



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2021년02월18일
(11) 등록번호 10-2217310
(24) 등록일자 2021년02월10일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07K 7/08 (2006.01) A61K 47/64 (2017.01)
C07K 7/04 (2006.01) C07K 7/06 (2006.01)
C12N 15/11 (2006.01)
- (52) CPC특허분류
C07K 7/08 (2013.01)
A61K 47/64 (2017.08)
- (21) 출원번호 10-2020-0025227 (분할)
- (22) 출원일자 2020년02월28일
심사청구일자 2020년02월28일
- (65) 공개번호 10-2020-0028357
- (43) 공개일자 2020년03월16일
- (62) 원출원 특허 10-2016-0039707
원출원일자 2016년03월31일
심사청구일자 2016년04월29일
- (30) 우선권주장
60/887,060 2007년01월29일 미국(US)
- (56) 선행기술조사문헌
W02003097671 A1
US20040209797 A1

- (73) 특허권자
주식회사 프로셀테라퓨틱스
서울특별시 구로구 디지털로 273, 1008호 1009호
(구로동, 에이스트원타워2)
- (72) 발명자
이병규
경기도 군포시 수리산로 244, 993동 1201호 (산본동, 백두한양아파트)
임정희
경기도 광명시 금당로 11, 603동 1507호 (하안동, 하안6단지고층주공아파트)
- (74) 대리인
이명진

전체 청구항 수 : 총 13 항

심사관 : 최준호

(54) 발명의 명칭 신규한 거대분자 전달 도메인 및 이의 동정 방법 및 용도

(57) 요약

본 발명은 세포막을 가로지르는 생물학적 활성 분자의 횡단을 용이하게 하는 신규한 거대분자 전달 도메인(MTD) 펩티드를 기술한다. 상기 MTD 펩티드를 인코딩(encoding)하는 폴리뉴클레오티드, 상기 MTD 펩티드를 동정하는 방법, 상기 MTD 펩티드를 이용하여 생물학적 활성 분자가 세포 투과성을 갖도록 유전적으로 조작하는 방법, 상기 MTD 펩티드를 이용하여 세포 내로 생물학적 활성 분자를 유입시키는 방법, 및 이의 용도가 또한 기술된다.

대표도

#	Origin	Hydropathy	HRS: Hydrophobic Region of Signal Sequence				Helix	Preliminary modified Sequences	Helix	Finally modified Sequences	Helix
			HRS (Candidate Domain)	Helix	Helix	Helix					
JO-01	NP_001033 (SARS-CoV-2 spike protein) (SARS-CoV-2)		7 VLTFTAVTVCAIV LAAPD 26		1 VLAIVVCAVLAAP 14	No	AVVVCAGLAAP 12	No			
JO-02	NP_001032 (SARS-CoV-2 spike protein) (SARS-CoV-2)		1 MAAMFLALLVLL LGGWCLA 23		1 AAAPLALLVLLLP LA 17		FLALLVLLLP 12	No			
JO-03	NP_001031 (SARS-CoV-2 spike protein) (SARS-CoV-2)		1 MAAMRTLLLAFA LLCLPWLQE 25		1 AAGLLAFALLCLP 14	No	LLAFALLCLP 11				
JO-04	NP_001030 (SARS-CoV-2 spike protein) (SARS-CoV-2)		1 LGLAAVLLA LAVYRBS 27		1 LGLAAVLLALA 15		LLGAAVLLALA 15				

(52) CPC특허분류

C07K 7/04 (2013.01)

C07K 7/06 (2013.01)

C12N 15/11 (2013.01)

C07K 2319/00 (2013.01)

명세서

청구범위

청구항 1

생물학적 활성 분자의 세포 내로의 운반을 매개할 수 있는 펩티드로, 상기 펩티드가 서열번호: 119의 아미노산 서열로 이루어진 것을 특징으로 하는, 단리된 거대분자 전달 도메인(MTD) 펩티드로서,

상기 펩티드는 생물학적 활성 분자와 결합하여 생물학적 활성 분자의 세포 내로의 운반을 매개할 수 있으며,

상기 생물학적 활성 분자는 단백질, 폴리펩티드, 펩티드, 핵산, 코딩 핵산 서열, mRNAs, 안티센스 RNA 분자, 탄수화물, 지질, 및 당지질로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인, 단리된 거대분자 전달 도메인(MTD) 펩티드.

청구항 2

제1항에 따른 거대분자 전달 도메인(MTD) 펩티드를 인코딩하는 단리된 폴리뉴클레오티드.

청구항 3

제2항에 있어서, 상기 폴리뉴클레오티드가 서열번호: 312의 염기서열로 이루어진 것을 특징으로 하는, 단리된 폴리뉴클레오티드.

청구항 4

생물학적 활성 분자가 결합된, 서열번호: 119의 아미노산 서열로 이루어진 거대분자 전달 도메인(MTD) 펩티드를 포함하는, 세포 투과성을 갖는 단리된 제조합 단백질로서,

상기 생물학적 활성 분자는 단백질, 폴리펩티드, 펩티드, 핵산, 코딩 핵산 서열, mRNAs, 안티센스 RNA 분자, 탄수화물, 지질, 및 당지질로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인, 단리된 제조합 단백질.

청구항 5

삭제

청구항 6

제4항에 있어서, 상기 생물학적 활성 분자가 성장인자, 효소, 전사인자, 독소, 항원성 펩티드, 항체, 및 항체 단편으로 구성된 군으로부터 선택되는 것인 단리된 제조합 단백질.

청구항 7

제4항에 있어서, 상기 생물학적 활성 분자가 효소, 호르몬, 운반 단백질, 면역글로불린, 항체, 구조 단백질, 운동 기능 단백질, 수용체, 신호(signaling) 단백질, 저장 단백질, 막 단백질, 막횡단(transmembrane) 단백질, 내부(internal) 단백질, 외부(external) 단백질, 분비 단백질, 바이러스 단백질, 선천성(native) 단백질, 당단백질, 절단된 단백질, 이황화 결합을 갖는 단백질, 단백질 복합체, 화학적으로 개질된 단백질 및 프리온(prions)으로 구성된 군으로부터 선택되는 것인 단리된 제조합 단백질.

청구항 8

삭제

청구항 9

제4항에 있어서, 상기 생물학적 활성 분자가 치료제인 것인 단리된 재조합 단백질.

청구항 10

제4항에 있어서, 상기 생물학적 활성 분자가 치료 약물 및 독성 화합물로 구성된 군으로부터 선택되는 것인 단리된 재조합 단백질.

청구항 11

세포 투과성을 갖는 생물학적 활성 분자를 유전적으로 조작하는 방법으로, 상기 방법은 거대분자 전달 도메인(MTD) 펩티드를 생물학적 활성 분자에 결합시키는 단계를 포함하고, 상기 MTD 펩티드가 서열번호: 119의 아미노산 서열로 이루어진 것을 특징으로 하며,

상기 생물학적 활성 분자는 단백질, 폴리펩티드, 펩티드, 핵산, 코딩 핵산 서열, mRNAs, 안티센스 RNA 분자, 탄수화물, 지질, 및 당지질로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인, 방법.

청구항 12

제11항에 있어서, 상기 결합이 생물학적 활성 분자의 N-말단, C-말단, 이들 모두 또는 그의 중간에 MTD 펩티드를 결합하는 것을 포함하는 것인 방법.

청구항 13

제11항에 있어서, 상기 결합이 펩티드 결합에 의해 MTD 펩티드를 생물학적 활성 분자에 결합하는 것을 포함하는 것인 방법.

청구항 14

제11항에 있어서, 상기 결합이 공유 결합에 의해 MTD 펩티드를 생물학적 활성 분자에 결합하는 것을 포함하는 것인 방법.

청구항 15

서열번호: 119의 아미노산 서열로 이루어진 거대분자 전달 도메인(MTD) 펩티드를 포함하는, 약물 전달용 조성물로서,

상기 거대분자 전달 도메인 펩티드는 약물과 결합하여 약물의 세포 내로의 운반을 매개할 수 있으며,

상기 약물은 단백질, 폴리펩티드, 펩티드, 핵산, 코딩 핵산 서열, mRNAs, 안티센스 RNA 분자, 탄수화물, 지질, 및 당지질로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인, 약물 전달용 조성물.

발명의 설명

기술 분야

본 발명은 세포막을 가로지르는 생물학적 활성 분자의 횡단을 용이하게 하는 신규한 거대분자 전달 도메인(MTD) 펩티드, 상기 MTD 펩티드를 인코딩하는 폴리뉴클레오티드, 상기 MTD 펩티드를 동정하는 방법, 상기 MTD 펩티드

[0001]

를 이용하여 생물학적 활성 분자가 세포 투과성을 갖도록 유전적으로 조작하는 방법, 상기 MTD 펩티드를 이용하여 세포 내로 생물학적 활성 분자를 유입시키는 방법, 및 이의 용도에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] DNA, RNA, 단백질, 올리고뉴클레오타이드, 및 펩티드와 같은, 거대분자들의 세포 내재화(cellular internalization)는, 이러한 분자들에 대해 불투과성 장벽을 구성하는, 원형질막의 존재로 인해 여전히 도전적인 과제이다. 조직 또는 세포 내로의 저조한 침투, 특정 조직 또는 세포를 표적하는 특이성의 부족으로 인해 전신적으로 전달될 때의 독성, 특정 표적 세포 또는 조직에서 적당한 국소 농도를 달성하기 위하여 고 농도로 전달될 때의 부작용, 및 불충분한 양이 표적에 전달되게 하는 분해 및/또는 분해의 부산물이 바람직하지 못한 부작용을 야기하게 하는 분해를 포함하는, 수많은 장애들이 이러한 분자들을 표적하는 표적에 전달하는데 직면하게 된다.

[0003] 이러한 문제점을 해결하기 위하여, 몇몇 담체-매개 전달 시스템(carrier-mediated delivery systems)이 개발되었다. 이들 중에서, 최근에 펩티드-계(peptide-based) 전달 시스템의 사용에 많은 관심이 집중되고 있다. 세포 투과성을 갖는 펩티드의 사용은 여러 장점을 갖는데, 이는 주로 상기 펩티드 서열에 이루어질 수 있는 다양한 변형에 기인한다. 이는 다른 세포 하부도메인(subdomains)을 지정할 수 있고/있거나 다양한 형태의 화물 분자들(cargo molecules)을 운반할 수 있는 담체의 조작을 가능케 한다.

[0004] 많은 세포 투과성 펩티드들이 재조합 단백질, 신호 펩티드, 막횡단 도메인, 및 항미생물 펩티드와 같은, 막-상호작용(membrane-interacting) 단백질의 서열로부터 고안된다. 이러한 서열들 내에서, 단백질 전달 도메인(protein transduction domains, PTDs)이라고 불리는 짧은 서열들은 담체 또는 수용체를 요구하지 않으면서 생물학적 막을 효과적으로 가로지르고 펩티드 또는 단백질을 세포내 구역으로 전달하는 것이 입증되었다. PTD-계 펩티드의 사용이 바이러스성 질환 또는 암의 치료에 매우 중요할 수 있음이 많은 연구에서 제시되었다. 상기 PTD-계 펩티드들 중에서, 페네트라틴(penetratin)이라고 불리는 안테나페디아(antennapedia)의 호메오도메인(homeodomain)의 제3 헬릭스(Joliot, A. 및 A. Prochiantz, *Nat. Cell Biol.* 6(3): 189-96 (2004)), HIV-1의 전이활성(transactivating) 단백질 Tat 유래 Tat 펩티드(Wadia, J.S. 및 S.F. Dowdy, *Cum Opin. Biotechnol.* 13(1): 52-6 (2002)), 트랜스포탄(transportan)(Pooga 등, *Faseb J.* 12(1): 67-77 (1998)), 및 VP22(Elliott, G. 및 P. O'Hare, *Cell* 88(2): 223-33 (1997))가 펩티드, 단백질, 및 올리고뉴클레오타이드의 세포 유입을 향상시키는 것으로 나타났다.

[0005] 양친매성(amphipathic) 펩티드로 불리는, 두 번째 범주의 세포-침투성(cell-penetrating) 펩티드가 또한 기술되었다. 양친매성 분자는, 간략히, 두 개의 도메인: 친수성(극성) 도메인 및 소수성(비-극성) 도메인으로 구성되는 것으로 정의될 수 있다. 펩티드에서, 양친매성 특성은 일차 구조 또는 이차 구조로부터 기인할 수 있다. 일차 양친매성 펩티드는 소수성 잔기 도메인과 친수성 잔기 도메인의 연속적인 조립(sequential assembly)으로 정의될 수 있다. 이차 양친매성 펩티드는 분자의 반대편에 소수성 및 친수성 잔기들의 위치선정(positioning)을 허용하는 형태학적 상태에 의해 형성된다.

[0006] 폴리아르기닌(polyarginine)-계 펩티드, 칼시토닌(calcitonin)-유래 펩티드, 및 올리고머와 같은, 다른 펩티드들이 또한 치료제의 세포내 전달을 위한 수단으로 제안되어 왔다.

[0007] 그러나 현재 공지된 전달 시스템은 그들의 효율 부족 및/또는 그들의 독성으로 인해 제한적인 것으로 보이고, 그들의 효율을 향상시키는데 핸디캡(handicap)을 구성하는, 그들의 세포내 유입 기작에 대해서는 거의 알려져 있지 않다. 또한, 수많은 전달 시스템이 세포막 및 핵막을 가로지르는 이들의 능력에 있어 제한적이다. 이러한 전달 펩티드들이 세포막을 가로지르는 경우에도, 이들은 엔도솜(endosome) 내 이들의 포착(entrapment)으로 인해 이들의 효율에 있어서 종종 제한적이다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0008] 본 발명은 종래 기술에 있어 이러한 결함을 극복하기 위한 것으로서, 본 발명은 생물학적 활성 분자의 세포 내로의 운반을 매개할 수 있는 단리된 거대분자 전달 도메인(MTD) 펩티드 및 상기 펩티드들을 인코딩하는 단리된 폴리뉴클레오타이드를 제공하는 것을 목적으로 한다.

[0009] 또한, 본 발명은 세포 투과성을 갖는 MTD 펩티드 및 생물학적 활성 분자를 포함하는 세포 투과성을 갖는 단리된

재조합 단백질을 제공하는 것을 다른 목적으로 한다.

[0010] 또한, 본 발명은 MTD 펩티드를 생물학적 활성 분자에 부착하여 세포 투과성을 갖는 생물학적 활성 분자를 유전적으로 조작하는 방법을 제공하는 것을 또 다른 목적으로 한다.

[0011] 또한, 본 발명은 MTD가 생물학적 활성 분자에 부착되어 있는 세포 투과성 재조합 단백질을 포함하는 세포에 생물학적 활성 분자의 전달을 위한 약학적 조성물을 제공하는 것을 또 다른 목적으로 한다.

과제의 해결 수단

[0012] 본 발명은 생물학적 활성 분자의 세포 내로의 운반을 매개할 수 있는 단리된 거대분자 전달 도메인(MTD) 펩티드에 관한 것이다.

[0013] 본 발명의 다른 측면은 그러한 MTD 펩티드들을 인코딩하는 단리된 폴리뉴클레오티드에 관한 것이다.

[0014] 본 발명은 또한 세포 투과성을 갖는 MTD 펩티드를 동정하는 방법에 관한 것이다.

[0015] 본 발명의 다른 측면은 MTD 펩티드를 생물학적 활성 분자에 부착하여 세포 투과성을 갖는 생물학적 활성 분자를 유전적으로 조작하는 방법에 관한 것이다.

[0016] 본 발명의 또 다른 측면은 세포 투과성을 갖는 MTD 펩티드 및 생물학적 활성 분자를 포함하는 세포 투과성을 갖는 단리된 재조합 단백질에 관한 것이다.

[0017] 본 발명은 또한 MTD가 생물학적 활성 분자에 부착되어 있는 세포 투과성 재조합 단백질을 포함하는 세포에 생물학적 활성 분자의 전달을 위한 약학적 조성물에 관한 것이다.

[0018] 본 발명의 다른 측면은 생물학적 활성 분자에 부착된 MTD 펩티드를 포함하는 세포 투과성 재조합 단백질을 대상에게 투여하는 것을 포함하는 대상 내에서 세포 내로 생물학적 활성 분자를 운반하는 방법에 관한 것이다.

[0019] 본 발명의 다른 측면은 약물 전달, 백신 투여, 단백질 요법, 및 유전자 요법을 위한 MTD 펩티드의 용도에 관한 것이다.

발명의 효과

[0020] 본 발명은 세포 내로 생물학적 활성 분자의 운반을 용이하게 할 수 있고, 그로 인해, 약물 전달, 백신 투여, 펩티드 요법, 및 유전자 요법에 효과적으로 사용될 수 있는 세포 투과성을 갖는 MTD 펩티드를 제공한다.

도면의 간단한 설명

[0021] 도 1a 내지 1d는 본 발명의 방법에 따라 동정된 거대분자 전달 도메인(MTD) 펩티드의 아미노산 서열 및 구조적 특징을 설명하는 표를 보여준다.

도 2는 세포 투과성을 갖고 본 발명에 따라 제작된 His-MTD-EGFP 재조합 단백질을 설명하는 모식도이다.

도 3a 내지 3c는 본 발명에 따른 PCR에 의해 증폭된 MTDs-EGFP를 인코딩하는 DNA 단편을 보여주는 아가로스 겔 전기영동 분석의 사진이다.

도 4a는 본 발명에 따라 pGEM-Teasy 벡터 내로 MTD-EGFP를 인코딩하는 DNA 단편의 서브클로닝을 설명하는 모식도이고, 도 4 b내지 4d는 본 발명에 따라 pGEM-Teasy 벡터 내로 서브클로닝된 MTDs-EGFP를 인코딩하는 DNA 단편을 보여주는 아가로스 겔 전기영동 분석의 사진이다.

도 5a는 본 발명에 따라 pET 28(+) 벡터 내로 MTD-EGFP를 인코딩하는 DNA 단편의 클로닝을 설명하는 모식도이고, 도 5b 내지 5c는 본 발명에 따라 pET 28(+) 벡터 내로 클로닝된 MTDs-EGFP를 인코딩하는 DNA 단편을 보여주는 아가로스 겔 전기영동 분석의 사진이다.

도 6a 및 6b는 본 발명에 따른 His-MTD-EGFP 재조합 단백질의 유도성 발현을 설명하는 SDS-PAGE 분석의 사진이다.

도 7a 및 7b는 본 발명에 따른 변성 조건 하에서 His-MTD-EGFP 재조합 단백질의 순도를 나타내는 SDS-PAGE 분석의 사진이다.

도 8은 본 발명에 따른 탈변성 조건 하에서 His-MTD-EGFP 재조합 단백질의 정제를 나타내는 SDS-PAGE 분석의 사

진이다.

도 9a 내지 9g는 본 발명에 따른 유세포측정에 의해 분석된 His-MTD-EGFP 재조합 단백질의 세포 투과성을 설명하는 그래프이다.

도 10a 내지 10i는 본 발명에 따라 동초점 레이저 주사 현미경에 의해 His-MTD-EGFP 재조합 단백질의 세포 투과성을 시각화한 사진이다.

도 11a 및 11b는 본 발명에 따른 His-MTD-EGFP 재조합 단백질의 세포 투과성을 양성 대조군과 비교한 그래프이다.

도 12a 내지 12i는 본 발명에 따라 형광 현미경에 의해 His-MTD-EGFP 재조합 단백질의 *in vivo* 분포를 시각화한 사진이다.

도 13aa 내지 13k는 본 발명의 방법에 따라 동정된 MTD 펩티드의 특징을 요약한 표를 보여준다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0022] 본 발명은 세포막을 가로지르는 생물학적 활성 분자의 횡단을 용이하게 하는 세포 투과성을 갖는 신규한 거대분자 전달 도메인(MTD) 펩티드에 관한 것이다. 본 발명의 MTD 펩티드는 세포막을 통과하여 폴리펩티드, 단백질 도메인, 또는 전장 단백질을 포함하는, 생물학적 활성 분자의 유입을 매개할 수 있는 세포 투과성 폴리펩티드이다. 본 발명의 MTD 펩티드는 이들의 N-말단에 단일 소수성 영역(single hydrophobic region)을 가지고, 헬릭스 구조(helix structure)를 형성하며, 유연성을 나타내고, 상대적으로 짧은 길이의 아미노산(7개 내지 17개 아미노산)을 갖는 것을 특징으로 한다(도 1Aa 내지 10d 참고).

[0023] 본 발명의 일 실시형태는 세포 투과성을 갖는 단리된 MTD 펩티드에 관한 것으로, 상기 MTD 펩티드는 서열번호: 1 내지 193으로 구성되는 군으로부터 선택되는 아미노산 서열, 이들의 유사체, 유도체, 아미드화(amidated) 변이, 및 보존적 변이를 갖는다.

[0024] 당업계의 통상적인 지식을 가진 자는 보다 높은 세포 투과성 및 보다 넓은 숙주 범위를 갖는 펩티드를 수득하기 위하여 유사한 치환을 만들 수 있다. 예를 들어, 본 발명은 펩티드의 세포 투과성이 유지되는 한, 이들의 유사체, 유도체, 및 아미드화 유도체뿐만 아니라, 서열번호: 1 내지 193의 아미노산 서열에 상응하는 펩티드를 제공한다. 본 발명의 펩티드의 일차 아미노산 서열에 대한 미미한(minor) 변형은 본원에 기술된 특정한 펩티드와 비교하여, 실질적으로 동등하거나 증가된 세포 투과성을 갖는 펩티드를 생성할 수 있다. 이러한 변형은 부위-지정 돌연변이(site-directed mutagenesis)에 의해서와 같이, 의도적일 수 있고, 자연발생적일 수 있다. 본래 펩티드의 세포 투과성이 여전히 존재하거나, 상기 펩티드의 아미드화 변이의 경우에는, 상기 아미드화 펩티드가 치료적으로 유용하도록 본래 펩티드의 세포 투과성이 증가하거나 변형되는 한, 이러한 변형에 의해 생성된 모든 펩티드들은 본 발명에 포함된다. 이러한 변형은 특정 펩티드의 세포 투과성을 변형시키거나 증강시키는데 유용함이 예상된다.

[0025] 나아가, 하나 이상의 아미노산의 결실이 또한 그의 세포 투과성에 있어서의 어떠한 유의미한 변화 없이 결과 분자의 구조에 대한 변형을 야기할 수 있다. 이는 또한 유용성(utility)을 가질 수 있는 보다 작은 활성 분자의 개발로 이어질 수 있다. 예를 들어, 특정 펩티드의 세포 투과성에 요구되지 않을 수 있는 아미노- 또는 카르복시-말단 아미노산이 제거될 수 있다. 본 발명의 펩티드는 본원에 기술된 바와 같이, 세포 투과성을 유지하는 한, 본 출원에 기술된 펩티드의 임의의 유사체(analog), 동족체(homolog), 돌연변이체, 이성질체(isomer), 또는 유도체(derivateive)를 포함한다. 모든 펩티드는 L-아미노산을 사용하여 합성되었다; 그러나, 모든 펩티드의 D 형태가 합성적으로 생산될 수 있다. 또한, C-말단 메틸 에스테르 및 C-말단 아미데이트(amidate)와 같은, C-말단 유도체가 본 발명의 펩티드의 세포 투과성을 증가시키기 위해 제조될 수 있다.

[0026] 본 발명의 "펩티드"는 본원에 특정하게 예시된 그러한 펩티드들의 보존적 변이(conservative variation)인 아미노산 서열을 포함한다. 본원에 사용된 바와 같이 용어 "보존적 변이"는 한 아미노산 잔기의 다른, 생물학적으로 유사한 잔기로의 치환을 의미한다. 보존적 변이의 예시에는 다른 잔기의 소수성 잔기, 예컨대 아이소류오신, 발린, 류오신, 알라닌, 시스테인, 글리신, 페닐알라닌, 프롤린, 트립토판, 티로신, 노르류오신(norleucine), 또는 메티오닌으로의 치환, 또는 다른 잔기의 극성 잔기로의 치환, 예컨대 라이신의 아르기닌으로, 아스파르트산의 글루탐산으로, 또는 아스파라긴의 글루타민으로와 같은 치환이 포함된다. 하나의 다른 아미노산에 대해 치환될 수 있는 중성 친수성 아미노산에는 아스파라긴, 글루타민, 세린, 및 트레오닌이 포함된다. 용어 "보존적 변이"는 또한, 치환된 폴리펩티드에 대해 야기된 항체가 비치환된 폴리펩티드와 면역

적으로 반응한다면, 비치환된 모체(parent) 아미노산 대신에 치환된 아미노산의 사용을 포함한다. 이러한 보존적 치환은 본 발명의 펩티드의 종류의 정의 내에 포함된다.

- [0027] 본 발명의 다른 측면은 본 발명의 상기 MTD 펩티드를 인코딩하는 단리된 폴리뉴클레오티드에 관한 것이다. 예시적인 뉴클레오티드들은 서열번호: 1 내지 193으로 구성된 군으로부터 선택되는 아미노산 서열을 갖는 MTD 펩티드들, 및 이의 유사체, 유도체, 아미드화 변이, 및 보존적 변이를 인코딩한다. 본 발명의 MTD 펩티드를 인코딩하는 폴리뉴클레오티드는 서열번호: 194 내지 386으로 표시되는 염기 서열을 갖는다.
- [0028] 본 발명의 폴리뉴클레오티드는 RNA 또는 DNA의 형태일 수 있는데, 상기 DNA는 cDNA 및 합성 DNA를 포함한다. DNA는 단일 가닥이거나 이중 가닥일 수 있다. 만약 단일 가닥이라면, 이는 코딩 가닥 또는 비-코딩(안티센스) 가닥일 수 있다. 상기 코딩 서열은 서열번호: 194 내지 386으로부터 선택되는 염기 서열과 동일할 수 있고, 또는 다른 코딩 서열일 수 있는데, 상기 코딩 서열은, 유전적 코드의 축퇴성(degeneracy) 또는 중복성(redundancy)의 결과로서, 동일한 폴리펩티드를 인코딩한다.
- [0029] 본 발명의 폴리뉴클레오티드는 또한 상기에 기술된 폴리뉴클레오티드의 변이체를 포함하는데, 이는 서열번호: 1 내지 193의 연역된(deduced) 아미노산 서열을 특징으로 하는 폴리뉴클레오티드의 단편, 유사체, 및 유도체를 인코딩한다. 상기 폴리뉴클레오티드의 변이체는 폴리뉴클레오티드의 자연적으로 발생하는 대립(allelic) 변이체 또는 폴리뉴클레오티드의 비-자연적으로 발생하는 변이체일 수 있다.
- [0030] 본 발명의 폴리뉴클레오티드는 서열번호: 194 내지 386으로부터 선택되는 염기 서열을 특징으로 하는 코딩 서열의 자연적으로 발생하는 대립 변이체인 코딩 서열을 가질 수 있다. 대립 변이체는, 인코딩되는 폴리뉴클레오티드의 기능을 실질적으로 변경하지 않는, 하나 이상의 뉴클레오티드들의 치환, 결실, 또는 부가를 가질 수 있는 폴리염기 서열의 교대(alternate) 형태이다.
- [0031] 본원에 기술된 서열과 유사하거나 동종인(예컨대, 적어도 약 70% 서열 동일성) 서열이 또한 본 발명의 일부이다. 본 발명의 다른 실시형태에서, 아미노산 수준에서 서열 동일성은 약 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 그 이상일 수 있다. 폴리뉴클레오티드 수준에서, 서열 동일성은 약 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 그 이상일 수 있다. 대안으로, 폴리뉴클레오티드 분절(segment)이 상기 가닥의 보체(complement)에 선택적인 혼성화 조건(즉, 매우 높은 엄격성(stringency) 혼성화 조건) 하에서 혼성화될 때 실질적인 동일성이 존재한다. 상기 폴리뉴클레오티드는 전세포 내에, 세포 용해물(lysate) 내에, 또는 부분적으로 정제되거나 실질적으로 순수한 형태로 존재할 수 있다.
- [0032] 단일 아미노산이 하나 이상의 뉴클레오티드 코돈에 의해 인코딩될 수 있고 상기 폴리뉴클레오티드가 동일한 펩티드를 인코딩하는 교대 폴리뉴클레오티드를 제조하도록 용이하게 변형될 수 있음이 당업계에 잘 알려져 있다. 따라서, 본 발명의 다른 실시형태는 앞서 기술된 바와 같은 아미노산 서열을 포함하는 펩티드를 인코딩하는 교대 염기 서열을 포함한다. 상기 청구된 아미노산 서열을 포함하는 펩티드를 인코딩하는 핵산 분자는 상기 청구된 서열과 청구된 아미노산 서열의 N-말단 또는 C-말단에 위치한 임의의 아미노산들의 임의의 조합을 인코딩하는 염기 서열을 포함한다.
- [0033] 본 발명의 아미노산 및 핵산 서열은 부가적인 잔기들, 특히 N- 또는 C-말단 아미노산 또는 5' 또는 3' 폴리뉴클레오티드를 포함할 수 있고, 상기 서열이 재조합 단백질의 폴리펩티드 또는 단백질 모이어티(moiety)에 막 투과성을 부여하는 한, 본원에 기술된 서열에 개시된 바와 같이 여전히 본질적일 수 있다.
- [0034] 본 발명은 또한 세포 투과성을 갖는 MTD 펩티드를 동정하는 방법에 관한 것이다.
- [0035] 본 발명의 방법은 하기 단계를 포함한다:
- [0036] 1) 다수의 아미노산 서열 데이터베이스로부터 신호 서열-유사 도메인(signal sequence-like domain)을 갖는 분비 단백질을 동정하는 단계;
- [0037] 2) 상기 동정된 분비 단백질로부터 그들의 N-말단에 단일 소수성 영역을 갖고 헬릭스 구조를 형성하는 소수성 펩티드를 선별하는 단계; 및
- [0038] 3) MTD 펩티드로 사용하는데 적합한 펩티드를 제조하기에 효과적인 조건 하에서 상기 선별된 소수성 펩티드를 최적화하고 최소화하는 단계.
- [0039] 잠재적으로 원형질막을 통과할 수 있는 특정한 후보 펩티드를 동정하기 위하여, 단계 1)에 기술된 바와 같이, 신호 서열-유사 도메인을 갖는 분비 단백질들을 다수의 아미노산 서열 데이터베이스로부터 동정한다. 본 발명

의 특정한 실시형태에서, 이들 분비 단백질은 "신호 서열의 소수성 영역", "신호 서열 소수성 영역", "분비 단백질의 신호 서열", "소수성 신호 서열", 및 "분비 단백질의 소수성 도메인"과 같은, 다양한 검색어를 사용하여 PubMed Entrez Protein Database로부터 선별된다. 그 결과, 신호 서열-유사 도메인을 갖는 1,500개 이상의 분비 단백질들이 동정된다.

[0040] 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "신호 서열-유사 도메인"은 원형질막을 가로지르는 거대분자 전위(translocation)를 매개할 수 있는 펩티드를 지칭한다.

[0041] 본원에 사용된 바와 같이 용어 "신호 펩티드"는 단백질의 후-번역 운반(post-translational transport)을 지시하는 짧은(3개 내지 60개 아미노산 길이) 펩티드이다. 신호 펩티드는 또한 표적화(targeting) 신호, 신호 서열, 전이(transit) 펩티드, 또는 국소화(localization) 신호로 불릴 수 있다. 신호 펩티드의 아미노산 서열은 단백질(세포질 내에서 합성됨)을 핵, 미토콘드리아 기질, 세포질그물(endoplasmic reticulum), 엽록체, 탈원형질체(apoplast) 및 과산화소체(peroxisome)와 같은 특정한 기관으로 유도한다. 일부 신호 펩티드는 상기 단백질이 운반된 후 신호 펩티다제(signal peptidase)에 의해 단백질로부터 절단된다. 분비 단백질의 N-말단 서열은 세포막을 통과하는 운반에 요구된다.

[0042] 신호 펩티드의 예시에는 핵으로의 운반(NLS: -Pro-Pro-Lys-Lys-Lys-Arg-Lys-Val-), 세포질그물로의 운반(H₂N-Met-Met-Ser-Phe-Val-Ser-Leu-Leu-Leu-Val-Gly-Ile-Leu-Phe-Trp-Ala-Thr-Glu-Ala-Glu-Gln-Leu-Thr-Lys-Cys-Glu-Val-Phe-Gln-), 세포질그물로의 잔류(retention)(-Lys-Asp-Glu-Leu-COOH), 미토콘드리아 기질로의 운반(H₂N-Met-Leu-Ser-Leu-Arg-Gln-Ser-Ile-Arg-Phe-Phe-Lys-Pro-Ala-Thr-Arg-Thr-Leu-Cys-Ser-Ser-Arg-Tyr-Leu-Leu-), 과산화소체로의 운반(PTS1: -Ser-Lys-Leu-COOH), 과산화소체로의 운반(PTS2: H₂N---Arg-Leu-X5-His-Leu-)(상기에서, H₂N은 단백질의 N-말단이고, COOH는 단백질의 C-말단임)을 포함할 수 있지만, 이들로 제한되는 것은 아니다.

[0043] 신호 서열-유사 도메인의 예시에는 페네트라틴(penetratin)(Arg-Gln-Ile-Lys-Ile-Trp-Phe-Gln-Asn-Arg-Arg-Met-Lys-Trp-Lys-Lys), 전이활성 단백질 HIV-1의 Tat 유래 Tat 펩티드(Arg-Lys-Lys-Arg-Arg-Gln-Arg-Arg-Pro), 트랜스포탄(transportan)(Gly-Trp-Thr-Leu-Asn-Ser-Ala-Gly-Tyr-Leu-Leu-Gly-Lys-Ile-Asn-Lys-Ala-Leu-Ala-Ala-Leu-Ala-Lys-Lys-Ile-Leu), 부포린(Buforin) II (Thr-Arg-Ser-Ser-Arg-Ala-Gly-Leu-Gln-Phe-Arg-Val-Gly-Arg-Val-His-Arg-Leu-Leu-Arg-Lys), MAP(모텔 양친매성 펩티드: Lys-Leu-Ala-Leu-Lys-Ala-Ser-Leu-Lys-Ala-Leu-Lys-Ala-Ala-Leu-Lys-Leu-Ala), k-FGF(Ala-Ala-Val-Ala-Leu-Leu-Pro-Ala-Val-Leu-Leu-Ala-Leu-Leu-Ala-Pro), Ku 70(Val-Pro-Met-Leu-Lys-Pro-Met-Leu-Lys-Glu), 프리온(prion)(Met-Ala-Asn-Leu-Gly-Tyr-Trp-Leu-Leu-Ala-Leu-Phe-Val-Thr-Met-Trp-Thr-Asp-Val-Gly-Leu-Cys-Lys-Lys-Arg-Pro-Lys-Pro), pVEC(Leu-Leu-Ile-Ile-Leu-Arg-Arg-Arg-Ile-Arg-Lys-Gln-Ala-His-Ala-His-Ser-Lys), pep-1(Lys-Glu-Thr-Trp-Trp-Glu-Thr-Trp-Trp-Thr-Glu-Trp-Ser-Gln-Pro-Lys-Lys-Lys-Arg-Lys-Val), SynB1(Arg-Gly-Gly-Arg-Leu-Ser-Tyr-Ser-Arg-Arg-Arg-Phe-Ser-Thr-Ser-Thr-Gly-Arg), pep-7(Ser-Asp-Leu-Trp-Glu-Met-Met-Met-Val-Ser-Leu-Ala-Cys-Gln-Tyr), 및 HN-1(Thr-Ser-Pro-Leu-Leu-Ile-His-Asn-Gly-Gln-Lys-Leu)을 포함할 수 있지만, 이들로 제한되는 것은 아니다.

[0044] 이어서, 단계 2)에 기술된 바와 같이, 그의 N-말단에 단일 소수성 영역을 갖고 헬릭스 구조를 형성하는 소수성 펩티드를 단계 1)에서 동정된 분비 단백질로부터 선별한다. 단계 1)에서 동정된 신호 서열-유사 도메인을 갖는 모든 분비 단백질은 이들이 그의 N-말단에 단일 소수성 영역(H-영역)을 포함하는지 여부를 결정하기 위하여 수치법(hydropathy) 분석에 적용되고, 이어서 이들이 헬릭스 구조를 형성하는지 여부를 결정하기 위하여 컴퓨터-보조 계층 및 프로테옴 분석(computer-aided genomic and proteomic information analysis)에 적용된다. 소수성 영역은 보통 단백질에 막-전위 활성(membrane-translocating activity)을 부여하는 헬릭스 구조를 형성한다.

[0045] 본 발명의 일 실시형태에서, 막 단백질을 위한 분류 및 이차 예측 시스템으로 SOSUI 시스템이 상기 컴퓨터-보조 계층 및 프로테옴 분석을 위해 사용될 수 있다. SOSUI 시스템은 단백질 서열로부터 막 단백질의 이차적인 구조 예측에 유용한 도구로서 온-라인 상에서 자유로이 이용가능하다(<http://bp.nuap.nagoya-u.ac.jp/sosui> 참고). SOSUI 시스템은 일반적으로 분석되는 펩티드가 적어도 약 20개의 아미노산 길이를 가질 것을 요구하기 때문에, 증강된 녹색 형광 단백질(enhanced green fluorescent protein)의 N-말단 도메인으로부터 유래되는 부가적인 아미노산이 상기 신호 서열-유사 도메인의 말단에 부가된다. SOSUI 시스템을 이용하여, 그들의 N-말단에 단일 소수성 영역을 갖고 막횡단(transmembrane) 헬릭스 구조를 형성하는 220개의 소수성 펩티드를 선별한다.

[0046] 마지막으로, 단계 2)에서 선별된 소수성 펩티드는, 단계 3)에 기술된 바와 같이, 이들이 MTD 펩티드로서 사용하

기에 적합하도록 최적화되고 최소화된다. 선발된 소수성 펩티드를 최적화하기 위하여, 이들은 하기와 같이 실험적(empirical) 변형이 이루어진다: i) 친수성, 비극성, 및 양으로 또는 음으로 대전된(charged) 아미노산을 선발된 소수성 펩티드로부터 제거하고; ii) 5개의 소수성 아미노산, 즉 알라닌(Ala 또는 A), 발린(Val 또는 V), 프롤린(Pro 또는 P), 류우신(Leu 또는 L), 및 아이소류우신(Ile 또는 I)의 다양한 조합을 실험적으로 생성함. 상기 소수성 아미노산은 신호 서열의 소수성 영역이 헤어핀-유사 고리(hairpin-like loop)를 형성하는 것을 가능케 하여 인지질 이중층(phospholipid bilayer)의 불안정화된 형태학적 변화를 야기할 수 있는, H-영역에 유연성을 제공하는 것으로 알려져 있다. 유연한 H-영역과의 접촉에 의해 유도되는 비-이중층 지질 구조의 이러한 국부적이고 일시적인 형성은 위상적인 변환(topological transformation)을 야기한다.

- [0047] 상기에 기술된 바와 같이 최적화된 소수성 펩티드의 길이를 최소화하기 위해, 이들로부터 어떤 아미노산이 제거되어야 하는지를 결정하는데 하기 원리를 이용한다: i) 소수성 펩티드의 좌측 또는 우측에서 그의 소수성 영역은 유지하면서, 크기를 최소화하기 위해 비-소수성 아미노산이 제거되고; ii) 유연성 또는 휨 가능성(bending potential)을 제공하기 위해 소수성 펩티드의 중간 또는 우측에서 비-소수성 아미노산이 소수성 아미노산인 프롤린(Pro 또는 P)으로 치환되고; iii) 소수성 펩티드의 크기를 줄이기 위해 반복된 소수성 아미노산의 개수를 최소화함. 이와 같이, MTD 후보자들은 소수성 및 유연성을 나타내고, 상대적으로 짧은 아미노산(7개 내지 17개) 길이를 가지며, 헬릭스 구조를 형성하는 변형된 펩티드로서 특징된다.
- [0048] 상기에 기술된 본 발명의 방법에 따르면, 서열번호: 1 내지 193으로 구성된 균으로부터 선택되는 아미노산 서열을 갖고 세포막을 가로지르는 생물학적 활성 분자의 횡단을 용이하게 할 수 있는 신규한 MTD 펩티드들이 동정될 수 있다.
- [0049] 본 발명의 다른 실시형태에 따르면, 신규한 MTDs 중의 하나인, J0-98(서열번호: 98)은 하기 과정에 의해 동정될 수 있다:
- [0050] i) 인간 유래 면역글로불린 도메인 함유 4를 신호 서열-유사 도메인을 갖는 분비 단백질로서 PubMed Entrez Protein Database로부터 선발하고;
- [0051] ii) 수치법 분석을 통해, 상기 단백질이 단일 N-말단 소수성 영역을 포함하는지를 확인하고;
- [0052] iii) 상기 소수성 영역(H-영역)을 MGILLGLLLLGHLTVDTYGRPIL(23개 아미노산 길이)로 표시되는 아미노산 서열을 갖는, 상기 단백질의 전장 신호 서열로부터 선발하고;
- [0053] iv) SOSUI 시스템을 이용한 구조적 분석을 통해, 선발된 소수성 영역이 헬릭스 구조를 형성하는지를 확인하고;
- [0054] v) 상기 소수성 영역의 좌측에서 비-소수성 아미노산(메티오닌: M; 글리신: G)을 제거하여 상기 소수성 영역의 첫 번째 아미노산을 소수성 아미노산으로 만들어, ILLGLLLLGHLTVDTYGRPIL(21개 아미노산 길이)로 표시되는 아미노산 서열을 갖는 소수성 펩티드를 수득하고;
- [0055] vi) 염기성(히스티딘: H; 아르기닌: R) 및 친수성(트레오닌: T; 아스파르트산: D; 티로신: Y) 아미노산을 상기 소수성 영역으로부터 제거하여 펩티드의 길이를 15개 아미노산 이하로 줄이고, 그 결과 ILLGLLLLGLVPIL(15개 아미노산 길이)로 표시되는 아미노산 서열을 갖는 펩티드를 수득하고;
- [0056] vii) 구조 분석으로, 상기에 기술된 바와 같은, 변형된 펩티드가 헬릭스 구조를 형성함을 확인하고;
- [0057] viii) 상기 펩티드에 유연성을 부여하기 위해, 펩티드의 중간 및 우측에서 비극성 아미노산(글리신: G)을 각각 소수성 아미노산인 프롤린(P)으로 치환하여, 그 결과 ILLPLLLLGLVPPIL(15개 아미노산 길이)로 표시되는 아미노산 서열을 갖는 펩티드를 수득하고;
- [0058] ix) 상기 펩티드 서열의 극우측(far right side)에서 반복되는 소수성 아미노산의 일부를 제거하여 펩티드의 길이를 10개 아미노산 이하로 줄인다.
- [0059] 따라서, 거대분자 전달 도메인으로서 최종적으로 최적화된 펩티드는 ILLPLLLL(9개 아미노산 길이; 서열번호: 98)로 표시되는 아미노산 서열을 가지며 헬릭스 구조를 형성하는데, 이는 "J0-98"로 명명되었다. 상기 J0-98 펩티드의 마지막 아미노산인 프롤린은 재조합 단백질을 형성하기 위해 생물학적 활성 분자와의 상호작용을 위한 유연성 부위이다.
- [0060] 본 발명의 다른 측면은 상기 MTD 펩티드를 이용하여 세포 투과성을 갖도록 생물학적 활성 분자를 유전적으로 조작하는 방법에 관한 것이다.

- [0061] 생물학적 활성 분자의 치료적 용도는 이들의 낮은 세포 투과성에 의해 종종 제한된다. 생물학적 활성 분자가 세포내 이입(endocytic) 과정을 통해 세포 내로 유입되는 것처럼 보인다고 하더라도, 이러한 방식으로 세포 내로 들어오는 분자는 일반적으로 세포내 이입 소포(vesicle) 내에 포획되고 리소좀(lysosome) 내에서 분해된다.
- [0062] 본 발명의 MTD는 세포막을 가로지르는 고분자량을 갖는 생물학적 활성 분자의 효율적인 운반을 제공하는 반면, 이전에 조사된 다른 막 운반 펩티드는 약 25개 아미노산보다 큰 크기의 분자를 운반하지 못하는 것으로 나타났다. 본 발명의 MTD는 펩티드 또는 폴리펩티드의 막 투과성을 증강시키기 위해 당업계의 통상적인 방법을 이용하여 펩티드 또는 폴리펩티드에 부착될 수 있다. 상기 MTD는 키트의 형태로 제공될 수 있는데, 이는 표적 폴리펩티드에 대한 펩티드의 연결을 용이하게 하기 위해 당업계의 숙련자에게 공지된 필요한 구성요소를 포함한다. 이러한 방식으로 MTD에 부착되는 표적 단백질은 이어서 세포내 유입을 위하여 *in vitro* 또는 *in vivo*로 세포에 전달될 수 있다.
- [0063] 본 발명의 방법에 따르면, 상기에 기술된 폴리뉴클레오티드는 본원에 기술된 MTD 펩티드의 작용에 의해 세포의 외부에서 내부로 유입될 수 있는 단백질을 생산하도록 단백질 발현 벡터 내로 삽입될 수 있다.
- [0064] 발현 벡터는 생물학적 활성 분자로서 펩티드, 폴리펩티드, 단백질 도메인, 또는 관심 대상의 전장 단백질을 인코딩하는 핵산 서열의 N-말단 및/또는 C-말단 방향으로, 그리고 거대분자 전달 도메인과 표적 생물학적 활성 분자로 이루어지는 제조합 단백질이 발현될 수 있도록 정확한 해독틀(reading frame) 내로 MTD를 인코딩하는 핵산 서열을 도입하기 위해 유전적으로 조작된다. 발현 벡터는 원핵(prokaryotic) 또는 진핵(eukaryotic) 발현 시스템에서 사용하기에 손쉽게 이용가능한 것들 중에서 선택될 수 있다.
- [0065] 본원에 사용되는 바와 같이, MTD는 세포의 외부로부터 내부로 표적 단백질의 세포내 운반을 지시하는, 본 발명의 거대분자 전달 도메인이다. 본 발명의 다른 실시형태에서, MTD는 세포막을 관통하여 세포의 내부로 펩티드 또는 폴리펩티드의 유입을 매개하는 교대 서열을 포함할 수 있다.
- [0066] 표적 단백질은 일반적으로 세포막을 관통하는 최적 이하의 투과성을 나타내지만, 본 발명의 MTD에 N-말단 및/또는 C-말단이 부착되면, 세포의 외부로부터 내부로 운반되는 단백질이다.
- [0067] 본 발명의 다른 실시형태에서, 절단 부위(cleavage site)가 MTD와 표적 폴리펩티드, 단백질 도메인, 또는 전장 단백질 사이에 위치한다. 이 부위는 대안적으로 대상 펩티드 또는 폴리펩티드로부터 MTD를 물리적으로 제거하기 위해 제조합 단백질의 절단과 관련하여 당업계의 숙련자에게 공지되어 있는 인자(factor) X 부위 또는 다른 부위일 수 있다.
- [0068] 본 발명의 방법은 이들의 작용이 세포 조절 및 생합성 기작을 추가로 설명하는데 도움이 되는, 세포 내부로의 도입을 위해 세포 투과성을 갖는 단백질을 제조하기 위한 수단을 제공한다. 이 방법은 또한 Bcl-2의 도입에 의한 아포토시스(apoptosis) 억제와 같은, 표적화된 세포 변화를 양산하기 위해 세포 내로 세포내 단백질을 도입하기 위한 수단을 제공한다. 예를 들어, 세포주기 조절은 비정상적인 p53 단백질로 인해 발암성(tumorigenic)이 되는 그러한 세포 내로 기능성 p53 단백질의 도입에 의해 변경될 수 있다.
- [0069] 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "생물학적 활성 분자"는, 세포 내로 유입되는 경우, 생물학적 효과를 나타낼 수 있는 임의의 분자를 포함한다. 약 100,000 내지 약 100만 범위의 분자량을 갖는 매우 큰 단백질들(예컨대, 항체, 피브리노겐, 및 마크로글로불린)은 세포에 의해 유출(export)되기 때문에, 매우 큰 단백질들은 본 발명의 방법에 의해 세포 내로 유입될 수 있다. 따라서, 소수 개의 아미노산부터 약 수천 개의 아미노산 범위의 크기를 갖는 단백질이 사용될 수 있다. 단백질의 바람직한 크기 범위는 소수 개의 아미노산부터 약 250개의 아미노산까지이다. 임의의 분자에 대하여, 크기는 약 100만의 분자량까지, 구체적으로 약 25,000의 분자량까지, 및 더욱 구체적으로 약 3,000의 분자량까지일 수 있다. 또한, 직접적으로 또는 간접적으로, 신호 펩티드로서 MTD 펩티드에 부착될 수 있는 그러한 분자들만이 본 발명의 범위 내에 속한다.
- [0070] 생물학적 활성 분자의 예시에는 단백질, 폴리펩티드 및 펩티드가 포함되고, 이들은 성장인자(growth factor), 효소, 전사인자(transcription factor), 독소, 항원 펩티드(백신용), 항체, 및 항체 단편과 같은, 생물학적 활성 분자의 기능적 도메인이 포함되지만, 이들로 제한되는 것은 아니다. 생물학적 활성 분자의 부가적인 예시에는 플라스미드(plasmid), 코딩 핵산 서열, mRNAs 및 안티센스 RNA 분자와 같은 핵산, 탄수화물, 지질 및 당지질이 포함된다. 생물학적 활성 분자의 다른 예시에는 치료제, 구체적으로 낮은 세포막 투과성을 갖는 것들이 포함된다. 이러한 치료제의 일부 예시에는 다우노루비신(Daunorubicin)과 같은 항암제, 및 이 방법에 의해 투여될 때 사용될 수 있는 보다 낮은 투여량으로 인해, 더 안전하게 투여될 수 있는, 독성 화합물이 포함된다. 생물학적 활성 분자의 또 다른 예시는 항원성(antigenic) 펩티드이다. 항원성 펩티드는 면역반응에 관여하는 세

포에 의해 유입될 때 면역학적 보호를 제공하도록 투여될 수 있다. 다른 예시에는 면역억제(immunosuppressive) 펩티드(예컨대, 당업계에 공지된, 자가반응(autoreactive) T 세포를 차단하는 펩티드)가 포함된다. 수많은 다른 예시들이 숙련된 당업자에게 자명할 것이다.

[0071] 본 발명에 적합한 생물학적 활성 분자의 대표적인 예시에는 이들의 기능면에서 효소, 호르몬, 운반 단백질 면역 글로불린 또는 항체, 구조 단백질, 운동 기능 단백질, 수용체, 신호(signaling) 단백질 및 저장 단백질; 및 이들의 위치 및 역할면에서 막 또는 막횡단(transmembrane) 단백질, 내부(internal) 단백질, 외부(external) 또는 분비 단백질, 바이러스 단백질, 선천성(native) 단백질, 당단백질, 절단된 단백질, 이항화 결합을 갖는 단백질, 단백질 복합체, 화학적으로 개질된 단백질 및 프리온(prions)이 포함될 수 있다.

[0072] 표준 재조합 핵산 방법이 유전적으로 조작된 재조합 단백질을 발현시키기 위해 사용될 수 있다. 본 발명의 실시형태에서, 거대분자 전달 도메인을 인코딩하는 핵산 서열은 예컨대, 적합한 신호 및 처리(processing) 서열 및 전사 및 번역을 위한 조절 서열을 갖는, 핵산 발현 벡터 내로 클로닝된다. 다른 실시형태에서, 단백질은 자동화(automated) 유기 합성 방법을 이용하여 합성될 수 있다. 단백질을 생산하기 위한 합성 방법은, 예를 들어, 문헌[Methods in Enzymology, Volume 289: Solid-Phase Peptide Synthesis by Gregg B. Fields (Editor), Sidney P. Colowick, Melvin I. Simon (Editor), Academic Press (1997)]에 기술되어 있다.

[0073] 클로닝된 유전자 또는 핵산, 예컨대 MTD 펩티드를 인코딩하는 cDNA의 높은 수준의 발현을 얻기 위하여, MTD 서열은 전형적으로 전사를 유도하는 강력한 프로모터, 전사/번역 종결인자(terminator), 및 단백질을 인코딩하는 핵산의 경우에는, 전사 개시를 위한 리보솜 결합 부위(ribosome binding site)를 포함하는 발현 벡터 내로 서브 클로닝(subcloned)된다. 적합한 세균성 프로모터는 당업계에 잘 알려져 있고, 예컨대, 문헌[Sambrook & Russell, Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 3d Edition, Cold Spring Harbor Laboratory, N.Y. (2001); 및 Ausubel 등, Current Protocols in Molecular Biology, Greene Publishing Associates and Wiley Interscience, N. Y. (1989)]에 개시되어 있다. 본 발명의 MTD 펩티드를 발현하기 위한 세균성 발현 시스템은 예컨대, 대장균(*E. coli*), 바실러스 종(*Bacillus* sp.), 및 살모넬라(*Salmonella*) (Palva 등, *Gene* 22: 229-235 (1983); Mosbach 등, *Nature* 302: 543-545 (1983))에서 이용가능하다. 이러한 발현 시스템을 위한 키트가 상업적으로 이용가능하다. 포유동물 세포, 효모, 및 곤충 세포용 진핵 발현 시스템이 당업계에 잘 알려져 있고 또한 상업적으로 이용가능하다. 본 발명의 다른 실시형태에서, 상기 진핵 발현 벡터는 아데노바이러스(adenoviral) 벡터, 아데노-관련 바이러스(adeno-associated) 벡터, 또는 레트로바이러스(retroviral) 벡터이다.

