

[19] 中华人民共和国国家知识产权局



[12] 发明专利申请公布说明书

[21] 申请号 200780048641.2

[51] Int. Cl.

A61K 38/16 (2006.01)

A61K 38/18 (2006.01)

A61K 38/19 (2006.01)

A61K 38/22 (2006.01)

A61F 13/00 (2006.01)

A61F 2/28 (2006.01)

[43] 公开日 2009 年 11 月 4 日

[11] 公开号 CN 101573132A

[51] Int. Cl. (续)

A61F 2/44 (2006.01)

[22] 申请日 2007.11.5

[21] 申请号 200780048641.2

[30] 优先权

[32] 2006.11.7 [33] US [31] 11/594,510

[86] 国际申请 PCT/US2007/083655 2007.11.5

[87] 国际公布 WO2008/073631 英 2008.6.19

[85] 进入国家阶段日期 2009.6.29

[71] 申请人 加利福尼亚大学校务委员会

地址 美国加州

[72] 发明人 淦·丁 本·吴 加璐·苏

[74] 专利代理机构 上海天翔知识产权代理有限公司

代理人 刘粉宝

权利要求书 4 页 说明书 29 页 序列表 31 页
附图 11 页

[54] 发明名称

用于软骨的组合物

[57] 摘要

本发明提供用于软骨形成或再生的组合物。

1. 一种促进软骨形成或修复的组合物, 包含一 NELL 肽或一 NELL 相关药剂, 其中所述 NELL 肽或 NELL 相关药剂的剂量能有效地促进软骨形成或修复。
2. 如权利要求 1 所述的组合物, 其中所述 NELL 肽是一 NELL1 肽。
3. 如权利要求 1 所述的组合物, 其中所述 NELL 相关药剂是一 NELL 基因产物。
4. 如权利要求 1 所述的组合物, 进一步包含第二种药剂。
5. 如权利要求 1 所述的组合物, 进一步包含第二种药剂, 所述药剂选自下列组包括: 软骨保护剂、止痛剂及/或抗炎剂、生长因子、细胞因子、小分子、抗血管发生因子及其混合物。
6. 如权利要求 1 所述的组合物, 进一步包含一可药用的载体。
7. 如权利要求 4 所述的组合物, 进一步包含一可药用的载体。
8. 如权利要求 1 所述的组合物, 进一步包含一包括一化学凝胶、一物理凝胶、一互穿网络或一交联剂的材料。
9. 如权利要求 1 所述的组合物是一可注射或可塑的制剂, 开始施用在人体身体部分的一位点上。
10. 如权利要求 1 所述的组合物, 进一步包含一在应答刺激时降解或释放 NELL 肽或 NELL 相关药剂的材料。
11. 如权利要求 10 所述的组合物, 其中, 所述刺激选自: 机械刺激、光、电磁场或温度变化、pH 变化、离子强度变化。
12. 如权利要求 1 所述的组合物, 进一步包含一骨软骨祖细胞。
13. 如权利要求 1 所述的组合物, 进一步包含一骨软骨祖细胞, 所述细胞选自: 间质细胞、胎儿胚胎细胞、干细胞、骨髓细胞、脂肪干细胞、成纤维细胞或其混合物。
14. 如权利要求 1 所述的组合物, 进一步包含一软骨形成细胞。
15. 如权利要求 1 所述的组合物, 其中, 软骨形成或修复是透明软骨或气管软骨、弹性软骨或纤维软骨的形成或修复。
16. 如权利要求 1 所述的组合物按配方配制成一装置。
17. 如权利要求 1 所述的组合物, 其中, 所述 NELL 肽或 NELL 相关药剂的剂量是能够有效治疗、防止或改善软骨相关疾病的剂量。
18. 如权利要求 17 所述的组合物, 其中, 所软骨相关疾病是指各种关节病、各种关节炎、各种关节内部软骨紊乱或脊柱关节和盘-相关疾病。

19. 一种应用在人体中的移植物，包含一具有表面的底物，其中所述表面的至少一部分包含如权利要求 1 所述的组合物。

20. 一种应用在人体中的移植物，包含一具有表面的底物，其中所述表面的至少一部分包含如权利要求 4 所述的组合物。

21. 一种应用在人体中的移植物，包含一具有表面的底物，其中所述表面的至少一部分包含如权利要求 5 所述的组合物。

22. 一种应用在人体中的移植物，包含一具有表面的底物，其中所述表面的至少一部分包含如权利要求 6 所述的组合物。

23. 一种应用在人体中的移植物，包含一具有表面的底物，其中所述表面的至少一部分包含如权利要求 7 所述的组合物。

24. 一种应用在人体中的移植物，包含一具有表面的底物，其中所述表面的至少一部分包含如权利要求 12 所述的组合物。

25. 如权利要求 19 所述的移植物，其中所述底物是可吸收的。

26. 如权利要求 19 所述的移植物，其中所述底物含有胶原。

27. 如权利要求 20 所述的移植物，其中所述底物是可吸收的。

28. 如权利要求 20 所述的移植物，其中所述底物含有胶原。

29. 如权利要求 19 所述的移植物，其选自下列装置包括：

一包含 NELL 蛋白的具有或不具有细胞的可以直接注入或植入椎间盘以促进软骨形成的可注射或可移植装置；

一用 NELL 浸透的椎间盘核置换装置，其是设计用来置换所述椎间盘的内部或所述椎间盘的内部和外部；

一包含 NELL 的具有或不具有细胞的可以直接注入或植入各种关节腔或通过关节镜植入或直接植入各种关节腔的可注射/可移植装置；

一包含 NELL 核酸的具有或不具有载体的、具有或不具有细胞的可直接注入或植入椎间盘以促进软骨形成的可注射/可移植装置；

一用 NELL 核酸浸透的椎间盘核置换装置，其是设计用来置换所述椎间盘的内部或所述椎间盘的内部和外部；

一包含 NELL 核酸的、具有或不具有载体的、具有或不具有细胞的可直接注入各种关节腔或通过关节镜植入或直接植入各种关节腔的可注射/可移植装置；

一包含 NELL 蛋白的、具有或不具有细胞及其它因子的可以直接注入或植入椎间盘以促进软骨形成的可注射/可移植装置；

一用 NELL 及其它因子浸透的椎间盘核置换装置，其是设计用来置换所述椎间盘的内部或所述椎间盘的内部和外部；

一包含 NELL 及其它因子的、具有或不具有细胞的可直接注入各种关节腔或通过关节镜植入或直接植入各种关节腔的可注射/可移植装置；

一包含 NELL 核酸及其它因子的、具有或不具有载体的、具有或不具有细胞的可直接注入或植入椎间盘以促进软骨形成的可注射/可移植装置；

一用 NELL 核酸浸透的具有或不具有载体的椎间盘核置换装置，其是设计用来置换所述椎间盘的内部或所述椎间盘的内部和外部；或

一包含 NELL 核酸的、具有或不具有载体的、具有或不具有细胞的可直接注入各种关节腔或通过关节镜植入或直接植入各种关节腔的可注射/可移植装置。

30. 一种增强软骨形成或修复的方法，包括：

在需要软骨形成或修复的区域增加 NELL 基因产物的浓度；

在需要软骨形成或修复的区域任选地施用药剂；

在需要软骨形成或修复的区域至少诱导成软骨细胞肥大。

31. 如权利要求 30 所述的方法，其中软骨形成或修复包括骨愈合或骨再生。

32. 如权利要求 30 所述的方法，其中所述增加 NELL1 基因产物浓度的方法包括在需要软骨形成或修复的区域施用一 NELL 肽或一 NELL 相关药剂。

33. 如权利要求 30 所述的方法，其中所述药剂是选自：软骨保护剂、止痛剂和/或抗炎剂、生长因子、细胞因子、小分子、抗血管发生因子或其混合物。

34. 如权利要求 30 所述的方法，其中所述药剂是选自：胶原、骨基质、韧带基质、腱基质、软骨形成细胞或骨软骨祖细胞。

35. 一种治疗、预防或改善软骨相关疾病的方法，包括在哺乳动物受试者的部位施用如权利要求 1 所述的组合物。

36. 一种治疗、预防或改善软骨相关疾病的方法，包括在哺乳动物受试者的部位施用如权利要求 4 所述的组合物。

37. 一种治疗、预防或改善软骨相关疾病的方法，包括在哺乳动物受试者的部位施用如权利要求 19 所述的移植物。

38. 一种治疗、预防或改善软骨相关疾病的方法，包括在哺乳动物受试者的部位施用如权利要求 21 所述的移植物。

用于软骨的组合物

关于在联邦政府资助研发下所得发明的权利声明

本研究部分地由 NIH/NIDR 基金号 DE9400 和 CRC/NIH 基金号 RR00865、NIH/NIDCR RO3 DE014649-01、NIH/NIDCR K23DE00422、NIH DE016107-01 和 NIH/SBIR R43-DE016781-01 支持。美国政府在本发明中可享有一定权利。

与相关申请的相互参考

本申请为 2005 年 9 月 28 日申请的美国申请序列号为 10/527,786（是 2003 年 9 月 15 日申请的 PCT/US2003/29281 的国际申请的美国国家阶段，其要求 2002 年 9 月 13 日申请的美国临时专利申请号 60/410,846 为优先权）的部分连续申请。本申请也是 2005 年 8 月 5 日的美国申请序列号 10/544,553（是 2004 年 2 月 9 日申请的 PCT/US2004/003808 的 PCT 申请的美国国家阶段，其要求 2003 年 7 月 2 日申请的美国临时申请号 60/445,672 和 2003 年 10 月 15 日申请的 PCT/US2003/29281 为优先权，其内容被以引用方式并入本文中）的部分连续申请。本申请也是 2005 年 2 月 16 日申请的国际申请号 PCT/US2006/005473（其要求 2005 年 2 月 16 日申请的美国临时申请号 60/653,722 为优先权）的部分连续申请。本申请也为 2006 年 3 月 28 日申请的美国申请号 11/392,294（其为 1999 年 10 月 5 日申请的美国申请号 09/912,297（授予美国专利号 7,052,856）的连续申请）的部分连续申请。所有所述共同待决申请的内容在此以引用方式并入本文中。

发明领域

本发明涉及用于软骨形成或再生的组合物。

发明背景

生长因子为诸如肽的物质，这些物质在体内或体外影响特定细胞群的生长和分化。

软骨是一种致密结缔组织。它由分布于牢固的凝胶状基质中的软骨细胞组成。软骨是没有血管的（不含有血管），营养素通过所述基质扩散。软骨存在于关节、胸廓、耳、鼻、咽

喉以及椎间盘之间。软骨有三种主要的类型：透明软骨（例如，肋软骨、鼻软骨、气管软骨和支气管软骨、以及关节处的关节软骨），弹性软骨（例如，外耳、外耳道、部分咽鼓管、会厌以及一些喉软骨），以及纤维软骨[例如，半月板（例如，腕三角纤维软骨复合体、膝半月板）、椎间盘、颞下颌关节盘、耻骨联合，以及一些与骨连接的腱和韧带]。软骨的主要功能之一是提供一可在其上开始发生骨沉积（例如在软骨内骨化期间）的结构。软骨的另一个重要功能是提供光滑面适于关节骨活动。例如，关节软骨（主要在膝关节处发现）通常的特点为：极低的摩擦力、高耐磨性以及低再生性。其主要承受膝关节大部分的抗压力及负荷承载力，没有它的话，行走将是痛苦而不可能的。然而软骨的另一个重要功能是提供牢固且灵活的支架（例如，鼻软骨、脊椎盘、气管软骨、膝半月板、支气管软骨）。比方说，软骨（如所述半月板）在关节稳定、润滑以及力传递方面具有关键的作用。在重量载荷下，半月板可以保持股骨在胫骨上的平衡位置，并通过增大表面接触区域分散压力，从而将平均压力减少两到三倍。因外，半月板和关节液相互作用，以产生的摩擦系数是冰在冰上滑动时摩擦系数的五倍。在另一个实例中，椎间盘具有若干重要的功能，包括作为间隔物、减震器、以及运动单元的功能。椎间盘的凝胶状中央部分称为髓核。它含有 80-90%的水。所述核的固体部分为 II 型胶原和非聚集蛋白聚糖。环绕髓核的外部韧带环称为纤维环，其液压密封所述核，并允许当所述椎间盘载荷时增加椎间盘内压力。该环形物具有交叉的放射状带，类似于多层子午线轮胎，这使得扭转应力在正常载荷以及无断裂情况下通过该环分散。椎间盘的功能类似于液压缸。所述环和所述核相互作用。当所述核受压时，所述环纤维起抑制功能以防止所述核膨出或突出。

软骨会因磨损、损伤或疾病而受损。随着年龄的增长，人体软骨内水和蛋白质的含量会发生改变。该变化导致软骨变弱、易碎和变薄。骨关节炎是软骨障碍的常见条件之一，能导致关节活动范围受限、骨损伤和持久的疼痛。由于急性压力结合慢性疲劳，骨关节炎直接表现为关节表面磨损，严重时，骨头暴露在关节中。在另一实例中，保护的稳定的半月板的减少会导致增加的关节松弛或出现导致关节不稳定的异常活动。过度的活动和较窄的接触面会促进早期关节炎变化。在细胞水平上，最初是关节软骨浅层的细胞减少，随后是软骨裂解、接着是变薄和发生侵蚀，最后是下面得原骨突出。已知在整个半月板减少后三个星期，出现了最早的关节炎变化。然而在另一实例中，因为叠加在椎骨（关节面）上的椎间盘和关节部分地由软骨构成，这些区随着时间过去而将会被磨损（退行性变化）。由于内部核的脱水，椎间盘空间缩小，且多数的环状韧带突出。随着核脱水的不断进行，环状纤维出现裂缝并撕裂。

正常软组织张力的损失会使得脊髓节段半脱位（例如关节部分脱位），导致骨赘形成（骨刺）、孔收缩、力不稳定以及疼痛。如果环状纤维伸展或破裂，使得受压的核质膨出或突出并压迫神经组织，结果可能导致疼痛以及无力。该状况称为神经挟捏、椎间盘滑脱或椎间盘突出。神经根病指的是椎骨之间椎间盘损伤而引起的神经刺激。力学功能障碍同样也可能引起椎间盘退化以及疼痛（例如退化性椎间盘疾病）。例如使得所述椎间盘经受住施加于其的增加的压力的能力过载的一些外伤可损伤椎间盘，并可能会撕裂环状纤维的内部或外部部分。当这些撕裂状的纤维受到增加的压力时它们可能成为炎性应答的中心，还可能直接导致疼痛，或通过深层椎旁肌代偿保护的痉挛引起疼痛。

目前有若干不同的修复选择对软骨损伤或障碍有效。在美国骨关节炎是导致老年人群残疾的第二个主要原因。这是一种退化性障碍，通常开始时比较缓和，但随着时间增加而增强并磨损。对于那些经历过轻微到中度症状的患者，所述障碍可以通过若干非手术治疗方法治疗。已有证明应用支架和药物疗法，如消炎药物（不包括双氯芬酸、布洛芬以及萘普生）、COX-2 选择性抑制剂、氢化可的松、氨基葡萄糖以及硫酸软骨素，可以缓解软骨缺损引起的疼痛，并且有人声称它们能减缓退化过程。

大部分对于关节软骨的手术治疗（除了全关节置换术以外）都可以分为不同的治疗组。以终止炎症和疼痛为目的的消除所述病态和损伤的软骨的治疗方法包括切除法（软骨切除术）和清创术。另一组的治疗方法包括目的是促进软骨生成的一系列的磨蚀方法，例如钻孔、轻微骨折手术、软骨成形术以及 spongialization 疗法。磨蚀、钻孔和轻微骨折手术起源于 20 年前。它们的治疗依据是骨的软骨下板的血管损伤后软骨组织的自行修复现象。另一种类型由目前仍属实验性的激光辅助治疗法组成；它们将切除患病的软骨和软骨整形结合起来，并且也诱导软骨增生。另外的治疗方法包括自体软骨移植（例如：Carticel 由基因酶移植）。

其它的治疗方法（更适用于半月板软骨）包括在重度损伤情况下的早期外科手术以及撕裂状结构的缝修复或同种异体移植物半月板移植术。

尽管大多数的椎间盘突出和坐骨神经痛患者都没有使用外科手术治疗而治愈，如果外科手术是表示需要的，治疗方法包括采用椎板切开术切除脱出的椎间盘（在脊髓周围的脊柱骨上产生一小孔）、椎板切除术（切除神经组织附近的骨壁）、采用穿透皮肤的针穿刺技术（经皮椎间盘切除术），椎间盘溶解方法（化学髓核溶解术）以及其它。对于患有机械性疼痛综合征、对保守疗法无效以及不能自理个人生活的患者，这些问题可以通过脊柱融合术、椎间盘内电热凝结术（或瓣膜成形术）、后方动态稳定、人工椎间盘技术或者采用各种基于分子的治疗所产生的静态实验性椎间盘再生疗法（如采用蛋白质、肽、基因疗法或者核苷酸）进行治

疗。尽管已有描述许多方法用于治疗软骨问题，但是清楚的是很多方法都是基于人工或机械的方法，并不能重新再造正常的软骨组织生物。因此，需要寻求可以促进软骨形成的方法。

以下所述的实施例对上述问题和需求进行了阐述。

发明概述

本发明涉及采用一 NELL 肽或相关药剂（统称“药剂”）诱导软骨形成或修复的一药剂和方法。所述组合物可包括一 NELL 肽、Nell 样分子以及任选地至少一种其它活性剂、细胞以及为促进软骨修复而移植的生物相容性材料（例如，透明软骨、弹性软骨或纤维软骨）。

在一些实施例中，本发明提供一组合物，包括可直接或间接促进软骨发生的有效量的至少一药剂，以治疗、预防或改善软骨相关疾病。直接促进软骨发生的其中一种药剂可为 NELL 肽或基于 NELL 基因治疗或应用于软骨形成细胞的 NELL 基因产物增强剂，所述软骨形成细胞例如但不限于成软骨细胞、软骨细胞、或者软骨祖细胞、成体干细胞和胚胎干细胞、骨髓细胞、骨髓间质细胞、间质细胞、成纤维细胞或者脂肪源性细胞。间接促进软骨发生（例如通过诱导成软骨细胞/软骨细胞分化）的药剂可为一种 NELL 肽或 NELL 肽受体的激动剂。

在一些实施例中，所述组合物可包括，例如一种或多种 NELL 肽受体的抑制剂或者拮抗剂、高剂量 NELL 肽或其混合物。该组合物通过抑制潜在或定向的软骨形成细胞可以有效抑制软骨形成的分化，所述软骨形成细胞例如但不限于成骨细胞、骨祖细胞、干细胞、骨髓细胞、成纤维细胞、硬膜细胞、骨膜细胞、周细胞和/或肌细胞。

附图简要说明

图 1 显示，与野生型同窝小鼠相比，NELL1 过表达小鼠的股骨头软骨的增强的软骨成熟和肥大。左边为野生型新生的股骨头软骨，说明在股骨头上软骨细胞相对小、较年幼。右边为 NELL1 过表达转基因小鼠，说明在整个股骨头上软骨细胞分化良好、更为成熟且肥大，并具有大的细胞核和空泡。

图 2A-2F 显示，与野生型同窝小鼠相比，E18 NELL1 过表达小鼠的增强的半月板发育。图 2A 和 2B 用箭头指出了野生型（图 2A）动物和 NELL1 过表达动物（图 2B）的股骨和胫骨软骨头之间的半月板。图 2C 和 2D 是图 2A 和 2B 的高倍放大图像。图 2E 是 2C 中所示的野生型对照组的高倍放大图像，显示了较少分化的具有最低限度的肥大的软骨细胞。图 2F 是 2D 中所示的 NELL1 过表达动物图的高倍放大图像，显示了在软骨基质内的显著的更多分化的软骨

细胞。观察到肥大软骨细胞中的空胞，表明半月板内的软骨细胞分化良好。

图 3A 和 3B 显示从耳廓软骨分离的腺病毒转导的山羊初级软骨细胞。图 3A 显示用显著数量的表达 β -半乳糖苷酶的阳性染色细胞进行有效的腺病毒 (Ad) 转导。图 3B 是一 Western 凝胶，显示了在 AdNELL1 转导山羊软骨细胞（相对于 β -肌动蛋白对照组）中的显著 NELL1 蛋白表达，以及在 Ad BMP2 或 AdLacZ（对照组）转导的山羊软骨细胞中的无 NELL1 蛋白表达。

图 4A 和 4B 显示 AdNELL1、AdBMP2 或 AdLacZ(对照组)转导的山羊初级软骨细胞移植/注射入裸鼠四个星期后的肉眼观 (gross appearance)。NELL1 转导的样本经过检查 (图 4A) 和称重 (图 4B) 发现比对照组明显较大。此外，NELL1 转导的样本并未表现出在 BMP2 转导样本中出现的变色。

图 5A-C 显示图 4 中所示的样本的显微计算机辅助断层摄影技术 (CT) 检查。图 5A 显示了在 AdBMP2 转导的样本而非 AdNELL1 或 AdLacZ 样本中出现的不希望的矿化 (红色)。图 5B 显示 NELL1 比 AdLacZ 对照组诱导了显著的更多的软骨群 (mass)。图 5C 表明样本中 AdBMP2 显著增加的密度 (骨矿化的另一个指标)。

图 6 显示 AdNELL1、AdBMP2 或 AdLacZ (对照组) 转导的山羊初级软骨细胞在移植/注射入裸鼠两个星期后的组织学表现。苏木精和伊红(H&E)染色 (第一排) 表明相对于 AdLacZ 对照组，AdNELL1 和 AdBMP2 转导的样本内有增强的软骨形成。采用阿尔新蓝染剂对软骨进行的染色 (第二排) 也表明，相对于 AdLacZ 对照组，AdNELL1 和 AdBMP2 转导的样本内有增强的软骨形成。对更成熟的软骨细胞进行了染色 (第三排) 的 X 型胶原 (ColX) 免疫染色，表明 AdNELL1 和 AdBMP2 转导样本中染色增强。

图 7 显示了 AdNELL1、AdBMP2 或 AdLacZ (对照组) 转导的山羊初级软骨细胞移植/注射入裸鼠四个星期后的组织学表现。H&E 染色 (第一排) 表明了 AdNELL 转导样本中的显著的软骨形成，没有骨形成迹象，而 AdBMP2 样本中显示显著的骨形成。在 AdLacZ 对照组可观察到少量的软骨形成。阿尔新蓝染色 (第二排) 也表明了 AdNELL 转导样本中显著的软骨形成，没有骨形成的迹象，而 AdBMP2 样本显示了显著的骨形成以及最小限度的软骨形成。在 AdLacZ 对照组中发现了少量不成熟的软骨形成。

图 8 显示 AdNELL1、AdBMP2 或 AdLacZ (对照组) 转导的山羊初级软骨细胞移植/注射入裸鼠四周后的骨指标 Cbfa1/Runx2 以及软骨指标 ColX 和 Ⅱ型胶原的免疫染色。Ⅱ型胶原与关节软骨和其它永久性软骨的发育密切相关，然而这种基质蛋白的缺乏或数量减少则以经过变得

成熟并被骨替换的暂时软骨 (transient cartilages) 为特征 (Pacifci, M., M. Iwamoto, et al. *Tenascin is associated with articular cartilage development. Dev Dyn* 198(2): 123- 34, 1993)。*Cbfa1/Runx2* 至少在软骨 AdNELL1 或对照组 AdLacZ 转导样本中最低限度表达, 在骨 AdBMP2 转导样本中 (第一排) 适度表达。*ColIX* 在软骨 AdNELL1 样本中高度表达并大量地定位于细胞, 但未显示骨形成迹象, 而 *ColIX* 在 AdBMP2 处理的样本 (第二排) 中很大程度地与细胞外基质而不是细胞密切相关。韧粘素在 AdNELL1 样本中高度表达, 而最低限度地存在于 AdBMP2 和对照组 AdLacZ 样本 (第三排) 中。

图 9 显示了 AdNELL1、AdBMP2 或 AdLacZ (对照组) 转导的山羊初级软骨细胞移植/注射入裸鼠四周后的软骨内骨化相关的血管形成生长因子、血管内皮生长因子(VEGF)以及骨指标骨钙素(OCN)的免疫染色。VEGF 和 OCN 都未在软骨 AdNELL1 或对照组 AdLacZ 转导样本中表达, 在骨 AdBMP2 转导样本中适度表达。

图 10 显示 NELL-1 过表达小鼠中的长骨软骨组织学。NELL1 在软骨内骨化过程中在整个胫骨也包括关节软骨区 (上部图面(Upper panel)) 和长骨形成区 (下部图面) 中都有表达。上部图面表明 NELL1 可以调节和增强关节软骨区内的软骨分化。因此, 这些数据表明增强的 NELL 肽活性直接 (例如, 通过添加 NELL 肽或增强的 NELL 肽表达) 或间接 (例如, 通过添加 NELL 肽增强剂和/或 NELL 肽受体激动剂和/或活化剂) 促进软骨形成。在下部图面中, 在骨形成开始的长骨干区, 增强的 NELL1 导致软骨形成, 然后肥大以及通过软骨内骨化的增强的骨形成。

发明详述

本发明涉及采用一 NELL 肽或相关药剂 (统称“药剂”) 促进软骨形成或修复的药剂和方法。所述组合可包括一 NELL 肽、Nell 样分子和任选的至少一种其它活化剂、细胞以及为促进关节软骨修复而移植的生物相容性材料。

在一些实施例中, 本发明提供了一组合物, 包括可以直接或间接促进软骨发生的有效量的至少一种药剂, 以治疗、预防或改善软骨相关疾病。直接促进软骨发生的其中一种药剂可以为应用于 (applied to) 软骨形成细胞的 NELL 肽, 所述软骨形成细胞例如但不限于成软骨细胞、软骨细胞或者软骨祖细胞、干细胞、骨髓细胞、骨髓间质细胞、成纤维细胞或者脂肪源性细胞。间接促进软骨发生 (例如通过诱导成软骨细胞/软骨细胞分化) 的药剂可为例如一种 NELL 肽, 或 NELL 肽受体的激动剂。

在一些实施例中，本发明包括向哺乳动物受试者(例如人类)系统或局部施用本文所述组合物，以促进软骨形成或再生。

在一些实施例中，所述组合物可包括，例如，一种或多种 NELL 肽受体抑制剂或者拮抗剂、大剂量 NELL 肽，或其混合物。该组合物通过抑制潜在或定型的(committed)软骨形成细胞可以有效抑制软骨形成分化，所述潜在或定型的软骨形成细胞例如但不限于成骨细胞、骨祖细胞、干细胞、骨髓细胞、成纤维细胞、硬膜细胞、骨膜细胞、周细胞和/或肌细胞。

本发明对于软骨形成或再生的有效性如图 1-10 所示。

图 1 显示，与野生型同窝小鼠相比，NELL1 过表达小鼠的股骨头软骨的增强的软骨成熟和肥大。左边为野生型新生的股骨头软骨，说明股骨头上软骨细胞相对小、较年幼。右边为 NELL1 过表达转基因小鼠，说明在整个股骨头上软骨细胞分化良好、更为成熟且肥大，并具有大的细胞核和空泡。注意到肥大软骨的矿化缺乏。这些研究表明 NELL1 增强了软骨细胞的成熟以及肥大，而无需诱导其矿化。

图 2A-2F 显示，与野生型同窝小鼠相比，E18 NELL1 过表达小鼠的增强的半月板发育。图 2A 和 2B 用箭头指出了野生型(图 2A)动物和 NELL1 过表达动物(图 2B)的股骨和胫骨软骨头之间的半月板。图 2C 和 2D 是图 2A 和 2B 的高倍放大图像。图 2E 是 2C 中所示的野生型对照组的放大图像，显示了较少的分化软骨细胞和最小的肥大。图 2F 是 2D 中显示的 NELL1 过表达动物图的高倍放大图像，显示了在软骨基质内的显著的更多分化的软骨细胞。观察到肥大软骨细胞中的空泡，表明在半月板内的软骨细胞的分化良好。该资料表明 Nell-1 可以促进半月板形成和分化。

图 3A 和 3B 显示从耳廓软骨分离出来的腺病毒的转导的山羊初级软骨细胞。图 3A 显示用显著数量的表达 β -牛乳糖的阳性染色细胞进行有效的腺病毒转导。图 3B 是一 Western 凝胶，显示了 AdNELL1 转导山羊软骨细胞(相对于 β -肌动蛋白对照组)中的显著 NELL1 蛋白表达，以及在 Ad BMP2 或 AdLacZ (对照组)转导的山羊软骨细胞中没有 NELL1 蛋白表达。这些研究表明存在有效的腺病毒转导，以及表明了 AdNELL1 而不是 AdBMP2 增强了 NELL1 蛋白表达。

图 4A 和 4B 显示 AdNELL1、AdBMP2、或 AdLacZ(对照组)转导的山羊初级软骨细胞移植入裸鼠四个星期后的肉眼观。NELL1 转导的样本经过检查(图 4A)和称重(图 4B)发现比对照组明显较大。此外，NELL1 转导样本并未表现出在 BMP2 转导样本中出现的变色。这些研究意外地表明，尽管 BMP2 诱导了较大的组织群，但是诱导的组织群的外观与单纯的软

骨表型并不一致。

图 5A-C 显示图 4 中所示的样本的显微计算机辅助断层摄影技术 (CT) 检查。图 5A 显示了在 AdBMP2 转导的样本而非 AdNELL1 或 AdLacZ 样本中出现的不希望的矿化 (红色)。图 5B 显示 NELL1 比 AdLacZ 对照组诱导了显著的更多的软骨群。图 5C 表明样本中 AdBMP2 显著增加的密度 (骨矿化的另一个指标)。这些研究定量表明, 尽管 BMP2 诱导了较大的组织群, 但是诱导的组织群在很大程度上被矿化且与单纯软骨表型并不一致。

图 6 显示 AdNELL1、AdBMP2 或 AdLacZ (对照组) 转导的山羊初级软骨细胞在移植/注射入裸鼠两个星期后的组织学表现。苏木精和伊红(H&E)染色 (第一排) 表明相对于 AdLacZ 对照组, AdNELL1 和 AdBMP2 转导的样本内有增强的软骨形成。采用阿尔新蓝对软骨进行的染色 (第二排) 也表明, 相对于 AdLacZ 对照组, AdNELL1 和 AdBMP2 转导的样本内的有增强的软骨形成。对更成熟的软骨细胞进行了染色 (第三排) 的 X 型胶原 (CoIX) 免疫染色, 表明 AdNELL1 和 AdBMP2 转导样本中染色增强。总之, 这些数据表明 AdNELL1 和 AdBMP2 都在 2 周诱导同等的软骨形成和成熟。

图 7 显示了 AdNELL1、AdBMP2 或 AdLacZ (对照组) 转导山羊初级软骨细胞移植/注射入裸鼠四个星期后的组织学表现。H&E 染色 (第一排) 表明了 AdNELL 转导样本中的显著的软骨形成, 没有骨形成迹象, 而 AdBMP2 样本中显示显著的骨形成。在 AdLacZ 对照组可观察到少量的软骨形成。阿尔新蓝染色 (第二排) 也表明了 AdNELL 转导样本中显著的软骨形成, 没有骨头成形的迹象, 而 AdBMP2 样本显示了显著的骨形成以及最小限度的软骨形成。在 AdLacZ 对照组中发现了少量不成熟软骨形成。总之, 这些数据表明: 四周内, AdNELL1 可以持续诱导并保持软骨表型, 而 AdBMP2 持续形成骨, 但不能维持软骨形成细胞中的软骨表型。

图 8 显示 AdNELL1、AdBMP2 或 AdLacZ (对照组) 转导山羊初级软骨细胞移植/注射入裸鼠四周后的骨指标 Cbfa1/Runx2 以及软骨指标 ColX 和 10 型胶原的免疫染色。10 型胶原与关节软骨和其它永久软骨的发育密切相关, 然而这种基质蛋白的缺乏或数量减少则以经过变得成熟并被骨替换的暂时软骨 (transient cartilages) 为特征 (Pacifci, M., M. Iwamoto, et al. Tenascin is associated with articular cartilage development. Dev Dyn 198(2): 123- 34, 1993)。Cbfa1/Runx2 至少在软骨 AdNELL1 或对照组 AdLacZ 转导样本中最低限度表达, 并在骨 AdBMP2 转导样本中 (第一排) 适度表达。ColX 在软骨 AdNELL1 样本中进行了高度表达并大量定位于细胞, 但未显示骨形成迹象, 而 ColX 在 AdBMP2 处理的样本 (第二排) 中很大

程度地与细胞外基质而不是细胞密切相关。韧粘素在 AdNELL1 样本中高度表达,而最低限度存在于 AdBMP2 和对照组 AdLacZ 样本(第三排)中。这些研究表明 NELL1 可以诱导与关节软骨和其它永久软骨发育相关的分子(例如,韧粘素)。

