



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(21)(22) Заявка: 2012133318/15, 04.02.2011

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
04.02.2011

Приоритет(ы):

(30) Конвенционный приоритет:
04.02.2010 US 61/337,465

(43) Дата публикации заявки: 10.03.2014 Бюл. № 7

(45) Опубликовано: 10.07.2016 Бюл. № 19

(56) Список документов, цитированных в отчете о поиске: US2009156475 A1, 18.06.2009. UniProtKB - D1MAM2 (D1MAM2_HUMAN). Tyrosine-protein kinase receptor. 19.01.2010, Найдено в Интернет 31.08.2015 на <http://www.uniprot.org/uniprot/D1MAM2>. WO2009103061 A2, 20.08.2009. WOOD A. C. et al. Inhibition of ALK mutated neuroblastomas by the selective inhibitor PF-02341066. 2009 ASCO Annual Meeting. Найдено в Интернет 31.08.2015 на <http://meetinglibrary.asco.org/content/35242-65>.

(85) Дата начала рассмотрения заявки РСТ на национальной фазе: 04.09.2012

(86) Заявка РСТ:
IB 2011/000382 (04.02.2011)(87) Публикация заявки РСТ:
WO 2011/095894 (11.08.2011)

Адрес для переписки:
190000, Санкт-Петербург, ВОХ-1125,
ПАТЕНТИКА

(72) Автор(ы):

МАНО Хироюки (JP),
ЧОЙ Янг Л. (JP),
СОДА Манабу (JP)

(73) Патентообладатель(и):

ДЖИЧИ МЕДИКАЛ ЮНИВЕРСИТИ (JP)

(54) ИДЕНТИФИКАЦИЯ, ОЦЕНКА И ЛЕЧЕНИЕ РАКОВЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ С ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ИЛИ ПРИОБРЕТЕННОЙ УСТОЙЧИВОСТЬЮ К ИНГИБИТОРАМ ALK

(57) Реферат:

Группа изобретений относится к способам для определения того, будет ли субъект, страдающий раковым заболеванием, положительный по мутациям ALK, отвечать на лечение ингибитором ALK, и/или вероятно ли, что у пациента, страдающего таким раковым заболеванием,

заболевание будет прогрессировать медленнее, а также к набору. Группа изобретений позволяет оценить эффективность лечения ракового заболевания на основе идентификации новых мутаций в киназе анапластической лимфомы. 3 н. и 27 з.п. ф-лы, 5 ил., 1 табл., 4 пр.



FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(12) **ABSTRACT OF INVENTION**

(21)(22) Application: **2012133318/15, 04.02.2011**

(24) Effective date for property rights:
04.02.2011

Priority:

(30) Convention priority:
04.02.2010 US 61/337,465

(43) Application published: **10.03.2014** Bull. № 7

(45) Date of publication: **10.07.2016** Bull. № 19

(85) Commencement of national phase: **04.09.2012**

(86) PCT application:
IB 2011/000382 (04.02.2011)

(87) PCT publication:
WO 2011/095894 (11.08.2011)

Mail address:
**190000, Sankt-Peterburg, VOKH-1125,
PATENTIKA**

(72) Inventor(s):

**MANO KHiroyuki (JP),
CHOJ YAng L. (JP),
SODA Manabu (JP)**

(73) Proprietor(s):

DZHICHI MEDIKAL YUNIVERSITI (JP)

(54) **IDENTIFICATION, ASSESSMENT, AND THERAPY OF CANCERS WITH INNATE OR ACQUIRED RESISTANCE TO ALK INHIBITORS**

(57) Abstract:

FIELD: medicine.

SUBSTANCE: group of inventions relates to methods for determining whether individual suffering cancer disease, positive at mutations ALK, respond to ALK inhibitor treatment, and/or whether there is probability that patient suffering cancer disease, such

disease is progressing slower, as well as to kit.

EFFECT: group of inventions enables assessing efficacy of treating cancer based on identification of new mutations in anaplastic lymphoma kinase.

30 cl, 5 dwg, 1 tbl, 4 ex

УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ

Тирозинкиназы - класс ферментов, катализирующих фосфорилирование остатков тирозина в белковых субстратах путем переноса концевой фосфатной группы с аденозинтрифосфата. Во многих случаях тирозинкиназы играют центральную роль в передаче сигнала для целого ряда функций клетки, включая пролиферацию клеток, канцерогенез и дифференцировку клеток.

EML4-ALK - гибридный белок с протеинтирозинкиназной активностью, который присутствует в $\approx 5\%$ случаев немелкоклеточного рака легких (НМКРЛ) и образуется в результате малой инверсии в коротком плече 2-ой хромосомы человека (Soda, M. et al. (2007) *Nature* 448:561-566; Mano, H. (2008) *Cancer Sci.* 99:2349-2355). EML4-ALK подвергается конститутивной димеризации в результате взаимодействия между суперспирализованным доменом в участке EML4 каждого мономера, и вследствие этого приобретает выраженную онкогенную активность. У трансгенных мышей, которые экспрессируют EML4-ALK, в частности в клетках эпителия легких, образуются сотни аденокарциномных узелков в обоих легких вскоре после рождения, а пероральное введение специфического ингибитора тирозинкиназной активности ALK приводит к исчезновению таких узелков в легких (Soda, M. et al. (2008) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 105: 19893-19897). Перечисленные результаты указывают на важную роль EML4-ALK в канцерогенезе НМКРЛ, ассоциированного с этой гибридной киназой, и они дают дополнительное подтверждение применимости нацеленной на молекулы терапии ингибиторами ALK при данном раковом заболевании. Например, в настоящее время проводятся клинические исследования ингибитора тирозинкиназной активности ALK и MET - PF-02341066 в лечении EML4-ALK-положительного НМКРЛ, и промежуточные результаты указанных исследований являются многообещающими (Kwak, E.L. et al. (2009) *J. Clin. Oncol.* 27(suppl):15s (abstract 3509)). Однако подгруппа EML4-ALK-положительных опухолей не реагирует на указанный ингибитор, и молекулярная природа такого неуспеха лечения не известна.

Было показано, что наряду с PF-02341066 у пациентов с раком выраженной терапевтической активностью обладают и другие ингибиторы тирозинкиназ (ИТК). Например, иматиниб мезилат - ИТК, действующий на ABL1 и KIT, значительно улучшает исход заболевания у людей с хронической миелоидной лейкемией, положительной по гибридной киназе BCR-ABL1 или со стромальными опухолями желудочно-кишечного тракта, положительными по KIT (Druker, B.J. et al. (2001) *N. Engl. J. Med.* 344:1031-1037; Heinrich, M.C. et al. (2008) *J. Clin. Oncol.* 26:5360-5367). Далее, гефитиниб и элотиниб, которые оба являются ИТК, действующими на рецептор эпидермального фактора роста (EGFR), эффективны при лечении НМКРЛ, ассоциированного с активацией EGFR (Mok, T.S. et al. (2009) *J. Clin. Oncol.* 27:5080-2087; Mok, T.S. et al. (2009) *N. Engl. J. Med.* 361:947-957). К сожалению, существует подгруппа целевых опухолей, либо устойчивых к соответствующим ИТК с начала лечения, либо приобретающих устойчивость к ним после первоначального ответа. В некоторых случаях неуспешного лечения были выявлены вторичные мутации в киназах-мишенях, которые напрямую или аллостерически влияют на форму АТФ-связывающего кармана, приводя к блокировке связывания ИТК (Deininger, M. et al. (2005) *Blood* 105:2640-2653; Kobayashi, S. et al. (2005) *N. Engl. J. Med.* 352:786-792; Pao, W. et al. (2005) *PLoS Med.* 2:e73; Shah, N.P. et al. (2002) *Cancer Cell* 2:117-125). Соответственно, существует выраженная необходимость в идентификации мутаций, обуславливающих устойчивость тирозинкиназ, таких как EML4-ALK, с целью более успешной разработки композиций, наборов и способов идентификации, оценки, предупреждения и лечения нарушений, связанных с их

аберрантной экспрессией и/или активностью.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Согласно настоящему изобретению предложены по меньшей мере композиция, способы и наборы для идентификации, оценки и лечения рака на основе идентификации новых мутаций в киназе анапластической лимфомы (ALK), придающих устойчивость к известным ингибиторам ALK. Такие мутации в ALK также имеют клиническую значимость для идентификации фармацевтических композиций, которые способны подходить по конфигурации аномальному АТФ-связывающему карману, формирующемуся вследствие новых мутаций в ALK, и ингибировать активность ALK.

Согласно одному аспекту настоящего изобретения предложен способ идентификации субъекта, страдающего раковым заболеванием или имеющего риск развития ракового заболевания, имеющего овышенный риск нечувствительности к лечению ингибитором ALK, включающий отбор пробы у пациента и анализа указанной пробы на присутствие одной или более молекул полинуклеотидов мутантных ALK, причем присутствие одной или более молекул полинуклеотидов мутантных ALK указывает на то, что указанный субъект имеет повышенный риск нечувствительности к лечению ингибитором ALK.

Согласно другому аспекту настоящего изобретения предложен способ выявления у субъекта рака или риска развития ракового заболевания, обладающего повышенным риском нечувствительности к лечению ингибитором ALK, включающий отбор пробы у пациента и анализа указанной пробы, при котором определяют уровень экспрессии, структуру и/или активность одного или более полипептидов мутантных ALK, причем присутствие одного или более полипептидов мутантных ALK указывает на то, что указанный субъект имеет повышенный риск нечувствительности к лечению ингибитором ALK.

Согласно некоторым вариантам реализации любого из аспектов настоящего изобретения указанный субъект ранее не подвергался лечению ингибитором ALK, или подвергался ранее лечению ингибитором ALK, и у него развилась по меньшей мере частичная устойчивость к ингибитору ALK (например, PF-02341066, PDD, 2-метил-11-(2-метилпропил)-4-оксо-4,5,6,11,12,13-гексагидро-2H-индазол[5,4-a]пиррол[3,4-c]карбазол-8-ил[4-(диметиламино)бензил]карбамат, (1S,2S,3R,4R)-3-({5-хлор-2-[(1-этил-2,3,4,5-тетрагидро-6-метокси-2-оксо-1H-1-бензазепин-7-ил)амино]-4-пиримидинил}амино)бицикло[2,2,1]гепт-5-ен-2-карбоксамид и NVP-TAE684). Согласно другим вариантам реализации указанное раковое заболевание выбирают из группы, состоящей из анапластической крупноклеточной лимфомы, нейробластомы, рака молочной железы, рака прямой и ободочной кишки, воспалительных миофибробластных опухолей и немелкоклеточного рака легких. Согласно другим вариантам реализации указанную пробу отбирают из группы, состоящей из мокроты, бронхоальвеолярного смыва, плеврального выпота, ткани, цельной крови, сыворотки, плазмы, соскоба слизистой щеки, слюны, спинномозговой жидкости, мочи, кала, циркулирующих клеток опухоли, циркулирующих нуклеиновых кислот и костного мозга. Согласно еще одному варианту реализации указанная проба включает клетки или ткани. Согласно некоторым вариантам реализации молекулы полинуклеотидов или одного или более полипептидов мутантных ALK выбирают из группы, состоящей из молекул полинуклеотидов мутантных ALK или полипептидов мутантных ALK, приведенных в таблице 1. Согласно другим вариантам реализации одну или более мутаций в ALK оценивают путем теста на гибридизацию нуклеиновых кислот. Согласно другим вариантам реализации одну или более мутаций в ALK оценивают посредством полимеразной цепной реакции. Согласно другим вариантам реализации уровень экспрессии полипептидов одной или более ALK

определяют с использованием реагента, который специфически связывается с полипептидами одной или более ALK (например, антитело, производное антитела и фрагмент антитела). Согласно другим вариантам реализации количество, структуру и/или активность одного или более полипептидов мутантных ALK сравнивают с контрольным образцом. Согласно некоторым другим вариантам реализации мутации в одной или более ALK оценивают в первый момент времени и по меньшей мере в один последующий момент времени. Согласно другим вариантам реализации указанная проба содержит эмбриональную или соматическую геномную ДНК.

Согласно еще одному аспекту настоящего изобретения предложен способ лечения пациента, страдающего раковым заболеванием, или с риском развития ракового заболевания, включающий отбор пробы у указанного пациента, анализа указанной пробы с целью выявления присутствия одной или более молекул полинуклеотидов мутантных ALK, как указано в Таблице 1, и введения указанному пациенту терапевтически эффективного количества ингибитора ALK. Согласно некоторым вариантам реализации указанный ингибитор ALK выбирают из группы, состоящей из PF-02341066, PDD, 2-метил-11-(2-метилпропил)-4-оксо-4,5,6,11,12,13-гексагидро-2H-индазол[5,4-a]пиррол[3,4-c]карбазол-8-ил [4-(диметиламино)бензил]карбамата, (1S,2S,3R,4R)-3-({5-хлор-2-[(1-этил-2,3,4,5-тетрагидро-6-метокси-2-оксо-1H-1-бензазепин-7-ил)амино]-4-пиримидинил}амино)бицикло[2.2.1]гепт-5-ен-2-карбоксамида и NVP-TAE684. Согласно другим вариантам реализации указанный субъект ранее не подвергался лечению ингибитором ALK, или ранее подвергался лечению ингибитором ALK, и у него развилась по меньшей мере частичная устойчивость к указанному ингибитору ALK.

Согласно еще одному аспекту настоящего изобретения предложен набор для определения хемочувствительности пациента с раковым заболеванием к лечению ингибитором ALK, включающий: реагент, который специфически связывается с молекулами полинуклеотидов или полипептидами одной или более мутантных ALK; и инструкцию по применению. Согласно некоторым вариантам реализации указанный набор включает дополнительно ингибитор ALK. Согласно другим вариантам реализации указанный реагент включает один или более полинуклеотидных зондов, каждый из которых содержит полинуклеотидную последовательность, комплементарную последовательности нуклеотида, представленной в Таблице 1, или комплементарную последовательности нуклеотида, кодирующего полипептид, представленный в Таблице 1 (например, олигонуклеотиды, молекулы кДНК, молекулы РНК и синтетические генные зонды, содержащие нуклеотидные основания). Согласно некоторым другим вариантам реализации указанные зонды включают полинуклеотиды длиной от 50 до 10^7 нуклеотидов. Согласно другим вариантам реализации указанный реагент включает антитело и производное антитела, и фрагмент антитела к полипептиду, кодируемому одной или более последовательностями полинуклеотидов, приведенными в Таблице 1.

Согласно другому аспекту настоящего изобретения предложен способ определения того, модулирует ли исследуемое соединение активность одного или более полипептидов мутантных ALK, включающий осуществление контакта клеток млекопитающих, трансфицированных конструкцией, кодирующей один или более полипептидов мутантных ALK, с тестируемым соединением и оценку активности одного или более полипептидов мутантных ALK в указанных клетках млекопитающих, причем в случае значительной модуляции активности в присутствии тестируемого соединения по сравнению с контрольным экспериментом тестируемое соединение идентифицируют как модулятор одного или более полипептидов мутантных ALK. Согласно некоторым

вариантам реализации молекулы полинуклеотидов или одного или более полипептидов мутантных ALK выбирают из группы, состоящей из молекул полинуклеотидов или полипептидов мутантных ALK, приведенных в таблице 1. Согласно другому варианту реализации указанный контроль включает клетки млекопитающего, экспрессирующие полипептид ALK дикого типа, выбранный из группы, состоящей из полипептидов, приведенных в Таблице 1. Согласно некоторым другим вариантам реализации активность одного или более полипептидов мутантных ALK выбирают из группы, состоящей из связывания АТФ, тирозинкиназной активности, пролиферации раковых клеток, роста опухоли, количества опухолей, апоптоза и метастазирования опухоли. Согласно некоторым другим вариантам реализации указанный контрольный эксперимент включает клетки млекопитающего, экспрессирующие один или более полипептидов мутантных ALK в отсутствие исследуемого соединения, причем экспрессию определяют, например, по активности одного или более полипептидов мутантных ALK (например, связывание АТФ, тирозинкиназную активность, пролиферацию раковых клеток, рост опухоли, количество опухолей, апоптоз и метастазирование опухоли).

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ФИГУР

На Фигуре 1 показаны новые мутации в ALK согласно настоящему изобретению, ассоциированные с устойчивостью к ингибиторам тирозинкиназ ALK. На Фигуре 1 представлено схематическое изображение белка EML4-ALK. Указаны положения двух мутаций *de novo* в киназном домене, положения для праймеров ПЦР для амплификации киназного домена или гибридной ДНК показаны закрашенными и незакрашенными стрелками выше, соответственно. На Фигуре 1 показаны результаты глубокого секвенирования кДНК киназного домена в ALK. Продукты ПЦР длиной ~1000 п.о. из линии клеток НМКРЛ H2228 или из образца с идентификационными номерами J-#1, J-#12, J-#113, J-#127 или LK-#33 секвенировали с использованием системы GAII. Значения, указывающие общее количество считываний (Total) и некомплементарных считываний (Mismatch), показаны в каждом положении киназного домена кДНК синими и красными ромбами, соответственно. На вкладках в увеличенном масштабе показана 5'-область кДНК для J-#1 и J-#113 (обозначены зелеными прямоугольниками). На Фигуре 1 показаны электрофореграммы для клонов кДНК ALK, окружающих положения G4374 и C4493. ПЦР проводили с кДНК, приготовленными из мокроты, полученной перед лечением (начальное состояние), и из клеток плеврального выпота, полученных после рецидива (Рецидив). Замененные нуклеотиды А показаны красным.

На Фигуре 2 показаны геномные последовательности, окружающие положения, соответствующие G4374 и C4493 в кДНК ALK. Геномную ДНК, выделенную из клеток в плевральном выпоте пациента, подвергали 35 циклам ПЦР при 94°C в течение 15 с, при 60°C в течение 30 с и при 68°C в течение 2 мин, с применением ДНК-полимеразы Taq с платиной («Invitrogen», Карлсбад, Калифорния) и следующих праймеров (5'-GGTAAGAAGTGGCTCACTCTTGAG-3' и 5'-CACAACAAGTGCAGCAAAGACTGG-3'), и продукты лигировали в плазмиду pT7Blue-2 («Takara Bio»), Вставки плазмид затем секвенировали на устройстве Genetic Analyzer 3130x1, в результате чего были идентифицированы клоны ПЦР, содержащие изменения в G4374A (левая панель) или C4493A (правая панель). Замененные нуклеотиды А показаны красным.

На Фигуре 3 показаны результаты обработки клеток BA/F3 ингибитором PF-02341066. Клетки BA/F3, экспрессирующие EML4-ALK (дикого типа), EML4-ALK(C1156Y), EML4-ALK(L1196M) или двойной мутантный EML4-ALK(C1156Y/L1196M), инкубировали в присутствии указанных концентраций PF-02341066 в течение 48 ч, после чего оценивали

морфологию клеток при помощи фазово-контрастной микроскопии. Масштабная метка 20 мкм.

На Фигуре 4 показаны свойства новых мутаций ALK согласно настоящему изобретению, ассоциированные с устойчивостью к ингибиторам тирозинкиназы ALK.

На Фигуре 4А указано число клеток BA/F3, экспрессирующих EML4-ALK (дикого типа), EML4-ALK(C1156Y), EML4-ALK(L1196M) или EML4-ALK(C1156Y/L1196M) с двойной

мутацией, определенное после инкубации 5×10^5 клеток в течение 48 ч с указанными концентрациями PF-02341066. Процент жизнеспособных клеток указан относительно числа клеток BA/F3, экспрессирующих EML4-ALK дикого типа. Данные представлены

как среднее \pm СО (стандартное отклонение) для трех отдельных экспериментов. На Фигуре 4В показано действие PF-02341066 на фосфорилирование тирозина в диком типе или в мутантных формах EML4-ALK. Клетки BA/F3, экспрессирующие EML4-ALK дикого типа или его мутанты с меткой FLAG, подвергали воздействию указанных концентраций PF-02341066 в течение 15 ч, после чего EML4-ALK подвергали

иммунопреципитации из лизатов клеток и проводили иммуноблоттинг с антителами, специфичными к Tyr¹⁶⁰⁴-фосфорилированному ALK или к эпитопу FLAG (ALK). В

качестве отрицательного контроля исследовали клетки, экспрессировавшие неактивный мутантный EML4-ALK (KM). На Фигуре 4С показан анализ киназной активности *in vitro* для EML4-ALK дикого типа или его мутантных вариантов с меткой FLAG,

иммунопреципитированных из лизата клеток BA/F3 (не обработанных ингибитором

ALK). Указанные иммунопреципитаты инкубировали с $[\gamma\text{-}^{32}\text{P}]\text{АТФ}$, синтетическим пептидом и указанными концентрациями PF-02341066. Фосфорилирование преципитатов пептидных субстратов оценивали раздельно методом иммуноблоттинга с антителами

к FLAG (нижняя панель).

На Фигуре 5 показана модель трехмерной структуры киназного домена ALK.

Положения аминокислот в ALK были перенесены на кристаллическую структуру рецептора инсулина со связанным аналогом АТФ ((ID «Iir3» в Японской Базе данных структур белков, доступен на международном интернет-сайте pdj.org/index.html). На

правой панели показана структура белка, наблюдаемая с левой стороны модели на левой панели. α -Спирали и β -слои показаны малиновым и оранжевым, соответственно.

Также указаны положения спирали αC , Cys¹¹⁵⁶ и Leu¹¹⁹⁶.

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Настоящее изобретение основано, по крайней мере частично, на идентификации определенных областей генома, включая, например, мутации в киназе анапластической лимфомы (ALK), ассоциированные с прогнозированием эффективности лечения рака ингибиторами ALK. В частности, в настоящей заявке были идентифицированы мутации

в гене ALK (например, мутации в гене, кодирующем полипептид EML4-ALK), которые могут приводить к образованию полипептидов, по меньшей мере частично устойчивых

к терапии ингибиторами ALK. Также согласно настоящему изобретению предложены способы идентификации таких специфических областей в геноме при помощи технологий,

известных в технике, включая микрочипы на основе олигонуклеотидов (Brennan, et al. (2004) Cancer Res. 64(14):4744-8; Lucito, et al. (2003) Genome Res. 13:2291-2305; Bignell et

al. (2004) Genome Res. 14:287-295; Zhao, et al (2004) Cancer Research, 64(9):3060-71), но не

ограничиваясь ими, и другие способы, описанные в настоящей заявке, включая,

например, способы, основанные на полимеразной цепной реакции (ПЦР) и прямом секвенировании. Также согласно настоящему изобретению предложены диагностические наборы для применения в указанных способах.

Разные аспекты настоящего изобретения описаны более подробно в следующих подразделах.

I. Определения

Формы единственного числа в настоящей заявке относятся к одному или более обозначенным грамматическим объектам. В качестве примера, «элемент» означает один элемент или более одного элемента.

Термин «измененное количество» или «измененный уровень» маркера относится к повышенному или пониженному числу копий маркера или участка хромосомы, таких как мутации гена ALK и/или продукта гена (например, маркеры, указанные в Таблице 1), и/или повышенный или пониженный, по сравнению с уровнем экспрессии или числом копий в контрольном образце, уровень экспрессии маркерного гена или генов в образце рака. Термин «измененное количество» маркера также включает повышенный или пониженный уровень белка - маркера в пробе, например, в пробе рака, по сравнению с уровнем белка - маркера в нормальном, контрольном образце.

Термин «измененный уровень экспрессии» мутаций гена ALK и/или продуктов гена (например, маркеры, указанные в Таблице 1) относится к уровню экспрессии или числу копий маркера в тестируемом образце, таком как образец, отобранный у пациента, страдающего раковым заболеванием, которые выше или ниже стандартной ошибки способа анализа, применяемого для оценки экспрессии или числа копий, и может по меньшей мере в два, по меньшей мере в три, по меньшей мере в четыре, по меньшей мере в пять или по меньшей мере в десять раз или более превышать уровень экспрессии или число копий мутированных генов ALK и/или продуктов гена (например, маркеры, указанные в Таблице 1) в контрольном образце (например, в образце от здорового субъекта, не страдающего ассоциированным заболеванием), или средний уровень экспрессии или число копий мутированного гена ALK и/или продуктов гена (например, маркеры, указанные в Таблице 1) для нескольких контрольных образцов. Измененный уровень экспрессии больше или меньше стандартной ошибки способа анализа, применяемого для оценки экспрессии или числа копий, и может по меньшей мере в два, по меньшей мере в три, по меньшей мере в четыре, по меньшей мере в пять или по меньшей мере в десять раз или более превышать уровень экспрессии или число копий мутированных генов ALK и/или продуктов гена (например, маркеры, указанные в Таблице 1) в контрольном образце (например, в образце от здорового субъекта, не страдающего ассоциированным заболеванием), или средний уровень экспрессии или число копий мутированного гена ALK и/или продуктов гена (например, маркеры, указанные в Таблице 1) для нескольких контрольных образцов.

Термин «измененная активность» маркера относится к активности маркера, которая повышена или понижена при заболевании, например, в пробах раковой опухоли, по сравнению с активностью указанного маркера в норме, в контрольной пробе.

Измененная активность может быть, например, результатом измененной экспрессии маркера, измененного уровня белка - маркера, измененной структуры маркера или, например, измененного взаимодействия с другими белками, участвующими в том же или другом пути передачи сигнала в качестве маркера.

Термин «измененная структура» маркера относится к наличию мутации или мутаций в гене маркера или в белке - маркере, например, мутаций, которые влияют на экспрессию или активность маркера, по сравнению с нормальным геном или белком дикого типа. Например, мутации включают мутации типа межхромосомных и внутрихромосомных перестроек, замен, делеций и вставок. Мутации могут иметь место в кодирующей или некодирующей области указанного маркера.

Термин «киназа анапластической лимфомы» или «ALK» взаимозаменяемо применяется в настоящей заявке и относится к нативной киназе анапластической лимфомы, а также к определенным ее вариантам и мутантам, полученным из одного источника (например, грызуны, люди и другие млекопитающие). Согласно некоторым вариантам реализации белок ALK соответствует идентификационному номеру NCBI Ref Seq NP_004295. Если не указано иное, данные термины относятся к белку человека. Также аббревиатура «ALK» в настоящей заявке может относиться к гену, кодирующему ALK. Согласно некоторым вариантам реализации последовательность нуклеотидов ALK соответствует идентификационному номеру NCBI Ref Seq NP_004304.3 и номеру доступа в системе GenBank 29029631, причем специалист в данной области техники может без труда идентифицировать в указанной системе значимые последовательности (например, кодирующие, 5'UTR, 3'UTR, инициацию транскрипции, инициацию трансляции, терминацию транскрипции, терминацию трансляции и др. последовательности).

Кроме того, термины «киназа анапластической лимфомы» или «ALK» в настоящей заявке также могут включать гибридные киназы ALK и их варианты, которые хорошо известны специалистам в данной области техники. Такие гибридные киназы ALK и их варианты обладают активностью киназы ALK и могут содержать мутации, описываемые в настоящей заявке, придающие киназе ALK устойчивость к ингибиторам ALK. К репрезентативным примерам можно отнести EML4-ALK Вариант 1 (AB274 722.1; BAF73611.1), EML4-ALK Вариант 2 (AB275889.1; BAF73612.1), EML4-ALK Вариант 3a (AB374361.1; BAG55003.1), EML4-ALK Вариант 3b (AB374362.1; BAG55004.1), EML4-ALK Вариант 4 (AB374363.1; BAG75147.1), EML4-ALK Вариант 5a (AB374364.1; BAG75148.1), EML4-ALK Вариант 5b (AB374365.1; BAG75149.1), EML4-ALK Вариант 6 (AB462411.1; BAH57335.1), EML4-ALK Вариант 7 (AB462412.1; BAH57336.1), KIF5B-ALK (AB462413.1; BAH57337.1), NPM-ALK, TPM3-ALK, TFGXL-ALK, TFGL-ALK, TFGS-ALK, ATIC-ALK, CLTC-ALK, MSN-ALK, TPM4-ALK, MYH9-ALK, RANBP2-ALK, AL017-ALK и CARS-ALK (см. например, публикацию Pulford et al., (2004) J. Cell. Physiol. 199: 330-358, которая включена в настоящую заявку посредством ссылки на ее полную версию). Кроме того, специалист в данной области техники должен понимать, что варианты киназы ALK могут возникать в зависимости от конкретного события объединения киназы ALK и ее партнера по слиянию (например EML4 может объединять в себе по меньшей мере экзон 2, 6a, 6b, 13, 14 и/или 15, как описано, например в публикации Horn and Rao, (2009) J. Clin. Oncol. 27:4247-4253, которая включена в настоящую заявку посредством ссылки на ее полную версию). Например, репрезентативные последовательности ALK, предложенные в настоящем изобретении, следующие:

40

45

Таблица 1

Последовательность кДНК ALK дикого типа (NM 004304.3; GI:29029631) :

1 gggggcgagc gcggtggtag cagctggtac ctcccgccgc ctctgttcgg agggtcgagg
5 61 ggcaccgagg tgctttccgg ccgccctctg gtcggccacc caaagccgag ggcgctgatg
121 atgggtgagg agggggcggc aagatttcgg ggcgccctgc cctgaacgcc ctacagctgct
181 gccgcccggg ccgctccagt gcctgcgaac tctgaggagc cgaggcgccg gtgagagcaa
241 ggacgctgca aacttgcgca gcgcgggggc tgggattcac gcccagaagt tcagcaggca
301 gacagtccga agccttcccg cagcggagag atagcttgag ggtgcgcaag acggcagcct
361 ccgccctcgg ttcccgccca gaccgggcag aagagcttgg aggagccaaa aggaacgcaa
421 aaggcgccca ggacagcgtg cagcagctgg gagccgccgt tctcagcctt aaaagtgtga
10 481 gagattggag gctgccccga gaggggacag accccagctc cgactgcggg gggcaggaga
541 ggacggtacc caactgccac ctcccttcaa ccatagtagt tcctctgtac cgagcgagc
601 gagctacaga cgggggagcg gcactcggcg cggagagcgg gaggctcaag gtcccagcca
661 gtgagccag tgtgcttgag tgtctctgga ctgcgccctg agcttccagg tctgtttcat
721 ttagactcct gctcgctccc gtgcagttgg gggaaagcaa gagacttgcg cgcacgcaca
781 gtccctctgga gatcagggtg aaggagccgc tgggtaccaaa ggactgttca gagcctcttc
841 ccatctcggg gagagcgaag ggtgaggctg ggcccgaga cagtgtaaa cggcctcttc
15 901 cggcgggatg ggagccatcg ggctcctgtg gctcctgccc ctgctgcttt ccacggcagc
961 tgtgggctcc gggatgggga ccggccagcg cgcgggctcc ccagctgcgg ggcgcgcgt
1021 gcagccccgg gagccactca gctactcgcg cctgcagagg aagagtctgg cagttgactt
1081 cgtggtgccc tcgctcttcc gtgtctacgc ccgggacctc ctgctgccac catcctcttc
1141 ggagctgaag gctggcaggc ccgaggcccg cggctcgcta gctctggact gcgccccgct
1201 gctcaggttg ctggggccgg cgccgggggt ctctggacc gccggttcac cagccccggc
20 1261 agaggcccg acgctgtcca ggggtgctga gggcggtccc gtgcgcaagc tccggcgtgc
1321 caagcagttg gtgctggagc tgggcgagga ggcgatcttg gagggttgcg tcgggcccc
1381 cggggaggcg gctgtggggc tgtctcagtt caatctcagc gagctgttca gttgggtggat
1441 tcgccaaggc gaaggcgac tgaggatccc cctgatgcc gagaagaagg cgtcggaagt
1501 gggcagagag ggaaggctgt ccgcggcaat tcgcgcctcc cagccccgc ttctcttcca
1561 gatcttcggg actggtcata gctccttgga atcaccaaca aacatgcctt ctctctctcc
1621 tgattatttt acatggaatc tcacctggat aatgaaagac tcttccctt tctgtctca
25 1681 tcgcagccga tatggtctgg agtgcagctt tgacttcccc tgtgagctgg agtattcccc
1741 tccactgcat gacctcagga accagagctg gtcctggcgc cgcattcccc ccgaggaggc
1801 ctcccagatg gacttgctgg atgggcctgg ggcagagcgt tctaaggaga tgcccagagg
1861 ctcccttctc ctctcaaca cctcagctga ctccaagcac accatcctga gtcctggat
1921 gaggagcagc agtgagcact gcacactggc cgtctcggtg cacaggcacc tgcagccctc
1981 tggaaggtac attgcccagc tgctgcccc caacgaggct gcaagagaga tctcctgat
30 2041 ccccactcca ggaagcatg gttggacagt gctccaggga agaactgggc gtccagacaa
2101 gccatttcga gtggccctgg aatacatctc cagtggaaac cgcagcttgt ctgcagtga
2161 cttctttgcc ctgaagaact ctgaggaagg aacatcccc ggctccaaga tggccctgca
2221 gagctccttc acttggttga atgggacagt cctccagctt gggcaggcct gtgacttcca
2281 ccaggactgt gccaggggag aagatgagag ccagatgtgc cggaaactgc ctgtgggttt
2341 ttactgcaac tttgaagatg gcttctgtgg ctggacccaa ggcacactgt caccaccac
2401 tcctcaatgg caggtcagga ccctaaagga tgcccgggtc caggaccacc aagaccatgc
35 2461 tctattgctc agtaccactg atgtccccg ttctgaaagt gctacagtga ccagtgtctac
2521 gtttctcgca ccgatcaaga gctctccatg tgagctccga atgtcctggc tcattcgtgg
2581 agtcttgagg ggaacgtgt ccttggtgct agtggaagc aaaaccggga aggagcaagg
2641 caggatggtc tggcatgtcg ccgcctatga aggttgagc ctgtggcagt ggtggtgtt
2701 gcctctctc gatgtgtctg acaggttctg gctgcagatg gtcgcatggt ggggacaagg
2761 atccagagcc atcgtggctt ttgacaatat ctccatcagc ctggactgct acctaccat
40 2821 tagcggagag gacaagatcc tgcagaatac agcacccaa tcaagaaacc tgtttgagag
2881 aaacccaaac aaggagctga aaccgggga aaattcacca agacagaccc ccatctttga
2941 ccctacagtt cattggctgt tcaccacatg tggggccagc gggccccatg gccccacca
3001 ggcacagtgc aacaacgcct accagaactc caacctgagc gtggagggtg ggaagcaggg
3061 cccctgaaa ggcattccaga tctggaagg ggcagccacc gacacctaca gcatctcggg
3121 ctacggagct gctggcgagg aaggcgagg gaacaccatg atgcgggtcc acggcgtgtc
3181 tgtgctgggc atcttcaacc tggagaagga tgacatgctg tacatcctgg ttgggcagca
3241 gggagaggac gcctgcccc gtacaaacca gttaatccag aaagtctgca ttggagagaa
45 3301 caatgtgata gaagaagaaa tccgtgtgaa cagaagcgtg catgagtggg caggaggcgg
3361 aggaggagg ggtggagcca cctacgtatt taagatgaag gatggagtgc cgggtccct
3421 gatcattgca gccggagggt gtggcagggc ctacggggcc aagacagaca cgttccacc
3481 agagagactg gagaataact cctcggttct agggctaacc ggcaattccg gagccgagc
3541 tgggtggagg ggtggaatg ataacacttc cttgctctgg gccggaaaat ctttgagga

3601 ggggtgccacc ggaggacatt cctgccccca ggccatgaag aagtgggggt gggagacaag
 3661 aggggggtttc ggaggggggtg gaggggggtg ctccctcaggt ggaggaggcg gaggatatat
 3721 aggcggcaat gcagcctcaa acaatgaccc cgaaatggat ggggaagatg ggggtttcctt
 3781 catcagtcga ctgggcatcc tgtacacccc agcttttaaaa gtgatggaag gccacgggga
 3841 agtgaatatt aagcattatc taaactgcag tcaactgtgag gtagacgaat gtcacatgga
 5 3901 ccctgaaagc cacaaggtca tctgcttctg tgaccacggg acggtgctgg ctgaggatgg
 3961 cgtctcctgc attgtgtcac ccaccccgga gccacacctg ccactctcgc tgatcctctc
 4021 tgtggtgacc tctgccctcg tggccgacct ggctctggct ttctccggca tcatgattgt
 4081 gtaccgcccgg aagcaccagg agctgcaagc catgcagatg gagctgcaga gccctgagta
 4141 caagctgagc aagctccgca cctcgacct catgaccgac tacaacccca actactgctt
 4201 tgctggcaag acctcctcca tcagtgcact gaaggagggtg ccgcggaata acatcacctt
 4261 cattcgggggt ctgggccatg gcgccttttg ggaggtgtat gaaggccagg tgtccggaat
 10 4321 gccaacgac ccaagccccc tgcaagtggc tgtgaagacg ctgcctgaag tgtgctctga
 4381 acaggacgaa ctggatttcc tcatggaagc cctgatcatc agcaaattca accaccagaa
 4441 cattgttcgc tgcattgggg tgagcctgca atccctgccc cggttcatcc tgctggagct
 4501 catggcgggg ggagacctca agtccttctt ccgagagacc cgccctcgcc cgagccagcc
 4561 ctccctccctg gccatgctgg accttctgca cgtggctcgg gacattgcct gtggctgtca
 4621 gtatttgagg gaaaaccact tcatccaccg agacattgct gccagaaact gcctcttgac
 15 4681 ctgtccaggc cctggaagag tggccaagat tggagacttc gggatggccc gagacatcta
 4741 cagggcgagc tactatagaa agggaggctg tgccatgctg ccagttaagt ggatgcccc
 4801 agaggccttc atggaaggaa tattcacttc taaaacagac acatggtcct ttggagtgt
 4861 gctatgggaa atcttttctc ttggatatat gccatacccc agcaaaagca accaggaagt
 4921 tctggagtgt gtcaccagtg gaggcggat ggacccacc aagaactgcc ctgggcctgt
 4981 ataccgata atgactcagt gctggcaaca tcagcctgaa gacaggccca actttgccat
 20 5041 cattttggag aggattgaat actgcacca ggacccggat gtaatcaaca ccgctttgcc
 5101 gatagaatat ggtccacttg tggaaagagga agagaaagtg cctgtgaggc ccaaggacc
 5161 tgaggggggtt cctcctctcc tggctcttca acaggcaaaa cgggaggagg agcgagccc
 5221 agctgccccca ccacctctgc ctaccacctc ctctggcaag gctgcaaaga aaccacagc
 5281 tgagagatc tctgttcgag tccctagagg gccggccgtg gaagggggac acgtgaatat
 5341 ggcattctct cagtccaacc ctccctcgga gttgcacaag gtccacggat ccagaaacaa
 5401 gccaccagc ttgtggaacc caacgtacgg ctccctggtt acagagaaac ccacaaaaaa
 25 5461 gaataatcct atagcaaaga aggagccaca cgacaggggt aacctggggc tggagggaag
 5521 ctgtactgtc ccacctaacg ttgcaactgg gagacttccg ggggcctcac tgctcctaga
 5581 gccctcttcg ctgactgcca atatgaagga ggtacctctg ttcaggctac gtcacttccc
 5641 ttgtgggaat gtcaattacg gctaccagca acagggctt cccttagaag ccgctactgc
 5701 ccctggagct ggtcattacg aggataccat tctgaaaagc aagaatagca tgaaccagcc
 5761 tgggcccctga gctcggctgc aactcactt ctcttccttg ggatccctaa gaccgtggag
 30 5821 gagagagagg caatggctcc ttcacaaacc agagaccaa tgctacgtt tgttttgtgc
 5881 caacctattt tgaagtacca ccaaaaaagc tgtattttga aaatgcttta gaaaggtttt
 5941 gagcatgggt tcatcctatt ctttcgaaag aagaaaatat cataaaaatg agtgataaat
 6001 acaaggccca gatgtggtg cataagggtt ttatgcatgt ttgttgata ctcccttatg
 6061 cttcttttcaa attgtgtgtg cctcgttcca atgtagtcag aattagctgc ttctatgttt
 6121 catagtgggg gtcatagatg tttccttgcc ttgttgatgt ggacatgagc catttgaggg
 6181 gagagggaac ggaataaag gagttatttg taatgactaa aa

Последовательность кДНК дикого типа с мутацией в кодоне TGC (4373-4375), кодирующей аминокислоту, отличную от цистеина, или с соответствующей мутацией в его гомологе

Последовательность кДНК дикого типа с мутацией в кодоне CTO (4493-4495), кодирующей аминокислоту, отличную от лейцина, или с соответствующей мутацией в его гомологе

Последовательность кДНК дикого типа с мутацией G4374A или с соответствующей мутацией в его гомологе

Последовательность кДНК дикого типа с мутацией C4493A или с соответствующей мутацией в его гомологе

Последовательность белка ALK дикого типа (NP 004295.2; GI:29029632):

1 mgaigllwll plllstaavg sgmgtgqrag spaagpplqp replsysrlq rkslavdfvv
 61 pslfrvyard lllppsssel kagrpeargs laldcapllr llgpapgvsw tagspapaea

121 rtlslrvlkgg svrkllrrakq lvlelgeeeai legcvgppge aavgllqfnl selfswwirg
 181 gegrlrlrlm pekkasevgr egrlsaaaira sqprllfqif gtghsslesp tnmppspdy
 241 ftwnltwimk dsfpflshrs ryglecsfdf pceleyspl hdlrnqswsw rripseeasq
 301 mdlldgpgae rskemprgsf lllntsadsk htislpwmrs ssehctlavs vhrhlqpsgr
 361 yiaqlplhne aareillmpt pgkhgwtvlq grigrpdnpf rvaleyissg nrsalsavdff
 5 421 alkncsegts pgskmalqss ftcwngtvlq lgqacd fhqd caggedesqm crklpvgfyc
 481 nfedgfcgwt qgtlsphptq wqvrtlkdar fqdhqd hall lsttdvpase satvtsatfp
 541 apiksspcel rmswlirgvl rgnvslvlve nktgkeqgrm vwhvaayegl slwqwmvlp
 601 ldvsdrfwlq mvawwgqgsr aivafdnisi sldcyltisg edkilqntap ksrnlfernp
 661 nkelkpgens prqtpifdpt vhwlfctcga sgphgptqaq cnnayqnsnl svevgsegpl
 721 kgiqiukvpa tdtysisgyg aaggkggknt mmrshgvsvl gifnlekddm lyilvgqqge
 10 781 dactpntqli qkvcigennv ieeerivnrs vhwaggggg gggatyvfk mkgvvpplii
 841 aaggggrayg akttdtfhper lennssvlgl ngnsagaagg ggwndntsl wagslqega
 901 tggghscpqam kkwgwetrgg fggggggcscs ggggggyigg naasnndpem dgedgvsfis
 961 plgilytpal kmeghgevn ikhylvncshc evdechmdpe shkvicfcdh gtvlaedgvs
 1021 civsptpeph lplslilsvv tsalvaalvl afsgimivyr rkhqelqamq melqspeykl
 1081 sklrststimt dynpnycfag ktssisdike vprknitlir glghgafgev yegqvsgmpn
 1141 dpsplqvavk tlpevcseqd eldfilmeali iskfhnqnv rcigvslqsl prfillelma
 15 1201 ggdlksflre trprpsqps lamldllhva rdiacgcqyl eenhfihrdi aarnclltcp
 1261 gpgrvakigd fgmaridiya syrkggcam lpvkwmpea fmegiftskt dtwsfgvllw
 1321 eifslgympe psksnqevle fvtsggrmdp pkncpgpvyr imtgcwqhqp edrpnfail
 1381 erieyctqdp dvintalpie ygplveeeek vpvprkdpeg vppllvsqga kreeerspaa
 1441 ppplpttssg kaakkptaee isvrpvrpaa vegghvnmf sqsnppselh kvhgsrnkpt
 1501 slwnptygsw ftekptkkn piakkephdr gnlglegsc vppnvatgrl pgaslilleps
 20 1561 sltanmkevp lfrlrhfcg nvnygyqqg lpleaatag aghyedtilk sknsnmnqpgp

Последовательность белка дикого типа с мутацией Cysll56Xaa, где Xaa - это аминокислота, отличная от цистеина, или с соответствующей мутацией в его гомологе

Последовательность белка дикого типа с мутацией Leull96Xaa, где Xaa - это аминокислота, отличная от лейцина, или с соответствующей мутацией в его гомологе

25 Последовательность белка дикого типа с мутацией Cysll56Tyr или с соответствующей мутацией в его гомологе

Последовательность белка дикого типа с мутацией Leull96Met mutation или с соответствующей мутацией в его гомологе

30 **Последовательность кДНК EML4-ALK Варианта 1 AB274722.1; GI:152002652)**
 1 ggcggcgcg cgcggcgctc ggcgctgctg cctgggaggg aggccgggca ggcggctgag
 61 cggcgcggt ctcaacgtga cggggaagt gttcggggcg cgcggccta ctacccagg
 121 gcgaacggac ggacgacgga ggcgggagcc ggtagccgag ccgggagacc tagagaacga
 181 ggcgggtcagg ctacgctcg gccactctgt cgggtccgctg aatgaagtgc ccgccccctct
 241 gagcccgag cccggcgctt tccccgcaag atggacgggt tcgcccggcag tctcgatgat
 35 301 agtatttctg ctgcaagtac ttctgatgt caagatcgcc tgtcagctct tgagtacga
 361 gttcagcaac aagaagatga aatcactgtg ctaaaggcgg ctttggtga tgttttgagg
 421 cgtcttgcaa tctctgaaga tcatgtggcc tcagtgaata aatcagtctc aagtaaaggc
 481 caaccaagcc ctgagcagc tattcccatg tctgtataa ccaatggaag tgggtgcaaac
 541 agaaaaccaa gtcataccag tgctgtctca attgcaggaa aagaaactct ttcactgct
 601 gctaaaagt gtcagaaaa aaagaaagaa aaaccacaag gacagagaga aaaaaagag
 661 gaatctcatt ctaatgatca aagtccacaa attcgagcat caccttctcc ccagccctct
 40 721 tcacaacctc tccaaataca cagacaaact ccagaaagca agaatgctac tccacacaaa
 781 agcataaaac gaccatcacc agctgaaaag tcacataatt cttgggaaaa ttcagatgat
 841 agccgtaata aattgtcgaa aataccttca acacccaaat taatacaaaa agttacacaa
 901 actgcagaca agcataaaga tgtcatcatc aaccaagaag gagaatatat taaaatgttt
 961 atgcgcggtc ggccaattac catgttcatt ccttccgatg ttgacaacta tgatgacatc
 1021 agaacggaac tgcctcctga gaagctcaaa ctggagtggg catatggtta tcgaggaaaag
 45 1081 gactgttaga ctaatgttta ccttcttccg accggggaaa tagtttattt cattgcatca
 1141 gtagtagtac tatttaatta tgaggagaga actcagcgac actacctggg ccatacagac
 1201 tgtgtgaaat gccttgctat acatcctgac aaaattagga ttgcaactgg acagatagct

1261 ggcgtggata aagatggaag gcctctacaa cccacgtca gagtgtggga ttctgttact
 1321 ctatccacac tgcagattat tggacttggc acttttgagc gtggagtagg atgcctggat
 1381 ttttcaaaaag cagattcagg tgttcatтта tgtgttattg atgactccaa tgagcatatg
 1441 cttactgtat gggactggca gaagaaagca aaaggagcag aaataaagac aacaaatgaa
 1501 gttgttttgg ctgtggagtt tcacccaaca gatgcaaata ccataattac atgcggtaaa
 5 1561 tctcatatтт tcttctggac ctggagcggc aattcactaa caagaaaaca gggaattttt
 1621 gggaaatatg aaaagccaaa atttgtgcag tgttttagcat tcttggggaa tggagatgtt
 1681 cttactggag actcaggtgg agtcatgctt atatggagca aaactactgt agagcccaca
 1741 cctgggaaag gacctaaagt gtaccgcccg aagcaccagg agctgcaagc catgcagatg
 1801 gagctgcaga gccctgagta caagctgagc aagctccgca cctcgaccat catgaccgac
 1861 tacaacccca actactgctt tgetggcaag acctcctcca tcagtacctt gaaggaggtg
 10 1921 ccgcggaaaa acatcacctt cattcggggg ctgggccatg gagcctttgg ggaggtgtat
 1981 gaaggccagg tgtccggaat gcccaacgac ccaagccccc tgcaagtagc tgcgaagacg
 2041 ctgcctgaag tgtgctctga acaggacgaa ctggatttcc tcatggaagc cctgatcatc
 2101 agcaaattca accaccagaa cattgttcgc tgcattgggg tgagcctgca atccctgccc
 2161 cggttcatcc tgctggagct catggcgggg ggagacctca agtccttctt ccgagagacc
 2221 cgccctcgcc cgagccagcc ctctcctctg gccatgctgg accttctgca cgtggctcgg
 2281 gacattgcct gtggctgtca gtatttggag gaaaaccact tcatccaccg agacattgct
 15 2341 gccagaaact gcctcttgac ctgtccaggc cctggaagag tggccaagat tggagacttc
 2401 gggatggccc gagacatcta cagggcgagc tactatagaa agggaggctg tgccatgctg
 2461 ccagttaagt ggatgcccc agaggccttc atggaaggaa tattcacttc taaaacagac
 2521 acatggctct ttggagtgtt gctatgggaa atcttttctt ttggatatat gccatacccc
 2581 agcaaaagca accaggaagt tctggagttt gtcaccagtg gaggccggat ggaccacccc
 2641 aagaactgcc ctgggcctgt ataccggata atgactcagt gctggcaaca tcagcctgaa
 20 2701 gacaggccca actttgcat cattttggag aggattgaat actgcacca ggaccggat
 2761 gtaatcaaca ccgctttgcc gatagaatat ggtccacttg tggaaagagga agagaaagtg
 2821 cctgtgaggg ccaaggacc agctgcccc ccacctctgc ctaccacctc ctctggcaag
 2881 cgggaggagg agcgagccc agtgcacca cctctctgc ctaccacctc ctctggcaag
 2941 gctgcaaaga aaccacagc tgcagaggtc tctgttcgag tccctagagg gccggccgtg
 3001 gaagggggac acgtgaatat ggcattctct cagtccaacc ctcttcgga gttgcacagg
 3061 gtccacggat ccagaaacaa gccaccagc ttgtggaacc caacgtacgg ctctgggtt
 25 3121 acagagaaac ccacaaaaa gaataatcct atagcaaaga aggagccaca cgagaggggt
 3181 aacctggggc tggaggggaag ctgtactgtc ccacctaacg ttgcaactgg gagacttccg
 3241 ggggcctcac tgctcctaga gccctcttcg ctgactgcca atatgaagga ggtacctctg
 3301 ttcaggctac gtcacttccc ttgtgggaat gtcaattacg gctaccagca acagggcttg
 3361 cccttagaag ccgctactgc ccctggagct ggtcattacg aggataccat tctgaaaagc
 3421 aagaatagca tgaaccagcc tgggccctga gctcggtcac aactcactt ctcttcttg
 30 3481 ggatccctaa gaccgtggag gagagagagg caatcaatgg ctcttcaca aaccagagac
 3541 caaatgtcac gttttgtttt gtgccaacct attttgaagt accacaaaaa aagctgtatt
 3601 ttgaaaatgc tttagaaagg ttttgagcat gggttcatcc tattctttcg aaagaagaaa
 3661 atatcataaa aatgagtgat aaatacaagg ccagatgtg gttgcataag gtttttatgc
 3721 atgtttgttg tatacttctt tatgcttctt ttaaattgtg tgtgctctgc ttcaatgtag
 3781 tcagaattag ctgcttctat gtttcatagt tggggtcata gatgtttctt tgccttgttg
 3841 atgtggacat gagccatttg aggggagagg gaacggaaat aaaggagtta tttgtaatga
 35 3901 aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaa

40

45

Последовательность белка EML4-ALK Варианта 1 (BAF73611.1; GI:152002653)

1 mdgfagslidd sisaastsdv qdrlsalesr vqqgedeitv lkaaladvlr rlaisedhva
 61 svkksvsskg qpspravipm scitngsgan rkpshtsavs iagketlssa aksgtekkke
 121 kpqqgrekke eshsndqspq iraspspps sqplqihrt pesknaptk sikrpspaek
 181 shnswensdd srnklskips tpklipkvtk tadkhkdvii ngegeyikmf mrgrpitmfi
 241 psdvdnyddi rtelppeklk lewaygyrgk dcranvyllp tgeivyfias vvvlfnyeer
 301 tqrhylghtd cvkclaihp d kiriatgqia gvdkdgrplq phvrwdsvt lstlqiiglg
 361 tfergvgcld fskadsgvhl cviddsnehm ltvwdwqkka kgaeikttne vvlavefhpt
 421 dantiitcgk shiffwtwsg nsltrkqgif gkyekpkfvq claflgngdv ltgdsggvml
 481 iwskttept pgkgpkvyrr khqelqamqm elqspeykls klrtstimtd ynpnycfagk
 541 tssisdikev prknitlirg lghgafgevy egqvsgmpnd psplqvavkt lpevcseqde
 601 ldflmealii skfnhqnvir cigvslqslp rfillelmag gdlksflret rprpsqpsl
 661 amldllhvar diacgcqyle enhfihrdia arnclltcpg pgrvakigdf gmardiyas
 721 yyrkggcaml pvkwmppeaf megiftsktd twsfgvllwe ifslgympyp sksnqevlef
 781 vtsggrmdpp kncpgpvyri mtqcwqhpe drpnfaiile rieyctqdpd vintalpiey
 841 gplveeeekv pvrpkdpegv ppllvsqqak reeerspaap pplpttssgk aakkptaaev
 901 svrvprgpav egghvnmafs qsnppselhr vhgsrnkpts lwnptygswf tekptkknnp
 961 iakkepherg nlglegsctv ppnvatgrlp gaslllepss ltanmkevpl frlrhfpcgn
 1021 vnygyqqqgl pleaatapga ghyedtilks knsmnqpgp

Последовательность кДНК EML4-ALK Варианта 2 (AB275889.1; GI:152002654)

1 ggcggcgcg ggcggcgctc ggcggctgctg cctgggaggg aggcggggca ggcggctgag
61 cggcgcggt ctcaacgtga cggggaagtg gttcgggagg ccgcggtta ctacccagg
5 121 gcgaacggac ggacgacgga ggcgggagcc ggtagccgag ccggcgacc tagagaacga
181 gcggggtcagg ctacgagctcg gccactctgt cgggccgctg aatgaagtgc ccgccctct
241 gagcccgagg cccggcgctt tccccgcaag atggacgggt tcgccggcag tctcgatgat
301 agtattttctg ctgcaagtac ttctgatgtt caagatcgcc tgtcagctct tgagtcacga
361 gttcagcaac aagaagatga aatcactgtg ctaaaggcgg ctttggtgta gtttttgagg
421 cgtcttgcaa tctctgaaga tcatgtggcc tcagtgaata aatcagctct aagtaaaggc
481 caaccaagcc ctcgagcagt tattcccatg tctgtataa ccaatggaag tgggtgcaaac
10 541 agaaaaccaa gtcataccag tgctgtctca attgcaggaa aagaactctt ttcatctgct
601 gctaaaagtg gtacagaaaa aaagaaagaa aaaccacaag gacagagaga aaaaaagag
661 gaatctcatt ctaatgatca aagtccacaa attcgagcat cacttctcc ccagccctct
721 tcacaacctc tccaaataca cagacaaact ccagaaagca agaattgctac tcccaccaa
781 agcataaaac gaccatcacc agctgaaaag tcacataatt cttgggaaaa ttcagatgat
841 agccgtaata aattgtcgaa aataccttca acacccaaat taataccaaa agttaccaa
901 actgcagaca agcataaaga tgtcatcatc aaccaagaag gagaatatat taaaatgttt
15 961 atgcgcggtc ggccaattac catgttcatt ccttccgatg ttgacaacta tgatgacatc
1021 agaacggaac tgcctcctga gaagctcaaa ctggagtggg catatgggta tcgaggaaa
1081 gactgtagag ctaatgttta ccttcttccg accggggaaa tagtttattt cattgcatca
1141 gtagtagtac tatttaatta tgaggagaga actcagcgac actacctggg ccatacagac
1201 tgtgtgaaat gccttgctat acatcctgac aaaattagga ttgcaactgg acagatagct
1261 ggcgtggata aagatggaag gcctctacaa cccacgtca gagtgtggga ttctgttact
1321 ctatccacac tgcagattat tggacttggc acttttgagc gtggagttag atgcctggat
20 1381 ttttcaaaag cagattcagg tggtcattta tgtgttattg atgactccaa tgagcatatg
1441 cttactgtat gggactggca gaagaaagca aaaggagcag aaataaagac aacaaatgaa
1501 gttgttttgg ctgtggagtt tcacccaaca gatgcaaata ccataattac atgcggtaaa
1561 tctcatattt tcttctggac ctggagcggc aattcactaa caagaaaaca gggaaatttt
1621 gggaaatatg aaaagccaaa atttgtgcag tgttttagcat tcttggggaa tggagatgtt
1681 cttactggag actcaggtgg agtcatgctt atatggagca aaactactgt agagcccaca
25 1741 cctgggaaag gacctaaagg tgtatatcaa atcagcaaac aaatcaaagc tcatgatggc
1801 agtgtgttca cactttgtca gatgagaaat gggatgttat taactggagg agggaaagac
1861 agaaaaataa ttctgtggga tcatgatctg aatcctgaaa gagaaataga ggttcttgat
1921 cagtatggca caatcagagc tgtagcagaa ggaaaggcag atcaattttt agtaggcaca
1981 tcacgaaact ttatttttac aggaacattt aatgatggct tccaaataga agtacagggt
2041 catacagatg agctttgggg tcttgccaca catcccttca aagatttgct cttgacatgt
30 2101 gctcaggaca ggcaggtgtg cctgtggaac tcaatggaac acaggctgga atggaccagg
2161 ctggtagatg aaccaggaca ctgtgcagat ttcatccaa gtggcacagt ggtggccata
2221 ggaacgcact caggcaggtg gtttgttctg gatgcagaaa ccagagatct agtttctatc
2281 cacacagacg ggaatgaaca gctctctgtg atgcgtact caatagatgg taccttcttg
2341 gctgtaggat ctcatgacaa ctttattttac ctctatgtag tctctgaaaa tggaaagaaa
2401 tatagcagat atggaagggt cactggacat tccagctaca tcacacacct tcatgggtcc
2461 ccagacaaca agtatataat gtctaactcg ggagactatg aaatattgta cttgtaccgc
35 2521 cggaagcacc aggagctgca agccatgcag atggagctgc agagccctga gtacaagctg
2581 agcaagctcc gcacctcgac catcatgacc gactacaacc ccaactactg ctttgctggc
2641 aagacctcct ccatcagtga cctgaaggag gtgccgcgga aaaacatcac cctcattcgg
2701 ggtctggggc atggagcctt tggggaggtg tatgaaggcc aggtgtccgg aatgccaac
2761 gacccaagcc cctgcaagt ggctgtgaag acgtgcctg aagtgtgctc tgaacaggac
2821 gaactggatt tctcatgga agccctgatc atcagcaaat tcaaccacca gaacattgtt
2881 cgctgcattg gggtagcct gcaatccctg ccccggttca tctgtctgga gctcatggcg
40 2941 gggggagacc tcaagtcctt cctccgagag acccgccctc gcccgagcca gccctcctcc
3001 ctggccatgc tggaccttct gcacgtggct cgggacattg cctgtggctg tcagtatttg
3061 gaggaaaacc acttcatcca ccgagacatt tctgggatgg cccgagacat ctagaggcg
3121 ggccctggaa gagtggccaa gattggagac cctgggatgg cccgagacat ctacaggcg
3181 agctactata gaaagggagg ctgtgccatg ctgccagtta agtggatgcc cccagaggcc
3241 ttcatggaag gaatattcac ttctaaaaca gacacatggt ctttgaggat gctgctatgg
3301 gaaatctttt ctcttgata tatgccatac cccagcaaaa gcaaccagga agttctggag
45 3361 tttgtcacca gtggaggccg gatggacca cccaagaact gccctggggc tgtataccg

3421 ataatgactc agtgcctggca acatcagcct gaagacaggc ccaactttgc catcattttg
 3481 gagaggattg aatactgcac ccaggaccgc gatgtaatca acaccgcttt gccgatagaa
 3541 tatgggtccac ttgtggaaga ggaagagaaa gtgcctgtga ggccaagga ccctgagggg
 3601 gttcctcctc tcttggtctc tcaacaggca aaacgggagg aggagcgag cccagctgcc
 3661 ccaccacctc tgcctaccac ctcctctggc aaggctgcaa agaaaaccac agctgcagag
 5 3721 gtctctgttc gagtccctag agggccggcc gtggaagggg gacacgtgaa tatggcattc
 3781 tctcagttcca accctccttc ggagttgcac aggggtccac gatccagaaa caagcccacc
 3841 agcttgtgga acccaacgta cggctcctgg ttacagaga aaccaccaa aaagaataat
 3901 cctatagcaa agaaggagcc acacgagagg ggtaacctgg ggctggaggg aagctgtact
 3961 gtccacaccta acgttgcaac tgggagactt ccgggggcct cactgctcct agagccctct
 4021 tgcgtgactg ccaatatgaa ggaggtacct ctgttcaggc tacgtcactt cccttgtggg
 4081 aatgtcaatt acggctacca gcaacagggc ttgcccttag aagccgctac tgccttggga
 10 4141 gctggtcatt acgaggatac cattctgaaa agcaagaata gcatgaacca gcctgggccc
 4201 tgagctcggg cacacactca cttctcttcc ttgggatccc taagaccgtg gaggagagag
 4261 aggcaatcaa tggctccttc acaaaccaga gaccaaattg cacgttttgt tttgtgcaa
 4321 cctattttga agtaccacca aaaaagctgt attttgaaaa tgcttttagaa aggttttgag
 4381 catgggttca tcctattctt tcgaaagaag aaaatatcat aaaaatgagt gataaatata
 4441 aggccagat gtggttgcac aaggttttta tgcattgttg ttgtatactt ccttatgctt
 15 4501 ctttttaatt gtgtgtgctc tgcttcaatg tagtcagaat tagctgcttc tatgtttcat
 4561 agttgggggtc atagatgttt ccttgcttgg ttgatgtgga catgagccat ttgaggggag
 4621 agggaacgga aataaaggag ttatttgtaa tgaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaa

Последовательность белка EML4-ALK Варианта 2 (BAF73612.1; GI:152002655)

1 mdgfagsldd ssaastsdv qdrlesalesr vqqgedeitv lkaaladvlr rlaisedhva
 20 61 svkksvsskg qpspravipm scitngsgan rkpshtsavs iagketlssa aksgtekkke
 121 kpqgqrekke eshsndqspq iraspspqs sqplqihrt pesknaptk sikrpspaek
 181 shnswensdd srnklskipk tpklipkvtk tadkhkdvii ngegeyikmf mrgrpitmfi
 241 psdvdnyddi rtelppekik lewaygyrgk dcranvyllp tgeivyfias vvlfnyeer
 301 tqrhylvghd cvkclaihp kiriatgqia gvdkdgrplq phvrwdsvt lstlqiiglg
 361 tfergvvgld fskadsgvhl cviddsnehm ltvwddwqka kgaeikttne vvlavefhpt
 421 dantiitcgk shiffwtwsg nsltrkqgif gkyekpkfvq clafingndv ltgdsggvml
 25 481 iwsktttvept pgkpgkgyvq iskqikahdg svftlcqmrn gmltgggkd rkiilwdhdl
 541 npereievdp qygtiravae gkadqflvgt srnfilrgtf ndgfqievqg htdelwglat
 601 hpfkdlldtc aqdrqvclwn smehrlwtr lvdepghead fhpsgtvva gthsgwfvvl
 661 daetrdlvsi htdgneqlsv mrysidgtfl avgshdnfiy lyvvsengrk ysrygrctgh
 721 ssyithldws pdnkyimsns gdeilylyr rkqgelqamq melqspeykl sklrststmt
 781 dynpnycfag ktssisdike vprknitlir glghgafgev yegqvsgmpn dpsplqvavk
 30 841 tlpevcseqd eldfmeali iskfnhqniv rcigvslqsl prfillelma ggdlksflre
 901 trprpsqpss lamldllhva rdiacgcqyl eenhfihrdi aarnclltcp gpgrvakigd
 961 fgmardiyra syyrkggcam lpvkwmppa fmegiftskt dtwsfgvllw eifslgympy
 1021 psksnqevle fvtsggrmdp pkncpgpvyr imtqcwqhqp edrpnfaiil erieyctqdp
 1081 dvintalpie ygplveeek vprvpkdpv vppllvsqqa kreeerspaa ppplpttssg
 1141 kaakkptaee vsrvprgpa vegghvnmaf sqsnppselh rvhgsrnkpt slwnptygsw
 1201 ftekptkkn piakkepher gnlglegsc vppnvatgrl pgasllleps sltanmkevp
 35 1261 lfrlrhfpag nvnygyqqqg lpleaatapg aghyedtilk sknsnmqpgp

Последовательность нуклеиновых кислот EML4-ALK Варианта 3a (AB374361.1; GI:194072592)

1 actctgtcgg tccgctgaat gaagtgcgcg cccctctaag cccggagccc ggcgctttcc
 61 ccgcaagatg gacgggttctg ccggcagctc cgatgatagt atttctgctg caagtacttc
 40 121 tgatgttcaa gatcgctgtg cagctcttga gtcacgagtt cagcaacaag aagatgaaat
 181 cactgtgcta aaggcggctt tggctgatgt tttgaggcgt cttgcaatct ctgaagatca
 241 tgtggcctca gtgaaaaaat cagtctcaag taaaggccaa ccaagccctc gagcagttat
 301 tcccatgtcc tgtataacca atggaagtgg tgcaaacaga aaaccaagtc ataccagtgc
 361 tgtctcaatt gcaggaaaag aaactctttc atctgctgct aaaagtggta cagaaaaaaa
 421 gaaagaaaaa ccacaaggac agagagaaaa aaaagaggaa tctcattcta atgatcaaag
 481 tccacaaatt cgagcatcac cttctcccca gccctcttca caacctctcc aaatacacag
 45 541 acaaaactca gaaagcaaga atgctactcc caccaaaaagc ataaaaacgac catcaccagc
 601 tgaaaagtca cataattctt gggaaaattc agatgatagc cgtaataaat tgtcgaaaaat
 661 accttcaaca ccaaaattaa taccaaaagt taccaaaact gcagacaagc ataaagatgt
 721 catcatcaac caagtgtacc gccggaagca ccaggagctg caagccatgc agatggagct
 781 gcagagccct gagtacaagc tgagcaagct ccgcaacctg accatcatga ccgactacaa

841 ccccaactac tgctttgctg gcaagacctc ctccatcagt gacctgaagg aggtgccg
 901 gaaaaacatc accctcattc ggggtctggg ccatggagcc tttggggagg tgtatgaagg
 961 ccaggtgtcc ggaatgcca acgacccaag cccctgcaa gtggctgtga agacgtgcc
 1021 tgaagtgtgc tctgaacagg acgaactgga tttcctcatg gaagccctga tcatcagcaa
 1081 attcaaccac cagaacattg ttcgctgcat tgggtgagc ctgcaatccc tgccccggtt
 5 1141 catcctgctg gagctcatgg cggggggaga cctcaagtcc ttcctccgag agaccgccc
 1201 tcgcccagac cagccctcct ccttgccatt gctggacctt ctgcacgtgg ctccgggacat
 1261 tgcctgtggc tgtcagtatt tggaggaaaa ccacttcac caccgagaca ttgctgccag
 1321 aaactgcctc ttgacctgtc caggccctgg aagagtggcc aagattggag acttcgggat
 1381 ggcccgagac atctacaggg cgagctacta tagaaaggga ggctgtgcca tgcctgcagt
 1441 taagtggatg cccccagagg ccttcatgga aggaatattc acttctaaaa cagacacatg
 1501 gtcctttgga gtgctgctat gggaaatctt ttctcttga tatatgccat accccagcaa
 10 1561 aagcaaccag gaagttctgg agtttgtcac cagtggaggc cggatggacc caccgaagaa
 1621 ctgcccctggg cctgtatacc ggataatgac tcagtgtctg caacatcagc ctgaagacag
 1681 gcccaacttt gccatcattt tggagaggat tgaatactgc acccaggacc cggatgtaat
 1741 caacaccgct ttgccgatag aatatggctc acttgtggaa gaggaagaga aagtgcctgt
 1801 gagggccaag gaccctgagg ggggttcctc tctcctggc tctcaacagg caaaacggga
 1861 ggaggagcgc agcccagctg cccaccacc tctgctacc acctcctctg gcaaggctgc
 15 1921 aaagaaaacc acagctgcag aggtctctgt tcgagtcctt agaggggcgg ccgtggaagg
 1981 gggacacgtg aatatggcat tctctcagtc caacctcct tcggagtctc acagggtcca
 2041 cggatccaga aacaagccca ccagcttctg gaaccaacg tacggctcct ggtttacaga
 2101 gaaaccacc aaaaagaata atcctatagc aaagaaggag ccacacgaga ggggtaacct
 2161 ggggctggag ggaagctgta ctgtccacc taacgttgca actgggagac ttccgggggc
 2221 ctactgctc ctagagccct cttcgtgac tgccaatatg aaggaggtac ctctgttcag
 2281 gctacgtcac ttcccttctg ggaatgtcaa ttacggctac cagcaacagg gcttgcctt
 20 2341 agaagccgct actgcccctg gagctggctc ttacaggat accattctga aaagcaagaa
 2401 tagcatgaac cagcctgggc cctgagctcg gtcgcacact cacttctctt ccttgggatc
 2461 cctaagaccg tgg

Последовательность белка EML4-ALK Варианта 3a (BAG55003.1; GI:194072593)

1 mdgfagsldd sisaastsdv qdrlsalesr vqqgedeitv lkaaladvlr rlaisedhva
 25 61 svkksvsskg qpspravipm scitngsgan rkpshtsavs iagketlssa aksgtekkke
 121 kpqgqrekke eshsndqspq iraspspps sqplqihrt pesknaptk sikrpspaek
 181 shnswensdd srnklskips tpklikvkt tadkhkdvii nqvyrrkhqe lqamqmelqs
 241 peyklsklrr stimtdynpn ycfagktssi sdlkevprkn itlirglghg afgevyegqv
 301 sgmpndpspl qvavktlpev cseqdeldfl mealiiskfn hqnivrcigv slqslprfil
 361 lelmaggdlk sflretrprp sqpsslamld llhvardiac gcqyleenhf ihrdiaarnc
 30 421 lltcpggrv akigdfgmar diyasyrkr ggcamlpvkw mppaefmegi ftsktdtwsf
 481 gvllweifsl gympypsksn qevlefvtsg grmdppkncp gpvyrimtqc wqhqpdrpn
 541 faaileriey ctqdpdvint alpieyglv eeeekvpvrp kdpegvppll vsqqakreee
 601 rspaappplp ttssgkaakk ptaaevsrv prgpaveggh vnmafsqsnp pselhrvhgs
 661 rnkptslwnp tygswftekp tkknpiakk ephergnlgl egsctvppnv atgrlpgasl
 721 llepssltan mkevplfrlr hfpcgnvnyg yqqqglplea atapgaghye dtilksknsm
 781 nqrgp

Последовательность нуклеиновой кислоты EML4-ALK Варианта 3b (AB374362.1; GI:194072594)

1 actctgtcgg tccgctgaat gaagtggccg cccctctaag cccggagccc ggcgctttcc
 61 ccgcaagatg gacggtttcg ccggcagctc ccatgatagt atttctgctg caagtacttc
 121 tgatgttcaa gatcgctgt cagctcttga gtcacgagtt cagcaacaag aagatgaaat
 40 181 cactgtgcta aaggcggctt tggtgatgt tttgaggcgt cttgcaatct ctgaagatca
 241 tgtggcctca gtgaaaaaat cagtctcaag taaaggccaa ccaagccctc gacagttat
 301 tcccatgtcc tgtataacca atggaagtgg tgcaaacaga aaaccaagtc ataccagtgc
 361 tgtctcaatt gcaggaaaag aaactctttc atctgctgct aaaagtggta cagaaaaaaa
 421 gaaagaaaaa ccacaaggac agagagaaaa aaaagaggaa tctcattcta atgatcaag
 481 tccacaaatt cgagcatcac cttctcccca gccctcttca caacctctcc aaatacacag
 541 acaaactcca gaaagcaaga atgctactcc caccaaaagc ataaaacgac catcaccagc
 45 601 tgaaaagtca cataattctt gggaaaattc agatgatagc cgtaataaat tgtcgaaaat
 661 accttcaaca cccaaattaa taccaaaagt taccaaaact gcagacaagc ataaagatgt
 721 catcatcaac caagcaaaaa tgtcaactcg cgaaaaaac agccaagtgt accgcccggaa
 781 gcaccaggag ctgcaagcca tgcagatgga gctgcagagc cctgagtaca agctgagcaa
 841 gctccgcacc tcgaccatca tgaccgacta caacccaac tactgctttg ctggcaagac

