

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局



(43) 国際公開日
2007年6月14日 (14.06.2007)

PCT

(10) 国際公開番号
WO 2007/066809 A1

- (51) 国際特許分類:
C12N 15/00 (2006.01) C12N 15/09 (2006.01)
C12N 5/10 (2006.01) C12Q 1/02 (2006.01)
- (74) 代理人: 小林 浩, 外(KOBAYASHI, Hiroshi et al.); 〒1040028 東京都中央区八重洲二丁目8番7号 福岡ビル9階 阿部・井窪・片山法律事務所 Tokyo (JP).
- (21) 国際出願番号: PCT/JP2006/324786
- (81) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, LY, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, SV, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.
- (22) 国際出願日: 2006年12月6日 (06.12.2006)
- (25) 国際出願の言語: 日本語
- (26) 国際公開の言語: 日本語
- (30) 優先権データ:
特願2005-352486 2005年12月6日 (06.12.2005) JP
- (71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): 財団法人 東京都医学研究機構 (TOKYO METROPOLITAN ORGANIZATION FOR MEDICAL RESEARCH) [JP/JP]; 〒1638001 東京都新宿区西新宿2-8-1 Tokyo (JP).
- (84) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).
- (72) 発明者; および
- (75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 野中 隆 (NONAKA, Takashi) [JP/JP]; 〒1340088 東京都江戸川区西葛西3-3-1-606 Tokyo (JP). 渡辺 小百合 (WATANABE, Sayuri) [JP/JP]; 〒1160003 東京都荒川区南千住4-9-2-712 Tokyo (JP). 増田 雅美 (MASUDA, Masami) [JP/JP]; 〒3540011 埼玉県富士見市水子1525-1 Saitama (JP). 長谷川 成人 (HASEGAWA, Masato) [JP/JP]; 〒1820025 東京都調布市多摩川3-46-36 Tokyo (JP).
- 添付公開書類:
— 国際調査報告書
- 2文字コード及び他の略語については、定期発行される各PCTガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語のガイダンスノート」を参照。

(54) Title: PROTEIN WHICH CAN SERVE AS NUCLEUS FOR POLYMERIZATION OF PROTEIN POLYMER, CELL HAVING THE POLYMER INTRODUCED THEREIN, AND PROCESS FOR PRODUCTION OF THE CELL

(54) 発明の名称: タンパク質重合体の重合核となりうるタンパク質又はその重合体が導入された細胞及びその製造法

(57) Abstract: Disclosed are: a protein which can serve as a nucleus for polymerization of a protein polymer; a cell having the polymer introduced therein; a process for production of the cell; and a method for screening of a substance capable of inhibiting the intracellular accumulation of a protein having a fibrous structure, which is characterized by contacting a candidate substance with the cell.

(57) 要約: 本発明は、タンパク質重合体の重合核となりうるタンパク質又はその重合体が導入された細胞とその製造法を提供することを目的とし、タンパク質重合体の重合核となりうるタンパク質又はその重合体が導入された細胞、及びその製造法、および前記細胞に候補物質を接触させることを特徴とする、線維性構造を有するタンパク質の細胞内蓄積を抑制する物質のスクリーニング方法に関する。

WO 2007/066809 A1

明細書

タンパク質重合体の重合核となりうるタンパク質又はその重合体が
導入された細胞及びその製造法

5

技術分野

本発明は、タンパク質重合体の重合核となりうるタンパク質又はその重合体が導入された細胞、上記細胞の製造方法、及び当該細胞を用いた変性疾患治療薬のスクリーニング方法等に関する。

10

背景技術

アルツハイマー病やパーキンソン病などの神経変性疾患患者脳の神経細胞内には、特徴的な病理構造物が出現する。この病理構造物は、アルツハイマー病では神経原線維変化と呼ばれ、パーキンソン病ではレビー小体と呼ばれている。いずれの病理構造物も、種々のタンパク質からなる線維性の沈着構造物である。神経原線維変化の主要構成成分として微小管結合タンパク質の一つであるタウが、レビー小体の主要構成成分として α シヌクレインがそれぞれ同定されている。特にパーキンソン病では、 α シヌクレインをコードする遺伝子が家族性疾患家系の遺伝学的解析から原因遺伝子の一つとして見出されている。これらの異常構造物の出現部位と神経細胞の脱落部位との間に相関が見られることから、細胞内に出現する異常構造物が細胞障害となり、最終的に神経細胞が死に至り発症につながるというメカニズムが考えられている。しかしながら、このメカニズムは実験的に証明されていない。

15

20

このように、タウや α シヌクレインの細胞内蓄積は神経変性疾患の発症と密接に関連していることが考えられており、この仮説を実証するためにこれらのタンパク質が細胞内に蓄積した細胞モデル、あるいは実験動物モデルの開発が世界中で精力的に行われている。しかしながら現在のところ、実際の患者脳に見出される構造物の特徴を有するモデル又はこれに類似するモデルに関する報告は数少ない。

一般的に可溶性のタンパク質が重合し、不溶性の凝集塊や線維を形成する分子反応は、重合核の形成過程とその重合核を中心に線維が伸びる伸長過程とに分けるこ

とができ、凝集核形成過程がその律速段階とされる重合核形成依存性タンパク質重合モデルが受け入れられている (Jarrett JT & Lansbury PT Jr, Cell 73: 1055-1058, 1993)。この考え方は細胞内に蓄積するタンパク質の凝集、線維形成反応にもあてはまると考えられ、実際に試験管内ではこれを支持する実験結果も得られている。

5 しかしながら、細胞にダメージを与えることなく、重合核を効率的に細胞内に導入する方法は未だに開発されておらず、生きた細胞内、あるいは実験動物において、実際に行うことは極めて困難であった。

発明の開示

10 本発明は、タンパク質重合体の重合核となりうるタンパク質又はその重合体が導入された細胞及び当該細胞の製造方法を提供することを目的とする。

本発明者は、上記課題を解決するため鋭意研究を行った結果、 α シヌクレインなどの線維状構造物を神経細胞内に導入すると、当該導入された細胞は神経変性疾患のモデル細胞となり得ることを見出し、本発明を完成するに至った。

15 すなわち、本発明は以下の通りである。

(1) タンパク質重合体の重合核となりうるタンパク質又はその重合体が導入された細胞。

本発明において、タンパク質としては、例えばタウタンパク質、 β アミロイドタンパク質、 α シヌクレイン、ポリグルタミン、SOD1 及びプリオンタンパク質並びにこれらの変異体からなる群から選択される少なくとも一種を例示することができる。また、上記細胞は神経細胞又はグリア細胞であることが好ましい。本発明の細胞は、変性疾患のモデル細胞として使用することが可能である。

20

(2) タンパク質重合体の重合核となりうるタンパク質又はその重合体を神経細胞又はグリア細胞に導入することを特徴とする、変性疾患のモデル細胞の製造方法。

25 さらに、本発明は、タンパク質重合体の重合核となりうるタンパク質又はその重合体と、当該タンパク質をコードする遺伝子を含むプラスミドとを神経細胞又はグリア細胞に導入し、前記重合核となりうるタンパク質又は重合体と、プラスミドの発現により生じるタンパク質とを相互作用させることにより、細胞内にタンパク質重

合体を蓄積させることを特徴とする、神経変性疾患のモデル細胞の製造方法を提供する。

(3) 上記細胞に候補物質を接触させることを特徴とする、タンパク質重合体の細胞内蓄積を抑制する物質のスクリーニング方法。

5 (4) 上記細胞に候補物質を接触させることを特徴とする、変性疾患治療薬のスクリーニング方法。

(5) 上記細胞を含む、タンパク質重合体の細胞内蓄積を抑制する物質又は変性疾患治療薬のスクリーニング用キット。

10 図面の簡単な説明

図1は、 α シヌクレイン線維、重合核となりうる α シヌクレイン重合体を神経芽細胞 SH-SY5Y 内に導入したことを示すイムノプロットの図である。

15 図2は、 α シヌクレイン線維、重合核となりうる α シヌクレイン重合体を細胞に導入するとともに可溶性 α シヌクレインを発現させたときの α シヌクレインの蓄積を示す図である。

図3は、リン酸化 α シヌクレインを特異的に認識する anti-PSer129 抗体による免疫染色を行い、共焦点レーザー顕微鏡による観察を行った結果を示す図である。

図4は、WT+F α S 細胞を、anti-PSer129 抗体、TO-PRO-3、およびチオフラビン S により三重染色し、共焦点レーザー顕微鏡にて観察したことを示す図である。

20 図5は、WT+F α S 細胞およびレビー小体型痴呆症 (DLB) 患者脳のリブラトーム切片を、それぞれ anti-PSer129 抗体およびユビキチン抗体による二重染色を行い、共焦点レーザー顕微鏡で観察したことを示す図である。

図6は、 α シヌクレインプラスミド DNA および線維を導入した細胞において細胞の形態変化及び細胞死が認められたことを示す図である。

25 図7は、Gossypetin が in vitro で α シヌクレインの線維化を抑制することを示す図である。

図8は、Gossypetin の細胞死抑制効果を示す図である。

発明を実施するための最良の形態

以下、本発明を詳細に説明する。以下の実施の形態は、本発明を説明するための例示であり、本発明をこの実施の形態にのみ限定する趣旨ではない。本発明は、その要旨を逸脱しない限り、さまざまな形態で実施をすることができる。

5 なお、本明細書において引用した文献、および公開公報、特許公報その他の特許文献は、参照として本明細書に組み込むものとする。また、本明細書は、2005年12月6日に出席された本願優先権主張の基礎となる日本国特許出願（特願2005-352486号）の明細書に記載の内容を包含する。

10 本発明は、タンパク質重合体の重合核となりうるタンパク質又はその重合体を細胞内に導入することにより、当該構造物が細胞に蓄積された細胞及びその製造法に関する。

1. 概要

15 本発明者は、細胞に大きなダメージを与えることなく、効率的に重合核を細胞内に導入し、脳内における線維化を簡易に解析できるモデルを作製するため、細胞内に線維状のタンパク質をはじめとする、タンパク質重合体の重合核となりうるタンパク質又はその重合体を導入することを試みた。

20 本発明者は、神経芽細胞 SH-SY5Y を用いて、 α シヌクレインが細胞内に蓄積する細胞モデルの構築に着手した。そして、タンパク質又はその重合体を細胞内に導入する方法として、前記タンパク質を物理的に細胞に導入することができることを見いだした。導入されたタンパク質又はその重合体は、リン酸化され、蓄積されることが観察され、また、タンパク質又はその重合体が導入された細胞では、患者脳にみられる一部の病的特徴が見られた。

25 さらに、本発明者は、重合体形成のための伸長反応に必要と考えられるタンパク質をコードするプラスミドを、遺伝子工学的に細胞内に導入し、前記タンパク質を過剰発現させるとともに、タンパク質重合体の重合核となりうるタンパク質又はその重合体を細胞に導入することにより、重合核となるタンパク質又は重合されたタンパク質と、プラスミドの発現により生成されるタンパク質とを相互作用させ、細胞内にタンパク質重合体を蓄積させることに成功した。この方法で作製された細胞

では、実際の患者脳に蓄積するタンパク質と極めて類似した性質のタンパク質が細胞内に凝集し、蓄積されることが観察された。さらに導入された細胞が細胞死に至ることも観察された。本発明の方法は従来にはない極めて独創的な方法である。

本発明において、細胞内に出現したタンパク質の重合体は、抗リン酸化シヌクレインおよびユビキチン抗体で染色され、患者脳に見られるレビー小体と極めて類似していることが示された。また蓄積モデル細胞に出現する異常重合体に含まれる α シヌクレインは、レビー小体を構成する α シヌクレインと同様に界面活性剤などでも可溶化されず、細胞内で不溶化していることも明らかとなった。さらに本発明者は、上記方法で製造された α シヌクレインを蓄積した細胞は最終的に細胞死に至るという驚くべき新知見を見出した（実施例参照）。以上のように、細胞内への線維化タンパク質をはじめとするタンパク質の重合体の蓄積に関し、本発明者が構築した新しい細胞モデルは、実際の患者脳に見られるレビー小体と同様の性質の重合体が出現するモデルであり、蓄積された重合体をとまなう神経細胞死誘導機構の解明や、蓄積を抑制する薬剤の探索など治療薬の開発に応用されると考えられる。マウスなどの実験動物を用いたモデル系の開発も重要であるが、本発明において開発された培養細胞を用いた系のほうが、より安価で簡便に利用でき、かつ短時間で大量の試料をスクリーニングすることが可能である。

2. タンパク質重合体の重合核となりうるタンパク質又はその重合体

「タンパク質重合体」とは、変性疾患患者脳の神経細胞、グリア細胞内又は細胞外に出現する沈着性又は蓄積性の不溶性のタンパク質構造物をいう。「タンパク質重合体の重合核となりうるタンパク質又はその重合体」には、線維性のタンパク質構造物又はその重合核が含まれる（以下「線維性構造物または重合核」という）。

「重合体」とは、タンパク質がいくつか重合したものを意味し、線維のほか、分子が幾つか重合したオリゴマーも含まれる。「重合核」とは、可溶性のタンパク質が重合して不溶性の凝集塊や線維を形成する分子反応における出発物質を意味する。例えば、線維性構造物を細胞に導入するために破碎したものなどが含まれる。線維性構造物または重合核は、種々のタンパク質からなり、不溶化して細胞内に沈着又は蓄積する。線維性構造物は、神経変性疾患の多くで病理学的特徴の一つとして挙

げられ、その形成過程が発症と密接に関連していると考えられている。この線維性構造物の病理像は、パーキンソン病ではレビー小体とよばれ、アルツハイマー病では神経原線維変化とよばれている。そして、レビー小体の主要構成成分として α シヌクレインが、神経原線維変化の主要構成成分としてタウタンパク質が、それぞれ
5 同定されている。

α シヌクレインとは、パーキンソン病の病因物質として同定された細胞質中への蓄積物質であり、 α シヌクレインの凝集が細胞死の要因と考えられている。

タウとは、微小管結合タンパク質の一種であり、アルツハイマー病に代表されるタウオパチーとよばれる疾患群において、神経原線維変化として神経細胞内に大量
10 に蓄積する。タウオパチーにおいても、パーキンソン病で見られるレビー小体と同様に、種々の異常構造物（神経原線維変化）が細胞内に認められるが、それらの主要構成成分がタウである。レビー小体における α シヌクレインと同様に、タウも異常構造物内で線維化しており、界面活性剤に不溶性を示す。

アルツハイマー病やパーキンソン病と同様に神経細胞内に蓄積物が出現する他
15 の変性疾患としては、ハンチントン病をはじめとするトリプレットリピート病が挙げられる。トリプレットリピート病において蓄積されるタンパク質は、細胞毒性を發揮すると考えられているポリグルタミンである。ポリグルタミンは、ハンチントン病において、不溶化した核内凝集体又は可溶状態のポリグルタミン鎖含有タンパク質片として存在するが、ポリグルタミン鎖の核内局在が細胞死の必須要因となっ
20 ている。

また、神経細胞内に蓄積物が出現する他の変性疾患としては、筋萎縮性側索硬化症が挙げられ、この疾患においては、Cu/Zn superoxide dismutase (SOD1) が蓄積される。SOD1 は、細胞毒性を發揮すると考えられているタンパク質であり、筋萎縮性側索硬化症において、レビー小体様封入体に蓄積されることが知られている。
25 そして、SOD1 の凝集物そのものが、新たな細胞障害効果を有すると考えられている。

一方、細胞外に蓄積するタンパク質としては、アルツハイマー病における、アミロイド β タンパク質(A β)と呼ばれるタンパク質が知られている。A β は、タウと弱いながらも相互作用をしているものと考えられている。一部のアルツハイマー病の

原因遺伝子が β アミロイド前駆体と一致することから、 $A\beta$ の蓄積は、アルツハイマー病の発症原因に関与するものと考えられている。さらに、 $A\beta$ タンパク質は細胞内にも蓄積される場合がある。従って、細胞内に導入するタンパク質として、 $A\beta$ も含まれる。

5 プリオンタンパク質は、狂牛病やクロイツフェルト・ヤコブ病で異常蓄積が認められるタンパク質であり、神経細胞内又は外において線維化して蓄積することが知られている。プリオンタンパク質の高次構造が変化して、ベータシート構造が増加することにより、正常プリオンタンパク質が病原性プリオンタンパク質に転換し、神経細胞死の原因となると考えられている。

10 以上のタンパク質はいずれも細胞内又は細胞外に蓄積しその発症と関連していると考えられており、何らかの共通のメカニズムにより細胞内で蓄積し細胞毒性を発揮する可能性がある。従って、本発明の細胞は、上記神経変性疾患のモデルとして使用することが可能である。

15 また、本発明で用いられるタンパク質は、上記タンパク質に限られず、上記タンパク質の変異体でもよい。「変異体」とは、上記タンパク質のアミノ酸配列において、1個又は数個（例えば1～10個、好ましくは1～5個）のアミノ酸に欠失、置換又は付加等の変異が生じたタンパク質を意味し、細胞内又は外においてタンパク質重合体として蓄積しうるものであればよい。例えば、 α シヌクレインの変異体
20 あるA30P、A53T、E46Kがある。A30Pは、 α シヌクレインのアミノ酸配列（配列番号2）において第30番目のアラニン（Ala）がプロリン（Pro）に置換した変異型であり、A53Tは、 α シヌクレインのアミノ酸配列（配列番号2）において第53番目のアラニン（Ala）がスレオニン（Thr）に置換した変異型であり、E46Kは、 α シヌクレインのアミノ酸配列（配列番号2）において第46番目のグルタミン酸
25 （Glu）がリシン（Lys）に置換した変異型である。

また、N末端やC末端側が欠損した断片化 α シヌクレイン、あるいは、5～7箇所存在する繰り返し配列が欠損した α シヌクレインなども、本発明において細胞内に導入するために使用することができる。断片化 α シヌクレインは、例えば配列番号

2に示す α シヌクレインのアミノ酸配列のうち、131~140番目のアミノ酸を欠失させたものを例示することができる。

繰返し配列欠損 α シヌクレインは、配列番号2で表される α シヌクレインのアミノ酸配列のうち、10~15、21~26、32~37、43~48、58~63番目のアミノ酸残基のいずれか又は全部を欠損させたものである。

3. タンパク質又はその重合体の作製

(1) タンパク質をコードする遺伝子の取得

本発明で用いられるタンパク質は、表1に示すAccession番号から遺伝子又はアミノ酸配列情報を得、その情報をもとに通常の遺伝子工学的手法により入手することができる。このような遺伝子は、表1に記載の配列番号で示される塩基配列からなるDNA又はその断片をプローブとして、コロニーハイブリダイゼーション、プライクハイブリダイゼーション、サザンブロット等の公知のハイブリダイゼーション法により、ヒトのcDNAライブラリー及びゲノムライブラリーから得ることができる。これらの方法については、「Molecular Cloning, A Laboratory Manual 2nd ed.」(Cold Spring Harbor Press (1989))を参照することができる。

また、上記タンパク質をコードする遺伝子は、通常の化学合成法または生化学的合成法を用いて製造することもできる。例えば、遺伝子工学的手法として一般的に用いられているDNA合成装置を用いた核酸合成法、あるいは、鋳型となる塩基配列を単離又は合成した後に、PCR法又はクローニングベクターを用いた遺伝子増幅法を用いることができる。その後、上記のようにして得られた核酸を制限酵素等で切断する。このように切出した当該遺伝子のDNA断片を、適当な発現ベクターに挿入し、タンパク質をコードする遺伝子を含む発現用ベクターを得ることができる。

タンパク質やその変異体は、神経変性疾患の病巣部分等から単離することもできるし、公知の遺伝子工学的手法、例えば、Kunkel法やGapped duplex法等の部位特異的突然変異誘発法を利用した公知手法により取得することもできる。部位特異的突然変異誘発のための変異導入用キットとして、例えば

QuikChange™ Site-Directed Mutagenesis Kit (ストラタジーン社製)、GeneTailor™ Site-Directed Mutagenesis System (インビトロジェン社製)、TaKaRa

Site-Directed Mutagenesis System (Mutan-K、Mutan-Super Express Km 等：タカラバイオ社製) 等を用いることが可能である。

タンパク質は、上記したとおり α シヌクレイン、タウ、SOD1、ポリグルタミン、 $A\beta$ 、及びプリオン並びにこれらの変異体が含まれる。これらのタンパク質のアミノ酸配列、及びこれらのタンパク質をコードする遺伝子の塩基配列を表 1 に示す。

表 1

	Accession 番号 タンパク質 (上段) 遺伝子 (下段)	遺伝子の 塩基配列	タンパク質の アミノ酸配列
α シヌクレイン	P37804 L08850	配列番号 1	配列番号 2
タウ	NP005901 NM_005910.2	配列番号 3	配列番号 4
SOD1	NP000445 NM_000454.4	配列番号 5	配列番号 6
ポリグルタミンハンチントン	NP002102 NM_002111.5	配列番号 7	配列番号 8
$A\beta$ 前駆体タンパク	P5067 Y00264	配列番号 9	配列番号 10
プリオン	NP898902 NM_183079.1	配列番号 11	配列番号 12

タンパク質をコードする遺伝子は、上記した配列番号に示される塩基配列のほか、当該塩基配列に相補的な配列に対してストリンジентな条件下でハイブリダイズし、かつ細胞内への沈着又は蓄積するタンパク質をコードする DNA を含む。上記ハイブリダイゼーションにおいてストリンジентな条件としては、たとえば、 $1 \times \text{SSC} \sim 2 \times \text{SSC}$ 、 $0.1\% \sim 0.5\%$ SDS 及び $42^\circ\text{C} \sim 68^\circ\text{C}$ の条件が挙げられる。

(2) 発現ベクターの構築及び形質転換

本発明において、重合核となりうるタンパク質は、以下に示すとおり発現ベクターを構築してこれを宿主に導入し、培養することにより得ることができる。あるいは、タンパク質が市販されている場合は、購入してもよい。

発現ベクターを導入するための宿主は、目的とする遺伝子を発現できるものであれば特に限定されず、例えば、宿主として大腸菌 (*Escherichia coli*)、バチルス・ズブチリス (*Bacillus subtilis*) 等の細菌、サッカロミセス・セレビスイエ (*Saccharomyces cerevisiae*) 等の酵母、COS 細胞、CHO 細胞等の哺乳類細胞などが挙げられる。大腸菌等の細菌を宿主として用いる場合は、本発明の遺伝子が宿主中で自立複製可能であると同時に、プロモーター、転写終結配列を含む構成であることが好ましい。発現ベクターとしては、例えば pcDNA3、pRK172、pET、pGEX 等が挙げられる。プロモーターとしては、大腸菌等の宿主中で発現できるものであればいずれを用いてもよい。例えば、trp プロモーター、lac プロモーター、PL プロモーター、PR プロモーターなどの大腸菌やファージ等に由来するプロモーターが用いられる。酵母を宿主として用いる場合は、発現ベクターとして、例えば YEp13、YCp50 等が挙げられる。プロモーターとしては、例えば gal1 プロモーター、gal10 プロモーター等が挙げられる。哺乳類細胞を宿主として用いる場合は、発現ベクターとして、例えば pcDNA3 等が好ましい。

上記発現ベクターを宿主に導入し形質転換体を作製し、目的遺伝子の発現に供する。このとき、宿主は、目的とする遺伝子を発現できるものであれば特に限定されず、例えば、大腸菌 (*Escherichia coli*)、バチルス・ズブチリス (*Bacillus subtilis*) 等の細菌、サッカロミセス・セレビスイエ (*Saccharomyces cerevisiae*) 等の酵母、COS 細胞、CHO 細胞等の哺乳類細胞などが挙げられる。宿主への組換えベクターの導入方法としては、例えばエレクトロポレーション法、リポソーム法、スフェロプラスト法、酢酸リチウム法等が挙げられる。

(3) タンパク質又はその重合体の採取及び精製

線維性構造物などのタンパク質又はその重合体は、前記形質転換体を培養し、その培養物から採取することにより得ることができる。「培養物」とは、培養上清、培養細胞、培養菌体、又は細胞若しくは菌体の破砕物のいずれをも意味するものである。

形質転換体を培地に培養する方法は、宿主の培養に用いられる通常の方法に従って行われる。

大腸菌や酵母菌等を宿主とする形質転換体を培養する培地としては、微生物が資化し得る炭素源、窒素源、無機塩類等を含み、形質転換体の培養を効率的に行うことができる培地であれば、天然培地、合成培地のいずれを用いてもよい。

炭素源としては、グルコース、フラクトース、スクロース、デンプン等の炭水化物、酢酸、プロピオン酸等の有機酸、エタノール、プロパノール等のアルコール類が用いられる。

窒素源としては、アンモニア、塩化アンモニウム、硫酸アンモニウム、酢酸アンモニウム、リン酸アンモニウム等の無機酸若しくは有機酸のアンモニウム塩、ペプトン、肉エキス、コーンステープリカー等が用いられる。

無機物としては、リン酸第一カリウム、リン酸第二カリウム、リン酸マグネシウム、硫酸マグネシウム、塩化ナトリウム、硫酸第一鉄、硫酸マンガン、硫酸銅、炭酸カルシウム等が用いられる。

培養は、通常、振盪培養又は通気攪拌培養などの好氣的条件下、例えば 37°C で 6 ~ 24 時間行う。pH の調整は、無機又は有機酸、アルカリ溶液等を用いて行う。

培養中は必要に応じてアンピシリンやテトラサイクリン等の抗生物質を培地に添加してもよい。

プロモーターとして誘導性のプロモーターを用いた発現ベクターで形質転換した微生物を培養する場合は、必要に応じてインデューサーを培地に添加してもよい。例えば、Lac プロモーターを用いた発現ベクターで形質転換した微生物を培養するときにはイソプロピル-β-D-チオガラクトシド (IPTG) 等を培地に添加してもよい。

動物細胞を宿主として得られた形質転換体を培養する培地としては、一般に使用されている RPMI-1640 培地、DMEM 培地又はこれらの培地に牛胎児血清等を添加した培地等が用いられる。

培養は、通常、5%CO₂ 存在下、37°C で 1~30 日行う。培養中は必要に応じてカナマイシン、ペニシリン等の抗生物質を培地に添加してもよい。

培養後、タンパク質が菌体内又は細胞内に生産される場合には、菌体又は細胞を破碎することによりタンパク質を抽出する。また、線維性構造物をはじめとするタンパク質又はその重合体が菌体外又は細胞外に生産される場合には、培養液をその

まま使用するか、遠心分離等により菌体又は細胞を除去する。その後、タンパク質の単離精製に用いられる一般的な生化学的方法、例えば硫酸アンモニウム沈殿、ゲルクロマトグラフィー、イオン交換クロマトグラフィー、アフィニティークロマトグラフィー等を単独で又は適宜組み合わせる用いることにより、前記培養物中から

5 タンパク質を単離精製することができる。

精製されたタンパク質の線維化をはじめとするタンパク質の重合化は、例えば、上記タンパク質を含む溶液を振とうすることにより行うことができる。重合化により得られた構造物を、超遠心分離等により回収したのち、適当量の緩衝液に懸濁して、細胞導入用のタンパク質又はその重合体とする。

10 また、本発明においては、生細胞を全く使用することなく無細胞タンパク質合成系を採用して産生したタンパク質を使用することが可能である。無細胞タンパク質合成系とは、細胞抽出液を用いて試験管などの人工容器内でタンパク質を合成する系である。無細胞タンパク質合成系には、DNAを鋳型としてRNAを合成する無細胞転写系も含まれる。上記細胞抽出液は、真核細胞由来又は原核細胞由来の抽出液、例えば、小麦胚芽、ウサギ網状赤血球、マウスL-細胞、HeLa

15 細胞、CHO細胞、出芽酵母、大腸菌などの抽出液を使用することができる。

さらに本発明において、無細胞タンパク質合成は、市販のキットを用いて行うこともできる。そのようなキットとしては、例えばPURESYSTEM (ポストゲノム研究所)、PROTEIOS™ (東洋紡)、TNT™ System (プロメガ)などが挙げられる。

20 上記のように無細胞タンパク質合成によって得られるタンパク質は、前述のように適宜クロマトグラフィー等を選択して、精製することができる。

4. タンパク質重合体の重合核となりうるタンパク質又はその重合体の細胞内への導入

25 本発明においては、上記のようにして得られた線維性構造物をはじめとする、タンパク質重合体の重合核となりうるタンパク質又はその重合体を細胞内に導入することにより、これらのタンパク質の重合体が蓄積された細胞を得ることができる。導入するための細胞は、特に限定されるものではないが、動物細胞であることが好ましく、中でも神経細胞又はグリア細胞であることが好ましい。例えば、神経芽細

胞である SH-SY5Y 細胞 (L. Odelstad et al., 1981, Brain Res., 224: 69-82) や NIH/3T3 細胞及びグリア様細胞である OLN-93 細胞等が挙げられるが、これらに限定されるものではない。

