

A
RPS2-gén és eljárás alkalmazására

Kivonat

A találmány tárgyát rekombináns növényi nukleinsavak és polipeptidek képezik, valamint eljárások azok - transzgenikus növényekben, patogénekkal szembeni rezisztencia kialakítása céljából történő - alkalmazására.

Közelebbről, a találmány tárgyát Rps-polipeptidet kódoló DNS-ek képezik, továbbá az ilyen DNS-t tartalmazó növényi sejtek és transzgenikus növények, lényegében tiszta Rps2-polipeptidek, valamint a találmány szerinti DNS-t tartalmazó vektorok. A találmány tárgyát képezik továbbá eljárások patogénekkal szembeni rezisztencia kialakítására növényekben, rezisztenciagén kimutatására növényi sejtben, Rps2-polipeptid előállítására és betegségrezisztencia-gén vagy részlete növényekből történő izolálására.

A találmány szerinti megoldás alkalmas növénypatogénekkal (például *Pseudomonas syringae* törzsekkel vagy más - avirulenciagént hordozó - patogénekkal) szemben rezisztens transzgenikus növények előállítására.



Képviselő:

A"

DANUBIA SZABADALMI ÉS VÉDJEGY IRODA Kft.

RPS2-gén és eljárás alkalmazására

A találmány tárgyát rekombináns növényi nukleinsavak és polipeptidek képezik, valamint eljárások azok - transzgenikus növényekben, patogénekkal szembeni rezisztencia kialakítása céljából történő - alkalmazására.

Közelebbről, a találmány tárgyát Rps-polipeptidet kódoló DNS-ek képezik, továbbá az ilyen DNS-t tartalmazó növényi sejtek és transzgenikus növények, lényegében tiszta Rps2-polipeptidek, valamint a találmány szerinti DNS-t tartalmazó vektorok. A találmány tárgyát képezik továbbá eljárások patogénekkal szembeni rezisztencia kialakítására növényekben, rezisztenciagén kimutatására növényi sejtben, Rps2-polipeptid előállítására és betegségrezisztencia-gén vagy részlete növényekből történő izolálására.

A találmány szerinti megoldás alkalmas növény-atogénekkal (például *Pseudomonas syringae* törzsekkel vagy más - avirulenciagént hordozó - patogénekkal) szemben rezisztens transzgenikus növények (elsősorban terménynövények, pl. paradicsom, szójabab, bab, kukorica, búza vagy rizs) előállítására.

A növények a patogének leküzdésére számos különböző védelmi stratégiát alkalmaznak. Az egyik védőreakció - az

úgynevezett hiperszenzitív reakció (HR) - a fertőzött szövet gyors, lokalizált elhalását foglalja magában. Számos gazda-patogén kölcsönhatás genetikai analízise egy - a gazdában hiperszenzitív reakciót kiváltó - avirulens patogénben lévő, adott avirulenciagén (avr) és a gazdában lévő, adott rezisztenciagén közötti gén-gén megfelelést mutatott ki.

A találmány tárgyát lényegében tiszta DNS (pl. genomi eredetű DNS, cDNS vagy szintetikus DNS) képezi, amely - alábbiakban meghatározott - Rps-polipeptidet kódol. A találmány tárgyát képezi továbbá egy vektor, egy sejt (pl. növényi sejt) és egy transzgenikus növény vagy annak magjai, melyek Rps-polipeptidet kódoló, lényegében tiszta DNS-t tartalmaznak.

A találmány előnyös megvalósítási módjai értelmében RPS-génként (5. azonosítószámú szekvencia) *Arabidopsis* nemzetségbe tartozó növény RPS2-génjét alkalmazzuk. A találmány egyéb előnyös megvalósítási módjai értelmében a sejt egy - transzgenikus növényi sejtből származó - transzformált növényi sejt. A találmány tárgyát képezi továbbá egy transzgenikus növény, amely Rps-polipeptidet kódoló transzgént tartalmaz, mely transzgén - avrRpt2-avirulenciagént (105. azonosítószámú szekvencia) expresszáló patogének vagy (az Rps-polipeptid által hasonlóan felismert) avirulenciaszignált expresszáló patogének okozta fertőzésre érzékeny növényi szövetben expresszálódik.

A találmány tárgyát képezi továbbá egy lényegében tiszta DNS, amely RPS2-gént (1. azonosítószámú szekvencia)

- avrRpt2-avirulenciagént (105. azonosítószámú szekvencia) expresszázó bakteriális patogének fertőzésére fogékony növényi szövetben - expresszáztatni képes promótert tartalmaz.

A találmány előnyös megvalósítási módjai szerint a DNS az RPS-gén természetes promóterét tartalmazza, továbbá, a transzkripció és transzláció szabályozó régiók előnyösen szintén az RPS-gén természetes régiói.

A találmány szerinti transzgenikus növények előnyösen fogékonyak egy - avirulenciagént [előnyösen az avrRpt2-avirulenciagént (105. azonosítószámú szekvencia)] expresszázó - patogén okozta fertőzésre. A találmány előnyös megvalósítási módjai szerint, transzgenikus növényként - nem kizárólagosan - *Arabidopsis*-t, paradicsomot, szójababot, babot, kukoricát, búzát vagy rizst alkalmazunk.

A találmány tárgyát képezi továbbá egy eljárás patogénnel szembeni rezisztencia kialakítására növényben, melynek során (i) előállítunk egy - Rps2-polipeptidet kódoló transzgént tartalmazó - transzgenikus növényi sejtet, amelyben a transzgén a transzgenikus növény genomjába van integrálva, és a növényi sejtben expresszáztatásra alkalmas módon helyezkedik el; és (ii) a transzgenikus növényi sejtből transzgenikus növényt nevelünk, amelyben expresszáldik az RPS2-transzgén.

Szintén a találmány tárgyát képezi egy eljárás rezisztenciagén kimutatására növényi sejtben, melynek során (i) az RPS2-gént (1. azonosítószámú szekvencia) vagy annak egy - 18 nukleinsavnál hosszabb - szakaszát a növényi sejt-

ből származó genomi eredetű DNS-készítménnyel reagáltatjuk, olyan hibridizációs feltételek mellett, amelyek lehetővé teszik az Rps2-poliipeptidet (2-5. azonosítószámú szekvenciák) kódoló - 2. ábrán bemutatott - DNS-szekvenciával körülbelül 50 %-os vagy nagyobb szekvencia-azonosságot mutató DNS-szekvenciák azonosítását.

A találmány tárgyát képezi továbbá egy eljárás Rps2-poliipeptid előállítására, melynek során (i) előállítunk egy - Rps2-poliipeptidet kódoló - DNS-sel transzformált sejtet, amely DNS a sejtben expresszáltatásra alkalmas módon helyezkedik el; (ii) a transzformált sejtet a DNS expresszáltatásához alkalmas feltételek mellett tenyésztjük; és (iii) izoláljuk az Rps2-poliipeptidet.

A találmány tárgyát képezi továbbá egy lényegében tiszta Rps2-poliipeptid. A poliipeptid előnyösen 50 aminosavnál hosszabb szekvenciát tartalmaz, amely lényegében azonos a 2. ábrán ("a" nyitott leolvasási keret) bemutatott, 50 aminosavnál hosszabb szekvenciával. A poliipeptid legelőnyösebben az *Arabidopsis thaliana* Rps2-poliipeptid (2-5. azonosítószámú szekvenciák).

Szintén a találmány tárgyát képezi egy eljárás - avrRpt2-avirulenciagént nem hordozó - patogének okozta fertőzéssel szembeni rezisztencia kialakítására transzgenikus növényben, melynek során (i) előállítunk egy ttranszgenikus növényi sejtet, amely Rps2-poliipeptidet kódoló transzgéneket és az avrRpt2-génterméket (106. azonosítószámú szekvencia) kódoló transzgént tartalmaz, mely transzgének a transzgenikus növény genomjába vannak integrálva, és a nö-

vényi sejtben expresszáltatásra alkalmas módon helyezkednek el, továbbá az avrRpt2-transzgén és - kívánt esetben - az RPS2-gén a gén(ek) szabályozott expressziójához alkalmas szabályozószekvenciák kontrollja alatt állnak; és (ii) a transzgenikus növényi sejtből transzgenikus növényt nevelünk, amelyben expresszálódik az RPS2- és avrRpt2-transzgén.

A találmány tárgyát képezi továbbá egy eljárás - avirulenciagént nem expresszáló - patogének okozta fertőzéssel szembeni rezisztencia kialakítására transzgenikus növényben, melynek során (i) előállítunk egy transzgenikus növényi sejtet, amelynek genomjába - az RPS2-gén konstitutív expresszióját biztosító promóter irányítása alatt álló - RPS2-gént tartalmazó transzgén van integrálva; és (ii) a transzgenikus növényi sejtből transzgenikus növényt nevelünk, amelyben az RPS2-transzgén konstitutív módon expresszálódik.

A találmány tárgyát képezi továbbá egy eljárás - avirulenciagént nem expresszáló - patogének okozta fertőzéssel szembeni, kontrollálható rezisztencia kialakítására transzgenikus növényben, melynek során (i) előállítunk egy transzgenikus növényi sejtet, amelynek genomjába - az RPS2-gén kontrollálható expresszióját biztosító promóter irányítása alatt álló - RPS2-gént tartalmazó transzgén van integrálva; és (ii) a transzgenikus növényi sejtből transzgenikus növényt nevelünk, amelyben az RPS2-transzgén kontrollálható módon expresszálódik. A találmány előnyös megvalósítási módjai szerint az RPS2-gént szövetspecifikus

vagy sejtspecifikus promóter alkalmazásával vagy olyan promóterrel expresszáltatjuk, amely külső szignál vagy reagens (például kémiai szignál vagy reagens) bevitelének hatására aktiválódik.

A "betegségrezisztencia-gén" kifejezésen olyan polipeptidet kódoló gént értünk, amely növényi sejtben vagy szövetben növényvédő hatású reakciót képes kiváltani. Egy RPS-gén olyan betegségrezisztencia-gén, amely körülbelül 50 %-os vagy nagyobb mértékű szekvencia-azonosságot mutat a 2. ábrán bemutatott RPS2-szekvenciával (1. azonosítószámú szekvencia) vagy annak egy szakaszával. Az RPS2-gén egy olyan betegségrezisztencia-gén, amely - az *Arabidopsis thaliana*-ból származó - Rps2 betegségrezisztencia-polipeptidet (2-5. azonosítószámú szekvenciák) kódolja.

A "polipeptid" kifejezés aminosavakból álló láncot jelent, függetlenül annak hosszúságától és a poszt-transzlációs módosításoktól (pl. glikoziláció vagy foszforiláció).

A "lényegében azonos" kifejezésen olyan polipeptidet vagy nukleinsavat értünk, amely legalább 50 %-os, előnyösen 85 %-os, még előnyösebben 90 %-os, legelőnyösebben 95 %-os homológiát mutat egy vonatkoztatási aminosav- vagy nukleinsav-szekvenciával. A polipeptidek esetében a vonatkoztatási szekvenciák legalább 16 aminosavat, előnyösen legalább 20 aminosavat, előnyösebben legalább 25 aminosavat, és legelőnyösebben 35 aminosavat tartalmaznak. A nukleinsavak esetében a vonatkoztatási szekvenciák általában legalább 50 nukleotidot, előnyösen legalább 60

nukleotidot, még előnyösebben legalább 75 nukleotidot, és legelőnyösebben 110 nukleotidot tartalmaznak.

A szekvencia-azonosságot rendszerint szekvencia-analizáló szoftver (pl. "Sequence Analysis Software Package"; Genetics Computer Group, University of Wisconsin Biotechnology Center, 1710 University Avenue, Madison WI 53705) alkalmazásával mérjük. Ez a szoftver a hasonló szekvenciákat a (különböző szubsztitúcióknak, delécióknak és más módosításoknak megfelelően) a homológia mértékének meghatározásával párosítja. A konzervatív szubsztitúciók rendszerint a következő csoportokon belül fordulnak elő: glicin, alanin; valin, izoleucin, leucin; aszparaginsav, glutaminsav, aszparagin, glutamin; szerint, treonin, lizin, arginin; és fenilalanin, tirozin.

A "lényegében tiszta polipeptid" kifejezés olyan Rps2-polipeptidre vonatkozik, amely természetesen előforduló, kiegészítő komponensektől el van választva. Egy polipeptidre rendszerint akkor mondjuk, hogy lényegében tiszta, ha legalább 60 tömeg%-os arányban mentes azoktól a proteinektől és természetesen előforduló szerves molekuláktól, amelyekkel a természetben asszociált. A készítmény előnyösen legalább 75 tömeg%, előnyösebben legalább 90 tömeg%, legelőnyösebben legalább 99 tömeg% arányban Rps2-polipeptidet tartalmaz. Lényegében tiszta Rps2-polipeptid például természetes forrásból (pl. növényi sejtből) végzett kivonással; Rps2-polipeptidet kódoló rekombináns nukleinsav expresszálasával; vagy kémiai szintézissel nyerhető ki vagy állítható elő. A polipeptid tisztaságát megfelelő eljárás-

sal, például, oszlopkromatográfiával, poliakrilamid-gélelektroforézissel, vagy HPLC-analízissel mérhetjük.

Egy protein lényegében mentes a természetesen asszociált komponenseitől, ha el van választva azoktól a szennyezésektől, amelyekkel természetes állapotában kapcsolódik. Ilyenformán, egy kémiai úton szintetizált vagy - a protein természetes származási sejtjétől eltérő - celluláris rendszerben előállított protein lényegében mentes azoktól a komponensektől, amelyekkel természetes állapotában asszociált. Ennek megfelelően, a lényegében tiszta polipeptid közé tartoznak az eukarióta organizmusokból származó, de *E. coli*-ban vagy más prokarióta gazdában szintetizált polipeptidok.

A "lényegében tiszta DNS" kifejezésen olyan DNS-t értünk, amely mentes azoktól a génektől, amelyek az organizmus (amelyből a találmány szerinti DNS származik) természetes genomjában a szóban forgó DNS-t szegélyezik. Ilyenformán, a kifejezés magában foglal például egy olyan rekombináns DNS-t, amely egy vektorba, önálló replikációra képes plazmidba vagy vírusba, vagy egy prokarióta vagy eukarióta organizmus genomi eredetű DNS-ébe van foglalva; vagy amely egyéb szekvenciáktól független, különálló molekulaként létezik (pl. polimeráz-láncreakcióval vagy restrikciós endonukleázos emésztéssel előállított cDNS, illetve genomi eredetű vagy cDNS-fragmens). A "lényegében tiszta DNS" kifejezés olyan rekombináns DNS-re is vonatkozik, amely egy másik polipeptid-szekvenciát kódoló hibrid gén részét képezi.

A "transzformált sejt" kifejezésen olyan sejtet értünk, amelybe (vagy amelynek ősébe) - rekombináns DNS-technikák alkalmazásával - Rps2-polipeptidet kódoló DNS-molekulát vittünk be.

Az " expresszáltatásra alkalmas módon helyezkedik el" kifejezésen azt értjük, hogy a DNS-molekula egy olyan DNS-szekvencia szomszédságában helyezkedik el, amely irányítja transzkripcióját és transzlációját (vagyis elősegíti, például, egy Rps2-polipeptid, egy rekombináns protein vagy egy RNS-molekula termelődését).

A "riportergén" kifejezésen olyan gént értünk, amelynek expressziója vizsgálható. Az ilyen gének közé tartozik - nem kizárólagosan - a β -glükuronidáz (GUS), a luciferáz, a klóramfenikol-transzaciláz (CAT) és a β -galaktozidáz génje.

A "promóter" kifejezésen a transzkripció irányításához elégséges, minimális méretű szekvenciát értünk. A találmány szerinti megoldásban alkalmazhatók olyan promóterelemek is, amelyek elégségesek ahhoz, hogy a promóterfüggő génexpressziót sejttípus-specifikussá, szövetspecifikussá vagy külső szignálokkal és reagensekkel indukálhatóvá tegyék. Az ilyen promóterelemek az eredeti gén 5'- vagy 3'-régióiban helyezkedhetnek el.

A "működőképesen kapcsolt" kifejezésen azt értjük, hogy egy gén és egy regulátorszekvencia (vagy regulátorszekvenciák) olyan módon kapcsolódnak, ami - a megfelelő molekulák (pl. transzkripciós aktivátorproteinek) regulátor-szekvenciá(k)hoz történő kötődése esetén - lehetővé te-

szi a génexpressziót.

A "növényi sejt" kifejezésen bármilyen - féligát-
eresztő membránhoz kapcsolt - önreprodukcióra képes, szín-
testet tartalmazó sejtet értünk. További szaporításuk érde-
kében az ilyen sejteknek sejtfalat is kell tartalmazniuk.
Ahogy a találmány leírásában használjuk, a növényi sejtek
közé - nem kizárólagosan - algák, kékoszatok,
magszuszpenzió-tenyészetek, embriók, merisztémarégiók, kal-
lusz-szövetek, levelek, gyökerek, hajtások, gametofiták,
sporofiták, pollenek és mikrospórák tartoznak.

A "transzgén" kifejezésen olyan DNS-darabot értünk,
amely mesterségesen egy sejtbe van inszertálva, és amely a
sejtből fejlődő organizmus genomjának részévé válik. Az
ilyen transzgének közé tartoznak a transzgenikus növény
szempontjából részben vagy teljesen heterológ (vagyis ide-
gen) gének, valamint az organizmus egy endogén génjével ho-
mológ gént reprezentáló gének.

A "transzgenikus" kifejezésen olyan sejtet értünk,
amely mesterségesen egy sejtbe inszertált - és a sejtből
fejlődő organizmus genomjának részévé váló - DNS-
szekvenciát tartalmaz. Ahogy itt használjuk, a
transzgenikus organizmusok rendszerint transzgenikus növé-
nyek, melyekben a DNS-t (a transzgént) mesterségesen a
sejtmag vagy a színtest genomjába vittük be.

A "patogén" kifejezésen olyan organizmust értünk,
amely egy életképes növényi szövet sejtjeit megfertőzve a
növényi szövetben betegséget okoz.

A találmány szerinti megoldás egyéb jellemzőit és

előnyeit a találmány előnyös megvalósítási módjai és a szabadalmi igénypontok leírásán keresztül ismertetjük.

A következőkben az ábrák rövid leírását adjuk meg.

Az 1. ábrán - az RPS2-lokusz klónozását eredményező - fizikai és RFLP-analízis sematikus ábrázolását mutatjuk be.

Az 1/A ábrán az *Arabidopsis thaliana* IV. kromoszómája releváns részének - Lister és Dean [Plant J. 4, 745 (1993)] által közzétett térképből átvett - genetikai és RFLP-térképének egymás alá rendezését ("alignment") bemutató diagram látható.

Az 1/B ábrán az RPS2-lokusz körül lévő, releváns "YAC"-ok egymás alá rendezését bemutató diagram látható. Az "YUP16G5", "YUP18G9" és "YUP11F11" jelzésű YAC-konstrukciókat J. Ecker (University of Pennsylvania) bocsátotta rendelkezésünkre. Az "EW3H7", "EW11D4", "EW11E4" és "EW9C3" jelzésű YAC-konstrukciókat E. Ward-tól (Ciba-Geigy, Inc.) kaptuk.

Az 1/C ábrán az RPS2-lokusz körül elhelyezkedő kozmidklónok egymás alá rendezését bemutató diagram látható. A "H" jelzésű kozmidklónok az EW3H7-YAC-klón származékai, míg az "E" jelzésűek az EW11E4-YAC-klón származékai. A függőleges nyilak a "La-er" ökotípusok és az "rps2-101N" növény közötti RFLP-markerek relatív elhelyezkedését mutatják. Az RFLP-markereket - 50-nél több különböző restrikciós enzimes emésztményt tartalmazó - "Southern-blot" lenyomat szkrínelésével azonosítottuk, amihez próbaként a megfelelő, teljes kozmidklónokat (vagy azok szakaszait) alkalmaztuk.

Az ábrán feltüntetett kozmidklónokat J. Giraudat (C.N.R.S., Gif-sur-Yvette, Franciaország) bocsátotta rendelkezésünkre.

Az 1/D és 1/E ábrán az "E4-4", illetve "E4-6" kozmid EcoRI restrikciós rendonukleázos helyeinek térképét mutatjuk be. Az RPS2-lokuszt körülvevő rekombinációs töréspontok a 4,5 kb-os és 7,5 kb-os EcoRI restrikciós endonukleázos fragmenseken belül helyezkednek el.

Az 1/F ábrán a "poliA⁺-RNS-blot" analízissel azonosított RNS-transzkriptumokat kódoló gének hozzávetőleges elhelyezkedését bemutató diagram látható. A transzkriptumok méretét - minden egyes transzkriptum alatt - kilobázispár értékben adjuk meg.

A 2. ábrán az RPS2-génlokuszt (1. azonosítószámú szekvencia) tartalmazó cDNS-4 teljes nukleotid-szekvenciáját mutatjuk be. A három lehetséges leolvasási keretet a nukleotid-szekvencia alatt tüntetjük fel. Az "a" leolvasási keretnek megfelelő, leszármaztatott aminosav-szekvencia (2-5. azonosítószámú szekvenciák) 909 aminosavat tartalmaz. Az ATG startkodon által kódolt metionint (az "a" leolvasási keretben) bekarikáztuk. Az ATG startkodon adenozinja (A) a bemutatott nukleotid-szekvencia 31. nukleotidja.

A 3. ábrán az avrRpt2-gént (105. azonosítószámú szekvencia) és leszármaztatott aminosav-szekvenciáját (106. azonosítószámú szekvencia) mutatjuk be. Az ábrán egy potenciális riboszómakötő-helyet aláhúzással jelöltünk. A nyitott leolvasási keret 3'-végénél vízszintes nyilakkal egy fordított ismétlődést jelzünk. A leszármaztatott aminosav-

szekvenciát a nyitott leolvasási keret nukleotid-szekvenciája alatt tüntettük fel.

A 4. ábrán a komplementációs analízis sematikus összefoglalása látható. A komplementációs analízis tette lehetővé annak funkcionális igazolását, hogy a p4104-en vagy P4115-ön (amely a cDNS-4-et tartalmazza) lévő DNS RPS2-betegségrezisztenciát biztosít olyan *Arabidopsis thaliana* növényeknek, amelyek korábban nem mutattak RPS2-betegségrezisztencia-aktivitást. A "genom" vonalon látható függőleges jelek az EcoRI restrikciós felismerési helyeket, a vonal feletti számok pedig az emésztéssel kapott DNS-fragmensek méretét (kb-ban) jelzik (ld. az 1/E ábrán is). A "cDNS-ek" feliratú vonalak az RNS-transzkriptumokat kódoló szekvenciák hozzávetőleges elhelyezkedését mutatják (ld. az 1/F ábrán is); a nyilak a 4., 5. és 6. cDNS transzkripciójának irányát jelzik. A funkcionális komplementációs kísérletekhez rps2-201C/rps2-201C növényeket a feltüntetett *Arabidopsis thaliana* genomi eredetű DNS-szekvenciákkal transzformáltunk; ezeket a szekvenciákat a megadott plazmidok (a pSLJ4541 biner kozmidvektor származékai) tartalmazták. A plazmidokat *Agrobacterium*-közvetítette transzformációs eljárások alkalmazásával vittük be a növényekbe. A kapott transzformánsok - avrRpt2-gént expresszáló *P. syringae*-vel végzett oltást követően megfigyelt - betegségrezisztenciáját "Sus." (érzékeny, nincs rezisztenciareakció) és "Res." (betegséggel szemben rezisztens) rövidítésekkel jelöljük.

A patogénekkal szembeni rezisztencia genetikai alapja

A következőkben a növényi gazdák és a mikrobiális patogének közötti kölcsönhatásokat tekintjük át. Egy növény potenciális patogén által történő megtámadásának két következménye lehet: a patogén sikeresen szaporodik a gazdában, és ezáltal betegségeket okoz, vagy szaporodását a növény védekezőrendszere meggátolja. Néhány növény-patogén kölcsönhatás esetében az aktív védekezési reakció látható jele az úgynevezett hiperszenzitív reakció vagy "HR", amely a fertőzés helye közelében lévő sejtek gyors elhalását foglalja magában, és ezeken a területeken száraz, barna sérülések alakulhatnak ki. Egy adott gazdában hiperszenzitív reakciót kiváltó patogéneket (az adott gazdára vonatkozóan) avirulensnek, a gazdát pedig (a patogénre) rezisztensnek, az ilyen növény-gazda kölcsönhatást pedig inkompatibilisnek nevezzük. Ezzel szemben, az adott gazdában szaporodó és betegséget okozó törzseket virulensnek, a gazdát érzékenynek vagy fogékonynak, az ilyen növény-patogén kölcsönhatást pedig kompatibilisnek nevezzük.

Olyan esetekben, amikor egy adott patogén gomba vagy baktérium törzseinek sorozatai (rasszai) egy adott gazdafaj tenyésztett változatainak sorozatára nézve avirulensek, a növény-patogén felismerés genetikai alapjának megvilágítására sikeresen alkalmazták a "klasszikus" genetikai analízist. Sok ilyen esetben mind a gazda, mind a patogén genetikai vizsgálata azt mutatta, hogy sok avirulens gomba- és baktériumtörzs annyiban tér el a virulens törzstől, hogy egy vagy több avirulenciagént (avr)

tartalmaz, melyek megfelelő "rezisztencia"-génjei megtalálhatók a gazdában. Az avirulenciagén-rezisztenciagén megfelelést "gén-gén megfelelés" modellnek nevezik [Crute és mtsai.: "Mechanisms of Resistance to Plant Disease", szerk.: R.S.S. Fraser, 197. old. (1985); Ellingboe: Annu. Rev. Phytopathol. 19, 125 (1981); Flor: Annu. Rev. Phytopathol. 9, 275 (1971); Keen és Staskawicz: Annu. Rev. Microbiol. 42, (1988); és Keen és mtsai.: "Application of Biotechnology to Plant Pathogen Control" szerk.: I. Chet, John Wiley and Sons, 65. old. (1993)]. E modell egyik egyszerű formája értelmében a növényi rezisztenciagének az avr-gének által képzett molekuláris szignálokra (jelekre) specifikus receptorokat kódolnak. A szignál-transzdukciós reakcióút(ak) a jelet olyan célgének csoportjához juttatják, melyek hiperszenzitív reakciót vagy más védelmi reakciókat indukálnak [Gabriel és Rolfe: Annu. Rev. Phytopathol. 28, 365 (1990)]. E modell ellenére az avr-rezisztenciagén interakciójának molekuláris alapja továbbra sem ismert.

