

Описания всех цитируемых ссылок включены здесь в качестве ссылки в их полном виде.

Цитокины являются растворимыми белками, которые влияют на рост и дифференцировку многих типов клеток. Их рецепторы состоят из одного или нескольких интегральных мембранных белков, которые связывают цитокин с высокой аффинностью и трансдуцируют это событие связывания в клетку через цитоплазматические части определенных субъединиц рецептора. Рецепторы цитокинов были сгруппированы в несколько классов на основе сходства в их внеклеточных доменах связывания лиганда. Например, рецепторные цепи, ответственные за связывание и/или трансдукцию действия интерферонов (IFN), являются членами семейства рецепторов цитокинов типа II (CRF2) на основе характерного состоящего из 200 остатков внеклеточного домена. Демонстрируемые *in vivo* активности этих интерферонов иллюстрируют огромный клинический потенциал цитокинов и потребность в других цитокинах, агонистах цитокинов и антагонистах цитокинов. Некоторые цитокины участвуют в воспалительном каскаде и могут усиливать такие заболевания, как ревматоидный артрит, болезнь Крона, псориаз, сердечные заболевания и т.д. Таким образом, существует потребность в обнаружении цитокинов и их рецепторов, которые участвуют в воспалении. После этого можно использовать выделенные растворимые рецепторы цитокина для ингибирования опосредованного этим цитокином воспаления.

Краткое описание чертежей

Фиг. 1-8 являются схематическими представлениями различных вариантов растворимого рецептора данного изобретения.

Описание изобретения

Данное изобретение удовлетворяет эту потребность обеспечением открытого недавно растворимого рецептора, который связывается с интерлейкином-20 (IL-20). Этот растворимый рецептор может быть использован в понижающей регуляции IL-20 и, следовательно, в лечении воспалительных заболеваний, таких как псориаз и воспалительные заболевания легких.

IL-20 был формально назван "Zcyto10" (Международная публикация № WO 99/27103) и имеет аминокислотные последовательности SEQ ID NO:1-9. Гетеродимерный рецептор, который связывается с IL-20, состоит из двух цепей, альфа-цепи и бета-цепи. Альфа-цепь называют IL-22R (ранее ее называли Zcytor11). См. патент США № 5965704. Бета-цепь, далее называемую IL-20RB, была формально названа DIRS1. См. Международную патентную заявку № PCT/US99/03735. Настоящее изобретение относится к растворимому рецептору, состоящему из внеклеточного домена IL-22R и внеклеточного домена IL-20RB.

Данное изобретение включает в себя выделенный растворимый рецептор, состоящий из субъединицы "IL-22R" и субъединицы "IL-20RB", где субъединица IL-22R состоит из полипептида, имеющего аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO:11, 12 и 13, а субъединица IL-20RB состоит из полипептида, имеющего аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO:14-23. Субъединицы IL-22R и IL-20RB обычно связаны вместе полипептидным линкером. Связывание может осуществляться любым способом, но обычно осуществляется пептидной связью или дисульфидной связью между полипептидом, соединенным с субъединицей IL-22R, и полипептидом, соединенным с субъединицей IL-20RB. Данное изобретение относится также к выделенным полинуклеотидам, которые кодируют новые полипептиды IL-22R и IL-20RB данного изобретения.

В одном варианте субъединица IL-22R слита с константной областью тяжелой цепи молекулы иммуноглобулина (Ig) или ее частью, а субъединица IL-20RB слита с константной областью легкой цепи молекулы Ig, так что константная область легкой цепи связана дисульфидной связью с константной областью тяжелой цепи, обычно с остатком цистеина на шарнирной области тяжелой цепи. Может встречаться и обратная ситуация, т.е. субъединица IL-22R может быть слита с константной областью легкой цепи молекулы Ig, а субъединица IL-20RB может быть слита с константной областью тяжелой цепи молекулы Ig.

В одном варианте растворимого рецептора данного изобретения субъединица IL-22R, слитая с константной областью тяжелой цепи, состоит из аминокислотной последовательности, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 25, 26, 31 и 32, а субъединица IL-20RB, слитая с константной областью легкой цепи молекулы Ig, состоит из аминокислотной последовательности, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 28 и 29.

Данное изобретение дополнительно относится к способу для ингибирования интерлейкина-20 (IL-20), предусматривающему введение индивидууму растворимого гетеродимерного полипептида IL-22R/IL-20RB.