[0074] 세포 투과성 재조합 단백질을 발현하기 위한 발현 벡터는 예를 들어, 거대분자 전달 도메인을 인코딩하는 서열에 작동적으로(operably) 부착된, 프로모터를 포함하는 조절 서열을 포함할 수 있다. 사용될 수 있는 유도성(inducible) 프로모터의 비-제한적인 예시에는 스테로이드-호르몬 반응성 프로모터(예컨대, 엑디손(ecdysone)-반응성, 에스트로젠(estrogen)-반응성, 및 글루타코르티코이드(glucocorticoid)-반응성 프로모터), 테트라사이클린(tetracycline) "Tet-On" 및 "Tet-Off" 시스템, 및 금속-반응성 프로모터가 포함된다. 상기 컨스트럭트(construct)은 적합한 숙주 세포, 예컨대, 세균 세포, 효모 세포, 곤충 세포, 또는 조직 배양 세포 내로 도입될 수 있다. 상기 컨스트럭트는 또한 모델 대상으로서 형질전환(transgenic) 유기체를 형성하기 위하여 배아 줄기 세포 내로 도입될 수 있다. 매우 많은 적합한 벡터 및 프로모터가 당업계의 숙련자에게 공지되어 있으며 본 발명의 재조합 컨스트럭트를 형성하기 위해 상업적으로 이용가능하다.

[0075] 본 발명의 폴리뉴클레오티드 및 적합한 전사/번역 조절 신호를 포함하는 벡터를 제작하기 위해 공지된 방법이 사용될 수 있다. 이러한 방법에는 *in vitro* 재조합 DNA 기술, 합성 기술, 및 *in vivo* 재조합/유전적 재조합이 포함된다. 예를 들어, 이러한 기술은 문헌[Sambrook & Russell, Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 3d Edition, Cold Spring Harbor Laboratory, N. Y. (2001); 및 Ausubel 등, Current Protocols in Molecular Biology Greene Publishing Associates and Wiley Interscience, N.Y. (1989)]에 기술되어 있다.

[0077] *세포 투과성 재조합 단백질을 생산하기에 적합한 숙주 세포에는 세균 세포 및 진핵 세포(예컨대, 진균, 곤충, 식물, 및 포유동물 세포)가 포함된다. 숙주 세포는 냉동-해동 순환(freeze-thaw cycling), 초음파처리(sonication), 기계적 파괴, 또는 세포 용해제(cell lysing agents)의 사용을 포함하는, 임의의 편리한 방법에 의해 파괴될 수 있다. 문헌[Scopes, Protein Purification: Principles and Practice, New York: Springer-Verlag (1994)]은 재조합 (및 비-재조합) 단백질을 정제하기 위한 수많은 일반적인 방법을 기술한다. 상기 방법으로, 예컨대 이온-교환 크로마토그래피(ion-exchange chromatography), 크기-배제(size-exclusion) 크로마토그래피, 친화성(affinity) 크로마토그래피, 선택적 침전, 투석, 및 소수성 상호작용 크로마토그래피가 포함될

수 있다. 이들 방법은 세포 투과성 재조합 단백질을 위한 정제 전략을 고안하도록 개조될 수 있다. 만약 상기 세포 투과성 재조합 단백질이 에피토프 태그(epitope tag) 또는 금속 킬레이트(chelating) 서열과 같은, 정제 도구(handle)를 포함한다면, 친화 크로마토그래피가 상기 단백질을 상당히 정제하는데 사용될 수 있다.

- [0078] 생산된 단백질의 양은 직접적으로(예컨대, 웨스턴(Western) 분석 이용) 또는 간접적으로(예컨대, 전기영동 운동성 이동 분석(electrophoretic mobility shift assay)에 의해서와 같이, 특이적 DNA 결합 활성에 대해 세포 유래 물질을 분석함에 의해) 거대분자 전달 도메인을 검출함으로써 평가될 수 있다. 단백질은 정제 전에, 정제의 임의의 단계 중에, 또는 정제 후에 검출될 수 있다. 일부 실행에서는, 정제 또는 완벽한 정제가 필요하지 않을 수 있다.
- [0079] 본 발명의 특정한 실시형태에서, 발현 벡터는 증강된 녹색 형광 단백질(enhanced green fluorescent protein, EGFP)을 포함하는 재조합 단백질을 인코딩하는 폴리뉴클레오티드를 포함하는, pEGFP-C1(Clontech, Mountain View, CA)이다. 본 발명에 따른 MTD를 인코딩하는 폴리뉴클레오티드의 벡터 pEGFP-C1 내(상기 벡터의 EGFP 유전자의 5' 및/또는 3'에)로의 삽입은 MTD 및 EGFP 모두를 도입하는 재조합 단백질의 발현을 가능케 한다. EGFP의 N-말단 및/또는 C-말단에 연결된, MTD는 세포의 내부로 EGFP 단백질을 운반한다.
- [0080] 본 발명의 방법에 의해 제조된 유전적으로 조작된 재조합 단백질은 세포 투과성 단백질이고, 특히 사멸된 또는 약독화된(attenuated) 전(whole) 유기체 백신이 실용적이지 못한 경우에, 단백질-계 백신으로 사용될 수 있다. 본 발명의 방법에 의해 제조된 세포 투과성 단백질은 또한 질환, 특히 암의 치료에 사용될 수 있다. 세포 투과성 단백질은 재조합 벡터로 세포를 형질감염(transfect) 또는 형질전환(transform)시키는 필요성을 배제하면서, 세포의 내부로 전달될 수 있다. 본 발명의 세포 투과성 단백질은 단백질 기능을 조사하기 위해 *in vitro*로 사용될 수 있거나 세포를 바람직한 상태로 유지하기 위해 사용될 수 있다.
- [0081] 본 발명의 MTD는 *in vitro* 또는 *in vivo*로 표적 세포의 내부에 펩티드, 폴리펩티드, 단백질 도메인, 또는 단백질을 전달하기 위해 사용될 수 있다. 상기 MTD는 재조합 DNA 또는 RNA 분자로부터 재조합 단백질의 발현에 의해 형성된 펩티드 결합(linkage)을 통해 표적 단백질에 부착될 수 있거나 MTD에 공유적으로 부착되는 링커(linker)에 의해 표적 단백질에 부착될 수 있다. 공유 결합은 세포 내로의 유입을 위하여, 폴리뉴클레오티드와 같은, 비-단백질 분자에 본 발명의 MTD를 부착하기 위해 사용될 수 있다.
- [0082] 본 발명의 다른 측면은 MTD 펩티드가 생물학적 활성 분자에 작동적으로 부착되어 있는, 본 발명의 세포 투과성 재조합 단백질을 함유하는 약학적 조성물에 관한 것이다.
- [0083] 본 발명의 방법에 의해 제조된 세포 투과성 재조합 단백질은 배양 배지에 상기 재조합 단백질의 첨가에 의해서와 같이, 당업계의 숙련자에게 공지된 표준적인 방법들 중의 하나에 의해 *in vitro*로 투여될 수 있다. 또한, 이 방법에 의해 제조된 재조합 단백질이 비경구(parenteral) 투여, 정맥내(intravenous) 투여, 국소(topical) 투여, 에어로졸(aerosol) 투여 또는 흡입(inhalation), 경구(oral) 투여(특히 피막화된(encapsulated) 형태로 제공될 때)를 포함하는 단백질/약물 전달에 이용되는 표준적인 방법들에 의해, 또는 직장(rectal) 또는 질(vaginal) 투여(특히 좌약 형태로 제공될 때)에 의해 *in vivo*로 전달될 수 있다.
- [0084] 투여의 예시에는 비경구 투여, 예컨대, 국소 관류(regional perfusion)를 포함하는 정맥내 주사, 에어로졸의 흡입, 피하(subcutaneous) 또는 근육내(intramuscular) 주사, 피부 상처 및 병소(lesion)에와 같은 국소 투여, 예컨대, 대상에게로의 이식 및 이후(subsequent)의 이식을 위해 준비된 골수 세포 내로의 직접 형질감염(transfection), 및 이후에 대상에게 이식되는 기관 내로의 직접 형질감염이 포함되지만, 이들로 제한되는 것은 아니다. 사용된다면, 비경구 투여, 예컨대 국소 관류는 일반적으로 주사를 특징으로 한다. 주사제(injectables)는 액체 용액, 부유액(suspension) 또는 유화제(emulsion)와 같은 통상적인 형태로 제조될 수 있다. 일정한 수준의 투여량 유지를 가능케 하면서, 느린 분비 또는 지연된(sustained) 분비 시스템이 또한 사용될 수 있다.
- [0085] 다른 투여 방법으로 특히 복합체가 피막화될 때는, 경구 투여, 또는 특히 복합체가 좌약 형태일 때는, 직장 투여가 포함된다. 약학적으로 허용가능한 담체에는 생물학적이지 않거나 다르게는 바람직하지 않은 임의의 물질, 즉, 어떠한 바람직하지 않은 생물학적 효과도 야기하지 않거나 투여되는 약학적 조성물의 다른 성분들 중의 어느 것보다 해로운 방식으로 상호작용하지 않으면서 선택된 복합체와 함께 개체에 투여될 수 있는 물질이 포함된다.
- [0086] 의도된 투여 방식(예컨대, 정맥내, 비경구, 경피(transcutaneous), 피하, 근육내, 두개내(intracranial), 안와내(intraorbital), 안구내(ophthalmic), 뇌실내(intraventricular), 피막내(intracapsular), 척수강내

(intraspinal), 수조내(intracisternal), 복강내(intraperitoneal), 비강내(intranasal), 직장내(intrarectal), 질내(intravaginal), 에어로졸, 또는 경구 포함하지만, 이들로 제한되는 것은 아님)에 따라서, 약학적 조성물은 예를 들어, 정제, 좌약, 알약, 캡슐, 분말, 액제, 부유액, 로션, 크림, 겔 등과 같은, 바람직하게는 정확한 투여량의 단일 투여에 적합한 단위 투약 형태(unit dosage form)로 고체, 반-고체 또는 액체 투여 형태일 수 있다. 본 발명의 약학 조성물은, 상기에 언급된 바와 같이, 약학적으로 허용가능한 담체와 병용하여 유효량의 세포 투과성 재조합 단백질을 포함할 것이고, 추가로, 다른 의학적 제제, 약학적 제제, 담체, 항원보강제(adjuvant), 희석제 등을 포함할 수 있다.

[0087] 고체 조성물을 위한 통상적인 비독성 고체 담체에는, 예를 들어, 약학적 등급의 만니톨, 락토스, 전분, 스테아린산마그네슘(magnesium stearate), 사카린나트륨(sodium saccharin), 탈크(talc), 셀룰로스, 글루코스, 수크로스, 탄산마그네슘(magnesium carbonate) 등이 포함된다. 약학적으로 투여가능한 액체 조성물은, 예를 들어 본원에 기술된 바와 같은 활성 화합물, 및 선택적인 약학적 항원보강제를 예를 들어, 물, 식염수, 수성 텍스트로스, 글리세롤, 에탄올 등과 같은 부형제(excipient) 내에 용해시키거나 분산시켜 용액 또는 부유액을 형성함으로써 제조될 수 있다. 바람직하다면, 투여되는 약학적 조성물은 또한 습윤제(wetting agent) 또는 유화제(emulsifying agent), pH 완충제(buffering agent) 등과 같은, 미량의 비독성 보조 물질을 함유할 수 있다. 이러한 투약 형태를 제조하는 실질적인 방법은 당업계의 숙련자에게 공지되어 있고, 또는 자명할 것이다.

[0088] 본 발명의 방법에 의해 제조된 세포 투과성 재조합 단백질의 투여는, 특히 상기 투여가 *in vitro* 용도로 배양 배지에 재조합 단백질의 첨가에 의해 수행될 때, 10분 내지 72시간 범위의 기간 동안에 수행될 수 있다. *in vivo* 또는 *in vitro* 용도를 위하여, 본 발명의 방법에 따라 제조된 세포 투과성 재조합 단백질의 효과적인 투여 시간은 관련 분야의 숙련자에 의해 용이하게 결정될 수 있다.

[0089] *in vivo* 또는 *in vitro* 용도를 위하여, 세포 투과성 재조합 단백질은 임의의 효과적인 농도로 투여될 수 있다. 효과적인 농도는 생물학적 활성 분자의 세포 내로의 유입을 야기하는 그런 농도이다. 이러한 농도-배양 배지 농도(*in vitro*) 또는 혈청 농도(*in vivo*)-는 전형적으로 약 0.1 nM 내지 약 500 μM일 것이다. 특정 재조합 단백질 및/또는 특정 표적 세포를 위한 최적 농도는 본원의 교시에 따라 용이하게 결정될 수 있다. 따라서 재조합 단백질의 *in vivo* 투여량은 재조합 단백질의 혈청 농도가 약 0.1 nM 내지 약 500 μM, 더욱 구체적으로는, 약 0.5 nM 내지 약 100 μM이 되게 할 농도이다. 물론, 투여되는 재조합 단백질의 양은 치료되는 대상, 대상의 연령 및 체중, 투여 방식, 및 숙련된 관리자의 판단에 좌우될 것이다. 복합체의 정확한 양은 더욱이 대상의 전신 상태, 상기 투여에 의해 치료되는 질환/상태의 중증도(severity), 및 선택된 특정 복합체에 좌우될 것이다. 그러나 적당한 양은 본원에 제공된 교시에 따라서, 통상적인 최적화를 이용하여, 당업계의 통상의 지식을 가진 자에 의해 결정될 수 있다.

[0090] 또한, 본 발명의 방법에 의해 제조된 세포 투과성 재조합 단백질은 백신 투여를 위해 사용될 수 있다(Linqnan 등, *Expert. Rev. Vaccines* 6: 741-746, 2007; O' Haqan 등, *Methods* 40: 10-19, 2009).

[0091] 세포 투과성 재조합 단백질을 이용한 백신은 전형적인 펩티드 백신에 비하여 이점을 제공한다. 항원의 면역 체계 인식은 적당한 항원 처리(antigen processing)에 좌우된다. 예전에는, 전체 단백질 또는 단백질 도메인이 이러한 처리를 야기하도록 세포 내로 전달될 수 없었다. 그 결과, 항원 에피토프를 제시하는 펩티드가 그러한 에피토프를 제시하는 작은 펩티드의 세포 내로의 전달 전에 확인되어야 했다. 본 발명의 방법은 항원성 처리가 야기될 수 있는 세포 내로 전체 단백질 또는 단백질 도메인이 유입되는 것을 가능케 한다. 이는 1회 투여로 다중 항원성 에피토프를 제공하며, 백신 개발을 위한 특정 에피토프의 실험적 확인에 대한 요구를 배제한다.

[0092] 전형적으로, 이러한 백신은 인간 또는 포유동물 대상 내로의 주사용으로 제조된다. 주사가능 백신은 액체 용액 또는 부유액으로 제조될 수 있다. 주사 전에, 액체 내 용액, 또는 부유액으로 적당한 고체 형태가 제조될 수 있다. 상기 조제품은 또한 유화될 수 있다. 활성 면역성 성분은 종종 상기 활성 성분과 친화성(compatible)이 있는 약학적으로 허용가능한 담체와 혼합된다. 적합한 담체로는 물, 텍스트로스, 글리세롤, 식염수, 에탄올, 및 이들의 조합이 포함되지만, 이들로 제한되는 것은 아니다. 상기 백신은 습윤제 또는 유화제, pH 완충제, 또는 상기 백신의 효과를 증강시키는 항원보조제와 같은, 부가적인 제제를 포함할 수 있다.

[0093] 상기 백신은 통상적으로 비경구로 투여될 수 있다. 피하 또는 근육내 주사가 적합하다. 다른 투여 방식으로, 펩티드 면역원(immunogen)과, 만니톨, 락토스, 전분, 스테아린산마그네슘, 사카린나트륨, 셀룰로스, 탄산마그네슘, 또는 다른 담체와 같은, 약학적으로 허용가능한 담체의 병용을 포함할 수 있는, 경구 투여, 비강 투여, 직장 투여, 및 질 투여가 포함될 수 있다. 경구 투여용 조성물은 용액, 부유액, 정제, 알약, 캡슐, 지연된 분비(sustained release) 제형, 또는 분말을 형성할 수 있다. 본 발명의 단백질-계 백신은 창자의 관내강(lumen)

속으로 상기 폴리펩티드의 분비를 위해 장용-코팅된(enteric-coated) 캡슐에 의해 투여될 수 있다.

- [0094] 본 발명의 세포 투과성 재조합 단백질은 중성 또는 염 형태로 백신 내에 제형화될 수 있다. 약학적으로 허용가능한 염은 산부가염(폴리펩티드의 유리 아미노기를 이용하여 형성됨)을 포함하고 이는, 예를 들어, 염산 또는 인산과 같은 무기산, 아세트산, 만델산, 옥살산, 및 타르타르산과 같은 유기산을 이용하여 형성된다. 폴리펩티드의 유리(free) 카르복실기를 이용하여 형성된 염은 또한, 예를 들어, 수산화나트륨, 수산화칼륨, 수산화암모늄, 수산화칼슘, 또는 수산화철과 같은 무기염, 및 아이소프로필아민(isopropylamine), 트라이메틸아민(trimethylamine), 2-에틸아미노 에탄올(2-ethylamino ethanol), 및 히스티딘(histidine)과 같은 유기염으로부터 유래될 수 있다.
- [0095] 상기 백신은 투약 제형과 친화적인 방식으로, 그리고 치료적으로 효과적이고 면역원성이 되는 그러한 양으로 투여된다. 투여되는 양은, 예를 들어, 항체를 합성하는 개인의 면역 체계의 능력 및 바람직한 보호의 정도를 고려하여, 치료되는 대상에 좌우된다. 투여되는 활성 성분(펩티드 면역원)의 정확한 양은 진료의의 판단에 좌우된다. 적합한 투여량 범위는 일반적으로 1회 접종 당 수백 마이크로그램의 활성 성분을 요구한다. 초기 투여 및 추가(booster) 접종을 위한 요법이 또한 가변적인데, 이는 전문의의 판단에 따라 결정되어야만 한다. 백신의 투여량은 투여 경로에 따라 좌우될 것이고 숙주의 크기에 따라 달라질 것이다.
- [0096] 나아가, 본 발명의 세포 투과성 재조합 단백질은 약물 전달 시스템에 효과적으로 사용될 수 있다(Spencer 및 Verma, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 104: 7594-7599, 2007; Choi 등, *Nat. Med.* 12: 574-579, 2006; Vives 등, *J. Biol. Chem.* 272: 16010-16017, 1997; Kumar 등, *Nature* 448: 39-43, 2007; Jo 등, *Nat. Med.* 11 : 892-898, 2005).
- [0097] 본 발명에 따라 세포막 투과성을 갖는 단백질을 유전적으로 조작하는 방법은 세포 내로 치료적 단백질 생성물을 전달하는 수단을 제공한다. 본 발명과 세포의 단백질 전달의 이전에 기술된 방법과의 조합은 제어-분비(controlled-release) 방식으로 안정화된, 기능성 형태로 세포 내로의 유입을 위한 단백질을 전달하는 방법을 제공한다.
- [0098] 폴리펩티드가 적합한 발현 벡터 및 발현 시스템을 이용하여 제조된다. 세포 투과성이 상기 발현된 폴리펩티드의 N-말단 및/또는 C-말단에 위치한 MTD와 재조합 단백질의 발현에 의해 단백질 또는 폴리펩티드에 부여된다. 덜 안정한 단백질은 당업계의 숙련자에게 공지되고 앞서 기술된 방법에 의해 안정화된다. 세포의 환경으로의 전달은 마이크로스피어(microsphere) 담체와 같은, 적당한 담체 내에 안정화된 재조합 단백질을 제공함으로써 달성된다. 정선한 단백질은 적당한 안정화 및 전달 기술뿐만 아니라, 적당한 벡터 및 발현 시스템을 지정할 것이다. 약물 전달 시스템 분야의 통상의 지식을 가진 자는 기술된 것들로부터 적당한 기술을 선택할 수 있다.
- [0099] 본 발명의 방법은 암의 치료를 위한 세포 투과성 단백질을 생산하는 수단을 제공한다. 아포토시스 및 세포주기 제어의 조절인자(regulator)는 종양발생(oncogenesis)에 중요한 역할을 담당하는 것으로 밝혀졌고, 한편 p53 유전자를 인코딩하는 아테노바이러스 발현 벡터의 종양내(intratatumoral) 주사를 이용하는, 유전자 요법(gene therapy) 기술(Balaggan 등, *Gene Therapy* 13(15): 1153-1165, 2006; Kuo 등, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 10; 98(8): 4605-4610, 2001)은 일부 종양의 제어에 대한 가능성을 보여주었다. 그러나 바이러스 벡터의 사용을 통한 특정 단백질 생성물의 전달은 문제가 있는 것으로 판명되었다. 본 발명의 MTDs 및 방법은 암 상태의 전개에 역할을 담당하는 것으로 확인된 다른 단백질뿐만 아니라, 세포주기 조절인자 및 아포토시스의 조절인자 중에서 세포 투과성 단백질을 생산하는 수단을 제공한다.
- [0100] 예를 들어, 본 발명의 일 실시형태에서, p53 유전자를 인코딩하는 폴리뉴클레오티드는 적합한 벡터 내, 본 발명의 MTD 서열의 5' 또는 3'에 삽입될 수 있다. 정선한 벡터에 적당하고 당업계의 숙련자에게 공지된 발현 조건 하에서, MTD 및 p53 단백질을 포함하는 재조합 단백질이 발현될 수 있다. p53 단백질에 MTD의 부착은 p53 단백질이 세포 투과성을 갖게 하고, 이 단백질은 종양 발달을 억제하기 위해 종양 세포에 투여될 수 있다. 세포 투과성 단백질의 투여는, 이들로 제한되는 것은 아니지만, 종양내 주사, 주입(infusion), 및 정맥내 투여를 포함하는, 다양한 방식으로 달성될 수 있다. Bax 및 Bcl-x_l은 세포주기 제어 및 아포토시스에 영향을 미치고, 따라서, 암 요법에 효과적인 것으로 결정되었던 매우 다양한 단백질들 중에서 다른 예시의 단백질이다. 본 발명의 방법은 종양 세포에 대해 항-종양발생 단백질의 전달을 위한 보다 효율적이고, 덜 노동-집약적이며, 더 저렴한 방법을 제공한다.
- [0101] 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "세포막"은 세포의 공간으로부터 세포 또는 세포 집단을 분리하는 지질-함유 장벽(lipid-containing barrier)을 지칭한다. 세포막은 원형질막, 세포벽, 세포내 소기관(organelle) 막, 예컨

대 미토콘드리아막, 핵막 등을 포함하지만, 이들로 제한되는 것은 아니다.

- [0102] 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "생물학적 활성 분자"는 체계 내에서 생물학적 반응을 촉발시키거나 변형시킬 수 있는 화합물 또는 분자를 지칭한다. 생물학적 활성 분자의 비-제한적인 예시에는 항체(예컨대, 단일클론, 키메라(chimeric), 인간화(humanized) 등), 콜레스테롤, 호르몬, 항바이러스제(antivirals), 펩티드, 단백질, 화학요법제(chemotherapeutics), 소분자, 비타민, 보조인자(co-factors), 뉴클레오시드(nucleosides), 뉴클레오티드, 올리고뉴클레오티드, 효소적(enzymatic) 핵산, 안티센스 핵산, 삼중체 형성(triplex forming) 올리고뉴클레오티드, 2,5-A 키메라(chimeras), siNA, siRNA, miRNA, RNAi 억제제, dsRNA, 알로자임(allozymes), 앵타머(aptamers), 이들의 유인물(decoys) 및 유사체가 포함된다. 본 발명의 생물학적 활성 분자는 또한 다른 생물학적 활성 분자. 예를 들어, 지질 및 폴리아민(polyamines), 폴리아미드(polyamides), 폴리에틸렌 글리콜 및 다른 폴리에테르와 같은 중합체의 약물동태학(pharmacokinetics) 및/또는 약동학(pharmacodynamics)을 조절할 수 있는 분자를 포함하다. 특정 실시형태에서, 용어 생물학적 활성 분자는 용어 "거대분자"와 호환적으로 사용된다.
- [0103] 본원에 사용된 바와 같이 용어 "거대분자"는 펩티드, 단백질, 및 생물학적 또는 합성 기원의 올리고뉴클레오티드 및 폴리뉴클레오티드로 예시되는 큰 분자(1000 달톤 이상의 분자량)를 지칭하지만, 이들로 제한되는 것은 아니다.
- [0104] 본원에 사용된 바와 같이 용어 "펩티드"는 단일 사슬의 D- 또는 L-아미노산 또는 펩티드 결합에 의해 연결된 D- 및 L-아미노산의 혼합물로 만들어진 화합물을 지칭한다. 바람직하게는, 펩티드는 두 개 이상의 아미노산 잔기를 포함하고 길이가 약 50개 아미노산 이하이다.
- [0105] 본원에 사용된 바와 같이 용어 "단백질"은 펩티드 결합에 의해 부착된 선형적으로(linearly) 배열된 아미노산들로 구성되지만, 펩티드와는 달리, 뚜렷한(well-defined) 형태를 갖는다. 펩티드와는 대조적으로, 단백질은 바람직하게는 50개 이상의 아미노산 사슬을 포함한다.
- [0106] 본원에 사용된 바와 같이 용어 "폴리펩티드"는 하나 이상의 펩티드 결합을 포함하는 두 개 이상의 아미노산 잔기의 중합체를 지칭한다. 폴리펩티드가 뚜렷한 형태를 갖는지 여부와 상관없이, 폴리펩티드는 펩티드 및 단백질을 포함한다.
- [0107] 본원에 사용된 바와 같이 용어 "핵산"은, 예를 들어 그들 모두가 단일 또는 이중 가닥 형태인 뉴클레오티드 유사체로부터 만들어지는, RNA 또는 DNA의 유사체뿐만 아니라, 데옥시리보핵산(deoxyribonucleic acid, DNA) 및 리보핵산(ribonucleic acid, RNA)과 같은 올리고뉴클레오티드 또는 폴리뉴클레오티드를 지칭한다.
- [0108] 아미노산 잔기는 이들의 표준 1-문자 또는 3-문자 표시법에 의해 또는 이들의 완전한 이름에 의해 본원에서 언급된다: A, Ala, 알라닌; C, Cys, 시스테인; D, Asp, 아스파르트산; E, Glu, 글루탐산; F, Phe, 페닐알라닌; G, Gly, 글리신; H, His, 히스티딘; I, Ile, 아이소류오신; K, Lys, 라이신; L, Leu, 류오신; M, Met, 메티오닌; N, Asn, 아스파라긴; P, Pro, 프롤린; Q, Gln, 글루타민; R, Arg, 아르기닌; S, Ser, 세린; T, Thr, 트레오닌; V, Val, 발린; W, Trp, 트립토판; X, Hyp, 하이드록시프롤린; 및 Y, Tyr, 티로신.
- [0109] 본원에 사용된 바와 같이 용어 "거대분자 전달 도메인(MTD)"은 세포 내로 거대분자의 운반을 용이하게 하는 펩티드를 지칭한다.
- [0110] 본원에 사용된 바와 같이 용어 "단리된" 폴리뉴클레오티드는 자연계 내에 그것이 관련되어 있는 서열이 실질적으로 없는 폴리뉴클레오티드를 지칭한다. 실질적으로 없다는 것은 자연계 내에 그것과 관련되어 있는 물질이 50% 이상, 바람직하게는 70% 이상, 더욱 바람직하게는 80% 이상, 및 더욱 더 바람직하게는 90% 이상 없는 것을 의미한다. 본원에 사용된 바와 같이, "단리된" 폴리뉴클레오티드는 또한, 기원 또는 조작에 의해: (1) 자연계 내에 그것과 관련되어 있는 폴리뉴클레오티드의 전부 또는 일부분과 관련되어 있지 않고, (2) 자연계 내에 그것에 연결되는 것과는 다른 폴리뉴클레오티드에 연결되고, 또는 (3) 자연계 내에 발생하지 않는, 재조합 폴리뉴클레오티드를 지칭한다.
- [0111] 본원에 사용된 바와 같이 용어 "작동적으로 부착된"은 프로모터의 DNA 단편, MTD 펩티드 또는 다른 유전자들이 유전자의 발현을 지시하고 조절하기에 충분하게 연결되는 것을 의미한다.
- [0112] 본원에 사용된 바와 같이 용어 "상동성(homology)" 또는 "유사성(similarity)"은 두 서열들(예컨대, 폴리뉴클레오티드 또는 폴리펩티드 서열들) 사이의 유사함 또는 동일함의 비율을 지칭한다. 전형적으로, 서열들에서 보다 높은 유사성은 물리적 또는 화학적 특성 또는 생물학적 활성에 있어 보다 유사함을 의미한다.

- [0113] 달리 정의되지 않는 한, 본원에 사용된 모든 기술적 및 과학적 용어들은 본 발명이 속하는 당업계의 통상적인 지식을 가진 자에게 일반적으로 이해되는 바와 동일한 의미를 갖는다. 본원에 기술된 것들과 유사하거나 동등한 임의의 방법 및 물질이 본 발명을 실행하거나 검사하는데 사용될 수 있다고 하더라도, 특정 방법 및 물질이 본원에 기술된다. 본원에 언급된 모든 간행물은 상기 간행물이 인용된 것과 관련하여 방법 및/또는 물질을 기술하고 설명하기 위해 그 전체로서 참고로 본원에 포함된다. 본원 및 첨부된 청구범위에 사용된 바와 같이, 단수 형태 "a," "an", 및 "the"는 문맥이 달리 명백하게 지시하지 않는 한 복수 대상을 포함하는 것으로 이해되어야 한다.
- [0114] 본원에서 논의된 간행물들은 본 출원의 출원일 이전에 그들의 명세서에 대해 단독으로 제공된다. 본원의 어떠한 사항도 본 발명이 이전의 발명에 의해 이러한 간행물에 선행하지 않는다는 승인으로 해석되지는 않는다. 또한, 제공되는 공개 일자에는 개별적으로 확인할 필요가 있을 수 있는 실제 공개 일자와 다를 수 있다.
- [0116] **[실시예]**
- [0117] **실시예 1 - 신규한 거대분자 전달 도메인 펩티드의 동정**
- [0118] 살아있는 세포의 원형질막을 잠체적으로 통과할 수 있는 신규한 거대분자 전달 도메인(MTD) 후보자를 동정하기 위하여, 신호 서열-유사 도메인을 갖는 분비 단백질을 "신호 서열의 소수성 영역", "신호 서열 소수성 영역", "분비 단백질의 신호 서열", "소수성 신호 서열" 및 "분비 단백질의 소수성 도메인"을 포함하는 몇몇 검색어를 이용하여 PubMed Entrez Protein Database로부터 선별하였다. 그 결과, 신호 서열-유사 도메인을 갖는 1,500 개 이상의 분비 단백질이 선별되었다.
- [0119] 신호 서열-유사 도메인을 갖는 선별된 분비 단백질 모두는 이들이 그들의 N-말단에 단일 소수성 영역을 포함하는지 여부를 결정하기 위하여 수치법 분석에 적용되었다. 이어서, 이들은 컴퓨터-보조 계능 및 프로테오믹 정보 분석, 즉 SOSUI 시스템(<http://bp.nuap.nagoya-u.ac.jp/sosui>에 기술된 바와 같음)에 적용되어, 이들이 헬릭스 구조를 형성하는지 여부를 결정하였다. SOSUI 시스템은 일반적으로 분석되고자 하는 펩티드가 약 20개 이상의 아미노산 길이를 가질 것을 요구하기 때문에, 증강된 녹색 형광 단백질의 N-말단 도메인으로부터 유래된 부가적인 아미노산을 상기 신호 서열-유사 도메인의 말단에 부가하였다. SOSUI 시스템을 사용하여, 그들의 N-말단에 단일 소수성 영역을 가지며 막횡단 헬릭스 구조를 형성하는 220개의 펩티드 서열을 선별하였다.
- [0120] 선별된 펩티드 서열을 신호 서열로 최적화하기 위하여, 실험적 변경이 하기와 같이 수행되었다: 먼저, 친수성, 비극성, 및 양으로 또는 음으로 하전된 아미노산을 선별된 펩티드 서열로부터 제거하고, 이어서, 다섯 개의 소수성 아미노산(즉, 알라닌: A, 발린: V, 프롤린: P, 류우신: L, 아이소류우신: I)의 다양한 조합을 실험적으로 고안하였다.
- [0121] 그 후에, 상기 펩티드 서열의 좌측 또는 우측에서 비-소수성 아미노산을 제거하여 이들의 소수성 영역을 유지하면서 크기를 최소화하였고, 이어서 펩티드 서열의 중간 또는 우측에 프롤린을 부가하거나 비-소수성 아미노산을 프롤린으로 치환하여 상기 펩티드에 유연성을 부여하였다. 마지막으로, 반복되는 소수성 아미노산의 개수를 최소화하여 상기 펩티드 서열의 길이를 감소시켰다. MTD 후보자로서 그 결과 펩티드는 소수성 및 유연성을 나타내고, 상대적으로 짧은 아미노산(7개 내지 17개 길이)을 가지며, 헬릭스 구조를 형성한다.
- [0122] 상기에 기술된 방법에 따라, 각각 서열번호: 1 내지 193으로 표시되는 아미노산 서열을 갖고, 세포막을 가로지르는 생물학적 활성 분자의 횡단을 용이하게 할 수 있는 신규한 193개 MTD 펩티드들이 동정되었다. 상기 193개 MTDs는 각각 J0-01 내지 J0-193으로 명명되었고, 이들의 구조적 특성 및 서열은 도 1a 내지 1d에 나타내었다.
- [0124] **실시예 2 - MTDs에 융합된 재조합 단백질의 발현**
- [0125] 상기 실시예 1에서 동정된 MTD 펩티드들의 세포 유입의 실행가능성을 증명하고자, 증강된 녹색 형광 단백질(EGFP)을 전장-단백질 화물 분자로 사용하였다. 녹색 형광 단백질(GFP)은 해파리, 아쿠오레아 빅토리아(*Aquorea Victoria*)로부터 클로닝된 단백질이다. GFP는 가장 폭넓게 사용되는 리포터 단백질들 중의 하나로 청색 또는 자외선 광원이 조사될 때 녹색 빛을 생성한다(Inouye 등, *FEBS Letters* 351(2): 211-14 (1994)). 본 발명의 일 실시형태에서는, 상업적으로 이용가능한 GFP 발현 벡터, pEGFP-C1(Clontech)을 사용한다. pEGFP-C1에 의해 인코딩되는 EGFP 단백질은 야생형(wild-type) GFP의 돌연변이로, 이는 보다 강한 녹색 빛을 생성하도록 변형되었다. 또한, 외래 유전자(foreign gene)는 pEGFP-C1 벡터의 다중 클로닝 부위(multiple cloning sites) 내로 삽입되고, 삽입된 외래 유전자는 EGFP와의 재조합 단백질 형태로 발현된다.
- [0126] 각각의 신규한 MTD에 융합된 EGFP 단백질(His-MTD-EGFP: HME)의 발현 벡터를 제작하기 위하여(도 2), 하기 표 1

및 2에 기술된 올리고뉴클레오티드들(MTD JO-01 내지 JO-193 각각에 대해 정방향(forward) 시발체로 서열번호: 393 내지 585; MTD JO-01 내지 JO-193에 대해 역방향(reverse) 시발체로 서열번호: 586)을 시발체 쌍(primer set)으로, pEGFP-C1 플라스미드를 주형으로 이용하여 증합효소 연쇄 반응(polymerase chain reaction, PCR)을 수행하였다. PCR 조건은 95℃에서 5분간의 초기 변성 후에 95℃에서 45초, 68℃에서 45초 및 72℃에서 1분을 30회 수행하고, 72℃에서 5분간의 최종 연장을 수행하였다. 증폭된 PCR 생성물을 제한효소(restriction enzyme) *NdeI*으로 절단하고 아가로스 겔 전기영동(agarose gel electrophoresis)을 수행하였다. kFGF-4 유래 MTD 16 머(mer)(FGF-V, AAVALLP AVLLALLAP, Lin 등, *J. Biol. Chem.* 275: 16774-16778, 2000; Veach 등, *J. Biol. Chem.* 279: 11425-11431, 2004), kFGF-4 유래 MTD 12 머(FGF-J, AAVLLPVLLAAP, Jo 등, *Nat. Biotech.* 19: 929-933, 2001; Jo 등, *Nat. Med.* 11: 892-898, 2005(서열번호: 389), HIV-Tat 유래 단백질 전달 도메인(HIV-Tat, YGRKKRRQRRR, Schwarze 등 *Science* 285: 1569-1572, 1999), 및 HIV-Tat 동족체(homologous)(Hph-1, YAR VRRRGRPR)를 양성 대조군으로 사용하였고, 스크램블(scramble) 펩티드(서열번호: 387)를 음성 대조군으로 사용하였다. 도 3a 내지 3c에 나타난 바와 같이, MTDs-EGFP를 인코딩하는 DNA 단편들이 성공적으로 증폭되었음을 확인하였다.

표 1

각각의 MTD-EGFP 단백질에 대한 PCR 정방향 시발체 서열

MTD	서열	서열번호
JO-01	5'-CCGCATATGGCGGTGGTGGTGTGCGCGATTGTGCTGGCGCGCCGGTGAGCAAGGGCGAGGAGCTG-3'	393
JO-02	5'-CCGCATATGGCGGTGGCGCTGCTGGTGTGCTGTGCTGGGCCCGGTGAGCAAGGGCGAGGAGCTG-3'	394
JO-03	5'-CCGCATATGCTGTGCTGGCGTTTGGCGTGTGCTGCTGCCGGTGAGCAAGGGCGAGGAGCTG-3'	395
JO-04	5'-CCGCATATGCTGTGCTGGCGCACGTGGCGCGGTGCTGTGGCGCTGGCGGTGAGCAAGGGCGAGGAGCTG-3'	396
JO-05	5'-CCGCATATGGCGGTGCTGCTGGCGCTGGGCGTGGGCGTGGTGTGCTGTGGGCTGGCGGTGGTGTGAGCAAGGGCGAGGAGCTG-3'	397
JO-06	5'-CCGCATATGGCGGCGCGCGGTGCTGCTGGCGCGGTGAGCAAGGGCGAGGAGCTG-3'	398
JO-07	5'-CCGCATATGATTGTGGTGGCGGTGGTGGTATTGTGAGCAAGGGCGAGGAGCTG-3'	399
JO-08	5'-CCGCATATGGCGGTGCTGGCGCGGTGGTGGCGGTGAGCAAGGGCGAGGAGCTG-3'	400
JO-09	5'-CCGCATATGCTGGCGGTGTGCGGCTGCCGTTGGTGGCGCTGTGGCGGTGAGCAAGGGCGAGGAGCTG-3'	401
JO-10	5'-CCGCATATGCTGGGCGGCGCGG348TGGTGGCGGCGCCGGTGGCGCGCGGTGGCGCGGTGAGCAAGGGCGAGGAGCTG-3'	402
JO-11	5'-CCGCATATGCTGTGCTGGTGTGCTGGCGGTGCTGCTGGCGGTGCTGCCGGTGAGCAAGGGCGAGGAGCTG-3'	403
JO-12	5'-CCGCATATGCTGTGATTCTGTGCTGCTGCCGCTGCTGATTGTGGTGTGAGCAAGGGCGAGGAGCTG-3'	404
JO-13	5'-CCGCATATGCTGGCGGCGCGCGCTGGCGGTGCTGCCGCTGGTGAGCAAGGGCGAGGAGCTG-3'	405
JO-14	5'-CCGCATATGTTTCTGATGCTGTGCTGCCGCTGCTGCTGTGCTGGTGGCGGTGAGCAAGGGCGAGGAGCTG-3'	406
JO-15	5'-CCGCATATGGCGGCGCGCGCGCGGCTGGTCTGGCGCGCGGTGCCGCGGTGAGCAAGGGCGAGGAGCTG-3'	407
JO-16	5'-CCGCATATGCTGTGCTGGCGCGCTGCTGCTGATTGCGTTTGGCGGTGGTGTGAGCAAGGGCGAGGAGCTG-3'	408
JO-17	5'-CCGCATATGGCGCTGGCGCGGTGGTGTGATTCCGCTGGCATTGCGCGGTGAGCAAGGGCGAGGAGCTG-3'	409
JO-18	5'-CCGCATATGGCGCGCTGATTGGCGCGGTGCTGGCGCGGTGGTGGCGGTGGTGTGAGCAAGGGCGAGGAGCTG-3'	410
JO-19	5'-CCGCATATGGCGGCGCGGTGGCGGTGGCGGCGTGGCGCGCTGGCGCTGGTGTGAGCAAGGGCGAGGAGCTG-3'	411
JO-20	5'-CCGCATATGATTGCGGTGGCGATTGCGCGATTGTGCCGCTGGCGGTGAGCAAGGGCGAGGAGCTG-3'	412
JO-21	5'-CCGCATATGGCGGCGCGCGGTGCTGGCGGCGCGCGCTGGCGGTGAGCAAGGGCGAGGAGCTG-3'	413
JO-22	5'-CCGCATATGGCGGCGCTGGCGTGGGCGTGGCGGCGCGCGCGCGCGCGGTGAGCAAGGGCGAGGAGCTG-3'	414
JO-23	5'-CCGCATATGCTGGCGGTGCTGGTGTGCTGCTGGTGTGCTGCCGGTGAGCAAGGGCGAGGAGCTG -3'	415
JO-24	5'-CCGCATATGGTGGTGGCGGTGCTGGCGCGGTGCTGGTGTGAGCAAGGGCGAGGAGCTG-3'	416
JO-25	5'-CCGCATATGGCGGCGCTGCTGCTGCCGCTGCTGTGCTGCTGCCGGTGAGCAAGGGCGAGGAGCTG -3'	417
JO-26	5'-CCGCATATGGCGGCGCGGTGGCGCGCTGCTGGTATTGTGAGCAAGGGCGAGGAGCTG-3'	418
JO-27	5'-CCGCATATGCTGTGATTGCGCGCTGCTGCCGGTGAGCAAGGGCGAGGAGCTG-3'	419
JO-28	5'-CCGCATATGGCGGCGGTGGTGTGCTGCTGCCGCTGGCGGCGCGCGGTGAGCAAGGGCGAGGAGCTG-3'	420
JO-29	5'-CCGCATATGGCGGCGCGCGCGCGCGCTGCTGGTCCGGTGAGCAAGGGCGAGGAGCTG-3'	421
JO-30	5'-CCGCATATGCTGCCGGTGGTGGCGCTGCTGGCGGTGAGCAAGGGCGAGGAGCTG-3'	422
JO-31	5'-CCGCATATGGCGGCGCGCTGGCGGCGCGCTGGCGCTGCCGGTGAGCAAGGGCGAGGAGCTG -3'	423
JO-32	5'-CCGCATATGCTGTGCTGGCGCTGCTGCTGGCGCGGTGAGCAAGGGCGAGGAGCTG-3'	424
JO-33	5'-CCGCATATGGCGGTGGCGGTGGCGCTGCTGGTGTGAGCAAGGGCGAGGAGCTG-3'	425
JO-34	5'-CCGCATATGCTGTGCTGATTATTGTGCTGCTGATTGTGCCGGTGAGCAAGGGCGAGGAGCTG -3'	426

[0127]

J0-35	5'-CCGCATATGCTGGCGCTGGCGGCGCGGTGGTGCCGGTGAGCAAGGGCGAGGAGCTG-3'	427
J0-36	5'-CCGCATATGCCGGCGGCGCTGGCGCTGCTGCTGGTGCCGGTGAGCAAGGGCGAGGAGCTG-3'	428
J0-37	5'- CCGCATATGATTGTGGCGCTGCTGCTGGTGCCGCTGGTGCTGGCGATTGCGGCGGTGCTGGTGAGCAAGGGCGAGGAGCTG- 3'	429
J0-38	5'-CCGCATATGATTGTGGCGCTGCTGCTGGTGCCGGTGAGCAAGGGCGAGGAGCTG-3'	430
J0-39	5'-CCGCATATGCCGCTGGTGCTGGCGATTGCGGCGGTGCTGGTGAGCAAGGGCGAGGAGCTG-3'	431
J0-40	5'-CCGCATATGCCGCTGGTGCTGGCGGCGCTGGTGCCGGTGAGCAAGGGCGAGGAGCTG-3'	432
J0-41	5'-CCGCATATGGCGGCGGCGCTGCTGGCGGTGGCGGTGAGCAAGGGCGAGGAGCTG-3'	433
J0-42	5'-CCGCATATGCCGCTGCTGCTGCTGGCGCTGGCGGTGAGCAAGGGCGAGGAGCTG-3'	434
J0-43	5'-CCGCATATGGCGCTGGCGCTGGTGTTGGCGGTGAGCAAGGGCGAGGAGCTG-3'	435
J0-44	5'-CCGCATATGGTGCCGCGGTGGTGTTGGCGGCGGTGAGCAAGGGCGAGGAGCTG-3'	436
J0-45	5'-CCGCATATGCCGCTGCTGCCGCTGCTGCTGGTGGTGAGCAAGGGCGAGGAGCTG-3'	437
J0-46	5'-CCGCATATGGTGCTGGTGCTGGTGTTGGTGCTGCCGCTGGCGGTGCTGGCGGTGAGCAAGGGCGAGGAGCTG-3'	438
J0-47	5'-CCGCATATGGCGGCGGCGGTGCCGCTGGTGCCGCGGTGAGCAAGGGCGAGGAGCTG-3'	439
J0-48	5'-CCGCATATGCCGCGCTGCTGCTGCTGCTGGCGGCGGTGGTGGTGAGCAAGGGCGAGGAGCTG-3'	440
J0-49	5'-CCGCATATGCCGCTGGCGATTCTGCTGCTGCTGATTGCGCGGTGAGCAAGGGCGAGGAGCTG-3'	441
J0-50	5'-CCGCATATGCCGCTGCTGGCGCTGGTGCTGCTGCTGGCGCTGATTGCGGTGAGCAAGGGCGAGGAGCTG-3'	442
J0-51	5'-CCGCATATGGTGGTGCCGCTGGCGCTGGTGCTGGCGGCGGTGGTGAGCAAGGGCGAGGAGCTG-3'	443
J0-52	5'-CCGCATATGCCGCTGCTGCTGCTGCTGCCGCGCTGGTGAGCAAGGGCGAGGAGCTG-3'	444
J0-53	5'-CCGCATATGCTGGCGGCGGTGGCGGCGCTGGCGGTGGTGGTGCCGCTGAGCAAGGGCGAGGAGCTG-3'	445
J0-54	5'CGCATATGCTGCTGCTGCTGGTCTGATTCTGCCGCTGGCGGCGGTGAGCAAGGGCGAGGAGCTG-3'	446
J0-55	5'-CCGCATATGCTGGCGGTGGTGTTGGTGCCGCGGTGGTGAGCAAGGGCGAGGAGCTG-3'	447
J0-56	5'CGCATATGGTGCTGCTGGCGGCGGCGCTGATTGCGGTGAGCAAGGGCGAGGA GCTG-3'	448
J0-57	5'-CCGCATATGCTGATTGCGCTGCTGGCGGCGCGCTGGCGGTGAGCAAGGGCGAGGAGCTG-3'	449
J0-58	5'-CCGCATATGCTGGCGCTGCTGCTGCTGGCGGCGGTGAGCAAGGGCGAGGAGCTG-3'	450
J0-59	5'-CCGCATATGCTGCTGGCGGCGGCGCTGCTGCTGCTGCTGGCGGTGAGCAAGGGCGAGGAGCTG-3'	451
J0-60	5'-CCGCATATGGTGATTATGCGCTGATTGTGATTGCGCGGTGAGCAAGGGCGAGGAGCTG-3'	452
J0-61	5'-CCGCATATGGTGGTGCTGGTGGTGCCGCGGTGCTGGCGTGGTGAGCAAGGGCGAGGAGCTG -3'	453
J0-62	5'-CCGCATATGGTGGCGGTGGCGATTGCCGTTGGTGCTGGTGAGCAAGGGCGAGGAGCTG-3'	454
J0-63	5'-CCGCATATGCCGCTGATTGTGGTGGTGCCGCGGCGGTGGTGCCGTTGGTGAGCAAGGGCGAGGAGCTG-3'	455
J0-64	5'-CCGCATATGCCGCTGGCGGTGGCGGTGGCGGCGGTGGCGGCGGTGAGCAAGGGCGAGGAGCTG -3'	456
J0-65	5'-CCGCATATGGCGGCGATTGCGCTGGTGCCGTTGGTGCTGGTGAGCAAGGGCGAGGAGCTG-3'	457
J0-66	5'-CCGCATATGGCGGCGGCGCTGGCGGCGATTGCGGTGATTGTGAGCAAGGGCGAGGAGCTG-3'	458
J0-67	5'-CCGCATATGGCGGCGGCGCCGCGGTGGCGGCGGTGAGCAAGGGCGAGGAGCTG-3'	459
J0-68	5'-CCGCATATGCTGCTGCTGGCGGCGCTGCCGCTGAGCAAGGGCGAGGAGCTG-3'	460
J0-69	5'-CCGCATATGGCGCTGCTGGCGGTGGTGCCGCGGTGAGCAAGGGCGAGGAGCTG-3'	461
J0-70	5'-CCGCATATGGCGGTGGTGGTGGTGCTGCCGATTCTGCTGGTGAGCAAGGGCGAGGAGCTG-3'	462
J0-71	5'-CCGCATATGGCGCTGGCGCTGCTGCTGCTGGTGCCGCTGAGCAAGGGCGAGGAGCTG-3'	463
J0-72	5'-CCGCATATGCTGGTGGTGCTGCTGGCGGCGCTGCTGGTGCTGGTGAGCAAGGGCGAGGAGCTG -3'	464
J0-73	5'-CCGCATATGCCGCTGCTGCTGCTGCTGGCGGCGGTGAGCAAGGGCGAGGAGCTG-3'	465
J0-74	5'-CCGCATATGGCGCTGGCGGTGGTGCCGCGCGGTGAGCAAGGGCGAGGAGCTG-3'	466
J0-75	5'-CCGCATATGGTGATTGTGGCGCTGCTGGCGGTGGTGAGCAAGGGCGAGGAGCTG-3'	467
J0-76	5'-CCGCATATGGCGCTGGTGCTGCCGCTGGCGGCGGTGAGCAAGGGCGAGGAGCTG-3'	468
J0-77	5'-CCGCATATGGCGGTGGCGCTGCTGATTCTGGCGGTGGTGAGCAAGGGCGAGGAGCTG-3'	469
J0-78	5'-CCGCATATGGTGCTGCTGGCGGTGATTCCGCTGAGCAAGGGCGAGGAGCTG-3'	470
J0-79	5'-CCGCATATGCTGATTGTGGCGGCGTGGTGGTGGTGCCGCTGCTGATTGTGAGCAAGGGCGAGGAGCTG-3'	471
J0-80	5'-CCGCATATGGCGGTGGTGGTGCCGCGCGGTGAGCAAGGGCGAGGAGCTG-3'	472
J0-81	5'-CCGCATATGCTGGCGGCGGTGCTGCTGCTGATTCCGCTGAGCAAGGGCGAGGAGCTG-3'	473
J0-82	5'-CCGCATATGCTGCTGCTGCTGCTGGCGGTGGTGCCGCTGAGCAAGGGCGAGGAGCTG-3'	474
J0-83	5'-CCGCATATGGCGGTGGCGCTGGTGCCGCTGGTGCCGCTGAGCAAGGGCGAGGAGCTG -3'	475
J0-84	5'-CCGCATATGCTGGTGGCGGCGCTGCTGGCGGTGGTGAGCAAGGGCGAGGAGCTG-3'	476
J0-85	5'-CCGCATATGCTGCTGGCGGCGGCGGCGGCTGCTGCTGGCGGTGAGCAAGGGCGAGGAGCTG -3'	477
J0-86	5'-CCGCATATGCTGGCGGTGCTGGCGGCGGCGCGGTGAGCAAGGGCGAGGAGCTG-3'	478
J0-87	5'-CCGCATATGGTGGTGGTGCTGCTGGTGCTGCTGGCGCTGGTGGTGGTGGTGAGCAAGGGCGAGGAGCTG-3'	479
J0-88	5'-CCGCATATGGTGGTGATTGCGGTGGTGCCGCTGAGCAAGGGCGAGGAGCTG-3'	480
J0-89	5'-CCGCATATGGTGCTGCTGGTGCTGCTGGCGTGGTGGTGAGCAAGGGCGAGGAGCTG-3'	481
J0-90	5'-CCGCATATGGTGCTGCTGGTGCTGCTGGCGTGGTGGTGAGCAAGGGCGAGGAGCTG-3'	482
J0-91	5'-CCGCATATGCCGCTGCTGGTGCCGCGGTGCCGCTGAGCAAGGGCGAGGAGCTG-3'	483

지(plate media) 상에서 선별하였다. pGEM-Teasy 벡터에 삽입된 재조합 단편을 제한효소 *NdeI*으로 처리하여 분리한 후, 0.8% 아가로스 겔 전기영동을 수행하였다. 그 결과, 약 1 kb의 DNA 단편 및 약 3 kb의 벡터 단편이 검출되었고, 이는 MTD-EGFP의 삽입물(insert) DNA가 pGEM-Teasy 벡터 내로 적절하게 서브클로닝되었음을 확인한다(도 4b 내지 4d).

