

110566P502PC Sequence Listing_ST25.txt
SEQUENCE LISTING

<110> Merz Pharma GmbH & Co. KGaA
<120> NOVEL USES OF RECOMBINANT CLOSTRIDIAL NEUROTOXINS WITH DECREASED DURATION OF EFFECT
<130> 110566P502PC
<150> EP14002052.0
<151> 2014-06-13
<160> 2
<170> PatentIn version 3.5
<210> 1
<211> 1272
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> recombinant botulinum neurotoxin subtype E with reduced persistence with MDM2 binding motif
<400> 1

Met Pro Lys Ile Asn Ser Phe Asn Tyr Asn Asp Pro Val Asn Asp Arg
1 5 10 15

Thr Ile Leu Tyr Ile Lys Pro Gly Gly Cys Gln Glu Phe Tyr Lys Ser
20 25 30

Phe Asn Ile Met Lys Asn Ile Trp Ile Ile Pro Glu Arg Asn Val Ile
35 40 45

Gly Thr Thr Pro Gln Asp Phe His Pro Pro Thr Ser Leu Lys Asn Gly
50 55 60

Asp Ser Ser Tyr Tyr Asp Pro Asn Tyr Leu Gln Ser Asp Glu Glu Lys
65 70 75 80

Asp Arg Phe Leu Lys Ile Val Thr Lys Ile Phe Asn Arg Ile Asn Asn
85 90 95

Asn Leu Ser Gly Gly Ile Leu Leu Glu Glu Leu Ser Lys Ala Asn Pro
100 105 110

Tyr Leu Gly Asn Asp Asn Thr Pro Asp Asn Gln Phe His Ile Gly Asp
115 120 125

Ala Ser Ala Val Glu Ile Lys Phe Ser Asn Gly Ser Gln Asp Ile Leu
130 135 140

Leu Pro Asn Val Ile Ile Met Gly Ala Glu Pro Asp Leu Phe Glu Thr
145 150 155 160

Asn Ser Ser Asn Ile Ser Leu Arg Asn Asn Tyr Met Pro Ser Asn His
Seite 1

Gly Phe Gly Ser Ile Ala Ile Val Thr Phe Ser Pro Glu Tyr Ser Phe
180 185 190

Arg Phe Asn Asp Asn Ser Met Asn Glu Phe Ile Gln Asp Pro Ala Leu
195 200 205

Thr Leu Met His Glu Leu Ile His Ser Leu His Gly Leu Tyr Gly Ala
210 215 220

Lys Gly Ile Thr Thr Lys Tyr Thr Ile Thr Gln Lys Gln Asn Pro Leu
225 230 235 240

Ile Thr Asn Ile Arg Gly Thr Asn Ile Glu Glu Phe Leu Thr Phe Gly
245 250 255

Gly Thr Asp Leu Asn Ile Ile Thr Ser Ala Gln Ser Asn Asp Ile Tyr
260 265 270

Thr Asn Leu Leu Ala Asp Tyr Lys Lys Ile Ala Ser Lys Leu Ser Lys
275 280 285

Val Gln Val Ser Asn Pro Leu Leu Asn Pro Tyr Lys Asp Val Phe Glu
290 295 300

Ala Lys Tyr Gly Leu Asp Lys Asp Ala Ser Gly Ile Tyr Ser Val Asn
305 310 315 320

Ile Asn Lys Phe Asn Asp Ile Phe Lys Lys Leu Tyr Ser Phe Thr Glu
325 330 335

Phe Asp Leu Ala Thr Lys Phe Gln Val Lys Cys Arg Gln Thr Tyr Ile
340 345 350

Gly Gln Tyr Lys Tyr Phe Lys Leu Ser Asn Leu Leu Asn Asp Ser Ile
355 360 365

Tyr Asn Ile Ser Glu Gly Tyr Asn Ile Asn Asn Leu Lys Val Asn Phe
370 375 380

