

PŘIHLÁŠKA VYNÁLEZU

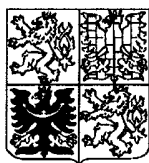
zveřejněná podle § 31 zákona č. 527/1990 Sb.

(21) Číslo dokumentu:

1301-99

(19)

ČESKÁ
REPUBLIKA



ÚŘAD
PRŮMYSLOVÉHO
VLASTNICTVÍ

(22) Přihlášeno: **23. 10. 97**

(32) Datum podání prioritní přihlášky: **25.10.96**

(31) Číslo prioritní přihlášky: **96/034044**

(33) Země priority: **US**

(40) Datum zveřejnění přihlášky vynálezu: **14. 07. 99**
(Věstník č. 7/99)

(86) PCT číslo: **PCT/US97/18703**

(87) PCT číslo zveřejnění: **WO 98/18926**

(13) Druh dokumentu: **A3**

(51) Int. Cl.⁶:

C 12 N	15/18
C 07 K	14/505
C 07 K	14/52
A 61 K	38/18
C 12 N	5/10
C 12 N	5/08

(71) Přihlašovatel:

G. D. SEARLE & CO., Chicago, IL, US;

(72) Původce:

McWherter Charles A., Ellisville, MO, US;

Feng Yiqing, St. Louis, MO, US;

Summers Neena, St. Charles, MO, US;

(74) Zástupce:

Kania František Ing., Mendlovo nám. 1a,
Brno, 60300;

(54) Název přihlášky vynálezu:

**Církulárně permutovaní agonisté
receptoru erythropoietinu**

(57) Anotace:

Nové antagonisty receptoru erythropoietinu,
DNA, které kódují proteiny agonistů recepto-
ru erythropoietinu, způsoby přípravy
proteinů amonistů receptoru erythropoietinu
a způsoby použití proteinů agonistů recepto-
ru erythropoietinu.

CZ 1301-99 A3

Cirkulárně permutovaní agonisté receptoru erythropoietinu

Oblast techniky

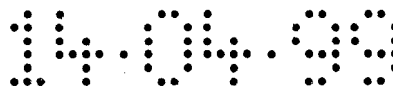
Vynález se týká agonistů receptoru lidského erythropoietinu (EPO). Tyto agonisté receptoru EPO si zachovávají jednu nebo více aktivit nativního EPO a také mohou vykazovat zlepšenou stimulující aktivitu na hematopoietické buňky a nebo zlepšený aktivitní profil, který může zahrnovat snížení nežádoucích biologických aktivit spojených s nativní EPO a nebo mít zlepšené fyzikální vlastnosti, které mohou zahrnovat zvýšenou rozpustnost, stabilitu a účinnost skládání.

Dosavadní stav techniky

Kolonie stimulujících faktorů, které stimulují diferenciaci nebo proliferaci buněk kostní dřeně, vyvolaly již dávno velký zájem, pro svůj terapeutický potenciál při obnovení snížených hladin krvetvorných kmenových buněk - odvozených buněk.

Erythropoietin je přirozeně se vyskytující glykoproteinový hormon s molekulovou hmotností, která se nejprve udávala jako asi 39000 daltonů (T. Miyaki aj., *J. Biol. Chem.*, 252: 5558-5564 (1997)). Zralý hormon má délku 166 aminokyselin a "prepro" forma hormonu se svým vedoucím peptidem má délku 193 aminokyselin (F. Lih, US patent 4,703,008). Zralý hormon má molekulovou hmotnost vypočtenou ze sekvence svých aminokyselin 18399 daltonů (J. K. Browne aj., *Nature*, 313: 806-810 (1985), K. Browne aj., *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.* 5: 1693-1702 (1986).

Prvé mutantní erythropoietiny (například analogy erythropoietinu), připravené substitucemi a delecemi aminokyselin, vykazaly sníženou nebo nezlepšenou aktivitu. Jak se popisuje v US patentu 4,703,008, náhrada tyrosinových zbytků v polohách 15, 40 a 145 zbytky fenylalaninu, náhrada cysteinového zbytku v poloze 7 histidinem, substituce prolinu v poloze 2 asparaginem, delece zbytků 2-6 a delece zbytků 27-55 nevede k zřejmému zvýšení biologické aktivity. Mutace Cys-až-His eliminuje biologickou aktivitu. Série mutantních erythropoietinů s jedinou substitucí aminokyseliny na asparaginových zbytcích 24, 38 nebo 83 vykazují silně sníženou aktivitu (substituce v poloze 24), nebo vykazují rychlou mezibuněčnou degradaci a zřejmý nedostatek sekrece (substituce v poloze 38 nebo 183). Eliminace O-spojeného místa glykosylace na serinu 26 vede k rychlé degradaci nebo nedostatku sekrece analogu erythropoietinu (S. Dube aj., *J. Biol. Chem.*, 33: 17516-17521 (1988)). Tito autoři vyvozují, že místa glykosylace na zbytcích 38, 83 a 126 jsou nutné pro správnou sekreci a že místa



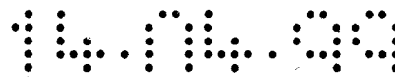
glykosylace lokalizovaná na zbytcích 24 a 38 se mohou účastnit na biologické aktivitě zralého erythropoietinu.

Deglykosylovaný erythropoietin je plně aktivní v biotestech *in vitro* (M. S. Dorsdal aj., *Endocrinology*, 116: 2293-2299 (1985), US patent 4,703,008, E. Tsuda aj., *Eur. J. Biochem.* 266: 20434-20439 (1991). Avšak všeobecně se uznává, že glykosylace erythropoietinu má klíčovou úlohu v aktivitě hormonu *in vivo* (P. H. Lowy aj., *Nature* 185: 102-105 (1960), E. Goldwasser a C. K. H. Kung, *Ann. N. Y. Acad. Science* 149: 49-53 (1968), W. A. Lukowsky a R. Painter, *Can. J. Biochem.* :909-917 (1972, D. W. Briggs aj., *Amer. J. Phys.*, 201:1385-1388 (1974), J. C. Schooley, *Exp. Hematol.* 13:994-998, N. Imai aj., *Eur. J. Biochem.* 194: 457-462 (1990), M. S. Dorsdal aj., *Endocrinology*, 116: 2293-2299 (1985), E. Tsuda aj., *Eur. J. Biochem.* 188: 405-411 (1990), US patent 4,703,008, K. Browne aj., *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.* 51: 693-702 (1986) a K. Yamaguchi aj., *J. Biol. Chem.*, 266: 20434-20439 (1991). Pokud se nedostává deglykosylovaným analogům *in vivo* biologické aktivity, přičítá se rychlému mizení deglykosylovaného hormonu z oběhu ošetřovaných zvířat. Tento názor podporuje přímé srovnání poločasů glykosylovaného a deglykosylovaného erythropoietinu v plazmě (J. C. Spivak a B. B. Hoyans, *Blood* 73: 90-99 (1989) a M. N. Fukuda, aj., *Blood* 73: 84-89 (1989).

Mutagenese míst glykosylace erythropoietinu řízená oligonukleotidy účinně prověřila funkci glykosylace, avšak dosud selhala při porozumění efektivní strategii pro významné zlepšení charakteristik hormonu pro terapeutické aplikace.

Konstruovala se série mutantů s jedinou substitucí nebo delecí aminokyseliny zahrnující zbytky aminokyselin 15, 24, 49, 76, 78, 83, 143, 145, 160, 162, 163, 164, 165 a 166. V těchto mutantech se mění karboxy konec, místa glykosylace a tyrosinové zbytky erythropoietinu. Mutanty se podávaly zvířatům při sledování hladin hemoglobinu, hematokritu a retikulocyty (EP číslo 0 409 113). Zatím co mnohé z těchto mutantů *in vivo* žádné nevykazuje významné zvýšení jejich schopnosti zvyšovat hladiny hemoglobinu, hematokritu nebo retikulocyty (bezprostřední prekursor erytrocytu) ve srovnání s nativním erythropoietinu.

Konstruovala se jiná množina mutantů, aby se prověřila funkce zbytků 99-119 (doména 1) a zbytků 111-129 (doména 2) (Y. Chern aj., *Eur. J. Biochem.* 202: 225-230 (1991). Mutanty domény 1 se rychle degradují a jsou neaktivní v biotestech *in vitro*, zatím co mutanty domény 2 si při nejlepším udržují aktivitu *in vitro*. Tyto mutanty také nevykazují žádné zvýšení *in vivo* biologické aktivity ve srovnání s divokým typem lidského erythropoietinu. Tito autoři vyvozují, že zbytky 99-119 hrají klíčovou úlohu ve struktuře erythropoietinu.



Molekula lidského erythropoietinu má dva disulfidické můstky, jeden spojující cysteinové zbytky v polohách 7 a 161 a druhý spojující cysteiny v polohách 29 a 33 (P. H. Lai aj., *J. Biol. Chem.*, 261: 3116-3121 (1986). Mutagenese míst glykosylace erythropoietinu řízená oligonukleotidy se použila k prověření funkce disulfidického můstku spojujícího cysteiny v polohách 29 a 33 v lidském erythropoietinu. Cystein v poloze 33 se převedl na prolinový zbytek, který napodobuje strukturu myšího erythropoietinu na tomto zbytku. Vzniklý mutant má velmi sníženou aktivitu *in vitro*. Ztráta aktivity je tak silná, že autoři vyvozují, že disulfidický můstek mezi zbytky v polohách 29 a 33 je podstatný pro funkci erythropoietinu (F. K. Lin, *Molecular and Cellular Aspects of Erythropoietin and Erythropoiesis*, strany 23-36, ed. I. N. Rich, Springer Verlag, Berlin (1987)).

US patent 4,703,008 pro F. K. Lin (dále označovaný jako "patent 008") spekuluje o široké řadě modifikací EPO, včetně adičních, delečních a substitučních analogů EPO. Patent 008 neukazuje, že by kterákoliv z navržených modifikací zvýšila biologickou aktivitu sama o sobě, ačkoliv se konstatuje, že delece míst glykosylace by mohla zvýšit aktivitu EPO produkovanou v kvasinkách (viz patent 008, sloupec 37, řádky 25-28). Patent 008 také spekuluje, že analogy EPO, které mají jeden nebo více tyrosinových zbytků nahrazených fenylalaninem, mohou vykazovat zvýšenou nebo sníženou vázebnou afinitu.

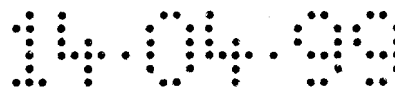
Australská patentová přihláška číslo AU-A-59145/90 pro Fibi, M. aj. také diskutuje řadu modifikovaných EPO proteinů (EPO muteiny). Obecně se spekuluje o změně aminokyselin 10-55, 70-85 a 130-166. Zejména přidání pozitivně nabitých bazických aminokyselin v oblasti karboxylového konce se považuje za zvyšující biologickou aktivitu EPO.

US patent 4,835,260 pro Shoemaker, B. C. diskutuje modifikované EPO proteiny se substitucemi methioninu v poloze 54 a asparaginu v poloze 38. Považuje se, že takové EPO muteiny mají zlepšenou stabilitu, ale neuvádí se, že vykazují jakékoliv zvýšení biologické aktivity ve srovnání s divokým typem EPO.

WO 91/05867 popisuje analogy lidského erythropoietinu mající větší počet míst pro připojení karbohydrátů než lidský erythropoietin, jako EPO (Asn⁶⁹), EPO (Asn¹²⁵, Ser¹²⁷), EPO (Thr¹²⁵) a EPO (Pro¹²⁴, Thr¹²⁵).

WO 94/24160 popisuje muteiny erythropoietinu mající zvýšenou aktivitu, specificky se substitucemi aminokyselin v polohách 20, 49, 73, 140, 143, 146, 147 a 154.

WO 94/25055 popisuje analogy erythropoietinu včetně EPO (X³³, Cys¹³⁹, des-Arg¹⁶⁶) a EPO (Cys¹³⁹, des-Arg¹⁶⁶).

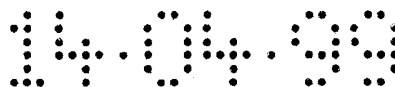


Přeskupení proteinových sekvencí

Při evoluci mají přeskupení proteinových sekvencí důležitou úlohu při vytváření rozmanitosti proteinových struktur a funkcí. Genová duplikace a míchání exonu poskytují důležitý mechanismus pro rychlé vytváření rozmanitosti a tím zabezpečují organismům výhodu soutěžení, zejména protože základní rychlost mutace je nízká (Doolittle, *Protein Science* 1: 191-200 (1992)).

Rozvoj metod rekombinantní DNA umožnil studium účinků transposice sekvencí na skládání, struktury a funkce proteinů. Přístup použitý k vytváření nových sekvencí se podobá přirozeně se vyskytujícím párům proteinů, které jsou příbuzné lineární reorganizací svých sekvencí aminokyselin (Cunningham aj., *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 76: 3218-3222 (1979), Teather a Erfle, *J. Bacteriol.* 172: 3837-3841 (1990), Schimming aj., *Eur. J. Biochem.* 204: 13-19 (1992), Yamiuchi a Minamikawa, *FEBS Lett.* 260: 127-130, 1991: MacGregor aj., *FEBS Lett.* 378: 263-266 (1996)). Prvá aplikace *in vitro* tohoto typu přeskupení proteinů byl popsán Goldenbergem a Creightonem (*J. Mol. Biol.*, 165: 407-413 (1983)). Nový N-konec se vybere na vnitřním místě (místo zlomu) původní sekvence, nová sekvence má stejné pořadí aminokyselin jako originál od místa zlomu, dokud nedosáhne aminokyselinu, která je na místě původního C-konce nebo blízko něj. V tomto místě se připojí nová sekvence, buď přímo nebo přes další část sekvence (spojovník) k aminokyselině, která je na místě původního N-konce nebo blízko něj a nová sekvence pokračuje se stejnou sekvencí jako původní, dokud nedosáhne bod, které je na místě aminokyseliny, která byla na místě N-konce k místu zlomu původní sekvence. Tento zbytek tvoří nový C-konec řetězce.

Tento přístup se použil na proteiny s rozsahem velikosti od 58 do 462 aminokyselin (Goldenberg a Creighton *J. Mol. Biol.*, 165: 407-413 (1983), Li a Coffino, *Mol. Cell. Biol.* 13: 2377-2383 (1993)). Přezkoušené proteiny představovaly široký rozsah strukturních tříd, včetně proteinů, které obsahují převážně α -šroubovnici (interleukin-4, Kreitman aj., *Cytokine* 7: 311-318 (1995), β -list (interleukin-1, Horlick aj. *Protein Eng.* 5: 427-431 (1992) nebo směsí těchto dvou (isomeráza fosforibosyl anthranilátu z kvasinek, Luger aj., *Science* 243: 206-210 (1989)). Široké kategorie funkce proteinů jsou představeny v těchto studiích reorganizací sekvencí:



Enzymy

T4 lysozym: Zhang aj., *Biochemistry* 32: 12311-12318 (1993), Zhang aj., *Nature Struct. Biol* 1: 434-438 (1995).

dihydrofolátreduktáza: Buchwalder aj., *Biochemistry* 31: 1621-1630 (1993), Protasova aj., *Protein Eng.* 7: 1373 - 1377 (1995).

ribonukleáza T1: Mullins aj., *J. Am. Chem. Soc.* 116: 5529-5533 (1994), Garrett aj., *Protein Science* 5: 204-211 (1996).

Bacillus β -glucanase: Hahn aj., *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 91: 10417-10421 (1994).

Aspartát-transkarbamoyláza: Yang a Schachman, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 90: 11980-11984 (1993).

fosforibosylanthranilát isomeráza: Luger aj., *Science* 243: 206-210 (1989), Luger aj., *Protein Eng.* 3: 249-258 (1990).

pepsin/pepsinogen Lin aj., *Protein Science* 4: 159-166 (1995).

glyceraldehyd-3-fosfát dehydrogenáza: Vignais aj., *Protein Science* 4: 994-1000 (1995).

ornithindekarboxyláza: Li a Coffino, *Mol. Cell. Biol.* 13: 2377-2383 (1983).

fosfoglycerátdehydrogenáza z kvasinek: Ritco-Vonsovici aj., *Biochemistry* 34: 16543-16551 (1995).

Inhibitory enzymů

Inhibitor bazického trypsinu z pankreatu: Goldenberg a Creighton *J. Mol. Biol.*, 165: 407-413 (1983).

Cytokiny

interleukin-1 β : Horlick aj. *Protein Eng.* 5: 427-431 (1992).

interleukin-4: Kreitman aj., *Cytokine* 7: 311-318 (1995).

Doména rozpoznávání kinázy tyrosinu

doména α -spektrinu SH3: Viguera aj. *J. Mol. Biol.*, 247: 670-681 (1995).

Transmembránový protein

omp A : Koebnik a Krämer *J. Mol. Biol.*, 250: 617-626 (1995).

Chimérní protein

interleukin-4-*Pseudomonas* fúzní molekula exotoxinu: Kreitman aj., *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 91: 6889-6893 (1994).

Výsledky těchto studií byly velmi rozdílné. V mnoha případech se pozorovala významně nižší aktivita, rozpustnost nebo termodynamická stabilita (reduktáza dihydrofolátu *E.coli*, aspartát-transkarbamoyláza, fosforibosyl-anthranilátu isomeráza, glyceraldehyd-3-fosfát dehydrogenáza, ornithin dekarboxyláza, omp A, fosfoglycerát dehydrogenáza z kvasinek). V jiných případech se zdálo, že reorganizované sekvence proteinů mají mnohé téměř shodné vlastnosti než jejich přirozené protějšky (inhibitor basického trypsinu z pankreatu, T4 lysozym, ribonukleáza T1, *Bacillus* β -glucanase, interleukin-1 β , doména α -spektrinu, pepsinogen, interleukin-4). Ve výjimečných případech se pozorovalo neočekávané zlepšení některých vlastností nad přirozenou sekvencí, například rozpustnost a rychlost skládání u reorganizovaných sekvencí domény α -spektrinu SH3 a afinity receptoru a aktivity proti tumorům reorganizované spojené molekuly exotoxinu interleukin-4-*Pseudomonas* (Kreitman aj., *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 91: 6889-6893 (1994), Kreitman aj., *Cancer Res.* 55: 3357-3363 (1995)).

Základní motivací těchto typů studií byla studie úlohy interakcí na krátkou a dlouhou vzdálenost při skládání a stabilitě proteinů. Přeskupení sekvencí tohoto typu mění podмноžinu interakcí, které jsou na dlouhou vzdálenost v původní sekvenci, na interakci na krátkou vzdálenost v nové sekvenci a obráceně. Skutečnost, že mnohé z těchto přeskupení sekvencí jsou schopné získat konformaci s alespoň nějakou aktivitou, je přesvědčujícím důkazem, že skládání proteinů probíhá mnoha cestami skládání (Viguera aj. *J. Mol. Biol.*, 247: 670-681 (1995). V případě domény α -spektrinu SH3 výběr nových konců v polohách, které odpovídají zlomům β -vlásky vedlo k proteinům s mírně menší stabilitou, které jsou však přesto schopné se skládat.

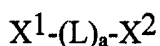
Polohy vnitřních míst zlomu použité ve zde citovaných studiích se nalézají pouze na povrchu proteinů a jsou rozděleny podél lineární sekvence bez jakéhokoliv zřejmé chyby ke koncům nebo středu (variace relativní vzdálenosti od původního N-konce k místu zlomu je asi 10 až 80 % celkové délky sekvence). Spojovníky spojující původní N- a C-konce v těchto studiích se měnily od 0 do 9 zbytků. V jednom případě (Yang a Schachman, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 90: 11980-11984 (1993)) část sekvence se odstranila od původního C-koncového segmentu a spojení se dosáhlo od skráceného C-konce k původnímu N-konci. Ve spojovnicích se často používají flexibilní hydrofilní zbytky jako Gly a Ser. Viguera aj. *J. Mol. Biol.*, 247: 670-681 (1995) porovnali spojení původních N- a C-konců se spojovníkem s 3- nebo 4- zbytky,

14.04.99

spojovník s 3-zbytky byl termodynamicky méně stabilní. Protasova aj. (*Protein Eng.* 7: 427-431(1995)) použili spojovníky s 3- nebo 5-zbytky ke spojení původních N-konců dihydrofolát reduktázy *E. coli*, pouze spojovník s 3- zbytky produkoval protein v dobrém výtěžku.

Podstata vynálezu

Modifikované agonisty receptoru EPO lidského se mohou představit obecným vzorcem



kde a je 0 nebo 1,

X^1 je peptid, který obsahuje sekvenci aminokyselin odpovídající sekvenci zbytků n+1 až J,

X^2 je peptid, který obsahuje sekvenci aminokyselin odpovídající sekvenci zbytků 1 až n,

n je celé číslo v rozmezí od 1 do J-1 a

L je spojovník.

V obecném vzorci výše jsou číslovány postupně 1 až J od amino do karboxylového konce. Pár sousedních aminokyselin v tomto proteinu se může číslovat n a n+1, kde n je celé číslo v rozmezí od 1 do J-1. Zbytek n+1 se stává novým N-koncem nového agonistu EPO receptoru a zbytek n se stává novým C-koncem nového agonistu EPO receptoru.

Vynález se týká nových polypeptidů, agonistů receptoru EPO, obsahujících modifikovanou sekvenci aminokyselin s následujícím vzorcem:

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

10

Tyr Leu Leu Glu Ala Lys Glu Ala Glu Asn Ile Thr Thr Gly

20

Cys Ala Glu His Cys Ser Leu Asn Glu Asn Ile Thr Val Pro

30

40

Asp Thr Lys Val Asn Phe Tyr Ala Trp Lys Arg Met Glu Val

50

Gly Gln Gln Ala Val Glu Val Trp Gln Gly Leu Ala Leu Leu

60

70

Ser Glu Ala Val Leu Arg Gly Gln Ala Leu Leu Val Asn Ser

80

Ser Gln Pro Trp Glu Pro Leu Gln Leu His Val Asp Lys Ala



90

Val Ser Gly Leu Arg Ser Leu Thr Thr Leu Leu Arg Ala Leu

100

110

Gly Ala Gln Lys Glu Ala Ile Ser Pro Pro Asp Ala Ser Ala

120

Ala Pro Leu Arg Thr Ile Thr Ala Asp Thr Phe Arg Lys Leu

130

140

Phe Arg Val Tyr Ser Asn Phe Leu Arg Gly Lys Leu Lys Leu

150

Lys Leu Tyr Thr Gly Glu Ala Cys Arg Thr Gly Asp Arg

160

166

kde případně 1 až 6 aminokyselin od N-konce a 1 až 5 od C-konce může být odstraněno z tohoto polypeptidu agonistu EPO receptoru,

kde N-konec je spojen s C-koncem přímo nebo spojovníkem schopným spojit N-konec s C-koncem a mající nové C- a N-konce u aminokyselin: 23-24, 24-25, 25-26, 27-28, 28-29, 29-30, 30-31, 31-32, 32-33, 33-34, 34-35, 35-36, 36-37, 37-38, 38-39, 40-41, 41-42, 43-44, 44-45, 45-46, 45-56, 46-47, 47-48, 48-49, 50-51, 51-52, 52-53, 53-54, 54-55, 55-56, 56-57, 57-58, 77-78, 78-79, 79-80, 80-81, 81-82, 82-83, 83-84, 84-85, 85-86, 86-87, 87-88, 88-89, 108-109, 109-110, 110-111, 111-112, 112-113, 113-114, 114-115, 115-116, 116-117, 117-118, 118-119, 119-120, 120-121, 121-122, 123-124, 124-125, 125-126, 126-127, 127-128, 128-129, 129-130, 131-132,

a tento polypeptid agonisty EPO receptoru může být případně bezprostředně předcházen (methionin⁻¹), (alanin⁻¹) nebo (methionin⁻², alanin⁻¹).

Výhodější místa zlomu, u kterých lze připravit nový N-konec a N-konec, jsou: 23-24, 24-25, 25-26, 27-28, 28-29, 29-30, 30-31, 31-32, 32-33, 33-34, 34-35, 35-36, 36-37, 37-38, 38-39, 40-41, 41-42, 42-43, 52-53, 53-54, 54-55, 55-56, 77-78, 78-79, 79-80, 80-81, 81-82, 82-83, 83-84, 84-85, 85-86, 86-87, 87-88, 88-89, 109-110, 110-111, 111-112, 112-113, 113-114, 114-115, 115-116, 116-117, 117-118, 118-119, 119-120, 120-121, 121-122, 123-124, 124-125, 125-126, 126-127, 127-128, 128-129, 129-130 a 131-132.

Nejlepší místa zlomu, u kterých lze připravit nový N-konec a N-konec, jsou: 23-24, 24-25, 31-32, 32-33, 37-38, 38-39, 82-83, 83-84, 85-86, 86-87, 87-88, 125-126, 126-127 a 131-132.

Nejlepší místa zlomu zahrnují místa glykosylace, ne-neutralizující protilátky, místa štěpení proteolytem. Agonisty EPO receptoru podle vynálezu mohou obsahovat substituce



aminokyselin, jak je popisuje WO 94/24160, nebo jedno či více míst glykosylace u Asn²⁴, Asn⁸³ a Asn¹²⁶ jsou zaměněna na jiné aminokyseliny, například nikoliv však omezeně, Asp nebo Glu, delece a inserce. Také se zamýšlí, aby agonisty EPO receptoru podle vynálezu mohly mít delece aminokyselin buď u jednoho, nebo obou N- a C-konců původního proteinu a nebo delece od nových N- a C-konců sekvence přeskupených proteinů ve vzorcích ukázaných výše.

Ve výhodném provedení podle vynálezu spojovník (L) spojující N-konec k C-konci je polypeptid vybraný ze skupiny tvořené:

Gly Gly Gly Ser	SEQ ID NO: 123,
Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser	SEQ ID NO: 124,
Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser	SEQ ID NO: 125,
Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Ser	SEQ ID NO: 126,
Glu Phe Gly Asn Met	SEQ ID NO: 127,
Glu Phe Gly Gly Asn Met	SEQ ID NO: 128,
Glu Phe Gly Asn Gly Gly Asn Met	SEQ ID NO: 129 a
Gly Gly Ser Asp Met Ala Gly	SEQ ID NO: 130.

Vynález také zahrnuje rekombinantní agonisty receptoru lidského EPO podávané spolu s kolonie stimulujícími faktory (CSF) včetně cytokinů, lymfokinů, interleukinů, krvetvorných růstových faktorů, které zahrnují, nikoliv však omezeně, GM-CSF, G-CSF, c-mpl ligand (také známý jako TPO nebo MGDF), M-CSF, IL-1, IL-4, IL-2, IL-3, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-9, IL-10, IL-11, IL-12, IL-13, IL-15, LIF, lidský růstový hormon, růstový faktor B-buněk, faktor diferenciacie B-buněk, faktor diferenciacie eosinofilů, faktor kmenových buněk (SCF), také známý jako ocelový faktor nebo c-kit ligand (zde souhrnně uváděné jako "faktory"). Tyto spolu podávané směsi se mohou charakterizovat tím, že mají obvyklou aktivitu jak peptidů, tak směsi a dále se mohou charakterizovat tím, že mají biologickou aktivitu větší, než je jednoduchá aditivní funkce přítomnosti agonistů EPO receptoru nebo samotné druhé kolonie stimulujícího faktoru. Společné podávání také může zabezpečit zvýrazněný účinek na aktivitu nebo aktivitu odlišnou od očekávané od přítomnosti EPO nebo druhé kolonie stimulujícího faktoru. Společné podávání také může mít zlepšený profil aktivity, který může zahrnovat zmenšení nežádoucích biologických aktivit spojených s nativním lidským EPO.

Mimo seznam výše se varianty IL-3, které se uvádějí v WO 94/12639 a WO 94/12638, fúzní proteiny, které se uvádějí v WO 95/21197 a 95/21254, G-CSF agonisty receptoru, které se



popisují v WO 97/12977, c-mpl agonisté receptoru, které se popisují v WO 97/12978, IL-3 agonisté receptoru, které se popisují v WO 97/12979 a multifunkční agonisté receptoru, které se popisují v WO 97/12985, mohou podávat spolu s polypeptidy tohoto vynálezu. Jak se zde používá, "IL-3 varianty" se týká variantů IL-3, které se uvádějí v WO 94/12639 a WO 94/12638. Jak se zde používá, "fúzní proteiny" se týká spojených proteinů, které se uvádějí v WO 95/21197 a 95/21254. Jak se zde používá, "G-CSF agonisty receptoru" se týká G-CSF agonistů receptoru, které se popisují v WO 97/12977. Jak se zde používá, "c-mpl agonisty receptoru" se týká c-mpl agonistů receptoru, které se popisují v WO 97/12978. Jak se zde používá, „IL-3 agonisty receptoru" se týká IL-3 agonistů receptoru, které se popisují v WO 97/12979. Jak se zde používá, "multifunkční agonisté receptoru" se týká multifunkčních agonistů receptoru, které se popisují v WO 97/12985.

Mimoto se předpokládá, že použití in vitro by zahrnovalo schopnost stimulovat kostní dřeň a aktivaci a růst buněk krve před infuzí expandovaných buněk pacientům.

Také se předpokládá, že použití agonistů EPO receptoru podle vynálezu zahrnovalo aplikace v krevních bankách, kde by se agonisté EPO receptoru podávaly pacientovi, aby se zvýšil počet červených krvinek a krevní produkty se pacientovi odejmou před některou lékařskou procedurou a krevní produkty se skladují a transfuzují se zpět pacientovi po lékařské proceduře. Mimoto se předpokládá, že použití agonistů EPO receptoru podle vynálezu by zahrnovalo podávání agonistů EPO receptoru dárci krve před darováním krve, aby se zvýšil počet červených krvinek a tím se umožnilo dárci dát bezpečně více krve.

Agonisté EPO receptoru podle vynálezu mohou být užitečné při léčení nemocí charakterizovaných sníženými hladinami červených krvinek v krvetvorné soustavě.

Agonisté EPO receptoru mohou být užitečné při léčení nebo prevenci anemie. Mnoho léků působí potlačení kostní dřeně nebo krvetvorné nedostatečnosti. Příklady takových léků jsou AZT, DDI, alkylační činidla a antimetabolity použité při chemoterapii, antibiotika, například chloramfenikol, penicilin, gancyklovir, daunomycin a sulfa léky, fenothiazony, trankvilizéry, například meprobamát, analgetika, například aminopyrin a dipyron, antikonvulzanty, například fenytoin nebo karbamazepin, antithyroidy, například propylthiouracil a methiazol, a diuretika. Agonisté EPO receptoru mohou být užitečné při prevenci nebo léčení potlačení kostní dřeně nebo krvetvorné nedostatečnosti, ke kterým často dochází u pacientů při léčení těmito léky.

Ke krvetvorné nedostatečnosti může také docházet jako důsledek virových, mikrobiálních nebo parazitických infekcí a jako důsledek léčení ledvinových nemocí nebo ledvinových selhání,



například při dialýze. Tento peptid může být užitečný při léčení takové krvetvorné nedostatečnosti.

Jiný aspekt vynálezu poskytuje DNA plazmidové vektory pro použití při expresi těchto nových agonistů receptoru EPO. Tyto vektory obsahují nové DNA řetězce popsané výše, které kódují nové polypeptidy podle vynálezu. Vhodné vektory, které mohou transformovat hostitelské buňky schopné exprese agonistů EPO receptoru zahrnují vektory exprese obsahující řetězce nukleotidů kódující agonisty EPO receptoru spojené k transkripčním a translačním regulačním řetězcům, které jsou vybrány podle použité hostitelské buňky.

Vektory zahrnující modifikované řetězce, jak jsou popsané výše, se zahrnují do tohoto vynálezu a jsou užitečné při výrobě modifikovaných agonistů receptoru EPO. Vektor použitý při tomto způsobu také obsahuje vybrané regulační řetězce v operativním spojení s kódujícími DNA řetězcí podle vynálezu a je schopný usměrnit jejich replikaci a expresi ve vybraných hostitelských buňkách.