901 ctctccatc agtgacctga aggaggtgcc gcggaaaaac atcacctca ttcggggtct
 961 gggccatgga gcctttgggg aggtgtatga aggccaggtg tccggaatgc ccaacgaccc
 1021 aagccccctg caagtggctg tgaagacgct gcctgaagtg tgctctgaac aggacgaact
 1081 ggatttcctc atggaagccc tgatcatcag caaattcaac caccagaaca ttgttcgctg
 1141 cattgggggtg agcctgcaat ccctgccccg gttcatcctg ctggagctca tggcgggggg
 5 1201 agacctcaag tccttccctc gagagaccgc cctcgccccg agccagccct cctccctggc
 1261 catgctggac cttctgcacg tggctcgggg cattgcctgt ggctgtcagt atttgaggga
 1321 aaaccacttc atccaccgag acattgtctg cagaaactgc ctcttgacct gtccaggccc
 1381 tggaagagtg gccaaagattg gagacttcgg gatggccga gacatctaca gggcgagcta
 1441 ctatagaaag ggaggctgtg ccatgctgcc agttaagtgg atgccccag aggccttcat
 1501 ggaaggaata ttcacttcta aaacagacac atggctcctt ggagtgtctg tatgggaaat
 1561 cttttctctt ggatatatgc cataccccag caaaagcaac caggaagtgc tggagtttgt
 10 1621 caccagtggg ggccggatgg acccaccaca gaactgccct gggcctgtat accggataat
 1681 gactcagtgc tggcaacatc agcctgaaga caggcccaac tttgccatca ttttgaggag
 1741 gattgaatac tgcaccacag acccggtatg aatcaacacc gctttgccga tagaatatgg
 1801 tccacttgtg gaagaggaag agaaagtgcc tgtgaggccc aaggacctg aggggggtcc
 1861 tcctctcctg gtctctcaac aggcaaaacg ggaggaggag cgcagcccag ctgccccacc
 1921 acctctgcct accacctcct ctggcaaggc tgcaaaagaa cccacagctg cagaggtctc
 15 1981 tgttcgagtc cctagagggc cggccgtgga agggggacac gtgaatatgg cattctctca
 2041 gtccaaccct ccttcggagt tgcacagggt ccacggatcc agaaacaagc ccacctctt
 2101 gtggaaccca acgtacggct cctggtttac agagaaacc accaaaaaga ataactctat
 2161 agcaaagaag gagccacacg agaggggtaa cctggggctg gagggaagct gtactgtccc
 2221 acctaacgtt gcaactggga gacttcggg ggcctcactg ctcttagagc cctcttcgct
 2281 gactgccaat atgaaggagg tacctctgtt caggctacgt cacttccctt gtgggaatgt
 2341 caattacggc taccagcaac agggcttgcc cttagaagcc gctactgcc ctggagctgg
 20 2401 tcattacgag gataccattc tgaaaagcaa gaatagcatg aaccagcctg ggcctgagc
 2461 tcggtcgcac actcacttct ctctctggg atccctaaga ccgtgg

Последовательность белка EML4-ALK Варианта 3b (BAG55004.1; GI:194072595)

1 mdgfagsldd sisaastsdv qdrlsalesr vqqgedeitv lkaaladvlr rlaisedhva
 25 61 svkksvsskg qpspravipm scitngsgan rkpshtsavs iagketlssa aksgtekkke
 121 kpqggrekke eshsndqspq iraspspps sqplqihrt pesknaptk sikrpspaek
 181 shnswensdd speyklsklr tstimtdynp nycfagktss isdlkevprk nitlirglgh
 241 elqamqmelq speyklsklr tstimtdynp nycfagktss isdlkevprk nitlirglgh
 301 gafgevyegq vsgmpndpsp lqvavktlpe vseqdeldf lmealiiskf nhqnivrcig
 361 vslqslprfi llelmaggdl ksflretrpr psqpslaml dllhvardia cgcqyleenh
 421 fihrdiaarn cltcpgpgr vakigdfgma rdiyrasyr kggcamlpvk wmppeafmeg
 30 481 iftsktdtws fgvllweifs lgympypsk nqevlefvt ggrmdppknc ppgvyrimtq
 541 cwqhqpdrp nfaiilerie yctqdpdvin talpieygpl veeekvpvr pkdpegvppl
 601 lvsqqakree erspaapppl pttssgkaak kptaaevsvr vprgpavegg hvnmafsqsn
 661 ppselhrvhg srnkptslwn tygswftek ptkknnpiak kephergnlg legscvppn
 721 vatgrlpgas lilepsslta nmkevplfrl rhfpcgnvny gyqqqglple aatapgaghy
 781 edtilkskns mnqpgp

Последовательность нуклеиновой кислоты EML4-ALK Варианта 4 (AB374363.1; GI:209837703)

1 actctgtcgg tccgtgaat gaagtgcgcg cccctctaag cccggagccc ggcgctttcc
 61 ccgcaagatg gacggtttcg ccggcagctc cgatgatagt atttctgctg caagtacttc
 121 tgatgttcaa gatcgctgt cagctcttga gtcacagatt cagcaacaag aagatgaaat
 181 cactgtgcta aaggcggctt tggctgatgt tttgaggcgt cttgcaatct ctgaagatca
 40 241 tgtggcctca gtgaaaaaat cagtctcaag taaaggccaa ccaagccctc gagcagttat
 301 tcccatgtcc tgtataacca atggaagtgg tgcaaacaga aaaccaagtc ataccagtgc
 361 tgtctcaatt gcaggaaaag aaactctttc atctgctgct aaaagtggta cagaaaaaaa
 421 gaaagaaaaa ccacaaggac agagagaaaa aaaagaggaa tctcattcta atgatcaag
 481 tccacaaatt cgagcatcac cttctcccca gccctcttca caacctctcc aaatacacag
 541 acaaactcca gaaagcaaga atgctactcc caccaaaagc ataaaacgac catcaccagc
 601 tgaaaagtca cataattctt gggaaaattc agatgatagc cgtaataaat tgtcgaaaat
 45 661 accttcaaca cccaaattaa taccaaaagt taccaaaact gcagacaagc ataaagatgt
 721 catcatcaac caagaaggag aatatattaa aatgtttatg cgcggtcggc caattaccat
 781 gttctactct tccgatgttg acaactatga tgacatcaga acggaactgc ctctgagaa
 841 gctcaaacct gaggggcat atggttatcg aggaaaggac tgtagagcta atgtttacct
 901 tcttcgacc ggggaaatag tttatttcat tgcacagta gtagtactat ttaattatga

961 ggagagaact cagcgacact acctgggcca tacagactgt gtgaaatgcc ttgctataca
 1021 tcctgacaaa attaggattg caactggaca gatagctggc gtggataaag atggaaggcc
 1081 tctacaaccc cacgtcagag tgtgggattc tgttactcta tccacactgc agattattgg
 1141 acttggcact tttgagcgtg gtagtaggatg cctggatttt tcaaaagcag attcagggtgt
 1201 tcatttatgt gttattgatg actccaatga gcatatgctt actgtatggg actggcagag
 5 1261 gaaagcaaaa ggagcagaaa taaagacaac aaatgaagtt gttttggctg tggagtttca
 1321 cccaacagat gcaaatacca taattacatg cggtaaatct catattttct tctggacctg
 1381 gagcggcaat tcactaacia gaaaacaggg aatttttggg aaatatgaaa agccaaaatt
 1441 tgtgcagtgt ttagcattct tggggaatgg agatgttctt actggagact cagggtggagt
 1501 catgcttata tggagcaaaa ctactgtaga gccacacct gggaaaggac ctaaagggtg
 1561 atatcaaatc agcaaacaaa tcaaagctca tgatggcagt gtgttcacac tttgtcagat
 10 1621 gagaaatggg atgttattaa ctggaggagg gaaagacaga aaaataattc tgtgggatca
 1681 tgatctgaat cctgaaagag aaatagagat atgctggatg agccctgagt acaagctgag
 1741 caagctccgc acctcgacca tcatgaccga ctacaacccc aactactgct ttgctggcaa
 1801 gacctcctcc atcagtgacc tgaaggaggt gccgcgaaa aacatcaccc tcattcgggg
 1861 tctgggccat ggagcctttg gggagggtgta tgaaggccag gtgtccgga tgcccaacga
 1921 cccaagcccc ctgcaagtgg ctgtgaagac gctgcctgaa gtgtgctctg aacaggacga
 1981 actggatttc ctcatggaag ccctgatcat cagcaaatc aaccaccaga acattgttcg
 15 2041 ctgcattggg gtgagcctgc aatccctgcc ccggttcac ctgctggagc tcattggcggg
 2101 gggagacctc aagtccttcc tccgagagac ccgcccctgc ccgagccagc cctcctccct
 2161 ggccatgctg gaccttctgc acgtggctcg ggacattgcc tgtggctgtc agtatttggg
 2221 ggaaaaccac ttcattccacc gagacattgc tgccagaaac tgcccttga cctgtccagg
 2281 ccctggaaga gtggccaaga ttggagactt cgggatggcc cgagacatct acaggcgag
 2341 ctactataga aagggaggct gtgcatgct gccagttaag tggatgcccc cagaggcctt
 2401 catggaagga atattcactt ctaaaacaga cacatggtcc tttggagtgc tgctatggga
 20 2461 aatcttttct cttggatata tgccataccc cagcaaaagc aaccaagaag ttctggagtt
 2521 tgtcaccagt ggaggccgga tggaccacc caagaactgc cctgggcctg tataccggat
 2581 aatgactcag tgctggcaac atcagcctga agacaggccc aactttgcca tcattttgga
 2641 gaggattgaa tactgcaccc aggaccgga tgtaatcaac accgctttgc cgatagaata
 2701 tgggtccact gtggaagagg aagagaaagt gcctgtgagg cccaaggacc ctgagggggt
 2761 tctcctctc ctggtctctc aacaggcaaa acgggaggag gagcgcagcc cagctgcccc
 2821 accacctctg cctaccacct cctctggcaa ggctgcaaag aaaccacacag ctgcagaggt
 25 2881 ctctgttcta gtccctagag ggccggccgt ggaaggggga cagtggaata tggcattctc
 2941 tcagtccaac cctccttcgg agttgcacag ggtccacgga tccagaaaca agcccaccag
 3001 cttgtggaac ccaacgtacg gctcctggtt tacagagaaa cccaccaaaa agaataatcc
 3061 tatagcaaaag aaggagccac acgagagggg taacctgggg ctggagggaa gctgtactgt
 3121 cccacctaac gttgcaactg ggagacttcc gggggcctca ctgctcctag agccctcttc
 3181 gctgactgcc aatatgaagg aggtacctct gttcaggcta cgtcacttcc cttgtgggaa
 30 3241 tgtcaattac ggctaccagc aacagggctt gcccttagaa gccgctactg cccctggagc
 3301 tggtcattac gaggatacca ttctgaaaag caagaatagc atgaaccagc ctgggcccctg
 3361 agctcggctc cacactcact tctcttccct gggatcccta agaccgtgg

Последовательность белка EML4-ALK Варианта 4 (BAG75147.1; GI:209837704)

1 mdgfagsladd sisaastsdv qdrilsalesr vqqgedeitv lkaaladvlr rlaisedhva
 35 61 svkksvsskg qpspravipm scitngsgan rkpshtsavs iagketlssa aksgtekkke
 121 kpggqrekke eshsndqspq iraspsppps sqplqihrt pesknaptk sikrpspaek
 181 shnswnsdd srnklskip tsklipkvtk tadkhkdvii ngegeyikmf mrgrpitmfi
 241 psdvndyddi rtelppekkl lewaygyrgk dcranvllp tgeivyfias vvlfnyeer
 301 tqrhylghtd cvkclaihp kiriatgqia gvdkdgrplq phvrwdsvt lstlqiiglg
 361 tfergvglcd fskadsgvhl cviddsnehm ltvwdwqrka kgaeikttne vvlavefhpt
 40 421 dantiitcgk shiffwtwsg nsltrkqgif gkyekpkfvq clafngndv ltgdsggvml
 481 iwskttept pgkpgkvvyq iskqikahdg svftlcqmrn gmltgggkd rkiilwdhdl
 541 npereieicw mspeyklsl rtstimtdyn pnycfagkts sisdlkevpr knitlirglg
 601 hgafgevyeg qvsgmpndps plqvavktlp evcseqdeld flmealiisk fnhqnivrci
 661 gvslqslprf illelmaggd lksflretrp rpsqpsslam ldllhvardi acgcqyleen
 721 hfihrdiaar nclltcpvg rvakigdfgm ardiyrasyy rkggcamlpv kmwppaefme
 781 giftsktdtw sfgvllweif slgypypsk snqevlefv sggrmdppkn cpgpvyrimt
 45 841 qcwqhqpdr pnfaileri eyctqdpdvi ntalpieygp lveeeekvpv rpkdpegvpp
 901 llvsqqakre eerspaapp lpttssgkaa kkptaaevsv rvprgpaveg ghvnmfssqs
 961 nppselhrvh gsrnkptslw nptygswfte kptkknnpia kkephernl glegsctvpp
 1021 nvatgrlpga slleppslt anmkevplfr lrhfpagnvn ygyqqgglpl eeatapgagh
 1081 yedtilkskn smnqpgp

Последовательность нуклеиновой кислоты EML4-ALK Варианта 5a (AB374364.1; GI:209837705)

1 actctgtcgg tccgctgaat gaagtgcggc cccctctaag cccggagccc ggcgctttcc
 61 ccgcaagatg gacgggtttcg ccggcagtcg cgatgatagt atttctgctg caagtacttc
 5 121 tgatgttcaa gatcgctgt cagctcttga gtcacgagtt cagcaacaag aagatgaaat
 181 cactgtgcta aaggcggctt tggctgatgt tttgaggcgt cttgcaatct ctgaagatca
 241 tgtggcctca gtgaaaaaat cagtctcaag taaagtgtac cgccggaagc accaggagct
 301 gcaagccatg cagatggagc tgcagagccc tgagtacaag ctgagcaagc tccgcacctc
 361 gaccatcatg accgactaca accccaacta ctgctttgct ggcaagacct cctccatcag
 421 tgacctgaag gaggtgccgc ggaaaaacat caccctcatt cgggggtctgg gccatggagc
 481 ctttggggag gtgtatgaag gccaggtgtc cggaatgccc aacgacccaa gccccctgca
 10 541 agtggctgtg aagacgctgc ctgaagtgtg ctctgaacag gacgaactgg atttctcat
 601 ggaagccctg atcatcagca aattcaacca ccagaacatt gtctgctgca ttgggggtgag
 661 cctgcaatcc ctgccccggt tcatcctgct ggagctcatg gcggggggag acctcaagtc
 721 cttctctcga gagaccgccc ctgcgccgag ccagccctcc tccctggcca tgetggacct
 781 tctgcacgtg gctcgggaca ttgctgtgtg ctgtcagtat ttggaggaaa accacttcat
 841 ccaccgagac attgctgcca gaaactgcct ctgacctgt ccaggccctg gaagagtggc
 901 caagattgga gacttcggga tggcccggaga catctacagg gcgagctact atagaaaggg
 15 961 aggctgtgcc atgctgccag ttaagtggat gccccagag gccttcatgg aaggaatatt
 1021 cacttctaaa acagacacat ggtccttttg agtctgctga tgggaaatct tttctcttgg
 1081 atatatgcca taccacagca aaagcaacca ggaagtcttg gagtttgtca ccagtggagg
 1141 ccggatggac ccaccaaga actgccttgg gcctgtatac cggataatga ctcagtgtg
 1201 gcaacatcag cctgaagaca ggcccaactt tgccatcatt ttggagagga ttgaatactg
 1261 caccacaggac ccggatgtaa tcaacaccgc tttgccgata gaatatggtc cacttgtgga
 20 1321 agaggaagag aaagtgcctg tgaggcccaa ggaccctgag ggggttctc ctctctgggt
 1381 ctctcaacag gcaaaacggg aggaggagcg cagcccagct gccccaccac ctctgcctac
 1441 cacctctctt ggcaaggctg caaagaaacc cacagctgca gaggtctctg ttcgagtccc
 1501 tagagggccg gccgtggaag ggggacacgt gaatatggca ttctctcagt ccaaccctcc
 1561 ttcggagttg cacagggtcc acggatccag aaacaagccc accagcttgt ggaacccaac
 1621 gtacggctcc tggtttacag agaaaccac caaaaagaat aatcctatag caaagaagga
 1681 gccacacgag aggggtaacc tggggctgga gggagctgt actgtcccac ctaacgttgc
 25 1741 aactgggaga cttccggggg cctcactgct cctagagccc tcttcgctga ctgccaatat
 1801 gaaggaggta cctctgttca ggctacgtca cttcccttgt gggaatgtca attacggcta
 1861 ccagcaacag ggcttgccct tagaagccgc tactgcccct ggagctggtc attacgagga
 1921 taccattctg aaaagcaaga atagcatgaa ccagcctggg cctgagctc ggtcgcacac
 1981 tcacttctct tccttgggat ccctaagacc gtgg

Последовательность белка EML4-ALK Варианта 5a (BAG75148.1; GI:209837706)

1 mdgfagsldd sisaastsdv qdrlsalesr vqqgedeitv lkaaladvlr rlaisedhva
 61 svkksvsskv yrrkhqelqa mqmelqspey klsklrtsti mtdynpnycf agktssisd1
 121 kevprknitl irglghgafg evyegqvsgm pndpsplqva vktlpevcse qdeldflmea
 181 liiskfnhqn ivrcigvslq slprfillel maggdlsfl retrprpsqp sslamlldllh
 35 241 vardiacgcq yleenhfihr diaarncllt cpgrpvraki gdfgmardiy rasyyrkggc
 301 amlpvkwmpp eafmegifts ktdtwsfgvl lweifslgym pypsksngev lefvtsggrm
 361 dppkncpgpv yrimtqcwqh qpdrpnfai ilerieyctg dpdvintalp ieypplveee
 421 ekvpvrpkdp egvppllvsg qakreeersp aappplpts sgkaakkpta aevsvrvprg
 481 paveggghvnm afsqsnppse lhrvhgsrnp psslwnptyg swftekptkk nnpiakkeph
 541 ergnlglegs ctvppnvatg rlpgasllle pssltnmke vplfrlrhfp cgnvnygyqq
 601 qglpleaata pgaghyedti lksknsnmp gp

Последовательность нуклеиновой кислоты EML4-ALK Варианта 5b (AB374365.1; GI:209837707)

1 actctgtcgg tccgctgaat gaagtgcggc cccctctaag cccggagccc ggcgctttcc
 61 ccgcaagatg gacgggtttcg ccggcagtcg cgatgatagt atttctgctg caagtacttc
 121 tgatgttcaa gatcgctgt cagctcttga gtcacgagtt cagcaacaag aagatgaaat
 181 cactgtgcta aaggcggctt tggctgatgt tttgaggcgt cttgcaatct ctgaagatca
 45 241 tgtggcctca gtgaaaaaat cagtctcaag taaaggttca gagctcaggg gaggatatgg
 301 agatccaggg aggttccctg taggaagtgg cctgtgtagt gcttcaaggg ccaggctgcc
 361 aggccatggt gcagctgacc acccacctgc agtgtaaccg cggaagcacc aggagctgca
 421 agccatgcag atggagctgc agagccctga gtacaagctg agcaagctcc gcacctcgac

481 catcatgacc gactacaacc ccaactactg ctttctgtggc aagacctcct ccatcagtga
 541 cctgaaggag gtgccgcgga aaaacatcac cctcattcgg ggtctgggcc atggagcctt
 601 tggggaggtg tatgaaggcc aggtgtccgg aatgccaac gacccaagcc ccctgcaagt
 661 ggctgtgaag acgctgcctg aagtgtgctc tgaacaggac gaactggatt tcctcatgga
 721 agccctgatc atcagcaaat tcaaccacca gaacattgtt cgctgcattg gggtagcctt
 5 781 gcaatccctg ccccggttca tctgtctgga gctcatggcg gggggagacc tcaagtcctt
 841 cctccgagag acccgccctc gcccgagcca gccctcctcc ctggccatgc tggaccttct
 901 gcacgtggct cgggacattg cctgtggctg tcagtatttg gaggaaaacc acttcatcca
 961 ccgagacatt gctgccagaa actgcctctt gacctgtcca ggccctggaa gagtggccaa
 1021 gattggagac ttccggatgg cccgagacat ctacagggcg agctactata gaaagggagg
 1081 ctgtgccatg ctgccagtta agtggatgcc cccagaggcc ttcattggaag gaattattcac
 1141 ttctaaaaca gacacatggt cctttggagt gctgctatgg gaaatctttt ctcttgata
 10 1201 tatgccatac cccagcaaaa gcaaccagga agttctggag tttgtcacca gtggaggccg
 1261 gatggacca cccaagaact gccctgggccc tgtataccgg ataatgactc agtgcaggca
 1321 acatcagcct gaagacaggc ccaactttgc catcattttg gagaggattg aatactgcac
 1381 ccaggacccg gatgtaatca acaccgcttt gccgatagaa tatgggtccac ttgtggaaga
 1441 ggaagagaaa gtgcctgtga ggcccaagga ccctgagggg gttcctcctc tcttggtctc
 1501 tcaacaggca aaacgggagg aggagcgcag cccagctgcc ccaccacctc tgcctaccac
 15 1561 ctctctctggc aaggctgcaa agaaaccac agctgcagag gtctctgttc gagtccctag
 1621 agggccggcc gtggaagggg gacacgtgaa tatggcattc tctcagtcca accctccttc
 1681 ggaattgcac aggggtccac gatccagaaa caagcccacc agcttggtgga acccaacgta
 1741 cggctcctgg ttacagaga aaccaccaa aaagaataat cctatagcaa agaaggagcc
 1801 acacgagagg ggtaacctgg ggctggaggg aagctgtact gtccacctc acgttgcaac
 1861 tgggagactt ccgggggctt cactgctcct agagccctct tcgctgactg ccaatatgaa
 1921 ggaggtacct ctgttcaggc tacgtcactt cccttggtgg aatgtcaatt acggctacca
 20 1981 gcaacagggc ttgcccttag aagccgctac tgcccctgga gctggctcatt acgaggatac
 2041 cattctgaaa agcaagaata gcatgaacca gcctgggccc tgagctcggg cgcacactca
 2101 cttctcttcc ttgggatccc taagaccgtg g

Последовательность белка EML4-ALK Варианта 5b (BAG75149.1; GI:209837708)

1 mdgfagslidd siasaastsdv qdrilsalesr vqqgedeitv lkaaladvlr rlaisedhva
 25 61 svkksvsskg selrggygdp grlpvsgslc sasrarlpgh vaadhppavy rrrkhqelgam
 121 qmelqspeyk lsklrtstim tdynpnycfa gktssisdik evprknitli rglghgafge
 181 vyeqgvsgmp ndpsplqvav ktlpevcseq deldflmeal iiskfnhqn vrcigvslqs
 241 lprfillelm aggdllksflr etrprsqps slamldllhv ardiacgcqy leenhfihrd
 301 iaarnclltc ppggrvakig dfgmardiy asyyrkggca mlpvkwmppe afmegiftsk
 361 tdtwsfgvll weifslgym ypsksnqevl efvtsggrmd ppknpcgpyv rimgtqcwqhq
 421 30 pedrpnfaii lerieyctqd pdvintalpi eygplveeee kvprvpkdpe gvppllvsgq
 481 akreeerspa appplpttss gkaakkptaa evsvrvprgp avegghvnm fsqsnppsel
 541 hrvhgsrnkp tslwnptygs wftektkkn npiakkephe rgnlglegsc tvppnvatgr
 601 lpgaslllep ssltanmkev plfrlrhfc gnvnygyqqq glpleaatap gaghyedtil
 661 ksknsmnqpg p

Последовательность нуклеиновой кислоты EML4-ALK Варианта 6 (AB462411.1; GI:227452648)

1 tactctgtcg gtccgctgaa tgaagtggcc gccctctaa gcccgagacc cggcgctttc
 61 cccgcaagat ggacggtttc gccggcagtc tcgatgatag tatttctgct gcaagtactt
 121 ctgatgttca agatcgcttg tcagctcttg agtcacagat tcagcaacaa gaagatgaaa
 181 tcaactgtgt aaaggcggct ttggctgatg ttttgaggcg tcttgcaatc tctgaagatc
 241 atgtggcctc agtgaaaaaa tcagctctca gtaaaaggcca accaagccct cgagcagtta
 301 40 ttcccatgtc ctgtataacc aatggaagtgt gtgcaaacag aaaaccaagt cataccagtg
 361 ctgtctcaat tgcaggaaaa gaaactcttt catctgctgc taaaagtggg acagaaaaaa
 421 agaaagaaaa accacaagga cagagagaaa aaaaagagga atctcattct aatgatcaaa
 481 gtccacaaat tcgagcatca ccttctcccc agccctcttc acaacctctc caaatacaca
 541 gacaaactcc agaaagcaag aatgtactc ccacaaaag cataaaacga ccatcaccag
 601 ctgaaaagtc acataattct tgggaaaatt cagatgatag ccgtaataaa ttgtcgaaaa
 661 taccttcaac acccaaatat ataccaaaag ttaccaaaac tgcagacaag cataaagatg
 721 45 tcatcatcaa ccaagaagga gaatatatta aaatgtttat gcgcggtcgg ccaattacca
 781 tgttcattcc ttccgatgtt gacaactatg atgacatcag aacggaactg cctcctgaga
 841 agctcaaaact ggagtgggca tatggttatc gaggaaagga ctgtagagct aatgtttacc
 901 ttcttccgac cggggaaata gtttatttca ttgcatcagt agtagtacta ttttaattatg
 961 aggagagaac tcagcgacac tacctgggccc atacagactg tgtgaaatgc cttgctatac

1021 atcctgacaa aattaggatt gcaactggac agatagctgg cgtggataaa gatggaagggc
 1081 ctctacaacc ccacgtcaga gtgtgggatt ctgttactct atccacactg cagattattg
 1141 gacttggcac ttttgagcgt ggagtaggat gcctggattt ttcaaaagca gattcaggtg
 1201 ttcatTTatg tgttattgat gactccaatg agcatatgct tactgtatgg gactggcaga
 1261 ggaaagcaaa aggagcagaa ataaagacaa caaatgaagt tgttttggct gtggagtttc
 5 1321 acccaacaga tgcaaatacc ataattacat gcggtaaatc tcatattttc ttctggacct
 1381 ggagcggcaa ttcactaaca agaaaacagg gaatttttgg gaaatatgaa aagccaaaat
 1441 ttgtgcagtg tttagcattc ttggggaatg gagatgttct tactggagac tcaggtggag
 1501 tcatgtcttat atggagcaaa actactgtag agcccacacc tgggaaagga cctaaaggaa
 1561 gtggcctgtg tagtgcttca agggccaggc tgccaggcca tgttgagct gaccaccac
 1621 ctgcagtgtg ccgccggaag caccaggagc tgcaagccat gcagatggag ctgcagagcc
 10 1681 ctgagtacaa gctgagcaag ctccgcacct cgaccatcat gaccgactac aaccccaact
 1741 actgctttgc tggcaagacc tctcccatca gtgacctgaa ggaggtgccg cggaaaaaca
 1801 tcacctcat tcggggtctg ggccatggag cctttgggga ggtgtatgaa ggccaggtgt
 1861 ccggaatgcc caacgaccca agccccctgc aagtggctgt gaagacgctg cctgaagtgt
 1921 gctctgaaca ggacgaactg gatttctctca tggagccct gatcatcagc aaattcaacc
 1981 accagaacat tgttcgctgc attggggtga gcctgcaatc cctgccccgg ttcctcctgc
 2041 tggagctcat ggcgggggga gacctcaagt ccttcctccg agagaccgc cctcgccga
 15 2101 gccagccctc ctccctggcc atgctggacc ttctgcacgt ggctcgggac attgctgtg
 2161 gctgtcagta tttggaggaa aaccacttca tccaccgaga cattgctgcc agaaactgcc
 2221 tcttgacctg tccaggccct ggaagagtgg ccaagattgg agacttcggg atggcccgag
 2281 acatctacag ggcgagctac tatagaaagg gaggtgtgc catgctgcca gttaagtga
 2341 tgccccaga ggccttcatg gaaggaatat tcaattctaa aacagacaca tggctccttg
 2401 aggtgctgct atgggaaatc ttttctcttg gatatatgcc ataccaccagc aaaagcaacc
 20 2461 aggaagtctt ggagtttgc accagtggg gcggtatga cccaccaag aactgcctg
 2521 ggctgtata ccggataatg actcagtgtt ggcaacatca gcctgaagac aggcccaact
 2581 ttgccatcat tttggagagg attgaatact gcaccagga cccgatgta atcaacaccg
 2641 ctttgccgat agaatatggt ccacttgttg aagaggaaga gaaagtgcct gtgaggcca
 2701 aggaccctga gggggttct cctctcctgg tctctcaaca ggcaaacgg gaggaggagc
 2761 gcagcccagc tgccccacca cctctgccta ccacctctc tggcaaggct gcaagaaac
 2821 ccacagctgc agaggtctct gtctcagctc ctagaggggc ggccgtggaa gggggacagc
 25 2881 tgaatatggc attctctcag tccaaccctc cttcgaggtt gcacagggtc cacggatcca
 2941 gaaacaagcc caccagcttg tggaaaccaa cgtacggctc ctggtttaca gagaaacca
 3001 caaaaaagaa taatcctata gcaaagaagg agccacacga gaggggtaac ctggggctgg
 3061 agggaaagct tactgtccca cctaactgtt caactgggag acttccgggg gcctcactgc
 3121 tcctagagcc ctcttcgctg actgccaata tgaaggaggt acctctgttc aggctacgtc
 3181 acttcccttg tgggaatgtc aattacggct accagcaaca gggcttgccc ttagaagccg
 3241 ctactgcccc tggagctggt cattacgagg ataccattct gaaaagcaag aatagcatga
 30 3301 accagcctgg gccctgagct cggtcgcaca ctcacttctc ttccttggga tccctaagac
 3361 cgtgg

Последовательность белка EML4-ALK Варианта 6 (BAH57335.1; GI:227452649)

1 mdgfagsldd sisaastsdv qdrlsalesr vqqgedeitv lkaaladvlr rlaisedhva
 35 61 svkksvsskg qpspravipm scitngsgan rkpshtsavs iagketllsa aksgtekkke
 121 kpqqgrekke eshsndqspq iraspspps sqplqihrt pesknaptk sikrpspaek
 181 shnswensdd srnklskips tpklipkvtk tadkhkdvii ngegeyikmf mrgrpitmfi
 241 psdvnyddi rtelppeklk lewaygyrgk dcranvllp tgeivyfias vvvlfnyeer
 301 tqrhlyghd cvkclaihp kiriatggia gvdkgdrplq phrvwdsvt lstlqiiglg
 361 tfergvglcld fskadsgvhl cviddsnehm ltvwdwqrka kgaeikttne vvlavefhpt
 40 421 dantiitcgk shiffwtwsg nsltrkqgif gkyekpkfvq clafllngdv ltgdsggvml
 481 iwskttept pgkpgksgl csasrarlpq hvaadhppav yrrkhqelqa mqmelqspey
 541 klslrtsti mtdynpnycf agktssisd1 kevprknitl irglghgafg evyegqvsqm
 601 pndpsplqva vktlpevcse qdeldflmea liiskfnhqn ivrcigvslq slprfillel
 661 maggdiksfl retrprpsqp sslamlldllh vardiacgcq yleenhfihr diaarncllt
 721 cpypgrvaki gdfgmardiy rasyyrkggc amlpvkwmp eafmegifts ktdtwsfgvl
 781 lweifslgym pypsksnqev lefvtsggm dppkncpgpv yrimtqcwqh qpdrpnfai
 45 841 ilerieyctq dpdvintalp ieygplveee ekvpvrpkdp egvppllvsg qakreersp
 901 aappplpts sgkaakkpta aevsvrvprg pavegghvnm afsqsnppse lhrvhgsrnk
 961 ptslwnptyg swftekptkk nnpiakkeph ergnllegs ctvppnvatg rlpgasllle
 1021 pssltnmke vplflrhfp cgnvnvygqq qglpleaata pgaghyedti lsksnsmnqp
 1081 gp

Последовательность нуклеиновой кислоты EML4-ALK Варианта 7 (AB462412.1; GI:227452650)

1 tactctgtcg gtccgctgaa tgaagtgtccc gccctcttaa gcccgagacc cggcgctttc
61 cccgcaagat ggacgggttc gccggcagtc tcatgatag tattttctgct gcaagtactt
5 121 ctgatgttca agatcgcttg tcagctcttg agtcacgagt tcagcaacaa gaagatgaaa
181 tcaactgtgt aaaggcggct ttggctgatg ttttgaggcg tcttgcaatc tctgaagatc
241 atgtggcctc agtgaaaaaa tcagtctcaa gttaaaggcca accaagccct cgagcagtta
301 ttcccatgtc ctgtataacc aatggaagtg gtgcaaacag aaaaccaagt cataccagtg
361 ctgtctcaat tgcaggaaaa gaaactcttt catctgctgc taaaagtggg acagaaaaaa
421 agaaagaaaa accacaagga cagagagaaa aaaaagagga atctcattct aatgatcaaa
10 481 gtccacaaat tcgagcatca ctttctcccc agccctcttc acaacctctc caaatacaca
541 gacaaactcc agaaagcaag aatgctactc ccaccaaag cataaaacga ccatcaccag
601 ctgaaaagtc acataattct tgggaaaatt cagatgatag ccgtaataaa ttgtcgaaaa
661 taccttcaac acccaaatta ataccaaaag ttaccaaacc tgcagacaag cataaagatg
721 tcatcatcaa ccaagaagga gaatatatta aaatgtttat gcgcggtcgg ccaattacca
781 tgttcattcc ttccgatgtt gacaactatg atgacatcag aacggaactg cctcctgaga
841 agctcaaact ggagtgggca tatggtttatc gaggaaggga ctgtagagct aatgtttacc
15 901 ttcttccgac cggggaaata gtttatttca ttgcatcagt agtagtacta tttaattatg
961 aggagagaa tcagcgacac tacctggggc atacagactg tgtgaaatgc cttgctatac
1021 atcctgacaa aattaggatt gcaactggac agatagctgg cgtggataaa gatggaaggc
1081 ctctacaacc ccacgtcaga gtgtgggatt ctgttactct atccacactg cagattattg
1141 gacttggcac ttttgagcgt ggagttaggt gcctggattt ttcaaaagca gattcagggtg
1201 ttcattttatg tgttattgat gactccaatg agcatatgct tactgtatgg gactggcaga
1261 ggaaaagcaaa aggagcagaa ataaagacaa caaatgaagt tgttttggct gtggagtttc
20 1321 acccaacaga tgcaaatacc ataattacat gcggtaaatc tcatattttc ttctggacct
1381 ggagcggcaa ttcactaaca agaaaacagg gaatttttgg gaaatatgaa aagccaaaat
1441 ttgtgcagtg ttagcattc ttggggaatg gagatgttct tactggagac tcaggtggag
1501 tcatgcttat atggagcaaa actactgtag agccacacc tgggaaagga cctaaagggtg
1561 tatatcaaat cagcaaaaca atcaaaagctc atgatggcag tgtgttcaca ctttgtcaga
1621 tgagaaatgg gatgttatta actggaggag ggaaagacag aaaaataatt ctgtgggatc
1681 atgatctgaa tcctgaaaga gaaatagagc accaggagct gcaagccatg cagatggagc
25 1741 tgcagagccc tgagtacaag ctgagcaagc tccgcacctc gaccatcatg accgatacaca
1801 accccaacta ctgctttgct ggcaagacct cctccatcag tgacctgaag gaggtgccgc
1861 ggaaaaacat caccctcatt cggggtctgg gccatggagc ctttggggag gtgtatgaag
1921 gccaggtgtc cggaatgccc aacgacccaa gccccctgca agtggctgtg aagacgctgc
1981 ctgaagtgtg ctctgaacag gacgaactgg atttctcat ggaagccctg atcatcagca
2041 aattcaacca ccagaacatt gtctcgtgca ttgggggtgag cctgcaatcc ctgccccggt
30 2101 tcatcctgct ggagctcatg gcggggggag acctcaagtc cttcctccga gagaccgccc
2161 ctgcgccgag ccagccctcc tccctggcca tgctggacct tctgcacgtg gctcgggaca
2221 ttgcctgtgg ctgtcagtat ttggaggaaa accattcat ccaccgagac attgctgcca
2281 gaaactgcct cttgacctgt ccaggccctg gaagagtggc caagattgga gacttcggga
2341 tggcccgaga catctacagg gcgagctact atagaaaggg aggtgtgccc atgtgccag
2401 ttaagtggat gccccagag gccttcatgg aaggaatatt cacttctaaa acagacacat
2461 ggtccttttg agtgctgcta tgggaaatct tttctcttgg atatatgcca taccagca
35 2521 aaagcaacca ggaagtctg gagtttgtca ccagtggagg ccgatggac ccaccaaga
2581 actgccttgg gcctgtatac cggataatga ctcagtgtg gcaacatcag cctgaagaca
2641 ggcccaactt tgccatcatt ttggagagga ttgaatactg caccaggac ccgatgtaa
2701 tcaacaccgc tttgccgata gaatatggct cacttgtgga agaggaagag aaagtgcctg
2761 tgaggcccaa ggacctgag ggggttctct ctctcctggt ctctcaacag gcaaacggg
2821 aggaggagcg cagcccagct gccccaccac ctctgcctac cactcctct ggcaaggctg
2881 caaagaaacc cacagctgca gaggtctctg ttcgagtccc tagaggccg gccgtggaag
40 2941 ggggacacgt gaatatggca ttctctcagt ccaaccctcc ttcgagttg cacaaggctc
3001 acggatccag aaacaagccc accagcttgt ggaacccaac gtacggctcc tggtttacag
3061 agaaacccac caaaaagaat aatcctatag caaagaagga gccacacgac aggggtaacc
3121 tggggctgga gggaagctgt actgtccac ctaacgttgc aactgggaga cttccggggg
3181 cctcactgct cctagagccc tcttcgctga ctgccaatat gaaggaggta cctctgttca
3241 ggctacgtca cttcccttgt gggaatgtca attacggcta ccagcaacag ggcttgcct
45 3301 tagaagccgc tactgcccct ggagctggct attacgagga taccattctg aaaagcaaga
3361 atagcatgaa ccagcctggg ccctgagctc ggtcgacac tcacttctct tcttgggat
3421 ccctaagacc gtgga

Последовательность белка EML4-ALK Варианта 7 (BAN57336.1; GI:227452651)

1 mdgfagsldd sisaastsdv qdrlsalesr vqqgedeitv lkaaladvlr rlaisedhva
 61 svkksvsskg qpspravipm scitngsgan rkpshtsavs iagketlssa aksgtekkke
 121 kpggqrekke eshsndqspq iraspspqqps sqplqihrt pesknaptk sikrpspaek
 181 shnswensdd srnklskips tpklipkvtk tadkhkdvii ngegeyikmf mrgrpitmfi
 241 psdvdnyddi rtelppekkl lewaygyrgk dcranvyllp tgeivyfias vvvlfnyeer
 5 301 tqrhylvhtd cvkclaihp d kiriatgqia gvdkdgrplq phvrwvdsvt lstlqiiglg
 361 tfergvvgld fskadsgvhl cviddsnehm ltvwdwqrka kgaeikttne vvlavefhpt
 421 dantiitcgk shiffwtwsg nsltrkqgif gkyekpkfvq clafngngdv ltgdsggvml
 481 iwskttevept pgkgpkgyvq iskqikahdg svftlcqmrn gmltgggkd rkiilwdhdl
 541 npereiehqe lqamqmelqs peyklsklrt stimtdynpn ycfagktssi sdlkevprkn
 601 itlirglghg afgevyegqv sgmpndpspl qvavktlpev cseqdeldfl mealiiskfn
 10 661 hqnivrcigv slqslprfil lelmaggdlk sflretrprp sqpsslamld llhvardiac
 721 gcqyleenhf ihrdiaarnc lltcpgpgrv akigdfgmar diyasyyrk ggcamlpvkw
 781 mppeafmegi ftsktdtwsf gvllweifsl gymypysksn qevlefvtsg grmdppkncp
 841 gpvyrimtqc wghqpedrpn failerley ctqdpdvint alpieygplv eeeekvpvrp
 901 kdpegvppll vsqqakreee rspaappplp ttssgkaakk ptaaevsrv prgpaveggh
 961 vnmafsqsnp pselkhvhs rnkptslwnp tygswftekp tkknnpiakk ephdrgnlgl
 1021 egscvppnv atgrlpgasl llepssltan mkevplflrl hfpcgnvnyg yqqqglplea
 15 1081 atapgaghye dtilksknsm nqpgp

**Последовательность нуклеиновой кислоты KIF5B-ALK (AB462413.1;
 GI:227452652)**

1 tgcgagaaag atggcggacc tggccgagtg caacatcaaa gtgatgtgtc gcttcagacc
 61 tctcaacgag tctgaagtga accgcggcga caagtacatc gccagtttc agggagaaga
 121 cacggctcgtg atcgcgtcca agccttatgc attgatcgg gtgttcagtg caagcacatc
 20 181 tcaagagcaa gtgtataatg actgtgcaaa gaagattgtt aaagatgtac ttgaaggata
 241 taatggaaca atatttgc atggcaaac atcctctggg aagacacaca caatggaggg
 301 taaacttcat gatccagaag gcatgggaat tattccaaga atagtgcagg atatttttaa
 361 ttatatattac tccatggatg aaaatttggg atttcatatt aaggtttcat attttgaaat
 421 atatttggat aagataaggg acctgttaga tgtttcaaag accaaccttt cagttcatga
 481 agacaaaaac cgagttccct atgtaaaggg gtgcacagag cgttttgtat gtagtccaga
 25 541 tgaagttatg gataccatag atgaaggaaa atccaacaga catgtagcag ttacaaatat
 601 gaatgaacat agctctagga gtcacagtat atttcttatt aatgtcaaac aagagaacac
 661 acaaacggaa caaaagctga gtggaaaact ttatctggtt gatttagctg gtagtgaaaa
 721 ggtagtagtaa actggagctg aagggtgctgt gctggatgaa gctaaaaaca tcaacaagtc
 781 actttctgct cttggaaatg ttatttctgc tttggctgag ggtagtacat atgttccata
 841 tcgagatagt aaaatgacaa gaatccttca agattcatta ggtggcaact gtagaaccac
 901 tattgttaatt tgctgcttc catcatcata caatgagtct gaaacaaaat ctacactctt
 30 961 atttggccaa agggccaaaa caattaagaa cacagttgt gtcaatgtgg agttaactgc
 1021 agaacagtgg aaaaagaagt atgaaaaaga aaaagaaaaa aataagatcc tgcggaacac
 1081 tattcagtgg cttgaaaatg agctcaacag atggcgtaat ggggagacgg tgcctattga
 1141 tgaacagttt gacaaagaga aagccaactt ggaagctttc acagtggata aagatattac
 1201 tcttaccat gataaaccag caaccgcaat tggagttata ggaaatttta ctgatgctga
 1261 aagaagaaag tgtgaagaag aaattgctaa attatacaaa cagcttgatg acaaggatga
 35 1321 agaaattaac cagcaaagtc aactggtaga gaaactgaag acgcaaagt tggatcagga
 1381 ggagcttttg gcatctacca gaaggatca agacaatatg caagctgagc tgaatgcct
 1441 tcaagcagaa aatgatgcct ctaaagaaga agtgaaagaa gttttacagg ccctagaaga
 1501 acttgctgtc aattatgatc agaagtctca ggaagttgaa gacaaaacta aggaatatga
 1561 attgcttagt gatgaattga atcagaaatc ggcaacttta gcgagtatag atgctgagct
 1621 tcagaaactt aaggaaatga ccaaccacca gaaaaaacga gcagctgaga tgatggcatc
 1681 tttactaaaa gaccttgag aaataggaat tgctgtggga aataatgatg taaagcagcc
 40 1741 tgagggaaact ggcagatag atgaagagtt cactgttgca agactctaca cactctaca
 1801 gaagtcagaa gtaaaaacca tggtagaacg ttgcaagcag tttagaaagca cacaactga
 1861 gagcaacaaa aaaatggaag aaaatgaaaa ggagttagca gcatgtcagc ttcgtatctc
 1921 tcaacatgaa gccaaaatca agtcattgac tgaatacctt caaaatgtgg aacaaaagaa
 1981 aagacagttg gaggaatctg tcgatgccct cagtgaagaa ctagtccagc ttcgagcaca
 2041 agagaaagtc catgaaatgg aaaaggagca cttaaataag gttcagactg caaatgaagt
 2101 taagcaagct gttgaacagc agatccagag ccatagagaa actcatcaaa aacagatcag
 45 2161 tagtttgaga gatgaagtag aagcaaaagc aaaacttatt actgatcttc aagacaaaaa
 2221 ccagaaaatg atgtagagc aggaacgtct aagagtagaa catgagaagt tgaaagccac
 2281 agatcaggaa aagagcagaa aactacatga acttacggtt atgcaagata gacgagaaca
 2341 agcaagacaa gacttgaagg gtttggaaag gacagtggca aaagaacttc agactttaca
 2401 caacctgcgc aaactctttg ttcaggacct ggctacaaga gttaaaaaga gtgctgagat

2461 tgattctgat gacaccggag gcagcgctgc tcagaagcaa aaaatctcct ttcttgaaaa
 2521 taatcttgaa cagctcacta aagtgacaaa acagttggta cgtgataatg cagatctccg
 2581 ctgtgaactt cctaagttgg aaaagcgact tcgagctaca gctgagagag tgaaagcttt
 2641 ggaatcagca ctgaaagaag ctaaagaaaa tgcattctgt gatcgcaaac gctatcagca
 2701 agaagtagat cgcataaagg aagcagtcag gtcaaagaat atggccagaa gagggcattc
 5 2761 tgcacagatt gtgtaccgcc ggaagcacca ggagctgcaa gccatgcaga tggagctgca
 2821 gagccctgag tacaagctga gcaagctccg cacctcgacc atcatgaccg actacaaccc
 2881 caactactgc tttgctggca agacctctc catcagtgac ctgaaggagg tgccgcggaa
 2941 aaacatcacc ctcattcggg gtctgggcca tggcgccctt ggggaggtgt atgaaggcca
 3001 ggtgtccgga atgccaacg acccaagccc cctgcaagtg gctgtgaaga cgctgcctga
 3061 agtgtgctct gaacaggacg aactggattt cctcatggaa gccctgatca tcagcaaat
 10 3121 caaccaccag aacattgttc gctgcattgg ggtgagcctg caatccctgc cccggttcat
 3181 cctgctggag ctcatggcgg ggggagacct caagtccttc ctccgagaga cccgcctcgc
 3241 cccgagccag ccctcctccc tggccatgct ggaccttctg cagtggtctc gggacattgc
 3301 ctgtggctgt cagtatttgg aggaaaacca cttcatccac cgagacattg ctgccagaaa
 3361 ctgcctcttg acctgtccag gccctggaag agtggccaag attggagact tcgggatggc
 3421 ccgagacatc tacagggcga gctactatag aaagggaggc tgtgccatgc tgccagttaa
 3481 gtggatgccc ccagaggcct tcatggaagg aatattcact tctaaaacag acacatggtc
 15 3541 ctttggagtg ctgctatggg aaatcttttc tcttgatat atgccatacc ccagcaaaag
 3601 caaccaggaa gttctggagt ttgtcaccag tggaggcccg atggaccac ccaagaactg
 3661 ccctgggcct gtataccgga taatgactca gtgctggcaa catcagcctg aagacaggcc
 3721 caactttgcc atcatttttg agaggattga atactgcacc caggaccgg atgtaataca
 3781 caccgctttg ccgatagaat atgggtccact tgtggaagag gaagagaaag tgccctgtgag
 3841 gcccaggagc cctgaggggg ttctctctct cctggtctct caacaggcaa aacgggagga
 20 3901 ggagcgagc ccagctgccc caccacctct gcctaccacc tcctctggca aggctgcaaa
 3961 gaaacccaca gctgcagag tctctgttgc agtccctaga gggccggccg tgggaagggg
 4021 acacgtgaat atggcattct ctcagtcctc cctcctctgc gaggctgaca aggtccacgg
 4081 atccagaaac aagcccacca gcttgtggaa cccaacgtac ggctcctggt ttacagagaa
 4141 acccaccaaa aagaataatc ctatagcaaa gaaggagcca cagcacagg gtaacctggg
 4201 gctggaggga agctgtactg tcccaccta cgttgcaact gggagacttc cgggggcctc
 4261 actgctccta gagccctctt cgctgactgc caatatgaag gaggtacctc tgttcaggct
 25 4321 acgtcacttc ccttgtggga atgtcaatta cggctaccag caacagggct tgcccttaga
 4381 agccgctact gccctggag ctggtcatta cgaggatacc attctgaaaa gcaagaatag
 4441 catgaaccag cctgggcccct gagctcggtc gcacactca

Последовательность белка KIF5B-ALK (BAN57337.1; GI:227452653)

1 madlaecnik vmcfrplne sevnrgdki akfqqgedtvv iaskpyafdr vfqsstsseq
 30 61 vyndcakkiv kvvlegyngt ifaygqtssg kthtmegklh dpegmglipr ivqdifnyiy
 121 smdenlefhi kvsyfeiyld kirdlldvsk tnlsvhedkn rvpvkgcte rfvcspdevm
 181 dtidegksnr hvavtnmneh ssrshsifli nvkqentqte qklsgklylv dlagsekvsk
 241 tgaegavlde akninkslsa lgnvisalae gstyvpyrds kmtrilqds1 ggnrcrttvi
 301 ccspssynes etkstllfgg raktikntvc vnveltaeqw kkkyekekek nkilrntiqw
 361 lenelnrwrn getvpideqf dkekanleaf tvdkditltn dkpataigvi gnftdaerrk
 421 ceeeiaklyk qlddkdeein qqsqlevklk tqmldqeell astrrdqdnm qaelnrlgae
 35 481 ndaskeevke vlqaleelav nydqksqeve dktkeyells delnqksatl asidaelqkl
 541 kemtnhqkkr aaemmasllk dlaeigiavg nndvkqpegt gmiddeftva rlyiskmkse
 601 vktmvrckq lestqtesnk kmeenekela acqlrisqhe akikslteyl qnveqkkrql
 661 eesvdalsee lvqlraqekv hemekehlnk vqtanevkqa veqqiqshre thqkqisslr
 721 deveakakli tdlqdqngkm mlegerlrve heklkatdqe ksrklheltv mqdrreqarq
 781 dlkgleetva kelqtlhnlr klfvqdlatr vkksaeidsd dtggsaaqkq kisflennle
 841 qltkvhkqlv rdnadlrcl pklekrlrat aervkalesa lkeakenasr drkryqqevd
 40 901 rikeavrskn marrghsaqi vyrrkhqelq amqmelqspe yklsklrtst imtdynpnyc
 961 fagktssisd lkevprknit lirlglhgaf gevyegqvsg mpndpsplqv avktlpevcs
 1021 eqdeldflme aliiskfnhq nivrcigvsl qslprfille lmaggdlksf lretrprpsq
 1081 psslamldll hvardiacgc qyleenhfih rdiaarncll tcpgpgrvak igdfgmardi
 1141 yrasyyrkkg camlpvkwmp peafmegift sktdtwsfgv llweifslgy mpypsksnqe
 1201 vleftstggr mdppkncpgp vyrimtqcwq hqpdrpnfa iilerieyct qdpdvintal
 45 1261 pieygpvee eekvpvrpkd pegvppllv qgakreeers paappplptt ssgkaakkpt
 1321 aaevsrvrpr gpaveghvn mafsqsnpps elhkvhgsrn kptslwnpty gswftekptk
 1381 knnpiaakkep hdrnlgleg sctvppnvat grlpgaslll epssltanmk evplflrlhf
 1441 pcgnvnygyq qqglpleaat apgaghyedt ilksknsnmq pgp

Последовательность NPM-ALK t (2;5) (p23;q35 хромосомная транслокация) *

Последовательность TPM3-ALK t (1;2) (p25;p23 хромосомная транслокация) *

Последовательность нуклеиновой кислоты TFGXL-ALK (AF390893.1; GI:20269389)

1 atgaacggac agttggatct aagtgggaag ctaatcatca aagctcaact tggggaggat
61 attcggcga ttcctattca taatgaagat attacttatg atgaattagt gctaattgat
10 121 caacgagttt tcagaggaaa acttctgagt aatgatgaag taacaataaa gtataaagat
181 gaagatggag atcttataac aatttttgat agttctgacc tttcctttgc aattcagtcg
241 agtaggatac tgaactgac attatttggt aatggccagc caagaccct tgaatcaagt
301 caggtgaaat atctccgtcg agaactgata gaacttcgaa ataaagtga tgcgtttattg
361 gatagcttgg aaccacctgg agaaccagga ccttccacca atattcctga aaatgatact
421 gtggatggta ggggaagaaa gtctgcttct gattcttctg gaaaacagtc tactcaggtt
481 atggcagcaa gtatgtctgc ttttgatcct ttaaaaaacc aagatgaaat caataaaaaat
15 541 gttatgtcag cgtttggtt aacagatgat caggtttcag ggccaccag tgctcctgca
601 gaagatcggt caggaacacc cgacagcatt gcttctcct cctcagcagc tcaccacca
661 ggcgttcagc cacagcagcc accatataca ggagctcaga ctcaagcagg tcagattgaa
721 gtgtaccgcc ggaagcacc ggagctgcaa gccatgcaga tggagctgca gagccctgag
781 tacaagctga gcaagctccg cacctcgacc atcatgacc actacaacc caactactgc
841 tttgctggca agacctctc catcagtgac ctgaaggagg tgccgcgga aaacatcacc
901 ctcatctggg gtctgggcca tggcgcttt ggggaggtgt atgaaggcca ggtgtccgga
20 961 atgccaacg acccaagccc cctgcaagt gctgtgaaga cgctgctga agtgtgctct
1021 gaacaggacg aactggattt cctcatggaa gccctgatca tcagcaaatt caaccaccag
1081 aacattgttc gctgcattgg ggtgagcctg caatccctgc cccggttcat cctgctggag
1141 ctcatggcgg ggggagacct caagtcctc ctccgagaga cccgccctcg cccgagccag
1201 cctcctccc tggccatgct ggacctctg cagctggctc gggacattgc ctgtggctgt
1261 cagtatttgg aggaaaacca cttcatccac cgagacattg ctgccagaaa ctgcctcttg
1321 acctgtccag gccctggaag agtggccaag attggagact tcgggatggc ccgagacatc
25 1381 tacagggcga gctactatag aaagggaggc tgtgccatgc tgccagttaa gtggatgccc
1441 ccagaggcct tcatggaagg aatattcact tctaaaacag acacatggct ctttggagtg
1501 ctgctatggg aaatcttttc tcttgatata atgccatacc ccagcaaaag caaccaggaa
1561 gttctggagt ttgtcaccag tggaggccgg atggaccac ccaagaactg cctgggct
1621 gtataccgga taatgactca gtgctggcaa catcagcctg aagacaggcc caactttgcc
1681 atcatttttg agaggattga atactgcacc caggaccgg atgtaataca caccgctttg
30 1741 ccgatagaat atggtccact tgtggaagag gaagagaaag tgctgtgag gcccaaggac
1801 cctgaggggg ttcctcctct cctggtctct caacaggcaa aacgggagga ggagcgcagc
1861 ccagctgccc caccacctct gcctaccacc tcctctggca aggctgcaa gaaaccaca
1921 gctgcagagg tctctgttcg agtccctaga gggccggccg tggaggggg acacgtgaat
1981 atggcattct ctcagtccaa cctcctctcg gagttgcaca aggtccacgg atccagaaac
2041 aagcccacca gcttgtgaa ccaacgtac ggctcctggg ttacagagaa acccaccaaa
2101 aagaataatc ctatagcaaa gaggagcca cagcagagg gtaacctggg gctggaggga
35 2161 agctgtactg tcccacctaa cgttgcaact gggagacttc cgggggctc actgctccta
2221 gagccctctt cgctgactgc caatatgaag gaggtacctc tggtcaggct acgtcacttc
2281 ccttgtggga atgtcaatta cggctaccag caacagggct tgcccttaga agccgctact
2341 gccctgggag ctggtcatta cgaggatacc attctgaaaa gcaagaatag catgaaccag
2401 cctgggacct ga

Последовательность белка TFGXL-ALK (AAM17922.1; GI:20269390) *

1 mngqldlsgk liikaqlged irripihned itydelvlmm qrvfrgklls ndevtikyk
61 edgdlitifd ssdlfaiqc srilkltlfv ngqprpless qvkylrreli elrnkvnrll
121 dsleppgepg pstnipendt vdgreksas dssgkqstqv maasmsafdp lknqdeinkn
181 vmsafgltd qvsgppsapa edrgtptdsi assssaahpp gvqpqqppyt gaqtqagqie
241 vyrrkhqelq amqmelqspe yklsklrst imtdynpnyc fagktssisd lkevprknit
301 lirlghgaf gevyegqvs mpndpsplqv avktlpevcs eqdeldflme aliiskfnhq
361 nivrcigvsl qslprfille lmaggdlksf lretrprsq psslamldll hvardiacgc
45 421 qyleenhfih rdiaarncll tcpgpgrvak igdfgmardi yrasyyrkgg camlpvkwmp
481 peafmegift sktdtwsfgv llweifslgy mpypsksnqe vlefvtsggr mdppkncpgp
541 vyrimtqcwq hqpdrpnfa iilerieyct qdpdvintal pieygpplvee eekvpvrpkd
601 pegvppllv qakreeers paappplptt ssgkaakkpt aaevsvrvpr gpaveghvn

661 mafsqsnpps elhkvhgsrn kptslwnpty gswftekptk knnpiakkep hdrnlgleg
 721 sctvppnvat grlpgaslll epssltanmk evplfrlrhf pcgnvnygyq qqglpleaat
 781 apgaghyedt ilksknsnmq pgp

Последовательность нуклеиновой кислоты TFGL-ALK (AF143407.1; GI:6739534)

5
 1 cctccgcaag ccgtctttct ctagagttgt atatataaga catcctggag tccaccatga
 61 acggacagtt ggatctaagt gggaagctaa tcatcaaagc tcaacttggg gaggatattc
 121 ggccaattcc tattcataat gaagatatta ctatgatga attagtgcata atgatgcaac
 181 gagttttcag aggaaaactt ctgagtaatg atgaagtaac aataaagtat aaagatgaag
 241 atggagatct tataacaatt tttgatagtt ctgacctttc ctttgcaatt cagtgcagta
 10 301 ggatactgaa actgacatta tttgttaatg gccagccaag accccttgaa tcaagtcagg
 361 tgaatatatct ccgtcgagaa ctgatagaac ttcgaaataa agtgaatcgt ttattggata
 421 gcttggaacc accctggagaa ccaggacctt ccaccaatat tcctgaaaat gatactgtgg
 481 atggtaggga agaaaagtct gcttctgatt cttctggaaa acagtctact caggttatgg
 541 cagcaagtat gtctgctttt gatcctttta aaaaccaaga tgaaatcaat aaaaatgta
 601 tgtcagcgtt tggcttaaca gatgatcagg tttcagtgtt ccgccggaag caccaggagc
 661 tgcaagccat gcagatggag ctgcagagcc ctgagtacaa gctgagcaag ctccgcacct
 15 721 cgaccatcat gaccgactac aaccccaact actgctttgc tggcaagacc tcctccatca
 781 gtgacctgaa ggaggtgccc cggaaaaaca tcacctcat tcggggtctg ggccatggcg
 841 cctttgggga ggtgtatgaa ggccaggtgt ccggaatgcc caacgaccca agccccctgc
 901 aagtggctgt gaagacgctg cctgaagtgt gctctgaaca ggacgaactg gatttctca
 961 tggaagccct gatcatcagc aaattcaacc accagaacat tggtcgtgc attggggtga
 1021 gcctgcaatc cctgccccgg ttcactctgc tggagctcat ggccggggga gacctcaagt
 1081 ccttcctccg agagaccgcg cctcgcccg gccagccctc ctccctggcc atgctggacc
 20 1141 ttctgcacgt ggctcgggac attgcctgtg gctgtcagta tttggaggaa aaccacttca
 1201 tccaccgaga cattgctgcc agaaactgcc tcttgacctg tccaggccct ggaagagtgg
 1261 ccaagattgg agacttcggg atggcccgag acatctacag ggcgagctac taagaagag
 1321 gaggtctgtc catgctgcca gttaagtggg tgccccaga ggccttcctg gaaagaatg
 1381 tcaattctaa aacagacaca tggctccttg gactgctgct atgggaaatc tttctcttg
 1441 gatatatgcc ataccacagc aaaagcaacc aggaagtctt ggagtgttc accagtggag
 25 1501 gccggatgga cccacccaag aactgcccct ggccgtgata ccggataatg actcagtgtc
 1561 ggcaacatca gcctgaagac aggcccaact ttgccatcat tttggagagg attgaatact
 1621 gcaccagga cccggatgta atcaacaccg ctttgccgat agaatatggt ccacttgtgg
 1681 aagaggaaga gaaagtgcct gtgaggccca aggacctga ggggggtcct cctctcctgg
 1741 tctctcaaca ggcaaaacgg gaggaggagc gcagccagc tgccccacca cctctgccta
 1801 ccacctctc tggcaaggct gcaaaagaa ccacagctgc agaggtctct gtctcagtc
 1861 ctagaggggc ggccgtggaa gggcgacacg tgaatatggc attctctcag tccaacctc
 30 1921 cttcgaggtt gcacaaggct caccgagcca gaaacaagcc caccagcttg tggaaaccaa
 1981 cgtacggctc ctggtttaca gagaaaccca ccaaaaagaa taatctata gcaagaagg
 2041 agccacacga caggggtaac ctggggctgg agggaagctg tactgtccca cctaacgttg
 2101 caactgggag acttcggggg gcctcactgc tcctagagcc ctcttcgctg actgccaata
 2161 tgaaggaggt acctctgttc aggtacgctc acttcccttg tgggaatgtc aattacggct
 2221 accagcaaca gggcttgccc ttagaagccg ctactgccc tggagctggg cattacgagg
 2281 ataccattct gaaaagcaag aatagcatga accagcctgg gccctgagct cggctgcaca
 35 2341 ctacttctc ttccttgga tccctaagac cgtggaggag agagaggcaa tggctccttc
 2401 acaaacaga gaccaaagt caggtttgt tttgtgcaa cctattttga agtaccacca
 2461 aaaaagctgt atttgaaaa tgccttagaa aggttttgag catgggttca tcctattctt
 2521 tcgaaagaag aaaatatcat aaaaatagat gataaataca aggccagat gtggttgc
 2581 aaggttttta tgcattgttg ttgtatactt cttatgctt cttttaaat gtgtgtgctc
 2641 tgcttcaatg tagtcagaat tagctgctt tatgtttcat agttgggtc atagatgtt
 40 2701 ccttgcttg ttgatgtgga catgagccat ttgaggggag agggaacgga aataaaggag
 2761 ttatttgtaa tgactaaaa

Последовательность белка TFGL-ALK (AAF27292.1; GI:6739535)*

1 mngqldlsgk liikaqlged irripihned itydelvlmm qrvfrgklls ndevtikyk
 61 edgdlitfd ssdlfaiqc srilkltlfv ngqrpless qvkyllrrel elrnkvnrll
 121 dsleppgepg pstnipendt vdgrecksas dssgkqstqv maasmsafdp lknqdeinkn
 181 vmsafgltd qsvvyrrkhq elqamqmelq speyklslr tstimtdynp nycfagktss
 241 isdlkevprk nitlirglgh gafgevyegq vsgmpndpsp lqvavktlpe vcseqdeldf
 301 lmealliiskf nhqnivrcig vslqslprfi llelmaggdl ksflretrpr psqpslaml
 361 dlhvardia cgcqyleenh fihrdiaarn cltccppgr vakigdfgma rdiyrasyr
 421 kggcamlpvk wmppeafmeg iftsktdtws fgvlleifs lgypypysks nqevlefvt

481 ggrmdppknc pgpvrimtq cwqhqpdrp nfaiilerie yctqdpdvin talpieygpl
 541 veeeeekvpvr pkdpegvppl lvsqqakree erspaapppl pttssgkaak kptaaevsvr
 601 vprgpavegg hvnmfqsqn ppselhkvhg srnkptslwn ptygswftek ptkknnpiak
 661 kephdrnlg legscvppn vatgrlpgas lilepslta nmkevplfrl rhfpcgnvny
 721 gyqqqglple aatapgaghy edtilkskns mnqpgp

5

Последовательность нуклеиновой кислоты TFSG-ALK (AF125093.1; GI:7229260)

1 cctccgcaag ccgtctttct ctagagttgt atatataaga catcctggag tccaccatga
 61 acggacagtt gcatctaagt gggaagctaa tcatcaaagc tcaacttggg gaggatattc
 121 ggcgaattcc tattcataat gaagatatta cttatgatga attagtgcta atgatgcaac
 10 181 gagttttcag aggaaaaactt ctgagtaatg atgaagtaac aataaagtat aaagatgaag
 241 atggagatct tataacaatt tttgatatgt ctgacctttc ctttgcaatt cagtgcagta
 301 ggatactgaa actgacatta tttgttaatg gccagccaag accccttgaa tcaagtcagg
 361 tgaaatatct ccgtcgagaa ctgatagaac ttcgaaataa agtgaatcgt ttattggata
 421 gcttggaacc acctggagaa ccaggacctt ccaccaatat tctgaaaaat gtgtaccgcc
 481 ggaagcacca ggagctgcaa gccatgcaga tggagctgca gagccctgag tacaagctga
 541 gcaagctccg cacctcgacc atcatgaccg actacaacc caactactgc tttgctggca
 15 601 agacctctc catcagtgac ctgaaggagg tgccgcggaa aaacatcacc ctcattcggg
 661 gtctgggcca tggcgctttt ggggaggtgt atgaaggcca ggtgtccgga atgcccacg
 721 acccaagccc cctgcaagtg gctgtgaaga cgctgcctga agtgtgctct gaacaggacg
 781 aactggattt cctcatggaa gccctgatca tcagcaaat caaccaccag aacattgttc
 841 gctgcattgg ggtgagcctg caatccctgc cccggttcat cctgctggag ctcattggcg
 901 ggggagacct caagtccctc ctccgagaga cccgcccctg cccgagccag ccctcctccc
 961 tggccatgct ggaccttctg cactgtgctc gggacattgc ctgtggctgt cagtatttgg
 20 1021 aggaaaaacca cttcatccac cgagacattg ctgccagaaa ctgcctcttg acctgtccag
 1081 gccctggaag agtggccaag attggagact tcgggatggc ccgagacatc tacagggcga
 1141 gctactatag aaaggaggc tgtgccatgc tgccagttaa gtggatgcc ccagagccct
 1201 tcatggaagg aatattcact tctaaaacag acacatggtc ctttggagtgt ctgctatggg
 1261 aaatcttttc tcttgatat atgccatacc ccagcaaaag caaccaggaa gttctggagt
 1321 ttgtcaccag tggaggcccg atggaccac ccaagaactg ccctgggcct gtataccgga
 25 1381 taatgactca gtgctggcaa catcagcctg aagacaggcc caactttgcc atcattttgg
 1441 agaggattga atactgcacc caggaccggg atgtaataca caccgctttg ccgatagaat
 1501 atggtccact tgtggaagag gaagagaaaag tgccctgtgag gcccaaggac cctgaggggg
 1561 ttctctctct cctggtctct caacaggcaa aacgggagga ggagcgcagc ccagctgccc
 1621 caccactctt gcctaccacc tctctggga aggtgcaaa gaaaccaca gctgcagagg
 1681 tctctgttcg agtccctaga gggccggccg tgggaagggg acacgtgaat atggcattct
 1741 ctacgtccaa ccctccttcg gatttgaca aggtccacgg atccagaaa aagcccacca
 30 1801 gcttgtggaa cccaacgtac ggctcctggt ttacagagaa acccaccaaa aagaataatc
 1861 ctatagcaaa gaaggagcca cagcacagg gtaacctggg gctggaggga agctgtactg
 1921 tcccacctaa cgttgcaact gggagacttc cgggggcctc actgctccta gagccctctt
 1981 cgctgactgc caatatgaag gaggtacctc tgttcaggct acgtcacttc ccttgtggga
 2041 atgtcaatta cggctaccag caacagggtc tgcccttaga agccgctact gcccctggag
 2101 ctggtcatta cgaggatacc attctgaaaa gcaagaatag catgaaccag cctggggcct
 35 2161 gagctcggtc gcacactcac ttctcttctt tgggatccct aagaccgtgg aggagagaga
 2221 ggcaatggct ccttcacaaa ccagagacca aatgtcacgt tttgttttgt gccaacctat
 2281 tttgaagtac caccaaaaaa gctgtatttt gaaaatgctt tagaaaggtt ttgagcatgg
 2341 gttcatccta ttctttcgaa agaagaaaat atcataaaaa tgagtataa atacaaggcc
 2401 cagatgtggt tgcataaggt ttttatgcac gtttgttgta tacttcctta tgcttctttt
 2461 aaattgtgtg tgctctgctt caatgtagtc agaattagct gcttctatgt ttcatagttg
 2521 gggatcataga tgtttccttg ccttgttgat gtggacatga gccatttgag gggagaggga
 40 2581 acggaaataa aggagttatt tgtaatgact aaaa

Последовательность белка TFSG-ALK (AAF42734.1; GI:7229261) *

1 mngqldlsgk liikaqlged irripihned itydelvlmm qrvfrgklls ndevtikyk
 61 edgdlitifd ssdlfaiqc srilkltlfv ngqrpless qvkyllrreli elrnkvnrll
 121 dsleppgepg pstnipenvy rrrkqelqam qmelqspeyk lsklrtstim tdylnpnycf
 181 gktssisdik evprknitli rglghgafge vyegqvsgmp ndpsplqvav ktlpevcseq
 45 241 deldflmeal iiskfnhqn vrcigvslqs lprfillelm aggdlsflr etrprpsqps
 301 slamldllhv ardiacgcqy leenhfihrd iaarnclltc pgpgrvakig dfgmardiy
 361 asyyrkggca mlpvkwmppe afmegiftsk tdtwsfgvll weifslgymp ypsksnqevl
 421 efvtsggrmd ppkncpgpvy rimtqcwqhq pedrpnfaii lerieyctqd pdvintalpi
 481 eygplveeee kvpvrpkdpe gvplllvsqq akreeerspa appplpttss gkaakkptaa

541 evsvrvprgp avegghvnma fsqsnppsel hkvhgsrnkp tslwnptygs wftekptkkn
 601 npiakkephd rgnlglegsc tvppnvatgr lpgaslllep ssltanmkev plfrlrhfpc
 661 gnvnygyqqq glpleaatap gaghyedtil ksknsmnqpg p

Последовательность ATIC-ALK (inv(2)(p23;q35) хромосомная транслокация) *

Последовательность CLTC-ALK (t(2;17)(p23;q23) хромосомная транслокация) *

Последовательность нуклеиновой кислоты MSN-ALK (AF295356.1; GI:14625823)

10 1 aactccgctg cctttgccc caccatgccc aaaacgatca gtgtgctgtg gaccaccatg
 61 gatgcagagc tggagtttgc catccagccc aacaccaccg ggaagcagct atttgaccag
 121 gtggtgaaaa ctattggctt gagggaagtt tggttctttg gtctgcagta ccaggacact
 181 aaaggtttct ccacctggct gaaactcaat aagaaggtga ctgccagga tgtgcggaag
 241 gaaagccccc tgctctttaa gttccgtgcc aagttctacc ctgaggatgt gtccgaggaa
 301 ttgattcagg acatcactca gcgcctgttc tttctgcaag tgaaagaggg cattctcaat
 15 361 gatgatattt actgcccgc tgagaccgct gtgctgctgg cctcgatgc tgtccagtct
 421 aagtatggcg acttcaataa ggaagtgc atgtctggct acctggccgg agacaagttg
 481 ctcccgcaga gagtcctgga acagcaca aa ctcaacaagg accagtggga ggagcgatc
 541 caggtgtggc atgaggaaca ccgtggcatg ctcaaggagg atgctgtcct ggaatattctg
 601 aagattgctc aagatctgga gatgtatggt gtgaactact tcagcatcaa gaacaagaaa
 661 ggctcagagc tgtggctggg ggtggatgcc ctgggtctca acatctatga gcagaatgac
 721 agactaactc ccaagatagg cttcccctgg agtgaaatca ggaacatctc tttcaatgat
 20 781 aagaaatttg tcatcaagcc cattgacaaa aaagccccgg acttcgtctt ctatgctccc
 841 cggctgcgga ttaacaagcg gatcttgccc ttgtgcatgg ggaaccatga actatacatg
 901 cgccgtcgca agcctgatac cattgaggtg cagcagatga aggcacaggc ccgggaggag
 961 aagcaccaga agcagatgga gcgtgctatg ctggaaaatg agaagaagaa gcgtgaaatg
 1021 gcagagaagg agaaagagaa gattgaacgg gagaaggagg agctgatgga gaggctgaag
 1081 cagatcgagg aacagactaa gaaggctcag caagaactgg aagaacagac ccgtagggct
 1141 ctggaacttg agcaggaacg gaagcgtgcc cagagcgagg ctgaaaagct ggccaaggag
 25 1201 cgtcaagaag ctgaagaggc caaggaggcc ttgctgcagg cctcccggga ccagaaaaag
 1261 actcaggaac agctggcctt ggaaatggca gagctgacag ctgcaatctc ccagctggag
 1321 atggcccagc agaagaagga gagtgaggct gtggagtggc agcagaagca ggagctgcaa
 1381 gccatgcaga tggagctgca gagccctgag tacaagctga gcaagctccg cacctcgacc
 1441 atcatgaccg actacaaccc caactactgc tttgctggca agacctcctc catcagtgac
 1501 ctgaaggagg tgccgcggaa aaacatcacc ctcatcgagg gtctgggcca tggcgccctt
 30 1561 ggggaggtgt atgaaggcca ggtgtccgga atgcccacg acccaag

Последовательность белка MSN-ALK (AAK71522.1; GI:14625824) *

1 mpktisvrvt tmdaelefai qpnttgkqlf dqvvktiglr evwffglqyq dtkgfstwlk
 61 lnkkvtaqdv rkespllfkf rakfypedvs eeliqditqr lfflqvkegi lnddiycppe
 121 tavllasyav qskygdfnke vkhsgylagd kllpqrveq hklndqwee riqvweehr
 35 181 gmlredavle ylkiaqdlem ygvnyfsikn kkgsewlgv dalglniyeq ndrtpkigf
 241 pwseirnisf ndkkfvikpi dkkapdfvfy aprlrinkri lalcgnhel ymrrrkpdti
 301 evqqmkaqar eekhqkqmer amlenekkkk emaekekeki erekeelmer lkqieeqtkk
 361 aqgeleeqtr raleleqerk raqseaekla kerqaeaeak eallqasrdq kktqeqlale
 421 maeltarisq lemarqkkes eavewqqkqe lqamqmelqs peyklsklrt stimtdynpn
 481 ycfagktssi sdlkevprkn itlirglghg afgevyegqv sgmpndp

Последовательность нуклеиновой кислоты минорного варианта TPM4-ALK Minor (AF362887.1; GI:14010353)

1 cgagaagttg agggagaaa gcgggcccg gaacaggctg aggctgaggt ggcctccttg
 61 aaccgtagga tccagctggt tgaagaagag ctggaccgtg ctcaaggagg tgccggagggtg
 121 tctgaactaa aatgtggtga cctggaagaa gaactcaaga atgttactaa caatctgaaa
 181 tctctggagg ctgcatctga aaagtattct gaaaaggagg acaaatatga agaagaaatt
 45 241 aaacttctgt ctgacaaaact gaaagaggct gagaccgtg ctgaatttgc agagagaacg
 301 gttgcaaaac tggaaaagac aattgatgac ctggaagtgt acctccggaa gcaccaagag
 361 ctgcaagcca tgcagatgga gctgcagagc cctgagtaca agctgagcaa gctccgcacc
 421 ctcgac

Последовательность белка минорного варианта TPM4-ALK (AAK51964.1; GI:14010354)

1 revegerrar eqaeaevasl nrriqlveee ldraqeraev selkcgdl ee elknvtnnlk
61 sleaasekys ekedkyeeei klldsklkea etraefaert vaklektidd levylrkhqe
121 lqamqmelqs peyklsklrrt ld

Последовательность нуклеиновой кислоты основного варианта TPM4-ALK (AF362886.1; GI:14010351)

1 ctggcagagt cccgttgccg agagatggat gagcagatta gactgatgga ccagaacctg
61 aagtgtctga gtgctgctga agaaaagtac tctcaaaaag aagataaata tgaggaagaa
121 atcaagattc ttactgataa actcaaggag gcagagaccc gtgctgaatt tgcagagaga
181 acggttgcaa aactggaaaa gacaattgat gacctggaag tgtaccgccg gaagcaccag
241 gagctgcaag ccattgcagat ggagctgcag agccctgagt acaagctgag caagctccgc
301 acctcgac

Последовательность белка основного варианта TPM4-ALK (AAK51963.1; GI:14010352)

1 laesrcremd eqirlmdqnl kclsaaeeeky sqkedkyeee ikiltdklke aetraefaer
61 tvaklektid dlevyrrkhq elqamqmelq speyklsklrr tst

Последовательность MYH9-ALK (t(2;22)(p23;q11.2) хромосомная транслокация) *

Последовательность RANBP2-ALK (t(2;2)(p23;q13) or inv(2)(p23;q11-13) хромосомная транслокация) *

Последовательность ALO17-ALK (t(2;17)(p23;q25) хромосомная транслокация) *

Последовательность CARS-ALK (t(2;11;2)(p23;p15;q31) хромосомная транслокация) *

- **Все гибридные белки за исключением MSN-ALK и MYH-9, содержат 563 конечные аминокислоты ALK. MSN-ALK и MYH9 содержат 567 и 566 конечных аминокислот, соответственно.**

Термин «мутации ALK» относится к изменениям последовательности нуклеиновой кислоты и/или белка относительно эталонной последовательности киназы анапластической лимфомы. Однако согласно некоторым вариантам реализации термин «мутации ALK» может относиться к специфическим мутациям киназы анапластической лимфомы, являющимся прогностическими в отношении ответа на лечение ингибиторами ALK (например, PF-02341066 и/или PDD). Например, мутации аминокислоты цистеина в положении 1156 (C1156) и/или аминокислоты лейцина в положении 1196 (L1196) в белке ALK дикого типа (NP_004295) с их заменой на другую аминокислоту согласно настоящему описанию придает устойчивость к ингибиторам ALK. Согласно одному варианту реализации в положении C1156 находится аминокислота тирозин и/или в положении L1196 находится аминокислота метионин. Также специалисты в данной области техники должны понимать, что положения аминокислот, соответствующие мутациям «C1156» и «L1196» в белке ALK дикого типа, будут иметь номера, отличные от номеров в эталонной последовательности (например, гомологи ALK, гибридные белки ALK и др.), что не должно влиять на их прогностическую ценность в отношении ответа на лечение ингибиторами ALK (например, PF-02341066 и/или PDD). Специалист в данной области техники также должен понимать, что существует установленное и четко определенное соответствие между последовательностью аминокислот в

конкретном белке и последовательностью нуклеотидов, которая может кодировать указанный белок, что определяется генетическим кодом (приводится ниже). Аналогично, существует установленное и четко определенное соответствие между последовательностью нуклеотидов в конкретной нуклеиновой кислоте и последовательностью аминокислот, кодируемой указанной нуклеиновой кислотой, что определяется генетическим кодом.