Данное изобретение относится также к способу для ингибирования IL-20, предусматривающему введение индивидууму антитела, которое связывается с IL-22R.

Далее, данное изобретение относится к полинуклеотиду, кодирующему внеклеточный домен IL-22R и внеклеточный домен IL-20RB. Примером такого полинуклеотида является вектор или плазмида, содержащая полинуклеотид, который кодирует IL-22R и IL-20RB.

Определения

Перед более подробным изложением данного изобретения может быть полезным для его понимания определение следующих терминов.

Термины "амино-концевой" и "карбоксил-концевой" используются здесь для обозначения положений внутри полипептидов. Там, где позволяет контекст, эти термины используются со ссылкой на конкретную последовательность или часть полипептида для обозначения близости или относительного положения. Например, некоторая последовательность, расположенная карбоксил-терминально относительно ссылочной последовательности в полипептиде, расположена проксимально относительно карбоксил-конца ссылочной последовательности, но не обязательно находится при карбоксил-конце полного полипептида.

В применении здесь, термин "слитый с антителом белок" относится к рекомбинантной молекуле, которая содержит компонент антитела и терапевтический агент. Примеры терапевтических агентов, подходящих для таких слитых белков, включают в себя иммуномодуляторы («слитый белок антитело-иммуномодулятор») и токсины («слитый белок антитело-токсин»).

Термин "пара комплемент/антикомплемента" обозначает неидентичные части молекулы, которые образуют нековалентно связанную, стабильную пару при подходящих условиях. Например, биотин и авидин (или стрептавидин) являются членами-прототипами пары комплемент/антикомплемента. Другие примеры пар комплемент/антикомплемента включают в себя пары рецептор/лиганд, пары антитело/антиген (или гаптен или эпитоп), пары смысловой/антисмысловой полинуклеотид и т.п. В случае, когда желательна последующая диссоциация пары комплемент/антикомплемента, пара комплемент/антикомплемента предпочтительно имеет аффинность связывания $<10^9 \text{M}^{-1}$.

Термин «комплементы полинуклеотидной молекулы» обозначает полинуклеотидную молекулу, имеющую комплементарную последовательность оснований и обращенную ориентацию в сравнении со ссылочной последовательностью.

Термин «контиг» обозначает полинуклеотид, который имеет непрерывный отрезок идентичной или комплементарной последовательности относительно другого полинуклеотида. Говорят, что непрерывные последовательности (контиги) "перекрывают" конкретный отрезок полинуклеотидной последовательности либо полностью, либо вдоль частичного отрезка этого полинуклеотида.

Термин «вырожденная нуклеотидная последовательность» обозначает последовательность нуклеотидов, которая включает в себя один или более вырожденных кодонов (в сравнении со ссылочной полинуклеотидной молекулой, которая кодирует полипептид). Вырожденные кодоны содержат различные триплеты нуклеотидов, но кодируют один и тот же аминокислотный остаток (т.е. триплеты GAU и GAC, каждый, кодируют Asp).

Термин «экспрессирующий вектор» используется для обозначения молекулы ДНК, линейной или кольцевой, которая содержит сегмент, кодирующий представляющий интерес полипептид, функционально связанный с дополнительными сегментами, которые обеспечивают его транскрипцию. Такие дополнительные сегменты включают в себя промоторную и терминаторную последовательности и могут также включать в себя одну или несколько точек инициации репликации, один или несколько селективируемых маркеров, энхансер, сигнал полиаденилирования и т.д. Экспрессирующие векторы обычно произведены из плазмидной или вирусной ДНК или могут содержать элементы обеих.

Термин "выделенный", в применении к полинуклеотиду, обозначает, что этот полинуклеотид был удален из его природной генетической среды и, следовательно, не содержит других посторонних или нежелательных кодирующих последовательностей и находится в форме, подходящей для применения в генетически сконструированных системах продуцирования белков. Такие выделенные молекулы являются молекулами, которые выделены из их природного окружения, и включают в себя кДНК-клоны и геномные клоны.

Выделенные молекулы ДНК данного изобретения не содержат других генов, с которыми они обычно связаны, но могут включать в себя природно встречающиеся 5'- и 3'-нетранслируемые районы, такие как промоторы и терминаторы. Идентификация ассоциированных районов будет очевидной лицу с обычной квалификацией в данной области (см., например, Dynan and Tjian, Nature 316:774-78, 1985).