A gén-gén megfelelés elméletből levonható egyik alapvető következtetést - molekuláris szinten - különböző bakteriális avr-gének klónozásával meggyőzően igazolták [Innes és mtsai.: J. Bacteriol. 175, 4859 (1993); Dong és mtsai.: Plant Cell 3, 61 (1991); Whalen és mtsai.: Plant Cell 3, 49 (1991); Staskawicz és mtsai.: J. Bacteriol. 169, 5789 (1987); Gabriel és mtsai.: P.N.A.S. USA 83, 6415 (1987); Keen és Staskawicz: Annu. Rev. Microbiol. 42, (1988); Kobayashi és mtsai.: Mol. Plant-Microbe Interact.

3, 94 (1990)]. Kimutatták, hogy e klónozott avirulenciagének közül sok a közös eredetű gazdanövények egyedi rezisztenciagénjeinek felel meg, és az avirulenciagének - egyébként virulens törzsbe juttatva - avirulens fenotípust eredményeznek. Az avrRpt2-lokuszt *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*-ból izolálták. Az avrRpt2-gén nukleotid-szekvenciáját (105. azonosítószámú szekvencia), és az abból leszámaztatott aminosav-szekvenciát (6. azonosítószámú szekvencia) a 3. ábrán mutatjuk be.

Az ismert szignálok (amelyekre patogének okozta fertőzéskor a növények reagálnak) példái közé tartoznak az *Erwinia*-ból és *Pseudomonas*-ból származó harpinok [Wei és mtsai.: *Science* 257, 85 (1992), illetve He és mtsai.: *Cell* 73, 1255 (1993)]; a *Cladosporium*-ból származó avr4-peptid [Joosten és mtsai.: *Nature* 367, 384 (1994)] és avr9-peptid [van den Ackerveken és mtsai.: *Plant. J.* 2, 359 (1992)]; a *Pseudomonas*-ból származó PopA1 [Arlat és mtsai.: *EMBO J.* 13, 543 (1994)]; az avrD-eredetű lipopoliszacharid [Midland és mtsai.: *J. Org. Chem.* 58, 2940 (1993)]; és a *Rhynchosporium*-ból származó NIP1 [Hahn és mtsai.: *Mol. Plant-Microbe Interact.* 6, 745 (1993)].

A specifikus, avr-eredetű szignáloknak megfelelő növényi rezisztenciagénekről sokkal kevesebbet tudunk, mint az avr-génekről. A növényi RPS2-rezisztenciagén (az "rps" jelentése: rezisztencia *Pseudomonas syringae*-vel szemben) a növényi betegségrezisztencia-gének egy új, korábban azonosítatlan csoportjának első génje, amely egy specifikus avr-génnek (avrRpt2) felel meg. Az RPS2-gén klónozásához vezető

munkák egy részének leírását ld. Yu és mtsai.: *Molecular Plant-Microbe Interactions* 6, 434 (1993); és Kunkel és mtsai.: *Plant Cell* 5, 865 (1993).

Paradicsomból (*Lycopersicon esculentum*) - a "Pto" elnevezésű növényi betegségrezisztencia-génnek specifikusan megfelelő, látszólag nem rokon - avirulenciagént izoláltak [Martin és mtsai.: *Science* 262, 1432 (1993)]. A Pto-gént expresszáló paradicsomnövények rezisztensek a *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* - avrPto-avirulenciagént expresszáló - törzsei okozta fertőzésekkel szemben. A Pto-gén DNS-szekvenciájából leszármaztatható aminosav-szekvencia nagymértékű hasonlóságot mutat a szerin-treonin protein-kinázokkal. Az RPS2-génnel kapcsolatban semmilyen - paradicsom-Pto-lokusszal vagy más ismert protein-kinázzal mutatott - hasonlóságot nem tapasztaltunk, ami arra utal, hogy az RPS2-gén a növényi betegségrezisztencia-gének új csoportjának képviselője.

Beszámoltak a *Zea mays*-ból (kukorica) származó - Hm1 néven ismert - rassz-specifikus rezisztenciagén izolálásáról [Johal és Briggs: *Science* 258, 985 (1992)]. A Hm1-gén rezisztenciát biztosít a *Cohliobolus carbonum* nevű patogén gomba specifikus rasszaival szemben. Ez a gén a gombatoxin lebontásának szabályozása révén alakít ki rezisztenciát; ez a stratégia alapvetően eltér az RPS2-avrRpt2 avirulenciagén-specifikus rezisztencia-mechanizmustól.

A találmány szerinti klónozott RPS2-gén specifikus patogénekkal szemben rezisztens növények előállítására al-

kalmazható, továbbá felhasználható a - klasszikus növényne-
mesítési eljárások alkalmazásával fajok közötti öröklődésre
képtelen [Keen és mtsai.: "Application of Biotechnology to
Plant Pathogen Control" szerk.: I. Chet, John Wiley and
Sons, 65. old. (1993)] - betegségrezisztencia-gének öröklő-
désének biztosítására. A következőkben egy *Arabidopsis*
thaliana RPS2-lokusz, az RPS2 genomi eredetű DNS, és az
RPS2-cDNS klónozását és karakterizálását írjuk le. Az
avrRpt2- és RPS2-gént, valamint az rps-101C, rps2-102C és
rps2-201C (melyet rps2-201-nek nevezünk) mutánsok leírását
ld. Dong és mtsai.: Plant Cell 3, 61 (1991); Yu és mtsai.:
Molecular Plant-Microbe Interactions 6, 434 (1993); Kunkel
és mtsai.: Plant Cell 5, 865 (1993); Whalen és mtsai.:
Plant Cell 3, 49 (1991); és Innes és mtsai.: J. Bacteriol.
175, 4859 (1993)] Izoláltak egy rps2-101N elnevezésű mu-
tánst is. A következőkben az RPS2-gén azonosítását és
klónozását ismertetjük.

1. példa

Az RPS2-gén kiküszöböli az avrRpt2-gént hordozó patogénekre
mutatott érzékenységet

A patogénben lévő avirulenciagén és a gazdában lévő
rezisztenciagén közötti genetikai rokonság kimutatása érde-
kében először egy avirulenciagént kellett izolálni. Az
Arabidopsis nemzetséggel rokon terménynövények ismert
patogénjeit képező *Pseudomonas*-törzsek szkrínelésével két
igen virulens törzset - a *P. syringae* pv. *maculicola* (Psm)
ES4326-ot és a *P. syringae* pv. *tomato* (Pst) DC3000-et -,

valamint egy avirulens törzset - a Pst MM1065-öt - azonosítottunk. Ezeket a növényeket vad típusú *Arabidopsis thaliana* növényekben mutatott növekedési képességeikre vizsgáltuk [Dong és mtsai.: Plant Cell 3, 61 (1991); Whalen és mtsai.: Plant Cell 3, 49 (1991) (az MM1065-törzset Whalen és mtsai. JL1065-nek nevezik)]. A Psm-ES4326- és a Pst-DC3000-törzs - *Arabidopsis thaliana* levelekben - számának 10^4 -szeresére képes szaporodni, és két nap leforgása alatt megjelenő, vizenyős sebeket okoz. A Pst-MM1065-törzs *Arabidopsis thaliana* levelekben legfeljebb 10-szeres mennyiségben szaporodik, és 48 óra elteltével enyhén elsárgult, száraz sérüléseket okoz. A betegségrezisztencia a patogén nagymértékben gátolt szaporodásával függ össze.

A Pst-MM1065-törzs avirulenciagénjét (avr) hagyományos eljárással klónoztuk [ld. Dong és mtsai.: Plant Cell 3, 61 (1991); Whalen és mtsai.: Plant Cell 3, 49 (1991); és Innes és mtsai.: J. Bacteriol. 175, 4859 (1993)]. Az e törzsből izolált avirulenciagént avrRpt2-nek neveztük el. A Psm-ES4326- vagy a Pst-DC3000-törzs normális esetben 48 óra elteltével váltja ki a betegség tüneteinek megjelenését. Ezzel szemben, a Psm-ES4326/avrRpt2- vagy a Pst-CD3000/avrRpt2-törzs a vad típusú *Arabidopsis thaliana* levelekben 16 órán belül látható, szövetelhalásos hiperszenzitív reakciót vált ki, és 50-szer kisebb mennyiségben szaporodik, mint a psm-ES4326- vagy a Pst-DC3000-törzs [ld. Dong és mtsai.: Plant Cell 3, 61 (1991); Whalen és mtsai.: Plant Cell 3, 49 (1991)]. Ennek megfelelően, a vad típusú *Arabidopsis*-ban a betegséggel szembeni rezisz-

tenciához - részben - a patogénben jelenlévő avirulenciagén vagy az avirulenciagén által képzett szignál szükséges.

Korábban leírtuk négy betegségrezisztens *Arabidopsis thaliana* mutáns izolálását, melynek során a gazdanövény - avrRpt2-gént hordozó patogénekkal szembeni betegségrezisztencia kialakításához szükséges - génjének kereséséhez klónozott avrRpt2-gén alkalmaztunk [Yu és mtsai.: Molecular Plant-Microbe Interactions 6, 434 (1993); és Kunkel és mtsai.: Plant Cell 5, 865 (1993)]. A négy *Arabidopsis thaliana* mutánsbam az Psm-ES4326/avrRpt2- vagy Pst-DC3000/avrRpt2-törzzsel végzett fertőzés hatására nem fejlődött ki hiperszenzitív reakció, ami a betegségrezisztens képességüket elvesztett növények esetében várható volt. E mutánsok egyikét úgy kaptuk, hogy hozzávetőleg 3000 - etil-metán-szulfonsavas (EMS) mutagenézissel létrehozott - 5-6 hetes, "Columbia" (Col-0) ökotípusú M₂ növényeket manuálisan Psm-ES4326/avrRpt2-törzzsel fertőztünk, és egyetlen mutánst (rps2-101C; rezisztencia *Pseudomonas syringae*-vel szemben) azonosítottunk [Yu és mtsai.: Molecular Plant-Microbe Interactions 6, 434 (1993)].

A második mutánst hiperszenzitív reakciót kiváltani képtelen mutánsok specifikus felszaporítási eljárásának [Yu és mtsai.: Molecular Plant-Microbe Interactions 6, 434 (1993)] alkalmazásával izoláltuk. Amikor a petricsészében növesztett, 10 napos *Arabidopsis thaliana* csíranövényeket *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola* (Psp) NPS3121-törzzsel, illetve Psp-NPS3121/avrRpt2-törzzsel fertőzzük, a

Psp-NPS3121-törzzsel fertőzött növények kb. 90%-a életben marad, míg a Psp-NPS3121-avrRpt2-törzzsel fertőzött növények hozzávetőleg 90-95 %-a elpusztul. Egy kisméretű, ép *Arabidopsis thaliana* csíranövény Psp-NPS3121/avrRpt2-törzzsel végzett vákuumos fertőzése szisztémás hiperszenzitív reakciót vált ki, amely rendszerint elpusztítja a növényt. Ezzel szemben, a Psp-NPS3121-törzzsel fertőzött csíranövények életben maradnak, mivel a Psp-NPS3121-törzs gyenge patogénje az *Arabidopsis thaliana*-nak. A második betegségrezisztens mutánst izolálása során 4000 - etilmetán-szulfonsavval (EMS) mutagenizált - "Columbia" M₂ csíranövényeket Psp-NPS3121/avrRpt2-törzzsel fertőztünk. A fertőzés után 200 csíranövény maradt életben, melyeket talajba ültettünk, és érésük után manuálisan újra megfertőztük őket. E 200 életben maradt növény közül - a Psm-ES4326/avrRpt2-törzzsel végzett kézi fertőzés után - egy növény nem adott hiperszenzitív reakciót. Ezt a mutánst rps2-102C-nek neveztük el [Yu és mtsai. (1993), ld. fentebb].

A harmadik, rps2-201C nevű mutánst hozzávetőleg 7500 - *Arabidopsis thaliana* "Col-0" ökotípusba tartozó - diepoxi-butánnal mutagenizált [Kunkel és mtsai. (1993), ld. fentebb] - M₂ növény átvizsgálásával izoláltuk. A növények megfertőzése céljából a teljes levélrosettákat - Pst-DC3000/avrRpt2-baktériumot és "Silwet L-77" felületaktív anyagot tartalmazó - oldatba merítettük [Whalen és mtsai. (1991), ld. fentebb], majd a növényeket 3-4 napig szabályozott környezeti feltételeket biztosító nevelőkamrában

inkubáltuk, és vizuálisan vizsgáltuk a betegség tüneteinek kifejlődését. Ez az átvizsgálás négy mutáns vonalat eredményezett, melyek az rps2-201C-, rps2-202C-, rps2-203C- és rps2-204C-allélt hordozták. Az rps2-201C-allélra homozigóta növények további vizsgálat elsődleges tárgyát képezték [Kunkel és mtsai. (1993), ld. fentebb; valamint a jelen táblamány leírása].

A negyedik rps2-mutáns (rps2-101N) izolálását még nem publikáltuk. Ez a negyedik mutáns vagy mutáns, vagy érzékeny *Arabidopsis* ökotípus. Az *Arabidopsis* "Nossen" ökotípus magvait gammasugárzással kezeltük, majd lapos edényben sűrűn elvetettük, és a magvak nylon hálón keresztül kicsíráztak és csíranövényekké fejlődtek. Amikor a növények 5-6 hetesek voltak, az edényeket megfordítottuk, és a növényeket részlegesen - Psm-ES4326/avrRpt2-baktérium tenyészetét tartalmazó - tálcába merítettük, majd a baktériumokat - a növényeket vákuumos szárítóedénybe helyezve - bejuttattuk a növényekbe. Az így megfertőzött növények 24 órán belül hiperszenzitív reakciót mutatnak. Ezzel az eljárással hozzávetőleg 40000 növényt vizsgáltunk át, és egy érzékeny növényt azonosítottunk. E növény későbbi RFLP-analízise azt mutatta, hogy nem lehetett "Nossen" mutáns, hanem inkább egy másik - Psm-ES4326/avrRpt2-baktériumra érzékeny - *Arabidopsis* ökotípus. Ezt a növényt "rps2-101N"-nek nevezzük. Az rps2-101C, rps2-102C, rps2-201C és rps2-101N izolált mutánsokat együttesen "rps2-mutánsok" néven említjük.

2. példa

Az rps2-mutánsok nem reagálnak specifikusan a klónozott avrRpt2-avirulenciagénre

Az avrRpt2-avirulenciagént hordozó patogénekkal szembeni rezisztencia kialakításához specifikusan RPS2-géntermékre van szükség. Az Prs2-poliipeptidben - a poliipeptid működését gátló vagy csökkentő - mutáció jelenléte a patogén által okozott fertőzés hatására kialakuló hiperszenzitív reakció hiánya révén észlelhető. Az rps2-mutánsok - Psm-ES4326/avrRpt2-, Pst-DC3000/avrRpt2- vagy Psp-NPS3121/avrRpt2-baktériummal megfertőzve - betegsége utaló tüneteket vagy nullreakciót mutattak. Hiperszenzitív reakciót specifikusan egyik baktérium sem váltott ki, ami arra utal, hogy ezek a növények érzékenyek voltak, és - a patogénben jelenlévő avrRpt2-gén jelenlétének ellenére - elvesztették a patogénnel szembeni rezisztenciájukat.

Az rps2-mutáns növények leveleiben a patogének szaporodása - avrRpt2-gén jelenlétében és hiányában - hasonló volt. Az rps2-mutánsokban összehasonlítottuk a Psm-ES4326 és a Psm-ES4326/avrRpt2 szaporodását, és megállapítottuk, hogy mindkettő egyformán jól szaporodik, mégpedig ugyanolyan mértékben, mint ahogy a Psm-ES4326 szaporodik a vad típusú *Arabidopsis* leveleiben. A Pst-DC3000 és Pst-DC3000/avrRpt2 - rps2-mutánsokban történő - növekedésével kapcsolatban hasonló eredményeket kaptunk.

A más avr-géneket hordozó *Pseudomonas* patogénekekkel (Psm-ES4326/avrB, Pst-DC3000/avrB, Psm-ES4326/avrRpm1 és Pst-DC3000/avrRpm1) fertőzött rps2-mutánsok hiperszenzitív

reakciókat mutattak. Az rps2-mutánsok avrRpt2-géntől eltérő avr-gén ellen hiperszenzitív reakciót kialakító képessége azt jelzi, hogy - az avrRpt2-génnel végzett szelekcióval izolált - rps2-mutánsok specifikusak az avrRpt2-génre.

3. példa

Az RPS2-gén térképezése és klónozása

Az rps2-101C-, rps2-102C-, rps2-201C- és rps2-101N-mutánsok genetikai analízise azt mutatta, hogy génjeik olyan génnek felelnek meg, amelyek egyetlen mendeli lokusz esetében elvárt módon szegregálódnak, és mind a négy gén nagy valószínűséggel allélikus volt. A négy rps2-mutánst - polimeráz-láncreakción alapuló markerek alkalmazásával - standard RFLP térképezési eljárással a IV. kromoszóma aljához térképeztük [Yu és mtsai. (1993), ld. fentebb; Kunkel és mtsai. (1993), ld. fentebb; Mindrinós, M. (nem publikált forrás)]. A szegregációs analízis azt mutatta, hogy az rps2-101C- és rps2-102C-mutáció szorosan kapcsolódik a "PG11" PCR-markerhez, míg az "M600" RFLP-markert az rps2-201C-mutáció kromoszómán belüli elhelyezkedésének meghatározására alkalmaztuk (1/A ábra) [Yu és mtsai. (1993), ld. fentebb; Kunkel és mtsai. (1993), ld. fentebb]. Az RPS2-gént később a PG11 centromer oldalához térképeztük.

A heterozigóta RPS2/rps2 növények védelmi reakciójának intenzitása a vad típusú növények és a homozigóta rps2/rps2 mutáns növények reakciójának intenzitása közé esik [Yu és mtsai. (1993), ld. fentebb; Kunkel és mtsai. (1993), ld. fentebb]. A heterozigóta növények a Psm-

ES4326/avrRpt2- vagy a Pst-DC3000/avrRpt2-baktérium fertőzésének hatására hiperszenzitív reakciót mutattak, azonban ez a reakció később jelent meg, mint a vad típusú növények esetében, és nagyobb minimális fertőzőési baktériummennyiséget kívánt [Yu és mtsai. (1993), ld. fentebb; Kunkel és mtsai. (1993), ld. fentebb].

4. példa

Az RPS2-gén nagy felbontású térképezése és az RPS2-cDNS izolálása

Az RPS2-gén térképen alapuló klónozásának végrehajtása érdekében az rps2-101N/rps2-101N mutánst Landsberg erecta RPS2/RPS2 mutánssal kereszteztük. Az F_1 -generáció növényeit önbeporzással hagytuk megtermékenyülni, majd 165 F_2 növény önmegtermékenyítésével F_3 -családokat hoztunk létre. A standard RFLP-térképezési eljárás eredménye azt mutatta, hogy az rps2-101N mutáció a PG11 RFLP-marker centromer-oldalán helyezkedik el. A részletesebb térképi elhelyezkedés megismerése érdekében az rps2-101N/rps2-101N mutánst - "cer2" és "ap2" recesszív mutációt tartalmazó - Landsberg erecta törzzsel kereszteztük. A cera és ap2 közötti genetikai távolság hozzávetőleg 15 cM, és az rps2-lokuszt e szakaszon belül helyezkedik el. A CER2/ap2 vagy cer2/AP2 genotípusú F_2 növényeket összegyűjtöttük, önbeporzással megtermékenyítettük, és az egyes F_2 növényekből származó F_3 növények közül legalább húszat Psm-ES4326/avrRpt2-baktériummal fertőztünk, és RPS2-génre nézve értékeltünk. Az egyes F_2 növényekből származó F_3 növények

közül legalább húszból DNS-t is készítettünk. A CER2/ap2 és cer2/AP2 rekombinánsokat "kromoszómasétáltatás" ("chromosome walk") vizsgálatnak vetettük alá (ld. 1. ábra).

Az 1. ábrán látható, hogy az RPS2-gén az "E4-4" és "E4-6" kozmidklónok által átívelt 28-35 kb-os régióban helyezkedik el. Ez a régió legalább hat - detektálható transzkriptumot termelő - gént tartalmaz. Az rps2-mutánsokban - a transzkriptumok méretében és expressziós szintjében - ("RNS-blot" analízis alapján) nem találtunk jelentős különbségeket. Izoláltuk valamennyi transzkriptum cDNS-klónjait, és ezek közül ötöt megszekvenáltunk. Ahogy fentebb említettük, e transzkriptumok egyikéről (a cDNS-4-ről) kimutattuk, hogy az RPS2-lokusznak felel meg. Három független cDNS-klónt (cDNS-4-4, cDNS-4-5 és cDNS-4-11) kaptunk, melyek a "Columbia" ökotípusba tartozó, vad típusú növényekből származó RPS2-nek felelnek meg. Az RPS2-transzkriptumok látszólagos mérete - "RNS-blot" analízis alapján meghatározva - 3,8 kb és 3,1 kb volt.

Egy másik kísérletben - az RPS2 térképen alapuló izolálásának alkalmazásával - egy negyedik, független cDNS-4-klónt (cDNS-4-2453) kaptunk. Olyan mesterséges élesztő-kromoszóma (YAC) klónokat azonosítottunk, amelyek a "Col-0" ökotípusba tartozó *Arabidopsis thaliana* - RPS2-régióban hozzávetőleg 900 kb-t átívelő - M600-régiójából származó genomi eredetű DNS-ének egymással határos, átfedő inszertjeit hordozzák. Az *Arabidopsis* YAC-könyvtárakat J. Eckertől és E. Wardtól (ld. fentebb), valamint E. Grilltől

[Grill és Somerville: Mol. Gen. Genet. 226, 484 (1991)] kaptuk. A "H" és "E" jelzésű kozmidok a YAC-inszertekből származtak, és ezeket az RPS2 izolálására alkalmaztuk (ld. 1. ábra).

Az RPS2 genetikai és fizikai elhelyezkedését még pontosabban - fizikailag térképezett - RFLP, RAPD (random amplifikált polimorf DNS) és CAPS (hasított, amplifikált polimorf szekvencia) markerek alkalmazásával határoztuk meg. A genetikai térképezéshez RPS2/RPS2 ("No-O" vad típus) és rps2-201/rps2-201 ("Col-O" háttér) genotípusú növények keresztezéséből származó, szegregáló populációkat alkalmaztunk. Az RPS2-lokuszt "17B7LE", "OG11", "M600" és más markerek alkalmazásával térképeztük. A nagyfelbontású térképezéshez - YAC- és kozmidklónokból származó "inszertvég"-fragmensek alkalmazásával - szorosan kapcsolt RFLP-markerek sorozatát állítottuk elő (1. ábra) [Kunkel és mtsai. (1993), ld. fentebb; Konieczny és Ausubel: Plant J. 4, 403 (1993); Chang és mtsai.: PNAS USA 85, 6856 (1988)]. Az "E4-4" és "E4-6" kozmidklónokat ezután az e régióból származó, expresszált transzkriptumok (cDNS-4, -5, -6, -7 és -8; ld. 1/F ábra) azonosítására alkalmaztuk (beleértve a cDNS-4-2453-klónt is).

5. példa

Az RPS2 DNS-szekvencia-analízise

A vad típusú "Col-O" növényekből, valamint a mutáns rps2-101C, rps2-102C, rps2-201C és rps2-101N növényekből származó cDNS-4 DNS-szekvencia-analízise azt mutatta, hogy

a cDNS-4 az RPS2-nek felel meg. Az rps2-101C, rps2-102C és rps2-201C DNS-szekvencia-analízisével eltéréseket mutattunk ki a vad típusú szekvenciától (ld. 1. táblázat). Az 1. táblázatban a nukleotidok számozása az első metionint kódoló "ATG" startkodonnál kezdődik, amelyben az adenozin az 1. nukleotid. A mutáns rps2-102C-nek megfelelő cDNS-4 DNS-szekvencia-analízise azt mutatta, hogy a cDNS-4 a 476. aminosavnál tér el a vad típusú szekvenciától. Az rps2-101N-mutánsból származó cDNS-4-nek megfelelő cDNS DNS-szekvencia-analízise azt mutatta, hogy az 581. aminosavnál (amely az RPS2- leolvasási keretének eltolódását okozó, leucinban gazdag ismétlődő régió belül található) 10 bp-os inszerciót tartalmaz. Az rps2-101C-mutáns olyan mutációt tartalmaz, amely láncterminációs kodon kialakulását eredményezi. Az rps2-201C mutáns allél DNS-szekvenciája olyan mutációt hordoz, amely az LRR-régió egy szegmensén belül (amely hasonlít a "hélix-hurok-hélix" motívumhoz) egy aminosav megváltozását eredményezi, még jobban alátámasztva a lokusz RPS2-gén elnevezését. A DNS- és aminosav-szekvenciákat a 2. ábrán mutatjuk be (1. azonosítószámú szekvencia, illetve 2-5. azonosítószámú szekvenciák).