タンパク質重合体の重合核となりうるタンパク質又はその重合体の細胞内への導入は、適当な導入試薬を用いて行うことができる。細胞内への導入用試薬としては、例えばリポフェクトアミンや Chariot などが挙げられる。なお、前記タンパク質又はその重合体を細胞内に導入するに際し、断片化等のために必要に応じて超音波処理を行ってもよい。

なお、タンパク質の重合体が蓄積される部位が細胞内か細胞外か両方に蓄積されるのかに関しては、各タンパク質重合体の種類による。例えば、 α シヌクレインは細胞内に蓄積するが、 $A\beta$ 、プリオンタンパク質は細胞内、外腔のどちらにも蓄積する。

本発明においては、上記のように重合核を導入することにより、導入された重合核はリン酸化されて蓄積し、前記重合核が導入された細胞は患者脳にみられる一部の病的特徴を示す。

また、本発明においては、伸長反応に必要と考えられるタンパク質をコードする遺伝子を細胞に導入して過剰発現させるとともに、タンパク質重合体の重合核となりうるタンパク質又はその重合体を細胞に導入することができる。これにより、導入された重合核と、過剰発現させたタンパク質とを相互作用させることにより、細胞内にタンパク質重合体を蓄積させることができる。但し、重合核となりうるタンパク質をコードする遺伝子の細胞内への導入は、重合核となりうるタンパク質又はその重合体とともに細胞内に導入しても、どちらを先に導入してもよく、導入の先後又は時期に限定されるものではない。

この方法で作製した細胞は、実際の患者脳に蓄積するタンパク質と極めて類似した性質のタンパク質が細胞内で凝集して蓄積し、その後細胞死に至ることが観察されるため、より患者脳に近い細胞モデルとして好ましい。この重合体形成のための伸長反応に必要と考えられるタンパク質を細胞内に発現させる方法は、例えば前記タンパク質をコードする遺伝子を適当なベクターに挿入した組換えベクターを作製し、当該組換えベクターを神経細胞やグリア細胞等に導入し、これらの細胞を適

当時間培養すればよい。組換えプラスミド及び形質転換体の作製は、前記3.に記載の方法に準じて行うことができる。

タンパク質が細胞に導入され、不溶化していることは、上記タンパク質を認識する抗体を用いたイムノブロット法により解析できる。また、タンパク質が細胞内に蓄積されたことは、共焦点レーザー及び免疫染色により確認することができる。

なお、患者脳に見られるレビー小体には、リン酸化 α シヌクレインだけでなくユビキチンも含まれることが知られているが、本発明に含まれる α シヌクレイン蓄積モデル細胞に出現する細胞内構造物は、レビー小体と形や大きさだけでなく、リン酸化 α シヌクレインの線維から構成され、ユビキチン化されているという性質まで類似している。これを確認するには、例えば、上記細胞およびレビー小体型痴呆症 (DLB) 患者脳のビブラトーム切片を、それぞれ抗 α シヌクレイン抗体およびユビキチン抗体で二重染色を行い、共焦点レーザー顕微鏡で観察する方法が挙げられる。これにより、上記タンパク質重合体がレビー小体と同様にユビキチン化されていることが示される。

5. タンパク質重合体蓄積モデル細胞

本発明のタンパク質重合体が蓄積したモデル細胞は、細胞死を誘導する。このことは、上記細胞を一定期間培養すると、タンパク質重合体が細胞内に導入されていない細胞と比べて明らかな形態変化が認められ (図6-b)、さらに、細胞数の減少も見られることから明らかである。従って、本発明の細胞は、神経変性疾患のモデル細胞として使用することができる。

本発明のタンパク質重合体蓄積モデル細胞において細胞死が誘導されたことの確認は、例えば細胞死アッセイを用いることができる。細胞死アッセイ法としては、特に限定されるものではなく、例えば乳酸脱水素酵素 (LDH) 漏出アッセイ法が挙げられる。このアッセイ法は、本来細胞内に存在するLDHが、細胞死の際にどれだけ細胞外に漏出するかを定量する方法に基づいており、細胞外のLDH活性が高ければ高いほど強い細胞死が起きていることになる。

6. スクリーニング方法及びキット

本発明のスクリーニング方法は、上記タンパク質重合体が導入された細胞に候補物質（被験物質）を接触させることを特徴とするものである。これにより、タンパク質重合体の細胞内蓄積を抑制する物質をスクリーニングすることが可能となり、また、神経変性疾患治療薬をスクリーニングすることも可能となる。

- 5 神経変性疾患とは、外傷や細菌感染などの明らかな原因がないのに神経細胞が死んでいく神経変性(neurodegeneration) という現象がみられる病気を意味し、痴呆を主とするアルツハイマー病、運動障害を主な症状とするパーキンソン病などが挙げられる。これらの疾患の他に、ハンチントン病、トリプレットリピート病、筋萎縮性側索硬化症、レビー小体型痴呆症、多系統萎縮症、クロイツフェルト-ヤコブ病、Gerstmann-Straussler 症候群、狂牛病、球脊髄性筋萎縮症、脊髄小脳失調症、
10 歯状核赤血淡蒼球ルイ体萎縮症、FTDP-17、進行性上性麻痺、皮質基底核変性症、Pick 病などが挙げられる。

- 「接触」とは、上記タンパク質重合体が導入された細胞と候補物質（被験物質）とを同一の反応系又は培養系に存在させることを意味し、例えば、細胞培養容器に
15 候補物質を添加すること、細胞と候補物質とを混合すること、細胞を候補物質の存在下で培養することなどが含まれる。

- 本発明の好ましい態様において、神経変性疾患がパーキンソン病、レビー小体型痴呆症及び多系統萎縮症の場合は、線維性構造物として α シヌクレインを導入した細胞を用いることが好ましい。この場合、 α シヌクレインが蓄積した神経細胞に候補物質を接触させ、前記候補物質を接触させた細胞において標的とする疾患と相
20 関関係を有する指標値又は性質について、対照と比較し、この比較結果に基づいて、 α シヌクレインの細胞内蓄積を抑制する物質、あるいはパーキンソン病の症状を軽減または消滅させる物質をスクリーニングすることができる。標的とする疾患と相関関係を有する指標値又は性質としては以下のものが挙げられる。これらの指標値
25 又は性質は、1つのみを採用してもよく、2種類以上を組み合わせてもよい。

パーキンソン病： α シヌクレインの蓄積の有無、レビー小体の出現の有無、抗ユビキチン抗体による反応性の有無、神経細胞の変性の有無など

アルツハイマー病： $A\beta$ 又はタウの蓄積の有無、神経原線維変化の有無、抗ユビキチン抗体による反応性の有無、神経細胞の変性の有無など

クロイツフェルト・ヤコブ病：プリオンの蓄積の有無、神経細胞の変性の有無など

ハンチントン病：ハンチンチンの蓄積の有無、神経細胞の変性の有無など

- 5 神経変性疾患がアルツハイマー病の場合、すなわちスクリーニングの目的対象物質がアルツハイマー病治療薬の場合は、候補物質のスクリーニングには、細胞として $A\beta$ 又はタウが導入された神経細胞を用いることが好ましい。また、神経変性疾患がクロイツフェルト-ヤコブ病、Gerstmann-Straussler 症候群及び狂牛病の場合は、プリオンタンパク質が導入された細胞を用いることが好ましい。神経変性疾患
- 10 がハンチントン病、球脊髄性筋萎縮症、脊髄小脳失調症及び歯状核赤血淡蒼球レイ体萎縮症の場合は、ポリグルタミンが導入された神経細胞を用いることが好ましい。神経変性疾患が筋萎縮性側索硬化症の場合は、SOD1 が導入された神経細胞を用いることが好ましい。神経変性疾患が FTDP-17、進行性上性麻痺、皮質基底核変性症、Pick 病の場合は、タウを用いることが好ましい。

- 15 候補物質としては、例えば、ペプチド、タンパク質、非ペプチド性化合物、合成化合物（高分子又は低分子化合物）、発酵生産物、細胞抽出液、細胞培養上清、植物抽出液、哺乳動物（例えば、マウス、ラット、ブタ、ウシ、ヒツジ、サル、ヒトなど）の組織抽出液、血漿などが挙げられ、これら化合物は新規な化合物であってもよいし、公知の化合物であってもよい。これら候補物質は塩を形成していてもよく、候補物質の塩としては、生理学的に許容される酸（例えば、無機酸や有機酸など）や塩基（例えば、金属酸など）などとの塩が用いられる。
- 20

- 線維性構造物あるいはタンパク質重合体の重合核となりうるタンパク質又はその重合体が細胞内に蓄積された細胞は、細胞死が誘導されるため、ある候補物質を投与した場合に、細胞死が緩和もしくは消失したことが確認できる結果が得られれば、用いた候補物質を、神経変性疾患治療薬として選択することが可能である。
- 25

例えば、上記候補物質の一つとして、ポリフェノール化合物の一種である Gossypetin が挙げられる。Gossypetin はアオイ科シロバナワタに含まれるフラボノールであり、食品添加剤として利用されているポリフェノール化合物でもある。例えば、Gossypetin が *in vitro* で α シヌクレインの線維化を抑制するかどうかを

検討するには、 α シヌクレインを Gossypetin の存在下で線維化を行い、反応後の溶液に、チオフラビン S を添加して蛍光強度を測定すればよい。チオフラビン S は、 β シート構造に富むタンパク質重合体の重合核となりうるタンパク質又はその重合体に結合して蛍光を発する試薬であり、タンパク質重合体の重合核となりうる

5 タンパク質又はその重合体や線維の有無の判定に利用されている。一方、 α シヌクレイン線維は β シート構造に富む構造を有しており、Gossypetin により α シヌクレイン線維化が抑制されれば、Gossypetin 未添加のものよりも蛍光強度が減少する。

この方法により、Gossypetin はインビトロで α シヌクレインの線維化を抑制することが示される。このため、ポリフェノールの一種である Gossypetin には、細胞死を抑制する効果があるといえる。

10

本発明の細胞は、タンパク質重合体の細胞内蓄積を抑制する物質又は変性疾患治療薬のスクリーニング用キットの形態で提供することができる。本発明のキットは

15 上記細胞を含むが、その他に、標識物質、細胞死検出用試薬（例えば LDH 等）、リン酸化 α シヌクレイン抗体などを含めることができる。標識物質とは、酵素、放射性同位体、蛍光化合物及び化学発光化合物等を意味する。本発明のキットは、上記の構成要素のほか、本発明の方法を実施するための他の試薬、例えば標識物が酵素標識物の場合は、酵素基質（発色性基質等）、酵素基質溶解液、酵素反応停止液など

20 を含めることができる。さらに、本発明のキットには、被験化合物用希釈液、各種バッファー、滅菌水、各種細胞培養容器、各種反応容器（エッペンドルフチューブ等）、洗浄剤、実験操作マニュアル（説明書）等を含めることもできる。

実施例

25 以下、実施例により本発明をさらに具体的に説明する。但し、本発明はこれら実施例に限定されるものではない。

1. 方法

α シヌクレイン線維の調製

α シヌクレイン遺伝子を組み込んだ pRK172 ベクターは、文献 (Jakes R, Spillantini MG, & Goedert M. FEBS Lett. 1994, 345: 27-32) に記載のものを使用した。

- 5 これを大腸菌 (BL21DE3 株) にトランスフォームした。トランスフォームした大腸菌を 500 mL の 50 μ g/mL のアンピシリンを含む LB 培地中で 37°C 6 時間振とう培養したのち、0.2 mM isopropyl 1-thio- β -D-galactoside を添加してさらに 2 時間培養した。菌体を回収し、液体窒素で急速凍結した。室温で解凍したのち、菌体に 5 mL の Buffer A (50 mM Tris-HCl buffer, pH7.5/ 1 mM ethylene glycole bis (10 (β -aminoethyl ether)-tetraacetic acid (EGTA) /1 mM dithiothreitol) を加えて懸濁したのち超音波処理を行い、菌体を破碎した。

菌体破碎物を遠心分離 (26,600 g、15 分、4°C) したのち、上清を回収し、5 分間の熱処理を行った。さらに遠心分離 (26,600 g、15 分、4°C) により不溶化したタンパク質を除去したのち、上清を、予め Buffer A で平衡化した Q セファロースカラム (15 (2 mL) に添加した。6 mL の 0.1 M NaCl を含む Buffer A でカラムを洗浄したのち、カラムに吸着したタンパク質を、6 mL の 0.5 M NaCl を含む Buffer A で溶出した。この溶出液に硫酸アンモニウムを加えて 50% 飽和とし、 α シヌクレインタンパク質を沈殿させた。

遠心分離 (39,100 g、20 分、4°C) により沈殿した α シヌクレインを回収し、1 mL (20 の 50 mM Tris-HCl buffer, pH 7.5 (Buffer B) に溶解した。さらにこの溶液は 1 L の Buffer B に対して透析した。透析した試料はタンパク質定量したのち、線維化に用いた。5~10 mg/mL の α シヌクレイン溶液を 37°C で 4 日間振とうし、線維化させた。超遠心分離 (113,000 g、20 分、室温) で線維を回収したのち、適当量の Buffer B に懸濁し、超音波処理を行った。これをタンパク質定量したのち、細胞導入用の (25 α シヌクレイン線維、重合核となりうる α シヌクレイン重合体とした。

α シヌクレイン蓄積細胞モデルの作製

神経芽細胞 SH-SY5Y は、10% 仔牛血清を含む DMEM/F12 培地を用いて 37°C、5% CO₂ の条件下、インキュベータ中で培養を行った。

30~50% コンフルエントとなるように SH-SY5Y 細胞を 6 ウェルプレート上で培養し、培地中に、1 μ g の野生型 α シヌクレイン遺伝子を組み込んだ pcDNA3 ベクター (pcDNA3- α syn) と 3 μ L の FuGENE6 (ロッシュ) を 100 μ L の opti-MEM (ライフテックオリエンタル) に混合した液を加え、そのまま一晩静置し、プラスミド由来の可溶性 α シヌクレインを発現させた。また、野生型 α シヌクレインプラスミドのほかに、家族性パーキンソン病家系の解析より発見された変異型 α シヌクレイン (A30P、A53T、E46K)、N 末端や C 末端の一部が欠損した断片化 α シヌクレイン、5~7 箇所存在する繰り返し配列を欠損した α シヌクレインをコードする pcDNA3 ベクターを用いた。なお、プラスミド DNA のトランスフェクションは、FuGENE6 だけでなくリポフェクトアミン試薬 (インビトロジェン) やリポフェクトアミン 2000 (インビトロジェン) などでも同様に行うことができた。

細胞を一晩静置したのち、Phosphate buffered saline (PBS) で一回洗浄し、1 mL の opti-MEM で培地交換した。この細胞に、2 μ g の超音波処理した α シヌクレイン線維と 5 μ L のリポフェクトアミン試薬を 200 μ L の opti-MEM に混合したものを加えて 37°C で 3 時間静置した。その後、通常の DMEM/F12 培地に交換し、さらにインキュベータ中で培養を続けた。必要に応じて、野生型 α シヌクレイン線維の代わりに、変異型 α シヌクレイン (A30P、A53T、E46K)、N 末端や C 末端側が欠損した断片化 α シヌクレイン、5~7 箇所存在する繰り返し配列を欠損した α シヌクレインなどの線維を用いた。これらのシヌクレインの線維化方法は、野生型 α シヌクレインの場合と同じである。

in vitro における α シヌクレイン線維化の抑制

精製リコンビナント α シヌクレインを 30 mM Tris-HCl (pH 7.5)、0.2 % NaN_3 に希釈し 2 mg/mL とし、ポリフェノールの一種である Gossypetin を最終濃度 200 μ M になるように添加、37 °C、200 rpm で振とうさせ線維化反応を行った。

線維化反応後の試料 10 μ L に、300 mL の 5 μ M チオフラビン S (Sigma-Aldrich) 溶液 [0.2 % チオフラビン S、20 mM MOPS (pH 6.8)] を加え室温で 30 分インキュベートした。蛍光強度は日立 F4000 蛍光スペクトロフォトメーター (励起波長 440 nm、蛍光波長 520 nm) を用いて測定した。

αシヌクレイン蓄積細胞モデルの評価法

(1)界面活性剤を用いて段階的に抽出したタンパク質のイムノブロットによる解析

5 野生型αシヌクレインなどのpcDNA3プラスミドをトランスフェクトしたSH-SY5Y細胞に、αシヌクレイン線維（野生型あるいは変異型など）をリポフェクトアミンにより導入し、1日間インキュベーションした状態の細胞を使用した。ウェルの培地を除去したのち、0.5 mLの0.25%トリプシン溶液を加え、37°Cで10分間保温した。そこに0.5 mLのPBSを加え、ピペッティングで細胞をはがし回収

10 した。遠心分離（1,800 g、5分、4°C）により細胞を回収し、さらに1 mLのPBSを加えて洗浄し、同条件の遠心分離により細胞を回収した。

細胞は、100 μLの破碎バッファー（50 mM Tris-HCl, pH 7.5/0.15 M NaCl/5 mM ethylene diamine tetra acetic acid/5 mM EGTA/プロテアーゼ阻害剤カクテル）に懸濁したのち超音波処理を行った。細胞破碎液は超遠心分離（290,000 g、20分、

15 4°C）を行い、上清のトリス可溶性画分を回収した。トリス可溶性画分は、BCA Protein assay kit（PIERCE）を用いてタンパク質定量を行ったのち、Sodium dodecylsulphate（SDS）ポリアクリルアミドゲル電気泳動（SDS-PAGE）用サンプルバッファーを加えてSDS-PAGE用の試料とした。

一方、沈殿画分は、100 μLの1% Triton X-100（TX）を含む破碎バッファーと共に超音波処理を行い、同じ条件（290,000 g、20分、4°C）で超遠心分離を行った。得られた上清をTX可溶性画分とし、SDSサンプルバッファーを加えて電気泳動用の試料とした。TX処理の沈殿画分は、100 μLの1% サルコシル（Sar）を含む破碎バッファー中で超音波処理を行い、次いで37°Cで30分保温した。保温ののち超遠心分離（290,000 g、20分、4°C）を行い、得られた上清をSar可溶性画分

25 とし、同様にSDS-PAGE用のサンプルに調製した。沈殿画分は、100 μLのSDSサンプルバッファーを加えて超音波処理し、電気泳動用の試料とした。

得られたすべての画分について13.5%ゲルを用いたトリス・トリシンSDS-PAGEを行った。電気泳動後、ゲルをポリビニリデンジフルオライド（PVDF）膜に転写したのち、3%ゼラチン溶液でブロッキングを行い、1,000倍希釈した抗αシヌクレイ

ン抗体 (anti- α syn) あるいは抗リン酸化 α シヌクレイン抗体 (anti-PSer129) と室温で一晩反応させた。反応後の PVDF 膜は、Tris-buffered saline (TBS) で洗浄したのち、500 倍希釈したビオチン化マウス Ig G と室温で 1 時間反応させた。反応後、TBS にて膜を洗浄したのち、イムノスター試薬 (和光純薬工業) で処理し、

5 エックス線フィルム (富士フィルム) に感光させてバンドを検出した。

(2) 共焦点レーザー顕微鏡観察

SH-SY5Y 細胞はカバーガラスの上で培養を行った。定法に従い pcDNA3- α syn を発現させて一晩保温したのち、シヌクレイン線維を導入した。導入して数日間 (1

10 ~2 日間) インキュベーションを行ったのち、1 mL の 4% パラホルムアルデヒドを加えて細胞を固定した。固定した細胞は、0.2 % TX で処理したのち、5 % 牛血清アルブミン/PBS 溶液でブロッキングを行い、anti-PSer129 (1,000 倍希釈) と 37°C で 1 時間反応させた。

次に 0.05 % Tween 20 を含む TBS (TBS-T) で細胞を洗浄したのち、FITC 標識した抗マウス二次抗体と 37°C で 1 時間反応させた。同様に TBS-T で洗浄したのち、細胞を TO-PRO-3 (2,000 倍希釈) と反応させて核染色を行った。また一部の細胞については、0.05% チオフラビン S と室温で 5 分間反応させた。これらをスライドガラス上で封入した後、共焦点レーザー顕微鏡 (Zeiss) で解析した。

15

20 (3) 細胞死アッセイ

細胞死アッセイは、pcDNA3- α syn ベクターおよび α シヌクレイン線維を導入し、線維化阻害剤の存在下あるいは非存在下で 3 日間インキュベートした細胞を用いた。線維化阻害剤としては、ポリフェノールの一種である Gossypetin (20 μ M) を用いた。

25 3 日間インキュベートしたのち、培養中の細胞の培地を一部回収した。残りの培地を除去した細胞は、上述したトリス可溶性画分の調製と同じ方法で処理し、トリス可溶性画分を調製した。回収した培地とトリス可溶性画分を用いて、CytoTox 96 Non-Radioactive Cytotoxicity Assay Kit (Promega) による細胞死アッセイを行った。方法は、Kit に添付の説明書に従った。

2. 結果

α シヌクレイン重合体の細胞内への導入

本項では、 α シヌクレイン重合体(線維)を神経芽細胞 SH-SY5Y 内に導入できるかどうかについて検討した。超音波処理した α シヌクレイン線維 (F α S) (2 μ g) および線維化していない可溶性 α シヌクレイン (2 μ g) を、それぞれリポフェクトアミン試薬と共に SH-SY5Y 細胞に添加し、一晚反応させたのちに細胞を回収し、イムノプロットで解析した。

その結果を図1に示した。図1(a) はリン酸化に関係なく α シヌクレインを認識する抗体(anti- α syn) を用いて、図1(b) はリン酸化 α シヌクレインのみを特異的に認識する抗体(anti-PSer129) を用いてイムノプロットした結果をそれぞれ示している。可溶性 α シヌクレインをリポフェクトアミン処理して細胞に添加しても全くバンドは検出されなかったのに対し(図1、「可溶性」の「+」のレーン)、 α シヌクレイン線維をリポフェクトアミン存在下で細胞に添加した場合(「F α S」の「+」のレーン)は、どちらの抗体でもバンドが検出された。この結果は、 α シヌクレイン線維、あるいは重合核となりうる α シヌクレイン重合体はリポフェクトアミンの作用により細胞内に導入され、かつリン酸化されることを示している。また α シヌクレイン線維は細胞内に導入できたが、可溶性 α シヌクレインは導入されなかった。さらに、家族性パーキンソン病家系解析から見出された変異型 α シヌクレイン (A30P、A53T、E46K)、N末端やC末端側が欠損した断片化 α シヌクレイン、5~7箇所存在する繰り返し配列を欠損した α シヌクレインなどの線維も、全長の野生型 α シヌクレイン線維と同様にリポフェクトアミン試薬で細胞内に導入できた。

α シヌクレイン蓄積モデル細胞の作製

本項では、 α シヌクレイン重合体(線維)を導入する方法を利用して、予め可溶性 α シヌクレインを発現させておいた細胞に線維を導入すると、細胞内で α シヌクレインの蓄積が起こるかどうかを検討した。 α シヌクレイン線維のみを導入した細胞 (F α S)、 α シヌクレイン遺伝子を組み込んだ pcDNA3 ベクター (pcDNA3- α syn)

をトランスフェクトした細胞 (WT)、pcDNA3- α syn をトランスフェクトしたのち α -シヌクレイン線維を導入した細胞 (WT+F α S) の三種類の細胞を調製し、これらから細胞内の α -シヌクレインの抽出を試みた。調製した細胞はトリプシン処理したのち、PBS で洗浄し、破碎バッファーに懸濁し超音波処理を行った。破碎液は方法の
5 項に示したように、界面活性剤である Triton X-100 およびサルコシルを用いて順次タンパク質の可溶化を行った。得られた各画分は、anti- α syn および anti-PSer129 抗体を用いたイムノブロットで解析した。その結果を図 2 に示した。

線維のみを導入した F α S 細胞では、界面活性剤に不溶な画分 (ppt 画分) に多くの anti- α syn 抗体陽性のバンドが出現し、その一部はリン酸化されていることが分かった。すなわち、この結果から、 α -シヌクレイン線維が細胞内に導入されその一部がリン酸化を受けること、および導入された線維、重合核となりうる α -シヌクレイン重合体は、その間、細胞内でもその性質を維持し除去あるいは可溶化されないことが明らかとなった。pcDNA3- α syn を発現させた細胞 (WT) では、ほとんどの α -シヌクレインは可溶性画分 (TS 画分) に回収された。このことは、細胞内
10 で α -シヌクレインが大量に生合成されても、通常の状態では可溶性のまま存在しており、容易に線維化及び/又は不溶化しないことを示しており、また、そのほとんどはリン酸化されていないことも判明した。

一方、 α -シヌクレインプラスミド DNA および線維を導入した WT+F α S 細胞では、いずれの画分にも anti- α syn 抗体陽性のバンドが出現した。特に ppt 画分においてバンドが顕著に観察され、同様にリン酸化シヌクレインも ppt 画分に多く検出さ
20 れていた。すなわち、WT+F α S 細胞では、 α -シヌクレインが細胞内で不溶化・蓄積しているため、その多くが ppt 画分に回収されたと考えられる。また WT+F α S 細胞の ppt 画分のリン酸化 α -シヌクレイン量は、線維のみを導入した F α S 細胞のリン酸化 α -シヌクレイン量と比べて大幅に増加していることが分かる。この結果は、プラスミド由来の可溶性 α -シヌクレインが、導入された α -シヌクレイン線維依存的に
25 (言い換えれば、導入された線維を核として) 細胞内で蓄積することを示している。

患者脳に見られるレビー小体に存在する α -シヌクレインも、細胞内で蓄積及び/又は不溶化し、かつリン酸化などの翻訳後修飾を受けている。患者脳に蓄積した α -シヌクレインも界面活性剤に不溶性な画分に回収されるという事実より、今回開発

したモデル細胞における蓄積 α シヌクレインは、患者脳における蓄積 α シヌクレインと生化学的に類似した性質を持つことが明らかとなった。

α シヌクレイン蓄積細胞の免疫組織化学的観察

- 5 α シヌクレインプラスミドDNAおよび線維を導入したWT+F α S細胞内の蓄積 α シヌクレインは、患者脳におけるレビー小体に存在する蓄積 α シヌクレインと生化学的に類似した性質を有したことから、本項では、次に細胞内の蓄積シヌクレインを免疫組織化学的に観察して、レビー小体と形態学的に比較した。未処理 (none)、 α シヌクレインプラスミドのみ発現させたWT細胞、線維のみ導入したF α S細胞、
10 プラスミドおよび線維を導入したWT+F α S細胞の4種類の細胞を、リン酸化 α シヌクレインのみを特異的に認識するanti-PSer129抗体による免疫染色を行い、共焦点レーザー顕微鏡による観察を行った。

- その結果、図3に示したように、WTおよびF α S細胞ではリン酸化シヌクレインを含む細胞はそれほど多く存在しないのに対し、WT+F α S細胞では、anti-PSer129
15 抗体陽性細胞がさらに増加した。これらの陽性細胞の細胞質には、この抗体で強く染色される、直径約10~15 nmの丸い構造物が存在していた(図中、白矢印で示した)。この形態は、患者脳に見られるレビー小体と大きさに関しても類似していた(図5参照)。

20 α シヌクレイン蓄積モデル細胞内に出現する構造物の性質

- 本項では、WT+F α S細胞で観察された丸い構造物(図3)が、 α シヌクレイン線維からなるかどうかについて検討した。ここでは、 β シート構造に富む線維性タンパク質と特異的に結合する蛍光色素の一種であるチオフラビンSによる染色を試
25 みた。WT+F α S細胞をanti-PSer129抗体、TO-PRO-3、およびチオフラビンSと三重染色し、共焦点レーザー顕微鏡にて観察した。

図4に示したように、リン酸化 α シヌクレイン抗体で染色された丸い構造物のいくつかは、チオフラビンSによっても染色されることが判明した(図中、白矢印で示した)。以上の結果と図2より、WT+F α S細胞内に出現した丸い構造物は、リン

酸化 α シヌクレインが線維化および不溶化して形成されたものであることが考えられた。

患者脳に見られるレビー小体には、リン酸化 α シヌクレインだけでなくユビキチンも含まれることが知られている。そこで、WT+F α S細胞内における構造物がレ
5 ー小体と同様にユビキチン化されているかどうかについて調べた。

WT+F α S細胞およびレビー小体型痴呆症 (DLB) 患者脳のピプラトーム切片を、それぞれ anti-PSer129 抗体およびユビキチン抗体による二重染色を行い、共焦点
レーザー顕微鏡で観察した。結果を図5にまとめた。

DLB患者脳のピプラトーム切片の染色象より、リン酸化 α シヌクレイン抗体で認
10 識されるレビー小体はほとんどユビキチン陽性を示すことが観察された(図中、白矢印で示した)。 α シヌクレインプラスミドおよび線維を導入したWT+F α S細胞では、リン酸化 α シヌクレイン抗体陽性を示す細胞内構造物は、患者脳のレビー小体と同様にユビキチン抗体でも染色されることが明らかとなった(図中、白矢印で示した)。