图 9 显示了 AdNELL1、AdBMP2 或 AdLacZ (对照组) 转导的山羊初级软骨细胞移植/注射入裸鼠四周后的软骨内骨化相关的血管形成生长因子、血管内皮生长因子(VEGF)以及骨指标骨钙素(OCN)的免疫染色。VEGF 和 OCN 都未在软骨 AdNELL1 或对照组 AdLacZ 转导样本中表达,在骨 AdBMP2 转导样本中适度表达。这些数据表明 NELL1 不促进血管发生,以及 NELL1 可能会抑制软骨样本中的血管发生。

图 10 显示 NELL-1 过表达小鼠中的长骨软骨组织学。在软骨内骨化过程中 NELL1 在整个胫骨包括关节软骨区(上部图面)和长骨形成区(下部图面)中都有表达。上部图面表明 NELL1 可以调节和增加关节软骨区内的软骨分化。因此,这些数据表明增强的 NELL 肽活性直接(例如,通过添加 NELL 肽或增强的 NELL 肽表达)或间接(例如,通过添加 NELL 肽增强剂和/或 NELL 肽受体激动剂和/或活化剂)促进软骨形成。在下部图面中,在骨形成开始的长骨干区,增加的 NELL1 引起软骨形成,然后肥大以及通过软骨内骨化的增强的骨形成。因此,这些资料表明增强的 NELL 肽活性直接或间接促进软骨形成、软骨肥大以及软骨内骨化。NELL1 的缺乏与分化不足的关节成软骨细胞/软骨细胞表型以及次肥大有关,次肥大对于防止关节软骨被骨替换是至关重要的。因此,NELL 肽活性的抑制可直接(通过减少 NELL 肽表达或采用 NELL 肽抑制剂)或间接地(通过 NELL 肽受体拮抗剂和/或抑制剂)防止软骨肥大和软骨内骨化,并促进维持分化不足或次肥大的软骨表型。总之,这些数据的目的是不是限定,而是指出 NELL 对骨软骨祖细胞类型具有广泛的影响,以及 NELL 诱导的实际表型取决于 NELL 施用的数量和时间之间的综合相互影响、实际的细胞类型、细胞分化情况,以及微环境。

定义

术语“软骨”可以理解为包括透明软骨、弹性软骨以及纤维软骨,可以是哺乳动物的任意软骨组分。例如,椎间盘和膝盖半月板都是软骨定义包括的纤维软骨结构。

术语“多肽”、“肽”以及“蛋白质”在此可以相互交换使用,指的是氨基酸残基的聚合物。这些术语适用于氨基酸聚合物,其中一个或多个氨基酸残基为对应的天然存在的氨基酸以及天然存在的氨基酸聚合物的人造化学类似物。

术语“NELL”指的是 NELL1 和 NELL2 肽。NELL1 肽是一种可以由 NELL1 基因 or cDNA

表达的蛋白质，包括 SEQ ID NO: 2、4 和 6。NELL1 肽可包括具有诱导软骨形成细胞分化以促进软骨形成的功能的 NELL1 肽片段。NELL2 肽是一种可以由 NELL2 基因或 cDNA 表达的蛋白质，包括 SEQ ID NO: 8、10、12 和 14。NELL2 肽可包括具有与整个 NELL2 肽序列的类似活性的 NELL2 肽片段。Nell-1、Nell-2 等完整的蛋白质（完全或部分糖基化的）、片段、缺失、增加、氨基酸替代物、突变以及修饰保留了所述天然存在药物的生物特性。小分子包括 Nell 活性域以及 Nell 结合位点。

在一些实施例中，术语“NELL 肽”可包括 NELL1 或 NELL2 相关多肽的片段。

在一些实施例中，术语“NELL 肽”可包括一 NELL 相关药剂。例如：NELL 肽相关药剂可包括具有与 NELL 肽或其片段显著同源性的任意多肽。显著同源性可以是与一 NELL 肽的同源性高于约 50%的同源性，例如，与一 NELL 肽的同源性超过 60%，与一 NELL 肽的同源性超过 70%，或与一 NELL 肽的同源性超过 80%。

所述 NELL 肽可以是天然的和/或具有非突变的野生型序列的重组 NELL 肽、或者具有突变的野生型序列并仍包含与 NELL 肽显著同源性的重组 NELL 肽。此外，NELL 肽可以来源于，但不限于，生物体例如人类细胞、细菌、酵母、或者昆虫或植物细胞。在一些实施例中，术语“NELL 肽”包括 NELL 肽结构上、功能上或构象上的等同物。本文中，NELL 肽结构上的等同物指的是包括等同于或基本类似于一 NELL 肽或一 NELL 肽功能域的结构蛋白质或肽。NELL 肽功能上的等同物指的是具有等同于或基本上类似于 NELL 肽或 NELL 肽功能域的功能的蛋白质或肽。NELL 肽构象上的等同物指的是具有等同于或类似于 NELL 肽或 NELL 肽功能域的构象的蛋白质或肽。

在一些实施例中，本文所述 NELL 肽可以是 NELL 肽的衍生物。本文所述“衍生物”指的是从 NELL 肽、其结构等同物或其构象等同物衍生得到的任意化学或生物化合物或材料。例如，该衍生物可包括任意前药形式、聚乙二醇化形式（PEGylated form）、或可使 NELL 肽更为稳定或具有更好亲骨性或亲脂性的 NELL 肽的其它形式。在一些实施例中，所述衍生物可为连接（attached to）聚（乙二醇）、聚（氨基酸）、具有 C1-C20 碳的烃基短链或生物相容聚合物的 NELL 肽。在一些实施例中，“衍生物”可包括 NELL 肽模拟物。肽模拟物的合成在本领域已有充分的文献记录。下面介绍合成肽包括肽模拟物的基本程序的一个范例：

在开始合成肽之前，氨基酸（起始材料）的氨基末端可以使用 FMOC（9-氟甲基氨基甲酸酯）或其它保护基保护，采用诸如 Merrifield 树脂（游离氨类）的固体载体作为引发剂。然后，进行下列步骤（1）到步骤（3）的反应操作并重复操作直到获得需的肽：（1）利用碳二

亚胺化学法使得游离氨基与羧基末端发生反应，(2) 纯化氨基酸序列，以及 (3) 在温和的酸性条件下除去所述保护基（例如 Fmoc 保护基），以生成游离氨基。然后，将肽从所述树脂分离，以生成独立肽或肽模拟物。

在一些实施例中，本文所述的肽衍生物包括物理改性的或化学改性的 NELL 肽。例如，物理改性的肽可以通过，例如，通过离子力进行改性（例如利用平衡离子形成离子对），通过氢键结合进行改性，通过调节 pH 进行改性，通过溶剂选择进行改性，或通过使用不同蛋白质折叠/解折叠方法进行改性，后者可包括选择折叠/解折叠温度、pH、溶剂、以及折叠/解折叠不同阶段的持续时间。

在一些实施例中，肽衍生物可包括化学改性的 NELL 肽。例如，短烃基（例如，甲基或乙基）可以选择连接于所述 NELL 肽分子上的一个或多个位点，以改变所述肽的化学和/或物理特性。在一些实施例中，单-、寡-或聚（乙二醇）（PEG）基可通过采用众所周知的蛋白质聚乙二醇化方法，选择连接于所述 NELL 肽分子上一个或多个位点，以改变所述肽的化学和/或物理特性（参照，例如 Mok, H., et al., *Mol. Ther.*, 11 (1):66-79 (2005)）。

术语“NELL1 cDNA”指的是 SEQ ID NO:1、3 和 5，以及“NELL2 cDNA”指的是 SEQ ID NO:7、9、11 和 13。

术语“抗体”指的是特异结合 NELL 肽或者相关药剂的任意抗体。该术语可包括不同类型的改性或改变的抗体，例如，完整免疫球蛋白、仅包括轻链可变区和重链可变区的 Fv 片段、通过二硫键连接的 Fv 片段、包括可变域和部分恒定域的 Fab 或 (Fab)₂ 片段，以及单链抗体等。抗体可包括完整的分子及其片段，如 Fab 和 F(ab')₂，和/或可结合表位决定簇的单链抗体（例如，scFv）。抗体可来源于动物（例如小鼠或大鼠等）或人类或者可以是嵌合体的或人化的（humanized）。抗体可为多克隆抗体或单克隆抗体（“mAb's”），例如与具有由 NELL1 或 NELL 2 蛋白编码的多肽特异结合的单克隆抗体。

术语“捕获剂”可指的是特异结合其它分子以形成结合复合物（例如抗体-抗原、凝集素-碳水化合物、核酸-核酸、生物素-抗生素蛋白等）的分子。

术语“特异结合”可指生物分子（例如蛋白质、核酸，以及抗体等），指的是鉴定异质群体分子中生物分子（例如蛋白质和其它生物）的存在的结合反应。因此，在指定条件下（例如，抗体的免疫测定条件或核酸的严格杂交条件下），特定的配体或抗体可结合其特定的“靶”分子，而不大量结合样本中存在的其它分子。

术语“核酸”或“寡核苷酸”指的是至少两个连接在一起的核苷酸。本发明的核酸可以

是单链的或双链的，可包括磷酸二酯键，尽管在某些情况下可包括具有备选的主链的核酸类似物，包括，例如，磷酰胺、硫代磷酸、二硫代磷酸酯、邻甲基位磷酰胺键，和/或肽核酸主链和键。核酸类似物可具有正链和/或非核糖主链。核酸也可包括一种或多种碳环糖。可以进行磷酸核糖主链修饰，以利于例如掺入其它部分例如标签，或提高该分子在生理环境下的稳定性和半衰期。

术语“特异杂交”指在严格条件下把核酸分子优先与特定核苷酸序列结合、双链或杂交，包括在一探针可优先与其靶序列杂交和较小程度地与其它序列杂交的条件。

术语“NELL 肽抑制剂”指能抑制 NELL 肽活性的化学或生物化合物。该术语也包括能抑制 NELL 肽表达的化学或生物化合物。NELL 肽抑制剂能直接或间接与 NELL 肽转录本或翻译产物相互作用。例如，相互作用的方法可包括但不限于减少 NELL 肽的转录或翻译、减少 NELL 肽转录本或蛋白质类产物的稳定性、减少 NELL 肽转录本或蛋白质类产物的活性和增强 NELL 肽转录本或蛋白质类产物的降解。术语“NELL 肽增强剂”指能增强 NELL 肽活性的化学或生物化合物。该术语也包括能增强表达 NELL 肽的化学或生物化合物。例如，相互作用的方法可包括但不限于增强 NELL 肽转录或翻译、增强 NELL 肽转录本或蛋白质类产物的稳定性、增强 NELL 肽转录本或蛋白质类产物的活性和减少 NELL 肽转录本或蛋白质类产物的降解。

术语“NELL 肽受体调节剂”指能促进或抑制 NELL 肽受体与或通过 NELL 肽结合的化学或生物化合物，或不考虑 NELL 肽存在或不存在情况下能调节 NELL 肽受体活性的化学或生物化合物。促进 NELL 肽受体与或通过 NELL 肽结合和/或 NELL 肽受体激活的调节剂被称为所述受体的“激动剂”，抑制 NELL 肽受体与或通过 NELL 肽结合和/或 NELL 肽受体激活的调节剂被称为所述受体的“拮抗剂”。不考虑 NELL 肽，促进 NELL 肽受体激活的调节剂被称为所述受体的“活化剂”，不考虑 NELL 肽，抑制 NELL 肽受体激活的调节剂被称为所述受体的“抑制剂”。

术语“NELL 肽”、“NELL 相关药剂”、“NELL 肽抑制剂”或“NELL 肽受体调节剂”在整个说明书中也可被称为“药剂”。

术语“载体”指用于生物化学领域所采用的任意载体。一些常用载体的实例可为裸露 DNA 类载体、RNA 类载体和病毒类载体。更多例子为如聚合物或肽、持续释放载体、合成支架、天然支架、同种异体移植或异种移植支架。

术语“哺乳动物受试者”或“哺乳动物”指任意哺乳动物，实例包括人类和动物诸如马

等。

软骨形成

软骨形成一般通过软骨化过程进行。软骨化是软骨从由浓缩的（condensed）间充质组织形成的一个过程，在该过程中，间充质组织分化为软骨细胞并开始分泌形成基质的材料。软骨可经过矿化作用。成年透明关节软骨，例如，是在软骨和骨之间的连接处逐步进行矿化。骨矿化开始（front）通过透明关节软骨基底（base）增长，其增长速度取决于软骨负荷和剪切力。增长速度的间歇性变化以及矿化开始（mineralizing front）的矿物沉淀密度导致关节钙化软骨上出现多重潮标（tidemarks）。

成年关节钙化软骨被血管芽和血管区中以与在长骨体生长部软骨内骨化相似的方法生成的新骨穿透（penetrated）。粘合线将关节钙化软骨从软骨下骨划分开。软骨有两种生长方式：外加生长和间质生长。外加生长使软骨直径或厚度增加。新细胞来自于软骨膜并生长在软骨雏形的表面。间质生长使软骨体积增加并从内部生长。软骨细胞在细胞间的空隙处进行有丝分裂，但保持在基质中，导致细胞聚集成群，被称为同源细胞群。

软骨也可通过软骨内骨化方式形成。哺乳动物的骨骼通过软骨内骨形成和膜内骨形成过程发育。从胚胎学上看，在骨骼发育期间，在一些骨末端的软骨层的形成与软骨内骨化过程密切联系。软骨内骨化的软骨部分包括成软骨细胞/软骨细胞分化、成熟和肥大，而是否包括矿化则取决于软骨位置。非矿化软骨形成包括但不限于关节软骨、颞下颌关节、腕关节、膝关节、椎间盘纤维软骨的形成。

软骨内骨化或长骨形成与骨形成有关，其允许在骨骼生长期间维持功能的压力，并在长骨发育过程中得到很好证明。在这个过程中，首先在实体（solid）透明软骨中形成长骨小雏形，其主要经过外加生长形成细长、哑铃形的软骨块，该软骨块由软骨膜包围的干（骨干）和未来的关节部分（骺）组成(参见，如 Wheater, P. R.和 H. G. Burkitt (1987 年), Functional histology : a text and colour atlas. Edinburgh ; New York, Churchill Livingstone; Beaupre, G. S., S. S. Stevens,等人, J Rehabil Res Dev 37(2): 145-51) (2000))。

然后在软骨雏形骨干内部，软骨细胞很大程度地扩大，其再吸收了周围软骨从而仅留下细长的穿孔的软骨基质小梁。然后该软骨基质钙化且所述软骨细胞退化并留下大的、互相连接的腔。在这期间，骨干的软骨膜发育软骨形成能力并承担了骨膜角色。然后骨膜在骨干表面周围留下一薄层骨，且软骨细胞退化后，原生间质细胞和血管侵入骨干之间留下的腔中。原生间质细胞在软骨基质钙化残余物表面分化为成骨细胞和造血细胞，并开始形成不规则的

编织骨(Wheater 和 Burkitt, 1987 年, 见上)。在上文 Wheeler 和 Burkitt 1987 描述的软骨雏形中, 最初的软骨雏形的末端然后已由骨干中的原生骨化的大位点分割开。但所述雏形的软骨末端的直径继续生长。同时, 骨干末端的软骨继续经过退化变化, 然后经过骨化, 从而使正在发育的骨由一细长、骨的且在各端具有一半月软骨骺的骨质骨干 (bony diaphyseal shaft) 组成。骨干和各骨骺之间的接触面构成了一生长板或骨骺板。在所述生长板内, 软骨持续增殖, 导致所述骨逐渐伸长。在各生长板的骨干方面, 软骨细胞成熟然后死亡, 而软骨退化区则将被骨所取代。因此, 骨质骨干 (bony diaphysis) 不断增长, 而生长板则进一步被推挤并进一步分离开。在成熟时, 激素变化抑制了软骨进一步增殖, 且生长板被骨取代, 从而使骨干和骨骺相融合 (Wheater 和 Burkitt, 1987 年, 见上)。与此同时, 在正在发育的各骨干的软骨块中心, 随同软骨在整个骨干外表面的外加生长, 一起出现了与在骨干软骨中相似的退化变化和骨形成。中心骨骺软骨转化为骨这一过程被称为二次骨化。透明软骨的薄区仍然保留在表面, 作为关节软骨 (Wheater 和 Burkitt, 1987 年, 见上)。

因此, 在有或无软骨细胞矿化的情况下通过软骨细胞 (成软骨细胞, 软骨细胞) 的增殖和成熟, 可部分实现软骨内骨化和生长。软骨形成或再生可通过控制软骨细胞矿化来实现。在没有受限一特定理论的情况下, 可通过控制因子 (如: a) 位置, b) 细胞类型, c) 细胞分化状态, d) 微环境和 e) 生物机械力) 来控制软骨细胞矿化。例如, 可通过将所述软骨细胞放置在一般会发生矿化的一骺生长板附近, 或将软骨细胞放置在一般不会发生矿化的关节面附近, 来控制该软骨细胞的矿化。本领域已知, 软骨细胞肥大和基质钙化上调是易分离状态 (参看, 如 Johnson, van Etten 等, 2003 年) (参看, 如 Johnson, K. A., D.等, J Biol Chem 278(21): 18824-32 (2003))。例如, 软骨内骨的形成可通过成软骨细胞肥大来评估, 因为可通过肥大的和凋亡的成软骨细胞的增加来观察, 该评估过程可由 TUNEL 染色来解释。在另一个实施例中, 还可通过未经细胞凋亡或矿化的成骨软细胞肥大来评估软骨形成。

软骨再生

软骨含有显著数量的水。比如, 关节软骨大部分由水组成 (60-80 wt%), 剩余的 ECM 包含大部分的 II 型胶原 (50-90%干重) 和蛋白聚糖 (5-10%)。已鉴定少量的其它胶原和较小的 ECM 分子。ECM 归入不同的区, 以及水和不同区内的 ECM 的相互作用为生物力经过关节的吸收和传输提供了必需的韧性, 同时提供了关节活动所需的光滑关节连接面。据报道, 在日常行走和跳跃期间, 人类髋关节所受的压力分别高达 4MPa 和 20MPa。对于关节软骨来说, 令人惊讶的是, 它显示了最低的修复能力。超过两千万美国人患有骨关节炎和退化性关节病,

每年的医疗费用高达六百亿美元。软骨组织工程学已调查了广泛系列的支架、细胞因子和生长因子（参见，例如，Frenkel、S.R.等人，Ann. Biomed. Eng. 32: 26-34（2004）；Tuli、R.，等，Arthritis Res. Ther. 5: 235-238（2003）；以及 Ashammakhi、N. 和 Reis、RL Topics in Tissue Engineering, 第 2 卷, 2005）。对于静态比动态压缩、剪切力、流体静压、流量、电气流动电位、生物反应器、和综合负载在软骨细胞生物应答和组织重塑中的作用，已进行了广泛研究，并综述了动力传导路径（Ashammakhi、N. 和 Reis、RL Topics in Tissue Engineering, 第 2 卷, 2005）（见文中的图 7A-D）。

因此，在本发明的另一方面，本文所述的组合物包括能诱导成软骨细胞和软骨细胞形成软骨的有效量的至少一 NELL 肽或一 NELL 肽受体的激动剂。NELL 蛋白、肽、DNA、RNA 和 NELL 激动剂以及拮抗抑制剂可单独使用或与支架材料联合使用，在有或没有细胞，有或没有机械刺激，存在或不存在其它的生长因子的情况下。例如，在一个实施例中，该组合物能够有效地再生或修复或增加椎间盘、颞下颌盘、膝和腕纤维软骨以及关节面的软骨。在另一个实施例中，在组织工程中存在或不存在支架的情况下，所述组合物可通过间接体内基因疗法（ex vivo gene therapy）和向细胞施用蛋白质有效地形成软骨。

根据给药方式和局部环境，包括一 NELL 肽（例如，NELL1 肽）的组合物可用于诱导软骨形成细胞，如软骨细胞或成软骨细胞，仅进行分化和形成软骨。例如，在关节软骨疾病中，本文所述的组合物可诱导软骨形成细胞如软骨细胞/成软骨细胞仅形成软骨。该组合物可作为支架/载体施用于缺陷软骨。在一些实施例中，所述组合物可任选地包括细胞（干细胞、成软骨细胞等）。在一些实施例中，所述组合物可被用作为基因治疗。

在一些实施例中，如本文中使用的，所述细胞可以是，例如分化的软骨细胞；在移植后或移植前脱分化的分化细胞（如骨骼肌细胞、成纤维细胞）；在移植后或移植前分化的成年干细胞；在移植后或移植前分化的胚胎干细胞；人类；由核酸、蛋白质、小分子、siRNA 和抗体进行改性。

然而，在一些实施例中，所述组合物可用于软骨组织工程。例如，当成软骨细胞在“振荡的”周期的拉应力环境中培养时，NELL1 肽可包括所述成软骨细胞分化和形成软骨。在这些实施例中，施加振荡力的持续时间也起着重要作用。例如，如果振荡力连续施加，具有 NELL1 肽的所述组合物可以诱导软骨内骨化。因此，振荡力的施加应当是间歇的，这样，软骨形成细胞（如软骨细胞/成软骨细胞）的分化可以在软骨阶段停止，从而防止所述细胞进行分化成软骨内骨化。

因此，在一些实施例中，在此所述的组合物可用于再生/修复软骨，如在关节软骨和椎间盘中进行盘修复。

本文所述的组合物可治疗、预防或改善其它典型软骨疾病，包括但不限于，软骨钙质沉着病、骨关节炎和/或其它以病理软骨退化为特征的疾病。

在一实施例中，增加软骨内骨化的方法可包括在需要骨形成的区域内增加 NELL1 基因产物的浓度；在需要骨形成区任选地施加第二种药剂，和在需要骨形成的区内至少诱导成软骨细胞肥大。

所述方法可包括通过向需要骨形成的区域施加 NELL1 肽以增加 NELL1 基因产物的浓度，所述 NELL1 肽可选自下列组包括：SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:4 或 SEQ ID NO:6，或能有效提高软骨内骨化（包括软骨和骨）的 NELL 肽的任意部分。

第二种药剂可包括但不限于 TGF-beta、BMP2、BMP4、BMP7、bFGF、胰岛素样生长因子（IGF）、Sox9、胶原、软骨形成细胞、骨、骨基质、腱基质、韧带基质。第二种药剂可选择在诱导软骨内骨化具有与 NELL1 互补或协同效应的药剂。其它药剂说明如下。

血管发生及软骨形成/再生的抑制

如 Shukunami 等所述，在胚胎发育中软骨为大部分骨架形成模板（Shukunami, C, Y. Oshima, 等人, Biochem Biophys Res Commun 333(2): 299-307) (2005)。软骨并非直接转化为骨，而是通过破骨细胞和成骨细胞的活动逐渐被取代，所述破骨细胞和成骨细胞随着血管侵入被带入软骨骨化中心（软骨内骨化）。因此，软骨的血管侵入在适当的发育阶段对于骨形成是十分重要的。软骨在软骨形成时获得抗血管生成性质，并很快就失去这一性质，由于在血管侵入前软骨细胞成熟而变得肥大并钙化，这暗示了软骨经过抗血管生成表型的动态转换。可以肯定的是，前血管发生因子（pro-angiogenic factors）充当作为血管侵入组织的原动力。在软骨内骨化期间，VEGF-A 是血管发生的一个重要调节因子：VEGF-A 在肥大的软骨但不是以静止或增生的软骨中表达。

基质金属蛋白酶（MMPs）可以影响骨的发育，其这涉及到在血管侵入期间的基质重塑（如，MMP-9、MMP-13、MMP-14）。在缺乏 MMP-9 的小鼠中，血管侵入和随后的骨化被延迟，导致所述生长板持续延长。对于减少的软骨血管侵入，骨化的延迟显得是次要的，这可能是因为 MMP-9 不足的肥大软骨不能释放正常水平的前血管发生活动，以刺激血管形成和补充成骨细胞/破软骨细胞。MMP-14 的定向失活（膜类型 1MMP：MT1-MMP）导致小鼠的软骨内骨化和膜内骨形成都存在严重缺陷。这些结果表明 MMPs 在软骨表型的血管发生转

换中起着重要的调节作用。因此,软骨形成和再生的重要部分可包括前血管发生因子的差异调节,所述前血管发生因子为如 MMP-9、MMP-13、MMP-14 和 VEGF 和抗血管发生因子如软骨调节素-I (ChM-I)、血小板反应素(TSP)-1、TSP-2、金属蛋白酶组织抑制剂(TIMP)-2、TIMP-3。具体地,前血管发生因子在软骨骨化区相对更为突出,而抗血管发生因子则在软骨不进行骨化的区域相对较突出。这些结果也表明,转录因子 Cbfa1/Runx2 可参与到软骨血管发生转换的控制中:Cbfa1/Runx2 缺陷型小鼠在肥大软骨分化、软骨雏形的血管侵入以及 VEGF 表达中存在缺陷,并表现出 ChM-I 基因的连续表达。在非肥大软骨细胞表达 Cbfa1/Runx2 转基因的 Cbfa1/Runx2 缺陷型小鼠中,血管侵入和软骨重塑以及 VEGF 上调伴随着 ChM-I 基因表达下调得到了恢复。

不受限于特定理论,NELL1 在软骨血管发生转换中发挥作用,因为 NELL1 是 Cbfa1/Runx2 效应的直接下游效应剂。此外,不受限于特定理论,NELL1 在软骨形成中的作用也与 NELL1 的潜在抗血管发生效应有关--因为 NELL1 也包含一 NH₂-末端血小板反应素样分子。

其它药剂

在一实施例中,本文所述的软骨形成和再生组合物可包括一种或多种的其它药剂。所述药剂可以是软骨保护剂、止痛剂和/或抗炎剂、生长因子、抗血管发生因子及其混合物。

所述软骨保护剂可以是,例如,(1)白介素-1 家族蛋白的受体的拮抗剂,包括例如 IL-1.beta.、IL-17 和 IL-18;(2)肿瘤坏死因子(TNF)受体家族拮抗剂,包括例如 TNF-R1;(3)白介素 4、10 和 13 受体的拮抗剂;(4)TGF-.beta. 受体超家族的拮抗剂,包括例如 BMP-2、BMP-4 和 BMP-7;(5)COX-2 抑制剂;(6)MAP 激酶家族抑制剂,包括例如 p38 MAP 激酶;(7)基质金属蛋白酶(MMP)家族蛋白的抑制剂,包括例如,MMP-3 和 MMP-9;(8)NF-.kappa.B 家族蛋白抑制剂,包括例如,具有 I.kappa.B 的 p50/p65 二聚物(dimer complex);(9)一氧化氮合成酶(NOS)抑制剂,包括例如,iNOS;(10)整合素受体的激动剂和拮抗剂,包括例如 $\alpha v \beta_3$ 整合素的激动剂;(11)蛋白激酶 C(PKC)家族的抑制剂;(12)蛋白酪氨酸激酶家族的抑制剂,包括例如 src 亚家族;(13)蛋白酪氨酸磷酸酶调节剂;以及(14)蛋白 src 同源区 2(SH2)结构域的抑制剂。其它软骨保护剂包括其它生长因子,例如胰岛素样生长因子(如 IGF-1)和成纤维细胞生长因子(如 bFGF)。其它软骨保护剂如 USPN 7,067,144 所述,在此以引用方式并入本文作为参考。这些软骨保护剂可单独使用或与 NELL 肽或相关药剂联合使用。在一些实施例中,本文所述的组合物可特别低排除上述任意软骨保护剂。

所述止痛剂和/或抗炎剂可以是,如(1)5-羟色胺受体拮抗剂;(2)5-羟色胺受体促效剂;

(3) 组胺受体拮抗剂; (4) 缓激肽受体拮抗剂; (5) 激肽释放酶抑制剂; (6) 速激肽受体拮抗剂, 包括神经激肽亚型 1 和神经激肽亚型 2 受体亚型拮抗剂; (7) 降钙素基因相关肽(CGRP) 受体拮抗剂; (8) 白介素受体拮抗剂; (9) 花生四烯酸代谢物合成途径中激活酶的抑制剂, 包括 (a) 磷脂酶抑制剂, 包括 PLA 亚型 2 异型体抑制剂和 PLC 异型体抑制剂, (b) 环氧合酶抑制剂, 和 (c) 脂氧化酶抑制剂; (10) 类前列腺素受体拮抗剂, 包括二十烷酸 EP-1 和 EP-4 受体亚型拮抗剂和血栓素受体亚型拮抗剂; (11) 白三烯受体拮抗剂, 包括白三烯 B 亚型 4 受体亚型拮抗剂和白三烯 D 亚型 4 受体亚型拮抗剂; (12) 类阿片受体拮抗剂, 包括 μ -类阿片、 δ -类阿片和 kappa-类阿片受体亚型拮抗剂; (13) 嘌呤受体拮抗剂, 包括 P₂X 受体拮抗剂和 P₂Y 受体拮抗剂; 以及 (14) 钙通道拮抗剂。上述每一种药剂可作为抗炎剂和/或抗伤害性疼痛 (例如止痛或镇痛) 剂。从这些化合物中选择的药剂是针对特殊使用。这些止痛剂和/或抗炎剂可单独使用或和 NELL 肽或相关药剂联合使用。在一些实施例中, 本文所述的组合物可特别地排除上述任意止痛剂和/或抗炎剂。

生长因子可以是, 例如, FGF-2、FGF-5、IGF-1、TGF- β 、BMP-2、BMP-7、PDGF、VEGF、OP1、OP2、OP3、BMP2、BMP3、BMP4、BMP5、BMP6、BMP9、BMP10、BMP11、BMP12、BNP15、BMP16、DPP、Vgl、60A 蛋白、GDF-1、GDF3、GDF5、GDF6、GDF7、GDF8、GDF9、GDF10 和 GDF11。其它生长因子如美国专利号 7,067,123 和 7,041,641 所述, 其内容在这里以引用方式并入本文作为参考。这些生长因子可单独使用或与 NELL 肽或相关药剂联合使用。在一些实施例中, 本文所述的成分可特别地排除上述任意生长因子。

所述抗血管发生剂可以是, 例如, 抗血管发生因子, 包括例如抗侵入因子、视黄酸及其衍生物、紫杉醇 (包括类似物及其衍生物)、苏拉明、金属蛋白酶-1 组织抑制剂、金属蛋白酶-2 组织抑制剂、纤维蛋白溶酶原激活物抑制剂-1 和纤维蛋白溶酶原激活物抑制剂-2、以及轻型“d 类”过渡金属 (lighter "d group" transition metals)。类似地, 可采用各种聚合物载体, 代表性例子包括聚 (乙烯-乙酸乙烯酯) (40%交联)、聚 (D,L-乳酸) 低聚物和聚合物、聚 (L-乳酸) 低聚物和聚合物、聚 (乙醇酸)、乳酸和乙醇酸共聚物、聚 (己内酯)、聚 (戊内酯)、聚 (酸酐)、聚 (己内酯) 或聚 (乳酸) 与聚乙二醇的共聚物、以及其混合物。在一些优选的实施例中, 所述组合物包括一破坏微管功能的化合物, 例如, 紫杉醇、雌氮芥、秋水仙碱、甲氨蝶呤、curacin-A、埃博霉素 (epothilone)、长春碱或 tBCEV。在其它优选实施例中, 所述组合物包括一聚合物载体和一抑制新血管形成的轻型 d 类过渡金属 (如钪类、钼类、钨类、钛类、铌类或钽类) (如 USP 20060240113 所述)、VEGF 抑制剂 (如 USP 20060241084 所述)、

其它血管发生抑制剂(如 USP 20060235034, 7,122,635 所述)、软骨调节素-I(chondromodulin-I)或腱调蛋白(tenomodulin)(Shukunami 等人, 2005, 同上)或其它本领域技术人员熟知的内源性或外源性抗血管发生因子。

制剂

本文所述组合物可制成任意需要的制剂。该组合物可包括实现所需制剂的材料和载体。例如, 所述组合物可包括能够在配置的预定期集合的可注射或可塑材料。该预定期可以是, 如 20 分钟, 30 分钟, 1 小时, 2 小时等。

在一些实施例中, 所述组合物可包括一化学凝胶, 所述化学凝胶包括因 pH、离子环境和溶剂浓度的变化而形成的主键(primary bonds)。该化学凝胶的实例可以是但不限于多糖如脱乙酰壳多糖, 脱乙酰壳多糖阳离子盐如 β -甘油磷酸盐、藻酸盐正型(aginates plus) Ba^{2+} 、 Sr^{2+} 、 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} , 胶原、纤维蛋白、等离子体(plasma)或其混合物。

在一些实施例中, 所述组合物可包括因温度变化而形成次级键的物理凝胶。该物理凝胶的实例可以是但不限于藻酸盐、聚(乙二醇)-聚(乳酸-共-乙醇酸)-聚(乙二醇)(PEG-PLGA-PEG)三嵌段共聚物、琼脂糖和纤维素。在一些实施例中, 可用于本文所述组合物的物理凝胶可包括在高剪切力时为液态而低剪切力时为固态的物理凝胶。该物理凝胶的实例包括但不限于透明质酸或聚环氧乙烷。该物理凝胶可含有具有预定尺寸和形状的预成形材料。