Термин «выделенный» полипептид или белок представляет собой полипептид или белок, который обнаруживается в условиях, иных, чем его природное окружение, например, отдельно от крови и ткани животного. В предпочтительной форме, выделенный полипептид является по существу не содержащим других полипептидов, в частности, других полипептидов животного происхождения. Предпочтительно обеспечение полипептидов в высокоочищенной форме, т.е. имеющих чистоту более 95%, более предпочтительно чистоту более 99%. При использовании в этом контексте, термин «выделенный» не исключает присутствия того же самого полипептида в альтернативных физических формах, таких как димеры или альтернативно гликозилированные или дериватизованные формы.

Термин «функционально (оперативно) связанные» в применении к сегментам ДНК, указывает, что эти сегменты расположены таким образом, что они функционируют совместно для их предполагаемых целей, например, транскрипция иницируется в промоторе и протекает через кодирующий сегмент до терминатора.

Термин "полинуклеотид" обозначает одно- или двухцепочечный полимер дезоксирибонуклеотидных или рибонуклеотидных оснований, считываемых от 5'-конца к 3'-концу. Полинуклеотиды включают в себя РНК и ДНК и могут быть изолированы из природных источников, синтезированы *in vitro* или по-

лучены из комбинации природных и синтетических молекул. Размеры полинуклеотидов выражаются как пары нуклеотидов (сокращенно "п.н."), нуклеотиды ("нт") или тысячи пар нуклеотидов ("т.п.н."). Там, где позволяет контекст, два последних термина могут описывать полинуклеотиды, которые являются одноцепочечными или двухцепочечными. При применении этого термина к двухцепочечным молекулам его используют для обозначения общей длины, и должно быть понятно, что он является эквивалентным термину "пары нуклеотидов". Специалистам в данной области будет понятно, что две цепи двухцепочечного полинуклеотида могут слегка отличаться по длине и что их концы могут быть расположены ступенчатым образом в результате ферментативного расщепления; таким образом, не все нуклеотиды в двухцепочечной полинуклеотидной молекуле могут быть спаренными.

Термин "полипептид" является полимером аминокислотных остатков, соединенных пептидными связями, получен ли он природным путем или синтетическим путем. Полипептиды, имеющие менее приблизительно 10 аминокислотных остатков, обычно называют "пептидами".

Термин "промотор" используется здесь в его общепринятом в данной области значении для обозначения части гена, содержащей последовательности ДНК, которые обеспечивают связывание РНК-полимеразы и инициацию транскрипции. Промоторные последовательности обнаруживаются обычно, но не всегда, в 5'-некодирующих районах генов.

Термин "белок" обозначает макромолекулу, содержащую одну или несколько полипептидных цепей. Белок может включать в себя также непептидные компоненты, такие как углеводные группы. Углеводы и другие непептидные заместители могут быть присоединены к белку клеткой, в которой продуцируется данный белок, и будут варьироваться в зависимости от типа клетки. Белки определены здесь в терминах их аминокислотных скелетных структур; заместители, такие как углеводные группы, обычно не указаны, но тем не менее они могут присутствовать.

Термин "рецептор" обозначает связанный с клеткой белок, который связывается с биоактивной молекулой (т.е. лигандом) и действует как посредник для этого лиганда на клетку. Мембраносвязанные рецепторы отличаются мультидоменной структурой, содержащей внеклеточный домен связывания лиганда и внутриклеточный домен, который обычно участвует в трансдукции сигнала. Связывание лиганда с рецептором приводит к конформационному изменению в рецепторе, что вызывает взаимодействие между эффекторным доменом (доменами) этого рецептора и другой молекулой (молекулами) в клетке. Это взаимодействие, в свою очередь, приводит к изменению в метаболизме клетки. Метаболические события, связанные с взаимодействиями рецептор-лиганд, включают в себя транскрипцию генов, фосфорилирование, дефосфорилирование, пролиферацию клеток, увеличение в продуцировании циклического АМФ, мобилизацию клеточного кальция, мобилизацию мембранных липидов, клеточную адгезию, гидролиз инозитлипидов и гидролиз фосфолипидов. Обычно, рецепторы могут быть мембраносвязанными, цитозольными или ядерными, мономерными (например, рецептор DGF, рецептор тиреоидстимулирующего гормона, рецептор IL-3, рецептор GM-CSF, рецептор G-CSF, рецептор эритропоэтина и рецептор IL-6).