Arg Gly Gln Asn Ala Asn Leu Asn Pro Arg Ile Ile Thr Pro Ile Thr
385 390 395 400

Gly Arg Gly Leu Val Lys Lys Ile Ile Arg Phe Cys Val Arg Gly Ile
405 410 415

Ile Thr Ser Leu Thr Phe Glu His Asn Trp Ala Gln Leu Glu Asn Lys
420 425 430

Ser Leu Val Pro Arg Gly Ser Lys Ala Leu Asn Asp Leu Cys Ile Glu

110566P502PC Sequence Listing_ST25.txt

435

440

445

Ile Asn Asn Gly Glu Leu Phe Phe Val Ala Ser Glu Asn Ser Tyr Asn
450 455 460

Asp Asp Asn Ile Asn Thr Pro Lys Glu Ile Asp Asp Thr Val Thr Ser
465 470 475 480

Asn Asn Asn Tyr Glu Asn Asp Leu Asp Gln Val Ile Leu Asn Phe Asn
485 490 495

Ser Glu Ser Ala Pro Gly Leu Ser Asp Glu Lys Leu Asn Leu Thr Ile
500 505 510

Gln Asn Asp Ala Tyr Ile Pro Lys Tyr Asp Ser Asn Gly Thr Ser Asp
515 520 525

Ile Glu Gln His Asp Val Asn Glu Leu Asn Val Phe Phe Tyr Leu Asp
530 535 540

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

Ile Asp Thr Ala Leu Leu Glu Gln Pro Lys Ile Tyr Thr Phe Phe Ser
565 570 575

Ser Glu Phe Ile Asn Asn Val Asn Lys Pro Val Gln Ala Ala Leu Phe
580 585 590

Val Ser Trp Ile Gln Gln Val Leu Val Asp Phe Thr Thr Glu Ala Asn
595 600 605

Gln Lys Ser Thr Val Asp Lys Ile Ala Asp Ile Ser Ile Val Val Pro
610 615 620

Tyr Ile Gly Leu Ala Leu Asn Ile Gly Asn Glu Ala Gln Lys Gly Asn
625 630 635 640

Phe Lys Asp Ala Leu Glu Leu Leu Gly Ala Gly Ile Leu Leu Glu Phe
645 650 655

Glu Pro Glu Leu Leu Ile Pro Thr Ile Leu Val Phe Thr Ile Lys Ser
660 665 670

Phe Leu Gly Ser Ser Asp Asn Lys Asn Lys Val Ile Lys Ala Ile Asn
675 680 685

Asn Ala Leu Lys Glu Arg Asp Glu Lys Trp Lys Glu Val Tyr Ser Phe
690 695 700

Ile Val Ser Asn Trp Met Thr Lys Ile Asn Thr Gln Phe Asn Lys Arg

110566P502PC Sequence Listing_ST25.txt

705 710 715 720

Lys Glu Gln Met Tyr Gln Ala Leu Gln Asn Gln Val Asn Ala Ile Lys
725 730 735

Thr Ile Ile Glu Ser Lys Tyr Asn Ser Tyr Thr Leu Glu Glu Lys Asn
740 745 750

Glu Leu Thr Asn Lys Tyr Asp Ile Lys Gln Ile Glu Asn Glu Leu Asn
755 760 765

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

Ser Ser Ile Ser Tyr Leu Met Lys Leu Ile Asn Glu Val Lys Ile Asn
785 790 795 800

Lys Leu Arg Glu Tyr Asp Glu Asn Val Lys Thr Tyr Leu Leu Asn Tyr
805 810 815

Ile Ile Gln His Gly Ser Ile Leu Gly Glu Ser Gln Gln Glu Leu Asn
820 825 830

Ser Met Val Thr Asp Thr Leu Asn Asn Ser Ile Pro Phe Lys Leu Ser
835 840 845

Ser Tyr Thr Asp Asp Lys Ile Leu Ile Ser Tyr Phe Asn Lys Phe Phe