[0132] 도 5a에 나타난 바와 같이, MTDs-EGFP를 인코딩하는 각각의 단리된 삽입물 DNA 단편을 *E. coli* 발현 플라스미드 pET-28a(+)(노바젠(Novagen)으로부터 상업적으로 이용가능함, Madison, WI) 내에 클로닝하였다. 상기 pET-28a(+)
플라스미드는 N- 또는 C-말단에서 His-tag 융합을 용이하게 하고 T7 파아지(phage) 프로모터로부터 *E. coli* 내 유전자의 강력한 발현을 제공하도록 고안된다. 유전자를 인코딩하는 각각의 MTD-EGFP의 3' 말단에서, 상기 코딩 서열은 번역 정지 코돈(translation stop codon)에 뒤이어 His-tag 서열에 *NdeI* 부위에서 틀 내로 융합되고, 이는 니켈 칼럼 상에서의 용이한 정제를 위하여 C-말단에 부가된 6개의 히스티딘 잔기를 갖는 MTD-EGFP 재조합 단백질을 생성한다.

[0133] 상기 클론들을 제한효소 *NdeI*으로 처리하고 아가로스 겔 전기영동을 수행한 후, 약 1 kb의 DNA 단편 및 약 5 kb의 벡터 단편이 검출되는 것이 증명되었고, 이는 도 5b 내지 5c에 나타난 바와 같이, MTD-EGFP의 삽입물 DNA가 pET-28a(+)
벡터 내로 클로닝되었음을 확인한다. 나아가, 193개의 신규한 MTDs 중에서, 148개의 MTDs가 His-MTD-EGFP 재조합 단백질의 발현을 위해 성공적으로 클로닝되었음이 확인되었다.

[0135] **실시예 3 - MTDs에 융합된 재조합 단백질의 유도성 발현 및 정제**

[0136] 상기 실시예 2에 기술된 바와 같이 제조된 MTDs에 융합된 세포 투과성 재조합 단백질을 발현시키기 위하여, His-MTD-EGFP 재조합 단백질을 포함하는 발현 벡터를 BL21(DE3), BL21-Gold(DE3), BL21-CodonPlus(DE3) 및 BL21-GoldpLysS(DE3) 균주 각각에 형질감염시켰다. kFGF4-유래 MTD(서열번호: 387)를 포함하는 EGFP 발현 벡터를 양성 대조군으로 사용하였고, 아무런 기능을 갖지 않는 스크램블 펩티드(서열번호: 389)에 융합된 EGFP 발현 벡터를 음성 대조군으로 사용하였다. 형질감염 후, 흡광도(optical density) 600(OD₆₀₀)이 0.4 및 0.6 사이에 도달할 때까지 세포를 격렬한 교반 하에서 카나마이신(kanamycin)(30 µg/ml)을 함유하는 LB 배지에서 37°C로 배양하였다. 이어서 IPTG(isopropyl-β-D-thiogalactoside)를 0.6 mM의 최종 농도로 배양액에 첨가하여 His-MTD-EGFP 재조합 단백질의 발현을 유도하였다. 단백질 유도는 37°C에서 3시간 동안 지속하였다. IPTG를 이용하여 *E. coli*에서 발현된 His-MTD-EGFP 재조합 단백질을 SDS-PAGE 겔에 로우딩(loading)하고, 쿠마시 브릴리언트 블루(Coomassie Brilliant Blue)로 염색한 후, 탈염색하였다. 도 6a 및 6b에 나타난 바와 같이, BL21-GoldpLysS(DE3) 균주에서 발현된 일부 His-MTD-EGFP 재조합 단백질을 제외하고는, 대부분의 His-MTD-EGFP 재조합 단백질이 BL21-CodonPlus(DE3)에서 높은 수준으로 발현되었다. 일부 His-MTD-EGFP 재조합 단백질은 발현되지 않았다.

[0137] *E. coli* 시스템에서 His-MTD-EGFP 재조합 단백질의 유도성 발현은 봉입체(inclusion body)로 알려져 있는, 불용성 응집체(insoluble aggregate)의 형성을 야기한다. 이러한 봉입체를 완벽하게 용해시키기 위해, 상기에 발현된 단백질 모두를 8 M 우레아(urea)에 용해시켜 변성시켰다. 변성된 His-MTD-EGFP 재조합 단백질을 니켈 니트릴로트리아세테이트 수지(nickel nitrilotriacetate resin)(Qiagen, Hilden, Germany)를 이용하는, 히스티딘 태그 친화 크로마토그래피로 정제하였다. 8 M 우레아와 같은 강력한 변성제(denaturant)는 봉입체를 완벽하게 용해시키기 때문에, 이 정제 방법은 pH-의존성(dependent) 변성 조건 하에서 수행되었다.

[0138] 상기 *E. coli* 배양액을 4,000× g에서 20분간 원심분리(centrifugation)하여 회수하고, 용해 완충액(lysis buffer)(100 mM Na₂HPO₄, 10 mM Tris-Cl, 8 M 우레아, pH 8.0)에 재-부유시키고, 탐침(probe)이 장착된 초음파 분쇄기(sonicator)를 이용하여 얼음 중에서 초음파처리를 수행하였다. 세포 용해물(lysate)을 7,000× g에서 20분간 원심분리하여, 상청액(supernatant)과 세포 조직과편(debris) 펠렛(pellet)을 분리하였다. 상청액을 취하여 상기 용해 완충액으로 평형화된(equilibrated) Ni-NTA 수지와 가벼운 교반(회전 진탕기(rotary shaker) 이용) 하에서 2시간 내지 밤새 인큐베이션(incubate)하였다. 세척 완충액(100 mM Na₂HPO₄, 10 mM Tris-Cl, 8 M 우레아, pH 6.3)으로 5회 세척한 후, 상기 수지에 결합된 단백질을 용출 완충액(elution buffer)(100 mM Na₂HPO₄, 10 mM Tris-Cl, 8 M 우레아, pH 4.5)으로 용출하였다. 상기에 기술된 변성 조건 하에서 정제된 His-MTD-EGFP 재조합 단백질을 SDS-PAGE 겔 상에서 분석하고 쿠마시 브릴리언트 블루로 염색하였고, 그 결과를 도 7a 및 7b에 나타내었다.

[0139] 상기에서 정제된 His-MTD-EGFP 재조합 단백질을 탈변성(renature)시키기 위하여, 상기 변성제를 제거함으로써 변성된 단백질을 재증첩(refolding)시켰다. 상기 단백질을 재증첩 완충액(0.55 M 구아니딘(Guanidine) HCl,

0.44 M L-아르기닌, 50 mM Tris-HCl, 150 mM NaCl, 1 mM EDTA, 100 mM NDSB, 2 mM 산화형 글루타치온 (Glutathione Oxidized), 및 0.2 mM 환원형(Reduced) 글루타치온) 중에서 투석함으로써 우레아를 상기 단백질로부터 제거하였다. 재증첩 재조합 단백질 모두를 세포 배양 배지(예컨대, EMDM(Dulbecco's modified Eagle's Medium))와 같은 생리 완충액(physiological buffer) 중에서 9시간 동안 투석하였다. 재증첩 완충액을 DMEM으로 교체한 후, 모든 정제된 재조합 단백질의 세포 투과성은 *in vitro* 및 *in vivo*에서 결정되도록 준비되었다. 도 8에 나타난 SDS-PAGE 분석 결과에 따르면, 상기 실시예 2에 기술된 바와 같이 확립된 148개의 형질전환체 중에서, His-MTD-EGFP 재조합 단백질의 유도성 발현이 112개의 형질전환체에서 시각적으로 검출된 반면, 4개의 His-MTD-EGFP 재조합 단백질은 시각적으로 검출되기에 충분하게 발현되지는 않았지만 세포 투과성 분석을 위해서는 충분히 정제되었다. 116개 His-MTD-EGFP 재조합 단백질이 가용성(soluble) 형태로 제조되었다.

[0141] **실시예 4 - MTDs에 융합된 재조합 단백질의 정량적 세포 투과성 결정**

[0142] His-MTD-EGFP 재조합 단백질의 세포 투과성을 정량적으로 결정하기 위하여, 상기 실시예 3에 기술된 바와 같이 가용성 형태로 정제된 116개의 재조합 단백질을 0.7 µg/µl의 FITC(fluorescein isothiocyanate)와 혼합하고 교반하면서 실온에서 1시간 동안 반응시켰다. FITC가 완벽하게 제거될 때까지 상기 반응 용액을 DMEM(Dulbecco's modified Eagle's medium, WeIGENE Inc., Korea) 중에서 2일간 투석하여 FITC-접합(conjugated) 재조합 단백질을 수득하였다. 마우스 대식세포로부터 유래된 RAW 264.7 세포를 10 µM의 FITC-표지된 단백질로 처리하였다. 상기 RAW 264.7 세포를 10% 우 태아 혈청(fetal bovine serum) 및 1% 페니실린(500 mg/ml, WeIGENE Inc.)이 보충된 DMEM 내에 유지하고, 공기 중 5% CO₂의 습윤(humidified) 대기 하에서 37 °C로 인큐베이션하였다. 인큐베이션 후, 상기 세포를 상기에서 제조된 10 µM의 FITC-접합 재조합 단백질 각각과 37°C에서 1시간 동안 인큐베이션한 후, 이어서 트립신(Trypsin)/EDTA(T/E, Invitrogen, Carlsbad CA, USA)로 처리하여 세포 표면 결합 단백질을 제거하고 냉각 PBS로 3회 세척하였다.

[0143] FITC-접합 His-MTD-EGFP 재조합 단백질을 형광-활성화 세포 분류(fluorescence-activated cell sorting, FACS) 분석(FACS Calibur, Beckton-Dickinson, San Diego CA, USA)에 적용하였다. 각각의 시료에 대하여, 세포(1×10⁴)를 셀레스트 프로 세포측정 분석(CellQuest Pro cytometric analysis) 소프트웨어를 이용하여 분석하였다. 각각의 실험을 2회 이상 수행하였다. 신규한 MTDs(JO-01 내지 JO-193)에 융합된 His-MTD-EGFP 재조합 단백질 각각의 세포 투과성 효능을 kFGF4-유래 MTD에 융합된 양성 대조군 단백질의 세포 투과성과 시각적으로 비교하였다.

[0144] 도 9a 내지 9g는 유세포측정(flow cytometry) 분석 결과를 나타낸 것으로, 여기서 회색으로 채워진 곡선은 세포 단독을 나타내고, 검정색 곡선은 FITC 단독을 나타내고, 청색 곡선은 음성 대조군(스크램블 펩티드)의 세포 투과성을 나타내고, 적색 곡선은 양성 대조군(kFGF4-유래 MTD)의 세포 투과성을 나타내고, 녹색 곡선은 재조합 단백질 각각의 세포 투과성을 나타낸다. 포유동물 세포에서 각 MTD의 세포 투과성을 평가하기 위해, 각각의 FITC-접합 His-MTD-EGFP 재조합 단백질과 인큐베이션 후 정중(median) 형광에 있어서의 변화를 평가함으로써, His-MTD-EGFP 재조합 단백질의 세포 유입(uptake) 효율을 kFGF4-유래 MTD에 융합된 양성 대조군 단백질 및 스크램블 펩티드에 융합된 음성 대조군 단백질의 효율과 비교하였다.

[0145] 도 9a 내지 9g에 나타난 결과를 참고로, 10 µM의 FITC-접합 His-MTD-EGFP 단백질로 37°C에서 1시간 동안 처리된 세포 모두는 상기 처리 후 정중 형광이 음성 대조군으로 처리된 세포의 것보다 현저히 낮아지는 것과 같은 정중 형광에 있어서의 변화를 수반하지 않았다. 반면, 검사된 111개의 단백질 중에서, 80개의 His-MTD-EGFP 재조합 단백질은 양성 대조군의 것보다 0.5배(50%) 이상 높은 형광 신호를 나타내었다. 이러한 결과는 화물 분자 EGFP와 융합된 새롭게 개발된 신규한 MTDs가 단백질과 같은 거대분자를 살아있는 세포 내로 전달하기에 충분한 현저히 높은 수준의 원형질막-침투 능력을 나타냄을 암시한다.

[0147] **실시예 5 - MTDs에 융합된 재조합 단백질의 세포 투과성 및 세포내 국소화(Intracellular Localization) 결정**

[0148] 유세포측정으로 검사된 111개의 FITC-접합 His-MTD-EGFP 재조합 단백질 중에서, 60개의 His-MTD-EGFP 재조합 단백질이 이들의 세포 투과성 및 세포내 국소화의 시각화를 위해 선발되었다. 이들 중에서, 50개의 His-MTD-EGFP 재조합 단백질은 kFGF4-유래 MTD에 융합된 양성 대조군 단백질과 비교하여 0.5배 높은 세포 투과성을 나타내었다.

[0149] NIH 3T3 세포를 처리하지 않거나(세포 단독), 또는 FITC(FITC 단독), 또는 음성 대조군(His-스크램블 펩티드-EGFP), 양성 대조군(His-kFGF4-유래 MTD-EGFP) 또는 신규 MTDs에 융합된 재조합 단백질(His-MTDs-EGFP)과 같은 FITC-접합 재조합 단백질로 처리하고, 동초점 레이저 주사 현미경(confocal laser scanning microscopy)으로

시각화하였다. NIH 3T3 세포를 8-웰 챔버 슬라이드(8-well chamber slide)(LabTek, Nalgen Nunc, Rochester NY, USA) 내에서 24시간 동안 배양하였다. 세포를 37°C, 5% CO₂ 하에서 10% 우 태아 혈청, 1% 페니실린 및 스트렙토마이신(streptomycin)이 보충된 DMEM에서 유지하였다. 상기 세포를 PBS로 3회 세척한 후, 37°C, 5% CO₂ 하에서 DMEM, DMEM과 유리(free) FITC, 또는 10 μM FITC-접합 재조합 단백질 함유 DMEM으로 1시간 동안 처리하였다. 상기 처리 1시간 후, 관찰을 위하여 세포를 실온에서 4% 파라포름알데하이드(paraformaldehyde, PFA)로 20분간 고정하였다.

[0150] 내재화된(internalized) FITC-접합 재조합 단백질의 직접적인 검출을 위하여, 상기 세포를 PBS로 3회 세척하고 핵 형광 염색 용액인 1 μg/ml 농도의 요오드화 프로피디움(propidium iodide)(PI, Sigma-Aldrich, St Louis MO, USA)으로 대조염색(counterstain)을 수행하였다. 5분간의 PI 염색 후, 상기 세포를 PBS로 3회 세척하고 DABCO(Fluca, St Louis MO, USA)와 함께 폴리비닐 알코올 봉입제(mounting medium)로 고정하였다. 형광의 세포내 분포가 동초점 레이저 주사 현미경(conforcal laser scanning microscope)으로 분석된 단일 세포의 중심부에서 결정되었고, 그 결과를 도 10a 내지 10i에 나타내었다. 각각의 플루오로크롬(fluorochrome)에 대해 특이적인 매개변수는 다음과 같다: FITC: 488 nm 광원에서 여기되고(excited), 530 nm 주파수폭(bandpass) 필터로 검출됨.

[0151] 놀랍게도, 도 10a 내지 10i, 11a, 및 11b에 나타난 바와 같이, 스크램블 펩티드에 융합된 음성 대조군 단백질과 비교하여, FITC-접합 His-MTD-EGFP 재조합 단백질(JO-13, -18, -49, -58, -68, -101, -108, -116, -118, -122, -123, -127, -132, -133, -136, -138, -140, -148, -162, -169, -170, 및 -172)은 세포질 또는 핵 내 또는 모두에 대규모로 고르게 분포하였다. 양성 대조군(1.0배)과 비교하여 0.5배 낮은 세포 투과성을 나타내는, 10개의 MTDs(JO-17, -18, -21, -31, -41, -49, -88, -107, -116, 및 -169)는 1시간 처리 후 세포내 국소화 능력을 나타내었다. 이러한 결과는 유세포측정 분석으로부터 얻은 결과와 완벽하게 일치하였다.

[0153] **실시예 6 - MTDs에 융합된 재조합 단백질의 *in vivo* 조직 분포의 결정**

[0154] *in vivo* 조직 분포 능력의 분석을 위하여 유세포측정으로 검사된 111개 FITC-접합 재조합 단백질로부터 43개 재조합 단백질을 선발하였다. FITC 단독(DMEM에 유리 FITC 첨가), 음성 대조군(스크램블 펩티드에 융합된 FITC-접합 재조합 단백질), 양성 대조군(kFGF4-유래 MTD에 융합된 FITC-접합 재조합 단백질) 또는 His-MTD-EGFP 재조합 단백질(선발된 신규 MTDs에 융합된 FITC-접합 재조합 단백질) 각각을 Balb/c 마우스(6주령, 암컷, Central Lab. Animal Inc., Korea)에게 300 μg/500 μl/마우스의 투여량으로 복강내로 주사하였다. 2시간 후, 각 마우스의 장기 6곳(즉, 간, 신장, 비장, 폐, 심장 및 뇌)을 적출하고, PBS로 세척하고, O.C.T. 화합물(Sakura, Japan)로 드라이아이스 중에서 신속하게 냉동시켰다. 각 장기의 동결절편(cryosections)(20 μm 두께)을 마이크로톰 냉동박절기(microtome cryostat, Sakura)를 이용하여 제조하고, 이를 글래스 슬라이드 위에 올려 놓은 후, 벡타실드 봉입제(Vectashield mounting medium, Vecta lab, Burlingame CA, USA) 내에 봉입하였다. 선발된 신규 MTDs의 *in vivo* 조직 분포를 형광현미경(fluorescence microscope, Nikon, Japan)을 이용하여 분석하였고, 그 결과를 도 12a 내지 12i에 나타내었다.



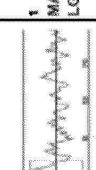

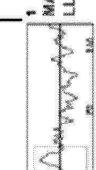
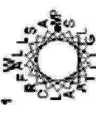
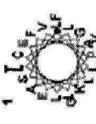
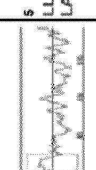
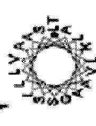

[0155] 음성 대조군에서는, 어떠한 유의미한 수준의 형광도 관찰되지 않았다. 이와 반대로, kFGF4-유래 MTD에 융합된 양성 대조군 단백질은 모든 장기에서 고르게 분포된 형광 활성을 나타내었다. 선발된 신규한 MTDs에 융합된 재조합 단백질이 주사된 마우스에 대해서는, 장기들 사이에 약간의 미미한 차이가 있다고 하더라도, 유세포측정에 의해 결정된 바와 같이 양성 대조군보다 0.5배 이상 높은 세포 투과성을 갖는 대부분의 MTDs는 모든 장기에서 상대적으로 강력한 *in vivo* 조직 분포 능력을 나타내었다. 구체적으로, JO-13(1.3배) 및 JO-133(1.5배) MTDs가 뇌를 제외한 모든 장기에서 고르게 분포하였다. 이러한 결과는 유세포측정 및 동초점 레이저 주사 현미경에 의해 그들의 강력한 세포 투과성 및/또는 세포내 국소화 능력이 입증된 신규한 MTDs가 *in vitro* 및 *in vivo*에서 거대분자 세포내 전달을 효과적으로 매개할 수 있음을 나타내는 것이다.

[0156] 요약하면, 본 발명의 방법에 따라 동정된 거대분자 전달 도메인은 도 13aa 내지 13k에 나타난 바와 같은 유도성 단백질 발현, 정제 및 세포 투과성의 특성을 갖는다.

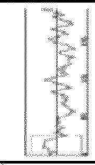
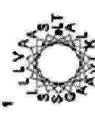


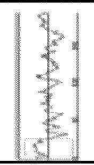
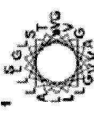

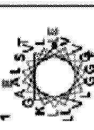
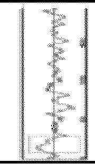
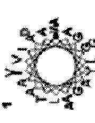
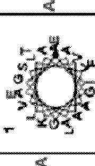

[0157] 본 발명은 그의 특정한 실시형태를 참고로 상세히 기술되었다. 그러나 그의 범위가 첨부된 청구항들과 그것들의 등가물에 의하여 정의되는, 발명의 원리 및 요지를 벗어나지 않으면서 이들 실시형태에 변경이 이루어질 수 있음이 당업계에 통상의 지식을 가진 자에게 인식될 것이다.

도면


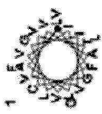
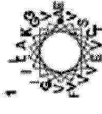


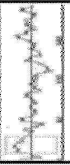
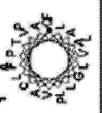
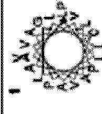
도면 1aa

#	Origin	Hydropathy	HRSS (Candidate Domain)	Helix	Preliminary modified Sequences	Helix	finally modified Sequences	Helix
<p>HRSS: Hydrophobic Region of Signal Sequence Helix: Bird's eye view of peptide structure (determined by SOSUI program) SOSUI analysis requires at least 20 amino acids-length peptide. To make 20 A/a-length, additional A/a derived from N-terminals of EGFP was added to the end of the peptide. The numbers of HRSS represent the amino acid number of the origin protein. The number of preliminarily modified and finally modified sequences represents the amino acid-length of the peptide.</p>								
JO-01	CAC04838 putative NLP/P65-family secreted protein (Streptomyces coelicolor A3(2)).		7 VLTITAVTWCAIV LAAPG 26		VLAIVVCAIVLAAP 14	No	AVVWCAIVLAAP 12	No
JO-02	NP_057021 phosphotyrosinase (yeast, class T precursor (Homo sapiens)).		1 MAAAMP LALLVLLL LGPGGWCLA 23		AAAPLALLVLLLGP LA 17	No	FLALLVLLLGP 12	No
JO-03	NP_072171 chronic herpetic stomatitis/retroplasmidic protein 2 (Homo sapiens).		1 MAGSRTSLLLAFA LLCLPWLQE 23		AAAGLLAFALLCLP 14	No	LLLAFAALLCLP 11	
JO-04	NP_932156 nudix-type motif 9 isoform a (Homo sapiens).		5 LLGKALAAYSLA LASVTRSS 27		LLGALAAYLLALA 13	No	LLGALAAYLLALA 13	

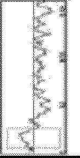


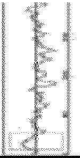







도면 1ab

<p>JO-04</p>	<p>NP_532156 nuoir - type motif 9 isoform a [Homo sapiens].</p>		<p>5 LLGKRLAAYSLSLA LASVTIRSS 27</p>		<p>LLGALAAVLLALA 13</p>		<p>LLGALAAVLLALA 13</p>	
<p>JO-05</p>	<p>NP_057327 NA010 [Homo sapiens] type oxidoreductase type 3, polypeptide A2 [Homo sapiens].</p>		<p>5 TSPVLLASLGVGLV TLLQLAVGS 27</p>		<p>PVLLALGVGLVLLG LAV 17</p>		<p>PVLLALGVGLVLLG LAV 17</p>	
<p>JO-06</p>	<p>CA055350 putative secreted protein, [Streptomyces coelicolor A3(2)].</p>		<p>8 MIRGAAAVLLAAG GITVAVAGD 30</p>		<p>AAAAVLLAAGGIAVA 15</p>		<p>AAAAVLLAA 9</p>	


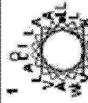

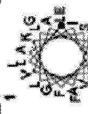
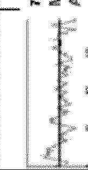
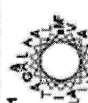





도면1ac

JO-07	NP_623514 secreted protein [Streptomyces coelicolor A3(2)];		5 LALTVCGIWWVWI GLVFVGL 26		LALVCGIWWVWI 14		IWAQWVI 8	No
JO-08	CA857190 putative secreted chitin binding protein [Streptomyces coelicolor A3(2)];		7 TAALIGAVLAPWAV SLPA 25	No	AALIGAVLAPWAVL PA 17		AVLAPWAV 3	No
JO-09	CA857015 putative secreted protein [Streptomyces coelicolor A3(2)];		9 QLAVCGLPYWALL ATALFALP 31		LAVCGLPWALLAA LAPLP 19		LAVCGLPWALLA 13	No

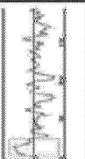
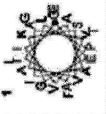

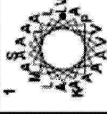
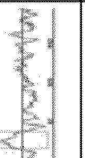
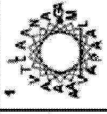
도면 1ba

#	Origin	Hydropathy	HKSS (Candidate Domain)	Helix	Preliminary modified Sequences	Helix	finally modified Sequences	Helix
JO-13	NP_638977 putative secreted protein [Streptomyces coelicolor A3(2)]		4 SVLRGLAAGALAVL PLTVSTPAH 28		VLGAAAAALAVLPL VPA 17		LAAAAALVLP 11	No
JO-14	NP_659201 protease inhibitor 16 precursor [Homo sapiens]		5 CSFLMLLLPILLLV ATTGPIG 26		FLMLLLPILLLVAP VG 17		FLMLLLPILLLV 14	
JO-15	NP_638977 putative secreted protein [Streptomyces coelicolor A3(2)]		6 ALTASAAATAAAAL GLAARVPAQ 28		ALAAAAAALGLA AAVFA 19		AAAAAALGLAARVPA 15	

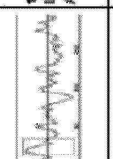
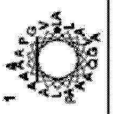
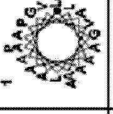
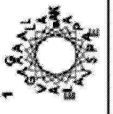
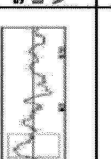
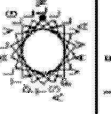
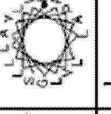
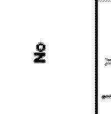
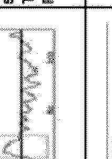
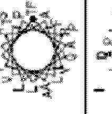
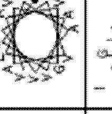
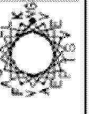

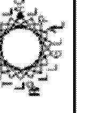
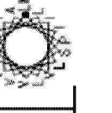
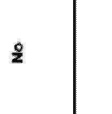
도면1bb

<p>CA565250 JO-16 putative secreted protein [Neisseria meningitidis Z2491].</p>		<p>7 LLLAALLLI¹FAAVK LVLLQW²⁷</p>		<p>1 LLLAALLLI¹FAAVL VLL¹⁸</p>		<p>1 LLLAALLLI¹FAAV 14</p>	
<p>NP_526397tm38 JO-17 secreted hydrophilic protein [Streptomyces coelicolor A3(2)].</p>		<p>7 MAALA¹VVLIPLGIA ATSFAL²⁷</p>		<p>1 MAALA¹VVLIPLGIA A¹⁸</p>		<p>1 ALAAVYLIPLGIAA 14</p>	<p>No</p>
<p>CA557190 JO-18 putative secreted chain binding protein [Streptomyces coelicolor A3(2)].</p>		<p>7 TAALIGAVLAPVVAV SE²⁵PA</p>		<p>1 AALIGAVLAPVVAVL PA¹⁷</p>		<p>1 AALIGAVLAPVVAV 14</p>	

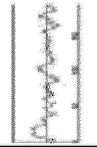
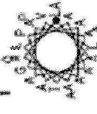
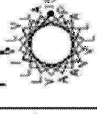
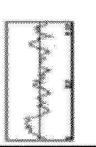
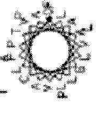
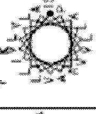
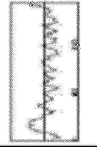
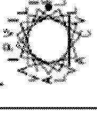
도면1bc

<p>NP_525507 secreted cellulose-binding protein [Streptomyces coelicolor A3(2)]</p> <p>JO-19</p>		<p>16 AAAVAVAGLAPLAL 23</p>	<p>No</p>	<p>AAAVAVAGLAPLAL 14</p>	<p>No</p>	<p>AAAGVAVAAIVPLA 15</p>	<p>AAAGVAVAAIVPLA 15</p>	
<p>NP_525532secreted protein [Streptomyces coelicolor A3(2)]</p> <p>JO-20</p>		<p>8 GAAGVAVAAIVPLA DPAPA 26</p>	<p>No</p>	<p>GAAGVAVAAIVPLA 15</p>	<p>No</p>	<p>GAAGVAVAAIVPLA 12</p>	<p>GAAGVAVAAIVPLA 15</p>	
<p>CAC31750 parative secreted protein [Mycobacterium leprae]</p> <p>JO-21</p>		<p>5 GLAANVAMAAATV LAAPALA 25</p>	<p>No</p>	<p>GLAANVAMAAATV LAAPALA 18</p>	<p>No</p>	<p>VAMAAAVLAAPAL A 15</p>	<p>VAMAAAVLAAPAL A 15</p>	

도면 1bd

JO-22	CAB593putative secreted protein [Streptomyces coelicolor A3(2)]		11 LAAVGAALALGVAA APAAQAPA 32		LAAVGAALALGVAA APAAQAPA 21		AALALGVAAAPAAA PA 16		No
JO-23	NP_630266secreted Protein [Streptomyces coelicolor A3(2)]		5 LASVLTVLLTVLLPL VFAWPAAG 27		LLLALLLAAGLVLP 15		LAVLVLLVLLP 11		No
JO-24	NP_630166secreted Protein [Streptomyces coelicolor A3(2)]		5 TAARTWVAVLAPVL FALQFFAPS 27		ALYAVAVAVVALLG VA 16		VVAVLAPVL 9		No
JO-25	NC_003693secreted Protein [Streptomyces coelicolor A3(2)]		11 AAFAALLPLLLLLP LTGCDRLA 33		LLLVLLINPALVIA 16		AALLPILLLLLP 12		No

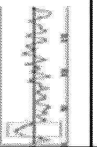
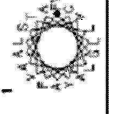
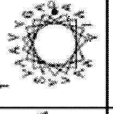
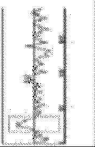
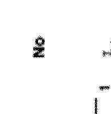
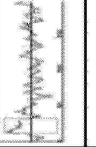
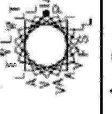
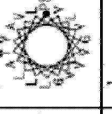
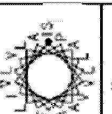
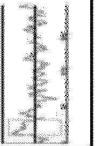
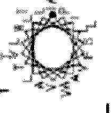
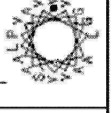
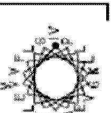
도면1cb

JO-29	NP_631285secreted Protein [Streptomyces coelicolor A3(2)].		7 LWAAAAALTLVGA APAAAQAP 29		IVALLVPLVLAARV L 17		AAAAAALLVP 10	No
JO-30	CAG51015 Purified secreted Protein [Streptomyces coelicolor A3(2)].		9 QFLAVCGLPVWALL ATALFAPLP 31		LAVLPVWALLAALFA P 16		LPVVALLA 8	No
JO-31	NP_62851schilins E C (secreted Protein) [Streptomyces coelicolor A3(2)].		7 AAALAATLALPLAGL VGLA 25	No	PFLVLAALVACINLI 16		AAALAAPLALP 11	No

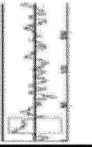
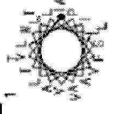
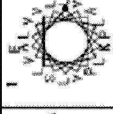
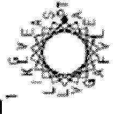
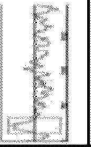
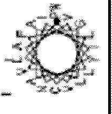
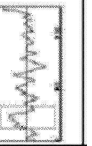
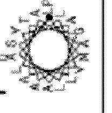
도면1cc

<p>NP_540595 C1q factor related Protein 1 isoform 1 [Homo sapiens]</p> <p>JO-32</p>		<p>6 QGLLLAVCILLAF SGLVLSRVP 28</p>		<p>LALAVLAALLAVAP AA 16</p>	<p>No</p>	<p>LLLALLAA 9</p>	
<p>NP_854150 POSSIB LE CONSERVED SECRETED PROTEIN [Myricobacterium bovis AF212397]</p> <p>JO-33</p>		<p>1 MKALVAVSAVAVYA LLGVSSAQ 22</p>		<p>LGLFFLLLLALAGG AA 16</p>	<p>No</p>	<p>AVAVYALL 8</p>	
<p>NP_630336 PRO33M is secreted Protein [Sheepmyces coenocolor AS12]</p> <p>JO-34</p>		<p>7 LTLINLLIGVFGY LVISANQ 28</p>		<p>LVPFGALALVVAFF AA 16</p>	<p>No</p>	<p>LLLVLLVLP 11</p>	

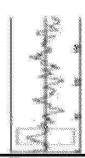
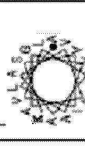
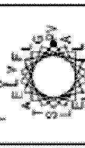
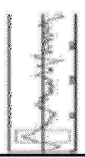


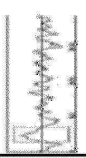


도면1cd

<p>P39750 Extracellular matrix metalloproteinase Precursor.</p> <p>JO-35</p>		<p>12 FAYLTVLCLLAAAV SFGVPAK 33</p>		<p>PATGVAAVVVAAAA 15</p>		<p>LALAAAVVP 3</p>	<p>No</p>
<p>CAA15252 Putative lipoprotein [Streptomyces coelicolor A3(2)].</p> <p>JO-36</p>		<p>13 AAPRSVPPRALAG LLLVLTAL 35</p>	<p>No</p>	<p>ALPLPLLLLVGALL 15</p>		<p>PAALALLVA 10</p>	<p>No</p>
<p>NP_625686 Large secreted protein [Streptomyces coelicolor A3(2)].</p> <p>JO-37</p>		<p>12 IVALLVPLVSLTAIW AFATVLT 34</p>		<p>PIGVVYVWVGLAVL AL 17</p>		<p>IVALLVPLVLAIAV L 17</p>	
<p>NP_625686 Large secreted protein [Streptomyces coelicolor A3(2)].</p> <p>JO-38</p>		<p>12 IVALLVPLVSLTAIW AFATVLT 34</p>		<p>VLYGAAAVPVLVAA G 15</p>		<p>IVALLVLP 8</p>	


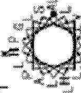
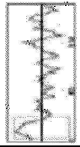
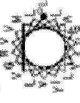


도면1da

#	Origin	Hydropathy	HRSS (Candidate Domain)	Helix	Preliminary modified Sequences	Helix	finally modified Sequences	Helix
JO-39	NP_626638.2 secreted Protein [Streptomyces coelicolor A3(2)]		12 IVALLVPLVSLTAIW AFATVLT 34		LAVLVLLVLLPLVPA 15		PLVLAQAVL 10	
JO-40	NP_869300.1 golg1 PhosphoProtein 2 [Homo sapiens]		12 KSPFLVLAALVACIV LGFNYW 34		VVAVLAPVLFAL 12	No	PLVLAALVA 8	No
JO-41	NP_626593.3 secreted Protein [Streptomyces coelicolor A3(2)]		12 LALGTAVLSAALLA VAMFQEAQ 34		AALLPLILLPL 13	No	AAALLAVA 8	No

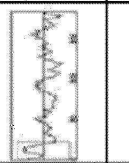
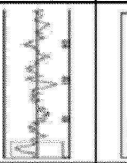
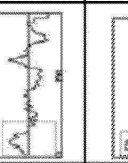

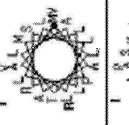
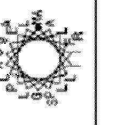
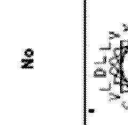
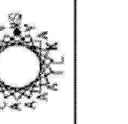
도면1db

<p>JO-42</p>	<p>NP_064863 Myxovirus cell-derived factor 1 [Homo sapiens]</p>		<p>13 QLGLPPLLLLTMAL AGSGTASA 35</p>	<p>No</p>	<p>14 ALAVGAQVAALLVI</p>		<p>PLLLALA 8</p>	
<p>JO-43</p>	<p>NP_631398 Secreted Protein [Streptomyces coelicolor A3(2)]</p>		<p>14 LTVPLGALALVVAFP ATA 31</p>	<p>No</p>	<p>9 LLIQAALLPL 3</p>		<p>ALALVA 7</p>	
<p>JO-44</p>	<p>NP_527373 Penton III R-binding Protein [Secreted Protein] [Streptomyces coelicolor A3(2)]</p>		<p>15 KPAVCSVAQVVA GAGFGAVIM 37</p>		<p>15 LAAVLLGLAARPA A 15</p>	<p>No</p>	<p>VAAVVAA 8</p>	

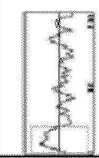
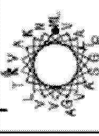
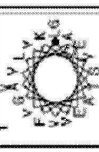
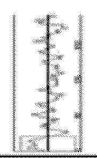
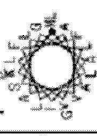
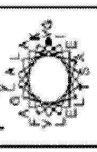
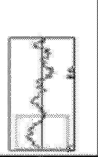

도면1dc

NP_055226 sulfate modifying factor 2 [Homo sapiens]		2 ARHGLPLLLSLL VGAWLKG 23		WAAAAALLVGAAP A 15	No	PLLPILLLV 9	No
NP_854366 Conserved hypoxanthine secreted protein [Mycobacterium bovis AF122/97]		4 PMIGMVLVWLGE AVLALSYRL 26		LAVCGLPWALLA 13	No	VLVVWLPVAVLA 13	No
NP_627512 secreted protein [Streptomyces coelicolor A3(2)]		23 VLVGAAPVYMLVA AGC 35	No	AAAVAVAGLAPLAL 14		AAAVPVLVAA 10	No


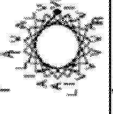
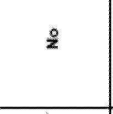

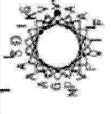
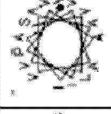

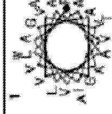
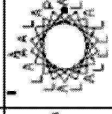
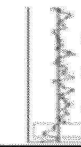
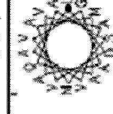
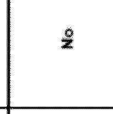
도면1dd

NP_119448 phosphatase A2, group XIII [Homo sapiens].	NP_003245 tissue inhibitor of metalloproteinase 1 precursor [Homo sapiens].	NP_002976 small inducible cytokine A17 precursor [Homo sapiens].	NP_001012495 stromal cell-derived factor 1 isoform gamma precursor [Mus musculus].					1 MALLSRPALTLLLL MAAVVRCQ 23	1 MAPFEPLASBLLLL WLIAPSA 23	1 MAPLKMALVTLLL GASLQHIHA 23	1 MDAKVAVLALVLA ALCISDGK 22			No			ALLPALLLLLLAAVV 16	APPLAIIIIIIAPAI 5	APLLALVLLALIAI4	AVAVLALVLAALI 14	PALLLLLLAAVV 12	PLAIIIIIIAP 12	PLLALVLLALIA 13	VVAVLALVLAAL 12	No	No	No	No
---	---	---	--	---	---	---	---	------------------------------------	-----------------------------------	------------------------------------	-----------------------------------	---	---	----	---	---	-----------------------	----------------------	-----------------	---------------------	-----------------	----------------	-----------------	-----------------	----	----	----	----

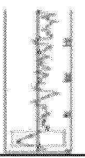
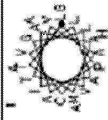
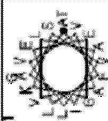
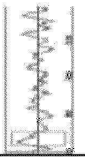
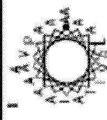
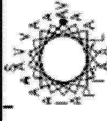
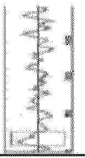
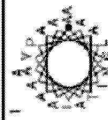
도면1eb

<p>JO-65</p>	<p>NP_654234 possible conserved secreted protein (Mycobacterium bovis AF2122/97).</p>		<p>1 MKGTKLAVVYGMT VAAVSLAAP 22</p>		<p>LAVVVVAVLAAP 13</p>	<p>No</p>	<p>LAVVVVAAV 9</p>	
<p>JO-66</p>	<p>P23324 Enolpyruvate kinase B precursor (Pfkfb3) (Rotavirus) (Cytoplasmic B).</p>		<p>1 MKVLLAAALVAGSVF FLLVGP 22</p>		<p>VLLAAALVAVLLVPP 13</p>	<p>No</p>	<p>VLLAAALV 9</p>	
<p>JO-67</p>	<p>CAJ03847 Hypothetical secreted protein (Salmonella enterica subsp. Enterica serovar Typhimurium).</p>		<p>1 MLKVTTLLASLLAAP LAFSASAIQ 23</p>		<p>LVLIALLAAPLAAAI 13</p>	<p>No</p>	<p>LIALLAAPLA 10</p>	<p>No</p>

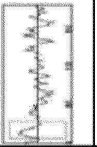
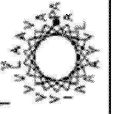
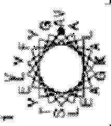
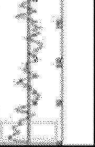
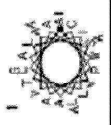

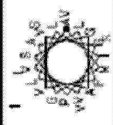
도면1ed

JO-61	NP_G235584c2E163 protein [Streptomyces coelicolor A3(2)]		5 VIALIVIVAVLWAA VLALR 26		VIALIVIVAVLVAA VLAL 21	No	WLVVAAVLAL 11	No
								
JO-62	NP_G25516 SOLUBLE SECRETED ANTIGEN NP853 [Mycobacterium suis AF212/97]		6 VSPKAFADGIVAVI AVVLMFG 28		VPIAAVAVAVVL 14	No	VAVAVVVL 9	No
								
JO-63	NP_G235584c2E163 protein [Streptomyces coelicolor A3(2)]		3 PLIVVAAVAVGA GLAVWATA 31		IAALLLALPAAA LLLA 15	No	PLIVVAAVAVAV 13	No
								
JO-64	AA153065 lambda receptor protein [Escherichia col]		7 KLPLAVAVAGVMS AQAIVDF 28		LPLAVAVAVAAV 14	No	PLAVAVAAVAA 11	No
								

도면1fa

#	Origin	Hydropathy	HRSS (Candidate Domain)	Helix	Preliminary modified Sequences	Helix	finally modified Sequences	Helix
JO-65	NP_628168 NLP66-family secreted protein [Streptomyces serevillei Wk- 4686].		8 LTMAAIALYCAVTVL GAPGAHA 30		LAALYAVVLA AA 16	No	AAALYAVVLA 10	
JO-66	NP_628566secreted protein [Streptomyces cesicolor A3(2)].		5 AAALAAIVIGAATA PAVAA 28		AAALAAIVIAA V AA 18		AAALAAIVI 16	No
JO-67	NP_628566secreted protein [Streptomyces cesicolor A3(2)].		9 AAALAAIVIGAATA PAVAA 28		AAALAAIVIAA V AA 18	No	AAAPVAA 8	No

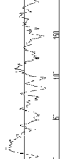
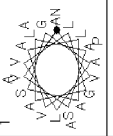
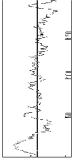
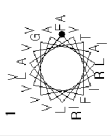
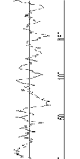
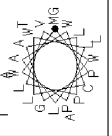
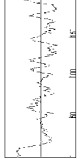
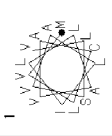
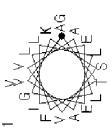
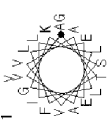
도면1fb

JO-68	NP_625635secreted protein [Streptomyces coelicolor A3(2)]		7 GAGALLASLLLAAL FFTAEAES 23	No	PLVVVAVVVVVAL A VAAV 13		LLLLALP 7	No	
JO-69	CAC12053 putative secreted protein [Mycobacterium leprae]		6 ALLSAYVCAAWATL ILAPIGAAA 28	No	AVVAAALAPF 12	No	ALLAVVA 8	No	
JO-70	NP_630954secreted protein [Streptomyces coelicolor A3(2)]		8 AVVGVFVLSPIILAG AGMVLVS 28	No	AVVWLPILLAA 12	No	AVVWLPILL 10	No	





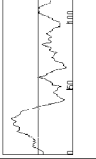

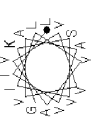

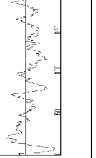
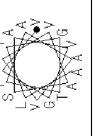
도면1fc

JO-71	P97300 Neuroplasin precursor (Stromal cell-derived receptor 1) (SDR-1).		6 LFGALALSLLLVSGS LLPGFGA 27	No	ALALLLVLLPPA 13	No	ALALLLVLP 9	No
JO-72	AAA41949 Rat parotid gland acidic proline-rich protein mRNA, complete CDS		1 MLVLLTAALLVSS AHGSEEV 23		No	LVVLLAALLVL 11	LVVLLAALLVL 11	No
JO-73	AAA17887 Drosophila melanogaster spatze (spz) gene		1 MMTPMWISLFKVL LFAFFAT 22		No	PILVLLLA 9	PVLLLLA 7	

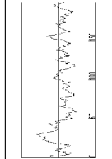
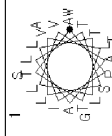
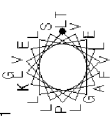
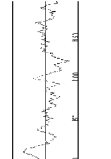
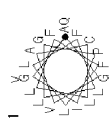
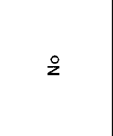
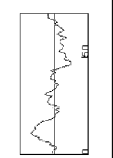
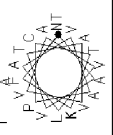

도면1fd

NP_627867conserved secreted protein [Streptomyces coelicolor A3(2)] JO-74		8 AVSALAGLVLAGSAL AVVNAAPA 30		LVLAAALVVAAPA 13	No	ALAVVAAP 8	No
NP_631283secreted protein [Streptomyces coelicolor A3(2)] JO-75		8 FLIAGVIVALLAVFTV VRVVRIV 30		VIVALLAVVAV 12	No	VIVALLAV 8	No
NP_003231endometrial bleeding associated factor preproprotein CAB76313 putative secreted protein [Streptomyces coelicolor A3(2)] JO-76		1 MMPLWLCWALWVL PLAGPGAALT 23		PLLALVPLAP 11	No	ALVPLAP 8	No
putative secreted protein [Streptomyces coelicolor A3(2)] JO-77		1 MVLCAVALLILAVSL VGGND 20		AVALLILAV 9		AVALLILAV 9	


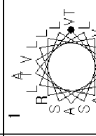
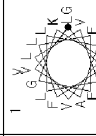
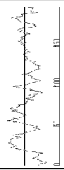
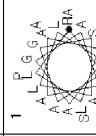
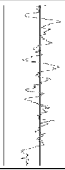
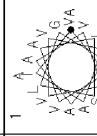
도면1ga

#	Origin	Hydropathy	HRSS (Candidate Domain)	Helix	Preliminarily modified Sequences	Helix	finally modified Sequences	Helix
JO-78	P07198 Xenopsin precursor [Contains: Xenopsin precursor NP_531293secreted protein [Streptomyces coelicolor A3(2)].		1 MYKGFLLVAVICA NSLATPS 23		VLLAVIALAP 10		VLLAVIP 7	
JO-79	NP_626373secreted protein [Streptomyces coelicolor A3(2)].		13 SGALAVWLVAAVVV VAVLIGAF 35		LIVAAVVVVAVLI 13		LIVAAVVVVAVLI 13	
JO-80	NP_626373secreted protein [Streptomyces coelicolor A3(2)].		16 VYGVASAVVAATT GTLALASFG 38		AVVVAALALAP 11	No	AVVVAAP 7	No

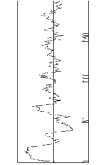
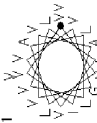
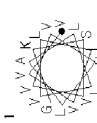
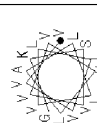
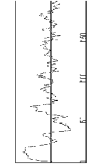

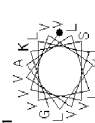

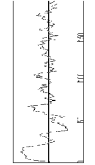



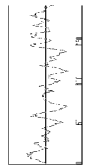

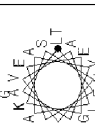
도면 1gb

JO-81	NP_624952secreted cellulose-binding protein [Streptomyces coelicolor A3(2)]		18 ATTLLVLSLAAVLLT LIPWSGTA 40		LAAVLLLP 9	No	No		No
JO-82	NP_009104 protease, serine, 23 precursor [Homo sapiens].		2 AGIPGLLFLFFLLCA VGQVSPY 24		LLLLLAVVP 10	No	No		No
JO-83	AAK63068 phytotoxic protein Pcf precursor [Phytophthora cactotum].		2 NFKTGPVALVAVVA TVATAEDP 24		PAVALVAVVAVP 13	No	No		No




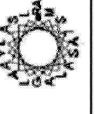

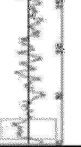
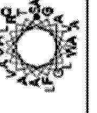
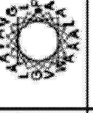
도면1gc

NC_003903Streptomyces coelicolor A3(2) plasmid SCP1, complete sequence.		2 VTSVLRGLVAALLAV LSITASTP 24		LVAALLAVLIAP 12	No	LVAALLAVL 9	
NP_629842peptide transport system secreted peptide binding protein		20 RLAAAGAGALLLA SGAVAPSV 42		ALLAAVAP 9	No	LLAAAAALLLA 11	No
NP_854067Posible secreted protein		3 VIARVGVAAACGLSL AVLAAAPT 25		VAALLAVLAAAP 12	No	LAVLAAAP 8	No
[Mycobacterium bovis AF212/97].							