Jako jiný aspekt vynálezu je dán způsob výroby nové skupiny agonistů receptoru EPO. Způsob podle vynálezu vyžaduje kultivaci vhodných buněk nebo linií buněk, které se transformovaly vektorem obsahujícím DNA řetězec kódující expresi nového polypeptidu agonisty EPO receptoru. Vhodné buňky nebo linie buněk mohou být bakteriální buňky. Například různé kmeny *E. coli*, kvasinek, savčí buňky nebo hmyzí buňky se mohou použít jako hostitelské buňky při způsobu podle vynálezu.

Jinými aspekty vynálezu jsou způsoby a terapeutické kompozice k léčení stavů uvedených výše. Takové kompozice obsahují terapeuticky účinné množství jednoho či více agonistů EPO receptoru podle vynálezu ve směsi s farmaceuticky přijatelným nosičem. Tato kompozice se může podávat parenterálně, intravenosně nebo podkožně. Když se podává, je terapeutická kompozice podle vynálezu s výhodou ve formě parenterálně přijatelného vodného roztoku bez pyrogenů. Příprava takového parenterálně přijatelného roztoku proteinů s patřičným ohledem na pH, isotonicitu, stabilitu a podobně, je v mezích schopností odborníků.

Podávání bude v souladu s dávkovým režimem, který snadno stanoví lékař s ohledem na specifickou aktivitu analogu *in vivo* se srovnáním s lidským erythropoietinem a s ohledem na to, co je nyní v oboru známo o podávání lidského erythropoietinu pro indukci erythropoiesis a léčení různých stavů, například anemie, včetně anemie u lidí trpících selháním ledvin. Dávka analogu podle vynálezu se může od jednotlivce k jednotlivci poněkud měnit v závislosti na daném analogu a jeho specifické aktivitě *in vivo*, cestě podávání, medicínském stavu, citlivosti pacienta k analogu nebo složkám vehiklu a jiných faktorech, na které lékař bude schopný brát

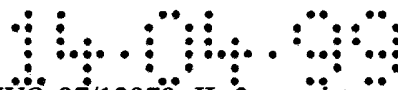


ohled. S ohledem na terapeutické použití analogů podle vynálezu se odkazuje na US patenty čísla 4,703,008 a 4,835,260, viz také kapitolu o (rekombinantní) (des-Arg¹⁶⁶) lidském erythropoietinu na stranách 591-595 v Physicians' Desk. Komerčně dostupné preparáty rekombinantního (des-Arg¹⁶⁶) lidského erythropoietinu mají 2000, 3000, 4000 nebo 10000 jednotek glykohormonu na ml vodného roztoku bez konzervativů s 2,5 mg/ml lidského sérového albuminu, 5,8 mg/ml citrátu sodného, 5,8 mg/ml NaCl a 0,06 mg/ml kyseliny citronové, pH 6,9 (+/-0,3).

Rekombinantně připravený EPO se ukázal zvláště užitečný pro léčení pacientů trpících zhoršenou tvorbou červených krvinek (Physicians' Desk Reference (PDR), vydání 1993, strany 602-605). Rekombinantně připravený EPO se ukázal účinný při léčení anemie spojené s chronickým selháním ledvin a jednotlivců nakažených HIV, trpících sníženými hladinami endogenní EPO, spojené s terapií s zidovudinem (AZT) (viz PDR, vydání 1993, strana 602).

Modifikace EPO proteinu, která by zlepšila jeho užitečnost jako nástroje pro diagnosu nebo léčení krevních potíží, by jistě byla žádoucí. Zejména modifikované formy EPO vykazující silnější biologickou aktivitu by byly účinnější a efektivní než nativní EPO při terapeutickém uspořádání, kdy se musí EPO podávat pacientovi. To dává možnost EPO podávat méně často a nebo v menších dávkách. Podávání snížených množství EPO také může snížit nebezpečí nepříznivých účinků spojených s EPO ošetřením, například hypertenze, návaly, bolesti hlavy etc. (viz PDR, vydání 1993, strany 603-604). Agonisty EPO receptoru podle vynálezu také mohou mít zlepšenou stabilitu a tím prodloužený poločas, což by umožnilo produkci ne-glykosylované formy EPO v bakteriální expresní soustavě za mnohem nižší cenu. V důsledku prodlouženého poločasu by tato ne-glykosylovaná forma EPO měla silnější biologickou aktivitu *in vivo* ve srovnání s de-glykosylovanou formou EPO.

Terapeutický způsob a kompozice mohou také zahrnovat společné dávkování s jinými hematopoietickými faktory. Neúplný seznam jiných vhodných hematopoietinů, kolonií stimulujících faktorů (CSF) a interleukinů pro simultánní nebo následné společné dávkování s polypeptidy tohoto vynálezu zahrnuje GM-CSF, G-CSF, c-mpl ligand (také známý jako TPO nebo MGDF), M-CSF, IL-1, IL-4, IL-2, IL-2, IL-3, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-9, IL-10, IL-11, IL-12, IL-13, IL-15, LIF, lidský růstový hormon, růstový faktor B-buněk, faktor diferenciaci B-buněk, faktor diferenciaci eosinofilů, faktor kmenových buněk (SCF), také známý jako ocelový faktor nebo c-kit ligand (zde souhrnně uváděné jako "faktory") nebo jejich kombinace. Mimo seznam výše se varianty IL-3, které se uvádějí v WO 94/12639 a WO 94/12638, fúzní proteiny, které se uvádějí v WO 95/21197 a 95/21254, G-CSF agonisty receptoru, které se popisují v WO



97/12977, c-mpl agonisty receptoru, které se popisují v WO 97/12978, IL-3 agonisty receptoru, které se popisují v WO 97/12979 a multifunkční agonisty receptoru, které se popisují v WO 97/12985, mohou podávat spolu s polypeptidy tohoto vynálezu.

Agonisty EPO receptoru podle vynálezu mohou být užitečné při mobilizaci hematopoietických progenitorů a kmenových buněk v periferní krvi. Ukázalo se, že progenitory vzniklé v periferní krvi jsou účinné při rekonstituci pacientů v situaci autologní transplantace kostní dřeně.

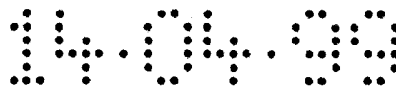
Agonisty EPO receptoru podle vynálezu mohou být také užitečné při *ex vivo* expanzi hematopoietických progenitorů. Faktory stimulující kolonie (CSF), jako je G-CSF, se mohou podávat samotné nebo podávat společně s jinými CSF nebo v kombinaci s transplanty kostní dřeně po vysokých dávkách chemoterapie při léčení anemie, neutropenie a trombocytopenie, které často vznikají při takovém léčení.

Jiným aspektem vynálezu je zajištění způsobů udržovat nebo expandovat hematopoietické prekursorní buňky, což zahrnuje očkování buněk do kultivační nádoby, která obsahuje kultivační medium, které bylo upraveno expozicí s kmenovými buňkami, jako jsou HS-5 (WO 96/02662, Roecklein a Torok-Strob, *Blood* 85: 997-1105 (1995)), které byly doplněny agonisty receptoru EPO podle vynálezu.

Krátký popis obrázků

Obrázek 1 schématicky ukazuje přeskupení sekvence proteinu. N-konec (N) a C-konec (C) nativního proteinu jsou spojeny spojovníkem nebo jsou spojeny přímo. Protein je otevřen v místě zlomu, což vytvoří nový N-konec (nový N) a nový C-konec (nový C), což vede k novému proteinu s novou sekvencí aminokyselin. Přeskupenou molekulu lze syntetizovat *de novo* jako lineární molekulu a nemusí se procházet kroky spojování původního N-konce a C-konce a otvírání proteinu v místě zlomu.

Obrázek 2 ukazuje schématicky způsob I pro vytvoření nových proteinů, ve kterých původní N-konec a C-konec nativního proteinu jsou spojeny spojovníkem a vytvoří se odlišný N-konec a C-konec proteinu. V ukázaném příkladu přeskupení sekvence vede k novému kódování genu proteinu s novým N-koncem vytvořeným u aminokyseliny 97 původního proteinu. Původní C-konec (aminokyselina 174) je spojen k aminokyselině 11 (aminokyseliny 1-10 jsou odstraněny) spojovací oblastí a nový C-konec se vytvoří u aminokyseliny 96 původní sekvence.



Obrázek 3 ukazuje schematicky způsob II pro vytvoření nových proteinů, ve kterých původní N-konec a C-konec nativního proteinu jsou spojeny bez spojovníku, a vytvoří se odlišný N-konec a C-konec proteinu. V ukázaném příkladu reorganizace sekvence vede k novému kódování genu proteinu s novým N-koncem vytvořeným u aminokyseliny 97 původního proteinu. Původní C-konec (aminokyselina 174) je spojen k aminokyselině 96 původní sekvence.

Obrázek 4 ukazuje schematicky způsob III pro vytvoření nových proteinů, ve kterých původní N-konec a C-konec nativního proteinu jsou spojeny spojovníkem a vytvoří se odlišný N-konec a C-konec proteinu. V ukázaném příkladu reorganizace sekvence vede k novému kódování genu proteinu s novým N-koncem vytvořeným u aminokyseliny 97 původního proteinu. Původní C-konec (aminokyselina 174) je spojen k aminokyselině 1 spojovací oblastí a nový C-konec se vytvoří u aminokyseliny 96 původní sekvence.

Obrázek 5 ukazuje DNA sekvenci kódující lidský zralý EPO, založenou na sekvenci Lin aj. (*PNAS* 82: 7580-7584 (1985)).

Příklady provedení vynálezu

Stanovení spojovníku

Délka sekvence aminokyselin spojovníku se může vybrat empiricky nebo s ohledem na strukturní informaci nebo s použitím kombinace obou přístupů.

Když není dostupná žádná strukturní informace, může se připravit malá série spojovníků pro testování s použitím designu jehož délka se mění, aby přesáhl rozpětí od 0 do 50 cm⁻⁸ a jejichž sekvence se vybere, aby byla konzistentní s povrchovou expozicí (hydrofilnost, Hopp a Woods, *Mol. Immunol.* 20: 483-489 (1993), Kyte a Doolittle, *J. Mol. Biol.*, 157: 105-132 (1982)), povrch exponovaný rozpouštědlo (Lee a Richards, *J. Mol. Biol.*, 55: 379-400 (1971)) a schopnost zaujmout potřebnou konformaci bez rozbití konfigurace agonisty EPO receptoru (konformačně flexibilní, Karplus a Schulz, *Naturwissenschaften* 72: 212-213 (1985). Předpokládá se průměrnou translaci 2,0 až 3,8 10⁻⁸ na zbytek by to znamenalo, že délka ke zkoušení by byla mezi 0 až 30 zbytky s výhodným rozmezím mezi 0 až 15 zbytky. Příkladem pro takovou empirickou sérii by byla konstrukce spojovníků s pomocí kazetové sekvence Gly-Gly-Gly-Ser opakované *n* krát, kde *n* je 1, 2, 3 nebo 4. Odborníci poznají, že existuje mnoho takových sekvencí, které se liší délkou nebo složením, které mohou sloužit jako spojovníky s prvotním ohledem, aby nebyly příliš dlouhé nebo krátké (srovnej Sandhu, *Critical Rev. Biotech.* 12: 437-452 (1992)). Pokud jsou příliš dlouhé, entropické účinky by asi destabilizovaly



troj-rozměrné složení a také by mohly učinit skládání kineticky nepraktické, a pokud jsou příliš krátké, budou asi destabilizovat molekulu z důvodu torsního a stérického pnutí.

Odborníci na analýzu strukturní informace proteinů poznají, že s využitím vzdálenosti mezi konci řetězce, definované jako vzdálenost mezi c-alfa uhlíky, se může definovat délka řetězce, který se má použít, nebo alespoň omezit počet možností, které se musí testovat při empirickém výběru spojovníků. Také poznají, že v některých případech jsou polohy konců polypeptidu špatně definované ve strukturních modelech odvozených z difrakce X-paprsků nebo ze spektroskopických údajů nukleární magnetické resonance. Pokud je to pravda, musí se brát zřetel na tuto situaci, aby se správně určila délka potřebného spojovníku. Z těch zbytků, jejichž polohy jsou dobře definované, se vyberou dva zbytky, které jsou v sekvenci blízko ke koncům řetězce a vzdálenost mezi jejich c-alfa uhlíky se využije k výpočtu přibližné délky spojovníku mezi nimi. S využitím vypočtené délky se pak vyberou spojovníky s rozmezím počtu zbytků (vypočtené s využitím 2,0 až 3,8 10^{-8} cm na zbytek). Tyto spojovníky se mohou komponovat s původní sekvencí, podle potřeby zkrátit nebo prodloužit. Když se prodlužují, další zbytky se mohou vybrat, aby byly flexibilní nebo hydrofilní, jak se popisuje výše, nebo případně se původní sekvence může substituovat s použitím série spojovníků, jeden například je kazetový přístup "Gly-Gly-Gly-Ser" zmíněný výše nebo se případně může použít kombinace původní sekvence a nové sekvence mající přibližnou celkovou délku.

Stanovení aminových a karboxylových konců agonistů receptoru EPO

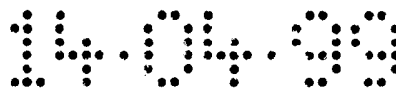
Sekvence agonistů receptoru EPO schopná se skládat do biologicky aktivních stavů se může připravit vhodným výběrem poloh počátku (aminový konec) a konce (karboxylový konec) z původního řetězce polypeptidu, jak se popisuje výše. Aminové a karboxylové konce se vyberou v rozmezí obecného rozpětí sekvence uváděného jako oblast místa zlomu s použitím směrnic, jak se popisují níže. Nová sekvence aminokyselin se tak vytvoří výběrem aminových a karboxylových konců v rozmezí stejné oblasti místa zlomu. V mnoha případech výběr nových konců bude takový, aby původní poloha karboxylového konce bezprostředně předcházela aminovému konci. Avšak odborníci poznají, že výběry konců kdekoli uvnitř oblasti mohou fungovat a že povedou účinně buď k delecím, nebo adicím aminových nebo karboxylových částí nové sekvence.

Ústředním dogmatem molekulární biologie je to, že primární sekvence aminokyselin proteinu diktuje skládání do troj-rozměrné struktury potřebné pro expresi jeho biologické funkce. Odborníkům jsou známy způsoby, jak získat troj-rozměrnou strukturní informaci s využitím difrakce X-paprsků jednotlivých krystalů proteinu nebo nukleární magnetické rezonanční



spektroskopie roztoků proteinu. Příklady strukturní informace, která je relevantní k identifikaci oblastí míst zlomu zahrnují lokaci a typ sekundární struktury proteinu (alfa a 3-10 šroubovnice, paralelní a anti-paralelní beta vrstvy, zvraty a obraty a smyčky (Kabsch a Sander, *Biopolymers* 22: 2577-2637 (1983)), stupeň vystavení zbytků aminokyselin rozpouštědлу, rozsah a typ interakcí zbytků mezi sebou (Choyhia, *Ann. Rev. Biochem.* 53: 537-572 (1984)) a statické a dynamické rozdělení konformací podél řetězce polypeptidu (Alber a Mathews, *Methods Enzymol.* 154: 511-533 (1987)). V některých případech je známá další informace o vystavení zbytků aminokyselin rozpouštědлу, jedním případem je místo potranslačního spojení uhlovodíku, které je nutně na povrchu proteinu. Když není dostupná experimentální strukturní informace, nebo se nemůže získat, jsou též dostupné způsoby, jak analyzovat primární sekvenci aminokyselin, aby se mohly předpovědět terciární a sekundární struktury proteinu, přístupnost rozpouštědлу a výskyt obrátů a smyček. Někdy lze aplikovat pro empirické stanovení vystavení povrchu biochemické metody, když nejsou uskutečnitelné přímé strukturní metody, například s využitím identifikace míst štěpení řetězce po omezené proteolýze, aby se zjistilo vystavení povrchu (Gentile a Salvatore, *Eur. J. Biochem.* 218: 603-621 (1993)).

Tak s použitím buď experimentálně odvozené strukturní informace, nebo způsobů predikce (například Srisnivisan a Rose, *Proteins: Struct. Funct. and Genetics*, 22: 81-99 (1995)) se prohlédne původní sekvence aminokyselin, aby se klasifikovaly oblasti podle toho, jsou-li nebo nejsou-li integrální pro udržení sekundární a terciární struktury. Výskyt sekvencí s oblastmi, o nichž je známo, že se účastní periodické sekundární struktury (alfa a 3-10 šroubovnice, paralelní a anti-paralelní beta vrstvy, zvraty a obraty a smyčky jsou oblasti, kterým je nutné se vyhnout. Podobně oblasti sekvence aminokyselin, u nichž se pozorovalo nebo předpovědělo, že mají nízký stupeň vystavení rozpouštědлу, jsou pravděpodobněji částí tak zvaného hydrofobního jádra proteinu a mělo by se jim také vyhnout při výběru. Naproti tomu oblasti, o kterých je známo nebo předpovězeno, že jsou na povrchu obrátů nebo smyček a zvláště ty oblasti, o kterých je známo, že nejsou potřebné pro biologickou aktivitu, jsou výhodná místa pro umístění extrémů řetězce polypeptidu. Kontinuální kusy sekvence aminokyselin, kterým se dává přednost na základě kritérií výše uvedených, se uvádějí jako oblasti míst zlomu.



(100 µg/ml ampicillinu, 75 µg/ml spectinomycinu. Před sklizní se analyzuje 1 µg buněk pomocí PCR na přítomnost genu agonisty EPO receptoru. PCR se provádí s využitím kombinace primérů, které se spojují s genem agonisty EPO receptoru a nebo s vektorem. Když PCR skončí, přidá se k vzorku vedoucí barvivo a potom následuje elektroforéza, jak se popisovalo výše. Gen se spojil s vektorem, když se pozoruje produkt PCR očekávané velikosti.

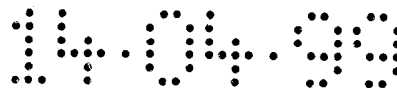
Způsoby vytvoření genů s novým N-koncem/C-koncem

Způsob I. Vytvoření genů s novým N-koncem/C-koncem, které obsahují oblast spojovníku.

Geny s novým N-koncem/C-koncem, které obsahují oblast spojovníku oddělující původní C-konec a N-konec se mohou vytvořit podstatně podle způsobu popsaného v Mullins aj., *J. Am. Chem. Soc.* 116: 5529-5533 (1994). K přeskupení DNA sekvence kódující primární sekvenci aminokyselin proteinu se použije řada kroků amplifikace polymerázové řetězové reakce (PCR). Kroky jsou ukazány na obr. 2.

V prvním kroku se použije nastavení priméru ("nový start" a "start spojovníku", aby se vytvořil a amplifikoval z původního řetězce genu fragment DNA "start fragmentu" kódující nový protein, následovaný spojovníkem, který spojuje C-terminální a N-terminální konce původního proteinu. V druhém kroku se použije nastavení priméru ("nový stop" a "stop spojovníku", aby se vytvořil a amplifikoval z původního řetězce genu fragment DNA "stop fragmentu" kódující stejný spojovník, který se použil výše, následovaný novou C-terminální částí nového proteinu. Navrhnou se priméry označené "nový start" a "nový stop", aby zahrnovaly vhodná místa pro rozlišení restrikčními enzymy, což umožní klonování nového genu do plazmidu exprese. Typickými podmínkami PCR jsou jeden cyklus 95 °C po 2 minuty tání, 25 cyklů 94 °C denaturace po 1 minutu, 50 °C po minutu žhánání a 72 °C po 1 minutu extenze, plus jeden cyklus extenze při 72 °C po sedm minut. Použije se Perkin Elmer GeneAmp PCR Core souprava činidel. 100 µm reakční směsi obsahuje 100 pmol každého priméru a jeden µg vzorové DNA a 1 x ústoj PCR. 200 µmol dATP, 200 µmol dCTP, 2,5 jednotek AmpliTaq DNA polymerázy a 2 mmol MgCl₂. Reakce PCR se provádějí v DNA tepelném cyklovači model 480 (Perkin Elmer Corporation, Norwalk, CT).

"Start fragmentu" a "stop fragmentu", které mají komplementární sekvenci v oblasti spojovníku a kódující sekvenci pro dvě aminokyseliny na obou stranách spojovníku se spolu spojí v třetím kroku PCR, aby se vytvořila plná délka genu kódujícího nový protein. Fragmenty DNA "start fragmentu" a "stop fragmentu" se vyvolají na 1% TEA gelu barveného ethidium



Metody a materiály

Metody rekombinantní DNA

Pokud není uvedeno jinak, všechny speciální chemikálie byly získané od Sigma Co. (St. Louis, MO). Restrikční endonukleázy a T4 DNA ligáza byly získané od New England Biolabs (Beverly, MA) nebo od Boehringer Mannheim (Indianapolis, IN).

Transformace kmenů *Escheria coli*

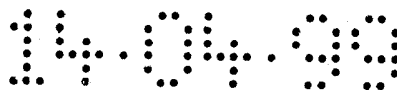
Kmeny *E. coli* jako DH5 α TM (Life Technologies, Gaithersburg, MD) a TG1 (Amersham Corp., Arlington Heights, IL) se užívají k transformaci ligačních reakcí a jsou zdrojem plazmidu DNA pro transfekci savčích buněk. Kmeny *E. coli* jako MON105 a JM101 se mohou použít k expresi agonistů EPO receptoru podle vynálezu v cytoplazmě nebo periplazmickém místě.

MON105 ACTT #55204: F⁻, lamda⁻, IN(rrnD, rrE)1, rpoD⁺, rpoH358.

DH5 α TM: F⁻, phi80dlacZdeltaM15, delta(lacZYA-argF)U169, deoR, recA1, endA1, hsdR17(rk-,mk+), phoA, supE44lamda⁻, thi-1, gyrA96, relA1.

JM101: delta (lac-pro), supE, thi-1, hsdD5/F' (traD36, proA+B⁺, lacIq, lacZdeltaM15).

DH5 α TM subklonovací účinné buňky jsou získané jako kompetentní buňky a jsou připravené k transformaci podle protokolu výrobce, zatímco oba kmeny *E. coli* TG1 a MON105 se uschozí pro převzetí DNA pomocí CaCl₂ metody. Typicky se pěstuje 20 až 50 ml buněk v LB mediu (1% Bacto-trypton, 0,5% Bacto-extrakt z kvasinek, 150 mmol NaCl) o hustotě asi 1,0 optických jednotek při 600 nanometrech (OD₆₀₀) se měří na spektrofotometru Spectronics (Baush and Lomb, Rochester, NY). Buňky se odeberou odstředěním a znovu se suspendují v pětinovém objemu kultivačního roztoku CaCl₂ (50 mmol CaCl₂, 10 mmol Tris-Cl. pH 7,4) a udržují se při 4 °C 30 minut. Buňky se odeberou odstředěním a znovu se suspendují v desetině objemu kultivačního roztoku CaCl₂. Slitá DNA se přidá k 0,2 ml objemu těchto buněk a vzorky se drží při 4 °C jednu hodinu. Vzorky se uvedou na 42 °C po 2 minuty a přidá se 1 ml LB před třepáním vzorků při 37 °C po jednu hodinu. Buňky z těchto vzorků se rozestrou na misky (LB medium plus 1,5% Bacto-agar) obsahující buď ampicillin (100 mikrogramů/ml μ g/ml), když se selektovalo na transformanty odolné proti ampicillinu, nebo spectinomycin (75 μ g/ml), když se selektovalo na transformanty odolné proti spectinomycinu. Misky se inkubují přes noc při 37 °C. Vyberou se osamělé kolonie, rostou za třepání při 37 °C v LB s dodaným vhodným antibiotikem.



bromidem a izolovaného s použitím extrakční soupravy Quiaex Gel (Quiagen). Tyto fragmenty se smísí v ekvimolekulárních množstvích, zahřejí se na 70 °C na 10 minut a pomalu ochladí, aby se umožnilo spojení přes jejich sdílenou sekvenci v oblasti "start spojovníku" a "stop spojovníku". V třetím kroku PCR se přidají ke spojeným fragmentům priméry "nový start" a "nový stop", aby se vytvořila a amplifikovala plná délka genu N-konec/C-konec. Typickými podmínkami PCR jsou jeden cyklus 95 °C po 2 minuty tání, 25 cyklů 94 °C denaturace po 1 minutu, 60 °C po minutu žíhání a 72 °C po minutu extenze, plus jeden cyklus extenze při 72 °C po sedm minut. Použije se Perkin Elmer GeneAmp PCR Core souprava činidel. 100 µm reakční směs obsahuje 100 pmol každého priméru a asi 0,5 µg DNA a 1 x ústoj PCR. 200 µmol dATP, 200 µmol dCTP, 2,5 jednotek AmpliTaq DNA polymerázy a 2 mmol MgCl₂. Reakce PCR se čistí pomocí soupravy Wizard PCR Preps (Promega).

Způsob II. Vytvoření genů s novým N-koncem/C-koncem bez oblasti spojovníku.

Geny s novým N-koncem/C-koncem bez spojovníku spojujícího původní C-konec a N-konec se mohou vytvořit pomocí dvou kroků PCR amplifikace a spojení tupých konců. Kroky se ukazují na obrázku 3.

V prvním kroku se použije nastavení priméru ("nový start" a "start P-bl"), aby se vytvořil a amplifikoval z původního řetězce genu fragment DNA "start fragmentu", který obsahuje sekvenci kódující novou C-terminální část nového proteinu. V druhém kroku se použije nastavení priméru ("nový stop" a "stop P-bl"), aby se vytvořil a amplifikoval z původního řetězce genu fragment DNA "stop fragmentu", který obsahuje sekvenci kódující novou C-terminální část nového proteinu. Navrhnou se priméry označené "nový start" a "nový stop", aby zahrnovaly vhodná restrikční místa, která umožňují klonování nového genu do vektorů exprese. Typickými podmínkami PCR jsou jeden cyklus 95 °C po 2 minuty tání, 25 cyklů 94 °C denaturace po 1 minutu, 50 °C po 45 sekund žíhání a 72 °C po 45 sekund extenze. Použije se polymeráza Deep Vent (New England Biolabs) za podmínek doporučených výrobcem, aby se snížil výskyt přesahů. Priméry "start P-bl" a "stop P-bl" se fosforylují na 5' konci, aby se usnadnilo následující spojení tupých konců "start fragmentu" a "stop fragmentu" k sobě. 100 µm reakční směs obsahuje 100 pmol každého priméru a jeden µg vzorové DNA a 1 x ústoj Vent (New England Biolabs), 300 µmol dGTP, 300 µmol dATP, 300 µmol dTTP, 300 µmol dCTP a 1 jednotku polymerázy Deep Vent. Reakce PCR se provádějí v DNA tepelném cyklovači model 480 (Perkin Elmer Corporation, Norwalk, CT) a čistí se pomocí soupravy Wizard PCR Preps (Promega).



Priméry se navrhnu, aby zahrnovaly vhodná místa rozpoznaná restričními enzymy, která umožňují klonování nového genu do vektorů exprese. Typicky se "start fragmentu" navrhne tak, aby vytvořil NcoI restriční místo a "stop fragmentu" se navrhne tak, aby vytvořil HindIII restriční místo. Restriční stravovací reakce se čistí pomocí soupravy Magic DNA Clean-up System (Promega). Fragmenty Start a Stop se vyvolají na 1% TEA gelu barveného ethidium bromidem a izolovaného s použitím extrakční soupravy Qiaex Gel (Qiagen). Tyto fragmenty se smíchají a připojí se ke koncům fragmentu NcoI/HindIII s asi 3800 páry bazí vektoru pMON3934 zahříváním na 50 °C na 10 minut a nechá se pomalu ochladit. Tři fragmenty se spolu spojí pomocí T4 DNA ligázy (Boehringer Mannheim). Výsledkem je plazmid obsahující plnou délku genu nový N-konec/C-konec. Část spojovací reakce se použije k transformaci DH5α buněk (Life Technologies, Gaithersburg, MD). Plazmid DNA se čistí a sekvence se potvrdí jako níže.

Způsob III. Vytvoření genů s novým N-koncem/C-koncem metodou tandemové duplikace.

Tandemově duplikované geny s N-koncem/C-koncem lze připravit způsobem popsáním v Horlick aj., *Protein Eng.* 5: 427-431 (1992). Amplifikace polymerázovou řetězovou reakcí (PCR) genů s novým N-koncem/C-koncem se provede pomocí tandemově duplikované vzorové DNA Kroky se ukazují na obrázku 4.

Tandemově duplikovaná vzorová DNA se vytvoří klonováním a obsahuje dvě kopie genu oddělené sekvencí DNA kódující spojovník původních C-terminálního a N-terminálního konce dvou kopií genu. Použijí se specifická nastavení priméru, aby se vytvořila a amplifikovala plná délka genu s novým N-koncem/C-koncem z tandemově duplikované vzorové DNA. Tyto priméry se navrhnu tak, aby zahrnovaly vhodná restriční místa, což umožní klonování nového genu do vektorů exprese. Typickými podmínkami PCR jsou jeden cykl 95 °C tání po 2 minuty, 25 cyklů 94 °C denaturace po 1 minutu, 50 °C žhání po minutu a 72 °C extenze po 1 minutu, plus jeden cykl extenze při 72 °C po sedm minut. Použije se Perkin Elmer GeneAmp PCR Core souprava reagentů (Perkin Elmer Corporation, Norwalk, CT). 100 µm reakční směsi obsahuje 100 pmol každého priméru a jeden µg vzorové DNA a 1 x ústoj PCR, 200 µmol dGTP, 200 µmol dATP, 200 µmol dTTP, 200 µmol dCTP, 2,5 jednotek AmpliTaq DNA polymerázy a 2 mmol MgCl₂. Reakce PCR se provádějí v DNA tepelném cyklovači model 480 (Perkin Elmer Corporation, Norwalk, CT). Reakce PCR se čistí pomocí soupravy Wizard PCR Preps (Promega).



Izolace a charakterizace DNA

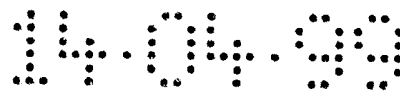
Plazmidová DNA se může izolovat řadou různých způsobů a s použitím komerčně dostupných souprav známých odborníkům. Plazmidová DNA se izoluje pomocí soupravy Promega Wizard™ Miniprep (Madison, WI), souprav Qiagen QIAwell Plazmid isolation (Chastsworth, CA) nebo soupravy Qiagen Plazmid Midi. Tyto soupravy sledují stejný obecný postup pro izolaci plazmidové DNA. Stručně, buňky se peletují odstředěním (5000 x g), plazmidová DNA se uvolní postupným ošetřením NaOH/kyselina a buněčné zlomky se odstraní odstředěním (10000 x g). Kalová voda (obsahující plazmidovou DNA) se naloží na kolonu obsahující pryskyřici, která váže DNA a plazmidová DNA se eluuje pomocí TE. Po screeningu na kolonie s hledaným plazmidem se očkují buňky *E. coli* do 50-100 ml LP plus vhodné antibiotikum pro růst přes noc při 37 °C ve vzdušném inkubátoru za třepání. Vyčištěná plazmidová DNA se použije pro sekvenování DNA, další trávení restrikcí enzy, další podklonování fragmentů DNA a transfekci do savců, *E. coli* nebo do jiných buněk.

Potvrzení sekvencí

Vyčištěná plazmidová DNA se znovu suspendují v dH₂O a kvantifikují se měřením absorbance při 260/280 nm v spektrofotometru Spectronics 601 UV (Baush and Lomb). Vzorky DNA se sekvenují pomocí soupravy terminátorové sekvencující chemie ABI PRISM™ DyeDeoxy™ (Applied Biosystems Division of Perkin Elmer Corporation, Lincoln City, CA) podle protokolu navrženého výrobcí, obvykle modifikovaného přidáním 5% BMSO k sekvencující směsi. Sekvenování se provádí v DNA tepelném cyklovači model 480 (Perkin Elmer Corporation, Norwalk, CT) podle doporučených podmínek amplifikace. Vzorky se čistí, aby se odstranil přebytek terminátorových barviv, kolonami Centri-Sep™ (Princeton Separations, Adelphia, NJ) a lyofilizují se. Sekvenující reakce označené fluorescentním barvivem se znovu suspendují v deionizovaném formamidu a sekvenují se na denaturujícím 4,75% polyakrylamid-8M močovinných gelech pomocí automatizovaného sekvenovače DNA ABI Model 373A. Překrývající se fragmenty DNA a sekvence se analyzují a sestavují do master DNA sborů pomocí analytického software Sequencer v2.1 DNA (Gene Codes Corporation, Ann Arbor, MI).