ГЕНЕТИЧЕСКИЙ КОД

10	Аланин(Ala, A)	GCA, GCC, GCG, GCT
	Аргинин(Arg, R)	AGA, ACG, CGA, CGC, CGG, CGT
	Аспарагин (Asn, N)	AAC, AAT
	Аспарагиновая кислота(Asp, D)	GAC, GAT
	Цистеин(Cys, C)	TGC, TGT
	Глутаминовая кислота(Glu, E)	GAA, GAG
	Глутамин(Gln, Q)	CAA, CAG
15	Глицин(Gly, G)	GGA, GGC, GGG, GGT
	Гистидин(His, H)	CAC, CAT
	Изолейцин(Ile, I)	ATA, ATC, ATT
	Лейцин(Leu, L)	CTA, CTC, CTG, CTT, TTA, TTG
	Лизин(Lys, K)	AAA, AAG
	Метионин(Met, M)	ATG
20	Фенилаланин(Phe, F)	TTC, TTT
	Пролин(Pro, P)	CCA, CCC, CCG, CCT
	Серин(Ser, S)	AGC, AGT, TCA, TCC, TCG, TCT
	Треонин (Thr, T)	ACA, ACC, ACG, ACT
	Триптофан (Trp, W)	TGG
	Тирозин (Tyr, Y)	TAC, TAT
25	Валин (Val, V)	GTA, GTC, GTG, GTT
	Сигнал терминации (стоп-кодон)	TAA, TAG, TGA

Важным и хорошо известным свойством генетического кода является его избыточность, что значит, что для большинства аминокислот, применяемых при построении белков, может применяться более одного триплета (например, как проиллюстрировано выше). Следовательно, несколько разных последовательностей нуклеотидов может кодировать конкретную последовательность аминокислот. Такие последовательности нуклеотидов считаются функционально эквивалентными, поскольку они приводят к образованию одной и той же последовательности аминокислот во всех организмах (хотя определенные организмы могут транслировать некоторые последовательности более эффективно, чем другие). Кроме того, иногда в конкретной последовательности нуклеотидов может находиться метилированный вариант пурина или пиримидина. Такое метилирование не влияет на взаимосвязь кодирования между кодоном из трех нуклеотидов и соответствующей аминокислотой. Кроме того, специалист в данной области техники также должен понимать на основании соответствующей таблицы кодонов, как мутировать нуклеотиды в специфическом кодоне, чтобы специфически изменить кодируемую аминокислоту. Например, кодон для Cys-1156 - «TGC», а кодон для Tyr может быть «TAT» или «TAC». Таким образом, замена одного нуклеотида с G на A во 2-ом положении указанного кодона приведет к кодированию тирозина вместо цистеина. Специалист в данной области техники может провести аналогичные манипуляции и разработать другие мутации.

Термин «связывающее соединение» должен относиться к связывающей композиции, такой как малая молекула, антитело, пептид, пептидный или непептидный лиганд, белок, олигонуклеотид, аналог олигонуклеотида, такой как нуклеиновая кислота пептид, лектин или любая другая молекула, которая способна специфически связываться с

целевым белком или молекулой, или образовывать стабильный комплекс с анализируемым веществом, такой как комплекс с белками.

Термин «связывающая частица» относится к любой молекуле, к которой можно напрямую или не напрямую присоединить молекулярные метки, которые способны специфически связываться с анализируемым веществом. Связывающие частицы включают, без ограничений, антитела, связывающие антитела композиции, пептиды, белки, нуклеиновые кислоты и органические молекулы, обладающие молекулярной массой приблизительно до 1000 Дальтон и содержащие атомы, выбранной из группы, состоящей из водорода, углерода, кислорода, азота, серы и фосфора.

Термин «биомаркер» или «маркер» означает ген, мРНК или белок, который может подвергаться изменению, причем указанное изменение ассоциировано с раком. Указанное изменение может касаться количества, структуры и/или активности в ткани или клетках раковой опухоли в сравнении с количеством, структурой и/или активностью в нормальной или здоровой ткани или клетках (например, в контроле), и ассоциировано с заболеванием, таким как рак, например, маркер согласно настоящему изобретению, который ассоциирован с раком или является прогностическим фактором в отношении чувствительности к противораковым средствам, может содержать измененную последовательность нуклеотидов, хромосомную транслокацию, внутрихромосомную инверсию, измененное число копий, уровень экспрессии, уровень белка, активность белка или статус метилирования, в ткани или клетках раковой опухоли по сравнению с нормальной, здоровой тканью или клетками. Кроме того, термин «маркер» включает молекулу, структура которой изменена, например, мутирована (содержит мутации), например, отличается от последовательности дикого типа на уровне нуклеотидов или аминокислот, например, вследствие замены, делеции или вставки, когда присутствует в ткани или клетках, ассоциированных с заболеванием, таким как рак.

Термин «рак» или «опухоль» относится к наличию клеток, обладающих свойствами, типичными для клеток, вызывающих рак, такими как неконтролируемая пролиферация, бессмертность, потенциал метастазирования, высокая скорость роста и пролиферации и некоторые характерные морфологические особенности. Раковые клетки часто существуют в форме опухоли, но такие клетки могут существовать в организме животного и по отдельности, или могут быть не образующие опухоли раковые клетки, такие как клетки лейкемии. Применяемый в настоящей заявке термин «рак» включает как предраковые, так и раковые состояния. Рак включает в себя рак В-клеток, например, множественную миелому, макроглобулинемию Вальденстрема, болезни тяжелых цепей, например, болезнь альфа-цепей, болезнь гамма-цепей, болезнь мю-цепей, доброкачественную моноклональную гаммапатию, амилоидоз иммуноцитов, меланомы, рак молочной железы, рак легких (такой как немелкоклеточная карцинома легких или НМКРЛ), рак бронхов, рак прямой и ободочной кишки, рак предстательной железы, рак поджелудочной железы, рак желудка, рак яичников, рак мочевого пузыря, рак мозга или центральной нервной системы, рак периферической нервной системы, рак пищевода, рак шейки матки, рак матки или эндометрия, рак ротовой полости или глотки, рак печени, рак почек, рак яичек, рак желчных протоков, рак тонкой кишки или червеобразного отростка, рак слюнных желез, рак щитовидной железы, рак надпочечников, остеосаркому, хондросаркому, рак органов кроветворения, аденокарциномы, воспалительные опухоли из фибробластов, стромальные опухоли желудочно-кишечного тракта (GIST), рак ободочной кишки, множественную миелому (ММ), миелодиспластический синдром (МДС), миелопролиферативные расстройства (МПР), острый лимфоцитарный лейкоз (ОЛЛ), острый миелоидный лейкоз (ОМЛ),

хронический миелоидный лейкоз (ХМЛ), хронический лимфоцитарный лейкоз (ХЛЛ), истинную полицитемию, лимфому Ходжкина, неходжкинскую лимфому (НХЛ), саркому мягких тканей, фибросаркому, миксосаркому, липосаркому, остеолитическая саркому, хордому, ангиосаркому, эндотелиосаркому, лимфангиосаркому,

5 лимфангиоэндотелиосаркому, синовиому, мезотелиому, саркому Юинга, лейомиосаркому, рабдомиосаркому, плоскоклеточный рак, базальноклеточную карциному, аденокарциному, карциному потовых желез, карциному сальных желез, папиллярную карциному, цистаденокарциному, медуллярный рак, бронхогенный рак, гипернефрому, гепатому, карциному желчного протока, хориокарциному, семиному, 10 эмбриональный рак, нефрому, карциному мочевого пузыря, эпителиальную карциному, глиому, астроцитому, гранулобластому, краниофарингиому, эпендимому, пинеалому, гемангиобластому, невриному слухового нерва, олигодендроглиому, менингиому, нейробластому, ретинобластому, фолликулярную лимфому, диффузную В-крупноклеточную лимфому, печечно-клеточную карциному, рак щитовидной железы, 15 рак желудка, рак головы и шеи, разновидности мелкоклеточного рака, идиопатическую тромбоцитопению, агногенную миелоидная метаплазия, синдром гиперэозинофилии, системный мастоцитоз, системную гиперэозинофилию, хронический эозинофильный лейкоз, разновидности нейроэндокринного рака, карциноиды и подобные, но не ограничиваясь ими.

20 Термин «химиотерапевтический препарат» относится к химическому веществу, такому как цитотоксический или цитостатический препарат, который применяют для лечения патологического состояния, например, рака.

Термин «комплементарный» относится к широкой концепции комплементарности последовательностей между областями двух цепей нуклеиновых кислот или между 25 областями одной и той же цепи нуклеиновой кислоты. Известно, что остаток аденина первой области нуклеиновой кислоты может образовывать специфические водородные связи («спаривание оснований») с остатком второй области нуклеиновой кислоты, который антипараллелен первой области, если указанный остаток - это тимин или урацил. Аналогично, известно, что остаток цитозина первой области нуклеиновой 30 кислоты может образовать пару с остатком второй области нуклеиновой кислоты, который антипараллелен первой области, если указанный остаток - это гуанин. Первая область нуклеиновой кислоты комплементарна второй области той же или другой нуклеиновой кислоты, если при антипараллельном совмещении двух указанных областей по меньшей мере один остаток нуклеотида первой области может образовать пару с 35 остатком второй области. Согласно некоторым вариантам реализации указанная первая область содержит первую часть, а вторая часть содержит вторую часть, причем при антипараллельном совмещении двух указанных областей по меньшей мере приблизительно 50%, по меньшей мере приблизительно 75%, по меньшей мере приблизительно 90% или по меньшей мере приблизительно 95% остатков нуклеотидов 40 первой части могут образовать пару с остатками нуклеотидов во второй части. Согласно другим вариантам реализации все остатки нуклеотидов первой части могут образовать пару с остатками нуклеотидов во второй части.

Термин «число копий гена» или «число копий маркера» относится к числу последовательностей ДНК в клетке, кодирующих продукт определенного гена. Обычно 45 для конкретного гена у млекопитающего присутствует две копии каждого гена. Однако число копий можно увеличить путем амплификации или дупликации генов или же уменьшить посредством делеции.

Маркер «иммобилизован» на субстрате, если он ковалентно или нековалентно связан

с субстратом, так что указанный субстрат можно смыть жидкостью (например, стандартным физиологическим раствором с цитратом, pH 7,4) без диссоциации существенного количества маркера с указанного субстрата.

В настоящей заявке термин «отношение рисков» относится к статистическому способу, применяемому для генерирования оценки относительного риска. «Отношение рисков» - это отношение прогнозируемого риска для одной группы и для другой группы. Например, популяции пациентов, получающие ингибитор ALK и не получающие ингибитора ALK, можно оценивать, чтобы определить, эффективен ли ингибитор ALK в увеличении времени до системного рецидива заболевания, в частности в зависимости от статуса мутаций ALK. Например, лечение субъектов, обладающих мутациями ALK в ткани раковой опухоли, описываемыми в настоящей заявке, приводит к повышению терапевтической пользы от ингибиторов ALK по сравнению с субъектами, не обладающими мутациями ALK в ткани раковой опухоли.

В настоящей заявке термин «препарат, ингибирующий ALK» или «ингибитор ALK» относится к соединению, которое может подавлять биологическую активность ALK. Типы биологической активности также могут включать ответ пациента, как определено в настоящей заявке. Примеры препаратов, ингибирующих ALK, включают PF-02341066, PDD, 2-метил-11-(2-метилпропил)-4-оксо-4,5,6,11,12,13-гексагидро-2H-индазоло[5,4-a]пирроло[3,4-c]карбазол-8-ил [4-(диметиламино) бензил]карбамат, (1S,2S,3R,4R)-3-({5-хлор-2-[(1-этил-2,3,4,5-тетрагидро-6-метокси-2-оксо-1H-1-бензазепин-7-л)амино]-4-пиримидинил}амино)бидикло[2.2.1]гепт-5-ен-2-карбоксамид и NVP-TAE684, но не ограничиваясь ими (например см. PNAS 104:270-275, 2007; Choi, Y.L. et al. (2008) Cancer Res. 68:4971-2976; и Biochemistry 48:3600-3609, 2009, которые включены в настоящую заявку посредством ссылки на их полную версию).

Применяемые в настоящей заявке взаимозаменяемые термины «гомология» или «идентичность» относятся к сходству между двумя последовательностями полинуклеотидов или между двумя последовательностями полипептидов, причем идентичность относится к более строгому сравнению. Фразы «процент идентичности или гомологии» и «% идентичности или гомологии» относятся к проценту сходства последовательностей, обнаруживаемого при сравнении двух или более последовательностей полинуклеотидов или двух или более последовательностей полипептидов. Термин «сходство последовательностей» относится к проценту сходства в последовательности пар оснований (определяемого любым подходящим способом) между двумя или более последовательностями полинуклеотидов. Две или более последовательности могут быть где-либо сходны на 0-100%, или на целые значения, лежащие между ними. Идентичность или сходство можно определять путем сравнения положения в каждой последовательности, которое можно выравнивать в целях сравнения. Если какое-либо положение в сравниваемой последовательности занято тем же нуклеотидным основанием или аминокислотой, то по данному положению указанные молекулы идентичны. Степень сходства или идентичности между последовательностями полинуклеотидов является функцией от числа идентичных или соответствующих нуклеотидов в положениях, общих для указанных последовательностей нуклеотидов. Степень идентичности последовательностей полипептидов является функцией от числа идентичных аминокислот в положениях, общих для указанных последовательностей полипептидов. Степень гомологии или сходства последовательностей полипептидов является функцией от числа аминокислот в положениях, общих для указанных последовательностей полипептидов. Применяемый в настоящей заявке термин «существенная гомология» относится к гомологии по

меньшей мере на 50%, по меньшей мере на 60%, по меньшей мере на 65%, по меньшей мере на 70%, по меньшей мере на 75%, по меньшей мере на 80%, по меньшей мере на 85%, по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 95% или более.

Рак «подавляется», если по меньшей мере один симптом рака облегчается, прекращается, замедляется или предотвращается. Применяемый в настоящей заявке термин «подавление» рака также относится к сокращению, замедлению, отсрочиванию или предотвращению рецидива или метастазирования указанного рака.

«Нуклеиновая кислота - маркер» или «нуклеиновая кислота - биомаркер» - это нуклеиновая кислота (например, ДНК, мРНК, кДНК), кодируемая маркером согласно настоящему изобретению или соответствующая маркеру согласно настоящему изобретению. Например, такие молекулы нуклеиновых кислот-маркеров включают ДНК (например, геномную ДНК и кДНК), содержащую полную последовательность или часть последовательности любой нуклеиновой кислоты, указанной в Таблице 1, или комплементарную цепь, или гибридизующийся фрагмент такой последовательности.

Указанная нуклеиновая кислота - маркер также включает РНК, содержащую полную последовательность или часть последовательности любой нуклеиновой кислоты, указанной в Таблице 1, или комплементарную цепь, или гибридизующийся фрагмент такой последовательности, причем все остатки тимидина замещены остатками уридина. «Белок - маркер» это белок, кодируемый маркером согласно настоящему изобретению или соответствующий маркеру согласно настоящему изобретению. Белок-маркер включает полную последовательность или часть последовательности белка, кодируемого или соответствующего последовательностям, указанным в Таблице 1, или его фрагмента. Термины «белок» и «полипептид» в настоящей заявке взаимозаменяемы.

«Нормальное» число копий маркера или «нормальный» уровень экспрессии маркера - это уровень экспрессии, количество копий маркера в биологической пробе, например, пробе, содержащей мокроту, бронхоальвеолярный смыв, плевральный выпот, ткань, цельную кровь, сыворотку, плазму, соскоб со слизистой оболочки щеки, слюну, спинномозговую жидкость, мочу, кал и костный мозг из организма субъекта, например, человека, не страдающего раковым заболеванием.

Термин «гиперэкспрессия» или «существенно повышенный уровень экспрессии, количество копий и/или активность» мутированных генов ALK и/или продуктов гена (например, маркеров, описанных в Таблице 1) относится к уровню экспрессии, числу копий и/или активности в тестируемой пробе, которые превышают стандартную ошибку анализа, применяемого для оценки экспрессии или числа копий, и могут по меньшей мере в два, по меньшей мере в три, по меньшей мере в четыре, по меньшей мере в пять или по меньшей мере в десять или более раз превышать уровень экспрессии или число копий мутированных генов ALK и/или продуктов гена (например, маркеров, описанных в Таблице 1) в контрольной пробе (например в пробе из организма здорового субъекта, не страдающего раковым заболеванием), или средний уровень экспрессии или число копий мутированных генов ALK и/или продуктов гена (например, маркеров, описанных в Таблице 1) для нескольких контрольных проб.

Термин «зонд» относится к любой молекуле, которая способна селективно связываться со специально предназначенной молекулой-мишенью, например, с маркером согласно настоящему изобретению. Зонды либо может синтезировать специалист в данной области техники, либо их можно получить из соответствующих биологических препаратов. В целях определения молекулы-мишени можно разрабатывать специальные зонды с меткой, как описано в настоящей заявке. Примеры молекул, которые можно применять в качестве зондов, включают РНК, ДНК, белки, антитела и органические

мономеры, но не ограничиваются ими.

Аббревиатура «RECIST» расшифровывается как «Критерии Оценки Ответа при Солидных Опухолях» и означает опубликованный свод правил определения, когда состояние пациента с раком улучшилось (пациент «отвечает на лечение»), осталось

5 неизменным («стабилен») или ухудшилось («прогрессирование») в ходе лечения. Определение ответа на лечение согласно критериям RECIST было опубликовано, например, at Journal of the National Cancer Institute, Vol.92, No.3, Feb. 2, 2000, и критерии RECIST могут включать другие похожие опубликованные определения и установленные правила. Специалист в данной области техники должен понимать определения, установленные в критериях RECIST и применяемые в настоящей заявке, такие как «PR (частичная ремиссия)», «CR (полная ремиссия)», «SD (стабильное заболевание)» и «PD (прогрессирование заболевания)».

«Чувствительность», «отвечать» на лечение и другие формы данного слова, применяемые в настоящей заявке, относятся к реакции субъекта на лечение ингибиторами ALK. В качестве примера, субъект отвечает на лечение ингибиторами ALK, если рост опухоли замедляется приблизительно на 10%, приблизительно на 20%, приблизительно на 30%, приблизительно на 40%, приблизительно на 50%, приблизительно на 60%, приблизительно на 70%, приблизительно на 80%, приблизительно на 90% или более. Согласно другому примеру субъект отвечает на лечение ингибиторами ALK, если опухоль у субъекта сокращается приблизительно на 5%, приблизительно на 10%, приблизительно на 20%, приблизительно на 30%, приблизительно на 40%, приблизительно на 50% или более, что определяют по соответствующему показателю, например, по массе или по размеру. Согласно другому примеру субъект отвечает на лечение ингибиторами ALK, если продолжительность жизни указанного субъекта увеличивается приблизительно на 5%, приблизительно на 10%, приблизительно на 20%, приблизительно на 30%, приблизительно на 40%, приблизительно на 50% или более по сравнению с продолжительностью жизни, прогнозируемой в отсутствие лечения. Согласно еще одному примеру субъект отвечает на лечение ингибиторами ALK, если у указанного субъекта увеличивается выживаемость без признаков заболевания, общая выживаемость или увеличивается время до прогрессирования. Для определения, отвечает ли субъект на лечение, можно применять несколько способов, включая критерии RECIST, как было определено выше.

Термины «проба», «проба ткани», «проба пациента», «проба клеток или ткани пациента» или «образец» относятся к совокупности аналогичных клеток, полученных из ткани субъекта или пациента. Источником пробы ткани может быть паренхима из свежего, замороженного и/или законсервированного органа, проба ткани, биопсия или аспират; кровь или любые компоненты крови; жидкие среды организма, такие как спинномозговая жидкость, околоплодная жидкость, перитонеальная жидкость или интерстициальная жидкость; или клетки, отобранные на любой стадии беременности или развития субъекта. Указанная проба ткани может содержать соединения, которые в природе не примешиваются к ткани, такие как консерванты, антикоагулянты, буферы, фиксаторы, питательные вещества, антибиотики или подобные.

Количество маркера, например, экспрессия или число копий мутированных генов ALK и/или продуктов гена (например, маркеров описанных в Таблице 1), у субъекта «существенно» выше или ниже, чем нормальное количество маркера, если количество указанного маркера больше или меньше, соответственно, чем нормальный уровень на количество, превышающее стандартную ошибку способа анализа, применяемого для оценки количества, или по меньшей мере в два, по меньшей мере в три, по меньшей

мере в четыре, по меньшей мере в пять, по меньшей мере в десять или более раз превышает это количество. В качестве альтернативы, количество маркера у указанного субъекта может считаться «существенно» выше или ниже, чем нормальное количество, если указанное количество по меньшей мере в два, по меньшей мере в три, по меньшей мере в четыре или по меньшей мере в пять раз выше или ниже, нормального количества маркера, соответственно.

Применяемый в настоящей заявке термин «значимое явление» должен относиться к явлению в течении заболевания субъекта, которое важно по мнению специалиста в данной области техники. Примеры значимых явлений, например, включают, без ограничений, первичную диагностику, летальный исход, рецидив, определение того, что заболевание пациента метастазирует, обострение заболевания пациента или прогрессирование заболевания пациента из одной из вышеперечисленных стадий в другую. Значимым явлением может быть любое важное явление, применяемое для оценки OS, TTP и/или применения критериев RECIST или других критериев ответа по мнению специалиста в данной области техники.

Применяемые в настоящей заявке термины «субъект» и «пациент» взаимозаменяемы. Применяемые в настоящей заявке термины «субъект» и «субъекты» относятся к животному, например, млекопитающему, включая не приматов (например, корову, свинью, лошадь, осла, козу, верблюда, кошку, собаку, морскую свинку, крысу, мышь, овцу) и приматов (например, обезьяну, такую как яванский макак, горилла, шимпанзе и человека).

Применяемый в настоящей заявке термин «временной ход» должен относиться к количеству времени между начальным явлением и последующим явлением. Например, применительно к раку пациента, термин «временной ход» может относиться к заболеванию пациента, и его можно оценить путем отметки значимых явлений в течении указанного заболевания, причем первое явление может быть постановкой диагноза, а второе явление может быть, например, метастазированием.

Термин «время до прогрессирования» или «TTP» относится к времени, прошедшему от начала лечения до прогрессирования рака или момента оценки статуса. Оценка статуса может проходить вследствие окончания исследования или изменения режима лечения. Также время до прогрессирования может выражаться как вероятность, например, на кривой Каплана-Мейера, на которой время до прогрессирования может отражать вероятность того, что определенный период времени у пациента не будет прогрессирования, то время, которое пройдет между началом лечения и прогрессированием или оценкой статуса.

«Транскрибированный полинуклеотид» - это полинуклеотид (например, РНК, кДНК или аналог одной из РНК или кДНК), который комплементарен или гомологичен на всем протяжении или частично зрелой РНК, образованной при транскрипции маркера согласно настоящему изобретению и нормальной посттранскрипционной обработке транскрипта (например, сплайсинг), если таковая имеет место, и обратной транскрипции указанного транскрипта.

«Лечить», «лечение» и другие формы данного слова относятся к введению ингибитора ALK с целью предотвращения роста раковой опухоли, сокращения раковой опухоли в размере или по массе, увеличения ожидаемого времени выживания субъекта или времени до прогрессирования опухоли, или подобное.

Термины «низкая экспрессия» или «существенно сниженный уровень экспрессии, числа копий и/или активности» мутированных генов ALK и/или продуктов генов (например, маркеров, указанных в Таблице 1) относятся к уровню экспрессии или числу

копий в тестируемой пробе, которые отклоняются более чем на стандартную ошибку способа анализа, применяемого для оценки экспрессии или числа копий, например, по меньшей мере в два, по меньшей мере в три, по меньшей мере в четыре, по меньшей мере в пять или по меньшей мере в десять раз или более ниже, чем уровень экспрессии или число копий мутированных генов ALK и/или продуктов гена (например, маркеры, указанные в Таблице 1) в контрольном образце (например, в образце от здорового субъекта, не страдающего раковым заболеванием), или средний уровень экспрессии или число копий мутированного гена ALK и/или продуктов гена (например, маркеры, указанные в Таблице 1) для нескольких контрольных проб.

II. Примеры способов согласно настоящему изобретению

Настоящее изобретение, по меньшей мере частично, основано на идентификации специфических областей генома, включая, например, мутации в ALK, ассоциированной с прогнозированием эффективности ингибиторов ALK при лечении рака. Анализ экспрессии последовательностей гена ALK позволил идентифицировать новые мутации в полипептидах ALK (например, в биологических маркерах, приведенных в таблице 1, включая полипептиды EML4-ALK), которые могут придавать указанным полипептидам по меньшей мере частичную устойчивость к терапии ингибиторами ALK.

Соответственно, присутствие и/или отсутствие одного или более таких биологических маркеров в разных способах, описываемых в настоящей заявке, попадают в область настоящего изобретения.

Согласно некоторым вариантам реализации способы согласно настоящему изобретению можно применять для отслеживания прогрессирования рака у субъекта, причем, если в пробе, взятой у субъекта, присутствует одна или более мутантных форм ALK (например, мутантные формы EML4-ALK), идентифицируемых в настоящей заявке, во время прогрессирования рака, например, в первый момент времени и в последующие моменты времени, то указанное раковое заболевание с меньшей вероятностью отвечает на опосредованное ингибиторами ALK лечение, и наоборот. Согласно еще одному варианту реализации между первым моментом времени и каким-либо последующим моментом времени субъект подвергается лечению, например, химиотерапии, лучевой терапии, операции или любым другим терапевтическим процедурам, нужным для подавления рака, завершает лечение или входит в состояние ремиссии.

Как далее описано в настоящей заявке, один или более биологических маркеров согласно настоящему изобретению (например, мутированные ALK, включая мутированные EML4-ALK) можно специфически идентифицировать по наличию в геномной последовательности (например, в эмбриональной или соматической) при сравнении ее с эталонной последовательностью, такой как SEQ ID №1. Например, способы, описываемые в настоящей заявке, могут включать определение биологических маркеров согласно настоящему изобретению путем проведения реакции амплификации целевой нуклеиновой кислоты в отношении фрагмента секвенирования ДНК, содержащего одну или более мутаций, приведенных в таблице 1, и анализа амплифицированной целевой нуклеиновой кислоты на присутствие одной или более мутаций.

В технике известны разные способы амплификации нуклеиновых кислот, такие как ПЦР (полимеразная цепная реакция), описанная в Патенте США №4683195 (включен в настоящую заявку посредством ссылки). Патенте США №4683202 (включен в настоящую заявку посредством ссылки) и Патенте США №4800159 (включен в настоящую заявку посредством ссылки), а также ее альтернатива - ОТ-ПЦР (ПЦР с обратной транскрипцией), особенно в ее одностадийной форме, раскрываемой в Патенте

EP-B-0.569.272, ЛЦР (лигазная цепная реакция), которая описана, например, в заявке на патент EP-A-0.201.184, РЦР (репаративная цепная реакция), раскрываемая, например, в заявке на международный патент WO-A-90/01069 (включена в настоящую заявку посредством ссылки), 3SR (самоподдерживающаяся репликация последовательностей), описанная, например, в заявке на патент WO-A-90//06995 (включена в настоящую заявку посредством ссылки), NASBA (амплификация, основанная на последовательности нуклеиновых кислот), описанная, например, в EP-B-0.397.269 и в Патенте США №5 466586 (включены в настоящую заявку посредством ссылки), с применением в качестве матрицы двухцепочечной ДНК, и ТМА (опосредованная транскрипцией амплификация), описанная, например, в Патенте США №5399491 (включена в настоящую заявку посредством ссылки).

Определение присутствия одной или более мутаций в амплифицированном продукте можно проводить разными путями, которые хорошо известны в технике, такие как методы секвенирования ДНК, например, секвенирование по Сенгеру и глубокое секвенирование, применение рестриктаз, аллель-специфичная амплификация, ПЦР, опосредованная пептидами-нуклеиновыми кислотами (PNA-опосредованная), определение различий в конформации, такое как анализ одноцепочечного конформационного полиморфизма (SSCP) и денатурирующий градиентный гель-электрофорез (DGGE) с определением ступеней на мембранах (дот-блоттинг) с применением меченных олигонуклеотидных зондов, анализ с определением ступеней на титрационных микропланшетах, такой как обратная гибридизация, лигирование олигонуклеотидных зондов (OLA, MLPA), технология замены первого нуклеотида (FNC), технология перекрестных сшивок, ПЦР ускоренного цикла и одновременный флуоресцентный анализ (например, 5'-нуклеаза /Taqman) и ПЦР с последующим минисеквенированием с применением масс-спектрометрии или капиллярного электрофореза.

III. Примеры изолированных молекул нуклеиновых кислот

Один аспект настоящего изобретения относится к изолированным молекулам нуклеиновых кислот, которые соответствуют биологическому маркеру согласно настоящему изобретению, включая нуклеиновые кислоты, которые кодируют полипептид, соответствующему маркеру согласно настоящему изобретению или часть такого полипептида. Молекулы нуклеиновых кислот согласно настоящему изобретению включают те молекулы нуклеиновых кислот, которые принадлежат к геномным областям ALK или родственным ALK (например, эмбриональным и/или соматическим), идентифицированным в настоящей заявке, и/или кодируют полипептиды ALK или родственные ALK (например, EML4-ALK). Согласно некоторым вариантам реализации молекулы нуклеиновых кислот согласно настоящему изобретению содержат, по существу состоят или включают последовательности нуклеотидов, или их фрагменты, которые представлены в Таблице 1. Изолированные молекулы нуклеиновых кислот согласно настоящему изобретению также включают молекулы нуклеиновых кислот, которые соответствуют маркеру согласно настоящему изобретению, включая молекулы нуклеиновых кислот, которые кодируют полипептид, соответствующий маркеру согласно настоящему изобретению, и фрагменты молекул таких нуклеиновых кислот, например, подходящие для применения в качестве праймеров для ПЦР при амплификации или мутировании молекул нуклеиновых кислот. Предполагается, что применяемый в настоящей заявке термин «молекула нуклеиновой кислоты» включает молекулы ДНК (например, кДНК или геномную ДНК) и молекулы РНК (например, мРНК), а также аналоги ДНК и РНК, сгенерированные с применением аналогов

нуклеотидов. Указанная молекула нуклеиновой кислоты может быть одноцепочечной или двухцепочечной; согласно некоторым вариантам реализации молекула нуклеиновой кислоты представляет собой двухцепочечную ДНК.

Под «изолированной» молекулой нуклеиновой кислоты понимают молекулу, которая
 5 отделена от других молекул нуклеиновых кислот, присутствующих в природном источнике указанной молекулы нуклеиновой кислоты. Согласно некоторым вариантам реализации «изолированная» молекула нуклеиновой кислоты не содержит последовательностей (таких как последовательности, кодирующие белки), которые в естественных условиях фланкируют указанную нуклеиновую (например,
 10 последовательности, расположенные на 5' и 3'-концах указанной нуклеиновой кислоты) в геномной ДНК того организма, из которого получена указанная нуклеиновая кислота.

Например, согласно разным вариантам реализации изолированная молекула нуклеиновой кислоты может содержать менее чем приблизительно 5 кБ, менее чем приблизительно 4 кБ, менее чем приблизительно 3 кБ, менее чем приблизительно 2 кБ,
 15 менее чем приблизительно 1 кБ, менее чем приблизительно 0,5 кБ или менее чем приблизительно 0,1 кБ последовательностей нуклеотидов, которые в естественных условиях фланкируют указанную нуклеиновую кислоту в геномной ДНК клетки, из которой получена указанная нуклеиновая кислота. Кроме того, «изолированная» молекула нуклеиновой кислоты, такая как молекула кДНК, может по существу не
 20 содержать другого клеточного материала или питательной среды, когда ее получают при помощи рекомбинантных технологий, или по существу не содержать химических предшественников или других химических веществ, в случае, если ее получают в ходе химического синтеза.

Фраза «по существу не содержит клеточного материала или питательной среды»
 25 включает препараты молекулы нуклеиновой кислоты, в которых указанная молекула отделена от компонентов той клетки, из которой ее выделили или получили рекомбинантным способом. Так, молекула нуклеиновой кислоты, которая по существу не содержит клеточного материала, включает препараты молекулы нуклеиновой кислоты, в которых присутствует менее чем приблизительно 30%, менее чем
 30 приблизительно 20%, менее чем приблизительно 10% или менее чем приблизительно 5% (от сухого веса) клеточного материала или питательной среды.

Молекулу нуклеиновой кислоты согласно настоящему изобретению, например мутированные гены ALK, указанные в Таблице 1), можно выделять при помощи стандартных молекулярно-биологических способов и информации о
 35 последовательностях в базах данных, описываемых в настоящей заявке. При помощи всех или части таких последовательностей нуклеиновых кислот молекулы нуклеиновой кислоты согласно настоящему изобретению можно выделить посредством стандартных способов гибридизации и клонирования (например, как описано в Sambrook et al., ed., Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 2nd ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold
 40 Spring Harbor, NY, 1989).

Молекулу нуклеиновой кислоты согласно настоящему изобретению можно амплифицировать, применяя кДНК, мРНК или геномной ДНК (например, эмбриональной или соматической геномной ДНК) в качестве матрицы и соответствующие олигонуклеотидные праймеры в соответствии со стандартными
 45 способами ПЦР-амплификации. Амплифицированные таким образом молекулы нуклеиновых кислот можно клонировать в соответствующий вектор и охарактеризовать путем секвенирования ДНК. Кроме того, олигонуклеотиды, соответствующие всей молекуле нуклеиновой кислоты согласно настоящему изобретению или ее части, можно

получить при помощи стандартных способов синтеза, например, при помощи автоматического синтезатора ДНК.

Согласно другому варианту реализации изолированная молекула нуклеиновой кислоты согласно настоящему изобретению включает молекулу нуклеиновой кислоты, которая обладает последовательностью нуклеотидов, комплементарной последовательности нуклеотидов в нуклеиновой кислоте, соответствующей маркеру согласно настоящему изобретению, или последовательности нуклеотидов в нуклеиновой кислоте, кодирующей белок, который соответствует маркеру согласно настоящему изобретению. Молекула нуклеиновой кислоты, которая комплементарна данной последовательности нуклеотидов, - это молекула, которая комплементарна данной последовательности нуклеотидов в достаточной степени для того, чтобы она могла гибридизоваться в данную последовательность нуклеотидов, образовав при этом стабильный дуплекс.

Кроме того, молекула нуклеиновой кислоты согласно настоящему изобретению может содержать только часть последовательности нуклеиновой кислоты, причем полноразмерная последовательность нуклеиновой кислоты содержит маркер согласно настоящему изобретению или кодирует полипептид, соответствующий маркеру согласно настоящему изобретению. Такие молекулы нуклеиновых кислот можно применять, например, в качестве зонда или праймера. Зонд/праймер обычно применяют в форме одного или более по существу очищенных олигонуклеотидов. Обычно указанный олигонуклеотид включает область последовательности нуклеотидов, которая гибридизуется при строгих условиях с образованием по меньшей мере приблизительно 7, по меньшей мере приблизительно 8, по меньшей мере приблизительно 9, по меньшей мере приблизительно 10, по меньшей мере приблизительно 11, по меньшей мере приблизительно 12, по меньшей мере приблизительно 13, по меньшей мере приблизительно 14, по меньшей мере приблизительно 15, по меньшей мере приблизительно 16, по меньшей мере приблизительно 17, по меньшей мере приблизительно 18, по меньшей мере приблизительно 19, по меньшей мере приблизительно 20, по меньшей мере приблизительно 21, по меньшей мере приблизительно 22, по меньшей мере приблизительно 23, по меньшей мере приблизительно 24, по меньшей мере приблизительно 25, по меньшей мере приблизительно 26, по меньшей мере приблизительно 27, по меньшей мере приблизительно 28, по меньшей мере приблизительно 29, по меньшей мере приблизительно 30, по меньшей мере приблизительно 31, по меньшей мере приблизительно 32, по меньшей мере приблизительно 33, по меньшей мере приблизительно 34, по меньшей мере приблизительно 35, по меньшей мере приблизительно 36, по меньшей мере приблизительно 37, по меньшей мере приблизительно 38, по меньшей мере приблизительно 39, по меньшей мере приблизительно 40, по меньшей мере приблизительно 45, по меньшей мере приблизительно 50, по меньшей мере приблизительно 55 по меньшей мере приблизительно 60, по меньшей мере приблизительно 65, по меньшей мере приблизительно 70, по меньшей мере приблизительно 75, по меньшей мере приблизительно 80, по меньшей мере приблизительно 85, по меньшей мере приблизительно 90, по меньшей мере приблизительно 95, по меньшей мере приблизительно 100 или более идущих подряд нуклеотидов нуклеиновой кислоты согласно настоящему изобретению.

Зонды на основе последовательности молекулы нуклеиновой кислоты согласно настоящему изобретению можно применять для определения транскриптов или

геномных последовательностей, соответствующих одному или более маркеров согласно настоящему изобретению. Указанный зонд содержит группу-метку, с присоединенным к ней, например, радиоизотопом, флуоресцентным соединением, ферментом или кофактором фермента. Такие зонды можно применять как часть набора для

5 диагностического исследования, проводимого в целях идентификации клеток или тканей, у которых экспрессия указанного белка неадекватна, такого как измерение уровня молекулы нуклеиновой кислоты, кодирующей указанный белок в пробе клеток, взятой у субъекта, например, определение уровня мРНК или определение, был ли мутирован или делегирован ген, кодирующий указанный белок.

10 Также настоящее изобретение включает молекулы нуклеиновых кислот, которые по существу гомологичны мутантным генам ALK и/или продуктам таких генов (например, маркеры, указанные в Таблице 1) так, что они совпадают по меньшей мере на 60%, по меньшей мере на 65%, по меньшей мере на 70%, по меньшей мере на 75%, по меньшей мере на 80%, по меньшей мере на 85%, по меньшей мере на 86%, по меньшей мере на 87%, по меньшей мере на 88%, по меньшей мере на 89%, по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98%, по меньшей мере на 99%, по меньшей мере на 99,5% или более. Согласно другим вариантам реализации настоящее изобретение также

15 включает молекулы нуклеиновых кислот, которые по существу гомологичны мутантным генам ALK и/или продуктам таких генов (например, маркеры, указанные в Таблице 1) так, что они различаются всего лишь по меньшей мере на 1, по меньшей мере на 2, по меньшей мере на 3, по меньшей мере на 4, по меньшей мере на 5, по меньшей мере на 6, по меньшей мере на 7, по меньшей мере на 8, по меньшей мере на 9, по меньшей мере на 10, по меньшей мере на 11, по меньшей мере на 12, по меньшей мере на 13, по меньшей мере на 14, по меньшей мере на 15, по меньшей мере на 16, по меньшей мере на 17, по меньшей мере на 18, по меньшей мере на 19, по меньшей мере на 20, по меньшей мере на 21, по меньшей мере на 22, по меньшей мере на 23, по меньшей мере на 24, по меньшей мере на 25, по меньшей мере на 26, по меньшей мере на 27, по меньшей мере на 28, по меньшей мере на 29, по меньшей мере на 30, по меньшей мере на 31, по меньшей мере на 32, по меньшей мере на 33, по меньшей мере на 34, по меньшей мере на 35, по меньшей мере на 36, по меньшей мере на 37, по меньшей мере на 38, по меньшей мере на 39, по меньшей мере на 40, по меньшей мере на 45, по меньшей мере на 50, по меньшей мере на 55, по меньшей мере на 60, по меньшей мере на 65, по меньшей мере на 70, по меньшей мере на 75, по меньшей мере на 80, по меньшей мере на 85, по меньшей мере на 90, по меньшей мере на 95, по меньшей мере на 100 нуклеотидов или на любое число, попадающее в диапазон между ними.

Термин «однонуклеотидный полиморфизм» (SNP) относится к полиморфному сайту, занимаемому одним нуклеотидом, который представляет собой сайт различия между

40 последовательностями аллелей. Обычно впереди или позади указанного сайта идут высоко консервативные последовательности указанного аллеля (например, последовательности, которые варьируют менее чем у 1/100 или 1/1000 членов популяции). Обычно SNP возникает вследствие замены одного нуклеотида на другой в указанном полиморфном сайте. Также SNP могут возникать из-за делеции нуклеотида или вставки нуклеотида относительно эталонного аллеля. Обычно указанный полиморфный сайт занят основанием, отличным от эталонного основания. Например, если эталонный аллель содержит в полиморфном сайте основание «Т» (тимидин), измененный аллель может содержать в полиморфном сайте «С» (цитидин), «G» (гуанин) или «А» (аденин).

SNP могут возникать в кодирующих белки последовательностях нуклеиновых кислот, и в этом случае они могут приводить к образованию дефективного или другим образом измененного белка или генетического заболевания. Такие SNP могут изменять кодирующую последовательность указанного гена и, следовательно, задавать другую аминокислоту («миссенс» SNP), или SNP могут приводить к введению стоп-кодона («нонсенс» SNP). Когда SNP не приводит к изменению последовательности аминокислот в белке, такой SNP называют «молчащим». Также SNP могут возникать в некодирующих областях последовательности нуклеотидов. Это может приводить к экспрессии дефективного белка, например, в результате альтернативного сплайсинга, или это может не оказывать никакого действия на функцию белка.

Согласно другому варианту реализации изолированная молекула нуклеиновой кислоты согласно настоящему изобретению обладает длиной по меньшей мере 7, по меньшей мере 15, по меньшей мере 20, по меньшей мере 25, по меньшей мере 30, по меньшей мере 35, по меньшей мере 40, по меньшей мере 45, по меньшей мере 50, по меньшей мере 55, по меньшей мере 60, по меньшей мере 65, по меньшей мере 70, по меньшей мере 75, по меньшей мере 80, по меньшей мере 85, по меньшей мере 90, по меньшей мере 95, по меньшей мере 100, по меньшей мере 125, по меньшей мере 150, по меньшей мере 175, по меньшей мере 200, по меньшей мере 250, по меньшей мере 300, по меньшей мере 350, по меньшей мере 400, по меньшей мере 450, по меньшей мере 550, по меньшей мере 650, по меньшей мере 700, по меньшей мере 800, по меньшей мере 900, по меньшей мере 1000, по меньшей мере 1200, по меньшей мере 1400, по меньшей мере 1600, по меньшей мере 1800, по меньшей мере 2000, по меньшей мере 2200, по меньшей мере 2400, по меньшей мере 2600, по меньшей мере 2800, по меньшей мере 3000, по меньшей мере 3500, по меньшей мере 4000, по меньшей мере 4500 или более нуклеотидов и гибридизуется при строгих условиях с образованием молекулы нуклеиновой кислоты, соответствующей маркеру согласно настоящему изобретению или с образованием молекулы нуклеиновой кислоты, кодирующей белок, соответствующий маркеру согласно настоящему изобретению. Применяемый в настоящей заявке термин «гибридуется при строгих условиях» должен описывать условия гибридизации и отмывки, при которых последовательности нуклеотидов, идентичные друг другу по меньшей мере на 60%, по меньшей мере на 65%, по меньшей мере на 70%, по меньшей мере на 75%, по меньшей мере на 80%, или по меньшей мере на 85%, обычно гибридизуются друг с другом. Такие строгие условия известны специалистам в данной области техники, и их описание можно найти в разделах 6.3.1-6.3.6 Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons, N.Y. (1989). Другой неограничивающий пример строгих условий гибридизации включает гибридизацию в 6X хлориде натрия/цитрате натрия (SSC) приблизительно при 45°C, после которой проводят одну или более отмывок в 0.2X SSC, 0,1% додецилсульфата натрия (SDS) при 50-65°C.

Также настоящее изобретение включает молекулы нуклеиновых кислот молекулярных маяков, содержащие по меньшей мере одну область, которая комплементарна молекуле нуклеиновой кислоты согласно настоящему изобретению так, что указанный молекулярный маяк применим при количественном определении присутствия в пробе молекулы нуклеиновой кислоты согласно настоящему изобретению. Нуклеиновая кислота «молекулярного маяка» представляет собой молекулу нуклеиновой кислоты, содержащей пару комплементарных областей, а также флуорофор и тушитель флуоресценции, ассоциированные с ними. Указанные флуорофор и тушитель флуоресценции ассоциированы с разными областями указанной нуклеиновой кислоты в такой ориентации, что когда комплементарные области соединяются друг с другом,

флуоресценция указанного флуорофора подавляется указанным тушителем. Когда указанные комплементарные области молекул нуклеиновых кислот не соединяются друг с другом, флуоресценция указанного флуорофора подавляется указанным тушителем в меньшей степени. Молекулы нуклеиновых кислот молекулярного маяка описаны, например, в Патенте США 5876930 (включен в настоящую заявку посредством ссылки).

IV. Примеры изолированных белков и антител

Один аспект настоящего изобретения относится к изолированным белкам, которые соответствуют отдельным маркерам согласно настоящему изобретению, и биологически активным их частям. Согласно одному варианту реализации нативный полипептид, соответствующий маркеру, можно выделить из клеток или тканей посредством соответствующей схемы очистки с применением стандартных способов очистки белков. Согласно другому варианту реализации полипептиды, соответствующие маркеру согласно настоящему изобретению, получают при помощи технологий рекомбинантных ДНК. Как альтернатива рекомбинантной экспрессии, полипептид, соответствующий маркеру согласно настоящему изобретению, можно синтезировать химически с применением стандартных способов синтеза пептидов.

«Изолированный» или «очищенный» белок или биологически активная его часть по существу не содержит клеточного материала или других загрязняющих белков из клеток или ткани, из которых получают указанный белок, или по существу не содержит химических предшественников или других химических веществ в случае, если указанный белок синтезируют химически. Фраза «по существу не содержит клеточного материала» включает препараты белка, в которых указанный белок отделен от компонентов той клетки, из которой ее выделили или получили рекомбинантным способом. Так, белок, который по существу не содержит клеточного материала, включает препараты белка, в которых присутствует менее чем приблизительно 30%, менее чем приблизительно 20%, менее чем приблизительно 10% или менее чем приблизительно 5% (от сухого веса) гетерологичного белка (также называемого в настоящей заявке «загрязняющим белком»). Когда указанный белок или его биологически активную часть получают рекомбинантным способом, он может по существу не содержать питательной среды, т.е. питательная среда составляет менее чем приблизительно 20%, менее чем приблизительно 10% или менее чем приблизительно 5% от объема препарата указанного белка. Когда указанный белок получают в ходе химического синтеза, он может по существу не содержать химических предшественников или других химических веществ, т.е., он отделен от химических предшественников или других химических веществ, которые участвуют в синтезе указанного белка. Соответственно, такие препараты указанного белка содержат менее чем приблизительно 30%, менее чем приблизительно 20%, менее чем приблизительно 10%, менее чем приблизительно 5% (от сухого веса) химических предшественников или других соединений, отличных от рассматриваемого белка.

Биологически активные части полипептида, соответствующего маркеру согласно настоящему изобретению, включают полипептиды, содержащие последовательности аминокислот, в достаточной степени идентичные или полученные из последовательности аминокислот белка, соответствующего мутированным генам ALK и/или продуктам указанных генов (например, маркеры, указанные в Таблице 1) согласно настоящему изобретению, которые содержат меньше аминокислот, чем полноразмерный белок, и проявляют по меньшей мере один тип активности соответствующего полноразмерного белка. Обычно биологически активные части содержат домен или мотив по меньшей

мере с одним типом активности соответствующего полноразмерного белка.

Биологически активной частью белка согласно настоящему изобретению может быть полипептид, который, например, обладает длиной 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20,

21, 22, 23, 24, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 100 или более
 5 аминокислот. Кроме того, другие биологически активные части, в которых делегированы другие области указанного белка, можно получить посредством рекомбинантных способов и оценивать на присутствие одного или более типов функциональной активности, присущих нативной форме полипептида согласно настоящему изобретению.

Согласно некоторым вариантам реализации указанный полипептид обладает
 10 последовательностью аминокислот белка, кодируемого молекулой нуклеиновой кислоты, приведенной в Таблице 1. Другие применимые белки по существу идентичны (например, по меньшей мере на 60, по меньшей мере на 65, по меньшей мере на 70, по меньшей мере на 75, по меньшей мере на 80, по меньшей мере на 85, по меньшей мере на 86, по меньшей мере на 87, по меньшей мере на 88, по меньшей мере на 89, по меньшей мере на 90, по меньшей мере на 91, по меньшей мере на 92, по меньшей мере на 93, по
 15 меньшей мере на 94, по меньшей мере на 95, по меньшей мере на 96, по меньшей мере на 97, по меньшей мере на 98, по меньшей мере на 99, по меньшей мере на 99,5% или более одной из указанных последовательностей и сохраняют функциональную активность (например, придание устойчивости или чувствительности к ингибитору
 20 ALK) соответствующего полноразмерного белка, уже отличающегося по последовательности аминокислот.

Чтобы определить процент идентичности двух последовательностей аминокислот или двух нуклеиновых кислот, указанные последовательности выравнивают в целях оптимального сравнения (например, в первую последовательность аминокислот или
 25 нуклеиновую кислоту можно ввести пропуски для оптимального выравнивания со второй последовательностью аминокислот или нуклеиновой кислотой). Затем сравнивают остатки аминокислот или нуклеотиды в соответствующих положениях аминокислот или нуклеотидов. Если положение в первой последовательности занято остатком той же аминокислоты или тем же нуклеотидом, что и соответствующее
 30 положение во второй последовательности, значит указанные молекулы идентичны по данному положению. Процент идентичности между двумя последовательностями является функцией от числа положений, идентичных для указанных последовательностей (т.е., % идентичности = число идентичных положений/общее число положений (т.е., перекрывающихся положений) × 100). Согласно одному варианту реализации две
 35 указанные последовательности имеют одинаковую длину.

Определение процента идентичности между двумя последовательностями может сопровождаться применением математического алгоритма. Другой, неограничивающий, пример математического алгоритма, применяемого при сравнении двух
 последовательностей, - это алгоритм Karlin and Altschul (1990) Proc. Natl. Acad. Sci. USA
 40 87:2264-2268, модифицированный Karlin and Altschul (1993) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90: 5873-5877. Такой алгоритм включен в программы NBLAST и XBLAST, созданные Altschul, et al. (1990) J. Mol. Biol. 215:403-410. Поиск нуклеотидов посредством BLAST (средство поиска основного локального выравнивания) можно проводить в программе NBLAST, показатель = 100, длина слова = 12, для получения последовательности
 45 нуклеотидов, гомологичной молекулам нуклеиновых кислот согласно настоящему изобретению. Поиск белка посредством BLAST можно проводить в программе XBLAST, показатель = 50, длина слова = 3, для получения последовательностей аминокислот, гомологичных молекулам белка согласно настоящему изобретению. Чтобы добиться

выравнивания последовательностей с пропусками в целях их сравнения можно применять BLAST с пропусками, как описано у Altschul et al. (1997) *Nucleic Acids Res.* 25:3389-3402. В качестве альтернативы, можно применять PSI-Blast для проведения итерационного поиска, который позволяет выявить отдаленные взаимодействия между молекулами.

- 5 В случае применения программ BLAST, BLAST с пропусками и PSI-Blast можно использовать параметры по умолчанию соответствующих программ (например, XBLAST и NBLAST) (см. интернет-сайт NCBI на международном сайте ncbi.nlm.nih.gov). Другой неограничивающий пример математического алгоритма, применяемого для сравнения последовательностей - это алгоритм Myers и Miller, (1988) *Comput Appl Biosci*, 4:11-7.
- 10 Такой алгоритм включен в программу ALIGN (версия 2.0), которая является частью программного пакета для выравнивания GCG. При применении программы ALIGN для сравнения последовательностей аминокислот можно пользоваться таблицей весов остатков РАМ 120, штраф за удлинение пропуска 12 и штраф за удлинение пропуска 4. Еще одним полезным алгоритмом для идентификации областей локального сходства
- 15 последовательностей и выравнивания является алгоритм FASTA, описанный у Pearson and Lipman (1988) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 85:2444-2448. При применении алгоритма FASTA для сравнения последовательностей нуклеотидов или аминокислот можно пользоваться, например, таблицей весов остатков РАМ 120 со значением k-строки 2.

- Процент идентичности между двумя последовательностями можно определять с
- 20 применением способов, аналогичных тем, которые были описаны выше, допускающих или не допускающих пропуски. При расчете идентичности подсчитывается только полное соответствие.

- Изолированный полипептид, соответствующий маркеру согласно настоящему изобретению или фрагменту такого маркера, можно применять в качестве иммуногена
- 25 для генерирования антител при помощи стандартных способов получения поликлональных и моноклональных антител. Можно применять полноразмерный полипептид или белок, или, в качестве альтернативы, согласно настоящему изобретению предложены антигенные пептидные фрагменты для применения в качестве иммуногенов. Антигенный пептид в белке согласно настоящему изобретению включает по меньшей
- 30 мере 8 (или по меньшей мере 10, по меньшей мере 15, по меньшей мере 20 или по меньшей мере 30 или более) остатков аминокислот из последовательности аминокислот одного из полипептидов согласно настоящему изобретению, и включает в себе эпитоп указанного белка, такой что антитело на указанный пептид образует специфический иммунный комплекс с маркером согласно настоящему изобретению, которому
- 35 соответствует указанный белок. К примерам эпитопов, включенных в состав антигенного пептида, можно отнести области, которые расположены на поверхности белка, например, гидрофильные области. Для идентификации гидрофильных областей можно применять анализ гидрофобности последовательностей, анализ гидрофильности последовательностей или сходные виды анализа.

- 40 Иммуноген обычно применяют для получения антител посредством иммунизации подходящего (например, иммунокомпетентного) субъекта, такого как кролик, коза, мышь или другое млекопитающее или позвоночное животное. Соответствующий иммуногенный препарат может содержать, например, экспрессированный рекомбинантным способом или химически синтезированный полипептид. Также
- 45 указанный препарат может включать адъювант, такой как полный или неполный адъювант Фрейнда, или аналогичный иммуностимулирующий агент.

Соответственно, другой аспект настоящего изобретения относится к антителам против полипептида согласно настоящему изобретению. Применяемые в настоящей

заявке термины «антитело» и «вещество антитела» взаимозаменяемы и относятся к молекулам иммуноглобулинов и иммунологически активным частям молекул иммуноглобулинов, т.е., молекулам, которые содержат антиген-связывающий сайт, который специфически связывается с антигеном, такой как полипептид согласно
 5 настоящему изобретению. Молекула, которая специфически связывается с данным полипептидом согласно настоящему изобретению, - это молекула, которая связывается с полипептидом, но по существу не связывается с другими молекулами в пробе, например, биологической пробе, которая по природе содержит указанный полипептид. Примеры иммунологически активных частей молекул иммуноглобулина включают
 10 фрагменты F(ab) и F(ab')₂, которые можно генерировать посредством обработки антитела таким ферментом, как пепсин. Согласно настоящему изобретению предложены поликлональные и моноклональные антитела. Применяемый в настоящей заявке термин «моноклональное антитело» или «композиция моноклональных антител» относится к популяции молекул антител, которые содержат антиген-связывающий сайт только
 15 одного вида, способный иммунологически реагировать с конкретным эпитопом.

Поликлональные антитела можно получить, как описано выше, путем иммунизации подходящего субъекта полипептидом согласно настоящему изобретению в качестве иммуногена. Титр указанного антитела у иммунизированного субъекта можно
 20 отслеживать во времени при помощи стандартных способов, таких как твердофазный иммуноферментный анализ (ELISA) с применением иммобилизованного полипептида. При желании молекулы антител можно выделить или изолировать из организма указанного субъекта (например, из крови или сыворотки указанного субъекта) и подвергнуть дальнейшей очистке посредством хорошо известных способов, таких как
 25 хроматография с белком А, для получения фракции IgG. Через соответствующее время после иммунизации, например, когда титр специфического антитела будет максимален, у указанного субъекта можно выделить антителообразующие клетки и применить их для получения моноклональных антител при помощи стандартных способов, таких как технология гибридом, первоначально описанная у Kohler and Milstein (1975) Nature
 30 256:495-497, технология В-клеточных гибридом (см. Kozbor et al., 1983, Immunol. Today 4:72), технология EBV-клеточных гибридом (см. Cole et al., pp.77-96 In Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy, Alan R. Liss, Inc., 1985) или технология триом. Технология получения гибридом хорошо известна (для общей информации см. Current Protocols in Immunology, Coligan et al. ed., John Wiley & Sons, New York, 1994). Клетки-гибридомы, вырабатывающие моноклональные антитела согласно настоящему изобретению,
 35 определяют путем скрининга надосадочной жидкости культуры гибридом на присутствие антител, которые связываются с рассматриваемым полипептидом, например посредством стандартного анализа ELISA.

Как альтернатива получению секретирующих моноклональные антитела гибридом, моноклональное антитело к полипептиду согласно настоящему изобретению можно
 40 идентифицировать и выделить посредством скрининга в библиотеке рекомбинантных комбинаторных иммуноглобулинов (например, библиотека фагового дисплея антител) с рассматриваемым полипептидом. Наборы для генерирования и скрининга в библиотеках фагового дисплея есть в продаже (например, система рекомбинантных антител фагов «Pharmacia», каталожный №27-9400-01; и набор фагового дисплея SurfZAP
 45 «Stratagene», каталожный №240612). Кроме того, примеры способов и реагентов, особенно полезных для генерирования и скрининга библиотеки дисплея антител можно найти, например, в Патенте США №5 223 409 (включен посредством ссылки); Публикации PCT № WO 92/18619 (включена посредством ссылки); Публикации PCT

№ WO 91/17271 (включена посредством ссылки); PCT Publication No. WO 92/20791 (включена посредством ссылки); Публикации PCT № WO 92/15679 (включена посредством ссылки); Публикации PCT № WO 93/01288 (включена посредством ссылки); Публикации PCT № WO 92/01047 (включена посредством ссылки); Публикации PCT № WO 92/09690 (включена посредством ссылки); Публикации PCT № WO 90/02809 (включена посредством ссылки); Fuchs et al. (1991) Bio/Technology 9:1370-1372; Hay et al. (1992) Hum. Antibod. Hybridomas 3:81-85; Huse et al. (1989) Science 246:1275-1281; Griffiths et al. (1993) EMBO J. 12:725-734.

Кроме того, рекомбинантные антитела, такие как химерные и гуманизированные моноклональные антитела, содержащие и часть человеческого, и часть нечеловеческого антитела, которые можно получить при помощи стандартных технологий рекомбинантных ДНК, входят в область настоящего изобретения. Такие химерные и гуманизированные моноклональные антитела можно получить при помощи технологий рекомбинантных ДНК, известных в технике, например, с применением способов, описанных в Публикации PCT № WO 87/02671 (включена посредством ссылки); заявке на Европейский патент 184,187; заявке на Европейский патент 171,496; заявке на Европейский патент 173,494; PCT Publication No. WO 86/01533 (включена посредством ссылки); Патент США №4816 567 (включена посредством ссылки); заявке на Европейский патент 125,023; Better et al. (1988) Science 240:1041-1043; Liu et al. (1987) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 84:3439-3443; Liu et al. (1987) J. Immunol. 139:3521-3526; Sun et al. (1987) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 84:214-218; Nishimura et al. (1987) Cancer Res. 47:999-1005; Wood et al. (1985) Nature 314:446-449; and Shaw et al. (1988) J. Natl. Cancer Inst. 80:1553-1559; Morrison (1985) Science 229:1202-1207; Oi et al. (1986) Bio/Techniques 4:214; U.S. Patent 5,225,539 (incorporated by reference); Jones et al. (1986) Nature 321:552-525; Verhoeyan et al. (1988) Science 239:1534; и Beidler et al. (1988) J. Immunol. 141:4053-4060.

Полностью человеческие антитела особенно желательны для терапевтического применения у людей. Такие антитела можно получить посредством применения трансгенных мышей, которые не способны к экспрессии генов тяжелой и легкой цепи эндогенных иммуноглобулинов, но которые могут экспрессировать продукт генов тяжелой и легкой цепи человека. Указанных трансгенных мышей иммунизируют обычным способом выбранным антигеном, например, полным или частью полипептида, соответствующего маркеру согласно настоящему изобретению. Моноклональные антитела к указанному антигену можно получить при помощи стандартной технологии гибридом. Трансгены иммуноглобулинов человека, находящиеся в организме трансгенных мышей, перестраиваются в ходе дифференцировки В-клеток, и впоследствии подвергаются переключению изотипов и соматической мутации. Так, при помощи такой технологии, можно получать применимые для терапевтических целей антитела типа IgG, IgA и IgE. Для обзора по указанной технологии получения антител см. Lonberg and Huszar (1995) Int. Rev. Immunol. 13:65-93. Более подробное обсуждение технологии получения антител человека и моноклональных антител человека, а также протоколы получения таких антител, можно найти, например, в Патенте США 5625126 (включен посредством ссылки); Патенте США 5633425 (включен посредством ссылки); Патенте США 5569825 (включен посредством ссылки); Патенте США 5661016 (включен посредством ссылки); и в Патенте США 5545806 (включен посредством ссылки). Кроме того, такие компании как «Abgenix, Inc.» (Фримонт, Калифорния) могут поставлять антитела человека к избранному антигену, получая их при помощи технологий, аналогичным тем, что описаны выше.

Полностью человеческие антитела, которые распознают избранный эпитоп, можно

сгенерировать при помощи технологии, называемой «направленной селекцией». При указанном подходе избранное нечеловеческое моноклональное антитело, например, антитело мыши, применяют для управления селекцией полностью человеческого антитела, распознающего тот же эпитоп (Jespers et al., 1994, Biotechnology 12:899-903).

5 Антитело к полипептиду, соответствующему маркеру согласно настоящему изобретению (например, моноклональное антитело), можно применять для выделения указанного полипептида при помощи стандартных технологий, таких как аффинная хроматография или иммунопреципитация. Кроме того, такое антитело можно применять для выявления маркера (например, в лизате клеток или надосадочной жидкости культуры
10 клеток) в целях оценки уровня и характера экспрессии указанного маркера. Также указанные антитела можно применять для отслеживания уровня белка в тканях или жидких средах организма (например, в жидкой среде организма, содержащей клетки опухоли), как часть процедуры клинической диагностики, например, для определения эффективности данного режима лечения. Определение можно облегчить путем
15 присоединения указанного антитела к детектируемому веществу. Примеры детектируемых веществ включают, без ограничений, разные ферменты, простетические группы, флуоресцентные материалы, люминесцентные материалы, биолюминесцентные материалы и радиоактивные материалы. Примеры подходящих ферментов включают, без ограничений, пероксидазу хрена, щелочную фосфатазу, β -галактозидазу или
20 ацетилхолинэстеразу; примеры подходящих комплексов простетических групп включают, без ограничений, стрептавидин/биотин и авидин/биотин; примеры подходящих флуоресцентных материалов включают, без ограничений, умбеллиферон, флуоресцеин, флуоресцеина изотиоцианат, родамин, дихлортриазиниламин флуоресцеин, дансил хлорид или фикоэритин; примеры люминесцентных материалов включают, без
25 ограничений, люциферазу, люциферин и акварин, а примеры соответствующих радиоактивных материалов включают, без ограничений, ^{125}I , ^{131}I , ^{35}S или ^3H .

V. Примеры рекомбинантных векторов экспрессии и клеток-хозяев

Еще один аспект настоящего изобретения относится к векторам, таким как векторы экспрессии, содержащим нуклеиновую кислоту, кодирующую полипептид,
30 соответствующий маркеру согласно настоящему изобретению (или часть такого полипептида). Применяемый в настоящей заявке термин «вектор» относится к молекуле нуклеиновой кислоты, способной транспортировать другую нуклеиновую кислоту, к которой она была присоединена. Одним типом вектора является «плазмида», которая представляет собой кольцевую двухцепочечную петлю ДНК, в которую могут быть
35 вшиты дополнительные сегменты ДНК. Другим типом вектора является вирусный вектор, причем в геном вируса могут быть вшиты дополнительные сегменты ДНК. Определенные векторы способны к автономной репликации в клетке-хозяине, в которую их вводят (например, бактериальные векторы, обладающие бактериальной точкой
40 начала репликации и эпизомные векторы млекопитающих). Другие векторы (например, неэпизомные векторы млекопитающих) интегрируются в геном клетки-хозяина при их введении в указанную клетку-хозяина, и посредством этого реплицируются вместе с геномом хозяина. Кроме того, определенные векторы, а именно векторы экспрессии, способны управлять экспрессией генов, с которыми они функционально связаны. В
45 целом, векторы экспрессии, применимые при реализации технологии рекомбинантных ДНК, часто находятся в форме плазмид (векторов). Однако, предполагается, что настоящее изобретение включает такие другие формы векторов экспрессии, как вирусные векторы (например, ретровирусы, аденовирусы и адено-ассоциированные вирусы с дефектной репликацией), которые выполняют эквивалентную функцию.

Рекомбинантные векторы экспрессии согласно настоящему изобретению содержат нуклеиновую кислоту согласно настоящему изобретению в форме, пригодной для экспрессии указанной нуклеиновой кислоты в клетке-хозяине. Это означает, что указанные рекомбинантные векторы экспрессии включают одну или более регуляторных последовательностей, выбираемых в зависимости от клетки-хозяина, которую будут применять для экспрессии, функционально связанные с последовательностью нуклеиновой кислоты, которую требуется экспрессировать. Применительно к рекомбинантному вектору экспрессии фраза «функционально связан» должна означать, что рассматриваемая последовательность нуклеотидов связана с регуляторной последовательностью (последовательностями) таким образом, что возможна экспрессия указанной последовательности нуклеотидов (например, в системе транскрипции/трансляции *in vitro* или в клетке-хозяине, когда указанный вектор вводят в клетку-хозяина). Термин «регуляторная последовательность» должен включать промоторы, энхансеры и другие элементы, контролирующие экспрессию (например, сигналы полиаденилирования). Такие регуляторные последовательности описаны, например, у Goeddel, *Methods in Enzymology: Gene Expression Technology* vol.185, Academic Press, San Diego, CA (1991). Регуляторные последовательности включают последовательности, которые управляют конститутивной экспрессией последовательности нуклеотидов в клетках-хозяевах многих типов, и последовательности, которые управляют экспрессией последовательности нуклеотидов только в определенных клетках-хозяевах (например, тканеспецифичные регуляторные последовательности). Специалист в данной области техники должен понимать, что дизайн вектора экспрессии может зависеть от таких факторов, как выбор клетки-хозяина, которую будут трансформировать, желаемый уровень экспрессии белка и подобные. Векторы экспрессии согласно настоящему изобретению можно вводить в клетки-хозяева для получения белков или пептидов, включая гибридные белки или пептиды, кодируемые нуклеиновыми кислотами, описываемыми в настоящей заявке.

Можно сконструировать рекомбинантные вектора экспрессии согласно настоящему изобретению для экспрессии полипептида, соответствующего маркеру согласно настоящему изобретению, в клетках прокариот (например, *E. coli*) или эукариот (например, клеток насекомых {с применением векторов экспрессии на основе бакуловируса}, клеток дрожжей или клеток млекопитающих). Подходящие клетки-хозяева также обсуждаются в Goeddel, выше. В качестве альтернативы, рекомбинантный вектор экспрессии можно транскрибировать и транслировать *in vitro*, например, при помощи регуляторной последовательности промотора T7 и полимеразы T7.

Экспрессию белков прокариот чаще всего осуществляют в клетках *E.coli* с применением векторов экспрессии, содержащих конститутивные или индуцибельные промоторы, управляющие экспрессией либо гибридных, либо негибридных белков. Вектора для гибридных белков добавляют несколько аминокислот к белку, кодируемому им, обычно к N-концу указанного гибридного белка. Такие векторы для гибридных белков обычно служат для трех целей: 1) повысить экспрессию рекомбинантного белка; 2) повысить растворимость указанного рекомбинантного белка; и 3) облегчить очистку указанного рекомбинантного белка, выступая как лиганд при аффинной очистке. Часто в векторах экспрессии гибридных белков сайт протеолитического расщепления вводят в место соединения гибридного компонента и рекомбинантного белка, чтобы в дальнейшем сделать возможным разделение рекомбинантного белка и гибридного компонента при очистке гибридного белка. Такие ферменты и их последовательности когнатного распознавания включают Фактор Ха, тромбин и энтерокиназу. Типичные

векторы экспрессии гибридных белков включают pGEX («Pharmacia Biotech Inc»; Smith and Johnson, 1988, Gene 67:31-40), pMAL («New England Biolabs», Бевэрли, Массачусетс) и pRIT5 («Pharmacia», Пискатавэй, Нью-Джерси), которые объединяют глутатион-S-трансферазу (GST), Мальтоза-Е-связывающий белок или белок А, соответственно, с

целевым рекомбинантным белком.