1. táblázat

Mutáns	Vad típus	Mutáció helye	Változás
rps2-101C	703 TGA 705	704	TAA stopkodon
rps2-101N	1741 GTG 1743	1741	GTGGAGTTGTATG inszerciója
rps2-102C 476	1426 AGA 1428 arg	1427	AAA (lys)
rps2-201C	2002 ACC 2004 thr	2002	CCC (pro)

A - vad típusú "Col-O" növényekből származó RPS2-nek megfelelő - cDNS-4 DNS-szekvencia-analízisével (két stopkodon között) 2751 bp távolságot átívelő nyitott leolvasási keretet mutattunk ki. E leolvasási keret első metionint kódoló kodonja és a 3'-stopkodon között 2727 bp található, ami 909 aminosavas polipeptidnek felel meg (ld. 2. ábra, "a" nyitott leolvasási keret). Az aminosav-szekvencia relatív molekulatömege 104,460 D, izoelektromos pontja (pI) pedig 6,51.

Az RPS2-gén a betegségrezisztencia-gének egy új csoportjába tartozik. Az Rps2-polipeptid szerkezete nem emlékeztet az - eddig egyetlen klónozott és publikált - avirulenciagén-specifikus növényi betegségrezisztencia-gén (Pto) - protein-kináz-domént tartalmazó termékének - szerkezetére. A leszármaztatott aminosav-szekvencia fentebb leírt analízise alapján látható, hogy az RPS2 több különböző - eukariótákból és prokariótákból származó proteinekben

konzervált - domént tartalmaz. E domének közé tartoznak - nem kizárólagosan - a leucinben gazdag ismétlődések ("Leucine Rich Repeats"; LRR) [Kobe és Deisenhofer: *Nature* 366, 751 (1994)]; a P-hurok ("P-loop") [Saraste és mtsai.: *Trends in Biological Sciences TIBS* 15, 430 (1990)]; a hélix-hurok-hélix motívum [Murre és mtsai.: *Cell* 56, 777 (1989)] és a leucin-zippzár [Rodrigues és Park: *Mol. Cell Biol.* 13, 6711 (1993)]. Az Rps2 aminosav-szekvenciája LRR-motívumot (505. aminosavtól a 867. aminosavig) tartalmaz, amely sok ismert proteinben megtalálható. Ez a motívum a protein-protein kölcsönhatásokban játszik szerepet, így olyan proteinekkel való kölcsönhatást is biztosíthat, amelyek közreműködnek a növények betegségrezisztenciájának kialakításában. Az Rps2-poliipeptid N-terminális része, például, a CYR1 élesztő (*Saccharomyces cerevisiae*) adenilát-cikláz LRR-motívumával mutat rokonságot. Az LRR-től N-terminális irányban, a 350. aminosavtól a 365. aminosavig egy - előzetesen transzmembrán-átívelő doménnek ("transmembrane spanning domain") meghatározott [Klein és mtsai.: *Biochim. Biophys Acta* 815, 468 (1985)] - régió található. A 177. aminosavtól a 194. aminosavig bezárólag egy ATP/GTP kötőhely motívum (P-hurok) helyezkedik el.

A leszármaztatott aminosav-szekvencia fenti vizsgálata azt mutatja, hogy az Rps2-poliipeptid tartalmazhat egy olyan membrán-receptor struktúrát, amely N-terminális extracelluláris régióból és C-terminális citoplazmikus régióból áll. Más lehetőség szerint, az Rps2-poliipeptid membrán-receptor struktúrája N-terminális citoplazmikus régió-

ból és C-terminális extracelluláris régióból is állhat. Az LRR-motívumok többnyire extracellulárisak, és az Rps2-polipeptid LRR-motívuma öt potenciális N-glikozilációs helyet tartalmaz.

6. példa

Az RPS2-gén azonosítása funkcionális komplementációval

Az rps2-201 homozigóták *Arabidopsis thaliana*-nak megfelelő genomi eredetű DNS-sel végzett komplementálása funkcionálisan igazolta, hogy a cDNS-4-et kódoló genomi eredetű régió RPS2-aktivitást hordoz. Olyan kozmidokat állítottunk elő, amelyek a vad típusú *Arabidopsis thaliana* - RPS2-régióból származó - [és EW11D4- EW9C3- és YUP11F1-YAC-okban lévő (ld. 1. és 4. ábra)] DNS-ének egymással szomszédos, átfedő szekvenciáit tartalmazták. A kozmidvektorokat a pSLJ4541-vektorból [melyet J. Jones-tól (Sainsbury Institute, Norwich, Anglia) kaptunk] állítottuk elő. A pSLJ4541 olyan szekvenciákat tartalmaz, melyek - *Agrobacterium*-közvetítette transzformáció során - elősegítik az inszertált szekvenciák növényi genomba történő beépülését ("biner kozmid"). A "H"- és "E"-kozmidokat (1. ábra) az *Arabidopsis thaliana* genomi eredetű RPS2-régiójából származó DNS-t hordozó klónok azonosítására alkalmaztuk.

Homozigóta rps2-201-mutánsok - *Agrobacterium*-közvetítette transzformáció [Chang és mtsai.: "Abstracts of the Fourth International Conference on *Arabidopsis* Research" Bécs, Ausztria, 28. old. (1990)] alkalmazásával végzett - transzformálásához több, mint 40 - RPS2-régióból

származó inszertált DNS-t tartalmazó - biner kozmidot alkalmaztunk. A továbbra is érzékeny transzformánsok létezése [amit az avrRpt2-gént hordozó *P. syringae* pv. *phaseolica* 3121-törzzsel (Psp-3121/avrRpt2) és az avrRpt2-gént nem hordozó Psp-3121-törzzsel végzett fertőzést követően a hiperszenzitív reakció hiányának megfigyelésével állapítottunk meg] azt jelezte, hogy az inszertált DNS nem tartalmazott funkcionális RPS2-gént. Ezek a kozmidok érzékeny ("Sus."; 4. táblázat) fenotípust biztosítanak. A szerzett avrRpt2-specifikus betegségrezisztenciát mutató transzformánsok (melyeket a Psp-3121/avrRpt2-törzzsel végzett fertőzést követően megfigyelhető erős hiperszenzitív reakció, illetve a Psp-3121-törzzsel végzett fertőzést követően a hiperszenzitív reakció hiánya alapján azonosítottunk) létezése arra utalt, hogy az inszertált DNS rezisztens ("Res."; 4. ábra) fenotípust biztosítani képes, funkcionális RPS2-gént tartalmazott. A pD4 biner kozmid alkalmazásával kapott transzformánsok nagymértékben rezisztens fenotípust mutattak. A transzformánsokban az inszertált DNS jelenlétét klasszikus genetikai vizsgálattal (a betegségrezisztens fenotípus és a kanamicin-rezisztens fenotípus közötti szoros genetikai kapcsoltságot az együttesen transzformált szelektálható marker biztosította) és "Southern"-analízissel igazoltuk. Ezek az eredmények azt jelezték, hogy az RPS2-gént a 18 kb-os *Arabidopsis thaliana* genomi eredetű régió egy szegmense kódolta, melyet a pD4-kozmid hordozott (4. ábra).

Az RPS2-lokusz még pontosabb lokalizálása és - a homozigóta rps2-201-mutánsok számára - rezisztens fenotípust biztosító képességének igazolása érdekében hat - részlegesen átfedő genomi eredetű DNS-inszerteket tartalmazó - biner kozmidot teszteltünk. Az RPS2-régióban az öt cDNS-klónnak megfelelő transzkripció elhelyezkedése alapján a pD2, pD4, pD14, pD15, pD27 és pD47 átfedő inszertet választottuk ki (4. ábra). A transzformáció kísérletek során - az *Agrobacterium*-közvetítette transzformációhoz - vákuumos infiltrációs eljárást [Bechtold és mtsai.: C.R. Acad. Sci. Paris 316, 1194 (1993)] alkalmaztunk. A pD2-, pD14-, pD15-, pD39- és pD46-kozmiddal végzett, *Agrobacterium*-közvetítette transzformációt gyökertranszformációs/regenerációs eljárással végeztük [Valveekens és mtsai.: PNAS 85, 5536 (1988)]. A kapott transzformánsokban az RPS2-aktivitást vizsgáló patogénfertőzőési kísérletek eredményeit a 4. ábrán mutatjuk be.

A további transzformációs kísérletekben a teljes kódolórégiót és csak a cDNS-4 vagy cDNS-6 genomi eredetű 5'-szekvenciájának több, mint 1 kilobázisát hordozó biner kozmidokat alkalmaztunk. A vákuumos infiltrációs transzformációs eljárás alkalmazásával három független transzformánst kaptunk, melyek - rps2-201c homozigóta háttérben a vad típusú cDNS-6 genomi eredetű régiót hordozták (4. ábra, pAD431). E növények egyike sem mutatott avrRpt2-függő betegségrezisztenciát. A homozigóta rps2-201c-mutánsokat vad típusú genomi eredetű cDNS-4-gyel transzformáltuk (p4104 és p4115; mindkettő - a cDNS-4 nyitott leolvasási keretnek

megfelelő - "Col-O" genomi eredetű szekvenciákat, valamint az 5'-szekvencia hozzávetőleg 1,7 kb hosszúságú szakaszát és - a stopkodontól 3'-irányban lévő - körülbelül 0,3 kb-os szekvenciát hordoz). A p4104- és p4115-transzformáns - a vad típusú RPS2 homozigótáéhoz (melyekből az rps2 származik) hasonló - betegségrezisztencia fenotípust mutatott. Más mutánsok (az rps2-101N és rps2-101C homozigóták) a cDNS-4 genomi eredetű régióval végzett transzformációt követően szintén mutattak avrRpt2-függő rezisztenciát.

7. példa

Az RPS2-szekvenciák lehetővé teszik más rezisztenciagének detektálását

Az *Arabidopsis thaliana* genomi eredetű DNS-ének - próbaként RPS2-cDNS-sel végzett - "DNS-blot" analízise azt mutatta, hogy az *Arabidopsis thaliana* több olyan DNS-szekvenciát tartalmaz, melyek hibridizálódnak az RPS2-vel vagy annak részletével. Ez a tény arra utal, hogy az *Arabidopsis* genomjában több rokon gén található.

Az eddig leírtak és a 2. ábrán bemutatott nukleinsav-szekvencia (1. azonosítószámú szekvencia) alapján egyéb növényi betegségrezisztencia-géneket is izolálhatunk, melyek 50 %-os vagy nagyobb mértékben azonosak az RPS2-génnel. Az ilyen gének detektálása és izolálása - az RPS2-gént vagy körülbelül 18 nukleinsavnál hosszabb részét tartalmazó - oligonukleotid-próba alkalmazásával valósítható meg. Az Rps2-polipeptid (2-5. azonosítószámú szekvenciák) specifikus strukturális sajátosságait kódoló szekvenciákhoz

való próbák alkalmazása előnyös, mivel ezek a hasonló strukturális doméneket tartalmazó betegségrezisztencia-gének izolálását teszik lehetővé. A hibridizációt standard eljárások alkalmazásával végezhetjük [ld. pl. Ausubel és mtsai.: "Current Protocols in Molecular Biology" John Wiley & Sons (1989)] .

Az RPS2-gén detektálásához alkalmas, nagymértékben szigorú feltételek kb. 42 °C-on, kb. 50 %-os formamid-koncentráció mellett végzett hibridizációt; kb. 65 °C-on, körülbelül 1 % SDS-t tartalmazó 2xSSC-oldatban végzett első mosást; majd kb. 65 °C-on, körülbelül 0,1 %-os SSC-oldatban végzett második mosást foglalnak magukban. Az RPS2-génnel körülbelül 50 %-os szekvenciahomológiát mutató RPS-gének detektálására kevésbé szigorú feltételek alkalmazhatók: kb. 42 °C-on, formamid nélkül végzett hibridizáció; kb. 42 °C-on, kb. 6xSSC-oldatban végzett első mosás; és kb. 50 °C-on, kb. 1% SDS-t tartalmazó 6xSSC-oldatban végzett második mosás. A fenti példában - próbaként - az Rps2 LRR-régiójának középső részét kódoló, hozzávetőleg 350 nukleotid hosszúságú DNS-próbát alkalmaztunk. Az Rps2 LRR-motívuma középső részét kódoló DNS-sel történő hibridizációhoz elégséges szekvenciahomológiát mutató szekvenciákként az *Arabidopsis thaliana* - BamHI restriktációs endonukleázzal emésztett - genomi eredetű DNS-ében, kevésbé szigorú feltételek mellett, minimum 5 DNS-sávot detektáltunk. Az RPS2-gén - Rps2-protein (LRR-motívumon kívül eső) N-terminális végét kódoló - 300 nukleotid hosszúságú részét tartalmazó próba alkalmazásával hasonló eredményeket kaptunk.

Az egyéb betegségrezisztencia-gének izolálását jól ismert PCR-amplifikációs eljárással végezzük, melynek során csak - az RPS2-génnel szekvenciahomológiát mutató génekben lévő oligonukleotidok által szegélyezett - szekvenciák amplifikálásához tervezett láncindító oligonukleotidokat alkalmazunk. A láncindítókat adott esetben úgy tervezzük, hogy elősegítsék az amplifikált termék alkalmas vektorba történő klónozását.

8. példa

RPS2-expresszió transzgenikus növényi sejtekben és növényekben

Az avrRpt2-gént hordozó patogénekre érzékeny növényekben az RPS2-gén expresszáltatását úgy valósítjuk meg, hogy a növénybe - Rps2-poliipeptidet kódoló - RPS2-gént tartalmazó DNS-szekvenciát viszünk be. A növényi sejtek stabil transzfekciójára és transzgenikus növények előállítására alkalmas vektorok széles körben hozzáférhetőek; az ilyen vektorok leírását ld. pl. Pouwels és mtsai.: "Cloning Vectors: A Laboratory Manual" (1985; bővített kiadás: 1987); Weissbach és Weissbach: "Methods for Plant Molecular Biology" Academic Press (1989); Gelvin és mtsai.: "Plant Molecular Biology Manual", Kluwer Academic Publishers (1990). A növényi expressziós vektorok rendszerint (1) egy vagy több klónozott növényi gént, (melyek 5'- és 3'-regulátorszekvenciák transzkripció irányítása alatt állnak); és (2) egy domináns, szelektálható markert tartalmaznak. Az ilyen növényi expressziós vektorok - a fentieken

kívül, kívánt esetben - tartalmazhatnak promóterrégiót (pl. indukálható vagy konstitutív, környezeti vagy fejlődési faktorok által szabályozott vagy sejt- vagy szövetspecifikus expressziót irányító regulátorrégiót); transzkripcióshelyet; riboszóma-kötőhelyet; "RNS-processing"-szignált; transzkripcióshelyet; és/vagy poliadenilációs szignált.

A találmány szerinti megoldás értelmében növényi rezisztenciagén expresszáására alkalmazható növényi promóterek egyik példája a "caulimovírus"-promóter, például a karfiolmozaikvírus (CaMV) 35S-promótere. Ezek a promóterek a legtöbb növényi szövetben magas szintű expressziót biztosítanak, és aktivitásuk nem függ a vírusok által kódolt proteinektől. A karfiolmozaikvírus 35S- és 19S-promótert egyaránt tartalmaz. A transzgenikus növények legtöbb szövetében a CaMV-35S-promóter erős promóterként működik [ld. pl. Odel és mtsai.: *Nature* 313, 810 (1985)]. A CaMV-promóter egyszikű növényekben is igen hatásos [ld. pl. Dekeyser és mtsai.: *Plant Cell* 2, 591 (1990); Terada és Shimamoto: *Mol. Gen. Genet.* 220, 389 (1990)].

Az egyéb hasznos növényi promóterek közé tartozik - nem kizárólagosan - a nopalin-szintetáz-promóter [An és mtsai.: *Plant Physiol.* 88, 547 (1988)] és az oktopin-szintetáz-promóter [Fromm és mtsai.: *Plant Cell* 1, 977 (1989)].

Bizonyos alkalmazások esetében előnyös lehet az RPS2-génterméket vagy az avrRpt2-génterméket megfelelő szövetben, megfelelő szinten vagy a fejlődés megfelelő stádium-

mában expresszáltatni. Különféle olyan génpromóterek léteznek, melyek - regulátorszekvenciáikban megnyilvánuló saját jellemzőiknek köszönhetően - környezeti tényezőkre, hormonokra és/vagy fejlődési ingerekre reagálva működnek. Az ilyen génpromóterek közé tartoznak a következő génexpressziókért felelős promóterek (1) hő által szabályozott génexpresszió [ld. pl. Callis és mtsai.: Plant Physiol. 88, 965 (1988)]; (2) fény által szabályozott génexpresszió [pl. a borsó rbcS-3A-promótere, ld. Kuhlemeier és mtsai.: Plant Cell 1, 471 (1989); a kukorica rbcS-promóter, ld. Schaffner és Sheen; Plant Cell 3, 997 (1991)] vagy a borsó klorofill-a/b-kötőprotein-génje, ld. Simpson és mtsai.: EMBO J. 4, 2723 (1985)]; (3) hormon által szabályozott génexpresszió [például a búza Em-génjének abszcizinsavra érzékeny szekvenciái, ld. Marcotte és mtsai.: Plant Cell 1, 969 (1989)]; (4) sérülés-indukálta génexpresszió [pl. wunI-gén, ld. Siebetz és mtsai.: Plant Cell 1, 961 (1989)]; (5) szervspecifikus génexpresszió, például a gumóspecifikus tartalékprotein-gén expressziója [ld. Roshal és mtsai.: EMBO J. 6, 1155 (1987)], a kukorica 23 kD-os zeingénjének expressziója [ld. Schrenthaner és mtsai.: EMBO J. 7, 1249 (1988)] vagy a franciabab ("French bean") β -phaseolin-gén expressziója [ld. Bustos és mtsai.: Plant Cell 1, 839 (1989)].

A növényi expressziós vektorok, adott esetben, tartalmazhatnak RNS-"processing"-szignálokat, például olyan intronokat, amelykről kimutatták, hogy fontos szerepet töltenek be a hatékony RNS-szintézisben és -felhalmozódásban

[Callis és mtsai.: *Genes and Dev.* 1, 1183 (1987)] . Az RNS-"splice"-szekvenciák elhelyezkedése befolyásolhatja a növényekben a transzgén expresszióját, ezért a transzgénben a génexpresszió módosítása érdekében - az Rps2-poliipeptidet kódoló szekvenciától 3'- vagy 5'-irányban - intront helyezhetünk el.

Az expressziós vektorok - a fentebb említett 5'-regulátorszekvenciákon kívül - tartalmazhatnak olyan szabályozórégiókat is, amelyek általában a növényi génnek 3'- régióiban helyezkednek el [Thornburg és mtsai.: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 84, 744 (1987); An és mtsai.: *Plant Cell* 1, 115 (1989)]. Például - az mRNS stabilitásának fokozása érdekében - az expressziós vektorba 3'-terminátorrégiót foglalhatunk. Az ilyen terminátorrégiók egyik példája a burgonya PI-II-terminátorrégiója. Az egyéb, általánosan alkalmazott terminátorok az oktopin- és nopalin-szintetáz-szignálokból származnak.

A növényi expressziós vektorok rendszerint egy domináns szelektálható markergént is tartalmaznak, amely a transzformált sejtek azonosítására alkalmazható. A növényi rendszerekben alkalmas szelektálható markergének közé tartoznak az antibiotikum-rezisztencia-gének, például, a higromicinnel, kanamicinnel, bleomicinnel, G418-cal, sztreptomicinnel vagy spektinomicinnel szembeni rezisztenciát kódoló gének. A fotoszintézis-deficiens törzsekben szelektálható markerekként a fotoszintézishez szükséges gének is alkalmazhatók. Végül, a herbicid-rezisztenciát kódoló gének szintén alkalmazhatók szelektálható markerként. Az

ilyen célra alkalmas herbicid-rezisztencia-gének közé tartozik a - foszfinotricin-acetiltranszferáz enzimet kódoló - bar-gén, amely a széles körben hatásos "Basta®" herbiciddel (Hoechst AG, Frankfurt, Németország) szemben biztosít rezisztenciát.

A szelektálható markerek hatékony alkalmazását a növényi sejt adott szelektálható reagensre vonatkozó érzékenységének meghatározásával és e reagens - transzformált sejtek többségét vagy mindegyikét - elpusztító koncentrációjának meghatározásával segíthetjük elő. A dohánynövény transzformálása esetében alkalmazható antibiotikumok alkalmas koncentrációinak példái a következők: 75-100 µg/ml (kanamicin); 20-50 µg/ml (higromicin); 5-10 µg/ml (bleomicin). A transzformánsok herbicidrezisztenciára végzett szelektálásának előnyös eljárását, például, Vasil, I.K. írta le ["Cell Culture and Somatic Cell Genetics of Plants", I., II. és III. kötet, "Laboratory Procedures and Their Applications", Academic Press, New York (1984)].

Szakember számára kézenfekvő, hogy a génexpresszió szintje nemcsak a promóterek, RNS-"processing"-szignálok és terminációs elemek kombinációjától függ, hanem attól is, hogy ezeket az elemeket hogyan használjuk fel a génexpresszió szintjének növelésére.

9. példa

Növények transzformálása

A rekombináns genetikai anyag - transzgenikus növény kialakítása céljából - gazdanövénybe történő bevitelére

re számos hagyományos eljárás ismeretes. Az ilyen eljárások közé tartoznak a következők: (1) *Agrobacterium*-közvetítette transzformáció (*A. tumefaciens* vagy *A. rhizogenes*) [ld. pl. Lichtenstein és Fuller: "Genetic Engineering", 6. kötet, szerk.: P.W.J. Rigby, Academic Press, London (1987); és Lichtenstein, C.P. és Draper, J.: "DNA Cloning", II. kötet, szerk.: D.M. Glover, IRI Press, Oxford (1985)]; (2) részecskebeviteli rendszer [ld. pl. Gordon-Kamm és mtsai.: Plant Cell 2, 603 (1990); vagy BioRad Technical Bulletin, 1787, ld. fentebb]; (3) mikroinjektálós eljárások [ld. pl. Green és mtsai.: "Plant Tissue and Cell Culture", Academic Press, New York (1987)]; (4) polietilén-glikol (PEG) alkalmazásával végzett eljárások [ld. pl. Draper és mtsai.: Plant Cell Physiol. 25, 1353 (1984)]; (6) elektroporációs eljárások [ld. pl. Gelvin és mtsai.: "Plant Molecular Biology Manual", Kluwer Academic Publishers (1990); Dekeyser és mtsai.: Plant Cell 2, 591 (1990); vagy Fromm és mtsai.: Nature 319, 791 (1986)]; és (7) vortexezés alkalmazásával végzett eljárás [ld. pl. Kindle, K.: Proc. Natl. Acad. Sci. USA 87, 1228 (1990)].

A következőkben az *Agrobacterium*-közvetítette növénytranszformálásra mutatunk be egy példát. A növényi sejtek genomjába bevinni kívánt gének általános manipulációs eljárását két szakaszban hajtjuk végre. Először *E. coli*-ban elvégezzük az összes klónozási és DNS-módosítási lépést, és a kérdéses génkonstrukciót tartalmazó plazmidot konjugáció útján *Agrobacterium*-ba visszük be. Másodszor, a kapott *Agrobacterium*-törzset felhasználjuk a növényi sejtek

transzformálására. Az általános növényi expressziós vektor - *Agrobacterium*-ban saját replikációját biztosító - replikációs kezdőhelyet, valamint - *E. coli*-ban működőképes - nagy kópiaszámú replikációs kezdőhelyet tartalmaz. Ez lehetővé teszi, hogy a transzgéneket - az *Agrobacterium*-ba, illetve később a növényekbe történő bevitel előtt - *E. coli*-ban termeljük és teszteljük. A vektorba rezisztenciagéneket is foglalhatunk, például, egyet a baktériumokban történő szelekció érdekében, egy másikat pedig a növényekben pl. kanamicin- vagy herbicidrezisztencia létrehozása érdekében. A vektor egy vagy több - megfelelő regulátorszekvenciákhoz működőképesen kapcsolódó - transzgén inszertálása érdekében restriktációs endonukleázos helyeket, valamint irányított T-DNS-határolószekvenciákat is tartalmaz, mely utóbbiak - mivel az *Agrobacterium* szállító funkciói felismerik - korlátozzák a növénybe bejuttatandó régiót.

Egy másik példa szerint, a növényi sejtek volfrám-mikrolövedékek (melyeken klónozott DNS-t precipitáltunk) belövésével is transzformálhatók. A belövéshez alkalmazott "Biolistic Apparatus"-ban (Bio-Rad, Hercules, CA) egy műanyag makrolövedéket puskapor-töltettel (22-es kaliberű "Power Piston Tool Charge") vagy levegőárammal lövünk ki a belövőágyú csövén. A műanyag makrolövedék elé (felületükön precipitált DNS-t tartalmazó) volfrámrészecskék szuszpenziójának alikvotját helyezzük. A makrolövedéket egy akril tömítőlemezen keresztül lőjük ki, amelyen - a makrolövedék áthaladásához túl szűk - lyuk található. A műanyag makrolövedék nekiütődik a tömítőlemeznek, és a volfrám

mikrolövedékek - a lemezen lévő lyukon keresztül - továbbhaladnak. A találmány szerinti megoldás értelmében a mikrolövedékes belövással bármilyen növényi sejtet, szövetet, magvat vagy embriót megcélozhatunk. A mikrolövedékek felszínén a sejtbe bevitt DNS a sejtmagba vagy a kloroplasztiszba integrálódik.