Expres agonistů receptoru EPO v savcích buňkách

Transfekce savcích buněk/ produkce upraveného media.

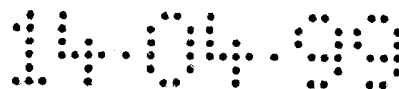


Buněčnou linii BHK-21 lze získat od ACTT (Rockville, MD). Buňky se kultivují v modifikovaném Dulbeccově Eagle mediu (DMEM, vysoká glukóza) obohaceném 10% fetálním hovězím sérem (FBS). Tato formulace je označena BHK růstové medium. Selektivním mediem je BHK růstové medium obohacené 453 jednotek/ml hydromycinu B (Calbiochem, San Diego, CA). Buněčná linie BHK-21 se před tím transfektovala HSV transaktivačním proteinem VP16, který transaktivuje promotor IE110, který se nalézá na plazmidu pMON3359 (viz Hippenmeyer aj., *Bio/Technology*, strany 1037-1041 (1993)). Protein VP16 podněcuje expresi genů vložených za promotor IE110. Buňky BHK-21 s expresí transaktivujícího proteinu VP16 je označena BHK-VP16. Plazmidu pMON1118 (viz Highkin aj., *Poultry Sci*, 70: 970-981 (1991)) vyjadřuje gen odolnosti proti hydromycinu z promotoru SV40. Podobný plazmid lze získat od ACTT, pSV2-hph.

Buňky BHK-VP16 se vysejí na 60 mm kultivační misky pro tkáň při 3×10^5 buněk na misku 24 hodiny před transfekcí. Buňky se transfekují po 16 hodin v 3 ml "OPTIMEM"TM (Gibco-BRL, Gaithersburg, MD) obsahujícím 10 µg plazmidové DNA obsahující příslušný gen, 3 µg plazmidu odolnosti proti hydromycinu pMON1118 a 80 µg "LIPOFECTAMINE"TM (Gibco-BRL) na misku. Medium se potom odsálo a nahradilo se 3 ml růstového media. 48 hodin po transfekci se medium z každé misky sebralo a testovalo se na aktivitu (přechodně kondiciované medium). Buňky se odstraní z misky pomocí trypsin-EDTA, zředilo se 1:10 a přeneslo se na 100 mm kultivační misky pro tkáň obsahující 10 ml selektivního media. Přibližně po 7 dnech v selektivním mediu odolné buňky vyrostou do kolonií s průměrem několika milimetrů. Kolonie se odstraní z misky filtračním papírem (nařezaného asi na stejnou velikost jako kolonie a namočené do trypsin-EDTA) a přenesou se do jednotlivých jamek desky s 24 jamkami obsahujících 1 ml selektivního media. Když klony dostatečně vyrostou, kondiciované medium se znovu testuje a pozitivní klony se expandují do růstového media.

Exprese agonistů receptoru EPO v *E.coli*

Buňky *E. coli* kmen MON105 nebo JM101, obsahující příslušný plazmid rostou při 37 °C v M9 mediu plus kasaminové kyseliny za třepání ve vzdušném inkubátoru model G25 od New Brunswick Scientific (Edison, New Jersey). Růst se sleduje při OD600, dokud nedosáhne hodnotu 1, kdy se přidá nalidixová kyselina (10 mg/ml) v 0,1 N NaOH na konečnou koncentraci 50 µg/ml. Kultury se pak třepou při 37 °C tři až čtyři další hodiny. Během kultivační fáze se udržuje vysoký stupeň aerace, aby se dosáhla maximální produkce žádaného genového produktu. Buňky se zkoumají pod světelným mikroskopem na přítomnost zachycených částic (IB). Jedno



mililitrové podíly kultury se odeberou pro analýzu obsahu proteinů vařením peletovaných buněk, jejich ošetřením redukujícím ústojem a elektroforézou přes SDS-PAGE (viz Maniatis aj., *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, 1982). Kultura se odstředí (5000 x g), aby se buňky peletovaly.

Další strategie pro dosažení vysokého stupně exprese genů v *E. coli* lze nalézt v Savvas C. M., *Microbiological Reviews*, 60: 512-538 (1996).

Příprava zachycených částic: Extrakce, nové složení, dialýza, DEAE chromatografie a charakterizace agonistů receptoru EPO, které se hromadí v zachycených částicích v *E. coli*

Izolace zachycených částic:

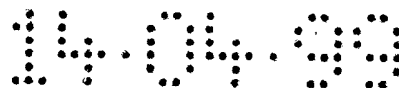
Peletované buňky z kultury 330 ml *E. coli* se znovu suspendují v sonifikačním ústoji (10 mmol hydrochloridu 2-amino-2-(hydroxymethyl)-1,3-propandiolu (Tris-HCl), pH 8,0, plus 1 mmol ethylendiaminotetraoctové kyseliny (EDTA). Resuspendované buňky se sonifikují pomocí mikrokonce rozbíječe buněk Sonicator (Model W-375 Heat Systems-Ultrasonics Inc., Farmingdale, New York). Použijí se tři kola sonifikace v sonifikačním ústoji následovaná odstředěním, aby se rozbily buňky a promyly se zachycené částice (IB). Prvé kolo sonifikace je 3 minutový impuls, následovaný 1 minutovým impulsem a konečná dvě kola sonifikace jsou po 1 minutě.

Extrakce a nové složení proteinů z pelet zachycených částic:

Po kroku konečného odstředění se IB pelety znovu suspendují v 10 ml 50 mmol Tris-HCl, pH 9,5, 8mmol močoviny a 5 mmol dithiothreitolu (DTT) a míchají se asi 45 minut, aby se umožnila denaturace vyjádřeného proteinu.

Extrakční roztok se přenesse do kádinky obsahující 70 ml 5 mmol Tris-HCl, pH 9,5, 2,3 mol močoviny a mírně se míchá za vystavení vzduchu při 4 °C po 18 až 48 hodin, aby se umožnilo nové složení proteinů. Nové skládání se sleduje analýzou na C18 koloně pro chromatografii v reversní fázi za vysokého tlaku (RP-HPLC) (0,46 x 25 cm) (Vydac, Hesperia, CA). K sledování nového skládání se použije lineární gradient od 40 % do 65 % acetonitrilu obsahujícího 0,1% trifluoroctové kyseliny (TFA). Tento gradient se vyvolává během 30 minut při průtokové rychlosti 1,5 ml za minutu. Denaturované proteiny se obecně eluují později v gradientu než složené proteiny.

Čistění:



Po novém složení se znečišťující proteiny *E. coli* odstraňují srážením kyselinou. pH roztoku pro nové složení se titruje, aby bylo mezi pH 5,0 a pH 5,2, pomocí 15% (objemově) octové kyseliny (HOAc). Tento roztok se míchá při 4 °C 2 hodiny a pak se odstředí 20 minut při 12000 x g, aby se peletovaly všechny nerozpustné proteiny.

Kalová voda z kroku srážení kyselinou se dialýzuje na membráně Spectra/Por 3 s hranicí molekulové hmotnosti (MWCO) 3500 daltonů. Dialýzuje se proti 2 změnám 4 litrů (50 násobný přebytek) 10 mmol Tris-HCl, pH 8,0, celkem 18 hodin. Dialýza snižuje vodivost vzorku a odstraňuje močovinu před chromatografií DEAE. Vzorek se pak odstředí (20 minut při 12000 x g), aby se peletovaly všechny nerozpustné proteiny po dialýze.

Pro iontovou výměnnou chromatografii se použije kolona Bio-Rad Bio-Scale DEAE2 (7 x 52 mm). Kolona se vyrovná ústojem obsahujícím 10 mmol Tris-HCl, pH 8,0. Protein se eluuje pomocí gradientu 0 až 500 mmol chloridu sodného (NaCl) v vyrovnávacím ústoji přes 45 objemů kolony. Pro vymytí se použije průtoková rychlost 1 ml za minutu. Frakce z kolony (2 ml na frakci) se sbírají během gradientu a analyzují se RP-HPLC na C18 koloně (0,46 x 25 cm) (Vydac, Hesperia, CA). Použije se lineární gradient od 40 % do 65 % acetonitrilu obsahujícího 0,1% trifluoroctové kyseliny (TFA). Tento gradient se vyvolává během 30 minut při průtokové rychlosti 1,5 ml za minutu. Spojené frakce se pak dialýzují proti 2 změnám 4 litrů (50 až 500 násobný přebytek) 10 mmol octanu amonného (NH₄Ac), pH 4,0, celkem 18 hodin. Dialýza se provádí s použitím membrány Spectra/Por 3 s MWCO 3500 daltonů. Konečně se vzorek sterilně filtruje s použitím 0,22 µm injekčního filtru (µStar LB injekční filtr, Costar, Cambridge, Ma.) a skladuje se při 4 °C.

V některých případech složené proteiny lze čistit afinitně s použitím afinitních činidel, jako je mAbs nebo receptorové podjednotky připojené k vhodné matici. Alternativně (nebo navíc) lze čištění dosáhnout různými chromatografickými metodami, jako iontovou výměnou, gelovou filtrací nebo hydrofobní chromatografií nebo HPLC v reversní fázi.

Tyto a jiné metody jsou popsány podrobně v *Methods in Enzymology*, Volume 182, "Guide to Protein Purification, Murray Deutcher, Ed., Academic Press, San Diego (1990).

Charakterizace proteinu:

Vyčištěný protein se analyzuje pomocí RP-HPLC, elektrorozprašovací hmotnostní spektrometrie a SDS-PAGE. Kvantifikace proteinu se provede podle složení aminokyselin, RP-



HPLC a pomocí Bradfodova stanovení proteinů. V některých případech lze provést mapování tryptického peptidu spolu s elektrorozprašovací hmotnostní spektrometrií, aby se potvrdila identita proteinu.

Methylcelulozový test

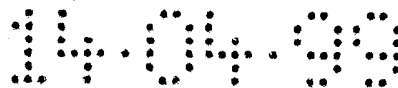
Tento test odráží schopnost kolonie stimulujících faktorů stimulovat normální buňky kostní dřeně, aby produkovaly různé typy krvetvorných kolonií in vitro (Bradley aj., 1966, *Aust. Exp. Biol. Sci.* 44: 287-300 (1966), Pluznik aj., *J. Cell Comp. Physio.* 66: 319-324 (1965)).

Metody

Asi 30 ml odsáté čerstvé normální zdravé kostní dřeně se získalo od jednotlivců po informovaném souhlasu. Za sterilních podmínek se vzorky zředily 1:5 roztokem 1X PBS (číslo 14040.059 Life Technologies, Gaithersburg, MD.) v 50 ml konické zkumavce (číslo 25339-50 Corning, Corning, MD). Pod zředěný vzorek se rozprostřel ficoll (Histopaque 1077 Sigma H-8889) a odstředovalo se při 300 x g po 30 minut. Pás mononukleárních buněk se odstranil a promyl se dvakrát 1X PBS a jednou 1% BSA PBS (CellPro CO, Bothell, WA). Mononukleární buňky se spočítaly a CD34 α buňky se vybraly pomocí kolony soupravy Cephate LC (DC34) (CellPro CO, Bothell, WA). Tato frakcionace se provádí, dokud všechny kmenové a rodičovské buňky kostní dřeně nevykazují CD34 povrchový antigen.

Kultury se nasadí v trojnásobném počtu s konečným objemem 1.0 ml v 35*10 mm Petriho miskách (Nunc číslo 174926). Medium kultury se získá od Terry Fox Labs. (HCC 4230 medium, Terry Fox Labs. Vancouver, B. C. Kanada) a k medium kultury se přidá erythropoietin (Amgen, Thousand Oaks, CA.). 3000-10000 CD34 α buněk se přidá na misku. Přidají se proteiny agonistů receptoru EPO, buď v kondiciovaném mediu z transfektovaných savčích buněk nebo čištěné z kondiciovaného media z transfektovaných savčích buněk nebo z *E.coli*, aby se dosáhla konečná koncentrace mezi 0,001 nmol do 10 nmol. Kultury se znovu suspendují pomocí 3 ml injekční stříkačky a 1,0 ml se dá na misku. Kontrolní kultury (základní odpověď) nedostanou žádné kolonie stimulující faktory. Positivní kontrolní kultury dostanou kondiciovaná media (PHA stimulované lidské buňky (Terry Fox Labs. H2400)). Kultury se inkubují při 37 °C ve zvlhčeném vzduchu s 5 % CO₂.

Krvetvorné kolonie, které jsou definovány jako větší než 50 buněk, se spočítají v den vrcholné odpovědi (dny 10-11) pomocí mikroskopu Nikon s invertovanou fází a kombinací objektivu 40x. Skupiny buněk obsahující méně než 50 buněk, se označují jako shluky.



Alternativně lze kolonie identifikovat rozprostřením kolonií na sklíčku a barvením, nebo je lze sebrat, znovu suspendovat a rozprostřít na sklíčku s cytopsinem pro barvení.

Testy s lidským krvetvorným růstovým faktorem z pupeční šňůry.

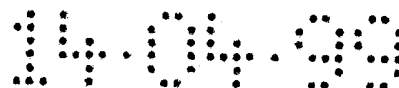
Buňky kostní dřeně se tradičně používají pro testy aktivity in vitro stimulujícího faktoru krvetvorných kolonií (CSF). Avšak lidská kostní dřeň není vždy dostupná a mezi dárci existuje značná variabilita. Krev z pupeční šňůry je srovnatelná s kostní dření jako zdroj krvetvorných kmenových buněk a rodičovských buněk (Broxmeyer aj., *PNAS* 89: 3252-3258 (1992), Mayani aj., *Blood* 81: 3252-3258 (1993)). Na rozdíl od kostní dřeně krev z pupeční šňůry je snáze dostupná na pravidelné základně. Existuje rovněž možnost snížit variabilitu testů spojením buněk čerstvě získaných od více dárců, aby se vytvořila banka buněk skladovaných pro tyto účely za mrazu. Modifikací podmínek kultivace a nebo analýzou specifických značkových linií, by mělo být možné testovat specificky aktivitu kolonií tvořit impulsy (CFU-E).

Metody

Z krve pupeční šňůry se izolují mononukleární buňky (MNC) během 24 hodin po odebrání pomocí gradientu se standardní hustotou (1.077 g/ml Histopaque). MNC z krve pupeční šňůry se dále obohatí kmenovými a rodičovskými buňkami řadou postupů, včetně imunomagnetické selekce CD34- a CD34 α buněk, rýžováním SBA- a CD34 α frakcí pomocí pokrytých baněk od Applied Immune Science (Santa Clara, CA) a selekcí CD34 α pomocí avidinové kolony CellPro (Bothell, WA). Jak čerstvě izolované, tak skladované za mrazu obohacené frakce CD34 α buněk se použijí pro testy. Zdvojené kultury pro každé sériové zředění vzorku (koncentrace jsou v rozmezí od 1 pmol do 1204 pmol) se připraví s 1×10^4 buněk v 1 ml media obsahujícím 0.9% methylcelulozy bez dalších růstových faktorů (Methocult H4230 od Stem Cell Technologies, Vancouver, BC.). Po 7-9 denní kultivaci se spočítají kolonie obsahující víc než 30 buněk.

Transfektované buněčné linie

Buněčné linie, jako BHK nebo myši pro B buněčná linie Baf/3, se mohou transfektovat s receptorem stimulujícího faktoru kolonií, jako je receptor lidského EPO, který linie nemají. Tyto transfektované buněčné linie se mohou použít stanovení proliferační aktivity anebo vázání receptoru.



Příklad 1

Geny kódující sekvenci permutovaných EPO ligandů se mohou konstruovat kterýmkoliv zde popsaným způsobem nebo jinou rekombinantní metodou známou odborníkům. Pro účely tohoto příkladu je místo permutace mezi zbytky EPO 131(Arg) a 132(Thr). To je místo, které je nejnáchylnější proteolytickému štěpení, a tím ukazuje vystavený povrch s relativně vysokým stupněm ohebnosti.

V tomto příkladu se vytvoří nový N-konec a C-konec bez spojovníku spojujícího původní konce. To se udělá, jak se popisuje v metodě II, ve 2 krocích PCR a spojením tupých konců.

V prvním kroku se s použitím vektoru, který obsahuje sekvenci DNA SEQ ID NO: 120 jako vzor a priméry "nový start" a "tupý start"), vytvoří fragment DNA, který kóduje nový C-terminál. Tento fragment je označen "start fragmentu". Sekvence podtržená v novém startovacím priméru je restriční místo NcoI.

Nový startovací primér = gcgcgcCCATGGACAATCACTGCTGAC SEQ ID NO: 131.

Tupý startovací primér = TCTGTCCCCTGTCCT SEQ ID NO: 132. V druhém kroku se s použitím vektoru, který obsahuje sekvenci DNA SEQ ID NO: 120 jako vzor a priméry "nový stop" a "tupý stop"), vytvoří fragment DNA, který kóduje nový C-terminál. Tento fragment je označen "stop fragmentu". Sekvence podtržená v novém startovacím priméru je restriční místo HindIII.

Nový stop primér = gcgcgcAAGCTTATTATCGGAGTGGAGCAGAGGCCGCATC SEQ ID NO: 133.

Tupý koncový primér = GCCCCACCACGCCTCATCTGT SEQ ID NO: 134.

V spojovacím kroku se oba fragmenty vytvořené ve dvou PCR reakcích se spojí, stráví se s NcoI a HindIII a klonují se do vektoru exprese. Klony se prohlédnou restriční analýzou a DNA se sekvenuje, aby se potvrdila správnost sekvence. Mohou se navrhnout priméry, aby se vytvořila restriční místa jiná než NcoI a HindIII a aby se klonovala do jiných vektorů exprese.

Příklad 2

Sekvence permutovaných agonistů EPO receptoru podle vynálezu lze testovat na bioaktivitu zde popsanými způsoby nebo jinými metodami známými odborníkům.

Další techniky pro konstrukci variantních genů, expresi rekombinantního proteinu, čištění proteinu, charakterizaci proteinu, stanovení biologické aktivity lze nalézt v WO 94/12639 a WO 94/12638, fúzní proteiny, které se uvádějí v WO 95/21197 a 95/21254, G-CSF agonisty



receptoru, které se popisují v WO 97/12977, c-mpl agonisty receptoru, které se popisují v WO 97/12978, IL-3 agonisty receptoru, které se popisují v WO 97/12979 a multifunkční agonisty receptoru, které se popisují v WO 97/12985, mohou podávat spolu s polypeptidy tohoto vynálezu. Jak se zde používá, "IL-3 varianty" se týká variantů IL-3, které se uvádějí v WO 94/12639, WO 94/12638, WO 95/21197, WO 95/20977 a 95/21254, které jsou zahrnuty do popisu tímto odkazem.

Všechny reference, patenty nebo přihlášky zde citované jsou sem zařazeny odkazem ve své úplnosti, jako by zde byly napsány.

Různé jiné příklady budou zřejmé odborníkovi po přečtení tohoto popisu bez toho, že by se odchýlil od ducha a rozsahu vynálezu. Zamýšlí se, aby všechny takové jiné příklady byly zahrnuty rozsahu připojených nároků.

D) Topologie: lineární

14.04.99

ii) Typ molekuly: žádný

xi) Popis řetězce : SEQ ID NO: 2

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

Popis sekvence SEQ ID NO : 3

A) Délka: 170 aminokyselin

B) Typ: aminokyselina

C) Řetězec: jednoduchý

D) Topologie: lineární

ii) Typ molekuly: žádný

xi) Popis řetězce : SEQ ID NO: 3

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

Pro	Asp	Ala	Ala	Ser	Ala	Ala	Pro	Leu	Arg	Thr	Ile	Thr	Ala	Asp	Thr
		100						105					110		
Phe	Arg	Lys	Leu	Phe	Arg	Val	Tyr	Ser	Asn	Phe	Leu	Arg	Gly	Lys	Leu
		115					120					125			
Lys	Leu	Tyr	Thr	Gly	Glu	Ala	Cys	Arg	Thr	Gly	Asp	Arg	Gly	Gly	Gly
	130					135					140				
Ser	Ala	Pro	Pro	Arg	Leu	Ile	Cys	Asp	Ser	Arg	Val	Leu	Glu	Arg	Tyr
145					150					155					160
Leu	Leu	Glu	Ala	Lys	Glu	Ala	Glu	Asn	Ile						
		165				170									

Popis sekvence SEQ ID NO : 4

A) Délka: 170 aminokyselin

B) Typ: aminokyselina

C) Řetězec: jednoduchý

D) Topologie: lineární

ii) Typ molekuly: žádný

xi) Popis řetězce : SEQ ID NO: 4

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

14.04.99

Popis sekvence SEQ ID NO : 5

A) Délka: 170 aminokyselin

B) Typ: aminokyselina

C) Řetězec: jednoduchý

D) Topologie: lineární

ii) Typ molekuly: žádný

xi) Popis řetězce : SEQ ID NO: 5

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

Popis sekvence SEQ ID NO : 6

A) Délka: 170 aminokyselin

B) Typ: aminokyselina

C) Řetězec: jednoduchý

D) Topologie: lineární

ii) Typ molekuly: žádný

xi) Popis řetězce : SEQ ID NO: 6

Cys	Ala	Glu	His	Cys	Ser	Leu	Asn	Glu	Asn	Ile	Thr	Val	Pro	Asp	Thr	
1				5					10					15		

14.04.99

Lys	Val	Asn	Phe	Tyr	Ala	Trp	Lys	Arg	Met	Glu	Val	Gly	Gln	Gln	Ala
		20						25					30		
Val	Glu	Val	Trp	Gln	Gly	Leu	Ala	Leu	Leu	Ser	Glu	Ala	Val	Leu	Arg
	35					40					45				
Gly	Gln	Ala	Leu	Leu	Val	Asn	Ser	Ser	Gln	Pro	Trp	Glu	Pro	Leu	Gln
	50					55				60					
Leu	His	Val	Asp	Lys	Ala	Val	Ser	Gly	Leu	Arg	Ser	Leu	Thr	Thr	Leu
65					70					75					80
Leu	Arg	Ala	Leu	Gly	Ala	Gln	Lys	Glu	Ala	Ile	Ser	Pro	Pro	Asp	Ala
			85						90					95	
Ala	Ser	Ala	Ala	Pro	Leu	Arg	Thr	Ile	Thr	Ala	Asp	Thr	Phe	Arg	Lys
			100						105				110		
Leu	Phe	Arg	Val	Tyr	Ser	Asn	Phe	Leu	Arg	Gly	Lys	Leu	Lys	Leu	Tyr
		115					120					125			
Thr	Gly	Glu	Ala	Cys	Arg	Thr	Gly	Asp	Arg	Gly	Gly	Gly	Ser	Ala	Pro
	130					135					140				
Pro	Arg	Leu	Ile	Cys	Asp	Ser	Arg	Val	Leu	Glu	Arg	Tyr	Leu	Leu	Glu
145					150					155					160
Ala	Lys	Glu	Ala	Glu	Asn	Ile	Thr	Thr	Gly						
			165						170						

Popis sekvence SEQ ID NO : 7

A) Délka: 170 aminokyselin

B) Typ: aminokyselina

C) Řetězec: jednoduchý

D) Topologie: lineární

ii) Typ molekuly: žádný

xi) Popis řetězce : SEQ ID NO: 7

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

155 160

xi) Popis řetězce : SEQ ID NO: 8

xi) Popis řetězce : SEQ ID NO: 9

His Cys Ser Leu Asn Glu Asn Ile Thr Val Pro Asp Thr Lys Val Asn
1 5 10 15



Phe	Tyr	Ala	Trp	Lys	Arg	Met	Glu	Val	Gly	Gln	Gln	Ala	Val	Glu	Val
			20					25					30		
Trp	Gln	Gly	Leu	Ala	Leu	Leu	Ser	Glu	Ala	Val	Leu	Arg	Gly	Gln	Ala
		35					40					45			
Leu	Leu	Val	Asn	Ser	Ser	Gln	Pro	Trp	Glu	Pro	Leu	Gln	Leu	His	Val
		50				55					60				
Asp	Lys	Ala	Val	Ser	Gly	Leu	Arg	Ser	Leu	Thr	Thr	Leu	Leu	Arg	Ala
65					70					75					80
Leu	Gly	Ala	Gln	Lys	Glu	Ala	Ile	Ser	Pro	Pro	Asp	Ala	Ala	Ser	Ala
				85					90					95	
Ala	Pro	Leu	Arg	Thr	Ile	Thr	Ala	Asp	Thr	Phe	Arg	Lys	Leu	Phe	Arg
			100					105					110		
Val	Tyr	Ser	Asn	Phe	Leu	Arg	Gly	Lys	Leu	Lys	Leu	Tyr	Thr	Gly	Glu
		115					120					125			
Ala	Cys	Arg	Thr	Gly	Asp	Arg	Gly	Gly	Gly	Ser	Ala	Pro	Pro	Arg	Leu
		130				135					140				
Ile	Cys	Asp	Ser	Arg	Val	Leu	Glu	Arg	Tyr	Leu	Leu	Glu	Ala	Lys	Glu
145					150					155					160
Ala	Glu	Asn	Ile	Thr	Thr	Gly	Cys	Ala	Glu						
			165						170						

Popis sekvence SEQ ID NO : 10

A) Délka: 170 aminokyselin

B) Typ: aminokyselina

C) Řetězec: jednoduchý

D) Topologie: lineární

ii) Typ molekuly: žádný

xi) Popis řetězce : SEQ ID NO: 10

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

14.04.99

Cys	Asp	Ser	Arg	Val	Leu	Glu	Arg	Tyr	Leu	Leu	Glu	Ala	Lys	Glu	Ala
145					150					155					160
Glu	Asn	Ile	Thr	Thr	Gly	Cys	Ala	Glu	His						
				165					170						

Popis sekvence SEQ ID NO : 11

A) Délka: 170 aminokyselin

B) Typ: aminokyselina

C) Řetězec: jednoduchý

D) Topologie: lineární

ii) Typ molekuly: žádný

xi) Popis řetězce : SEQ ID NO: 11

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

Popis sekvence SEQ ID NO : 12

A) Délka: 170 aminokyselin

B) Typ: aminokyselina

C) Řetězec: jednoduchý

D) Topologie: lineární

ii) Typ molekuly: žádný

xi) Popis řetězce : SEQ ID NO: 12

14.04.99

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

Popis sekvence SEQ ID NO : 13

A) Délka: 170 aminokyselin

B) Typ: aminokyselina

C) Řetězec: jednoduchý

D) Topologie: lineární

ii) Typ molekuly: žádný

xi) Popis řetězce : SEQ ID NO: 13

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

14.04.99

130		135															
Arg	Val	Leu	Glu	Arg	Tyr	Leu	Leu	Glu	Ala	Lys	Glu	Ala	Glu	Asn	Ile		
145					150					155					160		
Thr	Thr	Gly	Cys	Ala	Glu	His	Cys	Ser	Leu								
				165					170								

Popis sekvence SEQ ID NO : 14

A) Délka: 170 aminokyselin

B) Typ: aminokyselina

C) Řetězec: jednoduchý

D) Topologie: lineární

ii) Typ molekuly: žádný

xi) Popis řetězce : SEQ ID NO: 14

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

Popis sekvence SEQ ID NO : 15

A) Délka: 170 aminokyselin

B) Typ: aminokyselina

C) Řetězec: jednoduchý

D) Topologie: lineární

14.04.99

ii) Typ molekuly: žádný

xi) Popis řetězce : SEQ ID NO: 15

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

Popis sekvence SEQ ID NO : 16

A) Délka: 170 aminokyselin

B) Typ: aminokyselina

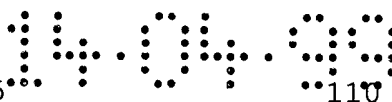
C) Řetězec: jednoduchý

D) Topologie: lineární

ii) Typ molekuly: žádný

xi) Popis řetězce : SEQ ID NO: 16

Ile	Thr	Val	Pro	Asp	Thr	Lys	Val	Asn	Phe	Tyr	Ala	Trp	Lys	Arg	Met
1				5					10					15	
Glu	Val	Gly	Gln	Gln	Ala	Val	Glu	Val	Trp	Gln	Gly	Leu	Ala	Leu	Leu
			20					25					30		
Ser	Glu	Ala	Val	Leu	Arg	Gly	Gln	Ala	Leu	Leu	Val	Asn	Ser	Ser	Gln
		35				40						45			
Pro	Trp	Glu	Pro	Leu	Gln	Leu	His	Val	Asp	Lys	Ala	Val	Ser	Gly	Leu
	50					55				60					
Arg	Ser	Leu	Thr	Thr	Leu	Leu	Arg	Ala	Leu	Gly	Ala	Gln	Lys	Glu	Ala
65				70						75				80	
Ile	Ser	Pro	Pro	Asp	Ala	Ala	Ser	Ala	Ala	Pro	Leu	Arg	Thr	Ile	Thr
				85					90					95	
Ala	Asp	Thr	Phe	Arg	Lys	Leu	Phe	Arg	Val	Tyr	Ser	Asn	Phe	Leu	Arg



			100						105								110
Gly	Lys	Leu	Lys	Leu	Tyr	Thr	Gly	Glu	Ala	Cys	Arg	Thr	Gly	Asp	Arg		
		115					120					125					
Gly	Gly	Gly	Ser	Ala	Pro	Pro	Arg	Leu	Ile	Cys	Asp	Ser	Arg	Val	Leu		
	130					135					140						
Glu	Arg	Tyr	Leu	Leu	Glu	Ala	Lys	Glu	Ala	Glu	Asn	Ile	Thr	Thr	Gly		
145					150					155					160		
Cys	Ala	Glu	His	Cys	Ser	Leu	Asn	Glu	Asn								
			165						170								

Popis sekvence SEQ ID NO : 17

A) Délka: 170 aminokyselin

B) Typ: aminokyselina

C) Řetězec: jednoduchý

D) Topologie: lineární

ii) Typ molekuly: žádný

xi) Popis řetězce : SEQ ID NO: 17

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

Popis sekvence SEQ ID NO : 18

A) Délka: 170 aminokyselin

B) Typ: aminokyselina

14.04.99

C) Řetězec: jednoduchý

D) Topologie: lineární

ii) Typ molekuly: žádný

xi) Popis řetězce : SEQ ID NO: 18

```

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

```

Popis sekvence SEQ ID NO : 19

A) Délka: 170 aminokyselin

B) Typ: aminokyselina

C) Řetězec: jednoduchý

D) Topologie: lineární

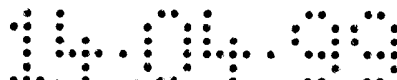
ii) Typ molekuly: žádný

xi) Popis řetězce : SEQ ID NO: 19

```

Asp Thr Lys Val Asn Phe Tyr Ala Trp Lys Arg Met Glu Val Gly Gln
 1          5          10          15
Gln Ala Val Glu Val Trp Gln Gly Leu Ala Leu Leu Ser Glu Ala Val
          20          25          30
Leu Arg Gly Gln Ala Leu Leu Val Asn Ser Ser Gln Pro Trp Glu Pro
          35          40          45
Leu Gln Leu His Val Asp Lys Ala Val Ser Gly Leu Arg Ser Leu Thr
          50          55          60
Thr Leu Leu Arg Ala Leu Gly Ala Gln Lys Glu Ala Ile Ser Pro Pro
65          70          75          80