15 以上の結果より、今回開発した α シヌクレイン蓄積モデル細胞に出現する細胞内構造物は、レビー小体と形や大きさだけでなく、リン酸化 α シヌクレインの線維から構成され、ユビキチン化されているという性質まで類似していることが判明した。

α シヌクレイン蓄積モデル細胞に誘導される細胞死

20 α シヌクレインプラスミドDNAおよび線維を導入した細胞を3日間培養すると、未処理の細胞(図6(a))と比べて明らかな形態変化が認められる(図6(b))。形態変化に加えて細胞数の減少も見られることから、本項では、WT+F α S処理細胞におけるこの変化が細胞死と関連しているかどうかについて検討した。

未処理の細胞(none)、 α シヌクレイン線維のみ導入した細胞(F α S)、 α シヌク
25 レインプラスミドDNAおよび線維を導入したWT+F α S細胞の三種類の細胞について、細胞死のアッセイを行った。それぞれ3日間培養を行ったのち乳酸脱水素酵素(LDH)漏出アッセイによって細胞死を評価した。このアッセイは、本来細胞内に存在するLDHが、細胞死の際にどれだけ細胞外に漏出するかを定量する方法に基づい

ており、細胞外の LDH 活性が高ければ高いほど強い細胞死が起きているということになる。

細胞死のアッセイの結果を図 6(c) に示した。この図から明らかなように、未処理および α シヌクレイン線維のみを導入した細胞では細胞死は 10%程度であった
5 のに対し、 α シヌクレインプラスミド DNA および線維を導入した WT+F α S 細胞では約 30%の細胞死が認められた。このように WT+F α S 細胞において、 α シヌクレイン蓄積がともなう細胞死が誘導されることが明らかとなった。

α シヌクレイン蓄積モデル細胞に誘導される細胞死の抑制

10 図 6 で観察された WT+F α S 細胞死アッセイ系を利用して、その細胞死を抑制する薬剤の探索はパーキンソン病などの神経変性疾患に対する治療薬開発につながると思われる。

Gossypetin はアオイ科シロバナワタに含まれるフラボノールであり、食品添加剤として利用されているポリフェノール化合物である。そこで、本発明者は、まず
15 Gossypetin が in vitro で α シヌクレインの線維化を抑制するかどうかを検討した。

2 mg/mL の α シヌクレインを 20 μ M Gossypetin の存在下で、37°C で振とうして、線維化を行った。反応後の溶液に、チオフラビン S を添加し、蛍光強度を測定した。チオフラビン S は、 β シート構造に富むタンパク質重合体の重合核となりうるタンパク質又はその重合体に結合して、蛍光を発する試薬であり、タンパク質重合体の
20 重合核となりうるタンパク質又はその重合体や線維の有無の判定に利用されている。 α シヌクレイン線維は β シート構造に富む構造を有しており、Gossypetin が α シヌクレイン線維化を抑制する場合、未添加のものよりも蛍光強度が減少するはずである。

その結果、Gossypetin を添加した場合は、未添加の場合に比べて、蛍光強度が
25 顕著に減少することが観察された (図 7)。

以上より、Gossypetin が in vitro で α シヌクレインの線維化を抑制することが見出された。

in vitro での α シヌクレイン線維化の顕著な抑制が確認できたので、次いで、Gossypetin が WT+F α S 細胞で誘導される細胞死を抑制できるかどうかについて調べた。

α シヌクレインプラスミドおよび線維を導入した SH-SY5Y 細胞に、20 μ M

5 Gossypetin を添加し、3 日間インキュベートしたのち細胞死のアッセイを行った。

結果を図 8 に示す。図 8 に示のように、ポリフェノール化合物を添加しない場合では約 50% の細胞死が起きていたが、Gossypetin を添加した場合には顕著な細胞死の抑制が認められた。この結果より、ポリフェノールの一種である Gossypetin には、WT+F α S 細胞に誘導される細胞死を抑制する効果があることが示された。

10 以上のことから、本発明の方法により、 α シヌクレイン蓄積による細胞死を抑制する化合物又は天然物のスクリーニングが容易に行えることが判明した。スクリーニングで探索された化合物は、新たなターゲットのパーキンソン病あるいは神経変性疾患治療薬となり得るものであり、本発明の方法は極めて有用なスクリーニング法であるといえる。

15

産業上の利用可能性

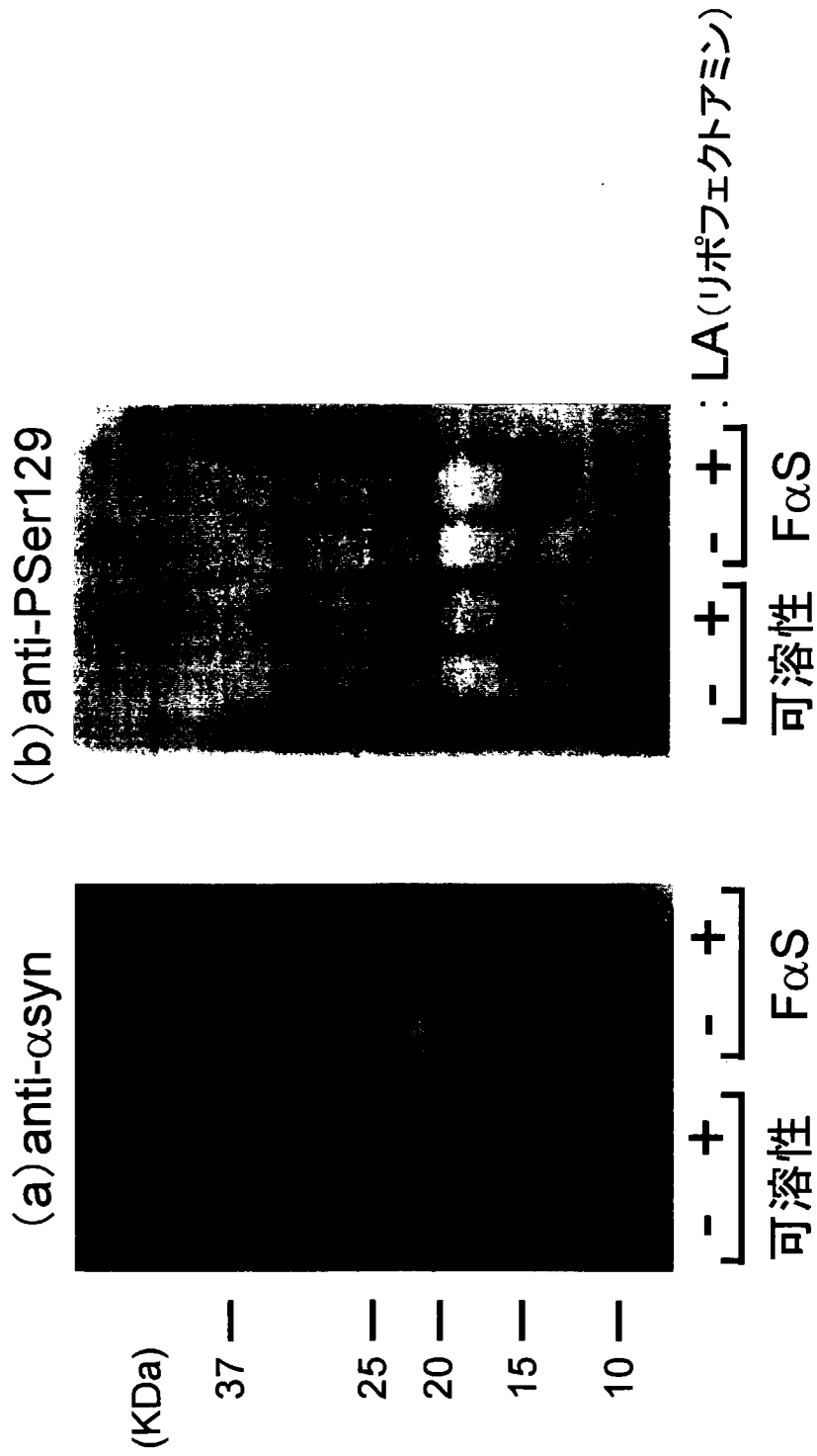
本発明により、タンパク質重合体の重合核となりうるタンパク質又はその重合体が導入された細胞、またその製造方法が提供される。本発明の細胞は、実際の神経変性疾患患者の脳に見出される構造物の特徴を有するモデル系として利用することが可能であり、アルツハイマー病やパーキンソン病の発症を解明するために有用である。また、本発明の細胞は、種々の神経変性疾患やアミロイドーシスに共通の発症メカニズムなどの解析に極めて有用である。さらに、本発明の細胞は、神経変性疾患の発症機構だけでなく、タウタンパク質や α シヌクレイン等の細胞内蓄積を抑制する化合物のスクリーニングなどにも容易に応用でき、新しい作用機序を有する治療薬の開発につながることを期待できる。

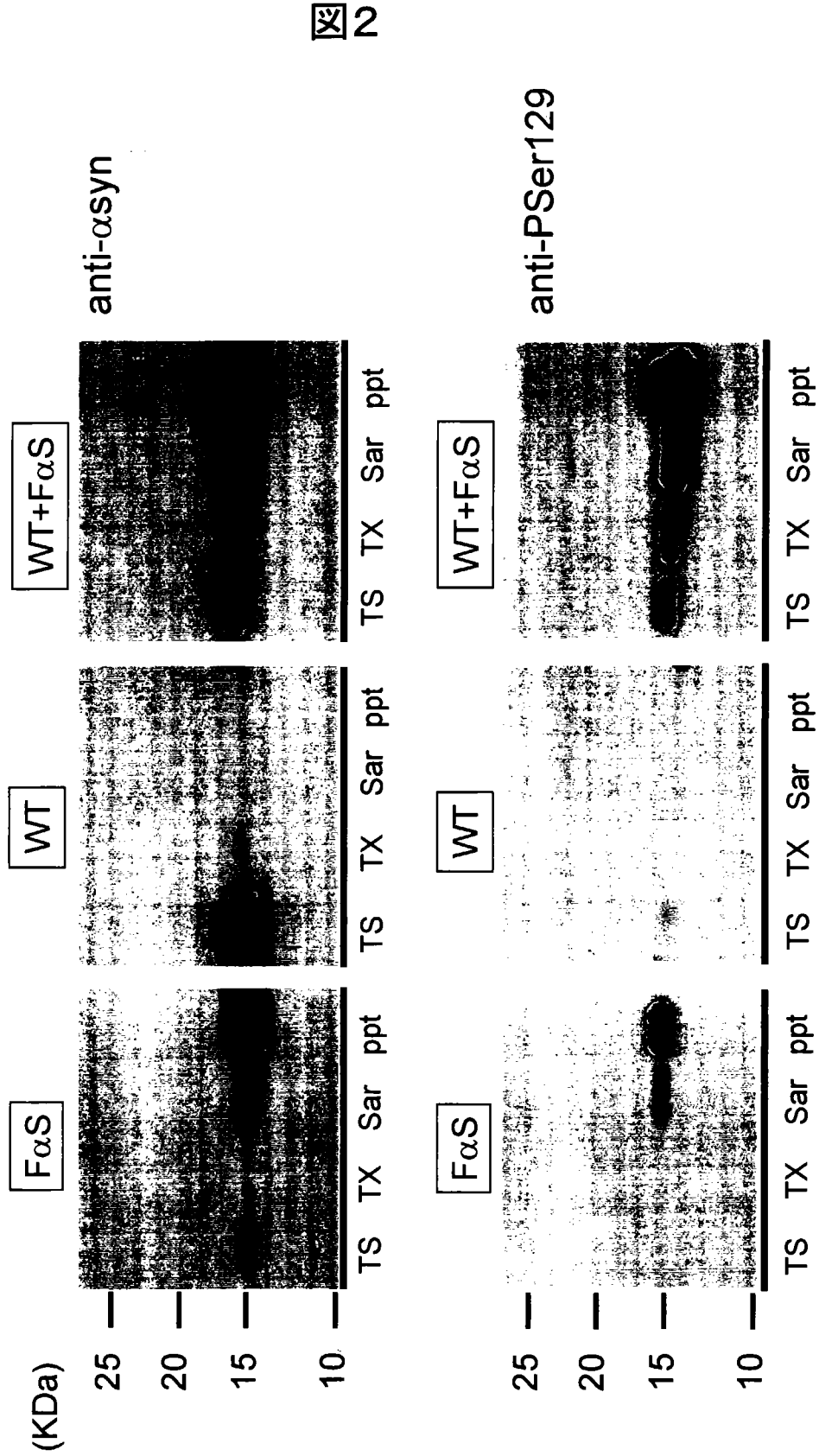
25

請求の範囲

1. タンパク質重合体の重合核となりうるタンパク質又はその重合体が導入された細胞。
- 5 2. タンパク質が、タウタンパク質、 β アミロイドタンパク質、 α シヌクレイン、ポリグルタミン、SOD1 及びプリオンタンパク質並びにこれらの変異体からなる群から選択される少なくとも一種である請求項1記載の細胞。
3. タンパク質がリン酸化されたものである請求項1又は2記載の細胞。
4. 神経細胞又はグリア細胞である請求項1～3のいずれか1項に記載の細胞。
- 10 5. 神経変性疾患のモデル細胞である請求項1～4のいずれか1項に記載の細胞。
6. タンパク質重合体の重合核となりうるタンパク質又はその重合体を神経細胞又はグリア細胞に導入することを特徴とする、神経変性疾患のモデル細胞の製造方法。
7. タンパク質重合体の重合核となりうるタンパク質又はその重合体と、当該タンパク質をコードする遺伝子を含むプラスミドとを神経細胞又はグリア細胞に
15 導入し、前記重合核となりうるタンパク質又は重合体と、プラスミドの発現により生じるタンパク質とを相互作用させることにより、細胞内にタンパク質重合体を蓄積させることを特徴とする、神経変性疾患のモデル細胞の製造方法。
8. タンパク質が、タウタンパク質、 β アミロイドタンパク質、 α シヌクレイン、
20 ポリグルタミン、SOD1 及びプリオンタンパク質並びにこれらの変異体からなる群から選択される少なくとも一種である請求項6又は7記載の方法。
9. タンパク質がリン酸化されたものである請求項6又は7記載の方法。
10. 請求項1～5のいずれか1項に記載の細胞に候補物質を接触させることを特徴とする、タンパク質重合体の細胞内蓄積を抑制する物質のスクリーニング方法。
25
11. 請求項1～5のいずれか1項に記載の細胞に候補物質を接触させることを特徴とする、変性疾患治療薬のスクリーニング方法。
12. 請求項1～5のいずれか1項に記載の細胞を含む、タンパク質重合体の細胞内蓄積を抑制する物質又は変性疾患治療薬のスクリーニング用キット。

図1

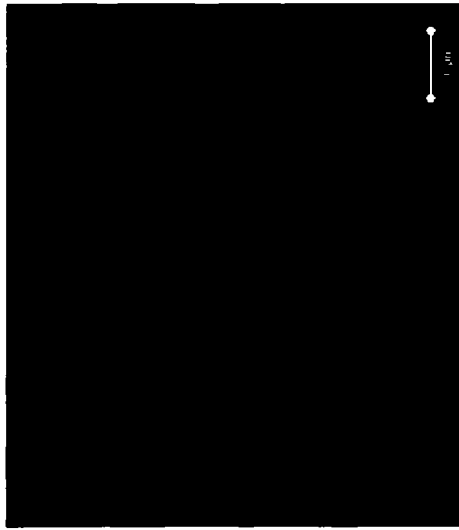




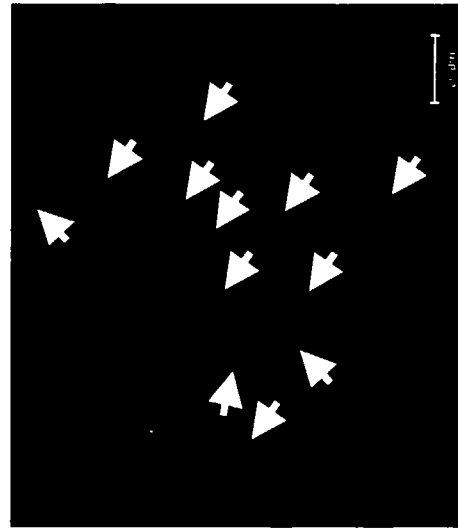
2

図3

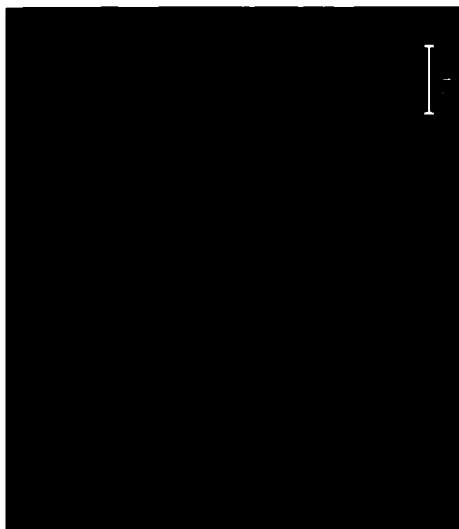
TOPRO-3(青色):
核染色
anti-PSer129(緑色):
リン酸化シヌクレイン



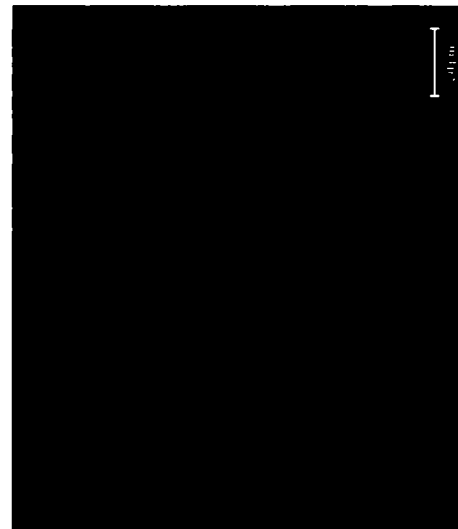
WT



WT+FαS

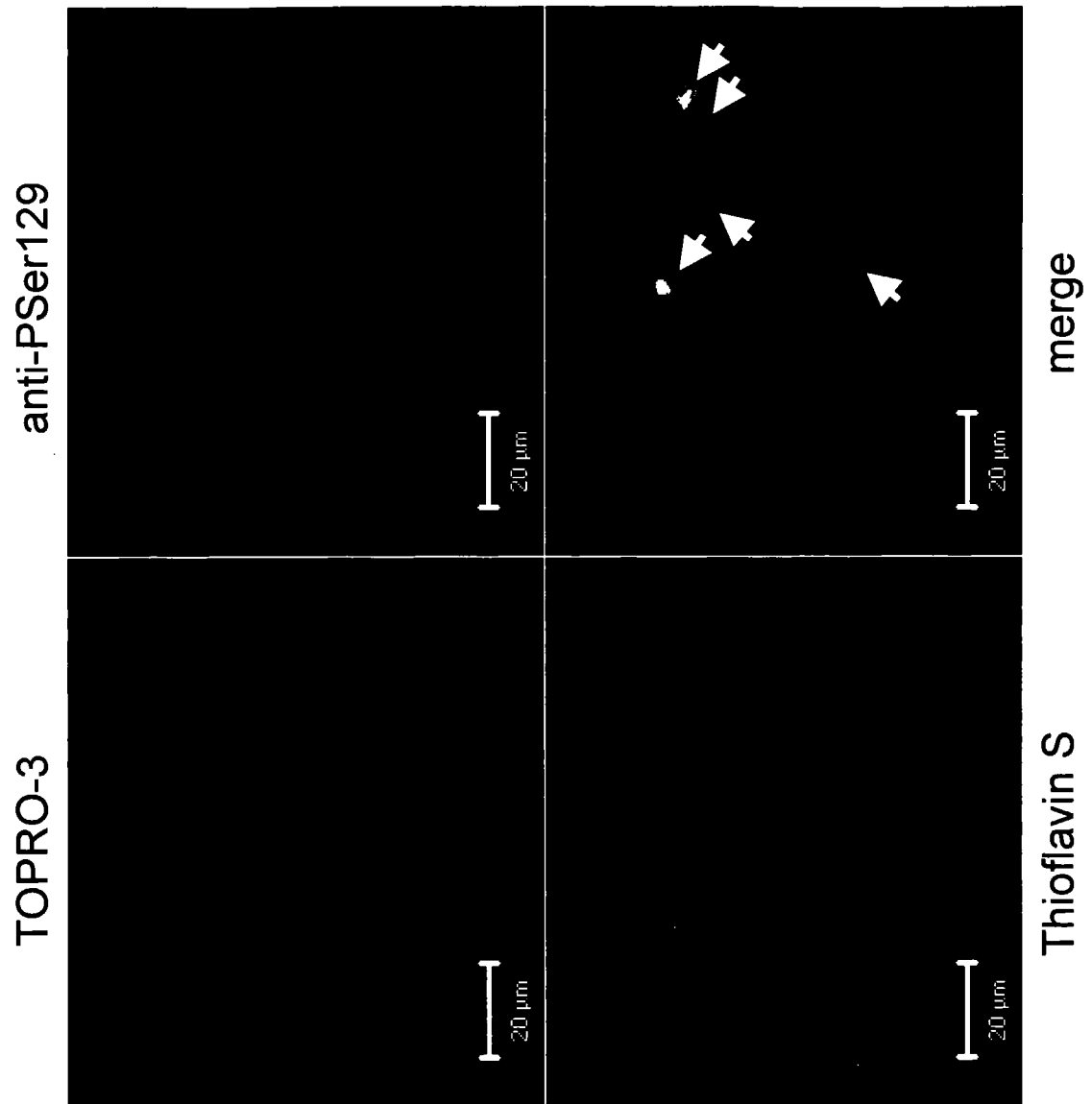


none



FαS

図4



DLB患者脳

anti-Ubiquitin anti-PSer129

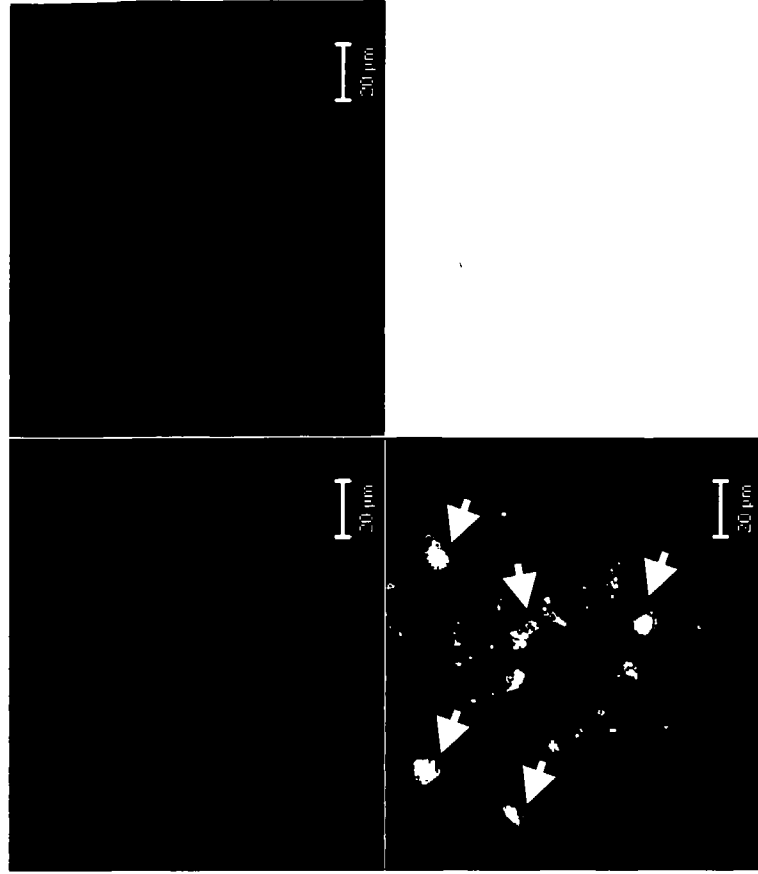


図5

WT+FαS

anti-Ubiquitin anti-PSer129

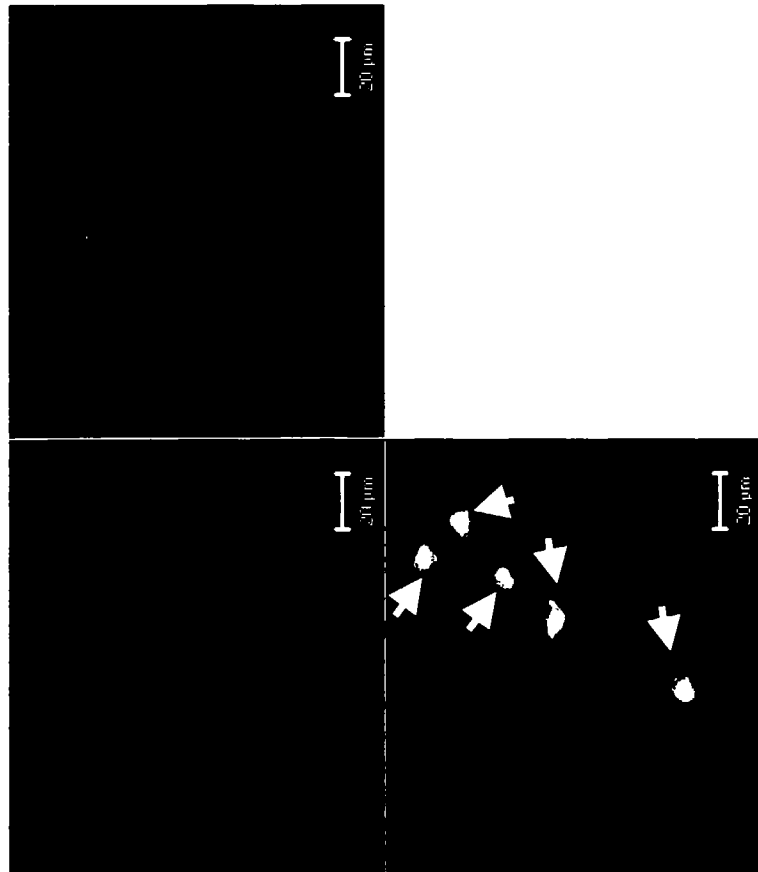
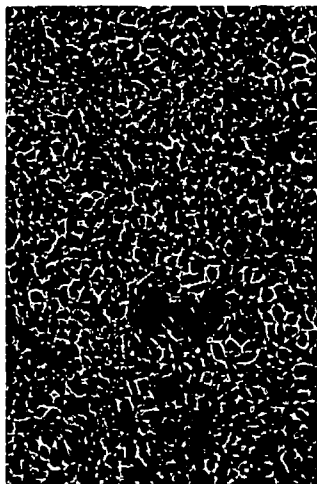
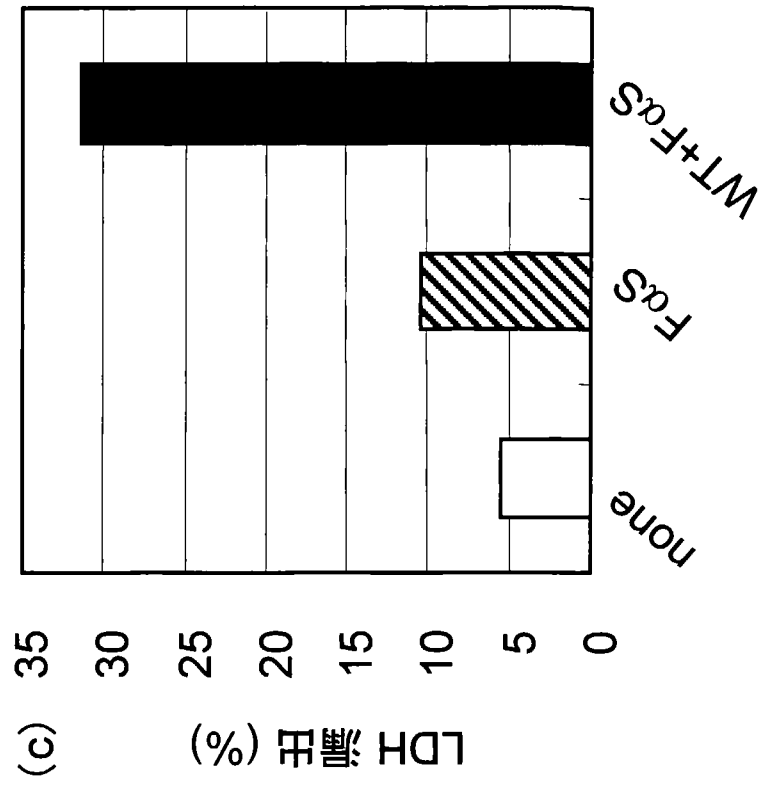
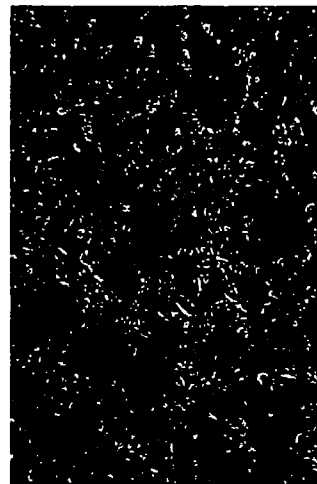