Термин «секреторная сигнальная последовательность» обозначает последовательность ДНК, которая кодирует полипептид («секреторный пептид»), который, как компонент большего полипептида, направляет этот больший полипептид через секреторный путь клетки, в которой он синтезируется. Этот больший полипептид обычно расщепляется с удалением секреторного пептида во время прохождения через этот секреторный путь.

Термин "сплайсинговый вариант" используется здесь для обозначения альтернативных форм РНК, транскрибированных из гена. Сплайсинговая вариация возникает природно посредством использования альтернативных сайтов сплайсинга в транскрибируемой молекуле РНК, или менее обычно между раздельно транскрибируемыми молекулами РНК, и может приводить к нескольким мРНК, транскрибируемым из одного и того же гена. Сплайсинговые варианты могут кодировать полипептиды, имеющие измененную аминокислотную последовательность. Термин сплайсинговый вариант используют здесь также для обозначения белка, кодируемого сплайсинговым вариантом мРНК, транскрибируемым из гена.

Должно быть понятно, что молекулярные массы и длины полимеров, определяемые неточными аналитическими методами (например гель-электрофорезом), являются приблизительными величинами. Когда такая величина выражается как "около" X или "приблизительно" X, указанная величина X должна пониматься как величина, определенная с точностью до $\pm 10\%$.

Как указывалось выше, IL-20 (формально называемый Zcyto10), является определенным, и способы его получения и антитела к IL-20 описаны в Международной патентной заявке № PCT/US98/25228, публикации № WO 99/27103, опубликованной 25 ноября 1998 г. и патентной заявке США № 09/313458, поданной 17 мая 1999 г. Полинуклеотид и полипептид IL-20 человека представлены SEQ ID NO: 1-4, а мышиного IL-20 SEQ ID NO: 5-9.

Был обнаружен рецептор, который связывается с IL-20, и он является гетеродимером, состоящим из полипептида, названного 'IL-22R', и полипептида, названного 'IL-20RB'. IL-22R, также называемый ZcytoR11, полипептид, нуклеиновая кислота, которая его кодирует, антитела к IL-22R и способы его получения описаны в патенте США № 5965704, выданном 12 октября 1999 г. SEQ ID NO: 10-12 являются поли-

нуклеотидами и полипептидами IL-22R. Внеклеточный домен IL-22R человека состоит либо из SEQ ID NO:12, либо из SEQ ID NO:13.

Внеклеточный домен IL-20RB (SEQ ID NO: 14-15 и варианты SEQ ID NO:22 и 23) состоит из полипептида, выбранного из группы, состоящей из SEQ ID NO:16-21. Предпочтительно внеклеточный домен полипептида IL-22R и внеклеточный домен IL-20RB ковалентно связаны вместе. В предпочтительном варианте полипептид одной внеклеточной субъединицы имеет константную область тяжелой цепи иммуноглобулина, слитую на его карбоксиконце, а другая внеклеточная субъединица имеет константную область легкой цепи иммуноглобулина (Ig), слитую на ее карбоксиконце, так что эти два полипептида вместе образуют растворимый рецептор и между тяжелой и легкой цепями Ig образуется дисульфидная связь. В другом варианте пептидный линкер может быть слит с двумя карбоксиконцами этих полипептидов с образованием ковалентно связанного растворимого рецептора.

SEQ ID NO:24 и 25 являются конструкциями внеклеточного домена IL-22R, слитого с константной областью мутированного иммуноглобулина гамма 1 человека. SEQ ID NO:26 является предсказанной зрелой последовательностью без сигнальной последовательности. SEQ ID NO:27 и 28 являются конструкциями внеклеточного домена IL-20RB, слитого с константной областью легкой цепи каппа иммуноглобулина дикого типа человека. SEQ ID NO:29 является предсказанной зрелой последовательностью без сигнальной последовательности. Фиг. 1 является схематическим представлением этого гетеротетрамера.