在一些实施例中, 本文所述组合物可包括在应答刺激时降解或释放活性剂的材料。所述刺激的一些实例可以是机械刺激、光、温度变化、pH 变化、离子强度变化或电磁场。这些材料为本领域所熟知。这些材料的一些实例包括脱乙酰壳多糖、藻酸盐、泊洛沙姆(pluronic)、甲基纤维素、透明质酸和聚环氧乙烷。其它实例如 Brandl F, Sommer F, Goepferich A. "Rational design of hydrogels for tissue engineering: Impact of physical factors on cell behavior "in Biomaterials. Epub 2006 Sep 29 所述。

在一些实施例中, 本文所述组合物可包括一凝胶, 所述凝胶含有羟基磷灰石、磷灰石、磷酸三钙、磷酸钙、生物活性玻璃、人同种异体移植物骨和软骨、牛骨和软骨的任意一种或它们的混合物。

在一些实施例中, 包括上述任意一种凝胶的本文所述组合物可进一步包括一交联剂, 以进一步适应降解动力学和控制释放。备选地, 在一些实施例中, 本文所述组合物可包括一种含有上述凝胶中任何一种的互穿结构复合材料(interpenetrating phase composite)或互穿网络(EPN)。所述交联剂的一些实例包括但不限于普通交联剂(聚环氧乙烷、二甲基丙烯酸乙二醇

酯、N,N'-亚甲双丙烯酰胺、亚甲基双(4-异氰酸苯酯)、二甲基丙烯酸乙二醇酯、二乙烯基苯、异丁烯酸烯丙基酯、羰基二咪唑(carbodiimidazole)、磺酰氯、氯碳酸酯(chlorocarbonates)、n-羟基琥珀酰亚胺酯、琥珀酰亚胺酯、环氧化物、芳基卤、磺基琥珀酰亚胺酯和马来酰亚胺); 基于 PEG 的交联剂(如 MAL-dPEGx-NHS-酯、MAL-dPEGx 酸、双-MAL-dPEGx 等)以及光活化交联剂、基于 N-羟基琥珀酰亚胺的交联剂、二赖氨酸、三赖氨酸和四赖氨酸。

本文所述组合物可包括一载体。该载体可以是聚合物载体或非聚合物载体。在一些实施例中,载体可以是可生物降解的,比如通过酶或水解机制降解。载体的实例包括但不限于合成的可被吸收的聚合物,例如(但不限于)聚(α -羟基酸)例如聚(L-丙交酯)(PLLA)、聚(D,L-丙交酯)(PDLLA)、聚乙醇酸交酯(PGA)、聚(丙交酯-共-乙交酯)(PLGA)、聚(-己内酯)、聚(环丙烷基碳酸酯)、聚(对-二氧杂环己酮)、聚(己内酯-共-乙交酯)、聚(乙交酯-共-环丙烷基碳酸酯)、聚(D,L-乳酸-共-环丙烷基碳酸酯)、聚芳基化物、聚羟基丁酸酯(PHB)、聚酞类、聚(酸酐-共-酰亚胺)、丙烯-共-富马酸、聚内酯、聚酯类、聚碳酸酯、聚阴离子型聚合物、聚酞类、聚酯-酰胺、聚(氨基酸)、同多肽、聚(磷腈)(poly(phosphazenes))、聚(glaxanone)、多糖和聚(原酸酯)、羟乙酸乳酸聚酯、聚乳酸(polyglactic acid)、聚醛糖酸、聚丙烯酸、聚链烷酸酯(polyalkanoates)、共聚物和它们的混合物,以及任意衍生物和变体。参见例如美国专利 4,563,489 和 PCT Int 申请 WO/03024316,在此以引用方式并入本文作为参考。其它载体的实例包括纤维素聚合物,例如(但不限于)烷基纤维素、羟烷基纤维素、甲基纤维素、乙基纤维素、羟乙基纤维素、羟丙基纤维素、羟丙基甲基纤维素、羧甲基纤维素以及它们的阳离子盐。载体的其它实例包括合成的和天然生物陶瓷,例如(但不限于)碳酸钙、磷酸钙、磷灰石、生物活性玻璃材料和珊瑚衍生的磷灰石。实例参见美国专利申请号 2002187104; PCT Int 申请 WO/9731661 和 PCT Int 申请 WO/0071083,在此以引用方式并入本文作为参考。

在一实施例中,所述载体可进一步由组合物涂覆,包括生物玻璃和/或通过溶胶-凝胶技术或浸没技术制得的磷灰石,例如(但不限于)具有钙和磷酸盐浓度为天然血浆浓度的 1.5 到 7 倍的模拟人体体液,以及通过各种方式在温度大约为 15-65 摄氏度时调节使溶液的 pH 在 2.8-7.8 范围之内。参见,例如美国专利 6,426,114 和 6,013,591;以及 PCT Int 申请 WO/9117965,在此以引用方式并入本文作为参考。

载体的其它实例包括胶原(如 Collastat、吸收性胶原止血海绵(Helistat collagen sponges))、透明质烷、纤维蛋白、壳聚糖、藻酸盐和明胶。参见例如 PCT Int 申请 WO/9505846;

WO/02085422, 在此以引用方式并入本文作为参考。

在一实施例中, 所述载体可包括肝素结合剂, 包括但不限于肝素样聚合物, 如硫酸葡聚糖、硫酸软骨素、硫酸肝素、岩藻聚糖 (fucan)、藻酸盐或它们的衍生物; 以及以增加肝素亲和性的具有氨基酸修饰的肽片段。参见例如 *Journal of Biological Chemistry* (2003), 278(44), p. 43229-43235, 在此以引用方式并入本文作为参考。

在一实施例中, 所述组合物可以是液态、固态或凝胶状。在一实施例中, 所述底物 (substrate) 可以包括一流动凝胶形式的载体。该凝胶可选择可注射型的, 通过注射器注射到希望软骨形成的人体位置。所述凝胶可以通过主价键形成并受 pH、离子基和/或溶剂浓度控制的化学凝胶。该凝胶也可以是通过次级键形成并受温度和粘度控制的物理凝胶。凝胶的实例包括但不限于泊洛沙姆 (pluronic)、明胶、透明质烷、胶原、聚丙交酯-聚乙二醇溶液和共轭化合物、壳聚糖、壳聚糖 & b-磷酸甘油 (BST-凝胶)、藻酸盐、琼脂糖、羟丙基纤维素、甲基纤维素、聚环氧乙烷、在 N-甲基-2-吡咯烷酮中聚丙交酯/乙交酯。参见例如 *Anatomical Record* (2001), 263 (4), 342-349, 在此以引用方式并入本文作为参考。

在一实施例中, 所述载体可以为光聚合的, 如, 通过波长至少为 250nm 的电磁辐射。光聚合物包括聚乙烯(PEG)丙烯酸酯衍生物、PEG 异丁烯酸酯衍生物、丙烯富马酸-共-乙二醇、聚乙烯醇衍生物、PEG-共-聚(-羟基酸)二丙烯酸酯单体和改性多糖如透明质酸衍生物和葡聚糖-异丁烯酸酯。参见例如美国专利 5,410,016, 在此以引用方式并入本文作为参考。

在一实施例中, 所述底物可包括对温度敏感的载体。实例包括在较低的下部临界溶解温度 (LCST) 通过与结合异丁烯酸乙酯和 N-丙烯酰琥珀酰亚胺 (N-acryloxysuccinimide) 而结合的 N-异丙基丙烯酰胺 (NiPAM) 或改性 NiPAM 和加强肽 (如, NELL1) 制得的载体; 或由异丁烯酸烷基酯, 如异丁烯酸丁酯、异丁烯酸己酯和异丁烯酸十二烷基酯制得的载体。PCT Int 申请 WO/2001070288; 美国专利 5124151, 在此以引用方式并入本文作为参考。

在一实施例中, 所述载体具有修饰过的和/或通过能由受体调节机制结合促进细胞基质粘附的细胞粘附分子、粘附肽和粘附肽类似物和/或通过非受体调节机制结合促进粘附的分子部分固定化的表面, 所述分子部分例如但不限于聚阳离子聚氨基酸肽 (如多聚赖氨酸)、聚阴离子聚氨基酸肽、Mefp 类粘附分子和其它富含 DOPA 的肽 (如多聚赖氨酸-DOPA)、多糖和蛋白聚糖。实例请见 PCT Int 申请 WO/2004005421; WO/2003008376; WO/9734016, 在此以引用方式并入本文作为参考。

在一实施例中, 所述载体可包括各种天然形成的基质或它们的组份如失活性软骨基质、

脱钙骨基质或从同种异体移植物、异种移植物得到的其他组份，或从原核原虫类、原生生物、真菌类、植物或动物得到的任意其它天然形成的材料。

在一实施例中，所述载体可包括掩蔽剂例如但不限于胶原、明胶、透明质酸、藻酸盐、聚（乙二醇）、烷基纤维素（包括羟烷基纤维素）（包括甲基纤维素、乙基纤维素、羟乙基纤维素、羟丙基纤维素、羟丙基甲基纤维素和羧甲基纤维素）、血液、纤维蛋白、聚氧乙烯、硫酸钙半水化合物、磷灰石、聚羧乙烯和聚（乙烯醇）。实例参见美国专利 6,620,406，在此以引用方式并入本文作为参考。

在一实施例中，所述载体可包括表面活性剂，促进载体材料内 NELL1 的稳定性和/或分布，例如但不限于聚氧酯（如聚山梨醇酯 80、聚山梨醇酯 20 或泊洛沙姆 F-68 (Pluronic F-680)）。

在一实施例中，载体可包括缓冲剂例如但不限于甘氨酸、谷氨酸盐酸盐、氯化钠、胍、肝素、谷氨酸盐酸盐、醋酸、琥珀酸、聚山梨醇酯、硫酸葡聚糖、蔗糖和氨基酸。例子参见美国专利 5,385,887，在此以引用方式并入本文作为参考。在一实施例中，所述载体可包括上述材料的混合物。例如，所述载体可以是 PLGA/胶原载体膜。该膜可在含有 NELL1 肽的溶液中浸湿。

在一个实施例中，用于人体的移植物可包括含有有效量的诱导移植物附近的软骨形成或修复的 NELL1 的底物。

在一实施例中，用于人体的移植物可包括一具有表面含有足够量的 NELL1 以诱导在所述移植物附近的软骨形成或修复的底物。

在一实施例中，用于人体的移植物可包括一具有表面含有有效量的软骨形成细胞和 NELL1 以诱导软骨形成或修复的底物。在一实施例中，所述移植物可植入细胞包括但不限于自体细胞、软骨形成细胞或成骨细胞、表达 NELL1 的细胞或其它软骨形成分子。

一移植物可包括网状、针状、螺钉状、片状或假关节状的底物。例如，底物可以是牙科或矫形外科移植物的形状，而 NELL1 可用于加强移植物与附近的骨的结合。一移植物可包括一可吸收的底物，如含有胶原的底物。

所述 NELL1 肽可与一可接受载体结合，以形成一药用组合物。可接受载体可含有用于例如稳定所述组合物或提高或降低所述药剂的吸收的生理适用化合物。生理适用化合物可包括例如碳水化合物（如葡萄糖、蔗糖或葡聚糖）、抗氧化剂（如抗坏血酸或谷胱甘肽）、螯合剂、低分子量蛋白质、能够降低抗有丝分裂剂的清除或水解的组合物、或赋形剂或其它稳定剂和/或缓冲剂。

其它生理适用化合物包括润湿剂、乳化剂、分散剂或对抑制微生物生长或活动特别有效的防腐剂。各种防腐剂都是众所周知的，包括例如苯酚和抗坏血酸。本领域技术人员应能够理解，载体的选择，包括生理适用化合物例如取决于给药途径。

所述组合物可根据给药方法以各种单位剂型施用。例如，适用的单位剂型可包括粉末或可注射的或可塑的糊剂或悬浮液。

本发明所述组合物可包括所述溶于可药用载体（如水溶性肽的水溶液载体）的 NELL1 肽溶液。可采用各种载体例如缓冲盐溶液等等。这些溶液是无菌的，一般不含有不需要的物质。这些组合物可通过常规的众所周知的灭菌技术进行灭菌。所述组合物可含有可药用的辅助材料以符合生理条件（如 pH 调节和缓冲剂、毒性调节剂等），例如乙酸钠、氯化钠、氯化钾、氯化钙、乳酸钠等。

这些制剂中的 NELL1 肽浓度差别很大，且主要根据流体体积、粘度、体重等进行选择，以符合所选用的特定的给药方式和患者的需要。

根据记录的临床适应症以及不同患者的变量（如体重、年龄、性别）和临床表现（如受伤程度、受伤位置等）确定给药方案。

但是，本发明中有用的治疗有效量的 NELL1 肽或药剂是对患者具有正面的临床效果或在细胞中具有想要的效果，并通过对如以上所述的所述药剂加强软骨形成的分化以促进软骨形成或修复的性能进行检测。每一肽或药剂的治疗有效剂量可进行调节，在减轻负面副作用的同时达到希望的临床效果。在为特定患者制定适当的单独的给药方案和剂量水平时，可根据给药途径、疾病的严重性、患者年龄和体重、患者当前服用的其它药物和主治医师正常考虑的其它因素针对每一患者选择所述肽或药剂的剂量。

装置

所述组合物可按配方制成一任意希望形式的可注射或可移植的装置。一些典型的装置可用于椎间盘核置换、膝半月板置换、腕三角纤维软骨置换、颞下颌关节置换、关节软骨置换，并可由以下物质组成：具有预成形形状和附着特征以固定下面的骨骼的多孔支架；可通过手动操作重新成型并通过使用光处理其新的形状的具有预先成形形状的粘胶；或能够在原处聚合的低粘度液体。例如，所述组合物可制成一用于软骨形成的单一的混合物（或简单的混合物）。

在一些实施例中，所述组合物可按配方制成包含特定设计的组织特异性的层的单一装置，如，期望具有一与所述坚硬组织固定的骨层，然后一直接接近所述骨层的软骨层。

在一些实施例中，所述配方可按配方制成允许多样组织形成和自组装的单一混合物，如，具有双亲和性官能团的聚合物或单体可自组装成宏观结构（macroscopic structures）。

在一些实施例中，当含有本文所述组合物的装置含有一细胞，该装置可受移植前刺激。例如，将该装置置于具有可控机械刺激（频率、占空系数、振幅等）的机械生物反应器中；据报道，频率范围在 0.01Hz 到 10,000Hz 之间，占空系数高于 10%，振幅的范围在 0.1-100% 变形（strain）之间就可以增强细胞功能。在一些实施例中，本文所述装置可置于具有可控微流体和剪切力（当至少有一个流径或通道的尺寸小于 1mm 时形成）的机械生物反应器中。在一些实施例中，本文所述的装置可通过在细胞收获后立即直接植入的方式植入在人体。

在一些实施例中，本文所述组合物可形成下列装置实例中的任意一种，这是举例说明但不能视为限制提出权利要求的本发明：

含有 NELL 蛋白（含有或不含有细胞）的可直接注射/移植到椎间盘以促进软骨形成的可注射/可移植装置；

用 NELL 浸透的椎间盘核置换装置，其是设计用来置换椎间盘（所述核）的内部或所述椎间盘的内部和外部的；

含有 NELL（含有或不含有细胞）的可直接注射到各种关节腔（如膝、颞下颌关节、腕）或通过关节镜植入或直接植入到各种关节腔中的可注射/可移植装置；

含有 NELL 核酸（具有或不具有载体，如病毒）（含有或不含有细胞）的可直接注射/移植到椎间盘中以促进软骨形成的可注射/可移植装置；

用 NELL 核酸（具有或不具有载体，如病毒）浸透的椎间盘核置换装置，其是设计用来置换椎间盘（所述核）的内部或椎间盘的内部和外部的；

包含 NELL 核酸（具有或不具有载体，如病毒）（含有或不含有细胞）的可直接注射到各种关节腔中（如，膝、颞下颌关节、腕）或通过关节镜植入或直接植入各种关节腔中的可注射/可移植装置；

包含 NELL 蛋白（含有或不含有细胞）和其它因子的可直接注射/移植到椎间盘中以促进软骨形成的可注射/可移植装置；

用 NELL 和其它因子浸透的椎间盘细胞核置换装置，其是设计用来置换椎间盘（所述核）的内部或椎间盘的内部和外部的；

含有 NELL 和其它因子（含有或不含有细胞）的可直接注射到各种关节腔中（如，膝、颞下颌关节、腕）或通过关节镜植入或直接植入各种关节腔中的可注射/可移植装置；

含有 NELL 核酸和其它因子（具有或不具有载体，如病毒）（含有或不含有细胞）的可直接注射/移植到椎间盘中以促进软骨形成的可注射/可移植装置；

用 NELL 核酸（具有或不具有载体，如病毒）（含有或不含有细胞）浸透的可注射/可移植装置，其是设计用来置换椎间盘（所述核）的内部或椎间盘的内部和外部的；

含有 NELL 核酸（具有或不具有载体，如病毒）（含有或不含有细胞）的可直接注射到各种关节腔中（如，膝、颞下颌关节、腕）或通过关节镜植入或直接植入各种关节腔中的可注射/可移植装置。

剂量

NELL 肽和其它药剂的剂量可根据基于药剂种类、疾病和其它因素如年龄和性别的本领域熟知的方法进行确定。

在一实施例中，在具有或不具有一特定的载体或支架的情况下，用于软骨形成或修复的 NELL 肽的剂量范围一般从 0.001 pg/mm^2 到 1 pg/mm^2 不等，或优选从 0.001 ng/mm^2 到 1 ng/mm^2 ，或优选从 $0.001 \text{ } \mu\text{g/mm}^2$ 到 $1 \text{ } \mu\text{g/mm}^2$ ，或优选从 0.001 mg/mm^2 到 1 mg/mm^2 ，或优选从 0.001 g/mm^2 到 1 g/mm^2 ，具有或没有一个特殊载体或支架材料。在另一实施例中，在具有或不具有一特定载体或支架的情况下，用于软骨形成或修复的 NELL 肽的剂量范围一般从 0.001 pg/ml 到 1 pg/ml ，或优选从 0.001 ng/ml 到 1 ng/ml ，或优选从 $0.001 \text{ } \mu\text{g/ml}$ 到 $1 \text{ } \mu\text{g/ml}$ ，或优选从 0.001 mg/ml 到 1 mg/ml ，或优选从 0.001 g/ml 到 100 g/ml 。然而在另一实施例中，在具有或不具有一特定载体或支架的情况下，用于软骨形成或修复的 NELL 肽的剂量范围一般从 0.001 pg/kg 到 1 pg/kg ，或优选从 0.001 ng/kg 到 1 ng/kg ，或优选从 $0.001 \text{ } \mu\text{g/kg}$ 到 $1 \text{ } \mu\text{g/kg}$ ，或优选从 0.001 mg/kg 到 1 mg/kg ，或优选从 0.001 gm/kg 到 1 gm/kg ，或优选从 0.001 kg/kg 到 1 kg/kg 。此外，应该理解的是，所有剂量可连续提供或分成给定的每一个特定时间范围的剂量。时间范围的实例包括但不限于每一小时、每两小时、每四个小时、每六个小时、每八个小时、每十二小时、每二十四个小时、每四十八个小时、或每七十二个小时、或每周、每两周、每四周、或每月、每两个月、每四个月等等。

但是，因为 NELL 肽对于体外成骨细胞凋亡具有影响（Zhang, X., et al., J Bone Miner Res, 2003. 18(12): p. 2126-34），显著超过最佳范围的 NELL 剂量（如 NELL1 剂量）不能促进软骨形成或修复。因此，NELL 肽的更优选地剂量不能显著地超过所述最佳剂量范围。根据诸如类型、年龄、位置和哺乳动物受试者性别、采用的载体或支架材料以及不同 NELL 肽的纯度和功效等因素，NELL 肽更优选的最佳剂量范围也会不同。在一实施例中，所述 NELL 肽更

优选的最佳剂量范围包括但不限于从 1 ng/mm^2 到 100 ng/mm^2 , 或更优选从 100 ng/mm^2 到 1000 ng/mm^2 , 或更优选从 $1 \text{ } \mu\text{g/mm}^2$ 到 $100 \text{ } \mu\text{g/mm}^2$, 或更优选从 $100 \text{ } \mu\text{g/mm}^2$ 到 $1000 \text{ } \mu\text{g/mm}^2$ 。在另一实施例中, 所述 NELL 肽更优选的最佳剂量范围包括但不限于从 1 ng/ml 到 100 ng/ml , 或更优选从 100 ng/ml 到 1000 ng/ml , 或更优选从 $1 \text{ } \mu\text{g/ml}$ 到 $100 \text{ } \mu\text{g/ml}$, 或更优选从 $100 \text{ } \mu\text{g/ml}$ 到 $1000 \text{ } \mu\text{g/ml}$ 。然而在另一实施例中, 具有或不具有特定载体或支架的情况下, 用于软骨形成或修复的 NELL 肽的更优选的最佳剂量范围一般在 $1 \text{ } \mu\text{g/kg}$ 到 $100 \text{ } \mu\text{g/kg}$ 之间, 或更优选在 $100 \text{ } \mu\text{g/kg}$ 到 $1000 \text{ } \mu\text{g/kg}$ 之间, 或更优选在 1 mg/kg 到 100 mg/kg 之间。此外, 应该理解的是, 所有剂量可连续提供或分成给定的每一个特定时间范围的剂量。时间范围的实例包括但不限于每一小时、每两小时、每四个小时、每六个小时、每八个小时、每十二小时、每二十四个小时、每四十八个小时或每七十二个小时、或每周、每两周、每四周、或每月、每两个月、每四个月等。本文中所述术语“显著超过所述最佳范围”是指, 例如, 超过最佳范围大约 1% 到 50%, 大约 5% 到 50%, 大约 10% 到 50%, 大约 20% 到 50%, 大约 30% 到 50% 或大约 40% 到 50%。

NELL 肽抑制剂的剂量根据抑制剂种类, 治疗、预防或改善的骨或软骨疾病, 以及接受含有抑制剂的所述组合物的哺乳动物受试者的年龄、位置和性别而发生变化。一般来说, 具有或不具有特定载体或支架的情况下, NELL 肽抑制剂的剂量的范围是但不限于: 0.001 pg/mm^2 和 1 pg/mm^2 之间, 或优选在 0.001 ng/mm^2 和 1 ng/mm^2 之间, 或优选在 $0.001 \text{ } \mu\text{g/mm}^2$ 和 $1 \text{ } \mu\text{g/mm}^2$ 之间, 或优选在 0.001 mg/mm^2 到 1 mg/mm^2 之间, 或优选在 0.001 g/mm^2 和 1 g/mm^2 之间。在另一实施例中, 具有或不具有特定载体或支架的情况下, NELL 肽抑制剂的剂量范围一般在 0.001 pg/ml 和 1 pg/ml 之间, 或优选在 0.001 ng/ml 和 1 ng/ml 之间, 或优选在 $0.001 \text{ } \mu\text{g/ml}$ 和 $1 \text{ } \mu\text{g/ml}$ 之间, 或优选在 0.001 mg/ml 和 1 mg/ml 之间, 或优选在 0.001 g/ml 和 100 g/ml 之间。然而在另一实施例中, 具有或不具有特定载体或支架的情况下, NELL 肽抑制剂的剂量范围一般在 0.001 pg/kg 和 1 pg/kg 之间, 或优选在 0.001 ng/kg 和 1 ng/kg 之间, 或优选在 $0.001 \text{ } \mu\text{g/kg}$ 和 $1 \text{ } \mu\text{g/kg}$ 之间, 或优选在 0.001 mg/kg 和 1 mg/kg 之间, 或优选在 0.001 gm/kg 和 1 gm/kg 之间, 或优选在 0.001 kg/kg 和 1 kg/kg 之间。此外, 应该理解的是, 所有剂量可连续提供或分成给定的每一个特定的时间范围的剂量。时间范围的实例包括但不限于每一小时、每两小时、每四个小时、每六个小时、每八个小时、每十二小时、每二十四个小时、每四十八个小时、或每七十二个小时、或每周、每两周、每四周、或每月、每两个月、每四个月等。

NELL 肽受体调节剂的剂量根据抑制剂种类, 受体种类, 治疗、预防或改善的骨或软骨

疾病, 以及接受含有 NELL 肽受体调节剂的组合物的哺乳动物受试者的年龄、位置和性别而发生变化。一般来说, 具有或不具有特定载体或支架的情况下, NELL 肽受体调节剂的剂量的范围是但不限于: 0.001 pg/mm^2 和 1 pg/mm^2 之间, 或优选在 0.001 ng/mm^2 和 1 ng/mm^2 之间, 或优选在 $0.001 \text{ } \mu\text{g/mm}^2$ 和 $1 \text{ } \mu\text{g/mm}^2$ 之间, 或优选在 0.001 mg/mm^2 到 1 mg/mm^2 之间, 或优选在 0.001 g/mm^2 和 1 g/mm^2 之间。在另一实施例中, 具有或不具有特定载体或支架的情况下, NELL 肽受体调节剂的剂量范围一般在 0.001 pg/ml 和 1 pg/ml 之间, 或优选在 0.001 ng/ml 和 1 ng/ml 之间, 或优选在 $0.001 \text{ } \mu\text{g/ml}$ 和 $1 \text{ } \mu\text{g/ml}$ 之间, 或优选在 0.001 mg/ml 和 1 mg/ml 之间, 或优选在 0.001 g/ml 和 100 g/ml 之间。然而在另一实施例中, 具有或不具有特定载体或支架的情况下, NELL 肽受体调节剂的剂量范围一般在 0.001 pg/kg 和 1 pg/kg 之间, 或优选在 0.001 ng/kg 和 1 ng/kg 之间, 或优选在 $0.001 \text{ } \mu\text{g/kg}$ 和 $1 \text{ } \mu\text{g/kg}$ 之间, 或优选在 0.001 mg/kg 和 1 mg/kg 之间, 或优选在 0.001 gm/kg 和 1 gm/kg 之间, 或优选在 0.001 kg/kg 和 1 kg/kg 之间。此外, 应该理解的是, 所有剂量可连续提供或分成给定的每一个特定的时间范围的剂量。时间范围的实例包括但不限于每一小时、每两小时、每四个小时、每六个小时、每八个小时、每十二小时、每二十四个小时、每四十八个小时、或每七十二个小时、或每周、每两周、每四周、或每月、每两个月、每四个月等。

剂型

包括在所述剂型中的一药剂治疗有效剂量可通过考虑所选药剂种类和给药途径进行选择。所述剂型可包括一和其它惰性成分混合的药剂, 所述惰性成分包括辅剂和可药用载体, 以方便给患者施药, 正如药学领域的技术人员所知一样。

在一实施例中, 本发明可包括治疗患者以诱导软骨形成的一方法, 包括在选定的时间间隔内施用临床有效剂量的和有效剂型的 NELL1 肽, 以增强软骨形成或修复。该方法可进一步包括在期望软骨形成或修复的区域施用至少一第二药剂, 包括但不限于 TGF- β 、BMP2、BMP4、BMP7、bFGF、VEGF、PDGF、胶原、骨、骨基质、腱基质或韧带基质、软骨形成细胞或成骨细胞。

在一实施例中, 治疗患者以诱导软骨形成或修复的方法可包括收获哺乳动物软骨形成细胞、提高与软骨形成细胞有关系的 NELL1 肽表达浓度以及将所述软骨形成细胞施用到期望软骨形成或修复的区域。

实例

下列实例用来进行说明, 但不是限制本发明。

包含 NELL（具有或不具有细胞）的一可注射装置可直接注射到椎间盘，促进软骨形成。NELL 浸透的椎间盘核置换装置被设计为置换所述椎间盘（所述核）的内部或所述椎间盘的内部和外部。包含 NELL（具有或不具有细胞）的一可注射装置可直接注射到各种关节腔中（如膝、颞下颌关节、腕）或用关节镜植入或直接植入各种关节腔中。

实施例 2. 无必需的矿化下软骨分化、成熟和肥大

采用 NELL1 过表达转基因小鼠会显现改变的膜内或软骨内骨化的原理生产 NELL1 转基因过表达小鼠。本发明采用 NELL1 转基因小鼠的 F2 后代进行试验。各种型的 NELL1 过表达小鼠的组织学表明，没有必需的矿化的情况下在透明软骨区（图 1）和纤维软骨区（图 2A-2F）增强了软骨分化、成熟和肥大。

山羊的耳廓软骨被切成 1×3mm 的碎片，并在室温下采用 0.25%胰蛋白酶/1mM EDTA 消化 30 分钟，接着用 3mg/ml 的胶原酶 II（Sigma, St Louis, MO, USA）在 37℃下摇动消化 6 小时。所述细胞悬浮液经过 70mm 过滤器过滤，然后软骨细胞经过离心造粒。用 PBS 冲洗后，细胞含 10%的胎牛血清（Hyclone, Logan, UT, USA）、100U/ml 青霉素和 100mg/l 链霉素的 DMEM（Gibco BRL, Grand Island, NY, USA）中在 37℃和 5% CO₂ 下培养。接着，采用 AdNELL1、AdBMP2 或 AdLacZ 处理/转导所述细胞。体外转导效率通过 β-半乳糖苷酶染色进行评定（图 3）。细胞与泊洛沙姆 F127（pluronic F127）（Sigma）混合，作为普通载体用于裸鼠皮下注射/或移植，然后在 2 周（图 6）或 4 周（图 4、5、7-9）检测。每一位点注射/移植总计八百万个细胞。

高分辨率显微计算机辅助断层摄影技术（显微 CT），在 μCT40（Scanco Medical, Basserdorf, Switzerland）上采用 9-20μm 分辨技术，对样品试验四周（图 5）。在 55kVp 和 145μA 收集显微 CT 数据，采用 Scanco 提供的显微 CT 扫描仪的锥束算法进行重建。通过采用 Scanco Medical 提供的 μCT Ray T3.3 和 μCT 评估程序 V5.0 进行数据可视化和重建。

处理收获的样本并嵌入固体石蜡中。采用切片机（McBain Instruments, Chatsworth, CA）切成 6 微米厚的切片，并置于聚-L-赖氨酸包覆的多聚赖氨酸载玻片上（Erie Scientific Company, Portsmouth, NH），在 37℃烘烤过夜。使用苏木精和伊红（H&E）为样本染色。其它分析使用阿尔新蓝进行染色。切片采用阿尔新蓝溶液染色 30 分钟后，采用 3%的冰醋酸冲洗，然后用水冲洗。接着，采用核固红（nuclear fast red）溶液对切片复染色，然后在蒸馏水里清洗。最后，切片在乙醇中进行脱水，然后用二甲苯清洗（图 6 和 7），用 permount 进行封片。

6 微米厚的切片在二甲苯中进行脱蜡，并在乙醇浴中再水化。在 37℃，用 20μg/ml 蛋白酶 K 对切片进行酶处理 10 分钟，以恢复抗原，接着在室温条件下利用 5%的马血清封闭两个小时。切片与适当的一级抗体在 4℃孵化过夜，然后在室温下与生物素酰化的抗兔 IgG 二级抗体 (Vector Laboratories, Burlingame, CA) 孵化一小时。根据制造商说明，使用 Vectastain ABC 药剂和 AEC 显色剂 (都来自 Vector 实验室) 检测阳性免疫反应性。每一抗体的对照包括在不存在一级抗体情况下采用二级抗体孵化。切片采用苏木精复染色两分钟，接着用自来水冲洗 10 分钟。采用水性封固剂与盖玻片封片。

虽然已介绍了本发明的个别实施例，但是对于本领域技术人员显而易见的是，从广义方面来说，不需要背离本发明就可以进行改变和修饰。因此，在落入在本发明的实际目的和范围内，附加的权利要求用来将所有所述改变和修饰包括入它们的范围之内。

SEQUENCE LISTING

<110> The Regents of the University of California
Ting, Kang
Wu, Ben
Soo, Chia

<120> Composition For Cartilage

<130> 39370.00080
<140> PCT/US2007/083655
<141> 2007-11-05

<150> US 11/594,510
<151> 2006-11-07

<160> 14

<170> FastSEQ for Windows Version 4.0

<210> 1
<211> 2433
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> CDS
<222> (1)... (2433)