図6



none



WT+FαS

図7

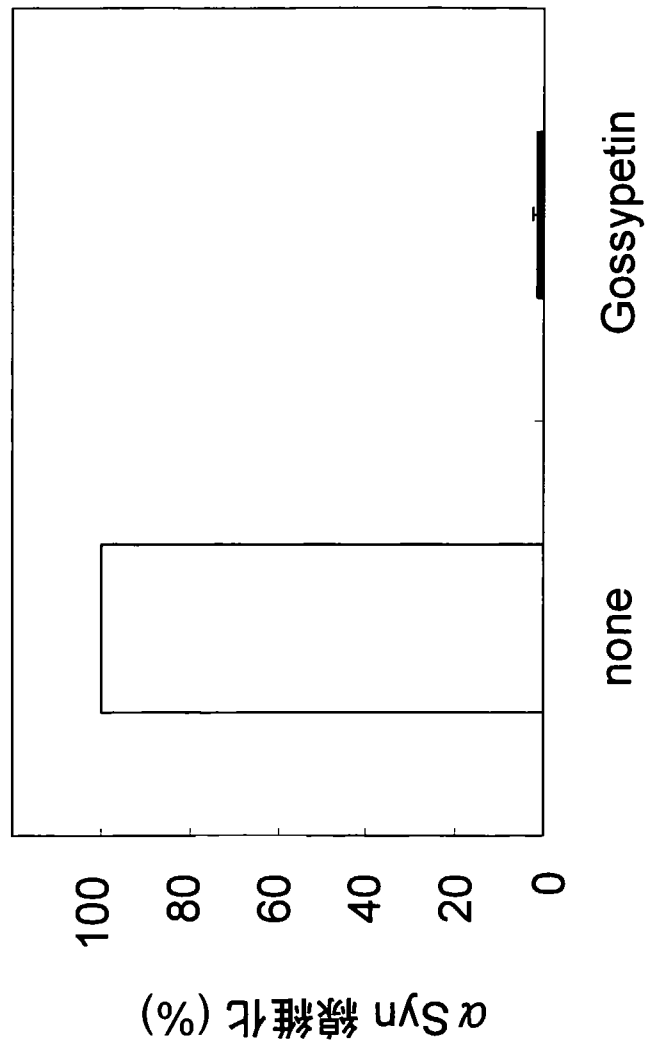
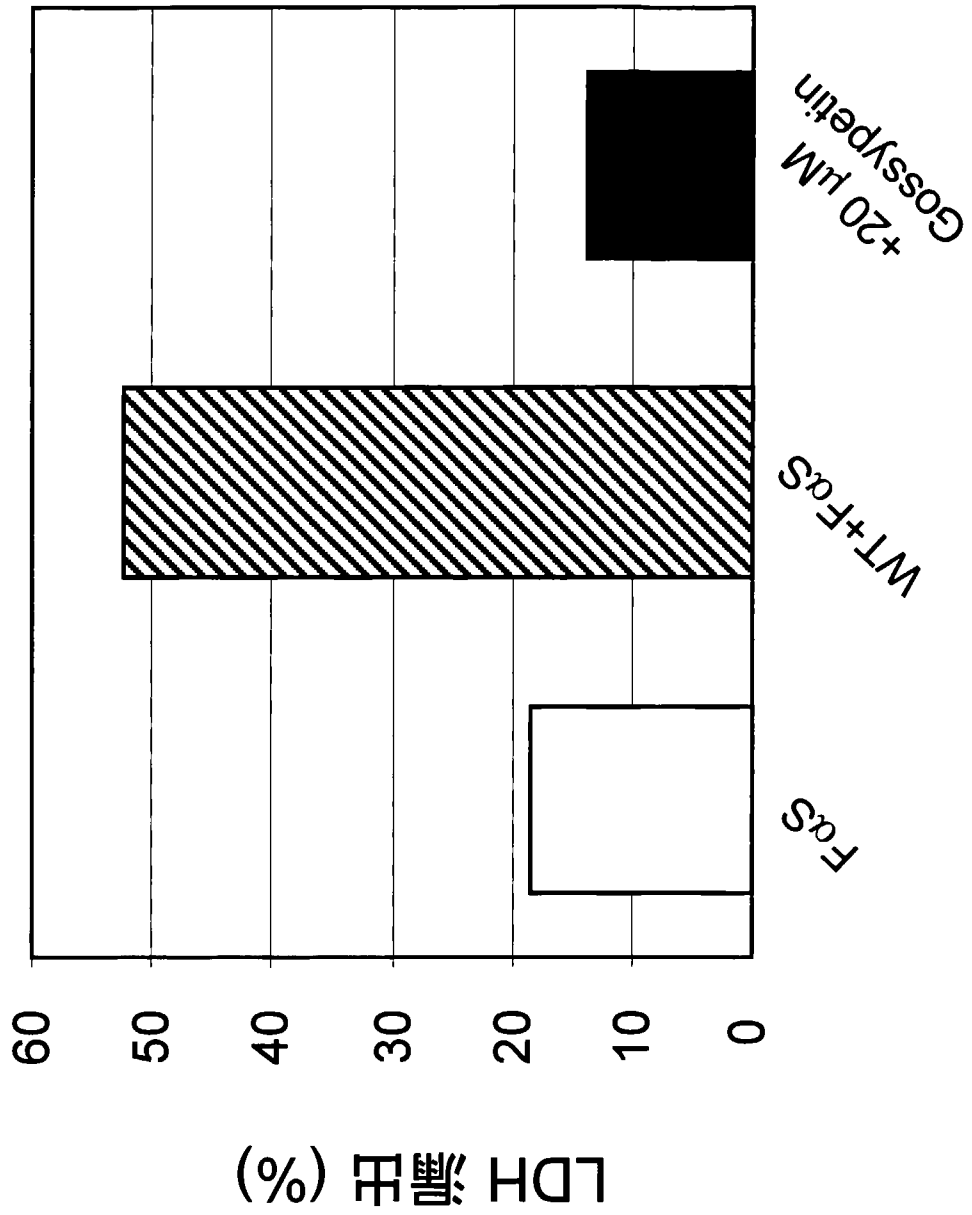


図8



SEQUENCE LISTING

<110> Tokyo Metropolitan Organization of Medical Research

<120> In vitro Model of Accumulation of Protein Polymer in Cell

<130> PCT06-0165

<150> JP 2005-352486

<151> 2005-12-06

<160> 12

<170> PatentIn version 3.3

<210> 1

<211> 1549

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> CDS

<222> (53)..(475)

<400> 1

gctctcggag tggccattcg acgacagtgt ggtgtaaagg aattcattag cc atg gat 58
Met Asp
1

gta ttc atg aaa gga ctt tca aag gcc aag gag gga gtt gtg gct gct 106
Val Phe Met Lys Gly Leu Ser Lys Ala Lys Glu Gly Val Val Ala Ala
5 10 15

gct gag aaa acc aaa cag ggt gtg gca gaa gca gca gga aag aca aaa 154
Ala Glu Lys Thr Lys Gln Gly Val Ala Glu Ala Ala Gly Lys Thr Lys
20 25 30

gag ggt gtt ctc tat gta ggc tcc aaa acc aag gag gga gtg gtg cat 202
Glu Gly Val Leu Tyr Val Gly Ser Lys Thr Lys Glu Gly Val Val His
35 40 45 50

ggt gtg gca aca gtg gct gag aag acc aaa gag caa gtg aca aat gtt 250
Gly Val Ala Thr Val Ala Glu Lys Thr Lys Glu Gln Val Thr Asn Val
55 60 65

gga gga gca gtg gtg acg ggt gtg aca gca gta gcc cag aag aca gtg 298
Gly Gly Ala Val Val Thr Gly Val Thr Ala Val Ala Gln Lys Thr Val
70 75 80

gag gga gca ggg agc att gca gca gcc act ggc ttt gtc aaa aag gac 346
 Glu Gly Ala Gly Ser Ile Ala Ala Ala Thr Gly Phe Val Lys Lys Asp
 85 90 95

cag ttg ggc aag aat gaa gaa gga gcc cca cag gaa gga att ctg gaa 394
 Gln Leu Gly Lys Asn Glu Glu Gly Ala Pro Gln Glu Gly Ile Leu Glu
 100 105 110

gat atg cct gtg gat cct gac aat gag gct tat gaa atg cct tct gag 442
 Asp Met Pro Val Asp Pro Asp Asn Glu Ala Tyr Glu Met Pro Ser Glu
 115 120 125 130

gaa ggg tat caa gac tac gaa cct gaa gcc taa gaaatatctt tgctcccagt 495
 Glu Gly Tyr Gln Asp Tyr Glu Pro Glu Ala
 135 140

ttcttgagat ctgctgacag atgttccatc ctgtacaagt gctcagttcc aatgtgccca 555

gcatgacat ttctcaaagt ttttacagtg tatctegaag tcttccatca gcagtgattg 615

aagtatctgt acctgcccc actcagcatt tcggtgcttc cctttcactg aagtgaatac 675

atggtagcag ggtctttgtg tgctgtggat tttgtggctt caatctacga tgttaaaca 735

aattaaaaac acctaatgta ctaccactta tttctaaatc ctactattt tttgtttgct 795

gtgtttcaga agttgttagt gatttgctat catatattat aagattttta ggtgtctttt 855

aatgatactg tctaagaata atgacgtatt gtgaaatttg ttaatata taatacttaa 915

aaatatgtga gcatgaaact atgcacctat aaactactaa tatgaaattt taccattttg 975

cgatgtgttt tattcacttg tgtttgtata taaatggtga gaattaaaat aaaacgttat 1035

ctcattgcaa aaatatttta tttttatccc atctcacttt aataataaaa atcatgctta 1095

taagcaacat gaattaagaa ctgacacaaa ggacaaaaat ataaagttat taatagccat 1155

ttgaagaagg aggaatttta gaagaggtag agaaaatgga acattaaccc tacactcgga 1215

attccctgaa gcaacactgc cagaagtgtg ttttggatg cactggttcc ttaagtggct 1275

gtgattaatt attgaaagtg ggggtttgaa gaccccaact actattgtag agtggcttat 1335

ttctcccttc aatcctgtca atgtttgctt tatgtatttt ggggaactgt tgtttgatgt 1395

gatatgtgtt ataattgtta tacattttta attgagcctt ttattaacat atattgttat 1455

ttttgtctcg aaataatttt ttagttaaaa tctatattgt ctgatattgg tgtgaatgct 1515

gtacctttct gacaataaat aatattcgac catg 1549

<210> 2

<211> 140

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 2

Met Asp Val Phe Met Lys Gly Leu Ser Lys Ala Lys Glu Gly Val Val
 1 5 10 15

Ala Ala Ala Glu Lys Thr Lys Gln Gly Val Ala Glu Ala Ala Gly Lys
 20 25 30

Thr Lys Glu Gly Val Leu Tyr Val Gly Ser Lys Thr Lys Glu Gly Val
 35 40 45

Val His Gly Val Ala Thr Val Ala Glu Lys Thr Lys Glu Gln Val Thr
 50 55 60

Asn Val Gly Gly Ala Val Val Thr Gly Val Thr Ala Val Ala Gln Lys
 65 70 75 80

Thr Val Glu Gly Ala Gly Ser Ile Ala Ala Ala Thr Gly Phe Val Lys
 85 90 95

Lys Asp Gln Leu Gly Lys Asn Glu Glu Gly Ala Pro Gln Glu Gly Ile
 100 105 110

Leu Glu Asp Met Pro Val Asp Pro Asp Asn Glu Ala Tyr Glu Met Pro
 115 120 125

Ser Glu Glu Gly Tyr Gln Asp Tyr Glu Pro Glu Ala
 130 135 140

<210> 3

<211> 2796
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> CDS
<222> (237)..(1562)

<400> 3

cctccccctgg ggaggtcgc gttcccgtg ctgcgcctg ccgccgccc gcctcaggaa 60

cgcgccctct cgccgcgcgc gccctcgcag tcaccgccac ccaccagctc cggcaccaac 120

agcagcgccc ctgccaccgc ccaccttctg ccgccgccac cacagccacc ttctctctct 180

ccgctgtect ctcccgtect cgcctctgtc gactatcagg tgaactttga accagg atg 239
Met
1

gct gag ccc cgc cag gag ttc gaa gtg atg gaa gat cac gct ggg acg 287
Ala Glu Pro Arg Gln Glu Phe Glu Val Met Glu Asp His Ala Gly Thr
5 10 15

tac ggg ttg ggg gac agg aaa gat cag ggg ggc tac acc atg cac caa 335
Tyr Gly Leu Gly Asp Arg Lys Asp Gln Gly Gly Tyr Thr Met His Gln
20 25 30

gac caa gag ggt gac acg gac gct ggc ctg aaa gaa tct ccc ctg cag 383
Asp Gln Glu Gly Asp Thr Asp Ala Gly Leu Lys Glu Ser Pro Leu Gln
35 40 45

acc ccc act gag gac gga tct gag gaa ccg ggc tct gaa acc tct gat 431
Thr Pro Thr Glu Asp Gly Ser Glu Glu Pro Gly Ser Glu Thr Ser Asp
50 55 60 65

gct aag agc act cca aca gcg gaa gat gtg aca gca ccc tta gtg gat 479
Ala Lys Ser Thr Pro Thr Ala Glu Asp Val Thr Ala Pro Leu Val Asp
70 75 80

gag gga gct ccc ggc aag cag gct gcc gcg cag ccc cac acg gag atc 527
Glu Gly Ala Pro Gly Lys Gln Ala Ala Ala Gln Pro His Thr Glu Ile
85 90 95

cca gaa gga acc aca gct gaa gaa gca ggc att gga gac acc ccc agc 575
Pro Glu Gly Thr Thr Ala Glu Glu Ala Gly Ile Gly Asp Thr Pro Ser
100 105 110

ctg gaa gac gaa gct gct ggt cac gtg acc caa gct cgc atg gtc agt 623

Leu Glu Asp Glu Ala Ala Gly His Val Thr Gln Ala Arg Met Val Ser
 115 120 125

aaa agc aaa gac ggg act gga agc gat gac aaa aaa gcc aag ggg gct 671
 Lys Ser Lys Asp Gly Thr Gly Ser Asp Asp Lys Lys Ala Lys Gly Ala
 130 135 140 145

gat ggt aaa acg aag atc gcc aca ccg cgg gga gca gcc cct cca gcc 719
 Asp Gly Lys Thr Lys Ile Ala Thr Pro Arg Gly Ala Ala Pro Pro Gly
 150 155 160

cag aag ggc cag gcc aac gcc acc agg att cca gca aaa acc ccg ccc 767
 Gln Lys Gly Gln Ala Asn Ala Thr Arg Ile Pro Ala Lys Thr Pro Pro
 165 170 175

gct cca aag aca cca ccc agc tct ggt gaa cct cca aaa tca ggg gat 815
 Ala Pro Lys Thr Pro Pro Ser Ser Gly Glu Pro Pro Lys Ser Gly Asp
 180 185 190

cgc agc ggc tac agc agc ccc ggc tcc cca gcc act ccc ggc agc cgc 863
 Arg Ser Gly Tyr Ser Ser Pro Gly Ser Pro Gly Thr Pro Gly Ser Arg
 195 200 205

tcc cgc acc ccg tcc ctt cca acc cca ccc acc ccg gag ccc aag aag 911
 Ser Arg Thr Pro Ser Leu Pro Thr Pro Pro Thr Arg Glu Pro Lys Lys
 210 215 220 225

gtg gca gtg gtc cgt act cca ccc aag tgc ccg tct tcc gcc aag agc 959
 Val Ala Val Val Arg Thr Pro Pro Lys Ser Pro Ser Ser Ala Lys Ser
 230 235 240

cgc ctg cag aca gcc ccc gtg ccc atg cca gac ctg aag aat gtc aag 1007
 Arg Leu Gln Thr Ala Pro Val Pro Met Pro Asp Leu Lys Asn Val Lys
 245 250 255

tcc aag atc ggc tcc act gag aac ctg aag cac cag ccg gga ggc ggg 1055
 Ser Lys Ile Gly Ser Thr Glu Asn Leu Lys His Gln Pro Gly Gly Gly
 260 265 270

aag gtg cag ata att aat aag aag ctg gat ctt agc aac gtc cag tcc 1103
 Lys Val Gln Ile Ile Asn Lys Lys Leu Asp Leu Ser Asn Val Gln Ser
 275 280 285

aag tgt ggc tca aag gat aat atc aaa cac gtc ccg gga ggc ggc agt 1151
 Lys Cys Gly Ser Lys Asp Asn Ile Lys His Val Pro Gly Gly Gly Ser
 290 295 300 305

gtg caa ata gtc tac aaa cca gtt gac ctg agc aag gtg acc tcc aag 1199
 Val Gln Ile Val Tyr Lys Pro Val Asp Leu Ser Lys Val Thr Ser Lys

310	315	320	
tgt ggc tca tta ggc aac atc cat cat aaa cca gga ggt ggc cag gtg			1247
Cys Gly Ser Leu Gly Asn Ile His His Lys Pro Gly Gly Gly Gln Val			
325	330	335	
gaa gta aaa tct gag aag ctt gac ttc aag gac aga gtc cag tcg aag			1295
Glu Val Lys Ser Glu Lys Leu Asp Phe Lys Asp Arg Val Gln Ser Lys			
340	345	350	
att ggg tcc ctg gac aat atc acc cac gtc cct ggc gga gga aat aaa			1343
Ile Gly Ser Leu Asp Asn Ile Thr His Val Pro Gly Gly Gly Asn Lys			
355	360	365	
aag att gaa acc cac aag ctg acc ttc cgc gag aac gcc aaa gcc aag			1391
Lys Ile Glu Thr His Lys Leu Thr Phe Arg Glu Asn Ala Lys Ala Lys			
370	375	380	385
aca gac cac ggg gcg gag atc gtg tac aag tcg cca gtg gtg tct ggg			1439
Thr Asp His Gly Ala Glu Ile Val Tyr Lys Ser Pro Val Val Ser Gly			
390	395	400	
gac acg tct cca cgg cat ctc agc aat gtc tcc tcc acc ggc agc atc			1487
Asp Thr Ser Pro Arg His Leu Ser Asn Val Ser Ser Thr Gly Ser Ile			
405	410	415	
gac atg gta gac tcg ccc cag ctc gcc acg cta gct gac gag gtg tct			1535
Asp Met Val Asp Ser Pro Gln Leu Ala Thr Leu Ala Asp Glu Val Ser			
420	425	430	
gcc tcc ctg gcc aag cag ggt ttg tga tcaggcccct ggggcggtca			1582
Ala Ser Leu Ala Lys Gln Gly Leu			
435	440		
ataattgtgg agaggagaga atgagagagt gtggaaaaaa aaagaataat gaccggcccc			1642
ccgccctctg cccccagctg ctctctgcag ttcggttaat tggttaatca cttaacctgc			1702
ttttgtcact cggttttggc tcgggacttc aaaatcagtg atgggagtaa gagcaaattt			1762
catctttcca aattgatggg tgggctagta ataaaatatt taaaaaaaaa cattcaaaaa			1822
catggccaca tccaacattt cctcaggcaa ttccttttga ttcttttttc tccccctcc			1882
atgtagaaga gggagaagga gaggctctga aagctgcttc tgggggattt caagggactg			1942
ggggtgccaa ccacctctgg ccctgttgtg ggggttgtca cagaggcagt ggcagcaaca			2002
aaggatttga aaactttggt gtgttcgtgg agccacaggc agacgatgtc aaccttgtgt			2062

gagtgtgacg ggggttgggg tggggcggga ggccacgggg gaggccgagg caggggctgg 2122
 gcagagggga ggaggaagca caagaagtgg gagtgggaga ggaagccacg tgctggagag 2182
 tagacatccc cctccttgcc gctgggagag ccaaggccta tgccacctgc agcgtctgag 2242
 cggccgcctg tccttggtgg ccgggggtgg gggcctgctg tgggtcagtg tgccaccctc 2302
 tgcagggcag cctgtgggag aagggacagc gggttaaaaa gagaaggcaa gcctggcagg 2362
 agggttggca cttcgatgat gacctcctta gaaagactga ccttgatgtc ttgagagcgc 2422
 tggcctcttc ctccctcct gcagggtagg gcgcctgagc ctaggcggtt ccctctgctc 2482
 cacagaaacc ctgttttatt gatttctgaa ggttggaaact gctgcatga ttttgccac 2542
 tttgcagacc tgggacttta gggctaacca gttctctttg taaggacttg tgctcttgg 2602
 gagagtccea cccgtttcca agcctgggcc actggcatct ctggagtgtg tgggggtctg 2662
 ggaggcaggt cccgagcccc ctgtccttcc cacggccact gcagtcaccc cgtctgcgcc 2722
 gctgtgctgt tgtctgccgt gagagcccaa tcaactgcta taccctcat cacacgtcac 2782
 aatgtcccga attc 2796

<210> 4
 <211> 441
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 4

Met Ala Glu Pro Arg Gln Glu Phe Glu Val Met Glu Asp His Ala Gly
 1 5 10 15

Thr Tyr Gly Leu Gly Asp Arg Lys Asp Gln Gly Gly Tyr Thr Met His
 20 25 30

Gln Asp Gln Glu Gly Asp Thr Asp Ala Gly Leu Lys Glu Ser Pro Leu
 35 40 45

Gln Thr Pro Thr Glu Asp Gly Ser Glu Glu Pro Gly Ser Glu Thr Ser
 50 55 60

Asp Ala Lys Ser Thr Pro Thr Ala Glu Asp Val Thr Ala Pro Leu Val
 65 70 75 80

Asp Glu Gly Ala Pro Gly Lys Gln Ala Ala Ala Gln Pro His Thr Glu
 85 90 95

Ile Pro Glu Gly Thr Thr Ala Glu Glu Ala Gly Ile Gly Asp Thr Pro
 100 105 110

Ser Leu Glu Asp Glu Ala Ala Gly His Val Thr Gln Ala Arg Met Val
 115 120 125

Ser Lys Ser Lys Asp Gly Thr Gly Ser Asp Asp Lys Lys Ala Lys Gly
 130 135 140

Ala Asp Gly Lys Thr Lys Ile Ala Thr Pro Arg Gly Ala Ala Pro Pro
 145 150 155 160

Gly Gln Lys Gly Gln Ala Asn Ala Thr Arg Ile Pro Ala Lys Thr Pro
 165 170 175

Pro Ala Pro Lys Thr Pro Pro Ser Ser Gly Glu Pro Pro Lys Ser Gly
 180 185 190

Asp Arg Ser Gly Tyr Ser Ser Pro Gly Ser Pro Gly Thr Pro Gly Ser
 195 200 205

Arg Ser Arg Thr Pro Ser Leu Pro Thr Pro Pro Thr Arg Glu Pro Lys
 210 215 220

Lys Val Ala Val Val Arg Thr Pro Pro Lys Ser Pro Ser Ser Ala Lys
 225 230 235 240

Ser Arg Leu Gln Thr Ala Pro Val Pro Met Pro Asp Leu Lys Asn Val
 245 250 255

Lys Ser Lys Ile Gly Ser Thr Glu Asn Leu Lys His Gln Pro Gly Gly
 260 265 270

Gly Lys Val Gln Ile Ile Asn Lys Lys Leu Asp Leu Ser Asn Val Gln
 275 280 285

Ser Lys Cys Gly Ser Lys Asp Asn Ile Lys His Val Pro Gly Gly Gly
 290 295 300

Ser Val Gln Ile Val Tyr Lys Pro Val Asp Leu Ser Lys Val Thr Ser
 305 310 315 320

Lys Cys Gly Ser Leu Gly Asn Ile His His Lys Pro Gly Gly Gly Gln
 325 330 335

Val Glu Val Lys Ser Glu Lys Leu Asp Phe Lys Asp Arg Val Gln Ser
 340 345 350

Lys Ile Gly Ser Leu Asp Asn Ile Thr His Val Pro Gly Gly Gly Asn
 355 360 365

Lys Lys Ile Glu Thr His Lys Leu Thr Phe Arg Glu Asn Ala Lys Ala
 370 375 380

Lys Thr Asp His Gly Ala Glu Ile Val Tyr Lys Ser Pro Val Val Ser
 385 390 395 400

Gly Asp Thr Ser Pro Arg His Leu Ser Asn Val Ser Ser Thr Gly Ser
 405 410 415

Ile Asp Met Val Asp Ser Pro Gln Leu Ala Thr Leu Ala Asp Glu Val
 420 425 430

Ser Ala Ser Leu Ala Lys Gln Gly Leu
 435 440

<210> 5
<211> 981
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> CDS
<222> (149)..(613)

<400> 5
gtttggggcc agagtgggcg aggcgaggag gtctggccta taaagtagtc gcggagacgg 60

ggtgctggtt tgcgtcgtag tctcctgcag cgtctggggt tccggttcca gtccctcgaa 120

ccaggacctc ggcggtggcct agcgagtt atg gcg acg aag gcc gtg tgc gtg 172
Met Ala Thr Lys Ala Val Cys Val
1 5

ctg aag ggc gac ggc cca gtg cag ggc atc atc aat ttc gag cag aag 220
Leu Lys Gly Asp Gly Pro Val Gln Gly Ile Ile Asn Phe Glu Gln Lys
10 15 20

gaa agt aat gga cca gtg aag gtg tgg gga agc att aaa gga ctg act 268
Glu Ser Asn Gly Pro Val Lys Val Trp Gly Ser Ile Lys Gly Leu Thr
25 30 35 40

gaa ggc ctg cat gga ttc cat gtt cat gag ttt gga gat aat aca gca 316
Glu Gly Leu His Gly Phe His Val His Glu Phe Gly Asp Asn Thr Ala
45 50 55

ggc tgt acc agt gca ggt cct cac ttt aat cct cta tcc aga aaa cac 364
Gly Cys Thr Ser Ala Gly Pro His Phe Asn Pro Leu Ser Arg Lys His
60 65 70

ggt ggg cca aag gat gaa gag agg cat gtt gga gac ttg ggc aat gtg 412
Gly Gly Pro Lys Asp Glu Glu Arg His Val Gly Asp Leu Gly Asn Val
75 80 85

act gct gac aaa gat ggt gtg gcc gat gtg tct att gaa gat tct gtg 460
Thr Ala Asp Lys Asp Gly Val Ala Asp Val Ser Ile Glu Asp Ser Val
90 95 100

atc tca ctc tca gga gac cat tgc atc att ggc cgc aca ctg gtg gtc 508
Ile Ser Leu Ser Gly Asp His Cys Ile Ile Gly Arg Thr Leu Val Val
105 110 115 120

cat gaa aaa gca gat gac ttg ggc aaa ggt gga aat gaa gaa agt aca 556
His Glu Lys Ala Asp Asp Leu Gly Lys Gly Gly Asn Glu Glu Ser Thr

	125	130	135	
aag aca gga aac gct gga agt cgt ttg gct tgt ggt gta att ggg atc				604
Lys Thr Gly Asn Ala Gly Ser Arg Leu Ala Cys Gly Val Ile Gly Ile				
	140	145	150	
gcc caa taa acattccett ggatgtagtc tgaggcccct taactcatct				653
Ala Gln				
gttatcctgc tagctgtaga aatgtatcct gataaacatt aaacactgta atcttaaaag				713
tgtaattgtg tgactttttc agagttgctt taaagtacct gtagtgagaa actgatttat				773
gatcacttgg aagatttgta tagttttata aaactcagtt aaaatgtctg tttcaatgac				833
ctgtattttg ccagacttaa atcacagatg ggtattaaac ttgtcagaat ttctttgtca				893
ttcaagcctg tgaataaaaa ccctgtatgg cacttattat gaggtatta aaagaatcca				953
aattcaaact aaaaaaaaa aaaaaaaaa				981

