatacc tgcttuugat 60  
 gcagggggtc gcgggttcga gtcccgtccg ttccgc 96  
 <210> 230

<211> 96

<212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> D-88  
 <400> 230  
 ggcgtaatac gactcactat aggagcggta gttcagtcgg ttagaatacc tgctcugac 60  
 gcagggggtc gcgggttcga gtcccgtccg ttccgc 96  
 <210> 231

<211> 96  
 <212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> D-89

<400> 231

ggcgtataac gactcactat aggagcggta gttcagtcgg ttagaatacc tgcttcugat 60

gcagggggtc gcgggttcga gtcccgtccg ttccgc 96

<210> 232

<211> 96

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> D-90

<400> 232

ggcgtataac gactcactat aggagcggta gttcagtcgg ttagaatacc tgcctaucac 60

gcagggggtc gcgggttcga gtcccgtccg ttccgc 96

<210> 233

<211> 96

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> D-91

<400> 233

ggcgtataac gactcactat aggagcggta gttcagtcgg ttagaatacc tgcctuucac 60

gcagggggtc gcgggttcga gtcccgtccg ttccgc 96

<210> 234

<211> 96

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> D-92

<400> 234

ggcgtataac gactcactat aggagcggta gttcagtcgg ttagaatacc tgcctcucac 60

gcagggggtc gcgggttcga gtcccgtccg ttccgc 96

<210> 235

<211> 95

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> D-93  
 <400> 235  
 gccgtaatac gactcactat aggctctgta gttcagtcgg tagaacggcg gattatgatt 60  
 ccgtatgtca ctggttcgag tccagtcaga gccgc 95  
 <210> 236  
 <211> 95  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223>  
 > D-94  
 <400> 236  
 gccgtaatac gactcactat aggctctgta gttcagtcgg tagaacggcg gattgtgatt 60  
 ccgtatgtca ctggttcgag tccagtcaga gccgc 95  
 <210> 237  
 <211> 95  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> D-95  
 <400> 237  
 gccgtaatac gactcactat aggctctgta gttcagtcgg tagaacggcg gattttgatt 60  
 ccgtatgtca ctggttcgag tccagtcaga gccgc 95  
 <210> 238  
 <211> 95  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> D-96  
 <400> 238  
 gccgtaatac gactcactat aggctctgta gttcagtcgg tagaacggcg gattctgatt 60  
 ccgtatgtca ctggttcgag tccagtcaga gccgc 95  
 <210> 239  
 <211> 95  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> D-97

<400> 239  
 ggcgtaatac gactcactat aggctctgta gttcagtcgg tagaacggcg gactatcact 60  
 ccgtatgtca ctggttcgag tccagtcaga gccgc 95  
 <210> 240  
 <211> 95  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> D-98  
 <400> 240  
  
 ggcgtaatac gactcactat aggctctgta gttcagtcgg tagaacggcg gactttcact 60  
 ccgtatgtca ctggttcgag tccagtcaga gccgc 95  
 <210> 241  
 <211> 95  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> D-99  
 <400> 241  
 ggcgtaatac gactcactat aggctctgta gttcagtcgg tagaacggcg gactctcact 60  
 ccgtatgtca ctggttcgag tccagtcaga gccgc 95  
 <210> 242  
 <211> 75  
 <212> RNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> TR-38  
 <400> 242  
 ggagcggugag uucagucggu uagaauaccu gccuaugacg cagggggucg cggguucgag 60  
  
 ucccguccgu uccgc 75  
 <210> 243  
 <211> 75  
 <212> RNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> TR-39  
 <400> 243

ggagcggguag uucagucggu uagaauaccu gcuuugaug cagggggucg cggguucgag 60  
 ucccguccgu uccgc 75  
 <210> 244  
 <211> 75  
 <212> RNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> TR-40  
 <400> 244  
 ggagcggguag uucagucggu uagaauaccu gccugugacg cagggggucg cggguucgag 60  
 ucccguccgu uccgc 75  
  
 <210> 245  
 <211> 75  
 <212> RNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> TR-41  
 <400> 245  
 ggagcggguag uucagucggu uagaauaccu gcuugugaug cagggggucg cggguucgag 60  
 ucccguccgu uccgc 75  
  
 <210> 246  
 <211> 75  
 <212> RNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> TR-42  
 <400> 246  
 ggagcggguag uucagucggu uagaauaccu gccuuugacg cagggggucg cggguucgag 60  
 ucccguccgu uccgc 75  
  
