

(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 101006188 B

(45) 授权公告日 2013.02.20

(21) 申请号 200580027551.6

(22) 申请日 2005.08.13

(30) 优先权数据

04019543.0 2004.08.18 EP

(85) PCT申请进入国家阶段日

2007.02.13

(86) PCT申请的申请数据

PCT/EP2005/008834 2005.08.13

(87) PCT申请的公布数据

W02006/018259 EN 2006.02.23

(73) 专利权人 塞诺菲-安万特德国有限公司

地址 德国法兰克福

(72) 发明人 P·阿内德特 D·马尔热里

B·布伦纳

(74) 专利代理机构 北京市中咨律师事务所

11247

代理人 黄革生 林柏楠

(51) Int. Cl.

C12Q 1/68 (2006.01)

(56) 对比文件

WO 01/77174 A2, 2001.10.18, 说明书第 94 页表 3、第 99 页表 4, 序列表第 12-14 页、第 28, 29 页, 权利要求 35, 38.

EP 1403368 A1, 2004.03.31, 实施例 1, 图 4.

US 5670113 A, 1997.09.23, 说明书第 4 栏第 3-4 段, 第 27 栏第 4 段.

审查员 潘浩

权利要求书 3 页 说明书 19 页

序列表 38 页 附图 36 页

(54) 发明名称

筛选肉毒碱转运蛋白激动剂或拮抗剂的方法及其用途

(57) 摘要

本发明涉及筛选肉毒碱转运蛋白激动剂或肉毒碱转运蛋白拮抗剂的方法、用于实施肉毒碱转运蛋白激动剂或肉毒碱转运蛋白拮抗剂筛选方法的试剂盒、制备用于治疗肉毒碱转运蛋白缺陷的药物的方法、诊断肉毒碱转运蛋白缺陷的方法、蛋白质用于制备与肉毒碱转运蛋白反应的抗体的用途、寡核苷酸以及治疗肉毒碱转运蛋白缺陷的方法。

1. 筛选肉毒碱转运蛋白激动剂或拮抗剂的方法,其中所述方法包括以下步骤:
 - (a) 提供肉毒碱转运蛋白,
 - (b) 提供测试化合物,
 - (c) 测量所述肉毒碱转运蛋白的活性,其中所述肉毒碱转运蛋白是氨基酸序列 SEQ ID NO :1、SEQ ID NO :2 或 SEQ ID NO :3,或者所述肉毒碱转运蛋白由这样的核酸分子编码,所述核酸分子是 SEQ ID NO :4、SEQ ID NO :5、SEQ ID NO :8 或 SEQ ID NO :15。
2. 根据权利要求 1 的方法,其中肉毒碱转运蛋白包含于脂膜中。
3. 根据权利要求 2 的方法,其中肉毒碱转运蛋白包含于细胞膜中。
4. 根据权利要求 2 的方法,其中肉毒碱转运蛋白包含于线粒体内膜或质膜中。
5. 根据权利要求 1 的方法,其中肉毒碱转运蛋白包含于脂囊泡膜中。
6. 根据权利要求 1 的方法,其中肉毒碱转运蛋白包含于测试细胞的质膜中。
7. 根据权利要求 6 的方法,其中测试细胞表达编码肉毒碱转运蛋白的核酸分子,所述肉毒碱转运蛋白是氨基酸序列 SEQ ID NO :1、SEQ ID NO :2 或 SEQ ID NO :3,或者所述测试细胞表达这样的核酸分子,所述核酸分子是 SEQ ID NO :4、SEQ ID NO :5、SEQ ID NO :8 或 SEQ ID NO :15。
8. 根据权利要求 7 的方法,其中测试细胞包含与转录激活子序列有效连接的 DNA 分子,所述 DNA 分子是 SEQ ID NO :4、SEQ ID NO :5、SEQ ID NO :8 或 SEQ ID NO :15,。
9. 根据权利要求 7 的方法,其中测试细胞含有可翻译 RNA 分子,所述 RNA 分子包含对应于以下的序列:SEQ ID NO :4、SEQ ID NO :5、SEQ ID NO :8 或 SEQ ID NO :15。
10. 根据权利要求 9 的方法,其中可翻译 RNA 分子是显微注射的 cRNA 分子,所述 cRNA 分子包含对应于以下的序列:SEQ ID NO :4、SEQ ID NO :5、SEQ ID NO :8 或 SEQ ID NO :15。
11. 根据权利要求 6-9 中任一项的方法,其中测试细胞在其质膜中包含功能性肉毒碱转运蛋白。
12. 根据权利要求 11 的方法,其中测试细胞为非洲爪蟾卵母细胞。
13. 根据权利要求 5-10 中任一项的方法,其中肉毒碱转运蛋白转运选自以下的底物穿过脂膜:肉毒碱、去甲肾上腺素、甲基苯基吡啶、肌酸和 / 或 5- 羟色胺。
14. 根据权利要求 13 的方法,其中肉毒碱转运蛋白转运选自以下的底物穿过脂膜进入测试细胞:肉毒碱、去甲肾上腺素、甲基苯基吡啶、肌酸和 / 或 5- 羟色胺。
15. 根据权利要求 1-10 中任一项的方法,其中使用可检测底物。
16. 根据权利要求 15 的方法,其中所述可检测底物是放射性底物、链霉抗生物素蛋白标记或生物素标记的底物或与抗体反应的底物。
17. 根据权利要求 15 的方法,其中转运穿过脂膜的底物量指示肉毒碱转运蛋白的活性。
18. 根据权利要求 1-10 中任一项的方法,其中在含有可表达核酸分子的测试细胞内形成的肉毒碱转运蛋白的量指示肉毒碱转运蛋白的活性,所述可表达核酸分子是 SEQ ID NO :4、SEQ ID NO :5、SEQ ID NO :8 或 SEQ ID NO :15,或者所述可表达核酸分子编码肉毒碱转运蛋白,所述肉毒碱转运蛋白是氨基酸序列 SEQ ID NO :1、SEQ ID NO :2 或 SEQ ID NO :3。
19. 根据权利要求 1-10 中任一项的方法,其中筛选测试化合物对于肉毒碱转运蛋白的激动剂或拮抗剂效应。

20. 根据权利要求 19 的方法,其中以化学品文库的形式提供测试化合物。
21. 根据权利要求 1-10 中任一项的方法,其中在机器人系统中实施所述方法。
22. 试剂盒,其用于实施根据权利要求 1-21 中任一项的方法,其包括:
 - (a) 包含肉毒碱转运蛋白的脂膜,
 - (b) 肉毒碱转运蛋白的可检测底物。
23. 根据权利要求 22 的试剂盒,其中肉毒碱转运蛋白是氨基酸序列 SEQ ID NO :1、SEQ ID NO :2 或 SEQ ID NO :3,或者其中肉毒碱转运蛋白由这样的核酸分子编码,所述核酸分子是 SEQ ID NO :4、SEQ ID NO :5、SEQ ID NO :8 或 SEQ ID NO :15。
24. 根据权利要求 22 的试剂盒,其中肉毒碱转运蛋白包含于脂囊泡膜中。
25. 根据权利要求 22 的试剂盒,其中肉毒碱转运蛋白包含于测试细胞的质膜中。
26. 制备用于治疗肉毒碱转运蛋白缺陷的药物的方法,其中所述方法包括以下步骤:
 - (a) 使用根据权利要求 1-21 中任一项的方法鉴定肉毒碱转运蛋白激动剂,
 - (b) 提供足量的所述激动剂,
 - (c) 将所述激动剂与一种或多种辅助物质配制在一起。
27. 权利要求 26 的制备药物的方法,其中所述辅助物质是可药用载体。
28. 根据权利要求 26 或 27 的制备药物的方法,所述药物用于治疗肾或肠的肉毒碱转运蛋白缺陷。
29. 根据权利要求 28 的制备药物的方法,所述药物用于治疗小肠的肉毒碱转运蛋白缺陷。
30. 根据权利要求 28 的制备药物的方法,所述药物用于治疗肉毒碱、去甲肾上腺素、甲基苯基吡啶、肌酸和 / 或 5- 羟色胺转运的缺陷。
31. 根据权利要求 28 的制备药物的方法,所述药物用于治疗全身性肉毒碱缺陷。
32. 测定组织样品中肉毒碱转运蛋白的量的物质在制备用于诊断肉毒碱转运蛋白缺陷的试剂盒中的用途,其中所述肉毒碱转运蛋白是氨基酸序列 SEQ ID NO :1、SEQ ID NO :2 或 SEQ ID NO :3。
33. 根据权利要求 32 的用途,其中使用与肉毒碱转运蛋白反应的抗体测定肉毒碱转运蛋白的量。
34. 测定组织样品中编码肉毒碱转运蛋白的核酸分子的量的物质在制备用于诊断肉毒碱转运蛋白缺陷的试剂盒中的用途,所述肉毒碱转运蛋白是氨基酸序列 SEQ ID NO :1、SEQ ID NO :2 或 SEQ ID NO :3。
35. 根据权利要求 34 的用途,其中使用核酸探针测定核酸分子的量,所述核酸探针包含编码肉毒碱转运蛋白的核酸分子的互补序列。
36. 根据权利要求 35 的用途,其中核酸探针包含 SEQ ID NO :4、SEQ ID NO :5、SEQ ID NO :8 或 SEQ ID NO :15 的互补序列。
37. 根据权利要求 36 的用途,其中核酸探针在非严格条件下与编码肉毒碱转运蛋白的核酸分子杂交。
38. 根据权利要求 36 的用途,其中核酸探针在严格条件下与编码肉毒碱转运蛋白的核酸分子杂交。
39. 根据权利要求 35 的用途,其中核酸探针包含含有至少 18 个核苷酸的寡核苷酸。

40. 根据权利要求 39 的用途,其中寡核苷酸 SEQ ID NO :6 或者 SEQID NO :7 的互补序列用于测定核酸分子的量。

41. 根据权利要求 39 的用途,其中所述寡核苷酸用作聚合酶链式反应的引物。

42. 根据权利要求 39 的用途,其中所述寡核苷酸用作 DNA 阵列的组分。

43. 根据权利要求 34 的用途,其中测定 DNA 分子的量。

44. 根据权利要求 34 的用途,其中测定 RNA 分子的量,所述 RNA 分子包含对应于以下的序列:SEQ ID NO :4、SEQ ID NO :5、SEQ ID NO :8 或 SEQ ID NO :15。

45. 根据权利要求 44 的用途,其中 RNA 分子反转录成 DNA 分子。

46. 根据权利要求 34 的用途,其中组织样品得自患者。

47. 根据权利要求 46 的用途,其中组织样品来自肾或肠。

48. 根据权利要求 46 的用途,其中组织样品来自小肠。

49. 编码肉毒碱转运蛋白的核酸分子在制备用于治疗肉毒碱转运蛋白缺陷的药物中的用途,其中所述肉毒碱转运蛋白是氨基酸序列 SEQ ID NO :1、SEQ ID NO :2 或 SEQ ID NO :3,其中所述核酸分子引入细胞。

50. 根据权利要求 49 的用途,其中所述核酸分子的 DNA 序列包含与如下序列有效连接的转录启动子序列:SEQ ID NO :4、SEQ ID NO :5、SEQID NO :8 或 SEQ ID NO :15。

51. 增强细胞中编码肉毒碱转运蛋白的核酸分子的转录活性的物质在制备治疗肉毒碱转运蛋白缺陷的药物中的用途,所述肉毒碱转运蛋白是氨基酸序列 SEQ ID NO :1、SEQ ID NO :2 或 SEQ ID NO :3。

52. 根据权利要求 51 的用途,其中增强了如下细胞基因的转录活性:所述细胞基因是 SEQ ID NO :4、SEQ ID NO :5、SEQ ID NO :8 或 SEQ IDNO :15。

53. 根据权利要求 46-52 任一项的用途,其中所述细胞为肾细胞、肠细胞、肝细胞、心细胞和 / 或肌细胞。

54. 根据权利要求 53 的用途,其中所述肠细胞是小肠细胞。

55. 根据权利要求 49-52 任一项的用途,其中所述药物用于治疗肉毒碱、去甲肾上腺素、甲基苯基吡啶、肌酸和 / 或 5-羟色胺转运的缺陷。

56. 根据权利要求 55 的用途,其中所述药物用于治疗全身性肉毒碱缺陷。

筛选肉毒碱转运蛋白激动剂或拮抗剂的方法及其用途

发明领域

[0001] 本发明涉及筛选肉毒碱转运蛋白激动剂或肉毒碱转运蛋白拮抗剂的方法、用于实施肉毒碱转运蛋白激动剂或肉毒碱转运蛋白拮抗剂筛选方法的试剂盒、制备用于治疗肉毒碱转运蛋白缺陷的药物的方法、诊断肉毒碱转运蛋白缺陷的方法、蛋白质用于制备与肉毒碱转运蛋白反应的抗体的用途、寡核苷酸以及治疗肉毒碱转运蛋白缺陷的方法。

技术背景

[0002] 人肉毒碱缺陷引起多种严重的症状 (Rodriguez P. R. 等, 1988, *Eur. J. Pediatr.*, 148, 193-197)。其中最严重的症状有心肌疾病、慢性肌无力和昏迷等, 它们是由低血糖或禁食后的生酮作用衰竭引起的, 这是组织特别是肝、肾、心、肌肉和肠中肉毒碱血清水平低的后果。

[0003] 肉毒碱缺陷症推测是肾和肠中肉毒碱转运蛋白缺陷的结果 (Rodriguez P. R. 等, 1988)。肾和肠中肉毒碱转运系统的紊乱可能引起脂肪酸转运和降解的紊乱, 导致多种严重症状, 特别是渐进性肌无力 (可通过脂质肌病和肉毒碱低肌肉水平诊断)、心肌疾病和呼吸障碍、低血压、呼吸功能不全、低血糖、肝肿大、肝衰竭、心率失常、意识丧失、肥厚型心肌疾病或扩张型心肌疾病、婴儿猝死、昏迷、肝功能紊乱、横纹肌溶解、外周神经病变、视网膜病变、肝病、伴有面中部发育不全的先天性畸形、肾囊肿、张力失常、新生儿心肌疾病、小头畸形、畸形。全身性肉毒碱缺陷是遗传性疾病, 其症状经常在新生儿和幼儿时期就已发生。

[0004] 到目前为止, 仅有促成罕见的常染色体隐性形式遗传性肉毒碱缺陷的机制是已知的, 其中肉毒碱转运蛋白 hOCTN2 的突变造成肉毒碱水平的降低 (Nezu J. I. 等 1999, *Nature Genet* 21 :91-94)。然而, hOCTN2 (其氨基酸序列可自 NCBI 数据库中以登录号 NP_003051 获得, 对应于本文的 SEQ ID NO :12) 并不以组织特异性方式在肠和肾中合成, 而是在人体中广泛合成。因此, 介导从饮食中摄取肉毒碱和通过从肾滤液中回收肉毒碱在肾中建立体内稳态 (Rodriguez P. R. 等, 1988) 的主要机制仍然未知。

[0005] 此外, OCTN2 不足以在肠和肾中介导肉毒碱摄取, 因为它只在肠和肾上皮的腔侧被检测到, 而在需要将肉毒碱转运到血管的远侧则没有 (Lahiouji K 等 2002, *Biochim Biophys Acta* 1558 :82-93)。很有意义的是, 有关于患全身性肉毒碱缺陷的患者只能通过静脉内施用肉毒碱治疗而不能通过饮食施用肉毒碱治疗的报道 (Rodriguez P. R. 等 1988, *Eur. J. Pediatr.* 148 :193-197)。

[0006] 因此, hOCTN2 缺陷不是大多数肉毒碱缺陷综合症的适宜标志。

[0007] 另外, 蛋白 CT2 (其氨基酸序列可在 NCBI (美国国家生物技术信息中心, National Center for Biotechnology Information USA) 以登录号 NP_149116 获得, 对应于本文的 SEQ ID NO :14) 是只在睾丸中形成的人肉毒碱转运蛋白。因此, 其缺陷不能解释全身性肉毒碱缺陷的症状。

[0008] WO 2001077174 公开了与本文 SEQ ID NO :1 对应的蛋白质, 但是没有提供关于该蛋白质作为肉毒碱转运蛋白的信息。以登录号 XM_291120 在 NCBI 数据库获得的氨基酸序

列(对应于本文的 SEQ ID NO :10) 包含 SEQ ID NO :1 的完整氨基酸序列和位于 SEQ ID NO :1 的氨基酸 296 和 297 之间包含 39 个氨基酸的附加序列(对应于 SEQ ID NO :10 的氨基酸 297 至 335), 因此是 SEQ ID NO :1 的剪接变体。U. S. 5, 559, 021 公开了与本文的 SEQ ID NO :1 共享 47% 氨基酸序列同一性的大鼠蛋白质 AAW07635 (rB21a), 但是没有提供关于该蛋白质作为肉毒碱转运蛋白的信息。与 AAW07653 相对应的人序列以登录号 AJ276207 见于 NCBI 数据库, 它与本文的 SEQ ID NO :1 共享 46% 的氨基酸序列同一性, 然而它被认为是神经递质转运蛋白。CN 1287170 公开了蛋白 AAG64193, 它与本文的 SEQ ID NO :1 共享 47% 的氨基酸序列同一性, 然而它被认为是人神经物质运输蛋白。EP 881290 公开了 AAW73376 蛋白, 即人 HPDDV78, 它与本文的 SEQ ID NO :1 共享 46% 的氨基酸序列同一性, 然而它被认为是神经递质转运蛋白。本文包括的小鼠和大鼠氨基酸序列 SEQ ID NO :2 和 SEQ ID NO :3 形成公共数据库中可获得的部分序列, 但它们未被注释并且未被认为构成肉毒碱转运蛋白。

[0009] 从上文可见, 没有已知的肠或肾组织特异性合成的肉毒碱转运蛋白, 因此也没有已知的其缺陷能解释大多数肉毒碱缺陷综合征的酶。

[0010] 因此, 目前尚没有在肉毒碱转运蛋白水平上检测大多数肉毒碱缺陷综合征的诊断方法, 而是必须等待相关酶的检测。此外, 目前没有在相关紊乱酶活性的水平上治疗全身性肉毒碱缺陷的治疗方法。目前仅有的治疗方法是施用肉毒碱, 这经常具有肉毒碱从肠的摄取降低或甚至丧失的问题。

发明内容

[0011] 由此看来, 需要提供诊断和治疗肉毒碱缺陷的新方法。因此, 本发明的目的在于提供诊断肉毒碱缺陷的新方法。本发明的另一目的涉及治疗肉毒碱缺陷的新治疗方法。本发明的又一目的在于诊断肉毒碱缺陷相关疾病的新方法和治疗肉毒碱缺陷相关疾病的新治疗方法。

[0012] 本发明提供在肠和肾(特别是人、小鼠和大鼠)中以组织特异性方式形成的肉毒碱转运蛋白的良好用途。本发明检测的人肉毒碱转运蛋白包含氨基酸序列 SEQ ID NO :1, 密切相关的小鼠肉毒碱转运蛋白包含氨基酸序列 SEQ ID NO :2, 密切相关的大鼠肉毒碱转运蛋白包含氨基酸序列 SEQ ID NO :3。本发明尤其涉及开发影响肉毒碱转运蛋白活性的药物的方法和相关测试试剂盒、制备用于治疗肉毒碱缺陷的药物的方法、制备针对肉毒碱转运蛋白的抗体的方法、肉毒碱缺陷的诊断方法、用于检测编码肉毒碱转运蛋白的核酸的寡核苷酸以及用于治疗肉毒碱缺陷的治疗方法。

[0013] 本发明的第一个优选实施方案涉及筛选肉毒碱转运蛋白激动剂或拮抗剂的方法, 其中所述方法包含以下步骤:(a) 提供肉毒碱转运蛋白, (b) 提供测试化合物, 和 (c) 测量肉毒碱转运蛋白的活性。

[0014] 优选地, 筛选肉毒碱转运蛋白激动剂或拮抗剂的方法包括 (a) 提供含有编码肉毒碱转运蛋白的核酸分子的细胞、组织样品或生物, (b) 对所述细胞、组织样品或生物提供测试化合物, 和 (c) 测量肉毒碱转运蛋白的活性。优选地, 测量肉毒碱转运蛋白的活性包括测定编码肉毒碱转运蛋白的核酸分子的表达和 / 或对所述细胞、组织样品或生物提供肉毒碱转运蛋白的底物, 并测量该底物通过肉毒碱转运蛋白穿过所述细胞、组织样品或生物的脂膜的转运。测定编码肉毒碱转运蛋白的核酸分子的表达优选包括测定核酸分子的转录活性

和 / 或测定肉毒碱转运蛋白的蛋白质量。

[0015] 或者,筛选肉毒碱转运蛋白激动剂或拮抗剂的方法优选包括 (a) 提供包含于脂膜之中的肉毒碱转运蛋白,所述脂膜将含有水性介质的两相隔开,(b) 对所述至少一相提供测试化合物,和 (c) 测量肉毒碱转运蛋白的活性,其中测量肉毒碱转运蛋白的活性包括对至少一相提供肉毒碱转运蛋白的底物并测量底物穿过所述脂膜的转运。

[0016] 优选对测试化合物测试对于肉毒碱转运蛋白的激动剂或拮抗剂活性。优选对多种测试化合物筛选肉毒碱转运蛋白激动剂或拮抗剂。肉毒碱转运蛋白的适当底物优选为肉毒碱、去甲肾上腺素、甲基苯基吡啶、肌酸或 5- 羟色胺。

[0017] 优选通过测定肉毒碱转运蛋白对底物的转运率来测量肉毒碱转运蛋白的活性。优选测定底物穿过脂膜的转运率。优选测定底物从一相至另一相的转运率。优选地,脂膜分隔实验装置的两个腔,或者封闭形成脂囊泡膜或形成活细胞或重构细胞的质膜。优选地,脂膜含有肉毒碱转运蛋白,其取向允许将底物从一个腔转运至另一个腔,或者穿过脂囊泡膜或穿过脂膜转运。优选地,测定底物穿过脂膜的转运率优选包括测量穿过脂膜转运的底物量。

[0018] 优选地,通过测量存在测试化合物时肉毒碱转运蛋白对底物的转运率,并将其与不存在测试化合物时肉毒碱转运蛋白对底物的转运率进行比较,来测定测试化合物对于肉毒碱转运蛋白活性的激动剂或拮抗剂活性。方法优选包括对照测量,其中测量没有肉毒碱转运蛋白时底物通过脂膜的转运。

[0019] 在本发明的任何实施方案中,肉毒碱转运蛋白的底物是由肉毒碱转运蛋白转运、优选由植物或动物肉毒碱转运蛋白转运、优选由哺乳动物肉毒碱转运蛋白转运、优选由人、小鼠或大鼠肉毒碱转运蛋白转运、特别是由人、小鼠或大鼠肾或肠肉毒碱转运蛋白转运的任何底物。优选的,底物是由以下肉毒碱转运蛋白转运的任何底物:包含氨基酸序列 SEQ ID NO :1、SEQ ID NO :2 或 SEQ ID NO :3 或由包含 SEQ ID NO :4 的核酸分子编码的肉毒碱转运蛋白,或者本发明的任一实施方案中公开的肉毒碱转运蛋白。优选底物为肉毒碱、去甲肾上腺素、甲基苯基吡啶、肌酸和 / 或 5- 羟色胺。更优选底物为肉毒碱。

[0020] 在本发明的实施方案中,肉毒碱优选包括 L- 肉毒碱和 / 或 D- 肉毒碱,优选 L- 肉毒碱。优选地,肉毒碱包括肉毒碱衍生物和 / 或肉毒碱类似物。优选地,肉毒碱衍生物包括肉毒碱代谢物和肉毒碱缀合物。优选地,肉毒碱代谢物包括通过体内 L- 肉毒碱或 D- 肉毒碱的化学改变形成的生理肉毒碱代谢物,如乙酰肉毒碱。优选地,肉毒碱缀合物包括与效应分子偶联的 L- 肉毒碱、D- 肉毒碱或肉毒碱类似物。优选地,效应分子是通过肉毒碱转运蛋白与肉毒碱一起共转运通过脂膜的化学化合物。优选地,效应分子为药物。优选地,偶联可以是任何化学键,优选共价键、离子键或范德华键。优选地,肉毒碱类似物是具有与肉毒碱类似的化学结构而使其可以被肉毒碱转运蛋白转运的化学化合物。

[0021] 本发明筛选肉毒碱转运蛋白激动剂或拮抗剂的方法优选包括对测试化合物测试增强肉毒碱转运蛋白活性的激动剂作用。或者包括对测试化合物测试抑制肉毒碱转运蛋白活性的拮抗剂作用。优选的,本发明筛选肉毒碱激动剂或拮抗剂的方法适用于筛选大量测试化合物,其中对单个测试化合物的测试需时很短,并且优选对单个测试化合物的测试是经济的,并且仅需少量试剂特别是测试化合物。

[0022] 本发明筛选肉毒碱转运蛋白激动剂或拮抗剂的方法中测试的测试化合物优选为

小分子,优选是与蛋白质或酶辅因子结合的效应化化合物的候选者。测试化合物优选为这样的效应化化合物的候选者,所述效应化合物能与包含氨基酸序列 SEQ ID NO :1、SEQ ID NO :2 或 SEQ ID NO :3 的蛋白质或本发明实施方案中公开的任何肉毒碱转运蛋白结合。

[0023] 优选地,测试化合物是能与蛋白质或酶辅因子结合的效应化化合物的候选者,其中所述蛋白质或酶辅因子与包含氨基酸序列 SEQ ID NO :1、SEQ ID NO :2 或 SEQ ID NO :3 的蛋白质或本发明实施方案中公开的任何肉毒碱转运蛋白结合的化合物结合,或为其候选者。

[0024] 优选地,测试化合物是能与转录因子或翻译因子结合的效应化化合物的候选者,优选其中转录因子或翻译因子提高或降低包含氨基酸序列 SEQ ID NO :1、SEQ ID NO :2 或 SEQ ID NO :3 的蛋白质的合成,或者提高或降低本发明实施方案中公开的任何肉毒碱转运蛋白的合成。

[0025] 优选地,测试化合物是能直接或间接提高或降低转录因子或翻译因子的合成或活性的效应化化合物的候选者,优选其中转录因子或翻译因子提高或降低含有氨基酸序列 SEQ ID NO :1、SEQ ID NO :2 或 SEQ ID NO :3 的蛋白质的合成,或者提高或降低本发明实施方案中公开的任何肉毒碱转运蛋白的合成。

[0026] 优选地,测试化合物是任何化合物,如天然存在化合物或与天然存在化合物相同或相似的化学合成化合物或在自然界中不存在的任何化学合成化合物。

[0027] 天然存在化合物优选是可从多细胞或单细胞生物中检测或分离的化合物,特别是可以从动物、植物、真菌、酵母、细菌或其他含细胞微生物或病毒中检测或分离的化合物。优选通过组合化学合成在自然界中不存在的化学合成化合物。其优选含有前导结构,所述前导结构来自天然存在的化合物,优选来自能与蛋白酶或酶辅因子结合的效应分子的候选者。

[0028] 优选地,根据本发明方法鉴定或在本发明实施方案中使用的肉毒碱转运蛋白激动剂或拮抗剂分别增强或抑制个体(优选健康个体)肾或肠肉毒碱转运蛋白的活性。优选地,肉毒碱转运蛋白激动剂增强患肉毒碱转运蛋白缺陷的个体中肉毒碱转运蛋白的活性。优选地,肉毒碱转运蛋白激动剂增强肉毒碱转运蛋白数量降低的个体中肉毒碱转运蛋白的活性。优选地,肉毒碱转运蛋白激动剂或拮抗剂分别增强或降低个体中肉毒碱转运蛋白遗传变体的活性。优选地,肉毒碱转运蛋白激动剂增强与肉毒碱缺陷相关的肉毒碱转运蛋白遗传变体的活性。优选地,肉毒碱转运蛋白拮抗剂降低肉毒碱转运蛋白活性提高或肉毒碱转运蛋白量增加的个体中肉毒碱转运蛋白(优选肾或肠肉毒碱转运蛋白)的活性。优选地,本文所述的肉毒碱转运蛋白活性指肉毒碱转运蛋白对底物的转运率、肉毒碱转运蛋白的量和/或编码肉毒碱转运蛋白的核酸分子的表达强度。