Примеры подходящих индуцибельных векторов экспрессии не-гибридных белков в клетках E.coli включают pTrc (Amann et al., 1988, Gene 69:301-315) и pET 1 Id (Studier et al., p.60-89, In Gene Expression Technology: Methods in Enzymology vol.185. Academic Press, San Diego, CA, 1991). Экспрессия целевого гена с вектора pTrc основана на транскрипции РНК-полимеразы хозяина с гибридного промотора trp-lac. Экспрессия целевого гена с вектора pET lid основана на транскрипции с гибридного промотора T7 gn10-lac, опосредуемой экспрессируемой параллельно вирусной РНК-полимеразой (T7 gn1). Указанная вирусная полимераза поставляется штаммами хозяина BL21 (DE3) или HMS174(DE3) из «резидентного» профага, содержащего ген T7 gnl под транскрипционным контролем промотора lacUV 5.

Одна из стратегий по максимизации экспрессии рекомбинантного белка в клетках E. Coli, состоит в том, чтобы экспрессировать белок в бактерии-хозяине со сниженной способностью к протеолитическому расщеплению рекомбинантного белка (Gottesman, p.119-128, In Gene Expression Technology: Methods in Enzymology vol.185, Academic Press, San Diego, CA, 1990). Другая стратегия состоит в том, чтобы изменить последовательность нуклеиновой кислоты, которую планируется ввести в вектор экспрессии, так, чтобы индивидуальные кодоны для каждой аминокислоты могли быть такими, какие использует E.coli (Wada et al., 1992, Nucleic Acids Res. 20:2111-2118). Такое изменение последовательностей нуклеиновых кислот согласно настоящему изобретению можно осуществить при помощи стандартных технологий синтеза ДНК.

Согласно другому варианту реализации вектором экспрессии является вектор экспрессии для клеток дрожжей. Примеры векторов для экспрессии у дрожжей S. cerevisiae включают pYerSec1 (Baldari et al., 1987, EMBO J. 6:229-234), pMFa (Kurjan and Herskowitz, 1982, Cell 30:933-943), pJRY88 (Schultz et al., 1987, Gene 54:113-123), pYES2 («Invitrogen Corporation», Сан-Диего, Калифорния) и pPicZ («Invitrogen Corporation», Сан-Диего, Калифорния).

В качестве альтернативы вектором экспрессии является вектор экспрессии на основе бакуловируса. Имеются векторы на основе бакуловируса для экспрессии белков в культуре клеток насекомых (например, клетки Sf 9), и они включают серии pAc (Smith et al., 1983, Mol. Cell Biol. 3:2156-2165) и серии pVL (Lucklow and Summers, 1989, Virology 170:31-39).

Согласно еще одному варианту реализации нуклеиновую кислоту согласно настоящему изобретению экспрессируют в клетках млекопитающих при помощи вектора экспрессии для клеток млекопитающих. Примеры векторов экспрессии для клеток млекопитающих включают pCDM8 (Seed, 1987, Nature 329:840) и pMT2PC (Kaufman et al., 1987, EMBO J. 6:187-195). При применении в клетках млекопитающих регуляторные функции указанных векторов экспрессии обеспечиваются вирусными регуляторными элементами. Например, часто применяемые промоторы получают из вируса полиомы, аденовируса 2, цитомегаловируса и вируса обезьян 40. Информацию о других подходящих системах экспрессии для клеток и прокариот, и эукариот можно найти в главах 16 и 17 Sambrook et al., выше.

Согласно еще одному варианту реализации рекомбинантный вектор экспрессии для клеток млекопитающих способен к управляемой экспрессии указанной нуклеиновой

кислоты в конкретном типе клеток (например, для экспрессии указанной нуклеиновой кислоты применяют тканеспецифичные регуляторные элементы). Тканеспецифичные регуляторные элементы известны в технике. Неограничивающие примеры подходящих тканеспецифичных промоторов включают промотор альбумина (специфичный для

5 печени; Pinkert et al., 1987, *Genes Dev.* 1:268-277), промоторы, специфичные для лимфоидной ткани (Calame and Eaton, 1988, *Adv. Immunol.* 43:235-275), такие как промоторы рецепторов Т-клеток (Winoto and Baltimore, 1989, *EMBO J.* 8:729-733) и иммуноглобулинов (Banerji et al., 1983, *Cell* 33:729-740; Queen and Baltimore, 1983, *Cell* 33:741-748), нейрон-специфичные промоторы (e.g., например, промотор

10 нейрофиламентов; Byme and Ruddle, 1989, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 86:5473-5477), промоторы, специфичные для поджелудочной железы (Ediund et al., 1985, *Science* 230: 912-916) и промоторы, специфичные для молочных желез (например, промотор молочной сыворотки, Патент США №4873316 (включен в настоящую заявку посредством ссылки) и Заявка на Европейский патент №264166). Также рассматриваются промоторы,

15 регулируемые стадиями развития, например, *hox*-промоторы мыши (Kessel and Gruss, 1990, *Science* 249:374-379) и промоторы α -фетопротеина (Camper and Tilghman, 1989, *Genes Dev.* 3:537-546).

Также согласно настоящему изобретению предложен рекомбинантный вектор экспрессии, содержащий молекулу ДНК согласно настоящему изобретению,

20 клонированную в указанный вектор экспрессии в антисмысловой ориентации. То есть, указанная молекула ДНК функционально связана с регуляторной последовательностью таким образом, чтобы была возможна экспрессия (путем транскрипции указанной молекулы ДНК) молекулы РНК, которая является антисмысловой к мРНК, кодирующей полипептид согласно настоящему изобретению. Можно выбрать регуляторные

25 последовательности, функционально связанные с нуклеиновой кислотой, клонированной в антисмысловой ориентации, которые регулируют непрерывную экспрессию молекулы указанной антисмысловой РНК в разных типах клеток, например, промоторы и/или энхансеры вирусов, или можно выбрать регуляторные последовательности, которые регулируют конститутивную, тканеспецифичную или специфичную для типа клеток

30 экспрессию антисмысловой РНК. Вектор экспрессии антисмысловой нуклеиновой кислоты может быть в форме рекомбинантной плазмиды, фагмиды или ослабленного вируса, в которых антисмысловые нуклеиновые кислоты образуются под контролем высокоэффективной регуляторной области, активность которой может определяться в зависимости от типа клеток, в которые вводят указанный вектор. Обсуждение

35 регуляции экспрессии генов при помощи антисмысловых генов можно найти в Weintraub et al., 1986, *Trends in Genetics*, Vol.1(1).

Еще один аспект настоящего изобретения относится к клеткам-хозяевам, в которые вводят рекомбинантный вектор экспрессии согласно настоящему изобретению. В

40 настоящей заявке термины «клетка-хозяин» и «рекомбинантная клетка-хозяин» применяют взаимозаменяемо. Следует понимать, что такие термины относятся не только к клеткам конкретных субъектов, но и к потомству или потенциальному потомству таких клеток. Поскольку в последующих поколениях могут возникать определенные модификации либо вследствие мутаций, либо вследствие влияния окружающей среды, такое потомство может фактически не быть идентичным

45 родительским клеткам, тем не менее, они включены в указанный термин, когда его применяют в настоящей заявке.

Клеткой-хозяином может быть любая клетка прокариот (например, *E.coli*) или эукариот (например, клетки насекомых, дрожжей или млекопитающих).

ДНК-вектор можно ввести в клетки прокариот или эукариот посредством традиционных способов трансформации или трансфекции. В настоящей заявке термины «трансформация» и «трансфекция» должны относиться к целому ряду принятых в данной области техники технологий для введения чужеродной нуклеиновой кислоты в клетку-хозяина, включая совместное осаждение с фосфатом кальция или хлоридом кальция, диэтиламиноэтил-декстран-опосредованную трансфекцию, липофекцию или электропорацию. Подходящие способы трансформации или трансфекции клеток-хозяев можно найти в Sambrook, et al. (выше), и в других лабораторных руководствах.

Известно, что для стабильной трансфекции в клетках млекопитающих, в зависимости от применяемых вектора экспрессии и технологии трансфекции, только небольшой процент клеток может интегрировать чужеродную ДНК в свой геном. Чтобы идентифицировать и отобрать такие интегранты, обычно в клетку-хозяина вводят ген, кодирующий селективируемый маркер (например, для устойчивости к антибиотикам) вместе с рассматриваемым геном. Примеры селективируемых маркеров включают маркеры, которые придают устойчивость к лекарственным препаратам, таким как G418, гигромицин и метотрексат. Клетки, стабильно трансфецированные введенной нуклеиновой кислотой, можно идентифицировать посредством селекции на лекарственном препарате (например, клетки, у которых вошел в строение ген селективируемого маркера, будут выживать, а другие клетки погибнут).

Клетку-хозяина согласно настоящему изобретению, такую как прокариотическая или эукариотическая клетка-хозяина в культуре, можно применять для получения полипептида, соответствующего маркеру согласно настоящему изобретению. Соответственно, согласно настоящему изобретению также предложены способы получения полипептида, соответствующего маркеру согласно настоящему изобретению, с применением клетки-хозяина согласно настоящему изобретению. Согласно одному варианту реализации указанный способ включает культивирование клетки-хозяина согласно настоящему изобретению (в которую был введен рекомбинантный вектор экспрессии, кодирующий полипептид согласно настоящему изобретению) в подходящей среде такой, чтобы получить указанный маркер. Согласно другому варианту реализации указанный способ также включает выделение указанного полипептида-маркера из указанной среды или клетки-хозяина.

Клетки-хозяева согласно настоящему изобретению также можно применять для получения трансгенных животных, отличных от людей. Например, согласно одному варианту реализации клеткой-хозяином согласно настоящему изобретению является оплодотворенный ооцит или эмбриональная стволовая клетка, в которую была введена последовательность, кодирующая полипептид, соответствующий маркеру согласно настоящему изобретению. Затем такие клетки-хозяева можно применять для создания трансгенных животных, отличных от людей, у которых в геном будет введена экзогенная последовательность, кодирующая белок-маркер согласно настоящему изобретению, или гомологичных рекомбинантных животных, у которых эндогенный ген (гены), кодирующий полипептид, соответствующий маркеру согласно настоящему изобретению, будет изменен. Такие животные применимы для изучения функции и/или активности полипептида, соответствующего маркеру согласно настоящему изобретению, для идентификации и/или оценки модуляторов полипептида, соответствующего маркеру согласно настоящему изобретению, а также для доклинических исследований терапевтических или диагностических молекул, для открытия или оценки маркеров, например, открытия или оценки терапевтических или диагностических маркеров, или в качестве имитаторов для оценки эффективности и специфичности.

В настоящей заявке термин «трансгенное животное» относится к отличному от человека животному, такому как грызун, например, крыса или мышь, причем одна или более клеток указанного животного содержит трансген. Другие примеры трансгенных животных включают низших приматов, овец, собак, коров, коз, куриц, амфибий и др.

Трансген - это экзогенная ДНК, которая интегрирована в геном клетки, из которой развивается трансгенное животное, и которая сохраняется в геноме зрелого животного, управляя экспрессией кодируемого указанным геном продукта в одном или нескольких типах клеток или тканей указанного трансгенного животного. В настоящей заявке термин «гомологичное рекомбинантное животное» относится к животному, отличному от человека, такому как млекопитающее, например, мышь, у которого эндогенный ген был изменен посредством гомологичной рекомбинации между эндогенным геном и молекулой экзогенной ДНК, введенной в клетку указанного животного, например, эмбриональную клетку указанного животного, перед развитием этого животного. Также в понятие «трансгенные животные» входят трансгенные животные, такие как описаны, например, у Chan I.T., et al. (2004) J Clin Invest. 113(4):528-38 and Chin L. et al (1999) Nature 400(6743):468-72.

Трансгенное животное согласно настоящему изобретению можно получить путем введения нуклеиновой кислоты, кодирующей полипептид, соответствующий маркеру согласно настоящему изобретению, в пронуклеус оплодотворенного ооцита, например, путем микроинъекции, инфицирования ретровирусом, и дать указанному ооциту развиваться в организме псевдобеременной самки, которой прижили данный ооцит. Также в трансген можно включать интронные последовательности и сигнал полиаденилирования, чтобы повысить эффективность экспрессии указанного трансгена. С трансгеном можно функционально связывать тканеспецифичные регуляторные последовательности для управления экспрессией полипептида согласно настоящему изобретению в конкретных клетках. Способы генерирования трансгенных животных посредством манипуляций и микроинъекций на зародышах, в частности таких животных, как мыши, стали традиционными в технике и описаны, например, в Патенте США №4736866 (включен в настоящую заявку посредством ссылки) и 4870009 (включен в настоящую заявку посредством ссылки), в Патенте США №4873191 (включен в настоящую заявку посредством ссылки) и у Hogan, Manipulating the Mouse Embryo, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y., 1986. Аналогичные способы применяют для получения других трансгенных животных. Трансгенных животных-основателей можно идентифицировать по наличию трансгена в их геноме и/или по экспрессии мРНК, кодирующей указанный трансген в тканях или клетках указанных животных. Затем трансгенных животных-основателей можно применять для выведения дополнительных животных, несущих указанный трансген. Кроме того, трансгенных животных, несущих указанный трансген, можно также скрещивать с другими трансгенными животными, несущими другие трансгены.

Для получения гомологичных рекомбинантных животных готовят вектор, который содержит по меньшей мере часть гена, кодирующего полипептид, соответствующий маркеру согласно настоящему изобретению, в котором была сделана делеция, вставка или замена для изменения, например, для нарушения функции, указанного гена. Согласно еще одному варианту реализации указанный вектор конструируют так, что при гомологичной рекомбинации, функция эндогенного гена нарушается (например, он больше не кодирует функциональный белок; также называют «нокаут-вектором»). В качестве альтернативы, указанный вектор можно сконструировать так, что при гомологичной рекомбинации, эндогенный ген мутирует или изменяется другим образом,

но все еще кодирует функциональный белок (например, может изменяться регуляторная область, расположенная выше, что приводит к изменению экспрессии эндогенного белка). В векторе гомологичной рекомбинации измененная часть гена фланкирована на его 5' и 3'-концах дополнительной нуклеиновой кислотой гена, что делает возможной

5 гомологичную рекомбинацию между экзогенным геном, переносимым указанным вектором, и эндогенным геном в эмбриональной стволовой клетке. Дополнительные фланкирующие последовательности нуклеиновых кислот должны обладать достаточной длиной для успешной гомологичной рекомбинации с эндогенным геном. Обычно в указанный вектор включают ДНК из нескольких тысяч пар оснований (как на 5', так

10 и на 3'-конце) (описание векторов гомологичной рекомбинации см., например, у Thomas and Capeschi, 1987, Cell 51:503). Указанный вектор вводят в линию эмбриональных стволовых клеток (например, посредством электропорации), и отбирают клетки, в которых введенный ген подвергся гомологичной рекомбинации с эндогенным геном (см., например, Li et al., 1992, Cell 69:915). Отобранные клетки затем инъецируют в

15 зародышевый пузырь животного (например, мыши) с целью получения агрегационных химер (см. например, Bradley, Teratocarcinomas and Embryonic Stem Cells: A Practical Approach, Robertson, Ed., IRL, Oxford, 1987, pp.113-152). Затем химерный эмбрион можно имплантировать в организм псевдобеременной самки, и дать эмбриону прижиться. Потомство, содержащее гомологично рекомбинированную ДНК в своих эмбриональных

20 клетках, можно применять для воспроизведения животных, у которых все клетки организма будут содержать гомологично рекомбинированную ДНК вследствие эмбрионального переноса трансгена. Способы конструирования векторов гомологичной рекомбинации и гомологичные рекомбинантные животные описаны более подробно у Bradley (1991) Current Opinion in Bio/Technology 2:823-829 и в Публикациях РСТ № WO

25 90/11354 (включена посредством ссылки), WO 91/01140 (включена посредством ссылки), WO 92/0968 (включена посредством ссылки) и WO 93/04169 (включена посредством ссылки).

Согласно другому варианту реализации можно получить трансгенных животных, отличных от людей, которые будут содержать избранные системы, создающие

30 возможность регулируемой экспрессии указанного трансгена. Один пример такой системы - это система на основе рекомбиназы cre/loxP бактериофага P1. Описание системы рекомбиназы cre/loxP можно найти, например, у Lakso et al. (1992) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89:6232-6236. Другой пример системы на основе рекомбиназы - это система на основе рекомбиназы FLP *Saccharomyces cerevisiae* (O'Gorman et al., 1991,

35 Science 251:1351-1355). Если систему на основе рекомбиназы cre/loxP применяют для регулирования экспрессии трансгена, требуются животные, содержащие трансгены, кодирующие и рекомбиназу Cre, и избранный белок. Таких животных можно получить посредством конструирования «двойных» трансгенных животных, например, путем скрещивания двух трансгенных животных, одно из которых содержит трансген,

40 кодирующий избранный белок, а другое - трансген, кодирующий рекомбиназу.

Клоны трансгенных животных, отличных от людей, описываемые в настоящей заявке, также можно получить в соответствии со способами, описанными у Wilmut et al. (1997) Nature 385:810-813 и в Публикациях заявок РСТ № WO 97/07668 (включена посредством ссылки) и WO 97/07669 (включена посредством ссылки).

45 V. Примеры наборов

Набором является любое изделие (например, пакет или контейнер), включающий по меньшей мере один реагент, например, зонд для специфического определения маркера согласно настоящему изобретению, изделие, которое предполагается рекламировать,

распространять и продавать как устройство для осуществления способов согласно настоящему изобретению. Когда композиции, наборы и способы согласно настоящему изобретению применяют для осуществления способов согласно настоящему изобретению, мутированные гены ALK и/или продукты указанных генов (например, маркеры, указанные в Таблице 1) согласно настоящему изобретению можно выбирать таким образом, чтобы положительный результат удавалось получить по меньшей мере приблизительно у 20%, по меньшей мере приблизительно у 40%, по меньшей мере приблизительно у 60%, по меньшей мере приблизительно у 80%, по меньшей мере приблизительно у 90%, по меньшей мере приблизительно у 95%, по меньшей мере приблизительно у 99% или по меньшей мере приблизительно у 100% субъектов, страдающих раком определенной стадии, степени, гистологического типа или доброкачественной/предраковой/злокачественной природы. Согласно некоторым вариантам реализации указанный маркер или спектр маркеров согласно настоящему изобретению можно выбрать так, чтобы достигнуть PPV (прогностическая ценность положительного результата) выше, чем приблизительно 10% для популяции в целом (например, в совокупности со специфичностью анализа более 99,5%).

Когда в композициях, наборах и способах согласно настоящему изобретению применяют множество мутированных генов ALK и/или продуктов указанных генов (например, маркеры, указанные в Таблице 1) согласно настоящему изобретению, количество, структура и/или активность каждого маркера или уровень экспрессии, или число копий можно сравнивать с нормальными количеством, структурой и/или активностью каждого из указанного множества маркеров или с уровнем экспрессии, или с числом копий в пробах того же типа от субъектов, не страдающих раком, либо в одной реакционной смеси (т.е., с применением реагентов, таких как разные флуоресцентные зонды, для каждого маркера) или в индивидуальных реакционных смесях, соответствующих одному или более мутированным генам ALK и/или продуктам указанных генов (например, маркеры, указанные в Таблице 1). Если применяют множество мутированных генов ALK и/или продуктов указанных генов (например, маркеры, указанные в Таблице 1), можно применять или идентифицировать 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 или более индивидуальных маркеров.

Настоящее изобретение включает композиции, наборы и способы анализа раковых клеток в пробе (например, архивные образцы тканей или пробы, взятые у субъекта). Указанные композиции, наборы и способы по существу те же, которые были описаны выше, за исключением того что при необходимости указанные композиции, наборы и способы адаптируют к применению в определенных типах проб.

Также настоящее изобретение включает набор для оценки присутствия раковых клеток, обладающих или вероятно обладающих чувствительностью к ингибиторам ALK (например, в такой пробе, как проба, взятая у субъекта). Указанный набор может включать один или более реагентов, позволяющих идентифицировать мутированные гены ALK и/или продукты указанных генов (например, маркеры, указанные в Таблице 1) согласно настоящему изобретению, например, специфически связывающихся с нуклеиновой кислотой или полипептидом, соответствующими мутированным генам ALK и/или продуктам указанных генов (например, маркерам, указанным в Таблице 1) согласно настоящему изобретению. Подходящие реагенты для связывания с полипептидом, соответствующим маркеру согласно настоящему изобретению, включают антитела, производные антител, фрагменты антител и подобные. Подходящие реагенты для связывания с нуклеиновой кислотой (например, геномной ДНК, мРНК, сплайсированной мРНК, кДНУ или подобной) включают комплементарные

нуклеиновые кислоты. Например, реагенты на основе нуклеиновых кислот могут включать олигонуклеотиды (меченные или немеченные), иммобилизованные на субстрате, меченные олигонуклеотиды, не связанные с субстратом, пары праймеров для ПЦР, зонды типа «молекулярных маяков» и подобные. Согласно некоторым вариантам реализации указанные наборы могут включать реагенты, применимые для осуществления способов, описываемых в настоящей заявке, таких как способы, включающие по меньшей мере одну пару праймеров, распознающих и гибридизующихся с участками нуклеиновой кислоты, окружающими по меньшей мере один участок нуклеиновой кислоты, содержащий по меньшей мере одну мутацию из приведенных в таблице 1, и средства определения амплифицированной целевой нуклеиновой кислоты на присутствие указанной мутации.

Набор согласно настоящему изобретению может необязательно включать дополнительные компоненты, применимые при осуществлении способов согласно настоящему изобретению. В качестве примера, указанный набор может включать жидкости (например, SSC буфер), подходящие для отжига комплементарных нуклеиновых кислот или для связывания антитела с белком, с которым оно специфически связывается, одну или более ячеек для проб, инструкцию, в которой описано осуществление способа согласно настоящему изобретению, пробу, содержащую нормальные клетки, пробу, содержащую раковые клетки, и подобное.

Набор согласно настоящему изобретению может включать реагент, применимый при определении уровня белка или активности белка-маркера. Согласно еще одному варианту реализации набор согласно настоящему изобретению может включать реагент для определения изменений в структуре маркера, например, присутствия мутации.

VI. Предсказательная медицина

Также настоящее изобретение относится к области предсказательной медицины, в которой для целей прогнозирования применяют диагностические пробы, фармакогеномику и мониторинг клинических исследований, чтобы затем производить профилактику в индивидуальном порядке. Соответственно, один аспект настоящего изобретения относится к пробам для определения количества, структуры и/или активности полипептидов или нуклеиновых кислот, соответствующих одному или более маркерам согласно настоящему изобретению, с целью определения, будет ли субъект, страдающий раком или с риском развития ракового заболевания, с большей вероятностью отвечать на лечение на основе ингибиторов ALK.

Соответственно, один аспект настоящего изобретения относится к способу определения, есть ли вероятность того, что субъект с раком будет реагировать на лечение ингибитором ALK. Согласно еще одному аспекту настоящее изобретение относится к способу прогнозирования течения заболевания. Согласно еще одному аспекту указанный способ относится к способу прогнозирования вероятности значимого явления в течении указанного заболевания. Согласно некоторым вариантам реализации указанный способ включает определение биологического маркера или сочетания биологических маркеров, ассоциированных с чувствительностью к лечению ингибитором ALK (например, мутанты ALK), как описано в настоящей заявке, и определение, вероятно ли, что указанный субъект будет отвечать на лечение указанным ингибитором ALK.

Согласно некоторым вариантам реализации указанные способы включают цитогенетический скрининг проб тканей, взятых у пациента, у которого был диагностирован или предполагается рак (например, имеют место симптомы рака) с целью определения мутантов ALK (например, тех, которые описаны в Таблице 1).

Результаты указанного скрининга и их интерпретация позволяют прогнозировать

ответ пациента на лечение ингибиторами ALK (например, PF-02341066 и/или PDD). В соответствии с настоящим изобретением присутствие мутанта ALK позволяет прогнозировать, что лечение ингибиторами ALK (например, PF-02341066 и/или PDD) принесет более выраженную терапевтическую пользу в отношении указанных раковых клеток по сравнению с пациентами, не содержащими мутантов ALK.

Согласно одному варианту реализации способы согласно настоящему изобретению включают осуществление контакта пробы ДНК, например, пробы, содержащей эмбриональную и/или соматическую ДНК, такой как проба хромосом, полученная из клеток, выделенных у пациента, с полинуклеотидными зондами, которые специфичны и гибридизуются при строгих условиях с геномной ДНК в областях хромосом, ассоциированных с цитогенетическими аномалиями (например, мутации ALK, описываемые в настоящей заявке), в целях определения присутствия или отсутствия одной или более аномалий (например, мутаций) в клетках указанного пациента. Результаты такого анализа позволяют прогнозировать вероятность ответа указанного пациента на лечение лекарственными препаратами, в частности агентами, которые ингибируют ALK (например, PF-02341066 и/или PDD).

Согласно еще одному варианту реализации течение заболевания оценивают посредством измерения времени между значимыми явлениями и в течение заболевания пациента, причем указанный показатель позволяет прогнозировать, будет ли у пациента длительное течение заболевания. Согласно еще одному варианту реализации значимое явление - это прогрессирование от первичной постановки диагноза до летального исхода. Согласно еще одному варианту реализации значимое явление - это прогрессирование от первичной постановки диагноза до метастазирования опухоли. Согласно еще одному варианту реализации значимое явление - это прогрессирование от первичной постановки диагноза до рецидива. Согласно еще одному варианту реализации значимое явление - это прогрессирование от метастазирования опухоли до летального исхода. Согласно еще одному варианту реализации значимое явление - это прогрессирование от метастазирования опухоли до рецидива. Согласно еще одному варианту реализации значимое явление - это прогрессирование от рецидива до летального исхода. Согласно некоторым вариантам реализации течение заболевания оценивают относительно показателя общей выживаемости, времени до прогрессирования и/или применяя критерии RECIST или другие критерии ответа.

Согласно некоторым вариантам реализации создают заранее установленный показатель, разделяя выборку пациентов по меньшей мере на две подгруппы. Согласно некоторым вариантам реализации количество подгрупп составляет две, так чтобы выборку пациентов разделить на подгруппу пациентов, содержащих мутанты ALK, и подгруппу пациентов, не содержащих мутантов ALK. Согласно некоторым вариантам реализации статус мутантов ALK у субъекта сравнивают либо с подгруппой, содержащей мутанты ALK, либо с подгруппой, не содержащей мутанты ALK; если указанный пациент содержит мутанты ALK, то он маловероятно будет отвечать на лечение ингибитором ALK (например, PF-02341066 и/или PDD), и/или у указанного пациента будет длительное течение заболевания. Согласно некоторым вариантам реализации число подгрупп больше двух, включая, без ограничений, три подгруппы, четыре подгруппы, пять подгрупп и шесть подгрупп, в зависимости от ранжирования прогнозируемой эффективности ингибитора ALK, коорелирующей с конкретными мутантами ALK. Согласно некоторым вариантам реализации вероятность ответа на лечение оценивают относительно показателя общей выживаемости, времени до прогрессирования и/или применяя критерии RECIST. Согласно некоторым вариантам реализации ингибитором

ALK является PF-02341066 и/или PDD.

Согласно еще одному аспекту настоящее изобретение относится к способу определения, с какой вероятностью субъект с положительным по мутантам ALK раком будет отвечать на лечение ингибитором ALK например, PF-02341066 и/или PDD), и/или насколько длительным будет течение заболевания. Согласно еще одному аспекту настоящее изобретение относится к способу прогнозирования течения заболевания у субъекта с положительным по мутантам ALK раком. Согласно еще одному аспекту настоящее изобретение относится к способу прогнозирования вероятности значимого явления у субъекта с положительным по мутантам ALK раком.

1 Способы определения мутантов ALK

Способы оценки мутированных генов ALK и/или продуктов указанных генов (например, маркеров, указанных в Таблице 1) хорошо известны специалистам в данной области техники, включая способы анализа на основе гибридизации. Например, один из способов оценки числа копий кодирующей нуклеиновой кислоты в пробе включает применение Саузерн-Блоттинга. При Саузерн-Блоттинге геномную ДНК (обычно фрагментированную и разделенную на геле в ходе электрофореза) гибридизуют с зондом, специфическим для целевой области. Сравнение интенсивности сигнала гибридизации от зонда для целевой области и сигнала от контрольного зонда, полученного при анализе нормальной геномной ДНК (например, неамплифицированной части тех же или родственных клетки, ткани, органа и др.) позволяет определить присутствие/отсутствие и относительное число копий целевой нуклеиновой кислоты. В качестве альтернативы для оценки числа копий кодирующей нуклеиновой кислоты в пробе можно применять Нозерн-блоттинг. При Нозерн-блоттинге мРНК гибридизуют с зондом, специфичным к целевой области. Сравнение интенсивности сигнала гибридизации от зонда для целевой области и сигнала от контрольного зонда, полученного при анализе нормальной мРНК (например, неамплифицированной части тех же или родственных клетки, ткани, органа и др.) позволяет определить присутствие/отсутствие и относительное число копий целевой нуклеиновой кислоты.

Альтернативным средством определения числа копий является гибридизация *in situ* (например, Angerer (1987) Meth. Enzymol 152: 649). Обычно гибридизация *in situ* включает следующие этапы: (1) фиксацию ткани или биологической структуры, которые требуется анализировать; (2) обработка указанной биологической структуры перед гибридизацией для увеличения доступности целевой ДНК и снижения неспецифического связывания; (3) гибридизация смеси нуклеиновых кислот с нуклеиновой кислотой в указанной биологической структуре или ткани; (4) отмывка после гибридизации с целью удаления фрагментов нуклеиновых кислот, не связавшихся при гибридизации и (5) определение гибридизованных фрагментов нуклеиновых кислот. Реагент, применяемый на каждом из перечисленных этапов, и условия варьируют в зависимости от конкретной области применения.

Примеры проб на основе гибридизации включают традиционные способы «прямых зондов», такие как Саузерн-Блоттинг или гибридизация *in situ* (например, FISH и FISH плюс SKY/спектральное кариотипирование/), и способы «сравнительных зондов», такие как сравнительная геномная гибридизация (CGH), например, COH на основе кДНК или на основе олигонуклеотидов, но не ограничиваясь ими. Указанные способы можно применять в широком спектре форматов, включая способы со связанным субстратом (например, на мембране или стекле) или подходы на основе матриц, но не ограничиваясь ими.

Согласно одному аспекту применяют FISH. Пробы клеток отбирают у пациентов в

соответствии со способами, хорошо известными в технике, чтобы протестировать их при помощи способов цитогенетического исследования, известных в технике, например, посредством способа FISH. Согласно одному варианту реализации FISH можно проводить в соответствии с системой Vysis™ («Abbott Molecular»), протоколы

производителя которой включены в настоящую заявку посредством ссылки.

Применяют зонды, которые содержат сегменты ДНК, по существу комплементарные последовательности оснований в ДНК, существующих в разных частях хромосом. Примеры зондов, применимых согласно настоящему изобретению, а также процедура мечения и гибридизации зондов с пробами описаны в двух Патентах США, выданных

компании «Vysis, Inc.» - №5491224 (включен в настоящую заявку посредством ссылки) и 6277569224 (включен в настоящую заявку посредством ссылки) авторам Bittner, et al.

Хромосомные зонды содержат обычно от 50 до 10^5 нуклеотидов. Более длинные зонды обычно состоят из более мелких фрагментов приблизительно от 100 до приблизительно 500 нуклеотидов длиной. В продаже существуют зонды, которые гибридизуются с центромерной ДНК и локус-специфичной ДНК, например у компании «Vysis, Inc.» (Даунерз Грув, Иллинойс), «Molecular Probes, Inc.» (Юджин, Орегон) или у компании «Cytocell» (Оксфордшир, Соединенное Королевство). В качестве альтернативы, зонды можно получить не из коммерческих источников, создав их из хромосомной или геномной ДНК посредством стандартных технологий. Например, источники ДНК, которые можно применять, включают геномную ДНК, клонированные последовательности ДНК, гибриды соматических клеток, которые содержат одну хромосому или часть одной хромосомы (например, хромосому человека) вместе с нормальным набором хромосом хозяина, и хромосомы, очищенные при помощи проточной цитометрии или микродиссекции. Рассматриваемую область можно выделить посредством клонирования или посредством сайт-специфичной амплификации с применением полимеразной цепной реакции (ПЦР). Например, см. Nath and Johnson, Biotechnic Histochem., 1998, 73(1):6-22, Wheelless et al., Cytometry 1994, 17:319-326, и Патент США №5 491 224 (включен в настоящую заявку посредством ссылки).

Зонды, которые предполагается применять, гибридизуют со специфической областью хромосомы в целях определения, присутствует ли в данной области цитогенетическая аномалия. Одним типом цитогенетических аномалий является делеция. Хотя могут возникать делеции одной или более целых хромосом, обычно делеции касаются утраты части одной или более хромосом. Если целая область хромосомы, которая содержится в зонде, делегирована из клетки, гибридизации такого зонда с ДНК из указанной клетки в норме происходить не будет, и на данной хромосоме сигнала не будет. Если область хромосомы, которая частично содержится в зонде, из клетки делегирована, гибридизации такого зонда с ДНК из указанной клетки все же может происходить, но сигнал будет меньше. Например, утрату сигнала сравнивают с гибридизацией зонда с ДНК из контрольных клеток, которые не содержат генетических аномалий, на определение которых направлены указанные зонды. Согласно некоторым вариантам реализации анализируют сигнал по меньшей мере в 1, 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 110, 120, 130, 140, 150, 160, 170, 180, 190, 200 или более клетках для определения присутствия указанной цитогенетической аномалии.

Цитогенетические аномалии, которые требуется определять, могут включать нерасцепленные транслокации, внутрехромосомные инверсии, точечные мутации, делеции, изменение числа копий генов, изменение уровня экспрессии генов и эмбриональные мутации, но не ограничиваются ими. В частности, одним типом цитогенетических аномалий является дупликация. Дупликации могут охватывать целые

хромосомы или области, меньшие чем целая хромосома. Если область хромосомы, которая содержится в зонде, в клетке дублирована, гибридизация такого зонда с ДНК из указанной клетки в норме будет приводить к получению по меньшей мере еще одного сигнала по сравнению с количеством сигналов, регистрируемых в контрольных клетках без аномалии в области хромосомы, содержащейся в указанном зонде. На самом деле можно применять любые зонды, которые позволяют определять хромосому человека 2p23 или ее ортолог, или любую область хромосомы, содержащую транслокацию с геном ALK в 2p23 или его ортологом. Подходящие зонды хорошо известны в технике (например, продаются компанией «Vysis, Inc.» ((Даунерз Грув, Иллинойс).

К хромосомным зондам присоединяют метки так, чтобы можно было определять указанную область хромосомы, с которой они гибридизуются. Обычно зонды метят непосредственно флуорофором - органической молекулой, которая флуоресцирует после поглощения света с меньшей длиной волны/большей энергией. Указанный флуорофор позволяет визуализировать указанный зонд без вторичной молекулы-детектора. После ковалентного присоединения флуорофора к нуклеотиду, указанный нуклеотид можно непосредственно включить в указанный зонд при помощи стандартных технологий, таких как ник-трансляция, случайное примирование и ПЦР-мечение. В качестве альтернативы, нуклеотиды дезоксицитидина в указанном зонде можно переаминировать с линкером.

Затем указанный флуорофор ковалентно присоединяют к переаминированным нуклеотидам дезоксицитидина. См. Патент США №5491224 (включен в настоящую заявку посредством ссылки).

В Патенте США №5491224 описано мечение зондов, при котором несколько остатков цитозина, содержащих флуоресцентную метку, ковалентно связывается с ним. Число оснований цитозина с флуоресцентной меткой достаточно для того, чтобы генерировать различимый флуоресцентный сигнал, тогда как отдельные меченные таким образом сегменты ДНК по существу сохраняют свои свойства специфического комплементарного связывания (гибридизации) в отношении хромосомы или области хромосомы, которые требуется определять. Такие зонды получают путем взятия сегмента немеченого ДНК-зонда, переаминирования с применением линкерной группы нескольких нуклеотидов дезоксицитидина в указанном сегменте, ковалентного связывания флуоресцентной метки по меньшей мере с частью переаминированных оснований дезоксицитидина. Также к зондам можно присоединить метку посредством ник-трансляции, мечения случайными праймерами или ПЦР-мечения. Мечение проводят с применением нуклеотидов, либо меченных флуоресцентной меткой (прямое мечение), либо меченных гаптенами (непрямое мечение). Репрезентативные, не ограничивающие, примеры меток включают АМКА-6-дУТФ (аминометилкумаринацетат-6-дезоксидуридин-трифосфат), КаскадБлю-4-дУТФ, флуоресцеин-12-дУТФ, родамин-6-дУТФ, Су3-6-дУТФ, Су5-6-дУТФ, Биотин(БИО)-11-дУТФ, дигоксигенин(ДИГ)-11-дУТФ или динитрофенил-(ДНФ)-11-дУТФ.

Также можно проводить непрямое мечение зондов с применением биотина или дигоксигенина или мечение радиоактивными изотопами, такими как ^{32}P и ^3H , хотя для визуализации указанных зондов требуются вторичные молекулы-детекторы или последующая обработка. Например, зонд, меченный биотином, можно определять по авидину, конъюгированному с детектируемым маркером. Например, авидин можно конъюгировать с ферментным маркером, таким как щелочная фосфатаза или пероксидаза хрена. Ферментные маркеры можно определять в стандартных

колориметрических реакциях с применением субстрата и/или катализатора для указанного фермента. Катализаторы для щелочной фосфатазы включают 5-бром-4-хлор-3-индолилфосфат и нитросиний тетразолий. В качестве катализатора для пероксидазы хрена можно применять диаминобензоат.

5 Зонды также можно приготовить таким образом, чтобы флуоресцентная или другая метка не были частью ДНК до гибридизации или во время нее, а добавлялась после гибридизации, чтобы определять зонд, гибридизованный с хромосомой. Например, можно применять зонды, которые содержат антигенные молекулы, включенные в указанную ДНК. После гибридизации такие антигенные молекулы определяют при
10 помощи специфических антител, реагирующих с указанными антигенными молекулами. Такие антитела могут сами по себе входить в состав флуорохрома, или их можно определять при помощи вторичного антитела с присоединенным флуорохромом.

Обработанный или модифицированный ДНК-зонд, как правило, очищают в целях удаления непрореагировавших, остаточных продуктов (например, молекул
15 флуорохрома, не включенных в ДНК) перед применением для гибридизации.

Перед гибридизацией хромосомные зонды денатурируют в соответствии со способами, хорошо известными в технике. В общем, этапы гибридизации включают добавление избытка блокирующей ДНК к композиции меченного зонда, осуществление контакта блокированной композиции зонда при условиях гибридизации с областью хромосомы,
20 которую требуется определить, например, в препарате, где указанная ДНК была денатурирована, отмывку негибридизованного зонда и определение связывания композиции зонда с указанной хромосомой или областью хромосомы.

Зонды гибридизуют или отжигают с хромосомной ДНК при гибридизирующих условиях. Термин «гибридизирующие условия» обозначает условия, которые облегчают отжиг
25 между зондом и целевой хромосомной ДНК. Поскольку отжиг разных зондов может варьировать в зависимости от длины зонда, концентрации оснований и подобных факторов, отжиг облегчают путем варьирования концентрации зонда, температуры гибридизации, концентрации солей и других факторов, хорошо известных в технике.

Условия гибридизации модифицируют для облегчения гибридизации путем
30 варьирования концентраций, состава оснований, сложности и длины зондов, а также концентрации солей, температур и длительности инкубации. Например, гибридизацию *in situ* обычно проводят в буфере для гибридизации, содержащем 1-2х SSC, 50-65% формамида и блокирующую ДНК для подавления неспецифической гибридизации. Обычно условия гибридизации, описанные выше, включают температуру
35 приблизительно 25°-55°C, и длительности инкубации от приблизительно 0,5 часов до приблизительно 96 часов.

Неспецифическое связывание хромосомных зондов с ДНК вне целевой области можно удалить посредством серии отмывок. Температуру и концентрацию солей при каждой отмывке варьируют под контролем строгости промывки. Например, для условий
40 высокой строгости отмывки можно проводить при приблизительно от 65°C приблизительно до 80°C, с применением 0,2х до приблизительно 2х SSC и от приблизительно 0,1% до приблизительно 1% неионного детергента, такого как Нонидет Р-40 (NP40). Строгость можно снизить, уменьшив температуру отмывки или увеличив концентрацию соли в растворе для отмывки. Согласно некоторым способам применения
45 необходимо блокировать способность к гибридизации повторяющихся последовательностей. Так, согласно некоторым вариантам реализации для блокирования неспецифической гибридизации применяют тРНК, геномную ДНК человека или Cot-I ДНК.

После отмывки указанному препарату дают стечь и сушат на воздухе, затем на препарат наносят среду для заливки, контр-краситель, такой как ДАПИ (4,6-диамидино-2-фенилиндол дигидрохлорид) и накрывают покровным стеклом. Препараты можно просматривать сразу же или хранить при -20°C до проведения анализа.

5 Для флуоресцентных зондов, применяемых при технологии флуоресцентной гибридизации *in situ* (FISH), флуоресценцию можно анализировать на флуоресцентном микроскопе, оснащенном соответствующим фильтром для каждого флуорофора, или применяя наборы двух- или трехполосных фильтров для наблюдения нескольких флуорофоров. Например, см. Патент США №5776588 (включен в настоящую заявку 10 посредством ссылки). В качестве альтернативы для анализа характера гибридизации указанных хромосомных зондов можно применять такие технологии, как проточная цитометрия. FISH можно применять для определения числа копий хромосом или реаранжировки областей хромосом. Указанные зонды гибридизуются, или связываются с комплементарной ДНК и, поскольку они содержат флуоресцентные метки, 15 исследователи могут увидеть локализацию таких последовательностей ДНК при помощи флуоресцентного микроскопа. В отличие от большинства других технологий, применяемых для исследования хромосом, для которых требуется, чтобы клетки активно делились, FISH также можно проводить на неделящихся клетках, что делает данную процедуру весьма универсальной. Следовательно, FISH можно проводить с применением 20 клеток в интерфазе, или клеток в метафазе клеточного цикла. Многие технологии, включающие анализ FISH, описаны в Патенте США №5477841 (включен в настоящую заявку посредством ссылки), выданном Gray и Pinkel.

Результаты FISH можно интерпретировать путем сравнения с контрольными клетками, о которых известно, что они не содержат специфической цитогенетической 25 аномалии, на определение которой направлен данный зонд. Характер FISH гибридизации между указанным зондом и ДНК из контрольных клеток сравнивают с гибридизацией того же зонда с ДНК из клеток, которые подвергаются исследованию или анализу на присутствие специфической цитогенетической аномалии. Когда зонд разрабатывают для определения делеции хромосомы или области хромосомы, обычно гибридизация 30 зонда с ДНК из тестируемых клеток менее выражена, чем с ДНК из контрольных клеток. Обычно в тестируемых клетках сигнал от зонда отсутствует, что указывает на утрату области хромосомы, с которой в норме гибридизуется указанный зонд. Когда зонд разрабатывают для определения дупликации или добавления хромосомы, обычно гибридизация зонда с ДНК из тестируемых клеток выражена сильнее, чем с ДНК из 35 контрольных клеток. Обычно в клетках добавляется определенный сигнал от зонда, который указывает на присутствие дополнительной области хромосомы, с которой в норме гибридизуется указанный зонд.

При осуществлении способов CGH к первому набору нуклеиновых кислот (например, из пробы, например, вероятная опухоль) присоединяют первую метку, а ко второму 40 набору нуклеиновых кислот (например, контроль, например, из здоровой клетки/ткани) присоединяют вторую метку. Отношение гибридизации указанных нуклеиновых кислот определяют по соотношению связывания двух (первой и второй) меток с каждым волокном в указанной матрице. Там, где есть делеции или умножение хромосом, будут определяться различия в отношении сигналов от двух указанных меток, и указанное 45 отношение будет служить показателем числа копий. Матричную CGH также можно проводить с одноцветным мечением (в противоположность мечению контрольной пробы и пробы из вероятной опухоли двумя разными красителями и их смешиванию перед гибридизацией, что приводит к отношению, связанному с конкурентной

гибридизацией зондов на указанных матрицах). При CGH с одним красителем контроль метят и гибридизуют с одной матрицей, и считывают абсолютный сигнал, а пробы из вероятной опухоли метят и гибридизуют со второй матрицей (с идентичным содержанием), и считывают абсолютный сигнал. Различие в числе копий рассчитывают на основании абсолютных сигналов от двух указанных матриц.

Протоколы гибридизации, подходящие для применения совместно со способами согласно настоящему изобретению, описаны, например, у Albertson (1984) EMBO J. 3: 1227-1234; Pinkel (1988) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85: 9138-9142; EPO Pub. No. 430,402; Methods in Molecular Biology, Vol.33: In situ Hybridization Protocols, Choo, ed., Humana Press, Totowa, N.J. (1994), etc. Согласно одному варианту реализации, применяют протокол гибридизации Pinkel, et al. (1998) Nature Genetics 20: 207-211, или Kallioniemi (1992) Proc. Natl Acad Sci USA 89:5321-5325 (1992). Матричная CGH описана в Патенте США №6455258, содержание каждого из которых включено в настоящую заявку посредством ссылки.

Согласно еще одному варианту реализации для измерения присутствия/отсутствия и числа копий можно применять анализ, основанный на амплификации. При таком основанном на амплификации анализе последовательности нуклеиновых кислот выступают в качестве матрицы в реакции амплификации (например, полимеразной цепной реакции (ПЦР)). При количественной амплификации количество продукта амплификации должно быть пропорционально количеству матрицы в исходной пробе. Сравнение с соответствующими контролями, например, здоровой тканью, позволяет оценить число копий.

Способы «количественной» амплификации хорошо известны специалистам в данной области техники. Например, количественная ПЦР включает одновременную совместную амплификацию известного количества контрольной последовательности с применением тех же праймеров. Это позволяет получить внутренний стандарт, который можно применять для калибровки реакции ПЦР. Подробные протоколы количественной ПЦР приведены у Innis, et al. (1990) PCR Protocols, A Guide to Methods and Applications, Academic Press, Inc. N.Y.). Измерение числа копий ДНК в локусах микросателлитной ДНК посредством количественного анализа ПЦР описано у Ginzinger, et al. (2000) Cancer Research 60:5405-5409. Чтобы специалист в данной области техники смог стандартным способом выбрать праймеры для амплификации какой-либо части гена, достаточно знать последовательность нуклеиновой кислоты указанных генов. Также при осуществлении способов согласно настоящему изобретению можно применять флуорогенную количественную ПЦР. При флуорогенной количественной ПЦР количественный анализ основан на количестве сигналов флуоресценции, например, от TaqMan и sybr green.

Другие подходящие способы амплификации включают лигазную цепную реакцию (ЛЦР), (см. Wu and Wallace (1989) Genomics 4: 560, Landegren, et al. (1988) Science 241: 1077, и Barringer et al. (1990) Gene 89: 117), амплификацию с транскрипцией (Kwoh, et al. (1989) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86: 1173), самоподдерживающуюся репликацию последовательностей (Guatelli, et al. (1990) Proc. Nat. Acad. Sci. USA 87: 1874), дот-ПЦР и ПЦР с адаптерами линкеров и др.

Также для идентификации областей умножения или делеций можно применять картирование потери гетерозиготности (LOH) (Wang, Z.C., et al. (2004) Cancer Res 64(1):64-71; Seymour, A. B., et al. (1994) Cancer Res 54, 2761-4; Hahn, S. A., et al. (1995) Cancer Res 55, 4670-5; Kimura, M., et al. (1996) Genes Chromosomes Cancer 17, 88-93).

2. Способы оценки экспрессии генов

Также можно оценивать уровень экспрессии маркера. Экспрессию маркера согласно настоящему изобретению можно оценивать при помощи одного из широкого спектра хорошо известных в технике способов определения экспрессии транскрибируемой молекулы или белка. Неограничивающие примеры таких способов включают

5 иммунологические способы определения секретируемых, поверхностных, цитоплазматических или ядерных белков клетки, способы очистки белков, анализ функции или активности белков, способы гибридизации нуклеиновых кислот, способы обратной транскрипции нуклеиновых кислот и способы амплификации нуклеиновых кислот.

10 Согласно некоторым вариантам реализации активность конкретного гена характеризуют по количеству транскрипта гена (например, мРНК), по количеству транслируемого белка или по активности продукта гена. Экспрессию маркера можно отслеживать разными способами, включая определение уровня мРНК, уровня белка, активности белка, любой из которых можно измерить при помощи стандартных

15 технологий. Определение может быть основано на количественном анализе уровня экспрессии гена (например, геномной ДНК, кДНК, мРНК, белка или ферментативной активности), или, в качестве альтернативы, может быть основано на качественной оценке уровня экспрессии гена, в частности, путем сравнения с контрольным уровнем. Тип уровня, который следует измерять, будет ясен из контекста.

20 Способы определения и/или количественного анализа транскрипта гена (мРНК или кДНК, образующегося с него) с применением технологий гибридизации нуклеиновых кислот известны специалистам в данной области техники (см. Sambrook et al. выше). Например, один из способов оценки присутствия, отсутствия или количества кДНК, основан на Саузерн-блоттинге, описанном выше. Вкратце, мРНК выделяют (например,

25 с применением способа кислой экстракции в гуанидин-фенол-хлороформе, Sambrook et al. выше) и подвергают обратной транскрипции с получением кДНК. Затем кДНК необязательно расщепляют и загружают на гель в буфере, и переносят на мембраны. Затем проводят гибридизацию с применением зондов на основе нуклеиновых кислот, специфичных к целевой кДНК.

30 Общий принцип такого диагностического и прогностического анализа основан на приготовлении пробы или реакционной смеси, которая может содержать маркер, и зонд, при определенных условиях и в течение времени, достаточного для того, чтобы указанный маркер и зонд провзаимодействовали и связались, образовав комплекс, который можно удалить и/или определить в реакционной смеси. Такой анализ можно

35 осуществлять разными способами.

Например, один из способов проведения такого анализа может быть основан на заякоривании указанного маркера на твердофазной подложке, также называемой субстратом, и определении комплекса целевой маркер/зонд, заякоренного на твердой фазе, в конце реакции. Согласно одному варианту реализации такого способа пробу,

40 взятую у субъекта, у которого следует проверить присутствие/отсутствие и/или концентрацию маркера, можно заякорить на носителе или твердофазной подложке. Согласно другому варианту реализации возможна обратная ситуация, при которой указанный зонд можно заякорить на твердой фазе, а пробе, взятой у субъекта, дать прореагировать, как незаякоренному компоненту анализируемой смеси.

45 Существует множество известных способов заякоривания компонентов анализируемой смеси на твердой фазе. Они включают, без ограничений, молекулы маркера или зонда, которые иммобилизуют посредством конъюгации с биотином или стрептавидином. Такие биотинилированные компоненты анализируемой смеси можно

приготовить из биотин-NHS (N-гидрокси-сукцинимид) с применением технологий, известных в технике (например, набор для биотинилирования «Pierce Chemicals», Рокфорд, Иллинойс) и иммобилизовать в лунках планшетов на 96 лунок, покрытых стрептавидином («Pierce Chemicals»). Согласно некоторым вариантам реализации поверхности с иммобилизованными компонентами анализируемой смеси можно

приготовить заранее и хранить.

Другие подходящие носители или твердофазные подложки для такого анализа включают любой материал, который может связываться с тем классом молекул, к которому принадлежат указанный маркер или зонд. К широко известным подложкам или носителям можно отнести стекло, полистирол, нейлон, полипропилен, полиэтилен, декстран, амилазы, природную и модифицированную целлюлозу, полиакриламиды, габбро и магнетит.

Для проведения анализа посредством перечисленных выше способов неиммобилизованный компонент добавляют к твердой фазе, на которой заякорен второй компонент. После завершения реакции не образовавшие комплекс компоненты удаляют (например, посредством отмывки) при таких условиях, что любые образовавшиеся комплексы остаются иммобилизованными на твердой фазе. Определение комплексов маркер/зонд, заякоренных на указанной твердой фазе, можно провести при помощи нескольких способов, описанных выше.

Согласно еще одному варианту реализации к указанному зонду, когда он является незаякоренным компонентом анализируемой смеси, в целях определения и считывания результатов анализа, либо прямо, либо не прямо можно присоединять детектируемые метки, обсуждаемые в настоящей заявке, которые хорошо известны специалисту в данной области техники.

Также можно напрямую определять образование комплекса маркер/зонд без дополнительных манипуляций или мечения какого-либо из компонентов (маркера или зонда), например, посредством применения технологии переноса энергии флуоресценции (см., например, Lakowicz et al., Патент США №5631169 (включен в настоящую заявку посредством ссылки); Stavrianopoulos, et al., Патент США №4868103 (включен в настоящую заявку посредством ссылки)). Метку-флуорофор на первой, «донорской», молекуле выбирают так, чтобы при возбуждении падающим светом с соответствующей длиной волны, энергия вызванной им флуоресценции поглощалась флуоресцентной меткой второй «акцепторной» молекулы, которая, в свою очередь, способна флуоресцировать благодаря поглощению указанной энергии. В качестве альтернативы молекула «донорского» белка может просто использовать энергию естественной флуоресценции остатков триптофана. Выбирают такие метки, которые испускают свет с разными длинами волн, так чтобы молекулу-«акцептор» можно было отличить от молекулы «донора». Поскольку эффективность переноса энергии между указанными метками зависит от расстояния между молекулами, можно оценить пространственные соотношения между молекулами. В ситуации, когда между указанными молекулами возникает связывание, излучение флуоресценции метки молекулы-«акцептора» в анализируемой смеси должно быть максимальным. Событие связывания фторэтил-L-тирозина можно без труда измерить при помощи стандартных флуорометрических средств, хорошо известных в технике (например, при помощи флуориметра).

Согласно еще одному варианту реализации определение способности зонда к распознаванию маркера можно произвести без мечения какого-либо из компонентов анализируемой смеси (зонда или маркера) посредством применения такой технологии, как Анализ взаимодействия биомолекул в режиме реального времени (BIA) (например,

см. Sjolander, S. and Urbaniczky, C., 1991, Anal. Chem. 63:2338-2345 and Szabo et al., 1995, Curr. Opin. Struct. Biol. 5:699-705). Применяемый в настоящей заявке термин «BIA» или «поверхностный плазменный резонанс» относится к технологии изучения биоспецифических взаимодействий в режиме реального времени, без мечения какого-либо из взаимодействующих веществ (например, BIAcore). Изменения массы на поверхности связывания (указывающие на событие связывания) приводят к изменениям коэффициента преломления света вблизи указанной поверхности (оптический феномен поверхностного плазменного резонанса (SPR)), что позволяет зарегистрировать различимый сигнал, который можно применять как показатель реакции между биологическими молекулами в реальном времени.

В качестве альтернативы, согласно еще одному варианту реализации можно проводить аналогичный диагностический и прогностический анализ с маркером и зондом в форме веществ, растворяющихся в жидкой фазе. При таком типе анализа образовавшие комплекс маркер и зонд отделяют от образовавших комплекс компонентов при помощи любой из множества технологий, включая, без ограничений: дифференциальное центрифугирование, хроматографию, электрофорез и иммунопреципитацию. При дифференциальном центрифугировании комплексы маркер/зонд можно отделить от образовавших комплекс компонентов посредством последовательных этапов центрифугирования, на основании разного равновесного осаждения комплексов, зависящего от их разных размеров и плотностей (например, см. Rivas, G., and Minton, A.P., 1993, Trends Biochem Sci. 18(8):284-7). Также для разделения образовавших комплекс молекул и не образовавших комплекс компонентов можно применять стандартные хроматографические технологии. Например, гель-фильтрация позволяет разделить молекулы по их размеру, и при применении соответствующей смолы для гель-фильтрации в формате колонки, например, можно разделить относительно более крупные комплексы и относительно мелкие не образовавшие комплекс компоненты. Аналогично, относительно различный заряд комплекса маркер/зонд и не образовавших комплекс компонентов можно использовать для различения комплекса и не образовавших комплекс компонентов, например, посредством применения смол для ионообменной хроматографии. Такие смолы и хроматографические технологии хорошо известны специалистам в данной области техники (например, см. Heegaard, N.H., 1998, J. Mol. Recognit. Winter 11(1-6):141-8; Hage, D.S., и Tweed, S.A. J Chromatogr B Biomed Sci Appl 1997 Oct 10;699 (1-2):499-525). Также для отделения образовавших комплекс компонентов от несвязанных компонентов можно применять гель-электрофорез (например, см. Ausubel et al., ed.. Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons, New York, 1987-1999). При данной технологии комплексы белков или нуклеиновых кислот разделяют, например, на основании их размера или заряда. Чтобы сохранить взаимодействие, лежащее в основе связывания, во время процесса электрофореза, обычно применяют неденатурирующие материалы геля и условия с отсутствием восстановителей. Соответствующие условия для конкретного типа анализа и компоненты, нужные для него, хорошо известны специалистам в данной области техники.

Согласно конкретному варианту реализации уровень мРНК, соответствующей маркеру, можно определить в форме *in situ* и *in vitro* в биологической пробе при помощи способов, известных в технике. Предполагается, что термин «биологическая проба» включает ткани, клетки, биологические жидкости и их изоляты, выделенные у субъекта, а также ткани, клетки, биологические жидкости, присутствующие в организме субъекта. Многие способы определения экспрессии основаны на оценке изолированной РНК.

Для способов *in vitro* для очищения РНК из клеток можно применять любую технологию выделения РНК, которая не направлена на выделение только мРНК (например, см. Ausubel et al., ed., *Current Protocols in Molecular Biology*, John Wiley & Sons, New York 1987-1999). Кроме того, большое число проб тканей можно без труда подвергнуть обработке с применением технологий, хорошо известных специалистам в данной области техники, таких как, например, одностадийный процесс выделения РНК по Chomczynski (1989, Патент США №4843155 (включен в настоящую заявку посредством ссылки)).

Выделенную нуклеиновую кислоту можно применять при анализе, основанном на гибридизации или амплификации, который включает, без ограничений, Саузерн-Блоттинг или Нозерн-Блоттинг, полимеразную цепную реакцию и матрицы зондов. Один из способов диагностики, основанных на определении уровня мРНК, включает осуществление контакта изолированной мРНК с молекулой нуклеиновой кислоты (зонд), которая может гибридизоваться с мРНК, кодируемой геном, который определяют. Нуклеиновой кислотой-зондом может быть, например, полноразмерная кДНК или ее часть, такая как олигонуклеотид, состоящий по меньшей мере из 7, 15, 30, 50, 100, 250 или 500 нуклеотидов, достаточный для специфической гибридизации с мРНК или геномной ДНК, кодирующей маркер согласно настоящему изобретению, при строгих условиях. Другие зонды, подходящие для применения при диагностическом анализе согласно настоящему изобретению, описаны в настоящей заявке. Гибридизация мРНК с указанным зондом указывает на то, что рассматриваемый маркер экспрессируется.

Согласно одному формату указанную мРНК иммобилизуют на твердой поверхности и дают ей контактировать с зондом, например, путем загрузки изолированной мРНК на агарозный гель и переноса указанной мРНК с геля на мембрану, такую как нитроцеллюлозная мембрана. Согласно альтернативному формату, указанный зонд (зонды) иммобилизуют на твердой поверхности, и дают мРНК контактировать с указанным зондом (зондами), например, на матрице генных чипов Affymetrix. Специалисты в данной области техники могут без труда адаптировать известные способы определения мРНК для применения при определении уровня мРНК, кодируемой маркером согласно настоящему изобретению.

Указанные зонды могут быть полноразмерной или менее чем полноразмерной последовательностью нуклеиновой кислоты, кодирующей белок. Более короткие зонды тестируют эмпирически на специфичность. Примеры нуклеиновых кислот-зондов состоят из 20 оснований (см., например Sambrook et al., где описаны способы отбора последовательностей нуклеиновых кислот-зондов для применения при гибридизации нуклеиновых кислот). Визуализация гибридизованных частей позволяет качественно определить присутствие или отсутствие кДНК.

Альтернативный способ определения уровня транскрипта, соответствующего маркеру согласно настоящему изобретению, в пробе основан на процессе амплификации нуклеиновых кислот, например, посредством ртПЦР (экспериментальный вариант реализации, описанный у Mullis, 1987, Патент США №4683202 (включен в настоящую заявку посредством ссылки)), лигазной цепной реакции (Вагапу, 1991, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 88:189-193), самоподдерживающейся репликации последовательностей (Guatelli, et al. (1990)-*Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 87: 1874), системы транскрипционной амплификации (Kwoh et al., 1989, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 86:1173-1177), Q-бета-репликазы (Lizardi et al., 1988, *Bio/Technology* 6:1197), репликации по типу "катящегося кольца" (Lizardi et al., Патент США 5 854 033 (включен в настоящую заявку посредством ссылки)) или любого другого способа амплификации нуклеиновых кислот, после которого проводят

определение амплифицированных молекул при помощи технологий, хорошо известных специалистам в данной области техники. При флуорогенной ртПЦР количественный анализ основан на количестве сигналов флуоресценции, например TaqMan и sybr green. Указанные схемы определения особенно применимы при определении молекул нуклеиновых кислот, если такие молекулы присутствуют в очень малом количестве. В настоящей заявке термин «праймеры амплификации» относится к паре молекул нуклеиновых кислот, которые могут отжигаться на 5' или 3'-области гена (положительной и отрицательной цепи, соответственно, или наоборот) и заключают короткую область между собой. Обычно праймеры амплификации содержат приблизительно от 10 до 30 нуклеотидов и фланкируют область длиной приблизительно от 50 до 200 нуклеотидов. При соответствующих условиях и в присутствии соответствующих реагентов такие праймеры позволяют провести амплификацию молекулы нуклеиновой кислоты, содержащей последовательность нуклеотидов, фланкированную указанными праймерами.

В случае способов *in situ*, мРНК перед определением не требуется выделять из клеток. При осуществлении таких способов пробу клеток или ткани готовят/обрабатывают посредством хорошо известных гистологических способов. Пробу затем иммобилизуют на подложке, обычно на предметном стекле, и затем дают указанной пробе вступить в контакт с зондом, который может гибридизоваться с мРНК, кодирующей указанный маркер.

В качестве альтернативы проведения определения, основанного на абсолютном уровне экспрессии указанного маркера, определение может быть основано на нормированном уровне экспрессии указанного маркера. Уровень экспрессии нормируют путем коррекции абсолютного уровня экспрессии маркера, сравнивая его экспрессию с экспрессией гена, который не является маркером, например гена домашнего хозяйства, экспрессируемого конститутивно. Подходящие гены для нормирования включают гены домашнего хозяйства, такие как ген актина или гены, специфичные для клеток эпителия. Такое нормирование позволяет сравнить уровень экспрессии в одной пробе, например, в пробе субъекта, с уровнем в другой пробе, например, нераковой пробе, или провести сравнение между пробами из разных источников.

В качестве альтернативы уровень экспрессии можно выражать как относительный уровень экспрессии. Для определения относительного уровня экспрессии маркера, уровень экспрессии указанного маркера определяют для 10 или более проб клеток из нормальных изолятов относительно раковых изолятов, или даже для 50 или более проб, перед определением уровня экспрессии для рассматриваемой пробы. Средний уровень экспрессии каждого из анализируемых генов определяют в большем числе проб, и его применяют в качестве исходного уровня экспрессии указанного маркера. Уровень экспрессии указанного маркера, определенный в тестируемой пробе (абсолютный уровень экспрессии), затем делят на средний показатель экспрессии, полученный для данного маркера. Это позволяет вывести относительный уровень экспрессии.

Согласно определенному варианту реализации пробы, применяемые при определении исходного уровня, взяты из раковых клеток или из нормальных клеток ткани того же типа. Применение уровня экспрессии, выявленного в нормальных тканях, в качестве среднего показателя экспрессии позволяет проверить, является ли анализируемый маркер специфичным для той ткани, из которой были получены указанные клетки (по сравнению с нормальными клетками). Кроме того, если накапливается больше данных, можно перепроверять средний уровень экспрессии, что дает более точные показатели средней экспрессии на основании объединенных данных. Данные об экспрессии,

полученные для нормальных клеток, дают среднее для ранжирования тяжести состояния при раке.

Согласно другому варианту реализации экспрессию маркера оценивают путем приготовления геномной ДНК или мРНК/кДНК (т.е., транскрибируемого полинуклеотида) из клеток в пробе субъекта, и путем гибридизации указанной геномной ДНК или мРНК/кДНК с эталонным полинуклеотидом, который комплементарен полинуклеотиду, содержащему указанный маркер, и его фрагментам. Перед гибридизацией с эталонным полинуклеотидом кДНК необязательно можно амплифицировать с применением любого из многочисленных способов полимеразной цепной реакции. Экспрессию одного или более маркеров можно определять подобным образом при помощи количественной ПЦР (КПЦР), оценивая уровень экспрессии указанного маркера (маркеров). В качестве альтернативы для определения существования мутированного маркера у субъекта можно применять любой из многих известных способов определения мутаций (например, делеций одиночных нуклеотидов).

Согласно похожим вариантам реализации смесь транскрибированных нуклеотидов, полученных из указанной пробы, вступает в контакт с субстратом, к которому, кроме того, присоединен полинуклеотид, комплементарный или гомологичный по меньшей мере части маркера согласно настоящему изобретению (например, комплементарность или гомологичность охватывает по меньшей мере 7, по меньшей мере 10, по меньшей мере 15, по меньшей мере 20, по меньшей мере 25, по меньшей мере 30, по меньшей мере 40, по меньшей мере 50, по меньшей мере 100, по меньшей мере 500 или более остатков нуклеотидов). Если полинуклеотиды, комплементарные или гомологичные маркеру согласно настоящему изобретению, можно определять на указанном субстрате дифференциально (например, можно определять при помощи разных хромофоров или флуорофоров, или фиксировать в разных избранных положениях), то уровни экспрессии множества маркеров можно оценивать одновременно с применением одного субстрата (например, микроматрица «генных чипов», состоящая из полинуклеотидов, иммобилизованных в избранных положениях). Когда применяют способ оценки экспрессии маркера, который основан на гибридизации одной нуклеиновой кислоты с другой, указанную гибридизацию можно проводить при строгих условиях гибридизации.

Согласно другому варианту реализации применяют сочетание способов оценки экспрессии маркера.

Поскольку композиции, наборы и способы согласно настоящему изобретению основаны на определении различий уровня экспрессии или числа копий одного или более маркеров согласно настоящему изобретению, при некоторых вариантах реализации уровень экспрессии или число копий указанного маркера должны быть значительно выше, чем нижний предел определения способа, применяемого для оценки экспрессии или числа копий по крайней мере в одной из здоровых клеток и раковых клеток.

3. Способы оценки экспрессируемого белка

Активность или уровень белка-маркера можно также определять и/или оценивать количественно путем определения или количественной оценки экспрессируемого полипептида. Указанный полипептид можно определять и оценивать его количество при помощи любого из многих способов, хорошо известных специалисту в данной области техники. Они могут включать аналитические биохимические способы, такие как электрофорез, капиллярный электрофорез, высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ), тонкослойная хроматография (ТСХ), супердиффузионная хроматография и подобные, или разные иммунологические способы, такие как реакция

преципитации в жидкости или геле, иммунодиффузия (одиночная или двойная), иммуноэлектрофорез, радиоиммуноанализ (РИА), твердофазный иммуноферментный анализ (ELISA), иммунофлуоресцентный анализ, Вестерн-блоттинг, иммуногистохимические способы и подобные. Специалист в данной области техники может без труда адаптировать известные способы определения белков/антител для применения при определении, экспрессируют ли клетки маркер согласно настоящему изобретению.

Еще одним агентом для определения полипептида согласно настоящему изобретению является антитело, способное связываться с полипептидом, соответствующим маркеру согласно настоящему изобретению, например, антитело с поддающейся определению меткой. Антитела могут быть поликлональными или моноклональными. Можно применять интактное антитело или его фрагмент (например, Fab or F(ab')₂). Термин «меченный» применительно к зонду или антителу должен включать прямое мечение указанного зонда или антитела посредством присоединения (т.е., образования физической связи) определяемого вещества к указанному зонду или антителу, а также не прямое мечение указанного зонда или антитела посредством реагирования с другим реагентом, который подвергли непосредственному мечению. Примеры непрямого мечения включают определение первичного антитела при помощи меченого флуоресцентной меткой вторичного антитела и конечного мечения ДНК-зонда биотином такого, что его можно было бы определить по стрептавидину с флуоресцентной меткой.

Согласно еще одному варианту реализации к указанному антителу присоединяют метку, например, антитело, меченное радиоактивным веществом, хромофором, флуорофором или меткой-ферментом. Согласно еще одному варианту реализации применяют производное антитела (например, антитело, конъюгированное с субстратом, с белком или с лигандом из пары белок-лиганд {например, биотин-стрептавидин}) или фрагмент антитела (например, одноцепочечное антитело, изолированный гипервариабельный домен антитела, др.), которые связываются специфически с белком, соответствующим указанному маркеру, таким, как белок, кодируемый открытой рамкой считывания, соответствующей указанному маркеру, или таким, как белок, который подвергся полностью или частично своим обычным посттрансляционным модификациям.

Термин «иммуногистохимия» или «ИГХ» относится к способу локализации антигенов (например, белков) в клетках среза ткани с применением принципа специфического связывания антител с антигенами в биологических тканях. Иммуногистохимическое окрашивание широко применяют при диагностическом выявлении аномальных клеток, таких как клетки, обнаруживаемые в раковых опухолях. Специфические молекулярные маркеры характерны для конкретных клеточных событий, таких как пролиферация или гибель клетки (апоптоз). ИГХ широко применяют для того, чтобы получить представление о распределении и локализации биологических маркеров и дифференциальной экспрессии белков в разных частях биологической ткани.

Визуализации взаимодействия антитело-антиген можно достигнуть несколькими путями. Самый распространенный вариант таков, что антитело конъюгируют с ферментом, таким как пероксидаза, который может катализировать дающую окраску реакцию. В качестве альтернативы, к указанному антителу также можно присоединять метку-флуорофор, такую как флуоресцеин, родамин, DyLight Fluor или Alexa Fluor.

Белки из клеток можно выделять при помощи технологий, которые хорошо известны специалистам в данной области техники. Применяемые способы выделения белков могут быть, например, такие, как описаны у Harlow and Lane (Harlow and Lane, 1988, Antibodies: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor,

New York).

Согласно одному формату антитела, или фрагменты антител, можно применять при осуществлении способов, таких как Вестерн-блоттинг или флуоресцентные технологии, для определения экспрессируемых белков. При таких вариантах применения можно

5 иммобилизовать либо антитело, либо белки на твердой подложке. Подходящие твердофазные подложки или носители включают любую подложку, которая способна связываться с антигеном или с антителом. К хорошо известным подложкам или носителям можно отнести стекло, полистирол, полиэтилен, декстран, нейлон, амилазы, природную и модифицированную целлюлозу, полиакриламиды, габбро и магнетит.

10 Специалист в данной области техники должен знать многие другие подходящие носители для связывания антитела или антигена, и сможет адаптировать такую подложку для применения в рамках настоящего изобретения. Например, белок, выделенный из клетки, можно загрузить на полиакриламидный гель для электрофореза и иммобилизовать на твердофазной подложке, такой как нитроцеллюлоза. Затем

15 указанную подложку отмывают подходящим буфером, после чего обрабатывают антителом с поддающейся определению меткой. Затем указанную подложку можно отмыть повторно указанным буфером, чтобы удалить несвязавшееся антитело. Количество связанной метки на твердой подложке затем можно определять традиционными способами. Способы определения белков с применением технологий

20 электрофореза хорошо известны специалистам в данной области техники (для общего обзора см. R. Scopes (1982) Protein Purification, Springer-Verlag, N.Y.; Deutscher, (1990) Methods in Enzymology Vol.182: Guide to Protein Purification, Academic Press, Inc., N.Y.).

Согласно еще одному варианту реализации для определения и количественного анализа присутствия полипептида в пробе применяют Вестерн-блоттинг. Данная

25 технология, как правило, включает разделение белков в пробе посредством гелевого электрофореза в зависимости от их молекулярной массы, перенос разделенных белков на твердую подложку (такую как фильтр из нитроцеллюлозы, фильтр из нейлона или фильтр из производных нейлона) и инкубирование указанной пробы с антителами, которые специфически связываются с полипептидом. Антитела к полипептиду

30 специфически связываются с указанным полипептидом на твердой подложке. К указанным антителам можно присоединять метку напрямую или, в качестве альтернативы, их можно впоследствии определять при помощи меченных антител (например, меченные античеловеческие антитела овцы), которые специфически связываются с анти-полипептидом.

35 Согласно еще одному варианту реализации указанный полипептид определяют при помощи иммунологического анализа. Применяемый в настоящей заявке термин «иммунологический анализ» относится к анализу, при котором применяют антитело для специфического связывания с анализируемым веществом. Иммунологический анализ, таким образом, характеризуется определением специфического связывания

40 полипептида с анти-антителом, в противоположность применению других физических и химических свойств для выделения, направления и количественной оценки анализируемого вещества.