Mára a transzgének növényi sejtekbe történő bevitele, illetve a növényi sejtekben történő expresszáltatása szakember számára rutinfeladat, amely a génexpressziós vizsgálatok végrehajtásának és - mezőgazdaságilag vagy kereskedelmileg jelentős - javított növényváltozatok előállításának fő eszközévé vált.

10. példa

Transzgenikus növények regenerálása

A növényi expressziós vektorral transzformált növényi sejtekből - pl. egyetlen sejtből, kallusz-szövetből vagy levélkorongokból -, standard növényi szövettenyésztési eljárásokkal transzgenikus növény regenerálható. Ismert, hogy - teljes növény regenerálása céljából - csaknem valamennyi növény különböző sejtjei, szövetei és szervei sikeresen tenyészthetők. Az ehhez alkalmazható eljárások leírását ld. pl. Vasil: "Cell Culture and Somatic Cell Genetics of Plants", I., II. és III. kötet, "Laboratory Procedures and Their Applications", Academic Press, New York (1984); Green és mtsai.: "Plant Tissue and Cell Culture", Academic Press, New York (1987)]; Weissbach és Weissbach: "Methods for Plant Molecular Biology" Academic Press (1989); Gelvin

és mtsai.: "Plant Molecular Biology Manual", Kluwer Academic Publishers (1990).

Az egyik lehetséges példa szerint *Agrobacterium*-ot - szelektálható markergént (pl. kanamicinrezisztencia-gént) és klónozott RPS2-gént [amely saját promótere és terminátora, vagy kívánt esetben, exogén regulátorszekvenciák (pl. 35S-CaMV-promóter és nopalín-szintetáz-terminátor) irányítása alatt áll] hordozó vektorral transzformálunk. A növény levélszövetének (vektort tartalmazó) *Agrobacterium*-mal történő transzformálását Horsch és mtsai. leírása szerint [Science 227, 1229 (1985)] végezzük. A feltételezett transzformánsokat néhány (pl. 3-5) hét elteltével - kanamicint (pl. 100 µg/ml koncentrációban) tartalmazó növényiszövet-tenyésztő táptalajon szelektáljuk. A szelekció után kapott kanamicin-rezisztens hajtásokat - a gyökérképződés indukálása érdekében - hormonok nélküli növényiszövet-tenyésztő táptalajra helyezük. A kanamicin-rezisztens növényeket melegházban neveljük tovább. Az önbeporzással megtermékenyített növényekből származó magvakat - kívánt esetben - talaj nélküli táptalajba ültethetjük, és melegházban növényeket nevelhetünk belőlük. A kanamicin-rezisztens utódok szelektálásához a felületi sterilizálásnak alávetett magvakat hormonmentes, kanamicintartalmú táptalajba vetjük. A transzgén integrálódásának vizsgálatát standard eljárásokkal végezzük [ld. pl. Ausubel és mtsai.: "Current Protocols in Molecular Biology" John Wiley & Sons (1989); Gelvin és mtsai.: "Plant Molecular Biology Manual", Kluwer Academic Publishers (1990)].

A szelektálható markert expresszáló transzgenikus növényeket - standard "immunoblot"-vizsgálattal, valamint DNS- és RNS-detektálási eljárásokkal - a transzgén-DNS öröklődésére szkríneljük. Minden egyes transzgenikus növény - és transzgenikus utóda - egyedülálló a többi (ugyanazon transzgén bevitelével előállított) transzgenikus növényhez képest. A legtöbb esetben a transzgén-DNS - növényi genom eredetű DNS-be történő - beépülése véletlenszerű, és az integrálódás helye nagymértékben befolyásolja az transzgén-expresszió szintjét, illetve szöveti és fejlődési mintázatát. Következésképpen, a legmegfelelőbb expressziós profilt mutató növények azonosítása és kiválasztása érdekében, rendszerint minden egyes transzgénre számos transzgenikus vonalat szkrínelünk.

A transzgenikus vonalakat a transzgén-expresszió szintje alapján értékeljük. Először - a pozitív expressziót mutató növények azonosítása és mennyiségi meghatározása céljából - RNS-szinten vizsgáljuk az expressziót, melynek során standard RNS-vizsgálati eljárásokat (csak a transzgén RNS-templátok amplifikálásához tervezett láncindító oligonukleotidok alkalmazásával végzett PCR-amplifikációt és transzgénspecifikus próbák alkalmazásával, oldatban végzett hibridizációs vizsgálatokat) alkalmazunk [ld. pl. Ausubel és mtsai.: "Current Protocols in Molecular Biology" John Wiley & Sons (1989)]. Az RNS-pozitív növényeket ezután - Rps2-polipeptidre specifikus antitestek alkalmazásával végzett "western-immunoblot"-analízissel - proteinexpresszióra vizsgáljuk [Ausubel és mtsai., ld. fen-

tebb]. E vizsgálatok mellett, a transzgenikus szövetben az expresszió helyének lokalizálása érdekében - transzgén-specifikus nukleotidpróbák és antitestek alkalmazásával - *in situ* hibridizációs, illetve immuncitokémiai vizsgálatokat végezhetünk.

A sejtben vagy transzgenikus növényben (pl. a fentebb leírtak szerint) expresszáltatott Rps2-poliipeptid bármilyen hagyományos eljárással - például affinitási kromatográfiával - izolálható. Az egyik izolálási eljárás szerint egy oszlophoz kapcsolt anti-Rps2-antitestet [melyet pl. Ausubel és mtsai. leírása (ld. fentebb) szerint vagy bármilyen standard eljárással állítottunk elő] alkalmazunk. Az Rps2-poliipeptidet termelő sejtek - affinitási kromatográfiát megelőző - lízisét és frakcionálását hagyományos eljárásokkal végezzük [Ausubel és mtsa., ld. fentebb]. A rekombináns poliipeptid - izolálása után - kívánt esetben tovább tisztítható, például nagyteljesítményű folyadékkromatográfia alkalmazásával [ld. pl. Fisher: "Laboratory Techniques In Biochemistry And Molecular Biology", szerk.: Work és Burdon, Elsevier (1980)].

A poliipeptidek általános expresszálni és tisztítani eljárásai az Rps2-poliipeptid hasznos fragmenseinek és analógjainak előállítására és izolálására is alkalmazhatók.

Alkalmazás

Az RPS2-gén transzformált növényi sejtbe történő bevitele a növény számára rezisztenciát biztosít az avrRpt2-avirulenciagént hordozó patogén baktériumokkal szemben. Például, a találmány szerinti - RPS2-gént

expresszálo - transzgenikus növények egyszerűen és olcsón alkalmazhatók az avrRpt2-avirulenciagént hordozó patogén baktériumokra normális esetben érzékeny növények betegség-rezisztenciájának megváltoztatására.

A találmány szerinti megoldás - a gazda rezisztenciája természetes mechanizmusának utánzása révén - széles spektrumú patogénrezisztenciát nyújt. Először, az RPS2-transzgént a növényi sejtekben kellően magas szinten expresszáltatjuk ahhoz, hogy - a patogénből származó jelek hiányában - konstitutívan védelmi reakciót indukáljunk. A növény védelmi reakciójának beindításához szükséges expressziós szintet a védelmi reakció génexpressziója szintjének mérésével [ld. Dong és mtsai.: Plant Cell 3, 61 (1991)]. Másodszor, az RPS2-transzgént szabályozható promóterrel (pl. szövetspecifikus promóterrel, sejt típus-specifikus promóterrel vagy - külső jel vagy reagens által indukált - promóterrel) expresszáltatjuk, miáltal időben vagy térben (szövetben) korlátozzuk a védelmi reakció megnyilvánulását. Az RPS2-génterméket végül az avrRpt2-géntermékkel együttesen expresszáltatjuk. Az RPS2-gént természetes promóterével, konstitutív promóterrel (pl. CaMV-35S-promóter) vagy külső jel vagy reagens által aktivált promóterrel expresszáltatjuk. Az RPS2- és avrRpt2-géntermék együttes expresszáltatása a növény védelmi reakciójával összefüggő géntermékek termelődését utánozza, és - a gazdanövényben és a patogénben lévő, specifikus rezisztenciagén-avirulenciagén párok hiányában - rezisztenciát nyújt a patogénekkal szemben.

A találmány szerinti megoldás gyakorlati megvalósításával növényi sejtben expresszáltatható a 2. ábrán bemutatott nukleotidszekvenciát (1. azonosítószámú szekvencia) tartalmazó nukleinsav, illetve annak - 2. ábrán látható "a" nyitott leolvasási keretnek megfelelő aminosav-szekvenciát (2-5. azonosítószámú szekvenciák) kódoló - degenerált változata.

A találmány szerinti megoldás gyakorlati megvalósításával - próbaként a 2. ábrán bemutatott RPS2-szekvencia (1. azonosítószámú szekvencia) vagy annak (több, mint 18 nukleotidot tartalmazó) szakaszának alkalmazásával - olyan nukleinsav-szekvenciák izolálhatók, amelyek az RPS2-gén nukleotid-szekvenciájával körülbelül 50 %-os vagy nagyobb arányú szekvenciahomológiát mutatnak. A 2. ábrán bemutatott RPS2-szekvenciával (1. azonosítószámú szekvencia) 50 %-os vagy nagyobb mértékű azonosságot mutató DNS-szekvenciák izolálása érdekében mérsékelten szigorú hibridizációs feltételeket alkalmazunk.

A találmány szerinti megoldás lehetőséget nyújt betegségrezisztencia létrehozására növényekben, előnyösen terménynövényekben, legelőnyösebben a fontos terménynövényekben (pl. paradicsom, bors, kukorica, búza, rizs és hüvelyesek, mint pl. szójabab és bab), illetve bármilyen - avirulenciagént (pl. avrRpt2-avirulenciagént) hordozó patogénekre érzékeny - növényben. Az ilyen patogének közé tartoznak - nem kizárólagosan - a *Pseudomonas syringae* törzsek.

Szintén a találmány tárgyát képezi az Rps2-polipeptid bármilyen - biológiailag aktív - fragmense vagy analógja is. A "biológiailag aktív" kifejezésen azt értjük, hogy az adott fragmens vagy analóg a 2. ábrán bemutatott Rps2-polipeptidre (2-5. azonosítószámú szekvencia) jellemző *in vivo* aktivitást mutat. Azok az előnyös Rps2-fragmensek vagy Rps2-analógok, amelyek a betegségrezisztenciagéntermék aktivitásának meghatározása céljából végzett bármilyen - pl. Dong és mtsai. (1991, ld. fentebb); Yu és mtsai. (1993, ld. fentebb); Kunkel és mtsai. (1993, ld. fentebb); és Whalen és mtsai. (1993, ld. fentebb) által leírt - biológiai vizsgálatban biológiai aktivitást mutatnak. Közelebbről, egy biológiailag aktív Rps2-polipeptid-fragmens vagy -analóg - az avrRpt2-avirulenciagént hordozó növénypatogénekkal szemben - alapvető rezisztenciát képes kialakítani. Az "alapvető rezisztencián" az avrRpt2-gént hordozó növénypatogénekre vonatkozó érzékenység legalább részleges csökkenését értjük.

Az előnyös analógok közé azok az Rps2-polipeptidek (vagy biológiailag aktív fragmenseik) tartoznak, amelyek szekvenciája csak konzervatív aminosav-szubsztitúciók [például egy aminosav másik, hasonló tulajdonságú aminosavval történő helyettesítése (pl. glicin helyett valin, lizin helyett arginin, stb.)) miatt, vagy egy vagy több - a polipeptid biológiai aktivitását nem befolyásoló -, nem konzervatív aminosav-szubsztitúció, -delécio vagy -inszerció miatt tér el a vad típusú szekvenciától.

Az analógok a természetben előforduló Rps2-polipeptidtől való eltérése megnyilvánulhat abban, hogy más aminosav-szekvenciát tartalmaznak, vagy olyan módosításokat hordoznak, amelyek nem érintik az aminosav-szekvenciát, illetve az eltérés megnyilvánulhat egyszerre mindkét módon. A találmány szerinti analógok rendszerint legalább 70 %-os, előnyösen 80 %-os, előnyösebben 90 %-os, legelőnyösebben 95 %-os, sőt, 99 %-os homológiát mutatnak a természetben előforduló Rps2-polipeptid (2-5. azonosítószámú szekvencia) - 20 aminosavat, előnyösen 40 aminosavat, még előnyösebben, a teljes szekvenciát tartalmazó - szegmensével.

A primer szekvenciába módosításokat tartalmazó változatok közé tartoznak természetes és mesterségesen indukált genetikai változatok. Szintén az ilyen változatok közé tartoznak a természetben előforduló L-aminosavaktól eltérő aminosavakat, például D-aminosavakat vagy természetben nem előforduló vagy szintetikus aminosavakat, pl. β - vagy γ -aminosavakat tartalmazó analógok. Szintén a találmány tárgyát képezik az *in vivo* kémiai derivatizálással (acetilezéssel, metilálással, foszforilálással, karboxilálással vagy glikozilálással) módosított Rps2-polipeptidek.

A lényegében teljes hosszúságú polipeptidek mellett a találmány tárgyát képezik a polipeptidek biológiailag aktív fragmensei is. Ahogy itt a polipeptidekkel kapcsolatban használjuk, a "fragmens" kifejezés általában legalább 20 aminosavat, rendszerint legalább 40 aminosavat, előnyösen legalább 60 aminosavat tartalmazó polipeptidre vonatkozik. Az RPs2-polipeptid fragmensei szakember számára jól ismert

eljárásokkal állíthatók elő. Egy adott fragmens azon tulajdonságát, hogy képes-e az RPs2-polipeptid biológiai aktivitásának kifejtésére, a leírásban ismertetett eljárásokkal értékelhetjük. Szintén a találmány tárgyát képezik azok az Rps2-polipeptidek, amelyek a peptid biológiai aktivitásához nem szükséges - például, alternatív mRNS-"splicing" vagy alternatív proteinérési ("processing") események következtében a szekvenciához adódott - aminosavakat is tartalmaznak.

A találmány legelőnyösebb megvalósítási módjaira oltalmi igényünket a szabadalmi igénypontokban fogalmaztuk meg.

SZEKVENCIALISTA

AZ 1. AZONOSÍTÓ SZÁMÚ SZEKVENCIA ADATAI:

A SZEKVENCIA JELLEMZŐI:

HOSSZA: 2903 bázispár

TÍPUSA: nukleinsav

HÁNY SZÁLÚ: egy

TOPOLÓGIÁJA: lineáris

MOLEKULATÍPUS: genomi DNS

AZ 1. AZONOSÍTÓ SZÁMÚ SZEKVENCIA LEÍRÁSA:

AAGTAAAAGA AAGAGCGAGA AATCATCGAA ATGGATTTCA TCTCATCTCT TATCGTTGGC	60
TGTGCTCAGG TGTTGTGTGA ATCTATGAAT ATGGCGGAGA GAAGAGGACA TAAGACTGAT	120
CTTAGACAAG CCATCACTGA TCTTGAAACA GCCATCGGTG ACTTGAAGGC CATACGTGAT	180
GACCTGACTT TACGGATCCA ACAAGACGGT CTAGAGGGAC GAAGCTGCTC AAATCGTGCC	240
AGAGAGTGGC TTAGTGCGGT GCAAGTAACG GAGACTA ~~AAA~~ CAGCCCTACT TTTAGTGAGG	300
TTTAGGCGTC GGGAACAGAG GACGCGAATG AGGAGGAGAT ACCTCAGTTG TTTCGGTTGT	360
GCCGACTACA AACTGTGCAA GAAGGTTTCT GCCATATTGA AGAGCATTGG TGAGCTGAGA	420
GAACGCTCTG AAGCTATCAA AACAGATGGC GGGTCAATTC AAGTAACTTG TAGAGAGATA	480
CCCATCAAGT CCGTTGTCGG AAATACCACG ATGATGG ~~AAC~~ AGGTTTTGGA ATTTCTCAGT	540
GAAGAAGAAG AAAGAGGAAT CATTGGTGTT TATGGACCTG GTGGGGTTGG GAAGACAACG	600
TTAATGCAGA GCATTAACAA CGAGCTGATC ACAA ~~AAGGAC~~ ATCAGTATGA TGTACTGATT	660
TGGGTTCAAA TGTCCAGAGA ATTCGGCGAG TGTACAA ~~TTT~~ AGCAAGCCGT TGGAGCACGG	720
TTGGGTTTAT CTTGGGACGA GAAGGAGACC GGCGAA ~~AACA~~ GAGCTTTGAA GATATACAGA	780
GCTTTGAGAC AGAAACGTTT CTTGTTGTTG CTAGATG ~~ATTG~~ TCTGGGAAGA GATAGACTTG	840
GAGAA ~~AACTG~~ GAGTTCCTCG ACCTGACAGG GAAAACA ~~ATT~~ GCAAGGTGAT GTTCACGACA	900
CGGTCTATAG CATTATGCAA CAATATGGGT GCGGAAT ~~ACA~~ AGTTGAGAGT GGAGTTTCTG	960
GAGAAGAAAC ACGCGTGGGA GCTGTTCTGT AGTAAGG ~~TAT~~ GGAGAAAAGA TCTTTTAGAG	1020
TCATCATCAA TTCGCCGGCT CGCGGAGATT ATAGTGAG ~~TA~~ AATGTGGAGG ATTGCCACTA	1080

GCGTTGATCA CTTTAGGAGG AGCCATGGCT CATAGAGAGA CAGAAGAAGA GTGGATCCAT 1140
 GCTAGTGAAG TTCTGACTAG ATTTCCAGCA GAGATGAAGG GTATGAACTA TGTATTTGCC 1200
 CTTTTGAAAT TCAGCTACGA CAACCTCGAG AGTGATCTGC TTCGGTCTTG TTTCTTGATC 1260
 TGCCTTTTAT TCCCAGAAGA ACATTCTATA GAGATCGAGC AGCTTGTTGA GTACTGGGTC 1320
 GGCGAAGGGT TTCTCACCAG CTCCCATGGC GTTAACACCA TTTACAAGGG ATATTTTCTC 1380
 ATTGGGGATC TGAAAGCGGC ATGTTTGTTG GAAACCGGAG ATGAGAAAAC ACAGGTGAAG 1440
 ATGCATAATG TGGTCAGAAG CTTTGCATTG TGGATGGCAT CTGAACAGGG GACTTATAAG 1500
 GAGCTGATCC TAGTTGAGCC TAGCATGGGA CATACTGAAG CTCC'TAAAGC AGAAAACCTGG 1560
 CGACAAGCGT TGGTGATCTC ATTGTTAGAT AACAGAATCC AGACCTTGCC TGAAAAACTC 1620
 ATATGCCCCG AACTGACAAC ACTGATGCTC CAACAGAACA GCTCTTTGAA GAAGATTCCA 1680
 ACAGGGTTTT TCATGCATAT GCCTGTTCTC AGAGTCTTGG ACTTGTCGTT CACAAGTATC 1740
 ACTGAGATTC CGTTGTCTAT CAAGTATTTG GTGGAGTTGT ATCATCTGTC TATGTCAGGA 1800
 ACAAAGATAA GTGTATTGCC ACAGGAGCTT GGAATCTTA GAAAACCTGAA GCATCTGGAC 1860
 CTACAAAGAA CTCAGTTTCT TCAGACGATC CCACGAGATG CCATATGTTG GCTGAGCAAG 1920
 CTCGAGGTTT TGAACCTGTA CTACAGTTAC GCCGGTTGGG AACTGCAGAG CTTTGGAGAA 1980
 GATGAAGCAG AAGAACTCGG ATTCGCTGAC TTGGAATACT TGGAAAACCT AACCACACTC 2040
 GGTATCACTG TTCTCTCATT GGAGACCCTA AAAACTCTCT TCGAGTTCGG TGCTTTGCAT 2100
 AAACATATAC AGCATCTCCA CGTTGAAGAG TGCAATGAAC TCCTCTACTT CAATCTCCCA 2160
 TCACTCACTA ACCATGGCAG GAACCTGAGA AGACTTAGCA TTAAAAGTTG CCATGACTTG 2220
 GAGTACCTGG TCACACCCGC AGATTTTGAA AATGATTGGC TTCCGAGTCT AGAGGTTCTG 2280
 ACGTTACACA GCCTTCACAA CTTAACCAGA GTGTGGGGAA ATTCTGTAAG CCAAGATTGT 2340
 CTGCGGAATA TCCGTTGCAT AAACATTTCA CACTGCAACA AGCTGAAGAA TGTCTCATGG 2400
 GTTCAGAAAC TCCCAAAGCT AGAGGTGATT GA-CTGTTCG ACTGCAGAGA GATAGAGGAA 2460
 TTGATAAGCG AACACGAGAG TCCATCCGTC GAAGATCCAA CATTGTTCCC AAGCCTGAAG 2520
 ACCTTGAGAA CTAGGGATCT GCCAGAATA AACAGCATCC TCCCATCTCG ATTTTCATTC 2580
 CAAAAGTTG AAACATTAGT CATCACAAAT TGCCCCAGAG TTAAGAAACT GCCGTTTCAG 2640
 GAGAGGAGGA CCCAGATGAA CTTGCCAACA GTTTATTGTG AGGAGAAATG GTGGAAAGCA 2700
 CTGGAAAAAG ATCAACCAAA CGAAGAGCTT TGTATTATTAC CGCGCTTTGT TCCAAATTGA 2760
 TATAAGAGCT AAGAGCACTC TGTACAAATA TGTCATTCA TAAGTAGCAG GAAGCCAGGA 2820

AGGTTGTTCC AGTGAAGTCA TCAACTTTCC ACATAGCCAC AAAACTAGAG ATTATGTAAT 2880

CATAAAAACC AACTATCCG CGA 2903

A 2. AZONOSÍTÓ SZÁMÚ SZEKVENCIA ADATAI:

A SZEKVENCIA JELLEMZŐI:

HOSSZA: 885 aminosav

TÍPUSA: aminosav

HÁNY SZÁLÚ: nem releváns

TOPOLÓGIÁJA: lineáris

MOLEKULATÍPUS: fehérje

A 2. AZONOSÍTÓ SZÁMÚ SZEKVENCIA LEÍRÁSA:

Lys Lys Glu Arg Glu Ile Ile Glu Met Asp Phe Ile Ser Ser Leu Ile
1 5 10 15

Val Gly Cys Ala Gln Val Leu Cys Glu Ser Met Asn Met Ala Glu Arg
20 25 30

Arg Gly His Lys Thr Asp Leu Arg Gln Ala Ile Thr Asp Leu Arg Ile
35 40 45

Gln Gln Asp Gly Leu Glu Gly Arg Ser Cys Ser Asn Arg Ala Arg Glu
50 55 60

Trp Leu Ser Ala Val Gln Val Thr Glu Thr Lys Thr Ala Leu Leu Leu
65 70 75 80

Val Arg Phe Arg Arg Arg Glu Gln Arg Thr Arg Met Arg Arg Arg Tyr
85 90 95

Leu Ser Cys Phe Gly Cys Ala Asp Tyr Lys Leu Cys Lys Lys Val Ser
100 105 110

Ala Ile Leu Lys Ser Ile Gly Glu Leu Arg Glu Arg Ser Glu Ala Ile
115 120 125

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

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

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

Leu	Phe	Pro	Ser	Leu	Lys	Thr	Leu	Arg	Thr	Arg	Asp	Leu	Pro	Glu	Leu
				805					810					815	
Asn	Ser	Ile	Leu	Pro	Ser	Arg	Phe	Ser	Phe	Gln	Lys	Val	Glu	Thr	Leu
				820					825					830	
Val	Ile	Thr	Asn	Cys	Pro	Arg	Val	Lys	Lys	Leu	Pro	Phe	Gln	Glu	Arg
				835					840					845	
Arg	Thr	Gln	Met	Asn	Leu	Pro	Thr	Val	Tyr	Cys	Glu	Glu	Lys	Trp	Trp
				850					855					860	
Lys	Ala	Leu	Glu	Lys	Asp	Gln	Pro	Asn	Glu	Glu	Leu	Cys	Tyr	Leu	Pro
				865					870					875	
															880
Arg	Phe	Val	Pro	Asn											
															885

A 3. AZONOSÍTÓ SZÁMÚ SZEKVENCIA ADATAI:

A SZEKVENCIA JELLEMZŐI:

HOSSZA: 20 aminosav

TÍPUSA: aminosav

HÁNY SZÁLÚ: nem releváns

TOPOLÓGIÁJA: lineáris

MOLEKULATÍPUS: fehérje

A 3. AZONOSÍTÓ SZÁMÚ SZEKVENCIA LEÍRÁSA:

Glu	His	Ser	Val	Gln	Ile	Cys	Pro	Phe	Ile	Ser	Ser	Arg	Lys	Pro	Gly
1					5								10		15

Arg Leu Phe Gln

20

A 4. AZONOSÍTÓ SZÁMÚ SZEKVENCIA ADATAI:

A SZEKVENCIA JELLEMZŐI:

HOSSZA: 6 aminosav

TÍPUSA: aminosav

HÁNY SZÁLÚ: nem releváns

TOPOLÓGIÁJA: lineáris

MOLEKULATÍPUS: fehérje

A 4. AZONOSÍTÓ SZÁMÚ SZEKVENCIA LEÍRÁSA:

Ser His Gln Leu Ser Thr

1 5

AZ 5. AZONOSÍTÓ SZÁMÚ SZEKVENCIA ADATAI:

A SZEKVENCIA JELLEMZŐI:

HOSSZA: 11 aminosav

TÍPUSA: aminosav

HÁNY SZÁLÚ: nem releváns

TOPOLÓGIÁJA: lineáris

MOLEKULATÍPUS: fehérje

AZ 5. AZONOSÍTÓ SZÁMÚ SZEKVENCIA LEÍRÁSA:

Arg Leu Cys Asn His Lys Asn Gln Thr Ile Arg

1 5 10

A 6. AZONOSÍTÓ SZÁMÚ SZEKVENCIA ADATAI:

A SZEKVENCIA JELLEMZŐI:

HOSSZA: 28 aminosav

TÍPUSA: aminosav

HÁNY SZÁLÚ: nem releváns

TOPOLÓGIÁJA: lineáris

MOLEKULATÍPUS: fehérje

A 6. AZONOSÍTÓ SZÁMÚ SZEKVENCIA LEÍRÁSA:

Ser	Lys	Arg	Lys	Ser	Glu	Lys	Ser	Ser	Lys	Trp	Ile	Ser	Ser	His	Leu
1				5					10					15	
Leu	Ser	Leu	Ala	Val	Leu	Arg	Cys	Cys	Val	Asn	Leu				
				20					25						

A 7. AZONOSÍTÓ SZÁMÚ SZEKVENCIA ADATAI:

A SZEKVENCIA JELLEMZŐI:

HOSSZA: 25 aminosav

TÍPUSA: aminosav

HÁNY SZÁLÚ: nem releváns

TOPOLÓGIÁJA: lineáris

MOLEKULATÍPUS: fehérje

A 7. AZONOSÍTÓ SZÁMÚ SZEKVENCIA LEÍRÁSA:

Ile	Trp	Arg	Arg	Glu	Glu	Asp	Ile	Arg	Leu	Ile	Leu	Asp	Lys	Pro	Ser
1				5					10					15	
Leu	Ile	Leu	Lys	Gln	Pro	Ser	Val	Thr							
				20				25							

A 8. AZONOSÍTÓ SZÁMÚ SZEKVENCIA ADATAI:

A SZEKVENCIA JELLEMZŐI:

HOSSZA: 6 aminosav

TÍPUSA: aminosav

HÁNY SZÁLÚ: nem releváns

TOPOLÓGIÁJA: lineáris

MOLEKULATÍPUS: fehérje

A 8. AZONOSÍTÓ SZÁMÚ SZEKVENCIA LEÍRÁSA:

Arg Pro Tyr Val Met Thr

1 5

A 9. AZONOSÍTÓ SZÁMÚ SZEKVENCIA ADATAI:

A SZEKVENCIA JELLEMZŐI:

HOSSZA: 8 aminosav

TÍPUSA: aminosav

HÁNY SZÁLÚ: nem releváns

TOPOLÓGIÁJA: lineáris

MOLEKULATÍPUS: fehérje

A 9. AZONOSÍTÓ SZÁMÚ SZEKVENCIA LEÍRÁSA:

Leu Tyr Gly Ser Asn Lys Thr Val

1 5

A 10. AZONOSÍTÓ SZÁMÚ SZEKVENCIA ADATAI:

A SZEKVENCIA JELLEMZŐI:

HOSSZA: 17 aminosav

TÍPUSA: aminosav

HÁNY SZÁLÚ: nem releváns

TOPOLÓGIÁJA: lineáris

MOLEKULATÍPUS: fehérje

A 10. AZONOSÍTÓ SZÁMÚ SZEKVENCIA LEÍRÁSA:

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

1 5 10 15

A 11. AZONOSÍTÓ SZÁMÚ SZEKVENCIA ADATAI:

A SZEKVENCIA JELLEMZŐI:

HOSSZA: 8 aminosav

TÍPUSA: aminosav

HÁNY SZÁLÚ: nem releváns

TOPOLÓGIÁJA: lineáris

MOLEKULATÍPUS: fehérje

A 11. AZONOSÍTÓ SZÁMÚ SZEKVENCIA LEÍRÁSA:

Arg Arg Leu Lys Gln Pro Tyr Phe

1 5

A 12. AZONOSÍTÓ SZÁMÚ SZEKVENCIA ADATAI:

A SZEKVENCIA JELLEMZŐI:

HOSSZA: 10 aminosav

TÍPUSA: aminosav

HÁNY SZÁLÚ: nem releváns

TOPOLÓGIÁJA: lineáris

MOLEKULATÍPUS: fehérje

A 12. AZONOSÍTÓ SZÁMÚ SZEKVENCIA LEÍRÁSA:

Gly Leu Gly Val Gly Asn Arg Gly Arg Glu

1 5 10

A 13. AZONOSÍTÓ SZÁMÚ SZEKVENCIA ADATAI:

A SZEKVENCIA JELLEMZŐI:

HOSSZA: 22 aminosav

TÍPUSA: aminosav

HÁNY SZÁLÚ: nem releváns

TOPOLÓGIÁJA: lineáris

MOLEKULATÍPUS: fehérje

A 13. AZONOSÍTÓ SZÁMÚ SZEKVENCIA LEÍRÁSA:

Gly Gly Asp Thr Ser Val Val Ser Val Val Pro Thr Thr Asn Cys Ala

1 5 10 15

Arg Arg Phe Leu Pro Tyr

20

A 14. AZONOSÍTÓ SZÁMÚ SZEKVENCIA ADATAI:

A SZEKVENCIA JELLEMZŐI:

HOSSZA: 5 aminosav

TÍPUSA: aminosav

HÁNY SZÁLÚ: nem releváns

TOPOLÓGIÁJA: lineáris

MOLEKULATÍPUS: fehérje

A 14. AZONOSÍTÓ SZÁMÚ SZEKVENCIA LEÍRÁSA:

Arg Ala Leu Val Ser

1 5

A 15. AZONOSÍTÓ SZÁMÚ SZEKVENCIA ADATAI:

A SZEKVENCIA JELLEMZŐI:

HOSSZA: 15 aminosav

TÍPUSA: aminosav

HÁNY SZÁLÚ: nem releváns

TOPOLÓGIÁJA: lineáris

MOLEKULATÍPUS: fehérje

A 15. AZONOSÍTÓ SZÁMÚ SZEKVENCIA LEÍRÁSA:

Glu Asn Ala Leu Lys Leu Ser Lys Gln Met Ala Gly Gln Phe Lys

1 5 10 15

A 16. AZONOSÍTÓ SZÁMÚ SZEKVENCIA ADATAI:

A SZEKVENCIA JELLEMZŐI:

HOSSZA: 15 aminosav

TÍPUSA: aminosav

HÁNY SZÁLÚ: nem releváns

TOPOLÓGIÁJA: lineáris

MOLEKULATÍPUS: fehérje

A 16. AZONOSÍTÓ SZÁMÚ SZEKVENCIA LEÍRÁSA:

Leu	Val	Glu	Arg	Tyr	Pro	Ser	Ser	Pro	Leu	Ser	Glu	Ile	Pro	Arg
1				5					10					15

A 17. AZONOSÍTÓ SZÁMÚ SZEKVENCIA ADATAI:

A SZEKVENCIA JELLEMZŐI:

HOSSZA: 29 aminosav

TÍPUSA: aminosav

HÁNY SZÁLÚ: nem releváns

TOPOLÓGIÁJA: lineáris

MOLEKULATÍPUS: fehérje

A 17. AZONOSÍTÓ SZÁMÚ SZEKVENCIA LEÍRÁSA:

Trp	Asn	Arg	Phe	Trp	Asn	Phe	Ser	Val	Lys	Lys	Lys	Lys	Glu	Glu	Ser
1				5					10					15	
Leu	Val	Phe	Met	Asp	Leu	Val	Gly	Leu	Gly	Arg	Gln	Arg			
				20					25						

A 18. AZONOSÍTÓ SZÁMÚ SZEKVENCIA ADATAI:

A SZEKVENCIA JELLEMZŐI:

HOSSZA: 7 aminosav

TÍPUSA: aminosav

HÁNY SZÁLÚ: nem releváns

TOPOLÓGIÁJA: lineáris

MOLEKULATÍPUS: fehérje

A 18. AZONOSÍTÓ SZÁMÚ SZEKVENCIA LEÍRÁSA:

Cys Arg Ala Leu Thr Thr Ser

1

5

A 19. AZONOSÍTÓ SZÁMÚ SZEKVENCIA ADATAI:

A SZEKVENCIA JELLEMZŐI:

HOSSZA: 9 aminosav

TÍPUSA: aminosav

HÁNY SZÁLÚ: nem releváns

TOPOLÓGIÁJA: lineáris

MOLEKULATÍPUS: fehérje

A 19. AZONOSÍTÓ SZÁMÚ SZEKVENCIA LEÍRÁSA:

Ser Gln Lys Asp Ile Ser Met Met Tyr

1

5

A 20. AZONOSÍTÓ SZÁMÚ SZEKVENCIA ADATAI:

A SZEKVENCIA JELLEMZŐI:

HOSSZA: 36 aminosav

TÍPUSA: aminosav

HÁNY SZÁLÚ: nem releváns

TOPOLÓGIÁJA: lineáris

MOLEKULATÍPUS: fehérje

A 20. AZONOSÍTÓ SZÁMÚ SZEKVENCIA LEÍRÁSA:

Phe Gly Phe Lys Cys Pro Glu Asn Ser Ala Ser Val Gln Phe Ser Lys

1

5

10

15

Pro Leu Glu His Gly Trp Val Tyr Leu Gly Thr Arg Arg Arg Pro Ala
20 25 30

Lys Thr Glu Leu
35

A 21. AZONOSÍTÓ SZÁMÚ SZEKVENCIA ADATAI:

A SZEKVENCIA JELLEMZŐI:

HOSSZA: 5 aminosav

TÍPUSA: aminosav

HÁNY SZÁLÚ: nem releváns

TOPOLÓGIÁJA: lineáris

MOLEKULATÍPUS: fehérje

A 21. AZONOSÍTÓ SZÁMÚ SZEKVENCIA LEÍRÁSA:

Arg Tyr Thr Glu Leu
1 5

A 22. AZONOSÍTÓ SZÁMÚ SZEKVENCIA ADATAI:

A SZEKVENCIA JELLEMZŐI:

HOSSZA: 8 aminosav

TÍPUSA: aminosav

HÁNY SZÁLÚ: nem releváns

TOPOLÓGIÁJA: lineáris

MOLEKULATÍPUS: fehérje

A 22. AZONOSÍTÓ SZÁMÚ SZEKVENCIA LEÍRÁSA:

Asp Arg Asn Val Ser Cys Cys Cys
1 5

A 23. AZONOSÍTÓ SZÁMÚ SZEKVENCIA ADATAI:

A SZEKVENCIA JELLEMZŐI:

HOSSZA: 6 aminosav

TÍPUSA: aminosav

HÁNY SZÁLÚ: nem releváns

TOPOLÓGIÁJA: lineáris

MOLEKULATÍPUS: fehérje

A 23. AZONOSÍTÓ SZÁMÚ SZEKVENCIA LEÍRÁSA:

Met Met Ser Gly Lys Arg

1 5

A 24. AZONOSÍTÓ SZÁMÚ SZEKVENCIA ADATAI:

A SZEKVENCIA JELLEMZŐI:

HOSSZA: 17 aminosav

TÍPUSA: aminosav

HÁNY SZÁLÚ: nem releváns

TOPOLÓGIÁJA: lineáris

MOLEKULATÍPUS: fehérje

A 24. AZONOSÍTÓ SZÁMÚ SZEKVENCIA LEÍRÁSA:

Thr Trp Arg Lys Leu Glu Phe Leu Asp Leu Thr Gly Lys Thr Asn Ala Arg

1 5 10 15

A 25. AZONOSÍTÓ SZÁMÚ SZEKVENCIA ADATAI:

A SZEKVENCIA JELLEMZŐI:

HOSSZA: 6 aminosav

TÍPUSA: aminosav

HÁNY SZÁLÚ: nem releváns

TOPOLÓGIÁJA: lineáris

MOLEKULATÍPUS: fehérje

A 25. AZONOSÍTÓ SZÁMÚ SZEKVENCIA LEÍRÁSA:

Cys Ser Arg His Gly Leu

1

5

A 26. AZONOSÍTÓ SZÁMÚ SZEKVENCIA ADATAI:

A SZEKVENCIA JELLEMZŐI:

HOSSZA: 11 aminosav

TÍPUSA: aminosav

HÁNY SZÁLÚ: nem releváns

TOPOLÓGIÁJA: lineáris

MOLEKULATÍPUS: fehérje

A 26. AZONOSÍTÓ SZÁMÚ SZEKVENCIA LEÍRÁSA:

His Tyr Ala Thr Ile Trp Val Arg Asn Thr Ser

1

5

10

A 27. AZONOSÍTÓ SZÁMÚ SZEKVENCIA ADATAI:

A SZEKVENCIA JELLEMZŐI:

HOSSZA: 23 aminosav

TÍPUSA: aminosav

HÁNY SZÁLÚ: nem releváns

TOPOLÓGIÁJA: lineáris

MOLEKULATÍPUS: fehérje

A 27. AZONOSÍTÓ SZÁMÚ SZEKVENCIA LEÍRÁSA:

Glu Trp Ser Phe Trp Arg Arg Asn Thr Arg Gly Ser Cys Ser Val Val

1

5

10

15

Arg Tyr Gly Glu Lys Ile Phe

20

A 28. AZONOSÍTÓ SZÁMÚ SZEKVENCIA ADATAI:

A SZEKVENCIA JELLEMZŐI:

HOSSZA: 11 aminosav

TÍPUSA: aminosav

HÁNY SZÁLÚ: nem releváns

TOPOLÓGIÁJA: lineáris

MOLEKULATÍPUS: fehérje

A 28. AZONOSÍTÓ SZÁMÚ SZEKVENCIA LEÍRÁSA:

Ser His His Gln Phe Ala Gly Ser Arg Arg Leu

1 5 10

A 29. AZONOSÍTÓ SZÁMÚ SZEKVENCIA ADATAI:

A SZEKVENCIA JELLEMZŐI:

HOSSZA: 7 aminosav

TÍPUSA: aminosav

HÁNY SZÁLÚ: nem releváns

TOPOLÓGIÁJA: lineáris

MOLEKULATÍPUS: fehérje

A 29. AZONOSÍTÓ SZÁMÚ SZEKVENCIA LEÍRÁSA:

Val Asn Val Glu Asp Cys His

1 5

A 30. AZONOSÍTÓ SZÁMÚ SZEKVENCIA ADATAI:

A SZEKVENCIA JELLEMZŐI:

HOSSZA: 19 aminosav

TÍPUSA: aminosav

HÁNY SZÁLÚ: nem releváns

TOPOLÓGIÁJA: lineáris

MOLEKULATÍPUS: fehérje

A 30. AZONOSÍTÓ SZÁMÚ SZEKVENCIA LEÍRÁSA:

Glu Glu Pro Trp Leu Ile Glu Arg Gln Lys Lys Ser Gly Ser Met Leu

1

5

10

15

Val Lys Phe

A 31. AZONOSÍTÓ SZÁMÚ SZEKVENCIA ADATAI:

A SZEKVENCIA JELLEMZŐI:

HOSSZA: 6 aminosav

TÍPUSA: aminosav

HÁNY SZÁLÚ: nem releváns

TOPOLÓGIÁJA: lineáris

MOLEKULATÍPUS: fehérje

A 31. AZONOSÍTÓ SZÁMÚ SZEKVENCIA LEÍRÁSA:

Leu Asp Phe Gln Gln Arg

1

5

A 32. AZONOSÍTÓ SZÁMÚ SZEKVENCIA ADATAI:

A SZEKVENCIA JELLEMZŐI:

HOSSZA: 6 aminosav

TÍPUSA: aminosav

HÁNY SZÁLÚ: nem releváns

TOPOLÓGIÁJA: lineáris

MOLEKULATÍPUS: fehérje

A 32. AZONOSÍTÓ SZÁMÚ SZEKVENCIA LEÍRÁSA:

Thr Met Tyr Leu Pro Phe

1

5

A 33. AZONOSÍTÓ SZÁMÚ SZEKVENCIA ADATAI:

A SZEKVENCIA JELLEMZŐI:

HOSSZA: 27 aminosav

TÍPUSA: aminosav

HÁNY SZÁLÚ: nem releváns

TOPOLÓGIÁJA: lineáris

MOLEKULATÍPUS: fehérje

A 33. AZONOSÍTÓ SZÁMÚ SZEKVENCIA LEÍRÁSA:

Asn Ser Ala Thr Thr Thr Ser Arg Val Ile Cys Phe Gly Leu Val Ser

1 5 10 15

Cys Thr Ala Leu Tyr Ser Gln Lys Asn Ile Leu

20 25

A 34. AZONOSÍTÓ SZÁMÚ SZEKVENCIA ADATAI:

A SZEKVENCIA JELLEMZŐI:

HOSSZA: 14 aminosav

TÍPUSA: aminosav

HÁNY SZÁLÚ: nem releváns

TOPOLÓGIÁJA: lineáris

MOLEKULATÍPUS: fehérje

A 34. AZONOSÍTÓ SZÁMÚ SZEKVENCIA LEÍRÁSA:

Lys Arg His Val Cys Trp Lys Pro Glu Met Arg Lys His Arg

1 5 10

A 35. AZONOSÍTÓ SZÁMÚ SZEKVENCIA ADATAI:

A SZEKVENCIA JELLEMZŐI:

HOSSZA: 33 aminosav

TÍPUSA: aminosav

HÁNY SZÁLÚ: nem releváns

TOPOLÓGIÁJA: lineáris

MOLEKULATÍPUS: fehérje

A 35. AZONOSÍTÓ SZÁMÚ SZEKVENCIA LEÍRÁSA:

Arg	Ser	Ser	Ser	Leu	Leu	Ser	Thr	Gly	Ser	Ala	Lys	Gly	Phe	Ser	Pro	
1				5					10					15		
Ala	Pro	Met	Ala	Leu	Thr	Pro	Phe	Thr	Arg	Asp	Ile	Phe	Ser	Leu	Gly	Ile
				20				25					30			

A 36. AZONOSÍTÓ SZÁMÚ SZEKVENCIA ADATAI:

A SZEKVENCIA JELLEMZŐI:

HOSSZA: 22 aminosav

TÍPUSA: aminosav

HÁNY SZÁLÚ: nem releváns

TOPOLÓGIÁJA: lineáris

MOLEKULATÍPUS: fehérje

A 36. AZONOSÍTÓ SZÁMÚ SZEKVENCIA LEÍRÁSA:

Arg	Cys	Ile	Met	Trp	Ser	Glu	Ala	Leu	His	Cys	Gly	Trp	His	Leu	Asn
1				5				10					15		
Arg	Gly	Leu	Ile	Arg	Ser										
				20											

A 37. AZONOSÍTÓ SZÁMÚ SZEKVENCIA ADATAI:

A SZEKVENCIA JELLEMZŐI:

HOSSZA: 20 aminosav

TÍPUSA: aminosav

HÁNY SZÁLÚ: nem releváns

TOPOLÓGIÁJA: lineáris

MOLEKULATÍPUS: fehérje

A 37. AZONOSÍTÓ SZÁMÚ SZEKVENCIA LEÍRÁSA:

Leu Ser Leu Ala Trp Asp Ile Leu Lys Leu Leu Lys Gln Lys Thr Gly
 1 5 10 15
 Asp Lys Arg Trp
 20

A 38. AZONOSÍTÓ SZÁMÚ SZEKVENCIA ADATAI:

A SZEKVENCIA JELLEMZŐI:

HOSSZA: 15 aminosav

TÍPUSA: aminosav

HÁNY SZÁLÚ: nem releváns

TOPOLÓGIÁJA: lineáris

MOLEKULATÍPUS: fehérje

A 38. AZONOSÍTÓ SZÁMÚ SZEKVENCIA LEÍRÁSA:

Ile Thr Glu Ser Arg Pro Cys Leu Lys Asn Ser Tyr Ala Arg Asn
 1 5 10 15

A 39. AZONOSÍTÓ SZÁMÚ SZEKVENCIA ADATAI:

A SZEKVENCIA JELLEMZŐI:

HOSSZA: 7 aminosav

TÍPUSA: aminosav

HÁNY SZÁLÚ: nem releváns

TOPOLÓGIÁJA: lineáris

MOLEKULATÍPUS: fehérje

A 39. AZONOSÍTÓ SZÁMÚ SZEKVENCIA LEÍRÁSA:

Cys Ser Asn Arg Thr Ala Leu
 1 5

A 40. AZONOSÍTÓ SZÁMÚ SZEKVENCIA ADATAI:

A SZEKVENCIA JELLEMZŐI:

HOSSZA: 46 aminosav

TÍPUSA: aminosav

HÁNY SZÁLÚ: nem releváns

TOPOLÓGIÁJA: lineáris

MOLEKULATÍPUS: fehérje

A 40. AZONOSÍTÓ SZÁMÚ SZEKVENCIA LEÍRÁSA:

Arg	Arg	Phe	Gln	Gln	Gly	Phe	Ser	Cys	Ile	Cys	Leu	Phe	Ser	Glu	Ser
1				5						10				15	
Trp	Thr	Cys	Arg	Ser	Gln	Val	Ser	Leu	Arg	Phe	Arg	Cys	Leu	Ser	Ser
				20					25				30		
Ile	Trp	Trp	Ser	Cys	Ile	Ile	Cys	Leu	Cys	Gln	Glu	Gln	Arg		
				35				40					45		

A 41. AZONOSÍTÓ SZÁMÚ SZEKVENCIA ADATAI:

A SZEKVENCIA JELLEMZŐI:

HOSSZA: 12 aminosav

TÍPUSA: aminosav

HÁNY SZÁLÚ: nem releváns

TOPOLÓGIÁJA: lineáris

MOLEKULATÍPUS: fehérje

A 41. AZONOSÍTÓ SZÁMÚ SZEKVENCIA LEÍRÁSA:

Val	Tyr	Cys	His	Arg	Ser	Leu	Gly	Ile	Leu	Glu	Asn
1					5					10	

A 42. AZONOSÍTÓ SZÁMÚ SZEKVENCIA ADATAI:

A SZEKVENCIA JELLEMZŐI:

HOSSZA: 21 aminosav

TÍPUSA: aminosav

HÁNY SZÁLÚ: nem releváns

TOPOLÓGIÁJA: lineáris

MOLEKULATÍPUS: fehérje

A 42. AZONOSÍTÓ SZÁMÚ SZEKVENCIA LEÍRÁSA:

Ser Ile Trp Thr Tyr Lys Glu Leu Ser Phe Phe Arg Arg Ser His Glu

1

5

10

15

Met Pro Tyr Val Gly

20

A 43. AZONOSÍTÓ SZÁMÚ SZEKVENCIA ADATAI:

A SZEKVENCIA JELLEMZŐI:

HOSSZA: 5 aminosav

TÍPUSA: aminosav

HÁNY SZÁLÚ: nem releváns

TOPOLÓGIÁJA: lineáris

MOLEKULATÍPUS: fehérje

A 43. AZONOSÍTÓ SZÁMÚ SZEKVENCIA LEÍRÁSA:

Ala Ser Ser Arg Phe

1

5

A 44. AZONOSÍTÓ SZÁMÚ SZEKVENCIA ADATAI:

A SZEKVENCIA JELLEMZŐI:

HOSSZA: 32 aminosav

TÍPUSA: aminosav

HÁNY SZÁLÚ: nem releváns

TOPOLÓGIÁJA: lineáris

MOLEKULATÍPUS: fehérje

A 44. AZONOSÍTÓ SZÁMÚ SZEKVENCIA LEÍRÁSA:

Thr Cys Thr Thr Val Thr Pro Val Gly Asn Cys Arg Ala Leu Glu Lys

1 5 10 15

Met Lys Gln Lys Asn Ser Asp Ser Leu Thr Trp Asn Thr Trp Lys Thr

20 25 30

A 45. AZONOSÍTÓ SZÁMÚ SZEKVENCIA ADATAI:

A SZEKVENCIA JELLEMZŐI:

HOSSZA: 12 aminosav

TÍPUSA: aminosav

HÁNY SZÁLÚ: nem releváns

TOPOLÓGIÁJA: lineáris

MOLEKULATÍPUS: fehérje

A 45. AZONOSÍTÓ SZÁMÚ SZEKVENCIA LEÍRÁSA:

Pro His Ser Val Ser Leu Phe Ser His Trp Arg Pro

1 5 10

A 46. AZONOSÍTÓ SZÁMÚ SZEKVENCIA ADATAI:

A SZEKVENCIA JELLEMZŐI:

HOSSZA: 38 aminosav

TÍPUSA: aminosav

HÁNY SZÁLÚ: nem releváns

TOPOLÓGIÁJA: lineáris

MOLEKULATÍPUS: fehérje

A 46. AZONOSÍTÓ SZÁMÚ SZEKVENCIA LEÍRÁSA:

Lys Leu Ser Ser Ser Ser Val Leu Cys Ile Asn Ile Tyr Ser Ile Ser
1 5 10 15
Thr Leu Lys Ser Ala Met Asn Ser Ser Thr Ser Ile Ser His His Ser
20 25 30
Leu Thr Met Ala Gly Thr
35

A 47. AZONOSÍTÓ SZÁMÚ SZEKVENCIA ADATAI:

A SZEKVENCIA JELLEMZŐI:

HOSSZA: 27 aminosav

TÍPUSA: aminosav

HÁNY SZÁLÚ: nem releváns

TOPOLÓGIÁJA: lineáris

MOLEKULATÍPUS: fehérje

A 47. AZONOSÍTÓ SZÁMÚ SZEKVENCIA LEÍRÁSA:

Glu Asp Leu Ala Leu Lys Val Ala Met Thr Trp Ser Thr Trp Ser His
1 5 10 15
Pro Gln Ile Leu Lys Met Ile Gly Phe Arg Val
20 25

A 48. AZONOSÍTÓ SZÁMÚ SZEKVENCIA ADATAI:

A SZEKVENCIA JELLEMZŐI:

HOSSZA: 7 aminosav

TÍPUSA: aminosav

HÁNY SZÁLÚ: nem releváns

TOPOLÓGIÁJA: lineáris

MOLEKULATÍPUS: fehérje

A 48. AZONOSÍTÓ SZÁMÚ SZEKVENCIA LEÍRÁSA:

Arg Tyr Thr Ala Phe Thr Thr

1 5

A 49. AZONOSÍTÓ SZÁMÚ SZEKVENCIA ADATAI:

A SZEKVENCIA JELLEMZŐI:

HOSSZA: 7 aminosav

TÍPUSA: aminosav

HÁNY SZÁLÚ: nem releváns

TOPOLÓGIÁJA: lineáris

MOLEKULATÍPUS: fehérje

A 49. AZONOSÍTÓ SZÁMÚ SZEKVENCIA LEÍRÁSA:

Pro Glu Cys Gly Glu Ile Leu

1 5

AZ 50. AZONOSÍTÓ SZÁMÚ SZEKVENCIA ADATAI:

A SZEKVENCIA JELLEMZŐI:

HOSSZA: 6 aminosav

TÍPUSA: aminosav

HÁNY SZÁLÚ: nem releváns

TOPOLÓGIÁJA: lineáris

MOLEKULATÍPUS: fehérje

AZ 50. AZONOSÍTÓ SZÁMÚ SZEKVENCIA LEÍRÁSA:

Phe Arg Asn Ser Gln Ser

1 5

AZ 51. AZONOSÍTÓ SZÁMÚ SZEKVENCIA ADATAI:

A SZEKVENCIA JELLEMZŐI:

HOSSZA: 10 aminosav

TÍPUSA: aminosav

HÁNY SZÁLÚ: nem releváns

TOPOLÓGIÁJA: lineáris

MOLEKULATÍPUS: fehérje

AZ 51. AZONOSÍTÓ SZÁMÚ SZEKVENCIA LEÍRÁSA:

Ala Lys Ile Val Cys Gly Ile Ser Val Ala

1	5	10
---	---	----

AZ 52. AZONOSÍTÓ SZÁMÚ SZEKVENCIA ADATAI:

A SZEKVENCIA JELLEMZŐI:

HOSSZA: 7 aminosav

TÍPUSA: aminosav

HÁNY SZÁLÚ: nem releváns

TOPOLÓGIÁJA: lineáris

MOLEKULATÍPUS: fehérje

AZ 52. AZONOSÍTÓ SZÁMÚ SZEKVENCIA LEÍRÁSA:

Thr Phe His Thr Ala Thr Ser

1	5
---	---

AZ 53. AZONOSÍTÓ SZÁMÚ SZEKVENCIA ADATAI:

A SZEKVENCIA JELLEMZŐI:

HOSSZA: 8 aminosav

TÍPUSA: aminosav

HÁNY SZÁLÚ: nem releváns

TOPOLÓGIÁJA: lineáris

MOLEKULATÍPUS: fehérje

AZ 53. AZONOSÍTÓ SZÁMÚ SZEKVENCIA LEÍRÁSA:

Leu Asn Cys Ser Thr Ala Glu Arg

1 5

AZ 54. AZONOSÍTÓ SZÁMÚ SZEKVENCIA ADATAI:

A SZEKVENCIA JELLEMZŐI:

HOSSZA: 16 aminosav

TÍPUSA: aminosav

HÁNY SZÁLÚ: nem releváns

TOPOLÓGIÁJA: lineáris

MOLEKULATÍPUS: fehérje

AZ 54. AZONOSÍTÓ SZÁMÚ SZEKVENCIA LEÍRÁSA:

Ala Asn Thr Arg Val His Pro Ser Lys Ile Gln His Cys Ser Gln Ala

1 5 10 15

AZ 55. AZONOSÍTÓ SZÁMÚ SZEKVENCIA ADATAI:

A SZEKVENCIA JELLEMZŐI:

HOSSZA: 7 aminosav

TÍPUSA: aminosav

HÁNY SZÁLÚ: nem releváns

TOPOLÓGIÁJA: lineáris

MOLEKULATÍPUS: fehérje

AZ 55. AZONOSÍTÓ SZÁMÚ SZEKVENCIA LEÍRÁSA:

Glu Leu Gly Ile Cys Gln Asn

1 5

AZ 56. AZONOSÍTÓ SZÁMÚ SZEKVENCIA ADATAI:

A SZEKVENCIA JELLEMZŐI:

HOSSZA: 15 aminosav

TÍPUSA: aminosav

HÁNY SZÁLÚ: nem releváns

TOPOLÓGIÁJA: lineáris

MOLEKULATÍPUS: fehérje

AZ 56. AZONOSÍTÓ SZÁMÚ SZEKVENCIA LEÍRÁSA:

Thr	Ala	Ser	Ser	His	Leu	Asp	Phe	His	Ser	Lys	Lys	Leu	Lys	His
1				5					10				15	

AZ 57. AZONOSÍTÓ SZÁMÚ SZEKVENCIA ADATAI:

A SZEKVENCIA JELLEMZŐI:

HOSSZA: 19 aminosav

TÍPUSA: aminosav

HÁNY SZÁLÚ: nem releváns

TOPOLÓGIÁJA: lineáris

MOLEKULATÍPUS: fehérje

AZ 57. AZONOSÍTÓ SZÁMÚ SZEKVENCIA LEÍRÁSA:

Ser	Ser	Gln	Ile	Ala	Pro	Glu	Leu	Arg	Asn	Cys	Arg	Phe	Arg	Arg	Gly
1				5				10					15		

Gly Pro Arg

AZ 58. AZONOSÍTÓ SZÁMÚ SZEKVENCIA ADATAI:

A SZEKVENCIA JELLEMZŐI:

HOSSZA: 47 aminosav

TÍPUSA: aminosav

HÁNY SZÁLÚ: nem releváns

TOPOLÓGIÁJA: lineáris

MOLEKULATÍPUS: fehérje

AZ 58 AZONOSÍTÓ SZÁMÚ SZEKVENCIA LEÍRÁSA:

Thr Cys Gln Gln Phe Ile Val Arg Arg Asn Gly Gly Lys His Trp Lys

1 5 10 15

Lys Ile Asn Gln Thr Lys Ser Phe Val Ile Tyr Arg Ala Leu Phe Gln

20 25 30

Ile Asp Ile Arg Ala Lys Ser Thr Leu Tyr Lys Tyr Val His Ser

35 40 45

AZ 59. AZONOSÍTÓ SZÁMÚ SZEKVENCIA ADATAI:

A SZEKVENCIA JELLEMZŐI:

HOSSZA: 33 aminosav

TÍPUSA: aminosav

HÁNY SZÁLÚ: nem releváns

TOPOLÓGIÁJA: lineáris

MOLEKULATÍPUS: fehérje

AZ 59. AZONOSÍTÓ SZÁMÚ SZEKVENCIA LEÍRÁSA:

Val Ala Gly Ser Gln Glu Gly Cys Ser Ser Glu Val Ile Asn Phe Pro

1 5 10 15

His Ser His Lys Thr Arg Asp Tyr Val Ile Ile Lys Thr Lys Leu Ser Ala

20 25 30

A 60. AZONOSÍTÓ SZÁMÚ SZEKVENCIA ADATAI:

A SZEKVENCIA JELLEMZŐI:

HOSSZA: 25 aminosav

TÍPUSA: aminosav

HÁNY SZÁLÚ: nem releváns

TOPOLÓGIÁJA: lineáris

MOLEKULATÍPUS: fehérje

A 60. AZONOSÍTÓ SZÁMÚ SZEKVENCIA LEÍRÁSA:

Val	Lys	Glu	Arg	Ala	Arg	Asn	His	Arg	Asn	Gly	Phe	His	Leu	Ile	Ser
1				5						10				15	
Tyr	Arg	Trp	Leu	Cys	Ser	Gly	Val	Val							
				20						25					

A 61. AZONOSÍTÓ SZÁMÚ SZEKVENCIA ADATAI:

A SZEKVENCIA JELLEMZŐI:

HOSSZA: 10 aminosav

TÍPUSA: aminosav

HÁNY SZÁLÚ: nem releváns

TOPOLÓGIÁJA: lineáris

MOLEKULATÍPUS: fehérje

A 61. AZONOSÍTÓ SZÁMÚ SZEKVENCIA LEÍRÁSA:

Ile	Tyr	Glu	Tyr	Gly	Gly	Glu	Lys	Arg	Thr
1				5					10

A 62. AZONOSÍTÓ SZÁMÚ SZEKVENCIA ADATAI:

A SZEKVENCIA JELLEMZŐI:

HOSSZA: 5 aminosav

TÍPUSA: aminosav

HÁNY SZÁLÚ: nem releváns

TOPOLÓGIÁJA: lineáris

MOLEKULATÍPUS: fehérje

A 62. AZONOSÍTÓ SZÁMÚ SZEKVENCIA LEÍRÁSA:

Leu Glu Gly His Thr

1 5

A 63. AZONOSÍTÓ SZÁMÚ SZEKVENCIA ADATAI:

A SZEKVENCIA JELLEMZŐI:

HOSSZA: 23 aminosav

TÍPUSA: aminosav

HÁNY SZÁLÚ: nem releváns

TOPOLÓGIÁJA: lineáris

MOLEKULATÍPUS: fehérje

A 63. AZONOSÍTÓ SZÁMÚ SZEKVENCIA LEÍRÁSA:

Pro Asp Phe Thr Asp Pro Thr Arg Arg Ser Arg Gly Thr Lys Leu Leu

1 5 10 15

Lys Ser Cys Gln Arg Val Ala

20

A 64. AZONOSÍTÓ SZÁMÚ SZEKVENCIA ADATAI:

A SZEKVENCIA JELLEMZŐI:

HOSSZA: 7 aminosav

TÍPUSA: aminosav

HÁNY SZÁLÚ: nem releváns

TOPOLÓGIÁJA: lineáris

MOLEKULATÍPUS: fehérje

A 64. AZONOSÍTÓ SZÁMÚ SZEKVENCIA LEÍRÁSA:

Cys Gly Ala Ser Asn Gly Asp

1 5

A 65. AZONOSÍTÓ SZÁMÚ SZEKVENCIA ADATAI:

A SZEKVENCIA JELLEMZŐI:

HOSSZA: 8 aminosav

TÍPUSA: aminosav

HÁNY SZÁLÚ: nem releváns

TOPOLÓGIÁJA: lineáris

MOLEKULATÍPUS: fehérje

A 65. AZONOSÍTÓ SZÁMÚ SZEKVENCIA LEÍRÁSA:

Asn Ser Pro Thr Phe Ser Glu Val

1 5

A 66. AZONOSÍTÓ SZÁMÚ SZEKVENCIA ADATAI:

A SZEKVENCIA JELLEMZŐI:

HOSSZA: 35 aminosav

TÍPUSA: aminosav

HÁNY SZÁLÚ: nem releváns

TOPOLÓGIÁJA: lineáris

MOLEKULATÍPUS: fehérje

A 66. AZONOSÍTÓ SZÁMÚ SZEKVENCIA LEÍRÁSA:

Ala Ser Gly Thr Glu Asp Ala Asn Glu Glu Glu Ile Pro Gln Leu Phe

1 5 10 15

Arg Leu Cys Arg Leu Gln Thr Val Gln Glu Gly Phe Cys His Ile Glu

20 25 30

Glu His Trp

35

A 67. AZONOSÍTÓ SZÁMÚ SZEKVENCIA ADATAI:

A SZEKVENCIA JELLEMZŐI:

HOSSZA: 5 aminosav

TÍPUSA: aminosav

HÁNY SZÁLÚ: nem releváns

TOPOLÓGIÁJA: lineáris

MOLEKULATÍPUS: fehérje

A 67. AZONOSÍTÓ SZÁMÚ SZEKVENCIA LEÍRÁSA:

Ala Glu Arg Thr Leu

1 5

A 68. AZONOSÍTÓ SZÁMÚ SZEKVENCIA ADATAI:

A SZEKVENCIA JELLEMZŐI:

HOSSZA: 13 aminosav

TÍPUSA: aminosav

HÁNY SZÁLÚ: nem releváns

TOPOLÓGIÁJA: lineáris

MOLEKULATÍPUS: fehérje

A 68. AZONOSÍTÓ SZÁMÚ SZEKVENCIA LEÍRÁSA:

Ser Tyr Gln Asn Arg Trp Arg Val Asn Ser Ser Asn Leu

1 5 10

A 69. AZONOSÍTÓ SZÁMÚ SZEKVENCIA ADATAI:

A SZEKVENCIA JELLEMZŐI:

HOSSZA: 22 aminosav

TÍPUSA: aminosav

HÁNY SZÁLÚ: nem releváns

TOPOLÓGIÁJA: lineáris

MOLEKULATÍPUS: fehérje

A 69. AZONOSÍTÓ SZÁMÚ SZEKVENCIA LEÍRÁSA:

Arg	Asp	Thr	His	Gln	Val	Arg	Cys	Arg	Lys	Tyr	His	Asp	Asp	Gly	Thr
1				5					10					15	
Gly Phe Gly Ile Ser Gln															
20															

A 70. AZONOSÍTÓ SZÁMÚ SZEKVENCIA ADATAI:

A SZEKVENCIA JELLEMZŐI:

HOSSZA: 24 aminosav

TÍPUSA: aminosav

HÁNY SZÁLÚ: nem releváns

TOPOLÓGIÁJA: lineáris

MOLEKULATÍPUS: fehérje

A 70. AZONOSÍTÓ SZÁMÚ SZEKVENCIA LEÍRÁSA:

Arg	Arg	Arg	Lys	Arg	Asn	His	Trp	Cys	Leu	Trp	Thr	Trp	Trp	Gly	Trp
1				5					10					15	
Glu Asp Asn Val Asn Ala Glu His															
20															

A 71. AZONOSÍTÓ SZÁMÚ SZEKVENCIA ADATAI:

A SZEKVENCIA JELLEMZŐI:

HOSSZA: 10 aminosav

TÍPUSA: aminosav

HÁNY SZÁLÚ: nem releváns

TOPOLÓGIÁJA: lineáris

MOLEKULATÍPUS: fehérje

A 71. AZONOSÍTÓ SZÁMÚ SZEKVENCIA LEÍRÁSA:

Gln Arg Ala Asp His Lys Arg Thr Ser Val

1 5 10

A 72. AZONOSÍTÓ SZÁMÚ SZEKVENCIA ADATAI:

A SZEKVENCIA JELLEMZŐI:

HOSSZA: 55 aminosav

TÍPUSA: aminosav

HÁNY SZÁLÚ: nem releváns

TOPOLÓGIÁJA: lineáris

MOLEKULATÍPUS: fehérje

A 72. AZONOSÍTÓ SZÁMÚ SZEKVENCIA LEÍRÁSA:

Cys Thr Asp Leu Gly Ser Asn Val Gln Arg Ile Arg Arg Val Tyr Asn

1 5 10 15

Ser Ala Ser Arg Trp Ser Thr Val Gly Phe Ile Leu Gly Arg Glu Gly

20 25 30

Asp Arg Arg Lys Gln Ser Phe Glu Asp Ile Gln Ser Phe Glu Thr Glu

35 40 45

Thr Phe Leu Val Val Ala Arg

50 55

A 73. AZONOSÍTÓ SZÁMÚ SZEKVENCIA ADATAI:

A SZEKVENCIA JELLEMZŐI:

HOSSZA: 15 aminosav

TÍPUSA: aminosav

HÁNY SZÁLÚ: nem releváns

TOPOLÓGIÁJA: lineáris

MOLEKULATÍPUS: fehérje

A 73. AZONOSÍTÓ SZÁMÚ SZEKVENCIA LEÍRÁSA:

Cys Leu Gly Arg Asp Arg Leu Gly Glu Asn Trp Ser Ser Ser Thr
 1 5 10 15

A 74. AZONOSÍTÓ SZÁMÚ SZEKVENCIA ADATAI:

A SZEKVENCIA JELLEMZŐI:

HOSSZA: 9 aminosav

TÍPUSA: aminosav

HÁNY SZÁLÚ: nem releváns

TOPOLÓGIÁJA: lineáris

MOLEKULATÍPUS: fehérje

A 74. AZONOSÍTÓ SZÁMÚ SZEKVENCIA LEÍRÁSA:

Arg Asp Arg Arg Arg Val Asp Pro Cys
 1 5

A 75. AZONOSÍTÓ SZÁMÚ SZEKVENCIA ADATAI:

A SZEKVENCIA JELLEMZŐI:

HOSSZA: 41 aminosav

TÍPUSA: aminosav

HÁNY SZÁLÚ: nem releváns

TOPOLÓGIÁJA: lineáris

MOLEKULATÍPUS: fehérje

A 75. AZONOSÍTÓ SZÁMÚ SZEKVENCIA LEÍRÁSA:

Gln Gly Lys Gln Met Gln Gly Asp Val His Asp Thr Val Tyr Ser Ile
 1 5 10 15
 Met Gln Gln Tyr Gly Cys Gly Ile Gln Val Glu Ser Gly Val Ser Gly
 20 25 30
 Glu Glu Thr Arg Val Gly Ala Val Leu
 35 40

A 76. AZONOSÍTÓ SZÁMÚ SZEKVENCIA ADATAI:

A SZEKVENCIA JELLEMZŐI:

HOSSZA: 21 aminosav

TÍPUSA: aminosav

HÁNY SZÁLÚ: nem releváns

TOPOLÓGIÁJA: lineáris

MOLEKULATÍPUS: fehérje

A 76. AZONOSÍTÓ SZÁMÚ SZEKVENCIA LEÍRÁSA:

Gly Met Glu Lys Arg Ser Phe Arg Val Ile Ile Asn Ser Pro Ala Arg

1 5 10 15

Gly Asp Tyr Ser Glu

20

A 77. AZONOSÍTÓ SZÁMÚ SZEKVENCIA ADATAI:

A SZEKVENCIA JELLEMZŐI:

HOSSZA: 17 aminosav

TÍPUSA: aminosav

HÁNY SZÁLÚ: nem releváns

TOPOLÓGIÁJA: lineáris

MOLEKULATÍPUS: fehérje

A 77. AZONOSÍTÓ SZÁMÚ SZEKVENCIA LEÍRÁSA:

Met Trp Arg Ile Ala Thr Ser Val Asp His Phe Arg Arg Ser His Gly Ser

1 5 10 15

A 78. AZONOSÍTÓ SZÁMÚ SZEKVENCIA ADATAI:

A SZEKVENCIA JELLEMZŐI:

HOSSZA: 24 aminosav

TÍPUSA: aminosav

HÁNY SZÁLÚ: nem releváns

TOPOLÓGIÁJA: lineáris

MOLEKULATÍPUS: fehérje

A 78. AZONOSÍTÓ SZÁMÚ SZEKVENCIA LEÍRÁSA:

Ile Ser Ser Arg Asp Glu Gly Tyr Glu Leu Cys Ile Cys Pro Phe Glu

1 5 10 15

Ile Gln Leu Arg Gln Pro Arg Glu

20

A 79. AZONOSÍTÓ SZÁMÚ SZEKVENCIA ADATAI:

A SZEKVENCIA JELLEMZŐI:

HOSSZA: 24 aminosav

TÍPUSA: aminosav

HÁNY SZÁLÚ: nem releváns

TOPOLÓGIÁJA: lineáris

MOLEKULATÍPUS: fehérje

A 79. AZONOSÍTÓ SZÁMÚ SZEKVENCIA LEÍRÁSA:

Ser Ala Ser Val Leu Phe Leu Val Leu Arg Phe Ile Pro Arg Arg Thr

1 5 10 15

Phe Tyr Arg Asp Arg Ala Ala Cys

20

A 80. AZONOSÍTÓ SZÁMÚ SZEKVENCIA ADATAI:

A SZEKVENCIA JELLEMZŐI:

HOSSZA: 14 aminosav

TÍPUSA: aminosav

HÁNY SZÁLÚ: nem releváns

TOPOLÓGIÁJA: lineáris

MOLEKULATÍPUS: fehérje

A 80. AZONOSÍTÓ SZÁMÚ SZEKVENCIA LEÍRÁSA:

Val Leu Gly Arg Arg Arg Val Ser His Gln Leu Pro Trp Arg

1

5

10

A 81. AZONOSÍTÓ SZÁMÚ SZEKVENCIA ADATAI:

A SZEKVENCIA JELLEMZŐI:

HOSSZA: 22 aminosav

TÍPUSA: aminosav

HÁNY SZÁLÚ: nem releváns

TOPOLÓGIÁJA: lineáris

MOLEKULATÍPUS: fehérje

A 81. AZONOSÍTÓ SZÁMÚ SZEKVENCIA LEÍRÁSA:

His His Leu Gln Gly Ile Phe Ser His Trp Gly Ser Glu Ser Gly Met

1

5

10

15

Phe Val Gly Asn Arg Arg

20

A 82. AZONOSÍTÓ SZÁMÚ SZEKVENCIA ADATAI:

A SZEKVENCIA JELLEMZŐI:

HOSSZA: 7 aminosav

TÍPUSA: aminosav

HÁNY SZÁLÚ: nem releváns

TOPOLÓGIÁJA: lineáris

MOLEKULATÍPUS: fehérje

A 82. AZONOSÍTÓ SZÁMÚ SZEKVENCIA LEÍRÁSA:

Glu Asn Thr Gly Glu Asp Ala

1 5

A 83. AZONOSÍTÓ SZÁMÚ SZEKVENCIA ADATAI:

A SZEKVENCIA JELLEMZŐI:

HOSSZA: 43 aminosav

TÍPUSA: aminosav

HÁNY SZÁLÚ: nem releváns

TOPOLÓGIÁJA: lineáris

MOLEKULATÍPUS: fehérje

A 83. AZONOSÍTÓ SZÁMÚ SZEKVENCIA LEÍRÁSA:

Lys Thr His Met Pro Glu Thr Asp Asn Thr Asp Ala Pro Thr Glu Gly

1 5 10 15

Leu Phe Glu Glu Asp Ser Asn Arg Val Phe His Ala Tyr Ala Cys Ser

20 25 30

Gln Ser Leu Gly Leu Val Val His Lys Tyr His

35 40

A 84. AZONOSÍTÓ SZÁMÚ SZEKVENCIA ADATAI:

A SZEKVENCIA JELLEMZŐI:

HOSSZA: 11 aminosav

TÍPUSA: aminosav

HÁNY SZÁLÚ: nem releváns

TOPOLÓGIÁJA: lineáris

MOLEKULATÍPUS: fehérje

A 84. AZONOSÍTÓ SZÁMÚ SZEKVENCIA LEÍRÁSA:

Cys Gly Gln Lys Leu Cys Ile Val Asp Gly Ile

1 5 10

A 85. AZONOSÍTÓ SZÁMÚ SZEKVENCIA ADATAI:

A SZEKVENCIA JELLEMZŐI:

HOSSZA: 5 aminosav

TÍPUSA: aminosav

HÁNY SZÁLÚ: nem releváns

TOPOLÓGIÁJA: lineáris

MOLEKULATÍPUS: fehérje

A 85. AZONOSÍTÓ SZÁMÚ SZEKVENCIA LEÍRÁSA:

Gly Ala Asp Pro Ser

1 5

A 86. AZONOSÍTÓ SZÁMÚ SZEKVENCIA ADATAI:

A SZEKVENCIA JELLEMZŐI:

HOSSZA: 14 aminosav

TÍPUSA: aminosav

HÁNY SZÁLÚ: nem releváns

TOPOLÓGIÁJA: lineáris

MOLEKULATÍPUS: fehérje

A 86. AZONOSÍTÓ SZÁMÚ SZEKVENCIA LEÍRÁSA:

Ser Arg Lys Leu Ala Thr Ser Val Gly Asp Leu Ile Val Arg

1 5 10

A 87. AZONOSÍTÓ SZÁMÚ SZEKVENCIA ADATAI:

A SZEKVENCIA JELLEMZŐI:

HOSSZA: 6 aminosav

TÍPUSA: aminosav

HÁNY SZÁLÚ: nem releváns

TOPOLÓGIÁJA: lineáris

MOLEKULATÍPUS: fehérje

A 87. AZONOSÍTÓ SZÁMÚ SZEKVENCIA LEÍRÁSA:

Gln Asn Pro Asp Leu Ala

1 5

A 88. AZONOSÍTÓ SZÁMÚ SZEKVENCIA ADATAI:

A SZEKVENCIA JELLEMZŐI:

HOSSZA: 31 aminosav

TÍPUSA: aminosav

HÁNY SZÁLÚ: nem releváns

TOPOLÓGIÁJA: lineáris

MOLEKULATÍPUS: fehérje

A 88. AZONOSÍTÓ SZÁMÚ SZEKVENCIA LEÍRÁSA:

Asp Ser Val Val Tyr Gln Val Phe Gly Gly Val Val Ser Ser Val Tyr

1 5 10 15

Val Arg Asn Lys Asp Lys Cys Ile Ala Thr Gly Ala Trp Glu Ser

20 25 30

A 89. AZONOSÍTÓ SZÁMÚ SZEKVENCIA ADATAI:

A SZEKVENCIA JELLEMZŐI:

HOSSZA: 47 aminosav

TÍPUSA: aminosav

HÁNY SZÁLÚ: nem releváns

TOPOLÓGIÁJA: lineáris

MOLEKULATÍPUS: fehérje

A 89. AZONOSÍTÓ SZÁMÚ SZEKVENCIA LEÍRÁSA:

Lys	Thr	Glu	Ala	Ser	Gly	Pro	Thr	Lys	Asn	Ser	Val	Ser	Ser	Asp	Asp
1				5				10						15	
Pro	Thr	Arg	Cys	His	Met	Leu	Ala	Glu	Gln	Ala	Arg	Gly	Ser	Glu	Leu
				20				25						30	
Val	Leu	Gln	Leu	Arg	Arg	Leu	Gly	Thr	Ala	Glu	Leu	Trp	Arg	Arg	
				35				40						45	