850 855 860

Lys Arg Ile Lys Ser Ser Ser Val Leu Asn Met Arg Tyr Lys Asn Asp
865 870 875 880

Lys Tyr Val Asp Thr Ser Gly Tyr Asp Ser Asn Ile Asn Ile Asn Gly
885 890 895

Asp Val Tyr Lys Tyr Pro Thr Asn Lys Asn Gln Phe Gly Ile Tyr Asn
900 905 910

Asp Lys Leu Ser Glu Val Asn Ile Ser Gln Asn Asp Tyr Ile Ile Tyr
915 920 925

Asp Asn Lys Tyr Lys Asn Phe Ser Ile Ser Phe Trp Val Arg Ile Pro
930 935 940

Asn Tyr Asp Asn Lys Ile Val Asn Val Asn Asn Glu Tyr Thr Ile Ile
945 950 955 960

Asn Cys Met Arg Asp Asn Asn Ser Gly Trp Lys Val Ser Leu Asn His
965 970 975

Asn Glu Ile Ile Trp Thr Leu Gln Asp Asn Ala Gly Ile Asn Gln Lys
Seite 4

110566P502PC Sequence Listing_ST25.txt

980

985

990

Leu Ala Phe Asn Tyr Gly Asn Ala Asn Gly Ile Ser Asp Tyr Ile Asn
995 1000 1005

Lys Trp Ile Phe Val Thr Ile Thr Asn Asp Arg Leu Gly Asp Ser
1010 1015 1020

Lys Leu Tyr Ile Asn Gly Asn Leu Ile Asp Gln Lys Ser Ile Leu
1025 1030 1035

Asn Leu Gly Asn Ile His Val Ser Asp Asn Ile Leu Phe Lys Ile
1040 1045 1050

Val Asn Cys Ser Tyr Thr Arg Tyr Ile Gly Ile Arg Tyr Phe Asn
1055 1060 1065

Ile Phe Asp Lys Glu Leu Asp Glu Thr Glu Ile Gln Thr Leu Tyr
1070 1075 1080

Ser Asn Glu Pro Asn Thr Asn Ile Leu Lys Asp Phe Trp Gly Asn
1085 1090 1095

Tyr Leu Leu Tyr Asp Lys Glu Tyr Tyr Leu Leu Asn Val Leu Lys
1100 1105 1110

Pro Asn Asn Phe Ile Asp Arg Arg Lys Asp Ser Thr Leu Ser Ile
1115 1120 1125

Asn Asn Ile Arg Ser Thr Ile Leu Leu Ala Asn Arg Leu Tyr Ser
1130 1135 1140

Gly Ile Lys Val Lys Ile Gln Arg Val Asn Asn Ser Ser Thr Asn
1145 1150 1155

Asp Asn Leu Val Arg Lys Asn Asp Gln Val Tyr Ile Asn Phe Val
1160 1165 1170

Ala Ser Lys Thr His Leu Phe Pro Leu Tyr Ala Asp Thr Ala Thr
1175 1180 1185

Thr Asn Lys Glu Lys Thr Ile Lys Ile Ser Ser Ser Gly Asn Arg
1190 1195 1200

Phe Asn Gln Val Val Val Met Asn Ser Val Gly Asn Asn Cys Thr
1205 1210 1215

Met Asn Phe Lys Asn Asn Asn Gly Asn Asn Ile Gly Leu Leu Gly
1220 1225 1230

Phe Lys Ala Asp Thr Val Val Ala Ser Thr Trp Tyr Tyr Thr His

110566P502PC Sequence Listing_ST25.txt

1235

1240

1245

Met Arg Asp His Thr Asn Ser Asn Gly Cys Phe Trp Asn Phe Ile
1250 1255 1260

Ser Glu Glu His Gly Trp Gln Glu Lys
1265 1270

<210> 2

<211> 1272

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> botulinum neurotoxin subtype E with reduced persistence

