

110568P502PC Sequence Listing\_ST25.txt  
SEQUENCE LISTING

<110> Merz Pharma GmbH & Co. KGaA  
<120> USE OF RECOMBINANT CLOSTRIDIAL NEUROTOXINS FOR THE TREATMENT OF PATIENTS HAVING CERTAIN MUSCLE-RELATED DISORDERS  
<130> 110568P502PC  
<150> EP14002043.9  
<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  
Seite 2

110568P502PC 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

110568P502PC 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 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

## 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	

110568P502PC 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

110568P502PC 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

110568P502PC 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



110568P502PC 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

110568P502PC 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  
 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

110568P502PC Sequence Listing\_ST25.txt

Ser Glu Glu His Gly Trp Gln Glu Lys  
1265 1270