<210> 6
 <211> 154
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 6

Met Ala Thr Lys Ala Val Cys Val Leu Lys Gly Asp Gly Pro Val Gln
 1 5 10 15

Gly Ile Ile Asn Phe Glu Gln Lys Glu Ser Asn Gly Pro Val Lys Val
 20 25 30

Trp Gly Ser Ile Lys Gly Leu Thr Glu Gly Leu His Gly Phe His Val
 35 40 45

His Glu Phe Gly Asp Asn Thr Ala Gly Cys Thr Ser Ala Gly Pro His
 50 55 60

Phe Asn Pro Leu Ser Arg Lys His Gly Gly Pro Lys Asp Glu Glu Arg
 65 70 75 80

His Val Gly Asp Leu Gly Asn Val Thr Ala Asp Lys Asp Gly Val Ala
85 90 95

Asp Val Ser Ile Glu Asp Ser Val Ile Ser Leu Ser Gly Asp His Cys
100 105 110

Ile Ile Gly Arg Thr Leu Val Val His Glu Lys Ala Asp Asp Leu Gly
115 120 125

Lys Gly Gly Asn Glu Glu Ser Thr Lys Thr Gly Asn Ala Gly Ser Arg
130 135 140

Leu Ala Cys Gly Val Ile Gly Ile Ala Gln
145 150

- <210> 7
- <211> 13495
- <212> DNA
- <213> Homo sapiens

- <220>
- <221> CDS
- <222> (146)..(9574)

<400> 7
 gctgccggga cgggtccaag atggacggcc gctcaggttc tgcttttacc tgcggcccag 60
 agccccattc attgccccgg tgctgagcgg cgcccgaggt cgccccgagg cctccgggga 120
 ctgccgtgcc gggcgggaga ccgcc atg gcg acc ctg gaa aag ctg atg aag 172
 Met Ala Thr Leu Glu Lys Leu Met Lys
 1 5
 gcc ttc gag tcc ctc aag tcc ttc cag cag cag cag cag cag cag 220
 Ala Phe Glu Ser Leu Lys Ser Phe Gln Gln Gln Gln Gln Gln Gln Gln
 10 15 20 25
 cag cag cag cag cag cag cag cag cag cag cag cag cag cag cag 268
 Gln Gln Gln Gln Gln Gln Gln Gln Gln Gln Gln Gln Gln Gln Pro Pro Pro
 30 35 40
 ccg ccg ccg ccg ccg ccg cct cct cag ctt cct cag ccg ccg ccg cag 316

Pro Pro Pro Pro Pro Pro Pro Pro Pro Gln Leu Pro Gln Pro Pro Pro Gln
 45 50 55
 gca cag ccg ctg ctg cct cag ccg cag ccg ccc ccg ccg ccg ccc ccg 364
 Ala Gln Pro Leu Leu Pro Gln Pro Gln Pro Pro Pro Pro Pro Pro Pro
 60 65 70
 ccg cca ccc ggc ccg gct gtg gct gag gag ccg ctg cac cga cca aag 412
 Pro Pro Pro Gly Pro Ala Val Ala Glu Glu Pro Leu His Arg Pro Lys
 75 80 85
 aaa gaa ctt tca gct acc aag aaa gac cgt gtg aat cat tgt ctg aca 460
 Lys Glu Leu Ser Ala Thr Lys Lys Asp Arg Val Asn His Cys Leu Thr
 90 95 100 105
 ata tgt gaa aac ata gtg gca cag tct gtc aga aat tct cca gaa ttt 508
 Ile Cys Glu Asn Ile Val Ala Gln Ser Val Arg Asn Ser Pro Glu Phe
 110 115 120
 cag aaa ctt ctg ggc atc gct atg gaa ctt ttt ctg ctg tgc agt gat 556
 Gln Lys Leu Leu Gly Ile Ala Met Glu Leu Phe Leu Leu Cys Ser Asp
 125 130 135
 gac gca gag tca gat gtc agg atg gtg gct gac gaa tgc ctc aac aaa 604
 Asp Ala Glu Ser Asp Val Arg Met Val Ala Asp Glu Cys Leu Asn Lys
 140 145 150
 gtt atc aaa gct ttg atg gat tct aat ctt cca agg tta cag ctc gag 652
 Val Ile Lys Ala Leu Met Asp Ser Asn Leu Pro Arg Leu Gln Leu Glu
 155 160 165
 ctc tat aag gaa att aaa aag aat ggt gcc cct cgg agt ttg cgt gct 700
 Leu Tyr Lys Glu Ile Lys Lys Asn Gly Ala Pro Arg Ser Leu Arg Ala
 170 175 180 185
 gcc ctg tgg agg ttt gct gag ctg gct cac ctg gtt cgg cct cag aaa 748
 Ala Leu Trp Arg Phe Ala Glu Leu Ala His Leu Val Arg Pro Gln Lys
 190 195 200
 tgc agg cct tac ctg gtg aac ctt ctg ccg tgc ctg act cga aca agc 796
 Cys Arg Pro Tyr Leu Val Asn Leu Leu Pro Cys Leu Thr Arg Thr Ser
 205 210 215
 aag aga ccc gaa gaa tca gtc cag gag acc ttg gct gca gct gtt ccc 844
 Lys Arg Pro Glu Glu Ser Val Gln Glu Thr Leu Ala Ala Ala Val Pro
 220 225 230
 aaa att atg gct tct ttt ggc aat ttt gca aat gac aat gaa att aag 892
 Lys Ile Met Ala Ser Phe Gly Asn Phe Ala Asn Asp Asn Glu Ile Lys

235	240	245	
gtt ttg tta aag gcc ttc ata gcg aac ctg aag tca agc tcc ccc acc			940
Val Leu Leu Lys Ala Phe Ile Ala Asn Leu Lys Ser Ser Ser Pro Thr			
250	255	260	265
att cgg cgg aca gcg gct gga tca gca gtg agc atc tgc cag cac tca			988
Ile Arg Arg Thr Ala Ala Gly Ser Ala Val Ser Ile Cys Gln His Ser			
	270	275	280
aga agg aca caa tat ttc tat agt tgg cta cta aat gtg ctc tta ggc			1036
Arg Arg Thr Gln Tyr Phe Tyr Ser Trp Leu Leu Asn Val Leu Leu Gly			
	285	290	295
tta ctc gtt cct gtc gag gat gaa cac tcc act ctg ctg att ctt ggc			1084
Leu Leu Val Pro Val Glu Asp Glu His Ser Thr Leu Leu Ile Leu Gly			
	300	305	310
gtg ctg ctc acc ctg agg tat ttg gtg ccc ttg ctg cag cag cag gtc			1132
Val Leu Leu Thr Leu Arg Tyr Leu Val Pro Leu Leu Gln Gln Gln Val			
	315	320	325
aag gac aca agc ctg aaa ggc agc ttc gga gtg aca agg aaa gaa atg			1180
Lys Asp Thr Ser Leu Lys Gly Ser Phe Gly Val Thr Arg Lys Glu Met			
330	335	340	345
gaa gtc tct cct tct gca gag cag ctt gtc cag gtt tat gaa ctg acg			1228
Glu Val Ser Pro Ser Ala Glu Gln Leu Val Gln Val Tyr Glu Leu Thr			
	350	355	360
tta cat cat aca cag cac caa gac cac aat gtt gtg acc gga gcc ctg			1276
Leu His His Thr Gln His Gln Asp His Asn Val Val Thr Gly Ala Leu			
	365	370	375
gag ctg ttg cag cag ctc ttc aga acg cct cca ccc gag ctt ctg caa			1324
Glu Leu Leu Gln Gln Leu Phe Arg Thr Pro Pro Pro Glu Leu Leu Gln			
	380	385	390
acc ctg acc gca gtc ggg ggc att ggg cag ctc acc gct gct aag gag			1372
Thr Leu Thr Ala Val Gly Gly Ile Gly Gln Leu Thr Ala Ala Lys Glu			
	395	400	405
gag tct ggt ggc cga agc cgt agt ggg agt att gtg gaa ctt ata gct			1420
Glu Ser Gly Gly Arg Ser Arg Ser Gly Ser Ile Val Glu Leu Ile Ala			
410	415	420	425
gga ggg ggt tcc tca tgc agc cct gtc ctt tca aga aaa caa aaa ggc			1468
Gly Gly Gly Ser Ser Cys Ser Pro Val Leu Ser Arg Lys Gln Lys Gly			
	430	435	440

aaa gtg ctc tta gga gaa gaa gaa gcc ttg gag gat gac tct gaa tcg	1516
Lys Val Leu Leu Gly Glu Glu Glu Ala Leu Glu Asp Asp Ser Glu Ser	
445 450 455	
aga tcg gat gtc agc agc tct gcc tta aca gcc tca gtg aag gat gag	1564
Arg Ser Asp Val Ser Ser Ser Ala Leu Thr Ala Ser Val Lys Asp Glu	
460 465 470	
atc agt gga gag ctg gct gct tct tca ggg gtt tcc act cca ggg tca	1612
Ile Ser Gly Glu Leu Ala Ala Ser Ser Gly Val Ser Thr Pro Gly Ser	
475 480 485	
gca ggt cat gac atc atc aca gaa cag cca cgg tca cag cac aca ctg	1660
Ala Gly His Asp Ile Ile Thr Glu Gln Pro Arg Ser Gln His Thr Leu	
490 495 500 505	
cag gcg gac tca gtg gat ctg gcc agc tgt gac ttg aca agc tct gcc	1708
Gln Ala Asp Ser Val Asp Leu Ala Ser Cys Asp Leu Thr Ser Ser Ala	
510 515 520	
act gat ggg gat gag gag gat atc ttg agc cac agc tcc agc cag gtc	1756
Thr Asp Gly Asp Glu Glu Asp Ile Leu Ser His Ser Ser Ser Gln Val	
525 530 535	
agc gcc gtc cca tct gac cct gcc atg gac ctg aat gat ggg acc cag	1804
Ser Ala Val Pro Ser Asp Pro Ala Met Asp Leu Asn Asp Gly Thr Gln	
540 545 550	
gcc tcg tcg ccc atc agc gac agc tcc cag acc acc acc gaa ggg cct	1852
Ala Ser Ser Pro Ile Ser Asp Ser Ser Gln Thr Thr Thr Glu Gly Pro	
555 560 565	
gat tca gct gtt acc cct tca gac agt tct gaa att gtg tta gac ggt	1900
Asp Ser Ala Val Thr Pro Ser Asp Ser Ser Glu Ile Val Leu Asp Gly	
570 575 580 585	
acc gac aac cag tat ttg ggc ctg cag att gga cag ccc cag gat gaa	1948
Thr Asp Asn Gln Tyr Leu Gly Leu Gln Ile Gly Gln Pro Gln Asp Glu	
590 595 600	
gat gag gaa gcc aca ggt att ctt cct gat gaa gcc tcg gag gcc ttc	1996
Asp Glu Glu Ala Thr Gly Ile Leu Pro Asp Glu Ala Ser Glu Ala Phe	
605 610 615	
agg aac tct tcc atg gcc ctt caa cag gca cat tta ttg aaa aac atg	2044
Arg Asn Ser Ser Met Ala Leu Gln Gln Ala His Leu Leu Lys Asn Met	
620 625 630	

agt cac tgc agg cag cct tct gac agc agt gtt gat aaa ttt gtg ttg 2092
 Ser His Cys Arg Gln Pro Ser Asp Ser Ser Val Asp Lys Phe Val Leu
 635 640 645

aga gat gaa gct act gaa ccg ggt gat caa gaa aac aag cct tgc cgc 2140
 Arg Asp Glu Ala Thr Glu Pro Gly Asp Gln Glu Asn Lys Pro Cys Arg
 650 655 660 665

atc aaa ggt gac att gga cag tcc act gat gat gac tct gca cct ctt 2188
 Ile Lys Gly Asp Ile Gly Gln Ser Thr Asp Asp Asp Ser Ala Pro Leu
 670 675 680

gtc cat tgt gtc cgc ctt tta tct gct tcg ttt ttg cta aca ggg gga 2236
 Val His Cys Val Arg Leu Leu Ser Ala Ser Phe Leu Leu Thr Gly Gly
 685 690 695

aaa aat gtg ctg gtt ccg gac agg gat gtg agg gtc agc gtg aag gcc 2284
 Lys Asn Val Leu Val Pro Asp Arg Asp Val Arg Val Ser Val Lys Ala
 700 705 710

ctg gcc ctc agc tgt gtg gga gca gct gtg gcc ctc cac ccg gaa tct 2332
 Leu Ala Leu Ser Cys Val Gly Ala Ala Val Ala Leu His Pro Glu Ser
 715 720 725

ttc ttc agc aaa ctc tat aaa gtt cct ctt gac acc acg gaa tac cct 2380
 Phe Phe Ser Lys Leu Tyr Lys Val Pro Leu Asp Thr Thr Glu Tyr Pro
 730 735 740 745

gag gaa cag tat gtc tca gac atc ttg aac tac atc gat cat gga gac 2428
 Glu Glu Gln Tyr Val Ser Asp Ile Leu Asn Tyr Ile Asp His Gly Asp
 750 755 760

cca cag gtt cga gga gcc act gcc att ctc tgt ggg acc ctc atc tgc 2476
 Pro Gln Val Arg Gly Ala Thr Ala Ile Leu Cys Gly Thr Leu Ile Cys
 765 770 775

tcc atc ctc agc agg tcc cgc ttc cac gtg gga gat tgg atg ggc acc 2524
 Ser Ile Leu Ser Arg Ser Arg Phe His Val Gly Asp Trp Met Gly Thr
 780 785 790

att aga acc ctc aca gga aat aca ttt tct ttg gcg gat tgc att cct 2572
 Ile Arg Thr Leu Thr Gly Asn Thr Phe Ser Leu Ala Asp Cys Ile Pro
 795 800 805

ttg ctg cgg aaa aca ctg aag gat gag tct tct gtt act tgc aag tta 2620
 Leu Leu Arg Lys Thr Leu Lys Asp Glu Ser Ser Val Thr Cys Lys Leu
 810 815 820 825

gct tgt aca gct gtg agg aac tgt gtc atg agt ctc tgc agc agc agc 2668

Ala Cys Thr Ala Val Arg Asn Cys Val Met Ser Leu Cys Ser Ser Ser	
830 835 840	
tac agt gag tta gga ctg cag ctg atc atc gat gtg ctg act ctg agg	2716
Tyr Ser Glu Leu Gly Leu Gln Leu Ile Ile Asp Val Leu Thr Leu Arg	
845 850 855	
aac agt tcc tat tgg ctg gtg agg aca gag ctt ctg gaa acc ctt gca	2764
Asn Ser Ser Tyr Trp Leu Val Arg Thr Glu Leu Leu Glu Thr Leu Ala	
860 865 870	
gag att gac ttc agg ctg gtg agc ttt ttg gag gca aaa gca gaa aac	2812
Glu Ile Asp Phe Arg Leu Val Ser Phe Leu Glu Ala Lys Ala Glu Asn	
875 880 885	
tta cac aga ggg gct cat cat tat aca ggg ctt tta aaa ctg caa gaa	2860
Leu His Arg Gly Ala His His Tyr Thr Gly Leu Leu Lys Leu Gln Glu	
890 895 900 905	
cga gtg ctc aat aat gtt gtc atc cat ttg ctt gga gat gaa gac ccc	2908
Arg Val Leu Asn Asn Val Val Ile His Leu Leu Gly Asp Glu Asp Pro	
910 915 920	
agg gtg cga cat gtt gcc gca gca tca cta att agg ctt gtc cca aag	2956
Arg Val Arg His Val Ala Ala Ala Ser Leu Ile Arg Leu Val Pro Lys	
925 930 935	
ctg ttt tat aaa tgt gac caa gga caa gct gat cca gta gtg gcc gtg	3004
Leu Phe Tyr Lys Cys Asp Gln Gly Gln Ala Asp Pro Val Val Ala Val	
940 945 950	
gca aga gat caa agc agt gtt tac ctg aaa ctt ctc atg cat gag acg	3052
Ala Arg Asp Gln Ser Ser Val Tyr Leu Lys Leu Leu Met His Glu Thr	
955 960 965	
cag cct cca tct cat ttc tcc gtc agc aca ata acc aga ata tat aga	3100
Gln Pro Pro Ser His Phe Ser Val Ser Thr Ile Thr Arg Ile Tyr Arg	
970 975 980 985	
ggc tat aac cta cta cca agc ata aca gac gtc act atg gaa aat aac	3148
Gly Tyr Asn Leu Leu Pro Ser Ile Thr Asp Val Thr Met Glu Asn Asn	
990 995 1000	
ctt tca aga gtt att gca gca gtt tct cat gaa cta atc aca tca	3193
Leu Ser Arg Val Ile Ala Ala Val Ser His Glu Leu Ile Thr Ser	
1005 1010 1015	
acc acc aga gca ctc aca ttt gga tgc tgt gaa gct ttg tgt ctt	3238
Thr Thr Arg Ala Leu Thr Phe Gly Cys Cys Glu Ala Leu Cys Leu	

1020	1025	1030	
ctt tcc act gcc	ttc cca gtt tgc att	tgg agt tta ggt tgg cac	3283
Leu Ser Thr Ala	Phe Pro Val Cys Ile	Trp Ser Leu Gly Trp His	
1035	1040	1045	
tgt gga gtg cct	cca ctg agt gcc tca	gat gag tct agg aag agc	3328
Cys Gly Val Pro	Pro Leu Ser Ala Ser	Asp Glu Ser Arg Lys Ser	
1050	1055	1060	
tgt acc gtt ggg	atg gcc aca atg att	ctg acc ctg ctc tgc tca	3373
Cys Thr Val Gly	Met Ala Thr Met Ile	Leu Thr Leu Leu Ser Ser	
1065	1070	1075	
gct tgg ttc cca	ttg gat ctc tca gcc	cat caa gat gct ttg att	3418
Ala Trp Phe Pro	Leu Asp Leu Ser Ala	His Gln Asp Ala Leu Ile	
1080	1085	1090	
ttg gcc gga aac	ttg ctt gca gcc agt	gct ccc aaa tct ctg aga	3463
Leu Ala Gly Asn	Leu Leu Ala Ala Ser	Ala Pro Lys Ser Leu Arg	
1095	1100	1105	
agt tca tgg gcc	tct gaa gaa gaa gcc	aac cca gca gcc acc aag	3508
Ser Ser Trp Ala	Ser Glu Glu Glu Ala	Asn Pro Ala Ala Thr Lys	
1110	1115	1120	
caa gag gag gtc	tgg cca gcc ctg ggg	gac cgg gcc ctg gtg ccc	3553
Gln Glu Glu Val	Trp Pro Ala Leu Gly	Asp Arg Ala Leu Val Pro	
1125	1130	1135	
atg gtg gag cag	ctc ttc tct cac ctg	ctg aag gtg att aac att	3598
Met Val Glu Gln	Leu Phe Ser His Leu	Leu Lys Val Ile Asn Ile	
1140	1145	1150	
tgt gcc cac gtc	ctg gat gac gtg gct	cct gga ccc gca ata aag	3643
Cys Ala His Val	Leu Asp Asp Val Ala	Pro Gly Pro Ala Ile Lys	
1155	1160	1165	
gca gcc ttg cct	tct cta aca aac ccc	cct tct cta agt ccc atc	3688
Ala Ala Leu Pro	Ser Leu Thr Asn Pro	Pro Ser Leu Ser Pro Ile	
1170	1175	1180	
cga cga aag ggg	aag gag aaa gaa cca	gga gaa caa gca tct gta	3733
Arg Arg Lys Gly	Lys Glu Lys Glu Pro	Gly Glu Gln Ala Ser Val	
1185	1190	1195	
ccg ttg agt ccc	aag aaa ggc agt gag	gcc agt gca gct tct aga	3778
Pro Leu Ser Pro	Lys Lys Gly Ser Glu	Ala Ser Ala Ala Ser Arg	
1200	1205	1210	

caa tct gat acc tca ggt cct gtt aca aca agt aaa tcc tca tca	3823
Gln Ser Asp Thr Ser Gly Pro Val Thr Thr Ser Lys Ser Ser Ser	
1215 1220 1225	
ctg ggg agt ttc tat cat ctt cct tca tac ctc aaa ctg cat gat	3868
Leu Gly Ser Phe Tyr His Leu Pro Ser Tyr Leu Lys Leu His Asp	
1230 1235 1240	
gtc ctg aaa gct aca cac gct aac tac aag gtc acg ctg gat ctt	3913
Val Leu Lys Ala Thr His Ala Asn Tyr Lys Val Thr Leu Asp Leu	
1245 1250 1255	
cag aac agc acg gaa aag ttt gga ggg ttt ctc cgc tca gcc ttg	3958
Gln Asn Ser Thr Glu Lys Phe Gly Gly Phe Leu Arg Ser Ala Leu	
1260 1265 1270	
gat gtt ctt tct cag ata cta gag ctg gcc aca ctg cag gac att	4003
Asp Val Leu Ser Gln Ile Leu Glu Leu Ala Thr Leu Gln Asp Ile	
1275 1280 1285	
ggg aag tgt gtt gaa gag atc cta gga tac ctg aaa tcc tgc ttt	4048
Gly Lys Cys Val Glu Glu Ile Leu Gly Tyr Leu Lys Ser Cys Phe	
1290 1295 1300	
agt cga gaa cca atg atg gca act gtt tgt gtt caa caa ttg ttg	4093
Ser Arg Glu Pro Met Met Ala Thr Val Cys Val Gln Gln Leu Leu	
1305 1310 1315	
aag act ctc ttt ggc aca aac ttg gcc tcc cag ttt gat ggc tta	4138
Lys Thr Leu Phe Gly Thr Asn Leu Ala Ser Gln Phe Asp Gly Leu	
1320 1325 1330	
tct tcc aac ccc agc aag tca caa ggc cga gca cag cgc ctt ggc	4183
Ser Ser Asn Pro Ser Lys Ser Gln Gly Arg Ala Gln Arg Leu Gly	
1335 1340 1345	
tcc tcc agt gtg agg cca ggc ttg tac cac tac tgc ttc atg gcc	4228
Ser Ser Ser Val Arg Pro Gly Leu Tyr His Tyr Cys Phe Met Ala	
1350 1355 1360	
ccg tac acc cac ttc acc cag gcc ctc gct gac gcc agc ctg agg	4273
Pro Tyr Thr His Phe Thr Gln Ala Leu Ala Asp Ala Ser Leu Arg	
1365 1370 1375	
aac atg gtg cag gcg gag cag gag aac gac acc tcg gga tgg ttt	4318
Asn Met Val Gln Ala Glu Gln Glu Asn Asp Thr Ser Gly Trp Phe	
1380 1385 1390	

gat gtc ctc cag	aaa gtg tct acc cag	ttg aag aca aac ctc acg	4363
Asp Val Leu Gln	Lys Val Ser Thr Gln	Leu Lys Thr Asn Leu Thr	
1395	1400	1405	
agt gtc aca aag	aac cgt gca gat aag	aat gct att cat aat cac	4408
Ser Val Thr Lys	Asn Arg Ala Asp Lys	Asn Ala Ile His Asn His	
1410	1415	1420	
att cgt ttg ttt	gaa cct ctt gtt ata	aaa gct tta aaa cag tac	4453
Ile Arg Leu Phe	Glu Pro Leu Val Ile	Lys Ala Leu Lys Gln Tyr	
1425	1430	1435	
acg act aca aca	tgt gtg cag tta cag	aag cag gtt tta gat ttg	4498
Thr Thr Thr Thr	Cys Val Gln Leu Gln	Lys Gln Val Leu Asp Leu	
1440	1445	1450	
ctg gcg cag ctg	gtt cag tta cgg gtt	aat tac tgt ctt ctg gat	4543
Leu Ala Gln Leu	Val Gln Leu Arg Val	Asn Tyr Cys Leu Leu Asp	
1455	1460	1465	
tca gat cag gtg	ttt att ggc ttt gta	ttg aaa cag ttt gaa tac	4588
Ser Asp Gln Val	Phe Ile Gly Phe Val	Leu Lys Gln Phe Glu Tyr	
1470	1475	1480	
att gaa gtg ggc	cag ttc agg gaa tca	gag gca atc att cca aac	4633
Ile Glu Val Gly	Gln Phe Arg Glu Ser	Glu Ala Ile Ile Pro Asn	
1485	1490	1495	
atc ttt ttc ttc	ttg gta tta cta tct	tat gaa cgc tat cat tca	4678
Ile Phe Phe Phe	Leu Val Leu Leu Ser	Tyr Glu Arg Tyr His Ser	
1500	1505	1510	
aaa cag atc att	gga att cct aaa atc	att cag ctc tgt gat ggc	4723
Lys Gln Ile Ile	Gly Ile Pro Lys Ile	Ile Gln Leu Cys Asp Gly	
1515	1520	1525	
atc atg gcc agt	gga agg aag gct gtg	aca cat gcc ata ccg gct	4768
Ile Met Ala Ser	Gly Arg Lys Ala Val	Thr His Ala Ile Pro Ala	
1530	1535	1540	
ctg cag ccc ata	gtc cac gac ctc ttt	gta tta aga gga aca aat	4813
Leu Gln Pro Ile	Val His Asp Leu Phe	Val Leu Arg Gly Thr Asn	
1545	1550	1555	
aaa gct gat gca	gga aaa gag ctt gaa	acc caa aaa gag gtg gtg	4858
Lys Ala Asp Ala	Gly Lys Glu Leu Glu	Thr Gln Lys Glu Val Val	
1560	1565	1570	
gtg tca atg tta	ctg aga ctc atc cag	tac cat cag gtg ttg gag	4903

Val Ser Met Leu	Leu Arg Leu Ile Gln Tyr His Gln Val Leu Glu	
1575	1580	1585
atg ttc att ctt	gtc ctg cag cag tgc cac aag gag aat gaa gac	4948
Met Phe Ile Leu	Val Leu Gln Gln Cys His Lys Glu Asn Glu Asp	
1590	1595	1600
aag tgg aag cga	ctg tct cga cag ata gct gac atc atc ctc cca	4993
Lys Trp Lys Arg	Leu Ser Arg Gln Ile Ala Asp Ile Ile Leu Pro	
1605	1610	1615
atg tta gcc aaa	cag cag atg cac att gac tct cat gaa gcc ctt	5038
Met Leu Ala Lys	Gln Gln Met His Ile Asp Ser His Glu Ala Leu	
1620	1625	1630
gga gtg tta aat	aca tta ttt gag att ttg gcc cct tcc tcc ctc	5083
Gly Val Leu Asn	Thr Leu Phe Glu Ile Leu Ala Pro Ser Ser Leu	
1635	1640	1645
cgt ccg gta gac	atg ctt tta cgg agt atg ttc gtc act cca aac	5128
Arg Pro Val Asp	Met Leu Leu Arg Ser Met Phe Val Thr Pro Asn	
1650	1655	1660
aca atg gcg tcc	gtg agc act gtt caa ctg tgg ata tcg gga att	5173
Thr Met Ala Ser	Val Ser Thr Val Gln Leu Trp Ile Ser Gly Ile	
1665	1670	1675
ctg gcc att ttg	agg gtt ctg att tcc cag tca act gaa gat att	5218
Leu Ala Ile Leu	Arg Val Leu Ile Ser Gln Ser Thr Glu Asp Ile	
1680	1685	1690
gtt ctt tct cgt	att cag gag ctc tcc ttc tct ccg tat tta atc	5263
Val Leu Ser Arg	Ile Gln Glu Leu Ser Phe Ser Pro Tyr Leu Ile	
1695	1700	1705
tcc tgt aca gta	att aat agg tta aga gat ggg gac agt act tca	5308
Ser Cys Thr Val	Ile Asn Arg Leu Arg Asp Gly Asp Ser Thr Ser	
1710	1715	1720
acg cta gaa gaa	cac agt gaa ggg aaa caa ata aag aat ttg cca	5353
Thr Leu Glu Glu	His Ser Glu Gly Lys Gln Ile Lys Asn Leu Pro	
1725	1730	1735
gaa gaa aca ttt	tca agg ttt cta tta caa ctg gtt ggt att ctt	5398
Glu Glu Thr Phe	Ser Arg Phe Leu Leu Gln Leu Val Gly Ile Leu	
1740	1745	1750
tta gaa gac att	gtt aca aaa cag ctg aag gtg gaa atg agt gag	5443
Leu Glu Asp Ile	Val Thr Lys Gln Leu Lys Val Glu Met Ser Glu	