 <210>  
 247  
 <211> 75  
 <212> RNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> TR-43  
 <400> 247  
 ggagcggguag uucagucggu uagaauaccu gcuuuugaug cagggggucg cggguucgag 60

ucccguccgu uccgc 75  
 <210> 248  
 <211> 75  
 <212> RNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> TR-44  
 <400> 248  
 ggagcggguag uucagucggu uagaauaccu gccucugacg cagggggucg cggguucgag 60  
 ucccguccgu uccgc 75  
 <210> 249  
  
 <211> 75  
 <212> RNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> TR-45  
 <400> 249  
 ggagcggguag uucagucggu uagaauaccu gcuucugaug cagggggucg cggguucgag 60  
 ucccguccgu uccgc 75  
 <210> 250  
 <211> 75  
 <212> RNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> TR-46  
 <400> 250  
 ggagcggguag uucagucggu uagaauaccu gccuauacg cagggggucg cggguucgag 60  
 ucccguccgu uccgc 75  
 <210> 251  
 <211>  
 75  
 <212> RNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> TR-47  
 <400> 251  
 ggagcggguag uucagucggu uagaauaccu gccuuucacg cagggggucg cggguucgag 60  
 ucccguccgu uccgc 75

<210> 252  
 <211> 75  
 <212> RNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> TR-48  
 <400> 252  
 ggagcgguag uucagucggu uagaauaccu gccucucacg cagggggucg cggguucgag 60  
 ucccguccgu uccgc 75  
 <210> 253  
 <211> 74  
  
 <212> RNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> TR-49  
 <400> 253  
 ggucucuguag uucagucggu agaacggcgg auuugauuc cguaugucac ugguucgagu 60  
 ccagucagag ccgc 74  
 <210> 254  
 <211> 74  
 <212> RNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> TR-50  
 <400> 254  
 ggucucuguag uucagucggu agaacggcgg auugugauuc cguaugucac ugguucgagu 60  
 ccagucagag ccgc 74  
 <210> 255  
 <211> 74  
 <212>  
 RNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> TR-51  
 <400> 255  
 ggucucuguag uucagucggu agaacggcgg auuuugauuc cguaugucac ugguucgagu 60  
 ccagucagag ccgc 74  
 <210> 256

<211> 74	
<212> RNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> TR-52	
<400> 256	
ggcucuguag uucagucggu agaacggcgg auucugauuc cguaugucac ugguucgagu	60
ccagucagag ccgc	74
<210> 257	
<211> 74	
<212> RNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> TR-53	
<400> 257	
ggcucuguag uucagucggu agaacggcgg acuaucacuc cguaugucac ugguucgagu	60
ccagucagag ccgc	74
<210> 258	
<211> 74	
<212> RNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> TR-54	
<400> 258	
ggcucuguag uucagucggu agaacggcgg acuuucacuc cguaugucac ugguucgagu	60
ccagucagag ccgc	74
<210> 259	
<211> 74	
<212> RNA	
<213>	
Artificial Sequence	
<220><223> TR-55	
<400> 259	
ggcucuguag uucagucggu agaacggcgg acucucacuc cguaugucac ugguucgagu	60
ccagucagag ccgc	74
<210> 260	
<211> 77	

<212> RNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> AAtR-60  
 <400> 260  
 ggagcggguag uucagucggu uagaauaccu gccuugacg cagggggucg cggguucgag 60  
 ucccguccgu uccgcca 77  
 <210> 261  
 <211> 77  
 <212> RNA  
 <213> Artificial Sequence  
  
 <220><223> AAtR-61  
 <400> 261  
 ggagcggguag uucagucggu uagaauaccu gccuuugacg cagggggucg cggguucgag 60  
 ucccguccgu uccgcca 77  
 <210> 262  
 <211> 77  
 <212> RNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> AAtR-62  
 <400> 262  
 ggagcggguag uucagucggu uagaauaccu gccucugacg cagggggucg cggguucgag 60  
 ucccguccgu uccgcca 77  
 <210> 263  
 <211> 77  
 <212> RNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <  
 <220><223> AAtR-63  
 <400> 263  
 ggagcggguag uucagucggu uagaauaccu gcuuugaug cagggggucg cggguucgag 60  
 ucccguccgu uccgcca 77  
 <210> 264  
 <211> 77  
 <212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> AAtR-64