[0029] 优选地,本发明筛选肉毒碱转运蛋白激动剂或拮抗剂的方法中提供的肉毒碱转运蛋白也可用于本发明的任何其他实施方案。肉毒碱转运蛋白优选为植物或动物肉毒碱转运蛋白,优选哺乳动物肉毒碱转运蛋白,优选人、小鼠或大鼠肉毒碱转运蛋白,优选肾或肠肉毒碱转运蛋白,优选肠肉毒碱转运蛋白。

[0030] 优选地,肉毒碱转运蛋白包含本发明的氨基酸序列 SEQ ID NO :1、SEQ ID NO :2 或 SEQ ID NO :3。优选地,肉毒碱转运蛋白为健康个体的肾或肠中产生的高亲和力肉毒碱转运蛋白。优选地,肉毒碱转运蛋白包含人肾和肠的高亲和力肉毒碱转运蛋白的氨基酸序列 SEQ ID NO :1。优选地,肉毒碱转运蛋白包含氨基酸序列 SEQ ID NO :10,它是 SEQ ID NO :1 的功

能性剪接变体,包含位于 SEQ ID NO :1 的氨基酸 296 和 297 之间的 39 个氨基酸的附加序列(对应于 SEQ ID NO :10 中的氨基酸 297 至 335)。

[0031] 优选地,肉毒碱转运蛋白是健康动物的肾或肠中产生的直系同源小鼠或大鼠高亲和力和肉毒碱转运蛋白。优选地,肉毒碱转运蛋白分别包含小鼠或大鼠肾和肠高亲和力和肉毒碱转运蛋白的氨基酸序列 SEQ ID NO :2 或 SEQ ID NO :3。

[0032] 优选地,肉毒碱转运蛋白是包含与 SEQ ID NO :1、SEQ ID NO :2 或 SEQ ID NO :3 相关的氨基酸序列的相关肉毒碱转运蛋白。优选地,肉毒碱转运蛋白含有与 SEQ ID NO :1 相关的氨基酸序列。优选地,肉毒碱转运蛋白含有与 SEQ ID NO :10 相关的氨基酸序列。

[0033] 优选地,相关肉毒碱转运蛋白含有与 SEQ ID NO :1、SEQ ID NO :2、SEQ ID NO :3 或 SEQ ID NO :10 至少之一具有至少 30% 序列同一性的氨基酸序列,并且对至少一种底物(优选肉毒碱,优选 L-肉毒碱)而言具有包含氨基酸序列 SEQ ID NO :1 或 SEQ ID NO :10(优选 SEQ ID NO :1)的肉毒碱转运蛋白的底物转运活性的至少 10%、优选至少 30%、更优选至少 50%、更优选至少 70%。

[0034] 优选地,相关肉毒碱转运蛋白包含以下蛋白质的氨基酸序列:以登录号 AJ276207 获得的大鼠蛋白质 AAW07635(rB21a)、CN 1287170 中公开的蛋白质 AAG64193 或蛋白质 AAW73376 即 EP 881290 中公开的人 HPDDV78。

[0035] 优选地,相关肉毒碱转运蛋白包含与 SEQ ID NO :1、SEQ ID NO :2、SEQ ID NO :3 或 SEQ ID NO :10 至少之一具有至少 60% 序列同一性的氨基酸序列,并且对至少一种底物(优选肉毒碱、优选 L-肉毒碱)而言具有含有氨基酸序列 SEQ ID NO :1 或 SEQ ID NO :10(优选 SEQ ID NO :1)的肉毒碱转运蛋白的底物转运活性的至少 10%、优选至少 30%、更优选至少 50%、更优选至少 70%、更优选至少 80% 或至少 90%。

[0036] 优选地,肉毒碱转运蛋白包含与 SEQ ID NO :1、SEQ ID NO :2、SEQ ID NO :3 或 SEQ ID NO :10 至少之一具有至少 85%、优选至少 86%、优选至少 86.5% 序列同一性的氨基酸序列,并且对至少一种底物(优选肉毒碱、优选 L-肉毒碱)而言具有含有氨基酸序列 SEQ ID NO :1 或 SEQ ID NO :10(优选 SEQ ID NO :1)的肉毒碱转运蛋白的底物转运活性的至少 10%、优选至少 30%、更优选至少 50%、更优选至少 70%、更优选至少 80% 或至少 90%。

[0037] 优选地,肉毒碱转运蛋白含有与 SEQ ID NO :1、SEQ ID NO :2、SEQ ID NO :3 或 SEQ ID NO :10 至少之一具有至少 95%、优选至少 95.4% 序列同一性的氨基酸序列,并且对至少一种底物(优选肉毒碱、优选 L-肉毒碱)而言具有含有氨基酸序列 SEQ ID NO :1、SEQ ID NO :2、SEQ ID NO :3 或 SEQ ID NO :10 的肉毒碱转运蛋白的底物转运活性的至少 10%、优选至少 30%、更优选至少 50%、更优选至少 70%、更优选至少 80% 或至少 90%。

[0038] 优选地,肉毒碱转运蛋白的氨基酸序列通过所谓保守性氨基酸取代而有别于 SEQ ID NO :1、SEQ ID NO :2、SEQ ID NO :3 或 SEQ ID NO :10 的氨基酸序列,所述保守性氨基酸取代为技术人员所公知,并认为对蛋白质的活性没有或几乎没有影响,因而对肉毒碱转运蛋白的活性没有或几乎没有影响。优选地,肉毒碱转运蛋白通过氨基酸取代有别于 SEQ ID NO :1、SEQ ID NO :2、SEQ ID NO :3 和 / 或 SEQ ID NO :10,技术人员在考虑下文图 3 中公开的 SEQ ID NO :1、SEQ ID NO :2 和 SEQ ID NO :3 之间的氨基酸序列比对后认为所述氨基酸替换对肉毒碱转运蛋白的活性没有影响或几乎没有影响。

[0039] 优选地,本发明任何实施方案中使用的肉毒碱转运蛋白由编码肾和 / 或肠中产生

的人肉毒碱转运蛋白的核酸分子编码。优选地,所述核酸分子在肾和 / 或肠中组织特异性表达。优选地,核酸分子编码的人或小鼠或大鼠肉毒碱转运蛋白包含 SEQ ID NO :1、SEQ ID NO :2、SEQ ID NO :3 和 / 或 SEQ ID NO :10 的氨基酸序列。

[0040] 优选地,核酸分子包含 SEQ ID NO :4,其编码包含氨基酸序列 SEQ IDNO :1 的人肾和肠肉毒碱转运蛋白。优选地,核酸分子包含 SEQ ID NO :5,其编码包含氨基酸序列 SEQ ID NO :2 的直系同源小鼠肾和肠肉毒碱转运蛋白。优选地,核酸分子包含 SEQ ID NO :8,其编码包含氨基酸序列 SEQ ID NO :3 的直系同源大鼠肾和肠肉毒碱转运蛋白。

[0041] 优选地,核酸分子包含 SEQ ID NO :9,它是 SEQ ID NO :4 的功能性剪接变体,编码氨基酸序列 SEQ ID NO :10。SEQ ID NO :9 包含在 SEQ IDNO :4 的核苷酸 887 和 888 之间插入的 117 个核苷酸 (对应于 SEQ ID NO :9 的核苷酸 888 至 1004)。

[0042] 优选地,肉毒碱转运蛋白由包含 SEQ ID NO :15 的人肾和肠肉毒碱转运蛋白 mRNA 编码。SEQ ID NO :15 包含 SEQ ID NO :4 的开放读框和额外的非翻译 5' 和 3' 侧翼序列。本发明首次提供了包含 SEQ ID NO :15 的完整 mRNA,其编码包含 SEQ ID NO :1 的肉毒碱转运蛋白。SEQ ID NO :15 包含开放读框 SEQ ID NO :4 (编码 SEQ ID NO :1)、5' 侧翼区 (包含 SEQ IDNO :15 的核苷酸 1 至 45) 和的 3' 侧翼区 (包含 SEQ ID NO :15 的核苷酸 1951 至 5175)。

[0043] 优选地,肉毒碱转运蛋白由技术人员可检测的核酸分子编码,其中技术人员使用例行实验检测由包含与 SEQ ID NO :4、SEQ ID NO :5、SEQ IDNO :8、SEQ ID NO :9 或 SEQ ID NO :15 相似序列的核酸分子所编码的肉毒碱转运蛋白。优选地,肉毒碱转运蛋白由与 SEQ ID NO :4 相似的核酸序列编码。优选地,核酸分子与 SEQ ID NO :9 相似。优选地,核酸分子与 SEQ ID NO :15 相似。

[0044] 优选地,通过检测含有已知序列的核酸分子的例行实验可检测编码肉毒碱转运蛋白的核酸分子。优选地,通过检测含有与已知序列相似 (优选与已知核酸序列相关,优选与已知核酸序列同源) 序列的核酸分子的例行实验可检测编码肉毒碱转运蛋白的核酸分子。

[0045] 优选地,肉毒碱转运蛋白由与编码氨基酸序列 SEQ ID NO :1、SEQ IDNO :2 或 SEQ ID NO :3 的核酸分子相似的核酸分子编码。

[0046] 优选地,如果核酸分子包含具有可检测程度的序列同源性 (这是技术人员易于鉴别的)、优选具有可检测程度的序列同一性的序列,则它与编码本发明任一实施方案的肉毒碱转运蛋白的核酸分子相似。优选地,如果核酸分子编码包含与可用于本发明的肉毒碱转运蛋白具有可检测程度序列同源性 (优选具有可检测程度的序列同一性) 的序列的蛋白质,则核酸分子与编码本发明任一实施方案的肉毒碱转运蛋白的核酸分子相似。优选地,无需过度劳动就可以在杂交实验中检测核酸分子之间的序列同一性和序列同源性,其中在严格或非严格条件下允许互补碱基配对。

[0047] 优选地,如果核酸分子与包含 SEQ ID NO :4、SEQ ID NO :5、SEQ IDNO :8 或 SEQ ID NO :9、SEQ ID NO :15 或其互补序列的核酸分子杂交,或者与其包含至少 18 个核苷酸、优选至少 25 个核苷酸、优选至少 50 个核苷酸的片段或其互补序列杂交,则它与编码本发明实施方案的肉毒碱转运蛋白的核酸分子相似。优选使用非严格条件,更优选使用严格条件。以类似的方式确定编码氨基酸序列 SEQ ID NO :1、SEQ ID NO :2、SEQ ID NO :3 或 SEQ ID NO :10 的核酸分子的相似性。

[0048] 优选地,编码本发明实施方案的肉毒碱转运蛋白的核酸分子可被技术人员检测,

其中技术人员在检测中使用 SEQ ID NO :15 的 5' 侧翼区或 SEQ ID NO :15 的 3' 侧翼区, 优选 3' 侧翼区。优选使用 SEQ ID NO :153' 区的片段, 所述片段优选包含至少 18 个核苷酸, 优选至少 25 个核苷酸, 优选至少 50 个核苷酸。优选使用非严格条件, 更优选使用严格条件。检测优选包括杂交测定或 PCR 分析, 二者均基于熟知的互补碱基配对概念。

[0049] 杂交的非严格条件和严格条件是技术人员所公知的。优选地, 非严格条件包括 3×SSC、0.5% N- 十二烷基肌氨酸钠, 60°C。优选地, 严格条件包括 1×SSC、0.1% 十二烷基硫酸钠 (SDS), 65°C。优选地, 20×SSC 包含 3M NaCl、0.3M 柠檬酸钠, pH 7.0。

[0050] 在涉及提供包含于脂膜中的肉毒碱转运蛋白的本发明筛选肉毒碱转运蛋白激动剂和拮抗剂的方法中, 肉毒碱转运蛋白优选包含于细胞膜中, 优选线粒体内膜或质膜。合适的膜脂可以是天然存在的细胞膜膜脂和 / 或自然界中未知但为化学家已知的形成膜的脂类。

[0051] 优选地, 脂膜包含形成膜的脂类, 所述膜中可包含肉毒碱转运蛋白。这些脂类是技术人员所公知的。优选地, 可以使用脂类形成脂质体。优选地, 脂类是细胞膜的组分或来自细胞膜 (优选质膜或线粒体内膜)。优选地, 脂类与生物膜的脂类相同或具有相似的化学结构, 并能够在水性介质中形成具有两个亲水表面的脂双层或脂单层。

[0052] 优选地, 包含肉毒碱转运蛋白的脂膜将含有水性介质的两相分开。优选地, 两相为实验装置的两个缓冲液池。

[0053] 包含肉毒碱转运蛋白的脂膜优选包括重构细胞膜。重构细胞膜优选来自活细胞。形成重构细胞膜的方法为技术人员所公知。

[0054] 优选地, 肉毒碱转运蛋白包含于脂囊泡膜中。优选地, 脂囊泡包含脂质体或封闭的重构细胞膜。可通过任何合适的方法形成脂质体或重构细胞膜。优选地, 通过使包含至少一类膜脂和肉毒碱转运蛋白的混合物暴露于超声波或者通过使混合物通过小径出口 (特别是注射器) 引入缓冲溶液来形成脂质体或重构膜囊泡。优选地, 通过打开活细胞、提供肉毒碱转运蛋白和重新封闭脂膜来产生重构细胞。在细胞的打开和重新封闭过程中细胞质可以损失或无损失, 因此包含肉毒碱转运蛋白的重构质膜可以属于活细胞或者是所谓的血影膜 (ghost)。

[0055] 在优选的实施方案中, 肉毒碱转运蛋白包含于测试细胞的质膜中。优选地, 测试细胞表达编码肉毒碱转运蛋白的核酸分子, 其中优选植物或动物肉毒碱转运蛋白, 优选哺乳动物、优选小鼠或大鼠肉毒碱转运蛋白, 优选人肉毒碱转运蛋白, 优选肾或肠肉毒碱转运蛋白, 优选人、小鼠或大鼠肾或肠肉毒碱转运蛋白

[0056] 优选地, 测试细胞表达编码肉毒碱转运蛋白的核酸分子, 所述肉毒碱转运蛋白包含氨基酸序列 SEQ ID NO :1、SEQ ID NO :2、SEQ ID NO :3、SEQ ID NO :10、以登录号 AJ276207 获得的大鼠蛋白质 AAW07635 (rB21a)、CN 1287170 中公开的蛋白质 AAG64193 或蛋白质 AAW73376 即 EP 881290 中公开的人 HPDDV78, 优选测试细胞表达编码 SEQ ID NO :1、SEQ ID NO :2、SEQ ID NO :3、SEQ ID NO :10、优选 SEQ ID NO :1 或 SEQ ID NO :10、优选 SEQ ID NO :1 的核酸。优选地, 测试细胞表达包含 SEQ ID NO :4、SEQ ID NO :5、SEQ ID NO :8、SEQ ID NO :9 或 SEQ ID NO :15、优选 SEQ ID NO :4、SEQ ID NO :9 或 SEQ ID NO :15、优选 SEQ ID NO :4 或 SEQ ID NO :15 的核酸分子。优选地, 测试细胞包含与转录激活子序列有效连接的任一所述核酸分子, 优选与转录激活子序列有效连接的 SEQ ID NO :4、SEQ ID NO :9 或 SEQ ID NO :

15, 优选 SEQ ID NO :4 或 SEQ ID NO :15。优选地, 测试细胞包含可翻译 RNA 分子, 所述 RNA 分子包含与 SEQ ID NO :4、SEQ ID NO :9 或 SEQ ID NO :15、优选 SEQ ID NO :4 或 SEQ ID NO :15 相应的序列。优选地, 测试细胞包含显微注射的 cRNA 分子, 所述 cRNA 分子包含与 SEQ ID NO :4、SEQ ID NO :9 或 SEQ ID NO :15、优选 SEQ ID NO :4 或 SEQ ID NO :15 相应的序列。

[0057] 优选地, 测试细胞在其质膜中包含功能性肉毒碱转运蛋白。优选地, 肉毒碱转运蛋白穿过质膜转运选自肉毒碱、去甲肾上腺素、甲基苯基吡啶、肌酸和 / 或 5- 羟色胺的底物。优选地, 肉毒碱转运蛋白将底物转运至测试细胞之中。优选地, 测试细胞为细菌或真核细胞, 特别是酵母细胞。优选地, 测试细胞属于原代细胞系或永生化细胞系。优选地, 测试细胞为非非洲爪蟾 (*Xenopus laevis*) 卵母细胞。优选地, 非洲爪蟾卵母细胞包含注射的 cRNA, 所述 cRNA 包含 SEQ ID NO :4、SEQ ID NO :9 或 SEQ ID NO :15、优选 SEQ ID NO :4 或 SEQ ID NO :15 的序列。

[0058] 优选地, 使用肉毒碱转运蛋白的可检测底物。可检测底物优选允许在测试细胞内进行检测。优选地, 可检测底物允许对测试细胞内累积的小量可检测底物进行定量。

[0059] 本发明对测试化合物进行肉毒碱转运蛋白激动剂或拮抗剂活性筛选的方法优选包括测量肉毒碱转运蛋白穿过脂膜 (特别是穿过脂膜进入细胞) 转运的可检测底物量, 其中穿过脂膜的底物量指示肉毒碱转运蛋白的活性。

[0060] 优选地, 可检测肉毒碱转运蛋白底物为放射性标记的底物、链霉抗生物素蛋白标记的底物或生物素化的底物, 或与抗体反应的底物。

[0061] 优选地, 以化学化合物文库的形式提供用于筛选肉毒碱转运蛋白激动剂或拮抗剂活性的测试化合物。根据本发明, 术语“化学化合物文库”指汇集自任何多种来源 (包括化学合成分子和天然产物) 或通过组合化学技术产生的多种化学化合物。

[0062] 优选地, 本发明筛选肉毒碱转运蛋白激动剂或拮抗剂的方法是自动化的, 优选在机器人系统中进行。

[0063] 本发明的第二个优选实施方案涉及实施本发明筛选肉毒碱转运蛋白激动剂或拮抗剂方法的试剂盒, 所述试剂盒包括含有肉毒碱转运蛋白的脂膜和肉毒碱转运蛋白的可检测底物。本发明的试剂盒优选允许筛选包含于测试化合物组 (特别是化合物文库) 中的测试化合物。

[0064] 优选地, 本发明试剂盒中提供的肉毒碱转运蛋白为人、小鼠或大鼠肉毒碱转运蛋白。优选地, 肉毒碱转运蛋白包含氨基酸序列 SEQ ID NO :1、SEQ ID NO :2、SEQ ID NO :3、SEQ ID NO :10、以登录号 AJ276207 获得的大鼠蛋白质 AAW07635 (rB21a)、CN 1287170 中公开的蛋白质 AAG64193 或蛋白质 AAW73376 即 EP 881290 中公开的人 HPDDV78, 优选 SEQ ID NO :1、SEQ ID NO :2、SEQ ID NO :3 或 SEQ ID NO :10, 优选 SEQ ID NO :1 或 SEQ ID NO :10、优选 SEQ ID NO :1。优选地, 肉毒碱转运蛋白由包含 SEQ ID NO :4、SEQ ID NO :5、SEQ ID NO :9、SEQ ID NO :15、优选 SEQ ID NO :4 或 SEQ ID NO :15 的核酸分子编码, 或由编码至少一种所述蛋白质的核酸编码。优选地, 脂膜分隔实验装置中的两个相 (特别是两个缓冲液池), 或者封闭形成脂囊泡或形成活细胞或重构细胞的质膜。优选地, 肉毒碱转运蛋白包含于脂囊泡膜中。优选地, 肉毒碱转运蛋白包含于测试细胞的质膜中。

[0065] 优选地, 本发明的试剂盒包括肉毒碱转运蛋白的可检测底物, 特别是放射性、链霉抗生物素蛋白标记或生物素化底物或可用抗体检测的底物。优选地, 试剂盒包括与底物反

应的抗体。优选地,底物为肉毒碱、去甲肾上腺素、甲基苯基吡啶、肌酸和 / 或 5- 羟色胺。优选地,底物为肉毒碱。

[0066] 在本发明的任何实施方案中,“抗体”这一表述包括含有与本文所示抗原的反应性的任何单克隆抗体、抗血清(特别是多价抗血清)、抗血清级分、抗体片段、重组产生的抗体或抗体片段。

[0067] 优选地,本发明的试剂盒包括本发明筛选肉毒碱激动剂或拮抗剂方法的任何组分或要素。

[0068] 本发明的第三个优选实施方案涉及制备用于治疗肉毒碱转运蛋白缺陷的药物的方法,其中所述方法包括以下步骤:(a) 使用本发明筛选肉毒碱转运蛋白激动剂或拮抗剂的方法鉴定肉毒碱转运蛋白激动剂,(b) 提供足量的所述激动剂,和(c) 将所述激动剂与一种或多种可药用载体或辅助物质配制在一起。

[0069] 优选地,所述方法涉及制备用于治疗肾或肠肉毒碱转运蛋白的肉毒碱转运蛋白缺陷的药物。优选地,所述方法涉及制备用于治疗全身性肉毒碱缺陷的药物。

[0070] 优选地,所述方法涉及制备用于治疗肉毒碱、去甲肾上腺素、甲基苯基吡啶、肌酸和 / 或 5- 羟色胺转运缺陷的药物。优选地,所述方法涉及制备用于治疗由本发明的人或动物肉毒碱转运蛋白所转运的底物缺陷的药物,所述肉毒碱转运蛋白包含氨基酸序列 SEQ ID NO :1、SEQ ID NO :2、SEQ ID NO :3、SEQ ID NO :10、以登录号 AJ276207 获得的大鼠蛋白质 AAW07635(rB21a)、CN 1287170 中公开的蛋白质 AAG64193 或蛋白质 AAW73376 即 EP 881290 中公开的人 HPDDV78,优选 SEQ ID NO :1、SEQ ID NO :2、SEQ ID NO :3 或 SEQ ID NO :10,优选 SEQ ID NO :1 或 SEQ ID NO :10,优选 SEQ ID NO :1,或者所述肉毒碱转运蛋白由包含 SEQ ID NO :4、SEQ ID NO :5、SEQ ID NO :9、SEQ ID NO :15、优选 SEQ ID NO :4 或 SEQ ID NO :15 的核酸分子编码,或由编码至少一种所述蛋白质的核酸编码。优选地,所述方法涉及制备用于治疗由具有与本发明肉毒碱转运蛋白相似的氨基酸序列的任何肉毒碱转运蛋白所转运的任何底物缺陷的药物,所述缺陷可以如本文所公开进行检测,或者可以由技术人员基于本文的公开内容无需过度实验负担地检测。

[0071] 优选地,本发明筛选肉毒碱转运蛋白激动剂的任何方面还涉及以下步骤:鉴定本发明方法的肉毒碱转运蛋白激动剂以用于制备治疗肉毒碱转运蛋白缺陷的药物。

[0072] 在制备药物的方法中,足量的激动剂优选为治疗有效量,优选为药物单位给药剂量的治疗有效量。优选地,治疗有效量在治疗上足以用于治疗肉毒碱转运蛋白缺陷,所述肉毒碱转运蛋白缺陷由患者中功能性肉毒碱转运蛋白量的降低引起,或者由患者中活性降低的肉毒碱转运蛋白变体引起。

[0073] 任一特定患者的具体治疗有效剂量水平取决于多种因素,包括已鉴定的肉毒碱转运蛋白激动剂的活性、剂型、患者的年龄、体重和性别、治疗的持续时间和医药领域所熟知的其他因素。优选地,单位剂量在治疗上足以用于治疗成人、儿童、幼儿、新生儿或用于治疗妊娠期的未出生儿童。

[0074] 以单次剂量或分次剂量施用于人或其他哺乳动物的本发明肉毒碱转运蛋白激动剂的日总剂量在量上可以从例如约 0.01 至约 50mg/ 千克体重或更优选地从约 0.1 至约 25mg/ 千克体重。单次剂量组合物可以含有构成日剂量的这些量或其因数。一般而言,本发明的治疗方案包括每天以单次剂量或多次剂量对需要这种治疗的患者施用从约 10mg 至约

1000mg 的本发明肉毒碱转运蛋白激动剂。

[0075] 优选地,将一种以上肉毒碱转运蛋白激动剂的组合用于制备药物。药物还优选额外包含肉毒碱。优选地,根据单位剂量药物中包含的肉毒碱转运蛋白激动剂所介导的肉毒碱转运蛋白活性调整单位剂量的药物中所包含肉毒碱的量。

[0076] 就药物的产生而言,优选将本发明的肉毒碱转运蛋白激动剂与一种或多种可药用添加剂或辅助物质配制在一起,所述添加剂或辅助物质为例如生理缓冲液如氯化钠缓冲液、软化水、稳定剂如蛋白酶或核酸酶抑制剂、优选抑酶肽、 ϵ -氨基己酸或胃酶抑制剂 A、螯合剂如 EDTA、凝胶制剂如白凡士林、低粘度石蜡油和 / 或黄蜡等(取决于施用类型)。

[0077] 其他合适的添加剂为例如洗涤剂如 Trion X-100 或去氧胆酸钠以及多元醇如聚乙二醇或甘油、糖如蔗糖或葡萄糖、兼性离子化合物如氨基酸(如甘氨酸或尤其是牛磺酸或甜菜碱)和 / 或蛋白质如牛或人血清白蛋白。优选洗涤剂、多元醇和 / 或兼性离子化合物。

[0078] 生理缓冲液优选具有约 6.0-8.0 的 pH(特别是约 6.8-7.8 的 pH,尤其是约 7.4 的 pH)和 / 或约 200-400 毫渗透压摩尔 / 升(优选约 290-310 毫渗透压摩尔 / 升)的摩尔渗透压浓度。通常使用适当的有机或无机缓冲液调整药物组合物的 pH,例如优选使用磷酸缓冲液、tris 缓冲液(三(羟甲基)氨基甲烷)、HEPES 缓冲液([4-(2-羟乙基)哌嗪]乙磺酸)或 MOPS 缓冲液(3-吗啉代-1-丙磺酸)。各缓冲液的选择通常取决于所需的缓冲液摩尔浓度。例如,磷酸缓冲液适于注射和输注溶液。

[0079] 可以以常规方式施用药物组合物,如通过口服剂型的方式如片剂或胶囊、通过粘膜方式如通过鼻腔或口腔、以 dispositories 的形式植入皮肤下、通过含有本发明药物组合物的注射剂、输注剂或凝胶的方式。适当时,还可以以脂质体复合体的形式外用和局部施用药物组合物。此外,可以通过经皮治疗系统(TTS)进行治疗,它使得可以时序控制地释放药物组合物。可以例如 EP 0 944 398 A1、EP 0 916 336 A1、EP 0 889 723 A1 或 EP 0 852493 A1 中了解 TTS、

[0080] 如果仅需对机体施用相对小量的溶液或悬液(如约 1 至约 20ml),则一般使用注射液。如果需要施用较大的溶液或悬液(如 1 升或更多升),则一般使用输注液。与输注液相反,由于在注射液的情况下仅施用几毫升,因此就痛觉而言,注射中血或组织液的 pH 和渗透压的微小差异使其不被察觉或仅以不显著的程度被察觉。因此在使用前稀释本发明的制剂一般不是必要的。然而,对于施用相对大量的情况,应该在施用前将本发明的制剂快速稀释至获得至少大致等渗溶液的程度。等渗溶液的实例为 0.9%浓度的氯化钠溶液。对于输注的情况,可以使用如无菌水进行稀释,并通过例如所谓的分流术进行施用。