```



Asp	Ala	Ala	Ser	Ala	Ala	Pro	Leu	Arg	Thr	Ile	Thr	Ala	Asp	Thr	Phe
			85						90					95	
Arg	Lys	Leu	Phe	Arg	Val	Tyr	Ser	Asn	Phe	Leu	Arg	Gly	Lys	Leu	Lys
		100						105					110		
Leu	Tyr	Thr	Gly	Glu	Ala	Cys	Arg	Thr	Gly	Asp	Arg	Gly	Gly	Gly	Ser
		115						120				125			
Ala	Pro	Pro	Arg	Leu	Ile	Cys	Asp	Ser	Arg	Val	Leu	Glu	Arg	Tyr	Leu
	130					135					140				
Leu	Glu	Ala	Lys	Glu	Ala	Glu	Asn	Ile	Thr	Thr	Gly	Cys	Ala	Glu	His
145					150					155					160
Cys	Ser	Leu	Asn	Glu	Asn	Ile	Thr	Val	Pro						
			165						170						

Popis sekvence SEQ ID NO : 20

A) Délka: 170 aminokyselin

B) Typ: aminokyselina

C) Řetězec: jednoduchý

D) Topologie: lineární

ii) Typ molekuly: žádný

xi) Popis řetězce : SEQ ID NO: 20

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

xi) Popis řetězce : SEQ ID NO: 21

xi) Popis řetězce : SEQ ID NO: 22

Glu Val Gly Gln Gln Ala Val Glu Val Trp Gln Gly Leu Ala Leu Leu
 1 5 10 15
 Ser Glu Ala Val Leu Arg Gly Gln Ala Leu Leu Val Asn Ser Ser Gln
 20 25 30

14.04.09

```

Pro Trp Glu Pro Leu Gln Leu His Val Asp Lys Ala Val Ser Gly Leu
      35              40              45
Arg Ser Leu Thr Thr Leu Leu Arg Ala Leu Gly Ala Gln Lys Glu Ala
      50              55              60
Ile Ser Pro Pro Asp Ala Ala Ser Ala Ala Pro Leu Arg Thr Ile Thr
65              70              75              80
Ala Asp Thr Phe Arg Lys Leu Phe Arg Val Tyr Ser Asn Phe Leu Arg
      85              90              95
Gly Lys Leu Lys Leu Tyr Thr Gly Glu Ala Cys Arg Thr Gly Asp Arg
      100              105              110
Gly Gly Gly Ser Ala Pro Pro Arg Leu Ile Cys Asp Ser Arg Val Leu
      115              120              125
Glu Arg Tyr Leu Leu Glu Ala Lys Glu Ala Glu Asn Ile Thr Thr Gly
      130              135              140
Cys Ala Glu His Cys Ser Leu Asn Glu Asn Ile Thr Val Pro Asp Thr
145              150              155              160
Lys Val Asn Phe Tyr Ala Trp Lys Arg Met
      165              170

```

Popis sekvence SEQ ID NO : 23

A) Délka: 170 aminokyselin

B) Typ: aminokyselina

C) Řetězec: jednoduchý

D) Topologie: lineární

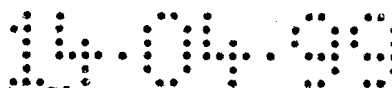
ii) Typ molekuly: žádný

xi) Popis řetězce : SEQ ID NO: 23

```

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

```



Val Asn Phe Tyr Ala Trp Lys Arg Met Glu
165 170

Popis sekvence SEQ ID NO : 24

A) Délka: 170 aminokyselin

B) Typ: aminokyselina

C) Řetězec: jednoduchý

D) Topologie: lineární

ii) Typ molekuly: žádný

xi) Popis řetězce : SEQ ID NO: 24

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

Popis sekvence SEQ ID NO : 25

A) Délka: 170 aminokyselin

B) Typ: aminokyselina

C) Řetězec: jednoduchý

D) Topologie: lineární

ii) Typ molekuly: žádný

xi) Popis řetězce : SEQ ID NO: 25

Ala	Leu	Leu	Val	Asn	Ser	Ser	Gln	Pro	Trp	Glu	Pro	Leu	Gln	Leu	His
1				5				10						15	
Val	Asp	Lys	Ala	Val	Ser	Gly	Leu	Arg	Ser	Leu	Thr	Thr	Leu	Leu	Arg

14.04.99

```

      20      25      30
Ala Leu Gly Ala Gln Lys Glu Ala Ile Ser Pro Pro Asp Ala Ala Ser
      35      40      45
Ala Ala Pro Leu Arg Thr Ile Thr Ala Asp Thr Phe Arg Lys Leu Phe
      50      55      60
Arg Val Tyr Ser Asn Phe Leu Arg Gly Lys Leu Lys Leu Tyr Thr Gly
65      70      75      80
Glu Ala Cys Arg Thr Gly Asp Arg Gly Gly Gly Ser Ala Pro Pro Arg
      85      90      95
Leu Ile Cys Asp Ser Arg Val Leu Glu Arg Tyr Leu Leu Glu Ala Lys
      100      105      110
Glu Ala Glu Asn Ile Thr Thr Gly Cys Ala Glu His Cys Ser Leu Asn
      115      120      125
: Glu Asn Ile Thr Val Pro Asp Thr Lys Val Asn Phe Tyr Ala Trp Lys
      130      135      140
: Arg Met Glu Val Gly Gln Gln Ala Val Glu Val Trp Gln Gly Leu Ala
145      150      155      160
Leu Leu Ser Glu Ala Val Leu Arg Gly Gln
      165      170

```

Popis sekvence SEQ ID NO : 26

A) Délka: 170 aminokyselin

B) Typ: aminokyselina

C) Řetězec: jednoduchý

D) Topologie: lineární

ii) Typ molekuly: žádný

xi) Popis řetězce : SEQ ID NO: 26

```

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

```

14.04.99

Leu Ser Glu Ala Val Leu Arg Gly Gln Ala
 165 170

Popis sekvence SEQ ID NO : 27

A) Délka: 170 aminokyselin

B) Typ: aminokyselina

C) Řetězec: jednoduchý

D) Topologie: lineární

ii) Typ molekuly: žádný

xi) Popis řetězce : SEQ ID NO: 27

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

Popis sekvence SEQ ID NO : 28

A) Délka: 170 aminokyselin

B) Typ: aminokyselina

C) Řetězec: jednoduchý

D) Topologie: lineární

ii) Typ molekuly: žádný

xi) Popis řetězce : SEQ ID NO: 28

Val	Asn	Ser	Ser	Gln	Pro	Trp	Glu	Pro	Leu	Gln	Leu	His	Val	Asp	Lys	
1				5					10					15		

14.04.99

Ala	Val	Ser	Gly	Leu	Arg	Ser	Leu	Thr	Thr	Leu	Leu	Arg	Ala	Leu	Gly
			20					25					30		
Ala	Gln	Lys	Glu	Ala	Ile	Ser	Pro	Pro	Asp	Ala	Ala	Ser	Ala	Ala	Pro
		35					40					45			
Leu	Arg	Thr	Ile	Thr	Ala	Asp	Thr	Phe	Arg	Lys	Leu	Phe	Arg	Val	Tyr
	50					55					60				
Ser	Asn	Phe	Leu	Arg	Gly	Lys	Leu	Lys	Leu	Tyr	Thr	Gly	Glu	Ala	Cys
65					70					75					80
Arg	Thr	Gly	Asp	Arg	Gly	Gly	Gly	Ser	Ala	Pro	Pro	Arg	Leu	Ile	Cys
				85					90					95	
Asp	Ser	Arg	Val	Leu	Glu	Arg	Tyr	Leu	Leu	Glu	Ala	Lys	Glu	Ala	Glu
			100					105					110		
Asn	Ile	Thr	Thr	Gly	Cys	Ala	Glu	His	Cys	Ser	Leu	Asn	Glu	Asn	Ile
		115					120					125			
Thr	Val	Pro	Asp	Thr	Lys	Val	Asn	Phe	Tyr	Ala	Trp	Lys	Arg	Met	Glu
	130					135					140				
Val	Gly	Gln	Gln	Ala	Val	Glu	Val	Trp	Gln	Gly	Leu	Ala	Leu	Leu	Ser
145					150					155					160
Glu	Ala	Val	Leu	Arg	Gly	Gln	Ala	Leu	Leu						
				165					170						

Popis sekvence SEQ ID NO : 29

A) Délka: 170 aminokyselin

B) Typ: aminokyselina

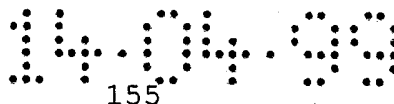
C) Řetězec: jednoduchý

D) Topologie: lineární

ii) Typ molekuly: žádný

xi) Popis řetězce : SEQ ID NO: 29

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



145 150 155 160
Ala Val Leu Arg Gly Gln Ala Leu Leu Val
165 170

Popis sekvence SEQ ID NO : 30

A) Délka: 170 aminokyselin

B) Typ: aminokyselina

C) Řetězec: jednoduchý

D) Topologie: lineární

ii) Typ molekuly: žádný

xi) Popis řetězce : SEQ ID NO: 30

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

Popis sekvence SEQ ID NO : 31

A) Délka: 170 aminokyselin

B) Typ: aminokyselina

C) Řetězec: jednoduchý

D) Topologie: lineární

ii) Typ molekuly: žádný

xi) Popis řetězce : SEQ ID NO: 31

Ser	Gln	Pro	Trp	Glu	Pro	Leu	Gln	Leu	His	Val	Asp	Lys	Ala	Val	Ser
1				5					10					15	

14.04.99

Gly	Leu	Arg	Ser	Leu	Thr	Thr	Leu	Leu	Arg	Ala	Leu	Gly	Ala	Gln	Lys
			20					25					30		
Glu	Ala	Ile	Ser	Pro	Pro	Asp	Ala	Ala	Ser	Ala	Ala	Pro	Leu	Arg	Thr
		35					40					45			
Ile	Thr	Ala	Asp	Thr	Phe	Arg	Lys	Leu	Phe	Arg	Val	Tyr	Ser	Asn	Phe
	50					55					60				
Leu	Arg	Gly	Lys	Leu	Lys	Leu	Tyr	Thr	Gly	Glu	Ala	Cys	Arg	Thr	Gly
65					70					75					80
Asp	Arg	Gly	Gly	Gly	Ser	Ala	Pro	Pro	Arg	Leu	Ile	Cys	Asp	Ser	Arg
				85					90					95	
Val	Leu	Glu	Arg	Tyr	Leu	Leu	Glu	Ala	Lys	Glu	Ala	Glu	Asn	Ile	Thr
			100					105					110		
Thr	Gly	Cys	Ala	Glu	His	Cys	Ser	Leu	Asn	Glu	Asn	Ile	Thr	Val	Pro
		115					120					125			
Asp	Thr	Lys	Val	Asn	Phe	Tyr	Ala	Trp	Lys	Arg	Met	Glu	Val	Gly	Gln
	130					135					140				
Gln	Ala	Val	Glu	Val	Trp	Gln	Gly	Leu	Ala	Leu	Leu	Ser	Glu	Ala	Val
145					150					155					160
Leu	Arg	Gly	Gln	Ala	Leu	Leu	Val	Asn	Ser						
				165					170						

Popis sekvence SEQ ID NO : 32

A) Délka: 170 aminokyselin

B) Typ: aminokyselina

C) Řetězec: jednoduchý

D) Topologie: lineární

ii) Typ molekuly: žádný

xi) Popis řetězce : SEQ ID NO: 32

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



Ala Val Glu Val Trp Gln Gly Leu Ala Leu Leu Ser Glu Ala Val Leu
 145 150 155 160
 Arg Gly Gln Ala Leu Val Asn Ser Ser
 165 170

Popis sekvence SEQ ID NO : 33

A) Délka: 170 aminokyselin

B) Typ: aminokyselina

C) Řetězec: jednoduchý

D) Topologie: lineární

ii) Typ molekuly: žádný

xi) Popis řetězce : SEQ ID NO: 33

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

Popis sekvence SEQ ID NO : 34

A) Délka: 170 aminokyselin

B) Typ: aminokyselina

C) Řetězec: jednoduchý

D) Topologie: lineární

ii) Typ molekuly: žádný

xi) Popis řetězce : SEQ ID NO: 34

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

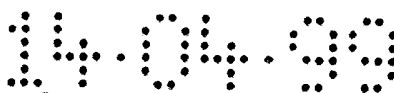
Glu 1	Pro	Leu	Gln	Leu 5	His	Val	Asp	Lys	Ala 10	Val	Ser	Gly	Leu	Arg 15	Ser
Leu	Thr	Thr	Leu 20	Leu	Arg	Ala	Leu	Gly 25	Ala	Gln	Lys	Glu	Ala 30	Ile	Ser
Pro	Pro	Asp	Ala	Ala	Ser	Ala	Ala	Pro	Leu	Arg	Thr	Ile	Thr	Ala	Asp
Thr	Phe	Arg	Lys	Leu	Phe	Arg	Val	Tyr	Ser	Asn	Phe	Leu	Arg	Gly	Lys
Leu 65	Lys	Leu	Tyr	Thr	Gly 70	Glu	Ala	Cys	Arg	Thr	Gly	Asp	Arg	Gly	Gly 80
Gly	Ser	Ala	Pro	Pro	Arg	Leu	Ile	Cys	Asp 90	Ser	Arg	Val	Leu	Glu 95	Arg
Tyr	Leu	Leu	Glu 100	Ala	Lys	Glu	Ala	Glu 105	Asn	Ile	Thr	Thr	Gly	Cys	Ala
Glu	His	Cys	Ser	Leu	Asn	Glu	Asn	Ile	Thr	Val	Pro	Asp	Thr	Lys	Val
Asn	Phe	Tyr	Ala	Trp	Lys	Arg	Met	Glu	Val	Gly	Gln	Gln	Ala	Val	Glu
Val	Trp	Gln	Gly	Leu	Ala	Leu	Leu	Ser	Glu	Ala	Val	Leu	Arg	Gly	Gln

160

xi) Popis řetězce : SEQ ID NO: 36

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

xi) Popis řetězce : SEQ ID NO: 37



```

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

```

Popis sekvence SEQ ID NO : 38

A) Délka: 170 aminokyselin

B) Typ: aminokyselina

C) Řetězec: jednoduchý

D) Topologie: lineární

ii) Typ molekuly: žádný

xi) Popis řetězce : SEQ ID NO: 38

```

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

```



Leu Leu Ser Glu Ala Val Leu Arg Gly Gln Ala Leu Leu Val Asn Ser
 130 135 140
 Ser Gln Pro Trp Glu Pro Leu Gln Leu His Val Asp Lys Ala Val Ser
 145 150 155 160
 Gly Leu Arg Ser Leu Thr Thr Leu Leu Arg
 165 170

Popis sekvence SEQ ID NO : 39

A) Délka: 170 aminokyselin

B) Typ: aminokyselina

C) Řetězec: jednoduchý

D) Topologie: lineární

ii) Typ molekuly: žádný

xi) Popis řetězce : SEQ ID NO: 39

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

Popis sekvence SEQ ID NO : 40

A) Délka: 170 aminokyselin

B) Typ: aminokyselina

C) Řetězec: jednoduchý

D) Topologie: lineární

14.04.99

ii) Typ molekuly: žádný

xi) Popis řetězce : SEQ ID NO: 40

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

Popis sekvence SEQ ID NO : 41

A) Délka: 170 aminokyselin

B) Typ: aminokyselina

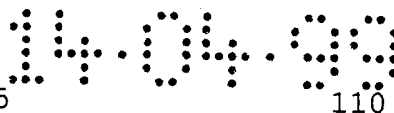
C) Řetězec: jednoduchý

D) Topologie: lineární

ii) Typ molekuly: žádný

xi) Popis řetězce : SEQ ID NO: 41

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



			100					105					110				
Val	Gly	Gln	Gln	Ala	Val	Glu	Val	Trp	Gln	Gly	Leu	Ala	Leu	Leu	Ser		
		115						120				125					
Glu	Ala	Val	Leu	Arg	Gly	Gln	Ala	Leu	Leu	Val	Asn	Ser	Ser	Gln	Pro		
		130				135					140						
Trp	Glu	Pro	Leu	Gln	Leu	His	Val	Asp	Lys	Ala	Val	Ser	Gly	Leu	Arg		
145					150					155					160		
Ser	Leu	Thr	Thr	Leu	Leu	Arg	Ala	Leu	Gly								
				165					170								

Popis sekvence SEQ ID NO : 42

A) Délka: 170 aminokyselin

B) Typ: aminokyselina

C) Řetězec: jednoduchý

D) Topologie: lineární

ii) Typ molekuly: žádný

xi) Popis řetězce : SEQ ID NO: 42

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

Popis sekvence SEQ ID NO : 43

A) Délka: 170 aminokyselin

B) Typ: aminokyselina

C) Řetězec: jednoduchý

D) Topologie: lineární

14.04.99

ii) Typ molekuly: žádný

xi) Popis řetězce : SEQ ID NO: 43

```

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

```

Popis sekvence SEQ ID NO : 44

A) Délka: 170 aminokyselin

B) Typ: aminokyselina

C) Řetězec: jednoduchý

D) Topologie: lineární

ii) Typ molekuly: žádný

xi) Popis řetězce : SEQ ID NO: 44

```

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

```



			100					105						110					
Gln	Ala	Val	Glu	Val	Trp	Gln	Gly	Leu	Ala	Leu	Leu	Ser	Glu	Ala	Val				
		115					120					125							
Leu	Arg	Gly	Gln	Ala	Leu	Leu	Val	Asn	Ser	Ser	Gln	Pro	Trp	Glu	Pro				
	130					135					140								
Leu	Gln	Leu	His	Val	Asp	Lys	Ala	Val	Ser	Gly	Leu	Arg	Ser	Leu	Thr				
145					150					155					160				
Thr	Leu	Leu	Arg	Ala	Leu	Gly	Ala	Gln	Lys										
			165						170										

Popis sekvence SEQ ID NO : 45

A) Délka: 170 aminokyselin

B) Typ: aminokyselina

C) Řetězec: jednoduchý

D) Topologie: lineární

ii) Typ molekuly: žádný

xi) Popis řetězce : SEQ ID NO: 45

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

Popis sekvence SEQ ID NO : 46

A) Délka: 170 aminokyselin

B) Typ: aminokyselina

14.04.99

C) Řetězec: jednoduchý

D) Topologie: lineární

ii) Typ molekuly: žádný

xi) Popis řetězce : SEQ ID NO: 46

```

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

```

Popis sekvence SEQ ID NO : 47

A) Délka: 170 aminokyselin

B) Typ: aminokyselina

C) Řetězec: jednoduchý

D) Topologie: lineární

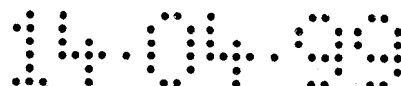
ii) Typ molekuly: žádný

xi) Popis řetězce : SEQ ID NO: 47

```

Ser Pro Pro Asp Ala Ala Ser Ala Ala Pro Leu Arg Thr Ile Thr Ala
 1           5           10           15
Asp Thr Phe Arg Lys Leu Phe Arg Val Tyr Ser Asn Phe Leu Arg Gly
          20           25           30
Lys Leu Lys Leu Tyr Thr Gly Glu Ala Cys Arg Thr Gly Asp Arg Gly
          35           40           45
Gly Gly Ser Ala Pro Pro Arg Leu Ile Cys Asp Ser Arg Val Leu Glu
          50           55           60
Arg Tyr Leu Leu Glu Ala Lys Glu Ala Glu Asn Ile Thr Thr Gly Cys
65           70           75           80

```



Ala	Glu	His	Cys	Ser	Leu	Asn	Glu	Asn	Ile	Thr	Val	Pro	Asp	Thr	Lys
				85					90					95	
Val	Asn	Phe	Tyr	Ala	Trp	Lys	Arg	Met	Glu	Val	Gly	Gln	Gln	Ala	Val
			100					105					110		
Glu	Val	Trp	Gln	Gly	Leu	Ala	Leu	Leu	Ser	Glu	Ala	Val	Leu	Arg	Gly
		115					120					125			
Gln	Ala	Leu	Leu	Val	Asn	Ser	Ser	Gln	Pro	Trp	Glu	Pro	Leu	Gln	Leu
	130				135						140				
His	Val	Asp	Lys	Ala	Val	Ser	Gly	Leu	Arg	Ser	Leu	Thr	Thr	Leu	Leu
145					150					155					160
Arg	Ala	Leu	Gly	Ala	Gln	Lys	Glu	Ala	Ile						
				165					170						

Popis sekvence SEQ ID NO : 48

A) Délka: 170 aminokyselin

B) Typ: aminokyselina

C) Řetězec: jednoduchý

D) Topologie: lineární

ii) Typ molekuly: žádný

xi) Popis řetězce : SEQ ID NO: 48

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

14.04.99

Popis sekvence SEQ ID NO : 49

A) Délka: 170 aminokyselin

B) Typ: aminokyselina

C) Řetězec: jednoduchý

D) Topologie: lineární

ii) Typ molekuly: žádný

xi) Popis řetězce : SEQ ID NO: 49

```

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

```

Popis sekvence SEQ ID NO : 50

A) Délka: 170 aminokyselin

B) Typ: aminokyselina

C) Řetězec: jednoduchý

D) Topologie: lineární

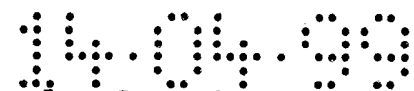
ii) Typ molekuly: žádný

xi) Popis řetězce : SEQ ID NO: 50

```

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

```



Leu	Tyr	Thr	Gly	Glu	Ala	Cys	Arg	Thr	Gly	Asp	Arg	Gly	Gly	Ser
	35						40					45		
Ala	Pro	Pro	Arg	Leu	Ile	Cys	Asp	Ser	Arg	Val	Leu	Glu	Arg	Tyr
	50					55					60			Leu
Leu	Glu	Ala	Lys	Glu	Ala	Glu	Asn	Ile	Thr	Thr	Gly	Cys	Ala	Glu
65					70					75				His
Cys	Ser	Leu	Asn	Glu	Asn	Ile	Thr	Val	Pro	Asp	Thr	Lys	Val	Asn
			85						90					95
Tyr	Ala	Trp	Lys	Arg	Met	Glu	Val	Gly	Gln	Gln	Ala	Val	Glu	Val
			100					105					110	Trp
Gln	Gly	Leu	Ala	Leu	Leu	Ser	Glu	Ala	Val	Leu	Arg	Gly	Gln	Ala
	115					120						125		Leu
Leu	Val	Asn	Ser	Ser	Gln	Pro	Trp	Glu	Pro	Leu	Gln	Leu	His	Val
	130					135					140			Asp
Lys	Ala	Val	Ser	Gly	Leu	Arg	Ser	Leu	Thr	Thr	Leu	Leu	Arg	Ala
145					150					155				Leu
Gly	Ala	Gln	Lys	Glu	Ala	Ile	Ser	Pro	Pro					160
				165					170					

Popis sekvence SEQ ID NO : 51

A) Délka: 170 aminokyselin

B) Typ: aminokyselina

C) Řetězec: jednoduchý

D) Topologie: lineární

ii) Typ molekuly: žádný

xi) Popis řetězce : SEQ ID NO: 51

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

170

xi) Popis řetězce : SEQ ID NO: 52

Ser Ala Ala Pro Leu Arg Thr Ile Thr Ala Asp Thr Phe Arg Lys Leu
1 5 10 15



Phe	Arg	Val	Tyr	Ser	Asn	Phe	Leu	Arg	Gly	Lys	Leu	Lys	Leu	Tyr	Thr
		20						25					30		
Gly	Glu	Ala	Cys	Arg	Thr	Gly	Asp	Arg	Gly	Gly	Gly	Ser	Ala	Pro	Pro
		35					40					45			
Arg	Leu	Ile	Cys	Asp	Ser	Arg	Val	Leu	Glu	Arg	Tyr	Leu	Leu	Glu	Ala
	50					55					60				
Lys	Glu	Ala	Glu	Asn	Ile	Thr	Thr	Gly	Cys	Ala	Glu	His	Cys	Ser	Leu
65					70					75					80
Asn	Glu	Asn	Ile	Thr	Val	Pro	Asp	Thr	Lys	Val	Asn	Phe	Tyr	Ala	Trp
			85						90					95	
Lys	Arg	Met	Glu	Val	Gly	Gln	Gln	Ala	Val	Glu	Val	Trp	Gln	Gly	Leu
		100						105					110		
Ala	Leu	Leu	Ser	Glu	Ala	Val	Leu	Arg	Gly	Gln	Ala	Leu	Leu	Val	Asn
		115					120					125			
Ser	Ser	Gln	Pro	Trp	Glu	Pro	Leu	Gln	Leu	His	Val	Asp	Lys	Ala	Val
	130					135					140				
Ser	Gly	Leu	Arg	Ser	Leu	Thr	Thr	Leu	Leu	Arg	Ala	Leu	Gly	Ala	Gln
145					150					155					160
Lys	Glu	Ala	Ile	Ser	Pro	Pro	Asp	Ala	Ala						
			165						170						

Popis sekvence SEQ ID NO : 54

A) Délka: 170 aminokyselin

B) Typ: aminokyselina

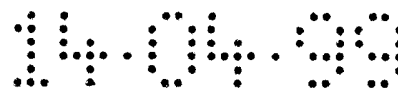
C) Řetězec: jednoduchý

D) Topologie: lineární

ii) Typ molekuly: žádný

xi) Popis řetězce : SEQ ID NO: 54

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



Gly Leu Arg Ser Leu Thr Thr Leu Leu Arg Ala Leu Gly Ala Gln Lys
 145 150 155 160
 Glu Ala Ile Ser Pro Pro Asp Ala Ala Ser
 165 170

Popis sekvence SEQ ID NO : 55

A) Délka: 170 aminokyselin

B) Typ: aminokyselina

C) Řetězec: jednoduchý

D) Topologie: lineární

ii) Typ molekuly: žádný

xi) Popis řetězce : SEQ ID NO: 55

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

Popis sekvence SEQ ID NO : 56

A) Délka: 170 aminokyselin

B) Typ: aminokyselina

C) Řetězec: jednoduchý

D) Topologie: lineární

ii) Typ molekuly: žádný

xi) Popis řetězce : SEQ ID NO: 56



```

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

```

Popis sekvence SEQ ID NO : 57

A) Délka: 171 aminokyselin

B) Typ: aminokyselina

C) Řetězec: jednoduchý

D) Topologie: lineární

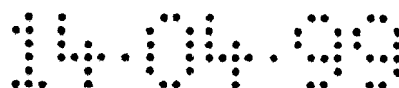
ii) Typ molekuly: žádný

xi) Popis řetězce : SEQ ID NO: 57

```

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

```



Trp Glu Pro Leu Gln Leu His Val Asp Lys Ala Val Ser Gly Leu Arg
 130 135 140
 Ser Leu Thr Thr Leu Leu Arg Ala Leu Gly Ala Gln Ala Lys Glu Ala
 145 150 155 160
 Ile Ser Pro Pro Asp Ala Ala Ser Ala Ala Pro
 165 170

Popis sekvence SEQ ID NO : 58

A) Délka: 170 aminokyselin

B) Typ: aminokyselina

C) Řetězec: jednoduchý

D) Topologie: lineární

ii) Typ molekuly: žádný

xi) Popis řetězce : SEQ ID NO: 58

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

Popis sekvence SEQ ID NO : 59

A) Délka: 170 aminokyselin

B) Typ: aminokyselina

C) Řetězec: jednoduchý

D) Topologie: lineární

14.04.99

ii) Typ molekuly: žádný

xi) Popis řetězce : SEQ ID NO: 59

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

Popis sekvence SEQ ID NO : 60

A) Délka: 512 párů bází

B) Typ: nukleová kyselina

C) Řetězec: jednoduchý

D) Topologie: lineární

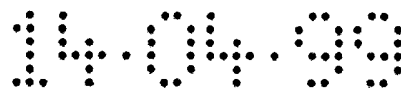
xi) Popis řetězce : SEQ ID NO: 60

AATATCACGA	CGGGCTGTGC	TGAACACTGC	AGCTTGAATG	AGAATATCAC	TGTCCCAGAC	60
ACCAAAGTTA	ATTTCTATGC	CTGGAAGAGG	ATGGAGGTCG	GGCAGCAGGC	CGTAGAAGTC	120
TGGCAGGGCC	TGGCCCTGCT	GTCGGAAGCT	GTCCTGCGGG	GCCAGGCCCT	GTTGGTCAAC	180
TCTTCCCAGC	CGTGGGAGCC	CCTGCAGCTG	CATGTGGATA	AAGCCGTCAG	TGGCCTTCGC	240
AGCCTCACCA	CTCTGCTTCG	GGCTCTGGGA	GCCCAGAAGG	AAGCCATCTC	CCCTCCAGAT	300
GCGGCCTCAG	CTGCTCCACT	CCGAACAATC	ACTGCTGACA	CTTTCCGCAA	ACTCTTCCGA	360
GTCTACTCCA	ATTTCTCCG	GGGAAAGCTG	AAGCTGTACA	CAGGGGAGGC	CTGCAGGACA	420
GGGGACAGAT	GAGGCGGCGG	CTCCCCCAC	CACGCCTCAT	CTGTGACAGC	CGAGTCCTGG	480
AGAGGTACCT	CTTGAGGCC	AAGGAGGCCG	AG			512

Popis sekvence SEQ ID NO : 61

A) Délka: 512 párů bází

B) Typ: nukleová kyselina



C) Řetězec: jednoduchý

D) Topologie: lineární

xi) Popis řetězce : SEQ ID NO: 61

ATCACGACGG	GCTGTGCTGA	AACTGCGAGC	TTGAATGAGA	ATATCACTGT	CCCAGACACC	60
AAAGTTAATT	TCTATGCCTG	GAAGAGGATG	GAGGTCGGGC	AGCAGGCCGT	AGAAGTCTGG	120
CAGGGCCTGG	CCCTGCTGTC	GGAAGCTGTC	CTGCGGGGCC	AGGCCCTGTT	GGTCAACTCT	180
TCCCAGCCGT	GGGAGCCCCT	GCAGCTGCAT	GTGGATAAAG	CCGTCAGTGG	CCTTCGCAGC	240
CTCACCACTC	TGCTTCGGGC	TCTGGGAGCC	CAGAAGGAAG	CCATCTCCCC	TCCAGATGCG	300
GCCTCAGCTG	CTCCACTCCG	AACAATCACT	GCTGACACTT	TCCGCAAAC	CTTCCGAGTC	360
TACTCCAATT	TCCTCCGGGG	AAAGCTGAAG	CTGTACACAG	GGGAGGCCCTG	CAGGACAGGG	420
GACAGATGAG	GCGGCGGCTC	CCCCACCAC	GCCTCATCTG	TGACAGCCGA	GTCTGGAGA	480
GGTACCTCTT	GGAGGCCAAG	GAGGCCGAGA	AT			512

Popis sekvence SEQ ID NO : 62

A) Délka: 512 párů bází

B) Typ: nukleová kyselina

C) Řetězec: jednoduchý

D) Topologie: lineární

xi) Popis řetězce : SEQ ID NO: 62

ACGACGGGCT	GTGCTGAACA	CTGCAGCTTG	AATGAGAATA	TCACTGTCCC	AGACACCAAA	60
GTTAATTTCT	ATGCCTGGAA	GAGGATGGAG	GTGCGGCAGC	AGGCCGTAGA	AGTCTGGCAG	120
GGCCTGGCCC	TGCTGTCGGA	AGCTGTCTTG	CGGGGCCAGG	CCCTGTTGGT	CAACTCTTCC	180
CAGCCGTGGG	AGCCCCTGCA	GCTGCATGTG	GATAAAGCCG	TCAGTGGCCT	TCGCAGCCTC	240
ACCACTCTGC	TTGCGGCTCT	GGGAGCCCAG	AAGGAAGCCA	TCTCCCCCTC	AGATGCGGCC	300
TCAGCTGCTC	CACTCCGAAC	AATCACTGCT	GACACTTTCC	GCAAACTCTT	CCGAGTCTAC	360
TCCAATTTCC	TCCGGGGAAA	GCTGAAGCTG	TACACAGGGG	AGGCCCTGCAG	GACAGGGGAC	420
AGATGAGGCG	GCGGCTCCCC	CCACCACGCC	TCATCTGTGA	CAGCCGAGTC	CTGGAGAGGT	480
ACCTCTTGGA	GGCCAAGGAG	GCCGAGAATA	TC			512