Указанный полипептид определяют и/или проводят его количественный анализ с применением разных хорошо известных вариантов анализа иммунологического

45 связывания (см., например. Патент США №4366241 (включен в настоящую заявку посредством ссылки), 4376110 (включен в настоящую заявку посредством ссылки), 4517288 (включен в настоящую заявку посредством ссылки) и 4837168 (включен в настоящую заявку посредством ссылки)). Для обзора по общим принципам

иммунологического анализа см. также Asai (1993) *Methods in Cell Biology* Volume 37: *Antibodies in Cell Biology*, Academic Press, Inc. New York; Stites & Terr (1991) *Basic and Clinical Immunology* 7th Edition.

При анализе иммунологического связывания (или иммунологическом анализе) обычно применяют «агент захвата» для специфического связывания с анализируемым веществом (полипептидом или последующим продуктом) и, часто, для его иммобилизации. Агент захвата представляет собой частицу, которая специфически связывается с анализируемым веществом. Согласно еще одному варианту реализации агентом захвата является антитело, которое специфически связывается с полипептидом. Указанное антитело (анти-пептид) можно получить любым из множества способов, хорошо известных специалистам в данной области техники.

Также часто при иммунологическом анализе применяют агент для мечения для специфического связывания и мечения комплекса, образуемого при связывании агента захвата и анализируемого вещества. Агент для мечения может быть сам одной из частиц, содержащих комплекс антитело/анализируемое вещество. Так, агентом для мечения может быть меченный полипептид или меченное антитело. В качестве альтернативы агентом-меткой может быть третья частица, такая как другое антитело, которое специфически связывается с комплексом антитело/полипептид.

Согласно одному варианту реализации агентом для мечения может быть второе антитело человека, содержащее метку. В качестве альтернативы указанное второе антитело может не содержать метки, но оно может в свою очередь быть связано с третьим меченным антителом, специфичным к антителам того вида, из которого было получено второе антитело. Второе антитело можно модифицировать поддающимся определению веществом, например, биотином, с которым может специфически связываться третья меченная молекула, такая как меченный ферментом стрептавидин.

В качестве агента для мечения также можно применять другие белки, способные к специфическому связыванию константных областей иммуноглобулинов, такие как белок А и белок G. Указанные белки в норме являются компонентами клеточной стенки стрептококковых бактерий. Они проявляют высокую неиммуногенную активность в отношении константных областей иммуноглобулинов из разных видов (для общего обзора см. Kronval, et al. (1973) *J. Immunol.*, 111: 1401-1406, и Akerstrom (1985) *J. Immunol.*, 135:2589-2542).

Как указывалось выше, иммунологический анализ, направленный на определение и/или количественный анализ полипептида, может принимать разные формы, хорошо известные специалистам в данной области техники.

Например, иммунологический анализ, направленный на определение полипептида, может быть конкурентным или неконкурентным. Неконкурентный иммунологический анализ - это анализ, при котором количество захваченного анализируемого вещества определяют напрямую. Например, при «сэндвич-анализе» агент захвата (антитело к пептиду) может связываться непосредственно с твердым субстратом, на котором он иммобилизован. Такие иммобилизованные антитела затем захватывают полипептид, присутствующий в тестируемой пробе. Иммобилизованный таким образом полипептид затем связывается агентом для мечения, таким как второе антитело человека, содержащее метку.

При конкурентном анализе количество анализируемого вещества (полипептида), присутствующего в пробе, измеряют косвенно на основании измеренного количества добавляемого (экзогенного) анализируемого вещества (полипептида), замещаемого (или вытесняемого) на агенте захвата (антитела к пептиду) анализируемым веществом,

присутствующим в указанной пробе. При одном варианте конкурентного анализа известное количество, в данном случае, полипептида добавляют в пробу, и затем проба контактирует с агентом захвата. Количество полипептида, связавшегося с указанным антителом, обратно пропорционально концентрации полипептида, присутствующего в указанной пробе.

Согласно еще одному варианту реализации указанное антитело иммобилизуют на твердом субстрате. Количество полипептида, связавшегося с указанным антителом, можно определить, измерив количество полипептида, присутствующего в комплексе полипептид/антитело, или, в качестве альтернативы, измерив количество оставшегося не образовавшего комплекс полипептида. Количество полипептида можно определить путем получения меченного полипептида.

При осуществлении вариантов анализа, описываемых в настоящей заявке, подсчет результатов (как положительный, или отрицательный, или количество полипептида) проводят в соответствии со стандартными способами, хорошо известными специалисту в данной области техники. Конкретный способ подсчета зависит от формата анализа и выбора метки. Например, при Вестерн-блоттинге подсчет результатов можно проводить путем визуализации окрашенного продукта, полученного при присоединении ферментной метки. Явно видная окрашенная полоса или пятно на соответствующей молекулярной массе засчитывается как положительный результат, а отсутствие явно видной полосы или пятна засчитывается как отрицательный результат. Интенсивность указанных полосы или пятна может дать количественную меру уровня полипептида.

Антитела для применения в разных вариантах иммунологического анализа, описываемых в настоящей заявке, можно получить, как описано в настоящей заявке.

Согласно еще одному варианту реализации уровень (активность) оценивают путем измерения ферментной активности продукта указанного гена. Способы оценки активности ферментов хорошо известны специалисту в данной области техники.

Технологии определения *in vivo* белка-маркера включают введение субъекту меченного антитела, направленного против указанного белка. Например, указанное антитело можно пометить радиоактивным маркером, присутствие и локализация которого у субъекта можно определить при помощи стандартных технологий.

Определенные маркеры, идентифицируемые при помощи способов согласно настоящему изобретению, могут быть секретируемыми белками. Специалисту в данной области техники будет несложно определить, является ли конкретный белок-маркер секретируемым белком. Чтобы это определить, указанный белок-маркер экспрессируют, например, в клетке млекопитающего, например в линии клеток человека, отбирают внеклеточную жидкость и оценивают присутствие или отсутствие указанного белка во внеклеточной жидкости (например, при помощи меченного антитела, которое специфически связывается с указанным белком).

Далее приводится пример способа, который можно применять для определения секреции белка. Приблизительно 8×10^5 клеток 293Т инкубируют при 37°C в лунках, содержащих питательную среду (модифицированную по способу Дульбекко среду Игла {DMEM} с добавлением 10% эмбриональной телячьей сыворотки) в атмосфере с 5% (объемные проценты) CO₂ и 95% воздуха до приблизительно 60-70% слияния. Затем указанные клетки трансфецируют стандартной смесью для трансфекции, содержащей 2 микрограмма ДНК, включающей вектор экспрессии, кодирующей указанный белок, и 10 микролитров LipofectAMINE™ («GIBCO/BRL», каталожный номер 18342-012) на лунку. Смесью для трансфекции выдерживают приблизительно 5 часов, а затем заменяют свежей питательной средой в воздушной атмосфере. Каждую лунку аккуратно

промывают дважды средой DMEM, не содержащей метионина или цистеина («DMEM-МС»; ICN каталожный номер 16-424-54). В каждую лунку добавляют приблизительно 1 миллилитр среды DMEM-МС и приблизительно 50 микроюри реагента Trans-³⁵S™ («ICN», каталожный номер 51006). Лунки инкубируют при атмосфере с 5% CO₂, как
 5 было описано выше, и инкубируют при 37°C в течение избранного периода. После инкубации 150 микролитров кондиционированной среды отбирают и центрифугируют с целью удаления свободно плавающих клеток и остатков. Присутствие указанного белка в надосадочной жидкости указывает на то, что данный белок секретируется.

Следует принимать во внимание, что пробы, взятые у субъекта, например, проба, содержащая мокроту, бронхоальвеолярный смыв, плевральный выпот, ткань, цельную кровь, сыворотку, плазму, соскоб со слизистой щеки, слюну, спинномозговую жидкость, мочу, кал и костный мозг, может содержать в себе клетки, особенно когда указанные клетки раковые, и, более конкретно, когда указанное раковое заболевание метастазирует, и, таким образом, их можно применять при осуществлении способов
 10 согласно настоящему изобретению. Конечно, пробу указанных клеток можно подвергнуть разным хорошо известным технологиям подготовки и хранения после ее отбора (например, экстракция нуклеиновых кислот и/или белков, фиксация, хранение, замораживание, ультрафильтрация, концентрирование, выпаривание, центрифугирование и др.) перед проведением оценки уровня экспрессии указанного маркера в пробе. Так,
 20 композиции, наборы и способы согласно настоящему изобретению можно применять для определения экспрессии маркеров, соответствующих белкам, включающим по меньшей мере одну часть, которая экспонируется на поверхности клетки, когда клетка экспрессирует данные белки. Специалист в данной области техники может без труда
 25 определить, содержит ли белок, соответствующий конкретному маркеру, поверхностный белок. Например, для определения таких белков на целых клетках можно применять иммунологические способы, или применять хорошо известные способы компьютерного секвенирования (например, программу SIGNALP; Nielsen et al., 1997, Protein Engineering, 10:1-6) для прогнозирования присутствия по меньшей мере одного внеклеточного
 30 домена (т.е., включая и секретируемые белки, и белки, обладающие по меньшей мере одним поверхностным доменом). Экспрессию маркера, соответствующего белку, обладающему по меньшей мере одной частью, экспонируемой на поверхности клетки, которая его экспрессирует, можно определять без лизирования указанной клетки (например, с применением меченного антитела, которое специфически связывается с
 35 поверхностным доменом белка).

Также настоящее изобретение включает наборы для определения полипептида или нуклеиновой кислоты, соответствующих маркеру согласно настоящему изобретению, в биологической пробе, например, в пробе, содержащей мокроту, бронхоальвеолярный смыв, плевральный выпот, ткань, цельную кровь, сыворотку, плазму, соскоб со
 40 слизистой оболочки щеки, слюну, спинномозговую жидкость, мочу, кал и костный мозг. Такие наборы можно применять для определения, страдает ли субъект раком, или есть ли у него повышенный риск развития ракового заболевания. Например, указанный набор может содержать меченное соединение или агент, позволяющий определить полипептид или мРНК, кодирующий полипептид, соответствующий маркеру
 45 согласно настоящему изобретению, в биологической пробе, и средства для определения количества указанного полипептида или мРНК в указанной пробе (например, антитело, которое связывается с указанным полипептидом или олигонуклеотидный зонд, который связывается с ДНК или мРНК, кодирующими указанный полипептид). Также наборы могут включать инструкции по интерпретированию результатов, полученных при

помощи указанного набора.

В случае наборов, основанных на антителах, указанные наборы могут включать, например: (1) первое антитело (например, присоединенное к твердой подложке), которое связывается с полипептидом, соответствующим маркеру согласно настоящему изобретению; и, необязательно (2) второе, отличное от первого, антитело, которое связывается либо с указанным полипептидом, либо с первым антителом, и конъюгировано с меткой, поддающейся определению.

В случае наборов, основанных на олигонуклеотидах, указанные наборы могут включать, например: (1) олигонуклеотид, например, олигонуклеотид с поддающейся определению меткой, который гибридизуется с нуклеиновой кислотой, кодирующей полипептид, соответствующий маркеру согласно настоящему изобретению, или (2) пару праймеров, применимых при амплификации молекулы нуклеиновой кислоты, соответствующей маркеру согласно настоящему изобретению. Также указанный набор может включать, например, буфер, консервант или стабилизатор белков. Дополнительно указанный набор может содержать компоненты, необходимые для определения поддающейся определению метки (например, фермента или субстрата). Также указанный набор может содержать контрольную пробу или серию контрольных проб, которые можно оценивать и сравнивать с тестируемой пробой. Каждый компонент указанного набора может быть заключен в отдельный контейнер, и все указанные контейнеры могут находиться в одной упаковке, вместе с инструкцией по интерпретации результатов анализа, проводимого при помощи указанного набора.

4. Способы оценки структурных изменений

Также согласно настоящему изобретению предложен способ оценки присутствия структурного изменения, например, мутации.

Еще одним способом определения является аллель-специфичная гибридизация с применением зондов, перекрывающихся с полиморфным сайтом и содержащих приблизительно 5, приблизительно 10, приблизительно 20, приблизительно 25 или приблизительно 30 нуклеотидов вокруг полиморфной области. Согласно еще одному варианту реализации настоящего изобретения несколько зондов, способных к специфической гибридизации с мутациями, присоединят к твердой подложке, например, «чип». Олигонуклеотиды можно присоединить к твердой подложке при помощи разных способов, включая литографию. Например, чипы, которые могут удерживать до 250000 олигонуклеотидов («GeneChip», Affymetrix™), также называемые «матрицами ДНК-зондов», описаны у Cronin et al. (1996) Human Mutation 7:244. Согласно одному варианту реализации чип содержит все мутации по меньшей мере одной полиморфной области гена. Указанная твердофазная подложка затем вступает в контакт с тестируемой нуклеиновой кислотой, и определяют гибридизацию со специфическими зондами. Соответственно, можно идентифицировать сущность нескольких мутаций одного или более генов в простом эксперименте с гибридизацией. Например, в одном эксперименте с гибридизацией можно определить сущность мутации нуклеотидного полиморфизма в 5'-вышележащем регуляторном элементе.

При осуществлении других способов определения перед идентификацией мутации необходимо сначала амплифицировать по меньшей мере часть маркера. Амплификацию можно проводить, например, посредством ПЦР и/или ЛЦР (см. Wu and Wallace (1989) Genomics 4:560), в соответствии со способами, известными в технике. Согласно одному варианту реализации геномную ДНК подвергают действию двух праймеров для ПЦР и амплификации с числом циклов, достаточным для получения требуемого количества амплифицированной ДНК. Согласно некоторым вариантам реализации указанные

праймеры располагаются на расстоянии от 150 до 350 пар оснований.

Альтернативные способы амплификации включают: самоподдерживающуюся репликацию последовательностей (Guatelli, J.C. et al., (1990) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 87:1874-1878), системы транскрипционной амплификации (Kwoh et al., 1989, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86:1173-1177), Q-бета-репликазу (Lizardi et al., 1988, Bio/Technology 6:1197) и самоподдерживающуюся репликацию последовательностей (Guatelli, J.C. et al., (1989) Proc. Nat. Acad. Sci. 87:1874), а также амплификацию, основанную на нуклеиновых кислотах (NABSA) или любой другой способ амплификации нуклеиновых кислот, после которого проводят определение амплифицированных молекул при помощи технологий, хорошо известных специалистам в данной области техники. Такие схемы определения особенно применимы при определении молекул нуклеиновых кислот, если такие молекулы присутствуют в очень малых количествах.

Согласно одному варианту реализации можно применять любую из множества реакций секвенирования, известных в технике, для прямого определения последовательности по меньшей части маркера и определения мутаций путем сравнения последовательности из пробы с соответствующей эталонной (контрольной) последовательностью. Примеры реакций секвенирования включают реакции, основанные на технологиях, разработанных Maxam and Gilbert (Proc. Natl Acad Sci USA (1977) 74: 560) или Sanger (Sanger et al. (1977) Proc. Nat. Acad. Sci 74:5463). Также предполагается, что при проведении анализа пробы субъекта можно применять любую из множества процедур автоматического секвенирования (Biotechniques (1995) 19:448), включая секвенирование на основе масс-спектрометрии (например, см. Патент США №5547835 (включен в настоящую заявку посредством ссылки) и Публикацию заявки на международный патент WO 94/16101 (включена в настоящую заявку посредством ссылки) под названием «DNA Sequencing by Mass Spectrometry» автора Н. Koster; Патент США №5547835 (включен в настоящую заявку посредством ссылки) и Публикацию заявки на международный патент WO 94/21822 (включена в настоящую заявку посредством ссылки) под названием «DNA Sequencing by Mass Spectrometry Via Exonuclease Degradation» автора Н. Koster, а также Патент США №5605798 (включен в настоящую заявку посредством ссылки) и Публикацию заявки на международный патент PCT/US96/03651 (включена в настоящую заявку посредством ссылки) под названием «DNA Diagnostics Based on Mass Spectrometry» автора Н. Koster; Cohen et al. (1996) Adv Chromatogr 36:127-162; and Griffin et al. (1993) Appi Biochem Biotechnol 38:147-159). Специалистам в данной области техники должно быть очевидно, что для определенных вариантов реализации требуется определить существование только одного, двух или трех оснований нуклеиновой кислоты в реакции секвенирования. Например, можно получать А-сигнал или подобный, при котором определяют только один нуклеотид.

Некоторые другие способы секвенирования раскрываются, например, в Патенте США №5580732 (включен в настоящую заявку посредством ссылки) под названием «Method of DNA sequencing employing a mixed DNA-polymer chain probe» и в Патенте США №5571676 (включен в настоящую заявку посредством ссылки) под названием «Method for mismatch-directed in vitro DNA sequencing».

В некоторых случаях присутствие специфического аллеля маркера в ДНК, взятой у субъекта, можно показать при помощи рестрикционного анализа. Например, специфический нуклеотидный полиморфизм может приводить к тому, что последовательность нуклеотидов будет содержать сайт рестрикции, который отсутствует в последовательности нуклеотидов с другой мутацией.

Согласно дополнительному варианту реализации для определения оснований,

спаренных вопреки принципу комплементарности, в РНК/РНК, ДНК/ДНК или в гетеродуплексах РНК/ДНК можно применять защиту от расщепляющих агентов (таких как нуклеаза, гидроксилламин или тетраоксид осмия с пиперидином) (Myers, et al. (1985) Science 230:1242). Обычно технологию «расщепления ошибочно спаренных нуклеотидов» начинают осуществлять с получения гетеродуплексов, образованных при гибридизации контрольной нуклеиновой кислоты, которая может необязательно быть меченной, например, РНК или ДНК, содержащей последовательность нуклеотидов маркера мутации, с тестируемой нуклеиновой кислотой, например, РНК или ДНК, полученной из пробы ткани. Указанные двухцепочечные дуплексы обрабатывают агентом, который расщепляет одноцепочечные области указанного дуплекса, такие, как дуплексы, образованные в местах ошибочного спаривания оснований между контрольной и тестируемой нитями. Например, дуплексы РНК/ДНК можно обрабатывать рибонуклеазой, и гибриды ДНК/ДНК обрабатывают нуклеазой S1 в целях ферментативного расщепления областей ошибочного спаривания. Согласно другим вариантам реализации дуплексы либо ДНК/ДНК, либо РНК/РНК можно обрабатывать гидроксилламином или тетраоксидом осмия с пиперидином в целях расщепления областей ошибочного спаривания. После расщепления областей ошибочного спаривания образовавшийся материал затем разделяют по размеру в денатурирующем полиакриламидном геле, чтобы определить, содержат ли контрольная и тестируемая нуклеиновые кислоты идентичные последовательности нуклеотидов, или по каким нуклеотидам они различаются. Например, см. Cotton et al (1988) Proc. Natl Acad Sci USA 85:4397; Saleeba et al (1992) Methods Enzymol. 217:286-295. Согласно еще одному варианту реализации к контрольной и тестируемой нуклеиновой кислоте в целях определения присоединяют метки.

Согласно еще одному варианту реализации мутацию можно идентифицировать посредством денатурирующей высокоэффективной жидкостной хроматографии (ДВЭЖХ) (Oefher and Underbill, (1995) Am. J. Human Gen. 57:Suppl. A266). ДВЭЖХ основана на ион-парной хроматографии с обращенной фазой, направленной на определение гетеродуплексов, которые генерируются в ходе амплификации при ПЦР фрагментов от субъектов, являющихся гетерозиготами по конкретному нуклеотидному локусу в данном фрагменте (Oefher and Underbill (1995) Am. J. Human Gen. 57:Suppl. A266). Обычно продукты ПЦР получают при помощи праймеров для ПЦР, фланкирующих рассматриваемую ДНК. Проводят анализ ДВЭЖХ, и полученные хроматограммы анализируют с целью идентификации изменений или делеций пар оснований на основании специфических хроматографических профилей (см. O'Donovan et al. (1998) Genomics 52: 44-49).

Согласно другому варианту реализации для идентификации типа мутации в маркере оценивают изменения электрофоретической подвижности. Например, одноцепочечный конформационный полиморфизм (SSCP) можно применять для определения различий электрофоретической подвижности между мутантной нуклеиновой кислотой и нуклеиновой кислотой дикого типа (Orita et al. (1989) Proc Natl. Acad. Sci USA 86:2766, также см. Cotton (1993) Mutat Res 285:125-144; и Hayashi (1992) Genet Anal Tech Appl 9:73-79). Одноцепочечные фрагменты ДНК тестируемой и контрольной нуклеиновых кислот денатурируют и дают им ренатурировать. Вторичная структура одноцепочечных нуклеиновых кислот варьирует в зависимости от последовательности, и итоговое изменение электрофоретической подвижности позволяет определить замены даже одного нуклеотида. К указанным фрагментам ДНК можно присоединять метки или определять их при помощи зондов с метками. Чувствительность указанного анализа

можно повысить, применяя РНК (вместо ДНК), у которой вторичная структура более чувствительна к изменениям в последовательности. Согласно еще одному варианту реализации применяемый способ основан на анализе гетеродуплексов с разделением молекул двухцепочечных гетеродуплексов на основе изменений электрофоретической подвижности (Keen et al. (1991) Trends Genet 7:5).

Согласно еще одному варианту реализации сущность мутации полиморфной области определяют путем анализа подвижности нуклеиновой кислоты, содержащей указанную полиморфную область, в полиакриламидном геле с градиентом денатурирующего агента, такой анализ называется денатурирующим градиентным гель-электрофорезом (DGGE) (Myers et al. (1985) Nature 313:495). Когда в качестве способа анализа применяют DGGE, ДНК следует модифицировать, чтобы она не денатурировала полностью, например, путем добавления посредством ПЦР «GC-зажима», состоящего из приблизительно 40 по высокоплавкой богатой GC области ДНК. Согласно дополнительному варианту реализации вместо градиента денатурирующего агента для идентификации различий в подвижности контрольной и тестируемой ДНК применяют градиент температуры (Rosenbaum and Reissner (1987) Biophys Chem 265:1275).

Примеры технологий определения различий по меньшей мере по одному у нуклеотиду между двумя нуклеиновыми кислотами включают селективную гибридизацию олигонуклеотидов, селективную амплификацию или селективное удлинение праймеров, но не ограничиваются ими. Например, можно приготовить олигонуклеотидные зонды, в которых известный полиморфный нуклеотид расположен в центре (аллель-специфичные зонды), и затем гибридизовать их с целевой ДНК при условиях, которые допускают гибридизацию, только если найдено полное соответствие (Saiki et al. (1986) Nature 324:163; Saiki et al (1989) Proc. Natl Acad. Sci USA 86:6230; и Wallace et al. (1979) Nucl. Acids Res. 6:3543). Такие технологии гибридизации аллель-специфичных олигонуклеотидов можно применять для одновременного определения нескольких замен нуклеотидов в разных полиморфных областях маркера. Например, олигонуклеотиды, содержащие последовательности нуклеотидов специфических мутаций, присоединяют к гибридизующей мембране, и затем указанную мембрану гибридизуют с меченной тестируемой нуклеиновой кислотой. Анализ сигнала гибридизации позволяет выявить сущность нуклеотидов в тестируемой нуклеиновой кислоте.

В качестве альтернативы совместно с настоящим изобретением можно применять технологию аллель-специфичной амплификации, которая зависит от селективной ПЦР-амплификации. Олигонуклеотиды, применяемые в качестве праймеров для специфичной амплификации, могут содержать рассматриваемую мутацию в центре молекулы (так, чтобы амплификация зависела от дифференциальной гибридизации) (Gibbs et al (1989) Nucleic Acids Res. 17:2437-2448) или на самой дальней точке 3'-конца одного праймера, где при соответствующих условиях ошибочное спаривание может прервать или уменьшить полимеразное удлинение (Prossner (1993) Tibtech 11:238; Newton et al. (1989) Nucl. Acids Res. 17:2503). Также данную технологию называют «PROBE» или «Probe Oligo Base Extension». Кроме того, может быть желательно ввести новый сайт рестрикции в область указанной мутации для возможности определения на основании расщепления (Gasparini et al (1992) Mol. Cell Probes 6:1).

Согласно еще одному варианту реализации идентификацию указанной мутации осуществляют посредством лигирования олигонуклеотидных зондов (OLA), как описано, например, в Патенте США №4998617 и у Landegren, U. et al., (1988) Science 241:1077-1080. В протоколе OLA применяют два олигонуклеотида, которые разработаны так, чтобы была возможна их гибридизация со смежными последовательностями одной

цепи целевой молекулы. Один из указанных олигонуклеотидов соединяют с маркером разделения, например, биотинилируют, а к другому присоединяют поддающуюся определению метку. Если в целевой молекуле обнаруживается полностью комплементарная последовательность, указанные олигонуклеотиды будут

5 гибридизоваться так, что их концы соединяться и образуют субстрат лигирования. Затем лигирование позволяет восстановить меченный олигонуклеотид при помощи авидина или другого лиганда биотина. Nickerson, D. A. et al. описали способ определения нуклеиновых кислот, который сочетает в себе признаки ПЦР и OLA (Nickerson, D. A. et al., (1990) Proc. Natl. Acad. Sci. (U.S.A.) 87:8923-8927). Согласно указанному способу
10 ПЦР применяют для достижения экспоненциальной амплификации целевой ДНК, которую затем определяют при помощи OLA.

Также согласно настоящему изобретению предложены способы определения однонуклеотидных полиморфизмов в маркере. Поскольку однонуклеотидные полиморфизмы входят в состав сайтов изменения, фланкированных областями с
15 неизменной последовательностью, их анализ требует только лишь определения сущности одного нуклеотида, находящегося в сайте изменения, и нет необходимости определять полную последовательность гена для каждого субъекта. Было разработано несколько способов для облегчения анализа таких однонуклеотидных полиморфизмов.

Согласно одному варианту реализации полиморфизм одного основания можно
20 определить при помощи специализированного устойчивого к экзонуклеазе нуклеотида, как раскрывается, например, у Mundy, C.R. (Патент США №4656127 (включен в настоящую заявку посредством ссылки)). В соответствии с указанным способом праймеру, комплементарному аллельной последовательности непосредственно с 3'-конца до полиморфного сайта, позволяют гибридизоваться с целевой молекулой, взятой
25 у конкретного животного или человека. Если конкретный полиморфный сайт в целевой молекуле содержит нуклеотид, который комплементарен производному конкретного устойчивому к экзонуклеазе нуклеотиду, то такое производное будет включено в конец гибридизованного праймера. Такое включение придает праймеру устойчивость к экзонуклеазе, что делает возможным его определение. Поскольку сущность устойчивого
30 к экзонуклеазе производного в пробе известна, тот факт, что праймер приобрел устойчивость к экзонуклеазам, указывает на то, что нуклеотид, присутствующий в полиморфном сайте целевой молекулы, был комплементарен производному нуклеотида, применявшемуся в указанной реакции. Указанный способ обладает тем преимуществом, что он не требует определения больших количеств данных о посторонних
35 последовательностях.

Согласно еще одному варианту реализации настоящего изобретения для определения сущности нуклеотида полиморфного сайта применяют способ, основанный на решении (Cohen, D. et al. Французский патент 2650840; Заявка PCT № WO91/02087 (включена в
40 настоящую заявку посредством ссылки)). Как и в способе Mundy, описанном в Патенте США №4656127 (включен в настоящую заявку посредством ссылки), применяют праймер, который комплементарен последовательности аллеля непосредственно с 3'-конца до полиморфного сайта. Указанный способ позволяет определить сущность нуклеотида такого сайта при помощи меченных производных дидезоксинуклеотидов, которые, если они комплементарны указанному нуклеотиду в полиморфном сайте,
45 включают в конец указанного праймера.

Альтернативный способ, известный как генетический бит-анализ или GBA, описан у Goelet, P. et al. (Заявка PCT №92/15712 (включена в настоящую заявку посредством ссылки)). В способе Goelet, P. et al. применяют смеси меченных терминаторов и праймер,

который комплементарен указанной последовательности с 3'-конца до полиморфного сайта. Меченный терминатор, который включается, таким образом определяется и комплементарен нуклеотиду, присутствующему в указанном полиморфном сайте целевой молекулы, которую анализируют. В отличие от этого, способ Cohen et al. (Французский патент 2650840; Заявка РСТ № WO91/02087 (включена в настоящую заявку посредством ссылки)) представляет собой анализ гетерогенных фаз, при котором праймер или целевая молекула иммобилизованы на твердой фазе.

Были описаны несколько способов управляемого праймерами включения нуклеотидов для оценки полиморфных сайтов в ДНК (Komher, J. S. et al., (1989) Nucl. Acids. Res. 17: 7779-7784; Sokolov, B. P., (1990) Nucl. Acids Res. 18:3671; Syvanen, A. - C., et al., (1990) Genomics 8:684-692; Kuppuswamy, M. N. et al., (1991) Proc. Natl. Acad. Sci. (U.S.A.) 88:1143-1147; Prezant, T. R. et al., (1992) Hum. Mutat. 1:159-164; Ugozzoli, L. et al., (1992) GATA 9: 107-112; Nyren, P. (1993) et al., Anal. Biochem. 208:171-175). Указанные способов отличаются от GBA тем, что все они основаны на включении меченных дезоксинуклеотидов для определения различий между основаниями в полиморфном сайте. При таком формате, поскольку указанный сигнал пропорционален количеству включенных дезоксинуклеотидов, полиморфизмы, которые возникают при проведении циклов с тем же нуклеотидом, могут приводить к обнаружению сигнала, пропорционального длительности цикла (Syvanen, A.C., et al., (1993) *Atteg. J. Hum. Genet.* 52:46-59).

Для определения сущности мутации полиморфной области, расположенной в кодирующей области маркера, можно применять и некоторые другие способы, которые были описаны выше. Например, идентификацию мутации, которая кодирует мутантный маркер, можно проводить при помощи антитела, специфически распознающего указанный мутантный белок, например, при иммуногистохимическом способе или иммунопреципитации. Антитела к маркерам дикого типа или мутантным формам маркеров можно получить в соответствии со способами, известными в технике.

В качестве альтернативы, можно измерить активность маркера, такую как связывание с лигандом маркера. Анализ связывания известен в технике и основан, например, на получении клеток у субъекта и проведении экспериментов по связыванию с меченым лигандом с целью определения, отличается ли связывание с мутантной формой белка от связывания с указанным белком дикого типа.

VI. Примеры способов скрининга, основанных на ингибировании ALK

Также согласно настоящему изобретению предложены способы идентификации веществ, которые ингибируют полипептиды ALK (например, полипептиды EML4-ALK), тем самым подавляя пролиферацию, рост, дифференцировку, апоптоз и/или метастазирование раковых клеток. Указанные способы включают осуществление контакта тестируемого соединения с полипептидом ALK (например, полипептидами, приведенными в Таблице 1). Согласно некоторым вариантам реализации полипептид ALK включает вариант (например, полипептиды, перечисленные в Таблице 1), который повышает риск частичного ингибирования или нечувствительности к ингибированию одним или более ингибиторами ALK. Соединение, которое является ингибитором метастазирования опухоли, можно идентифицировать путем определения эффекта тестируемого соединения на активность варианта полипептида ALK (включая, например, связывание лиганда, такое как связывание АТФ и/или тирозинкиназная активность). В частном примере тестируемое вещество, которое ингибирует тирозинкиназную активность, по сравнению с активностью в отсутствие указанного тестируемого соединения, позволяют идентифицировать указанное тестируемое вещество как

ингибитор метастазирования опухоли. Если указанное соединение ингибирует активность варианта ALK, также можно оценивать его способность к подавлению роста опухоли и метастазирования.

В частности, активирующие тирозинкиназу мутанты, включая новые биологические маркеры согласно настоящему изобретению, перечисленные в Таблице 1 (например, мутанты ALK), применимы для идентификации соединений, которые можно применять при лечении, облегчении или профилактике новообразований, например, путем подавления или предупреждения пролиферации, роста, дифференцировки, апоптоза и/или метастазирования раковых клеток. В технике известен скрининг библиотек химических веществ с целью поиска молекул, которые могли бы модулировать, например, ингибировать, выступать в качестве антагонистов или агонистов, или имитировать действие. Указанные библиотеки химических веществ, например, могут представлять собой библиотеки пептидов, пептидомиметиков, библиотеки химически синтезированных соединений, рекомбинантных молекул, например, библиотеки фагового дисплея, и библиотеки веществ, транслируемых *in vitro*, библиотеки непептидных синтетических органических соединений.

Скрининг или создание, идентификация и селекция соответствующих высокоаффинных ингибиторов новых биологических маркеров согласно настоящему изобретению, приведенных в таблице 1 (например, мутантов ALK) можно провести при помощи разных способов. В общих чертах, они могут включать два основных принципа, но не ограничиваются ими. Один из принципов состоит в применении знаний о структуре целевого белка для разработки молекулы-кандидата, с которой он мог бы тесно взаимодействовать. Примером может служить компьютерное молекулярное проектирование, в частности, основанное на новой информации о структуре и функции, раскрываемое в настоящей заявке на Фигуре 6. Второй принцип состоит в применении комбинаторных или других библиотек молекул, на основании которых в большой библиотеке молекул проводят скрининг на аффинность к соответствующему целевому ферменту, или на способность к ингибированию активности целевого фермента. В еще одном примере можно проводить скрининг в панели антител на способность к ингибированию целевого фермента.

Некоторые варианты реализации, приводимые в настоящей заявке, основаны на определении способности конкретного соединения к ингибированию нового биологического маркера согласно настоящему изобретению, перечисленного в Таблице 1 (например, мутантов ALK). Тестируемое соединение можно оценивать на их возможную способность к лечению новообразований, либо прямо, либо косвенно путем сравнения их активности с активностью соединений с установленной полезностью при лечении новообразований. Например, способность тестируемого соединения к ингибированию связывания лиганда, такого как связывание АТФ и/или тирозинкиназная активность, в отношении новых биологических маркеров согласно настоящему изобретению, приведенных в таблице 1 (например, мутантов ALK) можно сравнивать со способностью известных ингибиторов ALK, таких как PF-02341066 and/or PDD. Согласно одному варианту реализации такие тестируемые соединения могут обладать ингибирующей способностью, которая составляет по меньшей мере 100%, по меньшей мере 99,9%, по меньшей мере 99,8%, по меньшей мере 99,7%, по меньшей мере 99,6%, по меньшей мере 99,5%, по меньшей мере 99,4%, по меньшей мере 99,3%, по меньшей мере 99,2%, по меньшей мере 99,1%, по меньшей мере 99%, по меньшей мере 98,5%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 97,5%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 96,5%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 95,5%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере

мере 93,5%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 92,5%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 91,5%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 90,5%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 89,5%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 88,5%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 87,5%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 86,5%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 85,5%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 84,5%, по меньшей мере 84%, по меньшей мере 83,5%, по меньшей мере 83%, по меньшей мере 82,5%, по меньшей мере 82%, по меньшей мере 81,5%, по меньшей мере 81%, по меньшей мере 80,5%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 79%, по меньшей мере 78%, по меньшей мере 77%, по меньшей мере 76%, по меньшей мере 75%, по меньшей мере 74%, по меньшей мере 73%, по меньшей мере 72%, по меньшей мере 71%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 69%, по меньшей мере 68%, по меньшей мере 67%, по меньшей мере 66%, по меньшей мере 65%, по меньшей мере 64%, по меньшей мере 63%, по меньшей мере 62%, по меньшей мере 61%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 59%, по меньшей мере 58%, по меньшей мере 57%, по меньшей мере 56%, по меньшей мере 55%, по меньшей мере 54%, по меньшей мере 53%, по меньшей мере 52%, по меньшей мере 51%, по меньшей мере 50% или любое значение в данном диапазоне в отношении ингибирования нового биологического маркера согласно настоящему изобретению, перечисленного в Таблице 1 (например, мутантов ALK) по сравнению с активностью известного ингибитора ALK при тех же условиях анализа. Согласно некоторым вариантам реализации клетки можно трансфецировать конструкцией, кодирующей новый биологический маркер согласно настоящему изобретению, перечисленный в Таблице 1 (например, мутанты ALK), дать им вступить в контакт с тестируемым соединением с присоединенным поддающимся определению маркером и анализировать на присутствие связанного тестируемого соединения. Согласно некоторым вариантам реализации в указанных трансфецированных клетках наблюдается связывание тестируемого соединения по сравнению с клетками, которые не были трансфецированы новым биологическим маркером согласно настоящему изобретению, перечисленным в Таблице 1 (например, мутанты ALK), и это указывает на то, что тестируемое соединение связывается с новым биологическим маркером согласно настоящему изобретению, перечисленным в Таблице 1 (например, мутанты ALK), экспрессируемым в указанных клетках. Обычно связывание указанного соединения определяют при помощи широкого спектра способов анализа, известных в технике, таких как ELISA, РИА и/или VIAcore.

Можно проводить скрининг соединений по ингибированию или другим эффектам на активность нового биологического маркера согласно настоящему изобретению, перечисленного в Таблице 1 (например, мутантов ALK) с применением экспрессируемой рекомбинантной версии указанного фермента, гомолога или ортолога, выделенных из других видов. В качестве альтернативы клетки, экспрессирующие один из новых полипептидов-биологических маркеров, можно обрабатывать тестируемым соединением, и можно определять эффект тестируемого соединения на фосфорилирование специфической мишени, например, при помощи одной из технологий, описываемых в настоящей заявке. В одном примере определяют тирозинкиназную активность. Способы определения активности, влияющей на фосфорилирование тирозинкиназы (например, ингибирование) хорошо известны специалистам в данной области техники. В некоторых примерах тирозинкиназную активность можно определять путем оценки включения меченного фосфата (такого как ^{32}P -меченный фосфат) в субстрат, который может быть фосфорилирован новым биологическим маркером согласно настоящему изобретению, перечисленным в Таблице 1 (например, мутанты ALK) (например, белок или фрагмент

пептида, особенно, из компонентов, стоящих ниже в сигнальном пути). Согласно другим вариантам реализации тирозинкиназную активность можно измерить при помощи универсального набора для определения тирозинкиназной активности (например, Универсальный набор для определения тирозинкиназной активности («Takara Bio, Inc.», Мэдисон, Висконсин); набор для анализа тирозинкиназной активности («Millipore», Биллерика, Массачусетс)).

Согласно еще одному варианту реализации предложены способы скрининга, которые основаны также на определении того, сокращает ли указанное соединение рост клеток опухоли, например, рост клеток с установленной экспрессией мутанта активированной тирозинкиназы, такого как новый биологический маркер согласно настоящему изобретению, перечисленный в Таблице 1 (например, мутанты ALK). Можно применять разные линии клеток, которые можно отбирать в зависимости от ткани, которую требуется тестировать, которые хорошо известны специалистам в данной области техники (например, клетки BA/F3). Например, хорошо охарактеризованы многие линии клеток, и их применяют, например, в Национальном институте онкологии США (NCI) в своей программе скрининга новых противораковых препаратов.

Значительное и статистически значимое подавление роста клеток опухоли, такое, как возникающее при более чем приблизительно 50% дозы 100 мкМ, 90 мкМ, 80 мкМ, 70 мкМ, 60 мкМ, 50 мкМ, 40 мкМ, 30 мкМ, 20 мкМ, 10 мкМ, 9 мкМ, 8 мкМ, 7 мкМ, 6 мкМ, 5 мкМ, 4.5 мкМ, 4 мкМ, 3.5 мкМ, 3 мкМ, 2.5 мкМ, 2 мкМ, 1.5 мкМ, 1 мкМ, 900 нМ, 850 нМ, 800 нМ, 750 нМ, 700 нМ, 650 нМ, 600 нМ, 550 нМ, 500 нМ, 450 нМ, 400 нМ, 350 нМ, 300 нМ, 250 нМ, 200 нМ, 150 нМ, 100 нМ, 95 нМ, 90 нМ, 85 нМ, 80 нМ, 75 нМ, 70 нМ, 65 нМ, 60 нМ, 55 нМ, 50 нМ, 45 нМ, 40 нМ, 35 нМ, 30 нМ, 25 нМ, 20 нМ, 15 нМ, 10 нМ, 5 нМ, 4 нМ, 3 нМ, 2 нМ, 1 нМ или менее, также указывает на то, что указанное соединение применимо при лечении новообразований. Можно определять значение ИК₅₀ (концентрация, приводящая к 50% ингибированию) и применять его в целях сравнения. Данное значение равно концентрации препарата, необходимой для угнетения роста клеток опухоли на 50% относительно контроля.

Также данные значения можно применять к другим критериям. Например, согласно другим вариантам реализации, способы скрининга, предложенные в настоящей заявке, основаны также на определении того, вызывает ли тестируемое соединение апоптоз в культурах клеток опухоли. На основании морфологических и биохимических критериев можно выделить два типа гибели клеток: некроз и апоптоз. Некроз сопровождается повышенной проницаемостью плазматической мембраны, при которой происходит отек клеток и разрыв мембраны в течение нескольких минут. Апоптоз характеризуется образованием пузырьков на мембране, конденсацией цитоплазмы и активацией эндогенных эндонуклеаз.

Апоптоз возникает в природе во время нормального жизненного цикла тканей и во время эмбрионального развития органов и тканей. Также апоптоз можно вызвать разными стимулами, включая цитотоксические Т-лимфоциты и естественные киллеры, ионизирующими излучениями определенные химиотерапевтические препараты. Предполагают, что неадекватная регуляция апоптоза играет важную роль в развитии многих патологических состояний, включая рак, СПИД или болезнь Альцгеймера и др.

Скрининг тестируемых соединений можно проводить по индукции апоптоза с применением культур клеток опухоли, выдерживаемых при условиях, описанных выше. В некоторых примерах таких способов скрининга обработка клеток тестируемым соединением основано на применении либо прекофлюэнтных, либо посткофлюэнтных

культур, и обработке в течение одного - семи дней разными концентрациями тестируемых соединений. Апоптотические клетки можно измерять как в присоединенной, так и в «плавающей» части указанных культур. Обе части отбирают путем удаления надосадочной жидкости, обработки присоединенных клеток трипсином и объединения

5
обоих препаратов после этапа центрифугирования в целях отмывки (10 минут, 2000 об/мин). После обработки тестируемым соединением культуры можно оценивать на присутствие апоптоза и некроза, например, при помощи флуоресцентной микроскопии после мечения акридиновым оранжевым и бромидом этидия. Специалистам в данной области техники известны многие способы измерения апоптотических клеток; например,

10
один способ измерения числа апоптотических клеток был описан Duke & Cohen (Curr. Prot. Immuno., Coligan et al., eds., 3.17.1-3.17.1, 1992). Например, плавающие и присоединенные клетки отбирают посредством обработки трипсина и трижды промывают в ФСБ (фосфатно-солевом буфере). Затем аликвоты клеток центрифугируют. Полученные гранулы повторно суспендируют в среде, в ФСБ готовят смесь красителей,

15
содержащую акридиновый оранжевый и бромид этидия и тщательно смешивают клетки с указанной смесью. Затем указанную смесь можно поместить на предметное стекло и просматривают в поисках морфологических признаков апоптоза. Также можно количественно оценивать апоптоз путем измерения увеличения фрагментации ДНК в клетках, которые были обработаны тестируемыми соединениями. В продаже есть

20
фотометрический иммуноферментный анализ (ИФА) для количественного определения *in vitro* гистон-ассоциированных фрагментов ДНК в цитоплазме (моно- и олигонуклеотидов), например, ELISA для определения клеточной гибели, «Boehringer Mannheim»).

Согласно дополнительному варианту реализации способы скрининга, предложенные

25
в настоящей заявке, также включают определение того, снижает ли тестируемое соединение метастазирование опухоли, например, в модели метастазирования на животных. Способы оценки метастазирования опухоли известны специалистам в данной области техники (см., например, Khanna and Hunter, Carcinogenesis 26:513-523, 2005). Одна из моделей метастазирования основана на ксенотрансплантатах человек-мышь, в случае

30
которых линии клеток рака или ткани человека трансплантируют мышам с иммунной недостаточностью (таким как мыши с ТКИД (тяжелый комбинированный иммунодефицит) или безтимусные мыши). В случае аналогичных способов линию клеток, которая была разработана с целью экспрессии нового биологического маркера согласно настоящему изобретению, перечисленный в Таблице 1 (например, мутанты

35
ALK) можно трансплантировать мышам с иммунной недостаточностью. В одном примере клетки опухоли или линии клеток вводят непосредственно в системный кровоток. Участок инъекции в значительной мере ограничивает собой участок, в котором развиваются метастазы в данных экспериментальных системах. Наиболее частым участком введения клеток опухоли, применяемым в экспериментальных моделях

40
метастазирования, является латеральная хвостовая вена у мыши, что преимущественно приводит к метастазам в легких. В отличие от этого, внутриселезеночное введение или введение в воротную вену клеток опухоли чаще всего применяют с целью развития метастазов в печени, а внутрисердечное введение клеток может приводить к метастазам в нескольких участках, включая кости. После введения клеток опухоли или других

45
линий клеток в кровоток развитие метастазов в рассматриваемом участке (таком, как легкие) отслеживают в течение нескольких дней или недель. В другой модели оценки метастазирования опухоли применяют ортотопную трансплантацию, при которой раковые клетки трансплантируют в анатомическую область или ткань, из которой

возникла данная опухоль (например, путем прямой инъекции или хирургической имплантации фрагментов опухоли). Спонтанные метастазы, которые возникают из ортотопной опухоли, можно оценивать в течение нескольких дней или недель.

Способность тестируемого соединения к сокращению или предупреждению

- 5 метастазирования опухоли можно оценивать путем введения тестируемого соединения животному после подкожной, внутримышечной инъекции, введения в кровоток или ортотопной трансплантации клеток опухоли. Можно оценивать количество, размер или время развития метастазов. Соединение, которое подавляет метастазирование опухоли, может сокращать количество метастазов, например, по меньшей мере на 10%,
 10 по меньшей мере на 20%, по меньшей мере на 30%, по меньшей мере на 40%, по меньшей мере на 50%, по меньшей мере на 55%, по меньшей мере на 60%, по меньшей мере на 65%, по меньшей мере на 70%, по меньшей мере на 75%, по меньшей мере на 80%, по меньшей мере на 85%, по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 95 или даже на 100% по сравнению с контрольной пробой. Соединение, которое подавляет
 15 метастазирование опухоли, может уменьшать размер метастазов по сравнению с контрольной пробой. Аналогично, соединение, которое подавляет метастазирование опухоли, может отсрочивать начало развития метастазов, например, по меньшей мере на одну неделю, на две недели, на один месяц, шесть месяцев, один год или даже на неопределенный период времени.

20 VII. Примеры ингибиторов ALK

- Способы, раскрываемые в настоящей заявке, включают идентификацию субъекта в качестве кандидата на лечение ингибитором нового биологического маркера согласно
 настоящему изобретению, перечисленного в Таблице 1 (например, мутанты ALK) с
 целью индукции гибели клеток опухоли, сокращения роста опухоли или снижения риска
 25 метастазирования опухоли. Полипептиды - ингибиторы ALK известны специалистам в данной области техники. Например, PF-02341066, PDD, 2-метил-11-(2-метилпропил)-4-оксо-4,5,6,11,12,13-гексагидро-2H-индазол[5,4-а]пиррол[3,4-с]карбазол-8-ил [4-(диметиламино) бензил]карбамат, (1S,2S,3R,4R)-3-({5-хлор-2-[(1-этил-2,3,4,5-тетрагидро-6-метокси-2-оксо-1H-1-бензазепин-7-ил)амино]-4-пиримидинил}амино)бицикло[2,2,1]
 30 гепт-5-ен-2-карбоксамид и NVP-TAE684, см. например, PNAS 104:270-275, 2007; Choi, Y.L. et al. (2008) Cancer Res. 68:4971-2976; и Biochemistry 48:3600-3609, 2009, которые включены в настоящую заявку посредством ссылки).

Включение посредством ссылки

- Все публикации, патенты и заявки на патенты, упоминаемые в настоящей заявке,
 35 включены посредством ссылки на их полную версию, как если бы каждая индивидуальная публикация, патент или заявка на патент были бы специфически и индивидуально указаны и включены посредством ссылки. В случае конфликта настоящая заявка, включая все данные в ней определения, сожжет урегулировать конфликт.

- Также посредством ссылок на их полную версию в настоящую заявку включены
 40 любые последовательности полинуклеотидов и полипептидов, где указывается их номер доступа, коррелирующий с входом в общедоступную базу данных, такую как база Института геномных исследований (TIGR) на международном интернет-сайте tigr.org и/или Национального центра биотехнологической информации на международном интернет-сайте ncbi.nlm.nih.gov.

45 ПРИМЕРЫ

Также настоящее исследование проиллюстрировано следующими примерами, которые не должны рассматриваться как ограничивающие. Содержание всех ссылок, фигур, перечислений последовательностей, патентов и опубликованных заявок на патенты,

цитируемых в настоящей заявке, включены в нее посредством ссылки.

Пример 1 - Материалы и методы для Примеров 2-4

а. секвенирование ДНК

Олиго(dT)-примированную кДНК генерировали из образца РНК, экстрагированного с применением системы EZ1 («Qiagen», Валенсия, Калифорния) и подвергали полимеразной цепной реакции (ПНР из 30 циклов (состоящих из циклов при 98°C в течение 10 с и при 68°C в течение 1 мин) с применением полимеразы PrimeSTAR HS DNA («Takara Bio Inc.», Шига, Япония) и праймеров ALK-TK-F (5'-TACAACCCCAACTACTGCTTTGCT-3') и ALK-TK-R1 (5'-AGGCACTTTCTCTTCCCTCTTCCAC-3'). Продукты ПЦР, соответствующие киназному домену ALK затем фрагментировали и секвенировали на Геномном анализаторе Illumina II (GAII) на протяжении 76 оснований с обоих концов при помощи системы секвенирования парных концов («Illumina», Сан-Диего, Калифорния). Исходные данные считывания качественно фильтровали на основании присутствия последовательностей ПЦР-праймеров и q-значения ≥ 20 для всех оснований. Прошедшие через фильтр показатели затем выравнивали с последовательностью кДНК ALK с применением алгоритма Bowtie (доступен на международном сайте bowtie-bio.sourceforge.net/index.shtml). Для капиллярного секвенирования на Генетическом анализаторе 3130x1 («Applied Biosystems», Фостер Сити, Калифорния), продукты секвенирования готовили из кДНК с применением того же набора праймеров или с применением сочетания праймеров EA-F-g-S (5'-CCACACCTGGGAAAGGACCTAAAG-3') и ALK-TK-R2 (5'-CCTCCAAATACTGACAGCCACAGG-3').

б. Мутантные EML4-ALK

кДНК, кодирующую вариант EML4-ALK, меченный эпитопом FLAG, (Soda, M. et al. (2007) Nature 448:561-566) вводили в вектор на основе ретровируса pMX-iresCDS (Yamashita Y. et al. (2001) J. Biol. Chem. 276:39012-39020) для одновременной экспрессии EML4-ALK, меченного эпитопом FLAG, и CD8 мыши. Замены нуклеотидов, соответствующие мутациям C1156Y и L1196M ALK, вводили в указанную плазмиду по отдельности или вместе, чтобы экспрессировать EML4-ALK(C1156Y), EML4-ALK(L1196M) или EML4-ALK(C1156Y/L1196M). Рекомбинантные вирусы на основе указанных плазмид генерировали с применением пакующей клеточной линии, BOS23 (Pear, W.S. et al. (1993) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:8392-8396), и применяли их для инфицирования линии интерлейкин-3-зависимых клеток мышей BA/F3 (Palacios, R. et al. (1985) Cell 41: 727-734). Полученные в результате C08-положительные клетки очищали с применением колонки miniMACS для отделения клеток и магнитных микроносителей с антителами к CD8 (и те, и другие компании «Miltenyi Biotec», Гладбах, Германия). PF-02341066 приобретали у компании «Selleck».

Для исследования фосфорилирования тирозина EML4-ALK клетки BA/F3, экспрессирующие указанный гибридный белок, подвергали действию ингибиторов ALK в течение 15 ч, после которого EML4-ALK подвергали иммунопреципитации из лизатов клеток с применением антител к FLAG («Sigma-Aldrich», Сент-Луис, Миссури) и далее подвергали иммуноблоттингу с применением антител к Tyr¹⁶⁰⁴-фосфорилированной ALK («Cell Signaling Technology», Данверс, Массачусетс). Анализ киназной активности in vitro проводили при комнатной температуре в течение 30 мин, как было описано ранее (Donella-Deana, A. et al. (2005) Biochemistry 44:8533-8542) с применением синтетического пептида YFF («Operon Biotechnologies», Хантсвилл, Алабама).

Пример 2 - Новые мутации ALK, ассоциированные с устойчивостью к ингибиторам тирозинкиназной активности ALK

Пациентом был мужчина в возрасте 28 лет, курильщик в анамнезе, и в апреле 2008 г. ему был поставлен диагноз аденокарцинома легких на клинической стадии T4N3M1. С учетом того, что опухоль не содержала мутаций EGFR, пациенту проводили стандартную химиотерапию, которая привела к прогрессированию заболевания с
 5 образованием метастазов в головном мозге и костях. В ноябре 2008 г. присутствие мРНК варианта 1 EML4-ALK в опухоли было подтверждено при помощи ПЦР с обратной транскрипцией в пробе мокроты, а также при помощи флуоресцентной гибридизации *in situ* в пробе ткани, отобранной при биопсии. Таким образом, указанного пациента включили в исследование PF-02341066, и он испытал значительное улучшение
 10 общего состояния (снижение с 4 до 2 уровня). Хотя указанный пациент демонстрировал «частичный ответ» на лечение, плевральный выпот полностью устранить не удалось. Однако после 5 месяцев лечения опухоль снова начала быстро расти, что привело к увеличению плеврального выпота и образованию множественных раковых узелков в обоих легких. Пациент вышел из исследования в мае 2009 г., и затем плевральный выпот
 15 был отобран для молекулярного анализа.

На основании того, что опухоль возобновила рост, несмотря на непрерывное введение ингибитора ALK, было решено определить, не приобрела ли указанная опухоль вторичные генетические изменения, придающие устойчивость к данному лекарственному препарату. Кроме того, учитывая тот факт, что устойчивость к ИТК часто возникает
 20 вследствие приобретенных мутаций в целевой киназе, оценивалась возможность того, что в самой EML4-ALK возникли аминокислотные замены.

Для молекулярного анализа опухоли пациента до и после лечения, соответственно, были доступны образцы мокроты (ID J-#1) и плеврального выпота (ID J-#13). С учетом того, что доля клеток опухоли в обоих образцах может различаться, для проведения
 25 глубокого секвенирования кДНК EML4-ALK, полученной из указанных образцов, применяли секвенатор нового поколения. Затем кДНК, соответствующая тирозинкиназному домену ALK, из обоих образцов амплифицировали (Фигура 1А), фрагментировали и подвергали нуклеотидному секвенированию при помощи системы GAII. Для сравнения аналогичный анализ проводили в линии клеток НМКРЛ,
 30 позитивной по EML4-ALK, - H2228, и в трех других клинических образцах, также позитивных по указанному гибриднему белку. В кДНК из указанных четырех образцов выявили известный однонуклеотидный полиморфизм, rs3 795850 (Фигура 1В). Кроме того, замену Т→С в положении, соответствующем нуклеотиду 4230 в кДНК ALK дикого типа человека (номер доступа в GenBank NM_004304) в кДНК J-#1 выявляли с низкой
 35 частотой (839%). Кроме того, два новых изменения - замены G→А и С→А в положениях, соответствующих нуклеотидам 4374 и 4493 в кДНК ALK дикого типа человека выявляли с частотой 41,8 и 14,0%, соответственно в кДНК J-#113. Никаких других сопутствующих изменений в киназном домене кДНК, полученном из любого из указанных образцов, не было (присутствующих $\geq 5\%$ считываний).

40 Указанные нуклеотидные замены были впоследствии подтверждены на секвенаторе Сангера. Чтобы исключить возможность того, что указанные мутации возникли в эндогенных ALK дикого типа, а не в EML4-ALK, также провели ПЦР с прямым праймером, направленным на кДНК EML4 так, чтобы могла амплифицироваться только гибридная кДНК (Фигура 1А). Замену Т4230С не удалось определить среди
 45 сотен гибридных кДНК из образца J-#1, что указывает на то, что это был артефакт, который возник при начальной ПЦР или на этапе секвенирования GAII.

Однако замены и G4374А, и C4493А без труда были подтверждены при секвенировании по Сангеру. Из 73 клонов кДНК, секвенированных для образца J-#113,

34 клона (46,6%) были позитивны по G4374A, 11 (15,1%) были позитивны по C4493A, а остальные клоны (38,4%) были клонами дикого типа (Фигура 1С). Хотя анализ на основе ПЦР охватывал оба положения нуклеотидов в одних и тех же продуктах, ни один из продуктов не содержал двух мутаций одновременно, что указывает на то, что каждая из мутаций происходила независимо. Фрагменты генома, включающие в себе положения G4374 или C4493, также амплифицировали посредством ПЦР и подвергали нуклеотидному секвенированию, что привело к подтверждению присутствия каждой из замен в геноме опухоли (Фигура 2).

Замены G4374 или C4493 приводят к заменам Cys→Tyr и Leu→Met в положениях, соответствующих аминокислотам 1156 и 1196, соответственно, ALK человека дикого типа.

Пример 3 - Новые мутации в ALK придают устойчивость к ингибиторам протеинкиназной активности ALK

Далее определяли, влияют ли такие замены аминокислот на чувствительность EML4-ALK к ингибиторам ALK. EML4-ALK дикого типа, одиночные мутанты EML4-ALK (C1156Y) и EML4-ALK(L1196M), и двойные мутанты EML4-ALK(C1156Y/L1196M) экспрессировали по отдельности в клетках BA/F3, и затем указанные клетки подвергали действию ингибиторов ALK. PF-02341066 ингибировал рост клеток BA/F3, экспрессирующих EML4-ALK дикого типа с зависимостью от концентрации (Фигура 4А). В отличие от этого клетки, экспрессирующие мутанты либо C1156Y, либо L1196M, проявляли значительно сниженную чувствительность к указанному препарату, и повторные эксперименты показали, что клетки BA/F3, экспрессирующие EML4-ALK (L1196M), были более устойчивы к PF-02341066, чем клетки, экспрессирующие EML4-ALK(C1156Y) (Фигура 3). Присутствие обеих мутаций не приводило к аддитивному эффекту на устойчивость клеток к PF-02341066. Указанные данные, таким образом, показали, что каждая из мутаций C1156Y и L1196M придает устойчивость к указанному препарату.

Фосфорилирование тирозина EML4-ALK оценивали способом иммуноблоттинга с применением антител, специфичных в отношении ALK, фосфорилированной по Tyr1604. Хотя воздействие на клетки BA/F3 препарата PF-02341066 приводило к выраженному ингибированию фосфорилирования тирозина в EML4-ALK дикого типа, оно не оказывало значимого действия на фосфорилирование EML4-ALK(C1156Y) или EML4-ALK(L1196M) (Фигура 4В). В согласии с указанными результатами анализ киназной активности *in vitro* показал, что мутанты EML4-ALK C1156Y и L1196M были менее чувствительны к ингибированию ферментативной активности препаратом PF-02341066, чем белок дикого типа (Фигура 4С). Как и в случае подавления роста клеток (Фигура 4А), мутант L1196M был более устойчивым к ингибированию киназной активности препаратом PF-02341066, чем мутант C1156Y (Фигура 4С).

Пример 4 - Структурно-функциональная взаимосвязь между новыми мутациями ALK и устойчивостью к ингибиторам тирозинкиназной активности ALK

На Фигуре 5 показаны положения Cys1156 и Leu1196 в модели трехмерной структуры киназного домена ALK построенной на основании кристаллической структуры родственной киназы - рецептора инсулина. Первый остаток расположен вблизи N-конца предсказанной петли αC, а также близко от верхней створки АТФ-связывающего кармана. В указанном положении в других тирозинкиназах ни о каких активирующих мутациях не сообщалось. Leu1196 в ALK соответствует Thr315 в ABL1 и Thr790 в EGFR, каждый из которых является сайтом, где наиболее часто возникают мутации, придающие устойчивость к ИТК, в данных киназах (Deininger, M. et al. (2005) Blood 105:2640-2653;

Linardou, H. et al. (2009) *Nat. Rev. Clin. Oncol.* 6:352-366). Указанный «привратниковый» сайт расположен на нижней поверхности АТФ-связывающего кармана (Фигура 5), и известно, что присутствие аминокислоты с массивной боковой цепью в данном положении препятствует связыванию со многими ИТК (Shah, N.P. et al. (2002) *Cancer Cell* 2:117-125; Tsao, M.S. et al. (2005) *N. Engl. J. Med.* 353:133-144).

Таким образом, были идентифицированы две мутации *de novo* в киназном домене EML4-ALK, которые придают устойчивость ко многим ингибиторам ALK. На основании того, что ни в одной из кДНК EML4-ALK не отмечалось присутствия обеих мутаций, предполагается, что каждая мутация развивалась независимо в отдельных субклонах указанной опухоли.

Не вдаваясь в теорию, при условии, что кДНК, приготовленная из мокроты пациента до лечения, не содержала нуклеотидных замен, соответствующих мутациям C1156Y или L1196M, вероятно, что указанные субклоны опухоли приобрели указанные мутации *de novo* во время лечения препаратом PF-02341066. Однако поскольку плевральный выпот нельзя было исследовать до лечения, возможность того, что клетки опухоли с мутантами C1156Y или L1196M, уже были в плевральном выпоте при первом поступлении пациента, полностью исключить нельзя. Если бы это было так, указанная опухоль могла бы приобрести другие, еще неизвестные мутации за 5-месячный период лечения препаратом PF-02341066, которые бы обусловили ее дальнейший быстрый рост. Однако субклоны клеток опухоли с мутациями C1156Y или L1196M должны были обладать устойчивостью к начальному лечению и должны были увеличиться во время курса лечения. На самом деле никаких признаков разрастания опухоли у пациента по меньшей мере в течение 5 месяцев не было, что указывает на то, что мутации C1156Y и L1196M развились во время лечения PF-02341066. Данное положение также получает дополнительное подтверждение в связи с тем фактом, что мутация T790M в EGFR придает устойчивость к гефитинибу или эрлотинибу, выявляемую у пациентов, ранее получавших ИТК, но редко обнаруживаемую у пациентов, не подвергавшихся лечению (Pao, W. et al. (2005) *PLoS Med.* 2:e73).

Замены аминокислот в привратниковом положении нескольких тирозинкиназ обнаруживались в опухолях, подвергавшихся лечению ИТК (Kobayashi, S. et al. (2005) *N. Engl. J. Med.* 352:786-792; Pao, W. et al. (2005) *PLoS Med.* 2:e73; Shah, N.P. et al. (2002) *Cancer Cell* 2:117-125; Cools, J. et al. (2003) *N. Engl. J. Med.* 348:1201-1214; Tamborini, E. et al. (2004) *Gastroenterology* 127:294-299). Хотя для EML4-ALK или ALK ни о каких мутациях в указанном сайте не сообщалось, эффекты разных искусственным замен аминокислот в привратниковом положении NPM-ALK - другой гибридной раковой киназы для ALK недавно были исследованы (Lu, L. et al. (2009) *Biochemistry* 48:3600-3609). В согласии с данными настоящего анализа клеток опухоли *in vivo*, было показано, что введение Met в данное положение делает NPM-ALK более устойчивой к многим ингибиторам ALK.

В отличие от замен в привратниковом положении, никаких сообщений для тирозинкиназ об активирующих мутациях в положении, расположенные непосредственно от N-конца до αC-спирали (Cys1156 в ALK), не было. Хотя замена Thr→Ile в соответствующем положении EGFR была описано в одном случае НМКРЛ, ее значимость для чувствительности к препаратам не исследовалась (Tsao, M.S. et al. (2005) *N. Engl. J. Med.* 353:133-144). Значимость спирали αC для аллостерической регуляции ферментативной активности была продемонстрирована для серин-треониновых киназ (Hindie, V. et al. (2009) *Nat. Chem. Biol.* 5:758-764). Замена в положении Cys1156 в ALK, следовательно, может аллостерически интерферировать со связыванием ИТК, или Cys1156 может непосредственно участвовать в физическом взаимодействии между

киназным доменом и ИТК.

Эквиваленты

Специалисты в данной области техники должны знать, или могут установить с применением не более чем стандартных экспериментов, множество эквивалентов вариантов реализации настоящего изобретения, описанных в настоящей заявке. Предполагается, что такие эквиваленты включены в следующую формулу изобретения.

Формула изобретения

1. Способ идентификации субъекта, страдающего раковым заболеванием или имеющего риск развития ракового заболевания, как имеющего повышенный риск нечувствительности к лечению ингибитором ALK, включающий:
анализ пробы, взятой у субъекта, на присутствие одной или более молекул полинуклеотидов мутантных ALK, кодирующих полипептид мутантной ALK, содержащий мутацию C1156Y и/или L1196M, или одного или более полипептидов мутантных ALK, содержащих мутацию C1156Y и/или L1196M, или обоих типов молекул, причем присутствие одной или более молекул полинуклеотидов мутантных ALK или одного или более полипептидов мутантных ALK или обоих типов молекул указывает на то, что указанный субъект имеет повышенный риск нечувствительности к лечению ингибитором ALK.
2. Способ по п. 1, в котором указанный субъект ранее не подвергался лечению ингибитором ALK, или ранее подвергался лечению ингибитором ALK, и у него развилась по меньшей мере частичная устойчивость к ингибитору ALK.
3. Способ по п. 1, в котором указанное раковое заболевание выбирают из группы, состоящей из анапластической крупноклеточной лимфомы, нейробластомы, рака молочной железы, рака прямой и ободочной кишки, воспалительных миофибробластных опухолей и немелкоклеточного рака легких.
4. Способ по п. 1 или 2, в котором указанный ингибитор ALK выбирают из группы, состоящей из PF-02341066, PDD, 2-метил-11-(2-метилпропил)-4-оксо-4,5,6,11,12,13-гексагидро-2H-индазол[5,4-a]пиррол[3,4-c]карбазол-8-ил [4-(диметиламино)бензил]карбамата, (1S,2S,3R,4R)-3-({5-хлор-2-[(1-этил-2,3,4,5-тетрагидро-6-метокси-2-оксо-1H-1-бензазепин-7-ил)амино]-4-пиримидинил}амино)бицикло[2,2,1]гепт-5-ен-2-карбоксамида и NVP-TAE684.
5. Способ по п. 1, в котором указанную пробу выбирают из группы, состоящей из мокроты, бронхоальвеолярного смыва, плеврального выпота, ткани, цельной крови, сыворотки, плазмы, соскоба слизистой щеки, слюны, спинномозговой жидкости, мочи, кала, циркулирующих клеток опухоли, циркулирующих нуклеиновых кислот и костного мозга.
6. Способ по п. 5, в котором указанная проба представляет собой ткань; причем указанная ткань представляет собой ткань опухоли или раковую ткань.
7. Способ по п. 1, в котором указанная проба содержит клетки.
8. Способ по п. 1, в котором одну или более мутаций в ALK оценивают в тесте с гибридизацией нуклеиновых кислот.
9. Способ по п. 1, в котором одну или более мутаций в ALK оценивают путем полимеразной цепной реакции.
10. Способ по п. 1, в котором уровень экспрессии одного или более полипептидов ALK определяют с использованием реагента, который специфически связывается с одним или более полипептидами ALK.
11. Способ по п. 1, в котором указанный реагент выбирают из группы, состоящей

из антитела, производного антитела и фрагмента антитела.

12. Способ по п. 1, в котором количество одного или более полипептидов мутантной ALK сравнивают с контрольной пробой.

13. Способ по п. 1, в котором одну или более мутаций в ALK оценивают в первый момент времени и по меньшей мере в один последующий момент времени.

14. Способ по п. 1, в котором указанная проба содержит эмбриональную или соматическую геномную ДНК.

15. Набор для определения химиочувствительности субъекта, страдающего раковым заболеванием, к лечению ингибитором ALK, включающий: реагент, который специфически связывается с одной или более молекулами полинуклеотидов мутантной ALK, кодирующих полипептид мутантной ALK, содержащий мутацию C1156Y и/или L1196M, или полипептидов мутантных ALK, содержащих мутацию C1156Y и/или L1196M; и инструкцию по применению, причем указанные реагенты включают:

(а) один или более полинуклеотидных зондов, каждый из которых содержит полинуклеотидную последовательность, которая комплементарна последовательности нуклеотидов, кодирующей полипептид мутантной ALK, содержащий мутацию в C1156Y и/или L1196M, или

(б) антитело, производное антитела или фрагмент антитела к полипептиду, содержащему мутацию C1156Y и/или L1196M.

16. Набор по п. 15, дополнительно включающий ингибитор ALK.

17. Набор по п. 15, причем указанный реагент содержит один или более полинуклеотидных зондов, каждый из которых содержит полинуклеотидную последовательность, которая комплементарна последовательности нуклеотидов, кодирующей полипептид мутантной ALK, содержащий мутацию C1156Y и/или L1196M.

18. Набор по п. 17, в котором указанные зонды содержат полинуклеотиды длиной от приблизительно 50 до 10^7 нуклеотидов.

19. Набор по п. 17, в котором указанные зонды выбраны из группы, состоящей из олигонуклеотидов, молекул кДНК, молекул РНК и синтетических генных зондов, содержащих нуклеотидные основания.

20. Набор по п. 17, в котором указанный реагент содержит антитело, производное антитела или фрагмент антитела к полипептиду, содержащему мутацию C1156Y и/или L1196M.

21. Способ определения, изменяет ли тестируемое соединение активность одного или более полипептидов мутантных ALK, включающий:

(а) осуществление контакта клеток млекопитающих, трансфицированных конструкцией, кодирующей один или более полипептидов мутантных ALK, содержащих мутацию в C1156Y и/или L1196M, с тестируемым соединением; и

(б) оценку активности одного или более полипептидов мутантных ALK в указанных клетках млекопитающих, причем изменение активности одного или более полипептидов мутантных ALK в присутствии тестируемого соединения по сравнению с контрольным экспериментом указывает на то, что тестируемое соединение является модулятором одного или более полипептидов мутантных ALK.

22. Способ по п. 21, в котором указанный контроль включает клетки млекопитающего, экспрессирующие полипептид ALK дикого типа.

23. Способ по п. 22, в котором активность одного или более полипептидов мутантных ALK выбирают из группы, состоящей из: связывания АТФ, тирозинкиназной активности, пролиферации раковых клеток, роста опухоли, количества опухолей, апоптоза и метастазирования опухоли.

24. Способ по п. 21, в котором указанный контрольный эксперимент включает клетки млекопитающего, экспрессирующие один или более полипептидов мутантных ALK в отсутствие тестируемого соединения.

25. Способ по п. 23, в котором активность одного или более полипептидов мутантных ALK выбирают из группы, состоящей из: связывания АТФ, тирозинкиназной активности, пролиферации раковых клеток, роста опухоли, количества опухолей, апоптоза и метастазирования опухоли.

26. Способ по п. 1, в котором определяют присутствие одной или более молекул полинуклеотидов мутантных ALK, и одна или более молекул полинуклеотидов мутантных ALK выбраны из группы, состоящей из:

а. кДНК мутантной ALK, содержащей мутацию G4374A; и

б. кДНК мутантной ALK, содержащей мутацию C4493A.

27. Способ по п. 1, в котором определяют присутствие одного или более мутантных полипептидов, и одна или более молекул полипептидов мутантных ALK выбраны из группы, состоящей из:

а. мутантного белка ALK, содержащего мутацию C1156T; и

б. мутантного белка ALK, содержащего мутацию L1196M.

28. Способ по п. 5, в котором ингибитор ALK представляет собой PF-02341066.

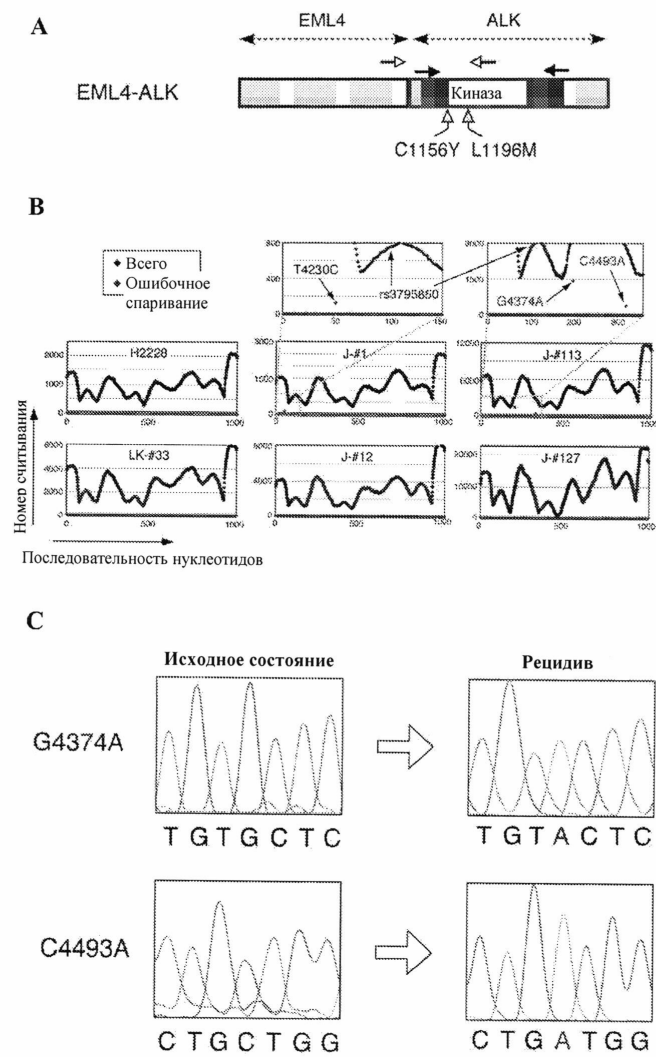
29. Набор по п. 17, в котором одна или более молекул полипептидов или полинуклеотидов мутантной ALK выбраны из группы, состоящей из:

а. кДНК мутантной ALK, содержащей мутацию G4374A; и

б. кДНК мутантной ALK, содержащей мутацию C4493A.