[0081] 药物组合物可以制备用于口、鼻、直肠、肠胃外、阴道、外用或阴道给药。肠胃外给药包括皮下、皮内、肌内、静脉内或腹膜内给药。

[0082] 此外,本发明还涉及肉毒碱转运蛋白的激动剂和拮抗剂,它们可使用本发明筛选肉毒碱转运蛋白激动剂或拮抗剂的方法进行鉴定。

[0083] 本发明第四个优选的实施方案涉及诊断动物(优选人患者)中肉毒碱转运蛋白效率的方法。优选地,所述方法包括测定得自动物或人患者的组织样品中肉毒碱转运蛋白的量,所述肉毒碱转运蛋白包含氨基酸序列 SEQ ID NO :1、SEQ ID NO :2、SEQ ID NO :3、SEQ ID NO :10、以登录号 AJ276207 获得的大鼠蛋白质 AAW07635(rB21a)、CN 1287170 中公开的蛋白质 AAG64193 或蛋白质 AAW73376 即 EP 881290 中公开的人 HPDDV78,优选包含 SEQ ID NO :

1、SEQ ID NO :2、SEQ ID NO :3 或 SEQ ID NO :10、优选 SEQ ID NO :1 或 SEQ ID NO :10、优选 SEQ ID NO :1。

[0084] 优选在诊断方法中使用与肉毒碱转运蛋白反应的抗体。优选使用本发明的抗体。优选测定与抗体反应的蛋白质的存在与否，其指示着组织样品中肉毒碱转运蛋白的存在与否。

[0085] 在优选的实施方案中，使用与肉毒碱转运蛋白缺陷相关肉毒碱转运蛋白变体反应的抗体。（使用抗体测定肉毒碱转运蛋白或其变体的量的）本发明诊断方法包括本领域的任何免疫学方法或在未来可用的方法，其中使用抗体测定其抗原的量。优选地，本发明涉及使用本领域已知的 ELISA 试验来确定组织样品中肉毒碱转运蛋白或其变体的存在与否。优选使用 ELISA 试验来确定得自患者的组织样品中肉毒碱转运蛋白与健康个体相比的相对量。优选地，本发明涉及本领域已知的 Western 分析，其中可以测定组织样品中肉毒碱转运蛋白或其变体的量和大小。

[0086] 在优选的实施方案中，诊断方法为使用组织样品进行的体外诊断方法，所述组织样品在本发明的诊断方法之前由动物或人患者获得。

[0087] 在另一优选的实施方案中，诊断方法包括额外的起始步骤，其中组织样品得自动物或人患者。优选地，诊断方法包括至少一个在动物或人患者体内进行的步骤。

[0088] 本发明的第五个优选实施方案涉及蛋白质或其片段用于制备与肉毒碱转运蛋白反应的抗体的用途，所述蛋白质包含氨基酸序列 SEQ ID NO :1、SEQ ID NO :2、SEQ ID NO :3、SEQ ID NO :10、以登录号 AJ276207 获得的大鼠蛋白质 AAW07635 (rB21a)、CN 1287170 中公开的蛋白质 AAG64193 或蛋白质 AAW73376 即 EP 881290 中公开的人 HPDDV78 优选 SEQ ID NO :1 或 SEQ ID NO :10、优选 SEQ ID NO :1，所述肉毒碱转运蛋白分别包含氨基酸序列 SEQ ID NO :1、SEQ ID NO :2、SEQ ID NO :3、SEQ ID NO :10、以登录号 AJ276207 获得的大鼠蛋白质 AAW07635 (rB21a)、CN 1287170 中公开的蛋白质 AAG64193 或蛋白质 AAW73376 即 EP 881290 中公开的人 HPDDV78、优选 SEQ ID NO :1 或 SEQ ID NO :10、优选 SEQ ID NO :1。优选使用与肉毒碱转运蛋白缺陷相关的肉毒碱转运蛋白变体。

[0089] 本发明抗体的制备涉及本领域可用或在未来可用的任何抗体生产方法。本发明抗体的制备涉及本文提到的“抗体”的任何意义的表述。

[0090] 优选将与动物或人患者的肉毒碱缺陷相关的肉毒碱转运蛋白变体用于制备抗体。与肉毒碱缺陷相关的肉毒碱转运蛋白变体为患肉毒碱缺陷（优选全身性肉毒碱缺陷）的动物或优选人患者的组织样品中包含的肉毒碱转运蛋白。肉毒碱转运蛋白变体优选包含于来自肾或肠的组织样品中。

[0091] 本发明的第六个优选实施方案涉及确定与肉毒碱转运蛋白缺陷相关的肉毒碱转运蛋白变体，其中所述方法包括以下步骤：(a) 测定编码与肉毒碱转运蛋白缺陷相关的变体的核酸序列，所述变体为 SEQ ID NO :1、SEQ ID NO :2 或 SEQ ID NO :3、SEQ ID NO :10、以登录号 AJ276207 获得的大鼠蛋白质 AAW07635 (rB21a)、CN 1287170 中公开的蛋白质 AAG64193 或蛋白质 AAW73376 即 EP 881290 中公开的人 HPDDV78，优选 SEQ ID NO :1 或 SEQ ID NO :10，优选 SEQ ID NO :1 的变体，和 (b) 推导所述肉毒碱转运蛋白的所述变体的氨基酸序列。

[0092] 优选使用含有肉毒碱转运蛋白变体的动物组织样品或人组织样品测定核酸序列。优选测定组织样品中包含的核酸分子的核酸序列。优选地，核酸序列对应于 SEQ ID NO :4、

SEQ ID NO :5、SEQ ID NO :8或SEQ ID NO :15,优选SEQ ID NO :4或SEQ ID NO :15,或者核酸编码肉毒碱转运蛋白变体,所述肉毒碱转运蛋白包含氨基酸序列SEQ ID NO :1、SEQ ID NO :2、SEQ ID NO :3、SEQ ID NO :10、以登录号AJ276207获得的大鼠蛋白质AAW07635(rB21a)、CN 1287170 中公开的蛋白质AAG64193 或蛋白质AAW73376 即 EP 881290 中公开的人HPDDV78, 优选SEQ ID NO :1 或SEQ ID NO :10,优选SEQ ID NO :1,优选SEQ ID NO :1 或SEQ ID NO :10,优选SEQ ID NO :1。

[0093] 优选使用任一本领域测定核酸序列的方法(特别是使用DNA测序方案)或任何未来可用的测定核酸序列的方法进行核酸序列的测定。

[0094] 优选使用本领域已知的明确的所谓遗传密码从编码肉毒碱转运蛋白变体的核酸序列推导肉毒碱转运蛋白的氨基酸序列,遗传密码为编码蛋白质的核苷酸序列开放读框中每个核苷酸碱基三联体指定一个单个氨基酸。

[0095] 本发明的第七个优选实施方案涉及诊断肉毒碱转运蛋白缺陷的方法,其中方法包括测定组织样品中编码肉毒碱转运蛋白的核酸分子的量,所述肉毒碱转运蛋白包含氨基酸序列SEQ ID NO :1、SEQ ID NO :2、SEQ IDNO :3、SEQ ID NO :10、以登录号AJ276207 获得的大鼠蛋白质AAW07635(rB21a)、CN 1287170 中公开的蛋白质AAG64193 或蛋白质AAW73376 即 EP 881290 中公开的人HPDDV78, 优选SEQ ID NO :1 或SEQ ID NO :10,优选SEQ ID NO :1, 优选SEQ ID NO :1 或SEQ ID NO :10,优选SEQ IDNO :1。优选测定编码包含SEQ ID NO :4、SEQ ID NO :5、SEQ ID NO :8 或SEQ ID NO :15、优选SEQ ID NO :4 或SEQ ID NO :15的核酸的量。

[0096] 优选测定DNA分子的量。优选测定RNA分子的量。优选测定包含SEQ ID NO :4、SEQ ID NO :5、SEQ ID NO :8 或SEQ ID NO :15,优选SEQ ID NO :4 或SEQ ID NO :15的DNA分子的量或相应RNA分子的量。优选测定编码氨基酸序列SEQ ID NO :1、SEQ ID NO :2、SEQ ID NO :3、SEQ ID NO :10、以登录号AJ276207 获得的大鼠蛋白质AAW07635(rB21a)、CN 1287170 中公开的蛋白质AAG64193 或蛋白质AAW73376 即 EP 881290 中公开的人HPDDV78, 优选SEQ ID NO :1 或SEQ ID NO :10,优选SEQ ID NO :1,优选SEQ ID NO :1 或SEQ ID NO :10,优选SEQ IDNO :1的DNA分子的量或相应RNA分子的量。

[0097] 优选地,诊断方法包括使用任何本领域已知方法或未来可用的方法测定核酸分子的量,所述核酸分子包含已知序列或与已知核酸序列具有可检测的相似性。优选地,诊断方法包括在编码肉毒碱转运蛋白的核酸分子与本发明的互补核酸探针之间进行互补碱基配对的步骤。

[0098] 优选地,本发明的核酸探针包括这样的核酸分子,所述核酸分子包含编码肉毒碱转运蛋白的核酸分子的互补序列。优选地,核酸探针包括SEQID NO :4、SEQ ID NO :5、SEQ ID NO :8 或SEQ ID NO :15,优选SEQ IDNO :4 或SEQ ID NO :15的互补序列。优选地,核酸探针在非严格条件下(优选在严格条件下)与编码肉毒碱转运蛋白的核酸分子杂交。优选地,核酸探针包括至少含有18个核苷酸的寡核苷酸。

[0099] 优选地,本发明的核酸探针与核酸分子变体杂交,所述核酸分子变体编码与肉毒碱转运蛋白缺陷相关的肉毒碱转运蛋白变体。优选地,核酸分子变体包括SEQ ID NO :4、SEQ ID NO :5、SEQ ID NO :8 或SEQ ID NO :15,优选SEQ ID NO :4 或SEQ ID NO :15的变体。

[0100] 优选地,互补碱基配对不仅指编码肉毒碱转运蛋白的核酸分子与包含互补序列的

核酸探针之间的碱基配对,还指核酸分子的变体与核酸探针之间的碱基配对,其中核酸探针仅与该核酸分子变体部分地互补。优选地,互补碱基配对使得可以检测任何编码肉毒碱转运蛋白变体的核酸分子,所述核酸分子与编码健康个体肉毒碱转运蛋白的核酸分子具有可检测的相似性。

[0101] 优选地,涉及核酸分子或核酸分子编码的肉毒碱转运蛋白或其任何变体(特别是与肉毒碱转运蛋白缺陷相关的任何变体)或其任何直系同源或同源变体的本发明任何实施方案还指包含相似序列(特别是如本文所述的)的核酸分子。相似序列优选以互补碱基配对杂交。相似序列优选在非严格条件下杂交,优选在严格条件下杂交。

[0102] 优选地,诊断方法涉及本领域核酸分子的杂交方法,特别是本领域的 Southern 杂交方法用于检测组织样品中编码肉毒碱转运蛋白的 DNA 分子或本领域的 Northern 杂交方法用于检测组织样品中编码肉毒碱转运蛋白的 RNA 分子。优选地,与组织样品中的 DNA 分子或 RNA 分子杂交的本发明核酸探针为 DNA 芯片的组分。优选地,诊断方法包括与本发明核酸探针杂交之前进行的从组织样品中提取 DNA 分子或 RNA 分子的步骤。

[0103] 优选地,诊断方法涉及扩增组织样品中编码肉毒碱转运蛋白的核酸分子的步骤。优选地该方法涉及本领域已知的用于扩增核酸分子的聚合酶链式反应(PCR)。优选扩增组织样品中包含的 DNA 分子。或者,在将 RNA 分子反转录成 DNA 分子的额外起始步骤之后,扩增组织样品中包含的 RNA 分子。

[0104] 本发明的第八个优选实施方案涉及包含 SEQ ID NO :6 或包含 SEQ IDNO :7 的互补序列的寡核苷酸。本发明的寡核苷酸使得可以有利地分离肾和肠的人高亲和力肉毒碱转运蛋白的基因。

[0105] 优选地,在本发明诊断肉毒碱转运蛋白缺陷的方法中使用包含 SEQ IDNO :6 或包含 SEQ ID NO :7 的互补序列的寡核苷酸。所述寡核苷酸优选用作聚合酶链式反应(PCR)的引物。所述寡核苷酸优选用作 DNA 阵列的组分。

[0106] 本发明的第九个优选实施方案涉及测定编码与肉毒碱转运蛋白缺陷相关的肉毒碱转运蛋白变体的核酸分子变体的方法,其中所述方法包括以下步骤:(a) 使用本发明第七个优选实施方案中诊断肉毒碱转运蛋白缺陷的方法从组织样品中分离编码肉毒碱转运蛋白变体的核酸分子,和(b) 测定所述核酸分子的核酸序列。

[0107] 本发明的第十个优选实施方案涉及治疗肉毒碱转运蛋白缺陷的方法,其中所述方法包括将编码肉毒碱转运蛋白的核酸分子引入细胞,所述肉毒碱转运蛋白包含氨基酸序列 SEQ ID NO :1、SEQ ID NO :2、SEQ ID NO :3、SEQ ID NO :10、以登录号 AJ276207 获得的大鼠蛋白质 AAW07635(rB21a)、CN 1287170 中公开的蛋白质 AAG64193 或蛋白质 AAW73376 即 EP 881290 中公开的人 HPDDV78,优选 SEQ ID NO :1 或 SEQ ID NO :10,优选 SEQ ID NO :1。优选将包含 SEQ ID NO :4、SEQ ID NO :5、SEQ IDNO :8 或 SEQ ID NO :15,优选 SEQ ID NO :4 或 SEQ ID NO :15 的 DNA 分子引入细胞。优选地,所述 DNA 序列包含与 SEQ ID NO :4、SEQ ID NO :5、SEQ ID NO :8 或 SEQ ID NO :15,优选 SEQ ID NO :4 或 SEQ ID NO :15 有效连接的转录启动子序列。

[0108] 本发明的第十一个优选实施方案涉及治疗肉毒碱转运蛋白缺陷的方法,其中所述方法包括增强细胞中编码肉毒碱转运蛋白的核酸分子的转录活性,所述肉毒碱转运蛋白包含氨基酸序列 SEQ ID NO :1、SEQ ID NO :2、SEQ ID NO :3、SEQ ID NO :10、以登录号 AJ276207

获得的大鼠蛋白质 AAW07635(rB21a)、CN 1287170 中公开的蛋白质 AAG64193 或蛋白质 AAW73376 即 EP 881290 中公开的人 HPDDV78, 优选 SEQ ID NO :1 或 SEQ ID NO :10, 优选 SEQ ID NO :1。优选增强包含 SEQ ID NO :4、SEQ ID NO :5、SEQ ID NO :8 或 SEQ ID NO :15, 优选 SEQ ID NO :4 或 SEQ ID NO :15 的细胞基因的活性。

[0109] 在本发明治疗肉毒碱转运蛋白缺陷的方法中, 引入了核酸分子或增强了编码肉毒碱转运蛋白的核酸分子的转录活性的细胞优选为肾细胞、肠细胞、肠细胞、肝细胞、心细胞和 / 或肌细胞。

[0110] 优选地, 本发明治疗肉毒碱转运蛋白缺陷的方法涉及治疗肉毒碱、去甲肾上腺素、甲基苯基吡啶、肌酸和 / 或 5-羟色胺转运蛋白或这样的蛋白质所接纳的任何底物的缺陷, 所述蛋白质包含氨基酸序列 SEQ ID NO :1、SEQ ID NO :2、SEQ ID NO :3、SEQ ID NO :10、以登录号 AJ276207 获得的大鼠蛋白质 AAW07635(rB21a)、CN 1287170 中公开的蛋白质 AAG64193 或蛋白质 AAW73376 即 EP 881290 中公开的人 HPDDV78, 优选 SEQ ID NO :1 或 SEQ ID NO :10, 优选 SEQ ID NO :1。优选地, 所述方法涉及治疗全身性肉毒碱缺陷。

[0111] 优选地, 本发明治疗肉毒碱转运蛋白缺陷的方法为在体外处理细胞的体外方法。优选在本发明治疗方法的步骤之前从患者分离细胞。

[0112] 本发明治疗方法的其他优选的实施方案涉及将编码肉毒碱转运蛋白的核酸分子引入人体 (优选肾和肠) 包含的细胞中, 所述肉毒碱转运蛋白包含氨基酸序列 SEQ ID NO :1、SEQ ID NO :2、SEQ ID NO :3、SEQ ID NO :10、以登录号 AJ276207 获得的大鼠蛋白质 AAW07635(rB21a)、CN1287170 中公开的蛋白质 AAG64193 或蛋白质 AAW73376 即 EP 881290 中公开的人 HPDDV78, 优选 SEQ ID NO :1 或 SEQ ID NO :10, 优选 SEQ ID NO :1。或者首先在体外操作细胞, 接着再转移进人体。

[0113] 优选地, 本发明治疗方法中使用的细胞得自肾或肠, 特别是得自肠。

[0114] 可以以裸露形式、基因转移载体的形式或与脂质体或金颗粒复合将包含 SEQ ID NO :4、SEQ ID NO :5、SEQ ID NO :8 或 SEQ ID NO :15, 优选 SEQ ID NO :4 或 SEQ ID NO :15 的核酸分子引入本发明筛选方法的测试细胞或本发明治疗方法所使用的人细胞之中。

[0115] 基因转移载体的实例为病毒载体, 如腺病毒载体或逆转录病毒载体 (Lindemann 等 (1997), Mol. Med., 3, 466-76 ; Springer 等 (1988) Mol. Cell., 2, 549-58)。与脂质体的复合体通常得到很高的转染效率, 特别是对于皮肤细胞 (Alexander 和 Akhurst, 1995, Hum. Mol. Genet. 4 :2279-85)。在脂转染中, 通过超声处理脂质体悬液制备由阳离子脂质组成的小单室囊泡。DNA 以此种比例离子结合在脂质体的表面, 从而保持正的净电荷并且所有的质粒 DNA 都与脂质体复合。除了 Feigner, P. L. 等 (1987), Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 84, 7413-7414 使用的 DOTMA (1, 2- 二油酰氧丙基 -3- 溴化三甲铵) 和 DOPE (二油酰磷脂酰乙醇胺) 以外, 现已合成了大量脂质制剂并测试了其在多种细胞系转染中的效率 (Behr 等 (1989) Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 86, 6982-6986 ; Gao 和 Huang (1991), Biochim. Biophys. Acta, 1189, 195-203 ; Feigner 等 (1994) J. Biol. Chem., 269, 2550-2561)。脂质制剂的实例为 DOTAP N-[1-(2, 3- 油酰氧) 丙基]-N, N, N- 三甲基硫酸甲酯铵或 DOGS (二 (十八烷基) 氨基甘氨酸精胺) (dioctadecylamidoglycylspermine)。

[0116] 提高核酸进入细胞的转移辅助物质可以是例如与 DNA 或合成肽 -DNA 分子结合的蛋白质或肽, 其使待转运的核酸可以进入细胞核 (Schwartz 等 (1999) Gene Therapy 6 :

282 ;Branden 等 (1999) *Nature Biotech.*, 17, 784)。辅助物质还包括能够使核酸释放到细胞质的分子 (Planck 等 (1994) *J. Biol. Chem.*, 269, 12918 ;Kichler 等 (1997) *Bioconj. Chem.*, 8, 213) 或例如脂质体 (Uhlmann 和 Peyman (1990), 同前)。

[0117] 可以通过将上文所述核酸应用于金颗粒并使用所谓的“基因枪”将这些颗粒射进组织或细胞中来获得另一种特别适合的形式 (Wang 等 (1999) *J. Invest. Dermatol.* 112 : 775-81, Tuting 等 (1998) *J. Invest. Dermatol.* 111 :183-8)。

[0118] 在下文的附图、序列和实施例中,参照附图 1 和 2 以及实施例更详细地描述了本发明的一些优选实施方案。然而优选实施方案的细节并不旨在限制本发明。相反,本发明涉及包含与本文的实施方案中的明确表述不同,但可由技术人员无需过度努力而发现的细节的任何实施方案。

附图说明

[0119] 图 1 显示举例说明本发明方法中涉及的肉毒碱转运蛋白对于不同底物的活性的直方图。图 1 显示测定包含氨基酸序列 SEQ ID NO :1 的肉毒碱转运蛋白对下述底物的活性的实例:L- 肉毒碱 (柱 1)、去甲肾上腺素 (柱 2)、甲基苯基吡啶 (柱 3) 和 5- 羟色胺 (柱 4)。在图 1 中,左侧柱 (1) 到 (4) 表示肉毒碱转运蛋白对各个底物的转运率 (pmol 小时^{-1} 卵母细胞⁻¹)。右侧柱 (1) 到 (4) 表示不含肉毒碱转运蛋白的合适对照的转运率。

[0120] 包含氨基酸序列 SEQ ID NO :2 或 SEQ ID NO :3 的肉毒碱转运蛋白具有与图 1 中所示包含 SEQ ID NO :1 的肉毒碱转运蛋白相当的活性。包含 SEQ ID NO :1、SEQ ID NO :2 或 SEQ ID NO :3 的肉毒碱转运蛋白还转运肌酸。

[0121] 图 1 显示使用非洲爪蟾卵母细胞得到的结果,在所述细胞中注射了包含 SEQ ID NO :4 的 cRNA 和放射性标记底物 L- 肉毒碱 (柱 1)、去甲肾上腺素 (柱 2)、甲基苯基吡啶 (柱 3) 和 5- 羟色胺 (柱 4)。示于每个柱右半边的对照包括使用以水代替 cRNA 注射的非洲爪蟾对每个底物进行的对照实验。

[0122] 图 2 显示举例说明本发明方法涉及的肉毒碱转运蛋白的动力学的图。图 2 显示了测定包含氨基酸序列 SEQ ID NO :1 的肉毒碱转运蛋白对底物 L- 肉毒碱的动力学的实例。肉毒碱转运蛋白对底物去甲肾上腺素、甲基苯基吡啶、5- 羟色胺和肌酸显示相当的动力学。包含氨基酸 SEQ ID NO :2 或 SEQ ID NO :3 的肉毒碱转运蛋白显示与图 2 所示相当的动力学。在图 2 中,图的 x 轴表示肉毒碱浓度 ($\mu\text{mol/升}$) 而 y 轴表示肉毒碱转运蛋白的转运率 (pmol 小时^{-1} 卵母细胞⁻¹)。

[0123] 如图 2 所示,肉毒碱转运蛋白对 L- 肉毒碱转运的浓度依赖性的测定显示了适用于 Michaelis-Menten 动力学的肉毒碱转运饱和度。在图 2 展示的实例中得到了 $15\mu\text{M}$ 的 K_M 值。因此,本发明方法中使用的肉毒碱转运蛋白 (特别是包含氨基酸序列 SEQ ID NO :1、SEQ ID NO :2 或 SEQ ID NO :3 或由 SEQ ID NO :4 编码的肉毒碱转运蛋白) 是高亲和力肉毒碱转运蛋白,例如已经描述在肾和肠中用于肉毒碱转运 (Lahjouji K, MaIo C, Mitchell GA, Qureshi IA, 2002, *Biochim Biophys Acta*, 1558, 82-93)。

[0124] 图 3 显示包含密切相关的小鼠、大鼠和人肾和肠肉毒碱转运蛋白的氨基酸序列比对,所述肉毒碱转运蛋白分别包含 SEQ ID NO :2 与 SEQ IDNO :3 和 SEQ ID NO :1,各包含 634 个氨基酸。单个肉毒碱转运蛋白的相应氨基酸位置在图 3 中排列在彼此下方,标记了在一

条序列的给定位置或全部三条序列的给定位置出现的氨基酸取代,这样可以观察相关蛋白质中所谓的保守区和观察更多可变区。

[0125] 从图 3 中的序列同一性很容易得出,全部三种蛋白质都密切相关,但小鼠与大鼠蛋白彼此间的相关性比人肉毒碱转运蛋白更为密切。此外,技术人员不需要过度劳动就可以从图 3 得出,所示序列的相关性超越了序列同一性,并在序列的相应位置包含所谓的保守性氨基酸取代。如本领域所熟知的,保守性氨基酸取代包含将给定序列位置处氨基酸取代为功能上相似的氨基酸,其中氨基酸的功能与其侧链基团的化学特性有关,特别是与电荷、酸性或碱性、亲水性、疏水性、硫含量、芳香性或大小,特别是小侧链基团有关。

[0126] 此外,技术人员不需要过度劳动就可以从图 3 得到包含任意数目的氨基酸的序列基序,所述基序是包含 SEQ ID NO :1、SEQ ID NO :2 和 / 或 SEQ ID NO :3 中的两种或三种的氨基酸序列组的特征性序列,或者是单个肉毒碱转运蛋白,优选 SEQ ID NO :1 的特征性序列。优选地,特征性序列基序包含在蛋白质中较少出现的至少一个(优选包含至少两个氨基酸的一组)氨基酸。技术人员熟悉不需要过度劳动地鉴定包含非常见氨基酸的特征序列基序。

[0127] 此外,技术人员还考虑了关于本文图 4、5 和 6 中提供的相似氨基酸和高度相似氨基酸之间氨基酸取代的附加信息,图 4、5、6 分别显示 SEQ ID NO :1 和 SEQ ID NO :2 之间、SEQ ID NO :1 和 SEQ ID NO :3 之间以及 SEQ ID NO :2 和 SEQ ID NO :3 之间的氨基酸序列比对。

[0128] 优选地,本发明任一实施方案中使用的肉毒碱转运蛋白为包含氨基酸序列基序的肉毒碱转运蛋白,所述氨基酸序列基序是包含 SEQ ID NO :1、SEQ ID NO :2 或 SEQ ID NO :3 全部三种肉毒碱转运蛋白的特征性序列,或者是包括两种所述肉毒碱转运蛋白的任意组的特征性序列,或者是单个所述肉毒碱转运蛋白(优选 SEQ ID NO :1)的特征性序列。优选地,肉毒碱转运蛋白包含由于其与序列基序的相似性而无需过度劳动即可鉴定的氨基酸基序,所述序列基序是图 3 中所示全部三种肉毒碱转运蛋白的特征性序列,或者是包括两种肉毒碱转运蛋白的任意组的特征性序列,或者是单个肉毒碱转运蛋白(优选 SEQ ID NO :1)的特征性序列。

[0129] 图 4 显示包含密切相关的人和小鼠肾和肠肉毒碱转运蛋白的氨基酸序列比对,它们分别包含 SEQ ID NO :1 和 SEQ ID NO :2,共享 86.9%的氨基酸序列同一性。用短划标出相同的氨基酸,用单点标出功能相似的类似氨基酸,用双点标出在功能和 / 或结构上几乎相同的高度相似氨基酸。

[0130] 图 5 显示包含密切相关的人和大鼠肾和肠肉毒碱转运蛋白的氨基酸序列比对,它们分别包含 SEQ ID NO :1 和 SEQ ID NO :3,共享 86.7%的氨基酸序列同一性。用短划标出相同的氨基酸,用单点标出功能相似的类似氨基酸,用双点标出在功能和 / 或结构上几乎相同的高度相似氨基酸。

[0131] 图 6 显示包含密切相关的小鼠和大鼠肾和肠肉毒碱转运蛋白的氨基酸序列比对,它们分别包含 SEQ ID NO :2 和 SEQ ID NO :3,共享 95.4%的氨基酸序列同一性。用短划标出相同的氨基酸,用单点标出功能相似的类似氨基酸,用双点标出在功能和 / 或结构上几乎相同的高度相似氨基酸。

[0132] 图 7 显示包含 SEQ ID NO :1 和 SEQ ID NO :10 的氨基酸序列比对。SEQ ID NO :1 包含人肾和肠肉毒碱转运蛋白的氨基酸序列,而 SEQ ID NO :10 包含 SEQ ID NO :1 功能性剪

接变体的氨基酸序列。SEQ ID NO:10 包含 SEQ ID NO:1 完整并相同的氨基酸序列以及包含 39 个氨基酸的附加氨基酸序列（对应于 SEQ ID NO:10 的氨基酸 297 至 335），所述附加氨基酸序列插入在相应于 SEQ ID NO:1 的氨基酸 296 和 297 之间的位置。