SEQ ID NO:30 и 31 являются конструкциями внеклеточного домена IL-22R, слитого с константной областью мутированного иммуноглобулина гамма 1 человека. SEQ ID NO:32 является предсказанной зрелой последовательностью без сигнальной последовательности. SEQ ID NO:33 и 34 являются конструкциями внеклеточного домена IL-20RB, слитого с константной областью легкой цепи каппа иммуноглобулина дикого типа человека, полученными в соответствии с процедурой примера 12. SEQ ID NO:35 является предсказанной зрелой последовательностью без сигнальной последовательности. Полученный гетеротетрамер не имеет полипептидного линкера между внеклеточными доменами и началом константных областей Ig, 22 на фиг. 1. В дальнейшем, термин "внеклеточный домен рецептора" обозначает внеклеточный домен рецептора или часть этого внеклеточного домена, которая является необходимой для связывания с его лигандом, причем в данном случае этим лигандом является IL-20.

Внеклеточные домены IL-22R и IL-20RB можно соединить различными путями, так что полученный растворимый рецептор может связываться с IL-20. Фиг. 1-8 иллюстрируют репрезентативное число вариантов данного изобретения. Одинаковые элементы в каждом из этих чертежей указаны одной и той же цифрой. Фиг. 1 представляет вариант данного изобретения SEQ ID NO:24, 25, 26, 27, 28 и 29. Конструкция растворимого рецептора, обозначенного 10, состоит из двух полипептидных цепей сайта связывания IL-20, обозначенных 12 и 14. Каждый сайт связывания состоит из внеклеточного домена IL-22R, обозначенного 16, и внеклеточного домена IL-20RB, обозначенного 18.

Внеклеточный домен 16, IL-22R связан с константным тяжелым доменом 1 (CH1) 20, константной области тяжелой цепи иммуноглобулина гамма 1 человека через линкер 22, который является SEQ ID NO:36. Затем, домен CH1, 20, связан с доменом CH2, 24, через шарнирную область 23. Домен CH2, 24, связан с доменом CH3, 26, через шарнирную область 25.

При сравнении конструкции фиг. 1 с SEQ ID NO:25 видно, что зрелый внеклеточный домен 16, IL-22R простирается от аминокислотного остатка 18, пролина, до аминокислотного остатка 228, треонина, SEQ ID NO:25, включительно. Полипептидный линкер 22 простирается от аминокислотного остатка 229, глицина, до аминокислотного остатка 243, серина, SEQ ID NO:25, включительно. Домен CH1, 22 фиг. 1, простирается от аминокислотного остатка 244, аланина, до аминокислотного остатка 341, валина, SEQ ID NO:25, включительно. Шарнирная область 23 фиг. 1 простирается от аминокислотного остатка 342, глутаминовой кислоты, до аминокислотного остатка 356, пролина, SEQ ID NO:25, включительно. Цепи 12 и 14 являются дисульфид-связанными вместе посредством дисульфидных связей 28 и 30. Эти дисульфидные связи образованы между тяжелыми цепями посредством остатков цистеина в положениях 352 и 356 SEQ ID NO:25 каждой из двух тяжелых цепей.

Внеклеточный домен 18, IL-20RB связан с константной областью легкой цепи каппа человека (CL), 34 фиг. 1, через полипептидный линкер 32, который является полипептидом SEQ ID NO:36. Внеклеточный домен 18, IL-20RB простирается от аминокислотного остатка 30, валина, до аминокислотного остатка 230, аланина SEQ ID NO:28, включительно. Полипептидный линкер 32 простирается от аминокислотного остатка 231, глицина, до аминокислотного остатка 245, серина, SEQ ID NO:28, включительно. Легкая константная область каппа 34 простирается от аминокислотного остатка 246, аргинина, до конечного аминокислотного остатка 352, цистеина, SEQ ID NO:28, включительно. Цистеин в положении 352 SEQ ID NO:28 образует дисульфидную связь 36 на фиг. 1 с цистеином в положении 346 SEQ ID NO:25. Таким образом, константная легкая цепь 34 связана с шарнирной областью 23 дисульфидной связью 36. Таким образом внеклеточный домен 16, IL-22R связан с внеклеточным доменом 18, IL-20RB с образованием растворимого рецептора.

Если бы остатки цистеина в положениях 352 и 356 SEQ ID NO:25 были заменены на другие аминокислотные остатки, эти два связывающих полипептида IL-20, 12 и 14, не были бы связаны вместе ди-

сульфидными связями и образовали бы конструкцию, показанную на фиг. 2, имеющую шарнирную область 27.