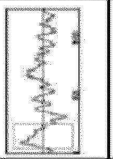
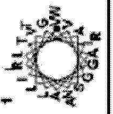
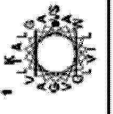
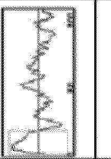
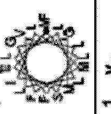
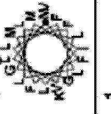
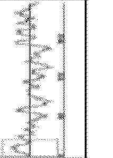
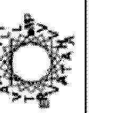
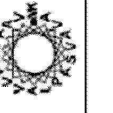
도면 1gd

JO-87	NP_627802secreted protein [Streptomyces coelicolor A3(2)].		4 VVIAVGVWLLVLL ALVWVSR 25		VVLLVLLALVVV 13		VVLLVLLALVV 13	
JO-88	NP_627802secreted protein [Streptomyces coelicolor A3(2)].		4 VVIAVGVWLLVLL ALVWVSR 25		VVIAVWP 7			
JO-89	NP_627802secreted protein [Streptomyces coelicolor A3(2)].		4 VVIAVGVWLLVLL ALVWVSR 25		VLLVLLALV 9			
JO-90	NP_624483secreted protein [Streptomyces coelicolor A3(2)].		1 MFRHLAAVATALAV VTVPVEAT 23		LAAVAALAVWP 12	No		

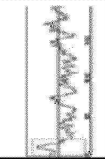
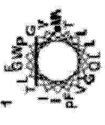
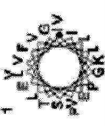
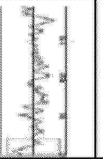
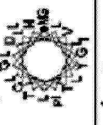
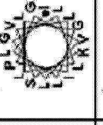
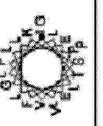
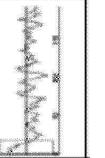
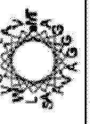
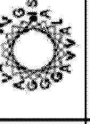
도면 1ha

#	Origin	Hydropathy	HRSS (Candidate Domain)	Helix	Preliminary modified Sequences	Helix	finally modified Sequences	Helix
JO-91	NP_632033secreted protein [Streptomyces coelicolor A3(2)]		8 EELGVLVGVGAAG FFGLMIVIV 30		LGVLVGVGAAG 12	No	PVLVPAVP 8	No
JO-92	NP_632063secreted protein [Streptomyces coelicolor A3(2)]		5 RVVIAAMILGALALS ALSATP 25		VVIAAMILGALALA P 16		FALALALA 8	No
JO-93	NP_632073secreted protein [Streptomyces coelicolor A3(2)]		5 SSFVRLGAAATAG ALAWAVLAQ 27		FVVLGAAAGALAW AVLA 16		AAAAFALA 8	No




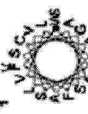


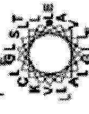

도면 1hb

JO-94	NP_632493secreted protein (Streptomyces coelicolor A3(2)).		5 VRNIVLGVLAAGISA TLGWLART 27		VIVLGVLAAGIALGW LA 17		IVLPVLAAP 9	No
JO-95	CA_C23554putative secreted protein (Mycobacterium indicus pranii).		1 MESLVLLLLLELLMG GFVFF 20		MLVLLLLLELLMGGF VFF 18		LVLLLLPLLI 18	1 GLEIP LMLVLS LIVLST LIVLST VGFVLE
JO-96	NP_624483secreted protein (Streptomyces coelicolor A3(2)).		1 MFRMLAAVATALAV VTVPVEAT 23		MFLAAVAALAVVVP VA 16		LAAVAPALAVV 11	No

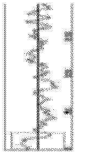
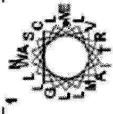
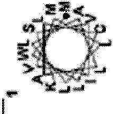
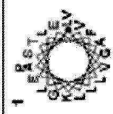
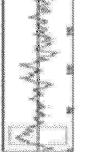
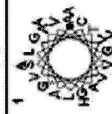
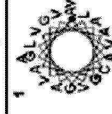
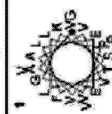
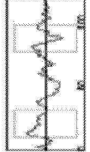
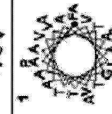
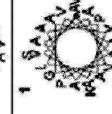
도면 1hc

NP_057375 secretin III (Homo sapiens) JO-97		1 MGFLGTGTWILV LPQAFPKP 23		LGQWLVVLPAPF P 16	No	ILVVLVLP 6	
NP_063165 V-set and immunoglobulin domain containing 4 (Homo sapiens) JO-98		1 MGILLGILLGHILTV DTYGRPK 23		ILLGILLGLVGRPL 16		ILLPILLLP 9	
NP_732562 secreted hyalase (Streptococcus constans A3[7]). JO-99		1 MIAGAVVAALGYGA GLWAT 19		IAGAVVAALGVGAG LWA 17		IAPAVVAALP 10	No

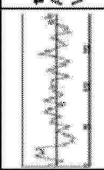
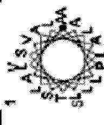


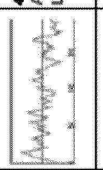
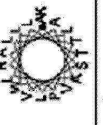
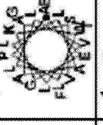
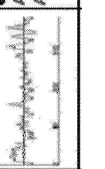
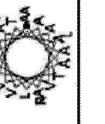
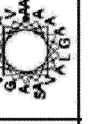
도면 1hd

NP_067540 transmembrane protein 9 (Homo sapiens).	1 MLLSLVAVVGCLL VPPAEANK 22		MLLVAVVGCLLVP PAA 16		LLLVAVPLLVP 12	No
CA74362 hypothetical protein [Thelesta annularis].	1 MKLMQLILLLCIKT SNGVN 21		MELMILLLLCIGV 14	No	LILLLP 5	No
NP_630671 protein [Streptomyces coelicolor A1(2)].	7 GGRWFFAVLAASAV LVSGCSGSV 23		FAVLAAPAVLV 10	No	AVLAAPAVLV 10	
NP_068995 TMEV6 domain family, member B (Homo sapiens).	7 GLLRIGSLLSLCL ALSVLLAQ 23		LLLGLLLCALVLL A 16		LALPVLLA 9	


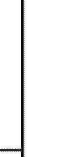



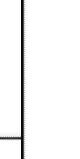


도면 11a

#	Origin	Hydropathy	HRSS (Candidate Domain)	Helix	Preliminarily modified Sequences	Helix	finally modified Sequences	Helix
JO-104	P06553 Pulmonary surfactant-associated protein A precursor (SP-A) (PSP-A) (PSAP)		1 MWLRCLALALTLLM VSGIENNTK 23	1 	MWLRCLALALLMVI 14	1 	LALALLL 7	1 
JO-105	NP_639721 putative secreted protein [Streptomyces coelicolor A3(2)]		10 ASGVAGVCLLGWA TGAVAAHVA 32	1 	AGVAGVCLLGWAG AVAAVA 20	1 	VAVPILLWVA 9	1 
JO-106	NP_654954 CONSEQUENTLY PROBABLY SECRETED PROTEIN [Mycobacterium goodii AF2122/97]		11 FAVAVAGVATAAAT TVTLAPAPA 33	1 	AVAVAGVAAAAVLA PAPA 18	1 	AVAVAVAAAAA 11	No

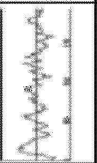
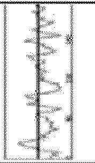
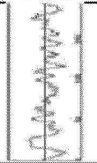
도면 1c

NP_003342 cellular repressor of E1A-stimulated genes [Homo sapiens]		11 ALLAALLASTLLALL VSPA 23		ALLAALLALLVP A 16		ALLAALLALLLV 14	
NP_500599 Homo sapiens insulin-like growth factor binding protein 3 (IGFBP3)		4 ARPTLWAAALTLV LL 19		APLWAAALLVLL 15		AAALPILLVLP 11 No	No
C455845putative secreted protein [Streptomyces coelicolor A3(2)]		5 ATAAAVTAALATGV ASVAAGRLLA 28		AAAAVAALAGVAVA AGLA 18		AAAVPAALAP 10 No	No

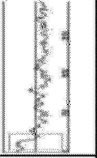
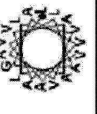
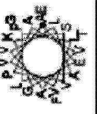
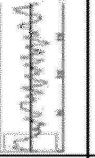
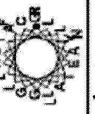
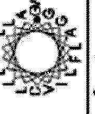

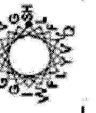
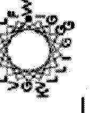
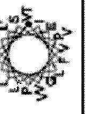
도면1id

NP_624817secreted protein [Streptomyces coelicolor A3(2)]		7 ATTALAAALAAAGC A, 21		AALAAALAAAGCA 15	No	AALAAALAA 10	No
NP_624898secreted protein [Streptomyces coelicolor A3(2)]		15 AVLAAAVTAGVTAT AVTASPGVAALPAG PA, 44		AVLAAAVAGVAAVA PGVAALPA, 22	No	AVLAAAVP 8	No
NP_624895secreted protein [Streptomyces coelicolor A3(2)]		15 AVLAAAVTAGVTAT AVTASPGVAALPAG PA, 44		AVLAAAVAGVAAVA PGVAALPA, 22	No	VAALPAPA 8	No
NP_624791secreted protein [Streptomyces coelicolor A3(2)]		9 AVTGTALALAVSAV LTACGG, 28		AVGALALAVAVLAC GG, 16	No	ALALAVPAVLP 11	No

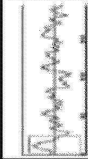
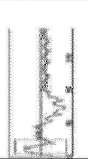
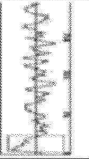
도면1ja

#	Origin	Hydropathy	HRSS (Candidate Domain)	Helix	Preliminarily modified Sequences	Helix	finally modified Sequences	Helix
JO-117	CA84579putative secreted protein [Streptomyces coelicolor A3(2)].		10 CAALLTAAVAVSLG AAGC 27	1 L V A L G L S A G C V A C V V	CAALLAAVAVLGAA GC 16	1 V A C L G V A G A L A S L L G	AALLPAAVAVP 11	No
JO-118	NP_627066secreted protein [Streptomyces coelicolor A3(2)].		13 FAIGTAVVVALAGM INGPWL 31	No	FAIGAVVVALAGMG PWL 17	No	AVVALAP 8	No
JO-119	NP_630174secreted substrate-binding protein [Streptomyces coelicolor A3(2)].		16 GAAVALTAAARLL AGC 32	1 K A C V A L A A A L L V A A	GAAVALAAARLLA GC 16	1 L A A C V V A G A A A L S A A G	AAAVALFAAARLLA 16	No

도면1jb

<p>P06727 Apolipoprotein A-IV precursor (Apo-A4) Homo sapiens</p>		<p>3 LKAVYLTALVAVA GARAEVSAD 25</p>	<p>No</p>	<p>LAVVLLALVAVAGA AVA 17</p>		<p>AVVLPALVAVAP 13</p>	
<p>G62937 Serum paraoxonase/lacton ase 3. Mus musculus</p>		<p>2 GKLVALTLLGACLA LIGERE.LNF 24</p>		<p>SLVALLGACLAIG LLF 18</p>		<p>LVALPFLP 9</p>	<p>No</p>
<p>NP_627123prob:SD1 e secreted penicillin- binding protein (Streptomyces coelicolor A3(2))</p>		<p>3 STVAVGLLIWGFF LGYHLVQI 25</p>		<p>VVWGLLIWGFFLG LVI 16</p>		<p>VVWPLLIVP 10</p>	

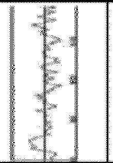
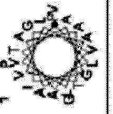
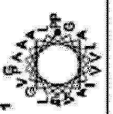

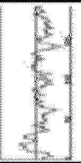
도면1jc

<p>CAK30224 putative secreted hydrolase [Mycobacterium leprae].</p> <p>JO-123</p>		<p>3 VARWLASVWLVAVCL AGCYGRQYS 25</p>	<p>1 R V G S A C L V V G Q T L S V A A</p>	<p>VAVWLVAVCLAG CVGV 18</p>	<p>1 S A V Q V A W K M G V C B</p>	<p>LAVLAVP 8</p>	<p>1 E V F I G T A S P P E V G K L</p>
<p>OZZOAM circumsporozoite protein precursor - Plasmodium cynomolgi</p> <p>JO-124</p>		<p>4 FNLLAVSSIIIVDLF RTHWGHNV 25</p>	<p>No</p>	<p>LLAVILLVFWGV 13</p>	<p>No</p>	<p>LLAVPILLVP 10</p>	<p>1 K V E P L I P S P A G L F V V</p>
<p>Q15165 Serum parainfluenza virus 3. Homo sapiens</p> <p>JO-125</p>		<p>4 LVVALVLLGVGLSLV GEMFLAFR 25</p>	<p>1 L V E V L L V S M G A L L P A V L L R</p>	<p>LVALVLLGVLLVM FLA 17</p>	<p>1 V V V L V L A V L A G A L V L L G</p>	<p>LVALVLLP 8</p>	<p>1 V V F V G T S P A P A L L G K L L</p>

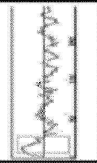
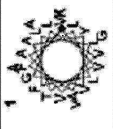
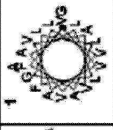
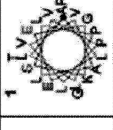
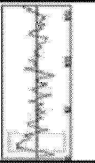
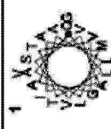
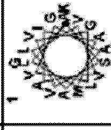

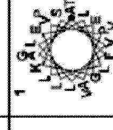
도면1jd

NP_069220 anti-trans-13,14-dihydrocholesterol saturase (Homo sapiens)	NP_069220 anti-trans-13,14-dihydrocholesterol saturase (Homo sapiens)		PLVLLAVLLAVLVC VL 17		LVLLAVLLAVLP 14	No
AL627273 Salmonella enterica serovar Typhi (Salmonella typhi) strain CT18	AL627273 Salmonella enterica serovar Typhi (Salmonella typhi) strain CT18		TLMLAMVVALVILP FFNHGGE 26		LLAPVVALVILP 12	No
NP_629387 secreted protein (Streptomyces coelicolor A3(2))	NP_629387 secreted protein (Streptomyces coelicolor A3(2))		TRGVLAIVCVLL LTGSAGCG 25		VLAVLAVPVLLLP 13	No
CAS4547 apurative secreted protein (Streptomyces coelicolor A3(2))	CAS4547 apurative secreted protein (Streptomyces coelicolor A3(2))		VVAVGVVLLVLL ALVVSRR 25		WVAVVPVVV 10	

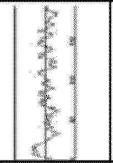
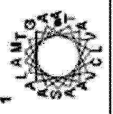
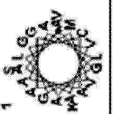
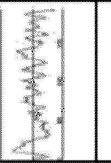
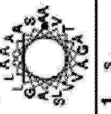
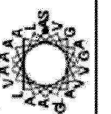
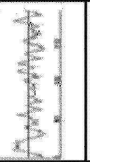
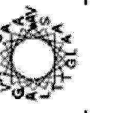
도면1kb

<p>CA55554 putative secreted protein [Streptomyces coelicolor A3(2)]</p> <p>JO-133</p>		<p>3 FRKFWLAGIGATAVL VTAALVPG 32</p>		<p>PPVLAGIGAAVLVAA ALVPG 20</p>		<p>AVLVPAAALVP 11</p>	<p>No</p>
<p>NP_624974 secreted protein [Streptomyces coelicolor A3(2)]</p> <p>JO-134</p>		<p>8 VWAALTLVVLGATG A 22</p>	<p>No</p>	<p>VWAALLVLGAGA 12</p>	<p>No</p>	<p>VWAALPLVLP 10</p>	<p>No</p>
<p>NP_733662 secreted protein [Streptomyces coelicolor A3(2)]</p> <p>JO-135</p>		<p>3 WGPVVMITAFALA VGSQGAVALP GAP AKA 39</p>	<p>No</p>	<p>AFALAVGGAAVALP GAFAA 19</p>	<p>No</p>	<p>AAVALPAAAP 10</p>	<p>No</p>

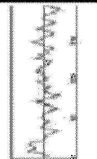
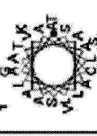

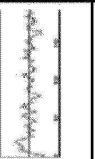
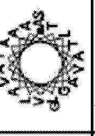
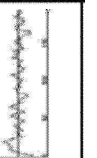
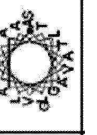
도면11a

#	Origin	Hydropathy	HRSS (Candidate Domain)	Helix	Preliminary modified Sequences	Helix	finally modified Sequences	Helix
JO-143	NP_636806secreted protein (Streptomyces cesicolor AS3.2)		7 VFALLFLAVLGVY ATYKAVGA 29		VFALLFLAVLGVY VAVGA 20		ALLPLLAVLP 11	
JO-144	NP_63756putative secreted protein (Streptomyces cesicolor AS3.2)		9 QALMAIVSVLAAG VTTLGV 28		ALMAIVSVLAAGVL GV 16		AIAYPVLAAAP 10	No
JO-145	NP_003492 Homo sapiens elastin (supravascular aortic stenosis)		6 AAAPRPGVLLLLL 18	No	AAAPRPGVLLLLL 12	No	AAAPVLLLLL 10	

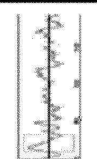
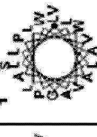
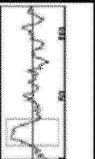
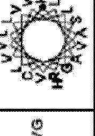


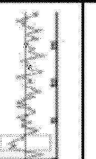
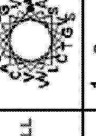
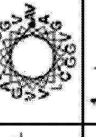
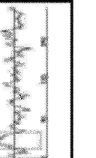
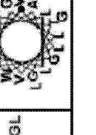

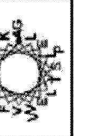
도면11b

NP_635660secreted sugar binding protein [Streptomyces coelicolor A3(2)]		6 AAAVGAVTMSLALA ATACGGG 26		AAVGVAVMLALAAA CGGG 18		AAAVVAVLALAP 11	No
CAS56129putative secreted protein [Streptomyces coelicolor A3(2)]		10 AALAALVVAAGSLV TAGAA 28		AALAALVVAAGLVA GAA 17		AALAALVVAAP 11	No
NP_635105 secreted outer- smiling protein [Streptomyces coelicolor A3(2)]		11 AALAAVTSLAALATA CGG 28		AALAAVLALAAACG G 15	No	AALAAVPLALAP 12	No

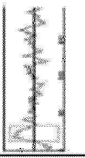
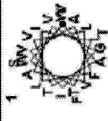
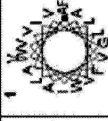
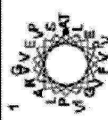
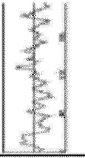
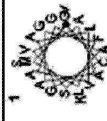


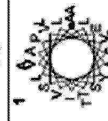
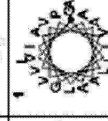
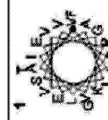
도면11c

NP_733575 secreted sugar-binding protein [Streptomyces coelicolor A3(2)]		AALVAASASLALL ATACTG		AALVAASALALLAA CG 16		ALVAAPALALLP 13	No
NP_630126 secreted chitinase (secreted protein) [Streptomyces coelicolor A3(2)]		AALTAATTTVAAG LAL 25		AALAAVAAVGLAL 14	No	AALPAAP 8	No
NP_630126 secreted chitinase (secreted protein) [Streptomyces coelicolor A3(2)]		AALTAATTTVAAG LAL 25		AALAAVAAVGLAL 14	No	AAAPVAAP 9	No

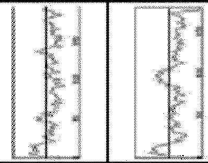
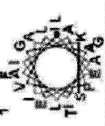




도면 11d

NP_672425 secretory protein LOC348174 [Homo sapiens]		12 HLLAVLLALLGTAW AEVWPPQLQ 34	No	LLAVLLALLGAWAV WPPL 18		LLAVLLALLP 10	No
NP_630107 secreted protein [Streptomyces coelicolor A3(2)]		12 HVRSLVLLVAVVG LLCFARRE 34		VVLLLVAVWGLLC VFAA 18		VLLLVAVVP 10	
NP_713268 peptide-anchoring transport protein [Streptomyces coelicolor A3(2)]		13 ALVVGACAAYGVLL SGCTGGVS 34		ALVVGACAAYGVLL GCGGV 18		ALVWPAVP 9	No
NP_629904 secreted protein [Streptomyces coelicolor A3(2)]		13 AVQGTVAGAVVLGL LLVWLLPLG 35		AVGVAGAVLGLLL WVLLPL 26		AVVFLLLP 9	


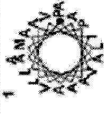
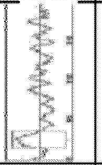
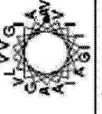
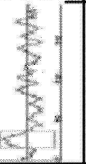
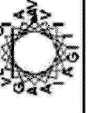
도면 1ma

#	Origin	Hydropathy	HRSS (Candidate Domain)	Helix	Preliminarily modified Sequences	Helix	finally modified Sequences	Helix
JO-156	YP_177883 MCE- FAMILY PROTEIN MCE3A (Mycobacterium tuberculosis H37Rv).		13 AWWTLILFAVIGVAV LVTAVSFT 38		AWWTLILFAVIGVAVL VAVF 19		AVIPVAVLVP 10	
JO-157	CAA15627 putative secreted source binding protein (Streptomyces cesicolor A3(2)).		9 GMLFGAAAVSAGAV LAGC 28		GMLFGAAAVAGAVL AG 16		AAAVPAAVLAP 11	No
JO-158	NP_639884 putative large secreted protein (Streptomyces cesicolor A3(2)).		10 GVAVTVSYLAISLL SEPVAATGLAL 38		GVAVVLAAILLPVAA AGLAL 20		VAVPVVLAAILP 11	

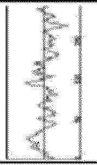

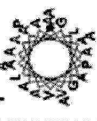
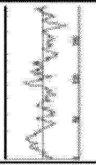


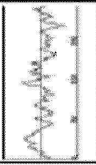
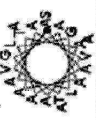

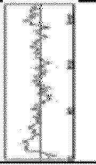


도면 1mb

JO-159	P24327 Foldsse protein p18A precursor.		4 IAAAIATTSILAL 17	No	IAAAIILAL 11	No	IAAAPAILAL 12		No
JO-160	CA834803 putative membrane lipoprotein (Neisseria meningitidis Z2491)		4 IASALATFALAAC 18	No	IAALIAFALAAC 19	No	ALIAFALAAP 10		No
JO-161	NP_633663putidane large secreted protein (Streptomyces cesicolor ATCC)		11 ILRAGFAAIALVAMA LTQVELAPHAVAAA 39		PASALVAMALVLPAP AVAAA 20		AAALVAPAL 10		No

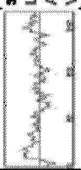

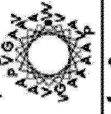

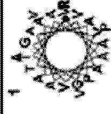
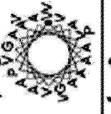

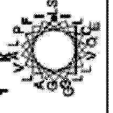
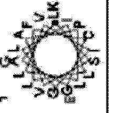
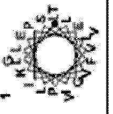
도면 1mc

NP_633963:putative large secreted protein [Streptomyces coelicolor A3(2)].		11 ILRAGPAAALVAMA LTQVELAPHAFAAA 38	1 L G V V V E L A A A P P I I L K L W A	PAQALVAMALVLP AVAAA 20		LAFVAAAAP 9	No
NP_627362:secreted protein [Streptomyces coelicolor A3(2)].		15 NAQVAIVSVAVAALI IGGGW 37	1 W V G G V L A A I K S I	AVAVVAVVAALIGG GWW 20		VAVVPAVVAALII 15	
NP_627363:secreted protein [Streptomyces coelicolor A3(2)].		15 NAQVAIVSVAVAALI IGGGW 37	1 W V G S L G A A I K S I	AVAVVAVVAALIGG GWW 20		AVVAALII 9	

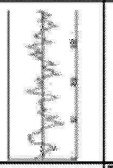
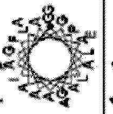
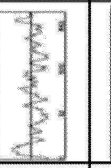
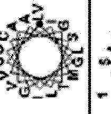
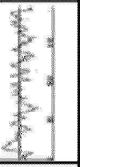
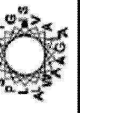
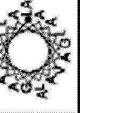
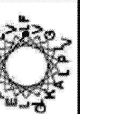
도면 1md

NP_624525secreted protein [Streptomyces coelicolor A3(2)] JO-165		14 LAAVTATAAGAVA ALGLAASPAAAP 40		LAAVAAAAGAVAAL GLAAPAAAP 24		LAAVPAAAP 3	No
NP_624525secreted protein [Streptomyces coelicolor A3(2)] JO-166		14 LAAVTATAAGAVA ALGLAASPAAAP 40		LAAVAAAAGAVAAL GLAAPAAAP 24		AVAALPLAAP 10	No
NP_624525secreted protein [Streptomyces coelicolor A3(2)] JO-167		14 LAAVTATAAGAVA ALGLAASPAAAP 40		LAAVAAAAGAVAAL GLAAPAAAP 24		LAAPAAAP 3	No
NP_625936secreted protein [Streptomyces coelicolor A3(2)] JO-168		9 LAAVTGVAAAVGV AATPAAAAARAVVP VPL 39		LAAVVGVAAAVGV APAAAAAVPVVPL 26		LAAVVVAAVP 12	No

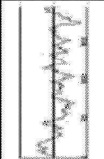

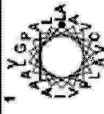
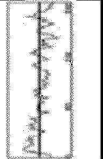
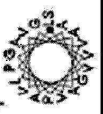
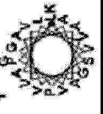
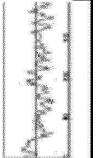
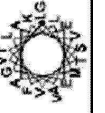
도면 1a

#	Origin	Hydropathy	HRSS (Candidate Domain)	Helix	Preliminary modified Sequences	Helix	finally modified Sequences	Helix
JO-169	NP_629363secreted protein [Streptomyces coelicolor A3(2)]		3 LAAVVTGVA ³ AAVGV AATPAAA ³⁹ RAVPVP VPL 39		LAAVVGVA ³ AAVGV APAAAA ²⁸ VPVPPL		VAAFAA ³ AGP 3	No
JO-170	NP_629363secreted protein [Streptomyces coelicolor A3(2)]		3 LAAVVTGVA ³ AAVGV AATPAAA ³⁹ RAVPVP VPL 39		LAAVVGVA ³ AAVGV APAAAA ²⁸ VPVPPL		AVFPVPL 8	No
JO-171	NP_065072 matrix 2 isoform b precursor [Homo sapiens]		5 LAGCFLLILGQVLL PA 21		LAGCFLLILGQVLLPA 16		LLILPILLP 10	

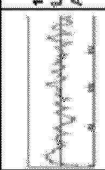
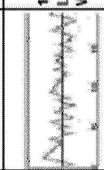
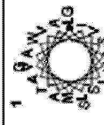
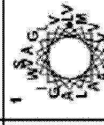
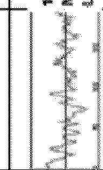

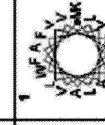
도면 1nb

<p>CA594827 putative secreted protein [Streptomyces coelicolor A3(2)]</p> <p>JO-172</p>		<p>20 LGAGALALGGALAIAPFAAGPAEV 44</p> 	<p>ALAIPTAAGPAAV 14</p>	<p>No</p>	<p>ALALPALAIAP 11</p>	<p>No</p>
<p>NP_624364 secreted protein [Streptomyces coelicolor A3(2)]</p> <p>JO-173</p>		<p>4 LGLSAYMISILAVTGGCGG 21</p> 	<p>LGLAYMILAVGCGG</p>	<p>No</p>	<p>AVIFLAVP 9</p>	<p>No</p>
<p>NP_732562 putative functional secreted protein [Streptomyces coelicolor A3(2)]</p> <p>JO-174</p>		<p>13 LILLTSAVALGGAWAAPASSAAPA 37</p> 	<p>LILLVALGGAWAPAAAPA 21</p>		<p>LILLPAVALP 11</p>	

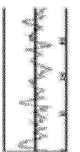
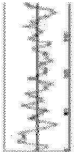


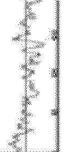


도면1nc

<p>CAE4E830 putative secreted protein [Streptomyces coelicolor A3(2)]</p> <p>JO-175</p>		<p>6 LRLVCTAALTAGNVL APVPAAA 27</p>		<p>LLVCAALAGNVLAPV PAAA 19</p>		<p>IVLAPVPAAA 10</p>	<p>No</p>
<p>NP_627567 secreted protein [Streptomyces coelicolor A3(2)]</p> <p>JO-176</p>		<p>6 LPVVVYGAGPVGLA AAA 22</p>		<p>LPVVVYGAGPVLAA AAA 16</p>		<p>WVVVPLAABA 11</p>	<p>No</p>
<p>F06832 Bacilloysin precursor</p> <p>JO-177</p>		<p>7 LSVAVAAAFMSLTI 20</p>	<p>No</p>	<p>LVAVAAIMLI 9</p>		<p>LVAVAAP 7</p>	<p>No</p>

도면 1nd

NP_625986 secreted hydrolase [Streptomyces coelicolor A3(2)]		13 LVLAAGAALGAAT A 27	No	LVLVLAAGAALGAAA 13	No	LVLAAFAALP 10	No
NP_625987 secreted protein [Streptomyces coelicolor A3(2)]		10 LVLSYTLIAAAASV WAVGGSV 31		LVLVLIAMAAAVWA VGGV 18		LAPAAAAP 9	No
NP_443780 ADP- ribosyltransferase S precursor [Homo sapiens]		1 MALAALMIALGSLG L 15	No	MALAALMIALGLGL	No	ALAALPIALP 10	No
CAB64257 putative secreted protein [Neisseria meningitidis Z2491]		4 MFLSAVLLLSAAAQ TWWADTVF 25	No	MFLAVLLLAQAVWA VF 16		AVLLLPAAA 9	No

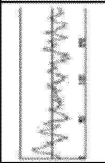
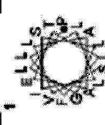


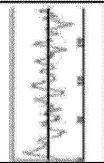
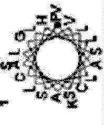
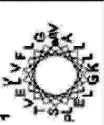
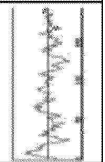
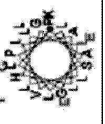
도면 10a

#	Origin	Hydropathy	HRSS (Candidate Domain)	Helix	Preliminary modified Sequences	Helix	finally modified Sequences	Helix
JO-182	PO634 Alkaline phosphatase precursor (Acpase).		5 IALALLP ¹² LPVTK 20	No	IALALLP ¹² FPV 12	No	I ¹ ALALLP ³ L 3	Helix
JO-183	NP_009933 peptidylprolyl isomerase B precursor (Homo sapiens).		3 MKVLLAAAL ²³ IGSVF FLLLP ²³ G 23		MVLLAAAL ¹⁹ IGVFFL LLPG 19		VLLAAAL ¹⁰ IP 10	Helix
JO-184	CAS7:256parative secreted protein. [Streptomyces coelicolor A1(2)].		1 MTAPAVL ²⁵ TPVWVIG AGPIGLAAAA 25		MAPAVL ²³ FPVWVIG GPIGLAAAA 23		APAVL ¹¹ FPVWV 11	No

도면1ob

<p>CA031847 possible secreted protein [Mycobacterium leprae].</p> <p>JO-185</p>	<p>13 MVVGLLYAALTTTP TAVA 31</p>	<p>16 MVVGLLYAALIPAVA</p>	<p>19 WGLLYAAL 3</p>	<p>22 VGLLYAAL 3</p>	<p>No</p>
<p>NP_628946 secreted protein [Streptomyces coelicolor A3(2)].</p> <p>JO-186</p>	<p>14 PAHAHAHAHAHAFL AAGFGVAVGEPAAP 42</p>	<p>16 PAAAAAHHAAAAFLA 16</p>	<p>19 FAATAA 11</p>	<p>22 AAAAAAPLAA 11</p>	<p>No</p>
<p>NP_059120 cat eye syndrome critical region protein 1 isoform a precursor [Homo sapiens].</p> <p>JO-187</p>	<p>10 PALCFLLAVAMSF FGSAL 28</p>	<p>16 PALCFLLAVAMFF GAL 17</p>	<p>19 LLAVALP 7</p>	<p>22 LLAVALP 7</p>	<p>No</p>

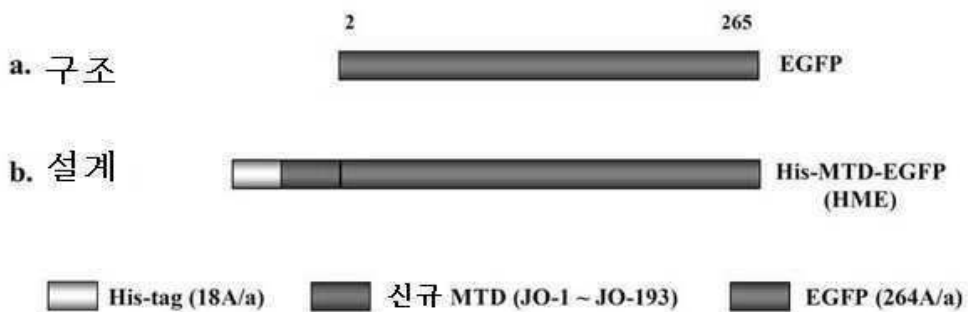
도면10c

NP_065515 Issue factor pathway inhibitor 2 (Homo sapiens).		3 PARPLGLSILLILFLT EAAL 21		PAPPLGILLILFLAAL 16		LILLPLAAL 10	
P97295cd86d frizzled-related protein 2 precursor (SFSP-2) (Secreted apoptosis-related protein 1)		5 PASILLILVLASHCC LGSA 22		PALLILVLACCLGA 14	No	ALLLIVLA8	
NP_071447 tubulininterstitial neoplasia antigen- like 1		5 PLGILLILFLAGHL AL 20		PLILLILFLAGLAL 14	No	LILLILPLA8	No

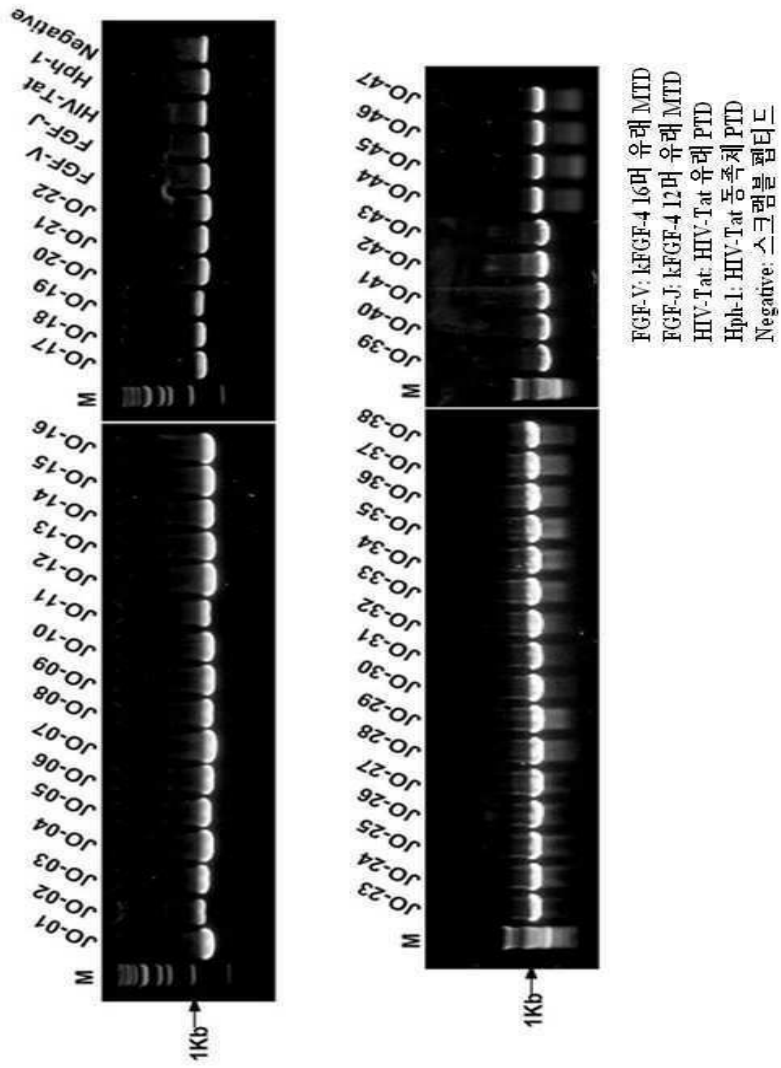
도면1od

NP_056322 epidermal growth factor-like protein 6 precursor [Homo sapiens]	NP_058013 secreted pentonin-binding protein [Streptomyces coelicolor A3(2)]	NP_058360 cathepsin H isoform 2 precursor [Homo sapiens]						
JO-181	JO-192	JO-193	PLPWSLALPILLISW VAGG 19	PLRRLFCGLLVLT LLI 21	WATLPLLCAMELCV 15	PLFWLALPILLIWWA GG 16	PLIALFCGLLVILLI 16	WALPLLCAALCV 12
2	4	2						
2	4	2	PLPWSLALPILLISW VAGG 19	PLRRLFCGLLVLT LLI 21	WATLPLLCAMELCV 15	PLFWLALPILLIWWA GG 16	PLIALFCGLLVILLI 16	WALPLLCAALCV 12
2	4	2						
2	4	2	PLPWSLALPILLISW VAGG 19	PLRRLFCGLLVLT LLI 21	WATLPLLCAMELCV 15	PLFWLALPILLIWWA GG 16	PLIALFCGLLVILLI 16	WALPLLCAALCV 12
2	4	2						
2	4	2	PLPWSLALPILLISW VAGG 19	PLRRLFCGLLVLT LLI 21	WATLPLLCAMELCV 15	PLFWLALPILLIWWA GG 16	PLIALFCGLLVILLI 16	WALPLLCAALCV 12