Popis sekvence SEQ ID NO : 63

A) Délka: 512 párů bází

B) Typ: nukleová kyselina

C) Řetězec: jednoduchý

D) Topologie: lineární

xi) Popis řetězce : SEQ ID NO: 63

ACGGGCTGTG	CTGAACACTG	CAGCTTGAAT	GAGAATATCA	CTGTCCCAGA	CACCAAAGTT	60
AATTTCTATG	CCTGGAAGAG	GATGGAGGTC	GGGCAGCAGG	CCGTAGAAGT	CTGGCAGGGC	120
CTGGCCCTGC	TGTCGGAAGC	TGTCCTGCGG	GGCCAGGCC	TGTTGGTCAA	CTCTTCCCAG	180
CCGTGGGAGC	CCCTGCAGCT	GCATGTGGAT	AAAGCCGTCA	GTGGCCTTCG	CAGCCTCACC	240
ACTCTGCTTC	GGGCTCTGGG	AGCCCAGAAG	GAAGCCATCT	CCCCTCCAGA	TGCGGCCTCA	300
GCTGCTCCAC	TCCGAACAAT	CACTGCTGAC	ACTTTCCGCA	AACTCTTCCG	AGTCTACTCC	360
AATTTCTCTC	GGGGAAAGCT	GAAGCTGTAC	ACAGGGGAGG	CCTGCAGGAC	AGGGGACAGA	420
TGAGGCGGCG	GCTCCCCCA	CCACGCCTCA	TCTGTGACAG	CCGAGTCCTG	GAGAGGTACC	480
TCTTGAGGC	CAAGGAGGCC	GAGAATATCA	CG			512



Popis sekvence SEQ ID NO : 64

A) Délka: 512 párů bází

B) Typ: nukleová kyselina

C) Řetězec: jednoduchý

D) Topologie: lineární

xi) Popis řetězce : SEQ ID NO: 64

GGCTGTGCTG	AACACTGCAG	CTTGAATGAG	AATATCACTG	TCCCAGACAC	CAAAGTTAAT	60
TTCTATGCCT	GGAAGAGGAT	GGAGGTCGGG	CAGCAGGCCG	TAGAAGTCTG	GCAGGGCCTG	120
GCCCTGCTGT	CGGAAGCTGT	CCTGCGGGGC	CAGGCCCTGT	TGGTCAACTC	TTCCCAGCCG	180
TGGGAGCCCC	TGCAGCTGCA	TGTGGATAAA	GCCGTCAGTG	GCCTTCGCAG	CCTCACCCT	240
CTGCTTCGGG	CTCTGGGAGC	CCAGAAGGAA	GCCATCTCCC	CTCCAGATGC	GGCCTCAGCT	300
GCTCCACTCC	GAACAATCAC	TGCTGACACT	TTCCGCAAAC	TCTTCCGAGT	CTACTCCAAT	360
TTCTCCGGG	GAAAGCTGAA	GCTGTACACA	GGGGAGGCCCT	GCAGGACAGG	GGACAGATGA	420
GGCGGCGGCT	CCCCCACCA	CGCCTCATCT	GTGACAGCCG	AGTCCTGGAG	AGGTACCTCT	480
TGGAGGCCAA	GGAGGCCGAG	AATATCACGA	CG			512

Popis sekvence SEQ ID NO : 65

A) Délka: 512 párů bází

B) Typ: nukleová kyselina

C) Řetězec: jednoduchý

D) Topologie: lineární

xi) Popis řetězce : SEQ ID NO: 65

TGTGCTGAAC	ACTGCAGCTT	GAATGAGAAT	ATCACTGTCC	CAGACACCAA	AGTTAATTTT	60
TATGCCTGGA	AGAGGATGGA	GGTCGGGCAG	CAGGCCGTAG	AAGTCTGGCA	GGGCCTGGCC	120
CTGCTGTCGG	AAGCTGTCCT	GCGGGGCCAG	GCCCTGTTGG	TCAACTCTTC	CCAGCCGTGG	180
GAGCCCCTGC	AGCTGCATGT	GGATAAAGCC	GTCAGTGGCC	TTCGCAGCCT	CACCACTCTG	240
CTTCCGGGCTC	TGGGAGCCCA	GAAGGAAGCC	ATCTCCCCTC	CAGATGCGGC	CTCAGCTGCT	300
CCACTCCGAA	CAATCACTGC	TGACACTTTC	CGCAAACCTCT	TCCGAGTCTA	CTCCAATTTC	360
CTCCGGGGAA	AGCTGAAGCT	GTACACAGGG	GAGGCCTGCA	GGACAGGGGA	CAGATGAGGC	420
GGCGGCTCCC	CCCACCACGC	CTCATCTGTG	ACAGCCGAGT	CCTGGAGAGG	TACCTCTTGG	480
AGGCCAAGGA	GGCCGAGAAT	ATCACGACGG	GC			512

Popis sekvence SEQ ID NO : 66

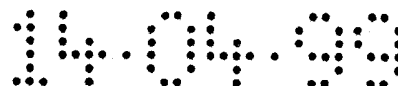
A) Délka: 512 párů bází

B) Typ: nukleová kyselina

C) Řetězec: jednoduchý

D) Topologie: lineární

xi) Popis řetězce : SEQ ID NO: 66



GCTGAACACT	GCAGCTTGAA	TGAGAATATC	ACTGTCCCAG	ACACCAAAGT	TAATTTCTAT	60
GCCTGGAAGA	GGATGGAGGT	CGGGCAGCAG	GCCGTAGAAG	TCTGGCAGGG	CCTGGCCCTG	120
CTGTGGAAG	CTGTCTGCG	GGGCCAGGCC	CTGTTGGTCA	ACTCTTCCCA	GCCGTGGGAG	180
CCCCTGCAGC	TGCATGTGGA	TAAAGCCGTC	AGTGGCCTTC	GCAGCCTCAC	CACTCTGCTT	240
CGGGCTCTGG	GAGCCCAGAA	GGAAGCCATC	TCCCCCTCCAG	ATGCGGCCTC	AGTGCTCCA	300
CTCCGAACAA	TCACTGCTGA	CACTTTCCGC	AAACTCTTCC	GAGTCTACTC	CAATTTCCCTC	360
CGGGGAAAGC	TGAAGCTGTA	CACAGGGGAG	GCCTGCAGGA	CAGGGGACAG	ATGAGGCGGC	420
GGCTCCCCC	ACCACGCCTC	ATCTGTGACA	GCCGAGTCTT	GGAGAGGTAC	CTCTTGGAGG	480
CCAAGGAGGC	CGAGAATATC	ACGACGGGCT	GT			512

Popis sekvence SEQ ID NO : 67

A) Délka: 512 párů bází

B) Typ: nukleová kyselina

C) Řetězec: jednoduchý

D) Topologie: lineární

xi) Popis řetězce : SEQ ID NO: 67

GAACACTGCA	GCTTGAATGA	GAATATCACT	GTCCCAGACA	CCAAAGTTAA	TTTCTATGCC	60
TGGAAGAGGA	TGGAGGTCGG	GCAGCAGGCC	GTAGAAGTCT	GGCAGGGCCT	GGCCCTGCTG	120
TCGGAAGCTG	TCCTGCGGGG	CCAGGCCCTG	TTGGTCAACT	CTTCCCAGCC	GTGGGAGCCC	180
CTGCAGCTGC	ATGTGGATAA	AGCCGTCAGT	GGCCTTCGCA	GCCTCACCAC	TCTGCTTCGG	240
GCTCTGGGAG	CCCAGAAGGA	AGCCATCTCC	CCTCCAGATG	CGGCCTCAGC	TGCTCCACTC	300
CGAACAATCA	CTGCTGACAC	TTTCCGCAAA	CTCTTCCGAG	TCTACTCCAA	TTTCCTCCGG	360
GGAAAGCTGA	AGCTGTACAC	AGGGGAGGCC	TGCAGGACAG	GGGACAGATG	AGGCGGCGGC	420
TCCCCCACC	ACGCCTCATC	TGTGACAGCC	GAGTCCTGGA	GAGGTACCTC	TTGGAGGCCA	480
AGGAGGCCGA	GAATATCACG	ACGGGCTGTG	CT			512

Popis sekvence SEQ ID NO : 68

A) Délka: 512 párů bází

B) Typ: nukleová kyselina

C) Řetězec: jednoduchý

D) Topologie: lineární

xi) Popis řetězce : SEQ ID NO: 68

CACTGCAGCT	TGAATGAGAA	TATCACTGTC	CCAGACACCA	AAGTTAATTT	CTATGCCTGG	60
AAGAGGATGG	AGGTCGGGCA	GCAGGCCGTA	GAAGTCTGGC	AGGGCCTGGC	CCTGCTGTCTG	120
GAAGCTGTCC	TGCGGGGCCA	GGCCCTGTTG	GTCAACTCTT	CCCAGCCGTG	GGAGCCCCTG	180
CAGCTGCATG	TGATAAAGC	CGTCAGTGCC	CTTCGCAGCC	TCACCACTCT	GCTTCGGGCT	240
CTGGGAGCCC	AGAAGGAAGC	CATCTCCCC	CCTCAGCTGC	CCTCAGCTGC	TCCACTCCGA	300
ACAATCACTG	CTGACACTTT	CCGCAAACTC	TTCCGAGTCT	ACTCCAATTT	CCTCCGGGGA	360
AAGCTGAAGC	TGTACACAGG	GGAGGCCTGC	AGGACAGGGG	ACAGATGAGG	CGGCGGCTCC	420
CCCCACCACG	CCTCATCTGT	GACAGCCGAG	TCCTGGAGAG	GTACCTCTTG	GAGGCCAAGG	480
AGGCCGAGAA	TATCACGACG	GGCTGTGCTG	AA			512



Popis sekvence SEQ ID NO : 69

- A) Délka: 512 párů bází
- B) Typ: nukleová kyselina
- C) Řetězec: jednoduchý
- D) Topologie: lineární

xi) Popis řetězce : SEQ ID NO: 69

TGCAGCTTGA	ATGAGAATAT	CACTGTCCCA	GACACCAAAG	TTAATTTCTA	TGCCTGGAAG	60
AGGATGGAGG	TCGGGCAGCA	GGCCGTAGAA	GTCTGGCAGG	GCCTGGCCCT	GCTGTCGGAA	120
GCTGTCCTGC	GGGGCCAGGC	CCTGTTGGTC	AACTCTTCCC	AGCCGTGGGA	GGCCCTGCAG	180
CTGCATGTGG	ATAAAGCCGT	CAGTGGCCTT	CGCAGCCTCA	CCACTCTGCT	TCGGGCTCTG	240
GGAGCCCAGA	AGGAAGCCAT	CTCCCCCTCA	GATGCGGCCT	CAGCTGCTCC	ACTCCGAACA	300
ATCACTGCTG	ACACTTTCCG	CAAACTCTTC	CGAGTCTACT	CCAATTTCTC	CCGGGGAAAG	360
CTGAAGCTGT	ACACAGGGGA	GGCCTGCAGG	ACAGGGGACA	GATGAGGCGG	CGGCTCCCCC	420
CACCACGCCT	CATCTGTGAC	AGCCGAGTCC	TGGAGAGGTA	CCTCTTGGAG	GCCAAGGAGG	480
CCGAGAATAT	CACGACGGGC	TGTGCTGAAC	AC			512

Popis sekvence SEQ ID NO : 70

- A) Délka: 512 párů bází
- B) Typ: nukleová kyselina
- C) Řetězec: jednoduchý
- D) Topologie: lineární

xi) Popis řetězce : SEQ ID NO: 70

AGCTTGAATG	AGAATATCAC	TGTCCCAGAC	ACCAAAGTTA	ATTTCTATGC	CTGGAAGAGG	60
ATGGAGGTCG	GGCAGCAGGC	CGTAGAAGTC	TGGCAGGGCC	TGGCCCTGCT	GTCGGAAGCT	120
GTCCTGCGGG	GCCAGGCCCT	GTTGGTCAAC	TCTTCCCAGC	CGTGGGAGCC	CCTGCAGCTG	180
CATGTGGATA	AAGCCGTCAG	TGGCCTTCGC	AGCCTCACCA	CTCTGCTTCG	GGCTCTGGGA	240
GCCCAGAAGG	AAGCCATCTC	CCCTCCAGAT	GCGGCCTCAG	CTGCTCCACT	CCGAACAATC	300
ACTGCTGACA	CTTTCCGCAA	ACTCTTCCGA	GTCTACTCCA	ATTTCCCTCCG	GGGAAAGCTG	360
AAGCTGTACA	CAGGGGAGGC	CTGCAGGACA	GGGGACAGAT	GAGGCGGCGG	CTCCCCCCAC	420
CACGCCTCAT	CTGTGACAGC	CGAGTCCTGG	AGAGGTACCT	CTTGGAGGCC	AAGGAGGCCG	480
AGAATATCAC	GACGGGCTGT	GCTGAACACT	GC			512

Popis sekvence SEQ ID NO : 71

- A) Délka: 512 párů bází
- B) Typ: nukleová kyselina
- C) Řetězec: jednoduchý
- D) Topologie: lineární

xi) Popis řetězce : SEQ ID NO: 71



TTGAATGAGA	ATATCACTGT	CCCAGACACC	AAAGTTAATT	TCTATGCCTG	GAAGAGGATG	60
GAGGTCGGGC	AGCAGGCCGT	AGAAGTCTGG	CAGGGCCTGG	CCCTGCTGTC	GGAAGCTGTC	120
CTGCGGGGCC	AGGCCCTGTT	GGTCAACTCT	TCCCAGCCGT	GGGAGCCCCT	GCAGCTGCAT	180
GTGGATAAAG	CCGTCACTGG	CCTTCGCAGC	CTCACCCTC	TGCTTCGGGC	TCTGGGAGCC	240
CAGAAGGAAG	CCATCTCCCC	TCCAGATGCG	GCCTCAGCTG	CTCCACTCCG	AACAATCACT	300
GCTGACACTT	TCCGCAAAC	CTTCCGAGTC	TACTCCAATT	TCCTCCGGGG	AAAGCTGAAG	360
CTGTACACAG	GGGAGGCCCTG	CAGGACAGGG	GACAGATGAG	GCGGCGGCTC	CCCCCACCAC	420
GCCTCATCTG	TGACAGCCGA	GTCCTGGAGA	GGTACCTCTT	GGAGGCCAAG	GAGGCCGAGA	480
ATATCACGAC	GGGCTGTGCT	GAACACTGCA	GC			512

Popis sekvence SEQ ID NO : 72

A) Délka: 512 párů bází

B) Typ: nukleová kyselina

C) Řetězec: jednoduchý

D) Topologie: lineární

xi) Popis řetězce : SEQ ID NO: 72

AATGAGAATA	TCAGTGTCCC	AGACACCAAA	GTTAATTTCT	ATGCCTGGAA	GAGGATGGAG	60
GTCGGGCAGC	AGGCCGTAGA	AGTCTGGCAG	GGCCTGGCCC	TGCTGTGCGA	AGCTGTCCTG	120
CGGGGCCAGG	CCCTGTTGGT	CAACTCTTCC	CAGCCGTGGG	AGCCCCTGCA	GCTGCATGTG	180
GATAAAGCCG	TCAGTGGCCT	TCGCAGCCTC	ACCACTCTGC	TTCGGGCTCT	GGGAGCCCAG	240
AAGGAAGCCA	TCTCCCTCC	AGATGCGGCC	TCAGCTGCTC	CACTCCGAAC	AATCACTGCT	300
GACACTTCC	GCAAACCTT	CCGAGTCTAC	TCCAATTTCC	TCCGGGGAAA	GCTGAAGCTG	360
TACACAGGGG	AGGCCTGCAG	GACAGGGGAC	AGATGAGGCG	GCGGCTCCCC	CCACCACGCC	420
TCATCTGTGA	CAGCCGAGTC	CTGGAGAGGT	ACCTCTTGGA	GGCCAAGGAG	GCCGAGAATA	480
TCACGACGGG	CTGTGCTGAA	CACTGCAGCT	TG			512

Popis sekvence SEQ ID NO : 73

A) Délka: 512 párů bází

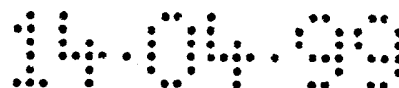
B) Typ: nukleová kyselina

C) Řetězec: jednoduchý

D) Topologie: lineární

xi) Popis řetězce : SEQ ID NO: 73

GAGAATATCA	CTGTCCCAGA	CACCAAAGTT	AATTTCTATG	CCTGGAAGAG	GATGGAGGTC	60
GGGCAGCAGG	CCGTAGAAGT	CTGGCAGGGC	CTGGCCCTGC	TGTCGGAAGC	TGTCCTGCGG	120
GGCCAGGCCC	TGTTGGTCAA	CTCTTCCCAG	CCGTGGGAGC	CCCTGCAGCT	GCATGTGGAT	180
AAAGCCGTCA	GTGGCCTTCG	CAGCCTCACC	ACTCTGCTTC	GGGCTCTGGG	AGCCCAGAAG	240
GAAGCCATCT	CCCCTCCAGA	TGCGGCCTCA	GCTGCTCCAC	TCCGAACAAT	CACTGCTGAC	300
ACTTTCCGCA	AACTCTTCCG	AGTCTACTCC	AATTTCTTCC	GGGGAAAGCT	GAAGCTGTAC	360
ACAGGGGAGG	CCTGCAGGAC	AGGGGACAGA	TGAGGCGGCG	GCTCCCCCA	CCACGCCTCA	420
TCTGTGACAG	CCGAGTCCTG	GAGAGGTACC	TCTTGAGGCG	CAAGGAGGCC	GAGAATATCA	480
CGACGGGCTG	TGCTGAACAC	TGCAGCTTGA	AT			512



Popis sekvence SEQ ID NO : 74

- A) Délka: 512 párů bází
- B) Typ: nukleová kyselina
- C) Řetězec: jednoduchý
- D) Topologie: lineární

xi) Popis řetězce : SEQ ID NO: 74

AATATCACTG	TCCCAGACAC	CAAAGTTAAT	TTCTATGCCT	GGAAGAGGAT	GGAGGTCGGG	60
CAGCAGGCCG	TAGAAGTCTG	GCAGGGCCTG	GCCCTGCTGT	CGGAAGCTGT	CCTGCGGGGC	120
CAGGCCCTGT	TGGTCAACTC	TTCCCAGCCG	TGGGAGCCCC	TGCAGCTGCA	TGTGGATAAA	180
GCCGTCAGTG	GCCTTCGCAG	CCTCACCCT	CTGCTTCGGG	CTCTGGGAGC	CCAGAAGGAA	240
GCCATCTCCC	CTCCAGATGC	GGCCTCAGCT	GCTCCACTCC	GAACAATCAC	TGCTGACACT	300
TTCCGCAAAC	TCTTCCGAGT	CTACTCCAAT	TTCTCCGGG	GAAAGCTGAA	GCTGTACACA	360
GGGGAGGCCT	GCAGGACAGG	GGACAGATGA	GGCGGCGGCT	CCCCCCACCA	CGCCTCATCT	420
GTGACAGCCG	AGTCCTGGAG	AGGTACCTCT	TGGAGGCCAA	GGAGGCCGAG	AATATCACGA	480
CGGGCTGTGC	TGAACACTGC	AGCTTGAATG	AG			512

Popis sekvence SEQ ID NO : 75

- A) Délka: 512 párů bází
- B) Typ: nukleová kyselina
- C) Řetězec: jednoduchý
- D) Topologie: lineární

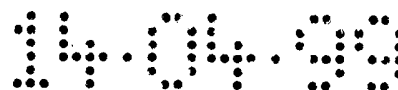
xi) Popis řetězce : SEQ ID NO: 75

ATCACTGTCC	CAGACACCAA	AGTTAATTTT	TATGCCTGGA	AGAGGATGGA	GGTCGGGCAG	60
CAGGCCGTAG	AAGTCTGGCA	GGGCCTGGCC	CTGCTGTCGG	AAGCTGTCCT	GCGGGGCCAG	120
GCCCTGTTGG	TCAACTCTTC	CCAGCCGTGG	GAGCCCCTGC	AGCTGCATGT	GGATAAAGCC	180
GTCAGTGGCC	TTCGCAGCCT	CACCACTCTG	CTTCGGGCTC	TGGGAGCCCA	GAAGGAAGCC	240
ATCTCCCCTC	CAGATGCGGC	CTCAGCTGCT	CCACTCCGAA	CAATCACTGC	TGACACTTTC	300
CGCAAATCT	TCCGAGTCTA	CTCCAATTTT	CTCCGGGGAA	AGCTGAAGCT	GTACACAGGG	360
GAGGCCTGCA	GGACAGGGGA	CAGATGAGGC	GGCGGCTCCC	CCCACCACGC	CTCATCTGTG	420
ACAGCCGAGT	CCTGGAGAGG	TACCTCTTGG	AGGCCAAGGA	GGCCGAGAAT	ATCACGACGG	480
GCTGTGCTGA	ACACTGCAGC	TTGAATGAGA	AT			512

Popis sekvence SEQ ID NO : 76

- A) Délka: 513 párů bází
- B) Typ: nukleová kyselina
- C) Řetězec: jednoduchý
- D) Topologie: lineární

xi) Popis řetězce : SEQ ID NO: 76



ACTGTCCCAG	ACACCAAAGT	TAATTTCTAT	GCCTGGAAGA	GGATGGAGGT	CGGGCAGCAG	60
GCCGTAGAAG	TCTGGCAGGG	CCTGGCCCTG	CTGTGCGAAG	CTGTCTGCG	GGGCCAGGCC	120
CTGTTGGTCA	ACTCTTCCCA	GCCGTGGGAG	CCCCTGCAGC	TGCATGTGGA	TAAAGCCGTC	180
AGTGGCCTTC	GCAGCCTCAC	CACTCTGCTT	CGGGCTCTGG	GAGCCCAGAA	GGAAGCCATC	240
TCCCCTCCAG	ATGCGGCCTC	AGCTGCTCCA	CTCCGAACAA	TCACTGCTGA	CACTTTCCGC	300
AAACTCTTCC	GAGTCTACTC	CAATTTCCCTC	CGGGGAAAGC	TGAAGCTGTA	CACAGGGGAG	360
GCCTGCAGGA	CAGGGGACAG	ATGAGGCGGC	GGCTCCCCCC	ACCACGCCTC	ATCTGTGACA	420
GCCGAGTCCT	GGAGAGGTAC	CTCTTGGAGG	CCAAGGAGGC	CGAGAATATC	ACGACGGGCT	480
GTGCTGAACA	CTGCAGCTTG	AATGAGAATA	ATC			513

Popis sekvence SEQ ID NO : 77

- A) Délka: 513 párů bází
- B) Typ: nukleová kyselina
- C) Řetězec: jednoduchý
- D) Topologie: lineární

xi) Popis řetězce : SEQ ID NO: 77

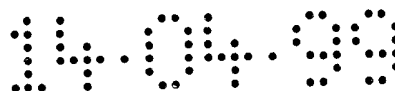
GTCCCAGACA	CCAAAGTTAA	TTTCTATGCC	TGGAAGAGGA	TGGAGGTCGG	GCAGCAGGCC	60
GTAGAAGTCT	GGCAGGGCCT	GGCCCTGCTG	TCGGAAGCTG	TCCTGCGGGG	CCAGGCCCTG	120
TTGGTCAACT	CTTCCCAGCC	GTGGGAGCCC	CTGCAGCTGC	ATGTGGATAA	AGCCGTCAGT	180
GGCCTTCGCA	GCCTCACCAC	TCTGCTTCGG	GCTCTGGGAG	CCCAGAAGGA	AGCCATCTCC	240
CCTCCAGATG	CGGCCTCAGC	TGCTCCACTC	CGAACAATCA	CTGCTGACAC	TTTCCGCAAA	300
CTCTTCCGAG	TCTACTCCAA	TTTCCTCCGG	GGAAAGCTGA	AGCTGTACAC	AGGGGAGGCC	360
TGACGACAG	GGGACAGATG	AGGCGGCGGC	TCCCCCACC	ACGCCTCATC	TGTGACAGCC	420
GAGTCCTGGA	GAGGTACCTC	TTGGAGGCCA	AGGAGGCCGA	GAATATCAGC	ACGGGCTGTG	480
CTGAACACTG	CAGCTTGAAT	GAGAATAATC	ACT			513

Popis sekvence SEQ ID NO : 78

- A) Délka: 513 párů bází
- B) Typ: nukleová kyselina
- C) Řetězec: jednoduchý
- D) Topologie: lineární

xi) Popis řetězce : SEQ ID NO: 78

CCAGACACCA	AAGTTAATTT	CTATGCCTGG	AAGAGGATGG	AGGTCGGGCA	GCAGGCCGTA	60
GAAGTCTGGC	AGGGCCTGGC	CCTGCTGTCG	GAAGCTGTCC	TGCGGGGGCA	GGCCCTGTTG	120
GTCAACTCTT	CCCAGCCGTG	GGAGCCCCTG	CAGCTGCATG	TGGATAAAGC	CGTCAGTGCC	180
CTTCGCAGCC	TCACCACTCT	GCTTCGGGCT	CTGGGAGCCC	AGAAGGAAGC	CATCTCCCCT	240
CCAGATGCGG	CCTCAGCTGC	TCCACTCCGA	ACAATCACTG	CTGACACTTT	CCGCAAACTC	300
TTCCGAGTCT	ACTCCAATTT	CCTCCGGGGA	AAGCTGAAGC	TGTACACAGG	GGAGGCCTGC	360
AGGACAGGGG	ACAGATGAGG	CGGCGGCTCC	CCCCACCACG	CCTCATCTGT	GACAGCCGAG	420
TCCTGGAGAG	GTACCTCTTG	GAGGCCAAGG	AGGCCGAGAA	TATCACGACG	GGCTGTGCTG	480
AACACTGCAG	CTTGAATGAG	AATAATCACT	GTC			513



Popis sekvence SEQ ID NO : 79

- A) Délka: 513 párů bází
- B) Typ: nukleová kyselina
- C) Řetězec: jednoduchý
- D) Topologie: lineární

xi) Popis řetězce : SEQ ID NO: 79

GACACCAAAG	TTAATTTCTA	TGCCTGGAAG	AGGATGGAGG	TCGGGCAGCA	GGCCGTAGAA	60
GTCTGGCAGG	GCCTGGCCCT	GCTGTCGGAA	GCTGTCCTGC	GGGGCCAGGC	CCTGTTGGTC	120
AACTCTTCCC	AGCCGTGGGA	GCCCCTGCAG	CTGCATGTGG	ATAAAGCCGT	CAGTGGCCTT	180
CGCAGCCTCA	CCACTCTGCT	TCGGGCTCTG	GGAGCCCAGA	AGGAAGCCAT	CTCCCCTCCA	240
GATGCGGCCT	CAGCTGCTCC	ACTCCGAACA	ATCACTGCTG	ACACTTTCCG	CAAACCTCTC	300
CGAGTCTACT	CCAATTTCTT	CCGGGGAAAG	CTGAAGCTGT	ACACAGGGGA	GGCCTGCAGG	360
ACAGGGGACA	GATGAGGCGG	CGGCTCCCCC	CACCACGCCT	CATCTGTGAC	AGCCGAGTCC	420
TGGAGAGGTA	CCTCTTGGAG	GCCAAGGAGG	CCGAGAATAT	CACGACGGGC	TGTGCTGAAC	480
ACTGCAGCTT	GAATGAGAAT	AATCACTGTC	CCA			513

Popis sekvence SEQ ID NO : 80

- A) Délka: 513 párů bází
- B) Typ: nukleová kyselina
- C) Řetězec: jednoduchý
- D) Topologie: lineární

xi) Popis řetězce : SEQ ID NO: 80

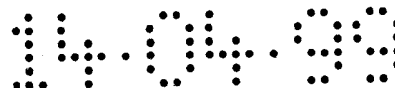
AGGATGGAGG	TCGGGCAGCA	GGCCGTAGAA	GTCTGGCAGG	GCCTGGCCCT	GCTGTCGGAA	60
GCTGTCCTGC	GGGGCCAGGC	CCTGTTGGTC	AACTCTTCCC	AGCCGTGGGA	GCCCCTGCAG	120
CTGCATGTGG	ATAAAGCCGT	CAGTGGCCTT	CGCAGCCTCA	CCACTCTGCT	TCGGGCTCTG	180
GGAGCCCAGA	AGGAAGCCAT	CTCCCCTCCA	GATGCGGCCT	CAGCTGCTCC	ACTCCGAACA	240
ATCACTGCTG	ACACTTTCCG	CAAACCTCTC	CGAGTCTACT	CCAATTTCTT	CCGGGGAAAG	300
CTGAAGCTGT	ACACAGGGGA	GGCCTGCAGG	ACAGGGGACA	GATGAGGCGG	CGGCTCCCCC	360
CACCACGCCT	CATCTGTGAC	AGCCGAGTCC	TGGAGAGGTA	CCTCTTGGAG	GCCAAGGAGG	420
CCGAGAATAT	CACGACGGGC	TGTGCTGAAC	ACTGCAGCTT	GAATGAGAAT	AATCACTGTC	480
CCAGACACCA	AAGTTAATTT	CTATGCCTGG	AAG			513

Popis sekvence SEQ ID NO : 81

- A) Délka: 513 párů bází
- B) Typ: nukleová kyselina
- C) Řetězec: jednoduchý
- D) Topologie: lineární

xi) Popis řetězce : SEQ ID NO: 80

ATGGAGGTCG	GGCAGCAGGC	CGTAGAAGTC	TGGCAGGGCC	TGGCCCTGCT	GTCGGAAGCT	60
------------	------------	------------	------------	------------	------------	----



GTCCTGCGGG	GCCAGGCCCT	GTTGGTCAAC	TCTTCCCAGC	CGTGGGAGCC	CCTGCAGCTG	120
CATGTGGATA	AAGCCGTCAG	TGGCCTTCGC	AGCCTCACCA	CTCTGCTTCG	GGCTCTGGGA	180
GCCCAGAAGG	AAGCCATCTC	CCCTCCAGAT	GCGGCCTCAG	CTGCTCCACT	CCGAACAATC	240
ACTGCTGACA	CTTTCCGCAA	ACTCTTCCGA	GTCTACTCCA	ATTTCTCCG	GGGAAAGCTG	300
AAGCTGTACA	CAGGGGAGGC	CTGCAGGACA	GGGACAGAT	GAGGCGGCGG	CTCCCCCAC	360
CACGCCTCAT	CTGTGACAGC	CGAGTCCTGG	AGAGGTACCT	CTTGGAGGCC	AAGGAGGCCG	420
AGAATATCAC	GACGGGCTGT	GCTGAACACT	GCAGCTTGAA	TGAGAATAAT	CACTGTCCCA	480
GACACCAAAG	TTAATTTCTA	TGCTTGAAG	AGG			513

Popis sekvence SEQ ID NO : 82

A) Délka: 513 párů bází

B) Typ: nukleová kyselina

C) Řetězec: jednoduchý

D) Topologie: lineární

xi) Popis řetězce : SEQ ID NO: 82

GAGGTCGGGC	AGCAGGCCGT	AGAAGTCTGG	CAGGGCCTGG	CCCTGCTGTC	GGAAGCTGTC	60
CTGCGGGGCC	AGGCCCTGTT	GGTCAACTCT	TCCCAGCCGT	GGGAGCCCCT	GCAGCTGCAT	120
GTGGATAAAG	CCGTCACTGG	CCTTCGCAGC	CTCACCACCTC	TGCTTCGGGC	TCTGGGAGCC	180
CAGAAGGAAG	CCATCTCCCC	TCCAGATGCG	GCCTCAGCTG	CTCCACTCCG	AACAATCACT	240
GCTGACACTT	TCCGCAAAC	CTTCCGAGTC	TACTCCAATT	TCCTCCGGGG	AAAGCTGAAG	300
CTGTACACAG	GGGAGGCCTG	CAGGACAGGG	GACAGATGAG	GCGGCGGCTC	CCCCCACCAC	360
GCCTCATCTG	TGACAGCCGA	GTCCTGGAGA	GGTACCTCTT	GGAGGCCAAG	GAGGCCGAGA	420
ATATCACGAC	GGGCTGTGCT	GAACACTGCA	GCTTGAATGA	GAATAATCAC	TGTCCCAGAC	480
ACCAAAGTTA	ATTTCTATGC	CTGGAAGAGG	ATG			513