<400> 1
atg ccg atg gat ttg att tta gtt gtg tgg ttc tgt gtg tgc act gcc 48
Met Pro Met Asp Leu Ile Leu Val Val Trp Phe Cys Val Cys Thr Ala
1 5 10 15
agg aca gtg gtg ggc ttt ggg atg gac cct gac ctt cag atg gat atc 96
Arg Thr Val Val Gly Phe Gly Met Asp Pro Asp Leu Gln Met Asp Ile
20 25 30
gtc acc gag ctt gac ctt gtg aac acc acc ctt gga gtt gct cag gtg 144
Val Thr Glu Leu Asp Leu Val Asn Thr Thr Leu Gly Val Ala Gln Val
35 40 45
tct gga atg cac aat gcc agc aaa gca ttt tta ttt caa gac ata gaa 192
Ser Gly Met His Asn Ala Ser Lys Ala Phe Leu Phe Gln Asp Ile Glu
50 55 60
aga gag atc cat gca gct cct cat gtg agt gag aaa tta att cag ctg 240
Arg Glu Ile His Ala Ala Pro His Val Ser Glu Lys Leu Ile Gln Leu
65 70 75 80
ttc cag aac aag agt gaa ttc acc att ttg gcc act gta cag cag aag 288
Phe Gln Asn Lys Ser Glu Phe Thr Ile Leu Ala Thr Val Gln Gln Lys
85 90 95
cca tcc act tca gga gtg ata ctg tcc att cga gaa ctg gag cac agc 336
Pro Ser Thr Ser Gly Val Ile Leu Ser Ile Arg Glu Leu Glu His Ser
100 105 110
tat ttt gaa ctg gag agc agt ggc ctg agg gat gag att cgg tat cac 384
Tyr Phe Glu Leu Glu Ser Ser Gly Leu Arg Asp Glu Ile Arg Tyr His
115 120 125
tac ata cac aat ggg aag cca agg aca gag gca ctt cct tac cgc atg 432
Tyr Ile His Asn Gly Lys Pro Arg Thr Glu Ala Leu Pro Tyr Arg Met
130 135 140
gca gat gga caa tgg cac aag gtt gca ctg tca gtt agc gcc tct cat 480
Ala Asp Gly Gln Trp His Lys Val Ala Leu Ser Val Ser Ala Ser His
145 150 155 160
ctc ctg ctc cat gtc gac tgt aac agg att tat gag cgt gtg ata gac 528
Leu Leu Leu His Val Asp Cys Asn Arg Ile Tyr Glu Arg Val Ile Asp
165 170 175

cct cca gat acc aac ctt ccc cca gga atc aat tta tgg ctt ggc cag Pro Pro Asp Thr Asn Leu Pro Pro Gly Ile Asn Leu Trp Leu Gly Gln 180 185 190	576
cgc aac caa aag cat ggc tta ttc aaa ggg atc atc caa gat ggg aag Arg Asn Gln Lys His Gly Leu Phe Lys Gly Ile Ile Gln Asp Gly Lys 195 200 205	624
atc atc ttt atg ccg aat gga tat ata aca cag tgt cca aat cta aat Ile Ile Phe Met Pro Asn Gly Tyr Ile Thr Gln Cys Pro Asn Leu Asn 210 215 220	672
cac act tgc cca acc tgc agt gat ttc tta agc ctg gtg caa gga ata His Thr Cys Pro Thr Cys Ser Asp Phe Leu Ser Leu Val Gln Gly Ile 225 230 235 240	720
atg gat tta caa gag ctt ttg gcc aag atg act gca aaa cta aat tat Met Asp Leu Gln Glu Leu Ala Lys Met Thr Ala Lys Leu Asn Tyr 245 250 255	768
gca gag aca aga ctt agt caa ttg gaa aac tgt cat tgt gag aag act Ala Glu Thr Arg Leu Ser Gln Leu Asn Cys His Cys Glu Lys Thr 260 265 270	816
tgt caa gtg agt gga ctg ctc tat cga gat caa gac tct tgg gta gat Cys Gln Val Ser Gly Leu Leu Tyr Arg Asp Gln Asp Ser Trp Val Asp 275 280 285	864
ggg gac cat tgc agg aac tgc act tgc aaa agt ggt gcc gtg gaa tgc Gly Asp His Cys Arg Asn Cys Thr Cys Lys Ser Gly Ala Val Glu Cys 290 295 300	912
cga agg atg tcc tgt ccc cct ctc aat tgc tcc cca gac tcc ctc cca Arg Arg Met Ser Cys Pro Pro Leu Asn Cys Ser Pro Asp Ser Leu Pro 305 310 315 320	960
gta cac att gct ggc cag tgc tgt aag gtc tgc cga cca aaa tgt atc Val His Ile Ala Gly Gln Cys Cys Lys Val Cys Arg Pro Lys Cys Ile 325 330 335	1008
tat gga gga aaa gtt ctt gca gaa ggc cag cgg att tta acc aag agc Tyr Gly Gly Lys Val Leu Ala Glu Gly Gln Arg Ile Leu Thr Lys Ser 340 345 350	1056
tgt cgg gaa tgc cga ggt gga gtt tta gta aaa att aca gaa atg tgt Cys Arg Glu Cys Arg Gly Gly Val Leu Val Lys Ile Thr Glu Met Cys 355 360 365	1104
cct cct ttg aac tgc tca gaa aag gat cac att ctt cct gag aat cag Pro Pro Leu Asn Cys Ser Glu Lys Asp His Ile Leu Pro Glu Asn Gln 370 375 380	1152
tgc tgc cgt gtc tgt aga ggt cat aac ttt tgt gca gaa gga cct aaa Cys Cys Arg Val Cys Arg Gly His Asn Phe Cys Ala Glu Gly Pro Lys 385 390 395 400	1200
tgt ggt gaa aac tca gag tgc aaa aac tgg aat aca aaa gct act tgt Cys Gly Glu Asn Ser Glu Cys Lys Asn Trp Asn Thr Lys Ala Thr Cys 405 410 415	1248
gag tgc aag agt ggt tac atc tct gtc cag gga gac tct gcc tac tgt Glu Cys Lys Ser Gly Tyr Ile Ser Val Gln Gly Asp Ser Ala Tyr Cys 420 425 430	1296
gaa gat att gat gag tgt gca gct aag atg cat tac tgt cat gcc aat Glu Asp Ile Asp Glu Cys Ala Lys Met His Tyr Cys His Ala Asn 435 440 445	1344
act gtg tgt gtc aac ctt cct ggg tta tat cgc tgt gac tgt gtc cca Thr Val Cys Val Asn Leu Pro Gly Leu Tyr Arg Cys Asp Cys Val Pro 450 455 460	1392
gga tac att cgt gtg gat gac ttc tct tgt aca gaa cac gat gaa tgt Gly Tyr Ile Arg Val Asp Asp Phe Ser Cys Thr Glu His Asp Glu Cys 460	1440

465	470	475	480	
ggc agc ggc cag cac aac tgt gat gag aat gcc atc tgc acc aac act Gly Ser Gly Gln His Asn Cys Asp Glu Asn Ala Ile Cys Thr Asn Thr	485	490	495	1488
gtc cag gga cac agc tgc acc tgc aaa ccg gcc tac gtg ggg aac ggg Val Gln Gly His Ser Cys Thr Cys Lys Pro Gly Tyr Val Gly Asn Gly	500	505	510	1536
acc atc tgc aga gct ttc tgt gaa gag gcc tgc aga tac ggt gga acg Thr Ile Cys Arg Ala Phe Cys Glu Glu Gly Cys Arg Tyr Gly Gly Thr	515	520	525	1584
tgt gtg gct ccc aac aaa tgt gtc tgt cca tct gga ttc aca gga agc Cys Val Ala Pro Asn Lys Cys Val Cys Pro Ser Gly Phe Thr Gly Ser	530	535	540	1632
cac tgc gag aaa gat att gat gaa tgt tca gag gga atc att gag tgc His Cys Glu Lys Asp Ile Asp Glu Cys Ser Glu Gly Ile Ile Glu Cys	545	550	555	1680
cac aac cat tcc cgc tgc gtt aac ctg cca ggg tgg tac cac tgt gag His Asn His Ser Arg Cys Val Asn Leu Pro Gly Trp Tyr His Cys Glu	565	570	575	1728
tgc aga agc ggt ttc cat gac gat ggg acc tat tca ctg tcc ggg gag Cys Arg Ser Gly Phe His Asp Asp Gly Thr Tyr Ser Leu Ser Gly Glu	580	585	590	1776
tcc tgt att gac att gat gaa tgt gcc tta aga act cac acc tgt tgg Ser Cys Ile Asp Ile Asp Glu Cys Ala Leu Arg Thr His Thr Cys Trp	595	600	605	1824
aac gat tct gcc tgc atc aac ctg gca ggg ggt ttt gac tgt ctc tgc Asn Asp Ser Ala Cys Ile Asn Leu Ala Gly Gly Phe Asp Cys Leu Cys	610	615	620	1872
ccc tct ggg ccc tcc tgc tct ggt gac tgt cct cat gaa ggg ggg ctg Pro Ser Gly Pro Ser Cys Ser Gly Asp Cys Pro His Glu Gly Gly Leu	625	630	635	1920
aag cac aat ggc cag gtg tgg acc ttg aaa gaa gac agg tgt tct gtc Lys His Asn Gly Gln Val Trp Thr Leu Lys Glu Asp Arg Cys Ser Val	645	650	655	1968
tgc tcc tgc aag gat ggc aag ata ttc tgc cga cgg aca gct tgt gat Cys Ser Cys Lys Asp Gly Lys Ile Phe Cys Arg Arg Thr Ala Cys Asp	660	665	670	2016
tgc cag aat cca agt gct gac cta ttc tgt tgc cca gaa tgt gac acc Cys Gln Asn Pro Ser Ala Asp Leu Phe Cys Cys Pro Glu Cys Asp Thr	675	680	685	2064
aga gtc aca agt caa tgt tta gac caa aat ggt cac aag ctg tat cga Arg Val Thr Ser Gln Cys Leu Asp Gln Asn Gly His Lys Leu Tyr Arg	690	695	700	2112
agt gga gac aat tgg acc cat agc tgt cag cag tgt cgg tgt ctg gaa Ser Gly Asp Asn Trp Thr His Ser Cys Gln Gln Cys Arg Cys Leu Glu	705	710	715	2160
gga gag gta gat tgc tgg cca ctc act tgc ccc aac ttg agc tgt gag Gly Glu Val Asp Cys Trp Pro Leu Thr Cys Pro Asn Leu Ser Cys Glu	725	730	735	2208
tat aca gct atc tta gaa ggg gaa tgt tgt ccc cgc tgt gtc agt gac Tyr Thr Ala Ile Leu Glu Gly Glu Cys Cys Pro Arg Cys Val Ser Asp	740	745	750	2256
ccc tgc cta gct gat aac atc acc tat gac atc aga aaa act tgc ctg Pro Cys Leu Ala Asp Asn Ile Thr Tyr Asp Ile Arg Lys Thr Cys Leu	755	760	765	2304
gac agc tat ggt gtt tca cgg ctt agt ggc tca gtg tgg acg atg gct				2352

Asp	Ser	Tyr	Gly	Val	Ser	Arg	Leu	Ser	Gly	Ser	Val	Trp	Thr	Met	Ala		
770						775					780						
gga	tct	ccc	tgc	aca	acc	tgt	aaa	tgc	aag	aat	gga	aga	gtc	tgt	tgt		2400
Gly	Ser	Pro	Cys	Thr	Thr	Cys	Lys	Cys	Lys	Asn	Gly	Arg	Val	Cys	Cys		
785					790					795					800		
tct	gtg	gat	ttt	gag	tgt	ctt	caa	aat	aat	tga							2433
Ser	Val	Asp	Phe	Glu	Cys	Leu	Gln	Asn	Asn	*							
				805					810								

<210> 2
 <211> 810
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 2
 Met Pro Met Asp Leu Ile Leu Val Val Trp Phe Cys Val Cys Thr Ala
 1 5 10 15
 Arg Thr Val Val Gly Phe Gly Met Asp Pro Asp Leu Gln Met Asp Ile
 20 25 30
 Val Thr Glu Leu Asp Leu Val Asn Thr Thr Leu Gly Val Ala Gln Val
 35 40 45
 Ser Gly Met His Asn Ala Ser Lys Ala Phe Leu Phe Gln Asp Ile Glu
 50 55 60
 Arg Glu Ile His Ala Ala Pro His Val Ser Glu Lys Leu Ile Gln Leu
 65 70 75 80
 Phe Gln Asn Lys Ser Glu Phe Thr Ile Leu Ala Thr Val Gln Gln Lys
 85 90 95
 Pro Ser Thr Ser Gly Val Ile Leu Ser Ile Arg Glu Leu Glu His Ser
 100 105 110
 Tyr Phe Glu Leu Glu Ser Ser Gly Leu Arg Asp Glu Ile Arg Tyr His
 115 120 125
 Tyr Ile His Asn Gly Lys Pro Arg Thr Glu Ala Leu Pro Tyr Arg Met
 130 135 140
 Ala Asp Gly Gln Trp His Lys Val Ala Leu Ser Val Ser Ala Ser His
 145 150 155 160
 Leu Leu Leu His Val Asp Cys Asn Arg Ile Tyr Glu Arg Val Ile Asp
 165 170 175
 Pro Pro Asp Thr Asn Leu Pro Pro Gly Ile Asn Leu Trp Leu Gly Gln
 180 185 190
 Arg Asn Gln Lys His Gly Leu Phe Lys Gly Ile Ile Gln Asp Gly Lys
 195 200 205
 Ile Ile Phe Met Pro Asn Gly Tyr Ile Thr Gln Cys Pro Asn Leu Asn
 210 215 220
 His Thr Cys Pro Thr Cys Ser Asp Phe Leu Ser Leu Val Gln Gly Ile
 225 230 235 240
 Met Asp Leu Gln Glu Leu Leu Ala Lys Met Thr Ala Lys Leu Asn Tyr
 245 250 255
 Ala Glu Thr Arg Leu Ser Gln Leu Glu Asn Cys His Cys Glu Lys Thr
 260 265 270
 Cys Gln Val Ser Gly Leu Leu Tyr Arg Asp Gln Asp Ser Trp Val Asp
 275 280 285
 Gly Asp His Cys Arg Asn Cys Thr Cys Lys Ser Gly Ala Val Glu Cys
 290 295 300
 Arg Arg Met Ser Cys Pro Pro Leu Asn Cys Ser Pro Asp Ser Leu Pro
 305 310 315 320
 Val His Ile Ala Gly Gln Cys Cys Lys Val Cys Arg Pro Lys Cys Ile
 325 330 335
 Tyr Gly Gly Lys Val Leu Ala Glu Gly Gln Arg Ile Leu Thr Lys Ser
 340 345 350
 Cys Arg Glu Cys Arg Gly Gly Val Leu Val Lys Ile Thr Glu Met Cys
 355 360 365
 Pro Pro Leu Asn Cys Ser Glu Lys Asp His Ile Leu Pro Glu Asn Gln
 370 375 380
 Cys Cys Arg Val Cys Arg Gly His Asn Phe Cys Ala Glu Gly Pro Lys
 385 390 395 400
 Cys Gly Glu Asn Ser Glu Cys Lys Asn Trp Asn Thr Lys Ala Thr Cys
 405 410 415
 Glu Cys Lys Ser Gly Tyr Ile Ser Val Gln Gly Asp Ser Ala Tyr Cys
 420 425 430
 Glu Asp Ile Asp Glu Cys Ala Ala Lys Met His Tyr Cys His Ala Asn
 435 440 445
 Thr Val Cys Val Asn Leu Pro Gly Leu Tyr Arg Cys Asp Cys Val Pro

450 455 460
 Gly Tyr Ile Arg Val Asp Asp Phe Ser Cys Thr Glu His Asp Glu Cys
 465 470 475 480
 Gly Ser Gly Gln His Asn Cys Asp Glu Asn Ala Ile Cys Thr Asn Thr
 485 490 495
 Val Gln Gly His Ser Cys Thr Cys Lys Pro Gly Tyr Val Gly Asn Gly
 500 505 510
 Thr Ile Cys Arg Ala Phe Cys Glu Glu Gly Cys Arg Tyr Gly Gly Thr
 515 520 525
 Cys Val Ala Pro Asn Lys Cys Val Cys Pro Ser Gly Phe Thr Gly Ser
 530 535 540
 His Cys Glu Lys Asp Ile Asp Glu Cys Ser Glu Gly Ile Ile Glu Cys
 545 550 555 560
 His Asn His Ser Arg Cys Val Asn Leu Pro Gly Trp Tyr His Cys Glu
 565 570 575
 Cys Arg Ser Gly Phe His Asp Asp Gly Thr Tyr Ser Leu Ser Gly Glu
 580 585 590
 Ser Cys Ile Asp Ile Asp Glu Cys Ala Leu Arg Thr His Thr Cys Trp
 595 600 605
 Asn Asp Ser Ala Cys Ile Asn Leu Ala Gly Gly Phe Asp Cys Leu Cys
 610 615 620
 Pro Ser Gly Pro Ser Cys Ser Gly Asp Cys Pro His Glu Gly Gly Leu
 625 630 635
 Lys His Asn Gly Gln Val Trp Thr Leu Lys Glu Asp Arg Cys Ser Val
 645 650 655
 Cys Ser Cys Lys Asp Gly Lys Ile Phe Cys Arg Arg Thr Ala Cys Asp
 660 665 670
 Cys Gln Asn Pro Ser Ala Asp Leu Phe Cys Cys Pro Glu Cys Asp Thr
 675 680 685
 Arg Val Thr Ser Gln Cys Leu Asp Gln Asn Gly His Lys Leu Tyr Arg
 690 695 700
 Ser Gly Asp Asn Trp Thr His Ser Cys Gln Gln Cys Arg Cys Leu Glu
 705 710 715
 Gly Glu Val Asp Cys Trp Pro Leu Thr Cys Pro Asn Leu Ser Cys Glu
 725 730 735
 Tyr Thr Ala Ile Leu Glu Gly Glu Cys Cys Pro Arg Cys Val Ser Asp
 740 745 750
 Pro Cys Leu Ala Asp Asn Ile Thr Tyr Asp Ile Arg Lys Thr Cys Leu
 755 760 765
 Asp Ser Tyr Gly Val Ser Arg Leu Ser Gly Ser Val Trp Thr Met Ala
 770 775 780
 Gly Ser Pro Cys Thr Thr Cys Lys Cys Lys Asn Gly Arg Val Cys Cys
 785 790 795 800
 Ser Val Asp Phe Glu Cys Leu Gln Asn Asn
 805 810

<210> 3
 <211> 2433
 <212> DNA
 <213> Rattus norvegicus

<220>
 <221> CDS
 <222> (1)... (2433)

<400> 3
 atg ccg atg gat gtg att tta gtt ttg tgg ttc tgt gta tgc acc gcc 48
 Met Pro Met Asp Val Ile Leu Val Leu Trp Phe Cys Val Cys Thr Ala
 1 5 10 15

 agg aca gtg ttg ggc ttt ggg atg gac cct gac ctt cag ctg gac atc 96
 Arg Thr Val Leu Gly Phe Gly Met Asp Pro Asp Leu Gln Leu Asp Ile
 20 25 30

 atc tca gag ctg gac ctg gtg aac acc acc ctg gga gtc acg cag gtg 144
 Ile Ser Glu Leu Asp Leu Val Asn Thr Thr Leu Gly Val Thr Gln Val
 35 40 45

 gct gga ctg cac aac gcc agt aaa gca ttt cta ttt caa gat gta cag 192
 Ala Gly Leu His Asn Ala Ser Lys Ala Phe Leu Phe Gln Asp Val Gln
 50 55 60

 aga gag atc cat tcg gcc cct cac gtg agt gag aag ctg atc cag cta 240
 Arg Glu Ile His Ser Ala Pro His Val Ser Glu Lys Leu Ile Gln Leu
 65 70 75 80

ttc cgg aat aag agc gag ttc acc ttt ttg gct aca gtg cag cag aaa Phe Arg Asn Lys Ser Glu Phe Thr Phe Leu Ala Thr Val Gln Gln Lys 85 90 95	288
cca tcc acc tca ggg gtg ata ctg tcc atc cgg gag ctg gag cac agc Pro Ser Thr Ser Gly Val Ile Leu Ser Ile Arg Glu Leu Glu His Ser 100 105 110	336
tat ttt gaa ctg gag agc agt ggc cca aga gaa gag ata cgc tac cat Tyr Phe Glu Leu Glu Ser Ser Gly Pro Arg Glu Glu Ile Arg Tyr His 115 120 125	384
tac ata cat ggt gga aag ccc agg act gag gcc ctt ccc tac cgc atg Tyr Ile His Gly Gly Lys Pro Arg Thr Glu Ala Leu Pro Tyr Arg Met 130 135 140	432
gca gac gga caa tgg cac aag gtc gcg ctg tca gtg agc gcc tct cac Ala Asp Gly Gln Trp His Lys Val Ala Leu Ser Val Ser Ala Ser His 145 150 155 160	480
ctc ctg ctc cac atc gac tgc aat agg att tac gag cgt gtg ata gac Leu Leu Leu His Ile Asp Cys Asn Arg Ile Tyr Glu Arg Val Ile Asp 165 170 175	528
cct ccg gag acc aac ctt cct cca gga agc aat ctg tgg ctt ggg caa Pro Pro Glu Thr Asn Leu Pro Pro Gly Ser Asn Leu Trp Leu Gly Gln 180 185 190	576
cgt aac caa aag cat ggc ttt ttc aaa gga atc atc caa gat ggt aag Arg Asn Gln Lys His Gly Phe Phe Lys Gly Ile Ile Gln Asp Gly Lys 195 200 205	624
atc atc ttc atg ccg aat ggt ttc atc aca cag tgt ccc aac ctc aat Ile Ile Phe Met Pro Asn Gly Phe Ile Thr Gln Cys Pro Asn Leu Asn 210 215 220	672
cgc act tgc cca aca tgc agt gac ttc ctg agc ctg gtt caa gga ata Arg Thr Cys Pro Thr Cys Ser Asp Phe Leu Ser Leu Val Gln Gly Ile 225 230 235 240	720
atg gat ttg caa gag ctt ttg gcc aag atg act gca aaa ctg aat tat Met Asp Leu Gln Glu Leu Ala Lys Met Thr Ala Lys Leu Asn Tyr 245 250 255	768
gca gag acg aga ctt ggt caa ctg gaa aat tgc cac tgt gag aag acc Ala Glu Thr Arg Leu Gly Gln Leu Glu Asn Cys His Cys Glu Lys Thr 260 265 270	816
tgc caa gtg agt ggg ctg ctc tac agg gac caa gac tcc tgg gtg gat Cys Gln Val Ser Gly Leu Leu Tyr Arg Asp Gln Asp Ser Trp Val Asp 275 280 285	864
ggt gac aac tgt ggg aac tgc acg tgc aaa agt ggt gcc gtg gag tgc Gly Asp Asn Cys Gly Asn Cys Thr Cys Lys Ser Gly Ala Val Glu Cys 290 295 300	912
cgc agg atg tcc tgt ccc ccg ctc aac tgt tcc ccg gac tca ctt cct Arg Arg Met Ser Cys Pro Pro Leu Asn Cys Ser Pro Asp Ser Leu Pro 305 310 315 320	960
gtg cac att tcc ggc cag tgt tgt aaa gtt tgc aga cca aaa tgt atc Val His Ile Ser Gly Gln Cys Cys Lys Val Cys Arg Pro Lys Cys Ile 325 330 335	1008
tat gga gga aaa gtt ctt gct gag ggc cag cgg att tta acc aag acc Tyr Gly Gly Lys Val Leu Ala Glu Gly Gln Arg Ile Leu Thr Lys Thr 340 345 350	1056
tgc cgg gaa tgt cga ggt gga gtc ttg gta aaa atc aca gaa gct tgc Cys Arg Glu Cys Arg Gly Gly Val Leu Val Lys Ile Thr Glu Ala Cys 355 360 365	1104
cct cct ttg aac tgc tca gca aag gat cat att ctt cca gag aat cag Pro Pro Leu Asn Cys Ser Ala Lys Asp His Ile Leu Pro Glu Asn Gln	1152

370	375	380	
tgc tgc agg gtc tgc cca ggt cat aac ttc tgt gca gaa gca cct aag Cys Cys Arg Val Cys Pro Gly His Asn Phe Cys Ala Glu Ala Pro Lys 385 390 395 400			1200
tgc gga gaa aac tgc gaa tgc aaa aat tgg aat aca aaa gca acc tgt Cys Gly Glu Asn Ser Glu Cys Lys Asn Trp Asn Thr Lys Ala Thr Cys 405 410 415			1248
gag tgc aag aat gga tac atc tct gtc cag ggc aac tct gca tac tgt Glu Cys Lys Asn Gly Tyr Ile Ser Val Gln Gly Asn Ser Ala Tyr Cys 420 425 430			1296
gaa gat att gat gag tgt gca gct aaa atg cac tat tgt cat gcc aac Glu Asp Ile Asp Glu Cys Ala Ala Lys Met His Tyr Cys His Ala Asn 435 440 445			1344
acc gtg tgt gtc aac ttg ccg ggg ttg tat cgc tgt gac tgc gtc cca Thr Val Cys Val Asn Leu Pro Gly Leu Tyr Arg Cys Asp Cys Val Pro 450 455 460			1392
ggg tac atc cgt gtg gat gac ttc tct tgt acg gag cat gat gat tgt Gly Tyr Ile Arg Val Asp Asp Phe Ser Cys Thr Glu His Asp Asp Cys 465 470 475 480			1440
ggc agc gga caa cac aac tgc gac aaa aat gcc atc tgt acc aac aca Gly Ser Gly Gln His Asn Cys Asp Lys Asn Ala Ile Cys Thr Asn Thr 485 490 495			1488
gtc cag gga cac agc tgc acc tgc cag ccg ggt tac gtg gga aat ggc Val Gln Gly His Ser Cys Thr Cys Gln Pro Gly Tyr Val Gly Asn Gly 500 505 510			1536
acc atc tgc aaa gca ttc tgt gaa gag ggt tgc aga tac gga ggt acc Thr Ile Cys Lys Ala Phe Cys Glu Glu Gly Cys Arg Tyr Gly Gly Thr 515 520 525			1584
tgt gtg gct cct aac aag tgt gtc tgt cct tct gga ttc acg gga agc Cys Val Ala Pro Asn Lys Cys Val Cys Pro Ser Gly Phe Thr Gly Ser 530 535 540			1632
cac tgt gag aaa gat att gat gaa tgc gca gag gga ttc gtt gaa tgc His Cys Glu Lys Asp Ile Asp Glu Cys Ala Glu Gly Phe Val Glu Cys 545 550 555 560			1680
cac aac tac tcc cgc tgt gtt aac ctg cca ggg tgg tac cac tgt gag His Asn Tyr Ser Arg Cys Val Asn Leu Pro Gly Trp Tyr His Cys Glu 565 570 575			1728
tgc aga agc ggt ttc cat gac gat ggg acc tac tca ctg tcc ggg gag Cys Arg Ser Gly Phe His Asp Asp Gly Thr Tyr Ser Leu Ser Gly Glu 580 585 590			1776
tcc tgc att gat atc gat gaa tgt gcc tta aga act cac act tgt tgg Ser Cys Ile Asp Ile Asp Glu Cys Ala Leu Arg Thr His Thr Cys Trp 595 600 605			1824
aat gac tct gcc tgc atc aac tta gca gga gga ttt gac tgc ctg tgt Asn Asp Ser Ala Cys Ile Asn Leu Ala Gly Gly Phe Asp Cys Leu Cys 610 615 620			1872
ccc tct ggg ccc tcc tgc tct ggt gac tgt ccc cac gaa gga ggg ctg Pro Ser Gly Pro Ser Cys Ser Gly Asp Cys Pro His Glu Gly Gly Leu 625 630 635 640			1920
aag cat aat ggg cag gtg tgg att ctg aga gaa gac agg tgt tca gtc Lys His Asn Gly Gln Val Trp Ile Leu Arg Glu Asp Arg Cys Ser Val 645 650 655			1968
tgt tcc tgc aag gat ggg aag ata ttc tgc cgg cgg aca gct tgt gat Cys Ser Cys Lys Asp Gly Lys Ile Phe Cys Arg Arg Thr Ala Cys Asp 660 665 670			2016
tgc cag aat cca aat gtt gac ctt ttt tgc tgc cca gag tgc gat acc			2064

Cys Gln Asn Pro Asn Val Asp Leu Phe Cys Cys Pro Glu Cys Asp Thr	
675 680 685	
agg gtc acc agc caa tgt tta gat caa agt gga cag aag ctc tat cga	2112
Arg Val Thr Ser Gln Cys Leu Asp Gln Ser Gly Gln Lys Leu Tyr Arg	
690 695 700	
agt gga gac aac tgg acc cac agc tgc cag cag tgc cga tgt ctg gaa	2160
Ser Gly Asp Asn Trp Thr His Ser Cys Gln Gln Cys Arg Cys Leu Glu	
705 710 715 720	
gga gag gca gac tgc tgg cct ctg gct tgc cct agt ttg ggc tgt gaa	2208
Gly Glu Ala Asp Cys Trp Pro Leu Ala Cys Pro Ser Leu Gly Cys Glu	
725 730 735	
tac aca gcc atg ttt gaa ggg gag tgt tgt ccc cga tgt gtc agt gac	2256
Tyr Thr Ala Met Phe Glu Gly Glu Cys Cys Pro Arg Cys Val Ser Asp	
740 745 750	
ccc tgc ctg gct ggt aat att gcc tat gac atc aga aaa act tgc ctg	2304
Pro Cys Leu Ala Gly Asn Ile Ala Tyr Asp Ile Arg Lys Thr Cys Leu	
755 760 765	
gac agc ttt ggt gtt tcg agg ctg agc gga gcc gtg tgg aca atg gct	2352
Asp Ser Phe Gly Val Ser Arg Leu Ser Gly Ala Val Trp Thr Met Ala	
770 775 780	
gga tct cct tgt aca acc tgc aaa tgc aag aat ggg aga gtc tgc tgc	2400
Gly Ser Pro Cys Thr Thr Cys Lys Cys Lys Asn Gly Arg Val Cys Cys	
785 790 795 800	
tct gtg gat ctg gag tgt att gag aat aac tga	2433
Ser Val Asp Leu Glu Cys Ile Glu Asn Asn *	
805 810	

<210> 4

<211> 810

<212> PRT

<213> Rattus norvegicus

<400> 4

Met Pro Met Asp Val Ile Leu Val Leu Trp Phe Cys Val Cys Thr Ala	
1 5 10 15	
Arg Thr Val Leu Gly Phe Gly Met Asp Pro Asp Leu Gln Leu Asp Ile	
20 25 30	
Ile Ser Glu Leu Asp Leu Val Asn Thr Thr Leu Gly Val Thr Gln Val	
35 40 45	
Ala Gly Leu His Asn Ala Ser Lys Ala Phe Leu Phe Gln Asp Val Gln	
50 55 60	
Arg Glu Ile His Ser Ala Pro His Val Ser Glu Lys Leu Ile Gln Leu	
65 70 75 80	
Phe Arg Asn Lys Ser Glu Phe Thr Phe Leu Ala Thr Val Gln Gln Lys	
85 90 95	
Pro Ser Thr Ser Gly Val Ile Leu Ser Ile Arg Glu Leu Glu His Ser	
100 105 110	
Tyr Phe Glu Leu Glu Ser Ser Gly Pro Arg Glu Glu Ile Arg Tyr His	
115 120 125	
Tyr Ile His Gly Gly Lys Pro Arg Thr Glu Ala Leu Pro Tyr Arg Met	
130 135 140	
Ala Asp Gly Gln Trp His Lys Val Ala Leu Ser Val Ser Ala Ser His	
145 150 155 160	
Leu Leu Leu His Ile Asp Cys Asn Arg Ile Tyr Glu Arg Val Ile Asp	
165 170 175	
Pro Pro Glu Thr Asn Leu Pro Pro Gly Ser Asn Leu Trp Leu Gly Gln	
180 185 190	
Arg Asn Gln Lys His Gly Phe Phe Lys Gly Ile Ile Gln Asp Gly Lys	
195 200 205	
Ile Ile Phe Met Pro Asn Gly Phe Ile Thr Gln Cys Pro Asn Leu Asn	
210 215 220	
Arg Thr Cys Pro Thr Cys Ser Asp Phe Leu Ser Leu Val Gln Gly Ile	
225 230 235 240	
Met Asp Leu Gln Glu Leu Leu Ala Lys Met Thr Ala Lys Leu Asn Tyr	
245 250 255	
Ala Glu Thr Arg Leu Gly Gln Leu Glu Asn Cys His Cys Glu Lys Thr	