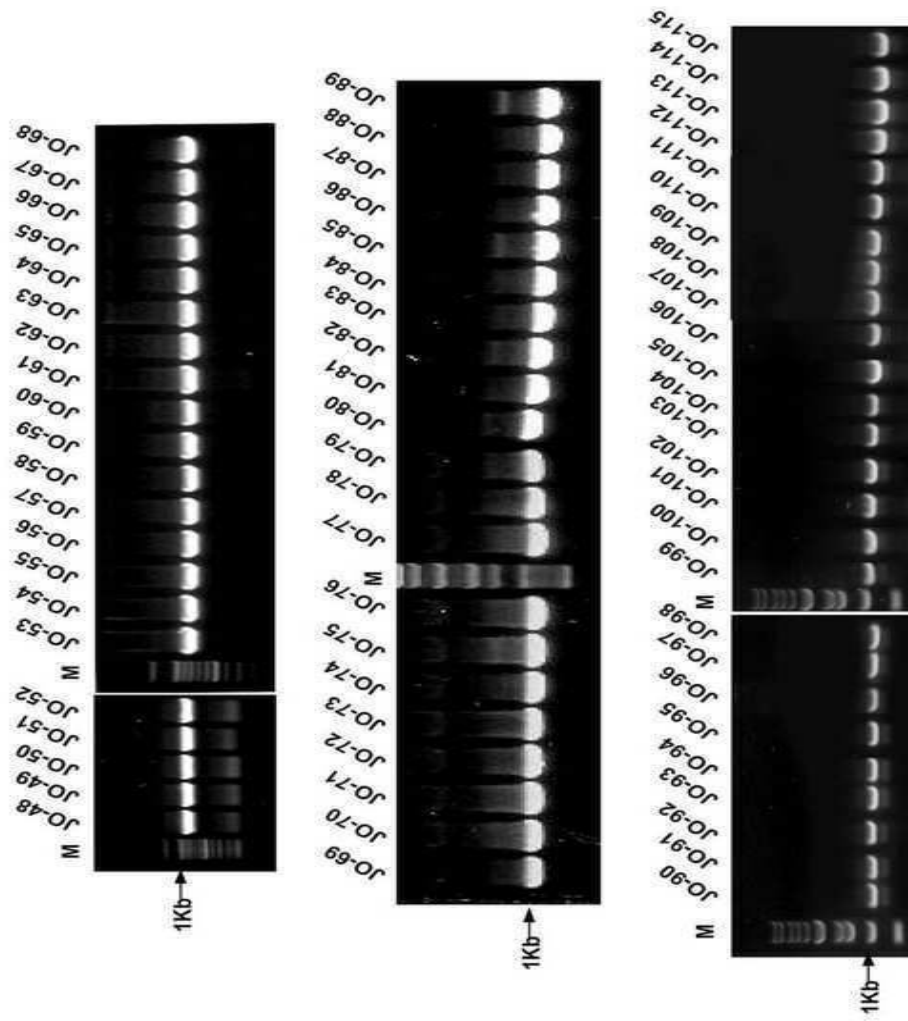
도면2



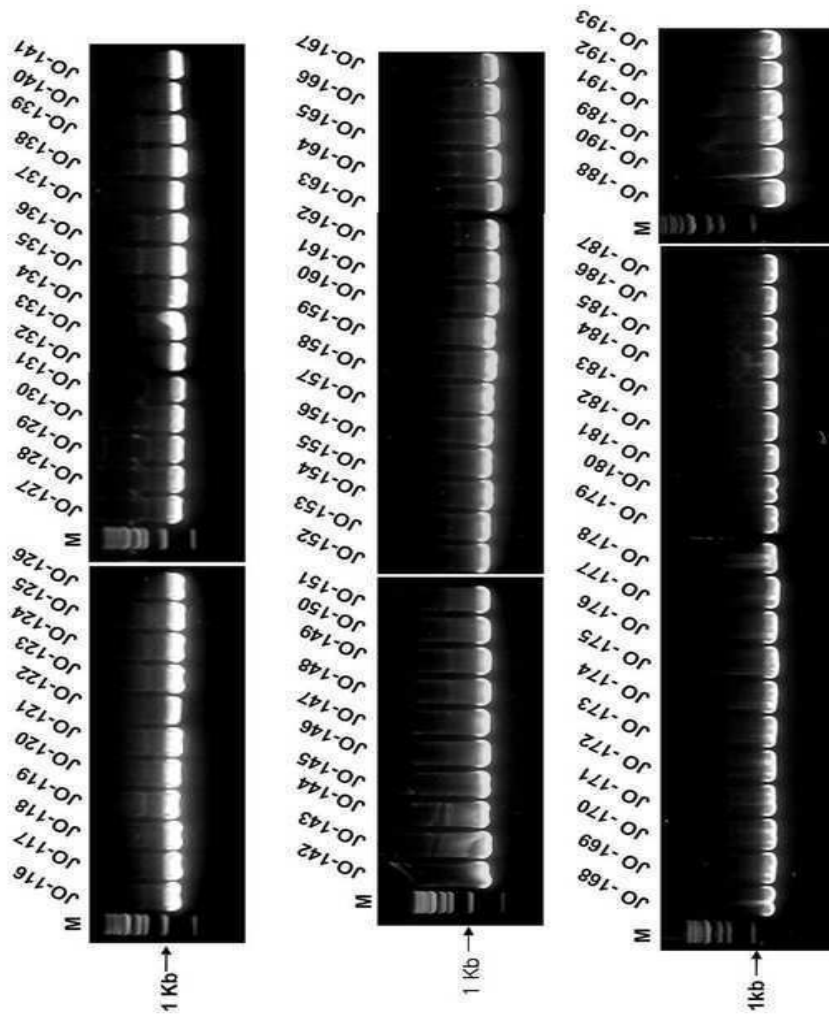
도면3a



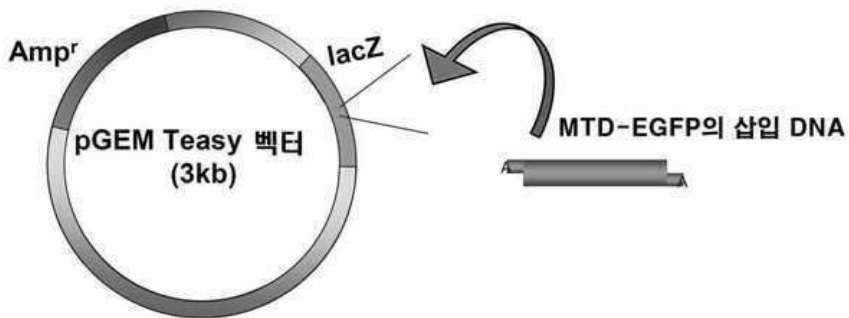
도면3b



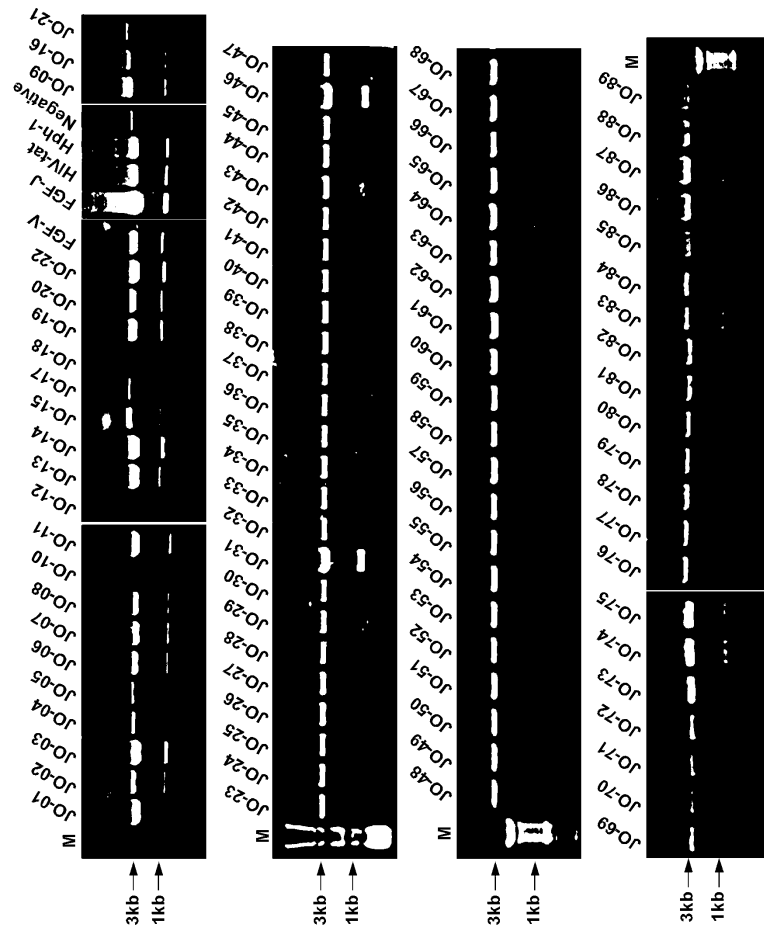
도면3c



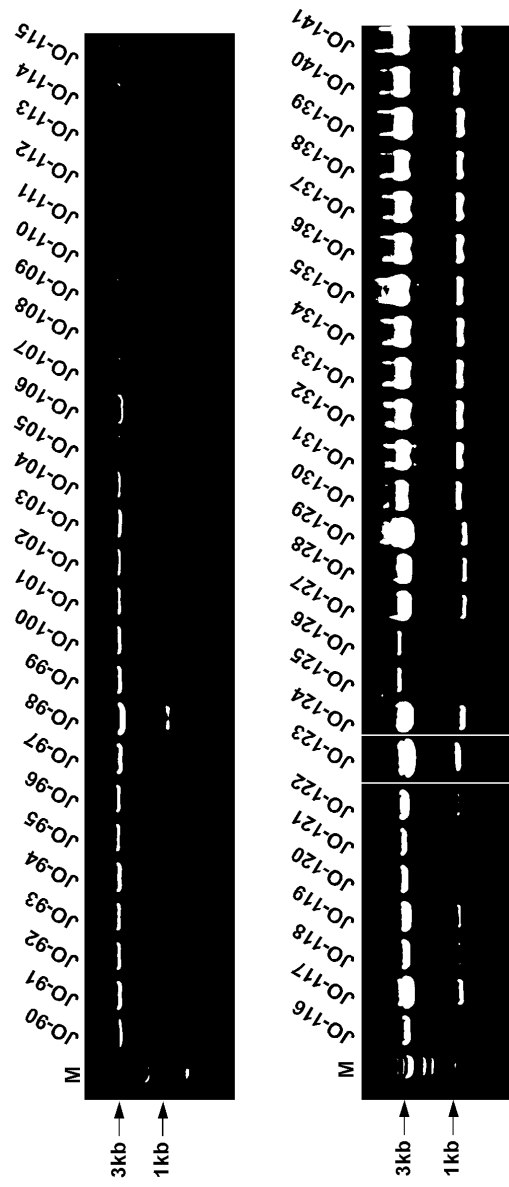
도면4a



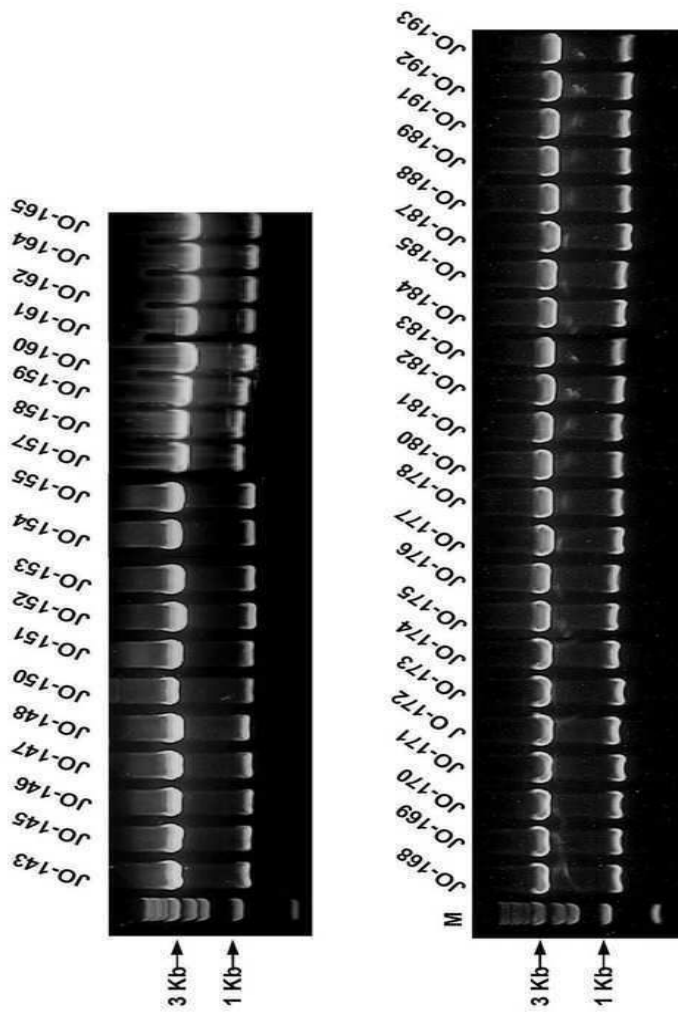
도면4b



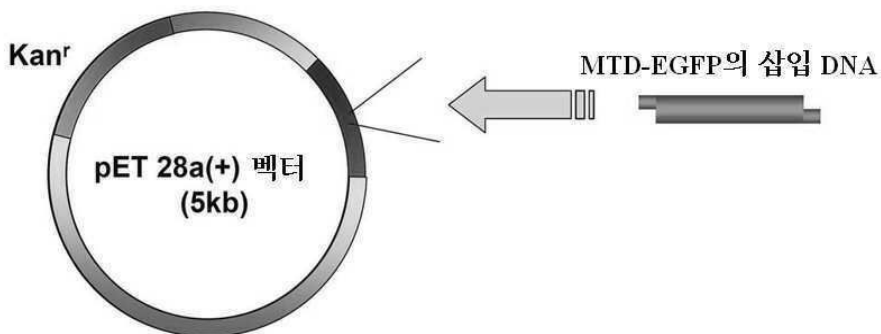
도면4c



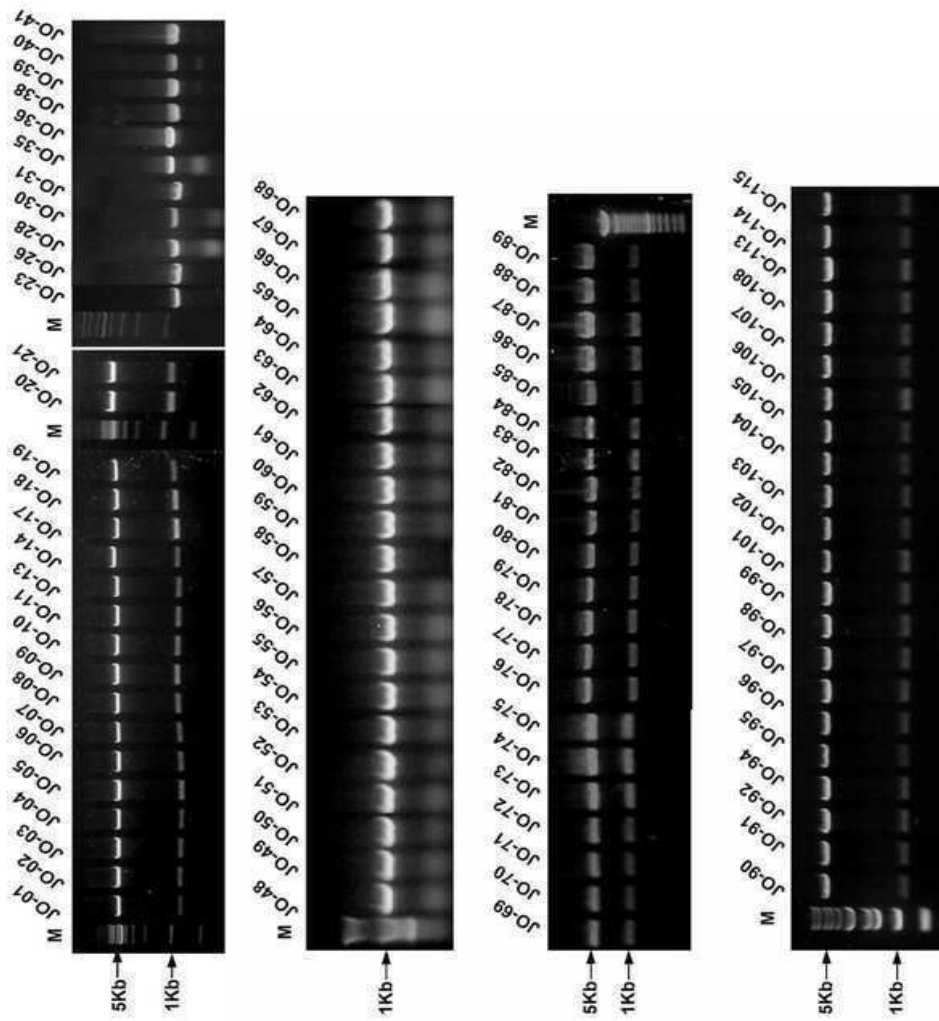
도면4d



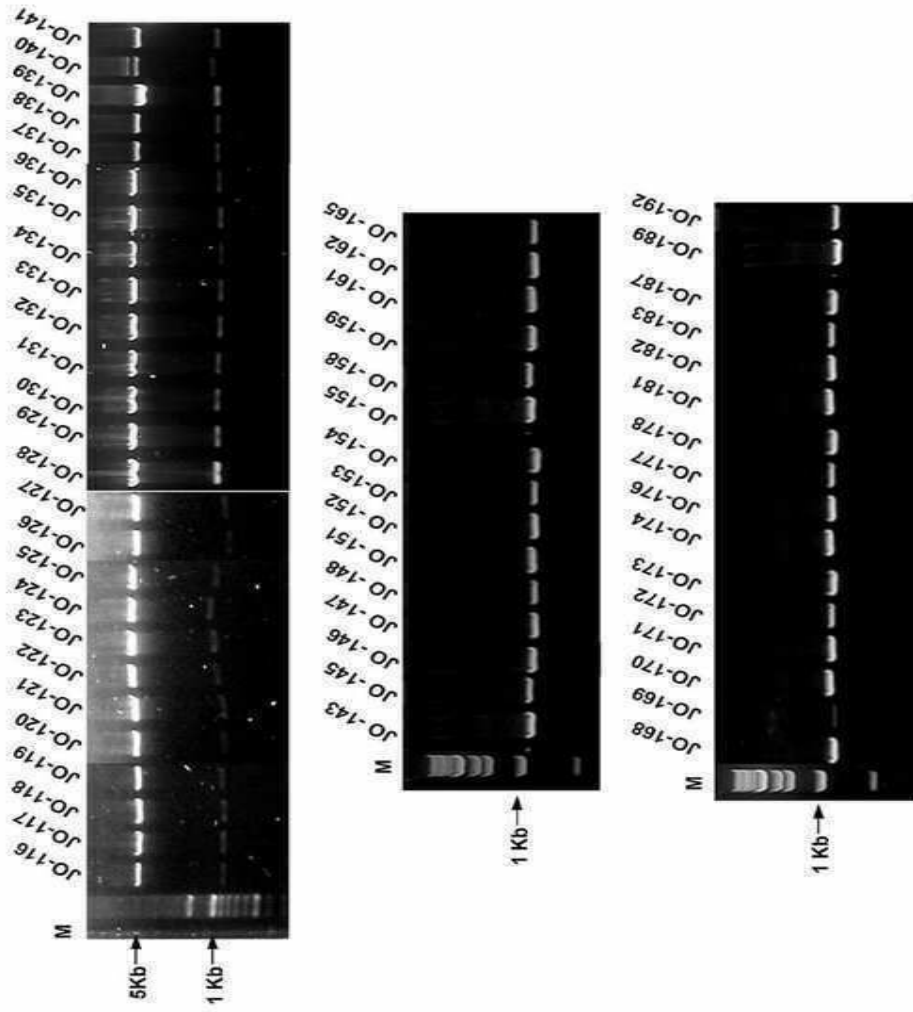
도면5a



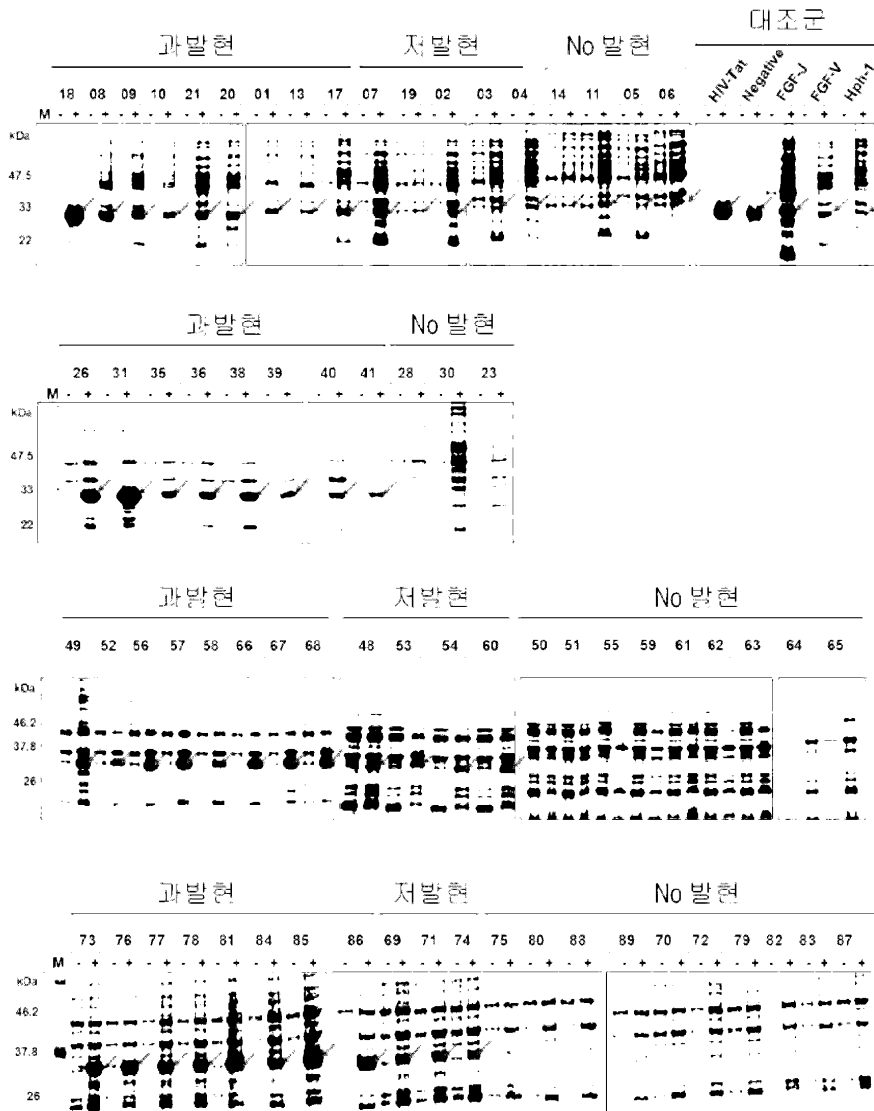
도면5b



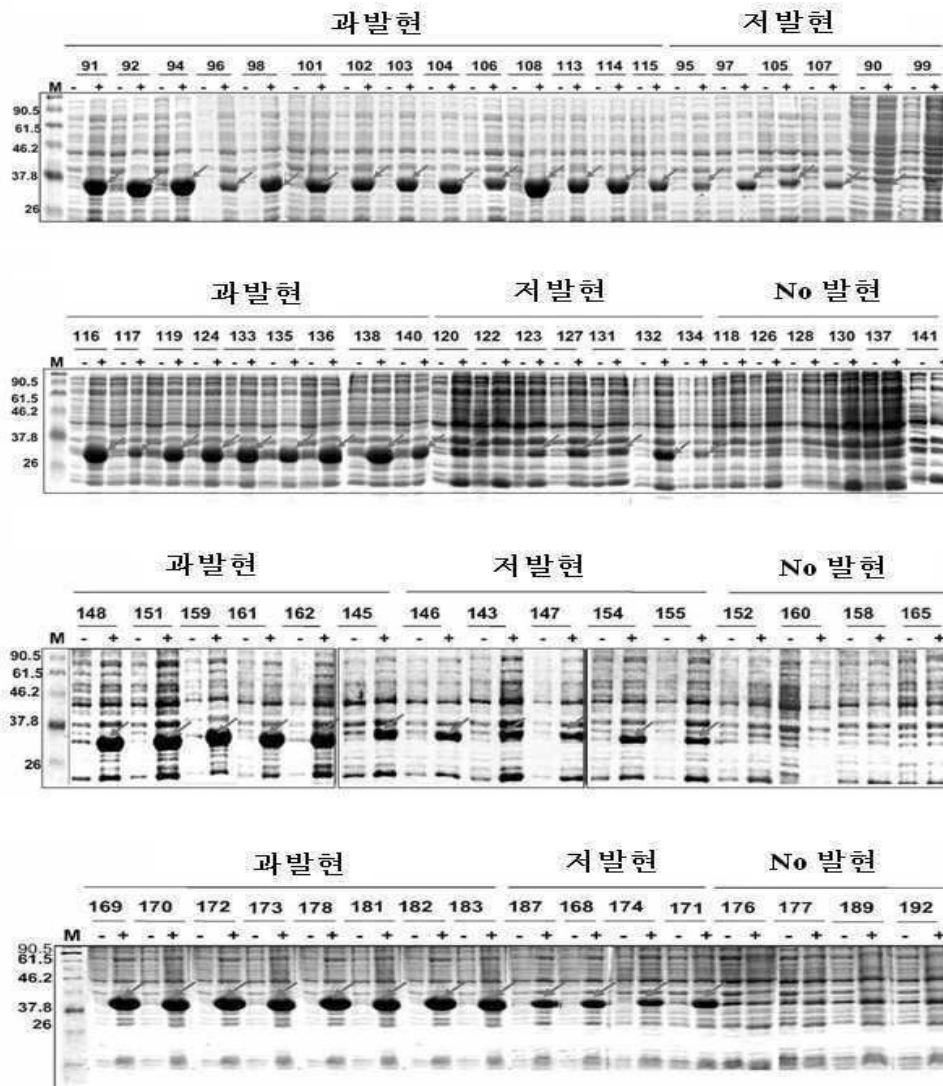
도면5c



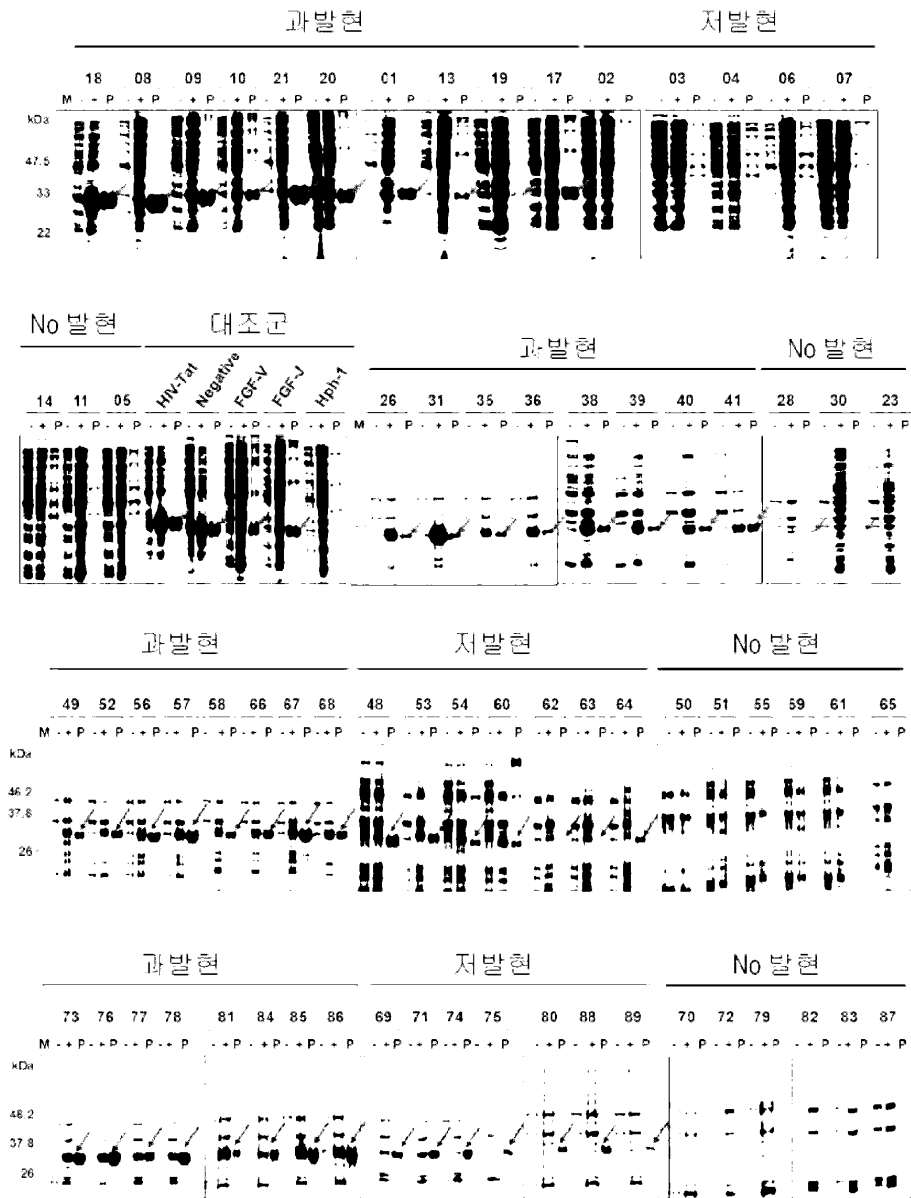
도면6a



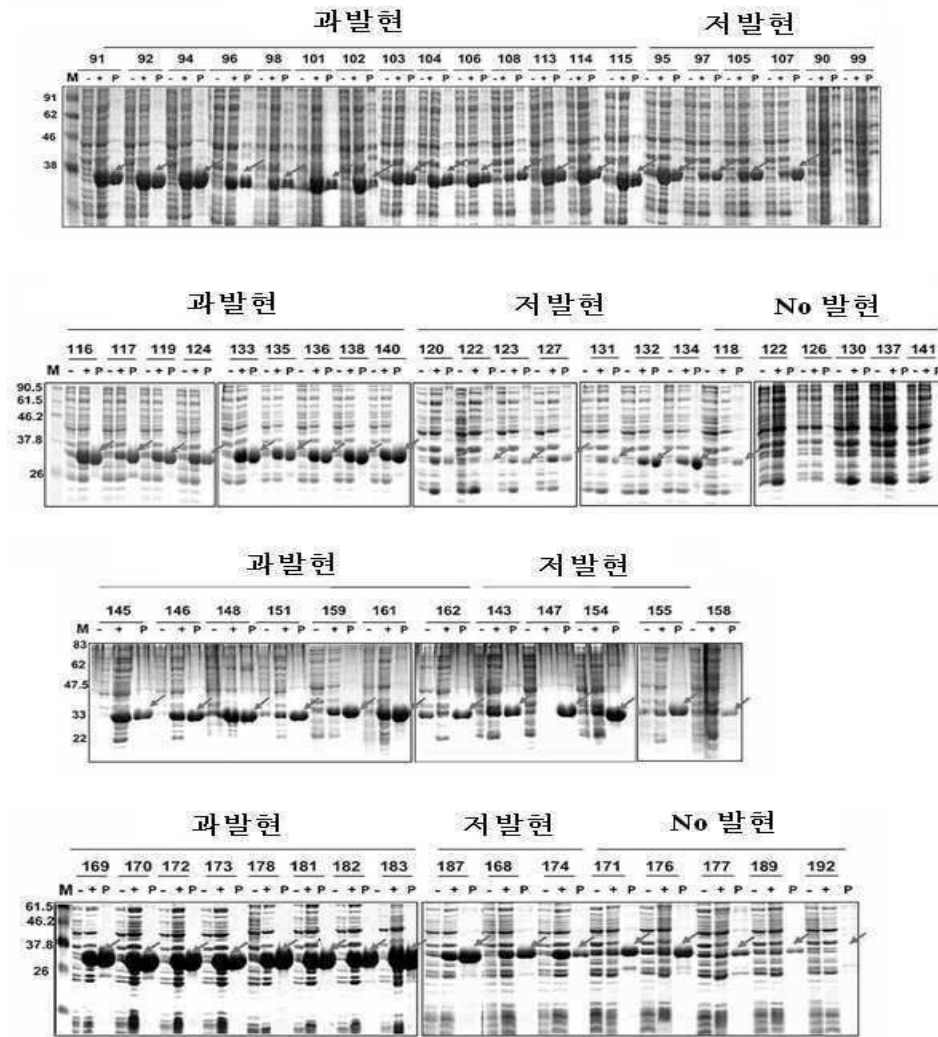
도면6b



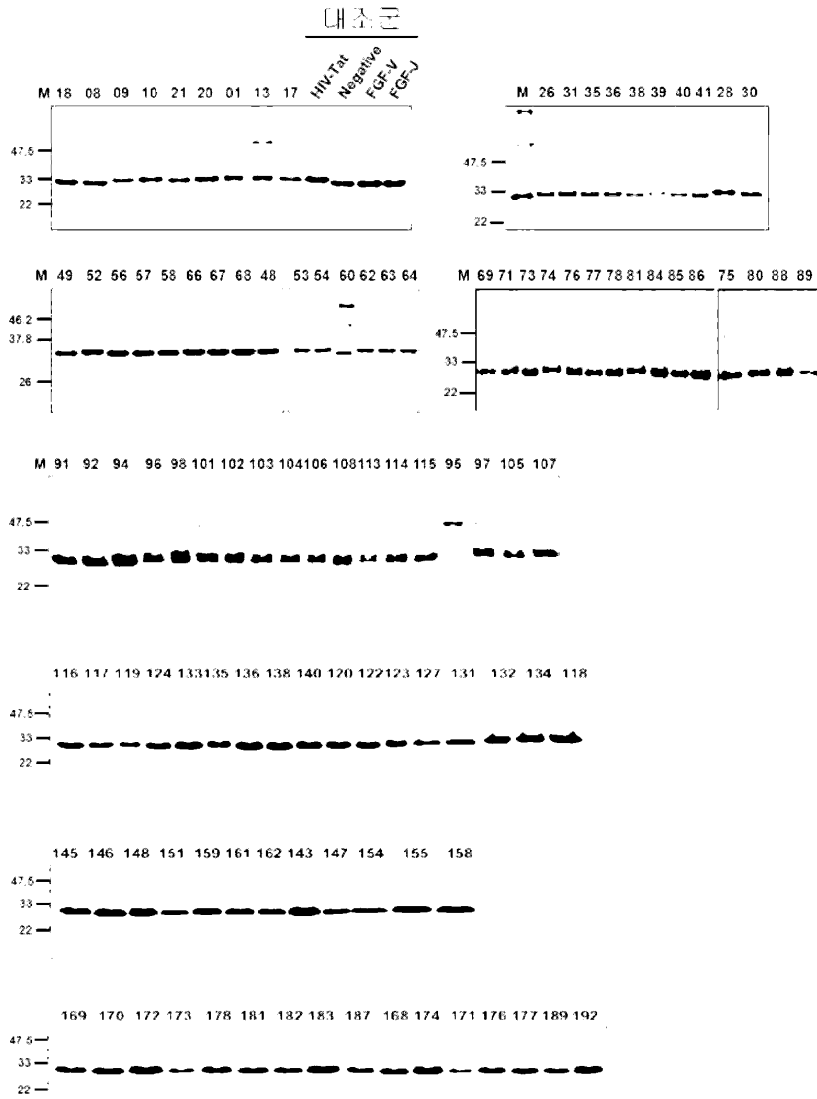
도면7a



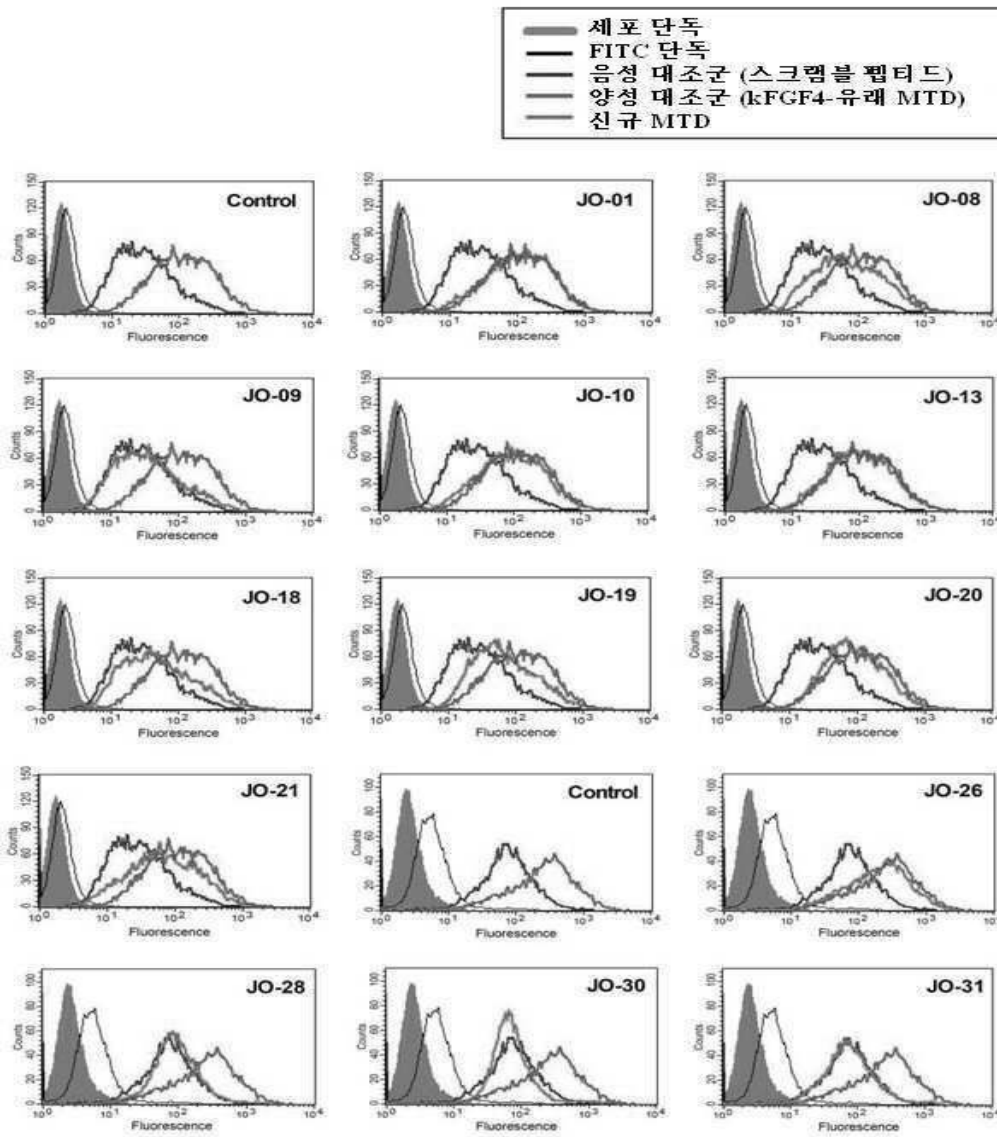
도면7b



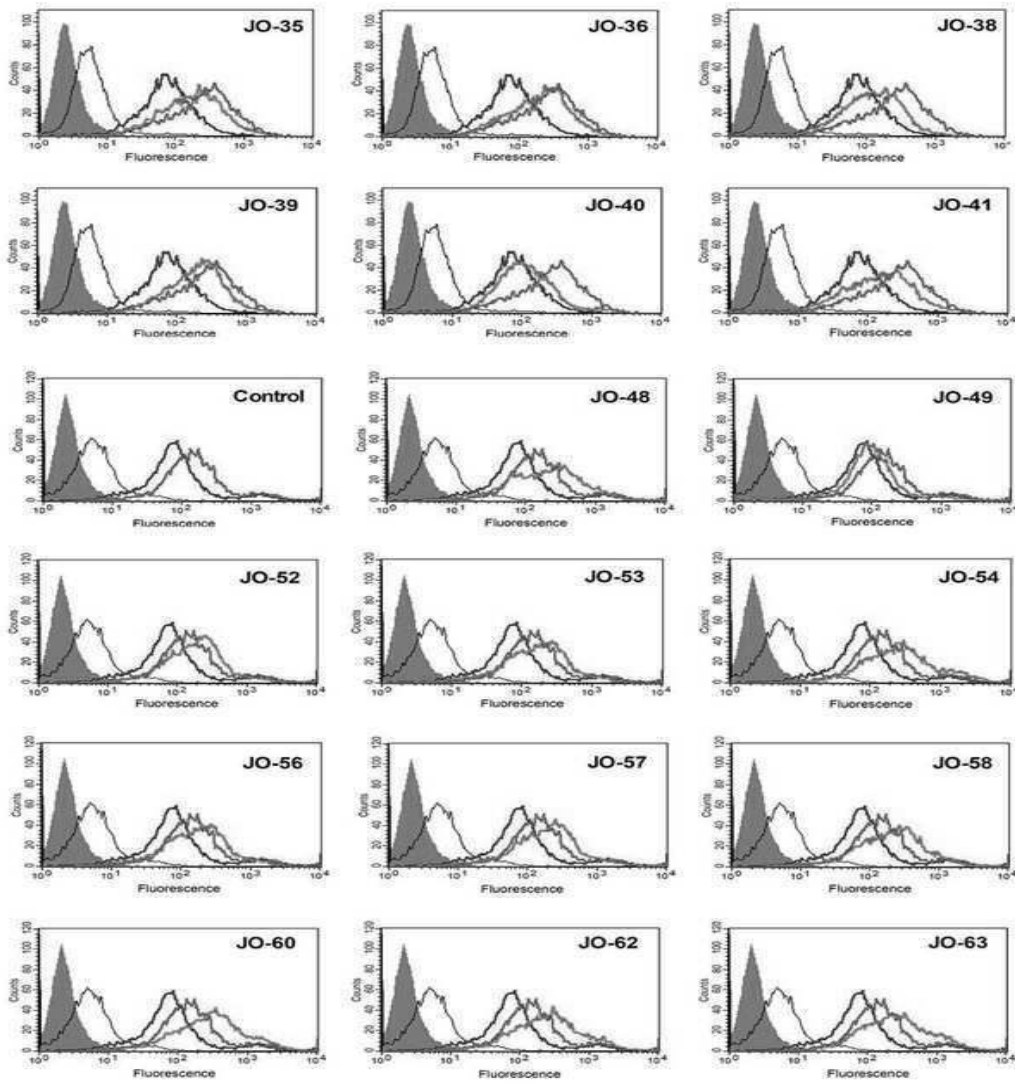
도면8



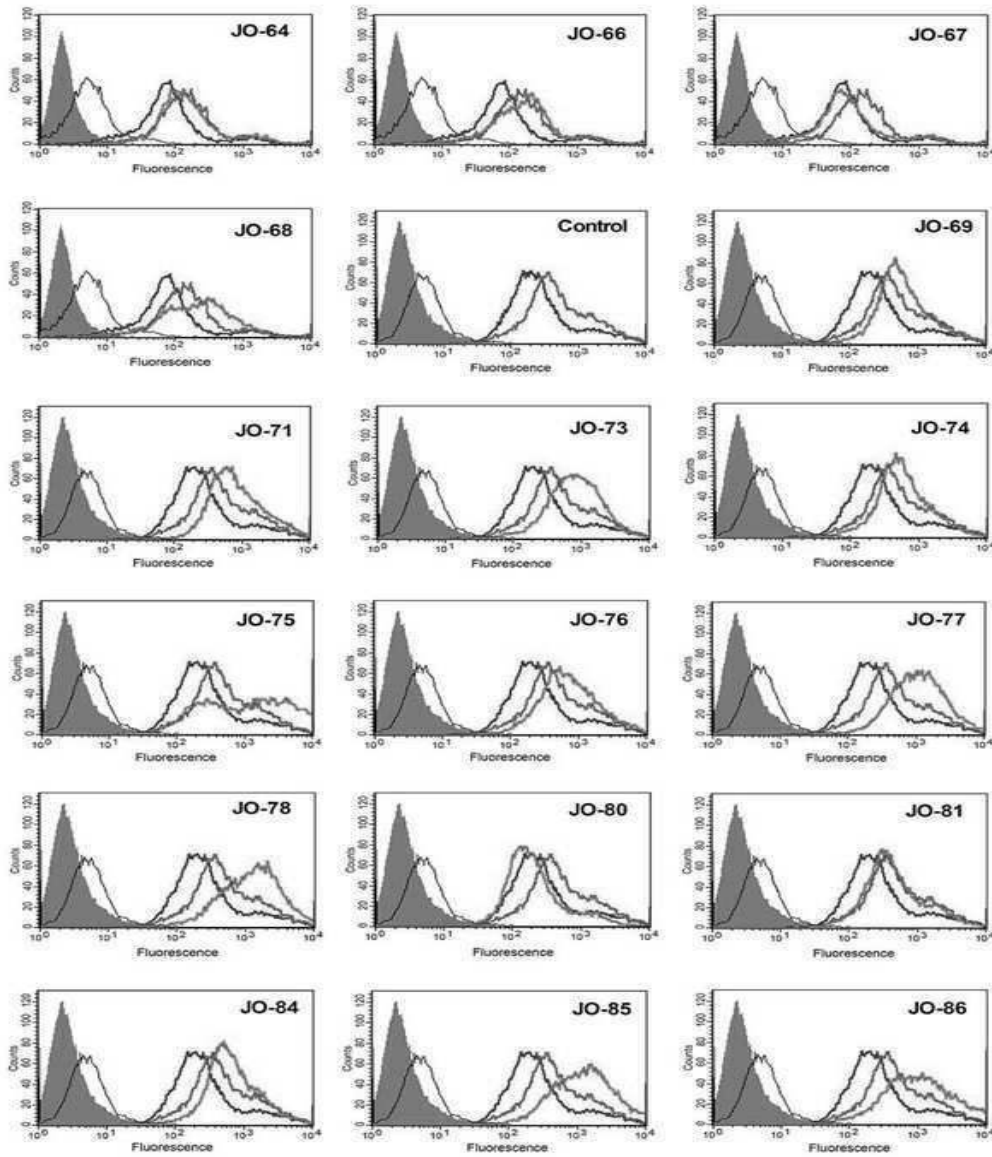
도면9a



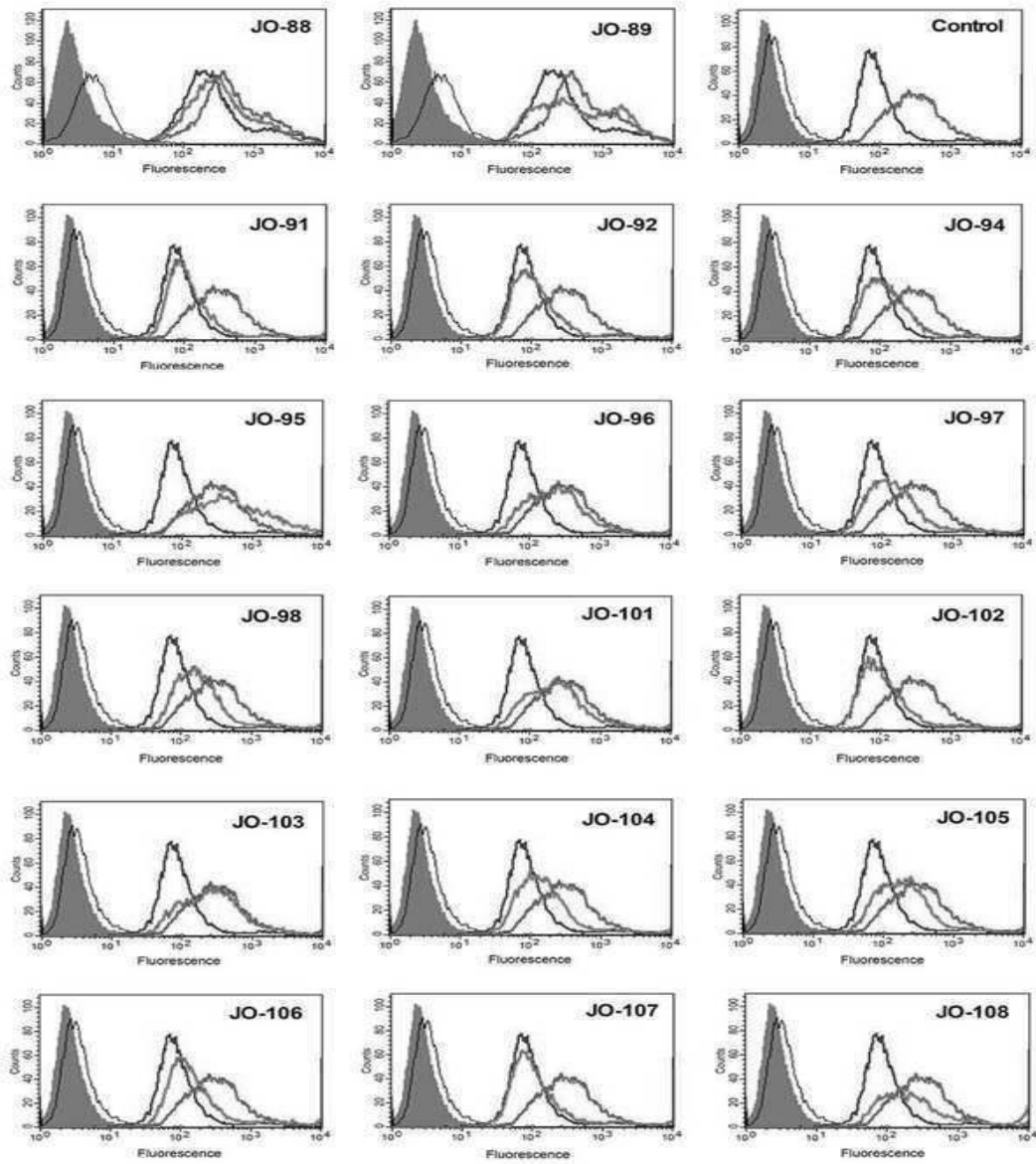
도면9b



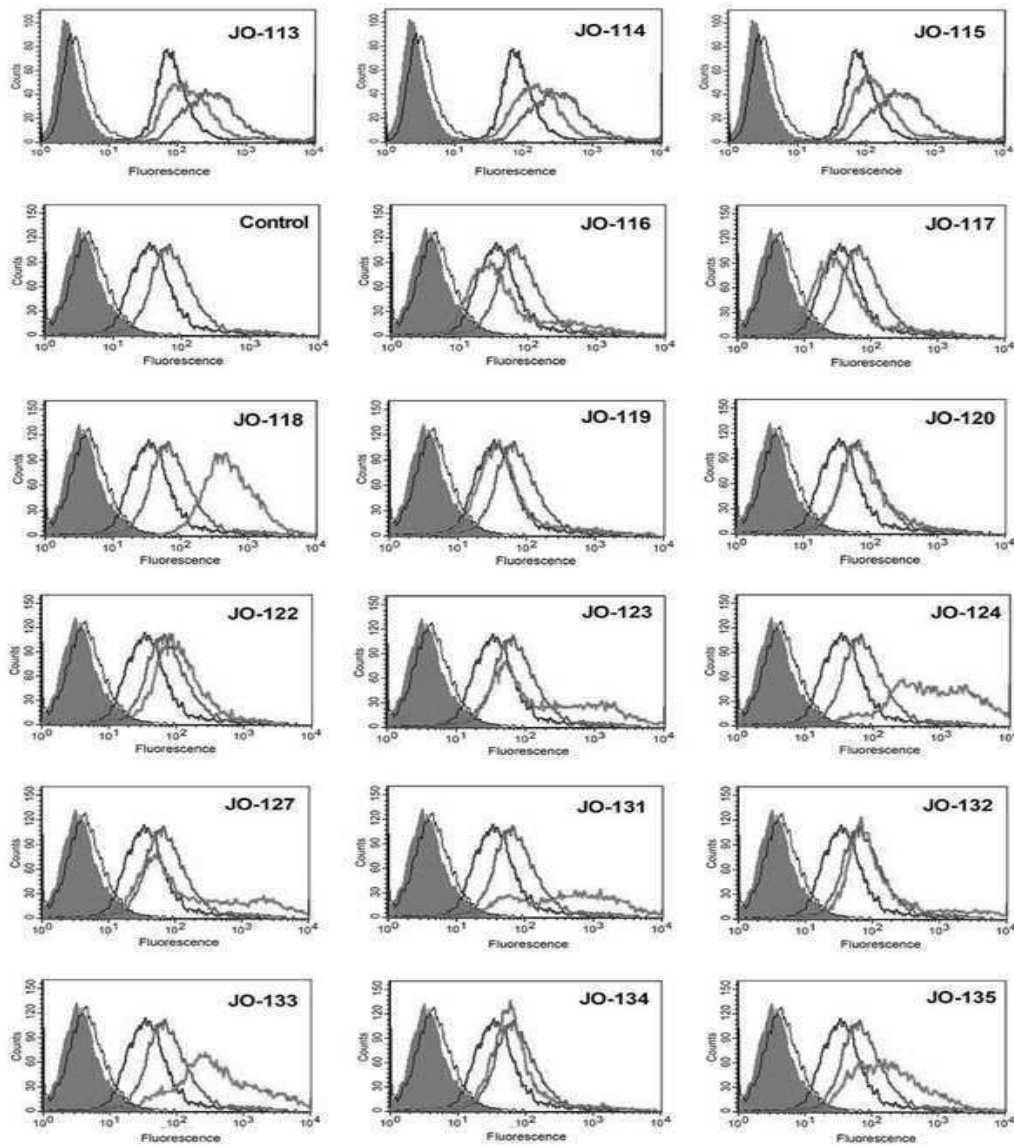
도면9c



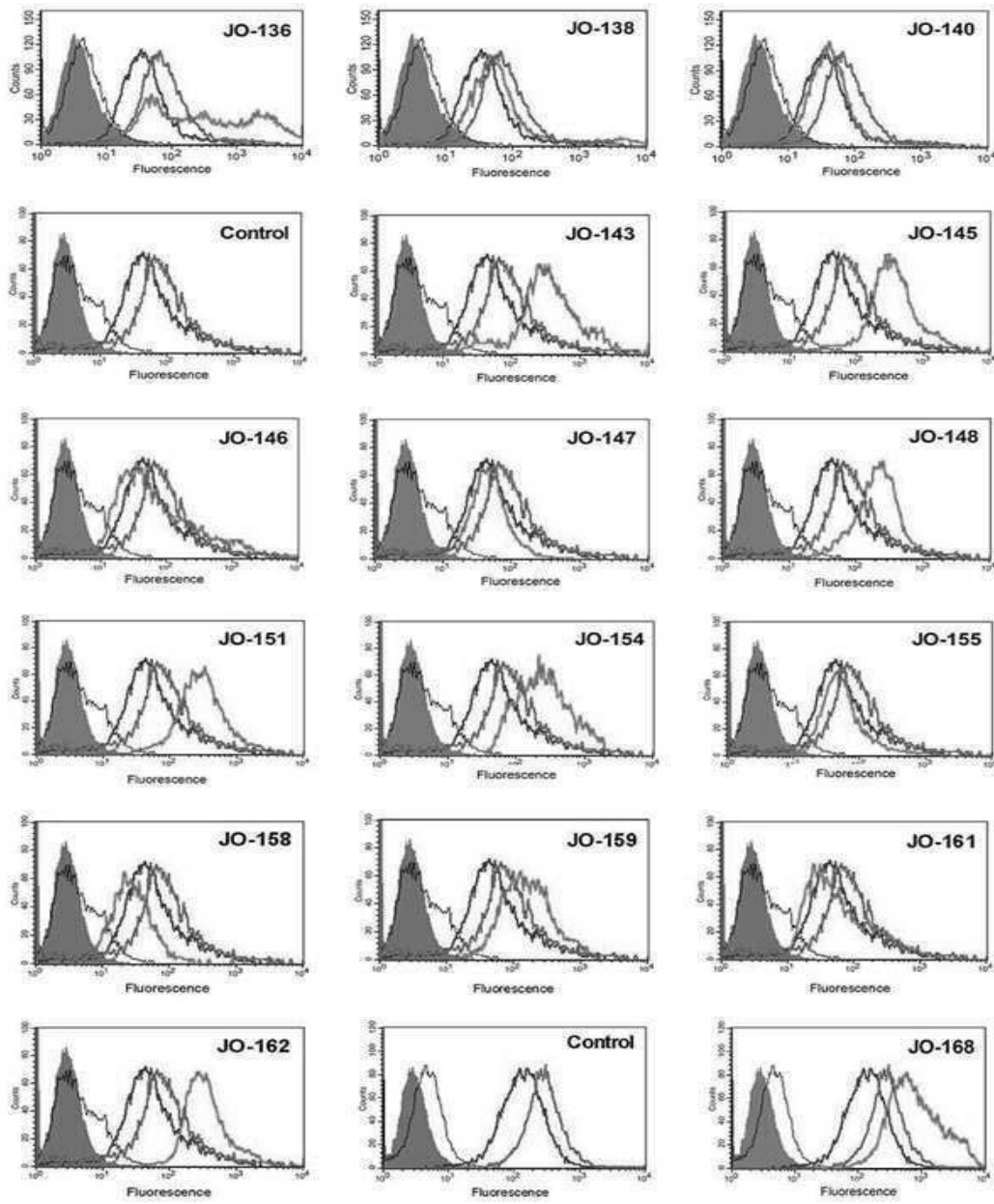
도면9d



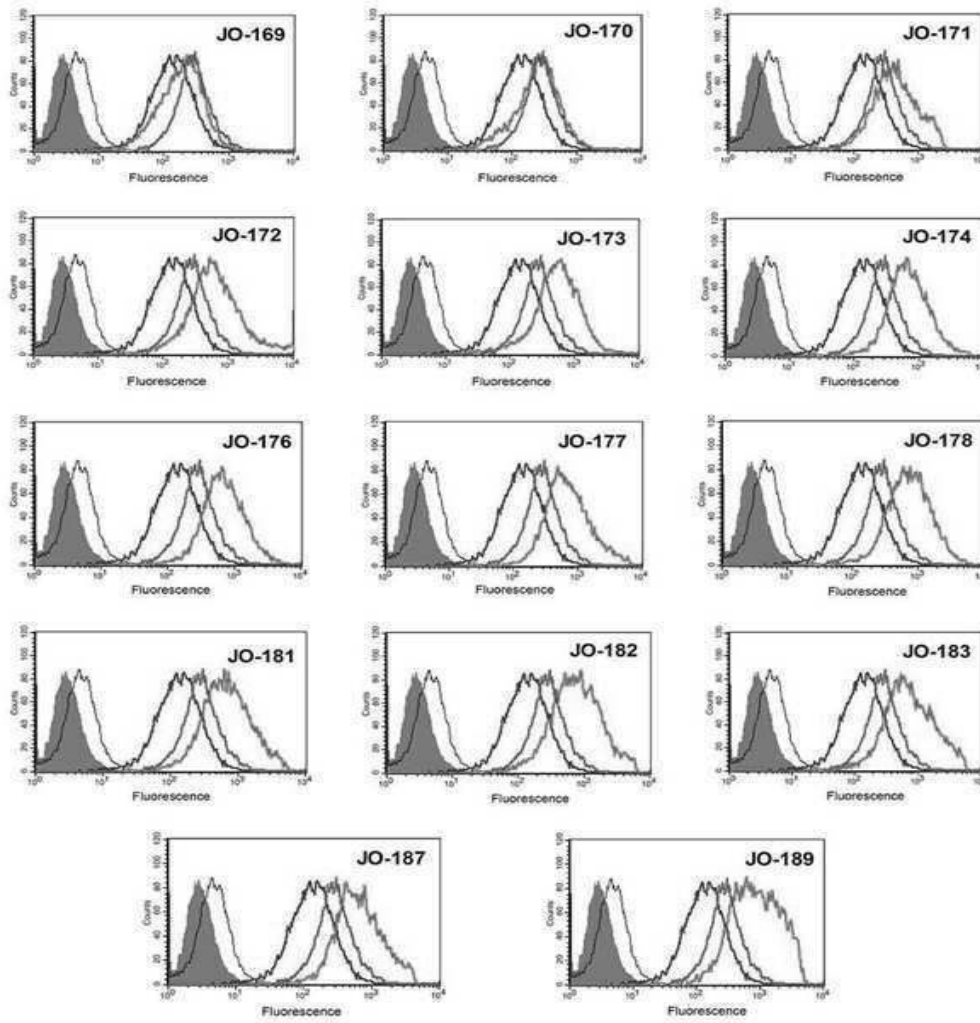
도면9e



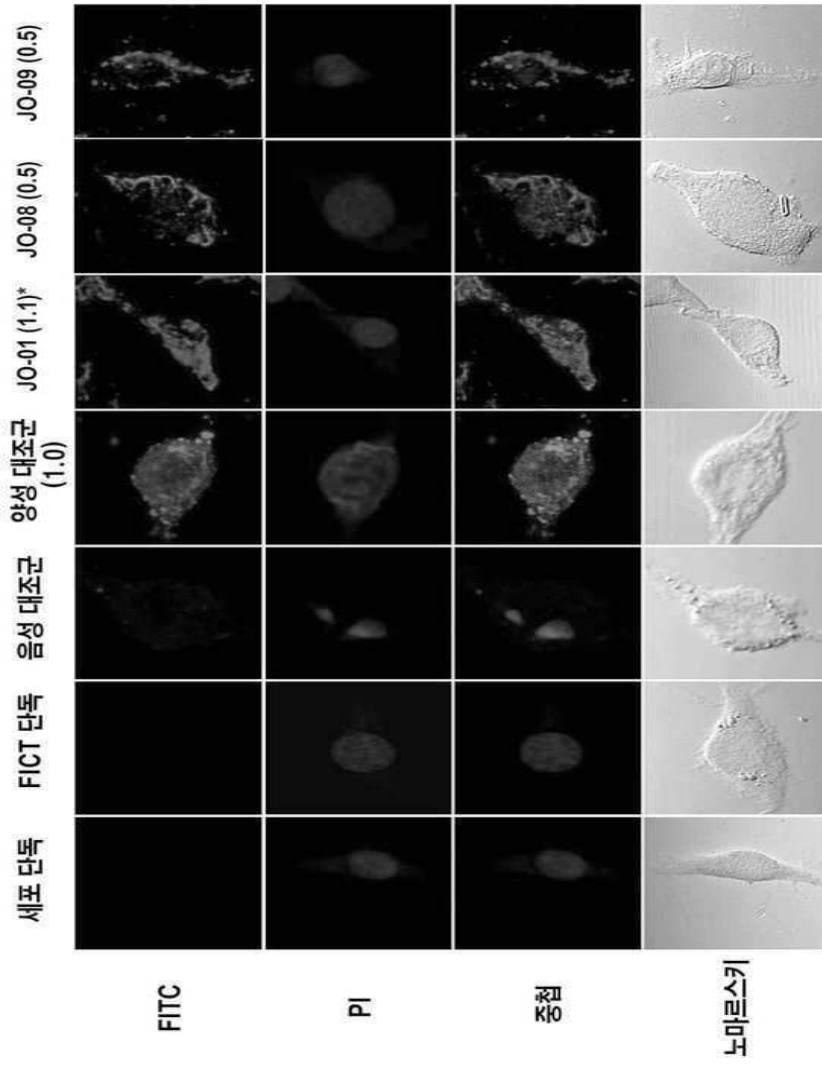
도면9f



도면9g

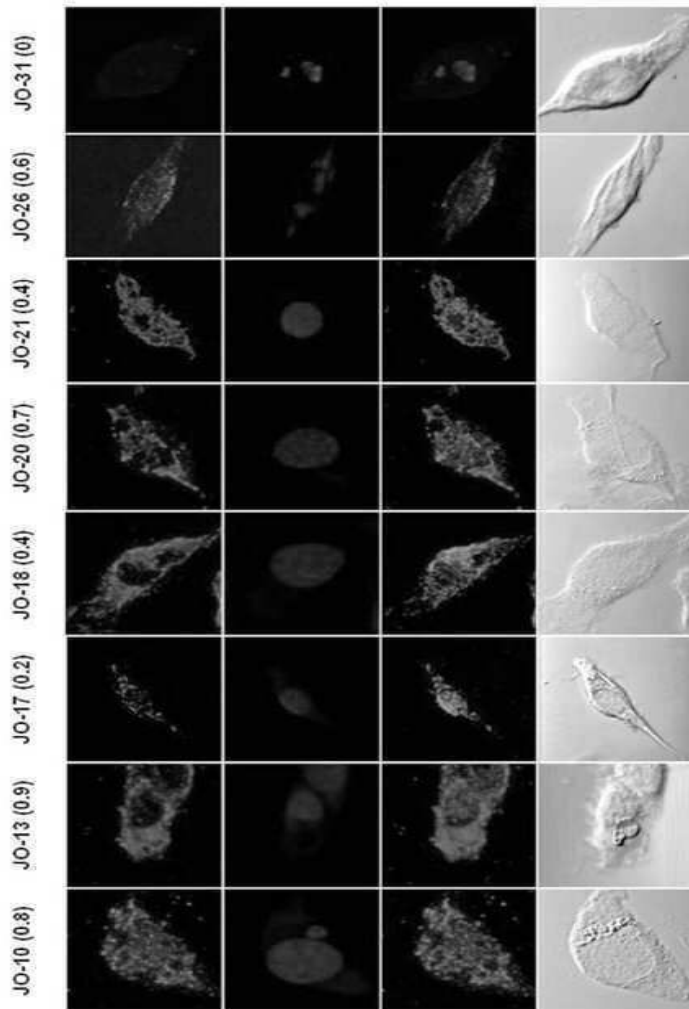


도면10a

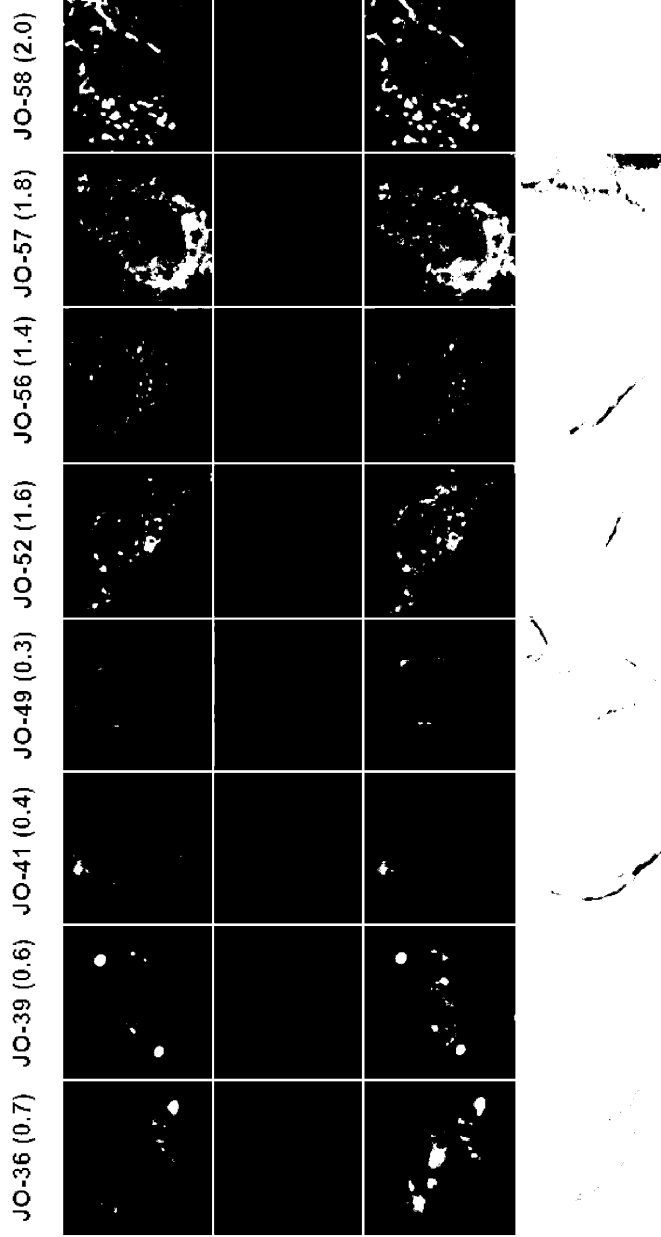


*: 양성 대조군에 대한 세포 투과성의 상대적인 비율(KGF4-유래 MTD)