Popis sekvence SEQ ID NO : 83

A) Délka: 513 párů bází

B) Typ: nukleová kyselina

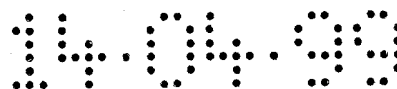
C) Řetězec: jednoduchý

D) Topologie: lineární

xi) Popis řetězce : SEQ ID NO: 83

Popis sekvence SEQ ID NO : 83

GTCGGGCAGC	AGGCCGTAGA	AGTCTGGCAG	GGCCTGGCCC	TGCTGTGCGA	AGCTGTCCCTG	60
CGGGGCCAGG	CCCTGTTGGT	CAACTCTTCC	CAGCCGTGGG	AGCCCCTGCA	GCTGCATGTG	120
GATAAAGCCG	TCAGTGGCCT	TCGCAGCCTC	ACCACTCTGC	TTCGGGCTCT	GGGAGCCCAG	180
AAGGAAGCCA	TCTCCCCCTC	AGATGCGGCC	TCAGCTGCTC	CACTCCGAAC	AATCACTGCT	240
GACACTTTCC	GCAAACCTCT	CCGAGTCTAC	TCCAATTTCC	TCCGGGGAAA	GCTGAAGCTG	300
TACACAGGGG	AGGCCTGCAG	GACAGGGGAC	AGATGAGGCG	GCGGCTCCCC	CCACCACGCC	360
TCATCTGTGA	CAGCCGAGTC	CTGGAGAGGT	ACCTCTTGGA	GGCCAAGGAG	GCCGAGAATA	420
TCACGACGGG	CTGTGCTGAA	CACTGCAGCT	TGAATGAGAA	TAATCACTGT	CCCAGACACC	480
AAAGTTAATT	TCTATGCCCTG	GAAGAGGATG	GAG			513



Popis sekvence SEQ ID NO : 84

A) Délka: 513 párů bází

B) Typ: nukleová kyselina

C) Řetězec: jednoduchý

D) Topologie: lineární

xi) Popis řetězce : SEQ ID NO: 84

CAGGCCCTGT	TGGTCAACTC	TTCCCAGCCG	TGGGAGCCCC	TGCAGCTGCA	TGTGGATAAA	60
GCCGTCACTG	GCCTTCGCAG	CCTCACCCT	CTGCTTCGGG	CTCTGGGAGC	CCAGAAGGAA	120
GCCATCTCCC	CTCCAGATGC	GGCCTCAGCT	GCTCCACTCC	GAACAATCAC	TGCTGACACT	180
TTCCGCAAAC	TCTTCCGAGT	CTACTCCAAT	TTCTTCCGGG	GAAAGCTGAA	GCTGTACACA	240
GGGGAGGCCT	GCAGGACAGG	GGACAGATGA	GGCGGCGGCT	CCCCCACCAC	CGCCTCATCT	300
GTGACAGCCG	AGTCCTGGAG	AGGTACCTCT	TGGAGGCCAA	GGAGGCCGAG	AATATCACGA	360
CGGGCTGTGC	TGAACACTGC	AGCTTGAATG	AGAATAATCA	CTGTCCCAGA	CACCAAAGTT	420
AATTTCTATG	CCTGGAAGAG	GATGGAGGTC	GGGCAGCAGG	CCGTAGAAGT	CTGGCAGGGC	480
CTGGCCCTGC	TGTCGGAAGC	TGTCCTGCGG	GGC			513

Popis sekvence SEQ ID NO : 85

A) Délka: 513 párů bází

B) Typ: nukleová kyselina

C) Řetězec: jednoduchý

D) Topologie: lineární

xi) Popis řetězce : SEQ ID NO: 85

GCCCTGTTGG	TCAACTCTTC	CCAGCCGTGG	GAGCCCCTGC	AGCTGCATGT	GGATAAAGCC	60
GTCAGTGGCC	TTTCGCAGCT	CACCACTCTG	CTTCGGGCTC	TGGGAGCCCA	GAAGGAAGCC	120
ATCTCCCCTC	CAGATGCGGC	CTCAGCTGCT	CCACTCCGAA	CAATCACTGC	TGACACTTTC	180
CGCAAATCT	TCCGAGTCTA	CTCCAATTTT	CTCCGGGGAA	AGCTGAAGCT	GTACACAGGG	240
GAGGCCTGCA	GGACAGGGGA	CAGATGAGGC	GGCGGCTCCC	CCCACCACGC	CTCATCTGTG	300
ACAGCCGAGT	CCTGGAGAGG	TACCTCTTGG	AGGCCAAGGA	GGCCGAGAAT	ATCACGACGG	360
GCTGTGCTGA	ACACTGCAGC	TTGAATGAGA	ATAATCACTG	TCCCAGACAC	CAAAGTTAAT	420
TTCTATGCCT	GGAAGAGGAT	GGAGGTCGGG	CAGCAGGCCG	TAGAAGTCTG	GCAGGGCCTG	480
GCCCTGCTGT	CGGAAGCTGT	CCTGCGGGGC	CAG			513

Popis sekvence SEQ ID NO : 86

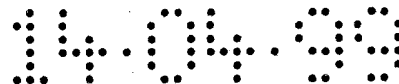
A) Délka: 513 párů bází

B) Typ: nukleová kyselina

C) Řetězec: jednoduchý

D) Topologie: lineární

xi) Popis řetězce : SEQ ID NO: 86



CTGTTGGTCA	ACTCTTCCCA	GCCGTGGGAG	CCCCTGCAGC	TGCATGTGGA	TAAAGCCGTC	60
AGTGGCCTTC	GCAGCCTCAC	CACTCTGCTT	CGGGCTCTGG	GAGCCCAGAA	GGAAGCCATC	120
TCCCCTCCAG	ATGCGGCCTC	AGCTGCTCCA	CTCCGAACAA	TCACTGCTGA	CACTTTCCGC	180
AAACTCTTCC	GAGTCTACTC	CAATTTCTCT	CGGGGAAAGC	TGAAGCTGTA	CACAGGGGAG	240
GCCTGCAGGA	CAGGGGACAG	ATGAGGCGGC	GGCTCCCCC	ACCACGCCTC	ATCTGTGACA	300
GCCGAGTCCT	GGAGAGGTAC	CTCTTGGAGG	CCAAGGAGGC	CGAGAATATC	ACGACGGGCT	360
GTGCTGAACA	CTGCAGCTTG	AATGAGAATA	ATCACTGTCC	CAGACACCAA	AGTTAATTTT	420
TATGCCTGGA	AGAGGATGGA	GGTCGGGCAG	CAGGCCGTAG	AAGTCTGGCA	GGGCCTGGCC	480
CTGCTGTCTG	AAGCTGTCCT	GCGGGGCCAG	GCC			513

Popis sekvence SEQ ID NO : 87

A) Délka: 513 párů bází

B) Typ: nukleová kyselina

C) Řetězec: jednoduchý

D) Topologie: lineární

xi) Popis řetězce : SEQ ID NO: 87

TTGGTCAACT	CTTCCCAGCC	GTGGGAGCCC	CTGCAGCTGC	ATGTGGATAA	AGCCGTCAGT	60
GGCCTTCGCA	GCCTCACCAC	TCTGCTTCGG	GCTCTGGGAG	CCCAGAAGGA	AGCCATCTCC	120
CCTCCAGATG	CGGCCTCAGC	TGCTCCACTC	CGAACAATCA	CTGCTGACAC	TTTCCGCAAA	180
CTCTTCCGAG	TCTACTCCAA	TTTCCTCCGG	GGAAAGCTGA	AGCTGTACAC	AGGGGAGGCC	240
TGCAGGACAG	GGGACAGATG	AGGCGGCGGC	TCCCCCACC	ACGCCTCATC	TGTGACAGCC	300
GAGTCCTGGA	GAGGTACCTC	TTGGAGGCCA	AGGAGGCCGA	GAATATCACG	ACGGGCTGTG	360
CTGAACACTG	CAGCTTGAAT	GAGAATAATC	ACTGTCCCAG	ACACCAAAGT	TAATTTCTAT	420
GCCTGGAAGA	GGATGGAGGT	CGGGCAGCAG	GCCGTAGAAG	TCTGGCAGGG	CCTGGCCCTG	480
CTGTCTGGAAG	CTGTCCTGCG	GGGCCAGGCC	CTG			513

Popis sekvence SEQ ID NO : 88

A) Délka: 513 párů bází

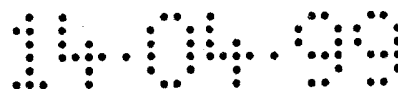
B) Typ: nukleová kyselina

C) Řetězec: jednoduchý

D) Topologie: lineární

xi) Popis řetězce : SEQ ID NO: 88

GTCAACTCTT	CCCAGCCGTG	GGAGCCCCTG	CAGCTGCATG	TGGATAAAGC	CGTCAGTGGC	60
CTTCGCAGCC	TCACCACTCT	GCTTCGGGCT	CTGGGAGCCC	AGAAGGAAGC	CATCTCCCCT	120
CCAGATGCGG	CCTCAGCTGC	TCCACTCCGA	ACAATCACTG	CTGACACTTT	CCGCAAATC	180
TTCCGAGTCT	ACTCCAATTT	CCTCCGGGGA	AAGCTGAAGC	TGTACACAGG	GGAGGCCTGC	240
AGGACAGGGG	ACAGATGAGG	CGGCGGCTCC	CCCCACCACG	CCTCATCTGT	GACAGCCGAG	300
TCCTGGAGAG	GTACCTCTTG	GAGGCCAAGG	AGGCCGAGAA	TATCACGACG	GGCTGTGCTG	360
AACACTGCAG	CTTGAATGAG	AATAATCACT	GTCCCAGACA	CCAAAGTTAA	TTTCTATGCC	420
TGGAAGAGGA	TGGAGGTCGG	GCAGCAGGCC	GTAGAAGTCT	GGCAGGGCCT	GGCCCTGCTG	480
TCGGAAGCTG	TCCTGCGGGG	CCAGGCCCTG	TTG			513



Popis sekvence SEQ ID NO : 89

- A) Délka: 513 párů bází
- B) Typ: nukleová kyselina
- C) Řetězec: jednoduchý
- D) Topologie: lineární

xi) Popis řetězce : SEQ ID NO: 89

AACTCTTCCC	AGCCGTGGGA	GCCCCTGCAG	CTGCATGTGG	ATAAAGCCGT	CAGTGGCCTT	60
CGCAGCCTCA	CCACTCTGCT	TCGGGCTCTG	GGAGCCCAGA	AGGAAGCCAT	CTCCCCCTCCA	120
GATGCGGCCT	CAGCTGCTCC	ACTCCGAACA	ATCACTGCTG	ACACTTTCCG	CAAACCTCTTC	180
CGAGTCTACT	CCAATTTCTT	CCGGGGAAAG	CTGAAGCTGT	ACACAGGGGA	GGCCTGCAGG	240
ACAGGGGACA	GATGAGGCGG	CGGCTCCCCC	CACCACGCCCT	CATCTGTGAC	AGCCGAGTCC	300
TGGAGAGGTA	CCTCTTGGAG	GCCAAGGAGG	CCGAGAATAT	CACGACGGGC	TGTGCTGAAC	360
ACTGCAGCTT	GAATGAGAAT	AATCACTGTC	CCAGACACCA	AAGTTAATTT	CTATGCCTGG	420
AAGAGGATGG	AGGTCGGGCA	GCAGGCCGTA	GAAGTCTGGC	AGGGCCTGGC	CCTGCTGTCG	480
GAAGCTGTCC	TGCGGGGCCA	GGCCCTGTTG	GTC			513

Popis sekvence SEQ ID NO : 90

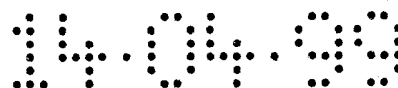
- A) Délka: 513 párů bází
- B) Typ: nukleová kyselina
- C) Řetězec: jednoduchý
- D) Topologie: lineární

xi) Popis řetězce : SEQ ID NO: 90

TCTTCCCAGC	CGTGGGAGCC	CCTGCAGCTG	CATGTGGATA	AAGCCGTCAG	TGGCCTTCGC	60
AGCCTCACCA	CTCTGCTTCG	GGCTCTGGGA	GCCCAGAAGG	AAGCCATCTC	CCCTCCAGAT	120
GCGGCCTCAG	CTGCTCCACT	CCGAACAATC	ACTGCTGACA	CTTTCCGCAA	ACTCTTCCGA	180
GTCTACTCCA	ATTTCTCTCC	GGGAAAGCTG	AAGCTGTACA	CAGGGGAGGC	CTGCAGGACA	240
GGGGACAGAT	GAGGCGGCGG	CTCCCCCAC	CACGCCTCAT	CTGTGACAGC	CGAGTCCTGG	300
AGAGGTACCT	CTTGGAGGCC	AAGGAGGCCG	AGAATATCAC	GACGGGCTGT	GCTGAACACT	360
GCAGCTTGAA	TGAGAATAAT	CACTGTCCCA	GACACCAAAG	TTAATTTCTA	TGCCTGGAAG	420
AGGATGGAGG	TCGGGCAGCA	GGCCGTAGAA	GTCTGGCAGG	GCCTGGCCCT	GCTGTGCGAA	480
GCTGTCCTGC	GGGGCCAGGC	CCTGTTGGTC	AAC			513

Popis sekvence SEQ ID NO : 91

- A) Délka: 513 párů bází
- B) Typ: nukleová kyselina
- C) Řetězec: jednoduchý
- D) Topologie: lineární



xi) Popis řetězce : SEQ ID NO: 91

TCCCAGCCGT	GGGAGCCCCT	GCAGCTGCAT	GTGGATAAAG	CCGTCAGTGG	CCTTCGCAGC	60
CTCACCCTC	TGCTTCGGGC	TCTGGGAGCC	CAGAAGGAAG	CCATCTCCCC	TCCAGATGCG	120
GCCTCAGCTG	CTCCACTCCG	AACAATCACT	GCTGACACTT	TCCGCAAACCT	CTTCCGAGTC	180
TACTCCAATT	TCCTCCGGGG	AAAGCTGAAG	CTGTACACAG	GGGAGGCCTG	CAGGACAGGG	240
GACAGATGAG	GCGGCGGCTC	CCCCACCAC	GCCTCATCTG	TGACAGCCGA	GTCCTGGAGA	300
GGTACCTCTT	GGAGGCCAAG	GAGGCCGAGA	ATATCACGAC	GGGCTGTGCT	GAACACTGCA	360
GCTTGAATGA	GAATAATCAC	TGTCCCAGAC	ACCAAAGTTA	ATTTCTATGC	CTGGAAGAGG	420
ATGGAGGTCG	GGCAGCAGGC	CGTAGAAGTC	TGGCAGGGCC	TGGCCCTGCT	GTCGGAAGCT	480
GTCTGCGGG	GCCAGGCCCT	GTTGGTCAAC	TCT			513

Popis sekvence SEQ ID NO : 92

A) Délka: 513 párů bází

B) Typ: nukleová kyselina

C) Řetězec: jednoduchý

D) Topologie: lineární

xi) Popis řetězce : SEQ ID NO: 92

CAGCCGTGGG	AGCCCCTGCA	GCTGCATGTG	GATAAAGCCG	TCAGTGGCCT	TCGCAGCCTC	60
ACCACTCTGC	TTCGGGCTCT	GGGAGCCCAG	AAGGAAGCCA	TCTCCCCTCC	AGATGCGGCC	120
TCAGTGCTC	CACTCCGAAC	AATCACTGCT	GACACTTTCC	GCAAACCTCTT	CCGAGTCTAC	180
TCCAATTTCC	TCCGGGGAAA	GCTGAAGCTG	TACACAGGGG	AGGCCTGCAG	GACAGGGGAC	240
AGATGAGGCG	GCGGCTCCCC	CCACCACGCC	TCATCTGTGA	CAGCCGAGTC	CTGGAGAGGT	300
ACCTCTTGGA	GGCCAAGGAG	GCCGAGAATA	TCACGACGGG	CTGTGCTGAA	CACTGCAGCT	360
TGAATGAGAA	TAATCACTGT	CCCAGACACC	AAAGTTAATT	TCTATGCCTG	GAAGAGGATG	420
GAGGTCGGGC	AGCAGGCCGT	AGAAGTCTGG	CAGGGCCTGG	CCCTGCTGTC	GGAAGCTGTC	480
CTGCGGGGCC	AGGCCCTGTT	GGTCAACTCT	TCC			513

Popis sekvence SEQ ID NO : 93

A) Délka: 513 párů bází

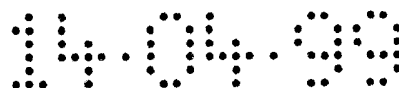
B) Typ: nukleová kyselina

C) Řetězec: jednoduchý

D) Topologie: lineární

xi) Popis řetězce : SEQ ID NO: 93

CCGTGGGAGC	CCCTGCAGCT	GCATGTGGAT	AAAGCCGTCA	GTGGCCTTCG	CAGCCTCACC	60
ACTCTGCTTC	GGGCTCTGGG	AGCCCAGAAG	GAAGCCATCT	CCCCTCCAGA	TGCGGCCTCA	120
GCTGCTCCAC	TCCGAACAAT	CACTGCTGAC	ACTTTCCGCA	AACTCTCCG	AGTCTACTCC	180
AATTTCTCTC	GGGGAAAGCT	GAAGCTGTAC	ACAGGGGAGG	CCTGCAGGAC	AGGGGACAGA	240
TGAGGCGGCG	GCTCCCCCA	CCACGCCTCA	TCTGTGACAG	CCGAGTCCTG	GAGAGGTACC	300



TCTTGGAGGC	CAAGGAGGCC	GAGAATATCA	CGACGGGCTG	TGCTGAACAC	TGCAGCTTGA	360
ATGAGAATAA	TCACTGTCCC	AGACACCAAA	GTTAATTTCT	ATGCCTGGAA	GAGGATGGAG	420
GTCGGGCAGC	AGGCCGTAGA	AGTCTGGCAG	GGCCTGGCCC	TGCTGTCGGA	AGCTGTCCTG	480
CGGGGCCAGG	CCCTGTTGGT	CAACTCTTCC	CAG			513

Popis sekvence SEQ ID NO : 94

A) Délka: 513 párů bází

B) Typ: nukleová kyselina

C) Řetězec: jednoduchý

D) Topologie: lineární

xi) Popis řetězce : SEQ ID NO: 94

TGGGAGCCCC	TGCAGCTGCA	TGTGGATAAA	GCCGTCAGTG	GCCTTCGCAG	CCTCACCCT	60
CTGCTTCGGG	CTCTGGGAGC	CCAGAAGGAA	GCCATCTCCC	CTCCAGATGC	GGCCTCAGCT	120
GCTCCACTCC	GAACAATCAC	TGCTGACACT	TTCCGCAAAC	TCTTCCGAGT	CTACTCCAAT	180
TTCCTCCGGG	GAAAGCTGAA	GCTGTACACA	GGGGAGGCCT	GCAGGACAGG	GGACAGATGA	240
GGCGGCGGCT	CCCCCACCA	CGCCTCATCT	GTGACAGCCG	AGTCCTGGAG	AGGTACCTCT	300
TGGAGGCCAA	GGAGGCCGAG	AATATCACGA	CGGGCTGTGC	TGAACACTGC	AGCTTGAATG	360
AGAATAATCA	CTGTCCAGA	CACCAAAGTT	AATTTCTATG	CCTGGAAGAG	GATGGAGGTC	420
GGGCAGCAGG	CCGTAGAAGT	CTGGCAGGGC	CTGGCCCTGC	TGTCGGAAGC	TGTCCTGCGG	480
GGCCAGGCCC	TGTTGGTCAA	CTCTTCCAG	CCG			513

Popis sekvence SEQ ID NO : 95

A) Délka: 513 párů bází

B) Typ: nukleová kyselina

C) Řetězec: jednoduchý

D) Topologie: lineární

xi) Popis řetězce : SEQ ID NO: 95

GAGCCCCTGC	AGCTGCATGT	GGATAAAGCC	GTCAGTGGCC	TTCGCAGCCT	CACCACTCTG	60
CTTCGGGCTC	TGGGAGCCCA	GAAGGAAGCC	ATCTCCCCTC	CAGATGCGGC	CTCAGCTGCT	120
CCACTCCGAA	CAATCACTGC	TGACACTTTC	CGCAAACCTCT	TCCGAGTCTA	CTCCAATTTT	180
CTCCGGGGAA	AGCTGAAGCT	GTACACAGGG	GAGGCCTGCA	GGACAGGGGA	CAGATGAGGC	240
GGCGGCTCCC	CCCACCACGC	CTCATCTGTG	ACAGCCGAGT	CCTGGAGAGG	TACCTCTTGG	300
AGGCCAAGGA	GGCCGAGAAT	ATCACGACGG	GCTGTGCTGA	AACTGCAGC	TTGAATGAGA	360
ATAATCACTG	TCCCAGACAC	CAAAGTTAAT	TTCTATGCCT	GGAAGAGGAT	GGAGGTCGGG	420
CAGCAGGCCG	TAGAAGTCTG	GCAGGGCCTG	GCCCTGCTGT	CGGAAGCTGT	CCTGCGGGGC	480
CAGGCCCTGT	TGGTCAACTC	TTCCCAGCCG	TGG			513

Popis sekvence SEQ ID NO : 96

A) Délka: 513 párů bází

B) Typ: nukleová kyselina



C) Řetězec: jednoduchý

D) Topologie: lineární

xi) Popis řetězce : SEQ ID NO: 96

CTTCGGGCTC	TGGGAGCCCA	GAAGGAAGCC	ATCTCCCCTC	CAGATGCGGC	CTCAGCTGCT	60
CCACTCCGAA	CAATCACTGC	TGACACTTTC	CGCAAACCTC	TCCGAGTCTA	CTCCAATTTT	120
CTCCGGGGAA	AGCTGAAGCT	GTACACAGGG	GAGGCCTGCA	GGACAGGGGA	CAGATGAGGC	180
GGCGGCTCCC	CCCACCACGC	CTCATCTGTG	ACAGCCGAGT	CCTGGAGAGG	TACCTCTTGG	240
AGGCCAAGGA	GGCCGAGAAT	ATCACGACGG	GCTGTGCTGA	ACACTGCAGC	TTGAATGAGA	300
ATAATCACTG	TCCCAGACAC	CAAAGTTAAT	TTCTATGCCT	GGAAGAGGAT	GGAGGTCGGG	360
CAGCAGGCCG	TAGAAGTCTG	GCAGGGCCTG	GCCCTGCTGT	CGGAAGCTGT	CCTGCGGGGC	420
CAGGCCCTGT	TGGTCAACTC	TTCCCAGCCG	TGGGAGCCCC	TGCAGCTGCA	TGTGGATAAA	480
GCCGTCAGTG	GCCTTCGCAG	CCTCACCAC	CTG			513

Popis sekvence SEQ ID NO : 97

A) Délka: 513 párů bází

B) Typ: nukleová kyselina

C) Řetězec: jednoduchý

D) Topologie: lineární

xi) Popis řetězce : SEQ ID NO: 97

CGGGCTCTGG	GAGCCCAGAA	GGAAGCCATC	TCCCCTCCAG	ATGCGGCCTC	AGCTGCTCCA	60
CTCCGAACAA	TCACTGCTGA	CACTTTCCGC	AAACTCTTCC	GAGTCTACTC	CAATTTCTCT	120
CGGGGAAAGC	TGAAGCTGTA	CACAGGGGAG	GCCTGCAGGA	CAGGGGACAG	ATGAGGCGGC	180
GGCTCCCCC	ACCACGCCCT	ATCTGTGACA	GCCGAGTCCT	GGAGAGGTAC	CTCTTGAGAG	240
CCAAGGAGGC	CGAGAATATC	ACGACGGGCT	GTGCTGAACA	CTGCAGCTTG	AATGAGAATA	300
ATCACTGTCC	CAGACACCAA	AGTTAATTTT	TATGCCTGGA	AGAGGATGGA	GGTCGGGCAG	360
CAGGCCGTAG	AAGTCTGGCA	GGGCCTGGCC	CTGCTGTCCG	AAGCTGTCCT	GCGGGGCCAG	420
GCCCTGTTGG	TCAACTCTTC	CCAGCCGTGG	GAGCCCCTGC	AGCTGCATGT	GGATAAAGCC	480
GTCAGTGGCC	TTCGCAGCCT	CACCACTCTG	CTT			513

Popis sekvence SEQ ID NO : 98

A) Délka: 513 párů bází

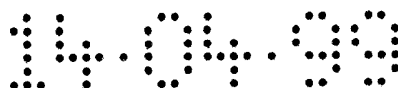
B) Typ: nukleová kyselina

C) Řetězec: jednoduchý

D) Topologie: lineární

xi) Popis řetězce : SEQ ID NO: 98

GCTCTGGGAG	CCCAGAAGGA	AGCCATCTCC	CCTCCAGATG	CGGCCTCAGC	TGCTCCACTC	60
CGAACAATCA	CTGCTGACAC	TTTCCGCAA	CTCTTCCGAG	TCTACTCCAA	TTTCCTCCGG	120
GGAAAGCTGA	AGCTGTACAC	AGGGGAGGCC	TGCAGGACAG	GGGACAGATG	AGGCGGCGGC	180
TCCCCCACC	ACGCCTCATC	TGTGACAGCC	GAGTCCTGGA	GAGGTACCTC	TTGGAGGCCA	240
AGGAGGCCGA	GAATATCACG	ACGGGCTGTG	CTGAACACTG	CAGCTTGAAT	GAGAATAATC	300
ACTGTCCAG	ACACCAAAGT	TAATTTCTAT	GCCTGGAAGA	GGATGGAGGT	CGGGCAGCAG	360



GCCGTAGAAG	TCTGGCAGGG	CCTGGCCCTG	CTGTGCGAAG	CTGTCCTGCG	GGGCCAGGCC	420
CTGTTGGTCA	ACTCTTCCCA	GCCGTGGGAG	CCCCTGCAGC	TGCATGTGGA	TAAAGCCGTC	480
AGTGGCCTTC	GCAGCCTCAC	CACTCTGCTT	CGG			513

Popis sekvence SEQ ID NO : 99

- A) Délka: 513 párů bází
- B) Typ: nukleová kyselina
- C) Řetězec: jednoduchý
- D) Topologie: lineární

xi) Popis řetězce : SEQ ID NO: 99

CTGGGAGCCC	AGAAGGAAGC	CATCTCCCCT	CCAGATGCGG	CCTCAGCTGC	TCCACTCCGA	60
ACAATCACTG	CTGACACTTT	CCGCAAACTC	TTCCGAGTCT	ACTCCAATTT	CCTCCGGGGA	120
AAGCTGAAGC	TGTACACAGG	GGAGGCCTGC	AGGACAGGGG	ACAGATGAGG	CGGCGGCTCC	180
CCCCACCACG	CCTCATCTGT	GACAGCCGAG	TCCTGGAGAG	GTACCTCTTG	GAGGCCAAGG	240
AGGCCGAGAA	TATCACGACG	GGCTGTGCTG	AACACTGCAG	CTTGAATGAG	AATAATCACT	300
GTCCCAGACA	CCAAAGTTAA	TTTCTATGCC	TGGAAGAGGA	TGGAGGTCGG	GCAGCAGGCC	360
GTAGAAGTCT	GGCAGGGCCT	GGCCCTGCTG	TCGGAAGCTG	TCCTGCGGGG	CCAGGCCCTG	420
TTGGTCAACT	CTTCCCAGCC	GTGGGAGCCC	CTGCAGCTGC	ATGTGGATAA	AGCCGTCAGT	480
GGCCTTCGCA	GCCTCACCAC	TCTGCTTCGG	GTC			513

Popis sekvence SEQ ID NO : 100

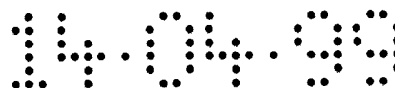
- A) Délka: 513 párů bází
- B) Typ: nukleová kyselina
- C) Řetězec: jednoduchý
- D) Topologie: lineární

xi) Popis řetězce : SEQ ID NO: 100

GGAGCCCAGA	AGGAAGCCAT	CTCCCCTCCA	GATGCGGCCT	CAGCTGCTCC	ACTCCGAACA	60
ATCACTGCTG	ACACTTTCCG	CAAACCTCTC	CGAGTCTACT	CCAATTTCCCT	CCGGGGAAAG	120
CTGAAGCTGT	ACACAGGGGA	GGCCTGCAGG	ACAGGGGACA	GATGAGGCGG	CGGCTCCCCC	180
CACCACGCCT	CATCTGTGAC	AGCCGAGTCC	TGGAGAGGTA	CCTCTTGGAG	GCCAAGGAGG	240
CCGAGAATAT	CACGACGGGC	TGTGCTGAAC	ACTGCAGCTT	GAATGAGAAT	AATCACTGTC	300
CCAGACACCA	AAGTTAATTT	CTATGCCTGG	AAGAGGATGG	AGGTCGGGCA	GCAGGCCGTA	360
GAAGTCTGGC	AGGGCCTGGC	CCTGCTGTCT	GAAGCTGTCC	TGCGGGGCCA	GGCCCTGTTG	420
GTCAACTCTT	CCCAGCCGTG	GGAGCCCCTG	CAGCTGCATG	TGGATAAAGC	CGTCAGTGGC	480
CTTCGCAGCC	TCACCACTCT	GCTTCGGGCT	CTG			513

Popis sekvence SEQ ID NO : 101

- A) Délka: 513 párů bází
- B) Typ: nukleová kyselina



C) Řetězec: jednoduchý

D) Topologie: lineární

xi) Popis řetězce : SEQ ID NO: 101

CCCCAGAAGG AAGCCATCTC CCCTCCAGAT GCGGCCTCAG CTGCTCCACT CCGAACAATC	60
ACTGCTGACA CTTTCCGCAA ACTCTTCCGA GTCTACTCCA ATTTCTCCG GGGAAAGCTG	120
AAGCTGTACA CAGGGGAGGC CTGCAGGACA GGGGACAGAT GAGGCGGCGG CTCCCCCAC	180
CACGCCTCAT CTGTGACAGC CGAGTCCTGG AGAGGTACCT CTTGGAGGCC AAGGAGGCCG	240
AGAATATCAC GACGGGCTGT GCTGAACACT GCAGCTTGAA TGAGAATAAT CACTGTCCCA	300
GACACCAAAG TTAATTTCTA TGCCTGGAAG AGGATGGAGG TCGGGCAGCA GGCCGTAGAA	360
GTCTGGCAGG GCCTGGCCCT GCTGTCGGA GCTGTCCTGC GGGGCCAGGC CCTGTTGGTC	420
AACTCTTCCC AGCCGTGGGA GCCCTGCAG CTGCATGTGG ATAAAGCCGT CAGTGGCCTT	480
CGCAGCCTCA CCACTCTGCT TCGGGCTCTG GGA	513

Popis sekvence SEQ ID NO : 102

A) Délka: 513 párů bází

B) Typ: nukleová kyselina

C) Řetězec: jednoduchý

D) Topologie: lineární

xi) Popis řetězce : SEQ ID NO: 102

CAGAAGGAAG CCATCTCCCC TCCAGATGCG GCCTCAGCTG CTCCACTCCG AACAATCACT	60
GCTGACACTT TCCGCAAACCT CTTCCGAGTC TACTCCAATT TCCTCCGGGG AAAGCTGAAG	120
CTGTACACAG GGGAGGCTTG CAGGACAGGG GACAGATGAG GCGGCGGCTC CCCCCACCAC	180
GCCTCATCTG TGACAGCCGA GTCCTGGAGA GGTACCTCTT GGAGGCCAAG GAGGCCGAGA	240
ATATCACGAC GGGCTGTGCT GAACACTGCA GCTTGAATGA GAATAATCAC TGTCCCAGAC	300
ACCAAAGTTA ATTTCTATGC CTGGAAGAGG ATGGAGGTCG GGCAGCAGGC CGTAGAAGTC	360
TGGCAGGGCC TGGCCCTGCT GTCGGAAGCT GTCCTGCGGG GCCAGGCCCT GTTGGTCAAC	420
TCTTCCCAGC CGTGGGAGCC CCTGCAGCTG CATGTGGATA AAGCCGTCAG TGGCCTTCGC	480
AGCCTACCA CTCTGCTTCG GGCTCTGGGA GCC	513