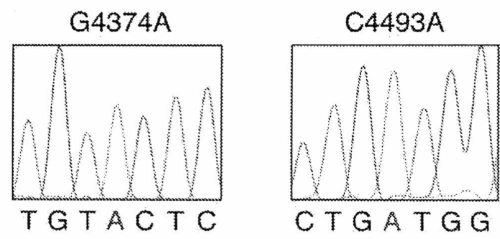
30. Набор по п. 18, в котором ингибитор ALK представляет собой PF-02341066.

ФИГУРА 1

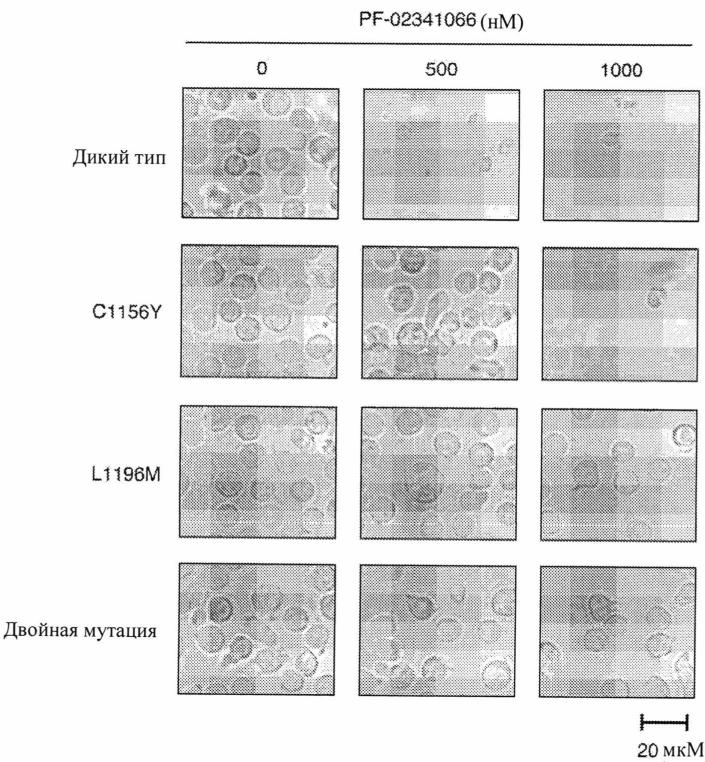


2/4

ФИГУРА 2

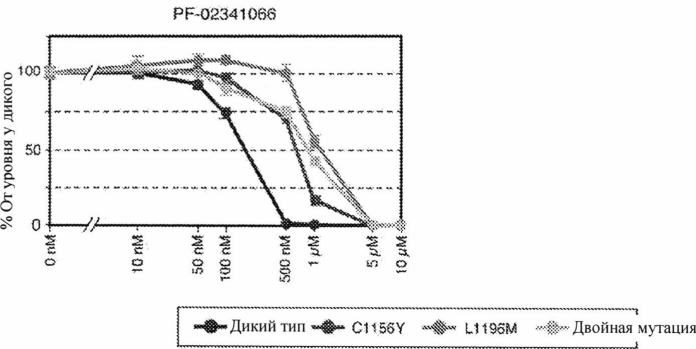


ФИГУРА 3

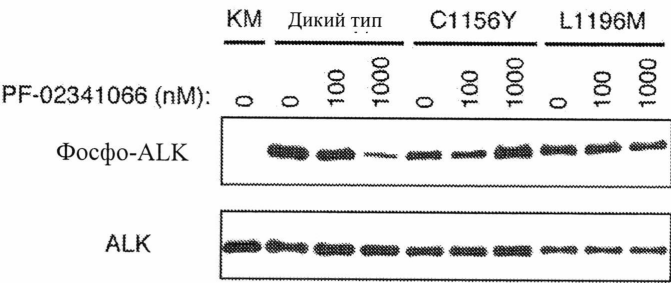


ФИГУРА 4

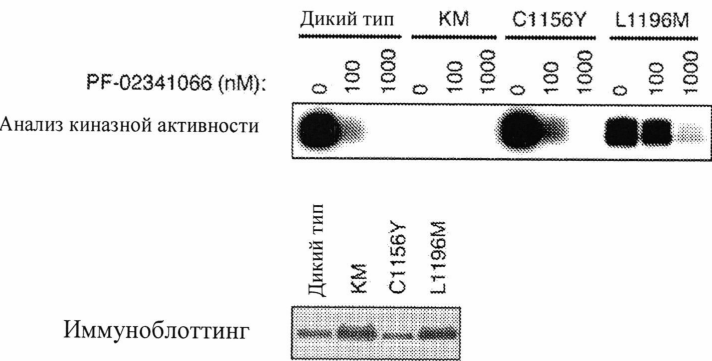
А



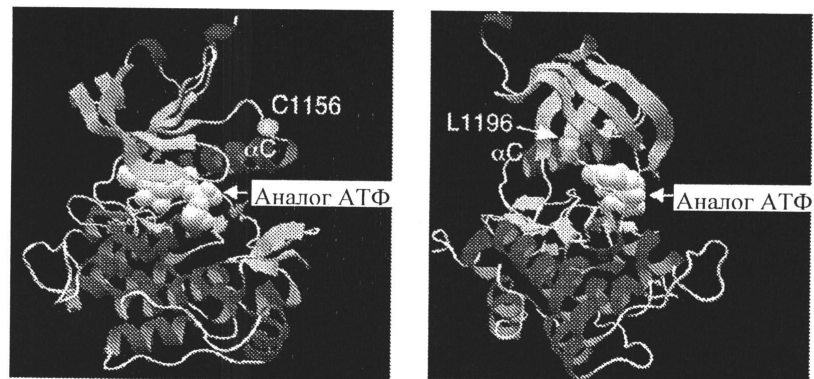
В



С



ФИГУРА 5



Перечень_последовательностей_к заявке_2012133318_506-471RU
 ПЕРЕЧЕНЬ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ

<110> ДЖИЧИ МЕДИКАЛ ЮНИВЕРСИТИ

<120> ИДЕНТИФИКАЦИЯ, ОЦЕНКА И ЛЕЧЕНИЕ РАКОВЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ С ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ИЛИ
 ПРИОБРЕТЕННОЙ УСТОЙЧИВОСТЬЮ К ИНГИБИТОРАМ ALK

<130> CGX-003.25

<140> PCT/IB2011/000382

<141> 2011-02-04

<150> 61/337,465

<151> 2010-02-04

<160> 40

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 6222

<212> ДНК

<213> Homo sapiens

<400> 1

gggggcgga gcggtgtag cagctggtac ctcccgcgc ctctgttcgg agggctcggg	60
ggcaccgagg tgctttccgg ccgcccctctg gtcggccacc caaagccgcg ggcgctgatg	120
atgggtgagg agggggcggc aagatttcgg gcgcccctgc cctgaacgcc ctacagctgct	180
gccgcggggg ccgctccagt gcctgcgaac tctgaggagc cgaggcgccg gtgagagcaa	240
ggacgctgca aacttgcgca gcgcgggggc tgggattcac gccagaagt tcagcaggca	300
gacagtccga agccttcccg cagcgagag atagcttgag ggtgcgcaag acggcagcct	360
ccgcccctcg tttccgccc gaccgggag aagagcttg aggagccaaa aggaacgcaa	420
aaggcgcca ggacagcgtg cagcagctgg gagccgcgt tctcagcctt aaaagttgca	480
gagattggag gctgccccga gaggggacag accccagctc cgactgcggg gggcaggaga	540
ggacggtacc caactgccac ctcccttcaa ccatagtagt tcctctgtac cgagcgcagc	600
gagctacaga cgggggcgcg gactcggcg cggagagcgg gaggtcaag gtcccagcca	660
gtgagcccag tgtgcttgag tgtctctgga ctcgcccctg agcttccagg tctgtttcat	720
ttagactcct gctcgctcc gtgcagttgg gggaaagcaa gagacttgcg cgcacgcaca	780
gtcctctgga gatcaggtgg aaggagccgc tgggtaccaa ggactgttca ggcctcttc	840
ccatctcggg gagagcgaag ggtgaggctg gggccggaga gcagtgtaaa cggcctcctc	900
cggcgggatg ggagccatcg ggctcctgtg gctcctgccg ctgctgcttt ccacggcagc	960
tgtgggctcc gggatgggga ccggccagcg cgcgggctcc ccagctgcgg gggcgccgct	1020
gcagcccccg gagccactca gctactcgcg cctgcagagg aagagtctgg cagttgactt	1080
cgtggtgccc tcgctcttcc gtgtctacgc ccgggacctc ctgctgccac catcctcctc	1140
ggagctgaag gctggcaggc ccgaggcccc cggtctgcta gctctggact gcgccccgct	1200
gctcaggttg ctggggccgg cggcgggggt ctcttgacc gccggttcac cagccccggc	1260
agaggccccg acgctgtcca ggggtgtgaa gggcggtctc gtgcgcaagc tccggcgtgc	1320

Page 1

Перечень_последовательностей_к заявке_2012133318_506-471RU

caagcagttg gtgctggagc tgggagagga ggcgatcttg gaggggtgcg tcgggcccc	1380
cggggaggcg gctgtggggc tgctccagtt caatctcagc gagctgttca gttggtggat	1440
tcgccaaggc gaagggcgac tgaggatccg cctgatgccc gagaagaagg cgtcggaagt	1500
gggcagagag ggaaggctgt ccgcggaat tcgcgctcc cagccccgcc ttctcttcca	1560
gatcttcggg actggctcata gctccttgga atcaccaaca aacatgcctt ctccttctcc	1620
tgattatttt acatggaatc tcacctggat aatgaaagac tccttccctt tcctgtctca	1680
tcgcagccga tatggtctgg agtgcagctt tgacttcccc tgtgagctgg agtattcccc	1740
tccactgcat gacctcagga accagagctg gtcctggcgc cgcatcccct ccgaggaggc	1800
ctcccagatg gacttgctgg atgggcctgg ggcagagcgt tctaaggaga tgcccagagg	1860
ctcctttctc cttctcaaca cctcagctga ctccaagcac accatcctga gtccgtggat	1920
gaggagcagc agtgagcact gcacactggc cgtctcggtg cacaggcacc tgcagccctc	1980
tggaaggtag attgcccagc tgctgcccc caacgaggct gcaagagaga tcctcctgat	2040
gcccactcca gggaagcatg gttggacagt gctccaggga agaatcgggc gtccagacaa	2100
cccatttctga gtggccctgg aatacatctc cagtggaaac cgcagcttgt ctgcagtga	2160
cttctttgcc ctgaagaact gcagtgaagg aacatcccca ggctccaaga tggccctgca	2220
gagctccttc acttggttga atgggacagt cctccagctt gggcaggcct gtgacttcca	2280
ccaggactgt gcccagggag aagatgagag ccagatgtgc cggaaactgc ctgtgggttt	2340
ttactgcaac tttgaagatg gcttctgtgg ctggaccaa ggcacactgt caccacacac	2400
tcctcaatgg caggctcagga ccctaaagga tgcccgggtc caggaccacc aagaccatgc	2460
tctattgtc agtaccactg atgtccccgc ttctgaaagt gctacagtga ccagtgtctac	2520
gtttcctgca ccgatcaaga gctctccatg tgagctccga atgtcctggc tcattcgtgg	2580
agtcttgagg ggaacgtgt ccttggtgct agtgagaaac aaaaccggga aggagcaagg	2640
caggatggtc tggcatgtcg ccgctatga aggcttgagc ctgtggcagt ggatggtgtt	2700
gcctctctc gatgtgtctg acaggttctg gctgcagatg gtcgcatggt ggggacaagg	2760
atccagagcc atcgtggctt ttgacaatat ctccatcagc ctggactgct acctaccat	2820
tagcggagag gacaagatcc tgcagaatac agcacccaaa tcaagaaacc tgtttgagag	2880
aaacccaaac aaggagctga aaccgggga aaattcacca agacagaccc ccatctttga	2940
ccctacagtt cattggctgt tcaccatag tggggccagc gggcccatg gccccacca	3000
ggcacagtgc aacaacgcct accagaactc caacctgagc gtggaggtgg ggagcgaggg	3060
ccccctgaaa ggcattccaga tctggaagg gccagccacc gacacctaca gcatctcggg	3120
ctacggagct gctgcgggga aagcgggga gaacaccatg atgcggtccc acgcggtgtc	3180
tgtgctgggc atcttcaacc tggagaagga tgacatgctg tacatcctgg ttgggcagca	3240
gggagaggac gcctgcccc gtacaaacca gttaatccag aaagtctgca ttggagagaa	3300
caatgtgata gaagaagaaa tccgtgtgaa cagaagcgtg catgagtggt caggaggcgg	3360

Перечень_последовательностей_к заявке_2012133318_506-471RU

aggaggaggg ggtggagcca cctacgtatt taagatgaag gatggagtgc cggtgccccct	3420
gatcattgca gccggaggtg gtggcagggc ctacggggcc aagacagaca cgttccaccc	3480
agagagactg gagaataact cctcggttct agggctaacc ggcaattccg gagccgcagg	3540
tggtggaggt ggctggaatg ataacacttc cttgctctgg gccggaaaat ctttgcagga	3600
gggtgccacc ggaggacatt cctgccccca ggccatgaag aagtgggggt gggagacaag	3660
agggggtttc ggagggggtg gaggggggtg ctccctcagg ggaggaggcg gaggatatat	3720
aggcggaat gcagcctcaa acaatgaccc cgaaatggat ggggaagatg gggtttcctt	3780
catcagtcca ctgggcatcc tgtacacccc agctttaaaa gtgatggaag gccacgggga	3840
agtgaatatt aagcattatc taaactgcag tcaactgtgag gtagacgaat gtcacatgga	3900
ccctgaaagc cacaaggtca tctgcttctg tgaccacggg acggtgctgg ctgaggatgg	3960
cgtctcctgc attgtgtcac ccaccccgga gccacacctg ccaactctgc tgatcctctc	4020
tgtggtgacc tctgccctcg tggccgccct ggtcctggct ttctccggca tcatgattgt	4080
gtaccgccgg aagcaccagg agctgcaagc catgcagatg gagctgcaga gccctgagta	4140
caagctgagc aagctccgca cctcgaccat catgaccgac tacaaccca actactgctt	4200
tgctggcaag acctcctcca tcagtacact gaaggaggtg ccgcgaaaaa acatcacctt	4260
cattcgggggt ctgggccatg gcgcctttgg ggaggtgtat gaaggccagg tgtccggaat	4320
gccaacgac ccaagcccc tgcaagtggc tgtgaagacg ctgcctgaag tgtgctctga	4380
acaggacgaa ctggatttcc tcatggaagc cctgatcatc agcaaatca accaccagaa	4440
cattgttcgc tgcattgggg tgagcctgca atccctgccc cggttcaccc tgcctggagct	4500
catggcgggg ggagacctca agtccttcct ccgagagacc cgcctcgc ccagccagcc	4560
ctcctccctg gccatgctgg acctctgca cgtggctcgg gacattgcct gtggctgtca	4620
gtatttgag gaaaaccact tcatccaccg agacattgct gccagaaact gcctcttgac	4680
ctgtccaggc cctggaagag tggccaagat tggagacttc gggatggccc gagacatcta	4740
cagggcgagc tactatagaa agggaggctg tgccatgctg ccagttaagt ggatgcccc	4800
agaggccttc atggaaggaa tattcacttc taaaacagac acatggtcct ttggagtgtc	4860
gctatgggaa atcttttctc ttggatatat gccatacccc agcaaaagca accaggaagt	4920
tctggagttt gtcaccagtg gaggccgat ggacccccc aagaactgcc ctgggcctgt	4980
ataccggata atgactcagt gctggcaaca tcagcctgaa gacaggccca actttgccat	5040
cattttggag aggattgaat actgcaccca ggacccgat gtaatcaaca ccgctttgcc	5100
gatagaatat ggtccacttg tggaagagga agagaaagt cctgtgaggc ccaaggaccc	5160
tgagggggtt cctcctctcc tggctctca acaggcaaaa cgggaggagg agcgagccc	5220
agtgcccca ccacctctgc ctaccacctc ctctggcaag gctgcaaaga aaccacagc	5280
tgagagatc tctgttcgag tccttagagg gccggccgtg gaagggggac acgtgaatat	5340
ggcattctct cagtccaacc ctcttcgga gttgcacaag gtccacgat ccagaaaca	5400

Перечень_последовательностей_к заявке_2012133318_506-471RU

gccaccagc ttgtggaacc caacgtacgg ctcctggttt acagagaaac ccaccaaaaa 5460
 gaataatcct atagcaaaga aggagccaca cgacaggggt aacctggggc tggagggaag 5520
 ctgtactgtc ccacctaacg ttgcaactgg gagacttccg ggggcctcac tgctcctaga 5580
 gccctcttcg ctgactgcc aatgaagga ggtacctctg ttcaggctac gtcacttccc 5640
 ttgtgggaat gtcaattacg gctaccagca acagggcttg cccttagaag ccgctactgc 5700
 ccctggagct ggtcattacg aggataccat tctgaaaagc aagaatagca tgaaccagcc 5760
 tgggcctga gctcggctgc aactcactt ctcttcttg ggatccctaa gaccgtggag 5820
 gagagagagg caatggctcc ttcacaaacc agagaccaa tgtcacgttt tgttttgtgc 5880
 caacctattt tgaagtacca ccaaaaaagc tgtattttga aaatgcttta gaaaggtttt 5940
 gagcatgggt tcatcctatt ctttcgaaag aagaaatat cataaaaatg agtgataaat 6000
 acaaggccca gatgtggttg cataagggtt ttatgcatgt ttgttgata cttccttatg 6060
 cttctttcaa attgtgtgtg ctctgcttca atgtagtcag aattagctgc ttctatgttt 6120
 catagttggg gtcatagatg tttccttgcc ttgttgatgt ggacatgagc catttgaggg 6180
 gagagggaac ggaataaag gagttatttg taatgactaa aa 6222

<210> 2
 <211> 24
 <212> ДНК
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Описание искусственной последовательности: Синтетический праймер

<400> 2
 ggtaagaagt ggctcactct tgag 24

<210> 3
 <211> 24
 <212> ДНК
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Описание искусственной последовательности: Синтетический праймер

<400> 3
 cacaacaact gcagcaaaga ctgg 24

<210> 4
 <211> 1620
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 4
 Met Gly Ala Ile Gly Leu Leu Trp Leu Leu Pro Leu Leu Ser Thr
 1 5 10 15

Ala Ala Val Gly Ser Gly Met Gly Thr Gly Gln Arg Ala Gly Ser Pro
 20 25 30

Перечень_последовательностей_к заявке_2012133318_506-471RU
Ala Ala Gly Pro Pro Leu Gln Pro Arg Glu Pro Leu Ser Tyr Ser Arg
35 40 45

Leu 50 Gln Arg Lys Ser Leu 55 Ala Val Asp Phe Val 60 Pro Ser Leu Phe

Arg Val Tyr Ala Arg Asp Leu Leu Leu Pro Pro Ser Ser Ser Glu Leu
65 70 75 80

Lys Ala Gly Arg Pro Glu Ala Arg Gly Ser Leu Ala Leu Asp Cys Ala
85 90 95

Pro Leu Leu Arg Leu Leu Gly Pro Ala Pro Gly Val Ser Trp Thr Ala
100 105 110

Gly Ser Pro Ala Pro Ala Glu Ala Arg Thr Leu Ser Arg Val Leu Lys
115 120 125

Gly Gly Ser Val Arg Lys Leu Arg Arg Ala Lys Gln Leu Val Leu Glu
130 135 140

Leu Gly Glu Glu Ala Ile Leu Glu Gly Cys Val Gly Pro Pro Gly Glu
145 150 155 160

Ala Ala Val Gly Leu Leu Gln Phe Asn Leu Ser Glu Leu Phe Ser Trp
165 170 175

Trp Ile Arg Gln Gly Glu Gly Arg Leu Arg Ile Arg Leu Met Pro Glu
180 185 190

Lys Lys Ala Ser Glu Val Gly Arg Glu Gly Arg Leu Ser Ala Ala Ile
195 200 205

Arg Ala Ser Gln Pro Arg Leu Leu Phe Gln Ile Phe Gly Thr Gly His
210 215 220

Ser Ser Leu Glu Ser Pro Thr Asn Met Pro Ser Pro Ser Pro Asp Tyr
225 230 235 240

Phe Thr Trp Asn Leu Thr Trp Ile Met Lys Asp Ser Phe Pro Phe Leu
245 250 255

Ser His Arg Ser Arg Tyr Gly Leu Glu Cys Ser Phe Asp Phe Pro Cys
260 265 270

Glu Leu Glu Tyr Ser Pro Pro Leu His Asp Leu Arg Asn Gln Ser Trp
275 280 285

Ser Trp Arg Arg Ile Pro Ser Glu Glu Ala Ser Gln Met Asp Leu Leu
290 295 300

Перечень_последовательностей_к заявке_2012133318_506-471RU
 Asp Gly Pro Gly Ala Glu Arg Ser Lys Glu Met Pro Arg Gly Ser Phe
 305 310 315 320
 Leu Leu Leu Asn Thr Ser Ala Asp Ser Lys His Thr Ile Leu Ser Pro
 325 330 335
 Trp Met Arg Ser Ser Ser Glu His Cys Thr Leu Ala Val Ser Val His
 340 345 350
 Arg His Leu Gln Pro Ser Gly Arg Tyr Ile Ala Gln Leu Leu Pro His
 355 360 365
 Asn Glu Ala Ala Arg Glu Ile Leu Leu Met Pro Thr Pro Gly Lys His
 370 375 380
 Gly Trp Thr Val Leu Gln Gly Arg Ile Gly Arg Pro Asp Asn Pro Phe
 385 390 395 400
 Arg Val Ala Leu Glu Tyr Ile Ser Ser Gly Asn Arg Ser Leu Ser Ala
 405 410 415
 Val Asp Phe Phe Ala Leu Lys Asn Cys Ser Glu Gly Thr Ser Pro Gly
 420 425 430
 Ser Lys Met Ala Leu Gln Ser Ser Phe Thr Cys Trp Asn Gly Thr Val
 435 440 445
 Leu Gln Leu Gly Gln Ala Cys Asp Phe His Gln Asp Cys Ala Gln Gly
 450 455 460
 Glu Asp Glu Ser Gln Met Cys Arg Lys Leu Pro Val Gly Phe Tyr Cys
 465 470 475 480
 Asn Phe Glu Asp Gly Phe Cys Gly Trp Thr Gln Gly Thr Leu Ser Pro
 485 490 495
 His Thr Pro Gln Trp Gln Val Arg Thr Leu Lys Asp Ala Arg Phe Gln
 500 505 510
 Asp His Gln Asp His Ala Leu Leu Leu Ser Thr Thr Asp Val Pro Ala
 515 520 525
 Ser Glu Ser Ala Thr Val Thr Ser Ala Thr Phe Pro Ala Pro Ile Lys
 530 535 540
 Ser Ser Pro Cys Glu Leu Arg Met Ser Trp Leu Ile Arg Gly Val Leu
 545 550 555 560
 Arg Gly Asn Val Ser Leu Val Leu Val Glu Asn Lys Thr Gly Lys Glu
 565 570 575

перечень_последовательностей_к заявке_2012133318_506-471RU
 Gln Gly Arg Met Val Trp His Val Ala Ala Tyr Glu Gly Leu Ser Leu
 580 585 590
 Trp Gln Trp Met Val Leu Pro Leu Leu Asp Val Ser Asp Arg Phe Trp
 595 600 605
 Leu Gln Met Val Ala Trp Trp Gly Gln Gly Ser Arg Ala Ile Val Ala
 610 615 620
 Phe Asp Asn Ile Ser Ile Ser Leu Asp Cys Tyr Leu Thr Ile Ser Gly
 625 630 635 640
 Glu Asp Lys Ile Leu Gln Asn Thr Ala Pro Lys Ser Arg Asn Leu Phe
 645 650 655
 Glu Arg Asn Pro Asn Lys Glu Leu Lys Pro Gly Glu Asn Ser Pro Arg
 660 665 670
 Gln Thr Pro Ile Phe Asp Pro Thr Val His Trp Leu Phe Thr Thr Cys
 675 680 685
 Gly Ala Ser Gly Pro His Gly Pro Thr Gln Ala Gln Cys Asn Asn Ala
 690 695 700
 Tyr Gln Asn Ser Asn Leu Ser Val Glu Val Gly Ser Glu Gly Pro Leu
 705 710 715 720
 Lys Gly Ile Gln Ile Trp Lys Val Pro Ala Thr Asp Thr Tyr Ser Ile
 725 730 735
 Ser Gly Tyr Gly Ala Ala Gly Gly Lys Gly Gly Lys Asn Thr Met Met
 740 745 750
 Arg Ser His Gly Val Ser Val Leu Gly Ile Phe Asn Leu Glu Lys Asp
 755 760 765
 Asp Met Leu Tyr Ile Leu Val Gly Gln Gln Gly Glu Asp Ala Cys Pro
 770 775 780
 Ser Thr Asn Gln Leu Ile Gln Lys Val Cys Ile Gly Glu Asn Asn Val
 785 790 795 800
 Ile Glu Glu Glu Ile Arg Val Asn Arg Ser Val His Glu Trp Ala Gly
 805 810 815
 Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Ala Thr Tyr Val Phe Lys Met Lys Asp
 820 825 830
 Gly Val Pro Val Pro Leu Ile Ile Ala Ala Gly Gly Gly Gly Arg Ala
 835 840 845

Перечень_последовательностей_к заявке_2012133318_506-471RU

Tyr Gly Ala Lys Thr Asp Thr Phe His Pro Glu Arg Leu Glu Asn Asn
850 855 860

Ser Ser Val Leu Gly Leu Asn Gly Asn Ser Gly Ala Ala Gly Gly Gly
865 870 875 880

Gly Gly Trp Asn Asp Asn Thr Ser Leu Leu Trp Ala Gly Lys Ser Leu
885 890 895

Gln Glu Gly Ala Thr Gly Gly His Ser Cys Pro Gln Ala Met Lys Lys
900 905 910

Trp Gly Trp Glu Thr Arg Gly Gly Phe Gly Gly Gly Gly Gly Gly Cys
915 920 925

Ser Ser Gly Gly Gly Gly Gly Gly Tyr Ile Gly Gly Asn Ala Ala Ser
930 935 940

Asn Asn Asp Pro Glu Met Asp Gly Glu Asp Gly Val Ser Phe Ile Ser
945 950 955 960

Pro Leu Gly Ile Leu Tyr Thr Pro Ala Leu Lys Val Met Glu Gly His
965 970 975

Gly Glu Val Asn Ile Lys His Tyr Leu Asn Cys Ser His Cys Glu Val
980 985 990

Asp Glu Cys His Met Asp Pro Glu Ser His Lys Val Ile Cys Phe Cys
995 1000 1005

Asp His Gly Thr Val Leu Ala Glu Asp Gly Val Ser Cys Ile Val
1010 1015 1020

Ser Pro Thr Pro Glu Pro His Leu Pro Leu Ser Leu Ile Leu Ser
1025 1030 1035

Val Val Thr Ser Ala Leu Val Ala Ala Leu Val Leu Ala Phe Ser
1040 1045 1050

Gly Ile Met Ile Val Tyr Arg Arg Lys His Gln Glu Leu Gln Ala
1055 1060 1065

Met Gln Met Glu Leu Gln Ser Pro Glu Tyr Lys Leu Ser Lys Leu
1070 1075 1080

Arg Thr Ser Thr Ile Met Thr Asp Tyr Asn Pro Asn Tyr Cys Phe
1085 1090 1095

Ala Gly Lys Thr Ser Ser Ile Ser Asp Leu Lys Glu Val Pro Arg
1100 1105 1110

Перечень_последовательностей_к заявке_2012133318_506-471RU

Lys Asn Ile Thr Leu Ile Arg Gly Leu Gly His Gly Ala Phe Gly
1115 1120 1125

Glu Val Tyr Glu Gly Gln Val Ser Gly Met Pro Asn Asp Pro Ser
1130 1135 1140

Pro Leu Gln Val Ala Val Lys Thr Leu Pro Glu Val Cys Ser Glu
1145 1150 1155

Gln Asp Glu Leu Asp Phe Leu Met Glu Ala Leu Ile Ile Ser Lys
1160 1165 1170

Phe Asn His Gln Asn Ile Val Arg Cys Ile Gly Val Ser Leu Gln
1175 1180 1185

Ser Leu Pro Arg Phe Ile Leu Leu Glu Leu Met Ala Gly Gly Asp
1190 1195 1200

Leu Lys Ser Phe Leu Arg Glu Thr Arg Pro Arg Pro Ser Gln Pro
1205 1210 1215

Ser Ser Leu Ala Met Leu Asp Leu Leu His Val Ala Arg Asp Ile
1220 1225 1230

Ala Cys Gly Cys Gln Tyr Leu Glu Glu Asn His Phe Ile His Arg
1235 1240 1245

Asp Ile Ala Ala Arg Asn Cys Leu Leu Thr Cys Pro Gly Pro Gly
1250 1255 1260

Arg Val Ala Lys Ile Gly Asp Phe Gly Met Ala Arg Asp Ile Tyr
1265 1270 1275

Arg Ala Ser Tyr Tyr Arg Lys Gly Gly Cys Ala Met Leu Pro Val
1280 1285 1290

Lys Trp Met Pro Pro Glu Ala Phe Met Glu Gly Ile Phe Thr Ser
1295 1300 1305

Lys Thr Asp Thr Trp Ser Phe Gly Val Leu Leu Trp Glu Ile Phe
1310 1315 1320

Ser Leu Gly Tyr Met Pro Tyr Pro Ser Lys Ser Asn Gln Glu Val
1325 1330 1335

Leu Glu Phe Val Thr Ser Gly Gly Arg Met Asp Pro Pro Lys Asn
1340 1345 1350

Cys Pro Gly Pro Val Tyr Arg Ile Met Thr Gln Cys Trp Gln His
1355 1360 1365

Перечень_последовательностей_к заявке_2012133318_506-471RU

Gln Pro Glu Asp Arg Pro Asn Phe Ala Ile Ile Leu Glu Arg Ile
1370 1375 1380

Glu Tyr Cys Thr Gln Asp Pro Asp Val Ile Asn Thr Ala Leu Pro
1385 1390 1395

Ile Glu Tyr Gly Pro Leu Val Glu Glu Glu Glu Lys Val Pro Val
1400 1405 1410

Arg Pro Lys Asp Pro Glu Gly Val Pro Pro Leu Leu Val Ser Gln
1415 1420 1425

Gln Ala Lys Arg Glu Glu Glu Arg Ser Pro Ala Ala Pro Pro Pro
1430 1435 1440

Leu Pro Thr Thr Ser Ser Gly Lys Ala Ala Lys Lys Pro Thr Ala
1445 1450 1455

Ala Glu Ile Ser Val Arg Val Pro Arg Gly Pro Ala Val Glu Gly
1460 1465 1470

Gly His Val Asn Met Ala Phe Ser Gln Ser Asn Pro Pro Ser Glu
1475 1480 1485

Leu His Lys Val His Gly Ser Arg Asn Lys Pro Thr Ser Leu Trp
1490 1495 1500

Asn Pro Thr Tyr Gly Ser Trp Phe Thr Glu Lys Pro Thr Lys Lys
1505 1510 1515

Asn Asn Pro Ile Ala Lys Lys Glu Pro His Asp Arg Gly Asn Leu
1520 1525 1530

Gly Leu Glu Gly Ser Cys Thr Val Pro Pro Asn Val Ala Thr Gly
1535 1540 1545

Arg Leu Pro Gly Ala Ser Leu Leu Leu Glu Pro Ser Ser Leu Thr
1550 1555 1560

Ala Asn Met Lys Glu Val Pro Leu Phe Arg Leu Arg His Phe Pro
1565 1570 1575

Cys Gly Asn Val Asn Tyr Gly Tyr Gln Gln Gln Gly Leu Pro Leu
1580 1585 1590

Glu Ala Ala Thr Ala Pro Gly Ala Gly His Tyr Glu Asp Thr Ile
1595 1600 1605

Leu Lys Ser Lys Asn Ser Met Asn Gln Pro Gly Pro
1610 1615 1620

Перечень_последовательностей_к заявке_2012133318_506-471RU

<210> 5
 <211> 3926
 <212> ДНК
 <213> Homo sapiens

```

<400> 5
ggcggcgcg cgcggcgctc gcggtgctg cctgggaggg aggccgggca ggcggctgag      60
cggcgcggct ctcaacgtga cggggaagtg gttcgggagg ccgcggctta ctacccagg      120
gcgaacggac ggacgacgga ggcgggagcc ggtagccgag ccgggagacc tagagaacga      180
gcgggtcagg ctgagcgtcg gccactctgt cgggtccgctg aatgaagtgc ccgccctct      240
gagcccgag cccggcgctt tccccgcaag atggacgggt tcgccggcag tctcgatgat      300
agtatttctg ctgcaagtac ttctgatgtt caagatcgcc tgtagctct tgagtacga      360
gttcagcaac aagaagatga aatcactgtg ctaaaggcgg ctttggtga tgtttgagg      420
cgtcttgcaa tctctgaaga tcatgtggcc tcagtgaaaa aatcagtctc aagtaaaggc      480
caaccaagcc ctgagcagt tattcccatg tcctgtataa ccaatggaag tggtgcaaac      540
agaaaacca gtcataccag tgctgtctca attgcaggaa aagaaactct tcatctgct      600
gctaaaagt gtacagaaaa aaagaaagaa aaaccacaag gacagagaga aaaaaagag      660
gaatctcatt ctaatgatca aagtccaca attcgagcat caccttctcc ccagccctct      720
tcacaacctc tccaaataca cagacaaact ccagaaagca agaattgtac tccaccaaa      780
agcataaaac gaccatcacc agctgaaaag tcacataatt cttgggaaaa ttcagatgat      840
agccgtaata aattgtcgaa aataccttca acacccaat taatacaaa agttaccaaa      900
actgcagaca agcataaaga tgatcatcat aaccaagaag gagaatatat taaaatgttt      960
atgcgcggtc ggccaattac catgttcatt cttccgatg ttgacaacta tgatgacatc     1020
agaacggaac tgcctcctga gaagctcaaa ctggagtggg catatggtta tcgaggaaaag     1080
gactgtagag ctaatgttta ctttcttccg accggggaaa tagtttattt cattgcatca     1140
gtagtagtac tatttaatta tgaggagaga actcagcgac actacctggg ccatacagac     1200
tgtgtgaaat gccttgctat acatcctgac aaaattagga ttgcaactgg acagatagct     1260
ggcgtggata aagatggaag gcctctacaa cccacgtca gagtgtggga ttctgttact     1320
ctatccacac tgcagattat tggacttggc acttttgagc gtggagttag atgcctggat     1380
ttttcaaaag cagattcagg tggtcattta tgtgttattg atgactcaa tgagcatatg     1440
cttactgtat gggactggca gaagaaagca aaaggagcag aaataaagac acaaatgaa     1500
gttggttttg ctgtggagtt tcacccaaca gatgcaata ccataattac atgcggtaaa     1560
tctcatattt tcttctggac ctggagcggc aattcactaa caagaaaaca ggaattttt     1620
gggaaatatg aaaagccaaa atttgtgcag tgtttagcat tcttggggaa tggagatgtt     1680
cttactggag actcaggtgg agtcatgctt atatggagca aaactactgt agagccaca     1740
cctgggaaag gacctaaagt gtaccgccgg aagcaccagg agctgcaagc catgcagatg     1800
gagctgcaga gccctgagta caagctgagc aagctccgca cctcgaccat catgaccgac     1860

```


Перечень_последовательностей_к заявке_2012133318_506-471RU

tacaacccca	actactgctt	tgctggcaag	acctcctcca	tcagtgacct	gaaggaggtg	1920
ccgcggaaaa	acatcacctt	cattcggggt	ctgggccatg	gagccttttg	ggaggtgtat	1980
gaaggccagg	tgtccggaat	gccccaacgac	ccaagcccc	tgcaagtggc	tgtgaagacg	2040
ctgcctgaag	tgtgctctga	acaggacgaa	ctggatttcc	tcattggaagc	cctgatcatc	2100
agcaaattca	accaccagaa	cattgttcgc	tgcatgggg	tgagcctgca	atccctgccc	2160
cggttcatcc	tgctggagct	catggcgggg	ggagacctca	agtccttcct	ccgagagacc	2220
cgccctcgcc	cgagccagcc	ctcctccctg	gccatgctgg	accttctgca	cgtggctcgg	2280
gacattgcct	gtggctgtca	gtatttggag	gaaaaccact	tcattccaccg	agacattgct	2340
gccagaaact	gcctcttgac	ctgtccaggc	cctggaagag	tggccaagat	tggagacttc	2400
gggatggccc	gagacatcta	cagggcgagc	tactatagaa	agggaggctg	tgccatgctg	2460
ccagttaagt	ggatgcccc	agaggccttc	atggaaggaa	tattcacttc	taaaacagac	2520
acatggctct	ttggagtgtc	gctatgggaa	atcttttctc	ttggatatat	gccatacccc	2580
agcaaaagca	accaggaagt	tctggagttt	gtcaccagtg	gaggccggat	ggaccacccc	2640
aagaactgcc	ctgggcctgt	ataccggata	atgactcagt	gctggcaaca	tcagcctgaa	2700
gacaggccca	actttgccat	catttttgag	aggattgaat	actgcacca	ggaccgggat	2760
gtaatcaaca	ccgctttgcc	gatagaatat	ggtccacttg	tggaagagga	agagaaagtg	2820
cctgtgaggc	ccaaggaccc	tgagggggtt	cctcctctcc	tggtctctca	acaggcaaaa	2880
cgggaggagg	agcgagcccc	agctgcccc	ccacctctgc	ctaccacctc	ctctggcaag	2940
gctgcaaaga	aaccacagc	tgacagggtc	tctgttcgag	tccttagagg	gccggccgtg	3000
gaagggggac	acgtgaatat	ggcattctct	cagtccaacc	ctccttcgga	gttgcacagg	3060
gtccacggat	ccagaaacaa	gcccaccagc	ttgtggaacc	caacgtacgg	ctcctggttt	3120
acagagaaac	ccacaaaaa	gaataatcct	atagcaaaga	aggagccaca	cgagaggggt	3180
aacctggggc	tggaggggag	ctgtactgtc	ccacctaacg	ttgcaactgg	gagacttccg	3240
ggggcctcac	tgctcctaga	gccctcttcg	ctgactgcca	atatgaagga	ggtacctctg	3300
ttcagggtac	gtcacttccc	ttgtgggaat	gtcaattacg	gctaccagca	acagggtttg	3360
cccttagaag	ccgctactgc	ccctggagct	ggtcattacg	aggataccat	tctgaaaagc	3420
aagaatagca	tgaaccagcc	tgggccctga	gctcgggtcac	acactcactt	ctcttccttg	3480
ggatccctaa	gaccgtggag	gagagagagg	caatcaatgg	ctccttcaca	aaccagagac	3540
caaatgtcac	gttttgtttt	gtgccaacct	attttgaagt	accaccaaaa	aagctgtatt	3600
ttgaaaatgc	tttagaaagg	ttttgagcat	gggttcatcc	tattctttcg	aaagaagaaa	3660
atatcataaa	aatgagtgtat	aaatacaagg	cccagatgtg	gttgcataag	gtttttatgc	3720
atgtttgttg	tatacttctt	tatgcttctt	ttaaattgtg	tgtgctctgc	ttcaatgtag	3780
tcagaattag	ctgcttctat	gtttcatagt	tggggtcata	gatgtttcct	tgcttgttg	3840
atgtggacat	gagccatttg	aggggagagg	gaacggaaat	aaaggagtta	tttgtaatga	3900

Перечень_последовательностей_к заявке_2012133318_506-471RU
 аааааааааа аааааааааа аааааа 3926

<210> 6
 <211> 1059
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 6
 Met Asp Gly Phe Ala Gly Ser Leu Asp Asp Ser Ile Ser Ala Ala Ser
 1 5 10 15
 Thr Ser Asp Val Gln Asp Arg Leu Ser Ala Leu Glu Ser Arg Val Gln
 20 25 30
 Gln Gln Glu Asp Glu Ile Thr Val Leu Lys Ala Ala Leu Ala Asp Val
 35 40 45
 Leu Arg Arg Leu Ala Ile Ser Glu Asp His Val Ala Ser Val Lys Lys
 50 55 60
 Ser Val Ser Ser Lys Gly Gln Pro Ser Pro Arg Ala Val Ile Pro Met
 65 70 75 80
 Ser Cys Ile Thr Asn Gly Ser Gly Ala Asn Arg Lys Pro Ser His Thr
 85 90 95
 Ser Ala Val Ser Ile Ala Gly Lys Glu Thr Leu Ser Ser Ala Ala Lys
 100 105 110
 Ser Gly Thr Glu Lys Lys Lys Glu Lys Pro Gln Gly Gln Arg Glu Lys
 115 120 125
 Lys Glu Glu Ser His Ser Asn Asp Gln Ser Pro Gln Ile Arg Ala Ser
 130 135 140
 Pro Ser Pro Gln Pro Ser Ser Gln Pro Leu Gln Ile His Arg Gln Thr
 145 150 155 160
 Pro Glu Ser Lys Asn Ala Thr Pro Thr Lys Ser Ile Lys Arg Pro Ser
 165 170 175
 Pro Ala Glu Lys Ser His Asn Ser Trp Glu Asn Ser Asp Asp Ser Arg
 180 185 190
 Asn Lys Leu Ser Lys Ile Pro Ser Thr Pro Lys Leu Ile Pro Lys Val
 195 200 205
 Thr Lys Thr Ala Asp Lys His Lys Asp Val Ile Ile Asn Gln Glu Gly
 210 215 220
 Glu Tyr Ile Lys Met Phe Met Arg Gly Arg Pro Ile Thr Met Phe Ile
 225 230 235 240

Перечень_последовательностей_к заявке_2012133318_506-471RU

Pro Ser Asp Val Asp Asn Tyr Asp Asp Ile Arg Thr Glu Leu Pro Pro
 245 250 255
 Glu Lys Leu Lys Leu Glu Trp Ala Tyr Gly Tyr Arg Gly Lys Asp Cys
 260 265 270
 Arg Ala Asn Val Tyr Leu Leu Pro Thr Gly Glu Ile Val Tyr Phe Ile
 275 280 285
 Ala Ser Val Val Val Leu Phe Asn Tyr Glu Glu Arg Thr Gln Arg His
 290 295 300
 Tyr Leu Gly His Thr Asp Cys Val Lys Cys Leu Ala Ile His Pro Asp
 305 310 315 320
 Lys Ile Arg Ile Ala Thr Gly Gln Ile Ala Gly Val Asp Lys Asp Gly
 325 330 335
 Arg Pro Leu Gln Pro His Val Arg Val Trp Asp Ser Val Thr Leu Ser
 340 345 350
 Thr Leu Gln Ile Ile Gly Leu Gly Thr Phe Glu Arg Gly Val Gly Cys
 355 360 365
 Leu Asp Phe Ser Lys Ala Asp Ser Gly Val His Leu Cys Val Ile Asp
 370 375 380
 Asp Ser Asn Glu His Met Leu Thr Val Trp Asp Trp Gln Lys Lys Ala
 385 390 395 400
 Lys Gly Ala Glu Ile Lys Thr Thr Asn Glu Val Val Leu Ala Val Glu
 405 410 415
 Phe His Pro Thr Asp Ala Asn Thr Ile Ile Thr Cys Gly Lys Ser His
 420 425 430
 Ile Phe Phe Trp Thr Trp Ser Gly Asn Ser Leu Thr Arg Lys Gln Gly
 435 440 445
 Ile Phe Gly Lys Tyr Glu Lys Pro Lys Phe Val Gln Cys Leu Ala Phe
 450 455 460
 Leu Gly Asn Gly Asp Val Leu Thr Gly Asp Ser Gly Gly Val Met Leu
 465 470 475 480
 Ile Trp Ser Lys Thr Thr Val Glu Pro Thr Pro Gly Lys Gly Pro Lys
 485 490 495
 Val Tyr Arg Arg Lys His Gln Glu Leu Gln Ala Met Gln Met Glu Leu
 500 505 510

Перечень_последовательностей_к заявке_2012133318_506-471RU

Gln Ser Pro Glu Tyr Lys Leu Ser Lys Leu Arg Thr Ser Thr Ile Met
 515 520 525
 Thr Asp Tyr Asn Pro Asn Tyr Cys Phe Ala Gly Lys Thr Ser Ser Ile
 530 535 540
 Ser Asp Leu Lys Glu Val Pro Arg Lys Asn Ile Thr Leu Ile Arg Gly
 545 550 555 560
 Leu Gly His Gly Ala Phe Gly Glu Val Tyr Glu Gly Gln Val Ser Gly
 565 570 575
 Met Pro Asn Asp Pro Ser Pro Leu Gln Val Ala Val Lys Thr Leu Pro
 580 585 590
 Glu Val Cys Ser Glu Gln Asp Glu Leu Asp Phe Leu Met Glu Ala Leu
 595 600 605
 Ile Ile Ser Lys Phe Asn His Gln Asn Ile Val Arg Cys Ile Gly Val
 610 615 620
 Ser Leu Gln Ser Leu Pro Arg Phe Ile Leu Leu Glu Leu Met Ala Gly
 625 630 635 640
 Gly Asp Leu Lys Ser Phe Leu Arg Glu Thr Arg Pro Arg Pro Ser Gln
 645 650 655
 Pro Ser Ser Leu Ala Met Leu Asp Leu Leu His Val Ala Arg Asp Ile
 660 665 670
 Ala Cys Gly Cys Gln Tyr Leu Glu Glu Asn His Phe Ile His Arg Asp
 675 680 685
 Ile Ala Ala Arg Asn Cys Leu Leu Thr Cys Pro Gly Pro Gly Arg Val
 690 695 700
 Ala Lys Ile Gly Asp Phe Gly Met Ala Arg Asp Ile Tyr Arg Ala Ser
 705 710 715 720
 Tyr Tyr Arg Lys Gly Gly Cys Ala Met Leu Pro Val Lys Trp Met Pro
 725 730 735
 Pro Glu Ala Phe Met Glu Gly Ile Phe Thr Ser Lys Thr Asp Thr Trp
 740 745 750
 Ser Phe Gly Val Leu Leu Trp Glu Ile Phe Ser Leu Gly Tyr Met Pro
 755 760 765
 Tyr Pro Ser Lys Ser Asn Gln Glu Val Leu Glu Phe Val Thr Ser Gly
 770 775 780

Перечень_последовательностей_к заявке_2012133318_506-471RU

Gly Arg Met Asp Pro Lys Asn Cys Pro Gly Pro Val Tyr Arg Ile
 785 790 795 800
 Met Thr Gln Cys Trp Gln His Gln Pro Glu Asp Arg Pro Asn Phe Ala
 805 810 815
 Ile Ile Leu Glu Arg Ile Glu Tyr Cys Thr Gln Asp Pro Asp Val Ile
 820 825 830
 Asn Thr Ala Leu Pro Ile Glu Tyr Gly Pro Leu Val Glu Glu Glu Glu
 835 840 845
 Lys Val Pro Val Arg Pro Lys Asp Pro Glu Gly Val Pro Pro Leu Leu
 850 855 860
 Val Ser Gln Gln Ala Lys Arg Glu Glu Glu Arg Ser Pro Ala Ala Pro
 865 870 875 880
 Pro Pro Leu Pro Thr Thr Ser Ser Gly Lys Ala Ala Lys Lys Pro Thr
 885 890 895
 Ala Ala Glu Val Ser Val Arg Val Pro Arg Gly Pro Ala Val Glu Gly
 900 905 910
 Gly His Val Asn Met Ala Phe Ser Gln Ser Asn Pro Pro Ser Glu Leu
 915 920 925
 His Arg Val His Gly Ser Arg Asn Lys Pro Thr Ser Leu Trp Asn Pro
 930 935 940
 Thr Tyr Gly Ser Trp Phe Thr Glu Lys Pro Thr Lys Lys Asn Asn Pro
 945 950 955 960
 Ile Ala Lys Lys Glu Pro His Glu Arg Gly Asn Leu Gly Leu Glu Gly
 965 970 975
 Ser Cys Thr Val Pro Pro Asn Val Ala Thr Gly Arg Leu Pro Gly Ala
 980 985 990
 Ser Leu Leu Leu Glu Pro Ser Ser Leu Thr Ala Asn Met Lys Glu Val
 995 1000 1005
 Pro Leu Phe Arg Leu Arg His Phe Pro Cys Gly Asn Val Asn Tyr
 1010 1015 1020
 Gly Tyr Gln Gln Gln Gly Leu Pro Leu Glu Ala Ala Thr Ala Pro
 1025 1030 1035
 Gly Ala Gly His Tyr Glu Asp Thr Ile Leu Lys Ser Lys Asn Ser
 1040 1045 1050

Перечень_последовательностей_к заявке_2012133318_506-471RU

Met Asn Gln Pro Gly Pro
1055

<210> 7
<211> 4679
<212> ДНК
<213> Homo sapiens

<400> 7
ggcggcgcg cgcggcgctc gcggctgctg cctgggaggg aggccgggca ggcggctgag 60
cggcgcggct ctcaacgtga cggggaagtg gttcgggagg ccgcggctta ctaccccagg 120
gcgaacggac ggacgacgga ggcgggagcc ggtagccgag ccgggagacc tagagaacga 180
gcgggtcagg ctgagcgtcg gccactctgt cgggtccgctg aatgaagtgc ccgccctct 240
gagcccgagg cccggcgctt tccccgcaag atggacggtt tcgccggcag tctcgatgat 300
agtatttctg ctgcaagtac ttctgatgtt caagatcgcc tgtcagctct tgagtcacga 360
gttcagcaac aagaagatga aatcactgtg ctaaaaggcg ctttggctga tgttttgagg 420
cgtcttgcaa tctctgaaga tcatgtggcc tcagtgaata aatcagctct aagtaaaggc 480
caaccaagcc ctgagcagt tattcccatg tcctgtataa ccaatggaag tggtgcaaac 540
agaaaacca gtcataccag tgctgtctca attgcaggaa aagaaactct ttcactctgt 600
gctaaaagtg gtacagaaaa aaagaaagaa aaaccacaag gacagagaga aaaaaagag 660
gaatctcatt ctaatgatca aagtcacaaa attcgagcat caccttctcc ccagccctct 720
tcacaacctc tccaaataca cagacaaact ccagaagca agaattgtac tcccacaaa 780
agcataaac gaccatcacc agctgaaaag tcacataatt cttgggaaaa ttcagatgat 840
agccgtaata aattgtcgaa aataccttca acacccaaat taatacaaaa agttacaaa 900
actgcagaca agcataaaga tgtcatcatc aaccaagaag gagaatatat taaaatgttt 960
atgcgcggtc ggccaattac catgttcatt cttccgatg ttgacaacta tgatgacatc 1020
agaacggaac tgcctcctga gaagctcaaa ctggagtggg catatggtta tcgaggaaaag 1080
gactgtagag ctaatgttta cttcttccg accggggaaa tagtttatat cattgcatca 1140
gtagtagtac tatttaatta tgaggagaga actcagcgac actacctggg ccatacagac 1200
tgtgtgaaat gccttgctat acatcctgac aaaattagga ttgcaactgg acagatagct 1260
ggcgtggata aagatggaag gcctctacaa cccacgtca gagtgaggga ttctgttact 1320
ctatccacac tgcagattat tggacttggc acttttgagc gtggagtagg atgcctggat 1380
ttttcaaaag cagattcagg tgttcattta tgtgttattg atgactccaa tgagcatatg 1440
cttactgtat gggactggca gaagaaagca aaaggagcag aaataaagac acaaatgaa 1500
gttggttttg ctgtggagtt tcacccaaga gatgcaata ccataattac atgcggtaaa 1560
tctcatatct tcttctggac ctggagcggc aattcactaa caagaaaaca gggaattttt 1620
gggaaatatg aaaagccaaa atttgtgcag tgtttagcat tcttggggaa tggagatgtt 1680
cttactggag actcaggtgg agtcatgctt atatggagca aaactactgt agagcccaca 1740

Page 17

Перечень_последовательностей_к заявке_2012133318_506-471RU

cctgggaaag gacctaaggg tgtatatcaa atcagcaaac aaatcaaagc tcatgatggc	1800
agtgtgttca cactttgtca gatgagaaat gggatgttat taactggagg agggaaagac	1860
agaaaaataa ttctgtggga tcatgatctg aatcctgaaa gagaaataga ggttcctgat	1920
cagtatggca caatcagagc tgtagcagaa ggaagggcag atcaattttt agtaggcaca	1980
tcacgaaact ttattttacg aggaacattt aatgatggct tccaaataga agtacagggg	2040
catacagatg agctttgggg tcttgccaca catcccttca aagatttgct cttgacatgt	2100
gctcaggaca ggcagggtgtg cctgtggaac tcaatggaac acaggctgga atggaccagg	2160
ctggtagatg aaccaggaca ctgtgcagat tttcatcca gtggcacagt ggtggccata	2220
ggaacgcact caggcagggtg gttgtttctg gatgcagaaa ccagagatct agtttctatc	2280
cacacagacg ggaatgaaca gctctctgtg atgcgctact caatagatgg taccttcctg	2340
gctgtaggat ctcatgacaa ctttatttac ctctatgtag tctctgaaaa tggaagaaaa	2400
tatagcagat atggaagggtg cactggacat tccagctaca tcacacacct tgactggtcc	2460
ccagacaaca agtatataat gtctaactcg ggagactatg aaatattgta cttgtaccgc	2520
cggaaagcacc aggagctgca agccatgcag atggagctgc agagccctga gtacaagctg	2580
agcaagctcc gcacctcgac catcatgacc gactacaacc ccaactactg ctttgctggc	2640
aagacctcct ccacagtgga cctgaaggag gtgcccgcga aaaacatcac cctcattcgg	2700
ggctctggcc atggagcctt tggggagggtg tatgaaggcc aggtgtccgg aatgcccaac	2760
gacccaagcc ccctgcaagt ggctgtgaag acgctgcctg aagtgtgctc tgaacaggac	2820
gaactggatt tcctcatgga agccctgac atcagcaaat tcaaccacca gaacattgtt	2880
cgctgcattg gggtagacct gcaatccctg ccccggttca tcctgctgga gctcatggcg	2940
gggggagacc tcaagtcctt cctccgagag acccgccctc gcccgagcca gccctcctcc	3000
ctggccatgc tggaccttct gcacgtggct cgggacattg cctgtggctg tcagtatttg	3060
gaggaaaacc acttcatcca ccgagacatt gctgccagaa actgcctctt gacctgtcca	3120
ggccctggaa gagtggccaa gattggagac ttcgggatgg cccgagacat ctacagggcg	3180
agctactata gaaagggagg ctgtgccatg ctgccagtta agtggatgcc cccagaggcc	3240
ttcatggaag gaatattcac ttctaaaaca gacacatggt ctttggagt gctgctatgg	3300
gaaatctttt ctcttgata tatgccatac cccagcaaaa gcaaccagga agttctggag	3360
tttgtacca gtggaggccg gatggacca cccaagaact gccctgggcc tgtataccgg	3420
ataatgactc agtgctggca acatcagcct gaagacaggc ccaactttgc catcattttg	3480
gagaggattg aatactgcac ccaggaccg gatgtaatca acaccgcttt gccgatagaa	3540
tatggtccac ttgtggaaga ggaagagaaa gtgcctgtga ggcccaagga ccctgagggg	3600
gttcctcttc tcctgtctc tcaacaggca aaacgggagg aggagcgag cccagctgcc	3660
ccaccacctc tgcctaccac ctctctggc aaggctgcaa agaaaccac agctgcagag	3720
gtctctgttc gagtccctag agggccggcc gtggaagggg gacacgtgaa tatggcattc	3780

Перечень_последовательностей_к заявке_2012133318_506-471RU

```

tctcagtcaca accctccttc ggagttgcac aggggtccacg gatccagaaa caagcccacc 3840
agcttggtgga acccaacgta cggctcctgg ttacacagaga aaccaccaa aaagaataat 3900
cctatagcaa agaaggagcc acacgagagg ggtaacctgg ggctggaggg aagctgtact 3960
gtccaccta acgttgcaac tgggagactt ccgggggcct cactgctcct agagccctct 4020
tcgctgactg ccaatatgaa ggaggtacct ctgttcaggc tacgtcactt cccttggtgg 4080
aatgtcaatt acggctacca gcaacagggc ttgcccttag aagccgctac tgccctgga 4140
gctggtcatt acgaggatac cattctgaaa agcaagaata gcatgaacca gcctgggccc 4200
tgagctcggc cacacactca cttctcttcc ttgggatccc taagaccgtg gaggagagag 4260
aggcaatcaa tggctccttc acaaaccaga gacaaatgt cacgttttgt ttgtgcca 4320
cctatattga agtaccacca aaaaagctgt atttgaaaa tgcttttaga aggttttgag 4380
catgggttca tcctattctt tcgaaagaag aaaatatcat aaaaatgagt gataaataca 4440
aggccagat gtggttgcac aagggtttta tgcatgtttg ttgtatactt cttatgctt 4500
cttttaaatt gtgtgtgctc tgcttcaatg tagtcagaat tagctgcttc tatgtttcat 4560
agttggggtc atagatgttt ccttgccctg ttgatgtgga catgagccat ttgaggggag 4620
agggaacgga aataaaggag ttatttgtaa tgaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 4679

```

<210> 8
 <211> 1310
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

```

<400> 8
Met Asp Gly Phe Ala Gly Ser Leu Asp Asp Ser Ile Ser Ala Ala Ser
1      5      10      15

Thr Ser Asp Val Gln Asp Arg Leu Ser Ala Leu Glu Ser Arg Val Gln
20     25     30

Gln Gln Glu Asp Glu Ile Thr Val Leu Lys Ala Ala Leu Ala Asp Val
35     40     45

Leu Arg Arg Leu Ala Ile Ser Glu Asp His Val Ala Ser Val Lys Lys
50     55     60

Ser Val Ser Ser Lys Gly Gln Pro Ser Pro Arg Ala Val Ile Pro Met
65     70     75     80

Ser Cys Ile Thr Asn Gly Ser Gly Ala Asn Arg Lys Pro Ser His Thr
85     90     95

Ser Ala Val Ser Ile Ala Gly Lys Glu Thr Leu Ser Ser Ala Ala Lys
100    105    110

Ser Gly Thr Glu Lys Lys Lys Glu Lys Pro Gln Gly Gln Arg Glu Lys
115    120    125

```


Перечень_последовательностей_к заявке_2012133318_506-471RU

Lys Glu Glu Ser His Ser Asn Asp Gln Ser Pro Gln Ile Arg Ala Ser
 130 135 140
 Pro Ser Pro Gln Pro Ser Ser Gln Pro Leu Gln Ile His Arg Gln Thr
 145 150 155 160
 Pro Glu Ser Lys Asn Ala Thr Pro Thr Lys Ser Ile Lys Arg Pro Ser
 165 170 175
 Pro Ala Glu Lys Ser His Asn Ser Trp Glu Asn Ser Asp Asp Ser Arg
 180 185 190
 Asn Lys Leu Ser Lys Ile Pro Ser Thr Pro Lys Leu Ile Pro Lys Val
 195 200 205
 Thr Lys Thr Ala Asp Lys His Lys Asp Val Ile Ile Asn Gln Glu Gly
 210 215 220
 Glu Tyr Ile Lys Met Phe Met Arg Gly Arg Pro Ile Thr Met Phe Ile
 225 230 235 240
 Pro Ser Asp Val Asp Asn Tyr Asp Asp Ile Arg Thr Glu Leu Pro Pro
 245 250 255
 Glu Lys Leu Lys Leu Glu Trp Ala Tyr Gly Tyr Arg Gly Lys Asp Cys
 260 265 270
 Arg Ala Asn Val Tyr Leu Leu Pro Thr Gly Glu Ile Val Tyr Phe Ile
 275 280 285
 Ala Ser Val Val Val Leu Phe Asn Tyr Glu Glu Arg Thr Gln Arg His
 290 295 300
 Tyr Leu Gly His Thr Asp Cys Val Lys Cys Leu Ala Ile His Pro Asp
 305 310 315 320
 Lys Ile Arg Ile Ala Thr Gly Gln Ile Ala Gly Val Asp Lys Asp Gly
 325 330 335
 Arg Pro Leu Gln Pro His Val Arg Val Trp Asp Ser Val Thr Leu Ser
 340 345 350
 Thr Leu Gln Ile Ile Gly Leu Gly Thr Phe Glu Arg Gly Val Gly Cys
 355 360 365
 Leu Asp Phe Ser Lys Ala Asp Ser Gly Val His Leu Cys Val Ile Asp
 370 375 380
 Asp Ser Asn Glu His Met Leu Thr Val Trp Asp Trp Gln Lys Lys Ala
 385 390 395 400

Перечень_последовательностей_к заявке_2012133318_506-471RU

Lys Gly Ala Glu Ile Lys Thr Thr Asn Glu Val Val Leu Ala Val Glu
 405 410 415
 Phe His Pro Thr Asp Ala Asn Thr Ile Ile Thr Cys Gly Lys Ser His
 420 425 430
 Ile Phe Phe Trp Thr Trp Ser Gly Asn Ser Leu Thr Arg Lys Gln Gly
 435 440 445
 Ile Phe Gly Lys Tyr Glu Lys Pro Lys Phe Val Gln Cys Leu Ala Phe
 450 455 460
 Leu Gly Asn Gly Asp Val Leu Thr Gly Asp Ser Gly Gly Val Met Leu
 465 470 475 480
 Ile Trp Ser Lys Thr Thr Val Glu Pro Thr Pro Gly Lys Gly Pro Lys
 485 490 495
 Gly Val Tyr Gln Ile Ser Lys Gln Ile Lys Ala His Asp Gly Ser Val
 500 505 510
 Phe Thr Leu Cys Gln Met Arg Asn Gly Met Leu Leu Thr Gly Gly Gly
 515 520 525
 Lys Asp Arg Lys Ile Ile Leu Trp Asp His Asp Leu Asn Pro Glu Arg
 530 535 540
 Glu Ile Glu Val Pro Asp Gln Tyr Gly Thr Ile Arg Ala Val Ala Glu
 545 550 555 560
 Gly Lys Ala Asp Gln Phe Leu Val Gly Thr Ser Arg Asn Phe Ile Leu
 565 570 575
 Arg Gly Thr Phe Asn Asp Gly Phe Gln Ile Glu Val Gln Gly His Thr
 580 585 590
 Asp Glu Leu Trp Gly Leu Ala Thr His Pro Phe Lys Asp Leu Leu Leu
 595 600 605
 Thr Cys Ala Gln Asp Arg Gln Val Cys Leu Trp Asn Ser Met Glu His
 610 615 620
 Arg Leu Glu Trp Thr Arg Leu Val Asp Glu Pro Gly His Cys Ala Asp
 625 630 635 640
 Phe His Pro Ser Gly Thr Val Val Ala Ile Gly Thr His Ser Gly Arg
 645 650 655
 Trp Phe Val Leu Asp Ala Glu Thr Arg Asp Leu Val Ser Ile His Thr
 660 665 670

Перечень_последовательностей_к заявке_2012133318_506-471RU

Asp Gly Asn Glu Gln Leu Ser Val Met Arg Tyr Ser Ile Asp Gly Thr
 675 680 685
 Phe Leu Ala Val Gly Ser His Asp Asn Phe Ile Tyr Leu Tyr Val Val
 690 695 700
 Ser Glu Asn Gly Arg Lys Tyr Ser Arg Tyr Gly Arg Cys Thr Gly His
 705 710 715 720
 Ser Ser Tyr Ile Thr His Leu Asp Trp Ser Pro Asp Asn Lys Tyr Ile
 725 730 735
 Met Ser Asn Ser Gly Asp Tyr Glu Ile Leu Tyr Leu Tyr Arg Arg Lys
 740 745 750
 His Gln Glu Leu Gln Ala Met Gln Met Glu Leu Gln Ser Pro Glu Tyr
 755 760 765
 Lys Leu Ser Lys Leu Arg Thr Ser Thr Ile Met Thr Asp Tyr Asn Pro
 770 775 780
 Asn Tyr Cys Phe Ala Gly Lys Thr Ser Ser Ile Ser Asp Leu Lys Glu
 785 790 795 800
 Val Pro Arg Lys Asn Ile Thr Leu Ile Arg Gly Leu Gly His Gly Ala
 805 810 815
 Phe Gly Glu Val Tyr Glu Gly Gln Val Ser Gly Met Pro Asn Asp Pro
 820 825 830
 Ser Pro Leu Gln Val Ala Val Lys Thr Leu Pro Glu Val Cys Ser Glu
 835 840 845
 Gln Asp Glu Leu Asp Phe Leu Met Glu Ala Leu Ile Ile Ser Lys Phe
 850 855 860
 Asn His Gln Asn Ile Val Arg Cys Ile Gly Val Ser Leu Gln Ser Leu
 865 870 875 880
 Pro Arg Phe Ile Leu Leu Glu Leu Met Ala Gly Gly Asp Leu Lys Ser
 885 890 895
 Phe Leu Arg Glu Thr Arg Pro Arg Pro Ser Gln Pro Ser Ser Leu Ala
 900 905 910
 Met Leu Asp Leu Leu His Val Ala Arg Asp Ile Ala Cys Gly Cys Gln
 915 920 925
 Tyr Leu Glu Glu Asn His Phe Ile His Arg Asp Ile Ala Ala Arg Asn
 930 935 940

Перечень_последовательностей_к заявке_2012133318_506-471RU

Cys Leu Leu Thr Cys Pro Gly Pro Gly Arg Val Ala Lys Ile Gly Asp
 945 950 955 960
 Phe Gly Met Ala Arg Asp Ile Tyr Arg Ala Ser Tyr Tyr Arg Lys Gly
 965 970 975
 Gly Cys Ala Met Leu Pro Val Lys Trp Met Pro Pro Glu Ala Phe Met
 980 985 990
 Glu Gly Ile Phe Thr Ser Lys Thr Asp Thr Trp Ser Phe Gly Val Leu
 995 1000 1005
 Leu Trp Glu Ile Phe Ser Leu Gly Tyr Met Pro Tyr Pro Ser Lys
 1010 1015 1020
 Ser Asn Gln Glu Val Leu Glu Phe Val Thr Ser Gly Gly Arg Met
 1025 1030 1035
 Asp Pro Pro Lys Asn Cys Pro Gly Pro Val Tyr Arg Ile Met Thr
 1040 1045 1050
 Gln Cys Trp Gln His Gln Pro Glu Asp Arg Pro Asn Phe Ala Ile
 1055 1060 1065
 Ile Leu Glu Arg Ile Glu Tyr Cys Thr Gln Asp Pro Asp Val Ile
 1070 1075 1080
 Asn Thr Ala Leu Pro Ile Glu Tyr Gly Pro Leu Val Glu Glu Glu
 1085 1090 1095
 Glu Lys Val Pro Val Arg Pro Lys Asp Pro Glu Gly Val Pro Pro
 1100 1105 1110
 Leu Leu Val Ser Gln Gln Ala Lys Arg Glu Glu Glu Arg Ser Pro
 1115 1120 1125
 Ala Ala Pro Pro Pro Leu Pro Thr Thr Ser Ser Gly Lys Ala Ala
 1130 1135 1140
 Lys Lys Pro Thr Ala Ala Glu Val Ser Val Arg Val Pro Arg Gly
 1145 1150 1155
 Pro Ala Val Glu Gly Gly His Val Asn Met Ala Phe Ser Gln Ser
 1160 1165 1170
 Asn Pro Pro Ser Glu Leu His Arg Val His Gly Ser Arg Asn Lys
 1175 1180 1185
 Pro Thr Ser Leu Trp Asn Pro Thr Tyr Gly Ser Trp Phe Thr Glu
 1190 1195 1200

Перечень_последовательностей_к заявке_2012133318_506-471RU

Lys Pro Thr Lys Lys Asn Asn Pro Ile Ala Lys Lys Glu Pro His
 1205 1210 1215
 Glu Arg Gly Asn Leu Gly Leu Glu Gly Ser Cys Thr Val Pro Pro
 1220 1225 1230
 Asn Val Ala Thr Gly Arg Leu Pro Gly Ala Ser Leu Leu Leu Glu
 1235 1240 1245
 Pro Ser Ser Leu Thr Ala Asn Met Lys Glu Val Pro Leu Phe Arg
 1250 1255 1260
 Leu Arg His Phe Pro Cys Gly Asn Val Asn Tyr Gly Tyr Gln Gln
 1265 1270 1275
 Gln Gly Leu Pro Leu Glu Ala Ala Thr Ala Pro Gly Ala Gly His
 1280 1285 1290
 Tyr Glu Asp Thr Ile Leu Lys Ser Lys Asn Ser Met Asn Gln Pro
 1295 1300 1305
 Gly Pro
 1310

<210> 9
 <211> 2473
 <212> ДНК
 <213> Homo sapiens

<400> 9
 actctgtcgg tccgctgaat gaagtgcccg cccctctaag cccggagccc ggcgctttcc 60
 ccgcaagatg gacggtttcg ccggcagttc cgatgatagt atttctgctg caagtacttc 120
 tgatgttcaa gatcgctgtg cagctcttga gtcacgagtt cagcaacaag aagatgaaat 180
 cactgtgcta aaggcggtt tggctgatgt tttagggcgt cttgcaatct ctgaagatca 240
 tgtggcctca gtgaaaaaat cagtctcaag taaaggccaa ccaagccctc gagcagttat 300
 tcccatgtcc tgtataacca atggaagtgg tgcaaacaga aaaccaagtc ataccagtgc 360
 tgtctcaatt gcaggaaaag aaactctttc atctgctgct aaaagtggta cagaaaaaaa 420
 gaaagaaaaa ccacaaggac agagagaaaa aaaagaggaa tctcattcta atgatcaaag 480
 tccacaaatt cgagcatcac cttctcccca gcccttttca caacctctcc aaatacacag 540
 acaaaactcca gaaagcaaga atgtacttcc caccaaaagc ataaaacgac catcaccagc 600
 tgaaaagtca cataattctt gggaaaattc agatgatagc cgtaataaat tgtcgaaaat 660
 accttcaaca cccaaattaa taccaaaagt taccaaaact gcagacaagc ataaagatgt 720
 catcatcaac caagtgtacc gccggaagca ccaggagctg caagccatgc agatggagct 780
 gcagagccct gagtacaagc tgagcaagct ccgcacctcg accatcatga ccgactacaa 840

Перечень_последовательностей_к заявке_2012133318_506-471RU

```

ccccaaactac tgctttgctg gcaagacctc ctccatcagt gacctgaagg aggtgccgcg 900
gaaaaacatc accctcattc ggggtctggg ccatggagcc tttggggagg tgtatgaagg 960
ccaggtgtcc ggaatgcccc acgacccaag cccctgcaa gtggctgtga agacgctgcc 1020
tgaagtgtgc tctgaacagg acgaactgga tttcctcatg gaagccctga tcatcagcaa 1080
attcaaccac cagaacattg ttcgctgcat tggggtgagc ctgcaatccc tgccccggtt 1140
catcctgctg gagctcatgg cggggggaga cctcaagtcc ttcctccgag agaccgccc 1200
tcgcccagc cagccctcct ccctggccat gctggacctt ctgcacgtgg ctcgggacat 1260
tgctgtggc tgtcagtatt tggaggaaaa ccacttcac caccgagaca ttgctgccag 1320
aaactgctc ttgacctgtc caggccctgg aagagtggcc aagattggag acttcgggat 1380
ggcccagac atctacaggg cgagctacta tagaaagga ggctgtgcca tgctgccagt 1440
taagtggatg cccccagagg ccttcatgga aggaatattc acttctaaa cagacacatg 1500
gtcctttgga gtgctgctat gggaaatctt ttctcttga tatatgccat accccagcaa 1560
aagcaaccag gaagtcttg agttgtcac cagtggagc cggtggacc caccgaaga 1620
ctgccctggg cctgtatacc ggataatgac tcagtgtgg caacatcagc ctgaagacag 1680
gcccacttt gccatcattt tggagaggat tgaatactgc acccaggacc cggtgtaat 1740
caacaccgct ttgccgatag aatatggtcc acttgtgga gaggaagaga aagtgcctgt 1800
gaggccaag gacctgagg gggttcctc tctcctggtc tctcaacagg caaacggga 1860
ggaggagcgc agcccagctg cccaccacc tctgcctacc acctcctctg gcaaggctgc 1920
aaagaaaccc acagtgcag aggtctctgt tcgagtcct agagggccg ccgtggaagg 1980
gggacacgtg aatatggcat tctctcagc caaccctcct tcggagtgc acagggtcca 2040
cggtccaga aacaagcccc ccagcttggt gaacccaacg tacggctcct ggtttacaga 2100
gaaaccacc aaaaagaata atcctatagc aaagaaggag ccacacgaga gggtaacct 2160
ggggctggag ggaagctgta ctgtcccacc taacgttgca actgggagac ttccggggc 2220
ctcactgctc cttagaccct cttcgtgac tgccaatatg aaggaggtag ctctgttcag 2280
gctacgtcac ttcccttggt ggaatgtcaa ttacggctac cagcaacagg gcttgccctt 2340
agaagccgct actgcccctg gagctggta ttacgaggat accattctga aaagcaagaa 2400
tagcatgaac cagcctgggc cctgagctcg gtcgcacact cacttctctt ccttgggatc 2460
cctaagaccg tgg 2473