1755	1760	1765	
cag caa cat act	ttc tat tgc cag gaa cta ggc aca ctg cta atg		5488
Gln Gln His Thr	Phe Tyr Cys Gln Glu Leu Gly Thr Leu Leu Met		
1770	1775	1780	
tgt ctg atc cac	atc ttc aag tct gga atg ttc cgg aga atc aca		5533
Cys Leu Ile His	Ile Phe Lys Ser Gly Met Phe Arg Arg Ile Thr		
1785	1790	1795	
gca gct gcc act	agg ctg ttc cgc agt gat ggc tgt ggc gcc agt		5578
Ala Ala Ala Thr	Arg Leu Phe Arg Ser Asp Gly Cys Gly Gly Ser		
1800	1805	1810	
ttc tac acc ctg	gac agc ttg aac ttg cgg gct cgt tcc atg atc		5623
Phe Tyr Thr Leu	Asp Ser Leu Asn Leu Arg Ala Arg Ser Met Ile		
1815	1820	1825	
acc acc cac ccg	gcc ctg gtg ctg ctc tgg tgt cag ata ctg ctg		5668
Thr Thr His Pro	Ala Leu Val Leu Leu Trp Cys Gln Ile Leu Leu		
1830	1835	1840	
ctt gtc aac cac	acc gac tac cgc tgg tgg gca gaa gtg cag cag		5713
Leu Val Asn His	Thr Asp Tyr Arg Trp Trp Ala Glu Val Gln Gln		
1845	1850	1855	
acc ccg aaa aga	cac agt ctg tcc agc aca aag tta ctt agt ccc		5758
Thr Pro Lys Arg	His Ser Leu Ser Ser Thr Lys Leu Leu Ser Pro		
1860	1865	1870	
cag atg tct gga	gaa gag gag gat tct gac ttg gca gcc aaa ctt		5803
Gln Met Ser Gly	Glu Glu Glu Asp Ser Asp Leu Ala Ala Lys Leu		
1875	1880	1885	
gga atg tgc aat	aga gaa ata gta cga aga ggg gct ctc att ctc		5848
Gly Met Cys Asn	Arg Glu Ile Val Arg Arg Gly Ala Leu Ile Leu		
1890	1895	1900	
ttc tgt gat tat	gtc tgt cag aac ctc cat gac tcc gag cac tta		5893
Phe Cys Asp Tyr	Val Cys Gln Asn Leu His Asp Ser Glu His Leu		
1905	1910	1915	
acg tgg ctc att	gta aat cac att caa gat ctg atc agc ctt tcc		5938
Thr Trp Leu Ile	Val Asn His Ile Gln Asp Leu Ile Ser Leu Ser		
1920	1925	1930	
cac gag cct cca	gta cag gac ttc atc agt gcc gtt cat cgg aac		5983
His Glu Pro Pro	Val Gln Asp Phe Ile Ser Ala Val His Arg Asn		
1935	1940	1945	

tct gct gcc agc ggc ctg ttc atc cag gca att cag tct cgt tgt	6028
Ser Ala Ala Ser Gly Leu Phe Ile Gln Ala Ile Gln Ser Arg Cys	
1950 1955 1960	
gaa aac ctt tca act cca acc atg ctg aag aaa act ctt cag tgc	6073
Glu Asn Leu Ser Thr Pro Thr Met Leu Lys Lys Thr Leu Gln Cys	
1965 1970 1975	
ttg gag ggg atc cat ctc agc cag tcg gga gct gtg ctc acg ctg	6118
Leu Glu Gly Ile His Leu Ser Gln Ser Gly Ala Val Leu Thr Leu	
1980 1985 1990	
tat gtg gac agg ctt ctg tgc acc cct ttc cgt gtg ctg gct cgc	6163
Tyr Val Asp Arg Leu Leu Cys Thr Pro Phe Arg Val Leu Ala Arg	
1995 2000 2005	
atg gtc gac atc ctt gct tgt cgc cgg gta gaa atg ctt ctg gct	6208
Met Val Asp Ile Leu Ala Cys Arg Arg Val Glu Met Leu Leu Ala	
2010 2015 2020	
gca aat tta cag agc agc atg gcc cag ttg cca atg gaa gaa ctc	6253
Ala Asn Leu Gln Ser Ser Met Ala Gln Leu Pro Met Glu Glu Leu	
2025 2030 2035	
aac aga atc cag gaa tac ctt cag agc agc ggg ctc gct cag aga	6298
Asn Arg Ile Gln Glu Tyr Leu Gln Ser Ser Gly Leu Ala Gln Arg	
2040 2045 2050	
cac caa agg ctc tat tcc ctg ctg gac agg ttt cgt ctc tcc acc	6343
His Gln Arg Leu Tyr Ser Leu Leu Asp Arg Phe Arg Leu Ser Thr	
2055 2060 2065	
atg caa gac tca ctt agt ccc tct cct cca gtc tct tcc cac ccg	6388
Met Gln Asp Ser Leu Ser Pro Ser Pro Pro Val Ser Ser His Pro	
2070 2075 2080	
ctg gac ggg gat ggg cac gtg tca ctg gaa aca gtg agt ccg gac	6433
Leu Asp Gly Asp Gly His Val Ser Leu Glu Thr Val Ser Pro Asp	
2085 2090 2095	
aaa gac tgg tac gtt cat ctt gtc aaa tcc cag tgt tgg acc agg	6478
Lys Asp Trp Tyr Val His Leu Val Lys Ser Gln Cys Trp Thr Arg	
2100 2105 2110	
tca gat tct gca ctg ctg gaa ggt gca gag ctg gtg aat cgg att	6523
Ser Asp Ser Ala Leu Leu Glu Gly Ala Glu Leu Val Asn Arg Ile	
2115 2120 2125	

cct gct gaa gat atg aat gcc ttc atg atg aac tcg gag ttc aac	6568
Pro Ala Glu Asp Met Asn Ala Phe Met Met Asn Ser Glu Phe Asn	
2130 2135 2140	
cta agc ctg cta gct cca tgc tta agc cta ggg atg agt gaa att	6613
Leu Ser Leu Leu Ala Pro Cys Leu Ser Leu Gly Met Ser Glu Ile	
2145 2150 2155	
tct ggt ggc cag aag agt gcc ctt ttt gaa gca gcc cgt gag gtg	6658
Ser Gly Gly Gln Lys Ser Ala Leu Phe Glu Ala Ala Arg Glu Val	
2160 2165 2170	
act ctg gcc cgt gtg agc ggc acc gtg cag cag ctc cct gct gtc	6703
Thr Leu Ala Arg Val Ser Gly Thr Val Gln Gln Leu Pro Ala Val	
2175 2180 2185	
cat cat gtc ttc cag ccc gag ctg cct gca gag ccg gcg gcc tac	6748
His His Val Phe Gln Pro Glu Leu Pro Ala Glu Pro Ala Ala Tyr	
2190 2195 2200	
tgg agc aag ttg aat gat ctg ttt ggg gat gct gca ctg tat cag	6793
Trp Ser Lys Leu Asn Asp Leu Phe Gly Asp Ala Ala Leu Tyr Gln	
2205 2210 2215	
tcc ctg ccc act ctg gcc cgg gcc ctg gca cag tac ctg gtg gtg	6838
Ser Leu Pro Thr Leu Ala Arg Ala Leu Ala Gln Tyr Leu Val Val	
2220 2225 2230	
gtc tcc aaa ctg ccc agt cat ttg cac ctt cct cct gag aaa gag	6883
Val Ser Lys Leu Pro Ser His Leu His Leu Pro Pro Glu Lys Glu	
2235 2240 2245	
aag gac att gtg aaa ttc gtg gtg gca acc ctt gag gcc ctg tcc	6928
Lys Asp Ile Val Lys Phe Val Val Ala Thr Leu Glu Ala Leu Ser	
2250 2255 2260	
tgg cat ttg atc cat gag cag atc ccg ctg agt ctg gat ctc cag	6973
Trp His Leu Ile His Glu Gln Ile Pro Leu Ser Leu Asp Leu Gln	
2265 2270 2275	
gca ggg ctg gac tgc tgc tgc ctg gcc ctg cag ctg cct ggc ctc	7018
Ala Gly Leu Asp Cys Cys Cys Leu Ala Leu Gln Leu Pro Gly Leu	
2280 2285 2290	
tgg agc gtg gtc tcc tcc aca gag ttt gtg acc cac gcc tgc tcc	7063
Trp Ser Val Val Ser Ser Thr Glu Phe Val Thr His Ala Cys Ser	
2295 2300 2305	
ctc atc tac tgt gtg cac ttc atc ctg gag gcc gtt gca gtg cag	7108

Leu Ile Tyr Cys Val His Phe Ile Leu Glu Ala Val Ala Val Gln
 2310 2315 2320

cct gga gag cag ctt ctt agt cca gaa aga agg aca aat acc cca 7153
 Pro Gly Glu Gln Leu Leu Ser Pro Glu Arg Arg Thr Asn Thr Pro
 2325 2330 2335

aaa gcc atc agc gag gag gag gag gaa gta gat cca aac aca cag 7198
 Lys Ala Ile Ser Glu Glu Glu Glu Glu Val Asp Pro Asn Thr Gln
 2340 2345 2350

aat cct aag tat atc act gca gcc tgt gag atg gtg gca gaa atg 7243
 Asn Pro Lys Tyr Ile Thr Ala Ala Cys Glu Met Val Ala Glu Met
 2355 2360 2365

gtg gag tct ctg cag tcg gtg ttg gcc ttg ggt cat aaa agg aat 7288
 Val Glu Ser Leu Gln Ser Val Leu Ala Leu Gly His Lys Arg Asn
 2370 2375 2380

agc ggc gtg ccg gcg ttt ctc acg cca ttg ctc agg aac atc atc 7333
 Ser Gly Val Pro Ala Phe Leu Thr Pro Leu Leu Arg Asn Ile Ile
 2385 2390 2395

atc agc ctg gcc cgc ctg ccc ctt gtc aac agc tac aca cgt gtg 7378
 Ile Ser Leu Ala Arg Leu Pro Leu Val Asn Ser Tyr Thr Arg Val
 2400 2405 2410

ccc cca ctg gtg tgg aag ctt gga tgg tca ccc aaa ccg gga ggg 7423
 Pro Pro Leu Val Trp Lys Leu Gly Trp Ser Pro Lys Pro Gly Gly
 2415 2420 2425

gat ttt ggc aca gca ttc cct gag atc ccc gtg gag ttc ctc cag 7468
 Asp Phe Gly Thr Ala Phe Pro Glu Ile Pro Val Glu Phe Leu Gln
 2430 2435 2440

gaa aag gaa gtc ttt aag gag ttc atc tac cgc atc aac aca cta 7513
 Glu Lys Glu Val Phe Lys Glu Phe Ile Tyr Arg Ile Asn Thr Leu
 2445 2450 2455

ggc tgg acc agt cgt act cag ttt gaa gaa act tgg gcc acc ctc 7558
 Gly Trp Thr Ser Arg Thr Gln Phe Glu Glu Thr Trp Ala Thr Leu
 2460 2465 2470

ctt ggt gtc ctg gtg acg cag ccc ctc gtg atg gag cag gag gag 7603
 Leu Gly Val Leu Val Thr Gln Pro Leu Val Met Glu Gln Glu Glu
 2475 2480 2485

agc cca cca gaa gaa gac aca gag agg acc cag atc aac gtc ctg 7648
 Ser Pro Pro Glu Glu Asp Thr Glu Arg Thr Gln Ile Asn Val Leu

2490	2495	2500	
gcc gtg cag gcc atc acc tca ctg gtg ctc agt gca atg act gtg			7693
Ala Val Gln Ala Ile Thr Ser Leu Val Leu Ser Ala Met Thr Val			
2505	2510	2515	
cct gtg gcc ggc aac cca gct gta agc tgc ttg gag cag cag ccc			7738
Pro Val Ala Gly Asn Pro Ala Val Ser Cys Leu Glu Gln Gln Pro			
2520	2525	2530	
cgg aac aag cct ctg aaa gct ctc gac acc agg ttt ggg agg aag			7783
Arg Asn Lys Pro Leu Lys Ala Leu Asp Thr Arg Phe Gly Arg Lys			
2535	2540	2545	
ctg agc att atc aga ggg att gtg gag caa gag att caa gca atg			7828
Leu Ser Ile Ile Arg Gly Ile Val Glu Gln Glu Ile Gln Ala Met			
2550	2555	2560	
gtt tca aag aga gag aat att gcc acc cat cat tta tat cag gca			7873
Val Ser Lys Arg Glu Asn Ile Ala Thr His His Leu Tyr Gln Ala			
2565	2570	2575	
tgg gat cct gtc cct tct ctg tct ccg gct act aca ggt gcc ctc			7918
Trp Asp Pro Val Pro Ser Leu Ser Pro Ala Thr Thr Gly Ala Leu			
2580	2585	2590	
atc agc cac gag aag ctg ctg cta cag atc aac ccc gag cgg gag			7963
Ile Ser His Glu Lys Leu Leu Leu Gln Ile Asn Pro Glu Arg Glu			
2595	2600	2605	
ctg ggg agc atg agc tac aaa ctc ggc cag gtg tcc ata cac tcc			8008
Leu Gly Ser Met Ser Tyr Lys Leu Gly Gln Val Ser Ile His Ser			
2610	2615	2620	
gtg tgg ctg ggg aac agc atc aca ccc ctg agg gag gag gaa tgg			8053
Val Trp Leu Gly Asn Ser Ile Thr Pro Leu Arg Glu Glu Glu Trp			
2625	2630	2635	
gac gag gaa gag gag gag gag gcc gac gcc cct gca cct tcg tca			8098
Asp Glu Glu Glu Glu Glu Glu Ala Asp Ala Pro Ala Pro Ser Ser			
2640	2645	2650	
cca ccc acg tct cca gtc aac tcc agg aaa cac cgg gct gga gtt			8143
Pro Pro Thr Ser Pro Val Asn Ser Arg Lys His Arg Ala Gly Val			
2655	2660	2665	
gac atc cac tcc tgt tcg cag ttt ttg ctt gag ttg tac agc cgc			8188
Asp Ile His Ser Cys Ser Gln Phe Leu Leu Glu Leu Tyr Ser Arg			
2670	2675	2680	

tgg atc ctg ccg tcc agc tca gcc agg agg acc ccg gcc atc ctg	8233
Trp Ile Leu Pro Ser Ser Ser Ala Arg Arg Thr Pro Ala Ile Leu	
2685 2690 2695	
atc agt gag gtg gtc aga tcc ctt cta gtg gtc tca gac ttg ttc	8278
Ile Ser Glu Val Val Arg Ser Leu Leu Val Val Ser Asp Leu Phe	
2700 2705 2710	
acc gag cgc aac cag ttt gag ctg atg tat gtg acg ctg aca gaa	8323
Thr Glu Arg Asn Gln Phe Glu Leu Met Tyr Val Thr Leu Thr Glu	
2715 2720 2725	
ctg cga agg gtg cac cct tca gaa gac gag atc ctc gct cag tac	8368
Leu Arg Arg Val His Pro Ser Glu Asp Glu Ile Leu Ala Gln Tyr	
2730 2735 2740	
ctg gtg cct gcc acc tgc aag gca gct gcc gtc ctt ggg atg gac	8413
Leu Val Pro Ala Thr Cys Lys Ala Ala Ala Val Leu Gly Met Asp	
2745 2750 2755	
aag gcc gtg gcg gag cct gtc agc cgc ctg ctg gag agc acg ctc	8458
Lys Ala Val Ala Glu Pro Val Ser Arg Leu Leu Glu Ser Thr Leu	
2760 2765 2770	
agg agc agc cac ctg ccc agc agg gtt gga gcc ctg cac ggc gtc	8503
Arg Ser Ser His Leu Pro Ser Arg Val Gly Ala Leu His Gly Val	
2775 2780 2785	
ctc tat gtg ctg gag tgc gac ctg ctg gac gac act gcc aag cag	8548
Leu Tyr Val Leu Glu Cys Asp Leu Leu Asp Asp Thr Ala Lys Gln	
2790 2795 2800	
ctc atc ccg gtc atc agc gac tat ctc ctc tcc aac ctg aaa ggg	8593
Leu Ile Pro Val Ile Ser Asp Tyr Leu Leu Ser Asn Leu Lys Gly	
2805 2810 2815	
atc gcc cac tgc gtg aac att cac agc cag cag cac gta ctg gtc	8638
Ile Ala His Cys Val Asn Ile His Ser Gln Gln His Val Leu Val	
2820 2825 2830	
atg tgt gcc act gcg ttt tac ctc att gag aac tat cct ctg gac	8683
Met Cys Ala Thr Ala Phe Tyr Leu Ile Glu Asn Tyr Pro Leu Asp	
2835 2840 2845	
gta ggg ccg gaa ttt tca gca tca ata ata cag atg tgt ggg gtg	8728
Val Gly Pro Glu Phe Ser Ala Ser Ile Ile Gln Met Cys Gly Val	
2850 2855 2860	

atg ctg tct gga agt gag gag tcc acc ccc tcc atc att tac cac	8773
Met Leu Ser Gly Ser Glu Glu Ser Thr Pro Ser Ile Ile Tyr His	
2865 2870 2875	
tgt gcc ctc aga ggc ctg gag cgc ctc ctg ctc tct gag cag ctc	8818
Cys Ala Leu Arg Gly Leu Glu Arg Leu Leu Leu Ser Glu Gln Leu	
2880 2885 2890	
tcc cgc ctg gat gca gaa tcg ctg gtc aag ctg agt gtg gac aga	8863
Ser Arg Leu Asp Ala Glu Ser Leu Val Lys Leu Ser Val Asp Arg	
2895 2900 2905	
gtg aac gtg cac agc ccg cac cgg gcc atg gcg gct ctg ggc ctg	8908
Val Asn Val His Ser Pro His Arg Ala Met Ala Ala Leu Gly Leu	
2910 2915 2920	
atg ctc acc tgc atg tac aca gga aag gag aaa gtc agt ccg ggt	8953
Met Leu Thr Cys Met Tyr Thr Gly Lys Glu Lys Val Ser Pro Gly	
2925 2930 2935	
aga act tca gac cct aat cct gca gcc ccc gac agc gag tca gtg	8998
Arg Thr Ser Asp Pro Asn Pro Ala Ala Pro Asp Ser Glu Ser Val	
2940 2945 2950	
att gtt gct atg gag cgg gta tct gtt ctt ttt gat agg atc agg	9043
Ile Val Ala Met Glu Arg Val Ser Val Leu Phe Asp Arg Ile Arg	
2955 2960 2965	
aaa ggc ttt cct tgt gaa gcc aga gtg gtg gcc agg atc ctg ccc	9088
Lys Gly Phe Pro Cys Glu Ala Arg Val Val Ala Arg Ile Leu Pro	
2970 2975 2980	
cag ttt cta gac gac ttc ttc cca ccc cag gac atc atg aac aaa	9133
Gln Phe Leu Asp Asp Phe Phe Pro Pro Gln Asp Ile Met Asn Lys	
2985 2990 2995	
gtc atc gga gag ttt ctg tcc aac cag cag cca tac ccc cag ttc	9178
Val Ile Gly Glu Phe Leu Ser Asn Gln Gln Pro Tyr Pro Gln Phe	
3000 3005 3010	
atg gcc acc gtg gtg tat aag gtg ttt cag act ctg cac agc acc	9223
Met Ala Thr Val Val Tyr Lys Val Phe Gln Thr Leu His Ser Thr	
3015 3020 3025	
ggg cag tcg tcc atg gtc cgg gac tgg gtc atg ctg tcc ctc tcc	9268
Gly Gln Ser Ser Met Val Arg Asp Trp Val Met Leu Ser Leu Ser	
3030 3035 3040	
aac ttc acg cag agg gcc ccg gtc gcc atg gcc acg tgg agc ctc	9313

Asn Phe Thr Gln Arg Ala Pro Val Ala Met Ala Thr Trp Ser Leu
 3045 3050 3055

tcc tgc ttc ttt gtc agc gcg tcc acc agc ccg tgg gtc gcg gcg 9358
 Ser Cys Phe Phe Val Ser Ala Ser Thr Ser Pro Trp Val Ala Ala
 3060 3065 3070

atc ctc cca cat gtc atc agc agg atg ggc aag ctg gag cag gtt 9403
 Ile Leu Pro His Val Ile Ser Arg Met Gly Lys Leu Glu Gln Val
 3075 3080 3085

gac gtg aac ctt ttc tgc ctg gtc gcc aca gac ttc tac aga cac 9448
 Asp Val Asn Leu Phe Cys Leu Val Ala Thr Asp Phe Tyr Arg His
 3090 3095 3100

cag ata gag gag gag ctc gac cgc agg gcc ttc cag tct gtg ctt 9493
 Gln Ile Glu Glu Glu Leu Asp Arg Arg Ala Phe Gln Ser Val Leu
 3105 3110 3115

gag gtg gtt gca gcc cca gga agc cca tat cac cgg ctg ctg act 9538
 Glu Val Val Ala Ala Pro Gly Ser Pro Tyr His Arg Leu Leu Thr
 3120 3125 3130

tgt tta cga aat gtc cac aag gtc acc acc tgc tga gcgccatggt 9584
 Cys Leu Arg Asn Val His Lys Val Thr Thr Cys
 3135 3140

gggagagact gtgaggcggc agctggggcc ggagcctttg gaagtctgcg cccttgtgcc 9644

ctgcctccac cgagccagct tggtcctat ggcttccgc acatgcccg gcgcccagg 9704

caacgtgcgt gtctctgcca tgtggcagaa gtgctctttg tggcagtggc caggcaggga 9764

gtgtctgcag tcctggtggg gctgagcctg aggcttcca gaaagcagga gcagctgtgc 9824

tgcaccccat gtgggtgacc aggtccttcc tctgatagt cacctgctgg ttgttgccag 9884

gttcagctg ctcttgcatc tgggccagaa gtcctcctc ctgcaggctg gctgttgccc 9944

cctctgctgt cctgcagtag aaggtgccgt ggcaggctt tgggaacct ggcctgggtc 10004

tccctggtgg ggtgtgcatg ccacccccg tgtctggatg cacagatgcc atggcctgtg 10064

ctgggccagt ggctgggggt gctagacacc cggcaccatt ctcccttctc tcttttctc 10124

tcaggattta aaatttaatt atatcagtaa agagattaat ttaacgtaa ctctttctat 10184

gcccgtgtaa agtatgtgaa tcgcaaggcc tgtgctgcat gcgacagct cgggggtggt 10244

ggacagggcc cccggccacg ctccctctcc tgtagccact ggcatagccc tctgagcac 10304
 ccgctgacat ttccgttgta catgttcctg tttatgcatt cacaaggtga ctgggatgta 10364
 gagaggcggt agtgggcagg tggccacagc aggactgagg acaggccccc attatcctag 10424
 ggggtgcgtc acctgcagcc cctcctcctc gggcacagac gactgtcgtt ctccaccac 10484
 cagtcaggga cagcagcctc cctgtcactc agctgagaag gccagccctc cctggctgtg 10544
 agcagcctcc actgtgtcca gagacatggg cctcccactc ctgttccttg ctagccctgg 10604
 ggtggcgtct gcctaggagc tggctggcag gtgttgggac ctgctgctcc atggatgcat 10664
 gccctaagag tgtcactgag ctgtgtttg tctgagcctc tctcggtaa cagcaaagct 10724
 tgggtctctg gcactgttag tgacagagcc cagcatccct tctgccccg ttccagctga 10784
 catcttgac ggtgaccct tttagtcagg agagtgcaga tctgtgctca tcggagactg 10844
 cccacggcc ctgtcagagc cgccactct atccccaggc caggtccctg gaccagcctc 10904
 ctgtttgcag gccagagga gccaatcat taaaatgaa gtggattctg gatggccggg 10964
 ctgctgctga tgtaggagct ggatttggga gctctgcttg ccgactggct gtgagacgag 11024
 gcaggggctc tgcttctca gccctagagg cgagccaggc aaggttggcg actgtcatgt 11084
 ggcttggttt ggtcatgcc gtcgatgtt tgggtattga atgtgtaag tggaggaaat 11144
 gttggaactc tgtgcaggtg ctgccttgag accccaagc ttccacctgt cctctccta 11204
 tgtggcagct ggggagcagc tgagatgtgg acttgtatgc tgcccacata cgtgaggggg 11264
 agctgaaagg gagccctcc tctgagcagc ctctgccagg cctgtatgag gcttttccca 11324
 ccagctcca acagaggcct ccccagcca ggaccacctc gtctctgtgg cggggcagca 11384
 ggagcggtag aaaggggtcc gatgtttgag gaggccctta aggaagcta ctgaattata 11444
 acacgtaaga aaatcaccat tcttccgtat tggttggggg ctctgtttc tcctcctagc 11504
 tttttcctgg aaagcccgt agaaggttg ggaacgaggg gaaagtctc agaactgttg 11564
 gctgctccc acccgcctcc cgctcccc gcaggttatg tcagcagctc tgagacagca 11624
 gtatcacagg ccagatgttg ttcttgcta gatgtttaca tttgtaagaa ataactgt 11684
 gaatgtaaaa cagagccatt cccttgaat gcatatcgt ggctcaaca tagagtttgt 11744

cttcctcttg tttacgacgt gatctaaacc agtccttagc aaggggctca gaacaccccc 11804
ctctggcagt aggtgtcccc cacccccaaa gacctgcctg tgtgctccgg agatgaatat 11864
gagctcatta gtaaaaatga cttcaccacac gcatatacat aaagtatcca tgcattgtgca 11924
tatagacaca tctataattt tacacacaca cctctcaaga cggagatgca tggcctctaa 11984
gagtgccctg gtcggttctt cctggaagtt gactttcctt agaccgcca ggtcaagtta 12044
gccgcgtgac ggacatccag gcgtgggacg tggtcagggc agggctcatt cattgcccac 12104
taggatccca ctggcgaaga tggctctccat atcagctctc tgcagaaggg aggaagactt 12164
tatcatgttc ctaaaaatct gtggcaagca cccatcgtat tatccaaatt ttgttgcaaa 12224
tgtgattaat ttggttgca agttttgggg gtgggctgtg gggagattgc tttgttttc 12284
ctgctggtaa tatcgggaaa gattttaatg aaaccagggt agaattgttt ggcaatgcac 12344
tgaagcgtgt ttctttccca aatgtgcct ccctccgct gcgggcccag ctgagtctat 12404
gtaggtgatg tttccagctg ccaagtctc tttgttactg tccaccctca tttctgccag 12464
cgcatgtgtc ctttcaaggg gaaaatgtga agctgaacc cctccagaca cccagaatgt 12524
agcatctgag aaggccctgt gccctaaagg acaccctcg ccccatctt catggagggg 12584
gtcatttcag agccctcgga gccaatgaac agctcctcct cttggagctg agatgagccc 12644
cacgtggagc tcgggacgga tagtagacag caataactcg gtgtgtggcc gcctggcagg 12704
tggaacttcc tcccgttgcg ggggtgagtg aggttagttc tgtgtgtctg gtgggtggag 12764
tcaggcttct cttgctacct gtgagcatcc ttccagcag acatcctcat cgggctttgt 12824
ccctccccg cttctccct ctgcggggag gaccgggac cacagctgct ggccagggta 12884
gacttgagc tgtcctccag aggggtcacg ttaggagtg agaagaagga agatcttgag 12944
agctgctgag ggaccttga gagctcagga tggctcagac gaggacactc gcttgccggg 13004
cctgggctc ctgggaagga gggagctgct cagaatgccg catgacaact gaaggcaacc 13064
tggaaggttc agggccgct cttccccat gtgcctgtca cgctctggtg cagtcaaagg 13124
aacgccttc cctcagttgt ttctaagagc agagtctccc gctgcaatct ggggtgtaac 13184

tgccagcctt ggaggatcgt ggccaacgtg gacctgccta cggagggtgg gctctgacct 13244
aagtggggcc tccttgtcca ggtctcactg ctttgaccg tggtcagagg gactgtcagc 13304
tgagcttgag ctcccctgga gccagcaggg ctgtgatgg cgagtcccgg agccccaccc 13364
agacctgaat gttctgaga gcaaagggaa ggactgacga gagatgtata ttttaattttt 13424
taactgctgc aaacattgta catccaaatt aaaggaaaa aatggaaacc atcaaaaaaa 13484
aaaaaaaaa a 13495