Cys	Gln	Val	Ser	Gly	Leu	Leu	Tyr	Arg	Asp	Gln	Asp	Ser	Trp	Val	Asp
Gly	Asp	Asn	Cys	Gly	Asn	Cys	Thr	Cys	Lys	Ser	Gly	Ala	Val	Glu	Cys
Arg	Arg	Met	Ser	Cys	Pro	Pro	Leu	Asn	Cys	Ser	Pro	Asp	Ser	Leu	Pro
Val	His	Ile	Ser	Gly	Gln	Cys	Cys	Lys	Val	Cys	Arg	Pro	Lys	Cys	Ile
Tyr	Gly	Gly	Lys	Val	Leu	Ala	Glu	Gly	Gln	Arg	Ile	Leu	Thr	Lys	Thr
Cys	Arg	Glu	Cys	Arg	Gly	Gly	Val	Leu	Val	Lys	Ile	Thr	Glu	Ala	Cys
Pro	Pro	Leu	Asn	Cys	Ser	Ala	Lys	Asp	His	Ile	Leu	Pro	Glu	Asn	Gln
Cys	Cys	Arg	Val	Cys	Pro	Gly	His	Asn	Phe	Cys	Ala	Glu	Ala	Pro	Lys
Cys	Gly	Glu	Asn	Ser	Glu	Cys	Lys	Asn	Trp	Asn	Thr	Lys	Ala	Thr	Cys
Glu	Cys	Lys	Asn	Gly	Tyr	Ile	Ser	Val	Gln	Gly	Asn	Ser	Ala	Tyr	Cys
Glu	Asp	Ile	Asp	Glu	Cys	Ala	Ala	Lys	Met	His	Tyr	Cys	His	Ala	Asn
Thr	Val	Cys	Val	Asn	Leu	Pro	Gly	Leu	Tyr	Arg	Cys	Asp	Cys	Val	Pro
Gly	Tyr	Ile	Arg	Val	Asp	Asp	Phe	Ser	Cys	Thr	Glu	His	Asp	Asp	Cys
Gly	Ser	Gly	Gln	His	Asn	Cys	Asp	Lys	Asn	Ala	Ile	Cys	Thr	Asn	Thr
Val	Gln	Gly	His	Ser	Cys	Thr	Cys	Gln	Pro	Gly	Tyr	Val	Gly	Asn	Gly
Thr	Ile	Cys	Lys	Ala	Phe	Cys	Glu	Glu	Gly	Cys	Arg	Tyr	Gly	Gly	Thr
Cys	Val	Ala	Pro	Asn	Lys	Cys	Val	Cys	Pro	Ser	Gly	Phe	Thr	Gly	Ser
His	Cys	Glu	Lys	Asp	Ile	Asp	Glu	Cys	Ala	Glu	Gly	Phe	Val	Glu	Cys
His	Asn	Tyr	Ser	Arg	Cys	Val	Asn	Leu	Pro	Gly	Trp	Tyr	His	Cys	Glu
Cys	Arg	Ser	Gly	Phe	His	Asp	Asp	Gly	Thr	Tyr	Ser	Leu	Ser	Gly	Glu
Ser	Cys	Ile	Asp	Ile	Asp	Glu	Cys	Ala	Leu	Arg	Thr	His	Thr	Cys	Trp
Asn	Asp	Ser	Ala	Cys	Ile	Asn	Leu	Ala	Gly	Gly	Phe	Asp	Cys	Leu	Cys
Pro	Ser	Gly	Pro	Ser	Cys	Ser	Gly	Asp	Cys	Pro	His	Glu	Gly	Gly	Leu
Lys	His	Asn	Gly	Gln	Val	Trp	Ile	Leu	Arg	Glu	Asp	Arg	Cys	Ser	Val
Cys	Ser	Cys	Lys	Asp	Gly	Lys	Ile	Phe	Cys	Arg	Arg	Thr	Ala	Cys	Asp
Cys	Gln	Asn	Pro	Asn	Val	Asp	Leu	Phe	Cys	Cys	Pro	Glu	Cys	Asp	Thr
Arg	Val	Thr	Ser	Gln	Cys	Leu	Asp	Gln	Ser	Gly	Gln	Lys	Leu	Tyr	Arg
Ser	Gly	Asp	Asn	Trp	Thr	His	Ser	Cys	Gln	Gln	Cys	Arg	Cys	Leu	Glu
Gly	Glu	Ala	Asp	Cys	Trp	Pro	Leu	Ala	Cys	Pro	Ser	Leu	Gly	Cys	Glu
Tyr	Thr	Ala	Met	Phe	Glu	Gly	Glu	Cys	Cys	Pro	Arg	Cys	Val	Ser	Asp
Pro	Cys	Leu	Ala	Gly	Asn	Ile	Ala	Tyr	Asp	Ile	Arg	Lys	Thr	Cys	Leu
Asp	Ser	Phe	Gly	Val	Ser	Arg	Leu	Ser	Gly	Ala	Val	Trp	Thr	Met	Ala
Gly	Ser	Pro	Cys	Thr	Thr	Cys	Lys	Cys	Lys	Asn	Gly	Arg	Val	Cys	Cys
Ser	Val	Asp	Leu	Glu	Cys	Ile	Glu	Asn	Asn						

<210> 5

<211> 2433

<212> DNA

<213> Mus musculus

<220>

<221> CDS

<222> (1)... (2433)

<400> 5

atg ccg atg gat gtg att tta gtt ttg tgg ttc tgt gtg tgc acc gcc 48
 Met Pro Met Asp Val Ile Leu Val Leu Trp Phe Cys Val Cys Thr Ala
 1 5 10 15

cag gac agt ggt ggg ctt tgg gat gga ccc tga cct tca gat gga cat 96
 Gln Asp Ser Gly Leu Trp Asp Gly Pro * Pro Ser Asp Gly His
 20 25 30

cat cac tga act tga cct tgt gaa cac cag ccc tgg gcg tca ctc agg 144
 His His * Thr * Pro Cys Glu His Gln Pro Trp Ala Ser Leu Arg
 35 40 45

tgg gtg gac tac aca atg cca gta agg cat ttc tgt ttc aag atg tac 192
 Trp Val Asp Tyr Thr Met Pro Val Arg His Phe Cys Phe Lys Met Tyr
 50 55 60

aga gag aga tcc act cag ccc ctc atg tga gtg aga agc tga tcc agc 240
 Arg Glu Arg Ser Thr Gln Pro Leu Met * Val Arg Ser * Ser Ser
 65 70 75

tat tcc gga ata aga gtg agt tta cct ttt tgg cta cag tgc agc aga 288
 Tyr Ser Gly Ile Arg Val Ser Leu Pro Phe Trp Leu Gln Cys Ser Arg
 80 85 90

agc cgt cca cct cag ggg tga tac tgt cga tcc ggg agc tgg aac aca 336
 Ser Arg Pro Gln Gly * Tyr Cys Arg Ser Gly Ser Trp Asn Thr
 95 100 105

gct att ttg aac tgg aga gca gtg gcc caa gag aag aga tac gct atc 384
 Ala Ile Leu Asn Trp Arg Ala Val Ala Gln Glu Lys Arg Tyr Ala Ile
 110 115 120

att aca tcc atg gcg gca agc cca gga ctg agg ccc ttc cct acc gca 432
 Ile Thr Ser Met Ala Ala Ser Pro Gly Leu Arg Pro Phe Pro Thr Ala
 125 130 135

tgg ccg atg gac agt ggc aca agg tcg cgc tgt ctg tga gcg cct ctc 480
 Trp Pro Met Asp Ser Gly Thr Arg Ser Arg Cys Leu * Ala Pro Leu
 140 145 150

acc tcc tac tcc atg tcg act gca ata gga ttt atg agc gtg tga tag 528
 Thr Ser Tyr Ser Met Ser Thr Ala Ile Gly Phe Met Ser Val * *
 155 160 165

atc ctc cgg aga cca acc ttc ctc cag gaa gca atc tat ggc ttg ggc 576
 Ile Leu Arg Arg Pro Thr Phe Leu Gln Glu Ala Ile Tyr Gly Leu Gly
 170 175 180

aac gta atc aaa agc atg gct ttt tca aag gaa tca tcc aag atg gca 624
 Asn Val Ile Lys Ser Met Ala Phe Ser Lys Glu Ser Ser Lys Met Ala
 185 190 195

aga tca tct tca tgc cga acg gct tca tca cac agt gcc cca acc taa 672
 Arg Ser Ser Ser Cys Arg Thr Ala Ser Ser His Ser Ala Pro Thr *
 200 205 210

atc gca ctt gcc caa cat gca gtg att tcc tga gcc tgg ttc aag gaa 720
 Ile Ala Leu Ala Gln His Ala Val Ile Ser * Ala Trp Phe Lys Glu
 215 220 225

taa tgg att tgc aag agc ttt tgg cca aga tga ctg caa aac tga att 768
 * Trp Ile Cys Lys Ser Phe Trp Pro Arg * Leu Gln Asn * Ile
 230 235 240

atg cag aga cga gac ttg gtc aac tgg aaa att gcc act gtg aga aga 816
 Met Gln Arg Arg Asp Leu Val Asn Trp Lys Ile Ala Thr Val Arg Arg
 245 250 255

cct gcc aag tga gtg ggc tgc tct aca ggg acc aag act cct ggg tag 864
 Pro Ala Lys * Val Gly Cys Ser Thr Gly Thr Lys Thr Pro Gly *

260	265	270	
atg gtg aca act gca gga act gca cat gca aaa gtg gtg ctg tgg agt Met Val Thr Thr Ala Gly Thr Ala His Ala Lys Val Val Leu Trp Ser 275 280 285			912
gcc gaa gga tgt cct gtc ccc cac tca act gtt ccc cag act cac ttc Ala Glu Gly Cys Pro Val Pro His Ser Thr Val Pro Gln Thr His Phe 290 295 300			960
ctg tgc ata ttt ctg gcc aat gtt gta aag ttt gca gac caa aat gta Leu Cys Ile Phe Leu Ala Asn Val Val Lys Phe Ala Asp Gln Asn Val 305 310 315 320			1008
tct atg gag gaa aag ttc ttg ctg agg gcc agc gga ttt taa cca aga Ser Met Glu Glu Lys Phe Leu Leu Arg Ala Ser Gly Phe * Pro Arg 325 330 335			1056
cct gcc ggg aat gtc gag gtg gag tct tgg taa aaa tca cag aag ctt Pro Ala Gly Asn Val Glu Val Glu Ser Trp * Lys Ser Gln Lys Leu 340 345 350			1104
gcc ctc ctt tga act gct cag aga agg atc ata ttc ttc cgg aga acc Ala Leu Leu * Thr Ala Gln Arg Arg Ile Ile Phe Phe Arg Arg Thr 355 360 365			1152
agt gct ggg gtc tgc cga ggt cat aac ttc tgt gca gaa gca cct aag Ser Ala Gly Val Cys Arg Gly His Asn Phe Cys Ala Glu Ala Pro Lys 370 375 380			1200
tgt gga gaa aac tcg gaa tgc aaa aat tgg aat aca aaa gcg act tgt Cys Gly Glu Asn Ser Glu Cys Lys Asn Trp Asn Thr Lys Ala Thr Cys 385 390 395			1248
gag tgc aag aat gga tac atc tct gtc cag gcc aac tct gca tac tgt Glu Cys Lys Asn Gly Tyr Ile Ser Val Gln Gly Asn Ser Ala Tyr Cys 400 405 410			1296
gaa gat atc gat gag tgt gca gca aag atg cac tac tgt cat gcc aac Glu Asp Ile Asp Glu Cys Ala Ala Lys Met His Tyr Cys His Ala Asn 415 420 425			1344
acg gtg tgt gtc aac ttg ccg ggg tta tat cgc tgt gac tgc atc cca Thr Val Cys Val Asn Leu Pro Gly Leu Tyr Arg Cys Asp Cys Ile Pro 430 435 440 445			1392
gga tac atc cgt gtg gat gac ttc tct tgt acg gag cat gat gat tgt Gly Tyr Ile Arg Val Asp Asp Phe Ser Cys Thr Glu His Asp Asp Cys 450 455 460			1440
ggc agc gga caa cac aac tgt gac aaa aat gcc atc tgt acc aac aca Gly Ser Gly Gln His Asn Cys Asp Lys Asn Ala Ile Cys Thr Asn Thr 465 470 475			1488
gtc cag gga cac agc tgt acc tgc cag cca gcc tac gtg gga aat ggt Val Gln Gly His Ser Cys Thr Cys Gln Pro Gly Tyr Val Gly Asn Gly 480 485 490			1536
act gtc tgc aaa gca ttc tgt gaa gag ggt tgc aga tac gga ggt acc Thr Val Cys Lys Ala Phe Cys Glu Glu Gly Cys Arg Tyr Gly Gly Thr 495 500 505			1584
tgt gtg gcc cct aac aaa tgt gtc tgt cct tct gga ttc aca gga agc Cys Val Ala Pro Asn Lys Cys Val Cys Pro Ser Gly Phe Thr Gly Ser 510 515 520 525			1632
cac tgt gag aaa gat att gat gaa tgt gca gag gga ttc gtt gag tgc His Cys Glu Lys Asp Ile Asp Glu Cys Ala Glu Gly Phe Val Glu Cys 530 535 540			1680
cac aac cac tcc cgc tgc gtt aac ctt cca ggg tgg tac cac tgt gag His Asn His Ser Arg Cys Val Asn Leu Pro Gly Trp Tyr His Cys Glu 545 550 555			1728
tgc aga agc ggt ttc cat gac gat ggg acc tat tca ctg tcc ggg gag			1776

Cys	Arg	Ser	Gly	Phe	His	Asp	Asp	Gly	Thr	Tyr	Ser	Leu	Ser	Gly	Glu		
		560					565					570					
tcc	tgc	att	gat	att	gat	gaa	tgt	gcc	tta	aga	act	cac	act	tgt	tgg	1824	
Ser	Cys	Ile	Asp	Ile	Asp	Glu	Cys	Ala	Leu	Arg	Thr	His	Thr	Cys	Trp		
	575					580				585							
aat	gac	tct	gcc	tgc	atc	aac	tta	gca	gga	gga	ttt	gac	tgc	ctg	tgt	1872	
Asn	Asp	Ser	Ala	Cys	Ile	Asn	Leu	Ala	Gly	Gly	Phe	Asp	Cys	Leu	Cys		
590					595				600					605			
ccc	tct	ggg	ccc	tcc	tgc	tct	ggg	gac	tgt	ccc	cac	gaa	ggg	ggg	ctg	1920	
Pro	Ser	Gly	Pro	Ser	Cys	Ser	Gly	Asp	Cys	Pro	His	Glu	Gly	Gly	Leu		
			610					615						620			
aag	cat	aat	ggg	cag	gtg	tgg	att	ctg	aga	gaa	gac	agg	tgt	tca	gtc	1968	
Lys	His	Asn	Gly	Gln	Val	Trp	Ile	Leu	Arg	Glu	Asp	Arg	Cys	Ser	Val		
		625						630					635				
tgt	tcc	tgt	aag	gat	ggg	aag	ata	ttc	tgc	cgg	cgg	aca	gct	tgt	gat	2016	
Cys	Ser	Cys	Lys	Asp	Gly	Lys	Ile	Phe	Cys	Arg	Arg	Thr	Ala	Cys	Asp		
	640					645						650					
tgc	cag	aat	cca	aat	gtt	gac	ctt	ttc	tgc	tgc	cca	gag	tgt	gac	acc	2064	
Cys	Gln	Asn	Pro	Asn	Val	Asp	Leu	Phe	Cys	Cys	Pro	Glu	Cys	Asp	Thr		
	655					660					665						
agg	gtc	act	agc	caa	tgt	tta	gat	caa	agc	gga	cag	aag	ctc	tat	cga	2112	
Arg	Val	Thr	Ser	Gln	Cys	Leu	Asp	Gln	Ser	Gly	Gln	Lys	Leu	Tyr	Arg		
670					675					680					685		
agt	gga	gac	aac	tgg	acc	cac	agc	tgc	cag	cag	tgc	cga	tgt	ctg	gaa	2160	
Ser	Gly	Asp	Asn	Trp	Thr	His	Ser	Cys	Gln	Gln	Cys	Arg	Cys	Leu	Glu		
			690					695						700			
gga	gag	gca	gac	tgc	tgg	cct	cta	gct	tgc	cct	agt	ttg	agc	tgt	gaa	2208	
Gly	Glu	Ala	Asp	Cys	Trp	Pro	Leu	Ala	Cys	Pro	Ser	Leu	Ser	Cys	Glu		
		705					710						715				
tac	aca	gcc	atc	ttt	gaa	gga	gag	tgt	tgt	ccc	cgc	tgt	gtc	agt	gac	2256	
Tyr	Thr	Ala	Ile	Phe	Glu	Gly	Glu	Cys	Cys	Pro	Arg	Cys	Val	Ser	Asp		
		720				725						730					
ccc	tgc	ctg	gct	gat	aat	att	gcc	tat	gac	atc	aga	aaa	act	tgc	ctg	2304	
Pro	Cys	Leu	Ala	Asp	Asn	Ile	Ala	Tyr	Asp	Ile	Arg	Lys	Thr	Cys	Leu		
	735					740					745						
gac	agc	tct	ggg	att	tgc	agg	ctg	agc	ggc	gca	gtg	tgg	aca	atg	gct	2352	
Asp	Ser	Ser	Gly	Ile	Ser	Arg	Leu	Ser	Gly	Ala	Val	Trp	Thr	Met	Ala		
750					755				760					765			
gga	tct	ccc	tgt	aca	acc	tgt	caa	tgc	aag	aat	ggg	aga	gtc	tgc	tgc	2400	
Gly	Ser	Pro	Cys	Thr	Thr	Cys	Gln	Cys	Lys	Asn	Gly	Arg	Val	Cys	Cys		
			770					775						780			
tct	gtg	gat	ctg	gtg	tgt	ctt	gag	aat	aac	tga						2433	
Ser	Val	Asp	Leu	Val	Cys	Leu	Glu	Asn	Asn	*							
		785					790										

<210> 6

<211> 791

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 6

Met	Pro	Met	Asp	Val	Ile	Leu	Val	Leu	Trp	Phe	Cys	Val	Cys	Thr	Ala		
1				5					10					15			
Gln	Asp	Ser	Gly	Gly	Leu	Trp	Asp	Gly	Pro	Pro	Ser	Asp	Gly	His	His		
			20					25					30				
His	Thr	Pro	Cys	Glu	His	Gln	Pro	Trp	Ala	Ser	Leu	Arg	Trp	Val	Asp		
		35					40					45					
Tyr	Thr	Met	Pro	Val	Arg	His	Phe	Cys	Phe	Lys	Met	Tyr	Arg	Glu	Arg		
	50					55					60						
Ser	Thr	Gln	Pro	Leu	Met	Val	Arg	Ser	Ser	Ser	Tyr	Ser	Gly	Ile	Arg		

65	Val	Ser	Leu	Pro	Phe	70	Trp	Leu	Gln	Cys	75	Ser	Arg	Ser	Arg	Pro	80	Pro	Gln
					85						90	Thr	Ala	Ile	Leu	Asn	95	Trp	Arg
Gly	Tyr	Cys	Arg		Ser	Gly	Ser	Trp	Asn	105						110			
Ala	Val	Ala	Gln	Glu	Lys	Arg	Tyr	Ala	Ile	120	Ile	Ile	Thr	Ser	Met	125	Ala	Ala	
Ser	Pro	Gly	Leu	Arg	Pro	Phe	Pro	Thr	Ala	135	Trp	Pro	Met	Asp	Ser	140	Gly		
Thr	Arg	Ser	Arg	Cys	Leu	Ala	Pro	Leu	Thr	150	Ser	Tyr	Ser	Met	Ser	155	Thr		
Ala	Ile	Gly	Phe	Met	Ser	Val	Ile	Leu	Arg	165	Arg	Arg	Pro	Thr	Phe	170	Leu	Gln	
Glu	Ala	Ile	Tyr	Gly	Leu	Gly	Asn	Val	Ile	180	Lys	Ser	Met	Ala	Phe	185	Ser		
Lys	Glu	Ser	Ser	Lys	Met	Ala	Arg	Ser	Ser	195	Ser	Ser	Cys	Arg	Thr	200	Ala	Ser	
Ser	His	Ser	Ala	Pro	Thr	Ile	Ala	Leu	Ala	210	Gln	His	Ala	Val	Ile	215	Ser		
Ala	Trp	Phe	Lys	Glu	Trp	Ile	Cys	Lys	Ser	225	Phe	Trp	Pro	Arg	Leu	230	Gln		
Asn	Ile	Met	Gln	Arg	Arg	Asp	Leu	Val	Asn	235	Trp	Lys	Ile	Ala	Thr	240	Val		
Arg	Arg	Pro	Ala	Lys	Val	Gly	Cys	Ser	Thr	245	Gly	Thr	Lys	Thr	Pro	250	Gly		
Met	Val	Thr	Thr	Ala	Gly	Thr	Ala	His	Ala	255	Lys	Val	Val	Leu	Trp	260	Ser		
Ala	Glu	Gly	Cys	Pro	Val	Pro	His	Ser	Thr	265	Val	Pro	Gln	Thr	His	270	Phe		
Leu	Cys	Ile	Phe	Leu	Ala	Asn	Val	Val	Lys	275	Phe	Ala	Asp	Gln	Asn	280	Val		
Ser	Met	Glu	Glu	Lys	Phe	Leu	Leu	Arg	Ala	285	Ser	Gly	Phe	Pro	Arg	290	Pro		
Ala	Gly	Asn	Val	Glu	Val	Glu	Ser	Trp	Lys	295	Ser	Gln	Lys	Leu	Ala	300	Leu		
Leu	Thr	Ala	Gln	Arg	Arg	Ile	Ile	Phe	Phe	305	Arg	Arg	Thr	Ser	Ala	310	Gly		
Val	Cys	Arg	Gly	His	Asn	Phe	Cys	Ala	Glu	315	Ala	Pro	Lys	Cys	Gly	320	Glu		
Asn	Ser	Glu	Cys	Lys	Asn	Trp	Asn	Thr	Lys	325	Ala	Thr	Cys	Glu	Cys	330	Lys		
Asn	Gly	Tyr	Ile	Ser	Val	Gln	Gly	Asn	Ser	335	Ala	Tyr	Cys	Glu	Asp	340	Ile		
Asp	Glu	Cys	Ala	Ala	Lys	Met	His	Tyr	Cys	345	His	Ala	Asn	Thr	Val	350	Cys		
Val	Asn	Leu	Pro	Gly	Leu	Tyr	Arg	Cys	Asp	355	Cys	Ile	Pro	Gly	Tyr	360	Ile		
Arg	Val	Asp	Asp	Phe	Ser	Cys	Thr	Glu	His	365	Asp	Asp	Cys	Gly	Ser	370	Gly		
Gln	His	Asn	Cys	Asp	Lys	Asn	Ala	Ile	Cys	375	Thr	Asn	Thr	Val	Gln	380	Gly		
His	Ser	Cys	Thr	Cys	Gln	Pro	Gly	Tyr	Val	385	Gly	Asn	Gly	Thr	Val	390	Cys		
Lys	Ala	Phe	Cys	Glu	Glu	Gly	Cys	Arg	Tyr	395	Gly	Gly	Thr	Cys	Val	400	Ala		
Pro	Asn	Lys	Cys	Val	Cys	Pro	Ser	Gly	Phe	405	Thr	Gly	Ser	His	Cys	410	Glu		
Lys	Asp	Ile	Asp	Glu	Cys	Ala	Glu	Gly	Phe	415	Val	Glu	Cys	His	Asn	420	His		
Ser	Arg	Cys	Val	Asn	Leu	Pro	Gly	Trp	Tyr	425	His	Cys	Glu	Cys	Arg	430	Ser		
Gly	Phe	His	Asp	Asp	Gly	Thr	Tyr	Ser	Leu	435	Ser	Gly	Glu	Ser	Cys	440	Ile		
Asp	Ile	Asp	Glu	Cys	Ala	Leu	Arg	Thr	His	445	Thr	Cys	Trp	Asn	Asp	450	Ser		
Ala	Cys	Ile	Asn	Leu	Ala	Gly	Gly	Phe	Asp	455	Cys	Leu	Cys	Pro	Ser	460	Gly		
Pro	Ser	Cys	Ser	Gly	Asp	Cys	Pro	His	Glu	465	Gly	Gly	Leu	Lys	His	470	Asn		
Gly	Gln	Val	Trp	Ile	Leu	Arg	Glu	Asp	Arg	475	Cys	Ser	Val	Cys	Ser	480	Cys		
Lys	Asp	Gly	Lys	Ile	Phe	Cys	Arg	Arg	Thr	485	Ala	Cys	Asp	Cys	Gln	490	Asn		
Pro	Asn	Val	Asp	Leu	Phe	Cys	Cys	Pro	Glu	495	Cys	Asp	Thr	Arg	Val	500	Thr		
										505						510			
										515						520			
										525						530			
										535						540			
										545						550			
										555						560			
										565						570			
										575						580			
										585						590			
										595						600			
										605						610			
										615						620			
										625						630			
										635						640			
										645						650			
										655						660			
										665						670			

Ser Gln Cys Leu Asp Gln Ser Gly Gln Lys Leu Tyr Arg Ser Gly Asp
 675 680 685
 Asn Trp Thr His Ser Cys Gln Gln Cys Arg Cys Leu Glu Gly Glu Ala
 690 695 700
 Asp Cys Trp Pro Leu Ala Cys Pro Ser Leu Ser Cys Glu Tyr Thr Ala
 705 710 715 720
 Ile Phe Glu Gly Glu Cys Cys Pro Arg Cys Val Ser Asp Pro Cys Leu
 725 730 735
 Ala Asp Asn Ile Ala Tyr Asp Ile Arg Lys Thr Cys Leu Asp Ser Ser
 740 745 750
 Gly Ile Ser Arg Leu Ser Gly Ala Val Trp Thr Met Ala Gly Ser Pro
 755 760 765
 Cys Thr Thr Cys Gln Cys Lys Asn Gly Arg Val Cys Cys Ser Val Asp
 770 775 780
 Leu Val Cys Leu Glu Asn Asn
 785 790

<210> 7
 <211> 2451
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<220>
 <221> CDS
 <222> (1)... (2451)

<400> 7
 atg gag tct cgg gtc tta ctg aga aca ttc tgt ttg atc ttc ggt ctc 48
 Met Glu Ser Arg Val Leu Leu Arg Thr Phe Cys Leu Ile Phe Gly Leu
 1 5 10 15
 gga gca gtt tgg ggg ctt ggt gtg gac cct tcc cta cag att gac gtc 96
 Gly Ala Val Trp Gly Leu Gly Val Asp Pro Ser Leu Gln Ile Asp Val
 20 25 30
 tta aca gag tta gaa ctt ggg gag tcc acg acc gga gtg cgt cag gtc 144
 Leu Thr Glu Leu Glu Leu Gly Glu Ser Thr Thr Gly Val Arg Gln Val
 35 40 45
 ccg ggg ctg cat aat ggg acg aaa gcc ttt ctc ttt caa gat act ccc 192
 Pro Gly Leu His Asn Gly Thr Lys Ala Phe Leu Phe Gln Asp Thr Pro
 50 55 60
 aga agc ata aaa gca tcc act gct aca gct gaa cag ttt ttt cag aag 240
 Arg Ser Ile Lys Ala Ser Thr Ala Thr Ala Glu Gln Phe Phe Gln Lys
 65 70 75 80
 ctg aga aat aaa cat gaa ttt act att ttg gtg acc cta aaa cag acc 288
 Leu Arg Asn Lys His Glu Phe Thr Ile Leu Val Thr Leu Lys Gln Thr
 85 90 95
 cac tta aat tca gga gtt att ctc tca att cac cac ttg gat cac agg 336
 His Leu Asn Ser Gly Val Ile Leu Ser Ile His His Leu Asp His Arg
 100 105 110
 tac ctg gaa ctg gaa agt agt ggc cat cgg aat gaa gtc aga ctg cat 384
 Tyr Leu Glu Leu Glu Ser Ser Gly His Arg Asn Glu Val Arg Leu His
 115 120 125
 tac cgc tca ggc agt cac cgc cct cac aca gaa gtg ttt cct tac att 432
 Tyr Arg Ser Gly Ser His Arg Pro His Thr Glu Val Phe Pro Tyr Ile
 130 135 140
 ttg gct gat gac aag tgg cac aag ctc tcc tta gcc atc agt gct tcc 480
 Leu Ala Asp Asp Lys Trp His Lys Leu Ser Leu Ala Ile Ser Ala Ser
 145 150 155 160
 cat ttg att tta cac att gac tgc aat aaa att tat gaa agg gta gta 528
 His Leu Ile Leu His Ile Asp Cys Asn Lys Ile Tyr Glu Arg Val Val
 165 170 175
 gaa aag ccc tcc aca gac ttg cct cta ggc aca aca ttt tgg cta gga 576
 Glu Lys Pro Ser Thr Asp Leu Pro Leu Gly Thr Thr Phe Trp Leu Gly
 180 185 190

cag aga aat aat gcg cat gga tat ttt aag ggt ata atg caa gat gtc Gln Arg Asn Asn Ala His Gly Tyr Phe Lys Gly Ile Met Gln Asp Val 195 200 205	624
caa tta ctt gtc atg ccc cag gga ttt att gct cag tgc cca gat ctt Gln Leu Leu Val Met Pro Gln Gly Phe Ile Ala Gln Cys Pro Asp Leu 210 215 220	672
aat cgc acc tgt cca act tgc aat gac ttc cat gga ctt gtg cag aaa Asn Arg Thr Cys Pro Thr Cys Asn Asp Phe His Gly Leu Val Gln Lys 225 230 235 240	720
atc atg gag cta cag gat att tta gcc aaa aca tca gcc aag ctg tct Ile Met Glu Leu Gln Asp Ile Leu Ala Lys Thr Ser Ala Lys Leu Ser 245 250 255	768
cga gct gaa cag cga atg aat aga ttg gat cag tgc tat tgt gaa agg Arg Ala Glu Gln Arg Met Asn Arg Leu Asp Gln Cys Tyr Cys Glu Arg 260 265 270	816
act tgc acc atg aag gga acc acc tac cga gaa ttt gag tcc tgg ata Thr Cys Thr Met Lys Gly Thr Thr Tyr Arg Glu Phe Glu Ser Trp Ile 275 280 285	864
gac ggc tgt aag aac tgc aca tgc ctg aat gga acc atc cag tgt gaa Asp Gly Cys Lys Asn Cys Thr Cys Leu Asn Gly Thr Ile Gln Cys Glu 290 295 300	912
act cta atc tgc cca aat cct gac tgc cca ctt aag tcg gct ctt gcg Thr Leu Ile Cys Pro Asn Pro Asp Cys Pro Leu Lys Ser Ala Leu Ala 305 310 315 320	960
tat gtg gat ggc aaa tgc tgt aag gaa tgc aaa tcg ata tgc caa ttt Tyr Val Asp Gly Lys Cys Cys Lys Glu Cys Lys Ser Ile Cys Gln Phe 325 330 335	1008
caa gga cga acc tac ttt gaa gga gaa aga aat aca gtc tat tcc tct Gln Gly Arg Thr Tyr Phe Glu Gly Glu Arg Asn Thr Val Tyr Ser Ser 340 345 350	1056
tct gga gta tgt gtt ctc tat gag tgc aag gac cag acc atg aaa ctt Ser Gly Val Cys Val Leu Tyr Glu Cys Lys Asp Gln Thr Met Lys Leu 355 360 365	1104
gtt gag agt tca ggc tgt cca gct ttg gat tgt cca gag tct cat cag Val Glu Ser Ser Gly Cys Pro Ala Leu Asp Cys Pro Glu Ser His Gln 370 375 380	1152
ata acc ttg tct cac agc tgt tgc aaa gtt tgt aaa ggt tat gac ttt Ile Thr Leu Ser His Ser Cys Cys Lys Val Cys Lys Gly Tyr Asp Phe 385 390 395 400	1200
tgt tct gaa agg cat aac tgc atg gag aat tcc atc tgc aga aat ctg Cys Ser Glu Arg His Asn Cys Met Glu Asn Ser Ile Cys Arg Asn Leu 405 410 415	1248
aat gac agg gct gtt tgt agc tgt cga gat ggt ttt agg gct ctt cga Asn Asp Arg Ala Val Cys Ser Cys Arg Asp Gly Phe Arg Ala Leu Arg 420 425 430	1296
gag gat aat gcc tac tgt gaa gac atc gat gag tgt gct gaa ggg cgc Glu Asp Asn Ala Tyr Cys Glu Asp Ile Asp Glu Cys Ala Glu Gly Arg 435 440 445	1344
cat tac tgt cgt gaa aat aca atg tgt gtc aac acc ccg ggt tct ttt His Tyr Cys Arg Glu Asn Thr Met Cys Val Asn Thr Pro Gly Ser Phe 450 455 460	1392
atg tgc atc tgc aaa act gga tac atc aga att gat gat tat tca tgt Met Cys Ile Cys Lys Thr Gly Tyr Ile Arg Ile Asp Asp Tyr Ser Cys 465 470 475 480	1440
aca gaa cat gat gag tgt atc aca aat cag cac aac tgt gat gaa aat Thr Glu His Asp Glu Cys Ile Thr Asn Gln His Asn Cys Asp Glu Asn 485 490 495	1488

gct tta tgc ttc aac act gtt gga gga cac aac tgt gtt tgc aag ccg Ala Leu Cys Phe Asn Thr Val Gly Gly His Asn Cys Val Cys Lys Pro 500 505 510	1536
ggc tat aca ggg aat gga acg aca tgc aaa gca ttt tgc aaa gat ggc Gly Tyr Thr Gly Asn Gly Thr Thr Cys Lys Ala Phe Cys Lys Asp Gly 515 520 525	1584
tgt agg aat gga gga gcc tgt att gcc gct aat gtg tgt gcc tgc cca Cys Arg Asn Gly Gly Ala Cys Ile Ala Ala Asn Val Cys Ala Cys Pro 530 535 540	1632
caa ggc ttc act gga ccc agc tgt gaa acg gac att gat gaa tgc tct Gln Gly Phe Thr Gly Pro Ser Cys Glu Thr Asp Ile Asp Glu Cys Ser 545 550 555 560	1680
gat ggt ttt gtt caa tgt gac agt cgt gct aat tgc att aac ctg cct Asp Gly Phe Val Gln Cys Asp Ser Arg Ala Asn Cys Ile Asn Leu Pro 565 570 575	1728
gga tgg tac cac tgt gag tgc aga gat ggc tac cat gac aat ggg atg Gly Trp Tyr His Cys Glu Cys Arg Asp Gly Tyr His Asp Asn Gly Met 580 585 590	1776
ttt tca cca agt gga gaa tgc tgt gaa gat att gat gag tgt ggg acc Phe Ser Pro Ser Gly Glu Ser Cys Glu Asp Ile Asp Glu Cys Gly Thr 595 600 605	1824
ggg agg cac agc tgt gcc aat gat acc att tgc ttc aat ttg gat ggc Gly Arg His Ser Cys Ala Asn Asp Thr Ile Cys Phe Asn Leu Asp Gly 610 615 620	1872
gga tat gat tgt cga tgt cct cat gga aag aat tgc aca ggg gac tgc Gly Tyr Asp Cys Arg Cys Pro His Gly Lys Asn Cys Thr Gly Asp Cys 625 630 635 640	1920
atc cat gat gga aaa gtt aag cac aat ggt cag att tgg gtg ttg gaa Ile His Asp Gly Lys Val Lys His Asn Gly Gln Ile Trp Val Leu Glu 645 650 655	1968
aat gac agg tgc tct gtg tgc tca tgt cag aat gga ttc gtt atg tgt Asn Asp Arg Cys Ser Val Cys Ser Cys Gln Asn Gly Phe Val Met Cys 660 665 670	2016
cga cgg atg gtc tgt gac tgt gag aat ccc aca gtt gat ctt ttt tgc Arg Arg Met Val Cys Asp Cys Glu Asn Pro Thr Val Asp Leu Phe Cys 675 680 685	2064
tgc cct gaa tgt gac cca agg ctt agt agt cag tgc ctc cat caa aat Cys Pro Glu Cys Asp Pro Arg Leu Ser Ser Gln Cys Leu His Gln Asn 690 695 700	2112
ggg gaa act ttg tat aac agt ggt gac acc tgg gtc cag aat tgt caa Gly Glu Thr Leu Tyr Asn Ser Gly Asp Thr Trp Val Gln Asn Cys Gln 705 710 715 720	2160
cag tgc cgc tgc ttg caa ggg gaa gtt gat tgt tgg ccc ctg cct tgc Gln Cys Arg Cys Leu Gln Gly Glu Val Asp Cys Trp Pro Leu Pro Cys 725 730 735	2208
cca gat gtg gag tgt gaa ttc agc att ctc cca gag aat gag tgc tgc Pro Asp Val Glu Cys Glu Phe Ser Ile Leu Pro Glu Asn Glu Cys Cys 740 745 750	2256
ccg cgc tgt gtc aca gac cct tgc cag gct gac acc atc cgc aat gac Pro Arg Cys Val Thr Asp Pro Cys Gln Ala Asp Thr Ile Arg Asn Asp 755 760 765	2304
atc acc aag act tgc ctg gac gaa atg aat gtg gtt cgc ttc acc ggg Ile Thr Lys Thr Cys Leu Asp Glu Met Asn Val Val Arg Phe Thr Gly 770 775 780	2352
tcc tct tgg atc aaa cat ggc act gag tgt act ctc tgc cag tgc aag Ser Ser Trp Ile Lys His Gly Thr Glu Cys Thr Leu Cys Gln Cys Lys	2400