A 90. AZONOSÍTÓ SZÁMÚ SZEKVENCIA ADATAI:

A SZEKVENCIA JELLEMZŐI:

HOSSZA: 7 aminosav

TÍPUSA: aminosav

HÁNY SZÁLÚ: nem releváns

TOPOLÓGIÁJA: lineáris

MOLEKULATÍPUS: fehérje

A 90. AZONOSÍTÓ SZÁMÚ SZEKVENCIA LEÍRÁSA:

Ser	Arg	Arg	Thr	Arg	Ile	Arg
1				5		

A 91. AZONOSÍTÓ SZÁMÚ SZEKVENCIA ADATAI:

A SZEKVENCIA JELLEMZŐI:

HOSSZA: 30 aminosav

TÍPUSA: aminosav

HÁNY SZÁLÚ: nem releváns

TOPOLÓGIÁJA: lineáris

MOLEKULATÍPUS: fehérje

A 91. AZONOSÍTÓ SZÁMÚ SZEKVENCIA LEÍRÁSA:

Leu	Gly	Ile	Leu	Gly	Lys	Pro	Asn	His	Thr	Arg	Tyr	His	Cys	Ser	Leu
1				5					10					15	
Ile	Gly	Asp	Pro	Lys	Asn	Ser	Leu	Arg	Val	Arg	Cys	Phe	Ala		
			20					25					30		

A 92. AZONOSÍTÓ SZÁMÚ SZEKVENCIA ADATAI:

A SZEKVENCIA JELLEMZŐI:

HOSSZA: 7 aminosav

TÍPUSA: aminosav

HÁNY SZÁLÚ: nem releváns

TOPOLÓGIÁJA: lineáris

MOLEKULATÍPUS: fehérje

A 92. AZONOSÍTÓ SZÁMÚ SZEKVENCIA LEÍRÁSA:

Thr	Tyr	Thr	Ala	Ser	Pro	Arg
1				5		

A 93. AZONOSÍTÓ SZÁMÚ SZEKVENCIA ADATAI:

A SZEKVENCIA JELLEMZŐI:

HOSSZA: 10 aminosav

TÍPUSA: aminosav

HÁNY SZÁLÚ: nem releváns

TOPOLÓGIÁJA: lineáris

MOLEKULATÍPUS: fehérje

A 93. AZONOSÍTÓ SZÁMÚ SZEKVENCIA LEÍRÁSA:

Thr	Pro	Leu	Leu	Gln	Ser	Pro	Ile	Thr	His
1				5				10	

A 94. AZONOSÍTÓ SZÁMÚ SZEKVENCIA ADATAI:

A SZEKVENCIA JELLEMZŐI:

HOSSZA: 8 aminosav

TÍPUSA: aminosav

HÁNY SZÁLÚ: nem releváns

TOPOLÓGIÁJA: lineáris

MOLEKULATÍPUS: fehérje

A 94. AZONOSÍTÓ SZÁMÚ SZEKVENCIA LEÍRÁSA:

Pro Trp Gln Glu Pro Glu Lys Thr

1

5

A 95. AZONOSÍTÓ SZÁMÚ SZEKVENCIA ADATAI:

A SZEKVENCIA JELLEMZŐI:

HOSSZA: 10 aminosav

TÍPUSA: aminosav

HÁNY SZÁLÚ: nem releváns

TOPOLÓGIÁJA: lineáris

MOLEKULATÍPUS: fehérje

A 95. AZONOSÍTÓ SZÁMÚ SZEKVENCIA LEÍRÁSA:

Leu Gly Val Pro Gly His Thr Arg Arg Phe

1

5

10

A 96. AZONOSÍTÓ SZÁMÚ SZEKVENCIA ADATAI:

A SZEKVENCIA JELLEMZŐI:

HOSSZA: 58 aminosav

TÍPUSA: aminosav

HÁNY SZÁLÚ: nem releváns

TOPOLÓGIÁJA: lineáris

MOLEKULATÍPUS: fehérje

A 96. AZONOSÍTÓ SZÁMÚ SZEKVENCIA LEÍRÁSA:

Leu	Ala	Ser	Glu	Ser	Arg	Gly	Ser	Asp	Val	Thr	Gln	Pro	Ser	Gln	Leu
1				5						10				15	
Asn	Gln	Ser	Val	Gly	Lys	Phe	Cys	Lys	Pro	Arg	Leu	Ser	Ala	Glu	Tyr
				20				25					30		
Pro	Leu	His	Lys	His	Phe	Thr	Leu	Gln	Gln	Ala	Glu	Glu	Cys	Leu	Met
			35				40					45			
Gly	Ser	Glu	Thr	Pro	Lys	Ala	Arg	Gly	Asp						
			50				55								

A 97. AZONOSÍTÓ SZÁMÚ SZEKVENCIA ADATAI:

A SZEKVENCIA JELLEMZŐI:

HOSSZA: 33 aminosav

TÍPUSA: aminosav

HÁNY SZÁLÚ: nem releváns

TOPOLÓGIÁJA: lineáris

MOLEKULATÍPUS: fehérje

A 97. AZONOSÍTÓ SZÁMÚ SZEKVENCIA LEÍRÁSA:

Thr	Val	Arg	Leu	Gln	Arg	Asp	Arg	Gly	Ile	Asp	Lys	Arg	Thr	Arg	Glu
1				5					10				15		
Ser	Ile	Arg	Arg	Arg	Ser	Asn	Ile	Val	Pro	Lys	Pro	Glu	Asp	Leu	Glu
				20				25				30			

A 98. AZONOSÍTÓ SZÁMÚ SZEKVENCIA ADATAI:

A SZEKVENCIA JELLEMZŐI:

HOSSZA: 18 aminosav

TÍPUSA: aminosav

HÁNY SZÁLÚ: nem releváns

TOPOLÓGIÁJA: lineáris

MOLEKULATÍPUS: fehérje

A 98. AZONOSÍTÓ SZÁMÚ SZEKVENCIA LEÍRÁSA:

Gly	Ser	Ala	Arg	Thr	Lys	Gln	His	Pro	Pro	Ile	Ser	Ile	Phe	Ile	Pro
1				5					10					15	

Lys Ser

A 99. AZONOSÍTÓ SZÁMÚ SZEKVENCIA ADATAI:

A SZEKVENCIA JELLEMZŐI:

HOSSZA: 100 aminosav

TÍPUSA: aminosav

HÁNY SZÁLÚ: nem releváns

TOPOLÓGIÁJA: lineáris

MOLEKULATÍPUS: fehérje

A 99. AZONOSÍTÓ SZÁMÚ SZEKVENCIA LEÍRÁSA:

Asn	Ile	Ser	His	His	Lys	Leu	Pro	Gln	Ser
1				5				10	

A 100. AZONOSÍTÓ SZÁMÚ SZEKVENCIA ADATAI:

A SZEKVENCIA JELLEMZŐI:

HOSSZA: 18 aminosav

TÍPUSA: aminosav

HÁNY SZÁLÚ: nem releváns

TOPOLÓGIÁJA: lineáris

MOLEKULATÍPUS: fehérje

A 100. AZONOSÍTÓ SZÁMÚ SZEKVENCIA LEÍRÁSA:

Glu Thr Ala Val Ser Gly Glu Glu Asp Pro Asp Glu Leu Ala Asn Ser
1 5 10 15
Leu Leu

A 101. AZONOSÍTÓ SZÁMÚ SZEKVENCIA ADATAI:

A SZEKVENCIA JELLEMZŐI:

HOSSZA: 20 bázispár

TÍPUSA: nukleinsav

HÁNY SZÁLÚ: nem releváns

TOPOLÓGIÁJA: lineáris

MOLEKULATÍPUS: fehérje

A 101. AZONOSÍTÓ SZÁMÚ SZEKVENCIA LEÍRÁSA:

GGTAGTGAGT AGAGAATAAC 20

A 102. AZONOSÍTÓ SZÁMÚ SZEKVENCIA ADATAI:

A SZEKVENCIA JELLEMZŐI:

HOSSZA: 13 aminosav

TÍPUSA: aminosav

HÁNY SZÁLÚ: nem releváns

TOPOLÓGIÁJA: lineáris

MOLEKULATÍPUS: fehérje

A 102. AZONOSÍTÓ SZÁMÚ SZEKVENCIA LEÍRÁSA:

Glu Leu Arg Ala Leu Cys Thr Asn Met Ser Ile His Lys
1 5 10

A 103. AZONOSÍTÓ SZÁMÚ SZEKVENCIA ADATAI:

A SZEKVENCIA JELLEMZŐI:

HOSSZA: 23 aminosav

TÍPUSA: aminosav

HÁNY SZÁLÚ: nem releváns

TOPOLÓGIÁJA: lineáris

MOLEKULATÍPUS: fehérje

A 103. AZONOSÍTÓ SZÁMÚ SZEKVENCIA LEÍRÁSA:

Gln Glu Ala Arg Lys Val Val Pro Val Lys Ser Ser Thr Phe His Ile

1 5 10 15

Ala Thr Lys Leu Glu Ile Met

20

A 104. AZONOSÍTÓ SZÁMÚ SZEKVENCIA ADATAI:

A SZEKVENCIA JELLEMZŐI:

HOSSZA: 6 aminosav

TÍPUSA: aminosav

HÁNY SZÁLÚ: nem releváns

TOPOLÓGIÁJA: lineáris

MOLEKULATÍPUS: fehérje

A 104. AZONOSÍTÓ SZÁMÚ SZEKVENCIA LEÍRÁSA:

Lys Pro Asn Tyr Pro Arg

1 5

A 105. AZONOSÍTÓ SZÁMÚ SZEKVENCIA ADATAI:

A SZEKVENCIA JELLEMZŐI:

HOSSZA: 1491 bázispár

TÍPUSA: nukleinsav

HÁNY SZÁLÚ: egy

TOPOLOGIÁJA: lineáris

MOLEKULATÍPUS: genomi DNS

A 105. AZONOSÍTÓ SZÁMÚ SZEKVENCIA LEÍRÁSA:

ATCGATTGAT CTCTGGCTCA GTGCGAGTAG TCCATTTGAG AGCAGTCGTA GCCCCGCGTG	60
GCGCATCATG GAGCTATTTG GAATTTTCGC AGGGTTATCG ATTCGTAGTG GGAACCCATT	120
CATTGTTTGG AACCACCAAC GGACGACTTA ACAAGTCCC CGAGGTGCAT GATGAAAATT	180
GCTCCAGTTG CCATAAATCA CAGCCCCTC AGCAGGGAGG TCCCGTCACA CGCGGCACCC	240
ACTCAGGCAA AGCAAACCAA CCTTCAATCT GAAGCTGGCG ATTTAGATGC AAGAAAAAGT	300
AGCGCTTCAA GCCCGGAAAC CCGCGCATT CTGCTACTA AGACAGTACT CGGGAGACAC	360
AAGATAGAGG TTCCGGCCTT TGGAGGGTGG TTCAAAAAGA AATCATCTAA GCACGAGACG	420
GGCGGTTCAA GTGCCAACGC AGATAGTTCG AGCGTGGCTT CCGATTCCAC CGAAAAACCT	480
TTGTTCCGTC TCACGCACGT TCCTTACGTA TCCCAAGGTA ATGAGCGAAT GGGATGTTGG	540
TATGCCTGCG CAAGAATGGT TGGCCATTCT GTCGAAGCTG GGCCTCGCCT AGGGCTGCCG	600
GAGCTCTATG AGGGAAGGGA GGCGCCAGCT GGGCTACAAG ATTTTTCAGA TG TAGAAAGG	660
TTTATTCACA ATGAAGGATT AACTCGGGTA GACCTTCCAG ACAATGAGAG ATTTACACAC	720
GAAGAGTTGG GTGCACTGTT GTATAAGCAC GGGCCGATTA TATTTGGGTG GAAAACTCCG	780
AATGACAGCT GGCACATGTC GGTCTCACT GGTGTCGATA AAGAGACGTC GTCCATTACT	840
TTTCACGATC CCCGACAGGG GCCGGACCTA GCAATGCCGC TCGATTACTT TAATCAGCGA	900
TTGGCATGGC AGGTTCCACA CGCAATGCTC TACCGCTAAG TAGCAGGGTA TCTTCACGTG	960
GCGGCATCAT GACAAGCCCA TGATGCCGCC AGCAGCTACC TGAATGCCGT CTGGCTTTTT	1020
GGTCCCATT GTCGTATCCG GAAGATGACG TCAAAGAATC TCGGCAAGAG CTTTCTTGCT	1080
CGACTCCTCA GCTTCGGAT CGATCAGGTC GCTTGCCAGA GCGCGCTTGT CCATGAGCAT	1140
CTGCCACAGC TGCTGGTCGA TGGTGTCTC AGCTAAAGGG ATTTTGACGA CAACCATGCG	1200
CAACTGCCCC TTGCGATACG CTCGATCCTG AAGCCCCGGT GTCCATGGCA GCCCAAGAA	1260
AAAGACATAG TTCGCCGCTG TGAGGTTGTA GCCTGTGCCG GCGGCCGACC TGGTCCCGAT	1320
AAACACCCTG CAGTCCGGAT CCTGCTGGAA AGCATCAATC GCCTTCTGCC GCTTCTGGG	1380
CGAGTCACTG CCCACCAACG TCACGCACCC GACGCCAAGC TTGAGGCAGT GCTCCCGCAA	1440
CGTGCCACG GATTCTGAT ACTCGCAGAA GAGGATCACC TTGTCGTCGA C	1491

A 106. AZONOSÍTÓ SZÁMÚ SZEKVENCIA ADATAI:

A SZEKVENCIA JELLEMZŐI:

HOSSZA: 255 aminosav

TÍPUSA: aminosav

HÁNY SZÁLÚ: nem releváns

TOPOLÓGIÁJA: lineáris

MOLEKULATÍPUS: fehérje

A 106. AZONOSÍTÓ SZÁMÚ SZEKVENCIA LEÍRÁSA:

Met	Lys	Ile	Ala	Pro	Val	Ala	Ile	Asn	His	Ser	Pro	Leu	Ser	Arg	Glu
1				5						10					15
Val	Pro	Ser	His	Ala	Ala	Pro	Thr	Gln	Ala	Lys	Gln	Thr	Asn	Leu	Gln
				20					25					30	
Ser	Glu	Ala	Gly	Asp	Leu	Asp	Ala	Arg	Lys	Ser	Ser	Ala	Ser	Ser	Pro
				35				40						45	
Glu	Thr	Arg	Ala	Leu	Leu	Ala	Thr	Lys	Thr	Val	Leu	Gly	Arg	His	Lys
				50				55					60		
Ile	Glu	Val	Pro	Ala	Phe	Gly	Gly	Trp	Phe	Lys	Lys	Lys	Ser	Ser	Lys
65					70					75					80
His	Glu	Thr	Gly	Gly	Ser	Ser	Ala	Asn	Ala	Asp	Ser	Ser	Ser	Val	Ala
					85				90					95	
Ser	Asp	Ser	Thr	Glu	Lys	Pro	Leu	Phe	Arg	Leu	Thr	His	Val	Pro	Tyr
					100				105					110	
Val	Ser	Gln	Gly	Asn	Glu	Arg	Met	Gly	Cys	Trp	Tyr	Ala	Cys	Ala	Arg
					115				120					125	
Met	Val	Gly	His	Ser	Val	Glu	Ala	Gly	Pro	Arg	Leu	Gly	Leu	Pro	Glu
					130				135					140	

Leu Tyr Glu Gly Arg Glu Ala Pro Ala Gly Leu Gln Asp Phe Ser Asp
145 150 155 160
Val Glu Arg Phe Ile His Asn Glu Gly Leu Thr Arg Val Asp Leu Pro
165 170 175
Asp Asn Glu Arg Phe Thr His Glu Glu Leu Gly Ala Leu Leu Tyr Lys
180 185 190
His Gly Pro Ile Ile Phe Gly Trp Lys Thr Pro Asn Asp Ser Trp His
195 200 205
Met Ser Val Leu Thr Gly Val Asp Lys Glu Thr Ser Ser Ile Thr Phe
210 215 220
His Asp Pro Arg Gln Gly Pro Asp Leu Ala Met Pro Leu Asp Tyr Phe
225 230 235 240
Asn Gln Arg Leu Ala Trp Gln Val Pro His Ala Met Leu Tyr Arg
245 250 255

SZABADALMI IGÉNYPONTOK

1. Lényegében tiszta DNS, amely Rps-polipeptidet kódol.

2. Az 1. igénypont szerinti DNS, amely RPS2-gént (1. azonosítószámú szekvencia) tartalmaz.

3. Az 1. igénypont szerinti DNS, amely genomi eredetű DNS.

4. Az 1. igénypont szerinti DNS, amely cDNS.

5. Az 1. igénypont szerinti DNS, amely *Arabidopsis* nemzetségbe tartozó növényből lett származtatva.

6. Lényegében tiszta DNS, amely a 2. ábrán bemutatott szekvenciát (1. azonosítószámú szekvencia) vagy annak degenerált változatait tartalmazza, és amely a 2. ábrán bemutatott "a" nyitott leolvasási keret által kódolt aminosav-szekvenciát (2-5. azonosítószámú szekvenciák) kódolja.

7. Lényegében tiszta DNS, melynek szekvenciája a 2. ábrán bemutatott szekvenciával (1. azonosítószámú szekvencia) legalább 50 %-ban vagy nagyobb mértékben azonos.

8. Az 1. vagy 2. igénypont szerinti DNS, amely a polipeptid expresszáltatására alkalmas módon, működőképesen regulátorszekvenciákhoz van kapcsolva, amely regulátorszekvenciák promótert tartalmaznak.

9. A 8. igénypont szerinti DNS, amely konstitutív promótert tartalmaz.

10. A 8. igénypont szerinti DNS, amely - egy vagy több külső hatóanyaggal - indukálható promótert tartalmaz.

11. A 8. igénypont szerinti DNS, amely sejttípus-specifikus promótert tartalmaz.

12. Sejt, amely 1. igénypont szerinti DNS-t tartalmaz.

13. A 12. igénypont szerinti sejt, amely növényi sejt.

14. A 13. igénypont szerinti növényi sejt, amely rezisztens egy - Rps-polipeptid által felismert szignált képező - avirulenciagént hordozó növénypatogén által okozott betegségre.

15. A 14. igénypont szerinti növényi sejt, amely avrRpt2-gént hordozó növénypatogén által okozott betegségre rezisztens.

16. A 14. igénypont szerinti növényi sejt, amely *Arabidopsis*-ből, paradicsomból, szójababból, babból, kukoricából, búzából vagy rizsből származó sejt.

17. A 14. igénypont szerinti növényi sejt, amely *Pseudomonas syringae* által okozott betegségre rezisztens.

18. A 13. igénypont szerinti növényi sejt, amely regulátorszekvenciákhoz működőképesen kapcsolt avrRpt2-gént is tartalmaz, amely regulátorszekvenciák promótert tartalmaznak.

19. A 18. igénypont szerinti növényi sejt, amely konstitutív promótert tartalmaz.

20. A 18. igénypont szerinti növényi sejt, amely egy vagy több külső hatóanyaggal indukálható promótert tartalmaz.

21. A 18. igénypont szerinti növényi sejt, amely sejttípus-specifikus promótert tartalmaz.

22. Transzgenikus növény, amely genomjába integrálva 1. igénypont szerinti DNS-t tartalmaz, mely DNS expresszálódik a növényben.

23. Transzgenikus növény, amely genomjába integrálva 8. igénypont szerinti DNS-t tartalmaz, mely DNS expresszálódik a növényben.

24. Transzgenikus növény, amely a 18. igénypont szerinti növényi sejtből lett előállítva, és amelyben expresszálódik a DNS és az avrRpt2-gén.

25. Mag, amely a 22. igénypont szerinti transzgenikus növényből származik.

26. Mag, amely a 23. igénypont szerinti transzgenikus növényből származik.

27. Mag, amely a 24. igénypont szerinti transzgenikus növényből származik.

28. Sejt, amely a 22. igénypont szerinti transzgenikus növényből származik.

29. Sejt, amely a 23. igénypont szerinti transzgenikus növényből származik.

30. Eljárás növénypatogénnel szembeni rezisztencia kialakítására növényben, *azzal jellemezve, hogy*

(i) előállítunk egy olyan transzgenikus növényi sejtet, amely genomjába integrálva - expresszálódásra alkalmas módon - 1. igénypont szerinti DNS-t tartalmaz; és

(ii) a növényi sejtből a DNS-t expresszáló transzgenikus növényt nevelünk.

31. Eljárás rezisztenciagén kimutatására egy növényi sejtben, *azzal jellemezve*, hogy az 1. igénypont szerinti DNS-t vagy annak egy - körülbelül 18 nukleinsavnál hosszabb - szakaszát a növényi sejtből származó genomi eredetű DNS-készítménnyel reagáltatjuk, olyan hibridizációs feltételek mellett, amelyek lehetővé teszik a 2. ábrán bemutatott szekvenciával (1. azonosítószámú szekvencia) körülbelül 50 %-os vagy nagyobb szekvencia-azonosságot mutató DNS-szekvenciák kimutatását.

32. Eljárás Rps2-polipeptid előállítására, *azzal jellemezve*, hogy

(i) előállítunk egy Rps2-polipeptidet kódoló DNS-sel transzformált sejtet, amely DNS a sejtben expresszállódásra alkalmas módon helyezkedik el;

(ii) a transzformált sejtet a DNS expresszállódására alkalmas feltételek mellett tenyésztjük; és

(iii) izoláljuk az Rps2-polipeptidet.

33. Eljárás növénypatogénnel szembeni rezisztencia kialakítására transzgenikus növényben, *azzal jellemezve*, hogy

(i) előállítunk egy olyan transzgenikus növényi sejtet, amely genomjába integrálva - expresszállódásra alkalmas módon - a 8. igénypont szerinti DNS-t tartalmazza; és

(ii) a növényi sejtből a DNS-t expresszálló transzgenikus növényt nevelünk.

34. Eljárás növénypatogénnel szembeni rezisztencia kialakítására transzgenikus növényben, *azzal jellemezve*, hogy a 18. igénypont szerinti növényi sejtből előállított transzgenikus növényt - amelyben expresszáldik a DNS és az avrRpt2-gén - növesztjük.

35. Eljárás RPS2-génnel (1. azonosítószámú szekvencia) szekvencia-azonosságot mutató betegségrezisztencia-gén vagy annak egy részének izolálására növényekből, *azzal jellemezve*, hogy

(i) polimeráz-láncreakcióval, láncindító oligonukleotidok alkalmazásával amplifikáljuk a betegségrezisztencia-gént vagy annak részét, melynek során

kizárólag több, mint 13 nukleotidot tartalmazó, a 2. ábrán bemutatott (1. azonosítószámú) nukleotid-szekvencia egy régiójában található, átellenes DNS-szállal komplementer régiókat tartalmazó; és

adott esetben az amplifikált termékben restriktációs enzim hasítási helyeket létrehozni képes szekvenciákat tartalmazó

láncindító oligonukleotidokat alkalmazunk; és

(ii) izoláljuk a betegségrezisztencia-gént vagy annak részét.

36. Lényegében tiszta Rps2-poliipeptid.

37. A 37. igénypont szerinti poliipeptid, amely a 2. ábrán bemutatott aminosav-szekvenciával (2-5. azonosítószámú szekvenciák) lényegében azonos aminosav-szekvenciát tartalmaz.

38. Vektor, amely 1. igénypont szerinti DNS-t tartalmaz, és amely alkalmas a DNS által kódolt peptid expressziójának irányítására, a vektort tartalmazó sejtben.

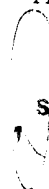
39. Vektor, amely az avrRpt2-gén (105. azonosítószámú szekvencia) DNS-ét regulátorszekvenciákhoz működőképesen kapcsolva tartalmazza, amely regulátorszekvenciák promótert tartalmaznak.