<400> 2

Met Pro Lys Ile Asn Ser Phe Asn Tyr Asn Asp Pro Val Asn Asp Arg
1 5 10 15

Thr Ile Leu Tyr Ile Lys Pro Gly Gly Cys Gln Glu Phe Tyr Lys Ser
20 25 30

Phe Asn Ile Met Lys Asn Ile Trp Ile Ile Pro Glu Arg Asn Val Ile
35 40 45

Gly Thr Thr Pro Gln Asp Phe His Pro Pro Thr Ser Leu Lys Asn Gly
50 55 60

Asp Ser Ser Tyr Tyr Asp Pro Asn Tyr Leu Gln Ser Asp Glu Glu Lys
65 70 75 80

Asp Arg Phe Leu Lys Ile Val Thr Lys Ile Phe Asn Arg Ile Asn Asn
85 90 95

Asn Leu Ser Gly Gly Ile Leu Leu Glu Glu Leu Ser Lys Ala Asn Pro
100 105 110

Tyr Leu Gly Asn Asp Asn Thr Pro Asp Asn Gln Phe His Ile Gly Asp
115 120 125

Ala Ser Ala Val Glu Ile Lys Phe Ser Asn Gly Ser Gln Asp Ile Leu
130 135 140

Leu Pro Asn Val Ile Ile Met Gly Ala Glu Pro Asp Leu Phe Glu Thr
145 150 155 160

Asn Ser Ser Asn Ile Ser Leu Arg Asn Asn Tyr Met Pro Ser Asn His
165 170 175

Gly Phe Gly Ser Ile Ala Ile Val Thr Phe Ser Pro Glu Tyr Ser Phe
180 185 190

110566P502PC Sequence Listing_ST25.txt

```

Arg Phe Asn Asp Asn Ser Met Asn Glu Phe Ile Gln Asp Pro Ala Leu
    195                200                205

Thr Leu Met His Glu Leu Ile His Ser Leu His Gly Leu Tyr Gly Ala
    210                215                220

Lys Gly Ile Thr Thr Lys Tyr Thr Ile Thr Gln Lys Gln Asn Pro Leu
    225                230                235                240

Ile Thr Asn Ile Arg Gly Thr Asn Ile Glu Glu Phe Leu Thr Phe Gly
    245                250                255

Gly Thr Asp Leu Asn Ile Ile Thr Ser Ala Gln Ser Asn Asp Ile Tyr
    260                265                270

Thr Asn Leu Leu Ala Asp Tyr Lys Lys Ile Ala Ser Lys Leu Ser Lys
    275                280                285

Val Gln Val Ser Asn Pro Leu Leu Asn Pro Tyr Lys Asp Val Phe Glu
    290                295                300

Ala Lys Tyr Gly Leu Asp Lys Asp Ala Ser Gly Ile Tyr Ser Val Asn
    305                310                315                320

Ile Asn Lys Phe Asn Asp Ile Phe Lys Lys Leu Tyr Ser Phe Thr Glu
    325                330                335

Phe Asp Leu Ala Thr Lys Phe Gln Val Lys Cys Arg Gln Thr Tyr Ile
    340                345                350

Gly Gln Tyr Lys Tyr Phe Lys Leu Ser Asn Leu Leu Asn Asp Ser Ile
    355                360                365

Tyr Asn Ile Ser Glu Gly Tyr Asn Ile Asn Asn Leu Lys Val Asn Phe
    370                375                380

Arg Gly Gln Asn Ala Asn Leu Asn Pro Arg Ile Ile Thr Pro Ile Thr
    385                390                395                400

Gly Arg Gly Leu Val Lys Lys Ile Ile Arg Phe Cys Val Arg Gly Ile
    405                410                415

Ile Thr Ser Leu Thr Phe Glu His Asn Trp Ala Gln Leu Thr Ser Lys
    420                425                430

Ser Leu Val Pro Arg Gly Ser Lys Ala Leu Asn Asp Leu Cys Ile Glu
    435                440                445

Ile Asn Asn Gly Glu Leu Phe Phe Val Ala Ser Glu Asn Ser Tyr Asn
    450                455                460