785	790	795	800	
aat ggc cac atc tgt tgc tca gtg gat cca cag tgc ctt cag gaa ctg				2448
Asn Gly His Ile Cys Cys Ser Val Asp Pro Gln Cys Leu Gln Glu Leu	805	810	815	
tga				2451
*				
<210> 8				
<211> 816				
<212> PRT				
<213> Homo sapiens				
<400> 8				
Met Glu Ser Arg Val Leu Leu Arg Thr Phe Cys Leu Ile Phe Gly Leu	5	10	15	
Gly Ala Val Trp Gly Leu Gly Val Asp Pro Ser Leu Gln Ile Asp Val	20	25	30	
Leu Thr Glu Leu Glu Leu Gly Glu Ser Thr Thr Gly Val Arg Gln Val	35	40	45	
Pro Gly Leu His Asn Gly Thr Lys Ala Phe Leu Phe Gln Asp Thr Pro	50	55	60	
Arg Ser Ile Lys Ala Ser Thr Ala Thr Ala Glu Gln Phe Phe Gln Lys	65	70	75	80
Leu Arg Asn Lys His Glu Phe Thr Ile Leu Val Thr Leu Lys Gln Thr	85	90	95	
His Leu Asn Ser Gly Val Ile Leu Ser Ile His His Leu Asp His Arg	100	105	110	
Tyr Leu Glu Leu Glu Ser Ser Gly His Arg Asn Glu Val Arg Leu His	115	120	125	
Tyr Arg Ser Gly Ser His Arg Pro His Thr Glu Val Phe Pro Tyr Ile	130	135	140	
Leu Ala Asp Asp Lys Trp His Lys Leu Ser Leu Ala Ile Ser Ala Ser	145	150	155	160
His Leu Ile Leu His Ile Asp Cys Asn Lys Ile Tyr Glu Arg Val Val	165	170	175	
Glu Lys Pro Ser Thr Asp Leu Pro Leu Gly Thr Thr Phe Trp Leu Gly	180	185	190	
Gln Arg Asn Asn Ala His Gly Tyr Phe Lys Gly Ile Met Gln Asp Val	195	200	205	
Gln Leu Leu Val Met Pro Gln Gly Phe Ile Ala Gln Cys Pro Asp Leu	210	215	220	
Asn Arg Thr Cys Pro Thr Cys Asn Asp Phe His Gly Leu Val Gln Lys	225	230	235	240
Ile Met Glu Leu Gln Asp Ile Leu Ala Lys Thr Ser Ala Lys Leu Ser	245	250	255	
Arg Ala Glu Gln Arg Met Asn Arg Leu Asp Gln Cys Tyr Cys Glu Arg	260	265	270	
Thr Cys Thr Met Lys Gly Thr Thr Tyr Arg Glu Phe Glu Ser Trp Ile	275	280	285	
Asp Gly Cys Lys Asn Cys Thr Cys Leu Asn Gly Thr Ile Gln Cys Glu	290	295	300	
Thr Leu Ile Cys Pro Asn Pro Asp Cys Pro Leu Lys Ser Ala Leu Ala	305	310	315	320
Tyr Val Asp Gly Lys Cys Cys Lys Glu Cys Lys Ser Ile Cys Gln Phe	325	330	335	
Gln Gly Arg Thr Tyr Phe Glu Gly Glu Arg Asn Thr Val Tyr Ser Ser	340	345	350	
Ser Gly Val Cys Val Leu Tyr Glu Cys Lys Asp Gln Thr Met Lys Leu	355	360	365	
Val Glu Ser Ser Gly Cys Pro Ala Leu Asp Cys Pro Glu Ser His Gln	370	375	380	
Ile Thr Leu Ser His Ser Cys Cys Lys Val Cys Lys Gly Tyr Asp Phe	385	390	395	400
Cys Ser Glu Arg His Asn Cys Met Glu Asn Ser Ile Cys Arg Asn Leu	405	410	415	
Asn Asp Arg Ala Val Cys Ser Cys Arg Asp Gly Phe Arg Ala Leu Arg	420	425	430	
Glu Asp Asn Ala Tyr Cys Glu Asp Ile Asp Glu Cys Ala Glu Gly Arg	435	440	445	
His Tyr Cys Arg Glu Asn Thr Met Cys Val Asn Thr Pro Gly Ser Phe	450	455	460	

Met Cys Ile Cys Lys Thr Gly Tyr Ile Arg Ile Asp Asp Tyr Ser Cys
 465 470 475 480
 Thr Glu His Asp Glu Cys Ile Thr Asn Gln His Asn Cys Asp Glu Asn
 485 490 495
 Ala Leu Cys Phe Asn Thr Val Gly Gly His Asn Cys Val Cys Lys Pro
 500 505 510
 Gly Tyr Thr Gly Asn Gly Thr Thr Cys Lys Ala Phe Cys Lys Asp Gly
 515 520 525
 Cys Arg Asn Gly Gly Ala Cys Ile Ala Ala Asn Val Cys Ala Cys Pro
 530 535 540
 Gln Gly Phe Thr Gly Pro Ser Cys Glu Thr Asp Ile Asp Glu Cys Ser
 545 550 555 560
 Asp Gly Phe Val Gln Cys Asp Ser Arg Ala Asn Cys Ile Asn Leu Pro
 565 570 575
 Gly Trp Tyr His Cys Glu Cys Arg Asp Gly Tyr His Asp Asn Gly Met
 580 585 590
 Phe Ser Pro Ser Gly Glu Ser Cys Glu Asp Ile Asp Glu Cys Gly Thr
 595 600 605
 Gly Arg His Ser Cys Ala Asn Asp Thr Ile Cys Phe Asn Leu Asp Gly
 610 615 620
 Gly Tyr Asp Cys Arg Cys Pro His Gly Lys Asn Cys Thr Gly Asp Cys
 625 630 635 640
 Ile His Asp Gly Lys Val Lys His Asn Gly Gln Ile Trp Val Leu Glu
 645 650 655
 Asn Asp Arg Cys Ser Val Cys Ser Cys Gln Asn Gly Phe Val Met Cys
 660 665 670
 Arg Arg Met Val Cys Asp Cys Glu Asn Pro Thr Val Asp Leu Phe Cys
 675 680 685
 Cys Pro Glu Cys Asp Pro Arg Leu Ser Ser Gln Cys Leu His Gln Asn
 690 695 700
 Gly Glu Thr Leu Tyr Asn Ser Gly Asp Thr Trp Val Gln Asn Cys Gln
 705 710 715 720
 Gln Cys Arg Cys Leu Gln Gly Glu Val Asp Cys Trp Pro Leu Pro Cys
 725 730 735
 Pro Asp Val Glu Cys Glu Phe Ser Ile Leu Pro Glu Asn Glu Cys Cys
 740 745 750
 Pro Arg Cys Val Thr Asp Pro Cys Gln Ala Asp Thr Ile Arg Asn Asp
 755 760 765
 Ile Thr Lys Thr Cys Leu Asp Glu Met Asn Val Val Arg Phe Thr Gly
 770 775 780
 Ser Ser Trp Ile Lys His Gly Thr Glu Cys Thr Leu Cys Gln Cys Lys
 785 790 795 800
 Asn Gly His Ile Cys Ser Val Asp Pro Gln Cys Leu Gln Glu Leu
 805 810 815

<210> 9
 <211> 2451
 <212> DNA
 <213> Rattus norvegicus

<220>
 <221> CDS
 <222> (1)...(2451)

<400> 9
 atg gaa tcc cgg gta tta ctg aga acg ttc tgc gtg atc ctc ggg ctc 48
 Met Glu Ser Arg Val Leu Leu Arg Thr Phe Cys Val Ile Leu Gly Leu
 1 5 10 15
 gaa gcg gtt tgg gga ctt ggt gtg gac ccc tcc cta cag att gac gtc 96
 Glu Ala Val Trp Gly Leu Gly Val Asp Pro Ser Leu Gln Ile Asp Val
 20 25 30
 tta tca gag tta gaa ctt ggg gag tcc aca gct gga gtg cgc caa gtc 144
 Leu Ser Glu Leu Glu Leu Gly Glu Ser Thr Ala Gly Val Arg Gln Val
 35 40 45
 cca gga ctg cat aat ggg acg aaa gcc ttc ctc ttc caa gat tcc ccc 192
 Pro Gly Leu His Asn Gly Thr Lys Ala Phe Leu Phe Gln Asp Ser Pro
 50 55 60
 aga agc ata aaa gca ccc att gct aca gct gag cgg ttt ttc cag aag 240
 Arg Ser Ile Lys Ala Pro Ile Ala Thr Ala Glu Arg Phe Phe Gln Lys
 65 70 75 80

ctg agg aat aaa cac gag ttc aca att ctg gtg acc ctg aaa cag atc Leu Arg Asn Lys His Glu Phe Thr Ile Leu Val Thr Leu Lys Gln Ile 85 90 95	288
cac tta aat tcg gga gtc att ctc tcc atc cac cac ttg gat cac agg His Leu Asn Ser Gly Val Ile Leu Ser Ile His His Leu Asp His Arg 100 105 110	336
tac ctg gaa ctg gaa agc agc ggc cac cgg aat gag atc aga ctg cat Tyr Leu Glu Leu Glu Ser Ser Gly His Arg Asn Glu Ile Arg Leu His 115 120 125	384
tac cgc tct gga act cac cgc ccg cac acg gaa gtg ttt cct tat att Tyr Arg Ser Gly Thr His Arg Pro His Thr Glu Val Phe Pro Tyr Ile 130 135 140	432
ttg gct gat gcc aag tgg cac aag ctc tcc tta gcc ttc agt gcc tcc Leu Ala Asp Ala Lys Trp His Lys Leu Ser Leu Ala Phe Ser Ala Ser 145 150 155 160	480
cac tta att tta cac atc gac tgc aac aag atc tat gaa cga gtg gtg His Leu Ile Leu His Ile Asp Cys Asn Lys Ile Tyr Glu Arg Val Val 165 170 175	528
gaa atg cct tct aca gac ttg cct ctg ggc acc aca ttt tgg ttg gga Glu Met Pro Ser Thr Asp Leu Pro Leu Gly Thr Thr Phe Trp Leu Gly 180 185 190	576
cag aga aat aac gca cac ggg tat ttt aag gga ata atg caa gat gtg Gln Arg Asn Asn Ala His Gly Tyr Phe Lys Gly Ile Met Gln Asp Val 195 200 205	624
caa tta ctt gtc atg ccc cag ggg ttc atc gct cag tgc ccg gat ctt Gln Leu Leu Val Met Pro Gln Gly Phe Ile Ala Gln Cys Pro Asp Leu 210 215 220	672
aat cga acc tgt cca aca tgc aac gac ttc cat ggg ctt gtg cag aaa Asn Arg Thr Cys Pro Thr Cys Asn Asp Phe His Gly Leu Val Gln Lys 225 230 235 240	720
atc atg gag ctg cag gac att tta tcg aag acg tca gcc aag ttg tct Ile Met Glu Leu Gln Asp Ile Leu Ser Lys Thr Ser Ala Lys Leu Ser 245 250 255	768
aga gct gaa caa cga atg aac agg ctg gat cag tgc tac tgt gag cgg Arg Ala Glu Gln Arg Met Asn Arg Leu Asp Gln Cys Tyr Cys Glu Arg 260 265 270	816
acg tgc acc atg aag gga gcc acc tac cgg gag ttc gag tcc tgg aca Thr Cys Thr Met Lys Gly Ala Thr Tyr Arg Glu Phe Glu Ser Trp Thr 275 280 285	864
gac ggc tgc aag aac tgc aca tgc ttg aat ggg acc atc cag tgc gag Asp Gly Cys Lys Asn Cys Thr Cys Leu Asn Gly Thr Ile Gln Cys Glu 290 295 300	912
act ctg gtc tgc cct gct ccc gac tgc ccg gct aaa tcg gct cca gcg Thr Leu Val Cys Pro Ala Pro Asp Cys Pro Ala Lys Ser Ala Pro Ala 305 310 315 320	960
tac gtg gat ggc aag tgc tgt aag gag tgc aag tcc acc tgc cag ttc Tyr Val Asp Gly Lys Cys Cys Lys Glu Cys Lys Ser Thr Cys Gln Phe 325 330 335	1008
cag ggg cgg agc tac ttt gag gga gaa agg agc aca gtc ttc tca gct Gln Gly Arg Ser Tyr Phe Glu Gly Glu Arg Ser Thr Val Phe Ser Ala 340 345 350	1056
tcc gga atg tgc gtc ttg tat gaa tgc aag gat cag acc atg aag ctt Ser Gly Met Cys Val Leu Tyr Glu Cys Lys Asp Gln Thr Met Lys Leu 355 360 365	1104
gtt gag aac gcc ggc tgc ccg gct tta gat tgc ccc gag tct cat cag Val Glu Asn Ala Gly Cys Pro Ala Leu Asp Cys Pro Glu Ser His Gln 370 375 380	1152

atc gcc ttg tct cac agc tgc tgc aag gtt tgc aaa ggt tat gac ttc Ile Ala Leu Ser His Ser Cys Cys Lys Val Cys Lys Gly Tyr Asp Phe 385 390 395 400	1200
tgt tct gag aag cat aca tgc atg gag aac tca gtc tgc agg aac ctg Cys Ser Glu Lys His Thr Cys Met Glu Asn Ser Val Cys Arg Asn Leu 405 410 415	1248
aac gac agg gca gtg tgc agc tgc cgg gat ggt ttc cgg gcc ctc cgg Asn Asp Arg Ala Val Cys Ser Cys Arg Asp Gly Phe Arg Ala Leu Arg 420 425 430	1296
gag gac aat gcc tac tgt gaa gac att gac gag tgt gca gag ggg cgc Glu Asp Asn Ala Tyr Cys Glu Asp Ile Asp Glu Cys Ala Glu Gly Arg 435 440 445	1344
cat tac tgc cgt gag aac acc atg tgt gtg aac aca ccg ggc tct ttc His Tyr Cys Arg Glu Asn Thr Met Cys Val Asn Thr Pro Gly Ser Phe 450 455 460	1392
ctg tgt atc tgc caa aca ggg tac atc aga atc gac gat tac tcg tgt Leu Cys Ile Cys Gln Thr Gly Tyr Ile Arg Ile Asp Asp Tyr Ser Cys 465 470 475 480	1440
acg gaa cat gac gag tgc ctc aca aac cag cac aac tgt gac gag aac Thr Glu His Asp Glu Cys Leu Thr Asn Gln His Asn Cys Asp Glu Asn 485 490 495	1488
gct ttg tgc ttt aac acc gtt gga ggt cac aac tgc gtc tgc aag cct Ala Leu Cys Phe Asn Thr Val Gly His Asn Cys Val Cys Lys Pro 500 505 510	1536
ggg tac act ggg aat gga acc acg tgc aaa gct ttc tgc aaa gac ggc Gly Tyr Thr Gly Asn Gly Thr Thr Cys Lys Ala Phe Cys Lys Asp Gly 515 520 525	1584
tgc aaa aac gga ggt gcc tgc att gct gcc aat gtc tgt gct tgc cca Cys Lys Asn Gly Gly Ala Cys Ile Ala Ala Asn Val Cys Ala Cys Pro 530 535 540	1632
caa ggc ttc acc gga ccc agc tgt gag aca gac att gat gag tgc tct Gln Gly Phe Thr Gly Pro Ser Cys Glu Thr Asp Ile Asp Glu Cys Ser 545 550 555 560	1680
gag ggc ttt gtt cag tgt gac agc cgt gcc aac tgc att aac ctg cct Glu Gly Phe Val Gln Cys Asp Ser Arg Ala Asn Cys Ile Asn Leu Pro 565 570 575	1728
ggg tgg tac cac tgt gag tgc aga gat ggc tac cat gac aat ggg atg Gly Trp Tyr His Cys Glu Cys Arg Asp Gly Tyr His Asp Asn Gly Met 580 585 590	1776
ttt gcg cca ggt gga gaa tcc tgt gaa gat att gat gaa tgt ggg act Phe Ala Pro Gly Gly Glu Ser Cys Glu Asp Ile Asp Glu Cys Gly Thr 595 600 605	1824
ggg agg cac agc tgt gcc aat gac acc att tgc ttc aac ttg gac ggt Gly Arg His Ser Cys Ala Asn Asp Thr Ile Cys Phe Asn Leu Asp Gly 610 615 620	1872
ggc tac gat tgc cgg tgt ccc cat gga aag aac tgc aca ggg gac tgc Gly Tyr Asp Cys Arg Cys Pro His Gly Lys Asn Cys Thr Gly Asp Cys 625 630 635 640	1920
gtg cac gac ggg aaa gtc aaa cac aac ggc cag atc tgg gtg ctg gag Val His Asp Gly Lys Val Lys His Asn Gly Gln Ile Trp Val Leu Glu 645 650 655	1968
aac gac agg tgc tct gtg tgt tcc tgc cag act gga ttt gtt atg tgc Asn Asp Arg Cys Ser Val Cys Ser Cys Gln Thr Gly Phe Val Met Cys 660 665 670	2016
caa cgg atg gtc tgt gac tgc gaa aac ccc aca gtt gac ctc tcc tgc Gln Arg Met Val Cys Asp Cys Glu Asn Pro Thr Val Asp Leu Ser Cys 680 685 690	2064

675	680	685	
tgc cct gag tgc gac cca agg ctg agc agc cag tgc ctg cat caa aac Cys Pro Glu Cys Asp Pro Arg Leu Ser Ser Gln Cys Leu His Gln Asn 690 695 700			2112
ggg gaa acc gtg tac aac agc ggt gac acc tgg gcc cag gat tgc cgt Gly Glu Thr Val Tyr Asn Ser Gly Asp Thr Trp Ala Gln Asp Cys Arg 705 710 715 720			2160
cag tgc cgc tgc ttg caa gaa gaa gtt gac tgc tgg ccc ctg gct tgc Gln Cys Arg Cys Leu Gln Glu Glu Val Asp Cys Trp Pro Leu Ala Cys 725 730 735			2208
cca gag gta gag tgt gaa ttt agt gtc ctt cct gag aac gag tgc tgc Pro Glu Val Glu Cys Glu Phe Ser Val Leu Pro Glu Asn Glu Cys Cys 740 745 750			2256
cca cgc tgt gtc acc gat cct tgt cag gct gac acc atc cgc aat gac Pro Arg Cys Val Thr Asp Pro Cys Gln Ala Asp Thr Ile Arg Asn Asp 755 760 765			2304
atc acc aaa acc tgc ctg gac gag atg aac gtg gtt cgc ttc act ggg Ile Thr Lys Thr Cys Leu Asp Glu Met Asn Val Val Arg Phe Thr Gly 770 775 780			2352
tct tcc tgg atc aag cac ggc acg gag tgc acc ctc tgc cag tgc aag Ser Ser Trp Ile Lys His Gly Thr Glu Cys Thr Leu Cys Gln Cys Lys 785 790 795 800			2400
aac ggc cac gtg tgc tgc tca gtg gac cca cag tgc ctc cag gag ctg Asn Gly His Val Cys Cys Ser Val Asp Pro Gln Cys Leu Gln Glu Leu 805 810 815			2448
tga *			2451

<210> 10
 <211> 816
 <212> PRT
 <213> Rattus norvegicus

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

Ile Met Glu Leu Gln Asp Ile Leu Ser Lys Thr Ser Ala Lys Leu Ser
 245 250 255
 Arg Ala Glu Gln Arg Met Asn Arg Leu Asp Gln Cys Tyr Cys Glu Arg
 260 265 270
 Thr Cys Thr Met Lys Gly Ala Thr Tyr Arg Glu Phe Glu Ser Trp Thr
 275 280 285
 Asp Gly Cys Lys Asn Cys Thr Cys Leu Asn Gly Thr Ile Gln Cys Glu
 290 295 300
 Thr Leu Val Cys Pro Ala Pro Asp Cys Pro Ala Lys Ser Ala Pro Ala
 305 310 315 320
 Tyr Val Asp Gly Lys Cys Cys Lys Glu Cys Lys Ser Thr Cys Gln Phe
 325 330 335
 Gln Gly Arg Ser Tyr Phe Glu Gly Glu Arg Ser Thr Val Phe Ser Ala
 340 345 350
 Ser Gly Met Cys Val Leu Tyr Glu Cys Lys Asp Gln Thr Met Lys Leu
 355 360 365
 Val Glu Asn Ala Gly Cys Pro Ala Leu Asp Cys Pro Glu Ser His Gln
 370 375 380
 Ile Ala Leu Ser His Ser Cys Cys Lys Val Cys Lys Gly Tyr Asp Phe
 385 390 395 400
 Cys Ser Glu Lys His Thr Cys Met Glu Asn Ser Val Cys Arg Asn Leu
 405 410 415
 Asn Asp Arg Ala Val Cys Ser Cys Arg Asp Gly Phe Arg Ala Leu Arg
 420 425 430
 Glu Asp Asn Ala Tyr Cys Glu Asp Ile Asp Glu Cys Ala Glu Gly Arg
 435 440 445
 His Tyr Cys Arg Glu Asn Thr Met Cys Val Asn Thr Pro Gly Ser Phe
 450 455 460
 Leu Cys Ile Cys Gln Thr Gly Tyr Ile Arg Ile Asp Asp Tyr Ser Cys
 465 470 475 480
 Thr Glu His Asp Glu Cys Leu Thr Asn Gln His Asn Cys Asp Glu Asn
 485 490 495
 Ala Leu Cys Phe Asn Thr Val Gly Gly His Asn Cys Val Cys Lys Pro
 500 505 510
 Gly Tyr Thr Gly Asn Gly Thr Thr Cys Lys Ala Phe Cys Lys Asp Gly
 515 520 525
 Cys Lys Asn Gly Gly Ala Cys Ile Ala Ala Asn Val Cys Ala Cys Pro
 530 535 540
 Gln Gly Phe Thr Gly Pro Ser Cys Glu Thr Asp Ile Asp Glu Cys Ser
 545 550 555 560
 Glu Gly Phe Val Gln Cys Asp Ser Arg Ala Asn Cys Ile Asn Leu Pro
 565 570 575
 Gly Trp Tyr His Cys Glu Cys Arg Asp Gly Tyr His Asp Asn Gly Met
 580 585 590
 Phe Ala Pro Gly Gly Glu Ser Cys Glu Asp Ile Asp Glu Cys Gly Thr
 595 600 605
 Gly Arg His Ser Cys Ala Asn Asp Thr Ile Cys Phe Asn Leu Asp Gly
 610 615 620
 Gly Tyr Asp Cys Arg Cys Pro His Gly Lys Asn Cys Thr Gly Asp Cys
 625 630 635 640
 Val His Asp Gly Lys Val Lys His Asn Gly Gln Ile Trp Val Leu Glu
 645 650 655
 Asn Asp Arg Cys Ser Val Cys Ser Cys Gln Thr Gly Phe Val Met Cys
 660 665 670
 Gln Arg Met Val Cys Asp Cys Glu Asn Pro Thr Val Asp Leu Ser Cys
 675 680 685
 Cys Pro Glu Cys Asp Pro Arg Leu Ser Ser Gln Cys Leu His Gln Asn
 690 695 700
 Gly Glu Thr Val Tyr Asn Ser Gly Asp Thr Trp Ala Gln Asp Cys Arg
 705 710 715 720
 Gln Cys Arg Cys Leu Gln Glu Glu Val Asp Cys Trp Pro Leu Ala Cys
 725 730 735
 Pro Glu Val Glu Cys Glu Phe Ser Val Leu Pro Glu Asn Glu Cys Cys
 740 745 750
 Pro Arg Cys Val Thr Asp Pro Cys Gln Ala Asp Thr Ile Arg Asn Asp
 755 760 765
 Ile Thr Lys Thr Cys Leu Asp Glu Met Asn Val Val Arg Phe Thr Gly
 770 775 780
 Ser Ser Trp Ile Lys His Gly Thr Glu Cys Thr Leu Cys Gln Cys Lys
 785 790 795 800
 Asn Gly His Val Cys Cys Ser Val Asp Pro Gln Cys Leu Gln Glu Leu
 805 810 815

<210> 11

<211> 2460

```

<212> DNA
<213> Mus musculus

<220>
<221> CDS
<222> (1)... (2460)

<221> misc_feature
<222> (1)... (2460)
<223> n = A,T,C or G

<400> 11
atg cac gcc atg gaa tcc cgg gtg tta ctg aga acg ttc tgc gtg atc      48
Met His Ala Met Glu Ser Arg Val Leu Leu Arg Thr Phe Cys Val Ile
  1             5             10             15

ctc ggc ctt gga gcg gtt tgg ggg ctt ggt gtg gac ccc tcc cta cag      96
Leu Gly Leu Gly Ala Val Trp Gly Leu Gly Val Asp Pro Ser Leu Gln
             20             25             30

att gac gtc tta aca gag tta gaa ctt ggg gag tct aca gat gga gtg     144
Ile Asp Val Leu Thr Glu Leu Glu Leu Gly Glu Ser Thr Asp Gly Val
             35             40             45

cgc caa gtc ccg gga ctg cat aat ggg acg aaa gcc ttc ctc ttc caa     192
Arg Gln Val Pro Gly Leu His Asn Gly Thr Lys Ala Phe Leu Phe Gln
             50             55             60

gag tcc ccc aga agc ata aag gca tcc act gct aca gct gag cgg ttt     240
Glu Ser Pro Arg Ser Ile Lys Ala Ser Thr Ala Thr Ala Glu Arg Phe
             65             70             75

ctc cag aag ctg aga aat aaa cac gag ttc aca atc ttg gtg acc tta     288
Leu Gln Lys Leu Arg Asn Lys His Glu Phe Thr Ile Leu Val Thr Leu
             85             90             95

aaa cag atc cac tta aat tcg gga gtt atc ctc tcc atc cac cac ttg     336
Lys Gln Ile His Leu Asn Ser Gly Val Ile Leu Ser Ile His His Leu
             100            105            110

gat cac agg tac ctg gaa ctg gaa agc agt ggc cat cgg aat gag atc     384
Asp His Arg Tyr Leu Glu Leu Glu Ser Ser Gly His Arg Asn Glu Ile
             115            120            125

aga ctc cac tac cgc tct ggc act cac cgc ccc cac acg gaa gtg ttt     432
Arg Leu His Tyr Arg Ser Gly Thr His Arg Pro His Thr Glu Val Phe
             130            135            140

cct tat att ttg gct gat gcc aag tgg cac aag ctc tcc tta gcc ttc     480
Pro Tyr Ile Leu Ala Asp Ala Lys Trp His Lys Leu Ser Leu Ala Phe
             145            150            155

agt gcc tct cac tta att tta cac atc gac tgc aat aag atc tat gaa     528
Ser Ala Ser His Leu Ile Leu His Ile Asp Cys Asn Lys Ile Tyr Glu
             165            170            175

cga gtg gtg gaa atg ccc ttc aca gac ttg gct ctg ggc aca aca ttt     576
Arg Val Val Glu Met Pro Phe Thr Asp Leu Ala Leu Gly Thr Thr Phe
             180            185            190

tgg ttg gga cag aga aat aat gca cat ggc tat ttt aag gga ata atg     624
Trp Leu Gly Gln Arg Asn Asn Ala His Gly Tyr Phe Lys Gly Ile Met
             195            200            205

cag gat gtg cac gtc ctt gtc atg cct cag ggc ttc att gct cag tgc     672
Gln Asp Val His Val Leu Val Met Pro Gln Gly Phe Ile Ala Gln Cys
             210            215            220

ccg gac ctt aat cga acc tgt cca aca tgc aac gac ttc cat ggg ctt     720
Pro Asp Leu Asn Arg Thr Cys Pro Thr Cys Asn Asp Phe His Gly Leu
             225            230            235

gtg cag aaa atc atg gag ctg cag gac att tta tca aag acg tca gcc     768
Val Gln Lys Ile Met Glu Leu Gln Asp Ile Leu Ser Lys Thr Ser Ala
             245            250            255