```

<210> 10
 <211> 785
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 10
 Met Asp Gly Phe Ala Gly Ser Leu Asp Asp Ser Ile Ser Ala Ala Ser
 1 5 10 15

Thr Ser Asp Val Gln Asp Arg Leu Ser Ala Leu Glu Ser Arg Val Gln

Перечень_последовательностей_к заявке_2012133318_506-471RU
 20 25 30

Gln Gln Glu Asp Glu Ile Thr Val Leu Lys Ala Ala Leu Ala Asp Val
 35 40 45
 Leu Arg Arg Leu Ala Ile Ser Glu Asp His Val Ala Ser Val Lys Lys
 50 55 60
 Ser Val Ser Ser Lys Gly Gln Pro Ser Pro Arg Ala Val Ile Pro Met
 65 70 75 80
 Ser Cys Ile Thr Asn Gly Ser Gly Ala Asn Arg Lys Pro Ser His Thr
 85 90 95
 Ser Ala Val Ser Ile Ala Gly Lys Glu Thr Leu Ser Ser Ala Ala Lys
 100 105 110
 Ser Gly Thr Glu Lys Lys Lys Glu Lys Pro Gln Gly Gln Arg Glu Lys
 115 120 125
 Lys Glu Glu Ser His Ser Asn Asp Gln Ser Pro Gln Ile Arg Ala Ser
 130 135 140
 Pro Ser Pro Gln Pro Ser Ser Gln Pro Leu Gln Ile His Arg Gln Thr
 145 150 155 160
 Pro Glu Ser Lys Asn Ala Thr Pro Thr Lys Ser Ile Lys Arg Pro Ser
 165 170 175
 Pro Ala Glu Lys Ser His Asn Ser Trp Glu Asn Ser Asp Asp Ser Arg
 180 185 190
 Asn Lys Leu Ser Lys Ile Pro Ser Thr Pro Lys Leu Ile Pro Lys Val
 195 200 205
 Thr Lys Thr Ala Asp Lys His Lys Asp Val Ile Ile Asn Gln Val Tyr
 210 215 220
 Arg Arg Lys His Gln Glu Leu Gln Ala Met Gln Met Glu Leu Gln Ser
 225 230 235 240
 Pro Glu Tyr Lys Leu Ser Lys Leu Arg Thr Ser Thr Ile Met Thr Asp
 245 250 255
 Tyr Asn Pro Asn Tyr Cys Phe Ala Gly Lys Thr Ser Ser Ile Ser Asp
 260 265 270
 Leu Lys Glu Val Pro Arg Lys Asn Ile Thr Leu Ile Arg Gly Leu Gly
 275 280 285
 His Gly Ala Phe Gly Glu Val Tyr Glu Gly Gln Val Ser Gly Met Pro
 Page 26

290 Перечень_последовательностей_к заявке_2012133318_506-471RU
295 300

Asn Asp Pro Ser Pro Leu Gln Val Ala Val Lys Thr Leu Pro Glu Val
305 310 315 320

Cys Ser Glu Gln Asp Glu Leu Asp Phe Leu Met Glu Ala Leu Ile Ile
325 330 335

Ser Lys Phe Asn His Gln Asn Ile Val Arg Cys Ile Gly Val Ser Leu
340 345 350

Gln Ser Leu Pro Arg Phe Ile Leu Leu Glu Leu Met Ala Gly Gly Asp
355 360 365

Leu Lys Ser Phe Leu Arg Glu Thr Arg Pro Arg Pro Ser Gln Pro Ser
370 375 380

Ser Leu Ala Met Leu Asp Leu Leu His Val Ala Arg Asp Ile Ala Cys
385 390 395 400

Gly Cys Gln Tyr Leu Glu Glu Asn His Phe Ile His Arg Asp Ile Ala
405 410 415

Ala Arg Asn Cys Leu Leu Thr Cys Pro Gly Pro Gly Arg Val Ala Lys
420 425 430

Ile Gly Asp Phe Gly Met Ala Arg Asp Ile Tyr Arg Ala Ser Tyr Tyr
435 440 445

Arg Lys Gly Gly Cys Ala Met Leu Pro Val Lys Trp Met Pro Pro Glu
450 455 460

Ala Phe Met Glu Gly Ile Phe Thr Ser Lys Thr Asp Thr Trp Ser Phe
465 470 475 480

Gly Val Leu Leu Trp Glu Ile Phe Ser Leu Gly Tyr Met Pro Tyr Pro
485 490 495

Ser Lys Ser Asn Gln Glu Val Leu Glu Phe Val Thr Ser Gly Gly Arg
500 505 510

Met Asp Pro Lys Asn Cys Gly Pro Val Tyr Arg Ile Met Thr
515 520 525

Gln Cys Trp Gln His Gln Pro Glu Asp Arg Pro Asn Phe Ala Ile Ile
530 535 540

Leu Glu Arg Ile Glu Tyr Cys Thr Gln Asp Pro Asp Val Ile Asn Thr
545 550 555 560

Ala Leu Pro Ile Glu Tyr Gly Pro Leu Val Glu Glu Glu Glu Lys Val
Page 27

Перечень_последовательностей_к заявке_2012133318_506-471RU
565 570 575

Pro Val Arg Pro Lys Asp Pro Glu Gly Val Pro Pro Leu Leu Val Ser
580 585 590

Gln Gln Ala Lys Arg Glu Glu Glu Arg Ser Pro Ala Ala Pro Pro Pro
595 600 605

Leu Pro Thr Thr Ser Ser Gly Lys Ala Ala Lys Lys Pro Thr Ala Ala
610 615 620

Glu Val Ser Val Arg Val Pro Arg Gly Pro Ala Val Glu Gly Gly His
625 630 635 640

Val Asn Met Ala Phe Ser Gln Ser Asn Pro Pro Ser Glu Leu His Arg
645 650 655

Val His Gly Ser Arg Asn Lys Pro Thr Ser Leu Trp Asn Pro Thr Tyr
660 665 670

Gly Ser Trp Phe Thr Glu Lys Pro Thr Lys Lys Asn Asn Pro Ile Ala
675 680 685

Lys Lys Glu Pro His Glu Arg Gly Asn Leu Gly Leu Glu Gly Ser Cys
690 695 700

Thr Val Pro Pro Asn Val Ala Thr Gly Arg Leu Pro Gly Ala Ser Leu
705 710 715 720

Leu Leu Glu Pro Ser Ser Leu Thr Ala Asn Met Lys Glu Val Pro Leu
725 730 735

Phe Arg Leu Arg His Phe Pro Cys Gly Asn Val Asn Tyr Gly Tyr Gln
740 745 750

Gln Gln Gly Leu Pro Leu Glu Ala Ala Thr Ala Pro Gly Ala Gly His
755 760 765

Tyr Glu Asp Thr Ile Leu Lys Ser Lys Asn Ser Met Asn Gln Pro Gly
770 775 780

Pro
785

<210> 11
<211> 2506
<212> ДНК
<213> Homo sapiens

<400> 11
actctgtcgg tccgctgaat gaagtgcccg cccctctaag cccggagccc ggcgctttcc 60
ccgcaagatg gacggtttcg ccggcagtct cgatgatagt atttctgctg caagtacttc 120
Page 28

Перечень_последовательностей_к заявке_2012133318_506-471RU

tgatgttcaa gatcgctgt cagctcttga gtcacgagtt cagcaacaag aagatgaaat	180
cactgtgcta aaggcggctt tggctgatgt tttgagcggt cttgcaatct ctgaagatca	240
tgtggcctca gtgaaaaaat cagtctcaag taaaggccaa ccaagccctc gagcagttat	300
tcccatgtcc tgtataacca atggaagtgg tgcaaacaga aaaccaagtc ataccagtgc	360
tgtctcaatt gcaggaaaag aaactctttc atctgctgct aaaagtggta cagaaaaaaa	420
gaaagaaaaa ccacaaggac agagagaaaa aaaagaggaa tctcattcta atgatcaaaag	480
tccacaaatt cgagcatcac cttctcccca gccctcttca caacctctcc aaatacacag	540
acaaactcca gaaagcaaga atgctactcc caccaaaaagc ataaaacgac catcaccagc	600
tgaaaagtca cataattctt gggaaaattc agatgatagc cgtaataaat tgtcgaaaat	660
accttcaaca cccaattaa taccaaaagt taccaaaaact gcagacaagc ataaagatgt	720
catcatcaac caagcaaaaa tgtcaactcg cgaaaaaac agccaagtgt accgccggaa	780
gcaccaggag ctgcaagcca tgcagatgga gctgcagagc cctgagtaca agctgagcaa	840
gctccgacc tcgaccatca tgaccgacta caacccaac tactgctttg ctggcaagac	900
ctctccatc agtgacctga aggaggtgcc gcggaaaaac atcacctca ttcgggtct	960
gggcatgga gcctttggg agtgtatga aggccagggtg tccggaatgc ccaacgaccc	1020
aagccccctg caagtggctg tgaagacgct gcctgaagtg tgctctgaac aggacgaact	1080
ggatttcctc atggaagccc tgatcatcag caaattcaac caccagaaca ttgttcgctg	1140
cattggggtg agcctgcaat ccctgccccg gtcatcctg ctggagctca tggcgggggg	1200
agacctcaag tccttctcc gagagaccg ccctgcccc agccagccct cctccctggc	1260
catgtggac cttctgcacg tggctcggga cattgcctgt ggctgtcagt atttgagga	1320
aaaccacttc atccaccgag acattgtgc cagaaactgc ctcttgacct gtccaggccc	1380
tggaagagtg gccaagattg gagacttcgg gatggcccga gacatctaca gggcgagcta	1440
ctatagaaag ggaggctgtg ccatgtgcc agttaagtgg atgccccag aggccttcat	1500
ggaaggaata ttcatttcta aaacagacac atggctcttt ggagtgtgc tatgggaaat	1560
cttttctctt ggatatatgc cataccccag caaaagcaac cagggaagttc tggagtgtg	1620
caccagtgga ggcggatgg acccaccaa gaactgccct gggcctgtat accggataat	1680
gactcagtgc tggcaacatc agcctgaaga caggccaac tttgccatca ttttgagag	1740
gattgaatac tgcaccagc acccgatgt aatcaacacc gctttgccga tagaatatgg	1800
tccacttggt gaagaggaag agaaagtgcc tgtgagggcc aaggaccctg agggggttcc	1860
tcctctctg gtctctcaac aggcacaaac ggaggaggag cgagcccag ctgccccacc	1920
acctctgcct accacctcct ctggcaaggc tgcaagaaa cccacagctg cagaggtctc	1980
tgttcgagtc cctagagggc cggccgtgga agggggacac gtgaatatgg cattctctca	2040
gtccaaccct ctttcggagt tgcacagggt ccacggatcc agaaacaagc ccaccagctt	2100
gtggaaccca acgtacggct cctggtttac agagaaaccc accaaaaaga ataatcctat	2160

Перечень_последовательностей_к заявке_2012133318_506-471RU

agcaaagaag gagccacacg agaggggtaa cctggggctg gagggaagct gtactgtccc 2220
acctaacgtt gcaactggga gacttccggg ggcctcactg ctcctagagc cctcttcgct 2280
gactgccaat atgaaggagg tacctctgtt caggctacgt cacttccctt gtgggaatgt 2340
caattacggc taccagcaac agggccttgcc cttagaagcc gctactgccc ctggagctgg 2400
tcattacgag gataccattc tgaaaagcaa gaatagcatg aaccagcctg ggccctgagc 2460
tcggtcgcac actcacttct cttccttggg atccctaaga ccgtgg 2506

<210> 12
<211> 796
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 12
Met Asp Gly Phe Ala Gly Ser Leu Asp Asp Ser Ile Ser Ala Ala Ser
1 5 10 15
Thr Ser Asp Val Gln Asp Arg Leu Ser Ala Leu Glu Ser Arg Val Gln
20 25 30
Gln Gln Glu Asp Glu Ile Thr Val Leu Lys Ala Ala Leu Ala Asp Val
35 40 45
Leu Arg Arg Leu Ala Ile Ser Glu Asp His Val Ala Ser Val Lys Lys
50 55 60
Ser Val Ser Ser Lys Gly Gln Pro Ser Pro Arg Ala Val Ile Pro Met
65 70 75 80
Ser Cys Ile Thr Asn Gly Ser Gly Ala Asn Arg Lys Pro Ser His Thr
85 90 95
Ser Ala Val Ser Ile Ala Gly Lys Glu Thr Leu Ser Ser Ala Ala Lys
100 105 110
Ser Gly Thr Glu Lys Lys Lys Glu Lys Pro Gln Gly Gln Arg Glu Lys
115 120 125
Lys Glu Glu Ser His Ser Asn Asp Gln Ser Pro Gln Ile Arg Ala Ser
130 135 140
Pro Ser Pro Gln Pro Ser Ser Gln Pro Leu Gln Ile His Arg Gln Thr
145 150 155 160
Pro Glu Ser Lys Asn Ala Thr Pro Thr Lys Ser Ile Lys Arg Pro Ser
165 170 175
Pro Ala Glu Lys Ser His Asn Ser Trp Glu Asn Ser Asp Asp Ser Arg
180 185 190

перечень_последовательностей_к заявке_2012133318_506-471RU
 Asn Lys Leu Ser Lys Ile Pro Ser Thr Pro Lys Leu Ile Pro Lys Val
 195 200 205
 Thr Lys Thr Ala Asp Lys His Lys Asp Val Ile Ile Asn Gln Ala Lys
 210 215 220
 Met Ser Thr Arg Glu Lys Asn Ser Gln Val Tyr Arg Arg Lys His Gln
 225 230 235 240
 Glu Leu Gln Ala Met Gln Met Glu Leu Gln Ser Pro Glu Tyr Lys Leu
 245 250 255
 Ser Lys Leu Arg Thr Ser Thr Ile Met Thr Asp Tyr Asn Pro Asn Tyr
 260 265 270
 Cys Phe Ala Gly Lys Thr Ser Ser Ile Ser Asp Leu Lys Glu Val Pro
 275 280 285
 Arg Lys Asn Ile Thr Leu Ile Arg Gly Leu Gly His Gly Ala Phe Gly
 290 295 300
 Glu Val Tyr Glu Gly Gln Val Ser Gly Met Pro Asn Asp Pro Ser Pro
 305 310 315 320
 Leu Gln Val Ala Val Lys Thr Leu Pro Glu Val Cys Ser Glu Gln Asp
 325 330 335
 Glu Leu Asp Phe Leu Met Glu Ala Leu Ile Ile Ser Lys Phe Asn His
 340 345 350
 Gln Asn Ile Val Arg Cys Ile Gly Val Ser Leu Gln Ser Leu Pro Arg
 355 360 365
 Phe Ile Leu Leu Glu Leu Met Ala Gly Gly Asp Leu Lys Ser Phe Leu
 370 375 380
 Arg Glu Thr Arg Pro Arg Pro Ser Gln Pro Ser Ser Leu Ala Met Leu
 385 390 395 400
 Asp Leu Leu His Val Ala Arg Asp Ile Ala Cys Gly Cys Gln Tyr Leu
 405 410 415
 Glu Glu Asn His Phe Ile His Arg Asp Ile Ala Ala Arg Asn Cys Leu
 420 425 430
 Leu Thr Cys Pro Gly Pro Gly Arg Val Ala Lys Ile Gly Asp Phe Gly
 435 440 445
 Met Ala Arg Asp Ile Tyr Arg Ala Ser Tyr Tyr Arg Lys Gly Gly Cys
 450 455 460

Перечень последовательностей к заявке_2012133318_506-471RU
 Ala Met Leu Pro Val Lys Trp Met Pro Pro Glu Ala Phe Met Glu Gly
 465 470 475 480

Ile Phe Thr Ser Lys Thr Asp Thr Trp Ser Phe Gly Val Leu Leu Trp
 485 490 495

Glu Ile Phe Ser Leu Gly Tyr Met Pro Tyr Pro Ser Lys Ser Asn Gln
 500 505 510

Glu Val Leu Glu Phe Val Thr Ser Gly Gly Arg Met Asp Pro Pro Lys
 515 520 525

Asn Cys Pro Gly Pro Val Tyr Arg Ile Met Thr Gln Cys Trp Gln His
 530 535 540

Gln Pro Glu Asp Arg Pro Asn Phe Ala Ile Ile Leu Glu Arg Ile Glu
 545 550 555 560

Tyr Cys Thr Gln Asp Pro Asp Val Ile Asn Thr Ala Leu Pro Ile Glu
 565 570 575

Tyr Gly Pro Leu Val Glu Glu Glu Glu Lys Val Pro Val Arg Pro Lys
 580 585 590

Asp Pro Glu Gly Val Pro Pro Leu Leu Val Ser Gln Gln Ala Lys Arg
 595 600 605

Glu Glu Glu Arg Ser Pro Ala Ala Pro Pro Pro Leu Pro Thr Thr Ser
 610 615 620

Ser Gly Lys Ala Ala Lys Lys Pro Thr Ala Ala Glu Val Ser Val Arg
 625 630 635 640

Val Pro Arg Gly Pro Ala Val Glu Gly Gly His Val Asn Met Ala Phe
 645 650 655

Ser Gln Ser Asn Pro Pro Ser Glu Leu His Arg Val His Gly Ser Arg
 660 665 670

Asn Lys Pro Thr Ser Leu Trp Asn Pro Thr Tyr Gly Ser Trp Phe Thr
 675 680 685

Glu Lys Pro Thr Lys Lys Asn Asn Pro Ile Ala Lys Lys Glu Pro His
 690 695 700

Glu Arg Gly Asn Leu Gly Leu Glu Gly Ser Cys Thr Val Pro Pro Asn
 705 710 715 720

Val Ala Thr Gly Arg Leu Pro Gly Ala Ser Leu Leu Leu Glu Pro Ser
 725 730 735

Перечень_последовательностей_к заявке_2012133318_506-471RU
Ser Leu Thr Ala Asn Met Lys Glu Val Pro Leu Phe Arg Leu Arg His
740 745 750

Phe Pro Cys Gly Asn Val Asn Tyr Gly Tyr Gln Gln Gln Gly Leu Pro
755 760 765

Leu Glu Ala Ala Thr Ala Pro Gly Ala Gly His Tyr Glu Asp Thr Ile
770 775 780

Leu Lys Ser Lys Asn Ser Met Asn Gln Pro Gly Pro
785 790 795

```
<210> 13
<211> 3409
<212> ДНК
<213> Homo sapiens
```

[illegible]

Перечень_последовательностей_к заявке_2012133318_506-471RU	
gagcggcaat tcactaaca gaaaacaggg aatttttggg aaatatgaaa agccaaaatt	1440
tgtgcagtgt ttagcattct tggggaatgg agatgttctt actggagact caggtggagt	1500
catgcttata tggagcaaaa ctactgtaga gcccacacct gggaaaggac ctaaagggtg	1560
atatcaaatc agcaaacaaa tcaaagctca tgatggcagt gtgttcacac tttgtcagat	1620
gagaaatggg atgttattaa ctggaggagg gaaagacaga aaaataattc tgtgggatca	1680
tgatctgaat cctgaaagag aaatagagat atgctggatg agccctgagt acaagctgag	1740
caagctccgc acctcgacca tcatgaccga ctacaacccc aactactgct ttgctggcaa	1800
gacctctcc atcagtgacc tgaaggaggt gccgcggaaa aacatcacc tcattcgggg	1860
tctgggcat ggagcctttg gggaggtgta tgaaggccag gtgtccgga tgcccaacga	1920
cccaagcccc ctgcaagtgg ctgtgaagac gctgcctgaa gtgtgctctg aacaggacga	1980
actggatttc ctcatggaag ccctgatcat cagcaaattc aaccaccaga acattgttcg	2040
ctgcattggg gtgagcctgc aatccctgcc ccggttcac ctgctggagc tcatggcggg	2100
gggagacctc aagtccttcc tccgagagac ccgacctcgc ccgagccagc cctcctcct	2160
ggccatgctg gaccttctgc acgtggctcg ggacattgcc tgtggctgtc agtatgtgga	2220
ggaaaaccac ttcatccacc gagacattgc tgccagaaac tgcctcttga cctgtccagg	2280
ccctggaaga gtggccaaga ttggagactt cgggatggcc cgagacatct acagggcgag	2340
ctactataga aaggagggt gtgccatgct gccagttaag tggatgcccc cagaggcctt	2400
catggaagga atattcactt ctaaaacaga cacatggtcc tttggagtgc tgctatggga	2460
aatcttttct cttggatata tgccataccc cagcaaaagc aaccaagaag ttctggagtt	2520
tgtcaccagt ggaggccgga tggaccacc caagaactgc cctgggcctg tataccggat	2580
aatgactcag tgctggcaac atcagcctga agacaggccc aactttgcca tcattttgga	2640
gaggattgaa tactgcacc aggacccgga tgtaatcaac accgctttgc ctagagaata	2700
tggtccactt gtggaagagg aagagaaagt gcctgtgagg cccaaggacc ctgagggggt	2760
tcctcctctc ctggtctctc aacaggcaaa acgggaggag gagcgcagcc cagctgcccc	2820
accacctctg cctaccact cctctggcaa ggctgcaaag aaaccacag ctgcagaggt	2880
ctctgttcga gtccctagag ggccggccgt ggaaggggga cacgtgaata tggcattctc	2940
tcagtccaac cctccttcgg agttgcacag ggtccacgga tccagaaaca agcccaccag	3000
cttgtggaac ccaacgtacg gctcctggtt tacagagaaa cccacaaaa agaataatcc	3060
tatagcaaag aaggagccac acgagagggg taacctgggg ctggagggaa gctgtactgt	3120
cccacctaac gttgcaactg ggagacttcc gggggcctca ctgctcctag agccctcttc	3180
gctgactgcc aatatgaagg aggtacctct gttcaggcta cgtcacttcc cttgtgggaa	3240
tgtcaattac ggctaccagc aacagggtct gcccttagaa gccgctactg cccctggagc	3300
tggtcattac gaggatacca ttctgaaaag caagaatagc atgaaccagc ctgggccctg	3360
agctcgtctg cacactcact tctcttctt gggatcccta agaccgtgg	3409

Перечень_последовательностей_к заявке_2012133318_506-471RU

<210> 14
 <211> 1097
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 14
 Met Asp Gly Phe Ala Gly Ser Leu Asp Asp Ser Ile Ser Ala Ala Ser
 1 5 10 15
 Thr Ser Asp Val Gln Asp Arg Leu Ser Ala Leu Glu Ser Arg Val Gln
 20 25 30
 Gln Gln Glu Asp Glu Ile Thr Val Leu Lys Ala Ala Leu Ala Asp Val
 35 40 45
 Leu Arg Arg Leu Ala Ile Ser Glu Asp His Val Ala Ser Val Lys Lys
 50 55 60
 Ser Val Ser Ser Lys Gly Gln Pro Ser Pro Arg Ala Val Ile Pro Met
 65 70 75 80
 Ser Cys Ile Thr Asn Gly Ser Gly Ala Asn Arg Lys Pro Ser His Thr
 85 90 95
 Ser Ala Val Ser Ile Ala Gly Lys Glu Thr Leu Ser Ser Ala Ala Lys
 100 105 110
 Ser Gly Thr Glu Lys Lys Lys Glu Lys Pro Gln Gly Gln Arg Glu Lys
 115 120 125
 Lys Glu Glu Ser His Ser Asn Asp Gln Ser Pro Gln Ile Arg Ala Ser
 130 135 140
 Pro Ser Pro Gln Pro Ser Ser Gln Pro Leu Gln Ile His Arg Gln Thr
 145 150 155 160
 Pro Glu Ser Lys Asn Ala Thr Pro Thr Lys Ser Ile Lys Arg Pro Ser
 165 170 175
 Pro Ala Glu Lys Ser His Asn Ser Trp Glu Asn Ser Asp Asp Ser Arg
 180 185 190
 Asn Lys Leu Ser Lys Ile Pro Ser Thr Pro Lys Leu Ile Pro Lys Val
 195 200 205
 Thr Lys Thr Ala Asp Lys His Lys Asp Val Ile Ile Asn Gln Glu Gly
 210 215 220
 Glu Tyr Ile Lys Met Phe Met Arg Gly Arg Pro Ile Thr Met Phe Ile
 225 230 235 240
 Pro Ser Asp Val Asp Asn Tyr Asp Asp Ile Arg Thr Glu Leu Pro Pro

Перечень_последовательностей_к заявке_2012133318_506-471RU
 245 250 255

Glu Lys Leu Lys Leu Glu Trp Ala Tyr Gly Tyr Arg Gly Lys Asp Cys
 260 265 270

Arg Ala Asn Val Tyr Leu Leu Pro Thr Gly Glu Ile Val Tyr Phe Ile
 275 280 285

Ala Ser Val Val Val Leu Phe Asn Tyr Glu Glu Arg Thr Gln Arg His
 290 295 300

Tyr Leu Gly His Thr Asp Cys Val Lys Cys Leu Ala Ile His Pro Asp
 305 310 315 320

Lys Ile Arg Ile Ala Thr Gly Gln Ile Ala Gly Val Asp Lys Asp Gly
 325 330 335

Arg Pro Leu Gln Pro His Val Arg Val Trp Asp Ser Val Thr Leu Ser
 340 345 350

Thr Leu Gln Ile Ile Gly Leu Gly Thr Phe Glu Arg Gly Val Gly Cys
 355 360 365

Leu Asp Phe Ser Lys Ala Asp Ser Gly Val His Leu Cys Val Ile Asp
 370 375 380

Asp Ser Asn Glu His Met Leu Thr Val Trp Asp Trp Gln Arg Lys Ala
 385 390 395 400

Lys Gly Ala Glu Ile Lys Thr Thr Asn Glu Val Val Leu Ala Val Glu
 405 410 415

Phe His Pro Thr Asp Ala Asn Thr Ile Ile Thr Cys Gly Lys Ser His
 420 425 430

Ile Phe Phe Trp Thr Trp Ser Gly Asn Ser Leu Thr Arg Lys Gln Gly
 435 440 445

Ile Phe Gly Lys Tyr Glu Lys Pro Lys Phe Val Gln Cys Leu Ala Phe
 450 455 460

Leu Gly Asn Gly Asp Val Leu Thr Gly Asp Ser Gly Gly Val Met Leu
 465 470 475 480

Ile Trp Ser Lys Thr Thr Val Glu Pro Thr Pro Gly Lys Gly Pro Lys
 485 490 495

Gly Val Tyr Gln Ile Ser Lys Gln Ile Lys Ala His Asp Gly Ser Val
 500 505 510

Phe Thr Leu Cys Gln Met Arg Asn Gly Met Leu Leu Thr Gly Gly Gly

перечень_последовательностей_к заявке_2012133318_506-471RU
 515 520 525

Lys Asp Arg Lys Ile Ile Leu Trp Asp His Asp Leu Asn Pro Glu Arg
 530 535 540

Glu Ile Glu Ile Cys Trp Met Ser Pro Glu Tyr Lys Leu Ser Lys Leu
 545 550 555 560

Arg Thr Ser Thr Ile Met Thr Asp Tyr Asn Pro Asn Tyr Cys Phe Ala
 565 570 575

Gly Lys Thr Ser Ser Ile Ser Asp Leu Lys Glu Val Pro Arg Lys Asn
 580 585 590

Ile Thr Leu Ile Arg Gly Leu Gly His Gly Ala Phe Gly Glu Val Tyr
 595 600 605

Glu Gly Gln Val Ser Gly Met Pro Asn Asp Pro Ser Pro Leu Gln Val
 610 615 620

Ala Val Lys Thr Leu Pro Glu Val Cys Ser Glu Gln Asp Glu Leu Asp
 625 630 635 640

Phe Leu Met Glu Ala Leu Ile Ile Ser Lys Phe Asn His Gln Asn Ile
 645 650 655

Val Arg Cys Ile Gly Val Ser Leu Gln Ser Leu Pro Arg Phe Ile Leu
 660 665 670

Leu Glu Leu Met Ala Gly Gly Asp Leu Lys Ser Phe Leu Arg Glu Thr
 675 680 685

Arg Pro Arg Pro Ser Gln Pro Ser Ser Leu Ala Met Leu Asp Leu Leu
 690 695 700

His Val Ala Arg Asp Ile Ala Cys Gly Cys Gln Tyr Leu Glu Glu Asn
 705 710 715 720

His Phe Ile His Arg Asp Ile Ala Ala Arg Asn Cys Leu Leu Thr Cys
 725 730 735

Pro Gly Pro Gly Arg Val Ala Lys Ile Gly Asp Phe Gly Met Ala Arg
 740 745 750

Asp Ile Tyr Arg Ala Ser Tyr Tyr Arg Lys Gly Gly Cys Ala Met Leu
 755 760 765

Pro Val Lys Trp Met Pro Pro Glu Ala Phe Met Glu Gly Ile Phe Thr
 770 775 780

Ser Lys Thr Asp Thr Trp Ser Phe Gly Val Leu Leu Trp Glu Ile Phe

785	Перечень_последовательностей_к заявке_2012133318_506-471RU	790	795	800
-----	--	-----	-----	-----

Ser Leu Gly Tyr Met Pro Tyr Pro Ser Lys Ser Asn Gln Glu Val Leu
805 810 815

Glu Phe Val Thr Ser Gly Gly Arg Met Asp Pro Pro Lys Asn Cys Pro
820 825 830

Gly Pro Val Tyr Arg Ile Met Thr Gln Cys Trp Gln His Gln Pro Glu
835 840 845

Asp Arg Pro Asn Phe Ala Ile Ile Leu Glu Arg Ile Glu Tyr Cys Thr
850 855 860

Gln Asp Pro Asp Val Ile Asn Thr Ala Leu Pro Ile Glu Tyr Gly Pro
865 870 875 880

Leu Val Glu Glu Glu Glu Lys Val Pro Val Arg Pro Lys Asp Pro Glu
885 890 895

Gly Val Pro Pro Leu Leu Val Ser Gln Gln Ala Lys Arg Glu Glu Glu
900 905 910

Arg Ser Pro Ala Ala Pro Pro Pro Leu Pro Thr Thr Ser Ser Gly Lys
915 920 925

Ala Ala Lys Lys Pro Thr Ala Ala Glu Val Ser Val Arg Val Pro Arg
930 935 940

Gly Pro Ala Val Glu Gly Gly His Val Asn Met Ala Phe Ser Gln Ser
945 950 955 960

Asn Pro Pro Ser Glu Leu His Arg Val His Gly Ser Arg Asn Lys Pro
965 970 975

Thr Ser Leu Trp Asn Pro Thr Tyr Gly Ser Trp Phe Thr Glu Lys Pro
980 985 990

Thr Lys Lys Asn Asn Pro Ile Ala Lys Lys Glu Pro His Glu Arg Gly
995 1000 1005

Asn Leu Gly Leu Glu Gly Ser Cys Thr Val Pro Pro Asn Val Ala
1010 1015 1020

Thr Gly Arg Leu Pro Gly Ala Ser Leu Leu Leu Glu Pro Ser Ser
1025 1030 1035

Leu Thr Ala Asn Met Lys Glu Val Pro Leu Phe Arg Leu Arg His
1040 1045 1050

Phe Pro Cys Gly Asn Val Asn Tyr Gly Tyr Gln Gln Gln Gly Leu
Page 38

1055 Перечень_последовательностей_к заявке_2012133318_506-471RU
1060 1065

Pro Leu Glu Ala Ala Thr Ala Pro Gly Ala Gly His Tyr Glu Asp
1070 1075 1080

Thr Ile Leu Lys Ser Lys Asn Ser Met Asn Gln Pro Gly Pro
1085 1090 1095

<210> 15
<211> 2014
<212> ДНК
<213> Homo sapiens

<400> 15
actctgtcgg tccgctgaat gaagtgtccc cccctctaag cccggagccc ggcgctttcc 60
ccgcaagatg gacgggtttcg ccggcagtct cgatgatagt atttctgctg caagtacttc 120
tgatgttcaa gatcgctgtg cagctcttga gtcacgagtt cagcaacaag aagatgaaat 180
cactgtgcta aaggcggctt tggctgatgt ttgaggcgt cttgcaatct ctgaagatca 240
tgtggcctca gtgaaaaaat cagtctcaag taaagtgtac cgccggaagc accaggagct 300
gcaagccatg cagatggagc tgcagagccc tgagtacaag ctgagcaagc tccgcacctc 360
gaccatcatg accgactaca accccaacta ctgctttgct ggcaagacct cctccatcag 420
tgacctgaag gaggtgtccg ggaaaaacat caccctcatt cggggtctgg gccatggagc 480
ctttggggag gtgtatgaag gccaggtgtc cggaatgccc aacgacccaa gccccctgca 540
agtggctgtg aagacgtgtc ctgaagtgtg ctctgaacag gacgaactgg atttctcat 600
ggaagccctg atcatcagca aattcaacca ccagaacatt gttcgtgca ttggggtgag 660
cctgcaatcc ctgccccggt tcatcctgct ggagctcatg gcggggggag acctcaagtc 720
cttctccga gagaccgccc ctgcccagag ccagccctcc tccctggcca tgctggacct 780
tctgcacgtg gctcgggaca ttgcctgtgg ctgtcagtat ttggaggaaa accacttcat 840
ccaccgagac attgtcgcca gaaactgcct cttgacctgt ccaggccctg gaagagtggc 900
caagattgga gacttcggga tggcccgaga catctacagg gcgagctact atagaaaggg 960
aggctgtgcc atgctgccag ttaagtggat gccccagag gccttcatgg aaggaatatt 1020
cacttctaaa acagacacat ggtcctttgg agtgctgcta tgggaaatct tttctcttgg 1080
atatatgcca taccccagca aaagcaacca ggaagtcttg gagtttgta ccaagtggag 1140
ccggatggac ccaccaaga actgccctgg gcctgtatac cggataatga ctcagtgtg 1200
gcaacatcag cctgaagaca ggcccaactt tgccatcatt ttggagagga ttgaatactg 1260
cacccaggac ccgatgtaa tcaacaccgc ttgcccagata gaatatgggt cacttgtgga 1320
agaggaagag aaagtgcctg tgaggcccaa ggaccctgag ggggttcctc ctctcctggt 1380
ctctcaacag gcaaaacggg aggaggagcg cagcccagct gccccaccac ctctgcctac 1440
cacctcctct ggcaaggctg caaagaaacc cacagctgca gaggtctctg ttcgagtcct 1500
tagagggccg gccgtggaag ggggacacgt gaatatggca ttctctcagt ccaaccctcc 1560

Page 39

Перечень_последовательностей_к заявке_2012133318_506-471RU

ttcggagttg cacagggtcc acggatccag aaacaagccc accagcttgt ggaacccaac 1620
gtacggctcc tggtttacag agaaaccac caaaaagaat aatcctatag caaagaagga 1680
gccacacgag aggggtaacc tggggctgga gggagctgt actgtccac ctaacgttg 1740
aactgggaga cttccggggg cctcactgct cctagagccc tcttcgctga ctgccaatat 1800
gaaggaggta cctctgttca ggctacgtca cttcccttgt gggaatgtca attacggcta 1860
ccagcaacag ggcttgccct tagaagccgc tactgccct ggagctggtc attacgagga 1920
taccattctg aaaagcaaga atagcatgaa ccagcctggg ccctgagctc ggtcgcacac 1980
tcacttctct tccttgggat ccctaagacc gtgg 2014

<210> 16

<211> 632

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 16

Met Asp Gly Phe Ala Gly Ser Leu Asp Asp Ser Ile Ser Ala Ala Ser
1 5 10 15

Thr Ser Asp Val Gln Asp Arg Leu Ser Ala Leu Glu Ser Arg Val Gln
20 25 30

Gln Gln Glu Asp Glu Ile Thr Val Leu Lys Ala Ala Leu Ala Asp Val
35 40 45

Leu Arg Arg Leu Ala Ile Ser Glu Asp His Val Ala Ser Val Lys Lys
50 55 60

Ser Val Ser Ser Lys Val Tyr Arg Arg Lys His Gln Glu Leu Gln Ala
65 70 75 80

Met Gln Met Glu Leu Gln Ser Pro Glu Tyr Lys Leu Ser Lys Leu Arg
85 90 95

Thr Ser Thr Ile Met Thr Asp Tyr Asn Pro Asn Tyr Cys Phe Ala Gly
100 105 110

Lys Thr Ser Ser Ile Ser Asp Leu Lys Glu Val Pro Arg Lys Asn Ile
115 120 125

Thr Leu Ile Arg Gly Leu Gly His Gly Ala Phe Gly Glu Val Tyr Glu
130 135 140

Gly Gln Val Ser Gly Met Pro Asn Asp Pro Ser Pro Leu Gln Val Ala
145 150 155 160

Val Lys Thr Leu Pro Glu Val Cys Ser Glu Gln Asp Glu Leu Asp Phe
165 170 175

Перечень последовательностей к заявке_2012133318_506-471RU

Leu Met Glu Ala Leu Ile Ile Ser Lys Phe Asn His Gln Asn Ile Val
 180 185 190

Arg Cys Ile Gly Val Ser Leu Gln Ser Leu Pro Arg Phe Ile Leu Leu
 195 200 205

Glu Leu Met Ala Gly Gly Asp Leu Lys Ser Phe Leu Arg Glu Thr Arg
 210 215 220

Pro Arg Pro Ser Gln Pro Ser Ser Leu Ala Met Leu Asp Leu Leu His
 225 230 235 240

Val Ala Arg Asp Ile Ala Cys Gly Cys Gln Tyr Leu Glu Glu Asn His
 245 250 255

Phe Ile His Arg Asp Ile Ala Ala Arg Asn Cys Leu Leu Thr Cys Pro
 260 265 270

Gly Pro Gly Arg Val Ala Lys Ile Gly Asp Phe Gly Met Ala Arg Asp
 275 280 285

Ile Tyr Arg Ala Ser Tyr Tyr Arg Lys Gly Gly Cys Ala Met Leu Pro
 290 295 300

Val Lys Trp Met Pro Pro Glu Ala Phe Met Glu Gly Ile Phe Thr Ser
 305 310 315 320

Lys Thr Asp Thr Trp Ser Phe Gly Val Leu Leu Trp Glu Ile Phe Ser
 325 330 335

Leu Gly Tyr Met Pro Tyr Pro Ser Lys Ser Asn Gln Glu Val Leu Glu
 340 345 350

Phe Val Thr Ser Gly Gly Arg Met Asp Pro Pro Lys Asn Cys Pro Gly
 355 360 365

Pro Val Tyr Arg Ile Met Thr Gln Cys Trp Gln His Gln Pro Glu Asp
 370 375 380

Arg Pro Asn Phe Ala Ile Ile Leu Glu Arg Ile Glu Tyr Cys Thr Gln
 385 390 395 400

Asp Pro Asp Val Ile Asn Thr Ala Leu Pro Ile Glu Tyr Gly Pro Leu
 405 410 415

Val Glu Glu Glu Glu Lys Val Pro Val Arg Pro Lys Asp Pro Glu Gly
 420 425 430

Val Pro Pro Leu Leu Val Ser Gln Gln Ala Lys Arg Glu Glu Glu Arg
 435 440 445

Перечень последовательностей к заявке_2012133318_506-471RU
 Ser Pro Ala Ala Pro Pro Pro Leu Pro Thr Thr Ser Ser Gly Lys Ala
 450 455 460

Ala Lys Lys Pro Thr Ala Ala Glu Val Ser Val Arg Val Pro Arg Gly
 465 470 475 480

Pro Ala Val Glu Gly Gly His Val Asn Met Ala Phe Ser Gln Ser Asn
 485 490 495

Pro Pro Ser Glu Leu His Arg Val His Gly Ser Arg Asn Lys Pro Thr
 500 505 510

Ser Leu Trp Asn Pro Thr Tyr Gly Ser Trp Phe Thr Glu Lys Pro Thr
 515 520 525

Lys Lys Asn Asn Pro Ile Ala Lys Lys Glu Pro His Glu Arg Gly Asn
 530 535 540

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

Arg Leu Pro Gly Ala Ser Leu Leu Leu Glu Pro Ser Ser Leu Thr Ala
 565 570 575

Asn Met Lys Glu Val Pro Leu Phe Arg Leu Arg His Phe Pro Cys Gly
 580 585 590

Asn Val Asn Tyr Gly Tyr Gln Gln Gln Gly Leu Pro Leu Glu Ala Ala
 595 600 605

Thr Ala Pro Gly Ala Gly His Tyr Glu Asp Thr Ile Leu Lys Ser Lys
 610 615 620

Asn Ser Met Asn Gln Pro Gly Pro
 625 630

<210> 17

<211> 2131

<212> ДНК

<213> Homo sapiens

<400> 17

actctgtcgg tccgctgaat gaagtgccg cccctctaag cccggagccc ggcgctttcc	60
ccgcaagatg gacggtttcg ccggcagtct cgatgatatg atttctgctg caagtacttc	120
tgatgttcaa gatcgctgtg cagctcttga gtcacgagtt cagcaacaag aagatgaaat	180
cactgtgcta aaggcggctt tggctgatgt tttgaggcgt cttgcaatct ctgaagatca	240
tgtggcctca gtgaaaaaat cagtctcaag taaaggttca gagctcaggg gaggatatgg	300
agatccaggg aggccttctg taggaagtgg cctgtgtagt gcttcaaggg ccaggctgcc	360
aggccatggt gcagctgacc acccacctgc agtgtaccgc cggaagcacc aggagctgca	420

Перечень_последовательностей_к заявке_2012133318_506-471RU

```

agccatgcag atggagctgc agagccctga gtacaagctg agcaagctcc gcacctcgac 480
catcatgacc gactacaacc ccaactactg ctttctggc aagacctcct ccatcagtga 540
cctgaaggag gtgccgcgga aaaacatcac cctcattcgg ggtctgggcc atggagcctt 600
tgaggaggtg tatgaaggcc aggtgtccgg aatgcccaac gacccaagcc cctgcaagt 660
ggctgtgaag acgtgcctg aagtgtgctc tgaacaggac gaactggatt tcctcatgga 720
agccctgatc atcagcaa atcaaccacca gaacattgtt cgctgcattg gggtagacct 780
gcaatccctg ccccggttca tcctgctgga gctcatggcg gggggagacc tcaagtcctt 840
cctccgagag acccgccctc gcccgagcca gccctcctcc ctggccatgc tggaccttct 900
gcacgtggct cgggacattg cctgtggctg tcagtatttg gaggaacc acttcatcca 960
ccgagacatt gctgccagaa actgcctctt gacctgtcca ggccttgga gagtggccaa 1020
gattggagac ttcgggatgg cccgagacat ctacaggcg agtactata gaaaggagg 1080
ctgtgccatg ctgccagtta agtggatgcc cccagaggcc ttcattgga gaattatcac 1140
ttctaaaaca gacacatggt ccttggagt gctgctatgg gaaatcttt ctcttgata 1200
tatgccatac cccagcaaaa gcaaccagga agttctggag ttgtcacca gtggaggccg 1260
gatggaccca ccaagaact gccctgggcc tgtataccgg ataagtactc agtgcaggca 1320
acatcagcct gaagacaggc ccaactttgc catcattttg gagaggattg aatactgcac 1380
ccaggacccg gatgtaatca acaccgctt gccgatagaa tatggtccac ttgtggaaga 1440
ggaagagaaa gtgcctgtga ggccaagga cctgagggg gttcctcctc tcctggtctc 1500
tcaacaggca aaacgggagg aggagcgag cccagctgcc ccaccacctc tgcctaccac 1560
ctcctctggc aaggctgcaa agaaaccac agctgcagag gtctctgttc gagtcctag 1620
agggccggcc gtggaagggg gacacgtgaa tatggcattc tctcagtcca accctcctc 1680
ggagtgcac aggttccacg gatccagaaa caagcccacc agcttggtga acccaacgta 1740
cggctcctgg ttacagaga aaccaccaa aaagaataat cctatagcaa agaaggagcc 1800
acacgagagg ggtaacctgg ggctggaggg aagctgtact gtccaccta acgttgcaac 1860
tgaggagactt ccgggggcct cactgctcct agagccctct tcgctgactg ccaatatgaa 1920
ggaggtacct ctgttcaggc tacgtcactt cccttgaggg aatgtcaatt acggctacca 1980
gcaacagggc ttgcccttag aagccgtac tgccctgga gctggtcatt acgaggatac 2040
cattctgaaa agcaagaata gcatgaacca gcctgggccc tgagctcggc cgcacactca 2100
cttctcttcc ttgggatccc taagaccgtg g 2131

```

<210> 18
 <211> 671
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 18
 Met Asp Gly Phe Ala Gly Ser Leu Asp Asp Ser Ile Ser Ala Ala Ser
 1 5 10 15

Перечень_последовательностей_к заявке_2012133318_506-471RU

Thr Ser Asp Val Gln Asp Arg Leu Ser Ala Leu Glu Ser Arg Val Gln
 20 25 30
 Gln Gln Glu Asp Glu Ile Thr Val Leu Lys Ala Ala Leu Ala Asp Val
 35 40 45
 Leu Arg Arg Leu Ala Ile Ser Glu Asp His Val Ala Ser Val Lys Lys
 50 55 60
 Ser Val Ser Ser Lys Gly Ser Glu Leu Arg Gly Gly Tyr Gly Asp Pro
 65 70 75 80
 Gly Arg Leu Pro Val Gly Ser Gly Leu Cys Ser Ala Ser Arg Ala Arg
 85 90 95
 Leu Pro Gly His Val Ala Ala Asp His Pro Pro Ala Val Tyr Arg Arg
 100 105 110
 Lys His Gln Glu Leu Gln Ala Met Gln Met Glu Leu Gln Ser Pro Glu
 115 120 125
 Tyr Lys Leu Ser Lys Leu Arg Thr Ser Thr Ile Met Thr Asp Tyr Asn
 130 135 140
 Pro Asn Tyr Cys Phe Ala Gly Lys Thr Ser Ser Ile Ser Asp Leu Lys
 145 150 155 160
 Glu Val Pro Arg Lys Asn Ile Thr Leu Ile Arg Gly Leu Gly His Gly
 165 170 175
 Ala Phe Gly Glu Val Tyr Glu Gly Gln Val Ser Gly Met Pro Asn Asp
 180 185 190
 Pro Ser Pro Leu Gln Val Ala Val Lys Thr Leu Pro Glu Val Cys Ser
 195 200 205
 Glu Gln Asp Glu Leu Asp Phe Leu Met Glu Ala Leu Ile Ile Ser Lys
 210 215 220
 Phe Asn His Gln Asn Ile Val Arg Cys Ile Gly Val Ser Leu Gln Ser
 225 230 235 240
 Leu Pro Arg Phe Ile Leu Leu Glu Leu Met Ala Gly Gly Asp Leu Lys
 245 250 255
 Ser Phe Leu Arg Glu Thr Arg Pro Arg Pro Ser Gln Pro Ser Ser Leu
 260 265 270
 Ala Met Leu Asp Leu Leu His Val Ala Arg Asp Ile Ala Cys Gly Cys
 275 280 285

Перечень_последовательностей_к заявке_2012133318_506-471RU

Gln Tyr Leu Glu Glu Asn His Phe Ile His Arg Asp Ile Ala Ala Arg
 290 295 300
 Asn Cys Leu Leu Thr Cys Pro Gly Pro Gly Arg Val Ala Lys Ile Gly
 305 310 315 320
 Asp Phe Gly Met Ala Arg Asp Ile Tyr Arg Ala Ser Tyr Tyr Arg Lys
 325 330 335
 Gly Gly Cys Ala Met Leu Pro Val Lys Trp Met Pro Pro Glu Ala Phe
 340 345 350
 Met Glu Gly Ile Phe Thr Ser Lys Thr Asp Thr Trp Ser Phe Gly Val
 355 360 365
 Leu Leu Trp Glu Ile Phe Ser Leu Gly Tyr Met Pro Tyr Pro Ser Lys
 370 375 380
 Ser Asn Gln Glu Val Leu Glu Phe Val Thr Ser Gly Gly Arg Met Asp
 385 390 395 400
 Pro Pro Lys Asn Cys Pro Gly Pro Val Tyr Arg Ile Met Thr Gln Cys
 405 410 415
 Trp Gln His Gln Pro Glu Asp Arg Pro Asn Phe Ala Ile Ile Leu Glu
 420 425 430
 Arg Ile Glu Tyr Cys Thr Gln Asp Pro Asp Val Ile Asn Thr Ala Leu
 435 440 445
 Pro Ile Glu Tyr Gly Pro Leu Val Glu Glu Glu Glu Lys Val Pro Val
 450 455 460
 Arg Pro Lys Asp Pro Glu Gly Val Pro Pro Leu Leu Val Ser Gln Gln
 465 470 475 480
 Ala Lys Arg Glu Glu Glu Arg Ser Pro Ala Ala Pro Pro Pro Leu Pro
 485 490 495
 Thr Thr Ser Ser Gly Lys Ala Ala Lys Lys Pro Thr Ala Ala Glu Val
 500 505 510
 Ser Val Arg Val Pro Arg Gly Pro Ala Val Glu Gly Gly His Val Asn
 515 520 525
 Met Ala Phe Ser Gln Ser Asn Pro Pro Ser Glu Leu His Arg Val His
 530 535 540
 Gly Ser Arg Asn Lys Pro Thr Ser Leu Trp Asn Pro Thr Tyr Gly Ser
 545 550 555 560

Перечень_последовательностей_к заявке_2012133318_506-471RU

Trp Phe Thr Glu Lys Pro Thr Lys Lys Asn Asn Pro Ile Ala Lys Lys
565 570 575

Glu Pro His Glu Arg Gly Asn Leu Gly Leu Glu Gly Ser Cys Thr Val
580 585 590

Pro Pro Asn Val Ala Thr Gly Arg Leu Pro Gly Ala Ser Leu Leu Leu
595 600 605

Glu Pro Ser Ser Leu Thr Ala Asn Met Lys Glu Val Pro Leu Phe Arg
610 615 620

Leu Arg His Phe Pro Cys Gly Asn Val Asn Tyr Gly Tyr Gln Gln Gln
625 630 635 640

Gly Leu Pro Leu Glu Ala Ala Thr Ala Pro Gly Ala Gly His Tyr Glu
645 650 655

Asp Thr Ile Leu Lys Ser Lys Asn Ser Met Asn Gln Pro Gly Pro
660 665 670

<210> 19

<211> 3365

<212> ДНК

<213> Homo sapiens

<400> 19

tactctgtcg gtccgctgaa tgaagtgtccc gcccctctaa gcccgagacc cggcgctttc	60
cccgcaagat ggacgggttc gccggcagtc tcgatgatag tatttctgct gcaagtactt	120
ctgatgttca agatcgcttg tcagctcttg agtcacgagt tcagcaacaa gaagatgaaa	180
tcactgtgct aaaggcggct ttggctgatg ttttgaggcg tcttgcaatc tctgaagatc	240
atgtggcctc agtgaaaaa tcagtctcaa gtaaggcca accaagccct cgagcagtta	300
ttcccatgtc ctgtataacc aatggaagtg gtgcaaacag aaaaccaagt cataccagtg	360
ctgtctcaat tgcaggaaaa gaaactcttt catctgctgc taaaagtggc acagaaaaaa	420
agaaagaaaa accacaagga cagagagaaa aaaaagagga atctcattct aatgatcaaa	480
gtccacaaat tcgagcatca ctttctcccc agccctcttc acaacctctc caaatacaca	540
gacaaactcc agaaagcaag aatgtactc ccacaaaag cataaaacga ccatcaccag	600
ctgaaaagtc acataattct tgggaaaatt cagatgatag ccgtaataaa ttgtcgaaaa	660
taccttcaac acccaaatta ataccaaaag ttaccaaaac tgcagacaag cataaagatg	720
tcatcatcaa ccaagaagga gaatatatta aaatgtttat gcgcgggtcgg ccaattacca	780
tgttcattcc ttccgatgtt gacaactatg atgacatcag aacggaactg cctcctgaga	840
agctcaaact ggagtgggca tatggttatc gaggaagga ctgtagagct aatgtttacc	900
ttcttccgac cggggaaata gtttatttca ttgcatcagt agtagtacta ttttaattatg	960
aggagagaac tcagcgacac tacctgggcc atacagactg tgtgaaatgc cttgctatac	1020

Page 46

Перечень_последовательностей_к заявке_2012133318_506-471RU

atcctgacaa aattaggatt gcaactggac agatagctgg cgtggataaa gatggaaggc	1080
ctctacaacc ccacgtcaga gtgtgggatt ctgttactct atccacactg cagattattg	1140
gacttggcac ttttgagcgt ggagtaggat gcctggattt ttcaaaagca gattcagggtg	1200
ttcatttatg tgttattgat gactccaatg agcatatgct tactgtatgg gactggcaga	1260
ggaaagcaaa aggagcagaa ataaagacaa caaatgaagt tgttttggct gtggagtttc	1320
acccaacaga tgcaaatacc ataattacat gcggtaaatc tcataatttc ttctggacct	1380
ggagcggcaa ttcactaaca agaaaacagg gaatttttgg gaaatatgaa aagccaaaat	1440
ttgtgcagtg ttttagcattc ttggggaatg gagatgttct tactggagac tcagggtggag	1500
tcattgcttat atggagcaaa actactgtag agcccacacc tgggaaagga cctaaaggaa	1560
gtggcctgtg tagtgcttca agggccaggc tgccaggcca tgttcagct gaccaccac	1620
ctgcagtgtg ccgccggaag caccaggagc tgcaagccat gcagatggag ctgcagagcc	1680
ctgagtacaa gctgagcaag ctccgcacct cgaccatcat gaccgactac aaccccaact	1740
actgctttgc tggcaagacc tcctccatca gtgacctgaa ggagggtgccg cgaaaaaaca	1800
tcacctcat tcggggtctg ggccatggag cctttgggga ggtgtatgaa ggccagggtg	1860
ccggaatgcc caacgacca agccccctgc aagtggctgt gaagacgtg cctgaagtgt	1920
gctctgaaca ggacgaactg gatttcctca tggaagccct gatcatcagc aaattcaacc	1980
accagaacat tgttcgtgc attgggtga gcctgcaatc cctgccccgg ttcactctgc	2040
tggagctcat ggcgggggga gacctcaagt ccttctccg agagaccgc cctcgcccga	2100
gccagccctc ctccctggcc atgctggacc ttctgcacgt ggctcgggac attgcctgtg	2160
gctgtcagta tttggaggaa aaccacttca tccaccgaga cattgctgcc agaaactgcc	2220
tcttgacctg tccaggccct ggaagagtgg ccaagattgg agacttcggg atggcccag	2280
acatctacag ggcgagctac tatagaaagg gaggtgtgc catgctgcca gttaagtgga	2340
tgccccaga ggccttcatg gaaggaatat tcaattctaa aacagacaca tggctccttg	2400
gagtgtgct atgggaaatc ttttctctg gatatatgcc ataccccagc aaaagcaacc	2460
aggaagtctt ggagtttgc accagtggag gccggatgga cccaccaag aactgccctg	2520
ggcctgtata ccggataatg actcagtgt gcacaatca gcctgaagac aggcccaact	2580
ttgccatcat tttggagagg attgaatact gcaccagga cccggatgta atcaacaccg	2640
ctttgccgat agaatatggt ccacttgtgg aagaggaaga gaaagtgcct gtgaggccca	2700
aggaccctga gggggttcct cctctcctgg tctctcaaca ggcaaacgg gaggaggagc	2760
gcagcccagc tgccccacca cctctgccta ccactcctc tggcaaggct gcaaagaaac	2820
ccacagctgc agaggctctt gttcgagtcc cttagaggcc ggccgtggaa gggggacag	2880
tgaatatggc attctctcag tccaaccctc cttcggagtt gcacagggtc cacggatcca	2940
gaaacaagcc caccagcttg tggaaccaa cgtacggctc ctggtttaca gagaaacca	3000
ccaaaaagaa taatctata gcaagaagg agccacagga gaggggtaac ctggggctgg	3060

Перечень_последовательностей_к заявке_2012133318_506-471RU

```

aggggaagctg tactgtccca cctaactgtt caactgggag acttccgggg gcctcactgc      3120
tcctagagcc ctcttcgctg actgccaata tgaaggaggt acctctgttc aggctacgtc      3180
acttcccttg tgggaatgtc aattacggct accagcaaca gggcttgccc ttagaagccg      3240
ctactgcccc tggagctggt cattacgagg ataccattct gaaaagcaag aatagcatga      3300
accagcctgg gccctgagct cggtcgacac ctcacttctc ttccttgga tccctaagac      3360
cgtgg                                           3365

```

<210> 20
 <211> 1082
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 20
 Met Asp Gly Phe Ala Gly Ser Leu Asp Asp Ser Ile Ser Ala Ala Ser
 1 5 10 15
 Thr Ser Asp Val Gln Asp Arg Leu Ser Ala Leu Glu Ser Arg Val Gln
 20 25 30
 Gln Gln Glu Asp Glu Ile Thr Val Leu Lys Ala Ala Leu Ala Asp Val
 35 40 45
 Leu Arg Arg Leu Ala Ile Ser Glu Asp His Val Ala Ser Val Lys Lys
 50 55 60
 Ser Val Ser Ser Lys Gly Gln Pro Ser Pro Arg Ala Val Ile Pro Met
 65 70 75 80
 Ser Cys Ile Thr Asn Gly Ser Gly Ala Asn Arg Lys Pro Ser His Thr
 85 90 95
 Ser Ala Val Ser Ile Ala Gly Lys Glu Thr Leu Ser Ser Ala Ala Lys
 100 105 110
 Ser Gly Thr Glu Lys Lys Lys Glu Lys Pro Gln Gly Gln Arg Glu Lys
 115 120 125
 Lys Glu Glu Ser His Ser Asn Asp Gln Ser Pro Gln Ile Arg Ala Ser
 130 135 140
 Pro Ser Pro Gln Pro Ser Ser Gln Pro Leu Gln Ile His Arg Gln Thr
 145 150 155 160
 Pro Glu Ser Lys Asn Ala Thr Pro Thr Lys Ser Ile Lys Arg Pro Ser
 165 170 175
 Pro Ala Glu Lys Ser His Asn Ser Trp Glu Asn Ser Asp Asp Ser Arg
 180 185 190

Перечень последовательностей к заявке_2012133318_506-471RU

Asn Lys Leu Ser Lys Ile Pro Ser Thr Pro Lys Leu Ile Pro Lys Val
 195 200 205

Thr Lys Thr Ala Asp Lys His Lys Asp Val Ile Ile Asn Gln Glu Gly
 210 215 220

Glu Tyr Ile Lys Met Phe Met Arg Gly Arg Pro Ile Thr Met Phe Ile
 225 230 235 240

Pro Ser Asp Val Asp Asn Tyr Asp Asp Ile Arg Thr Glu Leu Pro Pro
 245 250 255

Glu Lys Leu Lys Leu Glu Trp Ala Tyr Gly Tyr Arg Gly Lys Asp Cys
 260 265 270

Arg Ala Asn Val Tyr Leu Leu Pro Thr Gly Glu Ile Val Tyr Phe Ile
 275 280 285

Ala Ser Val Val Val Leu Phe Asn Tyr Glu Glu Arg Thr Gln Arg His
 290 295 300

Tyr Leu Gly His Thr Asp Cys Val Lys Cys Leu Ala Ile His Pro Asp
 305 310 315 320

Lys Ile Arg Ile Ala Thr Gly Gln Ile Ala Gly Val Asp Lys Asp Gly
 325 330 335

Arg Pro Leu Gln Pro His Val Arg Val Trp Asp Ser Val Thr Leu Ser
 340 345 350

Thr Leu Gln Ile Ile Gly Leu Gly Thr Phe Glu Arg Gly Val Gly Cys
 355 360 365

Leu Asp Phe Ser Lys Ala Asp Ser Gly Val His Leu Cys Val Ile Asp
 370 375 380

Asp Ser Asn Glu His Met Leu Thr Val Trp Asp Trp Gln Arg Lys Ala
 385 390 395 400

Lys Gly Ala Glu Ile Lys Thr Thr Asn Glu Val Val Leu Ala Val Glu
 405 410 415

Phe His Pro Thr Asp Ala Asn Thr Ile Ile Thr Cys Gly Lys Ser His
 420 425 430

Ile Phe Phe Trp Thr Trp Ser Gly Asn Ser Leu Thr Arg Lys Gln Gly
 435 440 445

Ile Phe Gly Lys Tyr Glu Lys Pro Lys Phe Val Gln Cys Leu Ala Phe
 450 455 460

Перечень последовательностей к заявке 2012133318_506-471RU
 Leu Gly Asn Gly Asp Val Leu Thr Gly Asp Ser Gly Gly Val Met Leu
 465 470 475 480

Ile Trp Ser Lys Thr Thr Val Glu Pro Thr Pro Gly Lys Gly Pro Lys
 485 490 495

Gly Ser Gly Leu Cys Ser Ala Ser Arg Ala Arg Leu Pro Gly His Val
 500 505 510

Ala Ala Asp His Pro Pro Ala Val Tyr Arg Arg Lys His Gln Glu Leu
 515 520 525

Gln Ala Met Gln Met Glu Leu Gln Ser Pro Glu Tyr Lys Leu Ser Lys
 530 535 540

Leu Arg Thr Ser Thr Ile Met Thr Asp Tyr Asn Pro Asn Tyr Cys Phe
 545 550 555 560

Ala Gly Lys Thr Ser Ser Ile Ser Asp Leu Lys Glu Val Pro Arg Lys
 565 570 575

Asn Ile Thr Leu Ile Arg Gly Leu Gly His Gly Ala Phe Gly Glu Val
 580 585 590

Tyr Glu Gly Gln Val Ser Gly Met Pro Asn Asp Pro Ser Pro Leu Gln
 595 600 605

Val Ala Val Lys Thr Leu Pro Glu Val Cys Ser Glu Gln Asp Glu Leu
 610 615 620

Asp Phe Leu Met Glu Ala Leu Ile Ile Ser Lys Phe Asn His Gln Asn
 625 630 635 640

Ile Val Arg Cys Ile Gly Val Ser Leu Gln Ser Leu Pro Arg Phe Ile
 645 650 655

Leu Leu Glu Leu Met Ala Gly Gly Asp Leu Lys Ser Phe Leu Arg Glu
 660 665 670

Thr Arg Pro Arg Pro Ser Gln Pro Ser Ser Leu Ala Met Leu Asp Leu
 675 680 685

Leu His Val Ala Arg Asp Ile Ala Cys Gly Cys Gln Tyr Leu Glu Glu
 690 695 700

Asn His Phe Ile His Arg Asp Ile Ala Ala Arg Asn Cys Leu Leu Thr
 705 710 715 720

Cys Pro Gly Pro Gly Arg Val Ala Lys Ile Gly Asp Phe Gly Met Ala
 725 730 735

Перечень_последовательностей_к заявке_2012133318_506-471RU
 Arg Asp Ile Tyr Arg Ala Ser Tyr Tyr Arg Lys Gly Gly Cys Ala Met
 740 745 750
 Leu Pro Val Lys Trp Met Pro Pro Glu Ala Phe Met Glu Gly Ile Phe
 755 760 765
 Thr Ser Lys Thr Asp Thr Trp Ser Phe Gly Val Leu Leu Trp Glu Ile
 770 775 780
 Phe Ser Leu Gly Tyr Met Pro Tyr Pro Ser Lys Ser Asn Gln Glu Val
 785 790 795 800
 Leu Glu Phe Val Thr Ser Gly Gly Arg Met Asp Pro Pro Lys Asn Cys
 805 810 815
 Pro Gly Pro Val Tyr Arg Ile Met Thr Gln Cys Trp Gln His Gln Pro
 820 825 830
 Glu Asp Arg Pro Asn Phe Ala Ile Ile Leu Glu Arg Ile Glu Tyr Cys
 835 840 845
 Thr Gln Asp Pro Asp Val Ile Asn Thr Ala Leu Pro Ile Glu Tyr Gly
 850 855 860
 Pro Leu Val Glu Glu Glu Glu Lys Val Pro Val Arg Pro Lys Asp Pro
 865 870 875 880
 Glu Gly Val Pro Pro Leu Leu Val Ser Gln Gln Ala Lys Arg Glu Glu
 885 890 895
 Glu Arg Ser Pro Ala Ala Pro Pro Pro Leu Pro Thr Thr Ser Ser Gly
 900 905 910
 Lys Ala Ala Lys Lys Pro Thr Ala Ala Glu Val Ser Val Arg Val Pro
 915 920 925
 Arg Gly Pro Ala Val Glu Gly Gly His Val Asn Met Ala Phe Ser Gln
 930 935 940
 Ser Asn Pro Pro Ser Glu Leu His Arg Val His Gly Ser Arg Asn Lys
 945 950 955 960
 Pro Thr Ser Leu Trp Asn Pro Thr Tyr Gly Ser Trp Phe Thr Glu Lys
 965 970 975
 Pro Thr Lys Lys Asn Asn Pro Ile Ala Lys Lys Glu Pro His Glu Arg
 980 985 990
 Gly Asn Leu Gly Leu Glu Gly Ser Cys Thr Val Pro Pro Asn Val Ala
 995 1000 1005

Перечень_последовательностей_к заявке_2012133318_506-471RU
 Thr Gly Arg Leu Pro Gly Ala Ser Leu Leu Leu Glu Pro Ser Ser
 1010 1015 1020

Leu Thr Ala Asn Met Lys Glu Val Pro Leu Phe Arg Leu Arg His
 1025 1030 1035

Phe Pro Cys Gly Asn Val Asn Tyr Gly Tyr Gln Gln Gln Gly Leu
 1040 1045 1050

Pro Leu Glu Ala Ala Thr Ala Pro Gly Ala Gly His Tyr Glu Asp
 1055 1060 1065

Thr Ile Leu Lys Ser Lys Asn Ser Met Asn Gln Pro Gly Pro
 1070 1075 1080

<210> 21

<211> 3435

<212> ДНК

<213> Homo sapiens

<400> 21

tactctgtcg gtccgctgaa tgaagtgtcc gccctctaa gcccgagacc cggcgctttc	60
cccgcaagat ggacgggttc gccggcagtc tcgatgatag tatttctgct gcaagtactt	120
ctgatgttca agatcgcttg tcagctcttg agtcacgagt tcagcaacaa gaagatgaaa	180
tcactgtgct aaaggcggct ttggctgatg ttttgaggcg tcttgcaatc tctgaagatc	240
atgtggcctc agtgaaaaaa tcagtctcaa gtaaaggcca accaagccct cgagcagtta	300
ttcccatgtc ctgtataacc aatggaagtg gtgcaaacag aaaaccaagt cataccagtg	360
ctgtctcaat tgcaggaaaa gaaactcttt catctgctgc taaaagtggg acagaaaaaa	420
agaaagaaaa accacaagga cagagagaaa aaaaagagga atctcattct aatgatcaaa	480
gtccacaat tcgagcatca ctttctcccc agcctcttc acaacctctc caaatacaca	540
gacaaactcc agaaagcaag aatgtactc ccacaaaag cataaaacga ccatcaccag	600
ctgaaaagtc acataattct tgggaaaatt cagatgatag ccgtaataaa ttgtcgaaaa	660
taccttcaac acccaaatta ataccaaaag ttacaaaac tgcagacaag cataaagatg	720
tcatcatcaa ccaagaagga gaatatatta aaatgtttat gcgcggtcgg ccaattacca	780
tggttcattcc ttccgatgtt gacaactatg atgacatcag aacggaactg cctcctgaga	840
agctcaaaact ggagtgggca tatggttatc gaggaagga ctgtagagct aatgtttacc	900
ttcttccgac cggggaaata gtttatttca ttgcatcagt agtagtacta ttttaattatg	960
aggagagaac tcagcgacac tacctgggcc atacagactg tgtgaaatgc cttgtatac	1020
atcctgacaa aattaggatt gcaactggac agatagctgg cgtggataaa gatggaaggc	1080
ctctacaacc ccacgtcaga gtgtgggatt ctgttactct atccacactg cagattattg	1140
gacttggcac ttttgagcgt ggagtaggat gcctggattt ttcaaaagca gattcagggtg	1200
ttcatttatg tgttattgat gactccaatg agcatatgct tactgtatgg gactggcaga	1260

Перечень_последовательностей_к заявке_2012133318_506-471RU				
ggaaagcaaa	aggagcagaa	ataaagacaa	saatgaagt	tgtttggct
acccaacaga	tgcaaatacc	ataattacat	gcggtaaatc	tcatattttc
ggagcggcaa	ttactaaca	agaaaacagg	gaatttttgg	gaaatatgaa
ttgtgcagt	tttagcattc	ttggggaatg	gagatgttct	tactggagac
tcattgcttat	atggagcaaa	actactgtag	agcccacacc	tgggaaagga
tatatcaa	at	atcaaagctc	atgatggcag	tgtgttcaca
tgagaaatgg	gatgttatta	actggaggag	ggaaagacag	aaaaataatt
atgatctgaa	tcctgaaaga	gaaatagagc	accaggagct	gcaagccatg
tgagagcccc	tgagtacaag	ctgagcaagc	tccgcacctc	gaccatcatg
acccaacta	ctgctttgct	ggcaagacct	cctccatcag	tgacctgaag
ggaaaaacat	caccctcatt	cgggtctctg	gccatggagc	ctttggggag
gccagggtgc	cggaaatgcc	aacgacccaa	gccccctgca	agtggctgtg
ctgaagtgtg	ctctgaacag	gacgaactgg	atttctcat	ggaagccctg
aattcaacca	ccagaacatt	gttcgctgca	ttgggggtgag	cctgcaatcc
tcattctgct	ggagctcatg	gcggggggag	acctcaagtc	cttctccga
ctgccccgag	ccagccctcc	tccctggcca	tgctggacct	tctgcacgtg
ttgcctgtgg	ctgtcagtat	ttggaggaaa	accacttcat	ccaccgagac
gaaactgcct	cttgacctgt	ccaggccctg	gaagagtggc	caagattgga
tgccccgaga	catctacagg	gcgagctact	atagaaagg	aggctgtgcc
ttaagtggat	gccccagag	gccttcatgg	aaggaaatatt	cacttctaaa
ggtcctttgg	agtgtgtgta	tgggaaatct	tttctcttgg	atatatgcca
aaagcaacca	ggaagtctctg	gagtttgtca	ccagtggagg	ccggatggac
actgccccgg	gcctgtatac	cggataatga	ctcagtgtctg	gcaacatcag
ggcccaactt	tgccatcatt	ttggagagga	ttgaatactg	caccaggac
tcaacaccgc	tttgccgata	gaatatggtc	catttgtgga	agagggaagag
tgaggcccaa	ggaccctgag	ggggttcctc	ctctcctggt	ctctcaacag
aggaggagcg	cagcccagct	gccccaccac	ctctgcctac	cacctctctt
caaagaaacc	cacagctgca	gaggtctctg	ttcagatccc	tagagggccg
ggggacacgt	gaatatggca	ttctctcagt	ccaacctccc	ttcggagtgtg
acggatccag	aaacaagccc	accagcttgt	ggaaccaaac	gtacggctcc
agaaacccac	caaaaagaat	aatcctatag	caaagaagga	gccacacgac
tggggctgga	gggaagctgt	actgtccac	ctaactgtgc	aactgggaga
cctcactgct	cctagagccc	tcttcgctga	ctgccaatat	gaaggaggta
ggctacgtca	cttcccttgt	gggaatgtca	attacggcta	ccagcaacag

Перечень_последовательностей_к заявке_2012133318_506-471RU
 tagaagccgc tactgcccct ggagctggtc attacgagga taccattctg aaaagcaaga 3360
 atagcatgaa ccagcctggg ccctgagctc ggtcgcacac tcacttctct tccttgggat 3420
 ccctaagacc gtgga 3435

<210> 22
 <211> 1105
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 22
 Met Asp Gly Phe Ala Gly Ser Leu Asp Asp Ser Ile Ser Ala Ala Ser
 1 5 10 15
 Thr Ser Asp Val Gln Asp Arg Leu Ser Ala Leu Glu Ser Arg Val Gln
 20 25 30
 Gln Gln Glu Asp Glu Ile Thr Val Leu Lys Ala Ala Leu Ala Asp Val
 35 40 45
 Leu Arg Arg Leu Ala Ile Ser Glu Asp His Val Ala Ser Val Lys Lys
 50 55 60
 Ser Val Ser Ser Lys Gly Gln Pro Ser Pro Arg Ala Val Ile Pro Met
 65 70 75 80
 Ser Cys Ile Thr Asn Gly Ser Gly Ala Asn Arg Lys Pro Ser His Thr
 85 90 95
 Ser Ala Val Ser Ile Ala Gly Lys Glu Thr Leu Ser Ser Ala Ala Lys
 100 105 110
 Ser Gly Thr Glu Lys Lys Lys Glu Lys Pro Gln Gly Gln Arg Glu Lys
 115 120 125
 Lys Glu Glu Ser His Ser Asn Asp Gln Ser Pro Gln Ile Arg Ala Ser
 130 135 140
 Pro Ser Pro Gln Pro Ser Ser Gln Pro Leu Gln Ile His Arg Gln Thr
 145 150 155 160
 Pro Glu Ser Lys Asn Ala Thr Pro Thr Lys Ser Ile Lys Arg Pro Ser
 165 170 175
 Pro Ala Glu Lys Ser His Asn Ser Trp Glu Asn Ser Asp Asp Ser Arg
 180 185 190
 Asn Lys Leu Ser Lys Ile Pro Ser Thr Pro Lys Leu Ile Pro Lys Val
 195 200 205
 Thr Lys Thr Ala Asp Lys His Lys Asp Val Ile Ile Asn Gln Glu Gly
 210 215 220