<210> 8
<211> 3142
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 8

Met Ala Thr Leu Glu Lys Leu Met Lys Ala Phe Glu Ser Leu Lys Ser
1 5 10 15

Phe Gln Gln Gln Gln Gln Gln Gln Gln Gln Gln Gln Gln Gln Gln Gln
20 25 30

Gln Gln Gln Gln Gln Gln Pro Pro Pro Pro Pro Pro Pro Pro Pro Pro
35 40 45

Pro Gln Leu Pro Gln Pro Pro Pro Gln Ala Gln Pro Leu Leu Pro Gln
50 55 60

Pro Gln Pro Pro Pro Pro Pro Pro Pro Pro Pro Pro Gly Pro Ala Val
65 70 75 80

Ala Glu Glu Pro Leu His Arg Pro Lys Lys Glu Leu Ser Ala Thr Lys
85 90 95

Lys Asp Arg Val Asn His Cys Leu Thr Ile Cys Glu Asn Ile Val Ala
100 105 110

Gln Ser Val Arg Asn Ser Pro Glu Phe Gln Lys Leu Leu Gly Ile Ala

115 120 125

Met Glu Leu Phe Leu Leu Cys Ser Asp Asp Ala Glu Ser Asp Val Arg
 130 135 140

Met Val Ala Asp Glu Cys Leu Asn Lys Val Ile Lys Ala Leu Met Asp
 145 150 155 160

Ser Asn Leu Pro Arg Leu Gln Leu Glu Leu Tyr Lys Glu Ile Lys Lys
 165 170 175

Asn Gly Ala Pro Arg Ser Leu Arg Ala Ala Leu Trp Arg Phe Ala Glu
 180 185 190

Leu Ala His Leu Val Arg Pro Gln Lys Cys Arg Pro Tyr Leu Val Asn
 195 200 205

Leu Leu Pro Cys Leu Thr Arg Thr Ser Lys Arg Pro Glu Glu Ser Val
 210 215 220

Gln Glu Thr Leu Ala Ala Ala Val Pro Lys Ile Met Ala Ser Phe Gly
 225 230 235 240

Asn Phe Ala Asn Asp Asn Glu Ile Lys Val Leu Leu Lys Ala Phe Ile
 245 250 255

Ala Asn Leu Lys Ser Ser Ser Pro Thr Ile Arg Arg Thr Ala Ala Gly
 260 265 270

Ser Ala Val Ser Ile Cys Gln His Ser Arg Arg Thr Gln Tyr Phe Tyr
 275 280 285

Ser Trp Leu Leu Asn Val Leu Leu Gly Leu Leu Val Pro Val Glu Asp
 290 295 300

Glu His Ser Thr Leu Leu Ile Leu Gly Val Leu Leu Thr Leu Arg Tyr
 305 310 315 320

Leu Val Pro Leu Leu Gln Gln Gln Val Lys Asp Thr Ser Leu Lys Gly
 325 330 335

Ser Phe Gly Val Thr Arg Lys Glu Met Glu Val Ser Pro Ser Ala Glu
 340 345 350

Gln Leu Val Gln Val Tyr Glu Leu Thr Leu His His Thr Gln His Gln
 355 360 365

Asp His Asn Val Val Thr Gly Ala Leu Glu Leu Leu Gln Gln Leu Phe
 370 375 380

Arg Thr Pro Pro Pro Glu Leu Leu Gln Thr Leu Thr Ala Val Gly Gly
 385 390 395 400

Ile Gly Gln Leu Thr Ala Ala Lys Glu Glu Ser Gly Gly Arg Ser Arg
 405 410 415

Ser Gly Ser Ile Val Glu Leu Ile Ala Gly Gly Gly Ser Ser Cys Ser
 420 425 430

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

Glu Ala Leu Glu Asp Asp Ser Glu Ser Arg Ser Asp Val Ser Ser Ser
 450 455 460

Ala Leu Thr Ala Ser Val Lys Asp Glu Ile Ser Gly Glu Leu Ala Ala
 465 470 475 480

Ser Ser Gly Val Ser Thr Pro Gly Ser Ala Gly His Asp Ile Ile Thr
 485 490 495

Glu Gln Pro Arg Ser Gln His Thr Leu Gln Ala Asp Ser Val Asp Leu
 500 505 510

Ala Ser Cys Asp Leu Thr Ser Ser Ala Thr Asp Gly Asp Glu Glu Asp
 515 520 525

Ile Leu Ser His Ser Ser Ser Gln Val Ser Ala Val Pro Ser Asp Pro
 530 535 540

Ala Met Asp Leu Asn Asp Gly Thr Gln Ala Ser Ser Pro Ile Ser Asp
 545 550 555 560

Ser Ser Gln Thr Thr Thr Glu Gly Pro Asp Ser Ala Val Thr Pro Ser
 565 570 575

Asp Ser Ser Glu Ile Val Leu Asp Gly Thr Asp Asn Gln Tyr Leu Gly
 580 585 590

Leu Gln Ile Gly Gln Pro Gln Asp Glu Asp Glu Glu Ala Thr Gly Ile
 595 600 605

Leu Pro Asp Glu Ala Ser Glu Ala Phe Arg Asn Ser Ser Met Ala Leu
 610 615 620

Gln Gln Ala His Leu Leu Lys Asn Met Ser His Cys Arg Gln Pro Ser
 625 630 635 640

Asp Ser Ser Val Asp Lys Phe Val Leu Arg Asp Glu Ala Thr Glu Pro
 645 650 655

Gly Asp Gln Glu Asn Lys Pro Cys Arg Ile Lys Gly Asp Ile Gly Gln
 660 665 670

Ser Thr Asp Asp Asp Ser Ala Pro Leu Val His Cys Val Arg Leu Leu
 675 680 685

Ser Ala Ser Phe Leu Leu Thr Gly Gly Lys Asn Val Leu Val Pro Asp
 690 695 700

Arg Asp Val Arg Val Ser Val Lys Ala Leu Ala Leu Ser Cys Val Gly
 705 710 715 720

Ala Ala Val Ala Leu His Pro Glu Ser Phe Phe Ser Lys Leu Tyr Lys
 725 730 735

Val Pro Leu Asp Thr Thr Glu Tyr Pro Glu Glu Gln Tyr Val Ser Asp
 740 745 750

Ile Leu Asn Tyr Ile Asp His Gly Asp Pro Gln Val Arg Gly Ala Thr
 755 760 765

Ala Ile Leu Cys Gly Thr Leu Ile Cys Ser Ile Leu Ser Arg Ser Arg
 770 775 780

Phe His Val Gly Asp Trp Met Gly Thr Ile Arg Thr Leu Thr Gly Asn
 785 790 795 800

Thr Phe Ser Leu Ala Asp Cys Ile Pro Leu Leu Arg Lys Thr Leu Lys
 805 810 815

Asp Glu Ser Ser Val Thr Cys Lys Leu Ala Cys Thr Ala Val Arg Asn
 820 825 830

Cys Val Met Ser Leu Cys Ser Ser Ser Tyr Ser Glu Leu Gly Leu Gln
 835 840 845

Leu Ile Ile Asp Val Leu Thr Leu Arg Asn Ser Ser Tyr Trp Leu Val
 850 855 860

Arg Thr Glu Leu Leu Glu Thr Leu Ala Glu Ile Asp Phe Arg Leu Val
 865 870 875 880

Ser Phe Leu Glu Ala Lys Ala Glu Asn Leu His Arg Gly Ala His His
 885 890 895

Tyr Thr Gly Leu Leu Lys Leu Gln Glu Arg Val Leu Asn Asn Val Val

900 905 910
 Ile His Leu Leu Gly Asp Glu Asp Pro Arg Val Arg His Val Ala Ala
 915 920 925
 Ala Ser Leu Ile Arg Leu Val Pro Lys Leu Phe Tyr Lys Cys Asp Gln
 930 935 940
 Gly Gln Ala Asp Pro Val Val Ala Val Ala Arg Asp Gln Ser Ser Val
 945 950 955 960
 Tyr Leu Lys Leu Leu Met His Glu Thr Gln Pro Pro Ser His Phe Ser
 965 970 975
 Val Ser Thr Ile Thr Arg Ile Tyr Arg Gly Tyr Asn Leu Leu Pro Ser
 980 985 990
 Ile Thr Asp Val Thr Met Glu Asn Asn Leu Ser Arg Val Ile Ala Ala
 995 1000 1005
 Val Ser His Glu Leu Ile Thr Ser Thr Thr Arg Ala Leu Thr Phe
 1010 1015 1020
 Gly Cys Cys Glu Ala Leu Cys Leu Leu Ser Thr Ala Phe Pro Val
 1025 1030 1035
 Cys Ile Trp Ser Leu Gly Trp His Cys Gly Val Pro Pro Leu Ser
 1040 1045 1050
 Ala Ser Asp Glu Ser Arg Lys Ser Cys Thr Val Gly Met Ala Thr
 1055 1060 1065
 Met Ile Leu Thr Leu Leu Ser Ser Ala Trp Phe Pro Leu Asp Leu
 1070 1075 1080
 Ser Ala His Gln Asp Ala Leu Ile Leu Ala Gly Asn Leu Leu Ala
 1085 1090 1095

Ala Ser Ala Pro Lys Ser Leu Arg Ser Ser Trp Ala Ser Glu Glu
 1100 1105 1110

Glu Ala Asn Pro Ala Ala Thr Lys Gln Glu Glu Val Trp Pro Ala
 1115 1120 1125

Leu Gly Asp Arg Ala Leu Val Pro Met Val Glu Gln Leu Phe Ser
 1130 1135 1140

His Leu Leu Lys Val Ile Asn Ile Cys Ala His Val Leu Asp Asp
 1145 1150 1155

Val Ala Pro Gly Pro Ala Ile Lys Ala Ala Leu Pro Ser Leu Thr
 1160 1165 1170

Asn Pro Pro Ser Leu Ser Pro Ile Arg Arg Lys Gly Lys Glu Lys
 1175 1180 1185

Glu Pro Gly Glu Gln Ala Ser Val Pro Leu Ser Pro Lys Lys Gly
 1190 1195 1200

Ser Glu Ala Ser Ala Ala Ser Arg Gln Ser Asp Thr Ser Gly Pro
 1205 1210 1215

Val Thr Thr Ser Lys Ser Ser Ser Leu Gly Ser Phe Tyr His Leu
 1220 1225 1230

Pro Ser Tyr Leu Lys Leu His Asp Val Leu Lys Ala Thr His Ala
 1235 1240 1245

Asn Tyr Lys Val Thr Leu Asp Leu Gln Asn Ser Thr Glu Lys Phe
 1250 1255 1260

Gly Gly Phe Leu Arg Ser Ala Leu Asp Val Leu Ser Gln Ile Leu
 1265 1270 1275

Glu Leu Ala Thr Leu Gln Asp Ile Gly Lys Cys Val Glu Glu Ile
 1280 1285 1290

Leu Gly Tyr Leu Lys Ser Cys Phe Ser Arg Glu Pro Met Met Ala
 1295 1300 1305

Thr Val Cys Val Gln Gln Leu Leu Lys Thr Leu Phe Gly Thr Asn
 1310 1315 1320

Leu Ala Ser Gln Phe Asp Gly Leu Ser Ser Asn Pro Ser Lys Ser
 1325 1330 1335

Gln Gly Arg Ala Gln Arg Leu Gly Ser Ser Ser Val Arg Pro Gly
 1340 1345 1350

Leu Tyr His Tyr Cys Phe Met Ala Pro Tyr Thr His Phe Thr Gln
 1355 1360 1365

Ala Leu Ala Asp Ala Ser Leu Arg Asn Met Val Gln Ala Glu Gln
 1370 1375 1380

Glu Asn Asp Thr Ser Gly Trp Phe Asp Val Leu Gln Lys Val Ser
 1385 1390 1395

Thr Gln Leu Lys Thr Asn Leu Thr Ser Val Thr Lys Asn Arg Ala
 1400 1405 1410

Asp Lys Asn Ala Ile His Asn His Ile Arg Leu Phe Glu Pro Leu
 1415 1420 1425

Val Ile Lys Ala Leu Lys Gln Tyr Thr Thr Thr Thr Cys Val Gln
 1430 1435 1440

Leu Gln Lys Gln Val Leu Asp Leu Leu Ala Gln Leu Val Gln Leu
 1445 1450 1455

Arg Val Asn Tyr Cys Leu Leu Asp Ser Asp Gln Val Phe Ile Gly
 1460 1465 1470

Phe Val Leu Lys Gln Phe Glu Tyr Ile Glu Val Gly Gln Phe Arg
 1475 1480 1485

Glu Ser Glu Ala Ile Ile Pro Asn Ile Phe Phe Phe Leu Val Leu
 1490 1495 1500

Leu Ser Tyr Glu Arg Tyr His Ser Lys Gln Ile Ile Gly Ile Pro
 1505 1510 1515

Lys Ile Ile Gln Leu Cys Asp Gly Ile Met Ala Ser Gly Arg Lys
 1520 1525 1530

Ala Val Thr His Ala Ile Pro Ala Leu Gln Pro Ile Val His Asp
 1535 1540 1545

Leu Phe Val Leu Arg Gly Thr Asn Lys Ala Asp Ala Gly Lys Glu
 1550 1555 1560

Leu Glu Thr Gln Lys Glu Val Val Val Ser Met Leu Leu Arg Leu
 1565 1570 1575

Ile Gln Tyr His Gln Val Leu Glu Met Phe Ile Leu Val Leu Gln
 1580 1585 1590

Gln Cys His Lys Glu Asn Glu Asp Lys Trp Lys Arg Leu Ser Arg
 1595 1600 1605

Gln Ile Ala Asp Ile Ile Leu Pro Met Leu Ala Lys Gln Gln Met
 1610 1615 1620

His Ile Asp Ser His Glu Ala Leu Gly Val Leu Asn Thr Leu Phe
 1625 1630 1635

Glu Ile Leu Ala Pro Ser Ser Leu Arg Pro Val Asp Met Leu Leu

1640						1645												1650
Arg Ser	Met Phe	Val Thr	Pro	Asn Thr	Met Ala	Ser	Val Ser	Thr										
1655						1660												1665
Val Gln	Leu Trp	Ile Ser	Gly	Ile Leu	Ala Ile	Leu	Arg	Val Leu										
1670						1675												1680
Ile Ser	Gln Ser	Thr Glu	Asp	Ile Val	Leu Ser	Arg	Ile Gln	Glu										
1685						1690												1695
Leu Ser	Phe Ser	Pro Tyr	Leu	Ile Ser	Cys Thr	Val	Ile Asn	Arg										
1700						1705												1710
Leu Arg	Asp Gly	Asp Ser	Thr	Ser Thr	Leu Glu	Glu	His Ser	Glu										
1715						1720												1725
Gly Lys	Gln Ile	Lys Asn	Leu	Pro Glu	Glu Thr	Phe	Ser Arg	Phe										
1730						1735												1740
Leu Leu	Gln Leu	Val Gly	Ile	Leu Leu	Glu Asp	Ile	Val Thr	Lys										
1745						1750												1755
Gln Leu	Lys Val	Glu Met	Ser	Glu Gln	Gln His	Thr	Phe Tyr	Cys										
1760						1765												1770
Gln Glu	Leu Gly	Thr Leu	Leu	Met Cys	Leu Ile	His	Ile Phe	Lys										
1775						1780												1785
Ser Gly	Met Phe	Arg Arg	Ile	Thr Ala	Ala Ala	Thr	Arg Leu	Phe										
1790						1795												1800
Arg Ser	Asp Gly	Cys Gly	Gly	Ser Phe	Tyr Thr	Leu	Asp Ser	Leu										
1805						1810												1815
Asn Leu	Arg Ala	Arg Ser	Met	Ile Thr	Thr His	Pro	Ala Leu	Val										
1820						1825												1830

Leu Leu Trp Cys Gln Ile Leu Leu Leu Val Asn His Thr Asp Tyr
 1835 1840 1845

Arg Trp Trp Ala Glu Val Gln Gln Thr Pro Lys Arg His Ser Leu
 1850 1855 1860

Ser Ser Thr Lys Leu Leu Ser Pro Gln Met Ser Gly Glu Glu Glu
 1865 1870 1875

Asp Ser Asp Leu Ala Ala Lys Leu Gly Met Cys Asn Arg Glu Ile
 1880 1885 1890

Val Arg Arg Gly Ala Leu Ile Leu Phe Cys Asp Tyr Val Cys Gln
 1895 1900 1905

Asn Leu His Asp Ser Glu His Leu Thr Trp Leu Ile Val Asn His
 1910 1915 1920

Ile Gln Asp Leu Ile Ser Leu Ser His Glu Pro Pro Val Gln Asp
 1925 1930 1935

Phe Ile Ser Ala Val His Arg Asn Ser Ala Ala Ser Gly Leu Phe
 1940 1945 1950

Ile Gln Ala Ile Gln Ser Arg Cys Glu Asn Leu Ser Thr Pro Thr
 1955 1960 1965

Met Leu Lys Lys Thr Leu Gln Cys Leu Glu Gly Ile His Leu Ser
 1970 1975 1980

Gln Ser Gly Ala Val Leu Thr Leu Tyr Val Asp Arg Leu Leu Cys
 1985 1990 1995

Thr Pro Phe Arg Val Leu Ala Arg Met Val Asp Ile Leu Ala Cys
 2000 2005 2010

Arg Arg Val Glu Met Leu Leu Ala Ala Asn Leu Gln Ser Ser Met
 2015 2020 2025

Ala Gln Leu Pro Met Glu Glu Leu Asn Arg Ile Gln Glu Tyr Leu
 2030 2035 2040

Gln Ser Ser Gly Leu Ala Gln Arg His Gln Arg Leu Tyr Ser Leu
 2045 2050 2055

Leu Asp Arg Phe Arg Leu Ser Thr Met Gln Asp Ser Leu Ser Pro
 2060 2065 2070

Ser Pro Pro Val Ser Ser His Pro Leu Asp Gly Asp Gly His Val
 2075 2080 2085

Ser Leu Glu Thr Val Ser Pro Asp Lys Asp Trp Tyr Val His Leu
 2090 2095 2100

Val Lys Ser Gln Cys Trp Thr Arg Ser Asp Ser Ala Leu Leu Glu
 2105 2110 2115

Gly Ala Glu Leu Val Asn Arg Ile Pro Ala Glu Asp Met Asn Ala
 2120 2125 2130

Phe Met Met Asn Ser Glu Phe Asn Leu Ser Leu Leu Ala Pro Cys
 2135 2140 2145

Leu Ser Leu Gly Met Ser Glu Ile Ser Gly Gly Gln Lys Ser Ala
 2150 2155 2160

Leu Phe Glu Ala Ala Arg Glu Val Thr Leu Ala Arg Val Ser Gly
 2165 2170 2175

Thr Val Gln Gln Leu Pro Ala Val His His Val Phe Gln Pro Glu
 2180 2185 2190

Leu Pro Ala Glu Pro Ala Ala Tyr Trp Ser Lys Leu Asn Asp Leu
2195 2200 2205

Phe Gly Asp Ala Ala Leu Tyr Gln Ser Leu Pro Thr Leu Ala Arg
2210 2215 2220

Ala Leu Ala Gln Tyr Leu Val Val Val Ser Lys Leu Pro Ser His
2225 2230 2235

Leu His Leu Pro Pro Glu Lys Glu Lys Asp Ile Val Lys Phe Val
2240 2245 2250

Val Ala Thr Leu Glu Ala Leu Ser Trp His Leu Ile His Glu Gln
2255 2260 2265

Ile Pro Leu Ser Leu Asp Leu Gln Ala Gly Leu Asp Cys Cys Cys
2270 2275 2280

Leu Ala Leu Gln Leu Pro Gly Leu Trp Ser Val Val Ser Ser Thr
2285 2290 2295

Glu Phe Val Thr His Ala Cys Ser Leu Ile Tyr Cys Val His Phe
2300 2305 2310

Ile Leu Glu Ala Val Ala Val Gln Pro Gly Glu Gln Leu Leu Ser
2315 2320 2325

Pro Glu Arg Arg Thr Asn Thr Pro Lys Ala Ile Ser Glu Glu Glu
2330 2335 2340

Glu Glu Val Asp Pro Asn Thr Gln Asn Pro Lys Tyr Ile Thr Ala
2345 2350 2355

Ala Cys Glu Met Val Ala Glu Met Val Glu Ser Leu Gln Ser Val
2360 2365 2370

Leu Ala Leu Gly His Lys Arg Asn Ser Gly Val Pro Ala Phe Leu

2375						2380										2385
Thr	Pro	Leu	Leu	Arg	Asn	Ile	Ile	Ile	Ser	Leu	Ala	Arg	Leu	Pro		
2390						2395					2400					
Leu	Val	Asn	Ser	Tyr	Thr	Arg	Val	Pro	Pro	Leu	Val	Trp	Lys	Leu		
2405						2410					2415					
Gly	Trp	Ser	Pro	Lys	Pro	Gly	Gly	Asp	Phe	Gly	Thr	Ala	Phe	Pro		
2420						2425					2430					
Glu	Ile	Pro	Val	Glu	Phe	Leu	Gln	Glu	Lys	Glu	Val	Phe	Lys	Glu		
2435						2440					2445					
Phe	Ile	Tyr	Arg	Ile	Asn	Thr	Leu	Gly	Trp	Thr	Ser	Arg	Thr	Gln		
2450						2455					2460					
Phe	Glu	Glu	Thr	Trp	Ala	Thr	Leu	Leu	Gly	Val	Leu	Val	Thr	Gln		
2465						2470					2475					
Pro	Leu	Val	Met	Glu	Gln	Glu	Glu	Ser	Pro	Pro	Glu	Glu	Asp	Thr		
2480						2485					2490					
Glu	Arg	Thr	Gln	Ile	Asn	Val	Leu	Ala	Val	Gln	Ala	Ile	Thr	Ser		
2495						2500					2505					
Leu	Val	Leu	Ser	Ala	Met	Thr	Val	Pro	Val	Ala	Gly	Asn	Pro	Ala		
2510						2515					2520					
Val	Ser	Cys	Leu	Glu	Gln	Gln	Pro	Arg	Asn	Lys	Pro	Leu	Lys	Ala		
2525						2530					2535					
Leu	Asp	Thr	Arg	Phe	Gly	Arg	Lys	Leu	Ser	Ile	Ile	Arg	Gly	Ile		
2540						2545					2550					
Val	Glu	Gln	Glu	Ile	Gln	Ala	Met	Val	Ser	Lys	Arg	Glu	Asn	Ile		
2555						2560					2565					

Ala Thr His His Leu Tyr Gln Ala Trp Asp Pro Val Pro Ser Leu
 2570 2575 2580

Ser Pro Ala Thr Thr Gly Ala Leu Ile Ser His Glu Lys Leu Leu
 2585 2590 2595

Leu Gln Ile Asn Pro Glu Arg Glu Leu Gly Ser Met Ser Tyr Lys
 2600 2605 2610

Leu Gly Gln Val Ser Ile His Ser Val Trp Leu Gly Asn Ser Ile
 2615 2620 2625

Thr Pro Leu Arg Glu Glu Glu Trp Asp Glu Glu Glu Glu Glu Glu
 2630 2635 2640

Ala Asp Ala Pro Ala Pro Ser Ser Pro Pro Thr Ser Pro Val Asn
 2645 2650 2655

Ser Arg Lys His Arg Ala Gly Val Asp Ile His Ser Cys Ser Gln
 2660 2665 2670

Phe Leu Leu Glu Leu Tyr Ser Arg Trp Ile Leu Pro Ser Ser Ser
 2675 2680 2685

Ala Arg Arg Thr Pro Ala Ile Leu Ile Ser Glu Val Val Arg Ser
 2690 2695 2700

Leu Leu Val Val Ser Asp Leu Phe Thr Glu Arg Asn Gln Phe Glu
 2705 2710 2715

Leu Met Tyr Val Thr Leu Thr Glu Leu Arg Arg Val His Pro Ser
 2720 2725 2730

Glu Asp Glu Ile Leu Ala Gln Tyr Leu Val Pro Ala Thr Cys Lys
 2735 2740 2745

Ala Ala Ala Val Leu Gly Met Asp Lys Ala Val Ala Glu Pro Val
 2750 2755 2760

Ser Arg Leu Leu Glu Ser Thr Leu Arg Ser Ser His Leu Pro Ser
 2765 2770 2775

Arg Val Gly Ala Leu His Gly Val Leu Tyr Val Leu Glu Cys Asp
 2780 2785 2790

Leu Leu Asp Asp Thr Ala Lys Gln Leu Ile Pro Val Ile Ser Asp
 2795 2800 2805

Tyr Leu Leu Ser Asn Leu Lys Gly Ile Ala His Cys Val Asn Ile
 2810 2815 2820

His Ser Gln Gln His Val Leu Val Met Cys Ala Thr Ala Phe Tyr
 2825 2830 2835

Leu Ile Glu Asn Tyr Pro Leu Asp Val Gly Pro Glu Phe Ser Ala
 2840 2845 2850

Ser Ile Ile Gln Met Cys Gly Val Met Leu Ser Gly Ser Glu Glu
 2855 2860 2865

Ser Thr Pro Ser Ile Ile Tyr His Cys Ala Leu Arg Gly Leu Glu
 2870 2875 2880

Arg Leu Leu Leu Ser Glu Gln Leu Ser Arg Leu Asp Ala Glu Ser
 2885 2890 2895

Leu Val Lys Leu Ser Val Asp Arg Val Asn Val His Ser Pro His
 2900 2905 2910

Arg Ala Met Ala Ala Leu Gly Leu Met Leu Thr Cys Met Tyr Thr
 2915 2920 2925

Gly Lys Glu Lys Val Ser Pro Gly Arg Thr Ser Asp Pro Asn Pro
 2930 2935 2940

Ala Ala Pro Asp Ser Glu Ser Val Ile Val Ala Met Glu Arg Val
 2945 2950 2955

Ser Val Leu Phe Asp Arg Ile Arg Lys Gly Phe Pro Cys Glu Ala
 2960 2965 2970

Arg Val Val Ala Arg Ile Leu Pro Gln Phe Leu Asp Asp Phe Phe
 2975 2980 2985

Pro Pro Gln Asp Ile Met Asn Lys Val Ile Gly Glu Phe Leu Ser
 2990 2995 3000

Asn Gln Gln Pro Tyr Pro Gln Phe Met Ala Thr Val Val Tyr Lys
 3005 3010 3015

Val Phe Gln Thr Leu His Ser Thr Gly Gln Ser Ser Met Val Arg
 3020 3025 3030

Asp Trp Val Met Leu Ser Leu Ser Asn Phe Thr Gln Arg Ala Pro
 3035 3040 3045

Val Ala Met Ala Thr Trp Ser Leu Ser Cys Phe Phe Val Ser Ala
 3050 3055 3060

Ser Thr Ser Pro Trp Val Ala Ala Ile Leu Pro His Val Ile Ser
 3065 3070 3075

Arg Met Gly Lys Leu Glu Gln Val Asp Val Asn Leu Phe Cys Leu
 3080 3085 3090

Val Ala Thr Asp Phe Tyr Arg His Gln Ile Glu Glu Glu Leu Asp
 3095 3100 3105

Arg Arg Ala Phe Gln Ser Val Leu Glu Val Val Ala Ala Pro Gly

3110	3115	3120
Ser Pro Tyr His Arg Leu Leu Thr Cys Leu Arg Asn Val His Lys		
3125	3130	3135

Val Thr Thr Cys
3140

<210> 9
<211> 3354
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> CDS
<222> (148)..(2235)