```

110566P502PC Sequence Listing_ST25.txt

```

Asp Asp Asn Ile Asn Thr Pro Lys Glu Ile Asp Asp Thr Val Thr Ser
465                               470                               475                               480

Asn Asn Asn Tyr Glu Asn Asp Leu Asp Gln Val Ile Leu Asn Phe Asn
                               485                               490                               495

Ser Glu Ser Ala Pro Gly Leu Ser Asp Glu Lys Leu Asn Leu Thr Ile
                               500                               505                               510

Gln Asn Asp Ala Tyr Ile Pro Lys Tyr Asp Ser Asn Gly Thr Ser Asp
                               515                               520                               525

Ile Glu Gln His Asp Val Asn Glu Leu Asn Val Phe Phe Tyr Leu Asp
                               530                               535                               540

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

Ile Asp Thr Ala Leu Leu Glu Gln Pro Lys Ile Tyr Thr Phe Phe Ser
                               565                               570                               575

Ser Glu Phe Ile Asn Asn Val Asn Lys Pro Val Gln Ala Ala Leu Phe
                               580                               585                               590

Val Ser Trp Ile Gln Gln Val Leu Val Asp Phe Thr Thr Glu Ala Asn
                               595                               600                               605

Gln Lys Ser Thr Val Asp Lys Ile Ala Asp Ile Ser Ile Val Val Pro
610                               615                               620

Tyr Ile Gly Leu Ala Leu Asn Ile Gly Asn Glu Ala Gln Lys Gly Asn
625                               630                               635                               640

Phe Lys Asp Ala Leu Glu Leu Leu Gly Ala Gly Ile Leu Leu Glu Phe
                               645                               650                               655

Glu Pro Glu Leu Leu Ile Pro Thr Ile Leu Val Phe Thr Ile Lys Ser
                               660                               665                               670

Phe Leu Gly Ser Ser Asp Asn Lys Asn Lys Val Ile Lys Ala Ile Asn
675                               680                               685

Asn Ala Leu Lys Glu Arg Asp Glu Lys Trp Lys Glu Val Tyr Ser Phe
690                               695                               700

Ile Val Ser Asn Trp Met Thr Lys Ile Asn Thr Gln Phe Asn Lys Arg
705                               710                               715                               720

Lys Glu Gln Met Tyr Gln Ala Leu Gln Asn Gln Val Asn Ala Ile Lys
                               725                               730                               735