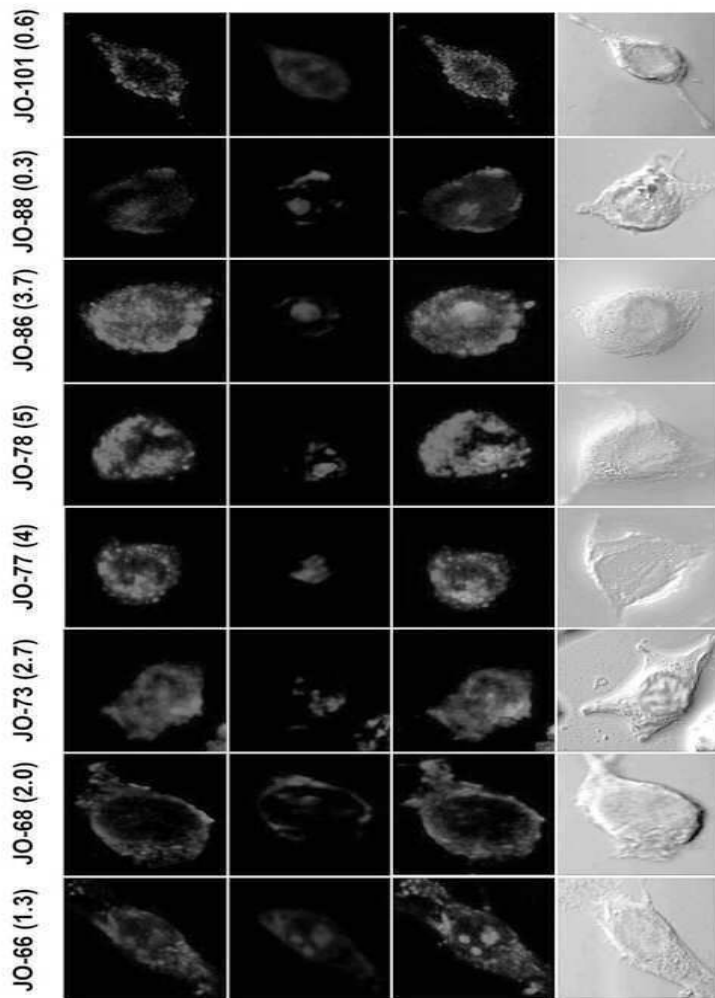
도면10b



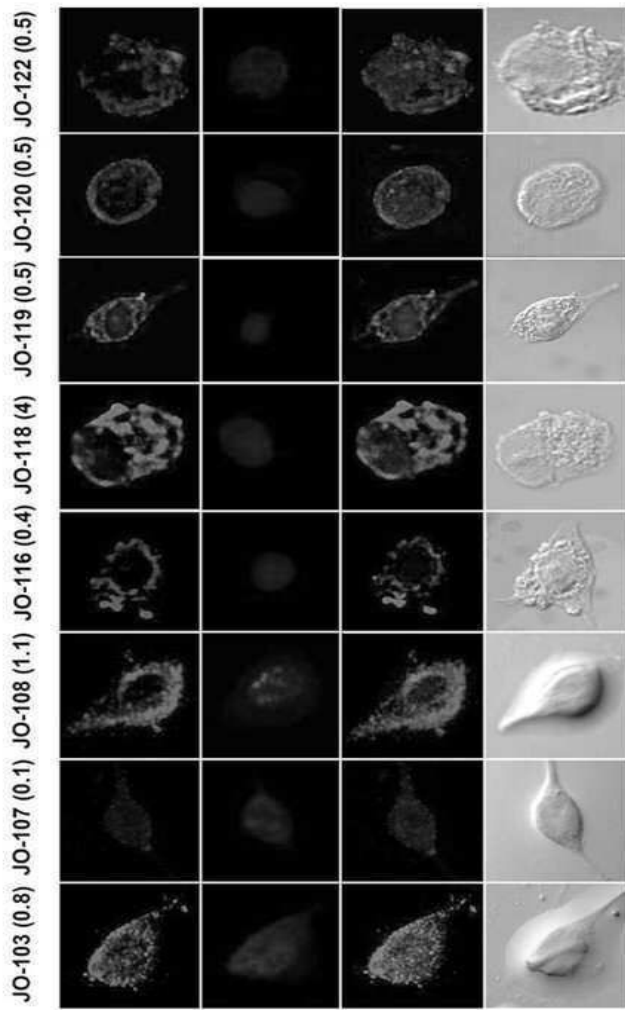
도면10c



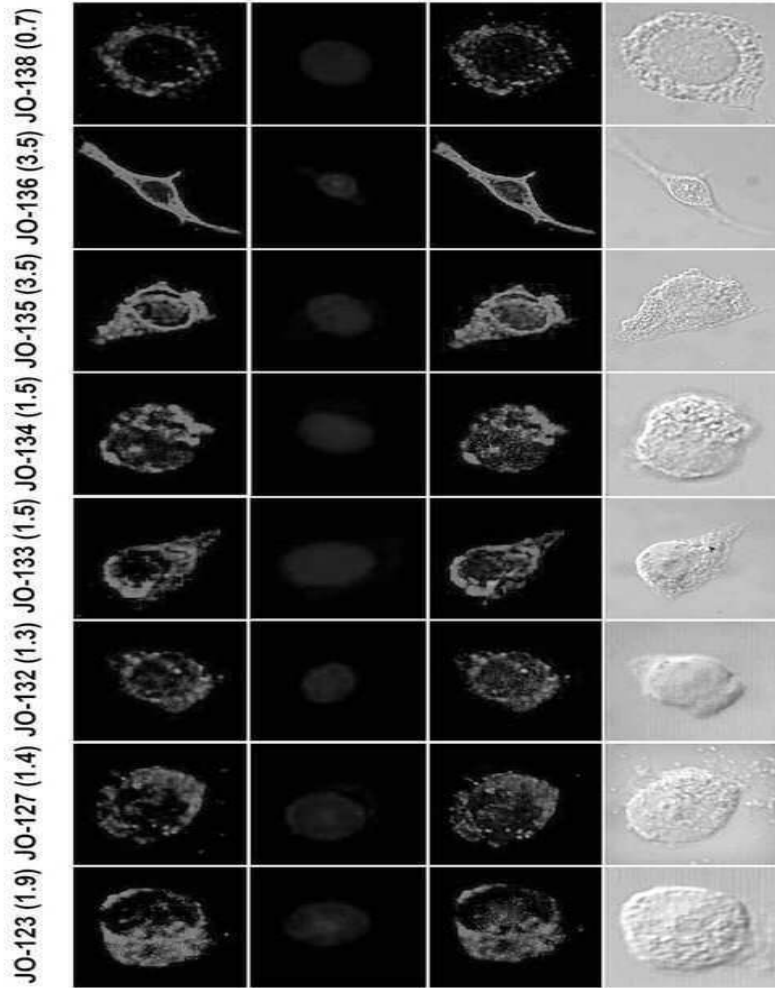
도면10d



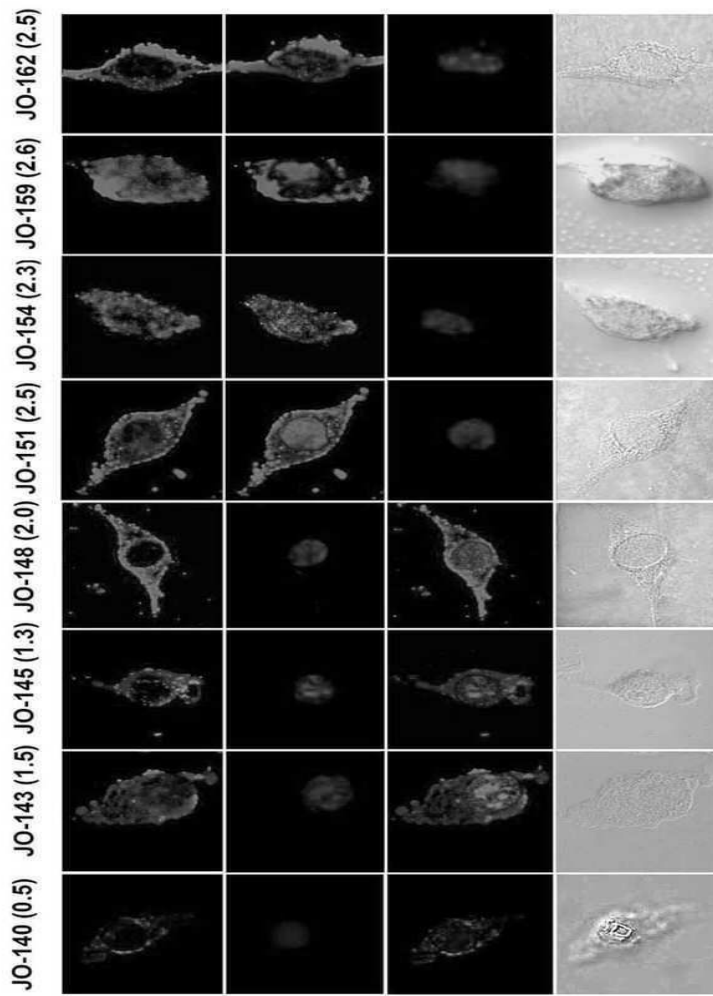
도면10e



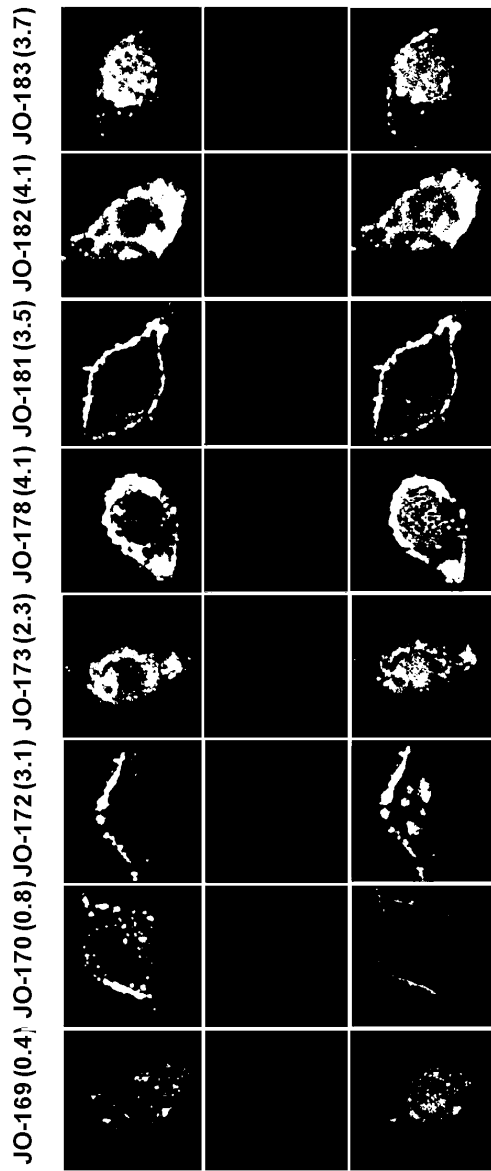
도면10f



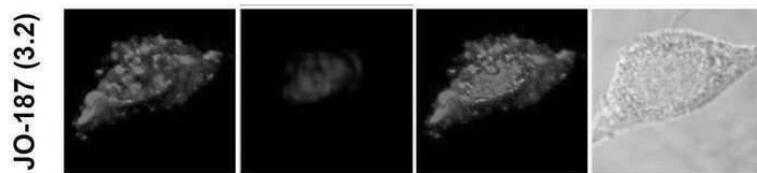
도면10g



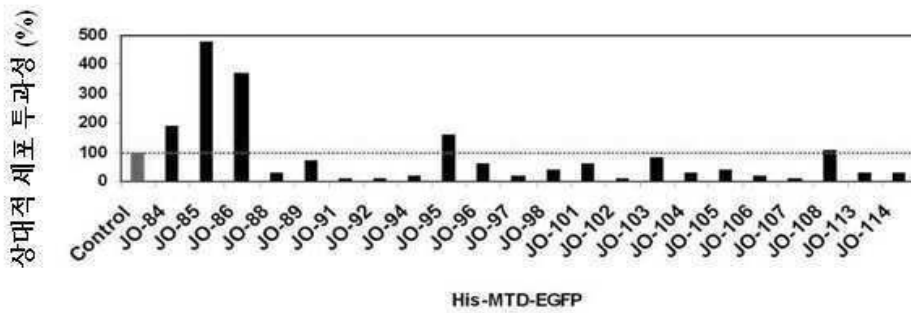
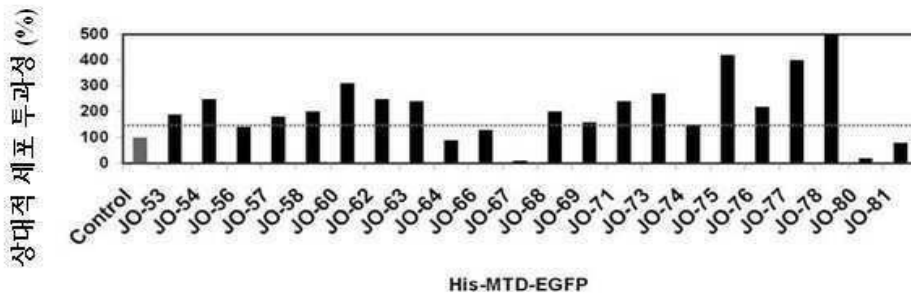
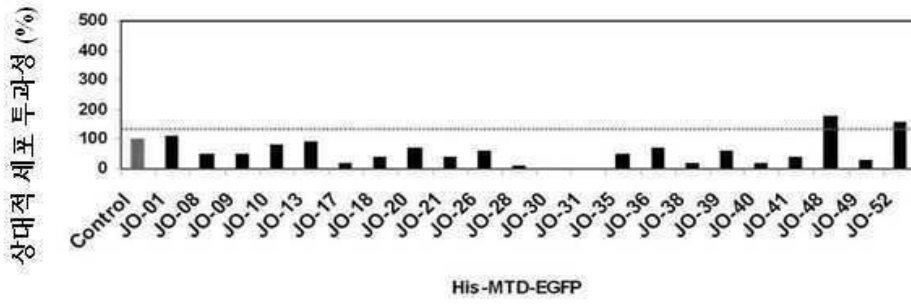
도면10h



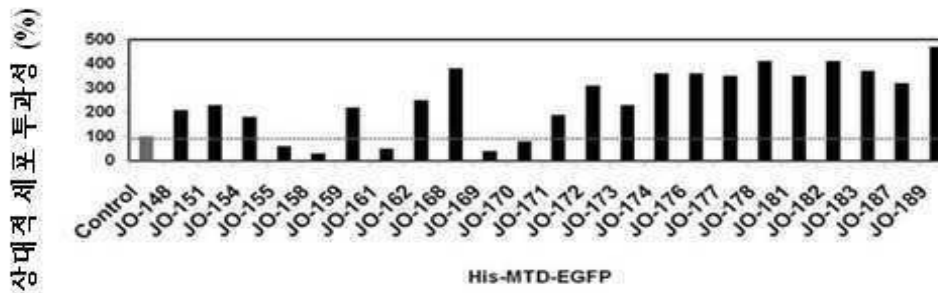
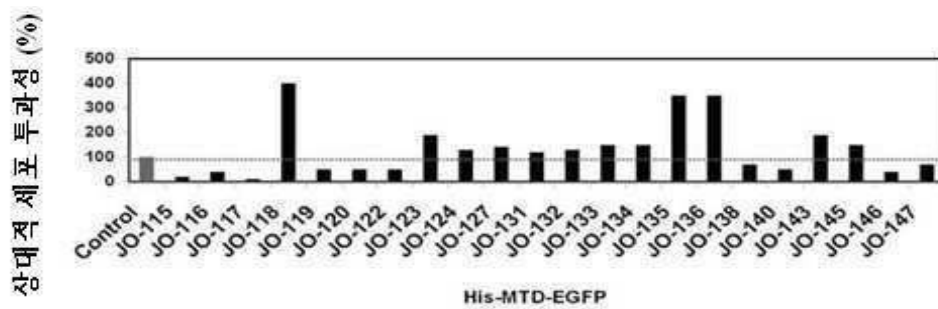
도면10i



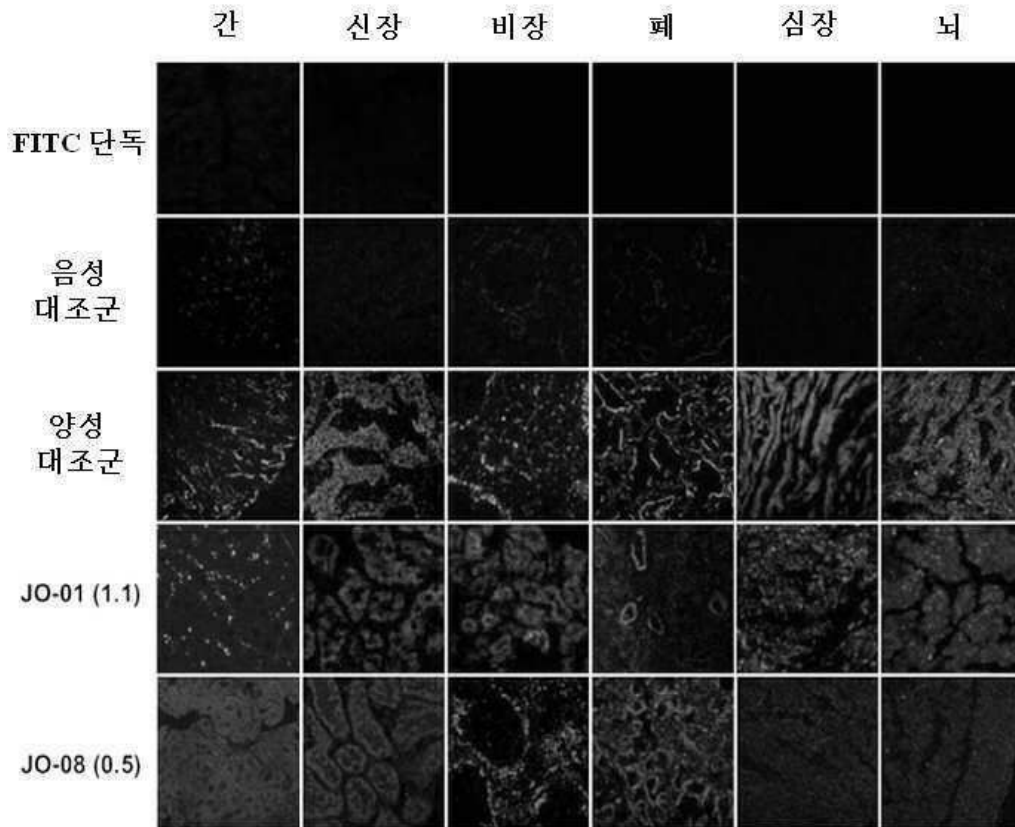
도면11a



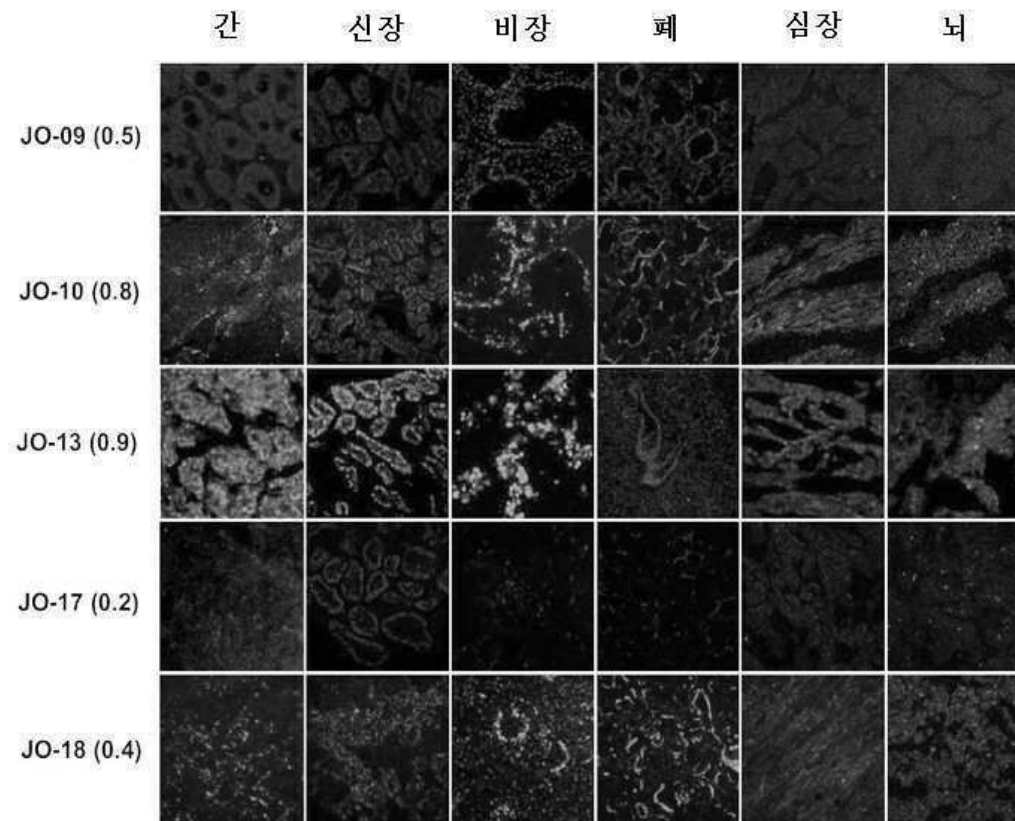
도면11b



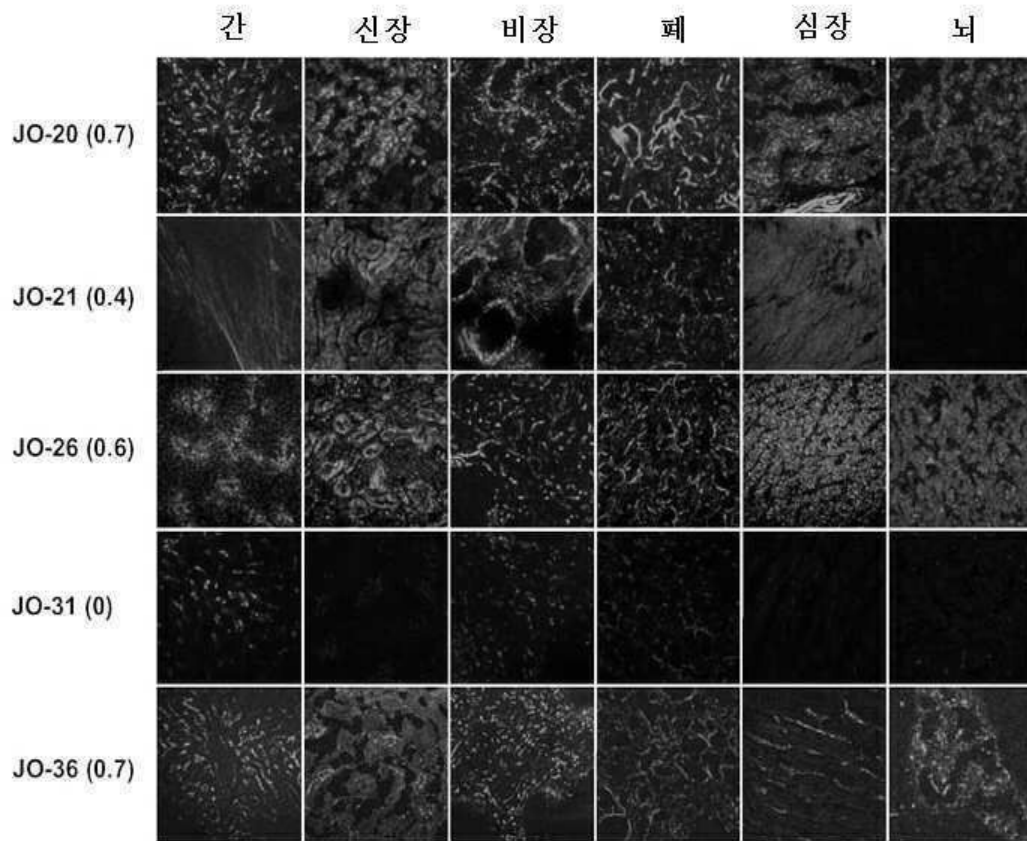
도면12a



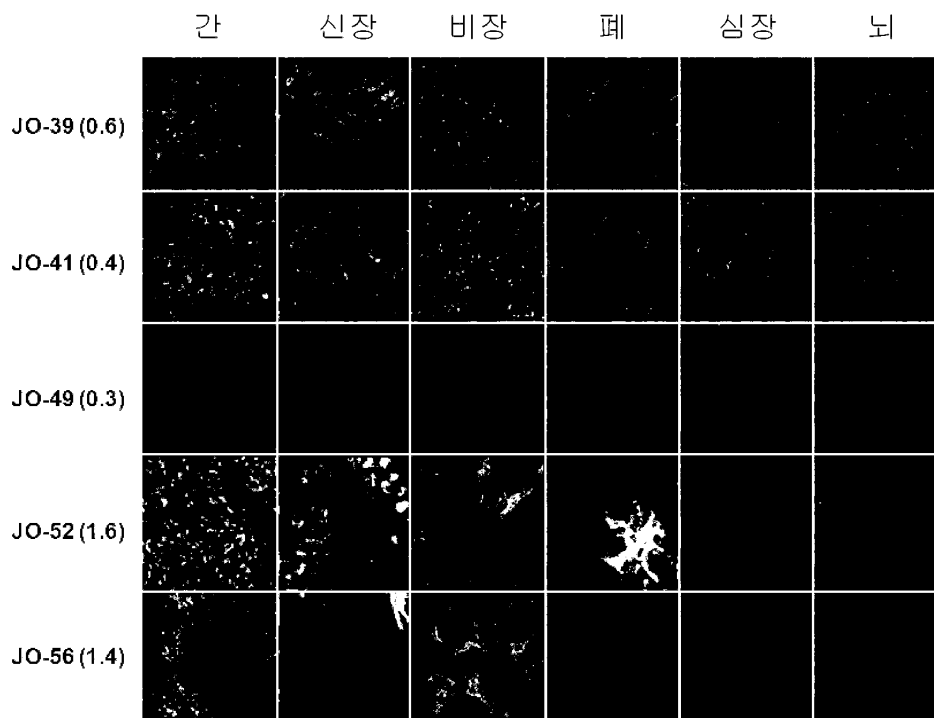
도면12b



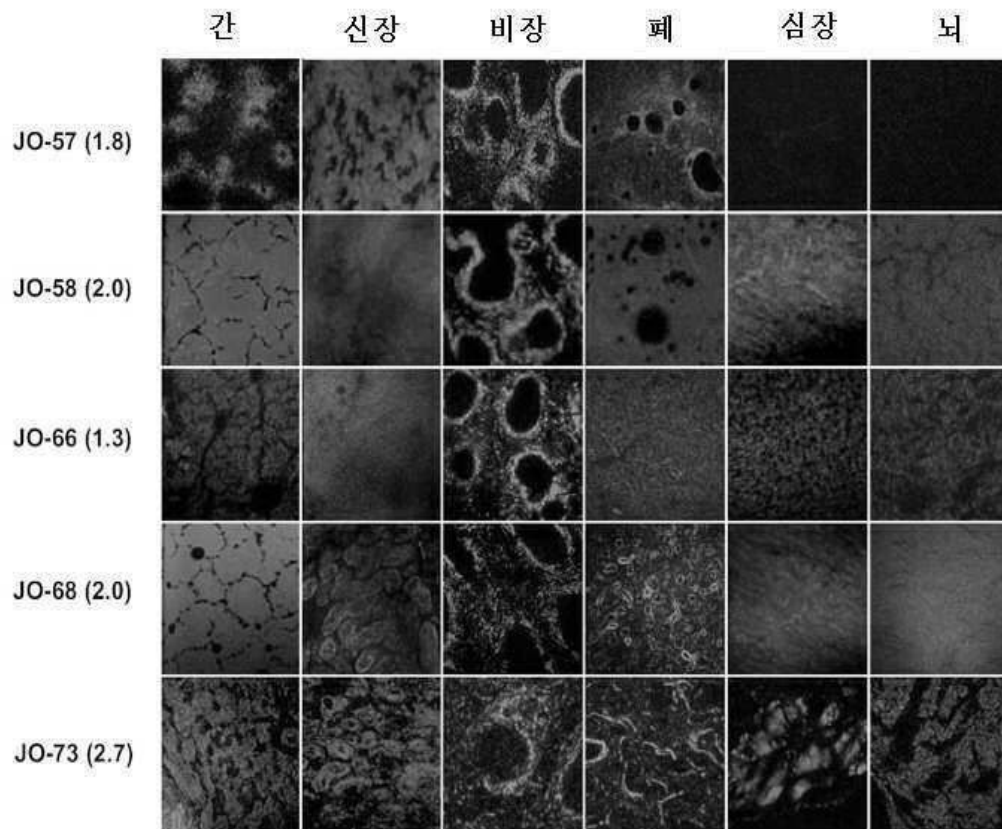
도면12c



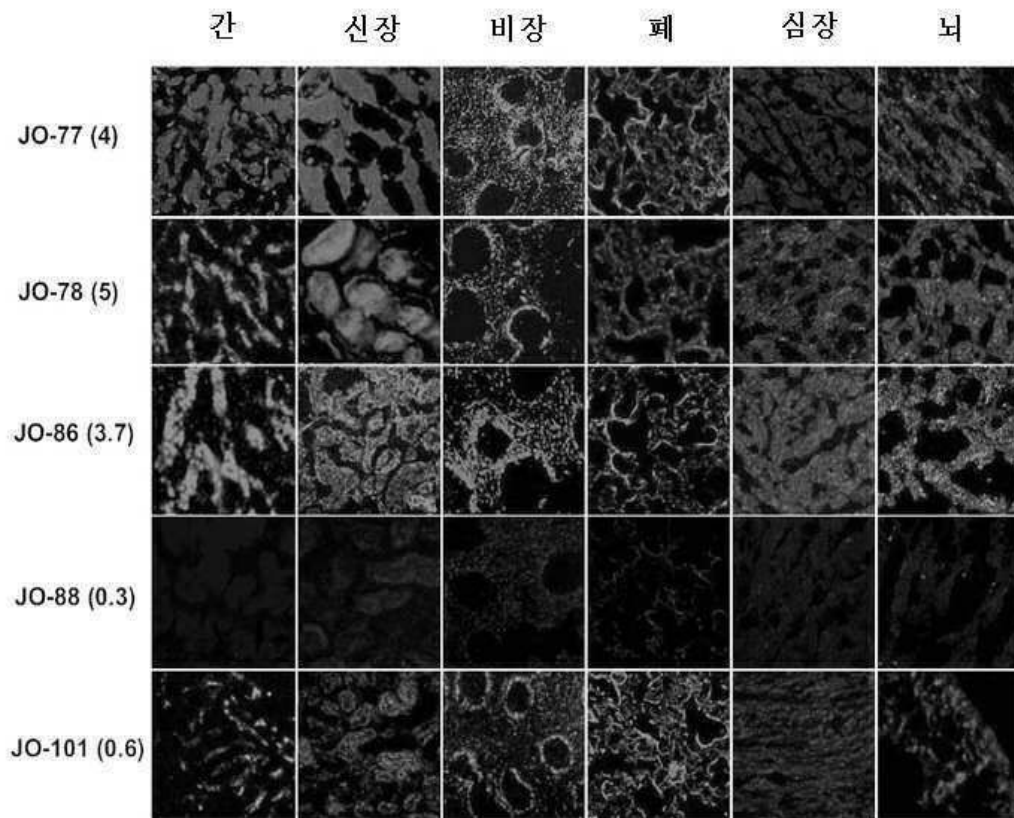
도면12d



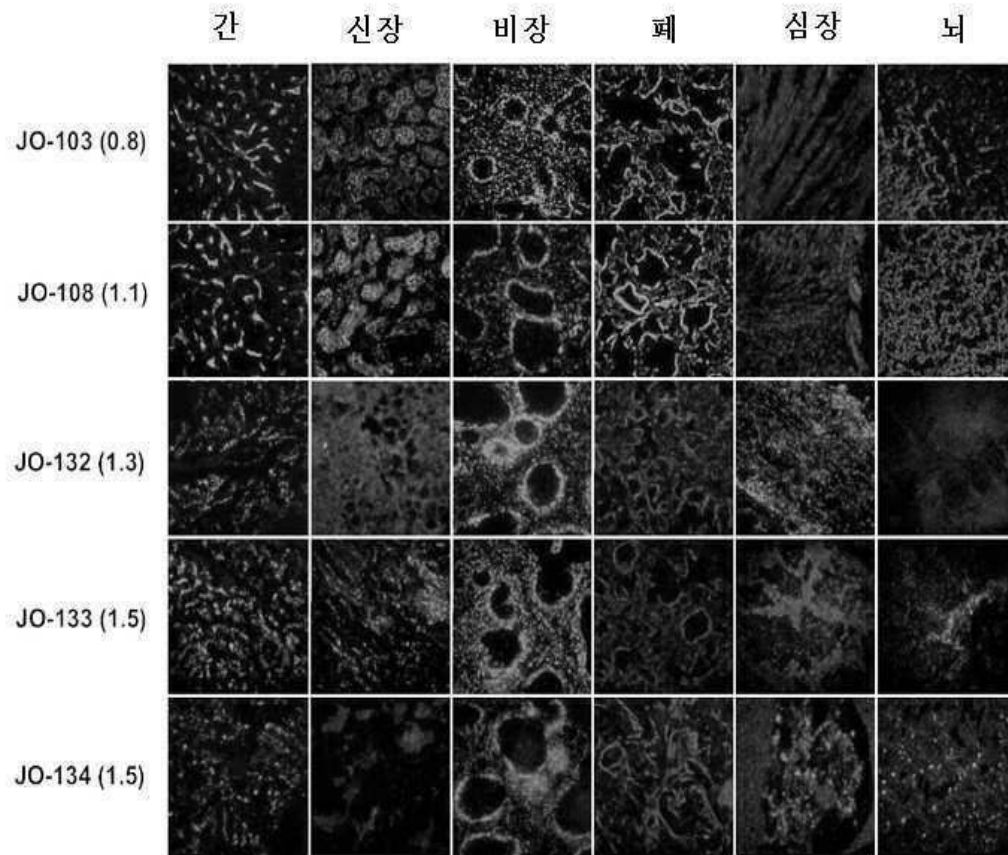
도면12e



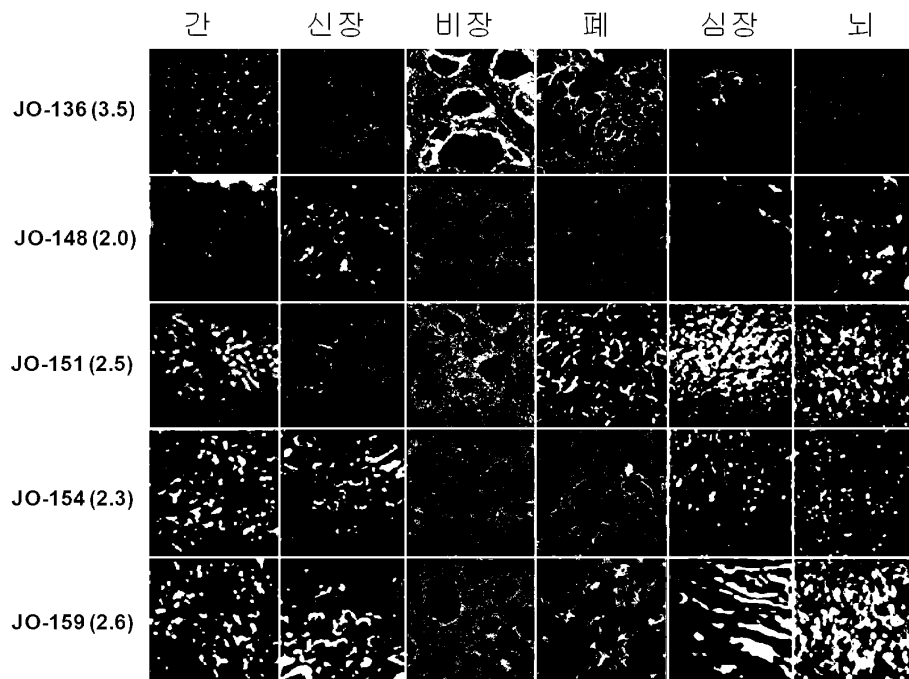
도면12f



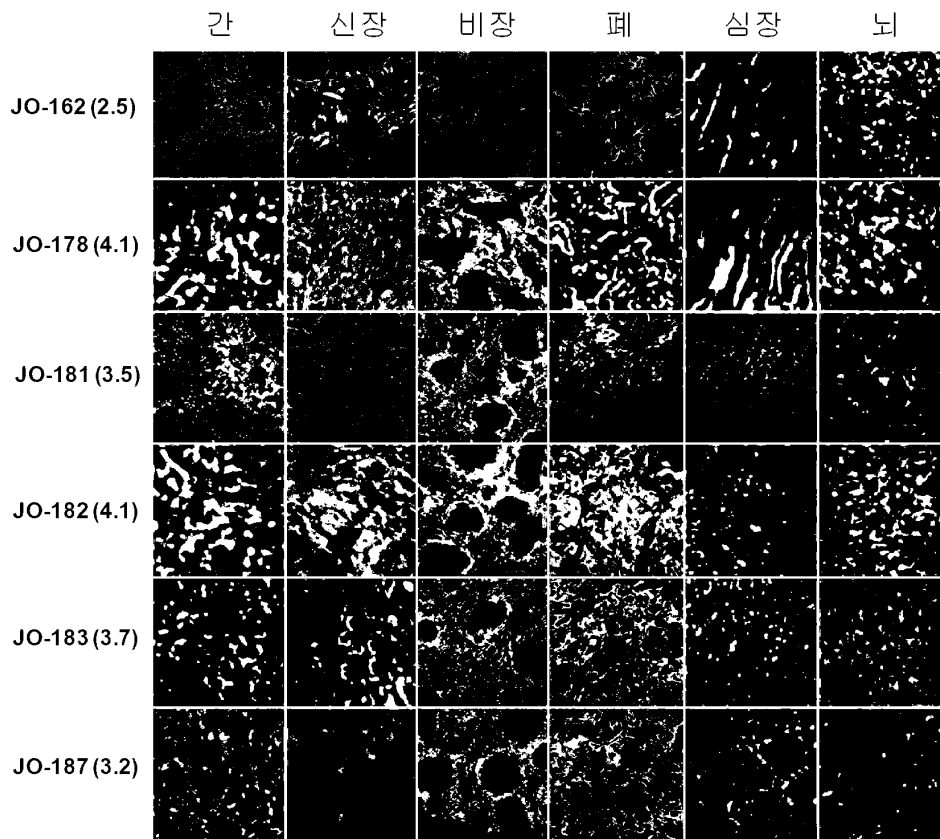
도면12g



도면12h



도면12i



도면13aa

ID	Origin	Protein	MTD sequence	A/a #	Induction	Purification	Cell permeability
JO-01	<i>Streptomyces coelicolor</i>	CAG04038 putative NLP760-family secreted protein.	AVVVCALVLAAP	12	+++	+++	1.1
JO-02	<i>Homo sapiens</i>	NP_057021 phosphatidylinositol glycan, class T precursor	PLALLVLLLLG	12	-	-	ND
JO-03	<i>Homo sapiens</i>	NP_072171 chorionic somatomammotropin hormone 2 isoform 3	LLLAFALLCLP	11	-	-	ND
JO-04	<i>Homo sapiens</i>	NP_932156 nudix -type motif 9 isoform a	LLGALAAVLLA LA	13	-	-	ND
JO-05	<i>Homo sapiens</i>	NP_057327 NAD(P)H quinone oxidoreductase type 3, polypeptide A2	PVLLALGVGLV LLGLAV	17	-	-	ND
JO-06	<i>Streptomyces coelicolor</i>	CAD55300 putative secreted protein.	AAAAYLLAA	9	-	-	ND
JO-07	<i>Streptomyces coelicolor</i>	NP_629514 secreted protein	IVVAVVVI	8	-	-	ND
JO-08	<i>Streptomyces coelicolor</i>	CAB57190 putative secreted chitin binding protein	AVLAPVVAV	9	+++	+++	0.5

도면13ab

JO-09	<i>Streptomyces coelicolor</i>	CAB51015 putative secreted protein	LAVCGLPVVAL LA	13	++++	++++	0.5
JO-10	<i>Streptomyces coelicolor</i>	NP_625021 glycosyl hydrolase (secreted protein)	LGGAVVAAPV AAAAP	16	++++	++++	0.8
JO-11	<i>Streptomyces coelicolor</i>	NP_630636 secreted protein	LLLVLA'LLAV LP	13	-	-	ND
JO-12	<i>Homo sapiens</i>	NP_057329 dehydrogenase/reductase (SDR family) member 8	LLLLLLPLLV	12	-	-	ND
JO-13	<i>Streptomyces coelicolor</i>	NP_639877 putative secreted protein	LAAAALAVLPL	11	++++	++++	0.9
JO-14	<i>Homo sapiens</i>	NP_699291 protease inhibitor 16 precursor	FLMLLLPLLL LVA	14	-	-	ND
JO-15	<i>Streptomyces coelicolor</i>	NP_639871 putative secreted protein	AAAAAALGLAA AVPA	15	-	-	ND
JO-16	<i>Neisseria meningitidis</i>	CAB85250 putative secreted protein	LLLAALLLAF AV	14	-	-	ND
JO-17	<i>Streptomyces coelicolor</i>	NP_626397 small secreted hydrophilic protein	ALAAVVLPLGI AA	14	++++	++++	0.2

도면13ac

JO-18	<i>Streptomyces coelicolor</i>	CAB57190 putative secreted chitin binding protein	AALIGAVLAV VAV	14	++++	++++	0.4
JO-19	<i>Streptomyces coelicolor</i>	NP_626007 secreted cellulose-binding protein	AAGHAVAAAV TLA	15	-	-	ND

도면13ba

ID	Origin	Protein	MTD sequence	A/a #	Induction	Purification	Cell permeability
JO-20	<i>Streptomyces coelicolor</i>	NP_625632 secreted protein	LAVAAAVTFLA	12	++++	++++	0.7
JO-21	<i>Mycobacterium leprae</i>	CAC31790 putative secreted protein	VMAAAAVALA APALA	15	++++	++++	0.4
JO-22	<i>Streptomyces coelicolor</i>	CAE38583 putative secreted protein	AALALGVAAAP AAAPA	16	-	-	ND
JO-23	<i>Streptomyces coelicolor</i>	NP_630266 secreted Protein	LAVLVLLVLLP	11	-	-	ND
JO-24	<i>Streptomyces coelicolor</i>	NP_630165 secreted Protein	VVAVLAPVL	9	-	-	ND
JO-25	<i>Streptomyces coelicolor</i>	NC_003888 secreted Protein	AALLFLLLLLL	12	-	-	ND
JO-26	<i>Streptomyces coelicolor</i>	NP_627363 secreted Protein	FAAVAALLVI	10	++++	++++	0.6
JO-27	<i>Streptomyces coelicolor</i>	NP_631288 secreted Protein	LLIAALLP	8	-	-	ND

도면13bb

JO-28	<i>Streptomyces coelicolor</i>	NP_630325 secreted Protein	AAVVLLPLAAA P	12	-	++	0.1
JO-29	<i>Streptomyces coelicolor</i>	NP_631289 secreted Protein	AAAAAALLVP	10	-	-	ND
JO-30	<i>Streptomyces coelicolor</i>	CAB51015 Putative secreted Protein	LPYVALLA	3	++++	++	ND
JO-31	<i>Streptomyces coelicolor</i>	NP_629515 chitinase C (secreted Protein)	AAALAAPLALP	11	-	++++	ND
JO-32	<i>Homo sapiens</i>	NP_940995 C1q and tumor necrosis factor related Protein1 isoform1	LLLALLAA	9	-	-	ND
JO-33	<i>Mycobacterium bovis</i>	NP_854150 POSSIBLE CONSERVED SECRETED PROTEIN	AVAVVALL	8	-	-	ND
JO-34	<i>Streptomyces coelicolor</i>	NP_630361 Probable secreted Protein	LLHVVLLVP	11	-	-	ND
JO-35	<i>Bacillus subtilis</i>	P39790 Extracellular metalloprotease Precursor	LALAAAVVP	9	++++	++++	0.5
JO-36	<i>Streptomyces coelicolor</i>	CAA19252 Putative hVoProtein	PAALALLVA	10	++++	++++	0.7

도면13bc

JO-37	<i>Streptomyces coelicolor</i>	NP_625685 large secreted Protein	IVALLLVPLVLA IAAVL	17	-	-	ND
JO-38	<i>Streptomyces coelicolor</i>	NP_625685 large secreted Protein	IVALLLVLP	8	++++	++++	0.2
JO-39	<i>Streptomyces coelicolor</i>	NP_625685 large secreted Protein	FLVLAIAAVL	10	++++	++++	0.6

도면 13ca

ID	Origin	Protein	MTD sequence	Δ/a #	Induction	Purification	Cell permeability
JO-40	<i>Homo sapiens</i>	NP_808300 golgi PhosPhoProtein 2	FLVLAALVA	9	++++	++++	0.2
JO-41	<i>Streptomyces coelicolor</i>	NP_626993 secreted Protein	AAALLAVA	8	++++	++++	0.4
JO-42	<i>Homo sapiens</i>	NP_004863 thymic dendritic cell-derived factor 1	FLLLLALA	8	-	-	ND
JO-43	<i>Streptomyces coelicolor</i>	NP_631398 secreted Protein	ALALVVA	7	-	-	ND
JO-44	<i>Streptomyces coelicolor</i>	NP_627373 Penicillin-binding Protein (secreted Protein)	VAAVVVAA	8	-	-	ND
JO-45	<i>Homo sapiens</i>	NP_056226 sulfatase modifying factor 2	FLLPLLLLV	9	-	-	ND
JO-46	<i>Mycobacterium bovis</i>	NP_854998 Conserved hypothetical secreted protein	VVLVVVFLAVLA	13	-	-	ND
JO-47	<i>Streptomyces coelicolor</i>	NP_627512 secreted Protein	AAAVTLVAA	10	-	-	ND

도면13cb

JO-48	<i>Homo sapiens</i>	NP_110448 phospholipase A2, group XIA	PALLLLLLAAV V	12	++	++	1.8
JO-49	<i>Homo sapiens</i>	NP_003245 tissue inhibitor of metalloproteinase 1 precursor	PLALLLLLLAP	12	++++	++++	0.3
JO-50	<i>Homo sapiens</i>	NP_002978 small inducible cytokine A17 precursor	PLLALVLLALI A	13	-	-	ND
JO-51	<i>Mus musculus</i>	NP_00102495 stromal cell derived factor 1 isoform gamma precursor	VVALVALVLA L	12	-	-	ND
JO-52	<i>Homo sapiens</i>	NP_775628 ficolin 3 isoform 2 precursor	PLLLLLPAL	9	++++	++++	1.6
JO-53	<i>Streptomyces coelicolor</i>	NP_624483 secreted protein	LAAVAAALAVV VP	12	++	++	1.9
JO-54	<i>Homo sapiens</i>	NP_997465 HERV-FR1 provirus ancestral Env polyprotein	LLLLVLLPLAA	12	++	++	2.5
JO-55	<i>Mycobacterium bovis</i>	NP_854234 possible conserved secreted protein	LAVVVAAV	9	-	-	ND
JO-56	<i>Homo sapiens</i>	P23284 Peptidyl-prolyl cis-trans isomerase B precursor (TPase) (Rotamase) (Cyclophilin B)	VLLAAALIA	9	++++	++++	1.4

도면13cc

10-57	<i>Salmonella enterica</i>	CAD05047 hypothetical secreted protein	LIALLAAPLA	10	++++	++++	1.8
10-58	<i>Homo sapiens</i>	P05067 Amyloid beta A4 protein precursor (APP) (AβPP) (Alzheimer disease amyloid protein)	LALLLAA	8	++++	++++	2.0

도면13da

ID	Origin	Protein	MTD sequence	M/a #	Induction	Purification	Cell permeability
JO-59	<i>Homo sapiens</i>	NP_004378 small inducible cytokine B14 precursor	LLAAALLLLL A	12	-	-	ND
JO-60	<i>Streptomyces coelicolor</i>	NP_626588 secreted protein	VIALIVVA	10	++	++	3.1
JO-61	<i>Streptomyces coelicolor</i>	NP_626589 secreted protein	VVLVVAVLAL	11	-	-	ND
JO-62	<i>Mycobacterium bovis</i>	NP_856548 SOLUBLE SECRETED ANTIGEN MPE53	VAVAVVVL	9	-	++	2.5
JO-63	<i>Streptomyces coelicolor</i>	NP_629854 secreted protein	PLVVVAAAIV AV	13	-	++	2.4
JO-64	<i>Escherichia coli</i>	AAB59058 lambda receptor protein	FLAVAVAAVA A	11	-	++	0.9
JO-65	<i>Streptomyces avermitilis</i>	NP_825185 NLP/T60-family secreted protein	AAALVAVVL	10	-	-	ND
JO-66	<i>Streptomyces coelicolor</i>	NP_626568 secreted protein	AAALAAIATV	10	++++	++++	1.3

도면13db

JO-67	<i>Streptomyces coelicolor</i>	NP_626568 secreted protein	AAAPAVAA	8	++++	+++	0.1
JO-68	<i>Streptomyces coelicolor</i>	NP_625539 secreted protein	LLAALP	7	++++	++++	2.0
JO-69	<i>Mycobacterium leprae</i>	CAC32053 putative secreted protein	ALLAVAA	8	++	++++	1.6
JO-70	<i>Streptomyces coelicolor</i>	NP_630954 secreted protein	AVVVLPILL	10	-	-	ND
JO-71	<i>Mus musculus</i>	F97300 Neuroplasin precursor (stromal cell-derived receptor 1) (SDR-1)	ALALLLV	9	++	++++	2.4
JO-72	<i>Streptomyces coelicolor</i>	AAA41949 Rat parotid gland acidic proline-rich protein mRNA, complete CDS	LAVLLAALLVL	11	-	-	ND
JO-73	<i>Drosophila melanogaster</i>	AAA17387 Drosophila melanogaster spatze (spz) gene	PVLLLA	7	++++	++++	2.7
JO-74	<i>Streptomyces coelicolor</i>	NP_627867 conserved secreted protein	ALAVVAP	8	++	++++	1.5
JO-75	<i>Streptomyces coelicolor</i>	NP_631283 secreted protein	VVALLAV	8	-	++	4.2

도면13dc

JO-76	<i>Homo sapiens</i>	NP_003231 endometrial bleeding associated factor preproprotein	ALVLP LAP	8	++++	+++	2.2
JO-77	<i>Streptomyces coelicolor</i>	CAE76313 putative secreted protein	AVALLILAV	9	++++	+++	4.0

도면13ea

ID	Origin	Protein	MTD sequence	A/a #	Induction	Purification	Cell permeability
JO-78	<i>Xenopus laevis</i>	F07198 Xenopsin precursor	VLLAVIP	7	++++	++++	5.0
JO-79	<i>Xenopus laevis</i>	NP_631293 secreted protein	LIVAAVVVVAV LI	13	-	-	ND
JO-80	<i>Streptomyces coelicolor</i>	NP_626373 secreted protein	AVVVAAP	7	-	++	0.2
JO-81	<i>Streptomyces coelicolor</i>	NP_624952 secreted cellulose-binding protein	LAAVLLIP	9	++++	++++	0.8
JO-82	<i>Streptomyces coelicolor</i>	NP_009104 protease, serine, 23 precursor	LLLLLAVVP	10	-	-	ND
JO-83	<i>Homo sapiens</i>	AAK63068 phytotoxic protein Pcf precursor	AVALVAVVAV A	11	-	-	ND
JO-84	<i>Streptomyces coelicolor</i>	NC_003903 plasmid SCP1, complete sequence.	LVAALLAVL	9	++++	++++	1.9
JO-85	<i>Streptomyces coelicolor</i>	NP_629842 peptide transport system secreted peptide binding	LLAAAAALLA	11	++++	++++	4.8

도면13eb

JO-86	<i>Mycobacterium bovis</i>	NP_854067 Possible secreted protein	LAVLAAAAP	8	++++	++++	3.7
JO-87	<i>Mycobacterium bovis</i>	NP_627802 secreted protein	VVLLVLLALV VV	13	-	-	ND
JO-88	<i>Streptomyces coelicolor</i>	NP_627802 secreted protein	VVIAYVP	7	-	++	0.3
JO-89	<i>Streptomyces coelicolor</i>	NP_627802 secreted protein	VLLVLLALV	9	-	++	0.7
JO-90	<i>Streptomyces coelicolor</i>	NP_624483 secreted protein	LAAVAAALAVV	10	++	-	ND
JO-91	<i>Streptomyces coelicolor</i>	NP_625203 secreted protein	PVLVTAYP	8	++++	++++	0.1
JO-92	<i>Streptomyces coelicolor</i>	NP_630960 secreted protein	PALALALA	8	++++	++++	0.1
JO-93	<i>Streptomyces coelicolor</i>	NP_630670 secreted protein	AAAAPALA	8	-	-	ND
JO-94	<i>Streptomyces coelicolor</i>	NP_630493 secreted protein	IVLPVLAAP	9	++++	++++	0.2

도면13c

JO-95	<i>Mycobacterium leprae</i>	CAC29994 putative secreted protein	LVLLLLPLLI	10	++	++	1.6
JO-96	<i>Streptomyces coelicolor</i>	NP_024483 secreted protein	LAAYAPALAVV	11	++++	++++	0.6

도면13fa

ID	Origin	Protein	MTD sequence	A/a #	Induction	Purification	Cell permeability
JO-97	<i>Homo sapiens</i>	NP_037375 secretogranin III	ILVVLFP	8	++	++	0.2
JO-98	<i>Homo sapiens</i>	NP_009199 V-set and immunoglobulin domain containing 4	ILLPLLLP	9	++++	++++	0.4
JO-99	<i>Streptomyces coelicolor</i>	NP_733650 secreted hydrolase	LAFAVVAALP	10	++	-	ND
JO-100	<i>Homo sapiens</i>	NP_057540 transmembrane protein 9	LLLVAVVPLLV _P	12	-	-	ND
JO-101	<i>Theileria annulata</i>	CA174362 hypothetical protein	LILLLLFP	9	++++	++	0.6
JO-102	<i>Streptomyces coelicolor</i>	NP_639671 secreted protein	AVLAAPAVLV	10	++++	++++	0.1
JO-103	<i>Homo sapiens</i>	NP_065695 TMEM9 domain family member B	LALVLLLA	9	++++	++++	0.8
JO-104	<i>Canis lupus familiaris</i>	P09908 Pulmonary surfactant-associated protein A precursor (SP-A) (TSP-A) (TSAP)	LALALL	7	++++	++++	0.3

도면13fb

JO-105	<i>Streptomyces coelicolor</i>	NP_639721 putative secreted protein	VAVTLVVA	9	++	++++	0.4
JO-106	<i>Mycobacterium bovis</i>	NP_854954 CONSERVED PROBABLE SECRETED PROTEIN	AVAVAPVAAA A	11	++++	++++	0.2
JO-107	<i>Streptomyces coelicolor</i>	NP_627759 secreted protein	AAAVVAAVTA A	11	++	++++	0.1
JO-108	<i>Homo sapiens</i>	NP_003842 cellular repressor of E1A-stimulated genes	ALLAALLAP	9	++++	++++	1.1
JO-109	<i>Homo sapiens</i>	NP_003842 cellular repressor of E1A-stimulated genes	LLALLVP	7	-	-	ND
JO-110	<i>Homo sapiens</i>	NP_003842 cellular repressor of E1A-stimulated genes	ALLAALLALLA LLV	14	-	-	ND
JO-111	<i>Homo sapiens</i>	NP_000589 insulin-like growth factor binding protein 3 (IGFBP3)	AAALPLLVLIP	11	-	-	ND
JO-112	<i>Streptomyces coelicolor</i>	CAB59459 putative secreted protein	AAAVTAALAP	10	-	-	ND
JO-113	<i>Streptomyces coelicolor</i>	NP_628017 secreted protein	AALAVAAALAA	10	++++	++++	0.3

도면13f

JO-114	<i>Streptomyces coelicolor</i>	NP_024695 secreted protein	AVLAAAVP	8	++++	+++	0.3
JO-115	<i>Streptomyces coelicolor</i>	NP_024695 secreted protein	VAALFAPA	8	++++	+++	0.2