[0133] 图 8 显示包含 SEQ ID NO:4 和 SEQ ID NO:9 的核酸序列比对。SEQ ID NO:4 编码 SEQ ID NO:1 的人肾和肠肉毒碱转运蛋白氨基酸序列，而 SEQ ID NO:9 编码 SEQ ID NO:1 功能性剪接变体的氨基酸序列，即 SEQ ID NO:10 的氨基酸序列。SEQ ID NO:9 包含 SEQ ID NO:4 完整的相同核酸序列以及包含 117 个核苷酸的附加核酸序列（对应于 SEQ ID NO:9 的核苷酸 888 至 1004），所述附加核酸序列插入在相应于 SEQ ID NO:4 的核苷酸 887 和 888 之间的位置。

[0134] 图 9 显示 SEQ ID NO:5。

[0135] 图 10 显示 SEQ ID NO:6 和 7。

[0136] 图 11 显示 SEQ ID NO:8。

[0137] 图 12 显示 SEQ ID NO:11(NM_003060)。

[0138] 图 13 显示 SEQ ID NO:12(NP_003051)。

[0139] 图 14 显示 SEQ ID NO:13(NM_0033125)。

[0140] 图 15 显示 SEQ ID NO:14(NPJ49116)。

[0141] 图 16 显示 SEQ ID NO:15。

[0142] 序列说明

[0143] SEQ ID NO:1 包含人肾和肠肉毒碱转运蛋白的氨基酸序列。

[0144] SEQ ID NO:2 包含小鼠肾和肠肉毒碱转运蛋白的氨基酸序列，它是 SEQ ID NO:1 的直系同源物。

[0145] SEQ ID NO:3 包含大鼠肾和肠肉毒碱转运蛋白的氨基酸序列，它是 SEQ ID NO:1 的直系同源物。

[0146] SEQ ID NO:4 包含编码人肾和肠肉毒碱转运蛋白的开放读框 DNA 序列，所述肉毒碱转运蛋白包含氨基酸序列 SEQ ID NO:1。

[0147] SEQ ID NO:5 包含编码小鼠肾和肠肉毒碱转运蛋白的开放读框 DNA 序列，所述肉毒碱转运蛋白包含氨基酸序列 SEQ ID NO:2。

[0148] SEQ ID NO:6 显示来自 SEQ ID NO:4 起点的本发明寡核苷酸，其用于克隆 SEQ ID NO:4（正向克隆引物）。

[0149] SEQ ID NO:7 显示来自 SEQ ID NO:4 末端下游的本发明寡核苷酸，其作为反向引物用于克隆 SEQ ID NO:4。

[0150] SEQ ID NO:8 包含编码大鼠肾和肠肉毒碱转运蛋白的开放读框 DNA 序列，所述肉毒碱转运蛋白包含氨基酸 SEQ ID NO:3。

[0151] SEQ ID NO:9 包含 SEQ ID NO:4 和附加序列，所述附加序列包含插入在 SEQ ID NO:4 的核苷酸 887 和 888 之间的 117 个核苷酸。SEQ ID NO:9 在 NCBI 数据库（美国国家生物技术信息中心）以登录号 XM_291120 提供。

[0152] SEQ ID NO:10 包含由 SEQ ID NO:9 编码的氨基酸序列，其包含 SEQ ID NO:1 和附加序列，所述附加序列包含插入在 SEQ ID NO:9 的氨基酸 296 和 297 之间的 39 个氨基酸。SEQ ID NO:10 在 NCBI 数据库以登录号 XP_291120 提供。

[0153] SEQ ID NO :11 包含编码在人体内广泛表达的人肉毒碱转运蛋白 OCTN2 的 DNA 序列。SEQ ID NO :11 在 NCBI 数据库以登录号 NM_003060 提供

[0154] SEQ ID NO :12 包含 SEQ ID NO :11 编码的氨基酸序列,其在 NCBI 数据库以登录号 NP_003051 提供。

[0155] SEQ ID NO :13 包含编码仅表达于人睾丸的人肉毒碱转运蛋白“CT”的 DNA 序列。SEQ ID NO :13 在 NCBI 数据库以登录号 NM_0033125 提供。

[0156] SEQ ID NO :14 包含 SEQ ID NO :13 编码的氨基酸序列,其在 NCBI 数据库以登录号 NP_149116 提供。

[0157] SEQ ID NO :15 包含对应于人肾和肠肉毒碱转运蛋白 mRNA 的 DNA 序列,包含 SEQ ID NO :4、额外的 5' 侧翼序列和额外的 3' 侧翼序列。

[0158] 实施例描述:

[0159] 鉴定和克隆肾和肠肉毒碱转运蛋白的基因

[0160] 令人吃惊的是,已经发现包含 SEQ ID NO :4 的核酸分子以组织特异性方式在人肾和人肠中强表达。SEQ ID NO :4 编码包含氨基酸序列 SEQ ID NO :1 的肉毒碱转运蛋白。

[0161] 使用来自人肾的 cDNA 作为模板以及包含 SEQ ID NO :6 和 SEQ ID NO :7 互补序列的寡核苷酸引物在聚合酶链式反应 (PCR) 中扩增包含 SEQ ID NO :4 的 DNA 分子,所述寡核苷酸引物得自以登录号 AK09054 在数据库公众可获得的 DNA 序列。

[0162] 使用卵母细胞的转运测量

[0163] 使用非洲爪蟾卵母细胞在所谓的“示踪剂通量法”中进行放射性标记化合物的转运测量,其中测量底物穿过卵母细胞膜进入胞质的转运率。

[0164] 注射爪蛙(非洲爪蟾)卵母细胞

[0165] 用包含 SEQ ID NO :4 的 cRNA 分子注射非洲爪蟾卵母细胞。

[0166] 在 Sylgard 沟中排列待注射的卵母细胞。使用硅酸硼制作的玻璃毛细管(Hildenberg, Malsfeld;内径:0.5mm;外径 1.0mm)进行注射,所述玻璃毛细管在炽热螺旋状缠绕丝内进行精细拉伸。为了吸出和压进样品溶液,使用得自 Drummond 公司的显微注射泵。用矿物油(Sigma 400-5 重白油, $\rho = 0.88\text{g/ml}$)无气泡地填充毛细管并装入与机械手一起提供的微泵。

[0167] 用镊子小心地打破注射毛细管仍熔融的尖端,以允许泵出油并吸进期望体积的 RNA。在无菌矿物油膜下将 RNA 吸进注射毛细管,以避免 RNA 的浓度提高和被污染物降解。将注射毛细管以 90° 角置于卵母细胞表面并轻压插入卵母细胞。尖端进入细胞质的深度不应大于 $100\text{--}200\ \mu\text{m}$ 。注入物体积不超过 50nL ($0.9\ \mu\text{L}$ 的卵母细胞体积的约 5%)。在施加期望的体积后 5-10 秒钟将注射毛细管停留在卵母细胞内,以允许压力补偿并避免注入物通过打开的孔洞漏出。

[0168] 防止泄漏的其他措施为在注射前至少 10 分钟在含有 130 而不是 10nM NaCl 的 ORi 中(即在高渗溶液中)“预收缩”卵母细胞。卵母细胞可能丢失大量的卵黄,因此可能要排出部分注射液。

[0169] 在 18°C 将经注射的卵母细胞保持在含有卡那霉素 (50mg/L) 的培养基 ORi 中直至测量底物摄取。弃去受损的、发生剧烈的变化或随后受到严重损伤的细胞。

[0170] 72 小时后,利用卵母细胞进行肉毒碱转运蛋白激动剂或拮抗剂的筛选。

[0171] 培养基 ORi 溶液

[0172] 标准缓冲液为含有 110mM NaCl、3mM KCl、2mM CaCl₂、1mMMgCl₂ 和 5mM MOPS 的卵母细胞 Ringer 溶液 ORi。

[0173] 需要时加入 50mg/l 的庆大霉素。

[0174] 测定底物摄取

[0175] 用 200 μ l 底物溶液填充用卵母细胞匀浆处理的聚苯乙烯孔。用于测定之前先用 ORi 溶液洗涤卵母细胞两次。反应混合物中使用 8 至 10 个卵母细胞以进行统计学评估。将卵母细胞加入底物溶液后,将反应混合物温和混和并孵育。在 22°C 温育 1 小时。为了终止反应,加入 1ml 冰冻 ORi。在 15ml 冰冻 ORi 中洗涤卵母细胞四次。接着将卵母细胞单个转移进 6ml 计数瓶中。加入 100 μ l 5% SDS 溶液破坏卵母细胞质膜。轻柔地摇动瓶以破坏质膜。通过摇动 30 至 45 分钟使质膜完全破坏。将裂解液与 2ml 闪烁混合物混合。在包含发光校正和外标准的液闪计数器中测量裂解液的放射性。每个瓶计数 5 分钟。

[0176] 为了测量加入卵母细胞后的底物浓度,从反应混合物中移去 2×10 μ l 溶液,加入 100 μ l 5% SDS 溶液并用计数器进行评估。在转运率的计算中考虑得到的值。

[0177] 测定 K_m 值

[0178] 为测定浓度依赖性底物摄取,制备所研究底物的系列稀释液,并如此分配放射性,从而在上清液中对每个反应混合物的计数在 10000 和 20000cpm 之间。就 K_m 测定而言,测量底物摄取一小时。此外,使用注入 H₂O 的卵母细胞进行测量,以测定背景即非特异性底物摄取,例如扩散和内源转运蛋白介导的摄取。计算转运率并对底物浓度作图,并按照 Michaelis-Menten 方程进行数学修正。

[0001]

序列表

<110> 塞诺菲-安万特德国有限公司

<120> 筛选肉毒碱转运蛋白激动剂或拮抗剂的方法及其用途

<130> DEAV 2004/0059

<160> 15

<170> PatentIn version 3.2

<210> 1

<211> 634

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 1

Met Val Arg Leu Val Leu Pro Asn Pro Gly Leu Asp Ala Arg Ile Pro
 1 5 10 15

Ser Leu Ala Glu Leu Glu Thr Ile Glu Gln Glu Glu Ala Ser Ser Arg
 20 25 30

Pro Lys Trp Asp Asn Lys Ala Gln Tyr Met Leu Thr Cys Leu Gly Phe
 35 40 45

Cys Val Gly Leu Gly Asn Val Trp Arg Phe Pro Tyr Leu Cys Gln Ser
 50 55 60

His Gly Gly Gly Ala Phe Met Ile Pro Phe Leu Ile Leu Leu Val Leu
 65 70 75 80

Glu Gly Ile Pro Leu Leu Tyr Leu Glu Phe Ala Ile Gly Gln Arg Leu
 85 90 95

Arg Arg Gly Ser Leu Gly Val Trp Ser Ser Ile His Pro Ala Leu Lys
 100 105 110

[0002]

Gly Leu Gly Leu Ala Ser Met Leu Thr Ser Phe Met Val Gly Leu Tyr
 115 120 125

Tyr Asn Thr Ile Ile Ser Trp Ile Met Trp Tyr Leu Phe Asn Ser Phe
 130 135 140

Gln Glu Pro Leu Pro Trp Ser Asp Cys Pro Leu Asn Glu Asn Gln Thr
 145 150 155 160

Gly Tyr Val Asp Glu Cys Ala Arg Ser Ser Pro Val Asp Tyr Phe Trp
 165 170 175

Tyr Arg Glu Thr Leu Asn Ile Ser Thr Ser Ile Ser Asp Ser Gly Ser
 180 185 190

Ile Gln Trp Trp Met Leu Leu Cys Leu Ala Cys Ala Trp Ser Val Leu
 195 200 205

Tyr Met Cys Thr Ile Arg Gly Ile Glu Thr Thr Gly Lys Ala Val Tyr
 210 215 220

Ile Thr Ser Thr Leu Pro Tyr Val Val Leu Thr Ile Phe Leu Ile Arg
 225 230 235 240

Gly Leu Thr Leu Lys Gly Ala Thr Asn Gly Ile Val Phe Leu Phe Thr
 245 250 255

Pro Asn Val Thr Glu Leu Ala Gln Pro Asp Thr Trp Leu Asp Ala Gly
 260 265 270

Ala Gln Val Phe Phe Ser Phe Ser Leu Ala Phe Gly Gly Leu Ile Ser
 275 280 285

[0003]

Phe Ser Ser Tyr Asn Ser Val His Asn Asn Cys Glu Lys Asp Ser Val
 290 295 300

Ile Val Ser Ile Ile Asn Gly Phe Thr Ser Val Tyr Val Ala Ile Val
 305 310 315 320

Val Tyr Ser Val Ile Gly Phe Arg Ala Thr Gln Arg Tyr Asp Asp Cys
 325 330 335

Phe Ser Thr Asn Ile Leu Thr Leu Ile Asn Gly Phe Asp Leu Pro Glu
 340 345 350

Gly Asn Val Thr Gln Glu Asn Phe Val Asp Met Gln Gln Arg Cys Asn
 355 360 365

Ala Ser Asp Pro Ala Ala Tyr Ala Gln Leu Val Phe Gln Thr Cys Asp
 370 375 380

Ile Asn Ala Phe Leu Ser Glu Ala Val Glu Gly Thr Gly Leu Ala Phe
 385 390 395 400

Ile Val Phe Thr Glu Ala Ile Thr Lys Met Pro Leu Ser Pro Leu Trp
 405 410 415

Ser Val Leu Phe Phe Ile Met Leu Phe Cys Leu Gly Leu Ser Ser Met
 420 425 430

Phe Gly Asn Met Glu Gly Val Val Val Pro Leu Gln Asp Leu Arg Val
 435 440 445

Ile Pro Pro Lys Trp Pro Lys Glu Val Leu Thr Gly Leu Ile Cys Leu
 450 455 460

[0004]

Gly Thr Phe Leu Ile Gly Phe Ile Phe Thr Leu Asn Ser Gly Gln Tyr
465 470 475 480

Trp Leu Ser Leu Leu Asp Ser Tyr Ala Gly Ser Ile Pro Leu Leu Ile
485 490 495

Ile Ala Phe Cys Glu Met Phe Ser Val Val Tyr Val Tyr Gly Val Asp
500 505 510

Arg Phe Asn Lys Asp Ile Glu Phe Met Ile Gly His Lys Pro Asn Ile
515 520 525

Phe Trp Gln Val Thr Trp Arg Val Val Ser Pro Leu Leu Met Leu Ile
530 535 540

Ile Phe Leu Phe Phe Phe Val Val Glu Val Ser Gln Glu Leu Thr Tyr
545 550 555 560

Ser Ile Trp Asp Pro Gly Tyr Glu Glu Phe Pro Lys Ser Gln Lys Ile
565 570 575

Ser Tyr Pro Asn Trp Val Tyr Val Val Val Val Ile Val Ala Gly Val
580 585 590

Pro Ser Leu Thr Ile Pro Gly Tyr Ala Ile Tyr Lys Leu Ile Arg Asn
595 600 605

His Cys Gln Lys Pro Gly Asp His Gln Gly Leu Val Ser Thr Leu Ser
610 615 620

Thr Ala Ser Met Asn Gly Asp Leu Lys Tyr
625 630

[0005]

<210> 2
 <211> 634
 <212> PRT
 <213> 小家鼠 (*Mus musculus*)

<400> 2

Met Val Arg Leu Val Leu Pro Asn Pro Gly Leu Glu Glu Arg Ile Pro
 1 5 10 15

Ser Leu Asp Glu Leu Glu Val Ile Glu Lys Glu Glu Ala Gly Ser Arg
 20 25 30

Pro Lys Trp Asp Asn Lys Ala Gln Tyr Met Leu Thr Cys Val Gly Phe
 35 40 45

Cys Val Gly Leu Gly Asn Val Trp Arg Phe Pro Tyr Leu Cys Gln Ser
 50 55 60

His Gly Gly Gly Ala Phe Met Ile Pro Phe Leu Ile Leu Leu Val Phe
 65 70 75 80

Glu Gly Ile Pro Leu Leu Tyr Leu Glu Phe Ala Ile Gly Gln Arg Leu
 85 90 95

Arg Lys Gly Ser Met Gly Val Trp Ser Ser Ile His Pro Ala Leu Lys
 100 105 110

Gly Ile Gly Ile Ala Ser Met Phe Val Ser Phe Met Val Gly Leu Tyr
 115 120 125

Tyr Asn Thr Ile Ile Ala Trp Val Met Trp Tyr Phe Phe Asn Ser Phe
 130 135 140

Gln Glu Pro Leu Pro Trp Ser Glu Cys Pro Leu Asn Gln Asn Gln Thr
 145 150 155 160

[0006]

Gly Tyr Val Glu Glu Cys Ala Lys Ser Ser Ser Val Asp Tyr Phe Trp
 165 170 175

Tyr Arg Glu Thr Leu Asn Ile Ser Thr Ser Ile Ser Asp Ser Gly Ser
 180 185 190

Ile Gln Trp Trp Ile Leu Leu Cys Leu Thr Cys Ala Trp Ser Val Leu
 195 200 205

Tyr Val Cys Ile Ile Arg Gly Ile Glu Thr Thr Gly Lys Ala Val Tyr
 210 215 220

Ile Thr Ser Thr Leu Pro Tyr Val Val Leu Thr Ile Phe Leu Ile Arg
 225 230 235 240

Gly Leu Thr Leu Lys Gly Ala Thr Asn Gly Ile Val Phe Leu Phe Thr
 245 250 255

Pro Asn Ile Thr Glu Leu Ser Asn Pro Asn Thr Trp Leu Asp Ala Gly
 260 265 270

Ala Gln Val Phe Tyr Ser Phe Ser Leu Ala Phe Gly Gly Leu Ile Ser
 275 280 285

Phe Ser Ser Tyr Asn Ser Val His Asn Asn Cys Glu Met Asp Ser Val
 290 295 300

Ile Val Ser Val Ile Asn Gly Phe Thr Ser Val Tyr Ala Ala Thr Val
 305 310 315 320

Val Tyr Ser Ile Ile Gly Phe Arg Ala Thr Glu Arg Phe Asp Asp Cys
 325 330 335

[0007]

Val Asn Thr Asn Ile Leu Thr Leu Ile Asn Gly Phe Asp Leu Pro Glu
 340 345 350

Gly Asn Val Thr Ser Glu Asn Phe Glu Ala Tyr Gln Gln Trp Cys Asn
 355 360 365

Ala Thr Asn Pro Gln Ala Tyr Ala Gln Leu Lys Phe Gln Thr Cys Asp
 370 375 380

Ile Asn Ser Phe Leu Ser Glu Gly Val Glu Gly Thr Gly Leu Ala Phe
 385 390 395 400

Ile Val Phe Thr Glu Ala Ile Thr Lys Met Pro Val Ser Pro Leu Trp
 405 410 415

Ser Val Leu Phe Phe Ile Met Leu Phe Cys Leu Gly Leu Ser Ser Met
 420 425 430

Phe Gly Asn Met Glu Gly Val Val Val Pro Leu Gln Asp Leu Asn Ile
 435 440 445

Thr Pro Lys Lys Trp Pro Lys Glu Leu Leu Thr Gly Leu Ile Cys Leu
 450 455 460

Gly Thr Tyr Leu Ile Ala Phe Ile Phe Thr Leu Asn Ser Gly Gln Tyr
 465 470 475 480

Trp Leu Ser Leu Leu Asp Ser Phe Ala Gly Ser Ile Pro Leu Leu Ile
 485 490 495

Ile Ala Phe Cys Glu Met Phe Ala Val Val Tyr Val Tyr Gly Val Asp
 500 505 510

[0008]

Arg Phe Asn Lys Asp Ile Glu Phe Met Ile Gly His Lys Pro Asn Ile
515 520 525

Phe Trp Gln Val Thr Trp Arg Val Val Ser Pro Leu Ile Met Leu Val
530 535 540

Ile Phe Leu Phe Phe Phe Val Ile Glu Val Asn Lys Thr Leu Met Tyr
545 550 555 560

Ser Ile Trp Asp Pro Asn Tyr Glu Glu Phe Pro Lys Ser Gln Lys Ile
565 570 575

Pro Tyr Pro Asn Trp Val Tyr Ala Val Val Val Thr Val Ala Gly Val
580 585 590

Pro Cys Leu Ser Ile Pro Cys Phe Ala Ile Tyr Lys Phe Ile Arg Asn
595 600 605

Cys Cys Gln Lys Ser Asp Asp His His Gly Leu Val Asn Thr Leu Ser
610 615 620

Thr Ala Ser Val Asn Gly Asp Leu Lys Asn
625 630

<210> 3
<211> 634
<212> PRT
<213> 褐家鼠 (Rattus norvegicus)

<400> 3

Met Val Arg Leu Val Leu Pro Asn Pro Gly Leu Glu Asp Arg Ile Pro
1 5 10 15

Ser Leu Asp Glu Leu Glu Val Ile Glu Lys Glu Glu Ala Ser Ser Lys
20 25 30

[0009]

Pro Lys Trp Asp Asn Lys Ala Gln Tyr Met Leu Thr Cys Val Gly Phe
 35 40 45

Cys Val Gly Leu Gly Asn Val Trp Arg Phe Pro Tyr Leu Cys Gln Ser
 50 55 60

His Gly Gly Gly Ala Phe Met Ile Pro Phe Leu Ile Leu Leu Val Leu
 65 70 75 80

Glu Gly Ile Pro Leu Leu His Leu Glu Phe Ala Ile Gly Gln Arg Leu
 85 90 95

Arg Lys Gly Ser Val Gly Val Trp Ser Ser Ile His Pro Ala Leu Lys
 100 105 110

Gly Val Gly Ile Ala Ser Met Phe Val Ser Phe Met Val Gly Leu Tyr
 115 120 125

Tyr Asn Thr Ile Ile Ala Trp Val Met Trp Tyr Phe Phe Asn Ser Phe
 130 135 140

Gln Glu Pro Leu Pro Trp Ser Glu Cys Pro Leu Asn Gln Asn Gln Thr
 145 150 155 160

Gly Tyr Val Glu Glu Cys Ala Lys Ser Ser Ser Val Asp Tyr Phe Trp
 165 170 175

Tyr Arg Glu Thr Leu Asn Ile Ser Thr Pro Ile Ser Asp Ser Gly Ser
 180 185 190

Ile Gln Trp Trp Ile Leu Leu Cys Leu Thr Cys Ala Trp Ser Val Leu
 195 200 205

[0010]

Tyr Val Cys Thr Ile Arg Gly Ile Glu Thr Thr Gly Lys Ala Val Tyr
 210 215 220

Ile Thr Ser Thr Leu Pro Tyr Val Val Leu Thr Ile Phe Leu Ile Arg
 225 230 235 240

Gly Leu Thr Leu Lys Gly Ala Thr Asn Gly Ile Val Phe Leu Phe Thr
 245 250 255

Pro Asn Ile Thr Glu Leu Ser Asn Pro Asn Thr Trp Leu Asp Ala Gly
 260 265 270

Ala Gln Val Tyr Tyr Ser Phe Ser Leu Ala Phe Gly Gly Leu Ile Ser
 275 280 285

Phe Ser Ser Tyr Asn Ser Val His Asn Asn Cys Glu Met Asp Ser Val
 290 295 300

Ile Val Ser Ile Ile Asn Gly Phe Thr Ser Val Tyr Ala Ala Thr Val
 305 310 315 320

Val Tyr Ser Ile Ile Gly Phe Arg Ala Thr Glu Arg Phe Asp Asp Cys
 325 330 335

Val Asn Thr Asn Ile Leu Thr Leu Ile Asn Gly Phe Asp Leu Pro Glu
 340 345 350

Gly Asn Val Thr Ala Glu Asn Phe Glu Ala Tyr Gln His Trp Cys Asn
 355 360 365

Ala Thr Asn Pro Glu Ala Tyr Ala Gln Leu Thr Phe Gln Thr Cys Asp
 370 375 380

[0011]

Ser Val Trp Asp Pro Asp Tyr Glu Glu Phe Pro Lys Ser Gln Lys Val
 565 570 575

Pro Tyr Pro Asp Trp Val Tyr Ala Val Val Val Ile Val Ala Gly Val
 580 585 590

Pro Cys Leu Thr Ile Pro Cys Phe Ala Ile Tyr Lys Leu Ile Arg Asn
 595 600 605

Tyr Cys Gln Lys Ser Gly Asp Gln His Gly Leu Val Asn Ala Leu Ser
 610 615 620

Thr Ala Ser Val Asn Gly Asp Leu Lys Asn
 625 630

<210> 4

<211> 1905

<212> DNA

<213> 智人

<400> 4

atggtgaggc tegtgtgcc caaccccggc ctagacgcc ggatcccgtc cctggctgag 60
 ctggagacca togagcagga ggaggccagc tcccggccga agtgggacaa caaggcgcag 120
 tacatgctca cctgcctggg cttctgctg ggccteggca acgtgtggcg cttcccctac 180
 ctgtgtcaga gccacggagg aggagcctc atgateccgt tcctcctcct gctggcctg 240
 gagggcatcc cctgctgta cctggagttc gccatcgggc agcggctgcg gcggggcagc 300
 ctgggtgtgt ggagctccat ccacccggcc ctgaagggcc taggcctggc ctccatgctc 360
 acgtccttca tgggtggact gtattacaac accatcatct cctggatcat gtggtactta 420
 ttcaactcct tcaggagcc tctgccctgg agcgaactgcc cgetcaacga gaaccagaca 480
 gsgtatgtgg acgagtgcg caggagctcc cctgtggact acttctgta ccgagagacg 540
 cteaacatct ccacgtccat cagcacteg ggctccatcc agtggtggat gctgctgtgc 600

[0013]

ctggcctgcg catggagcgt cctgtacatg tgcacatcc gcggcatcga gaccaccggg	660
aaggccgtgt acatcacctc cacgctgcc tatgtctcc tgaccatctt cctcatccga	720
ggcctgacgc tgaagggcgc caccaatggc atcgtcttcc tcttcacgcc caacgtcacg	780
gagctggccc agccggacac ctggctggac gcgggcgcac aggtcttctt ctccttctcc	840
ctggccttcg ggggcctcat ctccttctcc agctacaact ctgtgcacaa caactgcgag	900
aaggactcgg tgattgtgtc catcatcaac ggcttcacat cgggtgatgt ggccatcgtg	960
gtctactccg tcattgggtt ccgcgccacg cagcgcctac acgactgctt cagcacgaac	1020
atcctgacct tcatcaacgg gttcgacctg cctgaaggca acgtgacca ggagaacttt	1080
gtggacatgc agcagcggtg caacgcctcc gaccccgagg cctacgcgca gctggtgttc	1140
cagacctgcg acatcaacgc cttcctctca gaggccgtgg agggcacagg cctggccttc	1200
atcgtcttca ccgaggccat caccaagatg ccgttgtccc cactgtggtc tgtgtcttcc	1260
ttcattatgc tcttctgect ggggctgtca tctatgtttg ggaacatgga gggcgtcgtt	1320
gtgcccctgc aggacctcag agtcacccc ccgaagtggc ccaaggaggt gctcacaggc	1380
ctcatctgcc tggggacatt cctcattggc ttcattctca cgtgaactc cggccagtac	1440
tggetctccc tgctggacag ctatgccggc tccattcccc tgctcatcat cgccttctgc	1500
gagatgttct ctgtggtcta cgtgtacggt gtggacaggt tcaataagga catcgagtc	1560
atgatcggcc acaagcccaa catcttctgg caagtcacgt ggcgcgtggt cagccctctg	1620
ctcatgctga tcattcttct cttcttcttc gtggttagagg tcagtcagga gctgacctac	1680
agcatctggg accctggcta cgaggaattt cccaaatccc agaagatctc ctaccggaac	1740
tgggtgatg tggtggtggt gattgtggct ggagtgcctt ccctcaccat ccctggctat	1800
gccatctaca agctcatcag gaacctctgc cagaagccag gggacctca gggctggtg	1860
agcacactgt ccacagcctc catgaacggg gacctgaagt actga	1905