<400> 264

ggagcggguag uucagucggu uagaauaccu gcuuuugaug cagggggucg cggguucgag 60

ucccguccgu uccgcca 77

<210> 265

<211> 77

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220>

><223> AAtR-65

<400> 265

ggagcggguag uucagucggu uagaauaccu gcuucugaug cagggggucg cggguucgag 60

ucccguccgu uccgcca 77

<210> 266

<211> 77

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> AAtR-66

<400> 266

ggagcggguag uucagucggu uagaauaccu gccugugacg cagggggucg cggguucgag 60

ucccguccgu uccgcca 77

<210> 267

<211> 77

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> AAtR-67

<400> 267

ggagcggguag uucagucggu uagaauaccu gccuuugacg cagggggucg cggguucgag 60

ucccguccgu uccgcca 77

<210> 268

<211> 77

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> AAtR-68  
 <400> 268  
 ggagcggguag uucagucggu uagaauaccu gccucugacg cagggggucg cggguucgag 60  
 ucceguccgu uccgcca 77  
 <210> 269  
 <211> 77  
 <212> RNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><  
 223> AAtR-69  
 <400> 269  
 ggagcggguag uucagucggu uagaauaccu gcuugugaug cagggggucg cggguucgag 60  
 ucceguccgu uccgcca 77  
 <210> 270  
 <211> 77  
 <212> RNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> AAtR-70  
 <400> 270  
 ggagcggguag uucagucggu uagaauaccu gcuuuugaug cagggggucg cggguucgag 60  
 ucceguccgu uccgcca 77  
 <210> 271  
 <211> 77  
 <212> RNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223  
 > AAtR-71  
 <400> 271  
 ggagcggguag uucagucggu uagaauaccu gcuucugaug cagggggucg cggguucgag 60  
 ucceguccgu uccgcca 77  
 <210> 272  
 <211> 77  
 <212> RNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> AAtR-72

<400> 272  
 ggagcggguag uucagucggu uagaauaccu gccuauacag cagggggucg cggguucgag 60  
 ucccguccgu uccgcca 77

<210> 273  
 <211> 77  
 <212> RNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223>  
 AAtR-73

<400> 273  
 ggagcggguag uucagucggu uagaauaccu gccuuucacg cagggggucg cggguucgag 60  
 ucccguccgu uccgcca 77

<210> 274  
 <211> 77  
 <212> RNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> AAtR-74

<400> 274  
 ggagcggguag uucagucggu uagaauaccu gccucucacg cagggggucg cggguucgag 60  
 ucccguccgu uccgcca 77

<210> 275  
 <211> 76  
 <212> RNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> AAtR-75

<400> 275  
 ggucucuguag uucagucggu agaacggcgg auuaugauuc cguaugucac ugguucgagu 60  
 ccagucagag ccgcca 76

<210> 276  
 <211> 76  
 <212> RNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> AAtR-76

<400> 276

ggcucuguag uucagucggu agaacggcgg auuuugauuc cguaugucac ugguucgagu 60  
ccagucagag ccgcca 76  
<210> 277  
<211> 76  
<212> RNA  
<213> Artificial Sequence  
<220><223> AAtR-77  
<  
400> 277  
ggcucuguag uucagucggu agaacggcgg auucugauuc cguaugucac ugguucgagu 60  
ccagucagag ccgcca 76  
<210> 278  
<211> 76  
<212> RNA  
<213> Artificial Sequence  
<220><223> AAtR-78  
<400> 278  
ggcucuguag uucagucggu agaacggcgg auugugauuc cguaugucac ugguucgagu 60  
ccagucagag ccgcca 76  
<210> 279  
<211> 76  
<212> RNA  
<213> Artificial Sequence  
<220><223> AAtR-79  
<400>  
> 279  
ggcucuguag uucagucggu agaacggcgg auuuugauuc cguaugucac ugguucgagu 60  
ccagucagag ccgcca 76  
<210> 280  
<211> 76  
<212> RNA  
<213> Artificial Sequence  
<220><223> AAtR-80  
<400> 280  
ggcucuguag uucagucggu agaacggcgg auucugauuc cguaugucac ugguucgagu 60

ccagucagag cgcga	76
<210> 281	
<211> 76	
<212> RNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> AAtR-81	
<400>	
281	
ggcucuguag uucagucggu agaacggcgg acuaucacuc cguaugucac ugguucgagu	60
ccagucagag cgcga	76
<210> 282	
<211> 76	
<212> RNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> AAtR-82	
<400> 282	
ggcucuguag uucagucggu agaacggcgg acuuucacuc cguaugucac ugguucgagu	60
ccagucagag cgcga	76
<210> 283	
<211> 76	
<212> RNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> AAtR-83	
<400> 283	
ggcucuguag uucagucggu agaacggcgg acucucacuc cguaugucac ugguucgagu	60
ccagucagag cgcga	76