도면13ga

ID	Origin	Protein	MTD sequence	A/a #	Induction	Purification	Cell permeability
JO-116	<i>Streptomyces coelicolor</i>	NP_624791 secreted protein	ALALAVTAVLP	11	++++	++++	0.4
JO-117	<i>Streptomyces coelicolor</i>	CAB45579 putative secreted protein	AALLPAAVAVP	11	++++	++++	0.1
JO-118	<i>Streptomyces coelicolor</i>	NP_627066 secreted protein	AVVVALAP	8	-	-	4.0
JO-119	<i>Streptomyces coelicolor</i>	NP_630174 secreted substrate-binding protein	AAAVALPAAAA LLA	14	++++	++++	0.5
JO-120	<i>Homo sapiens</i>	P03727 Apolipoprotein A-IV precursor (Apo-AIV)	AVVPLALVAV AP	13	++	++	0.5
JO-121	<i>Mus musculus</i>	Q62087 Serum paraoxonase/lactonase 3	LVALPLLP	8	-	-	ND
JO-122	<i>Streptomyces coelicolor</i>	NP_627123 probable secreted penicillin-binding protein	VVVTLILVP	10	-	++	0.5
JO-123	<i>Mycobacterium leprae</i>	CAC30224 putative secreted hydrolase	LAVVLAVP	8	++	++	1.9

도면13gb

JO-124	<i>Plasmodium cynomolgi</i>	OZZQAM circumsporozoite protein precursor	LLAVTILLAT	10	++++	+++	1.3
JO-125	<i>Homo sapiens</i>	Q15166 Serum paraoxonase/lactonase 3	LVALVLLP	8	-	-	ND
JO-126	<i>Homo sapiens</i>	NP_060220 all-trans-13,14-dihydroretinol saturase	LVLLLAVLLLA VLP	14	-	-	ND
JO-127	<i>Salmonella typhi</i>	AL527273 Salmonella enterica serovar Typhi (Salmonella typhi) strain CT13	LLAPVVVALVLLP	12	++	-	1.4
JO-128	<i>Streptomyces coelicolor</i>	NP_625987 secreted protein	VLAVLAVTVLL LP	13	++	-	ND
JO-129	<i>Streptomyces coelicolor</i>	CAB45474 putative secreted protein	VVLA VVPVVV	10	-	-	ND
JO-130	<i>Streptomyces coelicolor</i>	CAB45474 putative secreted protein	LLVLLALVVVP	11	-	-	ND
JO-131	<i>Streptomyces coelicolor</i>	CAB36605 putative secreted protein	VLLALPVVAAP	11	++	++	1.2
JO-132	<i>Streptomyces coelicolor</i>	NP_628377 NLP/T60-family secreted protein	AVVVPALVLAAP	12	++	++	1.3

도면13gc

JO-133	<i>Streptomyces coelicolor</i>	CAB59594 putative secreted protein	AVLVTA...AALVP	11	++++	++++	1.5
JO-134	<i>Streptomyces coelicolor</i>	NP_624974 secreted protein	VV...AALFLVLP	10	++	++	1.5

도면13ha

ID	Origin	Protein	MTD sequence	A/a #	Induction	Purification	Cell permeability
JO-135	<i>Streptomyces coelicolor</i>	NP_733682 secreted ATP/GTP binding protein	AAVALPAAAP	10	++++	++++	3.5
JO-136	<i>Homo sapiens</i>	P27169 Serum paraoxonase/arylesterase 1 (PON 1) (Serum arylalkylphosphatase 1) (A-esterase 1)	LIALTLTP	8	++++	++++	3.5
JO-137	<i>Homo sapiens</i>	P52430 Serum paraoxonase/arylesterase 1 (PON 1) (Serum arylalkylphosphatase 1) (A-esterase 1)	LLALPLVLVLA LP	13	-	-	ND
JO-138	<i>Streptomyces coelicolor</i>	NP_626569 secreted protein	IVTLAAAP	9	++++	++++	0.7
JO-139	<i>Homo sapiens</i>	NP_940995 C1q and tumor necrosis factor related protein 1 isoform 1	LILLAPILLAP	10	-	-	ND
JO-140	<i>Streptomyces coelicolor</i>	NP_626174 large secreted protein	LAALPVAAYT	10	++++	++++	0.5
JO-141	<i>Neisseria meningitidis</i>	CAB83860 putative protein-export integral membrane protein	ALAVTLVLL	10	-	-	ND

도면13hb

JO-142	<i>Homo sapiens</i>	NP_001009351 cornichon-like isoform 2	LALLLPAAAI	10	-	-	ND
JO-143	<i>Streptomyces coelicolor</i>	NP_626808 secreted protein	ALLPLLAVVLP	11	++	++	1.5
JO-144	<i>Streptomyces coelicolor</i>	NP_639798 putative secreted protein	AIAVTVLAAP	10	-	-	ND
JO-145	<i>Homo sapiens</i>	NP_000492 elastin(supraaortic stenosis)	AAAPVLLLLL	10	++++	++++	1.3
JO-146	<i>Streptomyces coelicolor</i>	NP_630680 secreted sugar binding protein	AAAVAVLALAP	11	++++	++++	0.4
JO-147	<i>Streptomyces coelicolor</i>	CAB56129 putative secreted protein	AALAALVVVAP	11	++	++	0.7
JO-148	<i>Streptomyces coelicolor</i>	NP_625109 secreted solute-binding lipoprotein	AALAAVPLALA P	12	++++	++++	2.0
JO-149	<i>Streptomyces coelicolor</i>	NP_733579 secreted sugar binding protein	ALAVAAPALAL LP	13	-	-	ND
JO-150	<i>Streptomyces coelicolor</i>	NP_630126 secreted chitinase (secreted protein)	AALPAAAP	8	-	-	ND

도면13hc

JO-151	<i>Streptomyces coelicolor</i>	NP_630126 secreted chitinase (secreted protein)	AAAPVAAVT	9	++++	++++	2.5
JO-152	<i>Homo sapiens</i>	NP_872425 secretory protein LOC348174	LLAVLLALLP	10	-	-	ND

도면13ia

ID	Origin	Protein	MTD sequence	A/a #	Induction	Purification	Cell permeability
JO-153	<i>Streptomyces coelicolor</i>	NP_630107 secreted protein	VLALLVAVVP	10	-	-	ND
JO-154	<i>Streptomyces coelicolor</i>	NP_733688 peptide-binding transport protein	ALVVPAAVP	9	++	++	2.3
JO-155	<i>Streptomyces coelicolor</i>	NP_622904 secreted protein	AVVLPLLL	9	++	++	0.6
JO-156	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	YP_177852 MCE-FAMILY PROTEIN MCE3A	AVPVAVLVP	10	-	-	ND
JO-157	<i>Streptomyces coelicolor</i>	CAA19627 putative secreted solute binding protein	AAAVPAAVLAP	11	-	-	ND
JO-158	<i>Streptomyces coelicolor</i>	NP_639384 putative large secreted protein	VAVPVVLAIMP	11	-	++	0.3
JO-159	<i>Bacillus subtilis</i>	P24327 Foldase protein prsA precursor	IAIAAMPAILAL	12	++++	++++	2.6
JO-160	<i>Neisseria meningitidis</i>	CAE84803 putative membrane lipoprotein	ALIAPALAAP	10	-	-	ND
JO-161	<i>Streptomyces coelicolor</i>	NP_639383 putative large secreted protein	AAALVAPAL	10	++++	++++	0.5

도면13ib

JO-162	<i>Streptomyces coelicolor</i>	NP_623883 putative large secreted protein	LAPAVAAAP	9	++++	++++	2.5
JO-163	<i>Streptomyces coelicolor</i>	NP_627362 secreted protein	VAIIVTAVVAIA LII	15	-	-	ND
JO-164	<i>Streptomyces coelicolor</i>	NP_627362 secreted protein	AVVAIALII	9	-	-	ND
JO-165	<i>Streptomyces coelicolor</i>	NP_624625 secreted protein	LAIVTAAAP	9	-	-	ND
JO-166	<i>Streptomyces coelicolor</i>	NP_624625 secreted protein	AVAAITLAAP	10	-	-	ND
JO-167	<i>Streptomyces coelicolor</i>	NP_624625 secreted protein	LAAPAAAAP	9	-	-	ND
JO-168	<i>Streptomyces coelicolor</i>	NP_626936 secreted protein	LAIVVTVAIA NP	12	++	++	3.8
JO-169	<i>Streptomyces coelicolor</i>	NP_626936 secreted protein	VAAPAAAAP	9	++++	++++	0.4

도면13ic

JO-170	<i>Streptomyces coelicolor</i>	NP_626936 secreted protein	AVPTVPL	8	++++	++++	0.8
JO-171	<i>Homo sapiens</i>	NP_085072 matrilin 2 isoform b precursor	LLLLPWLLP	10	++	-	1.9
JO-172	<i>Streptomyces coelicolor</i>	CAB94057 putative secreted protein	ALALPALALAP	11	++++	++++	3.1

도면13ja

ID	Origin	Protein	MTD sequence	A/a #	Induction	Purification	Cell permeability
JO-173	<i>Streptomyces coelicolor</i>	NP_624884 secreted protein	AVPILAVP	9	++++	++++	2.3
JO-174	<i>Streptomyces coelicolor</i>	NP_733505 large, multifunctional secreted protein	LILLPAVALP	11	++	++	3.6
JO-175	<i>Streptomyces coelicolor</i>	CAB45630 putative secreted protein	IVLAPVFAAA	10	-	-	ND
JO-176	<i>Streptomyces coelicolor</i>	NP_627887 secreted protein	VVVVTVLAAA A	11	-	-	3.6
JO-177	<i>Bacillus</i>	P06832 Bacilolysin precursor	LVAVAAP	7	-	-	3.5
JO-178	<i>Streptomyces coelicolor</i>	NP_625998 secreted hydrolase	LVLAAFAALP	10	++	++++	4.1
JO-179	<i>Streptomyces coelicolor</i>	NP_625057 secreted protein	LIAPAAAATP	9	-	-	ND
JO-180	<i>Homo sapiens</i>	NP_448750 ADP-ribosyltransferase 5 precursor	ALAAALPVALP	10	-	-	ND

도면13jb

JO-181	<i>Neisseria meningitidis</i>	CAB84257 putative secreted protein	AVLLLPAAA	9	++++	+++	3.5
JO-182	<i>Escherichia coli</i>	F00634 Alkaline phosphatase precursor (AFase)	LALALLFLL	9	++++	+++	4.1
JO-183	<i>Homo sapiens</i>	NF000933 peptidylprolyl isomerase B precursor	VLLAAALIAF	10	++++	+++	3.7
JO-184	<i>Streptomyces coelicolor</i>	CAB71258 putative secreted protein.	APAVLPFVVVI	11	-	-	ND
JO-185	<i>Mycobacterium leprae</i>	CAC31847 possible secreted protein	VVGLLVAAL	9	-	-	ND
JO-186	<i>Streptomyces coelicolor</i>	NF_626948 secreted protein	AAIAAAAPLAA	11	-	-	ND
JO-187	<i>Homo sapiens</i>	NF_059120 cat eye syndrome critical region protein 1 isoform a precursor	LLLAVAP	7	++	++	3.2
JO-188	<i>Homo sapiens</i>	NF_006519 tissue factor pathway inhibitor 2	LILLPLAAL	10	-	-	ND

도면13jc

JO-189	<i>Mus musculus</i>	P97299 Secreted frizzled-related protein 2 precursor (sFRP-2) (Secreted apoptosis-related protein 1)	ALLLVLA	8	-	-	4.7
JO-190	<i>Homo sapiens</i>	NP_071447 tubulointerstitial nephritis antigen-like 1	LLLLLLFLA	9	-	-	ND
JO-191	<i>Homo sapiens</i>	NP_056322 epidermal growth factor-like protein 6 precursor	LALPLLLP	8	-	-	ND

도면13k

ID	Origin	Protein	MTD sequence	A/a #	Induction	Purification	Cell permeability
JO-192	<i>Streptomyces coelicolor</i>	NP_628035 secreted penicillin-binding protein	LLVLPLLI	8	-	-	ND
JO-193	<i>Homo sapiens</i>	NP_683880 cathepsin H isoform b precursor	LFLLPALV	9	-	-	ND

* ND: Recombinant His-MTD-EGFP proteins of novel MTDs could not be prepared overall due to failure either on construction of expression vector, inducible expression, purification or preparation in soluble form.

서열목록

- <110> ProCell Therapeutics, Inc.
- <120> NOVEL MACROMOLECULE TRANSDUCTION DOMAINS, METHOD FOR THE IDENTIFICATION AND USES THEREOF
- <130> PB11-09324D8
- <150> US60/887,060
- <151> 2007-01-29
- <160> 586
- <170> KopatentIn 1.71
- <210> 1
- <211> 12
- <212> PRT
- <213> Artificial Sequence

<220><223> MTD J0-01

<400> 1

Ala Val Val Val Cys Ala Ile Val Leu Ala Ala Pro

1 5 10

<210> 2

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MTD J0-02

<400> 2

Pro Leu Ala Leu Leu Val Leu Leu Leu Leu Gly Pro

1 5 10

<210> 3

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MTD J0-03

<400> 3

Leu Leu Leu Ala Phe Ala Leu Leu Cys Leu Pro

1 5 10

<210> 4

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MTD J0-04

<400> 4

Leu Leu Gly Ala Leu Ala Ala Val Leu Leu Ala Leu Ala

1 5 10

<210> 5

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MTD J0-05

<400> 5
 Pro Val Leu Leu Ala Leu Gly Val Gly Leu Val Leu Leu Gly Leu Ala
 1 5 10 15
 Val

<210> 6
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> MTD JO-06

<400> 6
 Ala Ala Ala Ala Val Leu Leu Ala Ala
 1 5

<210> 7
 <211> 8

<212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> MTD JO-07

<400> 7
 Ile Val Val Ala Val Val Val Ile
 1 5

<210> 8
 <211> 9

<212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> MTD JO-08

<400> 8
 Ala Val Leu Ala Pro Val Val Ala Val
 1 5

<210> 9
 <211> 13

<212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> MTD JO-09

<400> 9

Leu Ala Val Cys Gly Leu Pro Val Val Ala Leu Leu Ala

1 5 10

<210> 10

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MTD JO-10

<400> 10

Leu Gly Gly Ala Val Val Ala Ala Pro Val Ala Ala Ala Val Ala Pro

1 5 10 15

<210> 11

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MTD JO-11

<400> 11

Leu Leu Leu Val Leu Ala Val Leu Leu Ala Val Leu Pro

1 5 10

<210> 12

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MTD JO-12

<400> 12

Leu Leu Ile Leu Leu Leu Leu Pro Leu Leu Ile Val

1 5 10

<210> 13

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MTD JO-13

<400> 13

Leu Ala Ala Ala Ala Leu Ala Val Leu Pro Leu

1 5 10

<210> 14

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MTD JO-14

<400> 14

Phe Leu Met Leu Leu Leu Pro Leu Leu Leu Leu Val Ala

1 5 10

<210> 15

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MTD JO-15

<400> 15

Ala Ala Ala Ala Ala Ala Leu Gly Leu Ala Ala Ala Val Pro Ala

1 5 10 15

<210> 16

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MTD JO-16

<400> 16

Leu Leu Leu Ala Ala Leu Leu Leu Ile Ala Phe Ala Ala Val

1 5 10

<210> 17

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MTD JO-17

<400> 17

Ala Leu Ala Ala Val Val Leu Ile Pro Leu Gly Ile Ala Ala

1 5 10

<210> 18

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MTD JO-18

<400> 18

Ala Ala Leu Ala Leu Gly Val Ala Ala Ala Pro Ala Ala Ala Pro Ala

1 5 10 15

<210> 19

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MTD JO-19

<400> 19

Ala Ala Leu Ile Gly Ala Val Leu Ala Pro Val Val Ala Val

1 5 10

<210> 20

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MTD JO-20

<400> 20

Ala Ala Gly Ile Ala Val Ala Ile Ala Ala Ile Val Pro Leu Ala

1 5 10 15

<210> 21

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MTD JO-21

<400> 21

Ile Ala Val Ala Ile Ala Ala Ile Val Pro Leu Ala

1 5 10

<210> 22
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> MTD JO-22
 <400> 22
 Val Ala Met Ala Ala Ala Ala Val Leu Ala Ala Pro Ala Leu Ala
 1 5 10 15

<210> 23
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> MTD JO-23
 <400> 23
 Leu Ala Val Leu Val Leu Leu Val Leu Leu Pro
 1 5 10

<210> 24
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> MTD JO-24
 <400> 24
 Val Val Ala Val Leu Ala Pro Val Leu
 1 5

<210> 25
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> MTD JO-25
 <400> 25
 Ala Ala Leu Leu Leu Pro Leu Leu Leu Leu Leu Pro
 1 5 10

<210> 26
 <211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MTD JO-26

<400> 26

Pro Ala Ala Val Ala Ala Leu Leu Val Ile

1 5 10

<210> 27

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MTD JO-27

<400> 27

Leu Leu Ile Ala Ala Leu Leu Pro

1 5

<210> 28

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MTD JO-28

<400> 28

Ala Ala Val Val Leu Leu Pro Leu Ala Ala Ala Pro

1 5 10

<210> 29

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MTD JO-29

<400> 29

Ala Ala Ala Ala Ala Ala Leu Leu Val Pro

1 5 10

<210> 30

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MTD JO-30

<400> 30

Leu Pro Val Val Ala Leu Leu Ala

1 5

<210> 31

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MTD JO-31

<400> 31

Ala Ala Ala Leu Ala Ala Pro Leu Ala Leu Pro

1 5 10

<210> 32

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MTD JO-32

<400> 32

Leu Leu Leu Ala Leu Leu Leu Ala Ala

1 5

<210> 33

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MTD JO-33

<400> 33

Ala Val Ala Val Val Ala Leu Leu

1 5

<210> 34

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MTD JO-34

<400> 34

Leu Leu Leu Ile Ile Val Leu Leu Ile Val Pro

1 5 10

<210> 35

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MTD JO-35

<400> 35

Leu Ala Leu Ala Ala Ala Val Val Pro

1 5

<210> 36

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MTD JO-36

<400> 36

Pro Ala Ala Leu Ala Leu Leu Leu Val Ala

1 5 10

<210> 37

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><

223> MTD JO-37

<400> 37

Ile Val Ala Leu Leu Leu Val Pro Leu Val Leu Ala Ile Ala Ala Val

1 5 10 15

Leu

<210> 38

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MTD JO-38

<400> 38

Ile Val Ala Leu Leu Leu Val Pro

1 5

<210> 39

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MTD JO-39

<400> 39

Pro Leu Val Leu Ala Ile Ala Ala Val Leu

1 5 10

<210> 40

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MTD JO-40

<400> 40

Pro Leu Val Leu Ala Ala Leu Val Ala

1 5

<210> 41

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MTD JO-41

<400> 41

Ala Ala Ala Leu Leu Ala Val Ala

1 5

<210> 42

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MTD JO-42

<400> 42

Pro Leu Leu Leu Leu Ala Leu Ala

1 5
<210> 43
<211> 7
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> MTD JO-43
<400> 43

Ala Leu Ala Leu Val Val Ala

1 5
<210> 44
<211> 8
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> MTD JO-44
<400> 44

Val Ala Ala Val Val Val Ala Ala

1 5
<210> 45
<211> 9
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> MTD JO-45
<400> 45

Pro Leu Leu Pro Leu Leu Leu Leu Val

1 5
<210> 46
<211> 13
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> MTD JO-46
<400> 46

Val Val Leu Val Val Val Leu Pro Leu Ala Val Leu Ala

1 5 10

<210> 47

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MTD JO-47

<400> 47

Ala Ala Ala Val Pro Val Leu Val Ala Ala

1 5 10

<210> 48

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MTD JO-48

<400> 48

Pro Ala Leu Leu Leu Leu Leu Ala Ala Val Val

1 5 10

<210> 49

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MTD JO-49

<400> 49

Pro Leu Ala Ile Leu Leu Leu Leu Leu Ile Ala Pro

1 5 10

<210> 50

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MTD JO-50

<400> 50

Pro Leu Leu Ala Leu Val Leu Leu Leu Ala Leu Ile Ala

1 5 10

<210> 51
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> MTD JO-51
 <400> 51
 Val Val Ala Val Leu Ala Leu Val Leu Ala Ala Leu
 1 5 10

<210> 52
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> MTD JO-52
 <400> 52
 Pro Leu Leu Leu Leu Leu Pro Ala Leu
 1 5

<210> 53
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> MTD JO-53
 <400> 53
 Leu Ala Ala Val Ala Ala Leu Ala Val Val Val Pro
 1 5 10

<210> 54
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> MTD JO-54
 <400> 54
 Leu Leu Leu Leu Val Leu Ile Leu Pro Leu Ala Ala
 1 5 10

<210> 55
 <211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MTD JO-55

<400> 55

Leu Ala Val Val Val Val Ala Ala Val

1 5

<210> 56

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MTD JO-56

<400> 56

Val Leu Leu Ala Ala Ala Leu Ile Ala

1 5

<210> 57

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MTD JO-57

<400> 57

Leu Ile Ala Leu Leu Ala Ala Pro Leu Ala

1 5 10

<210> 58

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MTD JO-58

<400> 58

Leu Ala Leu Leu Leu Leu Ala Ala

1 5

<210> 59

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MTD JO-59

<400> 59

Leu Leu Ala Ala Ala Leu Leu Leu Leu Leu Ala

1 5 10

<210> 60

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MTD JO-60

<400> 60

Val Ile Ile Ala Leu Ile Val Ile Val Ala

1 5 10

<210> 61

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MTD JO-61

<400> 61

Val Val Leu Val Val Ala Ala Val Leu Ala Leu

1 5 10

<210> 62

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MTD JO-62

<400> 62

Val Ala Val Ala Ile Ala Val Val Leu

1 5

<210> 63

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MTD JO-63

<400> 63

Pro Leu Ile Val Val Val Ala Ala Ala Val Val Ala Val

1 5 10

<210> 64

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MTD JO-64

<400> 64

Pro Leu Ala Val Ala Val Ala Ala Val Ala Ala

1 5 10

<210> 65

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MTD JO-65

<400> 65

Ala Ala Ile Ala Leu Val Ala Val Val Leu

1 5 10

<210> 66

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MTD JO-66

<400> 66

Ala Ala Ala Leu Ala Ala Ile Ala Val Ile

1 5 10

<210> 67

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MTD JO-67

<400> 67

Ala Ala Ala Pro Ala Val Ala Ala

1 5
 <210> 68
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> MTD JO-68
 <400> 68

Leu Leu Leu Ala Ala Leu Pro

1 5
 <210> 69
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 ><223> MTD JO-69
 <400> 69

Ala Leu Leu Ala Val Val Ala Ala

1 5
 <210> 70
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> MTD JO-70
 <400> 70

Ala Val Val Val Val Leu Pro Ile Leu Leu

1 5 10
 <210> 71
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> MTD JO-71
 <400> 71

Ala Leu Ala Leu Leu Leu Val Pro

1 5

<210> 72

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MTD JO-72

<400> 72

Leu Val Val Leu Leu Ala Ala Leu Leu Val Leu

1 5 10

<210> 73

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MTD JO-73

<400> 73

Pro Val Leu Leu Leu Leu Ala Pro

1 5

<210> 74

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MTD JO-74

<400> 74

Ala Leu Ala Val Val Ala Ala Pro

1 5

<210> 75

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MTD JO-75

<400> 75

Val Ile Val Ala Leu Leu Ala Val

1 5

<210> 76

<211> 8
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> MTD JO-76
 <400> 76

Ala Leu Val Leu Pro Leu Ala Pro
 1 5

<210> 77
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> MTD JO-77
 <400> 77

Ala Val Ala Leu Leu Ile Leu Ala Val

1 5
 <210> 78
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> MTD JO-78
 <400> 78

Val Leu Leu Ala Val Ile Pro
 1 5

<210> 79
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> MTD JO-79
 <400> 79

Leu Ile Val Ala Ala Val Val Val Val Ala Val Leu Ile
 1 5 10

<210> 80
 <211> 7
 <212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223>

> MTD JO-80

<400> 80

Ala Val Val Val Ala Ala Pro

1 5

<210> 81

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MTD JO-81

<400> 81

Leu Ala Ala Val Leu Leu Leu Ile Pro

1 5

<210> 82

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MTD JO-82

<400> 82

Leu Leu Leu Leu Leu Leu Ala Val Val Pro

1 5 10

<210> 83

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MTD JO-83

<400> 83

Ala Val Ala Leu Val Ala Val Val Ala Val Ala

1 5 10

<210> 84

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MTD JO-84

<400> 84

Leu Val Ala Ala Leu Leu Ala Val Leu

1 5

<210> 85

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MTD JO-85

<400> 85

Leu Leu Ala Ala Ala Ala Leu Leu Leu Ala

1 5 10

<210> 86

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MTD JO-86

<400> 86

Leu Ala Val Leu Ala Ala Ala Pro

1 5

<210> 87

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MTD JO-87

<400> 87

Val Val Val Leu Leu Val Leu Leu Ala Leu Val Val Val

1 5 10

<210> 88

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MTD JO-88

<400> 88

Val Val Ile Ala Val Val Pro

1 5

<210> 89

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MTD JO-89

<400> 89

Val Leu Leu Val Leu Leu Ala Leu Val

1 5

<210> 90

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MTD JO-90

<400> 90

Val Leu Leu Val Leu Leu Ala Leu Val

1 5

<210> 91

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220

><223> MTD JO-91

<400> 91

Pro Val Leu Val Pro Ala Val Pro

1 5

<210> 92

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MTD JO-92

<400> 92

Pro Ala Leu Ala Leu Ala Leu Ala

1 5
 <210> 93
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> MTD JO-93
 <400> 93

Ala Ala Ala Ala Pro Ala Leu Ala

1 5
 <210> 94
 <211> 9
 <212> PRT
 <213>

Artificial Sequence

<220><223> MTD JO-94
 <400> 94

Ile Val Leu Pro Val Leu Ala Ala Pro

1 5
 <210> 95
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> MTD JO-95
 <400> 95

Leu Val Leu Leu Leu Leu Pro Leu Leu Ile

1 5 10
 <210> 96
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> MTD JO-96
 <400> 96

Leu Ala Ala Val Ala Pro Ala Leu Ala Val Val

1 5 10

<210> 97

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MTD JO-97

<400> 97

Ile Leu Val Leu Val Leu Pro Ile

1 5

<210> 98

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MTD JO-98

<400> 98

Ile Leu Leu Pro Leu Leu Leu Pro

1 5

<210> 99

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MTD JO-99

<400> 99

Ile Ala Pro Ala Val Val Ala Ala Leu Pro

1 5 10

<210> 100

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MTD JO-100

<400> 100

Leu Leu Leu Val Ala Val Val Pro Leu Leu Val Pro

1 5 10

<210> 101

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MTD JO-101

<400> 101

Leu Ile Leu Leu Leu Leu Pro Ile Ile

1 5

<210> 102

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MTD JO-102

<400> 102

Ala Val Leu Ala Ala Pro Ala Val Leu Val

1 5 10

<210> 103

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MTD JO-103

<400> 103

Leu Ala Leu Pro Val Leu Leu Leu Ala

1 5

<210> 104

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MTD JO-104

<400> 104

Leu Ala Leu Ala Leu Leu Leu

1 5

<210> 105

<211>

> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MTD JO-105

<400> 105

Val Ala Val Pro Leu Leu Val Val Ala

1 5

<210> 106

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MTD JO-106

<400> 106

Ala Val Ala Val Ala Pro Val Ala Ala Ala Ala

1 5 10

<210> 107

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MTD JO-107

<400> 107

Ala Ala Ala Val Val Ala Ala Val Pro Ala Ala

1 5 10

<210> 108

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MTD JO-108

<400> 108

Ala Leu Leu Ala Ala Leu Leu Ala Pro

1 5

<210> 109

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MTD JO-109

<400> 109

Leu Leu Ala Leu Leu Val Pro

1 5

<210> 110

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MTD JO-110

<400> 110

Ala Leu Leu Ala Ala Leu Leu Ala Leu Leu Ala Leu Leu Val

1 5 10

<210> 111

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MTD JO-111

<400> 111

Ala Ala Ala Leu Pro Leu Leu Val Leu Leu Pro

1 5 10

<210> 112

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MTD JO-112

<400> 112

Ala Ala Ala Val Pro Ala Ala Leu Ala Pro

1 5 10

<210> 113

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MTD JO-113
 <400> 113
 Ala Ala Leu Ala Val Ala Ala Leu Ala Ala
 1 5 10

<210> 114
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220><223> MTD JO-114
 <400> 114
 Ala Val Leu Ala Ala Ala Val Pro
 1 5

<210> 115
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220><223> MTD JO-115
 <400> 115
 Val Ala Ala Leu Pro Ala Pro Ala
 1 5

<210> 116
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220><223> MTD JO-116
 <400> 116
 Ala Leu Ala Leu Ala Val Pro Ala Val Leu Pro
 1 5 10

<210> 117
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220><223> MTD JO-117
 <400> 117

Ala Ala Leu Leu Pro Ala Ala Val Ala Val Pro

1 5 10

<210> 118

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MTD JO-118

<400> 118

Ala Val Val Val Ala Leu Ala Pro

1 5

<210> 119

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MTD JO-119

<400> 119

Ala Ala Ala Val Ala Leu Pro Ala Ala Ala Ala Leu Leu Ala

1 5 10

<210> 120

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MTD JO-120

<400> 120

Ala Val Val Leu Pro Leu Ala Leu Val Ala Val Ala Pro

1 5 10

<210> 121

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MTD JO-121

<400> 121

Leu Val Ala Leu Pro Leu Leu Pro

1 5
 <210> 122
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> MTD JO-122
 <400> 122

Val Val Val Pro Leu Leu Leu Ile Val Pro

1 5 10
 <210> 123
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220><223> MTD JO-123

<400> 123

Leu Ala Val Val Leu Ala Val Pro

1 5
 <210> 124
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220><223> MTD JO-124

<400> 124

Leu Leu Ala Val Pro Ile Leu Leu Val Pro

1 5 10
 <210> 125
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220><223> MTD JO-125

<400> 125

Leu Val Ala Leu Val Leu Leu Pro

1 5
 <210> 126

<211

> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MTD JO-126

<400> 126

Leu Val Leu Leu Leu Ala Val Leu Leu Leu Ala Val Leu Pro

1 5 10

<210> 127

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MTD JO-127

<400> 127

Leu Leu Ala Pro Val Val Ala Leu Val Ile Leu Pro

1 5 10

<210> 128

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223>

> MTD JO-128

<400> 128

Val Leu Ala Val Leu Ala Val Pro Val Leu Leu Leu Pro

1 5 10

<210> 129

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MTD JO-129

<400> 129

Val Val Ile Ala Val Val Pro Val Val Val

1 5 10

<210> 130

<211> 11

<212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> MTD JO-130
 <400> 130
 Leu Leu Val Leu Leu Ala Leu Val Val Val Pro
 1 5 10

<210> 131
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> MTD JO-131
 <400> 131
 Val Leu Leu Ala Leu Pro Val Val Ala Ala Pro
 1 5 10

<210> 132
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> MTD JO-132
 <400> 132
 Ala Val Val Val Pro Ala Ile Val Leu Ala Ala Pro
 1 5 10

<210> 133
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> MTD JO-133
 <400> 133
 Ala Val Leu Val Pro Ala Ala Ala Leu Val Pro
 1 5 10

<210> 134
 <211> 10
 <212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MTD JO-134

<400> 134

Val Val Ala Ala Leu Pro Leu Val Leu Pro

1 5 10

<210> 135

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MTD JO-135

<400> 135

Ala Ala Val Ala Leu Pro Ala Ala Ala Pro

1 5 10

<210

> 136

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MTD JO-136

<400> 136

Leu Ile Ala Leu Pro Leu Leu Pro

1 5

<210> 137

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MTD JO-137

<400> 137

Leu Leu Ala Leu Pro Leu Val Leu Val Leu Ala Leu Pro

1 5 10

<210> 138

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MTD JO-138

<400> 138

Ile Val Pro Leu Leu Leu Ala Ala Pro

1 5

<210> 139

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MTD JO-139

<400> 139

Leu Leu Leu Ala Pro Leu Leu Leu Ala Pro

1 5 10

<210> 140

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MTD JO-140

<400> 140

Leu Ala Ala Leu Pro Val Ala Ala Val Pro

1 5 10

<210> 141

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MTD JO-141

<400> 141

Ala Leu Ala Val Ile Val Leu Val Leu Leu

1 5 10

<210> 142

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MTD JO-142

<400> 142

Leu Ala Leu Leu Leu Pro Ala Ala Leu Ile

1 5 10

<210> 143

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MTD JO-143

<400> 143

Ala Leu Leu Pro Leu Leu Ala Val Val Leu Pro

1 5 10

<210> 144

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MTD JO-144

<400> 144

Ala Ile Ala Val Pro Val Leu Ala Ala Pro

1 5 10

<210> 145

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MTD JO-145

<400> 145

Ala Ala Ala Pro Val Leu Leu Leu Leu Leu

1 5 10

<210> 146

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MTD JO-146

<400> 146

Ala Ala Ala Val Ala Val Leu Ala Leu Ala Pro

1 5 10

<210> 147

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MTD JO-147

<400> 147

Ala Ala Leu Ala Ala Leu Val Val Ala Ala Pro

1 5 10

<210> 148

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MTD JO-148

<400> 148

Ala Ala Leu Ala Ala Val Pro Leu Ala Leu Ala Pro

1 5 10

<210> 149

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MTD JO-149

<400> 149

Ala Leu Ala Val Ala Ala Pro Ala Leu Ala Leu Leu Pro

1 5 10

<210> 150

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MTD JO-150

<400> 150

Ala Ala Leu Pro Ala Ala Ala Pro

1 5

<210> 151

<211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> MTD JO-151
 <400>
 > 151

Ala Ala Ala Pro Val Ala Ala Val Pro

1 5

<210> 152
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> MTD JO-152

<400> 152

Leu Leu Ala Val Leu Leu Ala Leu Leu Pro

1 5 10

<210> 153
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> MTD JO-153

<400> 153

Val Leu Ala Leu Leu Val Ala Val Val Pro

1 5 10

<210> 154
 <211> 9
 <212> PRT

<213> Artificial Sequence
 <220><223> MTD JO-154

<400> 154

Ala Leu Val Val Pro Ala Ala Val Pro

1 5

<210> 155
 <211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MTD JO-155

<400> 155

Ala Val Val Leu Pro Leu Leu Leu Pro

1 5

<210> 156

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MTD JO-156

<400> 156

Ala Val Ile Pro Val Ala Val Leu Val Pro

1 5 10

<210> 157

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MTD JO-157

<400> 157

Ala Ala Ala Val Pro Ala Ala Val Leu Ala Pro

1 5 10

<210> 158

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MTD JO-158

<400> 158

Val Ala Val Pro Val Val Leu Ala Ile Leu Pro

1 5 10

<210> 159

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MTD JO-159

<400> 159

Ile Ala Ile Ala Ala Ile Pro Ala Ile Leu Ala Leu

1 5 10

<210> 160

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MTD JO-160

<400> 160

Ala Leu Ile Ala Pro Ala Leu Ala Ala Pro

1 5 10

<210> 161

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MTD JO-161

<400> 161

Ala Ala Ile Ala Leu Val Ala Pro Ala Leu

1 5 10

<210> 162

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MTD JO-162

<400> 162

Leu Ala Pro Ala Val Ala Ala Ala Pro

1 5

<210> 163

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MTD JO-163
 <400> 163
 Val Ala Ile Ile Val Pro Ala Val Val Ala Ile Ala Leu Ile Ile
 1 5 10 15

<210> 164
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220><

223> MTD JO-164
 <400> 164
 Ala Val Val Ala Ile Ala Leu Ile Ile
 1 5

<210> 165
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220><223> MTD JO-165
 <400> 165
 Leu Ala Ala Val Pro Ala Ala Ala Pro
 1 5

<210> 166
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220><223> MTD JO-166
 <400> 166
 Ala Val Ala Ala Leu Pro Leu Ala Ala Pro
 1 5 10

<210> 167
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220><223> MTD JO-167

<400> 167

Leu Ala Ala Pro Ala Ala Ala Ala Pro

1 5

<210> 168

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MTD JO-168

<400> 168

Leu Ala Ala Val Val Pro Val Ala Ala Ala Val Pro

1 5 10

<210> 169

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MTD JO-169

<400> 169

Val Ala Ala Pro Ala Ala Ala Ala Pro

1 5

<210> 170

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MTD JO-170

<400> 170

Ala Val Pro Val Pro Val Pro Leu

1 5

<210> 171

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MTD JO-171

<400> 171

Leu Leu Ile Leu Pro Ile Val Leu Leu Pro

1 5 10
 <210> 172
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> MTD JO-172

<400> 172
 Ala Leu Ala Leu Pro Ala Leu Ala Ile Ala Pro

1 5 10
 <210> 173
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> MTD JO-173

<400> 173
 Ala Val Ile Pro Ile Leu Ala Val Pro

1 5
 <210> 174
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> MTD JO-174

<400> 174
 Leu Ile Leu Leu Leu Pro Ala Val Ala Leu Pro

1 5 10
 <210>
 175
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> MTD JO-175

<400> 175
 Ile Val Leu Ala Pro Val Pro Ala Ala Ala
 1 5 10

<210> 176

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MTD JO-176

<400> 176

Val Val Val Val Pro Val Leu Ala Ala Ala Ala

1 5 10

<210> 177

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MTD JO-177

<400> 177

Leu Val Ala Val Ala Ala Pro

1 5

<210> 178

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MTD JO-178

<400> 178

Leu Val Leu Ala Ala Pro Ala Ala Leu Pro

1 5 10

<210> 179

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MTD JO-179

<400> 179

Leu Ile Ala Pro Ala Ala Ala Val Pro

1 5

<210> 180

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MTD JO-180

<400> 180

Ala Leu Ala Ala Leu Pro Ile Ala Leu Pro

1 5 10

<210> 181

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MTD JO-181

<400> 181

Ala Val Leu Leu Leu Pro Ala Ala Ala

1 5

<210> 182

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MTD JO-182

<400> 182

Ile Ala Leu Ala Leu Leu Pro Leu Leu

1 5

<210

> 183

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MTD JO-183

<400> 183

Val Leu Leu Ala Ala Ala Leu Ile Ala Pro

1 5 10

<210> 184

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MTD JO-184

<400> 184

Ala Pro Ala Val Leu Pro Pro Val Val Val Ile

1 5 10

<210> 185

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MTD JO-185

<400> 185

Val Val Gly Leu Leu Val Ala Ala Leu

1 5

<210> 186

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MTD JO-186

<400> 186

Ala Ala Ile Ala Ala Ala Ala Pro Leu Ala Ala

1 5 10

<210> 187

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MTD JO-187

<400> 187

Leu Leu Leu Ala Val Ala Pro

1 5

<210> 188

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MTD JO-188
 <400> 188
 Leu Ile Leu Leu Leu Pro Leu Ala Ala Leu
 1 5 10

<210> 189
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220><223> MTD JO-189
 <400> 189
 Ala Leu Leu Leu Leu Val Leu Ala
 1 5

<210> 190
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220><223> MTD JO-190
 <400> 190
 Leu Leu Leu Leu Leu Leu Pro Leu Ala
 1 5

<210> 191
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220><223> MTD JO-191
 <400> 191
 Leu Ala Leu Pro Leu Leu Leu Pro
 1 5

<210> 192
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220><223> MTD JO-192
 <400> 192

Leu Leu Val Leu Pro Leu Leu Ile

1 5
 <210> 193
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> MTD JO-193
 <400> 193

Leu Pro Leu Leu Pro Ala Ala Leu Val

1 5
 <210> 194
 <211> 36
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> MTD JO-01
 <400> 194

gcggtggtgg tgtgcgcgat tgtgctggcg gcgccg 36

<210> 195
 <211> 36
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> MTD JO-02
 <400> 195

ccgctggcgc tgctggtgct gctgctgctg ggcccc 36

<210> 196
 <211> 33
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> MTD JO-03
 <400> 196

ctgctgctgg cgtttgcgct gctgtgcctg ccg 33

<210> 197
 <211> 39

<212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> MTD JO-04
 <400> 197
 ctgctgggcg cactggcggc ggtgctgctg gcgctggcg 39
 <210> 198
 <211> 51
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> MTD JO-05
 <400> 198
 ccggtgctgc tggcgtggg cgtgggctg gtgctgctgg gcctggcggg g 51
 <210> 199
 <211> 27
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> MTD JO-06
 <400> 199
 gcgggcggcg cggtgctgct ggcggcg 27

 <210> 200
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> MTD JO-07
 <400> 200
 attgtggtgg cggtggtggt gatt 24
 <210> 201
 <211> 27
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> MTD JO-08
 <400> 201
 gcggtgctgg cgccggtggt ggcggtg 27
 <210> 202

<211> 39
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> MTD JO-09
 <400> 202
 ctggcgggtgt gcggcctgcc ggtggtggcg ctgctggcg 39

<210> 203
 <211> 48
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> MTD JO-10
 <400> 203
 ctgggcggcg cggtggtggc ggcgccggtg gcggcggcgg tggcgccg 48

<210> 204
 <211> 39
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> MTD JO-11
 <400> 204
 ctgctgctgg tgetggcggg gctgctggcg gtgctgccg 39

<210> 205
 <211> 36
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> MTD JO-12
 <400> 205
 ctgctgattc tgctgctgct gccgctgctg attgtg 36

<210> 206
 <211> 33
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> MTD JO-13
 <400> 206

ctggcggcgg cggcgtggc ggtgctgccg ctg 33

<210> 207

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> MTD JO-14

<400> 207

tttctgatgc tgctgctgcc gctgctgctg ctgctggtgg cg 42

<210> 208

<211> 45

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> MTD JO-15

<400> 208

gcggcggcgg cggcggcgt gggcctggcg gcggcgggtgc cggcg 45

<210> 209

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> MTD JO-16

<400> 209

ctgctgctgg cggcgtgct gctgattgcg ttgcggcgg tg 42

<210> 210

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> MTD JO-17

<400> 210

gcgctggcgg cggtggtgct gattccgctg ggcattgccc cg 42

<210> 211

<211> 48

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> MTD JO-18

<400> 211
 gcggcgctgg cgctgggcgt ggcggcggcg ccggcggcgg cgccggcg 48

<210> 212
 <211> 42
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> MTD JO-19
 <400> 212
 gcggcgctga ttggcgcggt gctggcgccg gtggtggcgg tg 42

<210> 213
 <211> 45
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> MTD JO-20
 <400> 213
 gcggcgggca ttgcggtggc gattgcggcg attgtgccgc tggcg 45

<210> 214
 <211> 36
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> MTD JO-21
 <400> 214
 attgcggtgg cgattgcggc gattgtgccg ctggcg 36

<210> 215
 <211> 45
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> MTD JO-22
 <400> 215
 gtggcgatgg cggcggcggc ggtgctggcg gcgccggcgc tggcg 45

<210> 216
 <211> 33
 <212> DNA

<213> Artificial Sequence
 <220><223> MTD JO-23
 <400> 216
 ctggcgggtgc tgggtgctgct ggtgctgctg ccg 33
 <210> 217
 <211> 27
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> MTD JO-24
 <400> 217
 gtggtggcgg tgctggcgcc ggtgctg 27

 <210> 218
 <211> 36
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> MTD JO-25
 <400> 218
 gcggcgtgc tgctgccgct gctgctgctg ctgccg 36
 <210> 219
 <211> 30
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> MTD JO-26
 <400> 219
 ccggcggcgg tggcggcgt gctggtgatt 30
 <210> 220
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> MTD JO-27
 <400> 220
 ctgctgattg cggcgtgct gccg 24

 <210> 221

<211> 36
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> MTD JO-28
 <400> 221
 gcggcgggtgg tgctgctgcc gctggcggcg gcgccc 36
 <210> 222
 <211> 30
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> MTD JO-29
 <400> 222
 gcggcggcgg cggcggcgct gctggtgccg 30
 <210> 223
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> MTD JO-30
 <400> 223
 ctgccggtgg tggcgctgct ggcg 24

 <210> 224
 <211> 33
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> MTD JO-31
 <400> 224
 gcggcggcgc tggcggcgcc gctggcgctg ccg 33
 <210> 225
 <211> 27
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> MTD JO-32
 <400> 225
 ctgctgctgg cgctgctgct ggccggcg 27

<210> 226
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> MTD J0-33
 <400> 226
 gcggtggcgg tggtagcgct gctg 24

<210> 227
 <211> 33
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> MTD J0-34
 <400> 227
 ctgctgctga ttattgtgct gctgattgtg ccg 33

<210> 228
 <211> 27
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> MTD J0-35
 <400> 228
 ctggcgtgg cggcggcggg ggtgccg 27

<210> 229
 <211> 30
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> MTD J0-36
 <400> 229
 ccggcggcgc tggcgtgct gctggtggcg 30

<210> 230
 <211> 51
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> MTD J0-37

<400> 230
attgtggcgc tgctgctggt gccgctggtg ctggcgattg cggcggctgct g 51
<210> 231
<211> 24
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> MTD JO-38
<400> 231
attgtggcgc tgctgctggt gccg 24
<210> 232
<211> 30
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> MTD JO-39
<400> 232
ccgctggtgc tggcgattgc ggcggtgctg 30
<210> 233
<211> 27
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> MTD JO-40
<400> 233
ccgctggtgc tggcggcgct ggtggcg 27
<210> 234
<211> 24
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> MTD JO-41
<400> 234
gcggcggcgc tgctggcggg ggcg 24
<210> 235
<211> 24
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220><223> MTD JO-42
 <400> 235
 ccgctgctgc tgctggcgct ggcg 24

<210> 236
 <211> 21
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220><223> MTD JO-43
 <400> 236
 gcgctggcgc tgggtggc g 21
 <210> 237
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220><223> MTD JO-44
 <400> 237
 gtggcggcgg tgggtggc ggcg 24
 <210> 238
 <211> 27
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220><223> MTD JO-45
 <400> 238
 ccgctgctgc cgctgctgct gctggcg 27
 <210> 239
 <211> 39
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220><223> MTD JO-46
 <400> 239
 gtggctgctgg tgggtggcgt gccgctggcg gtgctggcg 39
 <210> 240
 <211> 30

<212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> MTD JO-47
 <400> 240
 gcggcggcgg tgccggtgct ggtggcggcg 30
 <210> 241
 <211> 36
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> MTD JO-48
 <400> 241
 ccggcgtgc tgetgctgct gctggcggcg gtggtg 36

 <210> 242
 <211> 36
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> MTD JO-49
 <400> 242
 ccgctggcga ttctgctgct gctgctgatt gcgccg 36
 <210> 243
 <211> 39
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> MTD JO-50
 <400> 243
 ccgctgctgg cgctggtgct gctgctggcg ctgattgcg 39
 <210> 244
 <211> 36
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> MTD JO-51
 <400> 244
 gtggtggcgg tgctggcgct ggtgctggcg gcgctg 36

<210> 245
 <211> 27
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> MTD JO-52
 <400> 245
 ccgctgctgc tgctgctgcc ggcgctg 27
 <210> 246
 <211> 36
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> MTD JO-53
 <400> 246
 ctggcggcgg tggcggcgt ggcggtggtg gtgccg 36
 <210> 247
 <211> 36
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> MTD JO-54
 <400> 247
 ctgctgctgc tggctgctgat tctgccgctg gcggcg 36

 <210> 248
 <211> 27
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> MTD JO-55
 <400> 248
 ctggcgggtgg tgggtggtggc ggcggtg 27
 <210> 249
 <211> 27
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> MTD JO-56
 <400> 249

gtgctgctgg cggcggcgct gattgcg 27

<210> 250

<211> 30

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> MTD JO-57

<400> 250

ctgattgcgc tgctggcggc gccgctggcg 30

<210> 251

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> MTD JO-58

<400> 251

ctggcgctgc tgctgctggc ggcg 24

<210> 252

<211> 36

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> MTD JO-59

<400> 252

ctgctggcgg cggcgtgct gctgctgctg ctggcg 36

<210> 253

<211> 30

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> MTD JO-60

<400> 253

gtgattattg cgctgattgt gattgtggcg 30

<210> 254

<211> 33

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> MTD JO-61
 <400> 254
 gtggtgctgg tggtagcggc ggtgctggcg ctg 33
 <210> 255
 <211> 27
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> MTD JO-62
 <400> 255
 gtggcggtag cgattgtagt ggtgctg 27
 <210> 256
 <211> 39
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> MTD JO-63
 <400> 256
 ccgctgattg tggtagtagc ggcggtagtg gtggcggtag 39
 <210> 257
 <211> 33
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> MTD JO-64
 <400> 257
 ccgctggcgg tagcggtagc ggcggtagcg gcg 33
 <210> 258
 <211> 30
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> MTD JO-65
 <400> 258
 gcggcgattg cgtagtagc ggtgtagtagt 30
 <210> 259
 <211> 30
 <212> DNA

<213> Artificial Sequence
 <220><223> MTD JO-66
 <400> 259
 gcggcggcgc tggcggcgat tgcggtgatt 30

<210> 260
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> MTD JO-67
 <400> 260
 gcggcggcgc cggcgggtggc ggcg 24

<210> 261
 <211> 21
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> MTD JO-68
 <400> 261
 ctgctgctgg cggcgtgcc g 21

<210> 262
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> MTD JO-69
 <400> 262
 gcgctgctgg cggtggtggc ggcg 24

<210> 263
 <211> 30
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> MTD JO-70
 <400> 263
 gcggtggtgg tggctgctgcc gattctgctg 30

<210> 264

<211> 27
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> MTD JO-71
 <400> 264
 gcgctggcgc tgetgctgct ggtgccg 27
 <210> 265
 <211> 33
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> MTD JO-72
 <400> 265
 ctggtggtgc tgctggcggc gctgctggtg ctg 33

 <210> 266
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> MTD JO-73
 <400> 266
 ccggtgctgc tgetgctggc gccg 24
 <210> 267
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> MTD JO-74
 <400> 267
 gcgctggcgg tggtggcggc gccg 24
 <210> 268
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> MTD JO-75
 <400> 268

gtgattgtgg cgctgctggc ggtg 24

<210> 269
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> MTD JO-76
 <400> 269

gcgctggtgc tgccgctggc gccg 24

<210> 270
 <211> 27
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> MTD JO-77
 <400> 270

gcggtggcgc tgctgattct ggcggtg 27

<210> 271
 <211> 21
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> MTD JO-78
 <400> 271

gtgctgctgg cggtgattcc g 21

<210> 272
 <211> 39
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> MTD JO-79
 <400> 272

ctgattgtgg cggcgggtgt ggtggtggcg gtgctgatt 39

<210> 273
 <211> 21
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220><223> MTD HO-80
 <400> 273
 gcggtggtgg tggcggcgcc g 21
 <210> 274
 <211> 27
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> MTD JO-81
 <400> 274
 ctggcggcgg tgctgctgct gattccg 27

 <210> 275
 <211> 30
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> MTD JO-82
 <400> 275
 ctgctgctgc tgetgctggc ggtggtgccg 30
 <210> 276
 <211> 33
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> MTD JO-83
 <400> 276
 gcggtggcgc tggcggcggg ggtggcggtg gcg 33
 <210> 277
 <211> 27
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> MTD JO-84
 <400> 277
 ctggtggcgg cgetgctggc ggtgctg 27

 <210> 278
 <211> 33

<212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> MTD JO-85
 <400> 278
 ctgctggcgg cggcggcggc gctgctgctg gcg 33
 <210> 279
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> MTD JO-86
 <400> 279
 ctggcgggtgc tggcggcggc gccg 24
 <210> 280
 <211> 39
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> MTD JO-87
 <400> 280
 gtggtggtgc tgctggtgct gctggcgtg gtggtggtg 39

 <210> 281
 <211> 21
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> MTD JO-88
 <400> 281
 gtggtgattg cgggtggtgcc g 21
 <210> 282
 <211> 27
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> MTD JO-89
 <400> 282
 gtgctgctgg tgctgctggc gctggtg 27
 <210> 283

<211> 27
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> MTD JO-90
 <400> 283
 gtgctgctgg tgctgctggc gctggtg 27

<210> 284
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> MTD JO-91
 <400> 284
 ccggtgctgg tgccggcggg gccg 24

<210> 285
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> MTD JO-92
 <400> 285
 ccggcgctgg cgtggcgct ggcg 24

<210> 286
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> MTD JO-93
 <400> 286
 gcggcggcgg cgccggcgct ggcg 24

<210> 287
 <211> 27
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> MTD JO-94
 <400> 287

attgtgctgc cggctgctggc ggcgccg 27

<210> 288

<211> 30

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> MTD JO-95

<400> 288

ctggctgctgc tgctgctgcc gctgctgatt 30

<210> 289

<211> 33

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> MTD JO-96

<400> 289

ctggcggcgg tgccgccggc gctggcggtg gtg 33

<210> 290

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> MTD JO-97

<400> 290

attctggtgc tggctgctgcc gatt 24

<210> 291

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> MTD JO-98

<400> 291

attctgctgc cgctgctgct gctgccg 27

<210> 292

<211> 30

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> MTD JO-99

<400> 292	
attgcgccgg cggtggtggc ggcgctgccg	30
<210> 293	
<211> 36	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> MTD JO-100	
<400> 293	
ctgctgctgg tggcgggtgt gccgctgctg gtgccg	36
<210> 294	
<211> 27	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> MTD JO-101	
<400> 294	
ctgattctgc tgctgctgcc gattatt	27
<210> 295	
<211> 30	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> MTD JO-102	
<400> 295	
gcggtgctgg cggcgccggc ggtgctggtg	30
<210> 296	
<211> 27	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> MTD JO-103	
<400> 296	
ctggcgtgc cggtgctgct gctggcg	27
<210> 297	
<211> 21	
<212> DNA	

<213> Artificial Sequence
 <220><223> MTD JO-104
 <400> 297
 ctggcgctgg cgctgctgct g 21
 <210> 298
 <211> 27
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> MTD JO-105
 <400> 298
 gtggcggtgc cgctgctggt ggtggcg 27