[0014]

<210> 5
 <211> 1905
 <212> DNA
 <213> 小家鼠

<400> 5
 atggtgaggc ttgtgctgcc caaccctggc ctagaggagc ggattccatc tctggatgag 60
 ttagaggtca ttgaaaagga agaggccggc tccaggccca aatgggacaa caaggcccag 120
 tacatgctca cctgtgtggg cttttgtgtg gggctgggca acgtgtggcg cttcccctac 180
 ctatgccaga gccatggagg aggggccttc atgatcccat tcctcatcct tctgggtgtc 240
 gagggaaatc ctttgctgta cctggagttt gccatcggtc agaggctacg caagggcagc 300
 atgggtgtgt ggagctccat ccaccctgct ctgaagggta taggcatcgc ctccatgttc 360
 gtgtccttca tggggggcct gtactacaac accatcatcg cctgggtcat gtggtacttc 420
 ttcaactcct ttcaggaacc tctgccatgg agtgaatgtc cactcaacca gaaccagaca 480
 ggctatgtgg aagagigtgc caagagctct tccgtggact acttctggta ccgagagact 540
 cttaatatct ccacttccat cagtgactca ggctccatcc agtgggtgat cctgctctgc 600
 ctgacatgtg cctggagtgt gctgtatgtg tgtattatcc gtggcatcga gaccactggg 660
 aaggctgtgt acatcacctc caccctgccc tatgtttgac tgaccatctt tctcatcctg 720
 ggcttgactc tgaagggtgc caccaacggc attgtcttcc ttttcacacc caatatcaca 780
 gagctgagca accccaacac gtggctggat gcaggtgctc aggtcttcta ctcttctca 840
 ctggccttcg ggggcctcat ctcttctcc agctacaact ctgtgcacaa taattgtgag 900
 atggattctg tgatcgtgtc tgatcatcaat ggcttcacat ctgtgtatgc ggccaccgtg 960
 gtctactcca tcattggctt ccgagccact gagcgctttg atgactgtgt caacacgaac 1020
 atcctgacct tcatcaatgg gttcgacctg ccggagggca atgtgacttc agagaacttt 1080
 gaggcctacc aacagtgtg caatgccact aatecccagg cctatgcaca actgaagttt 1140

[0015]

cagacctgtg acattaacag cttcctttct gaggggtgtgg agggcacagg cctggccttc 1200
 attgtcttca cggaagccat cacgaagatg ccagtgtccc cactgtggtc ggtgctcttt 1260
 ttataatgc tcttctgect gggactctcc tccatgtttg ggaacatgga gsgtgtggtc 1320
 gtaccacctc aggacctcaa taccacctc aagaagtggc ccaagaatt gttgacaggc 1380
 ctcatctgct tggggacata tctcatcgcc ttcattttca cactgaattc gggccagtac 1440
 tggctctctc tcctggacag ctttgtgtgc tccattctc tgctaatcat cgcctttgt 1500
 gagatgtttg ccgtcgtcta cgtgtatgga gttgacaggc tcaacaagga catcgagttc 1560
 atgatcgccc ataagccaa catcttctgg caagtcacgt ggagagtggc cagtccactg 1620
 atcatgctgg tcacttctct cttctttttt gtgattgagg tcaacaaaac gctcatgtat 1680
 agcatctggg accctaacta tgaggagttc ccgaaatctc agaagattcc ataccccaac 1740
 tgggtgtatg cagttgtggt cactgtggct ggagtaccct gcctctccat cccctgcttt 1800
 gccatctaca agttcatcag aaattgttgt cagaagtctg atgaccacca tgggctggtc 1860
 aatacaactg ccacagcctc tgtgaatggg gaccttaaga actga 1905

<210> 6

<211> 18

<212> DNA

<213> 智人

<400> 6

accatggtga ggctcgtg

18

<210> 7

<211> 22

<212> DNA

<213> 智人

<400> 7

gtgtcagga aggaggaacc ag

22

[0016]

<210> 8
 <211> 1905
 <212> DNA
 <213> 褐家鼠

<400> 8
 atggtgaggc ttgtgctacc caaccctggc ctagaggacc ggattccgtc tctggatgaa 60
 ttagaggtca ttgaaaagga agaggccagc tccaagccca aatgggacaa caaggcccag 120
 tacatgctca cctgtgtggg cttctgtgtg ggctgggca atgtctggcg ctcccttac 180
 ctgtgccaga gccatggagg aggggccttc atgatccct tcctcatcct tctggtcctg 240
 gagggcattc ccttctgca cctggagttl gccatcggac agaggctacg caagggcagt 300
 gtgggcgtct ggagctccat ccaccctgct ctgaagggtg taggcatcgc ctccatgttc 360
 gtgtccttca tggtaggctt gtactacaac accatcatcg cctgggtcat glggtatttc 420
 ttcaactcct tcaggaacc tctgccatgg agcgaatgcc cactcaacca gaaccagaca 480
 ggctatgtgg aagagtgtgc caagagctct tctgtggact acttctggta ccgagagact 540
 ctcaacatct ccactectat cagtactca ggtccatcc agtggtggat cctgctctgc 600
 ctgacatgtg cctggagtgt tctgtatgtg tgtactatcc gtggcatcga gaccactggg 660
 aaggetgitt acatcacctc caccctgcc tatgtcgtac tgaccatctt tctcatcctg 720
 ggcttgactc tgaagggtgc caccaacggc attgtcttcc ttttcacacc caatatcaca 780
 gagctgagca accccaacac gtggctggat gcagggtctc aggtttacta ctcttctca 840
 ctggccttcg ggggcctcat ctctctctcc agctacaact ctgtacaaa taattgtgag 900
 atggattccg tgatcgtgct catcatcaat ggttcacat ctgtgtatgc ggccaccgtg 960
 gtctactcta tcattggctt cagggccacc gagecctttg atgactgtgt gaacacgaac 1020
 atctgacc ccatcaatgg gttcgacctg cccgagggca atgtgactgc ggagaacttc 1080
 gaggcctatc aacattggtg caatgccact aatcccagg cctatgccc gctgacgttt 1140
 cagacctgtg acattaacac ctctctctct gaggggtgag agggcacagg cctggccttc 1200

[0017]

attgtcttca ctgaagccat cacgaagatg ccagtgtccc cactgtggtc ggtgctcttc 1260
 tttatcatgc tcttctgect gggcctctcc tctatgtttg ggaacatgga ggggtggtc 1320
 gtaccoccttc aggatctcaa taccacctc aagaagtggc ccaaagaact gctcacaggt 1380
 ctcatctgct tggggacata tctcatcgcc ttcattttca cactgaattc gggccagtac 1440
 tggetctccc tgctggacag ctatgtggc tccatccctc tgctaatcat cgccttttgt 1500
 gagatgtttg ctgtcgtcta cgtgtatgga gttgacaggt tcaacaagga catcgagttc 1560
 atgatcggcc ataagcccaa catcttctgg caagtcacgt ggagagtggc cagtccgctg 1620
 atcatgctgg tcatcttctt cttctttttc gtgattgaag tcaacaaca gctcatgtat 1680
 agcgtatggg accctgacta tgaggagttc ccgaaatctc agaaggttcc ataccccgac 1740
 tgggtgtaag cagttgtggc cattgtggct ggagtacctc gccttacctc cccctgcttt 1800
 gccatctaca aactcatcag aaactattgc cagaagtctg gggaccaaca tgggctggtc 1860
 aatgcgctgt ccacagcctc tgtgaatggg gaccttaaga actga 1905

<210> 9

<211> 2022

<212> DNA

<213> 智人

<400> 9

atgggtgaggc tcgtgctgcc caaccccgcc ctgacgccc ggateccgtc cctggctgag 60
 ctggagacca tcgagcagga ggaggccagc tcccggccga agtgggacaa caaggcgcag 120
 tacatgctca cctgcctggg cttctgctg ggccctggca acgtgtggcg ctccctctac 180
 ctgtgtcaga gccacggagg aggagcctc atgatccctg tctcatcct gctggctctg 240
 gagggcatcc ccctgctgta cctggagttc gccatcgggc agcggctgcg gcggggcagc 300
 ctgggtgtgt ggagctccat ccacccggcc ctgaagggcc taggcctggc ctccatgctc 360
 acgtccttca tgggtgggact gtattacaac accatcatct cctggatcat gtggtactta 420

[0018]

ttcaactcct tccaggagcc tctgccctgg agcgactgcc cgctcaacga gaaccagaca	480
gggtatgtgg acgagtgcgc caggagctcc cctgtggact acttctggta ccgagagacg	540
ctcaacatct ccacgtccat cagcgactcg ggtccatcc agtggtggat gctgctgtgc	600
ctggcctgcg catggagcgt cctgtacatg tgcaccatcc gcggcatcga gaccaccggg	660
aaggccgtgt acatcacctc cacgctgccc tatgtcgtcc tgaccatctt cctcatccga	720
ggcctgacgc tgaagggcgc caccaatggc atcgtcttcc tcttcacgcc caacgtcacg	780
gagctggccc agccggacac ctggctggac gcgggcgcac aggtcttctt ctccttctcc	840
ctggccttcg ggggcctcat ctccttctcc agctacaact ctgtgcatgg ctcagcctct	900
cactcctggg gctggcgctc tgggcgggat gcggatgctg ccctgggctg tgtcctgacc	960
tgggacctca tcgccagccg ccatgacact ggtctcgtct gcagcaaaa ctgcgagaag	1020
gactcgtgga ttgtgtccat catcaacggc ttcacatcgg tgtatgtggc catcgtggtc	1080
tactccgta ttgggttccg cggcacacag cgctacgacg actgcttcag cacgaacatc	1140
ctgacctca tcaacgggtt cgacctgctt gaaggcaacg tgaccagga gaactttgtg	1200
gacatgcagc agcggtgcaa cgcctccgac cccgcggcct acgcccagct ggtgttccag	1260
acctgcgaca tcaacgcctt cctctcagag gccgtggagg gcacaggcct gcccttcac	1320
gtcttcaccg aggccatcac caagatgcg ttgtccccac tgtggtctgt gctcttcttc	1380
attatgctct tctgcctggg gctgtcatct atgtttggga acatggaggg cgtcgtttgtg	1440
cccctgcagg acctcagagt catcccccg aagtggccca aggagggtct cacaggcctc	1500
atctgcctgg ggacattcct cattggtctt atcttcacgc tgaactccgg ccagtactgg	1560
ctctccctgc tggacagcta tgccgctcc atccccctgc tcatcatcgc cttctgcgag	1620
atgttctctg tggctctacg gtacgggtg gacaggttca ataaggacat cgagttcatg	1680
atcgccaca agcccaacat cttctggcaa gtcacgtggc gcgtggtcag cccctgctc	1740

[0019]

atgctgatca tcttcctctt cttcttcgtg gtagaggcca gtcaggagct gacctacagc 1800
 atctgggacc ctggctacga ggaatttccc aaatcccaga agatctccta cccgaactgg 1860
 gtgtatgtgg tgggtggtgat tgtggctgga gtgccctccc tcaccatccc tggctatgcc 1920
 atctacaagc tcatacaggaa ccaactgccag aagccagggg accatcaggg gctggtgagc 1980
 acactgtcca cagcctccat gaacggggac ctgaagtact ga 2022

<210> 10

<211> 672

<212> PRT

<213> 智人

<400> 10

Met Val Arg Leu Val Leu Pro Asn Pro Gly Leu Asp Ala Arg Ile Pro
 1 5 10 15

Ser Leu Ala Glu Leu Glu Thr Ile Glu Gln Glu Glu Ala Ser Ser Arg
 20 25 30

Pro Lys Trp Asp Asn Lys Ala Gln Tyr Met Leu Thr Cys Leu Gly Phe
 35 40 45

Cys Val Gly Leu Gly Asn Val Trp Arg Phe Pro Tyr Leu Cys Gln Ser
 50 55 60

His Gly Gly Gly Ala Phe Met Ile Pro Phe Leu Ile Leu Leu Val Leu
 65 70 75 80

Glu Gly Ile Pro Leu Leu Tyr Leu Glu Phe Ala Ile Gly Gln Arg Leu
 85 90 95

Arg Arg Gly Ser Leu Gly Val Trp Ser Ser Ile His Pro Ala Leu Lys
 100 105 110

[0020]

Gly Leu Gly Leu Ala Ser Met Leu Thr Ser Phe Met Val Gly Leu Tyr
 115 120 125

Tyr Asn Thr Ile Ile Ser Trp Ile Met Trp Tyr Leu Phe Asn Ser Phe
 130 135 140

Gln Glu Pro Leu Pro Trp Ser Asp Cys Pro Leu Asn Glu Asn Gln Thr
 145 150 155 160

Gly Tyr Val Asp Glu Cys Ala Arg Ser Ser Pro Val Asp Tyr Phe Trp
 165 170 175

Tyr Arg Glu Thr Leu Asn Ile Ser Thr Ser Ile Ser Asp Ser Gly Ser
 180 185 190

Ile Gln Trp Trp Met Leu Leu Cys Leu Ala Cys Ala Trp Ser Val Leu
 195 200 205

Tyr Met Cys Thr Ile Arg Gly Ile Glu Thr Thr Gly Lys Ala Val Tyr
 210 215 220

Ile Thr Ser Thr Leu Pro Tyr Val Val Leu Thr Ile Phe Leu Ile Arg
 225 230 235 240

Gly Leu Thr Leu Lys Gly Ala Thr Asn Gly Ile Val Phe Leu Phe Thr
 245 250 255

Pro Asn Val Thr Glu Leu Ala Gln Pro Asp Thr Trp Leu Asp Ala Gly
 260 265 270

Ala Gln Val Phe Phe Ser Phe Ser Leu Ala Phe Gly Gly Leu Ile Ser
 275 280 285

[0021]

Phe Ser Ser Tyr Asn Ser Val His Gly Ser Ala Ser His Ser Trp Gly
 290 295 300

Trp Arg Ser Gly Arg Asp Ala Asp Ala Ala Leu Gly Cys Val Leu Thr
 305 310 315 320

Trp Asp Leu Ile Ala Ser Arg His Asp Thr Gly Leu Val Cys Ser Asn
 325 330 335

Asn Cys Glu Lys Asp Ser Val Ile Val Ser Ile Ile Asn Gly Phe Thr
 340 345 350

Ser Val Tyr Val Ala Ile Val Val Tyr Ser Val Ile Gly Phe Arg Ala
 355 360 365

Thr Gln Arg Tyr Asp Asp Cys Phe Ser Thr Asn Ile Leu Thr Leu Ile
 370 375 380

Asn Gly Phe Asp Leu Pro Glu Gly Asn Val Thr Gln Glu Asn Phe Val
 385 390 395 400

Asp Met Gln Gln Arg Cys Asn Ala Ser Asp Pro Ala Ala Tyr Ala Gln
 405 410 415

Leu Val Phe Gln Thr Cys Asp Ile Asn Ala Phe Leu Ser Glu Ala Val
 420 425 430

Glu Gly Thr Gly Leu Ala Phe Ile Val Phe Thr Glu Ala Ile Thr Lys
 435 440 445

Met Pro Leu Ser Pro Leu Trp Ser Val Leu Phe Phe Ile Met Leu Phe
 450 455 460

[0022]

Ile Tyr Lys Leu Ile Arg Asn His Cys Gln Lys Pro Gly Asp His Gln
 645 650 655

Gly Leu Val Ser Thr Leu Ser Thr Ala Ser Met Asn Gly Asp Leu Lys
 660 665 670

- <210> 11
- <211> 3252
- <212> DNA
- <213> 智人

<400> 11

```

gcggcccagg cccgcaacct tccctggctg tgcgccctat gtaaggccag ccgcgccagg 60
accaaggcgg cgggtgcagc tcgcgagcct accctccgcg gacggtcttg ggtcgcctgc 120
tgcctggctt gcctggctcg cggcgggtgc cccgcgcgca cgcgcaaagc ccgcccgtt 180
ccccgacccc aggccgcgct ctgtggcct ctgagggcgg catgcgggac tacgacgagg 240
tgaccgcctt cctgggcgag tgggggcct tccagcgcct catctcttc ctgctcagcg 300
ccagcatcat cccaatggc ttcaccggcc tgccctccgt gttcctgata gcgaccccgg 360
agcaccgctg ccgggtgccg gacgccgga acctgagcag cgccctggcg aaccacactg 420
tcccactgcg gctgcccggc gcccgcgagg tgccccacag ctgccgccgc taccggctcg 480
ccaccatcgc caacttctcg gcgcttgggc tggagccggg gcgcgacgtg gacctggggc 540
agctggagca ggagagctgt ctggatggt gggagtccag tcaggacgtc tacctgtcca 600
ccattgtgac cgagtggaac ctggtgtgtg aggacgactg gaaggcccca ctacaatct 660
ccttgttctt cgtgggtgtg ctgttgggct ccttcatttc agggcagctg tcagacaggt 720
ttggccggaa gaatgtgctg ttcgtgacca tgggcatgca gacaggcttc agcttctctg 780
agatctcttc gaagaatctt gagatglttg tcgtgctgtt tgccttgta ggcattgggc 840
agatctccaa ctatgtggca gcatttctcc tggggacaga aattcttggc aagtcagttc 900
gtataatatt ctctacgtta ggagtgtgca tattttatgc atttgctac atggtgctgc 960
    
```

[0024]

cactgtttgc ttacttcate cgagactggc ggatgctgct ggtggcgctg acgatgccgg	1020
gggtgctatg cgtggcacte tgggtggtca tccctgagtc cccccgatgg ctcatctctc	1080
agggacgatt tgaagaggca gaggtgatca tccgcaaggc tgccaaagcc aatgggattg	1140
ttgtgccttc cactatcttt gaccogagtg agttacaaga cctaagtcc aagaagcagc	1200
agtcccacaa cattctggat ctgcttcgaa cctggaatat cgggatggtc accatcatgt	1260
ccataatgct gtggatgacc atatcagtgg gctatitttg gctttcgctt gatactecta	1320
acttgcatgg ggacatcttt gtgaactgct tcctttcagc gatggttgaa gtcccagcat	1380
atgtgttggc ctggctgctg ctgcaatatt tgccccggcg ctattccatg gccactgccc	1440
tcttctggg tggcagtgtc cttctctca tgcagctggt acccccagac ttgtattatt	1500
tggctacagt cctggtgatg gtgggcaagt ttggagtcac ggctgccttt tccatggtct	1560
acgtgtacac agccgagctg talcccacag tggtagaaa catgggtgtg ggagtcagct	1620
ccacagcate ccgcctgggc agcatcctgt ctccctactt cgtttacctt ggtgcctacg	1680
accgcttctt gccctacatt ctcatgggaa gtctgaccat cctgacagcc atcctcacct	1740
tgtttctccc agagagcttc ggtacccccac tcccagacac cattgaccag atgctaagag	1800
tcaaaggaat gaaacacaga aaaactccaa gtcacacaag gatgttaaaa gatggtcaag	1860
aaaggccac aatccttaaa agcacagcct tetaacatcg cttccagtaa gggagaaact	1920
gaagaggaaa gactgtcttg ccagaaatgg ccagcttgctg cagactccga gtccttcagt	1980
gacaaaggcc tttgctgttt gtctcttga cctgtgtctg acttgctcct ggatgggcac	2040
ccacactcag aggctacala tggccctaga gcaccacctt cctctagga cactggggct	2100
acctacagac aacttcatct aagtcctaac tattacaatg atggactcag cacctccaaa	2160
gcagttaatt tttcactaga accagtgaga tctggaggaa tgtgagaagc atatgctaaa	2220
tgtacatfff aatfffagac tacttgaaaa ggcccctaat aaggctagag gtctaagtcc	2280

[0025]

cccacccctt tccccactcc cctctagtgg tgaactttag aggaaaagga agtaattgca 2340
 caaggagttt gattcttacc tttctcagt tacagaggac attaactgga tcattgcttc 2400
 cccagggcag gagagcgag agctagggaa agtgaaaggt aatgaagatg gagcagaatg 2460
 agcagatgca gatcaccagc aaagtgcact gatgtgtgag ctcttaagac cactcagcat 2520
 gagactgag tagacttggt tacatctgat caaagcactg ggcttgtcca ggctcataat 2580
 aatgctcca ttgaatctac tattcttggt ttccactgct gtggaaacct ccttgctact 2640
 atagcgtctt atgtatggtt taaaggaaat ttatcaggtg agagagatga gcaacgttgt 2700
 cttttctctc aaagctgtaa tgtgggtttt gttttattgt ttatttggtt gttgttgat 2760
 cctttctcc ttgttatttg cccttcagaa tgcacttggg aaaggctggt tccttagcct 2820
 cctggtttgt gtcttttttt tttttttttt aaacacagaa tcaactctggc aattgtctgc 2880
 agctgccact ggtgcaaggc cttaccagcc ctageccteta gcacttctct aagtgccaaa 2940
 aacagtgtca ttgtgtgtgt tcctitcttg atacttagtc atgggaggat attacaaaaa 3000
 agaaatitaa attggtttca tagtctttca gagtagctca ctttagtctt gtaactttat 3060
 tgggtgatat tttgtgttca gtgtaattgt cttctctttg ctgattatgt taccatggta 3120
 ctctaaagc atatgcctca cctggttaaa aaagaacaaa catgtttttg tgaagctac 3180
 tgaagtgcct tgggaaatga gaaagtttta ataagtaaaa tgatttttta aatatcaaaa 3240
 aaaaaaaaa aa 3252

<210> 12

<211> 557

<212> PRT

<213> 智人

<400> 12

Met Arg Asp Tyr Asp Glu Val Thr Ala Phe Leu Gly Glu Trp Gly Pro

1

5

10

15

[0026]

Phe Gln Arg Leu Ile Phe Phe Leu Leu Ser Ala Ser Ile Ile Pro Asn
 20 25 30

Gly Phe Thr Gly Leu Ser Ser Val Phe Leu Ile Ala Thr Pro Glu His
 35 40 45

Arg Cys Arg Val Pro Asp Ala Ala Asn Leu Ser Ser Ala Trp Arg Asn
 50 55 60

His Thr Val Pro Leu Arg Leu Arg Asp Gly Arg Glu Val Pro His Ser
 65 70 75 80

Cys Arg Arg Tyr Arg Leu Ala Thr Ile Ala Asn Phe Ser Ala Leu Gly
 85 90 95

Leu Glu Pro Gly Arg Asp Val Asp Leu Gly Gln Leu Glu Gln Glu Ser
 100 105 110

Cys Leu Asp Gly Trp Glu Phe Ser Gln Asp Val Tyr Leu Ser Thr Ile
 115 120 125

Val Thr Glu Trp Asn Leu Val Cys Glu Asp Asp Trp Lys Ala Pro Leu
 130 135 140

Thr Ile Ser Leu Phe Phe Val Gly Val Leu Leu Gly Ser Phe Ile Ser
 145 150 155 160

Gly Gln Leu Ser Asp Arg Phe Gly Arg Lys Asn Val Leu Phe Val Thr
 165 170 175

Met Gly Met Gln Thr Gly Phe Ser Phe Leu Gln Ile Phe Ser Lys Asn
 180 185 190

[0027]

Phe Glu Met Phe Val Val Leu Phe Val Leu Val Gly Met Gly Gln Ile
 195 200 205

Ser Asn Tyr Val Ala Ala Phe Val Leu Gly Thr Glu Ile Leu Gly Lys
 210 215 220

Ser Val Arg Ile Ile Phe Ser Thr Leu Gly Val Cys Ile Phe Tyr Ala
 225 230 235 240

Phe Gly Tyr Met Val Leu Pro Leu Phe Ala Tyr Phe Ile Arg Asp Trp
 245 250 255

Arg Met Leu Leu Val Ala Leu Thr Met Pro Gly Val Leu Cys Val Ala
 260 265 270

Leu Trp Trp Phe Ile Pro Glu Ser Pro Arg Trp Leu Ile Ser Gln Gly
 275 280 285

Arg Phe Glu Glu Ala Glu Val Ile Ile Arg Lys Ala Ala Lys Ala Asn
 290 295 300

Gly Ile Val Val Pro Ser Thr Ile Phe Asp Pro Ser Glu Leu Gln Asp
 305 310 315 320

Leu Ser Ser Lys Lys Gln Gln Ser His Asn Ile Leu Asp Leu Leu Arg
 325 330 335

Thr Trp Asn Ile Arg Met Val Thr Ile Met Ser Ile Met Leu Trp Met
 340 345 350

Thr Ile Ser Val Gly Tyr Phe Gly Leu Ser Leu Asp Thr Pro Asn Leu
 355 360 365

[0028]

His Gly Asp Ile Phe Val Asn Cys Phe Leu Ser Ala Met Val Glu Val
 370 375 380

Pro Ala Tyr Val Leu Ala Trp Leu Leu Leu Gln Tyr Leu Pro Arg Arg
 385 390 395 400

Tyr Ser Met Ala Thr Ala Leu Phe Leu Gly Gly Ser Val Leu Leu Phe
 405 410 415

Met Gln Leu Val Pro Pro Asp Leu Tyr Tyr Leu Ala Thr Val Leu Val
 420 425 430

Met Val Gly Lys Phe Gly Val Thr Ala Ala Phe Ser Met Val Tyr Val
 435 440 445

Tyr Thr Ala Glu Leu Tyr Pro Thr Val Val Arg Asn Met Gly Val Gly
 450 455 460

Val Ser Ser Thr Ala Ser Arg Leu Gly Ser Ile Leu Ser Pro Tyr Phe
 465 470 475 480

Val Tyr Leu Gly Ala Tyr Asp Arg Phe Leu Pro Tyr Ile Leu Met Gly
 485 490 495

Ser Leu Thr Ile Leu Thr Ala Ile Leu Thr Leu Phe Leu Pro Glu Ser
 500 505 510

Phe Gly Thr Pro Leu Pro Asp Thr Ile Asp Gln Met Leu Arg Val Lys
 515 520 525

Gly Met Lys His Arg Lys Thr Pro Ser His Thr Arg Met Leu Lys Asp
 530 535 540

[0029]

Gly Gln Glu Arg Pro Thr Ile Leu Lys Ser Thr Ala Phe
545 550 555

<210> 13

<211> 1983

<212> DNA

<213> 智人

<400> 13

ggggcggggc gcgctaccgc cagccccggg agctcggcta actcggcgcc cagtgcacgg 60
ccgcaccatg gggccccgcc acttcgaggg gatttatgac cacgtggggc acttcggcag 120
'attccagaga gtectctatt tcatatgtgc cttccagaac atctcttgtg gtattcacta 180
cttggettct gtgttcatgg gagtcacccc tcatcatgtc tgcaggcccc caggcaatgt 240
gagtcagggt gttttccata atcactctaa ttggagtgtg gaggacaccg gggccctgtt 300
gtcttcaggc cagaaagatt atgttacggt gcagttgcag aatggtgaga tctgggagct 360
ctcaaggtgt agcaggaala agagggagaa cacatcgagt ttgggctatg aatacactgg 420
cagtaagaaa gagtttcctt gtgtggatgg clacatatat gaccagaaca catggaaaag 480
cactgcggtg acccagtgga acctggtctg tgaccgaaaa tggettgcaa tgctgatcca 540
igcccctattd atgtttggag tectactggg atcgggtgact tttggetact tttctgacag 600
gctaggacgc cgggtggtct tgtgggccac aagcagtagc atgtttttgt ttggaatagc 660
agcggcggtt gcagttgatt attacacctt catggetgct cgcttttttc ttgccatggt 720
tgcaagtggc tatcttgtgg tgggtttgt ctatgtgatg gaattcattg gcatgaagtc 780
tcggacatgg gcgtctgtcc atttgcttc cttttttgca gttggaacct tgctggtggc 840
tttgacagga tacttggcca ggacctggtg gctttaccag atgacacctt ccacagtgac 900
tgtccccctt atcctgtgct gttgggtgct cccagagaca cttttttggc ttctctcaga 960
gggacgatat gaagaagcac aaaaaatagt tgacalcgat gcccaagtga acagggcaag 1020
ctcctgtaaa ctgtcagaac tttatcact ggacctacaa ggtcctgtta gtaatagccc 1080