Popis sekvence SEQ ID NO : 103

A) Délka: 513 párů bází

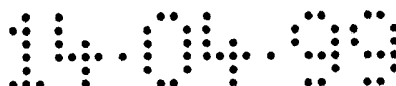
B) Typ: nukleová kyselina

C) Řetězec: jednoduchý

D) Topologie: lineární

xi) Popis řetězce : SEQ ID NO: 103

AAGGAAGCCA TCTCCCCTCC AGATGCGGCC TCAGCTGCTC CACTCCGAAC AATCACTGCT	60
GACACTTTCC GCAAACCTCT CCGAGTCTAC TCCAATTTCC TCCGGGGAAA GCTGAAGCTG	120
TACACAGGGG AGGCCTGCAG GACAGGGGAC AGATGAGGCG GCGGCTCCCC CCACCACGCC	180
TCATCTGTGA CAGCCGAGTC CTGGAGAGGT ACCTCTTGGA GGCCAAGGAG GCCGAGAATA	240
TCACGACGGG CTGTGCTGAA CACTGCAGCT TGAATGAGAA TAATCACTGT CCCAGACACC	300
AAAGTTAATT TCTATGCCTG GAAGAGGATG GAGGTCGGGC AGCAGGCCGT AGAAGTCTGG	360
CAGGGCCTGG CCCTGCTGTC GGAAGCTGTC CTGCGGGGCC AGGCCCTGTT GGTCAACTCT	420



TCCCAGCCGT GGGAGCCCCT GCAGCTGCAT GTGGATAAAG CCGTCAGTGG CCTTCGCAGC 480
 CTCACCACTC TGCTTCGGGC TCTGGGAGCC CAG 513

Popis sekvence SEQ ID NO : 104

A) Délka: 513 párů bází

B) Typ: nukleová kyselina

C) Řetězec: jednoduchý

D) Topologie: lineární

xi) Popis řetězce : SEQ ID NO: 104

GAAGCCATCT	CCCCTCCAGA	TGCGGCCTCA	GCTGCTCCAC	TCCGAACAAT	CACTGCTGAC	60
ACTTTCCGCA	AACTCTTCCG	AGTCTACTCC	AATTTCCCTCC	GGGGAAAGCT	GAAGCTGTAC	120
ACAGGGGAGG	CCTGCAGGAC	AGGGGACAGA	TGAGGCGGCG	GCTCCCCCCA	CCACGCCTCA	180
TCTGTGACAG	CCGAGTCCTG	GAGAGGTACC	TCTTGGAGGC	CAAGGAGGCC	GAGAATATCA	240
CGACGGGCTG	TGCTGAACAC	TGCAGCTTGA	ATGAGAATAA	TCACTGTCCC	AGACACCAAA	300
GTTAATTTCT	ATGCCTGGAA	GAGGATGGAG	GTGCGGCAGC	AGGCCGTAGA	AGTCTGGCAG	360
GGCCTGGCCC	TGCTGTGCGA	AGCTGTCCTG	CGGGGCCAGG	CCCTGTTGGT	CAACTCTTCC	420
CAGCCGTGGG	AGCCCCTGCA	GCTGCATGTG	GATAAAGCCG	TCAGTGGCCT	TGCAGCCTC	480
ACCACTCTGC	TTCGGGCTCT	GGGAGCCCAG	AAG			513

Popis sekvence SEQ ID NO : 105

A) Délka: 513 párů bází

B) Typ: nukleová kyselina

C) Řetězec: jednoduchý

D) Topologie: lineární

xi) Popis řetězce : SEQ ID NO: 105

GCCATCTCCC	CTCCAGATGC	GGCCTCAGCT	GCTCCACTCC	GAACAATCAC	TGCTGACACT	60
TTCCGCAAAC	TCTTCCGAGT	CTACTCCAAT	TTCCTCCGGG	GAAAGCTGAA	GCTGTACACA	120
GGGGAGGCCT	GCAGGACAGG	GGACAGATGA	GGCGGCGGCT	CCCCCACCA	CGCCTCATCT	180
GTGACAGCCG	AGTCCTGGAG	AGGTACCTCT	TGGAGGCCAA	GGAGGCCGAG	AATATCACGA	240
CGGGCTGTGC	TGAACACTGC	AGCTTGAATG	AGAATAATCA	CTGTCCCAGA	CACCAAAGTT	300
AATTTCTATG	CCTGGAAGAG	GATGGAGGTC	GGGCAGCAGG	CCGTAGAAGT	CTGGCAGGGC	360
CTGGCCCTGC	TGTCGGAAGC	TGTCCTGCGG	GGCCAGGCC	TGTTGGTCAA	CTCTTCCCAG	420
CCGTGGGAGC	CCCTGCAGCT	GCATGTGGAT	AAAGCCGTCA	GTGGCCTTCG	CAGCCTCACC	480
ACTCTGCTTC	GGGCTCTGGG	AGCCCAGAAG	GAA			513

Popis sekvence SEQ ID NO : 106

A) Délka: 513 párů bází

B) Typ: nukleová kyselina



C) Řetězec: jednoduchý

D) Topologie: lineární

xi) Popis řetězce : SEQ ID NO: 106

ATCTCCCCTC	CAGATGCGGC	CTCAGCTGCT	CCACTCCGAA	CAATCACTGC	TGACACTTTC	60
CGCAAACCTCT	TCCGAGTCTA	CTCCAATTTT	CTCCGGGGAA	AGCTGAAGCT	GTACACAGGG	120
GAGGCCTGCA	GGACAGGGGA	CAGATGAGGC	GGCGGCTCCC	CCCACCACGC	CTCATCTGTG	180
ACAGCCGAGT	CCTGGAGAGG	TACCTCTTGG	AGGCCAAGGA	GGCCGAGAAT	ATCACGACGG	240
GCTGTGCTGA	ACACTGCAGC	TTGAATGAGA	ATAATCACTG	TCCCAGACAC	CAAAGTTAAT	300
TTCTATGCCT	GGAAGAGGAT	GGAGGTCGGG	CAGCAGGCCG	TAGAAGTCTG	GCAGGGCCTG	360
GCCCTGCTGT	CGGAAGCTGT	CCTGCGGGGC	CAGGCCCTGT	TGGTCAACTC	TTCCCAGCCG	420
TGGGAGCCCC	TGCAGCTGCA	TGTGGATAAA	GCCGTCAGTG	GCCTTCGCAG	CCTCACCCT	480
CTGCTTCGGG	CTCTGGGAGC	CCAGAAGGAA	GCC			513

Popis sekvence SEQ ID NO : 107

A) Délka: 513 párů bází

B) Typ: nukleová kyselina

C) Řetězec: jednoduchý

D) Topologie: lineární

xi) Popis řetězce : SEQ ID NO: 108

TCCCCTCCAG	ATGCGGCCTC	AGCTGCTCCA	CTCCGAACAA	TCACTGCTGA	CACTTTCCGC	60
AAACTCTTCC	GAGTCTACTC	CAATTTCTCT	CGGGGAAAGC	TGAAGCTGTA	CACAGGGGAG	120
GCCTGCAGGA	CAGGGGACAG	ATGAGGCGGC	GGCTCCCCC	ACCACGCCTC	ATCTGTGACA	180
GCCGAGTCCT	GGAGAGGTAC	CTCTTGAGG	CCAAGGAGGC	CGAGAATATC	ACGACGGGCT	240
GTGCTGAACA	CTGCAGCTTG	AATGAGAATA	ATCACTGTCC	CAGACACCAA	AGTTAATTTC	300
TATGCCTGGA	AGAGGATGGA	GGTCGGGCAG	CAGGCCGTAG	AAGTCTGGCA	GGGCCTGGCC	360
CTGCTGTCCG	AAGCTGTCCT	GCGGGGCCAG	GCCCTGTTGG	TCAACTCTTC	CCAGCCGTGG	420
GAGCCCCCTG	AGCTGCATGT	GGATAAAGCC	GTCAGTGGCC	TTCGCAGCCT	CACCACTCTG	480
CTTCGGGCTC	TGGGAGCCCA	GAAGGAAGCC	ATC			513

Popis sekvence SEQ ID NO : 108

A) Délka: 513 párů bází

B) Typ: nukleová kyselina

C) Řetězec: jednoduchý

D) Topologie: lineární

xi) Popis řetězce : SEQ ID NO: 108

CCTCCAGATG	CGGCCTCAGC	TGCTCCACTC	CGAACAATCA	CTGCTGACAC	TTTCCGCAAA	60
CTCTTCCGAG	TCTACTCCAA	TTTCCTCCGG	GGAAAGCTGA	AGCTGTACAC	AGGGGAGGCC	120
TGCAGGACAG	GGGACAGATG	AGGCGGCGGC	TCCCCCACC	ACGCCTCATC	TGTGACAGCC	180
GAGTCCTGGA	GAGGTACCTC	TTGGAGGCCA	AGGAGGCCGA	GAATATCACG	ACGGGCTGTG	240
CTGAACACTG	CAGCTTGAAT	GAGAATAATC	ACTGTCCCAG	ACACCAAAGT	TAATTTCTAT	300
GCCTGGAAGA	GGATGGAGGT	CGGGCAGCAG	GCCGTAGAAG	TCTGGCAGGG	CCTGGCCCTG	360
CTGTCCGAAG	CTGTCCTGCG	GGGCCAGGCC	CTGTTGGTCA	ACTCTTCCCA	GCCGTGGGAG	420
CCCCTGCAGC	TGCATGTGGA	TAAAGCCGTC	AGTGGCCTTC	GCAGCCTCAC	CACTCTGCTT	480



CGGGCTCTGG GAGCCCAGAA GGAAGCCATC TCC

513

Popis sekvence SEQ ID NO : 109

- A) Délka: 513 párů bází
 B) Typ: nukleová kyselina
 C) Řetězec: jednoduchý
 D) Topologie: lineární

xi) Popis řetězce : SEQ ID NO: 109

CCAGATGCGG	CCTCAGCTGC	TCCACTCCGA	ACAATCACTG	CTGACACTTT	CCGCAAACCTC	60
TTCCGAGTCT	ACTCCAATTT	CCTCCGGGGA	AAGCTGAAGC	TGTACACAGG	GGAGGCCTGC	120
AGGACAGGGG	ACAGATGAGG	CGGCGGCTCC	CCCCACCACG	CCTCATCTGT	GACAGCCGAG	180
TCCTGGAGAG	GTACCTCTTG	GAGGCCAAGG	AGGCCGAGAA	TATCACGACG	GGCTGTGCTG	240
AACACTGCAG	CTTGAATGAG	AATAATCACT	GTCCCAGACA	CCAAAGTTAA	TTTCTATGCC	300
TGGAAGAGGA	TGGAGGTCGG	GCAGCAGGCC	GTAGAAGTCT	GGCAGGGCCT	GGCCCTGCTG	360
TCGGAAGCTG	TCCTGCGGGG	CCAGGCCCTG	TTGGTCAACT	CTTCCCAGCC	GTGGGAGCCC	420
CTGCAGCTGC	ATGTGGATAA	AGCCGTCAGT	GGCCTTCGCA	GCCTCACCAC	TCTGCTTCGG	480
GCTCTGGGAG	CCCAGAAGGA	AGCCATCTCC	CCT			513

Popis sekvence SEQ ID NO : 110

- A) Délka: 513 párů bází
 B) Typ: nukleová kyselina
 C) Řetězec: jednoduchý
 D) Topologie: lineární

xi) Popis řetězce : SEQ ID NO: 110

GATGCGGCCT	CAGCTGCTCC	ACTCCGAACA	ATCACTGCTG	ACACTTTCCG	CAAACCTCTTC	60
CGAGTCTACT	CCAATTTCTT	CCGGGGAAAG	CTGAAGCTGT	ACACAGGGGA	GGCCTGCAGG	120
ACAGGGGACA	GATGAGGCGG	CGGCTCCCCC	CACCACGCCT	CATCTGTGAC	AGCCGAGTCC	180
TGGAGAGGTA	CCTCTTGAG	GCCAAGGAGG	CCGAGAATAT	CACGACGGGC	TGTGCTGAAC	240
ACTGCAGCTT	GAATGAGAAT	AATCACTGTC	CCAGACACCA	AAGTTAATTT	CTATGCCTGG	300
AAGAGGATGG	AGGTCGGGCA	GCAGGCCGTA	GAAGTCTGGC	AGGGCCTGGC	CCTGCTGTCTG	360
GAAGCTGTCC	TGCGGGGCCA	GGCCCTGTTG	GTCAACTCTT	CCCAGCCGTG	GGAGCCCCCTG	420
CAGCTGCATG	TGGATAAAGC	CGTCAGTGGC	CTTCGCAGCC	TCACCACTCT	GCTTCGGGCT	480
CTGGGAGCCC	AGAAGGAAGC	CATCTCCCCC	CCA			513

Popis sekvence SEQ ID NO : 111

- A) Délka: 513 párů bází
 B) Typ: nukleová kyselina
 C) Řetězec: jednoduchý
 D) Topologie: lineární

xi) Popis řetězce : SEQ ID NO: 111



GCGGCCTCAG	CTGCTCCACT	CCGAACAATC	ACTGCTGACA	CTTTCCGCAA	ACTCTTCCGA	60
GTCTACTCCA	ATTTCTCCG	GGGAAAGCTG	AAGCTGTACA	CAGGGGAGGC	CTGCAGGACA	120
GGGGACAGAT	GAGGCGGCGG	CTCCCCCAC	CACGCCTCAT	CTGTGACAGC	CGAGTCCTGG	180
AGAGGTACCT	CTTGGAGGCC	AAGGAGGCCG	AGAATATCAC	GACGGGCTGT	GCTGAACACT	240
GCAGCTTGAA	TGAGAATAAT	CACTGTCCCA	GACACCAAAG	TTAATTTCTA	TGCCTGGAAG	300
AGGATGGAGG	TCGGGCAGCA	GGCCGTAGAA	GTCTGGCAGG	GCCTGGCCCT	GCTGTGGAA	360
GCTGTCCTGC	GGGGCCAGGC	CCTGTTGGTC	AACTCTTCCC	AGCCGTGGGA	GCCCCCTGCAG	420
CTGCATGTGG	ATAAAGCCGT	CAGTGGCCTT	CGCAGCCTCA	CCACTCTGCT	TCGGGCTCTG	480
GGAGCCCAGA	AGGAAGCCAT	CTCCCCCTCA	GAT			513

Popis sekvence SEQ ID NO : 112

A) Délka: 513 párů bází

B) Typ: nukleová kyselina

C) Řetězec: jednoduchý

D) Topologie: lineární

xi) Popis řetězce : SEQ ID NO: 112

GCCTCAGCTG	CTCCACTCCG	AACAATCACT	GCTGACACTT	TCCGCAAAC	CTTCCGAGTC	60
TACTCCAATT	TCCTCCGGGG	AAAGCTGAAG	CTGTACACAG	GGGAGGCCCTG	CAGGACAGGG	120
GACAGATGAG	GCGGCGGCTC	CCCCACCAC	GCCTCATCTG	TGACAGCCGA	GTCCTGGAGA	180
GGTACCTCTT	GGAGGCCAAG	GAGGCCGAGA	ATATCACGAC	GGGCTGTGCT	GAACACTGCA	240
GCTTGAATGA	GAATAATCAC	TGTCCCAGAC	ACCAAAGTTA	ATTTCTATGC	CTGGAAGAGG	300
ATGGAGGTCG	GGCAGCAGGC	CGTAGAAGTC	TGGCAGGGCC	TGGCCCTGCT	GTCGGAAGCT	360
GTCCTGCGGG	GCCAGGCCCT	GTTGGTCAAC	TCTTCCCAGC	CGTGGGAGCC	CCTGCAGCTG	420
CATGTGGATA	AAGCCGTCAG	TGGCCTTCGC	AGCCTCACCA	CTCTGCTTCG	GGCTCTGGGA	480
GCCCAGAAGG	AAGCCATCTC	CCCTCCAGAT	GCG			513

Popis sekvence SEQ ID NO : 113

A) Délka: 513 párů bází

B) Typ: nukleová kyselina

C) Řetězec: jednoduchý

D) Topologie: lineární

xi) Popis řetězce : SEQ ID NO: 113

TCAGCTGCTC	CACTCCGAAC	AATCACTGCT	GACACTTTCC	GCAAACCTCTT	CCGAGTCTAC	60
TCCAATTTCC	TCCGGGGAAA	GCTGAAGCTG	TACACAGGGG	AGGCCTGCAG	GACAGGGGAC	120
AGATGAGGCG	GCGGCTCCCC	CCACCACGCC	TCATCTGTGA	CAGCCGAGTC	CTGGAGAGGT	180
ACCTCTTGGA	GGCCAAGGAG	GCCGAGAATA	TCACGACGGG	CTGTGCTGAA	CACTGCAGCT	240
TGAATGAGAA	TAATCACTGT	CCCAGACACC	AAAGTTAATT	TCTATGCCTG	GAAGAGGATG	300
GAGGTCGGGC	AGCAGGCCGT	AGAAGTCTGG	CAGGGCCTGG	CCCTGCTGTC	GGAAGCTGTC	360
CTGCCGGGCC	AGGCCCTGTT	GGTCAACTCT	TCCCAGCCGT	GGGAGCCCCCT	GCAGCTGCAT	420
GTGGATAAAG	CCGTCAAGTG	CCTTCGCAGC	CTCACCCTC	TGCTTCGGGC	TCTGGGAGCC	480
CAGAAGGAAG	CCATCTCCCC	TCCAGATGCG	GCC			513



Popis sekvence SEQ ID NO : 114

- A) Délka: 513 párů bází
- B) Typ: nukleová kyselina
- C) Řetězec: jednoduchý
- D) Topologie: lineární

xi) Popis řetězce : SEQ ID NO: 114

GCTGCTCCAC	TCCGAACAAT	CACTGCTGAC	ACTTTCCGCA	AACTCTTCCG	AGTCTACTCC	60
AATTTCTCTCC	GGGGAAAGCT	GAAGCTGTAC	ACAGGGGAGG	CCTGCAGGAC	AGGGGACAGA	120
TGAGGCGGGCG	GCTCCCCCCA	CCACGCCTCA	TCTGTGACAG	CCGAGTCTCTG	GAGAGGTACC	180
TCTTGGAGGC	CAAGGAGGCC	GAGAATATCA	CGACGGGCTG	TGCTGAACAC	TGCAGCTTGA	240
ATGAGAATAA	TCACTGTCCC	AGACACCAAA	GTTAATTTCT	ATGCCTGGAA	GAGGATGGAG	300
GTCGGGCAGC	AGGCCGTAGA	AGTCTGGCAG	GGCCTGGCCC	TGCTGTCGGA	AGCTGTCCTG	360
CGGGGCCAGG	CCCTGTTGGT	CAACTCTTCC	CAGCCGTGGG	AGCCCCTGCA	GCTGCATGTG	420
GATAAAGCCG	TCAGTGGCCT	TCGCAGCCTC	ACCACTCTGC	TTCGGGCTCT	GGGAGCCCAG	480
AAGGAAGCCA	TCTCCCCTCC	AGATGCGGCC	TCA			513

Popis sekvence SEQ ID NO : 115

- A) Délka: 513 párů bází
- B) Typ: nukleová kyselina
- C) Řetězec: jednoduchý
- D) Topologie: lineární

xi) Popis řetězce : SEQ ID NO: 115

GCTCCACTCC	GAACAATCAC	TGCTGACACT	TTCCGCAAAC	TCTTCCGAGT	CTACTCCAAT	60
TTCCTCCGGG	GAAAGCTGAA	GCTGTACACA	GGGGAGGCCT	GCAGGACAGG	GGACAGATGA	120
GGCGGCGGCT	CCCCCACCA	CGCCTCATCT	GTGACAGCCG	AGTCCTGGAG	AGGTACCTCT	180
TGGAGGCCAA	GGAGGCCGAG	AATATCACGA	CGGGCTGTGC	TGAACACTGC	AGCTTGAATG	240
AGAATAATCA	CTGTCCCAGA	CACCAAAGTT	AATTTCTATG	CCTGGAAGAG	GATGGAGGTC	300
GGGCAGCAGG	CCGTAGAAGT	CTGGCAGGGC	CTGGCCCTGC	TGTCGGAAGC	TGTCCTGCGG	360
GGCCAGGCC	TGTTGGTCAA	CTCTTCCCAG	CCGTGGGAGC	CCCTGCAGCT	GCATGTGGAT	420
AAAGCCGTCA	GTGGCCTTCG	CAGCCTCACC	ACTCTGCTTC	GGGCTCTGGG	AGCCCAGAAG	480
GAAGCCATCT	CCCCTCCAGA	TGCGGCCTCA	GCT			513

Popis sekvence SEQ ID NO : 116

- A) Délka: 513 párů bází
- B) Typ: nukleová kyselina
- C) Řetězec: jednoduchý
- D) Topologie: lineární

xi) Popis řetězce : SEQ ID NO: 116



CCACTCCGAA CAATCACTGC TGACACTTTC CGCAAACCTCT TCCGAGTCTA CTCCAATTTC	60
CTCCGGGGAA AGCTGAAGCT GTACACAGGG GAGGCCTGCA GGACAGGGGA CAGATGAGGC	120
GGCGGCTCCC CCCACCACGC CTCATCTGTG ACAGCCGAGT CCTGGAGAGG TACCTCTTGG	180
AGGCCAAGGA GGCCGAGAAT ATCACGACGG GCTGTGCTGA ACACTGCAGC TTGAATGAGA	240
ATAATCACTG TCCCAGACAC CAAAGTTAAT TTCTATGCCT GGAAGAGGAT GGAGGTCGGG	300
CAGCAGGCCG TAGAAGTCTG GCAGGGCCTG GCCCTGCTGT CGGAAGCTGT CCTGCGGGGC	360
CAGGCCCTGT TGGTCAACTC TTCCCAGCCG TGGGAGCCCC TGCAGCTGCA TGTGGATAAA	420
GCCGTCAGTG GCCTTCGCAG CCTCACCCT CTGCTTCGGG CTCTGGGAGC CCAGAAGGAA	480
GCCATCTCCC CTCCAGATGC GGCCTCAGCT GCT	513

Popis sekvence SEQ ID NO : 117

A) Délka: 513 párů bází

B) Typ: nukleová kyselina

C) Řetězec: jednoduchý

D) Topologie: lineární

xi) Popis řetězce : SEQ ID NO: 117

CTCCGAACAA TCACTGCTGA CACTTTCGCG AAACCTCTTC GAGTCTACTC CAATTTTCCTC	60
CGGGGAAAGC TGAAGCTGTA CACAGGGGAG GCCTGCAGGA CAGGGGACAG ATGAGGCGGC	120
GGCTCCCCC ACCACGCCTC ATCTGTGACA GCCGAGTCTT GGAGAGGTAC CTCTTGGAGG	180
CCAAGGAGGC CGAGAATATC ACGACGGGCT GTGCTGAACA CTGCAGCTTG AATGAGAATA	240
ATCACTGTCC CAGACACCAA AGTTAATTTT TATGCCTGGA AGAGGATGGA GGTCGGGCAG	300
CAGGCCGTAG AAGTCTGGCA GGGCCTGGCC CTGCTGTCGG AAGCTGTCCT GCGGGGCCAG	360
GCCCTGTTGG TCAACTCTTC CCAGCCGTGG GAGCCCCTGC AGCTGCATGT GGATAAAGCC	420
GTCAGTGGCC TTCGCAGCCT CACCACTCTG CTTCGGGCTC TGGGAGCCCA GAAGGAAGCC	480
ATCTCCCCCTC CAGATGCGGC CTCAGCTGCT CCA	513

Popis sekvence SEQ ID NO : 118

A) Délka: 513 párů bází

B) Typ: nukleová kyselina

C) Řetězec: jednoduchý

D) Topologie: lineární

xi) Popis řetězce : SEQ ID NO: 118

CGAACAATCA CTGCTGACAC TTTCCGCAAA CTCTTCGAG TCTACTCCAA TTTCTCCGG	60
GGAAAGCTGA AGCTGTACAC AGGGGAGGCC TGCAGGACAG GGGACAGATG AGGCGGCGGC	120
TCCCCCACC ACGCCTCATC TGTGACAGCC GAGTCCTGGA GAGGTACCTC TTGGAGGCCA	180
AGGAGGCCGA GAATATCAGC ACGGGCTGTG CTGAACACTG CAGCTTGAAT GAGAATAATC	240
ACTGTCCCAG ACACCAAAGT TAATTTCTAT GCCTGGAAGA GGATGGAGGT CGGGCAGCAG	300
GCCGTAGAAG TCTGGCAGGG CCTGGCCCTG CTGTCGGAAG CTGTCCTGCG GGGCCAGGCC	360
CTGTTGGTCA ACTCTTCCA GCCGTGGGAG CCCCTGCAGC TGCATGTGGA TAAAGCCGTC	420
AGTGGCCTTC GCAGCCTCAC CACTCTGCTT CGGGCTCTGG GAGCCCAGAA GGAAGCCATC	480
TCCCTCCAG ATGCGGCCTC AGCTGCTCCA CTC	513

14.04.99

Popis sekvence SEQ ID NO : 119

- A) Délka: 513 párů bází
 B) Typ: nukleová kyselina
 C) Řetězec: jednoduchý
 D) Topologie: lineární

xi) Popis řetězce : SEQ ID NO: 119

ACAATCACTG	CTGACACTTT	CCGCAAACCTC	TTCCGAGTCT	ACTCCAATTT	CCTCCGGGGA	60
AAGCTGAAGC	TGTACACAGG	GGAGGCCTGC	AGGACAGGGG	ACAGATGAGG	CGGCGGCTCC	120
CCCCACCACG	CCTCATCTGT	GACAGCCGAG	TCCTGGAGAG	GTACCTCTTG	GAGGCCAAGG	180
AGGCCGAGAA	TATCACGACG	GGCTGTGCTG	AACACTGCAG	CTTGAATGAG	AATAATCACT	240
GTCCCAGACA	CCAAAGTTAA	TTTCTATGCC	TGGAAGAGGA	TGGAGGTCGG	GCAGCAGGCC	300
GTAGAAGTCT	GGCAGGGCCT	GGCCCTGCTG	TCGGAAGCTG	TCCTGCGGGG	CCAGGCCCTG	360
TTGGTCAACT	CTTCCCAGCC	GTGGGAGCCC	CTGCAGCTGC	ATGTGGATAA	AGCCGTCAGT	420
GGCCTTCGCA	GCCTCACCAC	TCTGCTTCGG	GCTCTGGGAG	CCCAGAAGGA	AGCCATCTCC	480
CCTCCAGATG	CGGCCTCAGC	TGCTCCACTC	CGA			513

Popis sekvence SEQ ID NO : 120

- A) Délka: 501 párů bází
 B) Typ: nukleová kyselina
 C) Řetězec: jednoduchý
 D) Topologie: lineární

xi) Popis řetězce : SEQ ID NO: 120

GCCCCACCAC	GCCTCATCTG	TGACAGCCGA	GTCTTGAGGA	GGTACCTCTT	GGAGGCCAAG	60
GAGGCCGAGA	ATATCACGAC	GGGCTGTGCT	GAACACTGCA	GCTTGAATGA	GAATATCACT	120
GTCCCAGACA	CCAAAGTTAA	TTTCTATGCC	TGGAAGAGGA	TGGAGGTCGG	GCAGCAGGCC	180
GTAGAAGTCT	GGCAGGGCCT	GGCCCTGCTG	TCGGAAGCTG	TCCTGCGGGG	CCAGGCCCTG	240
TTGGTCAACT	CTTCCCAGCC	GTGGGAGCCC	CTGCAGCTGC	ATGTGGATAA	AGCCGTCAGT	300
GGCCTTCGCA	GCCTCACCAC	TCTGCTTCGG	GCTCTGGGAG	CCCAGAAGGA	AGCCATCTCC	360
CCTCCAGATG	CGGCCTCAGC	TGCTCCACTC	CGAACAATCA	CTGCTGACAC	TTTCCGCAAA	420
CTCTTCCGAG	TCTACTCCAA	TTTCTCTCCG	GGAAAGCTGA	AGCTGTACAC	AGGGGAGGCC	480
TGCAGGACAG	GGGACAGATG	A				501

Popis sekvence SEQ ID NO : 121

- A) Délka: 166 aminokyselin
 B) Typ: aminokyselina
 C) Řetězec: jednoduchý
 D) Topologie: lineární

xi) Popis řetězce : SEQ ID NO: 121

14.04.99

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

Popis sekvence SEQ ID NO : 122

A) Délka: 170 aminokyselin

B) Typ: aminokyselina

C) Řetězec: jednoduchý

D) Topologie: lineární

xi) Popis řetězce : SEQ ID NO: 122

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

14.04.99

Gly	Gly	Ser	Ala	Pro	Pro	Arg	Leu	Ile	Cys	Asp	Ser	Arg	Val	Leu	Glu
	130					135					140				
Arg	Tyr	Leu	Leu	Glu	Ala	Lys	Glu	Ala	Glu	Asn	Ile	Thr	Thr	Gly	Cys
145					150					155					160
Ala	Glu	His	Cys	Ser	Leu	Asn	Glu	Asn	Ile						
				165					170						

Popis sekvence SEQ ID NO : 123

A) Délka: 4 aminokyseliny

B) Typ: aminokyselina

C) Řetězec: jednoduchý

D) Topologie: lineární

ii) Typ molekuly: žádný

xi) Popis řetězce : SEQ ID NO: 123

Gly Gly Gly Ser
1

Popis sekvence SEQ ID NO : 124

A) Délka: 8 aminokyselin

B) Typ: aminokyselina

C) Řetězec: jednoduchý

D) Topologie: lineární

ii) Typ molekuly: žádný

xi) Popis řetězce : SEQ ID NO: 124

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser
1 5

Popis sekvence SEQ ID NO : 125

A) Délka: 12 aminokyselin

B) Typ: aminokyselina

C) Řetězec: jednoduchý

D) Topologie: lineární

ii) Typ molekuly: žádný

14.04.99

xi) Popis řetězce : SEQ ID NO: 125

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser
 1 5 10

Popis sekvence SEQ ID NO : 126

A) Délka: 7 aminokyselin

B) Typ: aminokyselina

C) Řetězec: jednoduchý

D) Topologie: lineární

ii) Typ molekuly: žádný

xi) Popis řetězce : SEQ ID NO: 126

Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser
 1 5

Popis sekvence SEQ ID NO : 127

A) Délka: 5 aminokyselin

B) Typ: aminokyselina

C) Řetězec: jednoduchý

D) Topologie: lineární

ii) Typ molekuly: žádný

xi) Popis řetězce : SEQ ID NO: 127

Glu Phe Gly Asn Met
 1 5

Popis sekvence SEQ ID NO : 128

A) Délka: 6 aminokyselin

B) Typ: aminokyselina

C) Řetězec: jednoduchý

D) Topologie: lineární

ii) Typ molekuly: žádný

14.04.99

xi) Popis řetězce : SEQ ID NO: 128

Glu Phe Gly Gly Asn Met
1 5

Popis sekvence SEQ ID NO : 129

A) Délka: 9 aminokyselin

B) Typ: aminokyselina

C) Řetězec: jednoduchý

D) Topologie: lineární

ii) Typ molekuly: žádný

xi) Popis řetězce : SEQ ID NO: 129

Glu Phe Gly Gly Asn Gly Gly Asn Met
1 5

Popis sekvence SEQ ID NO : 130

A) Délka: 7 aminokyselin

B) Typ: aminokyselina

C) Řetězec: jednoduchý

D) Topologie: lineární

ii) Typ molekuly: žádný

xi) Popis řetězce : SEQ ID NO: 130

Gly Gly Ser Asp Met Ala Gly
1 5

Popis sekvence SEQ ID NO : 131

A) Délka: 27 aminokyselin

B) Typ: aminokyselina

C) Řetězec: jednoduchý

D) Topologie: lineární

ii) Typ molekuly: žádný

xi) Popis řetězce : SEQ ID NO: 131

14.04.99

GCGCGCCCAT GGACAATCAC TGCTGAC

27

Popis sekvence SEQ ID NO : 132

A) Délka: 15 aminokyselin

B) Typ: aminokyselina

C) Řetězec: jednoduchý

D) Topologie: lineární

ii) Typ molekuly: žádný

xi) Popis řetězce : SEQ ID NO: 132
TCTGTCCCCT GTCCT

15

Popis sekvence SEQ ID NO : 133

A) Délka: 43 aminokyselin

B) Typ: aminokyselina

C) Řetězec: jednoduchý

D) Topologie: lineární

ii) Typ molekuly: žádný

xi) Popis řetězce : SEQ ID NO: 133

GCGCGCAAGC TTATTATCGG AGTGGAGCAG CTGAGGCCGC ATC

43

Popis sekvence SEQ ID NO : 134

A) Délka: 21 aminokyselin

B) Typ: aminokyselina

C) Řetězec: jednoduchý

D) Topologie: lineární

ii) Typ molekuly: žádný

xi) Popis řetězce : SEQ ID NO: 134

GCCCCACCAC GCCTCATCTG T

21



PATENTOVÉ NÁROKY

1. Polypeptid agonisty receptoru erythropoietinu obsahující modifikovanou sekvenci aminokyselin s následujícím vzorcem:

AlaProProArgLeuIleCysAspSerArgValLeuGluArgTyrLeuLeuGluAlaLys
10 20

GluAlaGluAsnIleThrThrGlyCysAlaGluHisCysSerLeuAsnGluAsnIleThr
30 40

ValProAspThrLysValAsnPheTyrAlaTrpLysArgMetGluValGlyGlnGlnAla
50 60

ValGluValTrpGlnGlyLeuAlaLeuLeuSerGluAlaValLeuArgGlyGlnAlaLeu
70 80

LeuValAsnSerSerGlnProTrpGluProLeuGlnLeuHisValAspLysAlaValSer
90 100

GlyLeuArgSerLeuThrThrLeuLeuArgAlaLeuGlyAlaGlnLysGluAlaIleSer
110 120

ProProAspAlaAlaSerAlaAlaProLeuArgThrIleThrAlaAspThrPheArgLys
130 140

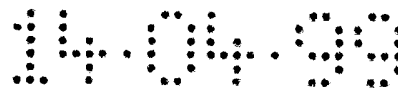
LeuPheArgValTyrSerAsnPheLeuArgGlyLysLeuLysLeuTyrThrGlyGluAla
150 160

CysArgThrGlyAspArg SEQ ID NO:121
166

kde případně 1 až 6 aminokyselin od N-konce a 1 až 5 od C-konce může být odstraněno z tohoto polypeptidu agonistu receptoru erythropoietinu,

kde N-konec je spojen s C-koncem přímo nebo spojovníkem schopným spojit N-konec s C-koncem a majícím nové C- a N-konce u aminokyselin:

23-24, 24-25, 25-26, 27-28, 28-29, 29-30, 30-31, 31-32, 32-33, 33-34, 34-35, 35-36, 36-37, 37-38, 38-39, 40-41, 41-42, 43-44, 44-45, 45-46, 45-56, 46-47, 47-48, 48-49, 50-51, 51-52, 52-53, 53-54, 54-55, 55-56, 56-57, 57-58, 77-78, 78-79, 79-80, 80-81, 81-82, 82-83, 84-85, 85-86, 86-87, 87-88, 88-89, 108-109, 109-110, 110-111, 111-112, 112-113, 113-114, 114-115, 115-116, 116-117, 117-118, 118-119, 119-120, 120-121, 121-122, 123-124, 124-125, 125-126, 126-127, 127-128, 128-129, 129-130, 131-132,



a tento polypeptid agonisty receptoru erythropoietinu může být případně bezprostředně předcházen (methionin⁻¹), (alanin⁻¹) nebo (methionin⁻², alanin⁻¹).