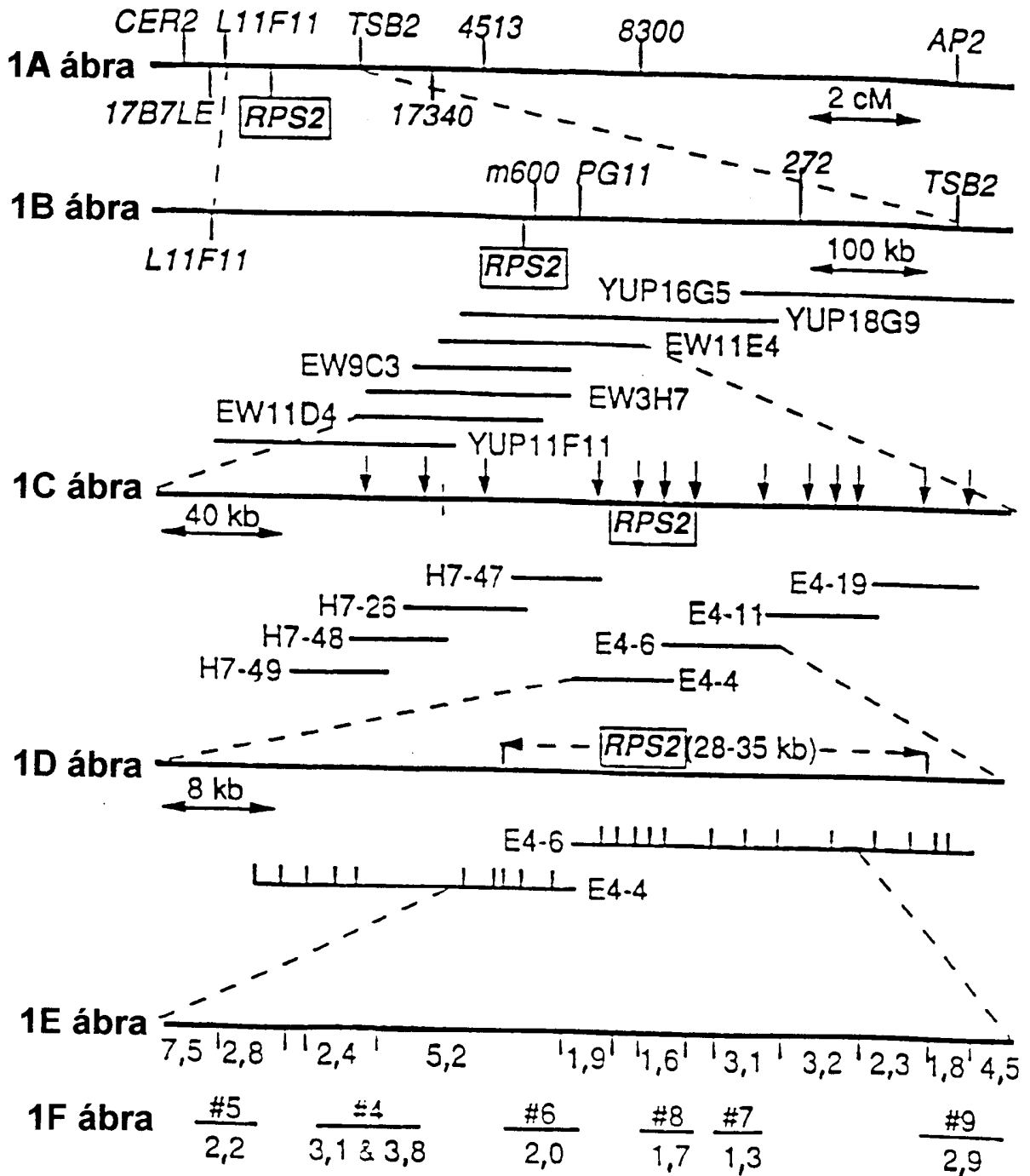
40. Vektor, amely 1. igénypont szerinti DNS-t és az avrRpt2-gén (105. azonosítószámú szekvencia) DNS-ét regulátorszekvenciákhoz működőképesen kapcsolva tartalmazza, amely regulátorszekvenciák promótert tartalmaznak.

41. Lényegében tiszta DNS, melynek szekvenciája körülbelül 85%-ban vagy annál nagyobb mértékben azonos a 2. ábrán bemutatott DNS szekvenciával.



A meghatalmazott:

 **DANUBIA**
Szabadalmi és Védjegy Iroda Kft.
46. 



```

AAGTAAAAGAAAGACGGAGAAATCATCGAAATGGATTTCATCTCATCTCTTATCGTTGGC
1 -----+----- 60
TTCATTTTCTTTCTCGCTCTTTAGTAGCTTTACCTAAAGTAGAGTAGAGAATAGCAACCG

a   X * K K E R E I I E (M) D F I S S L I V C -
b   S K R X S E K S S K W I S S H L L S L A -
c   V K E R A R N H R N G F H L I S Y R W L -

TGTGCTCAGGTGTTGTTGTAATCTATGAATATGGCGGAGAGAAGAGGACATAAGACTGAT
61 -----+----- 120
ACACGAGTCCACAAACACACTTAGATACTTATAGCCGCTCTCTTCTCTGTATTCTGACTA

a   C A Q V L C E S M N H A E R R G H K T D -
b   V L R C C V N L * I W R R E E D I R L I -
c   C S G V V * I Y E Y G G E X R T * D * S -

CTTAGACAAGCCATCACTGATCTTGAACAGCCATCGGTGACTTGAAGCCCATACGTGAT
121 -----+----- 180
GAATCTGTTGGTAGTGAAGTCTTGTGCGGTAGCCACTGAACCTCCGGTATGCACTA

a   L R Q A I T D L E T A I G D L K A I R D -
b   L D K P S L I L K Q P S V T * R P Y V M -
c   * T S H H * S * N S H R * L E C H T * * -

GACCTGACTTTACGATCCAAACAGACGGTCTAGAGGGACGAAGCTGCTCAAAATCGTGGC
181 -----+----- 240
CTGCACTGAAATGCGTAGGTGTTCTGCCAGATCTCCCTGCTTCGACGAGTTTACGACGG

a   D L T L R I Q Q D G L E G R S C S N R A -
b   T * L Y C S N K T V * R D E A A Q I V P -
c   P D F T D P T R R S R G T K L L K S C Q -

AGAGAGTGGCTTACTCGGTGCAAGTAACGGAGACTAAACAGCCCTACTTTTACTGAGG
241 -----+----- 300
TCTCTCACCGAATCAGCCACGTTGATTGCTCTGATTTTGTGCGGATGAAAATCACTCC

a   R E W L S A V Q V T E T K T A L L L V R -
b   E S G L V R C K * R R L K Q P Y F * * G -
c   R V A * C C A S N G D * N S P T F S E V -

TTTAGGCGTCCGCAACAGAGGACGGCAATGAGGAGAGATACCTCAGTTGTTTGGTTGT
301 -----+----- 360
AAATCCGAGCCCTTGTCTGCTGCGCTTACTCTCTCTATGGAGTCACAAAGCCAACA

a   F R R R E Q R T R M R R R Y L S C F G C -
b   L G V G N R G R E * C G D T S V V S V V -
c   * A S C T E D A N E E E I P Q C F R L C -

GCGGACTACAAACTGTGCAAGAAGSTTTCTGCCATATTGAAGAGCATTCGTGAGCTGAG

```

```

361 ----- 420
CGGCTGATGTTTGACACGTTCTTCCAAAGACGGTATAACTTCTCGTAACCACTCGACTCT
a   A D Y K L C K K V S A I L K S I G E L R -
b   P T T N C A R R F L P Y * R A L V S * E -
c   R L Q T V Q E G F C H I E E H W * A E R -

GAACGCTCTGAAGCTATCAAAACAGATGGCGGGTCAATTCAAGTAACTTGTAGAGAGATA
421 ----- 480
CTTGCGAGACTTCGATAGTTTGTCTACCGCCAGTTAAGTTCATTGAACATCTCTCTAT
a   E R S E A I K T D G G S I Q V T C R E I -
b   N A L K L S K Q H A G Q F K * L V E R Y -
c   T L * S Y Q N R W R V N S S N L * R D T -

CCCATCAAGTCCGTTTGTGGAAATACCACGATGATGAACAGGTTTTGGAATTTCTCAGT
481 ----- 540
CGGTAGTTCAGGCAACAGCCCTTATGGTGCTACTACCTGTCCAAAACCTTAAAGAGTCA
a   P I K S V V G N T T H M E Q V L E F L S -
b   P S S P L S E I P R * W N R F W N F S V -
c   H Q V R C R K Y H D D G T G F G I S Q * -

GAAGAAGAAGAAAGAGGAATCATGGTGTTTATGGACCTCGTGGGGTTGGGAAGACAACG
541 ----- 600
CTTCTTCTCTTTCTCTTAGTAACCAACAATACCTCGACCACCCCAACCTTCTGTGGC
a   E E E E R G I I G V Y G P G G V G K T T -
b   K K K K E E S L V F M D L V G L G R Q R -
c   R R R K R N H W C L W T W W G W E D N V -

TTAATGCAGAGCATTAAACAGAGCTGATCACAAAAGGACATCAGTATCATGTACTGATT
601 ----- 660
AATTACGTCGTAATTGTTGCTCGACTAGTGTTTTCTGTAGTCATCTACATGACTAA
a   L M Q S I N N E L I T K G H Q Y D V L I -
b   * C R A L T T S * S Q R D I S M H Y * F -
c   N A E H * Q R A D H K R T S V * C T D L -

TGGGTTCAAATGTCCAGAGAAATTCGGCGAGTGTAATTACGAAAGCGTTGGAGCACGG
661 ----- 720
ACCCAAAGTTTACAGGTCTCTTAAGCCGCTCACATGTTAAGTGGTTCGCCAACCTCGTGCC
a   W V Q M S R E F G E C T I Q Q A V C A R -
b   G F K C P E N S A S V Q F S K P L E H G -
c   G S N V Q R I R R V Y N S A S R W S T V -

TTGGGTTTATCTTGGGACGAGAAAGAGACCGCGGAAAACAGAGCTTTAAGATATACAGA
721 ----- 780
AACCCAAATAGAACCTGCTCTTCTGCGCCGCTTTTGTCTCGAAAATTCTATATGTCT
a   L G L S W D E K E T G E N R A L K I Y R -
b   W V Y L G T R R R P A K T E L * R Y T E -
c   G F I L G R E G D R R K Q S P E D I Q S -

GCTTTGAGACAGAAAGCTTTCTTGTGTGCTAGATGATCTCTGGGAAGAGATAGACTTC
781 ----- 840
CGAAACTCTGTCTTTGCAAGAACAACAGATCTACTACAGACCCCTTCTCTATCTGAAC
a   A L R Q K R F L L L L D D V W E E I D L -
b   L * D R N V S C C C * M M S G K R * T W -
c   F E T E T F L V V A R * C L G R D R L C -

```

10366

4/11

2. ábra folytatása

```

b      A L Y S Q K N I L * R S S S L L S T G S -
c      R F I P R R T F Y R D R A A C * V L G R -

-----
1321  GCGAAGCGTTTCTCACCAGCTCCCATGGCGTTAACACCATTTACAAAGGATATTTTCTC
-----
1380  CCGCTTCCCAAAGAGTGGTCGAGGGTACCGCAATTGTGGTAAATGTTCCCTATAAAAGAG

a      G E G F L T S S H G V N T I Y K G Y F L -
b      A K G F S P A P M A L T P F T R D I F S -
c      R R V S H Q L P W R * H H L Q C I F S H -

-----
1381  ATTGGGGATCTGAAACCGGCATGTTTGTTCGAAACCGAGATGACAAAACACAGCTGAAG
-----
1440  TAACCCCTAGACTTTTCCCGGTACAAACAACCTTTGGCCTCTACTCTTTGTGTCCACTTC

a      I C D L K A A C L L E T G D E K T Q V K -
b      L G I * K R H V C W K P E M R K H R * R -
c      W G S E S C M F V G N R R * E N T G E D -

-----
1441  ATGCATAATGTGGTCAGAAGCTTTGCATTGTGGATGGCATCTGAACAGGGGACTTATAAG
-----
1500  TACGTATTACAGAGCTCTTCCGTAACGTAAACAGCTACCGTAGACTTTGTCCTGAATATTC

a      M H N V V R S P A L W M A S E Q G T Y K -
b      C I M W S E A L H C G W H L N R G L I R -
c      A * C G Q K L C I V D G I * T G D L * G -

-----
1501  GAGCTGATCCTAGTTGAGCCTAGCATGGGACATACTGAAGCTCCTAAAGCAGAAAACTGG
-----
1560  CTGGACTAGCATCAACTCCGATCGTACCCTGTATGACTTCGAGGATTTGGTCTTTTGACC

a      E L I L V E P S M G H T E A P K A E N W -
b      S * S * L S L A W D I L K L L K Q K T C -
c      A D P S * A * H G T Y * S S * S R K L A -

-----
1561  CGACAAGCGTTGGTGATCTCATTGTTAGATAACAGAAATCCAGACCTTGCCCTGAAAAACTC
-----
1620  GGTGTTCCGAACCACTAGAGTAACAATCTATTGTCTTAGGTCTGGAACGGACTTTTGTAG

a      R Q A L V I S L L D N R I Q T L P E K L -
b      D K R W * S H C * I T E S R P C L R N S -
c      T S V G D L I V R * Q N P D L A * K T H -

-----
1621  ATATGCCCCGAAACTGACAACACTGATGCTCCAACAGAACAGCTCTTTGAAGAAGATTCCA
-----
1680  TATACGGGCTTTGACTGTTGTGACTACGAGGTTGCTCTGTCGAGAAACTTCTCTAAGGT

a      I C P K L T T L M L Q Q N S S L K K I P -
b      Y A R N * Q H * C S N R T A L * R R F Q -
c      M P E T D N T D A P T E Q L F E E D S N -

-----
1681  ACAGGGTTTTTCATGCATATGCGCTGTTCTCAGAGTCTTGGACTTGTGCTTACAAAGTATC
-----
1740  TGTCCCAAAAAGTACGTATACGGACAAGAGTCTCAGAACCCTGAACAGCAAGTGTTCATAG

a      T G F F M H M P V L R V L D L S F T S I -
b      Q G F S C I C L F S E S W T C R S Q V S -
c      R V P H A Y A C S Q S L C L V V H K Y H -

-----
1741  ACTGAGATTCGCTTGTCTATCAAGTATTTGGTGGAGTGTATCATCTGCTATGTCAGGA
-----
1800  TGACTCTAAGGCAACAGATAGTTTCATAAACCACCTCAACATAGTAGACAGATACAGTCTT

```

```

a   T E I P L S I K Y L V E L Y H L S M S G -
b   L R P R C L S S I W W S C I I C L C Q E -
c   * D S V V Y Q V F C G V V S S V Y V R N -

ACAAAGATAAGTGTATTGCCACAGGAGCTTGGCAATCTTAGAAAACTGAAGCATCTGGAC
1801 ----- 1860
TGTTCATTACATAACGGTGTCTCGAACCCTTAGAATCTTTTGACTTCGTAGACCTC

a   T K I S V L P Q E L G N L R K L K H L D -
b   Q R * V Y C H R S L G I L E N * S I W T -
c   K D K C I A T G A W E S * K T E A S G P -

CTACAAAGAACTCAGTTTCTTCAGACGATCCCACGAGATCCCATATGTTGGCTGAGCAAG
1861 ----- 1920
GATGTTTCTTGAGTCAAAGAAGTCTGCTAGGGTCTCTACGGTATACAACCGACTCGTTC

a   L Q R T Q F L Q T I P R D A I C W L S K -
b   Y K E L S F F R R S H E M P Y V G * A S -
c   T K N S V S S D D P T R C H M L A E Q A -

CTCGAGGTTCTGAACTTGTACTACAGTTACGCCGGTTGGGAACTGCAGAGCTTTGGAGAA
1921 ----- 1980
GAGCTCCAGAGACTTGAACATGATGTCATGCGCCCAACCCTTCACGTCCTCGAAACCTCTT

a   L E V L N L Y Y S Y A G W E L Q S F G E -
b   S R P * T C T T V T P V G N C R A L E K -
c   R G S E L V L Q L R R L G T A E L W R R -

GATGAAGCAGAAGAACTGGATTGGCTGACTTGAATACTTCGAAAACTAACCACACTC
1981 ----- 2040
CTACTTGGTCTTCTTGAGCCTAAGCGACTGAACCTTATGAACCTTTTGAGATTGGTGTGAG

a   D E A E E L G F A D L E Y L E N L T T L -
b   M K Q K N S D S L T W N T W K T * P H S -
c   * S R R T R I R * L G I L G K F N H T R -

GGTATCACTGTTCTCTGATTGGAGACCTAAAAACTCTCTCGAGTTGGGTGCTTTGCCAT
2041 ----- 2100
CCATACTGACAAGAGASTAACCTCTGGGATTTTTCAGAGAAGCTCAAGCCACGAAACGTA

a   G I T V L S L E T L K T L F E F G A L H -
b   V S L F S H W R P * K L S S S S S V L C I -
c   Y H C S L I G D P K N S L R V R C F A * -

AAACATATACAGCATCTCCACGTTGAAGAGTCCAATGAACCTCTCTACTTCAATCTCCCA
2101 ----- 2160
TTTGTATATCTCGTAGAGGTGCAACTTCTCAGCTTACTTGAGGAGATGAAGTTACAGGGT

a   K H I Q H L H V E E C N E L L Y F N L P -
b   N I Y S I S T L K S A M N S S T S I S H -
c   T Y T A S P R * R V Q * T P L L Q S P I -

TCACTCACTAACCATGGCAGGAACCTGAGAAGACTTAGCATTAAAAAGTTGCCATGACTTC
2161 ----- 2220
AGTGAGTGATTGGTACCGTCTTGGACTCTTCTGAATCGTAATTTTCAACGGTACTGAAC

a   S L T N H G R N L R R L S I K S C H D L -
b   H S L T M A G T * E D L A L K V A M T W -
c   T H * P W Q E P E K T * H * K L P * L C -

GAGTACCTGCTCACACCCGCGAGATTTTCAAAAATGATTGGCTTCCGAGTCTAGAGCTTCTC

```

2. ábra folytatása

```

2701 CTGCAAAAGATCAACCAAGCAAGAGCTTTTATTATTTACCCGCTTTTCTCCAAATTGA
-----
2760 GACCTTTTCTAGTTGCTTCTCTCCAAACATAAATGCCGCCAAACAACTTTAACT
a L E K D Q P N E E L C Y L P R F V P M * -
b W K K I N Q T K S P V I Y R A L P Q I D -
c G K E S T E R R A L L P T A L C S X L I -

2761 TATAAGAGCTAAGAGCACTCTGTACAAATATGTCATTTCATAGTACAGCAAGCCAGCA
-----
2820 ATATTCTGATTTCTGTTGAGACATGTTTATACAGTAACTATTCTCTCTCTCTCTCTCT
a Y K S * E H S V Q I C P F I S S R K P G -
b I R A K S T L Y K Y V N S * V A G S Q E -
c * E L R A L C T N M S I H K * Q E A R K -

2821 AGCTTTCTCCAGTGAAGTCACTCACTTTCCACATAGCCACAAAAGTACAGATTATGTAAT
-----
2880 TCCAAAGAGTCACTTCAAGTGAAGTGAAGTGTATGCTGTTTCTGATCTCTAATACATTA
a R L F Q * E K Q L S T * P Q M * R L C M -
b O C S S E V I N P P H S N X T R D Y V I -
c V V P V K S S T P H I A T X L E I M * S -

2881 CATAAAGCAAACTATCCGCGA (SEQ ID NO:1)
-----
2903 GTATTTTCTGTTGATAGCCCT
a H K N Q T I R - (SEQ ID NO: 2-5)
b I K T X L S A - (SEQ ID NO: 6-59)
c * K P N Y P R - (SEQ ID NO: 60-104)

```

Hasítani képes enzimek:

egy sincs

Hasítani nem képes enzimek:

Knpl

2. ábra folytatása

...TCATCTCTGGCTCACTCCGAGTAGTCCATTTCAGAGCACTAGCCCCCGCTC -86

CCGCATCATGGAGCTATTTCGAATTTTCGACGGTTATCGATTCTAGTGGGAACCCATT -26

CATTGTTTGAACCAACGAGGAGCTTAACAAGCTCCCGAGCTGCATGATGAAAATT 35
MetLysIle

CCCTCAGTTGGCATAAATCAGAGCCCGCTCAGCAGGAGGTCCTCGTCACAGCCCGCACCC 95
AlaProValAlaIleAsnHisSerProLeuSerArgGluValProSerHisAlaAlaPro

ACTCAGCCAAAGCAAACCAACCTTCAATCTGAAGCTGGGATTAGATGCAAGAAAAAGT 155
ThrGlnAlaLysGlnThrAsnLeuGlnSerGluAlaGlyAspLeuAspAlaArgLysSer

AGCGCTTCAAGCCCGAAACCGGCTATTACTCGTTACTAAGACAGTACTCGGAGACAC 215
SerAlaSerSerProGluThrArgAlaLeuLeuAlaThrLysThrValLeuGlyArgHis

AAGATAGAGGTTCCCGCTTTCGACGGTGGTTCAAAAAGAAATCATCTAAGCAGGAGACG 275
LysIleGluValProAlaPheGlyGlyTrpPheLysLysLysSerSerLysHisGluThr

GGCGCTTCAAGTGCCCAACCCAGATAGTTCCGAGCGTGGCTTCGGATTCCACCGAAAAACCT 335
GlyGlySerSerAlaAsnAlaAspSerSerSerValAlaSerAspSerThrGluLysPro

TTGTTCCGTCTCACGACGTTCTTACGTATCCCAGGTAATGACCGAATCGGATGTTGG 395
LeuPheArgLeuThrHisValProTyrValSerGlnGlyAsnGluArgMetGlyCysTrp

TATCCCTGCGCAAGAAATGTTTGGCCATTCTCTGGAAGCTGGGCTCGGCTAGGGCTGCGG 455
TyrAlaCysAlaArgMetValGlyHisSerValGluAlaGlyProArgLeuGlyLeuPro

GAGCTCTATGAGGGAAGGGAGCCCGCAGCTGGCTACAAGATTTTTCAGATGTAGAAAGG 515
GluLeuTyrGluGlyArgGluAlaProAlaGlyLeuGlnAspPheSerAspValGluArg

TTTATTACAAATGAAGGATTAAGTGGGTAGACCTTCCAGACAAAGAGAGATTACACAC 575
PheIleHisAsnGluGlyLeuThrArgValAspLeuProAspAsnGluArgPheThrHis

P96 02809

10/11

GAAGAGTTGGCTCCACTTGTGTATAGCACGGGCGATTATTTGGGTGAAAACTCG 635
GluGluLeuGlyAlaLeuLeuTyrLysHisGlyProIleIlePheGlyTrpLysThrPro

AATGACAGCTGGCACATCTCGCTCTCACTGGTGTGGATAAGAGAGCGTCTCCATTACT 695
AsnAspSerTrpHisMetSerValLeuThrGlyValAspLysGluThrSerSerIleThr

TTTCACGATCCCGACAGCGCGCGACCTAGCAATCCCGCTCGATTACTTTAATCAGCGA 755
PheHisAspProArgGlnGlyProAspLeuAlaMetProLeuAspTyrPheAsnGlnArg

TTGGCATGGCAGGTTCCACACCGCAATCTCTACCGCTAAGTACGAGCGTATCTTCAGGTG 815
LeuAlaTrpGlnValProHisAlaMetLeuTyrArgEnd (SEQ ID NO: 106)

CCCGCATCATGACAAGCCCATGATGCGCGCAGCAGCTACCTCAATCCCGTCTGGCTTTT 875
→ ←

GGTCCCTATTGTCTATCCGGAAGATCAGGTCAAAATCTCGGCAAGAGCTTTCTTCT 935

CGACTCTCAGCTTCGGATCGATCAGGTCCGTTGCCAGAGCGCGCTTGTCCATGAGCAT 995

CTGCCACAGCTGCTGGTGGATGGTGTCTCAGCTAAAGGGATTTTCAGGACAACCATCGG 1055

CAACTGCCCGTTCCGATACGCTCGATCTGAAGCCCGCGTGTCCATGGCAGCGCCCAAGAA 1115

AAAGACATAGTTCCCGCGTGTCAAGTTGTACCGTGTCCCGCGCGCAGCTGGTCCCGAT 1175

AAACACCTCCAGTCCCGATCTCTCTGGAAGCATCAATCCGCTTCTCGCGCTTCTTGGG 1235

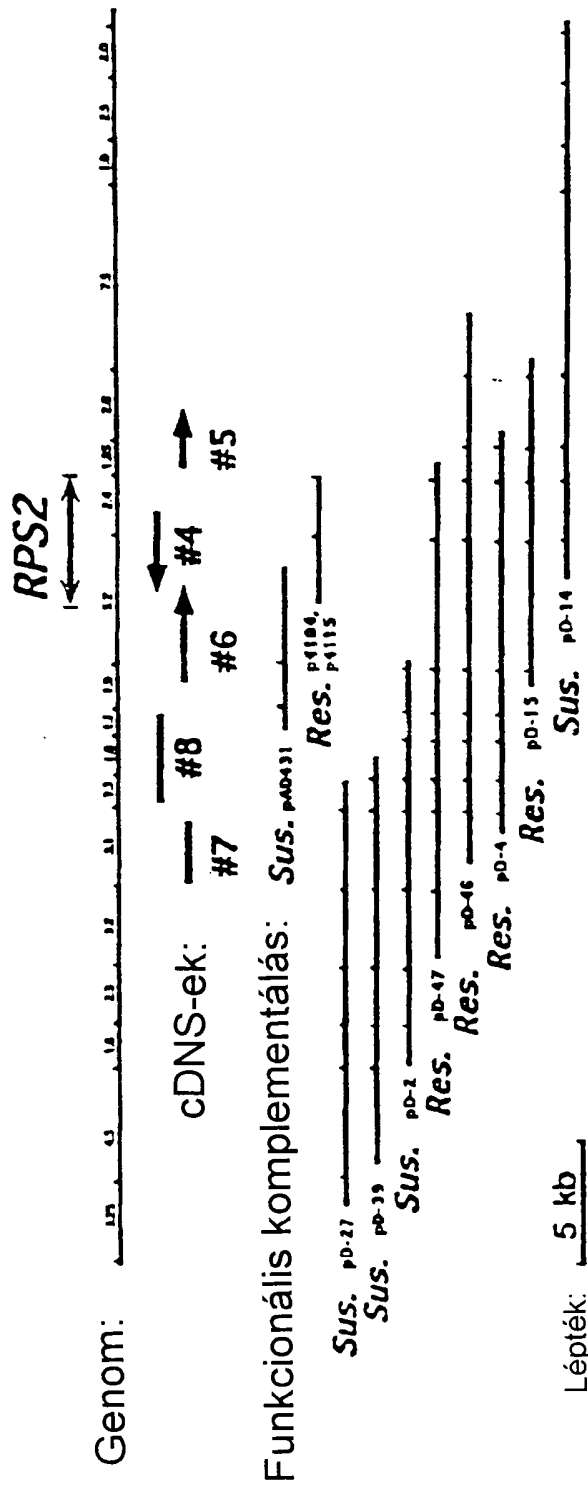
CGAGTCACTGCCCAACGTCACGACCCGACCCCAAGCTTCAGGCACTGCTCCCGCAA 1295

CGTGGCCAGGATTCTGTACTTCCAGAGAGGATCACCTTGTCTGTGAC 1346
(SEQ ID NO: 105)

3. ábra folytatása

P96 02809

11/11



4. ábra