[0030]

cactgaagtt cagaagcaca acctatcata tctgttttat aactggagca ttacgaaaag 1140
 gacacttacc gtttggctaa tctggttcac tggaagtttg ggattctact cgttttcctt 1200
 gaattctggt aacttaggag gcaatgaata cttaaaccctc ttctcctgg gtgtagtgga 1260
 aattccccgc tacaccttg tgtgcatgc catggacaag gtcgggagga gaacagtct 1320
 ggcctactct cttttctgca gtgcactggc ctgtggtgtc gttatggtga tccccagaa 1380
 acattatatt ttgggtgtgg tgacagctat gtttgaaaa tttgcatcg ggcagcatt 1440
 tggcctcatt tatctttata cagctgagct gtatccaacc attgtaagat cgctggctgt 1500
 gggaaagcggc agcatggtgt gtcgcctgce cagcatcctg gcgccgttct ctgtggacct 1560
 cagcagcatt tggatcttca taccacagtt gtttgttggg actatggccc tctgagtggt 1620
 agtgtaaca ctaaagcttc cagaaacctc tgggaaacgg ctagcaacta cttgggagga 1680
 ggctgcaaaa ctggagtcag agaatgaaag caagtcaagc aaattacttc tcacaactaa 1740
 taatagtggg ctggaaaaaa cggaagcgtat taccctcagg gattctggtc ttggtgaata 1800
 aatgtgcat gcctgctgtc tagcacctga aatattattt accctaagc ctttgtatta 1860
 gaggaatctt attctcatct cccatatggt gtttgtatgt ctttttaata aattttgtaa 1920
 gaaaatttta aagcaaatat gttataaaag aaataaaaac taagatgaaa aaaaaaaaaa 1980
 aaa 1983

<210> 14
 <211> 577
 <212> PRT
 <213> 智人

<400> 14

Met Gly Ser Arg His Phe Glu Gly Ile Tyr Asp His Val Gly His Phe
 1 5 10 15

[0031]

Gly Arg Phe Gln Arg Val Leu Tyr Phe Ile Cys Ala Phe Gln Asn Ile
 20 25 30

Ser Cys Gly Ile His Tyr Leu Ala Ser Val Phe Met Gly Val Thr Pro
 35 40 45

His His Val Cys Arg Pro Pro Gly Asn Val Ser Gln Val Val Phe His
 50 55 60

Asn His Ser Asn Trp Ser Leu Glu Asp Thr Gly Ala Leu Leu Ser Ser
 65 70 75 80

Gly Gln Lys Asp Tyr Val Thr Val Gln Leu Gln Asn Gly Glu Ile Trp
 85 90 95

Glu Leu Ser Arg Cys Ser Arg Asn Lys Arg Glu Asn Thr Ser Ser Leu
 100 105 110

Gly Tyr Glu Tyr Thr Gly Ser Lys Lys Glu Phe Pro Cys Val Asp Gly
 115 120 125

Tyr Ile Tyr Asp Gln Asn Thr Trp Lys Ser Thr Ala Val Thr Gln Trp
 130 135 140

Asn Leu Val Cys Asp Arg Lys Trp Leu Ala Met Leu Ile Gln Pro Leu
 145 150 155 160

Phe Met Phe Gly Val Leu Leu Gly Ser Val Thr Phe Gly Tyr Phe Ser
 165 170 175

Asp Arg Leu Gly Arg Arg Val Val Leu Trp Ala Thr Ser Ser Ser Met
 180 185 190

[0032]

Phe Leu Phe Gly Ile Ala Ala Ala Phe Ala Val Asp Tyr Tyr Thr Phe
 195 200 205

Met Ala Ala Arg Phe Phe Leu Ala Met Val Ala Ser Gly Tyr Leu Val
 210 215 220

Val Gly Phe Val Tyr Val Met Glu Phe Ile Gly Met Lys Ser Arg Thr
 225 230 235 240

Trp Ala Ser Val His Leu His Ser Phe Phe Ala Val Gly Thr Leu Leu
 245 250 255

Val Ala Leu Thr Gly Tyr Leu Val Arg Thr Trp Trp Leu Tyr Gln Met
 260 265 270

Ile Leu Ser Thr Val Thr Val Pro Phe Ile Leu Cys Cys Trp Val Leu
 275 280 285

Pro Glu Thr Pro Phe Trp Leu Leu Ser Glu Gly Arg Tyr Glu Glu Ala
 290 295 300

Gln Lys Ile Val Asp Ile Met Ala Lys Trp Asn Arg Ala Ser Ser Cys
 305 310 315 320

Lys Leu Ser Glu Leu Leu Ser Leu Asp Leu Gln Gly Pro Val Ser Asn
 325 330 335

Ser Pro Thr Glu Val Gln Lys His Asn Leu Ser Tyr Leu Phe Tyr Asn
 340 345 350

Trp Ser Ile Thr Lys Arg Thr Leu Thr Val Trp Leu Ile Trp Phe Thr
 355 360 365

[0033]

Gly Ser Leu Gly Phe Tyr Ser Phe Ser Leu Asn Ser Val Asn Leu Gly
 370 375 380

Gly Asn Glu Tyr Leu Asn Leu Phe Leu Leu Gly Val Val Glu Ile Pro
 385 390 395 400

Ala Tyr Thr Phe Val Cys Ile Ala Met Asp Lys Val Gly Arg Arg Thr
 405 410 415

Val Leu Ala Tyr Ser Leu Phe Cys Ser Ala Leu Ala Cys Gly Val Val
 420 425 430

Met Val Ile Pro Gln Lys His Tyr Ile Leu Gly Val Val Thr Ala Met
 435 440 445

Val Gly Lys Phe Ala Ile Gly Ala Ala Phe Gly Leu Ile Tyr Leu Tyr
 450 455 460

Thr Ala Glu Leu Tyr Pro Thr Ile Val Arg Ser Leu Ala Val Gly Ser
 465 470 475 480

| Gly Ser Met Val Cys Arg Leu Ala Ser Ile Leu Ala Pro Phe Ser Val
 485 490 495

Asp Leu Ser Ser Ile Trp Ile Phe Ile Pro Gln Leu Phe Val Gly Thr
 500 505 510

Met Ala Leu Leu Ser Gly Val Leu Thr Leu Lys Leu Pro Glu Thr Leu
 515 520 525

Gly Lys Arg Leu Ala Thr Thr Trp Glu Glu Ala Ala Lys Leu Glu Ser
 530 535 540

[0034]

gacacctggc tggacgcggg cgcacaggtc ttcttctcct tctccctggc cttcgggggc 900
ctcatctcct tctccagcta caactctgtg cacaacaact gcgagaagga ctcggtgatt 960
gtgtccatca tcaacggctt cacatcgggtg tatgtggcca tcgtggtcta ctccgtcatt 1020
gggttccgcg ccacgcagcg ctacgacgac tgcttcagca cgaacatcct gaccctcacc 1080
aacgggttcg acctgcctga aggcaacgtg acccaggaga ac11t1gtgga catgcagcag 1140
cgg1t1gcaacg cctccgaccc cgcggcctac gcgcagctgg t1t1ccagac ctgcgacacc 1200
aacgccttcc tctcagaggc cgtggagggc acaggcctgg ccttcatcgt cttcaccgag 1260
gccatcacca agatgccgtt glccccactg tgg1ctgtgc tcttcttcat tatgctcttc 1320
tgcc1ggggc lgtcatctat gtttgggaac atggaggggc tcgtt1tgcc cctgcaggac 1380
ctcagagtca tcccccgaa gtggcccaag gaggtgctca caggcctcat ctgcctgggg 1440
acattctca ttgcttcat cttcacgtg aactccggcc agtaactggct ctccctgctg 1500
gacagctatg ccggctccat tcccc1gctc atcctccttct tctgcgagat gttctctgtg 1560
gtctacgtgt acggtgtgga caggttcaat aaggacatcg agttcatgat cggccacaag 1620
cccaacatct tctggcaagt caegtggcgc gtgg1cagcc ccttgetcat getgatcacc 1680
ttctcttct tcttctgtgt agagg1cagt caggagctga cctacagcat ctgggaccct 1740
ggctacgagg aatttccaa atcccagaag atctcctacc cgaactgggt g1atgtgg1g 1800
gtgg1gattg tggctggagt gccctcctc accatccctg gctatgcat ctacaagctc 1860
atcaggaacc actgccagaa gccaggggac catcaggggc tgg1gagcac actgtccaca 1920
gcctccatga acggggacct gaagtactga gaaggcccat cccacggcgt gccatacact 1980
gg1gtcaggg aaggaggaac cagcaagacc tgtgggg1tg gggccgggct gcacctgcat 2040
gtgtgtaagc gtgagtgtat gctcgtgtgt gagtgtgtgt attgtacacg catgtgcat 2100
gtgtgcagat atgtatcgtg tgtgcatgta catgcatggg cactgtgagt gtgcacgtgt 2160

[0036]

atgcacacat atacatgtgt gtgggtgtgt gatttgtatg tgcattgtcc atgtgtgcag 2220
 atgtgtcatg ttgtgtgtgt gcatgtacat gattggacat tgtgtgagtg tgcaagtgtg 2280
 catgcatata catgtgtgcg atatttgcctg cccgtgtgtg tgcattgtata tatagacata 2340
 catgcctatg ttgtgtgtgg tgtgcatatg tgtgaacaca cacgtgtata catgcatgca 2400
 catgtgtctg tacaatgggt gtccacatgc acgtgtatat gtatatctgt gagtgtatat 2460
 acatgcatgc aattgtgtgt atgtgtgttc tgtgtgtgcg ttgcaagta tatatgcaca 2520
 tgtgtatatg tacatgtatg cctgtgtgac gtgtgtatat gtgagcatgt gtacgtgtgt 2580
 gtatacgtgt gttgtgtata tgtgtgtgtc tgtacctgtt tgtgtatatg tgtgtgatgt 2640
 gtgtctgtgt gtgtgcatat tcaggcaggt gtgcatttgt gcatcccagt gtgtatgtat 2700
 gtgagcatat ggacacgcat ggacacgcat atggacacat atggacacac atatggacac 2760
 gtgtggatat gtgtgcttac acgtctctgg gacacatgcc tgccactcgg ggcccagctg 2820
 accctctgtg ttgtctcttg ccacagtcac ggggtgcatg tgcagagggg agcagaccac 2880
 tggggacgtg ctgtgccctg cacgtgcccg ggggaagcgg aagctgcagc tgggggtggg 2940
 gcagcacctc tatgttcat ctctgtgggt ggcaggagac aaaagcacag ggtactatct 3000
 ttgtctctgg gagcactct tgtaccacac cccaccat ccccttccc ttgggttga 3060
 cctttgacct ggggttccc agagccctgt agccctcagc ccggagcagc ctctcggaag 3120
 ccggagtggg cagttgctgg cgattctgag aaaacttggc cgcattccac ggggccctgc 3180
 ctccagtcgg ccgctgccga gtctctgcgt tctggccgt tcccggctta atgaatgcca 3240
 gccattaat cattgctcct gccaccacaa atagatgagc agttaaataa aactcaactt 3300
 ggcataattc aaggcaaata cactctgtg cattttctta agaggacatg agctgtgtga 3360
 atttttagcc agcctttgga aaagatgggt tacagggtaa ctcaacctg gctgcatcc 3420
 ttgggcactg tgtgtgtcca gggcacctt gaggaccgtg cagccccag aagcttccag 3480
 ctcccgcacc actcagtgaa gccagcctg gcgcctgcc tgccccctc acgggatggg 3540

[0037]

ccccattgg ggttcaacat tccatgcag ccaaaggcag tcggcacttg ggacatctgc 3600
ttcacggac aggtcacctc cgctttgcac ggaagaatct ggatgcttac attaaactga 3660
tgttctgaga gttcctacgg acaggtcacc tccgctttgc atggaagaat ctggatgctt 3720
acattaaact ggtgttctga gagttcctac ggacaggtca cctccgcttt ccatagaaga 3780
atctggacgc ttacattaa ctgatgttct gagaattcct acaggcagga ctgaaagcct 3840
gggtgtgccc agtatgatgt tccaccacag gaaacctggt cacaatcgtc ccttccagca 3900
ccccatccag cagtgactgc acacactgag ccccctacca gcccctttca cctgctgac 3960
tgtcactggg ccctgggatg tgcaagactc cacagcagca gaggtggggg gacatatcac 4020
agcctctgcc ccggctgtg atgccaccga gggctcggc tgctgatggc ttcaacaggg 4080
tctcacctca tcttttctg ctctttggcc ctggatcgag aaaatttcca tcagtcccc 4140
attaatatgc tgcctgtgg catctgcca ggaggccctg ccaggcgtgc acaggtgtgc 4200
attggtgtac cctggcatgc acaggtgtgc actgatgtgc cctggcatcc atiggtgtac 4260
cctggtgtgc ctgcatagg accctgggcg ggagctcca tctcatctac atctctgat 4320
tcatcggtg tttcataggt ttcaatgtct ctgtaaagt gtagaaatg caggctttat 4380
gggcataaag tgtacattc taaataaatc cttctatctt agtatgctca ccctagaagt 4440
tactgtgtc cagacgtaga gggatgagt agccagtgc ctacagcggg atggtgggga 4500
cggcaggccc agctcctgcc tctcctggg ggtcttgct ttgggggctt gctccgaaga 4560
ggccatggcc caggcctgtg gctcacaat ggggaccaac cagctcttct catcttctc 4620
cctcacactt cctctcactc aaataagaac ctccaaaaa tgtgtccacc tgggcccctg 4680
ccctgggact catggattg gagttgtggc cacacggtg aggggtgcag tgtccagtgg 4740
aatggggcaa ttgcgggctt gggggccctt ggctgtccg tggcgggagc atctgcaagg 4800
aggagcccca gactccagg agcactgtgg ggagctcctt agagctgaac tcaccggcg 4860

[0038]

tcaactcadc aaccctccac ccatggacag gggtgcccc agcacaggag aggactcagc	4920
cctctgcccc cacgcacggt gggcgctgt caccctgtcc tgcccagcgg cccgagggca	4980
gcagtgggtg tgagggcagc ccccgccctc ccaagagcag ctgagaggat ccctgcggga	5040
atccgggctt cgggtgcatg cgatctgac tgagttgttt ctgacagtga cagagtgaca	5100
atctataagt atctcaagat caaatggtta aataaaacat aagaaattta aaacgattaa	5160
aaaaaaaaaa aaaaa	5175

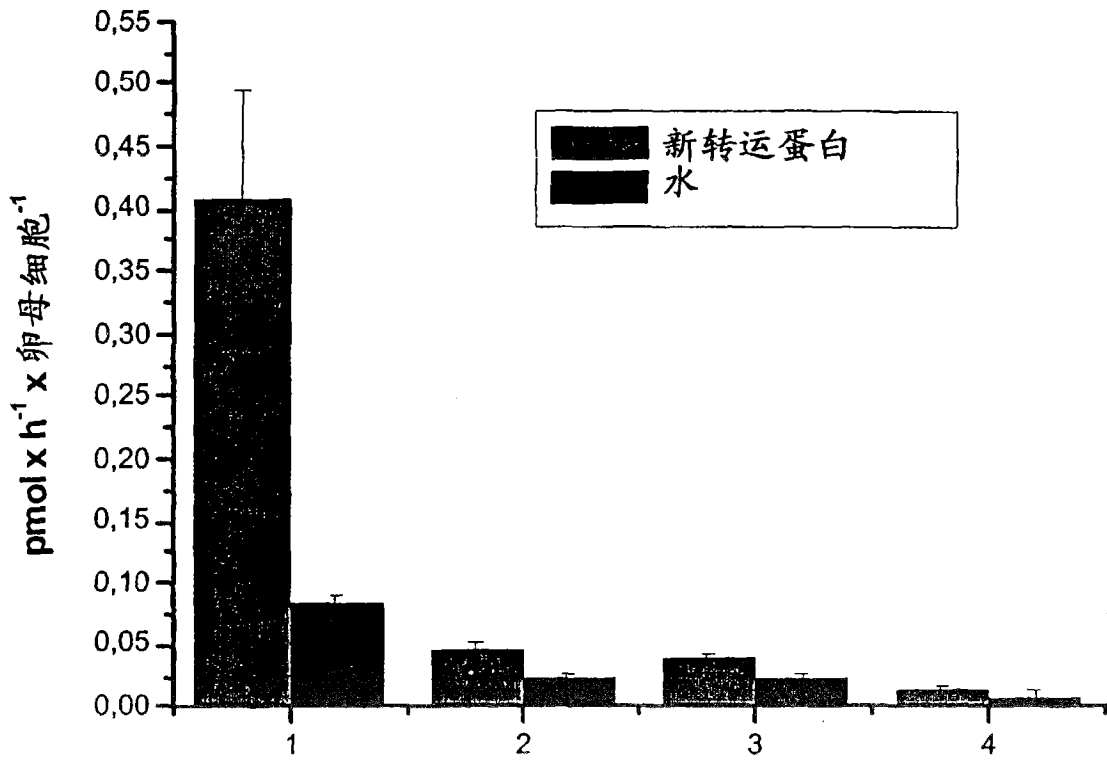


图 1

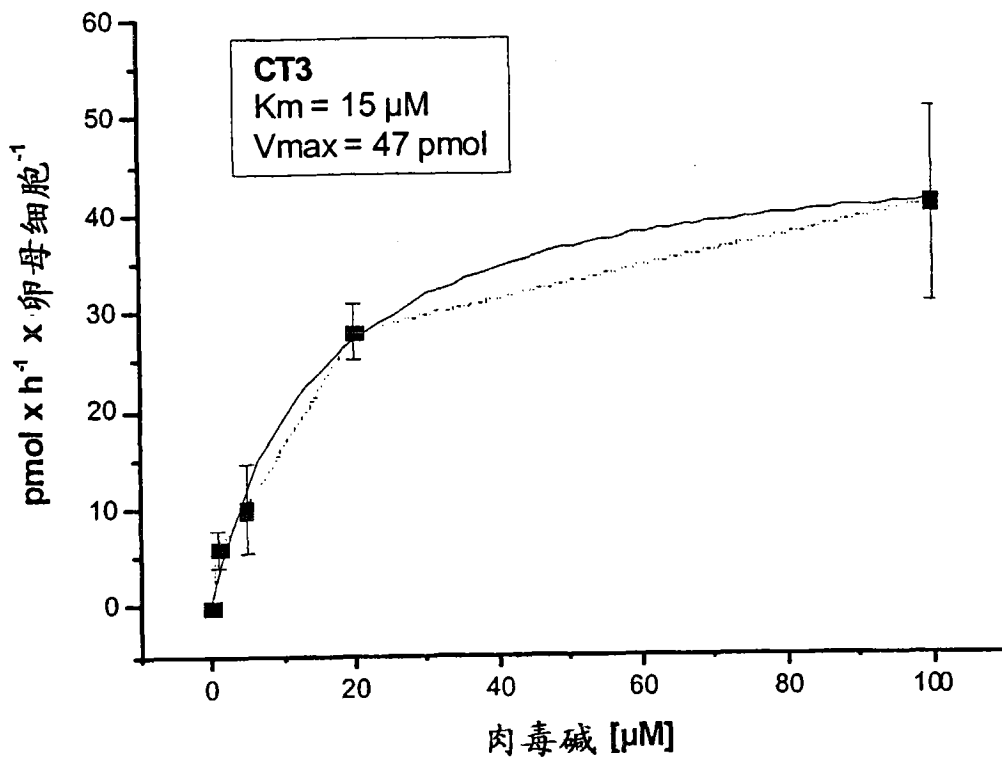


图 2

	小鼠 (SEQ ID NO:2), 大鼠 (SEQ ID NO:3)	人 (人) (SEQ ID NO:1)
小鼠 大鼠 人	MVRLVLPNPG LEERIPSLDE LEVIEKKEEAG MVRLVLPNPG LEDRIPSLDE LEVIEKKEEAS MVRLVLPNPG LDARIPSLAE LETIEQEEAS	SRPKWDNKAQ YMLTCVGFCV SKPKWDNKAQ YMLTCVGFCV SRPKWDNKAQ YMLTCLGFCV
小鼠 大鼠 人	GLGNVWRFPY LCQSHGGGAF MIPFLILLVF GLGNVWRFPY LCQSHGGGAF MIPFLILLVL GLGNVWRFPY LCQSHGGGAF MIPFLILLVL	EGIPLLYLEF AIGQRLRKGS EGIPLLHLEF AIGQRLRKGS EGIPLLYLEF AIGQRLRGRS
小鼠 大鼠 人	MGVWSSIHPA LKGIGIASMF VSFMVGLYYN VGVWSSIHPA LKGVGIASMF VSFMVGLYYN LGVWSSIHPA LKGLGLASML TFSMVGLYYN	TIIAWVMWYF FNSFQEPLPW TIIAWVMWYF FNSFQEPLPW TIISWIMWYL FNSFQEPLPW
小鼠 大鼠 人	SECPLNQNT GYVEECAKSS SVDYFWYRET SECPLNQNT GYVEECAKSS SVDYFWYRET SDCPLNENQT GYVDECARSS PVDYFWYRET	LNISTSISDS GSIQWILLC LNISTPISDS GSIQWILLC LNISTSISDS GSIQWMLLC
小鼠 大鼠 人	LTCAWSVLYV CIIRGIETT G KAVYITSTLP LTCAWSVLYV CTIRGIETT G KAVYITSTLP LACAWSVLYM CTIRGIETT G KAVYITSTLP	YVVLTI FLIR GLTLKGATNG YVVLTI FLIR GLTLKGATNG YVVLTI FLIR GLTLKGATNG
小鼠 大鼠 人	IVFLFTPNT ELSNPNTWLD AGAQVFYSFS IVFLFTPNT ELSNPNTWLD AGAQVYYSFS IVFLFTPNT ELAQPDWLD AGAQVFFSFS	LAFGGLISFS SYNSVHNNCE LAFGGLISFS SYNSVHNNCE LAFGGLISFS SYNSVHNNCE
小鼠 大鼠 人	MDSVIVSVIN GFTSVYAATV VYSIIGFRAT MDSVIVSIIN GFTSVYAATV VYSIIGFRAT KDSVIVSIIN GFTSVYVAIV VYSVIGFRAT	ERFDDCVNTN ILTLINGFDL ERFDDCVNTN ILTLINGFDL QRYDDCFSTN ILTLINGFDL
小鼠 大鼠 人	PEGNVTSENF EAYQWCNAT NPQAYAQLKF PEGNVTAE NF EAYQHWCNAT NPEAYAQLTF PEGNVTQENF VDMQQR CNAS DPAAYAQLVF	QTC DINSFLS EGVEGTGLAF QTC DINTFLS EGVEGTGLAF QTC DINAFLS EAVEGTGLAF
小鼠 大鼠 人	IVFTEAITKM PVSPLWSVLF FIMLFCLGLS IVFTEAITKM PVSPLWSVLF FIMLFCLGLS IVFTEAITKM PLSPLWSVLF FIMLFCLGLS	SMFGNMEGVV VPLQDLNITP SMFGNMEGVV VPLQDLNITP SMFGNMEGVV VPLQDLRVIP
小鼠 大鼠 人	KKWPKELLTG LICLGTYLIA FIFTLNSGQY KKWPKELLTG LICLGTYLIA FIFTLNSGQY PKWPKEVLTG LICLGTF LIG FIFTLNSGQY	WLSLLDSFAG SIPLLI IAF C WLSLLDSYAG SIPLLI IAF C WLSLLDSYAG SIPLLI IAF C
小鼠 大鼠 人	EMFAVVYVYG VDRFNKDIEF MIGHKPNIFW EMFAVVYVYG VDRFNKDIEF MIGHKPNIFW EMFSVVYVYG VDRFNKDIEF MIGHKPNIFW	QVTWRVVSPL IMLVIFLFFF QVTWRVVSPL IMLVIFLFFF QVTWRVVSPL LMLIIFLFFF
小鼠 大鼠 人	VIEVNKTLMY SIWDPNYEEF PKSQKIPYPN VIEVNKQLMY SVWDPDYEEF PKSQKVPYPD VVEVSQELTY SIWDPGYEEF PKSQKISYPN	WVYAVVVIVA GVPCL SIPCF WVYAVVVIVA GVPCL TIPCF WVYVVVVIVA GVPCL TIPGY
小鼠 大鼠 人	AIYKFIRNCC QKSDDHHLV NTLSTASVNG AIYKLIRNYC QKSGDQHGLV NALSTASVNG AIYKLIRNHC QKPGDHQGLV STLSTASMNG	DLKN DLKN DLKY

图 3

SEQ ID NR: 1 x SEQ ID NR: 2

86,9 %同一性

90,5 %相似性

```

      .           .           .           .           .
1  MVRLVLPNPGLDARIPSLAELETIEQEEASSRPKWDNKAQYMLTCLGFCV 50
   | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
1  MVRLVLPNPGLEERIPSLDELEVIEKEEAGSRPKWDNKAQYMLTCVGFCV 50
      .           .           .           .           .
51 GLGNVWRFPYLCQSHGGGAFMIPFLILLVLEGIPLLYLEFAIGQRLRRGS 100
   | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
51 GLGNVWRFPYLCQSHGGGAFMIPFLILLVFEGIPLLYLEFAIGQRLRKGS 100
      .           .           .           .           .
101 LGVWSSIHPALKGLGLASMLTSFMVGLYYNTIISWIMWYLFNSFQEPLPW 150
   | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
101 MGVWSSIHPALKGIGIASMFVSMVGLYYNTIIAWVMWYFFNSFQEPLPW 150
      .           .           .           .           .
151 SDCPLNENQTGYVDECARSSPVDYFWYRETLNISTSISDSGSIQWWMLLC 200
   | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
151 SECPLNQNGTGYVEECAKSSSDYFWYRETLNISTSISDSGSIQWWILLC 200
      .           .           .           .           .
201 LACAWSVLYMCTIRGIETTGA VYITSTLPYVVLTI FLIRGLTLKGATNG 250
   | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
201 LTCAWSVLYVCIIRGIETTGA VYITSTLPYVVLTI FLIRGLTLKGATNG 250
      .           .           .           .           .
251 IVFLFTPNTVTELAQPDTWLDAGA QVFFSFLAFGGLISFSSYNSVHNNCE 300
   | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
251 IVFLFTPNTITELSNPNTWLDAGA QVFFSFLAFGGLISFSSYNSVHNNCE 300
      .           .           .           .           .
301 KDSVIVSIINGFTSVYVAIVVYSVIGFRATQRYDDCFSTNILT LINGFDL 350
   | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
301 MDSVIVSVINGFTSVYAATVVYSIIGFRATERFD DCVNTNILT LINGFDL 350
      .           .           .           .           .
351 PEGNVTQENFVDMQQR CNASDPAA YAQLVFQTC DINAFLSEAVEGTGLAF 400
   | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
351 PEGNVTSENFEAYQQWCNATNPQAYAQLKFQTC DINSFLSEGVEGTGLAF 400
      .           .           .           .           .
401 IVFTEAITKMPLSPLWSV LFFIMLFCLGLSSMFGNMEGVV VPLQDLRVIP 450
   | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
401 IVFTEAITKMPVSPLWSV LFFIMLFCLGLSSMFGNMEGVV VPLQDLNITP 450
      .           .           .           .           .
451 PKWPKEVLTGLICLGT FLIGFIFTLNSGQYWLSLLDSYAGSIPL LIIAFC 500
   | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
451 KKWPKELLTGLICLGT YLIAFIFTLNSGQYWLSLLDSFAGSIPL LIIAFC 500