2. Polypeptid agonisty receptoru erythropoietinu podle nároku 1 vyznačený tím, že tento spojovník je vybraný ze skupiny sestávající z:

Gly Gly Gly Ser	SEQ ID NO: 123,
Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser	SEQ ID NO: 124,
Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser	SEQ ID NO: 125,
Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser	SEQ ID NO: 126,
Glu Phe Gly Asn Met	SEQ ID NO: 127,
Glu Phe Gly Gly Asn Met	SEQ ID NO: 128,
Glu Phe Gly Asn Gly Gly Asn Met	SEQ ID NO: 129 a
Gly Gly Ser Asp Met Ala Gly	SEQ ID NO: 130.

3. Polypeptid agonistu receptoru erythropoietinu podle nároku 1 vyznačený tím, že je vybraný ze skupiny sestávající z :

SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4,
 SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 8,
 SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 12,
 SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 16,
 SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 20,
 SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 22, SEQ ID NO: 23, SEQ ID NO: 24,
 SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO: 27, SEQ ID NO: 28,
 SEQ ID NO: 29, SEQ ID NO: 30, SEQ ID NO: 31, SEQ ID NO: 32,
 SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 34, SEQ ID NO: 35, SEQ ID NO: 36,
 SEQ ID NO: 37, SEQ ID NO: 38, SEQ ID NO: 39, SEQ ID NO: 40,
 SEQ ID NO: 41, SEQ ID NO: 42, SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 44,



SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 46, SEQ ID NO: 47, SEQ ID NO: 48,
 SEQ ID NO: 49, SEQ ID NO: 50, SEQ ID NO: 51, SEQ ID NO: 52,
 SEQ ID NO: 53, SEQ ID NO: 54, SEQ ID NO: 55, SEQ ID NO: 56,
 SEQ ID NO: 57, SEQ ID NO: 58, SEQ ID NO: 59 a SEQ ID NO: 122.

4. Polypeptid agonisty receptoru erythropoietinu podle nároku 3 vyznačený tím, že sekvence spojovníku (Gly Gly Gly Ser SEQ ID NO: 123) je nahrazená sekvencí spojovníku vybranou ze skupiny sestávající z:

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser	SEQ ID NO: 124,
Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser	SEQ ID NO: 125,
Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser	SEQ ID NO: 126,
Glu Phe Gly Asn Met	SEQ ID NO: 127,
Glu Phe Gly Gly Asn Met	SEQ ID NO: 128,
Glu Phe Gly Asn Gly Gly Asn Met	SEQ ID NO: 129 a
Gly Gly Ser Asp Met Ala Gly	SEQ ID NO: 130.

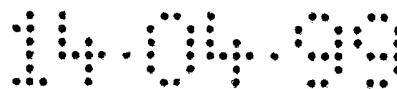
5. Molekula nukleové kyseliny obsahující sekvenci erythropoietinu kódující polypeptid agonisty receptoru erythropoietinu podle nároku 1.

6. Molekula nukleové kyseliny obsahující sekvenci erythropoietinu kódující polypeptid agonisty receptoru erythropoietinu podle nároku 2.

7. Molekula nukleové kyseliny obsahující sekvenci erythropoietinu kódující polypeptid agonisty receptoru erythropoietinu podle nároku 3.

8. Molekula nukleové kyseliny obsahující sekvenci erythropoietinu kódující polypeptid agonisty receptoru erythropoietinu vybraný ze skupiny sestávající z:

SEQ ID NO: 60, SEQ ID NO: 61, SEQ ID NO: 62, SEQ ID NO: 63,

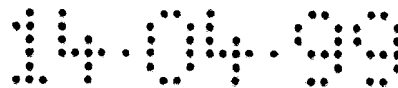


SEQ ID NO: 64, SEQ ID NO: 65, SEQ ID NO: 67, SEQ ID NO: 68,
SEQ ID NO: 69, SEQ ID NO: 70, SEQ ID NO: 71, SEQ ID NO: 72,
SEQ ID NO: 73, SEQ ID NO: 74, SEQ ID NO: 75, SEQ ID NO: 76,
SEQ ID NO: 77, SEQ ID NO: 78, SEQ ID NO: 79, SEQ ID NO: 80,
SEQ ID NO: 81, SEQ ID NO: 82, SEQ ID NO: 83, SEQ ID NO: 84,
SEQ ID NO: 85, SEQ ID NO: 86, SEQ ID NO: 87, SEQ ID NO: 88,
SEQ ID NO: 89, SEQ ID NO: 90, SEQ ID NO: 91, SEQ ID NO: 92,
SEQ ID NO: 93, SEQ ID NO: 94, SEQ ID NO: 95, SEQ ID NO: 96,
SEQ ID NO: 97, SEQ ID NO: 98, SEQ ID NO: 99, SEQ ID NO: 100,
SEQ ID NO: 101, SEQ ID NO: 102, SEQ ID NO: 103, SEQ ID NO: 104,
SEQ ID NO: 105, SEQ ID NO: 106, SEQ ID NO: 107, SEQ ID NO: 108,
SEQ ID NO: 109, SEQ ID NO: 110, SEQ ID NO: 111, SEQ ID NO: 112,
SEQ ID NO: 113, SEQ ID NO: 114, SEQ ID NO: 115, SEQ ID NO: 116,
SEQ ID NO: 117, SEQ ID NO: 118 a SEQ ID NO: 119.

9. Molekula nukleové kyseliny obsahující sekvenci DNA kódující polypeptid agonisty receptoru erythropoietinu podle nároku 4.

10. Způsob výroby polypeptidu agonisty receptoru erythropoietinu zahrnující kultivaci za vhodných nutričních podmínek hostitelské buňky transformované nebo transfektované replikovatelným vektorem obsahujícím tuto molekulu nukleové kyseliny podle nároku 5, 6, 7, 8 nebo 9 způsobem dovolujícím expresi tohoto polypeptidu agonisty receptoru erythropoietinu a získáním tohoto polypeptidu agonisty receptoru erythropoietinu.

11. Kompozice obsahující polypeptid agonisty receptoru erythropoietinu podle nároků 1, 2, 3 nebo 4 a farmaceuticky přijatelný nosič.



12. Kompozice obsahující polypeptid agonisty receptoru erythropoietinu podle nároků 1, 2, 3 nebo 4 a faktor a farmaceuticky přijatelný nosič.

13. Kompozice podle nároku 12, kde faktor je vybraný ze skupiny sestávající z GM-CSF, G-CSF, c-mpl ligand, M-CSF, IL-1, IL-4, IL-2, IL-3, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-9, IL-10, IL-11, IL-12, IL-13, IL-15, LIF, lidský růstový hormon, růstový faktor B-buněk, faktor diferenciacie B-buněk, faktor diferenciacie eosinofilů a faktor kmenových buněk, IL-3 varianty, fúzní proteiny, agonisty receptoru G-CSF, agonisty receptoru c-mpl, agonisty receptoru IL-3, multifunkční agonisty receptoru.

14. Způsob zvýšení tvorby krvetvorných buněk u pacienta vyznačený tím, že zahrnuje krok podávání tomuto pacientovi polypeptid agonisty receptoru erythropoietinu podle nároků 1, 2, 3 nebo 4.

15. Způsob zvýšení tvorby krvetvorných buněk *ex vivo* vyznačený tím, že zahrnuje kroky:

(a) kultivaci buněk progenitorů červených krvinek v kultivačním mediu obsahujícím polypeptid podle nároků 1, 2, 3 nebo 4 a

(b) sklizeň těchto kultivovaných buněk.

16. Způsob selektivního zvýšení tvorby krvetvorných buněk *ex vivo* vyznačený tím, že zahrnuje kroky:

a) oddělení buněk progenitorů červených krvinek od ostatních buněk,

b) kultivaci těchto oddělených buněk progenitorů červených krvinek ve vybraném kultivačním mediu obsahujícím polypeptid podle nároků 1, 2, 3 nebo 4 a

c) sklizeň těchto kultivovaných buněk.

17. Způsob léčení pacienta majícího krvetvornou poruchu vyznačený tím, že zahrnuje kroky:

a) odstranění buněk progenitorů červených krvinek,



b) kultivaci těchto oddělených buněk progenitorů červených krvinek v kultivačním mediu obsahujícím polypeptid podle nároků 1, 2, 3 nebo 4 a

c) sklizeň těchto kultivovaných buněk,

d) transplantaci těchto kultivovaných buněk tomuto pacientovi.

18. Způsob léčení pacienta majícího krvetvornou poruchu vyznačený tím, že zahrnuje kroky:

a) odstranění buněk progenitorů červených krvinek,

b) oddělení buněk progenitorů červených krvinek od ostatních buněk,

c) kultivaci těchto oddělených buněk progenitorů červených krvinek v kultivačním mediu obsahujícím polypeptid podle nároků 1, 2, 3 nebo 4 a

d) sklizeň těchto kultivovaných buněk,

e) transplantaci těchto kultivovaných buněk tomuto pacientovi.

19. Způsob podle nároku 15 vyznačený tím, že tyto buňky progenitorů červených krvinek se izolují z periferní krve.

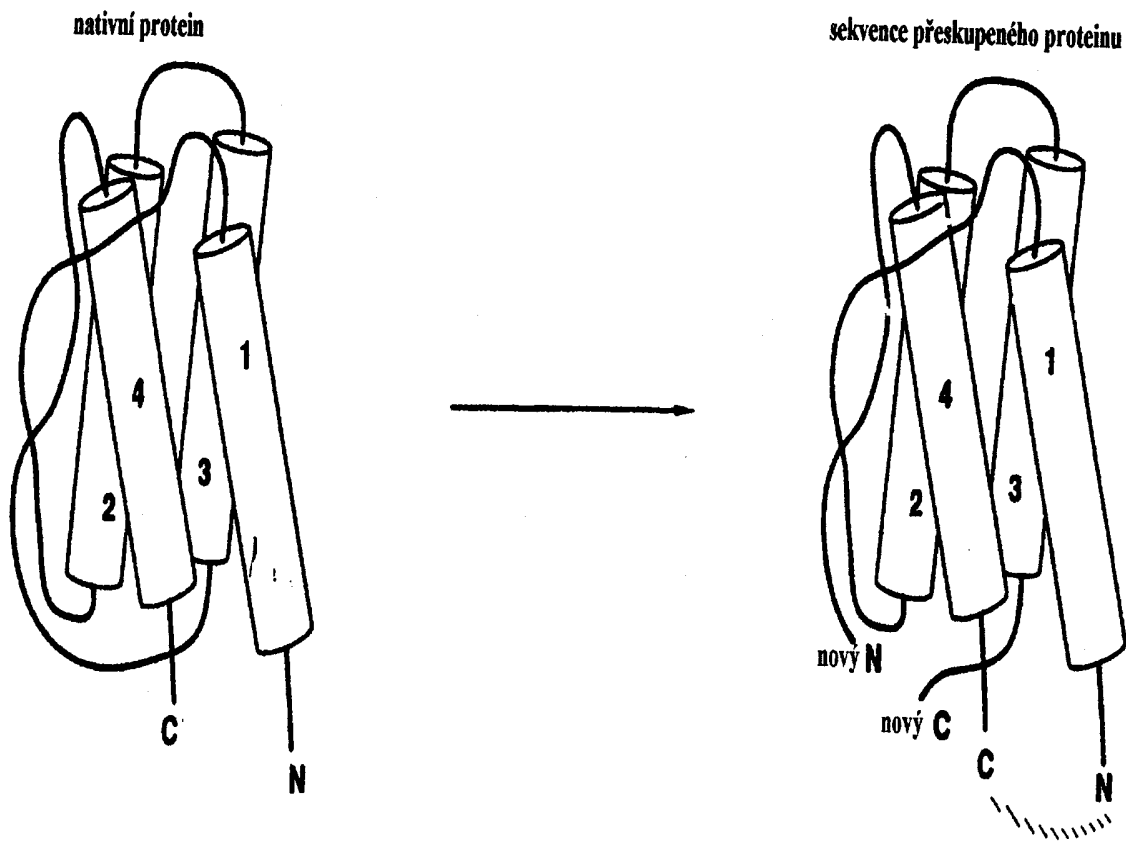
20. Způsob podle nároku 16 vyznačený tím, že tyto buňky progenitorů červených krvinek se izolují z periferní krve.

21. Způsob podle nároku 17 vyznačený tím, že tyto buňky progenitorů červených krvinek se izolují z periferní krve.

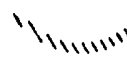
22. Způsob podle nároku 18 vyznačený tím, že tyto buňky progenitorů červených krvinek se izolují z periferní krve.

14.04.99

VH 4/9



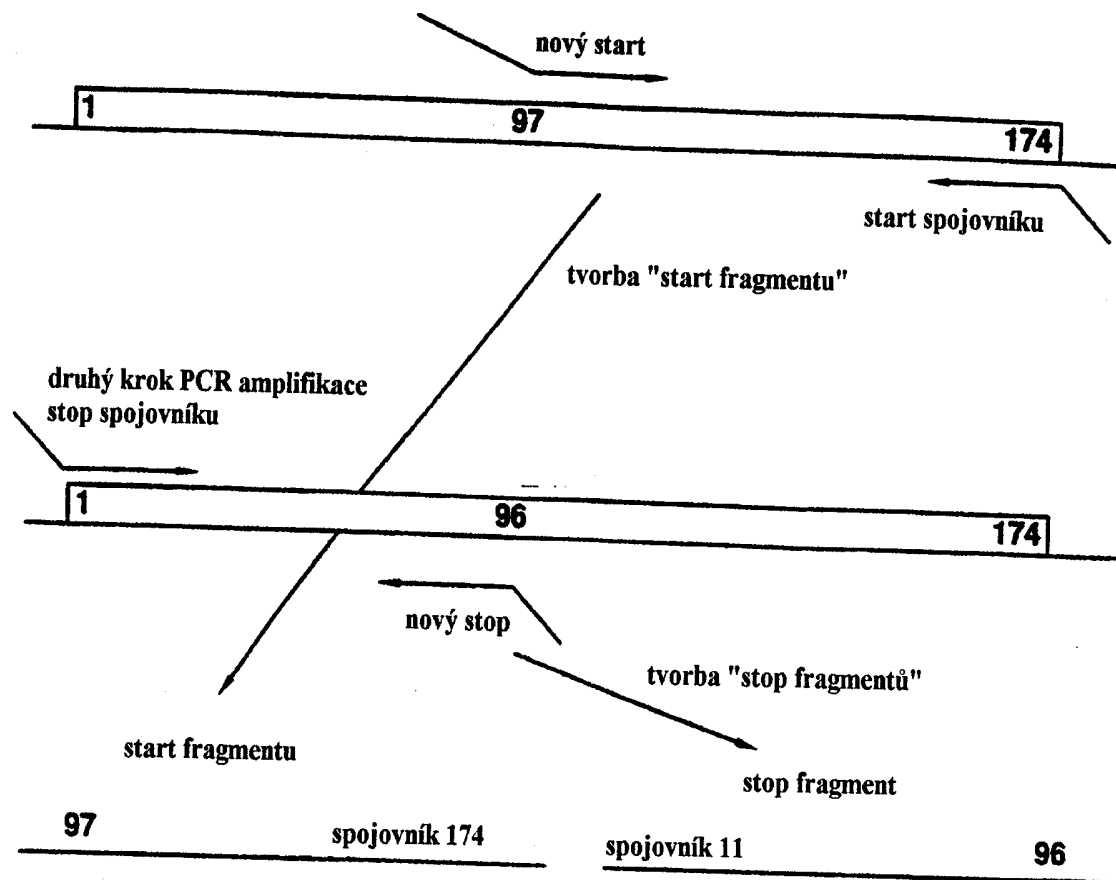
klíč

 opakující se sekundární struktura spojovník

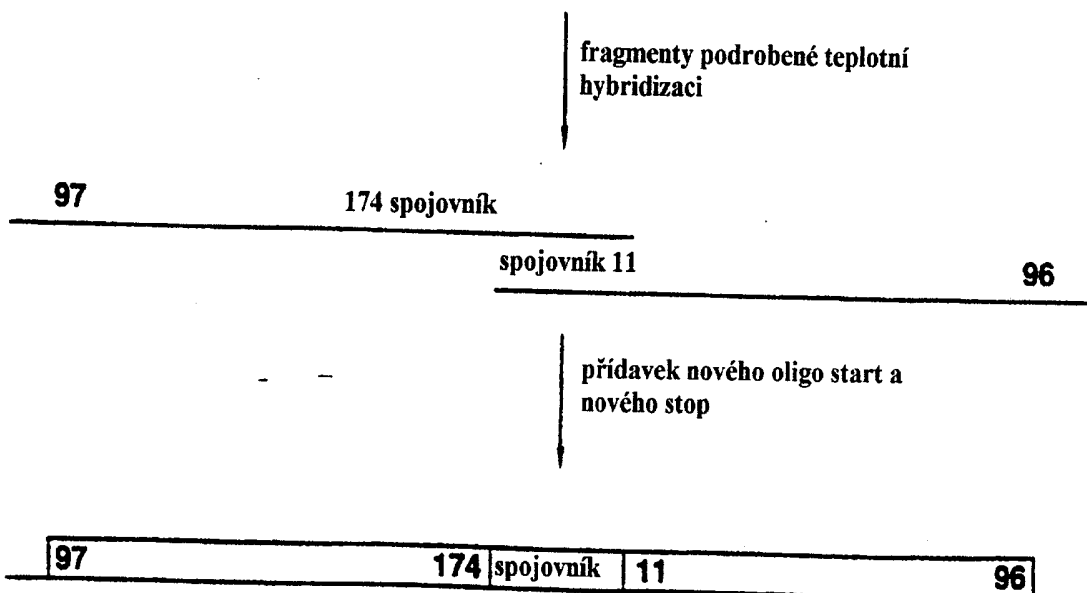
Obr. 1

14.04.99

první krok PCR amplifikace

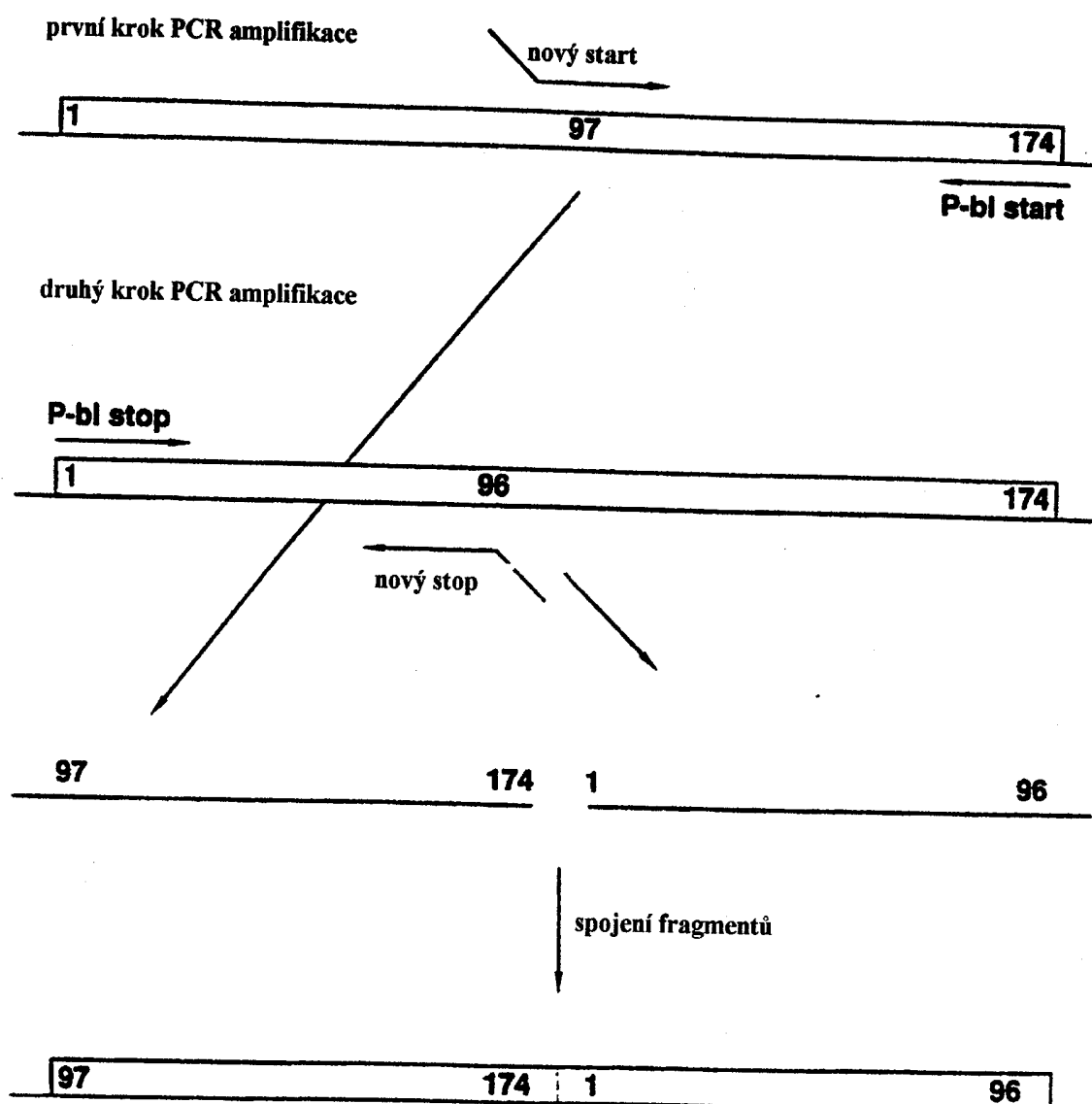


třetí krok PCR amplifikace



Obr. 2

14.04.99



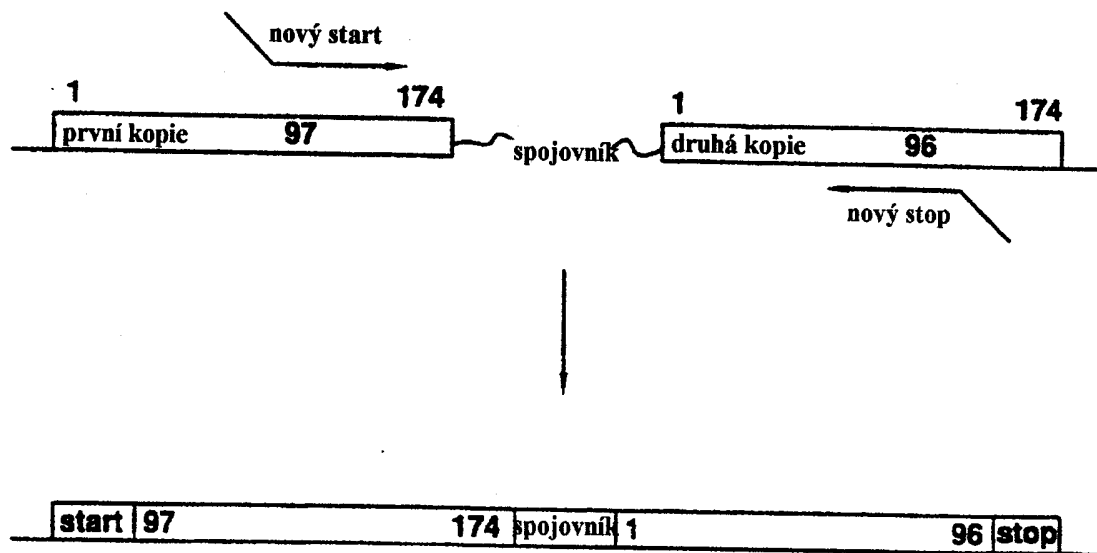
Obr. 3

14.04.99

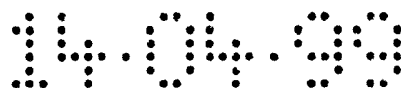
**I. konstrukt
tandemově-duplikovaného templátu**



**II. PCR-amplifikace
tandemově-duplikovaného templátu**



Obr. 4



1 -----+-----+-----+-----+-----+-----+ 60
 GCCCCACCACGCCTCATCTGTGACAGCCGAGTCCTGGAGAGGTACCTCTTGGAGGCCAAG
 CGGGGTGGTGGGAGTAGACACTGTCCGCTCAGGACCTCTCCATGGAGAACCTCCGGTTC
 AlaProProArgLeuIleCysAspSerArgValLeuGluArgTyrLeuLeuGluAlaLys
 61 -----+-----+-----+-----+-----+-----+ 120
 GAGGCCGAGAATATCACGACGGGCTGTGCTGAACACTGCAGCTTGAATGAGAATATCACT
 CTCCGGCTCTTATAGTGCTGCCCCGACGACTTGTGACGTCGAACTTACTCTTATAGTGA
 GluAlaGluAsnIleThrThrGlyCysAlaGluHisCysSerLeuAsnGluAsnIleThr
 121 -----+-----+-----+-----+-----+-----+ 180
 GTCCCAGACACCAAAGTTAATTTCTATGCCTGGAAGAGGATGGAGGTCCGGCAGCAGGCC
 CAGGGTCTGTGGTTTCAATTAAAGATACGGACCTTCTCCTACCTCCAGCCCGTCGTCCGG
 ValProAspThrLysValAsnPheTyrAlaTrpLysArgMetGluValGlyGlnGlnAla
 181 -----+-----+-----+-----+-----+-----+ 240
 GTAGAAGTCTGGCAGGGCCTGGCCCTGCTGTGCGGAAGCTGTCCTGCGGGGCCAGGCCCTG
 CATCTTCAGACCGTCCCGGACCGGGACGACAGCCTTCGACAGGACGCCCCGGTCCGGGAC
 ValGluValTrpGlnGlyLeuAlaLeuLeuSerGluAlaValLeuArgGlyGlnAlaLeu
 241 -----+-----+-----+-----+-----+-----+ 300
 TTGGTCAACTCTTCCCAGCCGTGGGAGCCCCCTGCAGCTGCATGTGGATAAAGCCGTCAGT
 AACCAGTTGAGAAGGGTCGGCACCCCTCGGGGACGTCGACGTACACCTATTTCGGCAGTCA
 LeuValAsnSerSerGlnProTrpGluProLeuGlnLeuHisValAspLysAlaValSer

14.04.99

GGCCTTCGCAGCCTCACCACTCTGCTTCGGGCTCTGGGAGCCCAGAAGGAAGCCATCTCC
 301 -----+-----+-----+-----+-----+-----+ 360
 CCGGAAGCGTCGGAGTGGTGAGACGAAGCCCGAGACCCTCGGGTCTTCCTTCGGTAGAGG
 GlyLeuArgSerLeuThrThrLeuLeuArgAlaLeuGlyAlaGlnLysGluAlaIleSer
 CCTCCAGATGCGGCCTCAGCTGCTCCACTCCGAACAATCACTGCTGACACTTTCCGCAAA
 361 -----+-----+-----+-----+-----+-----+ 420
 GGAGGTCTACGCCGGAGTCGACGAGGTGAGGCTTGTTAGTGACGACTGTGAAAGGCGTTT
 ProProAspAlaAlaSerAlaAlaProLeuArgThrIleThrAlaAspThrPheArgLys
 CTCTTCCGAGTCTACTCCAATTTCTCCGGGAAAGCTGAAGCTGTACACAGGGGAGGCC
 421 -----+-----+-----+-----+-----+-----+ 480
 GAGAAGGCTCAGATGAGGTTAAAGGAGGCCCTTTCGACTTCGACATGTGTCCCCTCCGG
 LeuPheArgValTyrSerAsnPheLeuArgGlyLysLeuLysLeuTyrThrGlyGluAla
 TGCAGGACAGGGGACAGATGA
 481 -----+-----+-- 501
 ACGTCCTGTCCCCTGTCTACT
 CysArgThrGlyAspArg

Obr. 6