```


110566P502PC Sequence Listing_ST25.txt

Thr Ile Ile Glu Ser Lys Tyr Asn Ser Tyr Thr Leu Glu Glu Lys Asn
740 745 750

Glu Leu Thr Asn Lys Tyr Asp Ile Lys Gln Ile Glu Asn Glu Leu Asn
755 760 765

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

Ser Ser Ile Ser Tyr Leu Met Lys Leu Ile Asn Glu Val Lys Ile Asn
785 790 795 800

Lys Leu Arg Glu Tyr Asp Glu Asn Val Lys Thr Tyr Leu Leu Asn Tyr
805 810 815

Ile Ile Gln His Gly Ser Ile Leu Gly Glu Ser Gln Gln Glu Leu Asn
820 825 830

Ser Met Val Thr Asp Thr Leu Asn Asn Ser Ile Pro Phe Lys Leu Ser
835 840 845

Ser Tyr Thr Asp Asp Lys Ile Leu Ile Ser Tyr Phe Asn Lys Phe Phe
850 855 860

Lys Arg Ile Lys Ser Ser Ser Val Leu Asn Met Arg Tyr Lys Asn Asp
865 870 875 880

Lys Tyr Val Asp Thr Ser Gly Tyr Asp Ser Asn Ile Asn Ile Asn Gly
885 890 895

Asp Val Tyr Lys Tyr Pro Thr Asn Lys Asn Gln Phe Gly Ile Tyr Asn
900 905 910

Asp Lys Leu Ser Glu Val Asn Ile Ser Gln Asn Asp Tyr Ile Ile Tyr
915 920 925

Asp Asn Lys Tyr Lys Asn Phe Ser Ile Ser Phe Trp Val Arg Ile Pro
930 935 940

Asn Tyr Asp Asn Lys Ile Val Asn Val Asn Asn Glu Tyr Thr Ile Ile
945 950 955 960

Asn Cys Met Arg Asp Asn Asn Ser Gly Trp Lys Val Ser Leu Asn His
965 970 975

Asn Glu Ile Ile Trp Thr Leu Gln Asp Asn Ala Gly Ile Asn Gln Lys
980 985 990

Leu Ala Phe Asn Tyr Gly Asn Ala Asn Gly Ile Ser Asp Tyr Ile Asn
995 1000 1005

110566P502PC Sequence Listing_ST25.txt

Lys	Trp	Ile	Phe	Val	Thr	Ile	Thr	Asn	Asp	Arg	Leu	Gly	Asp	Ser
1010						1015					1020			
Lys	Leu	Tyr	Ile	Asn	Gly	Asn	Leu	Ile	Asp	Gln	Lys	Ser	Ile	Leu
1025						1030					1035			
Asn	Leu	Gly	Asn	Ile	His	Val	Ser	Asp	Asn	Ile	Leu	Phe	Lys	Ile
1040						1045					1050			
Val	Asn	Cys	Ser	Tyr	Thr	Arg	Tyr	Ile	Gly	Ile	Arg	Tyr	Phe	Asn
1055						1060					1065			
Ile	Phe	Asp	Lys	Glu	Leu	Asp	Glu	Thr	Glu	Ile	Gln	Thr	Leu	Tyr
1070						1075					1080			
Ser	Asn	Glu	Pro	Asn	Thr	Asn	Ile	Leu	Lys	Asp	Phe	Trp	Gly	Asn
1085						1090					1095			
Tyr	Leu	Leu	Tyr	Asp	Lys	Glu	Tyr	Tyr	Leu	Leu	Asn	Val	Leu	Lys
1100						1105					1110			
Pro	Asn	Asn	Phe	Ile	Asp	Arg	Arg	Lys	Asp	Ser	Thr	Leu	Ser	Ile
1115						1120					1125			
Asn	Asn	Ile	Arg	Ser	Thr	Ile	Leu	Leu	Ala	Asn	Arg	Leu	Tyr	Ser
1130						1135					1140			
Gly	Ile	Lys	Val	Lys	Ile	Gln	Arg	Val	Asn	Asn	Ser	Ser	Thr	Asn
1145						1150					1155			
Asp	Asn	Leu	Val	Arg	Lys	Asn	Asp	Gln	Val	Tyr	Ile	Asn	Phe	Val
1160						1165					1170			
Ala	Ser	Lys	Thr	His	Leu	Phe	Pro	Leu	Tyr	Ala	Asp	Thr	Ala	Thr
1175						1180					1185			
Thr	Asn	Lys	Glu	Lys	Thr	Ile	Lys	Ile	Ser	Ser	Ser	Gly	Asn	Arg
1190						1195					1200			
Phe	Asn	Gln	Val	Val	Val	Met	Asn	Ser	Val	Gly	Asn	Asn	Cys	Thr
1205						1210					1215			
Met	Asn	Phe	Lys	Asn	Asn	Asn	Gly	Asn	Asn	Ile	Gly	Leu	Leu	Gly
1220						1225					1230			
Phe	Lys	Ala	Asp	Thr	Val	Val	Ala	Ser	Thr	Trp	Tyr	Tyr	Thr	His
1235						1240					1245			
Met	Arg	Asp	His	Thr	Asn	Ser	Asn	Gly	Cys	Phe	Trp	Asn	Phe	Ile
1250						1255					1260			

110566P502PC Sequence Listing_ST25.txt

Ser Glu Glu His Gly Trp Gln Glu Lys
1265 1270