 <210> 299
 <211> 33
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> MTD JO-106
 <400> 299
 gcggtggcgg tggcgccggt ggcggcggcg gcg 33
 <210> 300
 <211> 33
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> MTD JO-107
 <400> 300
 gcggcggcgg tggcggcggc ggtgccggcg gcg 33
 <210> 301
 <211> 27
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> MTD JO-108
 <400> 301
 gcgctgctgg cggcgtgct ggcgccg 27

 <210> 302

<211> 21
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> MTD JO-109
 <400> 302
 ctgctggcgc tgcctggtgcc g 21
 <210> 303
 <211> 42
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> MTD JO-110
 <400> 303
 gcgctgctgg cggcgtgct ggcgctgctg gcgctgctgg tg 42
 <210> 304
 <211> 33
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> MTD JO-111
 <400> 304
 gcggcggcgc tgccgctgct ggtgctgctg ccg 33

 <210> 305
 <211> 30
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> MTD JO-112
 <400> 305
 gcggcggcgg tgccggcggc gctggcggcg 30
 <210> 306
 <211> 30
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> MTD JO-113
 <400> 306
 gcggcgtg cggtggcggc gctggcggcg 30

<210> 307
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> MTD JO-114
 <400> 307
 gcggtgctgg cggcggcggg gccg 24

<210> 308
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> MTD JO-115
 <400> 308
 gtggcggcgc tgccggcgcc ggcg 24

<210> 309
 <211> 33
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> MTD JO-116
 <400> 309
 gcgctggcgc tggcgggtgcc ggcggtgctg ccg 33

<210> 310
 <211> 33
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> MTD JO-117
 <400> 310
 gcggcgtgc tgccggcggc ggtggcggtg ccg 33

<210> 311
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> MTD JO-118

<400> 311
gcggtggtgg tggcgctggc gccg 24

<210> 312
<211> 42
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> MTD JO-119
<400> 312
ggcgggcg tggcgctgcc ggcggcgcg gcgctgctgg cg 42

<210> 313
<211> 39
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> MTD JO-120
<400> 313
gcggtggtgc tgccgctggc gctggtggcg gtggcgccg 39

<210> 314
<211> 24
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> MTD JO-121
<400> 314
ctggtggcgc tgccgctgct gccg 24

<210> 315
<211> 30
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> MTD JO-122
<400> 315
gtggtggtgc cgctgctgct gattgtgccg 30

<210> 316
<211> 24
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220><223> MTD JO-123
 <400> 316
 ctggcgggtg tgctggcggg gccg 24

<210> 317
 <211> 30
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220><223> MTD JO-124
 <400> 317
 ctgctggcgg tgccgattct gctgggtgccg 30

<210> 318
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220><223> MTD JO-125
 <400> 318
 ctgggtggcgc tgggtgctgct gccg 24

<210> 319
 <211> 42
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220><223> MTD JO-126
 <400> 319
 ctgggtgctgc tgctggcggg gctgctgctg gcggtgctgc cg 42

<210> 320
 <211> 36
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220><223> MTD JO-127
 <400> 320
 ctgctggcgc cgggtgggtggc gctggtgatt ctgccg 36

<210> 321
 <211> 39

<212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> MTD JO-128
 <400> 321
 gtgctggcgg tgctggcggg gccggtgctg ctgctgccg 39
 <210> 322
 <211> 30
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> MTD JO-129
 <400> 322
 gtggtgattg cggtggtgcc ggtggtggtg 30

 <210> 323
 <211> 33
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> MTD JO-130
 <400> 323
 ctgctggtgc tgctggcgcg ggtggtggtg ccg 33
 <210> 324
 <211> 33
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> MTD JO-131
 <400> 324
 gtgctgctgg cgctgccggt ggtggcggcg ccg 33
 <210> 325
 <211> 36
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> MTD JO-132
 <400> 325
 gcggtggtgg tgccggcgat tgtgctggcg gcgccg 36

<210> 326
 <211> 33
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> MTD JO-133
 <400> 326
 gcggtgctgg tgccggcggc ggcgctggg ccg 33
 <210> 327
 <211> 30
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> MTD JO-134
 <400> 327
 gtggtggcgg cgctgccgct ggtgctgccg 30
 <210> 328
 <211> 30
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> MTD JO-135
 <400> 328
 gcggcgggtgg cgctgccggc ggcggcggc 30
 <210> 329
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> MTD JO-136
 <400> 329
 ctgattgcgc tgccgctgct gccg 24
 <210> 330
 <211> 39
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> MTD JO-137
 <400> 330

ctgctggcgc tgccgctggt gctggtgctg gcgctgccg 39

<210> 331

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> MTD JO-138

<400> 331

attgtgccgc tgctgctggc ggcgccg 27

<210> 332

<211> 30

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> MTD JO-139

<400> 332

ctgctgctgg cgccgctgct gctggcgccg 30

<210> 333

<211> 30

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> MTD JO-140

<400> 333

ctggcggcgc tgccggtggc ggcggtgccg 30

<210> 334

<211> 30

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> MTD JO-141

<400> 334

gcgctggcgg tgattgtgct ggtgctgctg 30

<210> 335

<211> 30

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> MTD JO-142
 <400> 335
 ctggcgctgc tgctgccggc ggcgctgatt 30
 <210> 336
 <211> 33
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> MTD JO-143
 <400> 336
 gcgctgctgc cgctgctggc ggtggtgctg ccg 33
 <210> 337
 <211> 30
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> MTD JO-144
 <400> 337
 gcgattgcgg tgccggtgct ggcggcgccg 30
 <210> 338
 <211> 30
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> MTD JO-145
 <400> 338
 gcggcggcgc cggtgctgct gctgctgctg 30
 <210> 339
 <211> 33
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> MTD JO-146
 <400> 339
 gcggcggcgg tgccggtgct ggcgctggcg ccg 33
 <210> 340
 <211> 33
 <212> DNA

<213> Artificial Sequence
 <220><223> MTD JO-147
 <400> 340
 gcggcgctgg cggcgctggt ggtggcggcg ccg 33

<210> 341
 <211> 36
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> MTD JO-148
 <400> 341
 gcggcgctgg cggcgggtgcc gctggcgctg gcgccg 36

<210> 342
 <211> 39
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> MTD JO-149
 <400> 342
 gcgctggcgg tggcggcgcc ggcgctggcg ctgctgccg 39

<210> 343
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> MTD JO-150
 <400> 343
 gcggcgctgc cggcggcggc gccg 24

<210> 344
 <211> 27
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> MTD JO-151
 <400> 344
 gcggcggcgc cggtggcggc ggtgccg 27

<210> 345

<211> 30
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> MTD JO-152
 <400> 345
 ctgctggcgg tgctgctggc gctgctgcc 30
 <210> 346
 <211> 30
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> MTD JO-153
 <400> 346
 gtgctggcgc tgctggtggc ggtggtgcc 30

 <210> 347
 <211> 27
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> MTD JO-154
 <400> 347
 gcgctggtgg tgccggcggc ggtgccg 27
 <210> 348
 <211> 27
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> MTD JO-155
 <400> 348
 gcggtggtgc tgccgtgct gctgccg 27
 <210> 349
 <211> 30
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> MTD JO-156
 <400> 349

gcggtgattc cggtggcggg gctggtgccg 30

<210> 350
 <211> 33
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> MTD JO-157
 <400> 350

gcggcggcgg tgccggcggc ggtgctggcg ccg 33

<210> 351
 <211> 33
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> MTD JO-158
 <400> 351

gtggcggcgc cggtggtgct ggcgattctg ccg 33

<210> 352
 <211> 36
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> MTD JO-159
 <400> 352

attgcgattg cggcgattcc ggcgattctg gcgctg 36

<210> 353
 <211> 30
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> MTD JO-160
 <400> 353

gcgctgattg cgccggcgcg ggcggcggccg 30

<210> 354
 <211> 30
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220><223> MTD JO-161
 <400> 354
 gcggcgattg cgctggtggc gccggcgctg 30
 <210> 355
 <211> 27
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> MTD JO-162
 <400> 355
 ctggcgccgg cggtggcggc ggcgccg 27

 <210> 356
 <211> 45
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> MTD JO-163
 <400> 356
 gtggcgatta ttgtgccggc ggtggtggcg attgcgctga ttatt 45
 <210> 357
 <211> 27
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> MTD JO-164
 <400> 357
 gcggtggtgg cgattgcgct gattatt 27
 <210> 358
 <211> 27
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> MTD JO-165
 <400> 358
 ctggcggcgg tgccggcggc ggcgccg 27

 <210> 359
 <211> 30

<212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> MTD JO-166
 <400> 359
 gcggtggcgg cgctgccgct ggcggcggcg 30
 <210> 360
 <211> 27
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> MTD JO-167
 <400> 360
 ctggcggcgc cggcggcggc ggcggcgg 27
 <210> 361
 <211> 36
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> MTD JO-168
 <400> 361
 ctggcggcgg tggcgccggt ggcggcggcg gtgccg 36

 <210> 362
 <211> 27
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> MTD JO-169
 <400> 362
 gtggcggcgc cggcggcggc ggcggcgg 27
 <210> 363
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> MTD JO-170
 <400> 363
 gcggtgccgg tgccggtgcc gctg 24
 <210> 364

<211> 30
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> MTD JO-171
 <400> 364
 ctgctgattc tgccgattgt gctgctgccg 30

<210> 365
 <211> 33
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> MTD JO-172
 <400> 365
 gcgctggcgc tgccggcgct ggcgattgcg ccg 33

<210> 366
 <211> 27
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> MTD JO-173
 <400> 366
 gcggtgattc cgattctggc ggtgccg 27

<210> 367
 <211> 33
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> MTD JO-174
 <400> 367
 ctgattctgc tgctgccggc ggtggcgtg ccg 33

<210> 368
 <211> 30
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> MTD JO-175
 <400> 368

attgtgctgg cgccggtgcc ggcggcggcg 30

<210> 369

<211> 33

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> MTD JO-176

<400> 369

gtgggtggtgg tgccggtgct ggcggcggcg gcg 33

<210> 370

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> MTD JO-177

<400> 370

ctggtggcgg tggcggcgcc g 21

<210> 371

<211> 30

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> MTD JO-178

<400> 371

ctggtgctgg cggcgccggc ggcgctgccg 30

<210> 372

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> MTD JO-179

<400> 372

ctgattgcgc cggcggcggc ggtgccg 27

<210> 373

<211> 30

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> MTD JO-180

<400> 373
 gcgctggcgg cgctgccgat tgcgctgccg 30

<210> 374
 <211> 27
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> MTD JO-181
 <400> 374

gcggtgctgc tgctgccggc ggcggcg 27

<210> 375
 <211> 27
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> MTD JO-182

<400> 375
 attgcgctgg cgctgctgcc gctgctg 27

<210> 376
 <211> 30
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> MTD JO-183

<400> 376
 gtgctgctgg cggcggcgct gattgcgccg 30

<210> 377
 <211> 33
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> MTD JO-184

<400> 377
 gcgccggcgg tgctgccgcc ggtggtggtg att 33

<210> 378
 <211> 27
 <212> DNA

<213> Artificial Sequence
 <220><223> MTD JO-185
 <400> 378
 gtggtgggcc tgctggtggc ggcgctg 27
 <210> 379
 <211> 33
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> MTD JO-186
 <400> 379
 gcggcgattg cggcggcggc gccgctggcg gcg 33

 <210> 380
 <211> 21
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> MTD JO-187
 <400> 380
 ctgctgctgg cggtggcgcc g 21
 <210> 381
 <211> 30
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> MTD JO-188
 <400> 381
 ctgattctgc tgctgccgct ggcggcgctg 30
 <210> 382
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> MTD JO-189
 <400> 382
 gcgctgctgc tgctggtgct ggcg 24

 <210> 383

<211> 27
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> MTD JO-190
 <400> 383
 ctgctgctgc tgctgctgcc gctggcg 27
 <210> 384
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> MTD JO-191
 <400> 384
 ctggcgctgc cgctgctgct gccg 24
 <210> 385
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> MTD JO-192
 <400> 385
 ctgctggtgc tgccgctgct gatt 24

 <210> 386
 <211> 27
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> MTD JO-193
 <400> 386
 ctgccgctgc tgccggcggc gctggtg 27
 <210> 387
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Scramble peptide
 <400> 387
 Ser Ala Asn Val Glu Pro Leu Glu Arg Leu

1 5 10

<210> 388

<211> 30

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Scramble peptide

<400>

> 388

tcagcgaatg tgcacccct agaccgacta 30

<210> 389

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> kFGF4-derived MTD

<400> 389

Ala Ala Val Leu Leu Pro Val Leu Leu Ala Ala Pro

1 5 10

<210> 390

<211> 36

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> kFGF4-derived MTD

<400> 390

gccgcgtac tgetcccgt cctgctggcc gcgccc 36

<210> 391

<211> 265

<212> PRT

<213> Human EGFP

<400> 391

Met Val Ser Lys Gly Glu Glu Leu Phe Thr Gly Val Val Pro Ile Leu

1 5 10 15

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

20 25 30

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

<212> DNA

<213> Human EGFP

<400> 392

atggtgagca agggcgagga gctgttcacc ggggtggtgc ccatcctggt cgagctggac 60

ggcgacgtaa acggccacaa gttcagcgtg tccggcgagg gcgagggcga tgccacctac 120

ggcaagctga cctgaagtt catctgcacc accggcaagc tgcccgtgcc ctggcccacc 180

ctcgtgacca cctgacctc cggcgtgcag tgcttcagcc gctaccccga ccacatgaag 240

cagcagcact tcttcaagtc gcctatgcc gaaggctacg tccaggagcg caccatcttc 300

ttcaaggacg acggcaacta caagaccgc gccgaggtga agttcgaggg cgacaccctg 360

gtgaaccgca tcgagctgaa gggcatcgac ttcaaggagg acggcaacat cctggggcac 420

aagctggagt acaactacaa cagccacaac gtctatatca tggccgacaa gcagaagaac 480

ggcatcaagg tgaacttcaa gatccgccac aacatcgagg acggcagcgt gcagctcgcc 540

gaccactacc agcagaacac ccccatcggc gacggccccg tgctgctgcc cgacaaccac 600

tacctgagca cccagtccgc cctgagcaaa gaccccaacg agaagcgcga tcacatggtc 660

ctgctggagt tcgtgaccgc cgccgggac actctcggca tggacgagct gtacaagtcc 720

ggactcagat ctcgagctca agcttccaat tctgcagtcg acggtaccgc gggccccgga 780

tccaccgat ctagataa 798

<210> 393

<211> 66

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> forward primer for J0-01

<400> 393

ccgcatatgg cggtggtggt gtgcgcgatt gtgctggcgg cgccggtgag caagggcgag 60

gagctg 66

<210> 394

<211> 66

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> forward primer for J0-02

<400> 394

ccgcatatgc cgctggcgct gctggtgctg ctgctgctgg gcccggtgag caagggcgag 60

gagctg	66
<210> 395	
<211> 63	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> forward primer for J0-03	
<400> 395	
ccgcatatgc tgctgctggc gtttgcgctg ctgtgcctgc cggtagcaa gggcgaggag	60
ctg	63
<210> 396	
<211> 69	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> forward primer for J0-04	
<400> 396	
ccgcatatgc tgctgggctc actggcgctg gtgctgctgg cgctggcgtg gagcaagggc	60
gaggagctg	69
<210> 397	
<211> 81	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> forward primer for J0-05	
<400> 397	
ccgcatatgc cggtagctgt ggcgctggc gtggcctgg tgctgctggg cctggcgtg	60
gtgagcaagg gcgaggagct g	81
<210> 398	
<211> 57	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> forward primer for J0-06	
<400> 398	
ccgcatatgg cggcggcggc ggtgctgctg gcggcgtga gcaaggcga ggagctg	57
<210> 399	

<211> 54
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> forward primer for J0-07
 <400> 399
 ccgcatatga ttgtggtggc ggtggtggtg attgtgagca agggcgagga gctg 54
 <210> 400
 <211> 57
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> forward primer for J0-08
 <400> 400
 ccgcatatgg cgggtgctggc gccggtggtg gcggtggtga gcaagggcga ggagctg 57
 <210> 401
 <211> 69
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> forward primer for J0-09
 <400> 401
 ccgcatatgc tggcgggtgtg cggcctgccg gtggtggcgc tgctggcggg gagcaagggc 60
 gaggagctg 69
 <210> 402
 <211> 77
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> forward primer for J0-10
 <400> 402
 ccgcatatgc tgggcggcgc ggtggtggcg gcgccggtgg cgcggcgggtg gcgccggtga 60
 gcaagggcga ggagctg 77
 <210> 403
 <211> 69
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220><223> forward primer for J0-11
 <400> 403
 ccgcatatgc tgctgctggt gctggcgggtg ctgctggcgg tgctgccggt gagcaagggc 60
 gaggagctg 69
 <210> 404
 <211> 66
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> forward primer for J0-12
 <400> 404
 ccgcatatgc tgctgattct gctgctgctg ccgctgctga ttgtggtgag caaggcgag 60
 gagctg 66
 <210> 405

 <211> 63
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> forward primer for J0-13
 <400> 405
 ccgcatatgc tgccggcggc ggcgctggcg gtgctgccgc ttgtgagcaa gggcgaggag 60
 ctg 63
 <210> 406
 <211> 72
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> forward primer for J0-14
 <400> 406
 ccgcatatgt ttctgatgct gctgctgccg ctgctgctgc tgctggtggc ggtgagcaag 60
 ggcgaggagc tg 72

 <210> 407
 <211> 75
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> forward primer for J0-15

<400> 407
 ccgcatatgg cggcggcggc ggcggcgtg ggtctggcgg cggcgggtgcc ggcggtgagc 60
 aagggcgagg agctg 75

<210> 408
 <211> 72
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> forward primer for J0-16

<400> 408
 ccgcatatgc tgctgctggc ggcgctgctg ctgattgcgt ttgcggcggg ggtgagcaag 60
 ggcgaggagc tg 72

<210> 409
 <211> 72
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> forward primer for J0-17

<400> 409
 ccgcatatgg cgctggcggc ggtggtgctg attccgctgg gcattgcggc ggtgagcaag 60
 ggcgaggagc tg 72

<210> 410
 <211> 72
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> forward primer for J0-18

<400> 410
 ccgcatatgg cggcgtgat tggcgggtg ctggcggcgg tggcggcggg ggtgagcaag 60
 ggcgaggagc tg 72

<210> 411
 <211> 72
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> forward primer for J0-19

<400> 411

ccgcatatgg cggcggcggg ggcgggtggcg ggcctggcgc cgctggcgct ggtgagcaag 60
ggcgaggagc tg 72

<210> 412
<211> 66
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> forward primer for J0-20
<400> 412

ccgcatatga ttgcgggtggc gattgcggcg attgtgccgc tggcgggtgag caagggcgag 60
gagctg 66

<210> 413
<211> 66
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> forward primer for J0-21
<400> 413

ccgcatatgg cggcggcggc ggtgctggcg gcgccggcgc tggcgggtgag caagggcgag 60
gagctg 66

<210> 414
<211> 78
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> forward primer for J0-22
<400> 414

ccgcatatgg cggcgtggc gctgggcgtg gcggcggcgc cggcggcggc gccggcggtg 60
agcaagggcg aggagctg 78

<210> 415
<211> 63
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> forward primer for J0-23
<400> 415

ccgcatatgc tggcgggtgct ggtgctgctg gtgctgctgc cggtagcaa gggcgaggag 60

ctg	63
<210> 416	
<211> 57	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> forward primer for J0-24	
<400> 416	
ccgcatatgg tggtagcggt gctggcgccg gtgctggtga gcaagggcga ggagctg	57
<210> 417	
<211> 66	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> forward primer for J0-25	
<400> 417	
ccgcatatgg cggcgctgct gctgccgctg ctgctgctgc tgccggtgag caagggcgag	60
gagctg	66
<210> 418	
<211> 60	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> forward primer for J0-26	
<400> 418	
ccgcatatgc cggcggcggt ggcggcgctg ctggtgattg tgagcaaggg cgaggagctg	60
	60
<210> 419	
<211> 54	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> forward primer for J0-27	
<400> 419	
ccgcatatgc tgetgattgc ggcgetgctg ccggtgagca agggcgagga getg	54
<210> 420	
<211> 66	

<212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> forward primer for J0-28
 <400> 420
 ccgcatatgg cggcgggtgt gctgctgccg ctggcggcgg cgccggtgag caagggcgag 60
 gagctg 66
 <210> 421

 <211> 60
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> forward primer for J0-29
 <400> 421
 ccgcatatgg cggcggcggc ggcggcgtg ctggtgccgg tgagcaaggc cgaggagctg 60
 60
 <210> 422
 <211> 54
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> forward primer for J0-30
 <400> 422
 ccgcatatgc tgccgggtgt ggcgctgctg gcggtgagca agggcgagga gctg 54
 <210> 423
 <211> 63

 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> forward primer for J0-31
 <400> 423
 ccgcatatgg cggcggcgct ggcggcggcg ctggcgtgctc cggtgagcaa gggcgaggag 60
 ctg 63
 <210> 424
 <211> 57
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220><223> forward primer for J0-32
 <400> 424
 ccgcatatgc tgetgctggc gctgctgctg gcggcggtga gcaagggcga ggagctg 57
 <210> 425
 <211> 54
 <212> DNA

<213> Artificial Sequence
 <220><223> forward primer for J0-33
 <400> 425
 ccgcatatgg cggtggcggg ggtggcgtg ctggtgagca agggcgagga gctg 54
 <210> 426
 <211> 63
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> forward primer for J0-34
 <400> 426
 ccgcatatgc tgetgctgat tattgtgctg ctgattgtgc cggtgagcaa gggcgaggag 60
 ctg 63
 <210> 427
 <211> 57
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220><223> forward primer for J0-35
 <400> 427
 ccgcatatgc tgccgctggc ggcggcggtg gtgccggtga gcaagggcga ggagctg 57
 <210> 428
 <211> 60
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> forward primer for J0-36
 <400> 428
 ccgcatatgc cggcggcgct ggcgctgctg ctggtggcgg tgagcaaggg cgaggagctg 60
 60

<210> 429
 <211> 81
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> forward primer for J0-37

 <400> 429
 ccgcatatga ttgtggcgct gctgctggtg ccgctggtgc tggcgattgc ggcggtgctg 60
 gtgagcaagg gcgaggagct g 81

 <210> 430
 <211> 54
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> forward primer for J0-38
 <400> 430
 ccgcatatga ttgtggcgct gctgctggtg ccggtgagca agggcgagga gctg 54

 <210> 431
 <211> 60
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> forward primer for J0-39
 <400> 431

 ccgcatatgc cgctggtgct ggcgattgcg gcggtgctgg tgagcaagg cgaggagctg 60
 60

 <210> 432
 <211> 57
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> forward primer for J0-40
 <400> 432
 ccgcatatgc cgctggtgct ggcggcgctg gtggcggtga gcaagggcga ggagctg 57

 <210> 433
 <211> 54
 <212> DNA

<213> Artificial Sequence
 <220><223> forward primer for J0-41
 <400> 433
 ccgcatatgg cggcggcgct gctggcggtg gcggtgagca agggcgagga gctg 54

<210> 434
 <211> 54
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> forward primer for J0-42
 <400> 434
 ccgcatatgc cgctgctgct gctggcggctg gcggtgagca agggcgagga gctg 54

<210> 435
 <211> 51
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> forward primer for J0-43
 <400> 435
 ccgcatatgg cgctggcgct ggtggtggcg gtgagcaagg gcgaggagct g 51

<210> 436
 <211> 54
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> forward primer for J0-44
 <400> 436
 ccgcatatgg tggcggcggt ggtggtggcg gcggtgagca agggcgagga gctg 54

<210> 437
 <211> 57
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> forward primer for J0-45
 <400> 437
 ccgcatatgc cgctgctgcc gctgctgctg ctggtggtga gcaagggcga ggagctg 57

<210> 438

<211> 69
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> forward primer for J0-46
 <400> 438
 ccgcatatgg tgggtgctggt ggtggtgctg ccgctggcgg tgctggcggg gagcaagggc 60

 gaggagctg 69
 <210> 439
 <211> 60
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> forward primer for J0-47
 <400> 439
 ccgcatatgg cggcggcggg gccggtgctg gtggcggcgg tgagcaaggg cgaggagctg 60
 60
 <210> 440
 <211> 66
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> forward primer for J0-48
 <400> 440
 ccgcatatgc cggcgtgctg gctgctgctg ctggcggcgg ttgtggtgag caagggcgag 60

 gagctg 66
 <210> 441
 <211> 66
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> forward primer for J0-49
 <400> 441
 ccgcatatgc cgtggcgat tctgctgctg ctgctgattg cgccggtgag caagggcgag 60
 gagctg 66
 <210> 442
 <211> 69

<212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> forward primer for J0-50
 <400> 442
 ccgcatatgc cgctgctggc gctggtgctg ctgctggcgc tgattgcggt gagcaagggc 60

 gaggagctg 69
 <210> 443
 <211> 66
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> forward primer for J0-51
 <400> 443
 ccgcatatgg tggtagcggt gctggcctg gtgctggcgg cgctggtgag caaggcgag 60
 gagctg 66
 <210> 444
 <211> 57
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> forward primer for J0-52
 <400> 444
 ccgcatatgc cgctgctgct gctgctgccg gcgctggtga gcaaggcga ggagctg 57

 <210> 445
 <211> 66
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> forward primer for J0-53
 <400> 445
 ccgcatatgc tggcggcggt ggcggcctg gcggtggtgg tgccggtgag caaggcgag 60
 gagctg 66
 <210> 446
 <211> 66
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220><223> forward primer for J0-54
 <400> 446
 ccgcatatgc tgctgctgct ggtgctgatt ctgccgctgg cggcggtag caagggcgag 60
 gagctg 66

<210> 447
 <211> 57
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220><223> forward primer for J0-55
 <400> 447
 ccgcatatgc tggcggtagt ggtggtggcg gcggtggtga gcaagggcga ggagctg 57

<210> 448
 <211> 57
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220><223> forward primer for J0-56
 <400> 448
 ccgcatatgg tgctgctggc ggcggcgtg attgctgga gcaagggcga ggagctg 57

<210> 449
 <211> 60
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220><223> forward primer for J0-57
 <400> 449
 ccgcatatgc tgattgcgt gctggcggcg ccgctggcgg tgagcaagg cgaggagctg 60
 60

<210> 450
 <211> 54
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220><223> forward primer for J0-58
 <400> 450
 ccgcatatgc tggcgtgct gctgctggcg gcggtgagca agggcgagga gctg 54

<210> 451

<211> 66

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> forward primer for J0-59

<400> 451

ccgcatatgc tgctggcggc ggcgctgctg ctgctgctgc tggcggtag caagggcgag 60

gagctg 66

<210> 452

<211> 60

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> forward primer for J0-60

<400> 452

ccgcatatgg tgattattgc gctgattgtg attgtggcgg tgagcaagg cgaggagctg 60

60

<210> 453

<211> 63

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> forward primer for J0-61

<400> 453

ccgcatatgg tggctgctggt ggtggcggcg gtgctggcgc tggtagcaa gggcgaggag 60

ctg 63

<210> 454

<211> 57

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> forward primer for J0-62

<400> 454

ccgcatatgg tggcggtagc gattgcggtg gtgctggtga gcaagggcga ggagctg 57

<210> 455

<211> 69

<212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> forward primer for J0-63

<400> 455
 ccgcatatgc cgctgattgt ggtggtggcg gcggcggtgg tggcggtggt gagcaagggc 60
 gaggagctg 69

<210> 456
 <211> 63
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> forward primer for J0-64

<400> 456
 ccgcatatgc cgctggcggg ggcgggtggcg gcggtggcgg cggtgagcaa gggcgaggag 60
 ctg 63

<210> 457
 <211> 60
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220><223> forward primer for J0-65

<400> 457
 ccgcatatgg cggcgattgc gctggtggcg gtggtgctgg tgagcaaggg cgaggagctg 60
 60

<210> 458
 <211> 60
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220><223> forward primer for J0-66

<400> 458
 ccgcatatgg cggcggcgct ggcggcgatt gcggtgattg tgagcaaggg cgaggagctg 60
 60

<210> 459
 <211> 54

<212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> forward primer for J0-67
 <400> 459
 ccgcatatgg cgcggcgccc ggcggtggcg gcggtgagca agggcgagga gctg 54
 <210> 460
 <211> 51
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> forward primer for J0-68
 <400> 460
 ccgcatatgc tgetgctggc ggcgctgccg gtgagcaagg gcgaggagct g 51
 <210> 461
 <211> 54
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> forward primer for J0-69
 <400> 461
 ccgcatatgg cgctgctggc ggtggtggcg gcggtgagca agggcgagga gctg 54
 <210> 462
 <211> 60
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> forward primer for J0-70
 <400> 462
 ccgcatatgg cggtggtggt ggtgctgccg attctgctgg tgagcaaggg cgaggagctg 60
 60
 <210> 463
 <211> 57
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> forward primer for J0-71
 <400> 463

ccgcatatgg cgctggcgct gctgctgctg gtgccggtga gcaagggcga ggagctg 57
 <210> 464
 <211> 63
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> forward primer for J0-72
 <400> 464
 ccgcatatgc tgggtgtgct gctggcggcg ctgctggtgc tggtagcaa gggcgaggag 60
 ctg 63
 <210> 465
 <211> 54
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> forward primer for J0-73
 <400> 465
 ccgcatatgc cggtgctgct gctgctggcg ccggtgagca agggcgagga gctg 54

 <210> 466
 <211> 54
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> forward primer for J0-74
 <400> 466
 ccgcatatgg cgctggcggg ggtggcggcg ccggtgagca agggcgagga gctg 54
 <210> 467
 <211> 54
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> forward primer for J0-75
 <400> 467
 ccgcatatgg tgattgtggc gctgctggcg gtggtgagca agggcgagga gctg 54
 <210> 468
 <211> 54
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220><223> forward primer for J0-76

<400> 468

ccgcatatgg cgetggtgct gccgetggcg ccggtgagca agggcgagga gctg 54

<210> 469

<211> 57

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> forward primer for J0-77

<400> 469

ccgcatatgg cggtggcgct gctgattctg gcggtggtga gcaagggcga ggagctg 57

<210> 470

<211> 51

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> forward primer for J0-78

<400> 470

ccgcatatgg tgetgctggc ggtgattccg gtgagcaagg gcgaggagct g 51

<210> 471

<211> 69

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> forward primer for J0-79

<400> 471

ccgcatatgc tgattgtggc ggcggtggtg gtggtggcgg tgctgattgt gagcaagggc 60

gaggagctg 69

<210> 472

<211> 51

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> forward primer for J0-80

<400> 472

ccgcatatgg cggtggtggt ggcggcgccg gtgagcaagg gcgaggagct g 51

<210> 473

<211> 57

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> forward primer for J0-81

<400> 473

ccgcatatgc tggcggcggg gctgctgctg attccggtga gcaagggcga ggagctg 57

<210> 474

<211> 60

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> forward primer for J0-82

<400> 474

ccgcatatgc tgetgctgct gctgctggcg gtggtgccgg tgagcaaggg cgaggagctg 60

60

<210> 475

<211> 63

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> forward primer for J0-83

<400> 475

ccgcatatgg cgggtggcgt ggtggcgggtg gtggcgggtg cggtgagcaa gggcgaggag 60

ctg 63

<210> 476

<211> 57

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> forward primer for J0-84

<400> 476

ccgcatatgc tggtggcggc gctgctggcg gtgctggtga gcaagggcga ggagctg 57

<210> 477

<211> 63

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> forward primer for J0-85

<400> 477

ccgcatatgc tgctggcggc ggcggcggcg ctgctgctgg cggtagcaa gggcgaggag 60

ctg 63

<210> 478

<211> 54

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> forward primer for J0-86

<400> 478

ccgcatatgc tggcgggtgct ggcggcggcg ccggtgagca agggcgagga gctg 54

<210> 479

<211> 69

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> forward primer for J0-87

<400> 479

ccgcatatgg tgggtgtgct gctggtgctg ctggcgtgg tgggtgtgt gagcaagggc 60

gaggagctg 69

<210> 480

<211> 51

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> forward primer for J0-88

<400> 480

ccgcatatgg tggtgattgc ggtggtgccg gtgagcaagg gcgaggagct g 51

<210> 481

<211> 57

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> forward primer for J0-89

<400> 481

ccgcatatgg tgctgctggt gctgctggcg ctggtggtga gcaagggcga ggagctg 57

<210> 482

<211> 57

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> forward primer for J0-90

<400> 482

ccgcatatgg tgctgctggt gctgctggcg ctggtggtga gcaagggcga ggagctg 57

<210> 483

<211> 54

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> forward primer for J0-91

<400> 483

ccgcatatgc cggctgctggt gccggcggtg ccggtgagca agggcgagga gctg 54

<210> 484

<211> 54

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> forward primer for J0-92

<400> 484

ccgcatatgc cggcgcctggc gctggcgctg gcggtgagca agggcgagga gctg 54

<210> 485

<211> 54

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> forward primer for J0-93

<400> 485

ccgcatatgg cggcggcggc gccggcgctg gcggtgagca agggcgagga gctg 54

<210> 486

<211> 57

<212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> forward primer for J0-94

<400> 486
 ccgcatatga ttgtgctgcc ggtgctggcg gcgccggtga gcaagggcga ggagctg 57

<210> 487
 <211> 60
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> forward primer for J0-95

<400> 487
 ccgcatatgc tggctgctct gctgctgccg ctgctgattg tgagcaaggg cgaggagctg 60
 60

<210> 488
 <211> 63
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> forward primer for J0-96

<400> 488
 ccgcatatgc tggcggcggg ggcgccggcg ctggcgggtgg tggtagcaa gggcgaggag 60
 ctg 63

<210> 489
 <211> 54
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> forward primer for J0-97

<400> 489
 ccgcatatga ttctggtgct ggtgctgccg attgtgagca agggcgagga gctg 54

<210> 490
 <211> 57
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> forward primer for J0-98

<400> 490
 ccgcatatga ttctgctgcc gctgctgctg ctgccggtga gcaagggcga ggagctg 57

<210> 491
 <211> 60
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> forward primer for J0-99
 <400> 491
 ccgcatatga ttgcgccggc ggtggtggcg gcgctgccgg tgagcaaggg cgaggagctg 60
 60

<210> 492
 <211> 66
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> forward primer for J0-100
 <400> 492
 ccgcatatgc tgetgctggt ggcggtggtg ccgctgctgg tgccggtgag caagggcgag 60
 gagctg 66

<210> 493
 <211> 57
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> forward primer for J0-101
 <400> 493
 ccgcatatgc tgattctgct gctgctgccg attattgtga gcaagggcga ggagctg 57

<210> 494
 <211> 60
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> forward primer for J0-102
 <400> 494
 ccgcatatgg cggtgctggc ggcgccggcg gtgctggtgg tgagcaaggg cgaggagctg 60
 60

<210> 495

<211> 57

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> forward primer for J0-103

<400> 495

ccgcatatgc tggcgctgcc ggtgctgctg ctggcggatga gcaagggcga ggagctg 57

<210> 496

<211> 51

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> forward primer for J0-104

<400> 496

ccgcatatgc tggcgctggc gctgctgctg gtgagcaagg gcgaggagct g 51

<210> 497

<211> 57

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> forward primer for J0-105

<400> 497

ccgcatatgg tggcgggtgcc gctgctggtg gtggcggatga gcaagggcga ggagctg 57

<210> 498

<211> 63

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> forward primer for J0-106

<400> 498

ccgcatatgg cggcggcggg ggcgccggtg gcggcggcgg cggtgagcaa gggcgaggag 60

ctg 63

<210> 499

<211> 62

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> forward primer for J0-107
 <400> 499

cccatatggc ggcggcggtg gtggcggcgg tgccggcggc ggtgagcaag ggcgaggagc 60
 tg 62

<210> 500
 <211> 56
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220><223> forward primer for J0-108
 <400> 500

cccatatggc gctgctggcg gcgctgctgg cgccggtgag caagggcgag gagctg 56

<210> 501
 <211> 48
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220><223> forward primer for J0-109
 <400> 501

cccattgcgc tggcgtgct ggtgccggtg agcaagggcg aggagctg 48

<210> 502
 <211> 72
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220><223> forward primer for J0-110
 <400> 502

ccgcatatgg cgctgctggc ggcgctgctg gcgctgctgg cgctgctggt ggtgagcaag 60
 ggcgaggagc tg 72

<210> 503
 <211> 63
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220><223> forward primer for J0-111
 <400> 503

ccgcatatgg cggcggcgct gccgctgctg gtgctgctgc cggtagcaa gggcgaggag 60

ctg	63
<210> 504	
<211> 59	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> forward primer for J0-112	
<400> 504	
cccatatggc ggcggcggtg cggcgggcgc tggcgccggt gagcaagggc gaggagctg	59
<210> 505	
<211> 58	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> forward primer for J0-113	
<400> 505	
cccattggcg gcgctggcgg tggcggcgct ggcggcggtg agcaaggcg aggagctg	58
<210> 506	
<211> 52	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> forward primer for J0-114	
<400> 506	
cccattggcg gtgctggcgg cggcggtgcc ggtgagcaag ggcgaggagc tg	52
<210> 507	
<211> 54	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> forward primer for J0-115	
<400> 507	
ccgcatatgg tggcggcgct gccggcgccg gcggtgagca agggcgagga gctg	54
<210> 508	
<211> 63	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	

<220><223> forward primer for J0-116
 <400> 508
 ccgcatatgg cgctggcgct ggcggtgccg gcggtgctgc cggtgagcaa gggcgaggag 60

ctg 63

<210> 509
 <211> 63
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220><223> forward primer for J0-117
 <400> 509
 ccgcatatgg cgcgctgct gccggcggcg gtggcggtgc cggtgagcaa gggcgaggag 60

ctg 63

<210> 510
 <211> 54
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220><223> forward primer for J0-118
 <400> 510
 ccgcatatgg cggtggtggt ggcgctggcg ccggtgagca agggcgagga gctg 54

<210> 511
 <211> 72
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220><223> forward primer for J0-119
 <400> 511
 ccgcatatgg cggcggcggt ggcgctgccg gcggcggcgg cgctgctggc ggtgagcaag 60

ggcgaggagc tg 72

<210> 512
 <211> 69
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220><223> forward primer for J0-120
 <400> 512

ccgcatatgg cggtaggtgct gccgctggcg ctggtggcgg tggcgccggt gagcaagggc 60
gaggagctg 69

<210> 513

<211> 54

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> forward primer for J0-121

<400> 513

ccgcatatgc tggtaggtgct gccgctgctg ccggtgagca agggcgagga gctg 54

<210> 514

<211> 60

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> forward primer for J0-122

<400> 514

ccgcatatgg tggtaggtgcc gctgctgctg attgtgccgg tgagcaaggg cgaggagctg 60

60

<210> 515

<211> 54

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> forward primer for J0-123

<400> 515

ccgcatatgc tggcggtagt gctggcggtag ccggtgagca agggcgagga gctg 54

<210> 516

<211> 60

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> forward primer for J0-124

<400> 516

ccgcatatgc tgetggcggg gccgattctg ctggtgccgg tgagcaaggg cgaggagctg 60

60

<210> 517

<211> 54

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> forward primer for J0-125

<400> 517

ccgcatatgc tggtagcgct ggtgctgctg ccggtgagca agggcgagga gctg 54

<210> 518

<211> 72

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> forward primer for J0-126

<400> 518

ccgcatatgc tggtagctgt gctggcgggt ctgctgctgg ccgtagctcc gtagagcaag 60

ggcgaggagc tg 72

<210> 519

<211> 66

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> forward primer for J0-127

<400> 519

ccgcatatgc tgtaggcgcc gtaggtggcg ctggtgattc tagcgtgag caaggcgag 60

gagctg 66

<210> 520

<211> 69

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> forward primer for J0-128

<400> 520

ccgcatatgg tgtagcgggt gtagcgggt ccgtagctgc tgtagcgggt gagcaagggc 60

gaggagctg 69

<210> 521

<211> 60

<212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> forward primer for J0-129
 <400> 521
 ccgcatatgg tggtgattgc ggtggtgccg gtggtggtgg tgagcaaggg cgaggagctg 60
 60

<210> 522
 <211> 63
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> forward primer for J0-130
 <400> 522
 ccgcatatgc tgctggtgct gctggcgctg gtggtggtgc cggtagagcaa gggcgaggag 60
 ctg 63

<210> 523
 <211> 63
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> forward primer for J0-131
 <400> 523
 ccgcatatgg tgctgctggc gctgccggtg gtggcgcgcc cggtagagcaa gggcgaggag 60
 ctg 63

<210> 524
 <211> 66
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> forward primer for J0-132
 <400> 524
 ccgcatatgg cggtggtggt gccggcgatt gtgctggcgg cgccggtgag caaggcgag 60
 gagctg 66

<210> 525
 <211> 63
 <212> DNA

<213> Artificial Sequence
 <220><223> forward primer for J0-133
 <400> 525
 ccgcatatgg cggtgctggt gccggcggcg gcgctggtgc cggtgagcaa gggcgaggag 60
 ctg 63
 <210> 526
 <211> 60
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> forward primer for J0-134
 <400> 526
 ccgcatatgg tggtagggcg gctgccgctg gtgctgccgg tgagcaaggg cgaggagctg 60
 60
 <210> 527
 <211> 60
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> forward primer for J0-135
 <400> 527
 ccgcatatgg cggcgggtggc gctgccggcg gcggcgccgg tgagcaaggg cgaggagctg 60
 60
 <210> 528
 <211> 54
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> forward primer for J0-136
 <400> 528
 ccgcatatgc tgattgcgct gccgctgctg ccggtgagca agggcgagga gctg 54
 <210> 529
 <211> 69
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> forward primer for J0-137

<400> 529
 ccgcatatgc tgctggcgct gccgctggcg ctggtgctgg cgctgccggt gagcaagggc 60
 gaggagctg 69

<210> 530
 <211> 57
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> forward primer for J0-138

<400> 530
 ccgcatatga ttgtgccgct gctgctggcg gcgccggtga gcaagggcga ggagctg 57

<210> 531
 <211> 60

<212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> forward primer for J0-139

<400> 531
 ccgcatatgc tgctgctggc gccgctgctg ctggcgccgg tgagcaaggg cgaggagctg 60
 60

<210> 532
 <211> 60
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> forward primer for J0-140

<400> 532
 ccgcatatgc tggcggcgct gccggtggcg gcggtgccgg tgagcaaggg cgaggagctg 60
 60

<210> 533
 <211> 60
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> forward primer for J0-141

<400> 533
 ccgcatatgg cgctggcggt gattgtgctg gtgctgctgg tgagcaaggg cgaggagctg 60

60

<210> 534
 <211> 63
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> forward primer for J0-142

<400> 534
 ccgcatatgc tggcgtgct gctgccggcg gcgctgattc cggtagcaa gggcgaggag 60
 ctg 63

<210> 535
 <211> 66
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> forward primer for J0-143

<400> 535
 ccgcatatgg cgctgctgcc gctgctggcg gtggtgctgc cgccggtgag caaggcgag 60
 gagctg 66

<210> 536
 <211> 60
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> forward primer for J0-144

<400> 536
 ccgcatatgg cgattgcggt gccggtgctg gcggcgccgg tgagcaaggg cgaggagctg 60
 60

<210> 537
 <211> 63
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> forward primer for J0-145

<400> 537
 ccgcatatgg cggcggcgcc ggtgctgctg ctgctgctgc cggtagcaa gggcgaggag 60
 ctg 63

<210> 538
 <211> 63
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> forward primer for J0-146
 <400> 538
 ccgcatatgg cggcggcgcc ggtgctgctg ctgctgctgc cggtagagcaa gggcgaggag 60
 ctg 63

<210> 539
 <211> 66
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> forward primer for J0-147
 <400> 539
 ccgcatatgg cggcgcctggc ggcgctggtg gtggcggcgc cgccggtgag caaggcgag 60
 gagctg 66

<210> 540
 <211> 66
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> forward primer for J0-148
 <400> 540
 ccgcatatgg cggcgcctggc ggcggtgccg ctggcctggtg cgccggtgag caaggcgag 60
 gagctg 66

<210> 541
 <211> 72
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> forward primer for J0-149
 <400> 541
 ccgcatatgg cgetggcggc ggcggcgccg gcgctggcgc tgctgccgcc ggtgagcaag 60
 ggcgaggagc tg 72
 <210> 542

<211> 54
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> forward primer for J0-150
 <400> 542
 ccgcatatgc tggtagcgct ggtgctgctg ccggtgagca agggcgagga gctg 54
 <210> 543

 <211> 72
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> forward primer for J0-151
 <400> 543
 ccgcatatgc tggtagctgct gctggcggtg ctgctgctgg ccggtgctcc ggtgagcaag 60
 ggcgaggagc tg 72
 <210> 544
 <211> 66
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> forward primer for J0-152
 <400> 544
 ccgcatatgc tgctggcggc ggtggtggcg ctggtgattc tgccggtgag caaggcgag 60
 gagctg 66

 <210> 545
 <211> 69
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> forward primer for J0-153
 <400> 545
 ccgcatatgg tgctggcggg gctggcggtg ccggtgctgc tgctgccggt gagcaagggc 60
 gaggagctg 69
 <210> 546
 <211> 60
 <212> DNA

<213> Artificial Sequence
 <220><223> forward primer for J0-154
 <400> 546
 ccgcatatgg tgggtgattgc ggtggtgccg gtggtggtgg tgagcaaggg cgaggagctg 60
 60

<210> 547
 <211> 63
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> forward primer for J0-155
 <400> 547
 ccgcatatgc tgctggtgct gctggcgctg gtggtggtgc cggtagcaaa gggcgaggag 60
 ctg 63

<210> 548
 <211> 63
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> forward primer for J0-156
 <400> 548
 ccgcatatgg tgctgctggc gctgccggtg gtggcggcgc cggtagcaaa gggcgaggag 60
 ctg 63

<210> 549
 <211> 66
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> forward primer for J0-157
 <400> 549
 ccgcatatgg cgggtggtgt gccggcgatt gtgctggcgg cgccggtgag caaggcggag 60
 gagctg 66

<210> 550
 <211> 63
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220><223> forward primer for J0-158
 <400> 550
 ccgcatatgg cggctgctggt gccggcggcg gcgctggtgc cggtagcaa gggcgaggag 60
 ctg 63

<210> 551
 <211> 60
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220><223> forward primer for J0-159
 <400> 551
 ccgcatatgg tggtagcggc gctgccgctg gtgctgccgg tgagcaaggg cgaggagctg 60
 60

<210> 552
 <211> 60
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220><223> forward primer for J0-160
 <400> 552
 ccgcatatgg cggcggtagc gctgccggcg gcggcggcgg tgagcaaggg cgaggagctg 60
 60

<210> 553
 <211> 54
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220><223> forward primer for J0-161
 <400> 553
 ccgcatatgc tgattgcgct gccgctgctg ccggtgagca agggcgagga gctg 54

<210> 554
 <211> 69
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220><223> forward primer for J0-162
 <400> 554

ccgcatatgc tgctggcgct gccgctggcg ctggtgctgg cgctgccggt gagcaagggc 60
gaggagctg 69
<210> 555

<211> 57
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> forward primer for J0-163
<400> 555

ccgcatatga ttgtgccgct gctgctggcg gcgccggtga gcaagggcga ggagctg 57
<210> 556
<211> 60
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> forward primer for J0-164
<400> 556

ccgcatatgc tgctgctggc gccgctgctg ctggcgccgg tgagcaaggg cgaggagctg 60
60
<210> 557
<211> 60

<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> forward primer for J0-165
<400> 557

ccgcatatgc tggcggcgct gccggtggcg gcggtgccgg tgagcaaggg cgaggagctg 60
60
<210> 558
<211> 60
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> forward primer for J0-166
<400> 558

ccgcatatgg cgctggcggt gattgtgctg gtgctgctgg tgagcaaggg cgaggagctg 60

60

<210> 559
 <211> 63
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> forward primer for J0-167
 <400> 559
 ccgcatatgc tggcgctgct gctgccggcg gcgctgattc cggtagcaa gggcgaggag 60
 ctg 63
 <210> 560
 <211> 66
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> forward primer for J0-168
 <400> 560
 ccgcatatgc tggcggcggt ggtgccggtg gcggcggcgg tgccggtgag caaggcgag 60
 gagctg 66
 <210> 561
 <211> 57
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> forward primer for J0-169
 <400> 561
 ccgcatatgg tggcggcgcc ggcggcggcg gcgccgtga gcaaggcgga ggagctg 57
 <210> 562
 <211> 54
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> forward primer for J0-170
 <400> 562
 ccgcatatgg cggtgccggt gccggtgccg ctggtgagca agggcgagga gctg 54
 <210> 563
 <211> 60

<212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> forward primer for J0-171

<400> 563
 ccgcatatgc tgctgattct gccgattgtg ctgctgccgg tgagcaaggg cgaggagctg 60
 60

<210> 564
 <211> 63
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> forward primer for J0-172

<400> 564
 ccgcatatgg cgctggcgct gccggcgctg gcgattgcgc cggtagcaa gggcgaggag 60
 ctg 63

<210> 565
 <211> 57
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220><223> forward primer for J0-173

<400> 565
 ccgcatatgg cggtagattcc gattctggcg gtgccggtga gcaagggcga ggagctg 57

<210> 566
 <211> 63
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> forward primer for J0-174

<400> 566
 ccgcatatgc tgattctgct gctgccggcg gtggcgtgc cggtagcaa gggcgaggag 60
 ctg 63

<210> 567
 <211> 60
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220><223> forward primer for J0-175

<400> 567

ccgcatatga ttgtgctggc gccggtgccg gcggcggcgg tgagcaaggg cgaggagctg 60

60

<210> 568

<211> 63

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> forward primer for J0-176

<400> 568

ccgcatatgg tgggtggtgt gccggtgctg gcggcggcgg cggtagcaa gggcgaggag 60

ctg 63

<210> 569

<211> 51

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> forward primer for J0-177

<400> 569

ccgcatatgc tgggtggcgt ggccggcggc gtgagcaagg gcgaggagct g 51

<210> 570

<211> 60

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> forward primer for J0-178

<400> 570

ccgcatatgc tgggtgctggc ggccggcggc gcgctgccgg tgagcaaggg cgaggagctg 60

60

<210> 571

<211> 57

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> forward primer for J0-179

<400> 571
 ccgcatatgc tgattgcgcc ggcggcggcg gtgccgtga gcaagggcga ggagctg 57

<210> 572
 <211> 60
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> forward primer for J0-180
 <400> 572
 ccgcatatgg cgtggcggc gctgccgatt gcgctgccgg tgagcaaggc cgaggagctg 60
 60

<210> 573
 <211> 57
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> forward primer for J0-181
 <400> 573
 ccgcatatgg cgtgctgct gctgccggcg gcggcgtga gcaagggcga ggagctg 57

<210> 574
 <211> 57
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> forward primer for J0-182
 <400> 574
 ccgcatatga ttgcgctggc gctgctgccg ctgctggtga gcaagggcga ggagctg 57

<210> 575
 <211> 60
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> forward primer for J0-183
 <400> 575
 ccgcatatgg tgctgctggc ggcggcgtg attgcgccgg tgagcaaggc cgaggagctg 60
 60

<210> 576

<211> 63
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> forward primer for J0-184
 <400> 576
 ccgcatatgg cgccggcggg gctgccgccg gtggtggtga ttgtgagcaa gggcgaggag 60
 ctg 63
 <210> 577
 <211> 57
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> forward primer for J0-185
 <400> 577
 ccgcatatgg tggtagggcct gctggtggcg gcgctggtga gcaagggcga ggagctg 57
 <210> 578

 <211> 63
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> forward primer for J0-186
 <400> 578
 ccgcatatgg cggcgattgc ggcggcggcg ccgctggcgg cggtagcaa gggcgaggag 60
 ctg 63
 <210> 579
 <211> 51
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> forward primer for J0-187
 <400> 579
 ccgcatatgc tgetgctggc ggtggcggcg gtgagcaagg gcgaggagct g 51
 <210> 580
 <211> 60

 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220><223> forward primer for J0-188
 <400> 580
 ccgcatatgc tgattctgct gctgccgctg gcggcctgg tgagcaaggc cgaggagctg 60
 60

<210> 581
 <211> 54
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220><223> forward primer for J0-189
 <400> 581
 ccgcatatgg cgctgctgct gctggtgctg gcggtgagca agggcgagga gctg 54
 <210> 582
 <211> 57
 <212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> forward primer for J0-190
 <400> 582
 ccgcatatgc tgctgctgct gctgctgccg ctggcggtga gcaagggcga ggagctg 57
 <210> 583
 <211> 54
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220><223> forward primer for J0-191
 <400> 583
 ccgcatatgc tggcgtgcc gctgctgctg ccggtgagca agggcgagga gctg 54
 <210> 584
 <211> 54
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220><223> forward primer for J0-192
 <400> 584
 ccgcatatgc tgctggtgct gccgctgctg attgtgagca agggcgagga gctg 54
 <210> 585

<211> 57
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> forward primer for J0-193
<400> 585
ccgcatatgc tgccgctgct gccggcggcg ctggtggtga gcaagggcga ggagctg 57
<210> 586
<211> 27
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> reverse primer for J0-01 to J0-193
<400> 586
ttatctagat ccggtggatc ccgggcc 27