```

aag ctg tcc cga gct gaa caa aga atg aac agg ctg gat cag tgc tac Lys Leu Ser Arg Ala Glu Gln Arg Met Asn Arg Leu Asp Gln Cys Tyr 260 265 270	816
tgt gag cgg aca tgc act gtg aag gga acc acc tac cga gag tct gag Cys Glu Arg Thr Cys Thr Val Lys Gly Thr Thr Tyr Arg Glu Ser Glu 275 280 285	864
tcc tgg aca gac ggc tgt aag aac tgc aca tgc ttg aac ggg acc atc Ser Trp Thr Asp Gly Cys Lys Asn Cys Thr Cys Leu Asn Gly Thr Ile 290 295 300	912
cag tgc gag act ctg gtc tgc cct gct cct gac tgc cct cct aaa tcg Gln Cys Glu Thr Leu Val Cys Pro Ala Pro Asp Cys Pro Pro Lys Ser 305 310 315 320	960
gcc cct gcg tat gtg gat ggc aag tgc tgt aag gag tgc aaa tca acc Ala Pro Ala Tyr Val Asp Gly Lys Cys Cys Lys Glu Cys Lys Ser Thr 325 330 335	1008
tgc cag ttc cag gga cgg agc tac ttt gag gga gaa agg aac acg gca Cys Gln Phe Gln Gly Arg Ser Tyr Phe Glu Gly Glu Arg Asn Thr Ala 340 345 350	1056
tac tca tct tct gga atg tgt gtc tta tat gaa tgc aag gat cag acc Tyr Ser Ser Ser Gly Met Cys Val Leu Tyr Glu Cys Lys Asp Gln Thr 355 360 365	1104
atg aag ctt gtt gag aac att ggc tgc cca ccc tta gat tgt ccc gag Met Lys Leu Val Glu Asn Ile Gly Cys Pro Pro Leu Asp Cys Pro Glu 370 375 380	1152
tct cat cag att gcc ttg tct cac agc tgc tgc aag gtt tgt aaa ggt Ser His Gln Ile Ala Leu Ser His Ser Cys Cys Lys Val Cys Lys Gly 385 390 395 400	1200
tat gac ttc tgt tct gag aag cat acc tgc atg gag aac tcg gtc tgc Tyr Asp Phe Cys Ser Glu Lys His Thr Cys Met Glu Asn Ser Val Cys 405 410 415	1248
agg aac ctg aac gac agg gtt gtg tgc agc tgc agg gat ggt ttt cgg Arg Asn Leu Asn Asp Arg Val Val Cys Ser Cys Arg Asp Gly Phe Arg 420 425 430	1296
gct ctc cga gag gac aac gcc tac tgt gaa gac att gac gag tgt gca Ala Leu Arg Glu Asp Asn Ala Tyr Cys Glu Asp Ile Asp Glu Cys Ala 435 440 445	1344
gaa ggg cgc cat tac tgc cgt gag aac acc atg tgt gtg aat aca cct Glu Gly Arg His Tyr Cys Arg Glu Asn Thr Met Cys Val Asn Thr Pro 450 455 460	1392
ggg tct ttc atg tgt gtc tgc aaa act ggg tac atc agg atc gac gat Gly Ser Phe Met Cys Val Cys Lys Thr Gly Tyr Ile Arg Ile Asp Asp 465 470 475 480	1440
tac tca tgt aca gaa cat gat gag tgt ctc aca acc cag cac aat tgt Tyr Ser Cys Thr Glu His Asp Glu Cys Leu Thr Thr Gln His Asn Cys 485 490 495	1488
gat gaa aac gct ttg tgc ttt aac act gtt gga gga cac aac tgt gtc Asp Glu Asn Ala Leu Cys Phe Asn Thr Val Gly Gly His Asn Cys Val 500 505 510	1536
tgc aag cct ggc tac acc ggg aat gga acc acg tgc aaa gct ttc tgc Cys Lys Pro Gly Tyr Thr Gly Asn Gly Thr Thr Cys Lys Ala Phe Cys 515 520 525	1584
aaa gat ggc tgt aga aac gga gga gcg tgc att gct gcc aat gtg tgt Lys Asp Gly Cys Arg Asn Gly Gly Ala Cys Ile Ala Ala Asn Val Cys 530 535 540	1632
gcc tgc cca caa ggc ttc acg gga ccc agc tgt gag aca gac att gac Ala Cys Pro Gln Gly Phe Thr Gly Pro Ser Cys Glu Thr Asp Ile Asp 545 550 555	1680

545	550	555	560	
gag tgc tct Glu Cys Ser	gag ggc ttt Gly Phe Val	ggt cag tgt Gln Cys Asp	gac agc cgt gcc aac tgc atc Ser Arg Ala Asn Cys Ile	1728
	565	570	575	
aac ctg cct Asn Leu Pro	ggg tgg tat Gly Trp Tyr	cac tgt gag tgc aga gac ggc tac cat gac His Cys Glu Cys Arg Asp Gly Tyr His Asp		1776
	580	585	590	
aat ggg atg ttt Asn Gly Met	gcg cca ggc gga gaa tcc tgt gaa gat att gac gaa Phe Ala Pro Gly Gly Glu Ser Cys Glu Asp Ile Asp Glu			1824
	595	600	605	
tgc ggg act Cys Gly Thr	ggg agg cac Gly Arg His	agc tgc acc aac gac acc att tgc ttc aac Ser Cys Thr Asn Asp Thr Ile Cys Phe Asn		1872
	610	615	620	
ttg gac ggg gga tac Leu Asp Gly Gly Tyr	gat tgc cgg tgt ccc cat ggg aag aac tgc act Asp Cys Arg Cys Pro His Gly Lys Asn Cys Thr			1920
	630	635	640	
ggg gac tgc gtg cac Gly Asp Cys Val	gag ggg aaa gtg aag cac acc ggc cag atc tgg Glu Gly Lys Val Lys His Thr Gly Gln Ile Trp			1968
	645	650	655	
gtg ctg gaa aac gac agg tgc tcc gtg tgt tcc tgg cag act ggg ttt Val Leu Glu Asn Asp Arg Cys Ser Val Cys Ser Trp Gln Thr Gly Phe				2016
	660	665	670	
gtc atg tgt cga cgg atg gtc tgc gac tgc gaa aac ccc aca gat gac Val Met Cys Arg Arg Met Val Cys Asp Cys Glu Asn Pro Thr Asp Asp				2064
	675	680	685	
ctt tcc tgc tgc cct gag tgt gac cca agg ctg agc agt cag tgc ctg Leu Ser Cys Cys Pro Glu Cys Asp Pro Arg Leu Ser Ser Gln Cys Leu				2112
	690	695	700	
cat caa aac ggg gaa acc gtg tac aac agc ggc gac acc tgg gtc cag His Gln Asn Gly Glu Thr Val Tyr Asn Ser Gly Asp Thr Trp Val Gln				2160
	705	710	715	
gat tgc cgt cag tgc cgc tgc ttg caa gga gaa gtt gac tgt tgg ccc Asp Cys Arg Gln Cys Arg Cys Leu Gln Gly Glu Val Asp Cys Trp Pro				2208
	725	730	735	
ctg gct tgc cca gag gta gaa tgt gaa ttt agc gtc ctt cct gag aac Leu Ala Cys Pro Glu Val Glu Cys Glu Phe Ser Val Leu Pro Glu Asn				2256
	740	745	750	
gag tgc tgc cca cgc tgt gtc acc gat cct tgt cag gcc gac acc atc Glu Cys Cys Pro Arg Cys Val Thr Asp Pro Cys Gln Ala Asp Thr Ile				2304
	755	760	765	
cgc aat gac atc acc aaa acc tgc ctg gac gag atg aac gtg gtt cgc Arg Asn Asp Ile Thr Lys Thr Cys Leu Asp Glu Met Asn Val Val Arg				2352
	770	775	780	
ttc acc ggg tct tcc tgg atc aag cac ggc acg gag tgt acc ctc tgc Phe Thr Gly Ser Ser Trp Ile Lys His Gly Thr Glu Cys Thr Leu Cys				2400
	785	790	795	
cag tgc aag aat ggc cat ttg tgc tgc tca gtg gat cca cag tgc ctt Gln Cys Lys Asn Gly His Leu Cys Cys Ser Val Asp Pro Gln Cys Leu				2448
	805	810	815	
cag gag ctg tga Gln Glu Leu *				2460

<210> 12
 <211> 819
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 12

```

Met His Ala Met Glu Ser Arg Val Leu Leu Arg Thr Phe Cys Val Ile
 1      5      10      15
Leu Gly Leu Gly Ala Val Trp Gly Leu Gly Val Asp Pro Ser Leu Gln
 20      25      30
Ile Asp Val Leu Thr Glu Leu Glu Leu Gly Glu Ser Thr Asp Gly Val
 35      40      45
Arg Gln Val Pro Gly Leu His Asn Gly Thr Lys Ala Phe Leu Phe Gln
 50      55      60
Glu Ser Pro Arg Ser Ile Lys Ala Ser Thr Ala Thr Ala Glu Arg Phe
 65      70      75      80
Leu Gln Lys Leu Arg Asn Lys His Glu Phe Thr Ile Leu Val Thr Leu
 85      90      95
Lys Gln Ile His Leu Asn Ser Gly Val Ile Leu Ser Ile His His Leu
100      105      110
Asp His Arg Tyr Leu Glu Leu Glu Ser Ser Gly His Arg Asn Glu Ile
115      120      125
Arg Leu His Tyr Arg Ser Gly Thr His Arg Pro His Thr Glu Val Phe
130      135      140
Pro Tyr Ile Leu Ala Asp Ala Lys Trp His Lys Leu Ser Leu Ala Phe
145      150      155      160
Ser Ala Ser His Leu Ile Leu His Ile Asp Cys Asn Lys Ile Tyr Glu
165      170      175
Arg Val Val Glu Met Pro Phe Thr Asp Leu Ala Leu Gly Thr Thr Phe
180      185      190
Trp Leu Gly Gln Arg Asn Asn Ala His Gly Tyr Phe Lys Gly Ile Met
195      200      205
Gln Asp Val His Val Leu Val Met Pro Gln Gly Phe Ile Ala Gln Cys
210      215      220
Pro Asp Leu Asn Arg Thr Cys Pro Thr Cys Asn Asp Phe His Gly Leu
225      230      235      240
Val Gln Lys Ile Met Glu Leu Gln Asp Ile Leu Ser Lys Thr Ser Ala
245      250      255
Lys Leu Ser Arg Ala Glu Gln Arg Met Asn Arg Leu Asp Gln Cys Tyr
260      265      270
Cys Glu Arg Thr Cys Thr Val Lys Gly Thr Thr Tyr Arg Glu Ser Glu
275      280      285
Ser Trp Thr Asp Gly Cys Lys Asn Cys Thr Cys Leu Asn Gly Thr Ile
290      295      300
Gln Cys Glu Thr Leu Val Cys Pro Ala Pro Asp Cys Pro Pro Lys Ser
305      310      315      320
Ala Pro Ala Tyr Val Asp Gly Lys Cys Cys Lys Glu Cys Lys Ser Thr
325      330      335
Cys Gln Phe Gln Gly Arg Ser Tyr Phe Glu Gly Glu Arg Asn Thr Ala
340      345      350
Tyr Ser Ser Ser Gly Met Cys Val Leu Tyr Glu Cys Lys Asp Gln Thr
355      360      365
Met Lys Leu Val Glu Asn Ile Gly Cys Pro Pro Leu Asp Cys Pro Glu
370      375      380
Ser His Gln Ile Ala Leu Ser His Ser Cys Cys Lys Val Cys Lys Gly
385      390      395      400
Tyr Asp Phe Cys Ser Glu Lys His Thr Cys Met Glu Asn Ser Val Cys
405      410      415
Arg Asn Leu Asn Asp Arg Val Val Cys Ser Cys Arg Asp Gly Phe Arg
420      425      430
Ala Leu Arg Glu Asp Asn Ala Tyr Cys Glu Asp Ile Asp Glu Cys Ala
435      440      445
Glu Gly Arg His Tyr Cys Arg Glu Asn Thr Met Cys Val Asn Thr Pro
450      455      460
Gly Ser Phe Met Cys Val Cys Lys Thr Gly Tyr Ile Arg Ile Asp Asp
465      470      475      480
Tyr Ser Cys Thr Glu His Asp Glu Cys Leu Thr Thr Gln His Asn Cys
485      490      495
Asp Glu Asn Ala Leu Cys Phe Asn Thr Val Gly Gly His Asn Cys Val
500      505      510
Cys Lys Pro Gly Tyr Thr Gly Asn Gly Thr Thr Cys Lys Ala Phe Cys
515      520      525
Lys Asp Gly Cys Arg Asn Gly Gly Ala Cys Ile Ala Ala Asn Val Cys
530      535      540
Ala Cys Pro Gln Gly Phe Thr Gly Pro Ser Cys Glu Thr Asp Ile Asp
545      550      555      560
Glu Cys Ser Glu Gly Phe Val Gln Cys Asp Ser Arg Ala Asn Cys Ile
565      570      575
Asn Leu Pro Gly Trp Tyr His Cys Glu Cys Arg Asp Gly Tyr His Asp

```

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

<210> 13
 <211> 2453
 <212> DNA
 <213> Gallus gallus

<220>
 <221> CDS
 <222> (1)... (2453)

<400> 13
 atg gag tcc ggc tgc ggc tta ggc acg ctt tgc ctt ctc ctc tgc ctg 48
 Met Glu Ser Gly Cys Gly Leu Gly Thr Leu Cys Leu Leu Leu Cys Leu
 1 5 10 15
 ggg cca gtc gta ggc ttc ggc gtg gac ccc tgc ctg cag atc gac gtg 96
 Gly Pro Val Val Gly Phe Gly Val Asp Pro Ser Leu Gln Ile Asp Val
 20 25 30
 ctg tcc gag ctg ggg ctg ccg ggc tac gcg gcg ggc gtg cgc cag gtg 144
 Leu Ser Glu Leu Gly Leu Pro Gly Tyr Ala Ala Gly Val Arg Gln Val
 35 40 45
 ccg ggg ctg cac aac ggg agc aaa gcc ttc ctc ttc cca gat act tca 192
 Pro Gly Leu His Asn Gly Ser Lys Ala Phe Leu Phe Pro Asp Thr Ser
 50 55 60
 aga agt gta aag gcg tct cca gaa aca gct gaa atc ttt ttt cag aag 240
 Arg Ser Val Lys Ala Ser Pro Glu Thr Ala Glu Ile Phe Phe Gln Lys
 65 70 75 80
 ttg aga aat aaa tat gaa ttc aca atc ctg gtg acc tta aaa caa gcc 288
 Leu Arg Asn Lys Tyr Glu Phe Thr Ile Leu Val Thr Leu Lys Gln Ala
 85 90 95
 cat tta aat tca ggg gtt att ttc tct att cat cac tta gat cac agg 336
 His Leu Asn Ser Gly Val Ile Phe Ser Ile His His Leu Asp His Arg
 100 105 110
 tat ctg gaa ttg gaa agc agc ggt cat cga aat gaa atc agg ttg cat 384
 Tyr Leu Glu Leu Glu Ser Ser Gly His Arg Asn Glu Ile Arg Leu His
 115 120 125
 tac cgt aca ggc agt cat cgc tcc cac aca gaa gta ttc cca tac atc 432

Tyr 130	Arg	Thr	Gly	Ser	His	Arg 135	Ser	His	Thr	Glu	Val 140	Phe	Pro	Tyr	Ile	
ctg	gca	gac	gat	aag	tgg	cac	agg	ctt	tcc	tta	gca	atc	agt	gcc	tct	480
Leu	Ala	Asp	Asp	Lys	Trp	His	Arg	Leu	Ser	Leu	Ala	Ile	Ser	Ala	Ser	
145				150					155						160	
cac	ttg	att	tta	cac	gtg	gac	tgc	aat	aaa	atc	tat	gaa	aga	gtt	gtg	528
His	Leu	Ile	Leu	His	Val	Asp	Cys	Asn	Lys	Ile	Tyr	Glu	Arg	Val	Val	
				165				170						175		
gag	aag	ccc	ttc	atg	gac	tta	cct	gtg	ggg	aca	acc	ttt	tgg	cta	gga	576
Glu	Lys	Pro	Phe	Met	Asp	Leu	Pro	Val	Gly	Thr	Thr	Phe	Trp	Leu	Gly	
			180					185					190			
cag	agg	aat	aat	gca	cac	ggg	tat	ttt	aag	ggc	ata	atg	caa	gat	gtg	624
Gln	Arg	Asn	Asn	Ala	His	Gly	Tyr	Phe	Lys	Gly	Ile	Met	Gln	Asp	Val	
		195					200					205				
caa	tta	ctt	gtc	atg	cct	caa	gga	ttt	att	tct	cag	tgc	cca	gat	ctt	672
Gln	Leu	Leu	Val	Met	Pro	Gln	Gly	Phe	Ile	Ser	Gln	Cys	Pro	Asp	Leu	
	210					215					220					
aat	cgg	aca	tgc	cca	act	tgt	aat	gat	ttc	cat	gga	ctt	gtg	cag	aaa	720
Asn	Arg	Thr	Cys	Pro	Thr	Cys	Asn	Asp	Phe	His	Gly	Leu	Val	Gln	Lys	
225					230				235						240	
att	atg	gaa	ctg	caa	gac	att	tta	gct	aaa	acg	tca	gct	aag	ctg	tcg	768
Ile	Met	Glu	Leu	Gln	Asp	Ile	Leu	Ala	Lys	Thr	Ser	Ala	Lys	Leu	Ser	
				245				250						255		
caa	gct	gag	cag	agg	atg	aac	aag	ttg	gat	cag	tgc	tat	tgt	gaa	agg	816
Gln	Ala	Glu	Gln	Arg	Met	Asn	Lys	Leu	Asp	Gln	Cys	Tyr	Cys	Glu	Arg	
			260					265					270			
acc	tgc	aca	atg	aaa	ggc	atg	aca	tac	aga	gaa	ttt	gaa	tcc	tgg	aca	864
Thr	Cys	Thr	Met	Lys	Gly	Met	Thr	Tyr	Arg	Glu	Phe	Glu	Ser	Trp	Thr	
		275					280					285				
gat	ggg	tgt	aag	aac	tgc	act	tgc	atg	aat	ggc	act	gtg	cag	tgt	gaa	912
Asp	Gly	Cys	Lys	Asn	Cys	Thr	Cys	Met	Asn	Gly	Thr	Val	Gln	Cys	Glu	
	290					295					300					
gct	ttg	att	tgc	tcc	ctc	tct	gac	tgt	cca	cct	aat	tct	gcc	ctg	tca	960
Ala	Leu	Ile	Cys	Ser	Leu	Ser	Asp	Cys	Pro	Pro	Asn	Ser	Ala	Leu	Ser	
305					310					315					320	
tac	gtg	gat	ggc	aag	tgc	tgc	aaa	gaa	tgt	caa	tcg	gtg	tgc	ata	ttt	1008
Tyr	Val	Asp	Gly	Lys	Cys	Cys	Lys	Glu	Cys	Gln	Ser	Val	Cys	Ile	Phe	
			325						330					335		
gaa	ggc	aga	acc	tac	ttt	gaa	gga	caa	aga	gaa	acg	gtg	tat	tca	agc	1056
Glu	Gly	Arg	Thr	Tyr	Phe	Glu	Gly	Gln	Arg	Glu	Thr	Val	Tyr	Ser	Ser	
			340					345					350			
tca	ggg	gac	tgt	gtt	ctg	ttt	gag	tgc	aag	gac	cac	aaa	atg	cag	cgt	1104
Ser	Gly	Asp	Cys	Val	Leu	Phe	Glu	Cys	Lys	Asp	His	Lys	Met	Gln	Arg	
		355				360						365				
att	cca	aaa	gac	agt	tgt	gca	act	ttg	aac	tgc	ccg	gaa	tct	caa	cag	1152
Ile	Pro	Lys	Asp	Ser	Cys	Ala	Thr	Leu	Asn	Cys	Pro	Glu	Ser	Gln	Gln	
	370					375					380					
atc	cca	tta	tct	cac	agt	tgc	tgc	aaa	atc	tgt	aaa	ggc	cat	gac	ttt	1200
Ile	Pro	Leu	Ser	His	Ser	Cys	Cys	Lys	Ile	Cys	Lys	Gly	His	Asp	Phe	
385					390					395					400	
tgc	act	gaa	gga	cat	aac	tgt	atg	gag	cat	tct	gtc	tgc	cga	aac	cta	1248
Cys	Thr	Glu	Gly	His	Asn	Cys	Met	Glu	His	Ser	Val	Cys	Arg	Asn	Leu	
			405					410						415		
gat	gac	aga	gct	gtc	tgt	agc	tgc	cga	gat	ggc	ttc	cgg	gcc	ctt	cgg	1296
Asp	Asp	Arg	Ala	Val	Cys	Ser	Cys	Arg	Asp	Gly	Phe	Arg	Ala	Leu	Arg	
			420					425					430			

gag gac aat gcc tac tgt gaa gat gtt gat gag tgt gcc gag ggg cag Glu Asp Asn Ala Tyr Cys Glu Asp Val Asp Glu Cys Ala Glu Gly Gln 435 440 445	1344
cac tac tgt cgg gag aac acc atg tgt gta aat aca cca gga tcc ttc His Tyr Cys Arg Glu Asn Thr Met Cys Val Asn Thr Pro Gly Ser Phe 450 455 460	1392
atg tgc atc tgc aaa aca gga tat ata cgc att gat gac tat tca tgt Met Cys Ile Cys Lys Thr Gly Tyr Ile Arg Ile Asp Asp Tyr Ser Cys 465 470 475 480	1440
aca gag cac gat gaa tgt gta aca aac cag cac aac tgt gat gaa aat Thr Glu His Asp Glu Cys Val Thr Asn Gln His Asn Cys Asp Glu Asn 485 490 495	1488
gcg cta tgt ttc aac acg gtg ggt ggg cac aac tgt gtc tgc aag ctg Ala Leu Cys Phe Asn Thr Val Gly Gly His Asn Cys Val Cys Lys Leu 500 505	1536
ggt tac aca gga aat ggg acg gtg tgt aaa gca ttt tgc aaa gat ggg Gly Tyr Thr Gly Asn Gly Thr Val Cys Lys Ala Phe Cys Lys Asp Gly 515 520 525	1584
tgc agg aat gga gga gcc tgt att gct tcc aac gtg tgt gcc tgc cca Cys Arg Asn Gly Gly Ala Cys Ile Ala Ser Asn Val Cys Ala Cys Pro 530 535 540	1632
caa ggc ttc act ggc ccc agc tgt gaa act gac att gat gaa tgc tct Gln Gly Phe Thr Gly Pro Ser Cys Glu Thr Asp Ile Asp Glu Cys Ser 545 550 555 560	1680
gat ggc ttt gtg cag tgt gac agc cgt gct aat tgc atc aat ctg cca Asp Gly Phe Val Gln Cys Asp Ser Arg Ala Asn Cys Ile Asn Leu Pro 565 570 575	1728
ggg tgg tac cac tgt gaa tgc agg gat ggc tac cat gac aat ggg atg Gly Trp Tyr His Cys Glu Cys Arg Asp Gly Tyr His Asp Asn Gly Met 580 585 590	1776
ttt tca cca agt gga gaa tcc tgt gaa gac att gat gaa tgt gca act Phe Ser Pro Ser Gly Glu Ser Cys Glu Asp Ile Asp Glu Cys Ala Thr 595 600 605	1824
gga agg cat agc tgt gcc aat gac act gtt tgc ttt aac ctg gat ggt Gly Arg His Ser Cys Ala Asn Asp Thr Val Cys Phe Asn Leu Asp Gly 610 615 620	1872
ggg tat gac tgt cga tgt cca cat ggc aag aac tgc aca gga gac tgt Gly Tyr Asp Cys Arg Cys Pro His Gly Lys Asn Cys Thr Gly Asp Cys 625 630 635 640	1920
atc cat gaa gac aaa atc aag cac aat ggt cag att tgg gtg ctg gag Ile His Glu Asp Lys Ile Lys His Asn Gly Gln Ile Trp Val Leu Glu 645 650 655	1968
aac gac aga tgc tct gtc tgc tca tgc cag agt gga tac gtg atg tgc Asn Asp Arg Cys Ser Val Cys Ser Cys Gln Ser Gly Tyr Val Met Cys 660 665 670	2016
cgg cga atg gtc tgt gac tgt gaa aat ccc act gtt gac ctc ttt tgc Arg Arg Met Val Cys Asp Cys Glu Asn Pro Thr Val Asp Leu Phe Cys 675 680 685	2064
tgt cct gag tgt gac cca agg ctc agc agt caa tgt tta cat cag agt Cys Pro Glu Cys Asp Pro Arg Leu Ser Ser Gln Cys Leu His Gln Ser 690 695 700	2112
ggg gag ctt tcc tac aac agt ggt gac tcc tgg ata caa aac tgt cag Gly Glu Leu Ser Tyr Asn Ser Gly Asp Ser Trp Ile Gln Asn Cys Gln 705 710 715 720	2160
cag tgt cgc tgc ttg caa gga gag gtt gac tgt tgg ccc tta ccg tgc Gln Cys Arg Cys Leu Gln Gly Glu Val Asp Cys Trp Pro Leu Pro Cys 725 730 735	2208

```

cca gag gta gac tgt gag ttc agt gtc ctc cct gag aat gag tgc tgc 2256
Pro Glu Val Asp Cys Glu Phe Ser Val Leu Pro Glu Asn Glu Cys Cys
740 745 750

cca cgc tgt gtc act gac ccc tgc caa gcg gac acc atc cgt aat gac 2304
Pro Arg Cys Val Thr Asp Pro Cys Gln Ala Asp Thr Ile Arg Asn Asp
755 760 765

atc acc aaa acc tgc ctg gat gaa acc aat gtt gtt cgc ttc act gga 2352
Ile Thr Lys Thr Cys Leu Asp Glu Thr Asn Val Val Arg Phe Thr Gly
770 775 780

tct tct tgg att aag cat ggc aca gag tgc aca ctc tgc caa tgt aag 2400
Ser Ser Trp Ile Lys His Gly Thr Glu Cys Thr Leu Cys Gln Cys Lys
785 790 795 800

aat ggc cac gtc tgt tgc tca gtg gat cca cag tgc ctt cag gaa ctg 2448
Asn Gly His Val Cys Cys Ser Val Asp Pro Gln Cys Leu Gln Glu Leu
805 810 815

tga ca 2453
*
```

<210> 14
 <211> 816
 <212> PRT
 <213> Gallus gallus

```

<400> 14
Met Glu Ser Gly Cys Gly Leu Gly Thr Leu Cys Leu Leu Leu Cys Leu
1 5 10 15
Gly Pro Val Val Gly Phe Gly Val Asp Pro Ser Leu Gln Ile Asp Val
20 25 30
Leu Ser Glu Leu Gly Leu Pro Gly Tyr Ala Ala Gly Val Arg Gln Val
35 40 45
Pro Gly Leu His Asn Gly Ser Lys Ala Phe Leu Phe Pro Asp Thr Ser
50 55 60
Arg Ser Val Lys Ala Ser Pro Glu Thr Ala Glu Ile Phe Phe Gln Lys
65 70 75 80
Leu Arg Asn Lys Tyr Glu Phe Thr Ile Leu Val Thr Leu Lys Gln Ala
85 90 95
His Leu Asn Ser Gly Val Ile Phe Ser Ile His His Leu Asp His Arg
100 105 110
Tyr Leu Glu Leu Glu Ser Ser Gly His Arg Asn Glu Ile Arg Leu His
115 120 125
Tyr Arg Thr Gly Ser His Arg Ser His Thr Glu Val Phe Pro Tyr Ile
130 135 140
Leu Ala Asp Asp Lys Trp His Arg Leu Ser Leu Ala Ile Ser Ala Ser
145 150 155 160
His Leu Ile Leu His Val Asp Cys Asn Lys Ile Tyr Glu Arg Val Val
165 170 175
Glu Lys Pro Phe Met Asp Leu Pro Val Gly Thr Thr Phe Trp Leu Gly
180 185 190
Gln Arg Asn Asn Ala His Gly Tyr Phe Lys Gly Ile Met Gln Asp Val
195 200 205
Gln Leu Leu Val Met Pro Gln Gly Phe Ile Ser Gln Cys Pro Asp Leu
210 215 220
Asn Arg Thr Cys Pro Thr Cys Asn Asp Phe His Gly Leu Val Gln Lys
225 230 235 240
Ile Met Glu Leu Gln Asp Ile Leu Ala Lys Thr Ser Ala Lys Leu Ser
245 250 255
Gln Ala Glu Gln Arg Met Asn Lys Leu Asp Gln Cys Tyr Cys Glu Arg
260 265 270
Thr Cys Thr Met Lys Gly Met Thr Tyr Arg Glu Phe Glu Ser Trp Thr
275 280 285
Asp Gly Cys Lys Asn Cys Thr Cys Met Asn Gly Thr Val Gln Cys Glu
290 295 300
Ala Leu Ile Cys Ser Leu Ser Asp Cys Pro Pro Asn Ser Ala Leu Ser
305 310 315 320
Tyr Val Asp Gly Lys Cys Cys Lys Glu Cys Gln Ser Val Cys Ile Phe
325 330 335
Glu Gly Arg Thr Tyr Phe Glu Gly Gln Arg Glu Thr Val Tyr Ser Ser
```

[illegible]