```

图 4

501 EMFSVVYVYGVDRFNKDIEFMIGHKPNIFWQVTRVVSPLLMLIIFLFFF 550
III .IIIIIIIIIIIIIIIIIIIIIIIIIIIIIIIIII:II:IIIIII
501 EMFAVVYVYGVDRFNKDIEFMIGHKPNIFWQVTRVVSPILMLVIFLFFF 550
551 VVEVSQELTYSIWDPGYEEFPKSKISYPNWWYVVVVVIVAGVPSLTIPGY 600
I:II.. I IIIII IIIIIIIII IIIII III IIIII I.II :
551 VIEVNKTLMYSIWDPNYEEFPKSKIPYPNWWYAVVVTVAGVPCLSI PCF 600
601 AIYKLIRNHCQKPGDHQGLVSTLSTASMNGDLKY 634
IIII III III II III.IIIII.IIIII
601 AIYKFIRNCCQKSDDHHGLVNTLSTASVNGDLKN 634

SEQ ID NO: 1 x SEQ ID NO: 3

86,7 % 同一性

90,8 % 相似性

```

1  MVRLVLPNPGLDARIPSLAELETIEQEEASSRPKWDNKAQYMLTCLGFCV 50
   | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
1  MVRLVLPNPGLEDRIPSLDELEVIEKEEASSKPKWDNKAQYMLTCVGFCV 50

51  GLGNVWRFYPYLCQSHGGGAFMIPFLILLVLEGIPLLYLEFAIGQRLRRGS 100
   | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
51  GLGNVWRFYPYLCQSHGGGAFMIPFLILLVLEGIPLLHLEFAIGQRLRKGS 100

101 LGVWSSIHPALKGLGLASMLTSFMVGLYYNTIISWIMWYLFNSFQEPLPW 150
    | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
101 VGVWSSIHPALKGVGIASMFVFSFMVGLYYNTIIAWVMWYFFNSFQEPLPW 150

151 SDCPLNENQTGYVDECARSSPVDYFWYRETLNISTSISDSGSIQWMLLC 200
    | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
151 SECPLNQNQTGYVEECAKSSSVDYFWYRETLNISTPISDSGSIQWMLLC 200

201 LACAWSVLYMCTIRGIETTGVKAVYITSTLPYVVLTIIFLIRGLTLKGATNG 250
    | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
201 LTCAWSVLYVCTIRGIETTGVKAVYITSTLPYVVLTIIFLIRGLTLKGATNG 250

251 IVFLFTPNTVTELAQPDTWLDAGAQQVFFSFLAFGGLISFSSYNSVHNNCE 300
    | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
251 IVFLFTPNTITELSNPNTWLDAGAQQVYYSFLAFGGLISFSSYNSVHNNCE 300

301 KDSVIVSIINGFTSVYVAIVVYSVIGFRATQRYDDCFSTNILTTLINGFDL 350
    | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
301 MDSVIVSIINGFTSVYAATVVYSIIGFRATERFDCCVNTNILTTLINGFDL 350

351 PEGNVTQENFVDMQQRCCNASDPAAYAQLVFQTCDINAFLSEAVEGTGLAF 400
    | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
351 PEGNVTAENFEAYQHCNATNPEAYAQLTFQTCDINTFLSEGVEGTGLAF 400

401 IVFTEAITKMPLSPLWSVLFIMLFCLGLSSMFGNMEGVVPLQDLRVIP 450
    | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
401 IVFTEAITKMPVSPLWSVLFIMLFCLGLSSMFGNMEGVVPLQDLNITP 450

451 PKWPKEVLTGLICLGTFLIGFIFFTLNSGQYWLSLLDSYAGSIPLLIIFC 500
    | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
451 KKWPKEVLTGLICLGTFLIGFIFFTLNSGQYWLSLLDSYAGSIPLLIIFC 500

```

图 5

```

      .           .           .           .
501 EMFSVVYVYGVD RFNKDIEFMIGHKPNIFWQVTWRVVSPLLMLIIFLFFF 550
      .           .           .           .
      .           .           .           .
501 EMFAVVYVYGVD RFNKDIEFMIGHKPNIFWQVTWRVVSPLIMLVIFLFFF 550
      .           .           .           .
551 VVEVSQELTYSIWDPGYEEFPKSQKISYPNWVYVVVVVIVAGVPSLTIPGY 600
      .           .           .           .
      .           .           .           .
551 VIEVNKQLMYSVWDPDYEEFPKSQKVPYPDWVYAVVVVIVAGVPCLTIPCF 600
      .           .           .           .
601 AIYKLIRNHCQKPGDHQGLVSTLSTASMNGDLKY 634
      .           .           .           .
      .           .           .           .
601 AIYKLIRNYCQKSGDQHGLVNALSTASVNGDLKN 634

```

SEQ ID NO: 2 x SEQ ID NO: 3

95,4 % 同一性

97 % 相似性

```

      .           .           .           .
1  MVRLVLPNPGLEERIPSLDELEVIEKEEAGSRPKWDNKAQYMLTCVGFCV 50
   | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
1  MVRLVLPNPGLEDRIPLSLDELEVIEKEEASSKPKWDNKAQYMLTCVGFCV 50

      .           .           .           .
51 GLGNVWRFPYLCQSHGGGAFMIPFLILLVFEGIPLLYLEFAIGQRLRKGS 100
   | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
51 GLGNVWRFPYLCQSHGGGAFMIPFLILLVLEGIPLLHLEFAIGQRLRKGS 100

      .           .           .           .
101 MGVWSSIHPALKGIGIASMFVFSFMVGLYYNTIIAWVMWYFFNSFQEPLPW 150
   | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
101 VGVWSSIHPALKGVGIASMFVFSFMVGLYYNTIIAWVMWYFFNSFQEPLPW 150

      .           .           .           .
151 SECPLNQNTGYVEECAKSSSDYFWYRETLNISTSISDSGSIQWWILLC 200
   | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
151 SECPLNQNTGYVEECAKSSSDYFWYRETLNISTPISDSGSIQWWILLC 200

      .           .           .           .
201 LTCAWSVLYVCIIRGIETTGA VYITSTLPYVVLTI FLIRGLTLKGATNG 250
   | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
201 LTCAWSVLYVCTIRGIETTGA VYITSTLPYVVLTI FLIRGLTLKGATNG 250

      .           .           .           .
251 IVFLFTPNI TELSNPNTWLDAGA QVYFSFLAFGGLISFSSYNSVHNNCE 300
   | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
251 IVFLFTPNI TELSNPNTWLDAGA QVYYSFLAFGGLISFSSYNSVHNNCE 300

      .           .           .           .
301 MDSVIVSVINGFTSVYAATVVYSIIGFRATERFDDCVNTNILT LINGFDL 350
   | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
301 MDSVIVSIINGFTSVYAATVVYSIIGFRATERFDDCVNTNILT LINGFDL 350

      .           .           .           .
351 PEGNVTS ENFEAYQQWCNATNPQAYAQLKFQTC DINSFLSEGVEGTGLAF 400
   | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
351 PEGNVTA ENFEAYQHWCNATNPEAYAQLTFQTC DINTFLSEGVEGTGLAF 400

      .           .           .           .
401 IVFTEAITKMPVSPLWSVLFFIMLFCLGLSSMFGNMEGVVVPLQDLNITP 450
   | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
401 IVFTEAITKMPVSPLWSVLFFIMLFCLGLSSMFGNMEGVVVPLQDLNITP 450

```

图 6

SEQ ID NO: 1 x SEQ ID NO: 10

```

1  MVRLVLPNPGLDARIPSLAELETIEQEEASSRPKWDNKAQYMLTCLGFCVGLGNVWRFPY
  |||
1  MVRLVLPNPGLDARIPSLAELETIEQEEASSRPKWDNKAQYMLTCLGFCVGLGNVWRFPY
   . . . . .
61 LCQSHGGGAFMIPFLILLVLEGIPLLYLEFAIGQRLRRGSLGVWSSIHPALKGLGLASML
  |||
61 LCQSHGGGAFMIPFLILLVLEGIPLLYLEFAIGQRLRRGSLGVWSSIHPALKGLGLASML
   . . . . .
121 TSFMVGLYYNTIISWIMWYLFNSFQEPLPWSDCPLNENQTYVDECARSSPVDYFWYRET
  |||
121 TSFMVGLYYNTIISWIMWYLFNSFQEPLPWSDCPLNENQTYVDECARSSPVDYFWYRET
   . . . . .
181 LNISTSISDSGSIQWWMLLCLACAWSVLYMCTIRGIETTGVAVYITSTLPYVVLTIIFLIR
  |||
181 LNISTSISDSGSIQWWMLLCLACAWSVLYMCTIRGIETTGVAVYITSTLPYVVLTIIFLIR
   . . . . .
241 GLTLKGATNGIVFLFTPNVTELAQPDTWLDAGAQQVFFSFLAFGGLISFSSYNSVH----
  |||
241 GLTLKGATNGIVFLFTPNVTELAQPDTWLDAGAQQVFFSFLAFGGLISFSSYNSVHGSAS
   . . . . .
297 -----NNCEKDSVIVSIINGFTSVYVAIV
  |||
301 HSWGWRSGRDADAALGCVLTWDLIASRHDTGLVCSNNCEKDSVIVSIINGFTSVYVAIV
   . . . . .
322 YSVIGFRATQRYDDCFSTNILTLLINGFDLPEGNVTQENFVDMQQRNASDPAAYAQLVFQ
  |||
361 YSVIGFRATQRYDDCFSTNILTLLINGFDLPEGNVTQENFVDMQQRNASDPAAYAQLVFQ
   . . . . .
382 TCDINAFNSEAVEGTGLAFIVFTEAITKMPLSPLWSVLFIMLFCLGLSSMFGNMEGVVV
  |||
421 TCDINAFNSEAVEGTGLAFIVFTEAITKMPLSPLWSVLFIMLFCLGLSSMFGNMEGVVV
   . . . . .

```

图 7

442 PLQDLRVIPPKWPKEVLTGLICLGTFLIGFIFTLNSGQYWLSLLDSYAGSIPLLI IAFCE
 |||

481 PLQDLRVIPPKWPKEVLTGLICLGTFLIGFIFTLNSGQYWLSLLDSYAGSIPLLI IAFCE

502 MFSVVYVYGVDRFNKDIEFMIGHKPNIFWQVTRVVSPLLMLIIFLFFFVVEVSQELTYS
 |||

541 MFSVVYVYGVDRFNKDIEFMIGHKPNIFWQVTRVVSPLLMLIIFLFFFVVEVSQELTYS

562 IWDPGYEEFPKSQKISYPNWVYVVVVIVAGVPSLTIPGYAIYKLIRNHCQKPGDHQGLVS
 |||

601 IWDPGYEEFPKSQKISYPNWVYVVVVIVAGVPSLTIPGYAIYKLIRNHCQKPGDHQGLVS

622 TLSTASMNGDLKY* 635
 |||

661 TLSTASMNGDLKY- 673

SEQ ID NO: 4 x SEQ ID NO: 9

```

      .       .       .       .       .
1  ATGGTGAGGCTCGTGCTGCCCAACCCCGGCCTAGACGCCCGGATCCCGTC 50
   | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
1  atggtgaggctcgtgctgcccaaccccggcctagacgccccggatcccgtc 50

      .       .       .       .       .
51 CCTGGCTGAGCTGGAGACCATCGAGCAGGAGGAGGCCAGCTCCCGGCCGA 100
   | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
51 cctggctgagctggagaccatcgagcaggaggaggccagctcccggccga 100

      .       .       .       .       .
101 AGTGGGACAACAAGGCGCAGTACATGCTCACCTGCCTGGGCTTCTGCGTG 150
   | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
101 agtgggacaacaaggcgcagtacatgctcacctgcctgggcttctgcgtg 150

      .       .       .       .       .
151 GGCCTCGGCAACGTGTGGCGCTTCCCCTACCTGTGTCAGAGCCACGGAGG 200
   | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
151 ggcctcggcaacgtgtggcgcttcccctacctgtgtcagagccacggagg 200

      .       .       .       .       .
201 AGGAGCCTTCATGATCCCGTTCCTCATCCTGCTGGTCCTGGAGGGCATCC 250
   | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
201 aggagccttcatgatcccgttcctcatcctgctggtcctggagggcatcc 250

      .       .       .       .       .
251 CCCTGCTGTACCTGGAGTTCGCCATCGGGCAGCGGCTGCGGCGGGGCAGC 300
   | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
251 ccctgctgtacctggagttcgccatcgggcagcggctgcggcggggcagc 300

      .       .       .       .       .
301 CTGGGTGTGTGGAGCTCCATCCACCCGGCCCTGAAGGGCCTAGGCCTGGC 350
   | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
301 ctgggtgtgtggagctccatccacccggccctgaagggcctaggcctggc 350

      .       .       .       .       .
351 CTCCATGCTCACGTCCTTCATGGTGGGACTGTATTACAACACCATCATCT 400
   | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
351 ctccatgctcacgtccttcatggtgggactgtattacaacaccatcatct 400

      .       .       .       .       .
401 CCTGGATCATGTGGTACTTATTCAACTCCTTCCAGGAGCCTCTGCCCTGG 450
   | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
401 cctggatcatgtggtacttattcaactccttccaggagcctctgccctgg 450

      .       .       .       .       .
451 AGCGACTGCCCGCTCAACGAGAACCAGACAGGGTATGTGGACGAGTGCGC 500

```

图 8


```

|||||
451 agcgactgcccgctcaacgagaaccagacagggatgtggacgagtgcgc 500
      .
      .
      .
      .
501 CAGGAGCTCCCCTGTGGACTACTTCTGGTACCGAGAGACGCTCAACATCT 550
      |||||
501 caggagctcccctgtggactacttctgggtaccgagagacgctcaacatct 550
      .
      .
      .
      .
551 CCACGTCCATCAGCGACTCGGGCTCCATCCAGTGGTGGATGCTGCTGTGC 600
      |||||
551 ccacgtccatcagcgactcgggctccatccagtggtggatgctgctgtgc 600
      .
      .
      .
      .
601 CTGGCCTGCGCATGGAGCGTCTGTACATGTGCACCATCCGCGGCATCGA 650
      |||||
601 ctggcctgcgcatggagcgtcctgtacatgtgcaccatccgcggcacga 650
      .
      .
      .
      .
651 GACCACCGGGAAGGCCGTGTACATCACCTCCACGCTGCCCTATGTCGTCC 700
      |||||
651 gaccaccgggaaggccgtgtacatcacctccacgctgccctatgtcgtcc 700
      .
      .
      .
      .
701 TGACCATCTTCCTCATCCGAGGCCTGACGCTGAAGGGCGCCACCAATGGC 750
      |||||
701 tgaccatcttcctcatccgaggcctgacgctgaaggcgccaccaatggc 750
      .
      .
      .
      .
751 ATCGTCTTCCTCTTCACGCCAACGTACGGAGCTGGCCCAGCCGGACAC 800
      |||||
751 atcgtcttctctcttcacgcccaacgtcacggagctggcccagccggacac 800
      .
      .
      .
      .
801 CTGGCTGGACGCGGGCGCACAGGTCTTCTTCTCCTTCTCCCTGGCCTTCG 850
      |||||
801 ctggctggacgcgggcgcacaggtcttcttctccttctccctggccttcg 850
      .
      .
      .
      .
851 GGGGCCTCATCTCCTTCTCCAGCTACAACCTCTGTGCA..... 887
      |||||
851 ggggcctcatctccttctccagctacaactctgtgcatggctcagcctct 900
      .
      .
      .
      .
888 ....CAACAACCTGCGAGAAGGACTCGGTGATTGTGTCCATCATCAACGGC 933
      |||||
1001 gcagcaacaactgcgagaaggactcggtgattgtgtccatcatcaacggc 1050
      .
      .
      .
      .

```

```

934 TTCACATCGGTGTATGTGGCCATCGTGGTCTACTCCGTCATTGGGTTCCG 983
      |
1051 ttcacatcgggtgtatgtggccatcgtggtctactccgtcattgggttccg 1100
      .
984 CGCCACGCAGCGCTACGACGACTGCTTCAGCACGAACATCCTGACCCTCA 1033
      |
1101 cgccacacagcgctacgacgactgcttcagcacgaacatcctgaccctca 1150
      .
1034 TCAACGGGTTTCGACCTGCCTGAAGGCAACGTGACCCAGGAGAACTTTGTG 1083
      |
1151 tcaacgggtttcgacctgcctgaaggcaacgtgacccaggagaactttgtg 1200
      .
1084 GACATGCAGCAGCGGTGCAACGCCTCCGACCCCGCGGCTACGCGCAGCT 1133
      |
1201 gacatgcagcagcggtgcaacgcctccgaccccgcggcctacgcgagct 1250
      .
1134 GGTGTTCCAGACCTGCGACATCAACGCCTTCTCTCAGAGGCCGTGGAGG 1183
      |
1251 ggtgttccagacctgcgacatcaacgccttctctcagaggccgtggagg 1300
      .
1184 GCACAGGCCTGGCCTTCATCGTCTTCACCGAGGCCATCACCAAGATGCCG 1233
      |
1301 gcacaggcctggccttcacgtcttcaccgaggccatcaccaagatgccg 1350
      .
1234 TTGTCCCCACTGTGGTCTGTGCTCTTCTTATTATGCTCTTCTGCCTGGG 1283
      |
1351 ttgtccccactgtggtctgtgctcttcttattatgctcttctgcctggg 1400
      .
1284 GCTGTCATCTATGTTGGGAACATGGAGGGCGTCGTTGTGCCCTGCAGG 1333
      |
1401 gctgtcatctatgttgggaacatggagggcgctcgttggtgccctgcagg 1450
      .
1334 ACCTCAGAGTCATCCCCCGAAGTGGCCCAAGGAGGTGCTCACAGGCCTC 1383
      |
1451 acctcagagtcatccccccaagtggcccaaggagggtgctcacaggcctc 1500
      .
1384 ATCTGCCTGGGGACATTCTCATTGGCTTCATCTTCACGCTGAACTCCGG 1433
      |
1501 atctgcctggggacattctcattggcttcacgtcactcagctgaactccgg 1550
      .
1434 CCAGTACTGGCTCTCCCTGCTGGACAGCTATGCCGGCTCCATTCCCCTGC 1483
      |

```

```

1551 ccagtactggctctccctgctggacagctatgccggctccattcccctgc 1600
      .           .           .           .           .
1484 TCATCATCGCCTTCTGCGAGATGTTCTCTGTGGTCTACGTGTACGGTGTG 1533
      | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
1601 tcatcatgccttctgcgagatggtctctgtggtctacgtgtacggtgtg 1650
      .           .           .           .           .
1534 GACAGGTTCAATAAGGACATCGAGTTCATGATCGGCCACAAGCCCAACAT 1583
      | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
1651 gacaggttcaataaggacatcgagttcatgatcggccacaagcccaacat 1700
      .           .           .           .           .
1584 CTTCTGGCAAGTCACGTGGCGCGTGGTCAGCCCCCTGCTCATGCTGATca 1633
      | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
1701 cttctggcaagtcaagtggcgcggtggtcagccccctgctcatgctgatca 1750
      .           .           .           .           .
1634 tcttcctcttcttcttcttcttcttctgGTAGAGGTGAGTTCAGGAGCTGACCTACAGC 1683
      | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
1751 tcttcctcttcttcttcttcttcttcttcttctggttagagggtcagtcaggagctgacctacagc 1800
      .           .           .           .           .
1684 ATCTGGGACCCTGGCTACGAGGAATTTCCCAAATCCCAGAAGATCTCCTA 1733
      | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
1801 atctgggaccctggctacgaggaatttcccaaatcccagaagatctccta 1850
      .           .           .           .           .
1734 CCCGAACTGGGTGTATGTGGTGGTGGTGATTGTGGCTGGAGTGCCCTCCC 1783
      | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
1851 cccgaactgggtgtatgtggtggtggtgattgtggctggagtgccctccc 1900
      .           .           .           .           .
1784 TCACCATCCCTGGCTATGCCATCTACAAGCTCATCAGGAACCACTGCCAG 1833
      | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
1901 tcaccatccctggctatgccatctacaagctcatcaggaaccactgccag 1950
      .           .           .           .           .
1834 AAGCCAGGGGACCATCAGGGGCTGGTGAGCACACTGTCCACAGCCTCCAT 1883
      | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
1951 aagccaggggaccatcaggggctggtgagcacactgtccacagcctccat 2000
      .           .           .           .           .
1884 GAACGGGGACCTGAAGTACTGA 1905
      | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
2001 gaacggggacctgaagtactga 2022

```

atggtgaggc ttgtgctgcc caaccctggc ctagaggagc ggattccatc tctggatgag 60
ttagaggtca ttgaaaagga agaggccggc tccaggccca aatgggacaa caaggcccag 120
tacatgctca cctgtgtggg cttttgtgtg gggtgaggca acgtgtggcg cttcccctac 180
ctatgccaga gccatggagg aggggccttc atgatcccat tctcatcct tctggtgttc 240
gagggaaattc ctttgcctga cctggagttt gccatcggtc agaggctacg caagggcagc 300
atgggtgtgt ggagctccat ccaccctgct ctgaagggta taggcatcgc ctccatgttc 360
gtgtccttca tgggtggcct gtactacaac accatcatcg cctgggtcat gtggtacttc 420
ttcaactcct ttcaggaacc tctgccatgg agtgaatgtc cactcaacca gaaccagaca 480
ggctatgtgg aagagtgtgc caagagctct tccgtggact acttctggta ccgagagact 540
cttaatatct ccacttccat cagtgaactca ggctccatcc agtgggtggat cctgctctgc 600
ctgacatgtg cctggagtgt gctgtatgtg tgtattatcc gtggcatcga gaccactggg 660
aaggctgtgt acatcacctc caccctgccc tatgtttgac tgaccatctt tctcatccgt 720
ggcttgactc tgaaggggtgc caccaacggc attgtcttcc tttcacacc caatatcaca 780
gagctgagca accccaacac gtggctggat gcaggtgctc aggtcttcta ctccttctca 840
ctggcctteg ggggcctcat ctcttctcc agctacaact ctgtgcacaa taattgtgag 900
atggattctg tgatcgtgtc tgtcatcaat ggcttcacat ctgtgtatgc ggccaccgtg 960
gtctactcca tcattggctt ccgagccact gagegctttg atgactgtgt caacacgaac 1020
atcctgacc ccatcaatgg gttcgacctg ccggagggca atgtgacttc agagaacttt 1080
gaggcctacc aacagtgggtg caatgccact aatccccagg cctatgcaca actgaagttt 1140
cagacctgtg acattaacag cttcctttct gaggggtgtg agggcacagg cctggccttc 1200
attgtcttca cggaagccat cacgaagatg ccagtgtccc cactgtggtc ggtgctcttt 1260
tttataatgc tcttctgcct gggactctcc tccatgtttg ggaacatgga ggggtgtggtc 1320

图 9

gtaccaccttc aggacctcaa tatcaccctt aagaagtggc ccaaagaatt gttgacaggc 1380
ctcatctgct tggggacata tctcatcgcc ttcattttca cactgaattc gggccagtac 1440
tggtctcttc tcttgacag ctttgctggc tccattcctc tgctaatacat cgccttttgt 1500
gagatgtttg ccgtcgtcta cgtgtatgga gttgacaggc tcaacaagga catcgagttc 1560
atgatcggcc ataagcccaa catcttctgg caagtacagt ggagagtggc cagtccactg 1620
atcatgctgg tcatcttctt cttctttttt gtgattgagg tcaacaaaac gctcatgtat 1680
agcatctggg accctaacta tgaggagttc ccgaaatctc agaagattcc atacccaac 1740
tgggtgtatg cagttgtggt cactgtggct ggagtacct gcctctccat cccctgcttt 1800
gccatctaca agttcatcag aaattgttgt cagaagtctg atgaccacca tgggctggtc 1860
aatacactgt ccacagcctc tgtgaatggg gaccttaaga actga 1905

(SEQ ID NO 5)

5'-accatgggga ggctcgtg-3' (SEQ ID NO: 6)

5'-gtgtcaggga aggaggaacc ag-3' (SEQ ID NO: 7)

图 10

atggtgaggc ttgtgctacc caaccctggc ctagaggacc ggattccgtc tctggatgaa 60
ttagaggtca ttgaaaagga agaggccagc tccaagccca aatgggacaa caaggcccag 120
tacatgctca cctgtgtggg cttctgtgtg gggetgggca atgtctggcg cttcccttac 180
ctgtgccaga gccatggagg aggggccttc atgateccct tctcatcct tctggtcctg 240
gagggcattc ccttgctgca cctggagttt gccatcggac agaggctacg caagggcagt 300
gtgggcgtct ggagctccat ccaccctgct ctgaagggtg taggcatcgc ctccatgttc 360
gtgtccttca tgggtggcct gtactacaac accatcatcg cctgggtcat gtggatattc 420
ttcaactcct ttcaggaacc tctgccatgg agcgaatgcc cactcaacca gaaccagaca 480
ggctatgtgg aagagtgtgc caagagctct tctgtggact acttctggta ccgagagact 540
ctcaacatct ccactcctat cagtgactca ggctccatcc agtgggtggat cctgctctgc 600
ctgacatgtg cctggagtggt tctgtatgtg tgtactatcc gtggcatcga gaccactggg 660
aaggctgttt acatcacctc caccctgccc tatgtcgtac tgaccatctt tctcatccgt 720
ggcttgactc tgaagggtgc caccaacggc attgtcttcc tttcacacc caatatcaca 780
gagctgagca accccaacac gtggctggat gcaggtgctc aggtttacta ctccttctca 840
ctggccttcg ggggcctcat ctccttctcc agctacaact ctgtacacaa taattgtgag 900
atggattccg tgatcgtgtc catcatcaat ggcttcacat ctgtgtatgc ggccaccgtg 960
gtctactcta tcattggctt cagggccacc gagcgctttg atgactgtgt gaacacgaac 1020
atcctgacce tcatcaatgg gttcgacctg cccgagggca atgtgactgc ggagaacttc 1080
gaggcctatc aacattgggtg caatgccact aatcccagag cctatgcccga gctgacgttt 1140
cagacctgtg acattaacac cttcctctct gaggggtgtag agggcacagg cctggccttc 1200
attgtcttca ctgaagccat cacgaagatg ccagtgtccc cactgtggtc ggtgctcttc 1260
tttatcatgc tcttctgcct gggcctctcc tctatgtttg ggaacatgga ggggtgtggtc 1320

图 11

gtacccttc aggatctcaa taccacct aagaagtggc ccaagaact gctcacaggt 1380
ctcatctgct tggggacata tctcatcgcc ttcattttca cactgaattc gggccagtac 1440
tggctctccc tgctggacag ctatgctggc tccatccctc tgctaatacat cgccctttgt 1500
gagatgtttg ctgtcgtcta cgtgtatgga gttgacaggt tcaacaagga catcgagttc 1560
atgatcggcc ataagcccaa catcttctgg caagtcacgt ggagagtggg cagtccgctg 1620
atcatgctgg tcatcttctt cttctttttc gtgattgaag tcaacaaca gctcatgtat 1680
agcgtatggg accctgacta tgaggagttc ccgaaatctc agaaggttcc ataccctgac 1740
tgggtgtacg cagttgtggg cattgtggct ggagtacct gccttaccat cccctgcttt 1800
gccatctaca aactcatcag aaactattgc cagaagtctg gggaccaaca tgggctggtc 1860
aatgcgctgt ccacagcctc tgtgaatggg gaccttaaga actga 1905