<400> 9
agtttcctcg gcagcggtag gcgagagcac gcgaggagc gtgcgcgggg gccccgggag 60
acggcggcgg tggcggcgcg ggcagagcaa ggacgcgcg gatccactc gcacagcagc 120
gcaactcggtg ccccgcgag ggtcgcg atg ctg ccc ggt ttg gca ctg ctc ctg 174
Met Leu Pro Gly Leu Ala Leu Leu Leu
1 5
ctg gcc gcc tgg acg gct cgg gcg ctg gag gta ccc act gat ggt aat 222
Leu Ala Ala Trp Thr Ala Arg Ala Leu Glu Val Pro Thr Asp Gly Asn
10 15 20 25
gct ggc ctg ctg gct gaa ccc cag att gcc atg ttc tgt ggc aga ctg 270
Ala Gly Leu Leu Ala Glu Pro Gln Ile Ala Met Phe Cys Gly Arg Leu
30 35 40
aac atg cac atg aat gtc cag aat ggg aag tgg gat tca gat cca tca 318
Asn Met His Met Asn Val Gln Asn Gly Lys Trp Asp Ser Asp Pro Ser
45 50 55
ggg acc aaa acc tgc att gat acc aag gaa ggc atc ctg cag tat tgc 366
Gly Thr Lys Thr Cys Ile Asp Thr Lys Glu Gly Ile Leu Gln Tyr Cys
60 65 70
caa gaa gtc tac cct gaa ctg cag atc acc aat gtg gta gaa gcc aac 414
Gln Glu Val Tyr Pro Glu Leu Gln Ile Thr Asn Val Val Glu Ala Asn
75 80 85

caa cca gtg acc atc cag aac tgg tgc aag cgg ggc cgc aag cag tgc 462
 Gln Pro Val Thr Ile Gln Asn Trp Cys Lys Arg Gly Arg Lys Gln Cys
 90 95 100 105

aag acc cat ccc cac ttt gtg att ccc tac cgc tgc tta gtt ggt gag 510
 Lys Thr His Pro His Phe Val Ile Pro Tyr Arg Cys Leu Val Gly Glu
 110 115 120

ttt gta agt gat gcc ctt ctc gtt cct gac aag tgc aaa ttc tta cac 558
 Phe Val Ser Asp Ala Leu Leu Val Pro Asp Lys Cys Lys Phe Leu His
 125 130 135

cag gag agg atg gat gtt tgc gaa act cat ctt cac tgg cac acc gtc 606
 Gln Glu Arg Met Asp Val Cys Glu Thr His Leu His Trp His Thr Val
 140 145 150

gcc aaa gag aca tgc agt gag aag agt acc aac ttg cat gac tac ggc 654
 Ala Lys Glu Thr Cys Ser Glu Lys Ser Thr Asn Leu His Asp Tyr Gly
 155 160 165

atg ttg ctg ccc tgc gga att gac aag ttc cga ggg gta gag ttt gtg 702
 Met Leu Leu Pro Cys Gly Ile Asp Lys Phe Arg Gly Val Glu Phe Val
 170 175 180 185

tgt tgc cca ctg gct gaa gaa agt gac aat gtg gat tct gct gat ggc 750
 Cys Cys Pro Leu Ala Glu Glu Ser Asp Asn Val Asp Ser Ala Asp Ala
 190 195 200

gag gag gat gac tcg gat gtc tgg tgg ggc gga gca gac aca gac tat 798
 Glu Glu Asp Asp Ser Asp Val Trp Trp Gly Gly Ala Asp Thr Asp Tyr
 205 210 215

gca gat ggg agt gaa gac aaa gta gta gaa gta gca gag gag gaa gaa 846
 Ala Asp Gly Ser Glu Asp Lys Val Val Glu Val Ala Glu Glu Glu Glu
 220 225 230

gtg gct gag gtg gaa gaa gaa gaa gcc gat gat gac gag gac gat gag 894
 Val Ala Glu Val Glu Glu Glu Glu Ala Asp Asp Asp Glu Asp Asp Glu
 235 240 245

gat ggt gat gag gta gag gaa gag gct gag gaa ccc tac gaa gaa gcc 942
 Asp Gly Asp Glu Val Glu Glu Glu Ala Glu Glu Pro Tyr Glu Glu Ala
 250 255 260 265

aca gag aga acc acc agc att gcc acc acc acc acc acc acc aca gag 990
 Thr Glu Arg Thr Thr Ser Ile Ala Thr Thr Thr Thr Thr Thr Thr Glu
 270 275 280

tct gtg gaa gag gtg gtt cga gtt cct aca aca gca gcc agt acc cct 1038
 Ser Val Glu Glu Val Val Arg Val Pro Thr Thr Ala Ala Ser Thr Pro.
 285 290 295

gat gcc gtt gac aag tat ctc gag aca cct ggg gat gag aat gaa cat 1086
 Asp Ala Val Asp Lys Tyr Leu Glu Thr Pro Gly Asp Glu Asn Glu His
 300 305 310

gcc cat ttc cag aaa gcc aaa gag agg ctt gag gcc aag cac cga gag 1134
 Ala His Phe Gln Lys Ala Lys Glu Arg Leu Glu Ala Lys His Arg Glu
 315 320 325

aga atg tcc cag gtc atg aga gaa tgg gaa gag gca gaa cgt caa gca 1182
 Arg Met Ser Gln Val Met Arg Glu Trp Glu Glu Ala Glu Arg Gln Ala
 330 335 340 345

aag aac ttg cct aaa gct gat aag aag gca gtt atc cag cat ttc cag 1230
 Lys Asn Leu Pro Lys Ala Asp Lys Lys Ala Val Ile Gln His Phe Gln
 350 355 360

gag aaa gtg gaa tct ttg gaa cag gaa gca gcc aac gag aga cag cag 1278
 Glu Lys Val Glu Ser Leu Glu Gln Glu Ala Ala Asn Glu Arg Gln Gln
 365 370 375

ctg gtg gag aca cac atg gcc aga gtg gaa gcc atg ctc aat gac cgc 1326
 Leu Val Glu Thr His Met Ala Arg Val Glu Ala Met Leu Asn Asp Arg
 380 385 390

cgc cgc ctg gcc ctg gag aac tac atc acc gct ctg cag gct gtt cct 1374
 Arg Arg Leu Ala Leu Glu Asn Tyr Ile Thr Ala Leu Gln Ala Val Pro
 395 400 405

cct cgg cct cgt cac gtg ttc aat atg cta aag aag tat gtc cgc gca 1422
 Pro Arg Pro Arg His Val Phe Asn Met Leu Lys Lys Tyr Val Arg Ala
 410 415 420 425

gaa cag aag gac aga cag cac acc cta aag cat ttc gag cat gtg cgc 1470
 Glu Gln Lys Asp Arg Gln His Thr Leu Lys His Phe Glu His Val Arg
 430 435 440

atg gtg gat ccc aag aaa gcc gct cag atc cgg tcc cag gtt atg aca 1518
 Met Val Asp Pro Lys Lys Ala Ala Gln Ile Arg Ser Gln Val Met Thr
 445 450 455

cac ctc cgt gtg att tat gag cgc atg aat cag tct ctc tcc ctg ctc 1566
 His Leu Arg Val Ile Tyr Glu Arg Met Asn Gln Ser Leu Ser Leu Leu
 460 465 470

tac aac gtg cct gca gtg gcc gag gag att cag gat gaa gtt gat gag 1614

Tyr Asn Val Pro Ala Val Ala Glu Glu Ile Gln Asp Glu Val Asp Glu
 475 480 485

 ctg ctt cag aaa gag caa aac tat tca gat gac gtc ttg gcc aac atg 1662
 Leu Leu Gln Lys Glu Gln Asn Tyr Ser Asp Asp Val Leu Ala Asn Met
 490 495 500 505

 att agt gaa cca agg atc agt tac gga aac gat gct ctc atg cca tct 1710
 Ile Ser Glu Pro Arg Ile Ser Tyr Gly Asn Asp Ala Leu Met Pro Ser
 510 515 520

 ttg acc gaa acg aaa acc acc gtg gag ctc ctt ccc gtg aat gga gag 1758
 Leu Thr Glu Thr Lys Thr Thr Val Glu Leu Leu Pro Val Asn Gly Glu
 525 530 535

 ttc agc ctg gac gat ctc cag ccg tgg cat tct ttt ggg gct gac tct 1806
 Phe Ser Leu Asp Asp Leu Gln Pro Trp His Ser Phe Gly Ala Asp Ser
 540 545 550

 gtg cca gcc aac aca gaa aac gaa gtt gag cct gtt gat gcc cgc cct 1854
 Val Pro Ala Asn Thr Glu Asn Glu Val Glu Pro Val Asp Ala Arg Pro
 555 560 565

 gct gcc gac cga gga ctg acc act cga cca ggt tct ggg ttg aca aat 1902
 Ala Ala Asp Arg Gly Leu Thr Thr Arg Pro Gly Ser Gly Leu Thr Asn
 570 575 580 585

 atc aag acg gag gag atc tct gaa gtg aag atg gat gca gaa ttc cga 1950
 Ile Lys Thr Glu Glu Ile Ser Glu Val Lys Met Asp Ala Glu Phe Arg
 590 595 600

 cat gac tca gga tat gaa gtt cat cat caa aaa ttg gtg ttc ttt gca 1998
 His Asp Ser Gly Tyr Glu Val His His Gln Lys Leu Val Phe Phe Ala
 605 610 615

 gaa gat gtg ggt tca aac aaa ggt gca atc att gga ctc atg gtg ggc 2046
 Glu Asp Val Gly Ser Asn Lys Gly Ala Ile Ile Gly Leu Met Val Gly
 620 625 630

 ggt gtt gtc ata gcg aca gtg atc gtc atc acc ttg gtg atg ctg aag 2094
 Gly Val Val Ile Ala Thr Val Ile Val Ile Thr Leu Val Met Leu Lys
 635 640 645

 aag aaa cag tac aca tcc att cat cat ggt gtg gtg gag gtt gac gcc 2142
 Lys Lys Gln Tyr Thr Ser Ile His His Gly Val Val Glu Val Asp Ala
 650 655 660 665

 gct gtc acc cca gag gag cgc cac ctg tcc aag atg cag cag aac ggc 2190
 Ala Val Thr Pro Glu Glu Arg His Leu Ser Lys Met Gln Gln Asn Gly

670	675	680	
tac gaa aat cca acc tac aag ttc ttt gag cag atg cag aac tag			2235
Tyr Glu Asn Pro Thr Tyr Lys Phe Phe Glu Gln Met Gln Asn			
685	690	695	
acccccgcca cagcagcctc tgaagtggga cagcaaaacc attgcttcac taccatcgg			2295
tgtccattta tagaataatg tgggaagaaa caaacccgtt ttatgattta ctattatcg			2355
ccttttgaca gctgtgctgt aacacaagta gatgcctgaa cttgaattaa tccacacatc			2415
agtaatgtat tctatctctc tttacatfff ggtctctata ctacattatt aatgggtfff			2475
gtgtactgta aagaatttag ctgtatcaaa ctagtcatg aatagattct ctctgatta			2535
tttatcacat agccccttag ccagttgtat attattcttg tggtttgta cccaattaag			2595
tctacttta catatgcttt aagaatcgat ggggatgct tcatgtgaac gtgggagttc			2655
agctgcttct cttgcctaag tattcctttc ctgatcacta tgcattttaa agttaacat			2715
ttttaagtat ttcagatgct ttagagagat ttttttcca tgactgcatt ttactgtaca			2775
gattgctgct tctgctatat ttgtgatata ggaattaaga ggatacacac gtttgtttct			2835
tcgtgcctgt tttatgtgca cacattaggc attgagactt caagcttttc tttttttgc			2895
cacgatatct tgggtctttg ataaagaaaa gaatccctgt tcattgtaag cacttttacg			2955
gggcgggtgg ggaggggtgc tctgctggtc ttcaattacc aagaattctc caaacaatt			3015
ttctgcagga tgattgtaca gaatcattgc ttatgacatg atcgctttct acactgtatt			3075
acataaataa attaaataaa ataaccocgg gcaagacttt tctttgaagg atgactacag			3135
acattaata atcgaagtaa ttttgggtgg ggagaagagg cagattcaat tttctttac			3195
cagtctgaag tttcatttat gatacaaaag aagatgaaaa tggaagtggc aatataaggg			3255
gatgaggaag gcatgcctgg acaaaccctt cttttaagat gtgtcttcaa tttgtataa			3315
atggtgtfff catgtaata aatacattct tggaggagc			3354

<210> 10

<211> 695

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 10

Met Leu Pro Gly Leu Ala Leu Leu Leu Leu Ala Ala Trp Thr Ala Arg
 1 5 10 15

Ala Leu Glu Val Pro Thr Asp Gly Asn Ala Gly Leu Leu Ala Glu Pro
 20 25 30

Gln Ile Ala Met Phe Cys Gly Arg Leu Asn Met His Met Asn Val Gln
 35 40 45

Asn Gly Lys Trp Asp Ser Asp Pro Ser Gly Thr Lys Thr Cys Ile Asp
 50 55 60

Thr Lys Glu Gly Ile Leu Gln Tyr Cys Gln Glu Val Tyr Pro Glu Leu
 65 70 75 80

Gln Ile Thr Asn Val Val Glu Ala Asn Gln Pro Val Thr Ile Gln Asn
 85 90 95

Trp Cys Lys Arg Gly Arg Lys Gln Cys Lys Thr His Pro His Phe Val
 100 105 110

Ile Pro Tyr Arg Cys Leu Val Gly Glu Phe Val Ser Asp Ala Leu Leu
 115 120 125

Val Pro Asp Lys Cys Lys Phe Leu His Gln Glu Arg Met Asp Val Cys
 130 135 140

Glu Thr His Leu His Trp His Thr Val Ala Lys Glu Thr Cys Ser Glu
 145 150 155 160

Lys Ser Thr Asn Leu His Asp Tyr Gly Met Leu Leu Pro Cys Gly Ile
 165 170 175

Asp Lys Phe Arg Gly Val Glu Phe Val Cys Cys Pro Leu Ala Glu Glu
 180 185 190

Ser Asp Asn Val Asp Ser Ala Asp Ala Glu Glu Asp Asp Ser Asp Val
 195 200 205

Trp Trp Gly Gly Ala Asp Thr Asp Tyr Ala Asp Gly Ser Glu Asp Lys
 210 215 220

Val Val Glu Val Ala Glu Glu Glu Glu Val Ala Glu Val Glu Glu Glu
 225 230 235 240

Glu Ala Asp Asp Asp Glu Asp Asp Glu Asp Gly Asp Glu Val Glu Glu
 245 250 255

Glu Ala Glu Glu Pro Tyr Glu Glu Ala Thr Glu Arg Thr Thr Ser Ile
 260 265 270

Ala Thr Thr Thr Thr Thr Thr Thr Glu Ser Val Glu Glu Val Val Arg
 275 280 285

Val Pro Thr Thr Ala Ala Ser Thr Pro Asp Ala Val Asp Lys Tyr Leu
 290 295 300

Glu Thr Pro Gly Asp Glu Asn Glu His Ala His Phe Gln Lys Ala Lys
 305 310 315 320

Glu Arg Leu Glu Ala Lys His Arg Glu Arg Met Ser Gln Val Met Arg
 325 330 335

Glu Trp Glu Glu Ala Glu Arg Gln Ala Lys Asn Leu Pro Lys Ala Asp
 340 345 350

Lys Lys Ala Val Ile Gln His Phe Gln Glu Lys Val Glu Ser Leu Glu
 355 360 365

Gln Glu Ala Ala Asn Glu Arg Gln Gln Leu Val Glu Thr His Met Ala
 370 375 380

Arg Val Glu Ala Met Leu Asn Asp Arg Arg Arg Leu Ala Leu Glu Asn
 385 390 395 400

Tyr Ile Thr Ala Leu Gln Ala Val Pro Pro Arg Pro Arg His Val Phe
 405 410 415

Asn Met Leu Lys Lys Tyr Val Arg Ala Glu Gln Lys Asp Arg Gln His
 420 425 430

Thr Leu Lys His Phe Glu His Val Arg Met Val Asp Pro Lys Lys Ala
 435 440 445

Ala Gln Ile Arg Ser Gln Val Met Thr His Leu Arg Val Ile Tyr Glu
 450 455 460

Arg Met Asn Gln Ser Leu Ser Leu Leu Tyr Asn Val Pro Ala Val Ala
 465 470 475 480

Glu Glu Ile Gln Asp Glu Val Asp Glu Leu Leu Gln Lys Glu Gln Asn
 485 490 495

Tyr Ser Asp Asp Val Leu Ala Asn Met Ile Ser Glu Pro Arg Ile Ser
 500 505 510

Tyr Gly Asn Asp Ala Leu Met Pro Ser Leu Thr Glu Thr Lys Thr Thr
 515 520 525

Val Glu Leu Leu Pro Val Asn Gly Glu Phe Ser Leu Asp Asp Leu Gln
 530 535 540

Pro Trp His Ser Phe Gly Ala Asp Ser Val Pro Ala Asn Thr Glu Asn
 545 550 555 560

Glu Val Glu Pro Val Asp Ala Arg Pro Ala Ala Asp Arg Gly Leu Thr
 565 570 575

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

Glu Val Lys Met Asp Ala Glu Phe Arg His Asp Ser Gly Tyr Glu Val
595 600 605

His His Gln Lys Leu Val Phe Phe Ala Glu Asp Val Gly Ser Asn Lys
610 615 620

Gly Ala Ile Ile Gly Leu Met Val Gly Gly Val Val Ile Ala Thr Val
625 630 635 640

Ile Val Ile Thr Leu Val Met Leu Lys Lys Lys Gln Tyr Thr Ser Ile
645 650 655

His His Gly Val Val Glu Val Asp Ala Ala Val Thr Pro Glu Glu Arg
660 665 670

His Leu Ser Lys Met Gln Gln Asn Gly Tyr Glu Asn Pro Thr Tyr Lys
675 680 685

Phe Phe Glu Gln Met Gln Asn
690 695

- <210> 11
- <211> 2479
- <212> DNA
- <213> Homo sapiens

- <220>
- <221> CDS
- <222> (97)..(858)

<400> 11
ccccctggc cccgcgcgtc gctgtcctc cgagccagtc gctgacagcc gcggcgcgcg 60

gagcttctcc tctcctcag accgagagca gtcatt atg gcg aac ctt ggc tgc 114
Met Ala Asn Leu Gly Cys
1 5

tgg atg ctg gtt ctc ttt gtg gcc aca tgg agt gac ctg ggc ctc tgc 162
 Trp Met Leu Val Leu Phe Val Ala Thr Trp Ser Asp Leu Gly Leu Cys
 10 15 20

aag aag cgc ccg aag cct gga gga tgg aac act ggg ggc agc cga tac 210
 Lys Lys Arg Pro Lys Pro Gly Gly Trp Asn Thr Gly Gly Ser Arg Tyr
 25 30 35

ccg ggg cag ggc agc cct gga ggc aac cgc tac cca cct cag ggc ggt 258
 Pro Gly Gln Gly Ser Pro Gly Gly Asn Arg Tyr Pro Pro Gln Gly Gly
 40 45 50

ggt ggc tgg ggg cag cct cat ggt ggt ggc tgg ggg cag cct cat ggt 306
 Gly Gly Trp Gly Gln Pro His Gly Gly Gly Trp Gly Gln Pro His Gly
 55 60 65 70

ggt ggc tgg ggg cag ccc cat ggt ggt ggc tgg gga cag cct cat ggt 354
 Gly Gly Trp Gly Gln Pro His Gly Gly Gly Trp Gly Gln Pro His Gly
 75 80 85

ggt ggc tgg ggt caa gga ggt ggc acc cac agt cag tgg aac aag ccg 402
 Gly Gly Trp Gly Gln Gly Gly Gly Thr His Ser Gln Trp Asn Lys Pro
 90 95 100

agt aag cca aaa acc aac atg aag cac atg gct ggt gct gca gca gct 450
 Ser Lys Pro Lys Thr Asn Met Lys His Met Ala Gly Ala Ala Ala Ala
 105 110 115

ggg gca gtg gtg ggg ggc ctt ggc ggc tac atg ctg gga agt gcc atg 498
 Gly Ala Val Val Gly Gly Leu Gly Gly Tyr Met Leu Gly Ser Ala Met
 120 125 130

agc agg ccc atc ata cat ttc ggc agt gac tat gag gac cgt tac tat 546
 Ser Arg Pro Ile Ile His Phe Gly Ser Asp Tyr Glu Asp Arg Tyr Tyr
 135 140 145 150

cgt gaa aac atg cac cgt tac ccc aac caa gtg tac tac agg ccc atg 594
 Arg Glu Asn Met His Arg Tyr Pro Asn Gln Val Tyr Tyr Arg Pro Met
 155 160 165

gat gag tac agc aac cag aac aac ttt gtg cac gac tgc gtc aat atc 642
 Asp Glu Tyr Ser Asn Gln Asn Asn Phe Val His Asp Cys Val Asn Ile
 170 175 180

aca atc aag cag cac acg gtc acc aca acc acc aag ggg gag aac ttc 690
 Thr Ile Lys Gln His Thr Val Thr Thr Thr Thr Lys Gly Glu Asn Phe
 185 190 195

acc gag acc gac gtt aag atg atg gag cgc gtg gtt gag cag atg tgt 738

Thr Glu Thr Asp Val Lys Met Met Glu Arg Val Val Glu Gln Met Cys
200 205 210

atc acc cag tac gag agg gaa tct cag gcc tat tac cag aga gga tcg 786
Ile Thr Gln Tyr Glu Arg Glu Ser Gln Ala Tyr Tyr Gln Arg Gly Ser
215 220 225 230

agc atg gtc ctc ttc tcc tct cca cct gtg atc ctc ctg atc tct ttc 834
Ser Met Val Leu Phe Ser Ser Pro Pro Val Ile Leu Leu Ile Ser Phe
235 240 245

ctc atc ttc ctg ata gtg gga tga ggaaggtcct cctgttttca ccatctttct 888
Leu Ile Phe Leu Ile Val Gly
250

aatctttttc cagcttgagg gaggcggtat ccacctgcag cccttttagt ggtggtgtct 948

cactctttct tctctctttg tcccggatag gctaatcaat acccttgcca ctgatggcca 1008

ctggaaaaca tagagtagac ctgagatgct ggtcaagccc cctttgattg agttcatcat 1068

gagccgttgc taatgccagg ccagtaaaag tataacagca aataaccatt ggtaaatctg 1128

gacttatttt tggacttagt gcaacaggtt gaggctaaaa caaatctcag aacagtctga 1188

aatacctttg cctggatacc tctggctcct tcagcagcta gagctcagta tactaatgcc 1248

ctatcttagt agagatttca tagctattta gagatatttt ccattttaag aaaacccgac 1308

aacatttctg ccaggtttgt taggaggcca catgatactt attcaaaaa atcctagaga 1368

ttcttagctc ttgggatgca ggctcagccc gctggagcat gagctctgtg tgtaccgaga 1428

actgggggtga tgttttactt ttcacagtat gggctacaca gcagctgttc aacaagagta 1488

aatattgtca caaactgaa cctctggcta gaggacatat tcacagtgaa cataactgta 1548

acatatatga aaggcttctg ggacttgaaa tcaaatgttt gggaatggtg cccttgagg 1608

caacctcca ttttagatgt ttaaaggacc ctatatgtgg cattccttc tttaaactat 1668

aghtaattaa ggcagctgaa aagtaaattg ccttctagac actgaaggca aatctccttt 1728

gtccatttac ctggaaacca gaatgatttt gacatacagg agagctgcag ttgtgaaagc 1788

accatcatca tagaggatga tgtaattaaa aatggtcag tgtcaaaga aaagaactgc 1848

ttgcatttct ttatttctgt ctcataattg tcaaaaacca gaattagtc aagttcatag 1908

tttctgtaat tggcttttga atcaaagaat agggagacaa tctaaaaaat atcttaggtt 1968
 ggagatgaca gaaatatgat tgatttgaag tggaaaaaga aattctgtta atgttaatta 2028
 aagtaaaatt attccctgaa ttgtttgata ttgtcaccta gcagatatgt attacttttc 2088
 tgcaatgta ttattggcct gcactttgtg agtattctat gtaaaaatat atatgtatat 2148
 aaaatatata ttgcatagga cagacttagg agttttgttt agagcagtta acatctgaag 2208
 tgtctaagtc attaactttt gtaaggtaact gaactactaa tatgtgggaa acccttttgc 2268
 gtggtcctta ggcttaaat gtgcactgaa tegtctcatg taagaatcca aagtggacac 2328
 cattaacagg tctttgaaat atgcatgtac tttatatttt ctatatttgt aactttgcat 2388
 gttcttgttt tgttatataa aaaaattgta aatgtttaat atctgactga aattaaacga 2448
 gcgaagatga gcaccaaaaa aaaaaaaaaa a 2479

<210> 12
 <211> 253
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 12

Met Ala Asn Leu Gly Cys Trp Met Leu Val Leu Phe Val Ala Thr Trp
 1 5 10 15

Ser Asp Leu Gly Leu Cys Lys Lys Arg Pro Lys Pro Gly Gly Trp Asn
 20 25 30

Thr Gly Gly Ser Arg Tyr Pro Gly Gln Gly Ser Pro Gly Gly Asn Arg
 35 40 45

Tyr Pro Pro Gln Gly Gly Gly Gly Trp Gly Gln Pro His Gly Gly Gly
 50 55 60

Trp Gly Gln Pro His Gly Gly Gly Trp Gly Gln Pro His Gly Gly Gly
 65 70 75 80

Trp Gly Gln Pro His Gly Gly Gly Trp Gly Gln Gly Gly Gly Thr His

	85		90		95										
Ser	Gln	Trp	Asn	Lys	Pro	Ser	Lys	Pro	Lys	Thr	Asn	Met	Lys	His	Met
			100					105					110		
Ala	Gly	Ala	Ala	Ala	Ala	Gly	Ala	Val	Val	Gly	Gly	Leu	Gly	Gly	Tyr
			115					120					125		
Met	Leu	Gly	Ser	Ala	Met	Ser	Arg	Pro	Ile	Ile	His	Phe	Gly	Ser	Asp
			130					135					140		
Tyr	Glu	Asp	Arg	Tyr	Tyr	Arg	Glu	Asn	Met	His	Arg	Tyr	Pro	Asn	Gln
			145					150				155			160
Val	Tyr	Tyr	Arg	Pro	Met	Asp	Glu	Tyr	Ser	Asn	Gln	Asn	Asn	Phe	Val
				165							170				175
His	Asp	Cys	Val	Asn	Ile	Thr	Ile	Lys	Gln	His	Thr	Val	Thr	Thr	Thr
			180						185						190
Thr	Lys	Gly	Glu	Asn	Phe	Thr	Glu	Thr	Asp	Val	Lys	Met	Met	Glu	Arg
			195						200					205	
Val	Val	Glu	Gln	Met	Cys	Ile	Thr	Gln	Tyr	Glu	Arg	Glu	Ser	Gln	Ala
			210						215					220	
Tyr	Tyr	Gln	Arg	Gly	Ser	Ser	Met	Val	Leu	Phe	Ser	Ser	Pro	Pro	Val
			225						230				235		240
Ile	Leu	Leu	Ile	Ser	Phe	Leu	Ile	Phe	Leu	Ile	Val	Gly			
			245						250						

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2006/324786

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
C12N15/00(2006.01) i, C12N5/10(2006.01) i, C12N15/09(2006.01) i, C12Q1/02(2006.01) i

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
 C12N15/00, C12N5/10, C12N15/09, C12Q1/02

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
 BIOSIS/MEDLINE/WPIDS (STN), JMEDPlus (JDream2), JSTPlus (JDream2)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	STEFANOVA N. et al., Glia cell death induced by overexpression of alpha-synuclein, J. Neurosci. Res., 2001, Vol.65, No.5, pages 432 to 438	1-12
Y	TABRIZI S.J. et al., Expression of mutant α -synuclein causes increased susceptibility to dopamine toxicity, Human Mol. Genet., 2000, Vol.9, No.18, pages 2683 to 2689	1-12
Y	JP 2004-538013 A (The Regents of the University of California), 24 December, 2004 (24.12.04), & WO 2003/015507 A1 & EP 1420635 A1	1-12

Further documents are listed in the continuation of Box C. See patent family annex.

* Special categories of cited documents:	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date	"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	"&" document member of the same patent family
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	

Date of the actual completion of the international search 11 January, 2007 (11.01.07)	Date of mailing of the international search report 30 January, 2007 (30.01.07)
--	---

Name and mailing address of the ISA/ Japanese Patent Office	Authorized officer
Facsimile No.	Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2006/324786

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	JP 11-239488 A (The University Court of the University of St Andrews), 07 September, 1999 (07.09.99), & EP 908727 A1	1-12
A	Masami MASUDA et al., "α-Synuclein Sen'ika Sogaizai no Tansaku to Sogai Kiko", Nippon Chiho Gakkaishi, 15 August, 2005 (15.08.05), Vol.19, No.2, page 168, III-C1	1-12
A	TANIGUCHI S. et al., Inhibition of heparin-induced tau filament formation by phenothiazines, polyphenols, and porphyrins, J. Biol. Chem., 2005.03.04, Vol.280, No.9, pages 7614 to 7623	1-12

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC)) Int.Cl. C12N15/00(2006.01)i, C12N5/10(2006.01)i, C12N15/09(2006.01)i, C12Q1/02(2006.01)i		
B. 調査を行った分野 調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC)) Int.Cl. C12N15/00, C12N5/10, C12N15/09, C12Q1/02		
最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの		
国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語) BIOSIS/MEDLINE/WPIDS(STN), JMEDPlus(JDream2), JSTPlus(JDream2)		
C. 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
X	STEFANOVA N. et al., Glia cell death induced by overexpression of alpha-synuclein, J. Neurosci. Res., 2001, Vol.65, No.5, pages 432 to 438	1-12
Y	TABRIZI S.J. et al., Expression of mutant α -synuclein causes increased susceptibility to dopamine toxicity, Human Mol. Genet., 2000, Vol.9, No.18, pages 2683 to 2689	1-12
<input checked="" type="checkbox"/> C欄の続きにも文献が列挙されている。 <input type="checkbox"/> パテントファミリーに関する別紙を参照。		
* 引用文献のカテゴリー 「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの 「E」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの 「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す) 「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献 「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願日の後に公表された文献 「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの 「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの 「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの 「&」同一パテントファミリー文献		
国際調査を完了した日 11.01.2007	国際調査報告の発送日 30.01.2007	
国際調査機関の名称及びあて先 日本国特許庁 (ISA/J P) 郵便番号100-8915 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号	特許庁審査官 (権限のある職員) 森井 隆信 電話番号 03-3581-1101 内線 3448	4B 9455

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
Y	JP 2004-538013 A (ザ リージェンツ オブ ザ ユニヴァーステ ィ オブ カリフォルニア) 2004.12.24 & WO 2003/015507 A1 & EP 1420635 A1	1-12
Y	JP 11-239488 A (ザ ユニバーシティ コート オブ ザ ユニバ ーシティ オブ セント アンドリュース) 1999.09.07 & EP 908727 A1	1-12
A	増田雅美 外, α シヌクレイン線維化阻害剤の探索と阻害機構, 日本痴呆学会誌, 2005.08.15, Vol.19, No.2, page 168, III-C1	1-12
A	TANIGUCHI S. et al., Inhibition of heparin-induced tau filament formation by phenothiazines, polyphenols, and porphyrins, J. Biol. Chem., 2005.03.04, Vol.280, No.9, pages 7614 to 7623	1-12