Перечень_последовательностей_к заявке_2012133318_506-471RU

Glu Tyr Ile Lys Met Phe Met Arg Gly Arg Pro Ile Thr Met Phe Ile
 225 230 235 240
 Pro Ser Asp Val Asp Asn Tyr Asp Asp Ile Arg Thr Glu Leu Pro Pro
 245 250 255
 Glu Lys Leu Lys Leu Glu Trp Ala Tyr Gly Tyr Arg Gly Lys Asp Cys
 260 265 270
 Arg Ala Asn Val Tyr Leu Leu Pro Thr Gly Glu Ile Val Tyr Phe Ile
 275 280 285
 Ala Ser Val Val Val Leu Phe Asn Tyr Glu Glu Arg Thr Gln Arg His
 290 295 300
 Tyr Leu Gly His Thr Asp Cys Val Lys Cys Leu Ala Ile His Pro Asp
 305 310 315 320
 Lys Ile Arg Ile Ala Thr Gly Gln Ile Ala Gly Val Asp Lys Asp Gly
 325 330 335
 Arg Pro Leu Gln Pro His Val Arg Val Trp Asp Ser Val Thr Leu Ser
 340 345 350
 Thr Leu Gln Ile Ile Gly Leu Gly Thr Phe Glu Arg Gly Val Gly Cys
 355 360 365
 Leu Asp Phe Ser Lys Ala Asp Ser Gly Val His Leu Cys Val Ile Asp
 370 375 380
 Asp Ser Asn Glu His Met Leu Thr Val Trp Asp Trp Gln Arg Lys Ala
 385 390 395 400
 Lys Gly Ala Glu Ile Lys Thr Thr Asn Glu Val Val Leu Ala Val Glu
 405 410 415
 Phe His Pro Thr Asp Ala Asn Thr Ile Ile Thr Cys Gly Lys Ser His
 420 425 430
 Ile Phe Phe Trp Thr Trp Ser Gly Asn Ser Leu Thr Arg Lys Gln Gly
 435 440 445
 Ile Phe Gly Lys Tyr Glu Lys Pro Lys Phe Val Gln Cys Leu Ala Phe
 450 455 460
 Leu Gly Asn Gly Asp Val Leu Thr Gly Asp Ser Gly Gly Val Met Leu
 465 470 475 480
 Ile Trp Ser Lys Thr Thr Val Glu Pro Thr Pro Gly Lys Gly Pro Lys
 485 490 495

Перечень_последовательностей_к заявке_2012133318_506-471RU

Gly Val Tyr Gln Ile Ser Lys Gln Ile Lys Ala His Asp Gly Ser Val
 500 505 510
 Phe Thr Leu Cys Gln Met Arg Asn Gly Met Leu Leu Thr Gly Gly Gly
 515 520 525
 Lys Asp Arg Lys Ile Ile Leu Trp Asp His Asp Leu Asn Pro Glu Arg
 530 535 540
 Glu Ile Glu His Gln Glu Leu Gln Ala Met Gln Met Glu Leu Gln Ser
 545 550 555 560
 Pro Glu Tyr Lys Leu Ser Lys Leu Arg Thr Ser Thr Ile Met Thr Asp
 565 570 575
 Tyr Asn Pro Asn Tyr Cys Phe Ala Gly Lys Thr Ser Ser Ile Ser Asp
 580 585 590
 Leu Lys Glu Val Pro Arg Lys Asn Ile Thr Leu Ile Arg Gly Leu Gly
 595 600 605
 His Gly Ala Phe Gly Glu Val Tyr Glu Gly Gln Val Ser Gly Met Pro
 610 615 620
 Asn Asp Pro Ser Pro Leu Gln Val Ala Val Lys Thr Leu Pro Glu Val
 625 630 635 640
 Cys Ser Glu Gln Asp Glu Leu Asp Phe Leu Met Glu Ala Leu Ile Ile
 645 650 655
 Ser Lys Phe Asn His Gln Asn Ile Val Arg Cys Ile Gly Val Ser Leu
 660 665 670
 Gln Ser Leu Pro Arg Phe Ile Leu Leu Glu Leu Met Ala Gly Gly Asp
 675 680 685
 Leu Lys Ser Phe Leu Arg Glu Thr Arg Pro Arg Pro Ser Gln Pro Ser
 690 695 700
 Ser Leu Ala Met Leu Asp Leu Leu His Val Ala Arg Asp Ile Ala Cys
 705 710 715 720
 Gly Cys Gln Tyr Leu Glu Glu Asn His Phe Ile His Arg Asp Ile Ala
 725 730 735
 Ala Arg Asn Cys Leu Leu Thr Cys Pro Gly Pro Gly Arg Val Ala Lys
 740 745 750
 Ile Gly Asp Phe Gly Met Ala Arg Asp Ile Tyr Arg Ala Ser Tyr Tyr
 755 760 765

Перечень_последовательностей_к заявке_2012133318_506-471RU

Arg Lys Gly Gly Cys Ala Met Leu Pro Val Lys Trp Met Pro Pro Glu
 770 775 780
 Ala Phe Met Glu Gly Ile Phe Thr Ser Lys Thr Asp Thr Trp Ser Phe
 785 790 795 800
 Gly Val Leu Leu Trp Glu Ile Phe Ser Leu Gly Tyr Met Pro Tyr Pro
 805 810 815
 Ser Lys Ser Asn Gln Glu Val Leu Glu Phe Val Thr Ser Gly Gly Arg
 820 825 830
 Met Asp Pro Pro Lys Asn Cys Pro Gly Pro Val Tyr Arg Ile Met Thr
 835 840 845
 Gln Cys Trp Gln His Gln Pro Glu Asp Arg Pro Asn Phe Ala Ile Ile
 850 855 860
 Leu Glu Arg Ile Glu Tyr Cys Thr Gln Asp Pro Asp Val Ile Asn Thr
 865 870 875 880
 Ala Leu Pro Ile Glu Tyr Gly Pro Leu Val Glu Glu Glu Glu Lys Val
 885 890 895
 Pro Val Arg Pro Lys Asp Pro Glu Gly Val Pro Pro Leu Leu Val Ser
 900 905 910
 Gln Gln Ala Lys Arg Glu Glu Glu Arg Ser Pro Ala Ala Pro Pro Pro
 915 920 925
 Leu Pro Thr Thr Ser Ser Gly Lys Ala Ala Lys Lys Pro Thr Ala Ala
 930 935 940
 Glu Val Ser Val Arg Val Pro Arg Gly Pro Ala Val Glu Gly Gly His
 945 950 955 960
 Val Asn Met Ala Phe Ser Gln Ser Asn Pro Pro Ser Glu Leu His Lys
 965 970 975
 Val His Gly Ser Arg Asn Lys Pro Thr Ser Leu Trp Asn Pro Thr Tyr
 980 985 990
 Gly Ser Trp Phe Thr Glu Lys Pro Thr Lys Lys Asn Asn Pro Ile Ala
 995 1000 1005
 Lys Lys Glu Pro His Asp Arg Gly Asn Leu Gly Leu Glu Gly Ser
 1010 1015 1020
 Cys Thr Val Pro Pro Asn Val Ala Thr Gly Arg Leu Pro Gly Ala
 1025 1030 1035

Перечень_последовательностей_к заявке_2012133318_506-471RU

Ser Leu Leu Leu Glu Pro Ser Ser Leu Thr Ala Asn Met Lys Glu
 1040 1045 1050

Val Pro Leu Phe Arg Leu Arg His Phe Pro Cys Gly Asn Val Asn
 1055 1060 1065

Tyr Gly Tyr Gln Gln Gln Gly Leu Pro Leu Glu Ala Ala Thr Ala
 1070 1075 1080

Pro Gly Ala Gly His Tyr Glu Asp Thr Ile Leu Lys Ser Lys Asn
 1085 1090 1095

Ser Met Asn Gln Pro Gly Pro
 1100 1105

<210> 23
 <211> 4479
 <212> ДНК
 <213> Homo sapiens

<400> 23
 tgcgagaaag atggcggacc tggccgagtg caacatcaaa gtgatgtgtc gcttcagacc 60
 tctcaacgag tctgaagtga accgcggcga caagtacatc gccaaagtttc agggagaaga 120
 cacggtcgtg atcgcgtcca agccttatgc atttgatcgg gtgttccagt caagcacatc 180
 tcaagagcaa gtgtataatg actgtgcaaa gaagattggt aaagatgtac ttgaaggata 240
 taatggaaca atatttgcat atggacaaac atcctctggg aagacacaca caatggaggg 300
 taaacttcat gatccagaag gcatgggaat tattccaaga atagtgaag atatttttaa 360
 ttatatattac tccatggatg aaaatttgga atttcatatt aaggtttcat attttgaaat 420
 atatttggat aagataaggg acctgttaga tgtttcaaag accaaccttt cagttcatga 480
 agacaaaaac cgagttccct atgtaaaggg gtgcacagag cgttttgtat gtagtccaga 540
 tgaagttagt gataccatag atgaaggaaa atccaacaga catgtagcag ttacaaatat 600
 gaatgaacat agctctagga gtcacagtat atttcttatt aatgtcaaac aagagaacac 660
 acaaacggaa caaaagctga gtggaaaact ttatctggtt gatttagctg gtagtgaaaa 720
 ggttagtaaa actggagctg aagggtgctgt gctggatgaa gctaaaaaca tcaacaagtc 780
 acttttctgct ctggaaatg ttatttctgc ttggctgag ggtagtacat atgttccata 840
 tcgagatagt aaaatgacaa gaatccttca agattcatta ggtggcaact gtagaaccac 900
 tattgtaatt tgctgtctc catcatcata caatgagtct gaaacaaaat ctacactctt 960
 atttggccaa agggccaaaa caattaagaa cacagtttgt gtcaatgtgg agttaactgc 1020
 agaacagtgg aaaaagaagt atgaaaaaga aaaagaaaaa aataagatcc tgcggaacac 1080
 tattcagtgg ctgaaaatg agctcaacag atggcgtaat ggggagacgg tgcctattga 1140
 tgaacagttt gacaaagaga aagccaactt ggaagctttc acagtggata aagatattac 1200
 tcttaccat gataaaccag caaccgcaat tggagttata ggaaatttta ctgatgctga 1260

Page 58

Перечень_последовательностей_к заявке_2012133318_506-471RU

aagaagaaag	tgtgaagaag	aaattgctaa	attatacaaa	cagcttgatg	acaaggatga	1320
agaaattaac	cagcaaaagtc	aactggtaga	gaaactgaag	acgcaaatgt	tggatcagga	1380
ggagcttttg	gcatctacca	gaagggatca	agacaatatg	caagctgagc	tgaatcgcct	1440
tcaagcagaa	aatgatgcct	ctaaagaaga	agtgaagaa	gttttacagg	ccctagaaga	1500
acttgctgtc	aattatgata	agaagtctca	ggaagttgaa	gacaaaacta	aggaatatga	1560
attgcttagt	gatgaattga	atcagaaatc	ggcaacttta	gagagtatag	atgctgagct	1620
tcagaaactt	aaggaaatga	ccaaccacca	gaaaaaacga	gcagctgaga	tgatggcatc	1680
tttactaaaa	gaccttgagc	aaataggaat	tgctgtggga	aataatgatg	taaagcagcc	1740
tgaggggaact	ggcatgatag	atgaagagtt	cactgttgca	agactctaca	ttagcaaaat	1800
gaagtcagaa	gtaaaaacca	tggtgaaacg	ttgcaagcag	ttagaaagca	cacaaactga	1860
gagcaacaaa	aaaatggaag	aaaatgaaaa	ggagtttagca	gcatgtcagc	ttcgtatctc	1920
tcaacatgaa	gccaaaatca	agtcattgac	tgaatacctt	caaaatgtgg	aacaaaagaa	1980
aagacagttg	gaggaatctg	tcgatgccct	cagtgaagaa	ctagtccagc	ttcagacaca	2040
agagaaagtc	catgaaatgg	aaaaggagca	cttaataaag	gttcagactg	caaatgaagt	2100
taagcaagct	gttgaacagc	agatccagag	ccatagagaa	actcatcaaa	aacagatcag	2160
tagtttgaga	gatgaagtag	aagcaaaagc	aaaacttatt	actgatcttc	aagaccaaaa	2220
ccagaaaatg	atgttagagc	aggaacgtct	aagagtagaa	catgagaagt	tgaaagccac	2280
agatcaggaa	aagagcagaa	aactacatga	acttacggtt	atgcaagata	gacgagaaca	2340
agcaagacaa	gacttgaagg	gtttggaaga	gacagtggca	aaagaacttc	agactttaca	2400
caactgcgac	aaactctttg	ttcaggacct	ggctacaaga	gttaaaaaga	gtgctgagat	2460
tgattctgat	gacaccggag	gcagcgctgc	tcagaagcaa	aaaatctcct	ttcttgaaaa	2520
taatcttgaa	cagctcacta	aagtgcacaa	acagttggta	cgatgataatg	cagatctccg	2580
ctgtgaactt	cctaagtttg	aaaagcgact	tcgagctaca	gctgagagag	tgaaagcttt	2640
ggaatcagca	ctgaaagaag	ctaaagaaaa	tgatctcgt	gatcgcaaac	gctatcagca	2700
agaagtagat	cgcataaagg	aagcagtcag	gtcaaagaat	atggccagaa	gagggcattc	2760
tgacacagatt	gtgtaccgcc	ggaagcacca	ggagctgcaa	gccatgcaga	tggagctgca	2820
gagccctgag	tacaagctga	gcaagctccg	cacctcgacc	atcatgaccg	actacaaccc	2880
caactactgc	tttgctggca	agacctcctc	catcagtgac	ctgaaggagg	tgccgaggaa	2940
aaacatcacc	ctcattcggg	gtctgggcca	tggcgctttt	ggggagggtgt	atgaaggcca	3000
ggtgtccgga	atgcccacg	acccaagccc	cctgcaagtg	gctgtgaaga	cgctgcctga	3060
agtggtgctt	gaacaggacg	aactggattt	cctcatggaa	gccctgatca	tcagcaaatt	3120
caaccaccag	aacattgttc	gctgcattgg	ggtgagcctg	caatccctgc	cccggttcat	3180
cctgctggag	ctcatggcgg	ggggagacct	caagtccttc	ctccgagaga	cccgcctcg	3240
cccagaccag	ccctcctccc	tggccatgct	ggaccttctg	cacgtggctc	gggacattgc	3300

Перечень_последовательностей_к заявке_2012133318_506-471RU

ctgtggctgt cagtatttgg aggaaaacca cttcatccac cgagacattg ctgccagaaa 3360
 ctgcctcttg acctgtccag gccctggaag agtggccaag attggagact tcgggatggc 3420
 ccgagacatc tacagggcga gctactatag aaaggaggc tgtgcatgc tgccagttaa 3480
 gtggatgccc ccagaggcct tcatggaagg aatattcact tctaaaacag acacatggtc 3540
 ctttgagtg ctgctatggg aaatcttttc tcttgatat atgccatacc ccagcaaaag 3600
 caaccaggaa gttctggagt ttgtcaccag tggaggccgg atggaccac ccaagaactg 3660
 ccctgggcct gtataccgga taatgactca gtgctggcaa catcagcctg aagacaggcc 3720
 caactttgcc atcattttgg agaggattga atactgcacc caggaccgg atgtaatcaa 3780
 caccgctttg ccgatagaat atggtccact tgtggaagag gaagagaaag tgcctgtgag 3840
 gcccaaggac cctgagggg ttcctctct cctggctct caacaggcaa aacgggagga 3900
 ggagcgcagc ccagctgccc caccacctct gcctaccacc tcctctggca aggtcgaaa 3960
 gaaaccaca gctgcagagg tctctgttc agtccttaga gggccggccg tggaaggggg 4020
 acacgtgaat atggcattct ctcagtccaa ccctccttc gagttgcaca aggtccacgg 4080
 atccagaaac aagccacca gcttgaggaa cccaacgtac ggctcctggt ttacagagaa 4140
 acccaccaaa aagaataatc ctatagcaaa gaaggagcca cagcagagg gtaacctggg 4200
 gctggaggga agctgtactg tcccacctaa cgttgcaact gggagacttc cgggggcctc 4260
 actgctccta gagccctctt cgctgactgc caatatgaag gaggtacctc tgttcaggct 4320
 acgtcacttc cttgtggga atgtcaatta cggtaccag caacagggtc tgcccttaga 4380
 agccgctact gccctggag ctggtcatta cgaggatacc attctgaaaa gcaagaatag 4440
 catgaaccag cctgggcct gagctcggtc gcacactca 4479

<210> 24

<211> 1483

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 24

Met Ala Asp Leu Ala Glu Cys Asn Ile Lys Val Met Cys Arg Phe Arg
 1 5 10 15

Pro Leu Asn Glu Ser Glu Val Asn Arg Gly Asp Lys Tyr Ile Ala Lys
 20 25 30

Phe Gln Gly Glu Asp Thr Val Val Ile Ala Ser Lys Pro Tyr Ala Phe
 35 40 45

Asp Arg Val Phe Gln Ser Ser Thr Ser Gln Glu Gln Val Tyr Asn Asp
 50 55 60

Cys Ala Lys Lys Ile Val Lys Asp Val Leu Glu Gly Tyr Asn Gly Thr
 65 70 75 80

Перечень_последовательностей_к заявке_2012133318_506-471RU

Ile Phe Ala Tyr Gly Gln Thr Ser Ser Gly Lys Thr His Thr Met Glu
85 90 95

Gly Lys Leu His Asp Pro Glu Gly Met Gly Ile Ile Pro Arg Ile Val
100 105 110

Gln Asp Ile Phe Asn Tyr Ile Tyr Ser Met Asp Glu Asn Leu Glu Phe
115 120 125

His Ile Lys Val Ser Tyr Phe Glu Ile Tyr Leu Asp Lys Ile Arg Asp
130 135 140

Leu Leu Asp Val Ser Lys Thr Asn Leu Ser Val His Glu Asp Lys Asn
145 150 155 160

Arg Val Pro Tyr Val Lys Gly Cys Thr Glu Arg Phe Val Cys Ser Pro
165 170 175

Asp Glu Val Met Asp Thr Ile Asp Glu Gly Lys Ser Asn Arg His Val
180 185 190

Ala Val Thr Asn Met Asn Glu His Ser Ser Arg Ser His Ser Ile Phe
195 200 205

Leu Ile Asn Val Lys Gln Glu Asn Thr Gln Thr Glu Gln Lys Leu Ser
210 215 220

Gly Lys Leu Tyr Leu Val Asp Leu Ala Gly Ser Glu Lys Val Ser Lys
225 230 235 240

Thr Gly Ala Glu Gly Ala Val Leu Asp Glu Ala Lys Asn Ile Asn Lys
245 250 255

Ser Leu Ser Ala Leu Gly Asn Val Ile Ser Ala Leu Ala Glu Gly Ser
260 265 270

Thr Tyr Val Pro Tyr Arg Asp Ser Lys Met Thr Arg Ile Leu Gln Asp
275 280 285

Ser Leu Gly Gly Asn Cys Arg Thr Thr Ile Val Ile Cys Cys Ser Pro
290 295 300

Ser Ser Tyr Asn Glu Ser Glu Thr Lys Ser Thr Leu Leu Phe Gly Gln
305 310 315 320

Arg Ala Lys Thr Ile Lys Asn Thr Val Cys Val Asn Val Glu Leu Thr
325 330 335

Ala Glu Gln Trp Lys Lys Lys Tyr Glu Lys Glu Lys Glu Lys Asn Lys
340 345 350

Перечень последовательностей к заявке 2012133318_506-471RU
 Ile Leu Arg Asn Thr Ile Gln Trp Leu Glu Asn Glu Leu Asn Arg Trp
 355 360 365

Arg Asn Gly Glu Thr Val Pro Ile Asp Glu Gln Phe Asp Lys Glu Lys
 370 375 380

Ala Asn Leu Glu Ala Phe Thr Val Asp Lys Asp Ile Thr Leu Thr Asn
 385 390 395 400

Asp Lys Pro Ala Thr Ala Ile Gly Val Ile Gly Asn Phe Thr Asp Ala
 405 410 415

Glu Arg Arg Lys Cys Glu Glu Glu Ile Ala Lys Leu Tyr Lys Gln Leu
 420 425 430

Asp Asp Lys Asp Glu Glu Ile Asn Gln Gln Ser Gln Leu Val Glu Lys
 435 440 445

Leu Lys Thr Gln Met Leu Asp Gln Glu Glu Leu Leu Ala Ser Thr Arg
 450 455 460

Arg Asp Gln Asp Asn Met Gln Ala Glu Leu Asn Arg Leu Gln Ala Glu
 465 470 475 480

Asn Asp Ala Ser Lys Glu Glu Val Lys Glu Val Leu Gln Ala Leu Glu
 485 490 495

Glu Leu Ala Val Asn Tyr Asp Gln Lys Ser Gln Glu Val Glu Asp Lys
 500 505 510

Thr Lys Glu Tyr Glu Leu Leu Ser Asp Glu Leu Asn Gln Lys Ser Ala
 515 520 525

Thr Leu Ala Ser Ile Asp Ala Glu Leu Gln Lys Leu Lys Glu Met Thr
 530 535 540

Asn His Gln Lys Lys Arg Ala Ala Glu Met Met Ala Ser Leu Leu Lys
 545 550 555 560

Asp Leu Ala Glu Ile Gly Ile Ala Val Gly Asn Asn Asp Val Lys Gln
 565 570 575

Pro Glu Gly Thr Gly Met Ile Asp Glu Glu Phe Thr Val Ala Arg Leu
 580 585 590

Tyr Ile Ser Lys Met Lys Ser Glu Val Lys Thr Met Val Lys Arg Cys
 595 600 605

Lys Gln Leu Glu Ser Thr Gln Thr Glu Ser Asn Lys Lys Met Glu Glu
 610 615 620

Перечень последовательностей к заявке_2012133318_506-471RU
 Asn Glu Lys Glu Leu Ala Ala Cys Gln Leu Arg Ile Ser Gln His Glu
 625 630 635 640
 Ala Lys Ile Lys Ser Leu Thr Glu Tyr Leu Gln Asn Val Glu Gln Lys
 645 650 655
 Lys Arg Gln Leu Glu Glu Ser Val Asp Ala Leu Ser Glu Glu Leu Val
 660 665 670
 Gln Leu Arg Ala Gln Glu Lys Val His Glu Met Glu Lys Glu His Leu
 675 680 685
 Asn Lys Val Gln Thr Ala Asn Glu Val Lys Gln Ala Val Glu Gln Gln
 690 695 700
 Ile Gln Ser His Arg Glu Thr His Gln Lys Gln Ile Ser Ser Leu Arg
 705 710 715 720
 Asp Glu Val Glu Ala Lys Ala Lys Leu Ile Thr Asp Leu Gln Asp Gln
 725 730 735
 Asn Gln Lys Met Met Leu Glu Gln Glu Arg Leu Arg Val Glu His Glu
 740 745 750
 Lys Leu Lys Ala Thr Asp Gln Glu Lys Ser Arg Lys Leu His Glu Leu
 755 760 765
 Thr Val Met Gln Asp Arg Arg Glu Gln Ala Arg Gln Asp Leu Lys Gly
 770 775 780
 Leu Glu Glu Thr Val Ala Lys Glu Leu Gln Thr Leu His Asn Leu Arg
 785 790 795 800
 Lys Leu Phe Val Gln Asp Leu Ala Thr Arg Val Lys Lys Ser Ala Glu
 805 810 815
 Ile Asp Ser Asp Asp Thr Gly Gly Ser Ala Ala Gln Lys Gln Lys Ile
 820 825 830
 Ser Phe Leu Glu Asn Asn Leu Glu Gln Leu Thr Lys Val His Lys Gln
 835 840 845
 Leu Val Arg Asp Asn Ala Asp Leu Arg Cys Glu Leu Pro Lys Leu Glu
 850 855 860
 Lys Arg Leu Arg Ala Thr Ala Glu Arg Val Lys Ala Leu Glu Ser Ala
 865 870 875 880
 Leu Lys Glu Ala Lys Glu Asn Ala Ser Arg Asp Arg Lys Arg Tyr Gln
 885 890 895

Перечень последовательностей к заявке 2012133318_506-471RU
 Gln Glu Val Asp Arg Ile Lys Glu Ala Val Arg Ser Lys Asn Met Ala
 900 905 910

Arg Arg Gly His Ser Ala Gln Ile Val Tyr Arg Arg Lys His Gln Glu
 915 920 925

Leu Gln Ala Met Gln Met Glu Leu Gln Ser Pro Glu Tyr Lys Leu Ser
 930 935 940

Lys Leu Arg Thr Ser Thr Ile Met Thr Asp Tyr Asn Pro Asn Tyr Cys
 945 950 955 960

Phe Ala Gly Lys Thr Ser Ser Ile Ser Asp Leu Lys Glu Val Pro Arg
 965 970 975

Lys Asn Ile Thr Leu Ile Arg Gly Leu Gly His Gly Ala Phe Gly Glu
 980 985 990

Val Tyr Glu Gly Gln Val Ser Gly Met Pro Asn Asp Pro Ser Pro Leu
 995 1000 1005

Gln Val Ala Val Lys Thr Leu Pro Glu Val Cys Ser Glu Gln Asp
 1010 1015 1020

Glu Leu Asp Phe Leu Met Glu Ala Leu Ile Ile Ser Lys Phe Asn
 1025 1030 1035

His Gln Asn Ile Val Arg Cys Ile Gly Val Ser Leu Gln Ser Leu
 1040 1045 1050

Pro Arg Phe Ile Leu Leu Glu Leu Met Ala Gly Gly Asp Leu Lys
 1055 1060 1065

Ser Phe Leu Arg Glu Thr Arg Pro Arg Pro Ser Gln Pro Ser Ser
 1070 1075 1080

Leu Ala Met Leu Asp Leu Leu His Val Ala Arg Asp Ile Ala Cys
 1085 1090 1095

Gly Cys Gln Tyr Leu Glu Glu Asn His Phe Ile His Arg Asp Ile
 1100 1105 1110

Ala Ala Arg Asn Cys Leu Leu Thr Cys Pro Gly Pro Gly Arg Val
 1115 1120 1125

Ala Lys Ile Gly Asp Phe Gly Met Ala Arg Asp Ile Tyr Arg Ala
 1130 1135 1140

Ser Tyr Tyr Arg Lys Gly Gly Cys Ala Met Leu Pro Val Lys Trp
 1145 1150 1155

Перечень последовательностей к заявке_2012133318_506-471RU

Met Pro Pro Glu Ala Phe Met Glu Gly Ile Phe Thr Ser Lys Thr
1160 1165 1170

Asp Thr Trp Ser Phe Gly Val Leu Leu Trp Glu Ile Phe Ser Leu
1175 1180 1185

Gly Tyr Met Pro Tyr Pro Ser Lys Ser Asn Gln Glu Val Leu Glu
1190 1195 1200

Phe Val Thr Ser Gly Gly Arg Met Asp Pro Pro Lys Asn Cys Pro
1205 1210 1215

Gly Pro Val Tyr Arg Ile Met Thr Gln Cys Trp Gln His Gln Pro
1220 1225 1230

Glu Asp Arg Pro Asn Phe Ala Ile Ile Leu Glu Arg Ile Glu Tyr
1235 1240 1245

Cys Thr Gln Asp Pro Asp Val Ile Asn Thr Ala Leu Pro Ile Glu
1250 1255 1260

Tyr Gly Pro Leu Val Glu Glu Glu Glu Lys Val Pro Val Arg Pro
1265 1270 1275

Lys Asp Pro Glu Gly Val Pro Pro Leu Leu Val Ser Gln Gln Ala
1280 1285 1290

Lys Arg Glu Glu Glu Arg Ser Pro Ala Ala Pro Pro Pro Leu Pro
1295 1300 1305

Thr Thr Ser Ser Gly Lys Ala Ala Lys Lys Pro Thr Ala Ala Glu
1310 1315 1320

Val Ser Val Arg Val Pro Arg Gly Pro Ala Val Glu Gly Gly His
1325 1330 1335

Val Asn Met Ala Phe Ser Gln Ser Asn Pro Pro Ser Glu Leu His
1340 1345 1350

Lys Val His Gly Ser Arg Asn Lys Pro Thr Ser Leu Trp Asn Pro
1355 1360 1365

Thr Tyr Gly Ser Trp Phe Thr Glu Lys Pro Thr Lys Lys Asn Asn
1370 1375 1380

Pro Ile Ala Lys Lys Glu Pro His Asp Arg Gly Asn Leu Gly Leu
1385 1390 1395

Glu Gly Ser Cys Thr Val Pro Pro Asn Val Ala Thr Gly Arg Leu
1400 1405 1410

Перечень_последовательностей_к заявке_2012133318_506-471RU
 Pro Gly Ala Ser Leu Leu Leu Glu Pro Ser Ser Leu Thr Ala Asn
 1415 1420 1425

Met Lys Glu Val Pro Leu Phe Arg Leu Arg His Phe Pro Cys Gly
 1430 1435 1440

Asn Val Asn Tyr Gly Tyr Gln Gln Gln Gly Leu Pro Leu Glu Ala
 1445 1450 1455

Ala Thr Ala Pro Gly Ala Gly His Tyr Glu Asp Thr Ile Leu Lys
 1460 1465 1470

Ser Lys Asn Ser Met Asn Gln Pro Gly Pro
 1475 1480

<210> 25

<211> 2412

<212> ДНК

<213> Homo sapiens

<400> 25

atgaacggac agttggatct aagtgggaag ctaatcatca aagctcaact tggggaggat	60
attcggcgaa ttcctattca taatgaagat attacttatg atgaattagt gctaattgatg	120
caacgagttt tcagaggaaa acttctgagt aatgatgaag taacaataaa gtataaagat	180
gaagatggag atcttataac aatttttgat agttctgacc tttcctttgc aattcagtgc	240
agtaggatac tgaactgac attatttggt aatggccagc caagaccct tgaatcaagt	300
caggtgaaat atctccgtcg agaactgata gaacttcgaa ataaagtga tcgtttattg	360
gatagcttgg aaccacctgg agaaccagga ccttcacca atattcctga aaatgatact	420
gtggatggta ggaagaaaa gtctgcttct gattcttctg gaaaacagtc tactcaggtt	480
atggcagcaa gtatgtctgc ttttgatcct ttaaaaaacc aagatgaaat caataaaat	540
gttatgtcag cgtttgctt aacagatgat cagggttcag ggccaccag tgctcctgca	600
gaagatcgtt caggaacacc cgacagcatt gcttcctcct cctcagcagc tcaccacca	660
ggcgttcagc cacagcagcc accatataca ggagctcaga ctcaagcagg tcagattgaa	720
gtgtaccgcc ggaagacca ggagctgcaa gccatgcaga tggagctgca gagccctgag	780
tacaagctga gcaagctccg cacctcgacc atcatgaccg actacaacc caactactgc	840
tttgctggca agacctctc catcagtac ctgaaggagg tgccgcggaa aaacatcacc	900
ctcattcggg gtctgggcca tggcgctttt ggggaggtgt atgaaggcca ggtgtccgga	960
atgcccaacg acccaagccc cctgcaagtg gctgtgaaga cgctgcctga agtgtgctct	1020
gaacaggacg aactggattt cctcatggaa gccctgatca tcagcaaatt caaccaccag	1080
aacattgttc gctgcattgg ggtgagcctg caatccctgc cccggttcat cctgctggag	1140
ctcatggcgg ggggagacct caagtccttc ctccgagaga cccgccctcg cccgagccag	1200
ccctcctccc tggccatgct ggaccttctg cacgtggctc gggacattgc ctgtggctgt	1260

Перечень_последовательностей_к заявке_2012133318_506-471RU
 cagtatttgg agggaaaacca cttcatccac cgagacattg ctgccagaaa ctgcctcttg 1320
 acctgtccag gccctggaag agtggccaag attggagact tcgggatggc ccgagacatc 1380
 tacagggcga gctactatag aaagggaggc tgtgccatgc tgccagttaa gtggatgccc 1440
 ccagaggcct tcatggaagg aatattcact tctaaaacag acacatggtc ctttggagtg 1500
 ctgctatggg aaatcttttc tcttgatat atgccatacc ccagcaaaag caaccaggaa 1560
 gttctggagt ttgtcaccag tggaggccgg atggaccac ccaagaactg ccctgggcct 1620
 gtataccgga taatgactca gtgctggcaa catcagcctg aagacaggcc caactttgcc 1680
 atcatttttg agaggattga atactgcacc caggaccgg atgtaatcaa caccgctttg 1740
 ccgatagaat atgtccact tgtggaagag gaagagaaag tgctgtgag gcccaggac 1800
 cctgaggggg ttctctctct cctggtctct caacaggcaa aacgggagga ggagcgagc 1860
 ccagtgccc caccacctct gcctaccacc tcctctggca aggctgcaaa gaaaccaca 1920
 gctgcagagg tctctgttcg agtcctaga gggccggccg tggaaggggg acactggaat 1980
 atggcattct ctcagtccaa ccctccttcg gagttgcaca aggtccacgg atccagaaac 2040
 aagcccacca gcttgtggaa cccaacgtac ggctcctggt ttacagagaa acccaccaa 2100
 aagaataatc ctatagcaaa gaaggagcca cacgacagg gtaacctggg gctggaggga 2160
 agctgtactg tcccaccta cgttgcaact gggagacttc cgggggcctc actgctccta 2220
 gagccctctt cgctgactgc caatatgaag gaggtacctc tggtcaggct acgtcacttc 2280
 ccttgtggga atgtcaatta cggctaccag caacagggtc tgcccttaga agccgctact 2340
 gccctggag ctggtcatta cgaggatacc attctgaaaa gcaagaatag catgaaccag 2400
 cctgggccct ga 2412

<210> 26
 <211> 803
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 26
 Met Asn Gly Gln Leu Asp Leu Ser Gly Lys Leu Ile Ile Lys Ala Gln
 1 5 10 15
 Leu Gly Glu Asp Ile Arg Arg Ile Pro Ile His Asn Glu Asp Ile Thr
 20 25 30
 Tyr Asp Glu Leu Val Leu Met Met Gln Arg Val Phe Arg Gly Lys Leu
 35 40 45
 Leu Ser Asn Asp Glu Val Thr Ile Lys Tyr Lys Asp Glu Asp Gly Asp
 50 55 60
 Leu Ile Thr Ile Phe Asp Ser Ser Asp Leu Ser Phe Ala Ile Gln Cys
 65 70 75 80

Ser Arg Ile Leu Lys Leu Thr Leu Phe Val Asn Gly Gln Pro Arg Pro
 Page 67

Перечень_последовательностей_к заявке_2012133318_506-471RU
85 90 95

Leu Glu Ser Ser Gln Val Lys Tyr Leu Arg Arg Glu Leu Ile Glu Leu
100 105 110

Arg Asn Lys Val Asn Arg Leu Leu Asp Ser Leu Glu Pro Pro Gly Glu
115 120 125

Pro Gly Pro Ser Thr Asn Ile Pro Glu Asn Asp Thr Val Asp Gly Arg
130 135 140

Glu Glu Lys Ser Ala Ser Asp Ser Ser Gly Lys Gln Ser Thr Gln Val
145 150 155 160

Met Ala Ala Ser Met Ser Ala Phe Asp Pro Leu Lys Asn Gln Asp Glu
165 170 175

Ile Asn Lys Asn Val Met Ser Ala Phe Gly Leu Thr Asp Asp Gln Val
180 185 190

Ser Gly Pro Pro Ser Ala Pro Ala Glu Asp Arg Ser Gly Thr Pro Asp
195 200 205

Ser Ile Ala Ser Ser Ser Ser Ala Ala His Pro Pro Gly Val Gln Pro
210 215 220

Gln Gln Pro Pro Tyr Thr Gly Ala Gln Thr Gln Ala Gly Gln Ile Glu
225 230 235 240

Val Tyr Arg Arg Lys His Gln Glu Leu Gln Ala Met Gln Met Glu Leu
245 250 255

Gln Ser Pro Glu Tyr Lys Leu Ser Lys Leu Arg Thr Ser Thr Ile Met
260 265 270

Thr Asp Tyr Asn Pro Asn Tyr Cys Phe Ala Gly Lys Thr Ser Ser Ile
275 280 285

Ser Asp Leu Lys Glu Val Pro Arg Lys Asn Ile Thr Leu Ile Arg Gly
290 295 300

Leu Gly His Gly Ala Phe Gly Glu Val Tyr Glu Gly Gln Val Ser Gly
305 310 315 320

Met Pro Asn Asp Pro Ser Pro Leu Gln Val Ala Val Lys Thr Leu Pro
325 330 335

Glu Val Cys Ser Glu Gln Asp Glu Leu Asp Phe Leu Met Glu Ala Leu
340 345 350

Ile Ile Ser Lys Phe Asn His Gln Asn Ile Val Arg Cys Ile Gly Val

Перечень_последовательностей_к заявке_2012133318_506-471RU
 355 360 365

Ser Leu Gln Ser Leu Pro Arg Phe Ile Leu Leu Glu Leu Met Ala Gly
 370 375 380

Gly Asp Leu Lys Ser Phe Leu Arg Glu Thr Arg Pro Arg Pro Ser Gln
 385 390 400

Pro Ser Ser Leu Ala Met Leu Asp Leu Leu His Val Ala Arg Asp Ile
 405 410 415

Ala Cys Gly Cys Gln Tyr Leu Glu Glu Asn His Phe Ile His Arg Asp
 420 425 430

Ile Ala Ala Arg Asn Cys Leu Leu Thr Cys Pro Gly Pro Gly Arg Val
 435 440 445

Ala Lys Ile Gly Asp Phe Gly Met Ala Arg Asp Ile Tyr Arg Ala Ser
 450 455 460

Tyr Tyr Arg Lys Gly Gly Cys Ala Met Leu Pro Val Lys Trp Met Pro
 465 470 475 480

Pro Glu Ala Phe Met Glu Gly Ile Phe Thr Ser Lys Thr Asp Thr Trp
 485 490 495

Ser Phe Gly Val Leu Leu Trp Glu Ile Phe Ser Leu Gly Tyr Met Pro
 500 505 510

Tyr Pro Ser Lys Ser Asn Gln Glu Val Leu Glu Phe Val Thr Ser Gly
 515 520 525

Gly Arg Met Asp Pro Pro Lys Asn Cys Pro Gly Pro Val Tyr Arg Ile
 530 535 540

Met Thr Gln Cys Trp Gln His Gln Pro Glu Asp Arg Pro Asn Phe Ala
 545 550 555 560

Ile Ile Leu Glu Arg Ile Glu Tyr Cys Thr Gln Asp Pro Asp Val Ile
 565 570 575

Asn Thr Ala Leu Pro Ile Glu Tyr Gly Pro Leu Val Glu Glu Glu
 580 585 590

Lys Val Pro Val Arg Pro Lys Asp Pro Glu Gly Val Pro Pro Leu Leu
 595 600 605

Val Ser Gln Gln Ala Lys Arg Glu Glu Glu Arg Ser Pro Ala Ala Pro
 610 615 620

Pro Pro Leu Pro Thr Thr Ser Ser Gly Lys Ala Ala Lys Lys Pro Thr

Перечень_последовательностей_к_заявке_2012133318_506-471RU
 625 630 635 640

Ala Ala Glu Val Ser Val Arg Val Pro Arg Gly Pro Ala Val Glu Gly
 645 650 655
 Gly His Val Asn Met Ala Phe Ser Gln Ser Asn Pro Pro Ser Glu Leu
 660 665 670
 His Lys Val His Gly Ser Arg Asn Lys Pro Thr Ser Leu Trp Asn Pro
 675 680 685
 Thr Tyr Gly Ser Trp Phe Thr Glu Lys Pro Thr Lys Lys Asn Asn Pro
 690 695 700
 Ile Ala Lys Lys Glu Pro His Asp Arg Gly Asn Leu Gly Leu Glu Gly
 705 710 715 720
 Ser Cys Thr Val Pro Pro Asn Val Ala Thr Gly Arg Leu Pro Gly Ala
 725 730 735
 Ser Leu Leu Leu Glu Pro Ser Ser Leu Thr Ala Asn Met Lys Glu Val
 740 745 750
 Pro Leu Phe Arg Leu Arg His Phe Pro Cys Gly Asn Val Asn Tyr Gly
 755 760 765
 Tyr Gln Gln Gln Gly Leu Pro Leu Glu Ala Ala Thr Ala Pro Gly Ala
 770 775 780
 Gly His Tyr Glu Asp Thr Ile Leu Lys Ser Lys Asn Ser Met Asn Gln
 785 790 795 800
 Pro Gly Pro

<210> 27
 <211> 2779
 <212> ДНК
 <213> Homo sapiens

<400> 27
 cctccgcaag ccgtctttct ctagagttgt atatataga catcctggag tccaccatga 60
 acggacagtt ggatctaagt gggaagctaa tcatcaaagc tcaacttggg gaggatattc 120
 ggcgaattcc tattcataat gaagatatta cttatgatga attagtgcata atgatgcaac 180
 gagttttcag agggaaaactt ctgagtaatg atgaagtaac aataaagtat aaagatgaag 240
 atggagatct tataacaatt tttgatagtt ctgacctttc ctttgcaatt cagtgcagta 300
 ggatactgaa actgacatta tttgttaatg gccagccaag accccttgaa tcaagtcagg 360
 tgaaatatct ccgtcgagaa ctgatagaac ttcgaaataa agtgaatcgt ttattggata 420
 gcttggaacc acctggagaa ccaggacctt ccaccaatat tcctgaaaat gatactgtgg 480
 Page 70

Перечень_последовательностей_к заявке_2012133318_506-471RU

atggttaggga agaaaagtct gcttctgatt cttctgaaa acagtctact caggttatgg	540
cagcaagtat gtctgctttt gatcctttaa aaaaccaaga tgaatcaat aaaaatgtta	600
tgtagcgtt tggcttaaca gatgatcagg tttcagtgtt ccgccggaag caccaggagc	660
tgcaagccat gcagatggag ctgcagagcc ctgagtaca gctgagcaag ctccgcacct	720
cgaccatcat gaccgactac aacccaact actgctttgc tggcaagacc tcctccatca	780
gtgacctgaa ggaggtgccg cggaaaaaca tcacctcat tcgggggtctg ggccatggcg	840
cctttgggga ggtgtatgaa ggccagggtg ccggaatgcc caacgacca agccccctgc	900
aagtggctgt gaagacgctg cctgaagtgt gctctgaaca ggacgaactg gatttcctca	960
tggaagccct gatcatcagc aaattcaacc accagaacat tgttcgtgc attggggtga	1020
gcctgcaatc cctgccccgg ttcactctgc tggagctcat ggcgggggga gacctcaagt	1080
ccttcctccg agagaccgc cctcgccga gccagccctc ctccctggcc atgctggacc	1140
ttctgcacgt ggctcgggac attgcctgtg gctgtcagta ttggaggaa aaccacttca	1200
tccaccgaga cattgctgcc agaaactgcc tcttgacctg tccaggccct ggaagagtgg	1260
ccaagattgg agacttcggg atggcccag acatctacag ggcgagctac tatagaaagg	1320
gaggctgtgc catgctgcca gttaagtgga tgccccaga ggccttcctg gaaggaatat	1380
tcacttctaa aacagacaca tggtcctttg gagtgtgtgt atgggaaatc ttttctctg	1440
gatatatgcc ataccacagc aaaagcaacc aggaagtctt ggagttgtc accagtggag	1500
gccggatgga cccaccaag aactgccctg ggcctgtata ccgataatg actcagtgt	1560
ggcaacatca gcctgaagac agggccaact ttgccatcat ttgggagg attgaatact	1620
gcaccaggga cccggatgta atcaacaccg ctttgccgat agaatatgtt ccacttgtgg	1680
aagaggaaga gaaagtgcct gtgaggccca aggacctga ggggggttct cctctcctgg	1740
tctctcaaca ggcaaacgg gaggaggagc gcagcccagc tgccccacca cctctgccta	1800
ccacctctc tggcaaggct gcaaagaaac ccacagctgc agaggctctt gttcgagtcc	1860
ctagagggcc ggcggtggaa gggggacacg tgaatatggc attctctcag tccaaccctc	1920
cttcggagtt gcacaaggct cacggatcca gaaacaagcc caccagcttg tggaaaccaa	1980
cgtacggctc ctggtttaca gagaaacca ccaaaaagaa taatcctata gcaaagaagg	2040
agccacacga cagggttaac ctggggctgg aggggaagctg tactgtccca cctaacgttg	2100
caactgggag acttccgggg gcctcactgc tcctagagcc ctcttcgtg actgccaata	2160
tgaaggaggt acctctgttc aggctacgtc acttcctctg tgggaatgtc aattacggct	2220
accagcaaca gggcttgccc ttagaagccg ctactgcccc tggagctggt cattacgagg	2280
ataccattct gaaaagcaag aatagcatga accagcctgg gccctgagct cggtcgcaca	2340
ctcacttctc ttccttggga tccttaagac cgtggaggag agagaggcaa tggctccttc	2400
acaaaccaga gaccaaatgt cacgttttgt tttgtgcaa cctattttga agtaccacca	2460
aaaaagctgt attttgaata tgcttttaga aggttttgag catgggttca tcctattctt	2520

Перечень_последовательностей_к заявке_2012133318_506-471RU

tcgaaagaag aaaatatcat aaaaatgagt gataaataca aggccagat gtggttgcac 2580
aagggtttta tgcattgttg ttgtatactt ctttatgctt cttttaaat gtgtgtgctc 2640
tgcttcaatg tagtcagaat tagctgcttc tatgtttcat agttgggggc atagatgttt 2700
ccttgccttg ttgatgtgga catgagccat ttgaggggag agggaacgga aataaaggag 2760
ttatttgtaa tgactaaaa 2779

<210> 28
<211> 756
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 28
Met Asn Gly Gln Leu Asp Leu Ser Gly Lys Leu Ile Ile Lys Ala Gln
1 5 10 15
Leu Gly Glu Asp Ile Arg Arg Ile Pro Ile His Asn Glu Asp Ile Thr
20 25 30
Tyr Asp Glu Leu Val Leu Met Met Gln Arg Val Phe Arg Gly Lys Leu
35 40 45
Leu Ser Asn Asp Glu Val Thr Ile Lys Tyr Lys Asp Glu Asp Gly Asp
50 55 60
Leu Ile Thr Ile Phe Asp Ser Ser Asp Leu Ser Phe Ala Ile Gln Cys
65 70 75 80
Ser Arg Ile Leu Lys Leu Thr Leu Phe Val Asn Gly Gln Pro Arg Pro
85 90 95
Leu Glu Ser Ser Gln Val Lys Tyr Leu Arg Arg Glu Leu Ile Glu Leu
100 105 110
Arg Asn Lys Val Asn Arg Leu Leu Asp Ser Leu Glu Pro Pro Gly Glu
115 120 125
Pro Gly Pro Ser Thr Asn Ile Pro Glu Asn Asp Thr Val Asp Gly Arg
130 135 140
Glu Glu Lys Ser Ala Ser Asp Ser Ser Gly Lys Gln Ser Thr Gln Val
145 150 155 160
Met Ala Ala Ser Met Ser Ala Phe Asp Pro Leu Lys Asn Gln Asp Glu
165 170 175
Ile Asn Lys Asn Val Met Ser Ala Phe Gly Leu Thr Asp Asp Gln Val
180 185 190
Ser Val Tyr Arg Arg Lys His Gln Glu Leu Gln Ala Met Gln Met Glu
195 200 205

Перечень_последовательностей_к заявке_2012133318_506-471RU

Leu Gln Ser Pro Glu Tyr Lys Leu Ser Lys Leu Arg Thr Ser Thr Ile
 210 215 220
 Met Thr Asp Tyr Asn Pro Asn Tyr Cys Phe Ala Gly Lys Thr Ser Ser
 225 230 235 240
 Ile Ser Asp Leu Lys Glu Val Pro Arg Lys Asn Ile Thr Leu Ile Arg
 245 250 255
 Gly Leu Gly His Gly Ala Phe Gly Glu Val Tyr Glu Gly Gln Val Ser
 260 265 270
 Gly Met Pro Asn Asp Pro Ser Pro Leu Gln Val Ala Val Lys Thr Leu
 275 280 285
 Pro Glu Val Cys Ser Glu Gln Asp Glu Leu Asp Phe Leu Met Glu Ala
 290 295 300
 Leu Ile Ile Ser Lys Phe Asn His Gln Asn Ile Val Arg Cys Ile Gly
 305 310 315 320
 Val Ser Leu Gln Ser Leu Pro Arg Phe Ile Leu Leu Glu Leu Met Ala
 325 330 335
 Gly Gly Asp Leu Lys Ser Phe Leu Arg Glu Thr Arg Pro Arg Pro Ser
 340 345 350
 Gln Pro Ser Ser Leu Ala Met Leu Asp Leu Leu His Val Ala Arg Asp
 355 360 365
 Ile Ala Cys Gly Cys Gln Tyr Leu Glu Glu Asn His Phe Ile His Arg
 370 375 380
 Asp Ile Ala Ala Arg Asn Cys Leu Leu Thr Cys Pro Gly Pro Gly Arg
 385 390 395 400
 Val Ala Lys Ile Gly Asp Phe Gly Met Ala Arg Asp Ile Tyr Arg Ala
 405 410 415
 Ser Tyr Tyr Arg Lys Gly Gly Cys Ala Met Leu Pro Val Lys Trp Met
 420 425 430
 Pro Pro Glu Ala Phe Met Glu Gly Ile Phe Thr Ser Lys Thr Asp Thr
 435 440 445
 Trp Ser Phe Gly Val Leu Leu Trp Glu Ile Phe Ser Leu Gly Tyr Met
 450 455 460
 Pro Tyr Pro Ser Lys Ser Asn Gln Glu Val Leu Glu Phe Val Thr Ser
 465 470 475 480

Перечень_последовательностей_к заявке_2012133318_506-471RU

Gly Gly Arg Met Asp Pro Pro Lys Asn Cys Pro Gly Pro Val Tyr Arg
 485 490 495
 Ile Met Thr Gln Cys Trp Gln His Gln Pro Glu Asp Arg Pro Asn Phe
 500 505 510
 Ala Ile Ile Leu Glu Arg Ile Glu Tyr Cys Thr Gln Asp Pro Asp Val
 515 520 525
 Ile Asn Thr Ala Leu Pro Ile Glu Tyr Gly Pro Leu Val Glu Glu Glu
 530 535 540
 Glu Lys Val Pro Val Arg Pro Lys Asp Pro Glu Gly Val Pro Pro Leu
 545 550 555 560
 Leu Val Ser Gln Gln Ala Lys Arg Glu Glu Glu Arg Ser Pro Ala Ala
 565 570 575
 Pro Pro Pro Leu Pro Thr Thr Ser Ser Gly Lys Ala Ala Lys Lys Pro
 580 585 590
 Thr Ala Ala Glu Val Ser Val Arg Val Pro Arg Gly Pro Ala Val Glu
 595 600 605
 Gly Gly His Val Asn Met Ala Phe Ser Gln Ser Asn Pro Pro Ser Glu
 610 615 620
 Leu His Lys Val His Gly Ser Arg Asn Lys Pro Thr Ser Leu Trp Asn
 625 630 635 640
 Pro Thr Tyr Gly Ser Trp Phe Thr Glu Lys Pro Thr Lys Lys Asn Asn
 645 650 655
 Pro Ile Ala Lys Lys Glu Pro His Asp Arg Gly Asn Leu Gly Leu Glu
 660 665 670
 Gly Ser Cys Thr Val Pro Pro Asn Val Ala Thr Gly Arg Leu Pro Gly
 675 680 685
 Ala Ser Leu Leu Leu Glu Pro Ser Ser Leu Thr Ala Asn Met Lys Glu
 690 695 700
 Val Pro Leu Phe Arg Leu Arg His Phe Pro Cys Gly Asn Val Asn Tyr
 705 710 715 720
 Gly Tyr Gln Gln Gln Gly Leu Pro Leu Glu Ala Ala Thr Ala Pro Gly
 725 730 735
 Ala Gly His Tyr Glu Asp Thr Ile Leu Lys Ser Lys Asn Ser Met Asn
 740 745 750

Перечень_последовательностей_к заявке_2012133318_506-471RU

Gln Pro Gly Pro
755

<210> 29
<211> 2614
<212> ДНК
<213> Homo sapiens

<400> 29
cctccgcaag ccgtctttct ctagagttgt atatatagaa catcctggag tccaccatga 60
acggacagtt ggatctaagt gggaagctaa tcatcaaagc tcaacttggg gaggatattc 120
ggcgaattcc tattcataat gaagatatta cttatgatga attagtgcata atgatgcaac 180
gagttttcag aggaaaactt ctgagtaatg atgaagtaac aataaagtat aaagatgaag 240
atggagatct tataacaatt ttgatagtt ctgacctttc ctttgcaatt cagtgcagta 300
ggatactgaa actgacatta ttgttaatg gccagccaag accccttgaa tcaagtcagg 360
tgaaatatct ccgtcgagaa ctgatagaac ttcgaaataa agtgaatcgt ttattggata 420
gcttggaaac acctggagaa ccaggacctt ccaccaatat tcctgaaaat gtgtaccgcc 480
ggaagcacca ggagctgcaa gccatgcaga tggagctgca gagccctgag tacaagctga 540
gcaagctccg cacctcgacc atcatgaccg actacaacc caactactgc ttgtctggca 600
agacctcctc catcagtgc ctgaaggagg tgccgcggaa aaacatcacc ctcatcggg 660
gtctgggcca tggcgctttt ggggaggtgt atgaaggcca ggtgtccgga atgcccaacg 720
acccaagccc cctgcaagtg gctgtgaaga cgctgcctga agtgtgctct gaacaggacg 780
aactggattt cctcatggaa gccctgatca tcagcaaatt caaccaccag aacattgttc 840
gctgcattgg ggtgagcctg caatccctgc cccggttcat cctgctggag ctcatggcgg 900
ggggagacct caagtccttc ctccgagaga cccgacctcg cccgagccag ccctcctccc 960
tgcccatgct ggaccttctg cacgtggctc gggacattgc ctgtggctgt cagtatttgg 1020
aggaaaacca cttcatccac cgagacattg ctgccagaaa ctgcctcttg acctgtccag 1080
gccctggaag agtggccaag attggagact tcgggatggc ccgagacatc tacagggcga 1140
gctactatag aaagggaggc tgtgccatgc tgccagttaa gtggatgccc ccagaggcct 1200
tcatggaagg aatattcact tctaaaacag acacatgggc ctttggagtg ctgctatggg 1260
aaatcttttc tcttgatat atgccatacc ccagcaaaag caaccaggaa gttctggagt 1320
ttgtcaccag tggaggccgg atggaccac ccaagaactg ccctgggcct gtataccgga 1380
taatgactca gtgctgcaa catcagcctg aagacaggcc caactttgcc atcattttgg 1440
agaggattga atactgcacc caggaccgg atgtaatcaa caccgctttg ccgatagaat 1500
atggtccact tgtggaagag gaagagaaag tgctgtgag gcccaaggac cctgaggggg 1560
ttcctcctct cctggtctct caacaggcaa aacgggagga ggagcgagc ccagctgccc 1620
caccacctct gcctaccac tcctctggca aggctgcaaa gaaaccaca gctgcagagg 1680

Перечень_последовательностей_к заявке_2012133318_506-471RU

```

tctctgttcg agtccctaga gggccggccg tggaagggg acacgtgaat atggcattct 1740
ctcagtccaa ccctccttcg gagttgcaca aggtccacgg atccagaaac aagcccacca 1800
gcttggtgga cccaacgtac ggctcctggt ttacagagaa acccaccaaa aagaataatc 1860
ctatagcaaa gaaggagcca cacgacaggg gtaacctggg gctggaggga agctgtactg 1920
tcccacctaa cgttgcaact gggagacttc cgggggcctc actgctccta gagccctctt 1980
cgctgactgc caatatgaag gaggtacctc tggtcaggct acgtcacttc ccttgtggga 2040
atgtcaatta cggctaccag caacagggct tgcccttaga agccgctact gccctggag 2100
ctggtcatta cgaggatacc attctgaaaa gcaagaatag catgaaccag cctgggccct 2160
gagctcgggc gcacactcac ttctcttcct tgggatccct aagaccgtgg aggagagaga 2220
ggcaatggct ccttcacaaa ccagagacca aatgtcacgt tttgttttgt gccaacctat 2280
tttgaagtac caccaaaaaa gctgtatttt gaaaatgctt tagaaagggt ttgagcatgg 2340
gttcaccta ttctttcgaa agaagaaaat atcataaaaa tgagtataa atacaaggcc 2400
cagatgtggt tgcataaggt ttttatgcat gttgttgta tacttcctta tgcttctttt 2460
aaattgtgtg tgctctgctt caatgtagtc agaattagct gcttctatgt ttcatagttg 2520
gggtcataga tgtttccttg cctgtttgat gtggacatga gccatttgag gggagaggga 2580
acggaaataa aggagttatt tgtaatgact aaaa 2614

```

<210> 30
 <211> 701
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 30
 Met Asn Gly Gln Leu Asp Leu Ser Gly Lys Leu Ile Ile Lys Ala Gln
 1 5 10 15
 Leu Gly Glu Asp Ile Arg Arg Ile Pro Ile His Asn Glu Asp Ile Thr
 20 25 30
 Tyr Asp Glu Leu Val Leu Met Met Gln Arg Val Phe Arg Gly Lys Leu
 35 40 45
 Leu Ser Asn Asp Glu Val Thr Ile Lys Tyr Lys Asp Glu Asp Gly Asp
 50 55 60
 Leu Ile Thr Ile Phe Asp Ser Ser Asp Leu Ser Phe Ala Ile Gln Cys
 65 70 75 80
 Ser Arg Ile Leu Lys Leu Thr Leu Phe Val Asn Gly Gln Pro Arg Pro
 85 90 95
 Leu Glu Ser Ser Gln Val Lys Tyr Leu Arg Arg Glu Leu Ile Glu Leu
 100 105 110
 Arg Asn Lys Val Asn Arg Leu Leu Asp Ser Leu Glu Pro Pro Gly Glu

Перечень_последовательностей_к заявке_2012133318_506-471RU
 115 120 125

Pro Gly Pro Ser Thr Asn Ile Pro Glu Asn Val Tyr Arg Arg Lys His
 130 135 140

Gln Glu Leu Gln Ala Met Gln Met Glu Leu Gln Ser Pro Glu Tyr Lys
 145 150 155 160

Leu Ser Lys Leu Arg Thr Ser Thr Ile Met Thr Asp Tyr Asn Pro Asn
 165 170 175

Tyr Cys Phe Ala Gly Lys Thr Ser Ser Ile Ser Asp Leu Lys Glu Val
 180 185 190

Pro Arg Lys Asn Ile Thr Leu Ile Arg Gly Leu Gly His Gly Ala Phe
 195 200 205

Gly Glu Val Tyr Glu Gly Gln Val Ser Gly Met Pro Asn Asp Pro Ser
 210 215 220

Pro Leu Gln Val Ala Val Lys Thr Leu Pro Glu Val Cys Ser Glu Gln
 225 230 235 240

Asp Glu Leu Asp Phe Leu Met Glu Ala Leu Ile Ile Ser Lys Phe Asn
 245 250 255

His Gln Asn Ile Val Arg Cys Ile Gly Val Ser Leu Gln Ser Leu Pro
 260 265 270

Arg Phe Ile Leu Leu Glu Leu Met Ala Gly Gly Asp Leu Lys Ser Phe
 275 280 285

Leu Arg Glu Thr Arg Pro Arg Pro Ser Gln Pro Ser Ser Leu Ala Met
 290 295 300

Leu Asp Leu Leu His Val Ala Arg Asp Ile Ala Cys Gly Cys Gln Tyr
 305 310 315 320

Leu Glu Glu Asn His Phe Ile His Arg Asp Ile Ala Ala Arg Asn Cys
 325 330 335

Leu Leu Thr Cys Pro Gly Pro Gly Arg Val Ala Lys Ile Gly Asp Phe
 340 345 350

Gly Met Ala Arg Asp Ile Tyr Arg Ala Ser Tyr Tyr Arg Lys Gly Gly
 355 360 365

Cys Ala Met Leu Pro Val Lys Trp Met Pro Pro Glu Ala Phe Met Glu
 370 375 380

Gly Ile Phe Thr Ser Lys Thr Asp Thr Trp Ser Phe Gly Val Leu Leu

385	Перечень_последовательностей_к заявке_2012133318_506-471RU	390	395	400
-----	--	-----	-----	-----

Trp Glu Ile Phe Ser Leu Gly Tyr Met Pro Tyr Pro Ser Lys Ser Asn
405 410 415

Gln Glu Val Leu Glu Phe Val Thr Ser Gly Gly Arg Met Asp Pro Pro
420 425 430

Lys Asn Cys Pro Gly Pro Val Tyr Arg Ile Met Thr Gln Cys Trp Gln
435 440 445

His Gln Pro Glu Asp Arg Pro Asn Phe Ala Ile Ile Leu Glu Arg Ile
450 455 460

Glu Tyr Cys Thr Gln Asp Pro Asp Val Ile Asn Thr Ala Leu Pro Ile
465 470 475 480

Glu Tyr Gly Pro **Leu** Val Glu Glu Glu **Glu** Lys Val Pro Val **Arg** Pro
485 490 495

Lys Asp Pro **Glu** Gly Val Pro Pro **Leu** Leu Val Ser Gln **Gln** Ala Lys
500 505 510

Arg Glu Glu Glu Arg Ser Pro Ala Ala Pro Pro Pro Leu Pro Thr Thr
515 520 525

Ser Ser Gly Lys Ala Ala Lys Lys Pro Thr Ala Ala Glu Val Ser Val
530 535 540

Arg Val Pro Arg Gly Pro Ala Val Glu Gly Gly His Val Asn Met Ala
545 550 555 560

Phe Ser Gln Ser Asn Pro Pro Ser Glu Leu His Lys Val His Gly Ser
565 570 575

Arg Asn Lys Pro Thr Ser Leu Trp Asn Pro Thr Tyr Gly Ser Trp Phe
580 585 590

Thr Glu Lys Pro Thr Lys Lys Asn Asn Pro Ile Ala Lys Lys Glu Pro
595 600 605

His Asp Arg Gly Asn Leu Gly Leu Glu Gly Ser Cys Thr Val Pro Pro
610 615 620

Asn Val Ala Thr Gly Arg Leu Pro Gly Ala Ser Leu Leu Leu Glu Pro
625 630 635 640

Ser Ser Leu Thr Ala Asn Met Lys Glu Val Pro Leu Phe Arg Leu Arg
645 650 655

His Phe Pro Cys Gly Asn Val Asn Tyr Gly Tyr Gln Gln Gln Gly Leu
Page 78

Перечень_последовательностей_к заявке_2012133318_506-471RU
 660 665 670

Pro Leu Glu Ala Ala Thr Ala Pro Gly Ala Gly His Tyr Glu Asp Thr
 675 680 685

Ile Leu Lys Ser Lys Asn Ser Met Asn Gln Pro Gly Pro
 690 695 700

<210> 31
 <211> 1607
 <212> ДНК
 <213> Homo sapiens

<400> 31
 aactccgctg cctttgccgc caccatgccc aaaacgatca gtgtgctgt gaccaccatg 60
 gatgcagagc tggagtttgc catccagccc aacaccaccg ggaagcagct atttgaccag 120
 gtggtgaaaa ctattggctt gagggaggtt tggttctttg gtctgcagta ccaggacact 180
 aaaggtttct ccacctggct gaaactcaat aagaagggtga ctgcccagga tgtgcggaag 240
 gaaagcccc tgctctttaa gttccgtgcc aagtcttacc ctgaggatgt gtccgaggaa 300
 ttgattcagg acatcactca gcgcctgttc tttctgcaag tgaaagaggg cattctcaat 360
 gatgatattt actgcccgcc tgagaccgct gtgctgctgg cctcgtatgc tgtccagtct 420
 aagtatggcg acttcaataa ggaagtgcac aagtctggct acctggcccg agacaagttg 480
 ctcccgcaga gagtcttggg acagcacaaa ctcaacaagg accagtggga ggagcggatc 540
 cagggtgtggc atgaggaaca ccgtggcatg ctcaggaggg atgctgtcct ggaatatctg 600
 aagattgtct aagatctgga gatgtatggt gtgaactact tcagcatcaa gaacaagaaa 660
 ggctcagagc tgggctggg ggtggatgcc ctgggtctca acatctatga gcagaatgac 720
 agactaactc ccaagatagg cttcccctgg agtgaaatca ggaacatctc tttcaatgat 780
 aagaaatttg tcatcaagcc cattgacaaa aaagcccccg acttcgtctt ctatgctccc 840
 cggctgcgga ttaacaagcg gatcttggcc ttgtgcatgg ggaacctga actatacatg 900
 cgccgtcgca agcctgatac cattgaggtg cagcagatga aggcacaggc ccgggaggag 960
 aagcaccaga agcagatgga gcgtgctatg ctggaaaatg agaagaagaa gcgtgaaatg 1020
 gcagagaagg agaaagagaa gattgaacgg gagaaggagg agctgatgga gaggctgaag 1080
 cagatcgagg aacagactaa gaaggctcag caagaactgg aagaacagac ccgtagggct 1140
 ctggaacttg agcaggaacg gaagcgtgcc cagagcagg ctgaaaagct ggccaaggag 1200
 cgtcaagaag ctgaagaggc caaggaggcc ttgctgcagg cctcccggga ccagaaaaag 1260
 actcaggaac agctggcctt ggaaatggca gagctgacag ctgcaatctc ccagctggag 1320
 atggccccgac agaagaagga gagtgaaggct gtggagtggc agcagaagca ggagctgcaa 1380
 gccatgcaga tggagctgca gagccctgag tacaagctga gcaagctccg cacctcgacc 1440
 atcatgaccg actacaaccc caactactgc tttgctggca agacctctc catcagtgc 1500
 ctgaaggagg tgccgcggaa aaacatcacc ctcatcggg gtctgggcca tggcgcttt 1560

Page 79

Перечень_последовательностей_к заявке_2012133318_506-471RU

ggggaggtgt atgaaggcca ggtgtccgga atgcccacg acccaag

1607

<210> 32
 <211> 527
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 32

Met Pro Lys Thr Ile Ser Val Arg Val Thr Thr Met Asp Ala Glu Leu
 1 5 10 15

Glu Phe Ala Ile Gln Pro Asn Thr Thr Gly Lys Gln Leu Phe Asp Gln
 20 25 30

Val Val Lys Thr Ile Gly Leu Arg Glu Val Trp Phe Phe Gly Leu Gln
 35 40 45

Tyr Gln Asp Thr Lys Gly Phe Ser Thr Trp Leu Lys Leu Asn Lys Lys
 50 55 60

Val Thr Ala Gln Asp Val Arg Lys Glu Ser Pro Leu Leu Phe Lys Phe
 65 70 75 80

Arg Ala Lys Phe Tyr Pro Glu Asp Val Ser Glu Glu Leu Ile Gln Asp
 85 90 95

Ile Thr Gln Arg Leu Phe Phe Leu Gln Val Lys Glu Gly Ile Leu Asn
 100 105 110

Asp Asp Ile Tyr Cys Pro Pro Glu Thr Ala Val Leu Leu Ala Ser Tyr
 115 120 125

Ala Val Gln Ser Lys Tyr Gly Asp Phe Asn Lys Glu Val His Lys Ser
 130 135 140

Gly Tyr Leu Ala Gly Asp Lys Leu Leu Pro Gln Arg Val Leu Glu Gln
 145 150 155 160

His Lys Leu Asn Lys Asp Gln Trp Glu Glu Arg Ile Gln Val Trp His
 165 170 175

Glu Glu His Arg Gly Met Leu Arg Glu Asp Ala Val Leu Glu Tyr Leu
 180 185 190

Lys Ile Ala Gln Asp Leu Glu Met Tyr Gly Val Asn Tyr Phe Ser Ile
 195 200 205

Lys Asn Lys Lys Gly Ser Glu Leu Trp Leu Gly Val Asp Ala Leu Gly
 210 215 220

Leu Asn Ile Tyr Glu Gln Asn Asp Arg Leu Thr Pro Lys Ile Gly Phe
 225 230 235 240

Page 80

Перечень_последовательностей_к заявке_2012133318_506-471RU

Pro Trp Ser Glu Ile Arg Asn Ile Ser Phe Asn Asp Lys Lys Phe Val
 245 250 255
 Ile Lys Pro Ile Asp Lys Lys Ala Pro Asp Phe Val Phe Tyr Ala Pro
 260 265 270
 Arg Leu Arg Ile Asn Lys Arg Ile Leu Ala Leu Cys Met Gly Asn His
 275 280 285
 Glu Leu Tyr Met Arg Arg Arg Lys Pro Asp Thr Ile Glu Val Gln Gln
 290 295 300
 Met Lys Ala Gln Ala Arg Glu Glu Lys His Gln Lys Gln Met Glu Arg
 305 310 315 320
 Ala Met Leu Glu Asn Glu Lys Lys Lys Arg Glu Met Ala Glu Lys Glu
 325 330 335
 Lys Glu Lys Ile Glu Arg Glu Lys Glu Glu Leu Met Glu Arg Leu Lys
 340 345 350
 Gln Ile Glu Glu Gln Thr Lys Lys Ala Gln Gln Glu Leu Glu Glu Gln
 355 360 365
 Thr Arg Arg Ala Leu Glu Leu Glu Gln Glu Arg Lys Arg Ala Gln Ser
 370 375 380
 Glu Ala Glu Lys Leu Ala Lys Glu Arg Gln Glu Ala Glu Glu Ala Lys
 385 390 395 400
 Glu Ala Leu Leu Gln Ala Ser Arg Asp Gln Lys Lys Thr Gln Glu Gln
 405 410 415
 Leu Ala Leu Glu Met Ala Glu Leu Thr Ala Arg Ile Ser Gln Leu Glu
 420 425 430
 Met Ala Arg Gln Lys Lys Glu Ser Glu Ala Val Glu Trp Gln Gln Lys
 435 440 445
 Gln Glu Leu Gln Ala Met Gln Met Glu Leu Gln Ser Pro Glu Tyr Lys
 450 455 460
 Leu Ser Lys Leu Arg Thr Ser Thr Ile Met Thr Asp Tyr Asn Pro Asn
 465 470 475 480
 Tyr Cys Phe Ala Gly Lys Thr Ser Ser Ile Ser Asp Leu Lys Glu Val
 485 490 495
 Pro Arg Lys Asn Ile Thr Leu Ile Arg Gly Leu Gly His Gly Ala Phe
 500 505 510

Перечень_последовательностей_к заявке_2012133318_506-471RU

Gly Glu Val Tyr Glu Gly Gln Val Ser Gly Met Pro Asn Asp Pro
 515 520 525

<210> 33
 <211> 426
 <212> ДНК
 <213> Homo sapiens

<400> 33
 cgagaagttg agggagaaag gcgggcccg gaacaggctg aggctgaggt ggcctccttg 60
 aaccgtagga tccagctggt tgaagaagag ctggaccgtg ctgaggagcg tgcggaggtg 120
 tctgaactaa aatgtggtga cctggaagaa gaactcaaga atgttactaa caatctgaaa 180
 tctctggagg ctgcatctga aaagtattct gaaaaggagg acaaatatga agaagaaatt 240
 aaacttctgt ctgacaaact gaaagaggct gagaccctgt ctgaatttgc agagagaacg 300
 gttgcaaaac tggaaaagac aattgatgac ctggaagtgt acctccggaa gcaccaagag 360
 ctgcaagcca tgcagatgga gctgcagagc cctgagtaca agctgagcaa gctccgcacc 420
 ctcgac 426

<210> 34
 <211> 142
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 34
 Arg Glu Val Glu Gly Glu Arg Arg Ala Arg Glu Gln Ala Glu Ala Glu
 1 5 10 15
 Val Ala Ser Leu Asn Arg Arg Ile Gln Leu Val Glu Glu Glu Leu Asp
 20 25 30
 Arg Ala Gln Glu Arg Ala Glu Val Ser Glu Leu Lys Cys Gly Asp Leu
 35 40 45
 Glu Glu Glu Leu Lys Asn Val Thr Asn Asn Leu Lys Ser Leu Glu Ala
 50 55 60
 Ala Ser Glu Lys Tyr Ser Glu Lys Glu Asp Lys Tyr Glu Glu Glu Ile
 65 70 75 80
 Lys Leu Leu Ser Asp Lys Leu Lys Glu Ala Glu Thr Arg Ala Glu Phe
 85 90 95
 Ala Glu Arg Thr Val Ala Lys Leu Glu Lys Thr Ile Asp Asp Leu Glu
 100 105 110
 Val Tyr Leu Arg Lys His Gln Glu Leu Gln Ala Met Gln Met Glu Leu
 115 120 125
 Gln Ser Pro Glu Tyr Lys Leu Ser Lys Leu Arg Thr Leu Asp

Стр.: 180

Перечень_последовательностей_к заявке_2012133318_506-471RU

<210> 38
 <211> 24
 <212> ДНК
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Описание искусственной последовательности: Синтетический праймер
 <400> 38
 aggcactttc tcttcctctt ccac 24

<210> 39
 <211> 24
 <212> ДНК
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Описание искусственной последовательности: Синтетический праймер
 <400> 39
 ccacacstgg gaaaggacct aaag 24

<210> 40
 <211> 24
 <212> ДНК
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Описание искусственной последовательности: Синтетический праймер
 <400> 40
 cctccaata ctgacagcca cagg 24