(SEQ ID NO: 8)

gcggcccagg cccgcaacct tccctggtcg tgcgccctat gtaaggccag ccgcggcagg 60
accaaggcgg cgggtgcagc tcgcgagcct accctccgcg gacggctctg ggtcgcctgc 120
tgcttggtt gcctggtcgg cggcgggtgc cccgcgcgca cgcgcaaagc ccgccgcgtt 180
ccccgacccc aggccgcgct ctgtgggcct ctgagggcgg catgcgggac tacgacgagg 240
tgaccgcctt cctgggcgag tgggggccct tccagcgcct catcttcttc ctgctcagcg 300
ccagcatcat ccccaatggc ttcaccggcc tgcctccgt gttcctgata gcgaccccgg 360
agcaccgctg ccgggtgccg gacgccgca acctgagcag cgctggcgc aaccacactg 420
tcccactgcg gctgcgggac ggccgcgagg tgccccacag ctgccgccgc taccggctcg 480
ccaccatcgc caacttctcg gcgcttgggc tggagccggg gcgcgacgtg gacctggggc 540
agctggagca ggagagctgt ctggatggct gggagtccag tcaggacgtc tacctgtcca 600
ccattgtgac cgagtggaac ctggtgtgtg aggacgactg gaaggcccca ctcaaatct 660
ccttgttctt cgtgggtgtg ctggtggct cttcatttc agggcagctg tcagacaggt 720
ttggccggaa gaatgtgctg ttcgtgacca tgggcatgca gacaggcttc agcttctgc 780
agatcttctc gaagaatctt gagatgtttg tcgtgctgtt tgccttgta ggcattggcc 840
agatctccaa ctatgtggca gcatttctc tggggacaga aattcttggc aagtcagttc 900
gtataatatt ctctacgta ggagtgtgca tattttatgc atttggctac atggtgctgc 960
cactgtttgc ttacttcac cgagactggc ggatgctgct ggtggcgtg acgatgccgg 1020
gggtgctatg cgtggcactc tgggtggtca tccctgagtc ccccgatgg ctcatctctc 1080
agggacgatt tgaagaggca gaggtgatca tccgcaaggc tgccaaagcc aatgggattg 1140
ttgtgccttc cactatcttt gacccgagtg agttacaaga cctaagttcc aagaagcagc 1200
agtcccacaa cattctggat ctgcttcgaa cctggaatat ccgatggtc accatcatgt 1260
ccataatgct gtggatgacc atatcagtg gctatcttgg gctttcgctt gatactccta 1320

图 12

acttgcacgg ggacatcttt gtgaactgct tcctttcagc gatggttgaa gtcccagcat 1380
atgtgttggc ctggctgctg ctgcaatatt tgccccggcg ctattccatg gccactgccc 1440
tcttctctggg tggcagtgct cttctcttca tgcagctggt acccccagac ttgtattatt 1500
tggctacagt cctgggtgatg gtgggcaagt ttggagtcac ggctgecttt tccatggtct 1560
acgtgtacac agccgagctg tatcccacag tggtgagaaa catgggtgtg ggagtcagct 1620
ccacagcacc ccgcctgggc agcatcctgt ctccctactt cgtttacctt ggtgcctacg 1680
accgcttctt gccctacatt ctcatgggaa gtctgacat cctgacagcc atcctcacct 1740
tgtttctccc agagagcttc ggtacccccac tcccagacac cattgaccag atgctaagag 1800
tcaaaggaat gaaacacaga aaaactccaa gtcacacaag gatgttaaaa gatggtaag 1860
aaaggccac aatccttaa agcacagcct tctaacatcg cttccagtaa gggagaaaact 1920
gaagaggaaa gactgtcttg ccagaaatgg ccagcttggtg cagactccga gtccttcagt 1980
gacaaaggcc tttgctgttt gtctcttga cctgtgtctg acttgctcct ggatgggac 2040
ccacactcag aggctacata tggccctaga gcaccacctt cctctagggg cactggggct 2100
acctacagac aacttcatct aagtccaac tattacaatg atggactcag cacctccaaa 2160
gcagttaatt tttcactaga accagtgaga tctggaggaa tgtgagaagc atatgctaaa 2220
tgtacatctt aattttagac tacttgaaaa gggccctaat aaggctagag gtctaagtcc 2280
cccaccctt tcccactcc cctctagtgg tgaactttag aggaaaagga agtaattgca 2340
caaggagttt gattcttacc tttctcagt tacagaggac attaactgga tcattgcttc 2400
cccagggcag gagagcgcag agctagggaa agtgaaagggt aatgaagatg gagcagaatg 2460
agcagatgca gatcaccagc aaagtgcact gatgtgtgag ctcttaagac cactcagcat 2520
gacgactgag tagacttggt tacatctgat caaagcactg ggcttgcca ggctcataat 2580
aaatgctcca ttgaatctac tattcttggt ttccactgct gtggaaacct ccttgctact 2640
atagcgtctt atgtatgggt taaaggaaat ttatcaggtg agagagatga gcaacgttgt 2700
ctttctctc aaagctgtaa tgtgggtttt gttttattgt ttatttggtt gttgtgtat 2760

```
ccttttctcc ttgttatttg cccttcagaa tgcacttggg aaaggctggt tccttagcct 2820
cctggtttgt gtcttttttt tttttttttt aaacacagaa tcactctggc aattgtctgc 2880
agctgccact ggtgcaaggc cttaccagcc ctagcctcta gcacttctct aagtgccaaa 2940
aacagtgtca ttgtgtgtgt tcctttcttg atacttagtc atgggaggat attacaaaa 3000
agaaatttaa attgtgttca tagtctttca gagtagctca ctttagtcct gtaactttat 3060
tgggtgatat tttgtgttca gtgtaattgt cttctctttg ctgattatgt taccatggta 3120
ctcctaaagc atatgcctca cctggttaaa aaagaacaaa catgtttttg tgaaagctac 3180
tgaagtgcct tgggaaatga gaaagtttta ataagtaaaa tgatttttta aatatcaaaa 3240
aaaaaaaaaa aa 3252
```

(SEQ ID NO 11)

Met Arg Asp Tyr Asp Glu Val Thr Ala Phe Leu Gly Glu Trp Gly Pro
 1 5 10 15

Phe Gln Arg Leu Ile Phe Phe Leu Leu Ser Ala Ser Ile Ile Pro Asn
 20 25 30

Gly Phe Thr Gly Leu Ser Ser Val Phe Leu Ile Ala Thr Pro Glu His
 35 40 45

Arg Cys Arg Val Pro Asp Ala Ala Asn Leu Ser Ser Ala Trp Arg Asn
 50 55 60

His Thr Val Pro Leu Arg Leu Arg Asp Gly Arg Glu Val Pro His Ser
 65 70 75 80

Cys Arg Arg Tyr Arg Leu Ala Thr Ile Ala Asn Phe Ser Ala Leu Gly
 85 90 95

Leu Glu Pro Gly Arg Asp Val Asp Leu Gly Gln Leu Glu Gln Glu Ser
 100 105 110

Cys Leu Asp Gly Trp Glu Phe Ser Gln Asp Val Tyr Leu Ser Thr Ile
 115 120 125

Val Thr Glu Trp Asn Leu Val Cys Glu Asp Asp Trp Lys Ala Pro Leu
 130 135 140

Thr Ile Ser Leu Phe Phe Val Gly Val Leu Leu Gly Ser Phe Ile Ser
 145 150 155 160

Gly Gln Leu Ser Asp Arg Phe Gly Arg Lys Asn Val Leu Phe Val Thr
 165 170 175

图 13

Met Gly Met Gln Thr Gly Phe Ser Phe Leu Gln Ile Phe Ser Lys Asn
 180 185 190

Phe Glu Met Phe Val Val Leu Phe Val Leu Val Gly Met Gly Gln Ile
 195 200 205

Ser Asn Tyr Val Ala Ala Phe Val Leu Gly Thr Glu Ile Leu Gly Lys
 210 215 220

Ser Val Arg Ile Ile Phe Ser Thr Leu Gly Val Cys Ile Phe Tyr Ala
 225 230 235 240

Phe Gly Tyr Met Val Leu Pro Leu Phe Ala Tyr Phe Ile Arg Asp Trp
 245 250 255

Arg Met Leu Leu Val Ala Leu Thr Met Pro Gly Val Leu Cys Val Ala
 260 265 270

Leu Trp Trp Phe Ile Pro Glu Ser Pro Arg Trp Leu Ile Ser Gln Gly
 275 280 285

Arg Phe Glu Glu Ala Glu Val Ile Ile Arg Lys Ala Ala Lys Ala Asn
 290 295 300

Gly Ile Val Val Pro Ser Thr Ile Phe Asp Pro Ser Glu Leu Gln Asp
 305 310 315 320

Leu Ser Ser Lys Lys Gln Gln Ser His Asn Ile Leu Asp Leu Leu Arg
 325 330 335

Thr Trp Asn Ile Arg Met Val Thr Ile Met Ser Ile Met Leu Trp Met
 340 345 350

Thr Ile Ser Val Gly Tyr Phe Gly Leu Ser Leu Asp Thr Pro Asn Leu
 355 360 365

His Gly Asp Ile Phe Val Asn Cys Phe Leu Ser Ala Met Val Glu Val
 370 375 380

Pro Ala Tyr Val Leu Ala Trp Leu Leu Leu Gln Tyr Leu Pro Arg Arg
 385 390 395 400

Tyr Ser Met Ala Thr Ala Leu Phe Leu Gly Gly Ser Val Leu Leu Phe
 405 410 415

Met Gln Leu Val Pro Pro Asp Leu Tyr Tyr Leu Ala Thr Val Leu Val
 420 425 430

Met Val Gly Lys Phe Gly Val Thr Ala Ala Phe Ser Met Val Tyr Val
 435 440 445

Tyr Thr Ala Glu Leu Tyr Pro Thr Val Val Arg Asn Met Gly Val Gly
 450 455 460

Val Ser Ser Thr Ala Ser Arg Leu Gly Ser Ile Leu Ser Pro Tyr Phe
 465 470 475 480

Val Tyr Leu Gly Ala Tyr Asp Arg Phe Leu Pro Tyr Ile Leu Met Gly
 485 490 495

Ser Leu Thr Ile Leu Thr Ala Ile Leu Thr Leu Phe Leu Pro Glu Ser
 500 505 510

Phe Gly Thr Pro Leu Pro Asp Thr Ile Asp Gln Met Leu Arg Val Lys
 515 520 525

Gly Met Lys His Arg Lys Thr Pro Ser His Thr Arg Met Leu Lys Asp
 530 535 540

Gly Gln Glu Arg Pro Thr Ile Leu Lys Ser Thr Ala Phe
 545 550 555 (SEQ ID NO 12)

ggggcggggc gcgtacccg cagcccccg agctcggcta actcggcgcc cagtgcacgg 60
 ccgcaccatg gggccccgc acttcgaggg gatttatgac cacgtggggc acttcggcag 120
 attccagaga gtctctatt tcatatgtgc ctccagAAC atctcttgTg gtattcacta 180
 cttggcttct gtgttcattg gagtcacccc tcatcatgtc tgcaggcccc caggcaatgt 240
 gagtcaggtt gttttcata atcactctaa ttggagtTtG gaggacaccg gggccctgtt 300
 gtcttcaggc cagaaagatt atgttacggT gcagttgcag aatggTgaga tctgggagct 360
 ctcaaggTgt agcaggaata agagggagaa cacatcagat ttgggctatg aatacactgg 420
 cagtaagaaa gagtttcctt gtgtggatgg ctacatatat gaccagaaca catggaaaag 480
 cactgcggTg acccagtgga acctggTctg tgaccgaaaa tggcttgca tGctgatcca 540
 gccctatTt atgtttggag tcctactggg atcggTgact tttggctact tttctgacag 600
 gctaggacgc cgggtggTct tgtgggccac aagcagtagc atgtttTtG ttggaatagc 660
 agcggcgTtt gcagttgatt attacacctt catggctgct cgctttTtC ttgccatggT 720
 tgcaagtggc tatcttgTg tggggtTtG ctatgtgatg gaattcattg gcatgaagtc 780
 tcggacatgg gcgtctgtcc atttgcattc cttttTtGca gttggaacce tGctggTggc 840
 tttgacagga tacttggtca ggacctggTg gctttaccag atgatcctct ccacagtGac 900
 tGtccccTt atcctgtgct gttgggtgct cccagagaca cttttTtggc ttctctcaga 960
 gggacgatat gaagaagcac aaaaaatagT tgacatcatg gccaaGtGga acagggcaag 1020
 ctccTgtaaa ctgtcagaac ttttatcact ggacctaca ggtcctgtta gtaatagccc 1080
 cactgaagtt cagaagcaca acctatcata tctgtTttat aactggagca ttacgaaaag 1140
 gacacttacc gtttgGctaa tctggTtcac tggaagTtG ggattctact cgttttcctt 1200
 gaattctgtt aacttaggag gcaatgaata cttaaacctc ttctcctgg gtgtagtGga 1260
 aattccccgc tacaccttg tgtgcatgc catggacaag gtcgggagga gaacagTcct 1320

图 14

ggcctactct cttttctgca gtgcaactggc ctgtggtgtc gttatggtga tccccagaa 1380
acattatatt ttgggtgtgg tgacagctat ggttggaaaa ttgccatcg gggcagcatt 1440
tggcctcatt tatctttata cagctgagct gtatccaacc attgtaagat cgctggctgt 1500
gggaagcggc agcatggtgt gtcgectggc cagcatcctg gcgccgttct ctgtggacct 1560
cagcagcatt tggatcttca taccacagtt gttgttggg actatggccc tctgagtgg 1620
agtgttaaca ctaaagcttc cagaaaccct tgggaaacgg ctagcaacta cttgggagga 1680
ggctgcaaaa ctggagtcag agaatgaaag caagtcaagc aaattacttc tcacaactaa 1740
taatagtggg ctggaaaaaa cggaagcgat taccaccagg gattctggtc ttggtgaata 1800
aatgtgccat gcctgctgtc tagcacctga aatattattt accctaagc ctttgatta 1860
gaggaatctt attctcatct cccatagtgt gttgtatgt ctttttaata aattttgtaa 1920
gaaaatttta aagcaaata gttataaaag aaataaaaac taagatgaaa aaaaaaaaaa 1980
aaa 1983

(SEQ ID NO 13)

Met Gly Ser Arg His Phe Glu Gly Ile Tyr Asp His Val Gly His Phe
1 5 10 15

Gly Arg Phe Gln Arg Val Leu Tyr Phe Ile Cys Ala Phe Gln Asn Ile
20 25 30

Ser Cys Gly Ile His Tyr Leu Ala Ser Val Phe Met Gly Val Thr Pro
35 40 45

His His Val Cys Arg Pro Pro Gly Asn Val Ser Gln Val Val Phe His
50 55 60

Asn His Ser Asn Trp Ser Leu Glu Asp Thr Gly Ala Leu Leu Ser Ser
65 70 75 80

Gly Gln Lys Asp Tyr Val Thr Val Gln Leu Gln Asn Gly Glu Ile Trp
85 90 95

Glu Leu Ser Arg Cys Ser Arg Asn Lys Arg Glu Asn Thr Ser Ser Leu
100 105 110

Gly Tyr Glu Tyr Thr Gly Ser Lys Lys Glu Phe Pro Cys Val Asp Gly
115 120 125

Tyr Ile Tyr Asp Gln Asn Thr Trp Lys Ser Thr Ala Val Thr Gln Trp
130 135 140

Asn Leu Val Cys Asp Arg Lys Trp Leu Ala Met Leu Ile Gln Pro Leu
145 150 155 160

Phe Met Phe Gly Val Leu Leu Gly Ser Val Thr Phe Gly Tyr Phe Ser
165 170 175

图 15

Asp Arg Leu Gly Arg Arg Val Val Leu Trp Ala Thr Ser Ser Ser Met
 180 185 190

Phe Leu Phe Gly Ile Ala Ala Ala Phe Ala Val Asp Tyr Tyr Thr Phe
 195 200 205

Met Ala Ala Arg Phe Phe Leu Ala Met Val Ala Ser Gly Tyr Leu Val
 210 215 220

Val Gly Phe Val Tyr Val Met Glu Phe Ile Gly Met Lys Ser Arg Thr
 225 230 235 240

Trp Ala Ser Val His Leu His Ser Phe Phe Ala Val Gly Thr Leu Leu
 245 250 255

Val Ala Leu Thr Gly Tyr Leu Val Arg Thr Trp Trp Leu Tyr Gln Met
 260 265 270

Ile Leu Ser Thr Val Thr Val Pro Phe Ile Leu Cys Cys Trp Val Leu
 275 280 285

Pro Glu Thr Pro Phe Trp Leu Leu Ser Glu Gly Arg Tyr Glu Glu Ala
 290 295 300

Gln Lys Ile Val Asp Ile Met Ala Lys Trp Asn Arg Ala Ser Ser Cys
 305 310 315 320

Lys Leu Ser Glu Leu Leu Ser Leu Asp Leu Gln Gly Pro Val Ser Asn
 325 330 335

Ser Pro Thr Glu Val Gln Lys His Asn Leu Ser Tyr Leu Phe Tyr Asn
 340 345 350

Trp Ser Ile Thr Lys Arg Thr Leu Thr Val Trp Leu Ile Trp Phe Thr
 355 360 365

Gly Ser Leu Gly Phe Tyr Ser Phe Ser Leu Asn Ser Val Asn Leu Gly
 370 375 380

Gly Asn Glu Tyr Leu Asn Leu Phe Leu Leu Gly Val Val Glu Ile Pro
 385 390 395 400

Ala Tyr Thr Phe Val Cys Ile Ala Met Asp Lys Val Gly Arg Arg Thr
 405 410 415

Val Leu Ala Tyr Ser Leu Phe Cys Ser Ala Leu Ala Cys Gly Val Val
 420 425 430

Met Val Ile Pro Gln Lys His Tyr Ile Leu Gly Val Val Thr Ala Met
 435 440 445

Val Gly Lys Phe Ala Ile Gly Ala Ala Phe Gly Leu Ile Tyr Leu Tyr
 450 455 460

Thr Ala Glu Leu Tyr Pro Thr Ile Val Arg Ser Leu Ala Val Gly Ser
 465 470 475 480

Gly Ser Met Val Cys Arg Leu Ala Ser Ile Leu Ala Pro Phe Ser Val
 485 490 495

Asp Leu Ser Ser Ile Trp Ile Phe Ile Pro Gln Leu Phe Val Gly Thr
 500 505 510

Met Ala Leu Leu Ser Gly Val Leu Thr Leu Lys Leu Pro Glu Thr Leu
 515 520 525

Gly Lys Arg Leu Ala Thr Thr Trp Glu Glu Ala Ala Lys Leu Glu Ser
 530 535 540

Glu Asn Glu Ser Lys Ser Ser Lys Leu Leu Leu Thr Thr Asn Asn Ser
 545 550 555 560

Gly Leu Glu Lys Thr Glu Ala Ile Thr Pro Arg Asp Ser Gly Leu Gly
565 570 575

Glu

(SEQ ID NO 14)

agcttctgcc ctgcctgctg tgtgcggagc cgtccagcga ccaccatggt gaggctcgtg 60

ctgccaacc ccggcctaga cgcccggatc ccgtccctgg ctgagctgga gaccatcgag 120

caggaggagg ccagctcccg gccgaagtgg gacaacaagg cgcagtacat gctcacctgc 180

ctgggcttct gcgtgggcct cggcaacgtg tggcgcttcc cctacctgtg tcagagccac 240

ggaggaggag ccttcatgat cccgttcctc atcctgctgg tcctggaggg catccccctg 300

ctgtacctgg agttcgccat cgggcagcgg ctgcggcggg gcagcctggg tgtgtggagc 360

tccatccacc cggccctgaa gggcctagge ctggcctcca tgctcacgtc cttcatggtg 420

ggactgtatt acaacacccat catctcctgg atcatgtggt acttattcaa ctccctccag 480

gagcctctgc cctggagcga ctgcccgtc aacgagaacc agacagggtg tgtggacgag 540

tgcgccagga gctccccctgt ggactacttc tggtagcgag agacgctcaa catctccacg 600

tccatcagcg actcgggctc catccagtgg tggatgctgc tgtgcctggc ctgcgcatgg 660

agcgtcctgt acatgtgcac catccgcggc atcgagacca ccgggaaggc cgtgtacatc 720

acctccacgc tgccctatgt cgtcctgacc atcttctca tccgaggcct gacgctgaag 780

ggcgccacca atggcatcgt ctctctctc acgccaacg tcacggagct ggcccagccg 840

gacacctggc tggacgcggg cgcacaggtc ttcttctct tctccctggc cttcgggggc 900

图 16

ctcatctcct tctccagcta caactctgtg cacaacaact gcgagaagga ctcggtgatt 960

gtgtccatca tcaacggctt cacatcggtg tatgtggcca tcgtggtcta ctccgtcatt 1020

gggttcgcg ccacgcagcg ctacgacgac tgcttcagca cgaacatcct gaccctcacc 1080

aacgggttcg acctgcctga aggcaacgtg acccaggaga actttgtgga catgcagcag 1140

cggtgcaacg cctccgacct cgcggcctac gcgcagctgg tgttcagac ctgcgacacc 1200

aacgccttcc tctcagagcc cgtggagggc acaggcctgg ccttcaccgt cttcaccgag 1260

gccatcacca agatgccgtt gtccccactg tggctctgtc tcttcttcat tatgctcttc 1320

tgctggggc tgcctctat gttgggaac atggagggcg tcgttctgcc cctgcaggac 1380

ctcagagtca tcccccgaa gtggcccaag gaggtgctca caggcctcat ctgcctgggg 1440

acattcctca ttggcttcat cttcacgctg aactccggcc agtactggct ctccctgctg 1500

gacagctatg cgggtccat tcccctgctc atcatgcct tctgcgagat gttctctgtg 1560

gtctacgtgt acggtgtgga caggttcaat aaggacatcg agttcatgat cggccacaag 1620

ccaacatct tctggcaagt cacgtggcgc gtggtcagcc cctgctcat gctgatcacc 1680

ttcctcttct tcttcgtggt agaggctcagt caggagctga cctacagcat ctgggacct 1740

ggctacgagg aatttcccaa atcccagaag atctcctacc cgaactgggt gtatgtggtg 1800

gtggtgattg tggctggagt gccctcctc accatcctg gctatgcat ctacaagctc 1860

atcaggaacc actgccagaa gccaggggac catcaggggc tggtagcac actgtccaca 1920

gcctccatga acggggacct gaagtactga gaaggcccat cccacggcgt gccatacact 1980

ggtgtcaggg aaggaggaac cagcaagacc tgtgggggtgg gggccgggct gcacctgcat 2040

gtgtgtaagc gtgagtgtat gctcgtgtgt gagtgtgtgt attgtacacg catgtgccat 2100

gtgtgcagat atgtatcgtg tgtgcatgta catgcatggg cactgtgagt gtgcacgtgt 2160

atgcacacat atacatgtgt gtgggtgtgt gtattgtatg tgcatgtgcc atgtgtgcag 2220

atgtgtcatg ttgtgtgtgt gcatgtacat gtatggacat tgtgtgagtg tgcaagtgtg 2280

catgcatata catgtgtgcg atatttgctg cccgtgtgtg tgcatgtata tatagacata 2340

catgcctatg ttgtgtgtgg tgtgcatatg tgtgaacaca cacgtgtata catgcatgca 2400

catgtgctcg tacaatgggt gtccacatgc acgtgtatat gtatatctgt gagtgtatat 2460

acatgcatgc aattgtgtgt atgtgtgttc tgtgtgtgcg ttgcaagta tatatgcaca 2520

tgtgtatatg tacatgtatg cctgtgtgac gtgtgtatat gtgagcatgt gtacgtgtgt 2580

gtatacgtgt gttgtgtata tgtgtgtgtc tgtacctgtt tgtgtatatg tgtgtgatgt 2640

gtgctcgtgt gtgtgcatat tcaggcagggt gtgcatttgt gcatcccagt gtgtatgtat 2700

gtgcgcatat ggacacgcat ggacacgcat atggacacat atggacacac atatggacac 2760

gtgtggatat gtgtgcgtac acgtcgtctgg gacacatgcc tgccactcgg ggcccagctg 2820

accctctgtg tttgtccttg ccacagtcac ggggtgcatg tgcagagggg agcagaccac 2880

tggggacgtg ctgtgccctg cacgtgcccg ggggaagcgg aagctgcagc tggggtgggg 2940

gcagcacctc tatgcttcat ctctgtgggt ggcaggagac aaaagcacag ggtactatct 3000

tggtccttgg gagcgactct tgctaccac ccccacccat ccccttcccc ttggtgttga 3060

cctttgacct gggggttccc agagccctgt agccctcgac ccggagcagc ctctcggaag 3120

ccggagtggg cagttgctgg cgattctgag aaaacttggc cgcatccacc ggggccctgc 3180

ctccagtcgg ccgctgccga gtctctgegt tctggccgct tcccggctta atgaatgcca 3240

gccatttaat cattgctcct gccaccacaa atagatgagc agttaaataa aactcaactt 3300

ggcataattc aaggcaaata ccactctgtg cattttctta agaggacatg agctgtgtga 3360

atTTTTagcc agcctttgga aaagatgggt tacagggtaa ctcaaccctg gctgccatcc 3420

ttgggcactg tgtgtgtcca gggcaccttg gaggaccgtg cagccccag aagcttccag 3480

ctcccgcacc actcagtga gcccagcctg ggcctgccc tgccccgctc acgggatggg 3540

ccccattgg ggttcaacat tccatcgag ccaaaggcag tgggcacttg ggacatctgc 3600

ttccacggac aggtcacctc cgctttgcac ggaagaatct ggatgcttac attaaactga 3660

tgttctgaga gttcctacgg acaggtcacc tccgctttgc atggaagaat ctggatgctt 3720

acattaaact ggtgttctga gagttcctac ggacaggtea cctccgcttt ccatagaaga 3780

atctggacgc ttacatta aa ctgatgttct gagaattcct acaggcagga ctgaaagcct 3840

gggtgtgtgcc agtatgatgt tccacccacg gaaacctggt cacaatcgtc ccttccagca 3900

ccccatccag cagtgactgc acacactgag ccccctacca gccctttca ccctgctgac 3960

tgctactggg ccctgggatg tgcaagactc cacagcagca gaggtggggg gacatatcac 4020

agcctctgcc cccggctgtg atgccaccga ggggctcgcc tgctgatggc ttcaacaggg 4080

tctcacctca tcttttctg ctctttggcc ctggatcgag aaaatttcca tcagtgcccc 4140

attaatatgc tgccctgtgg catctgcccc ggaggccctg ccaggcgtgc acaggtgtgc 4200

attggtgtac cctggcatgc acaggtgtgc actgatgtgc cctggcatcc attggtgtac 4260

cctggtgtgc ctgccaatagg accctggggc ggagctccca tctcatctac atctctgat 4320

tcatgcgttg tttcataggt ttcaatgtct ctgtaaagt gtagaaaatg caggctttat 4380

gggcataaag tgtacatttc taaataaatc ccttctattt agtatgctca ccctagaagt 4440

tactgttgtc cagacgtaga gggatgagtg agccagtgac ctcagacggg atggtgggga 4500

eggcaggacc agtcctgcc tctcctggg gggctctggct ttgggggctt gctccgaaga 4560

ggccatggcc caggcctgtg gcctcacaat ggggaccaac cagctcttct catcttcttc 4620

cctcacactt cctctcactc aaataagaac cttccaaaaa tgtgtccacc tgggcccctg 4680

ccctgggact catggatttg gagttgtggc cacacggttg aggggtgcag tgtccagtgg 4740

aatggggcaa ttgcgggcct gggggccctt ggcctgtccg tggcgggagc atctgcaagg 4800

aggagcccca gagtccaggg agcactgtgg ggagctcctt agagctgaac tcacccggcg 4860

tcaactcate aaccctccac ccatggacag gggtgcccc agcacaggag aggactcagc 4920

cctctgcccc caegcaeggt gggtgccctgt caccctgtcc tgcccagcgg cccgagggca 4980

gcagtgggtg tgagggcagc ccccggcctc ccaagagcag ctgagaggat ccctgcggga 5040

atccgggctt cgggtgcatg cgatctgac tgagttgttt ctgacagtga cagagtgaca 5100

atctataagt atctcaagat caaatgggta aataaaacat aagaaattta aaacgattaa 5160

aaaaaaaaa aaaaa 5175

(SEQ ID NO 15)