LAS99 1345897-1.038586.0332

LAS99 1345897-1.038586.0332

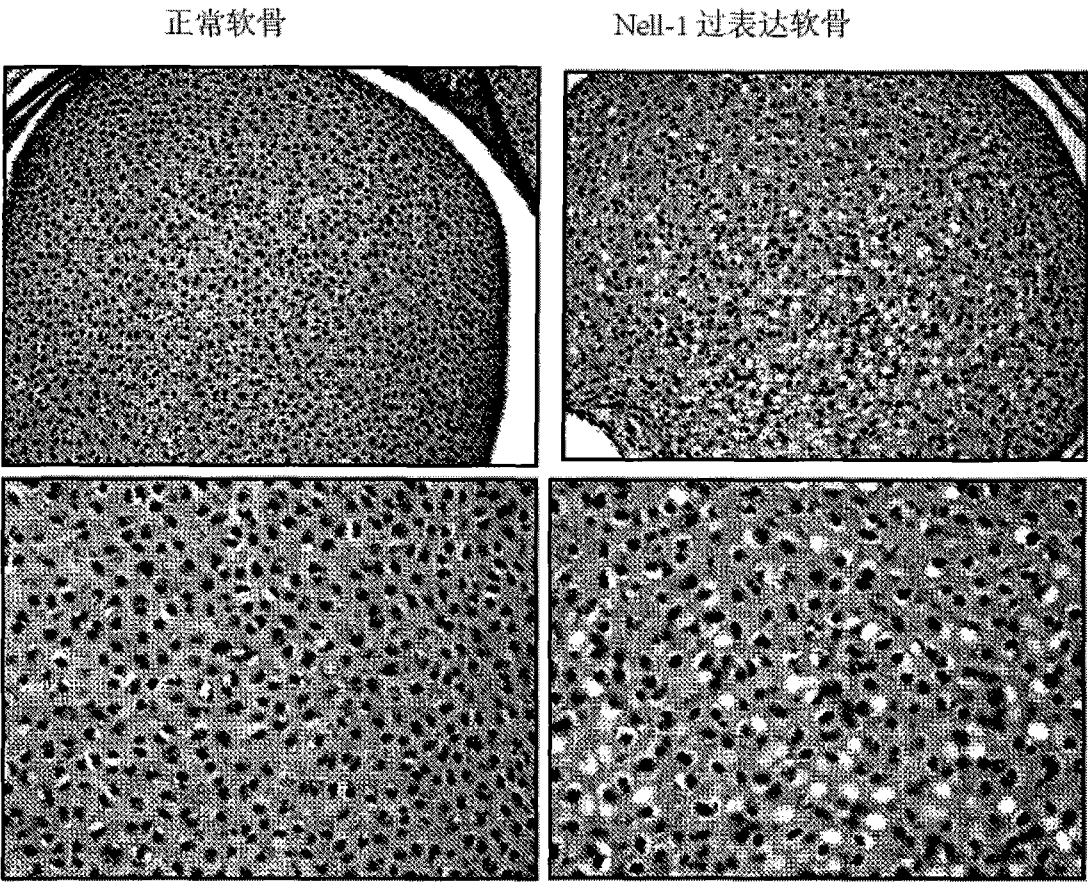


图 1

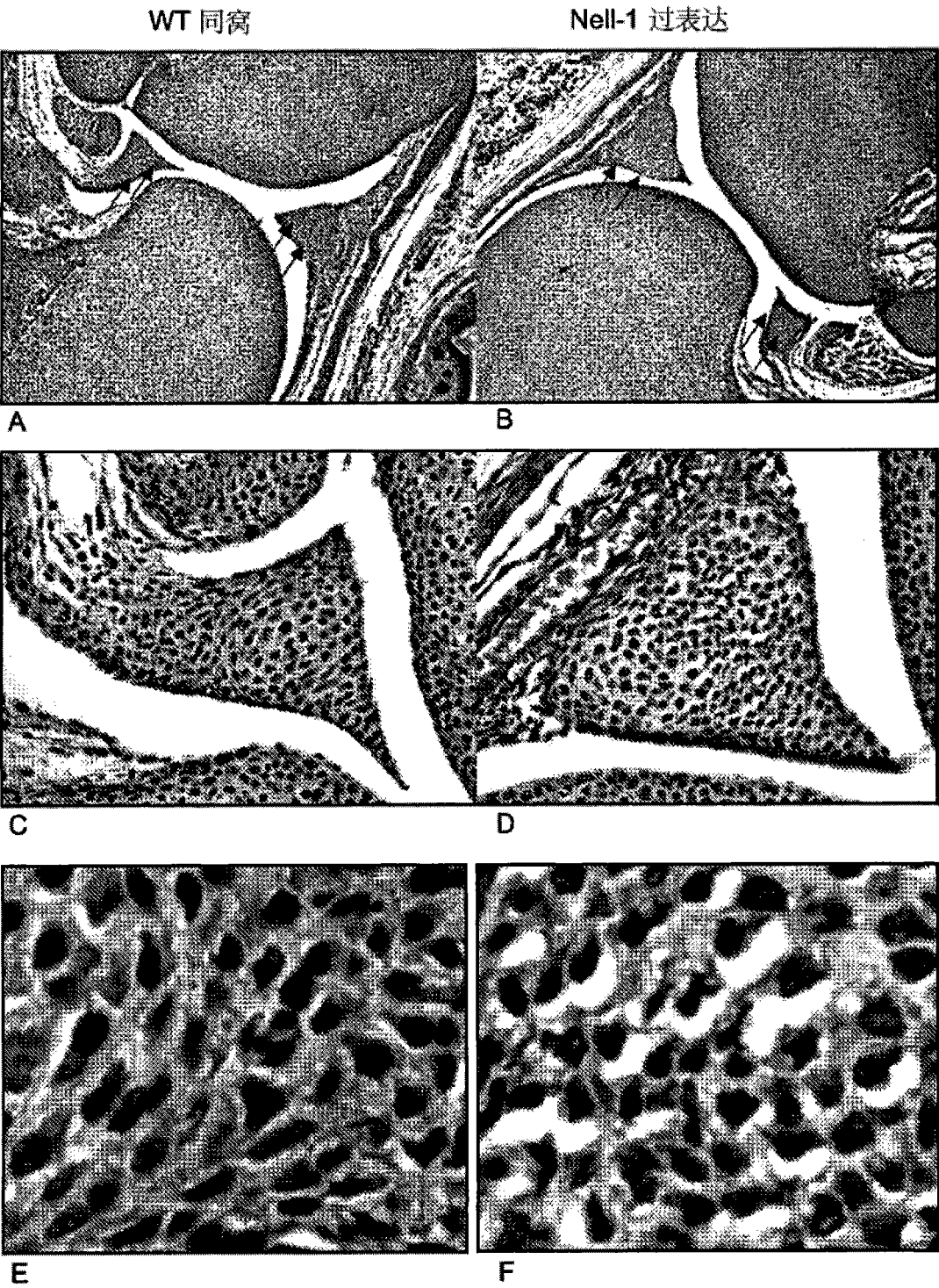


图 2

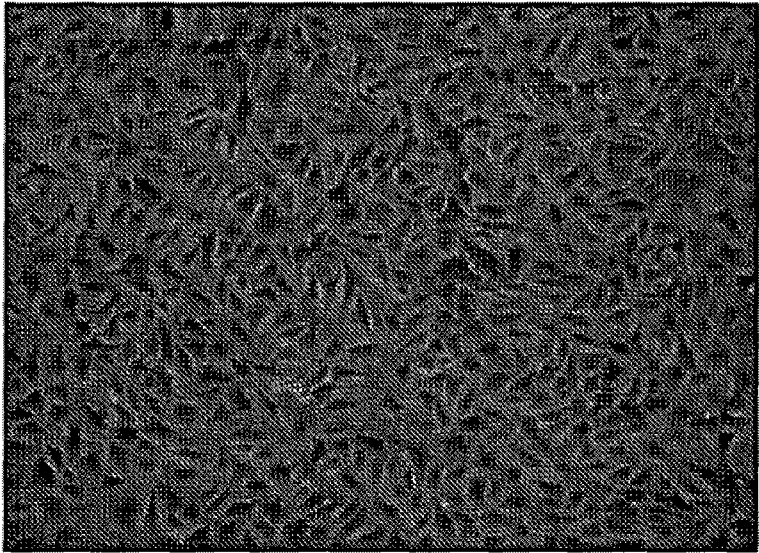


图 3A

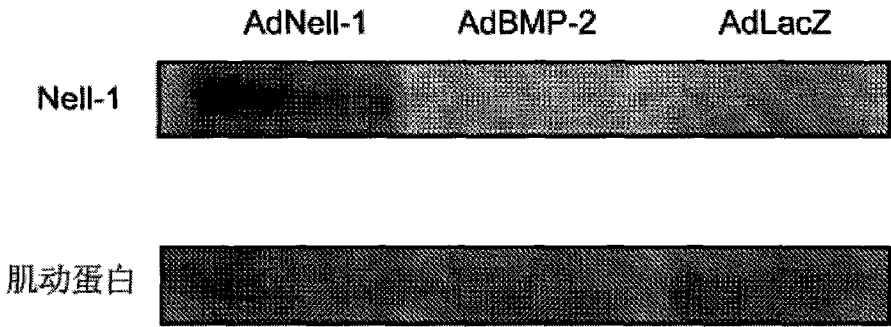


图 3B

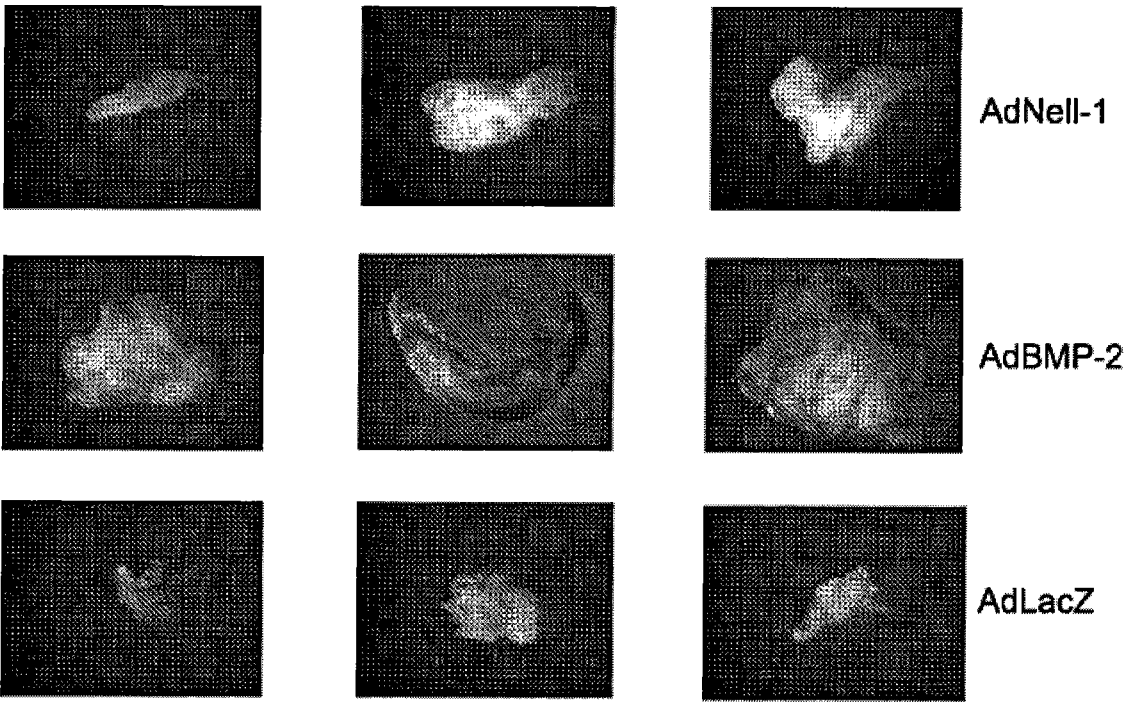


图 4A

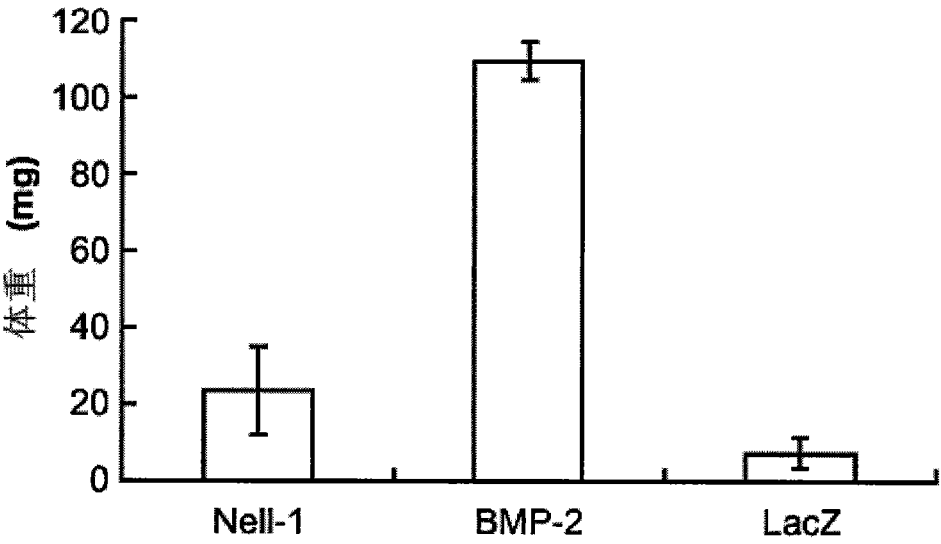


图 4B

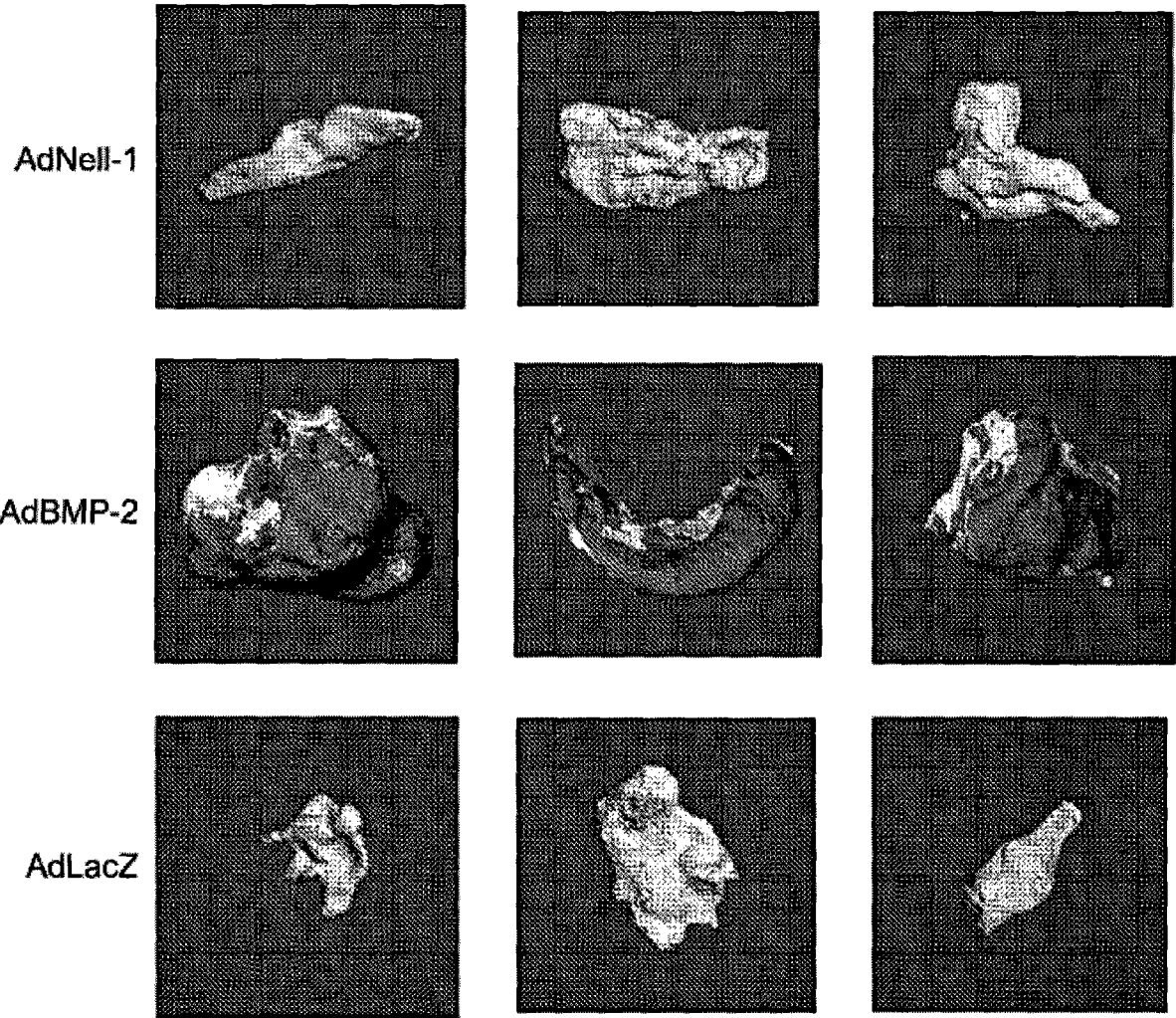


图 5A

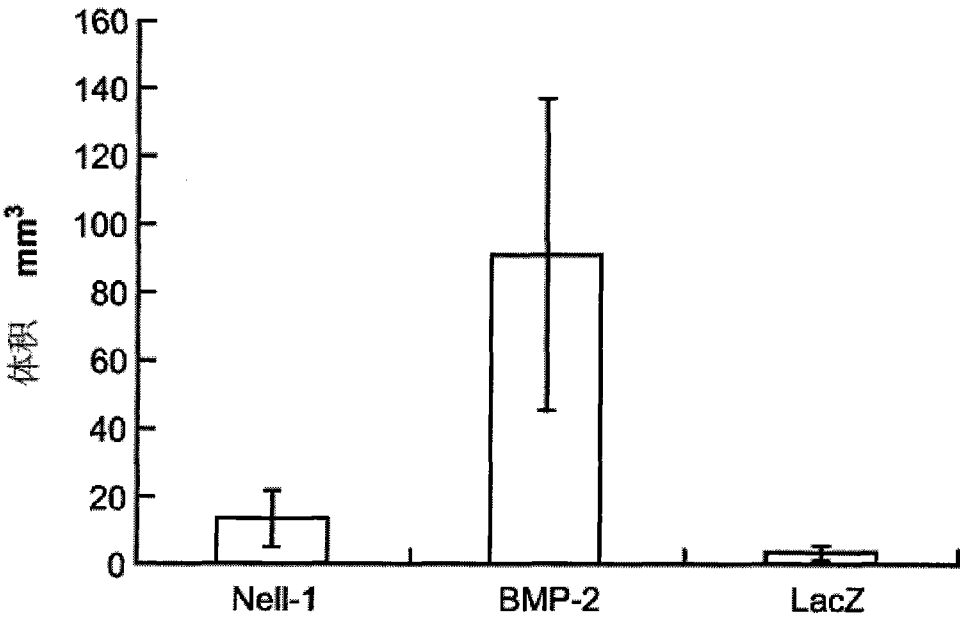


图 5B

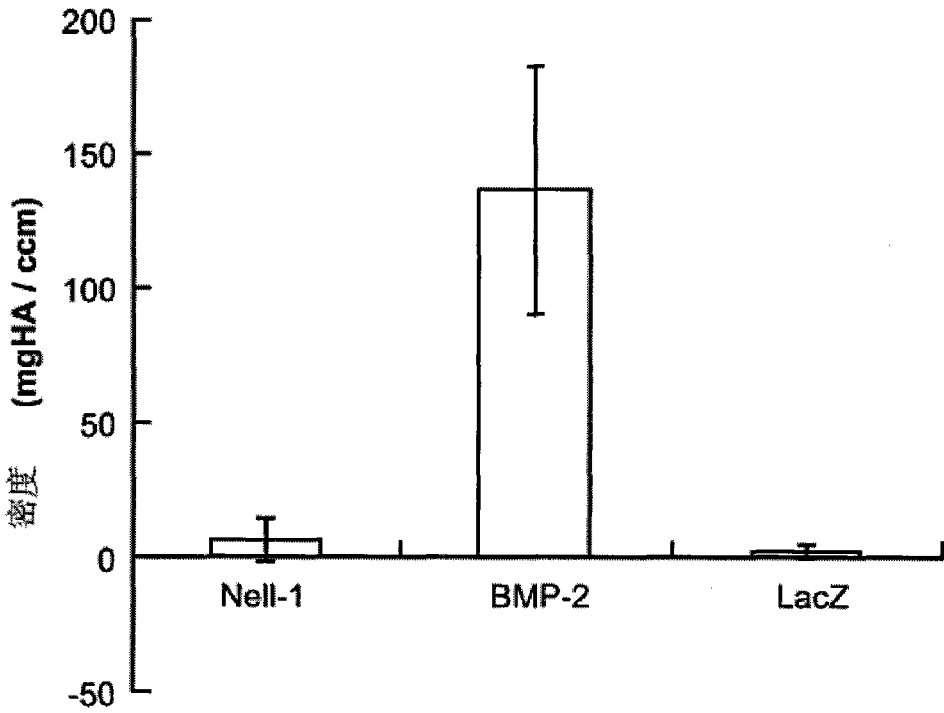
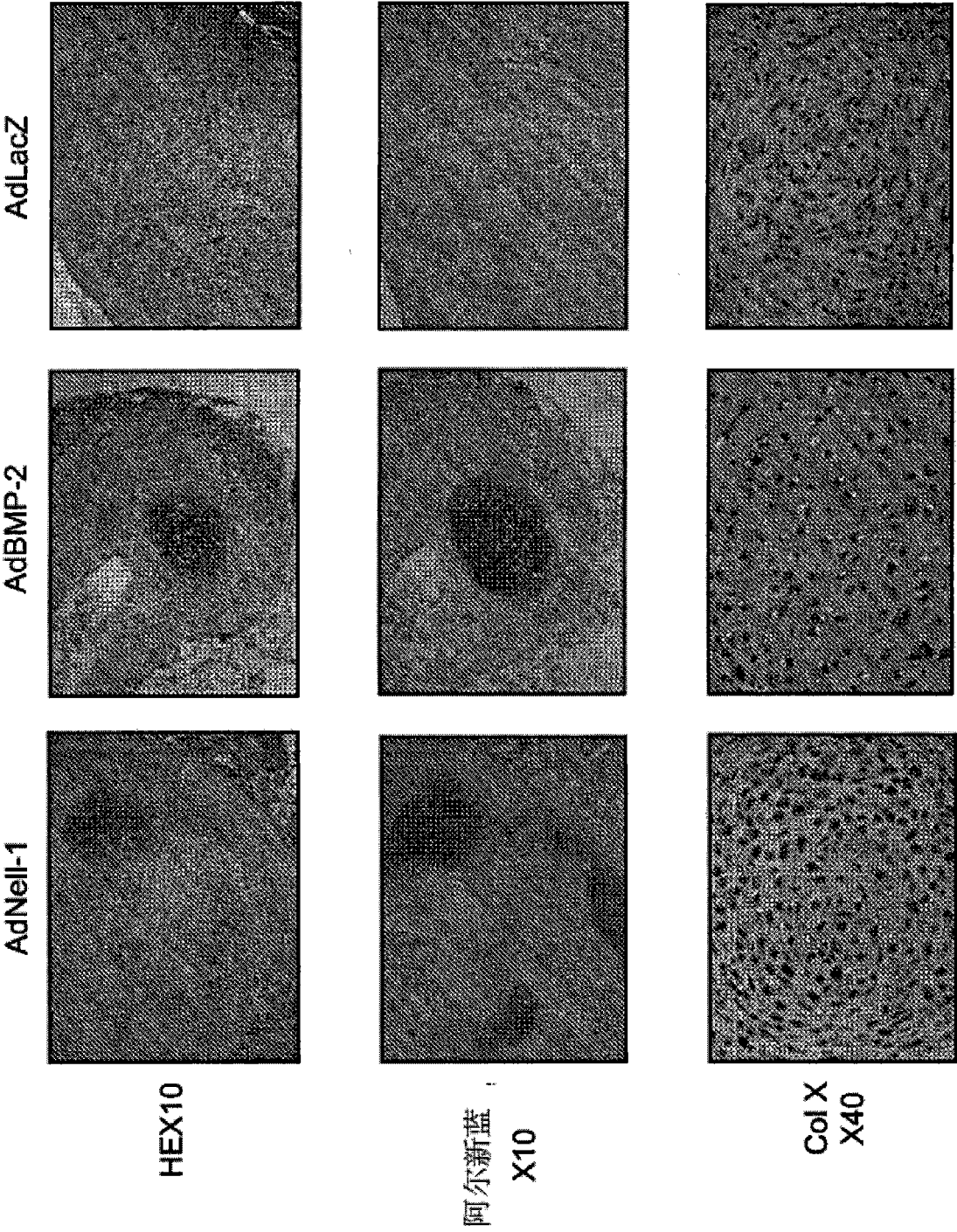


图 5C



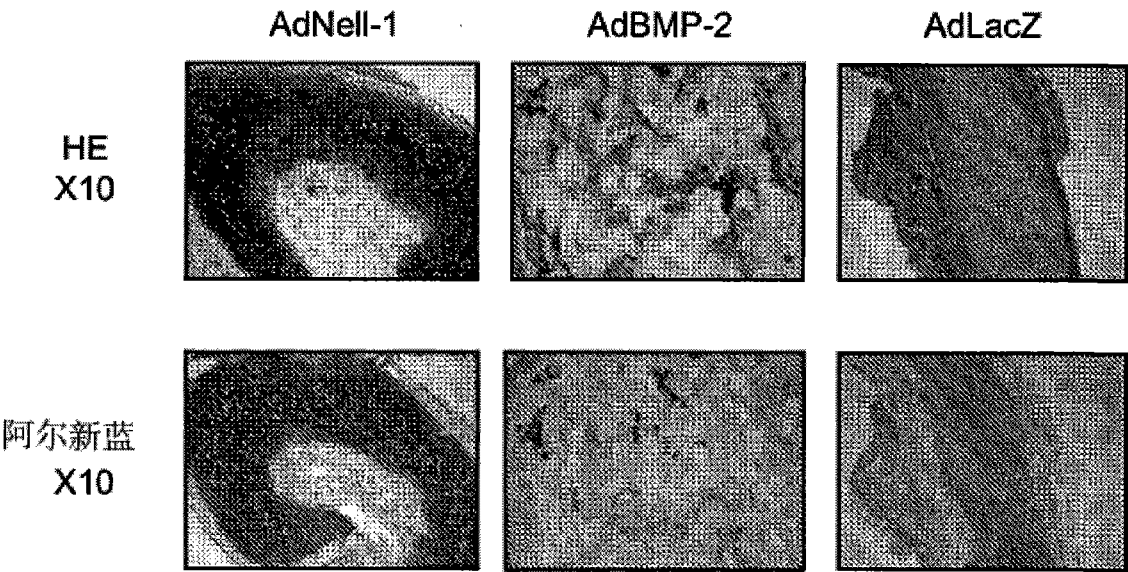
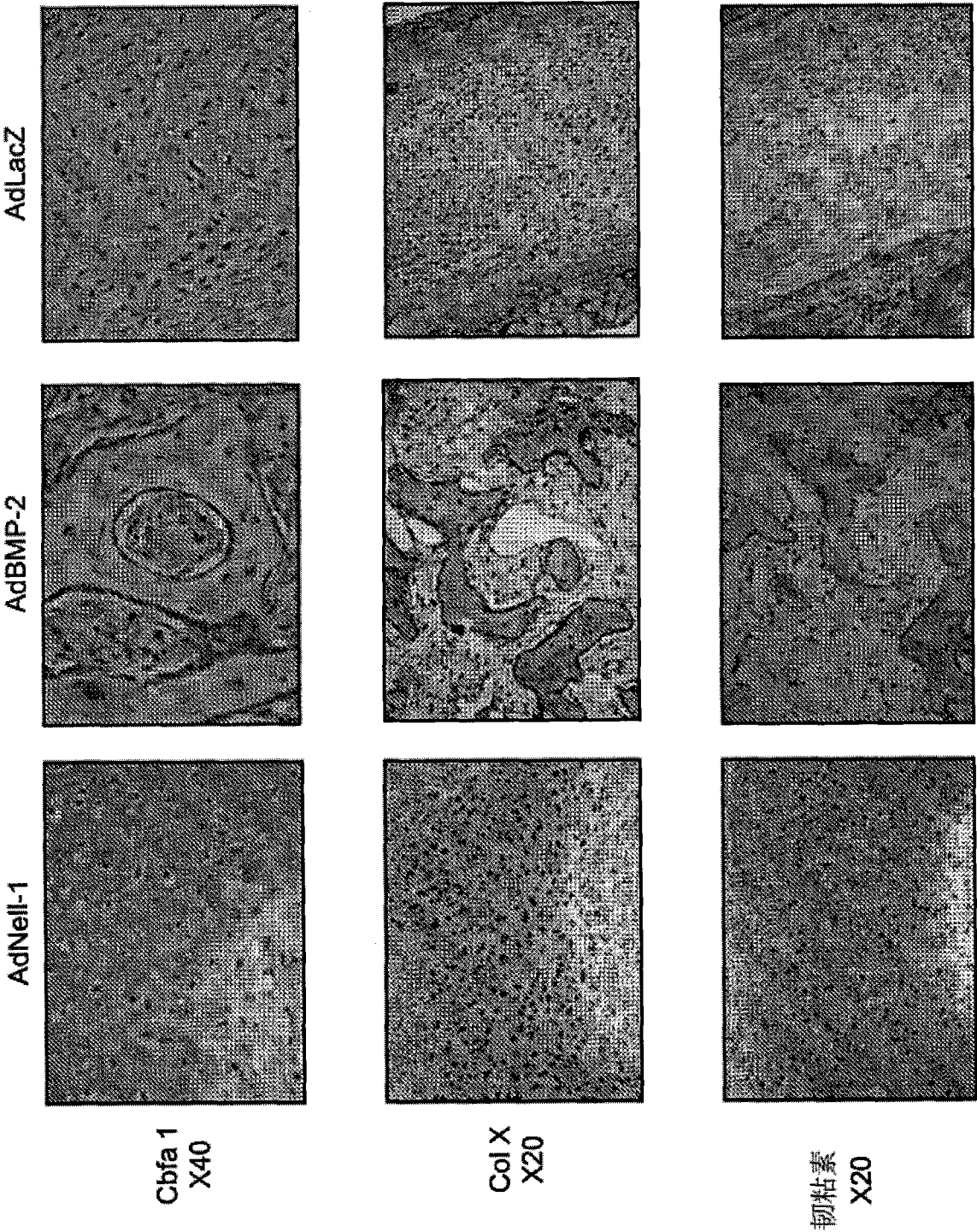


图 7



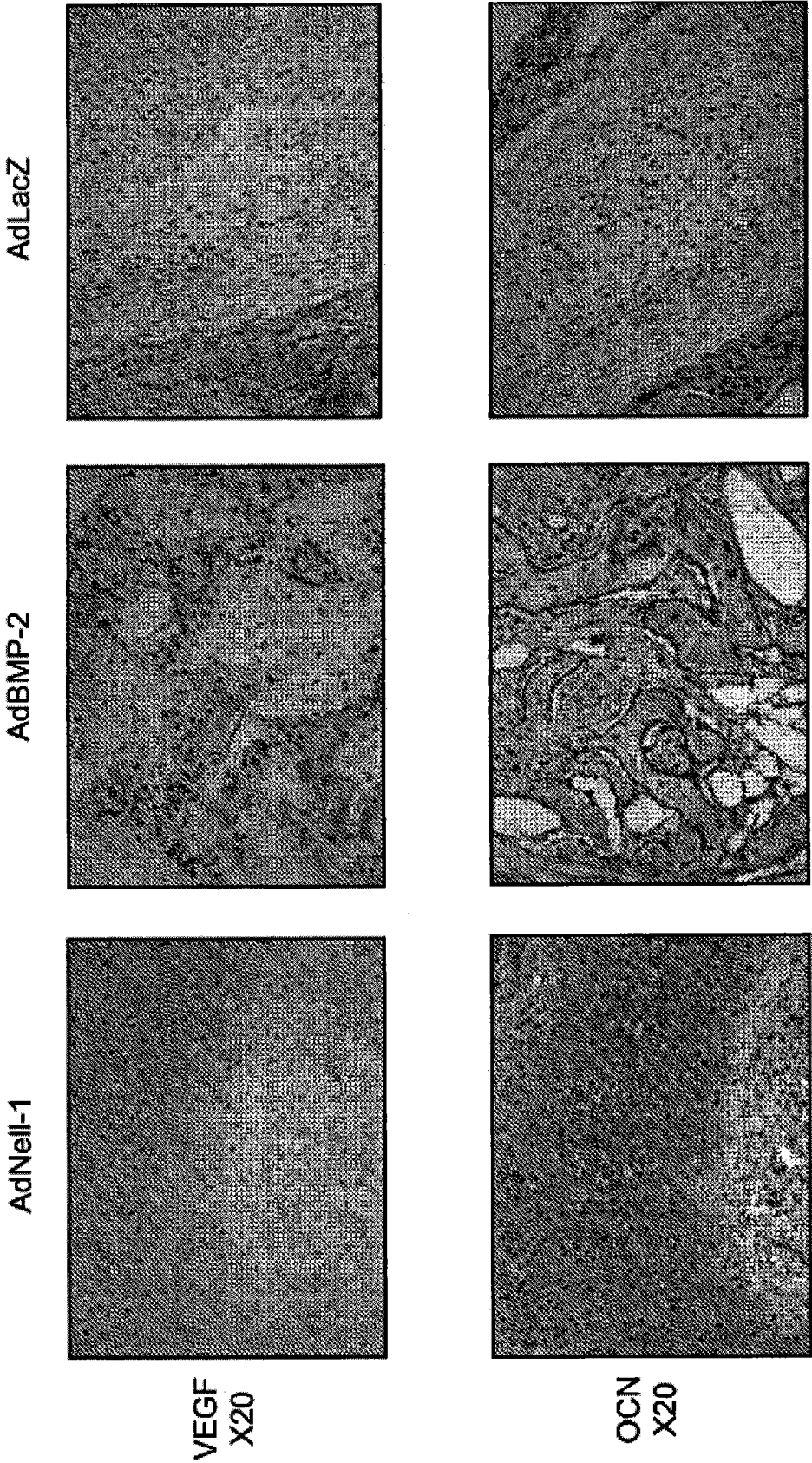


图 9

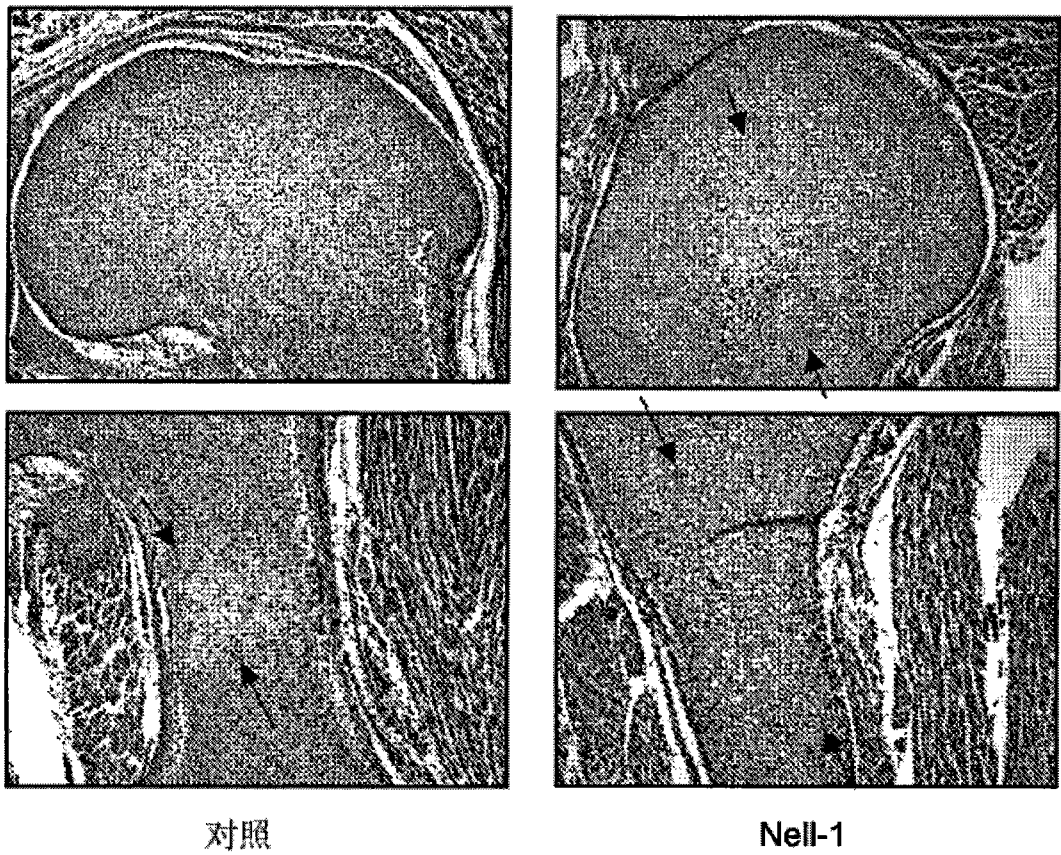


图 10