Фиг. 3 показывает очень простой растворимый рецептор 38 данного изобретения, где внеклеточный домен 16, IL-22R связан с внеклеточным доменом 18, IL-20RB посредством полипептидного линкера 40. Этот полипептидный линкер простирается от аминоконца внеклеточного 16, IL-22R и связан с карбоксил-концом внеклеточного домена 18, IL-20RB. Этот полипептидный линкер должен иметь длину между 100 и 240 аминокислотами, предпочтительно приблизительно 170 аминокислотных остатков. Подходящий линкер мог бы состоять из остатков глицина и серина. Возможным линкером могли бы быть множественные звенья SEQ ID NO:36, предпочтительно приблизительно 12.

Фиг. 4 показывает вариант, который имеет внеклеточный домен 16, IL-22R, связанный с внеклеточным доменом 18, IL-20RB посредством линкера 40, как показано на фиг. 3, в то время как этот внеклеточный домен 16, IL-22R связан с доменом CH1 20, как и на фиг. 1, посредством полипептидного линкера 42, который должен иметь длину приблизительно 30 аминокислотных остатков. Идеальный линкер состоял бы из глицина и серина, как в SEQ ID NO:72, и шарнирной последовательности 23 фиг. 1.

Фиг. 5 показывает другой возможный вариант данного изобретения В этом варианте полипептидный линкер 44 из приблизительно 15 аминокислотных остатков например, SEQ ID NO:36, связывает карбоксил-конец внеклеточного домена 18, IL-20RB с аминоконцом внеклеточного домена 16, IL-22R. Полипептидный линкер 46 из приблизительно 30 аминокислотных остатков простирается от карбоксил-конца внеклеточного домена 16, IL-22R до домена CH2. Карбоксилконец линкера 46 предпочтительно мог бы состоять из шарнирной части, простирающейся от аминокислотного остатка 342, глутаминовой кислоты, до аминокислотного остатка 356, пролина, SEQ ID NO:25, включительно. Тем не менее полипептидный линкер 46 в идеале мог бы иметь по меньшей мере один остаток цистеина на его карбоксил-конце, так что могла бы образоваться дисульфидная связь.

Растворимый рецептор IL-20 фиг. 6 является идентичным рецептору фиг. 1, за исключением того, что домен CH3, 26 фиг. 1 не присутствует на варианте изобретения фиг. 6. Район CH3 начинается при аминокислотном остатке 467, глицине, и простирается до последнего остатка 573 SEQ ID NO:25.

Фиг. 7 показывает конструкцию растворимого рецептора IL-20, которая идентична конструкции фиг. 1, за исключением того, что отсутствуют как домен CH2, так и домен CH3. Домены CH2 и CH3 простираются от аминокислотного остатка 357, аланина, до конца полипептидной последовательности SEQ ID NO:25.

Фиг. 8 показывает конструкцию, где как IL-22R, 16, так и IL-20RB имеют полипептидный линкер, 48, слитый с их соответствующими карбоксил-концами. Каждый полипептидный линкер имеет два остатка цистеина, так что при их экспрессии эти цистеины образуют две дисульфидные связи, 50 и 52. В этом случае полипептидный линкер состоит из шарнирной области 23 на фиг. 1. Эта шарнирная область простирается от аминокислотного остатка 342, глутаминовой кислоты, до аминокислотного остатка 356 SEQ ID NO:25, включительно.

В другом аспекте данного изобретения заявлен способ для получения растворимого рецептора, состоящего из внеклеточных доменов IL-22R и IL-20RB, предусматривающий (a) введение в клетку-хозяина первой последовательности ДНК, состоящей из транскрипционного промотора, функционально связанного с первой секреторной сигнальной последовательностью, за которой следуют по ходу транскрипции (справа) и в правильной рамке считывания ДНК, которая кодирует внеклеточную часть IL-22R, и ДНК, которая кодирует константную область легкой цепи иммуноглобулина; (b) введение в клетку-хозяина второй конструкции ДНК, состоящей из транскрипционного промотора, функционально связанного со второй секреторной сигнальной последовательностью, за которой следуют по ходу транскрипции (справа) и в правильной рамке считывания ДНК, которая кодирует внеклеточную часть IL-20RB, и ДНК, которая кодирует константную область тяжелой цепи иммуноглобулина, выбранную из группы, состоящей из C_H1, C_H2, C_H3 и C_H4; (c) выращивание этой клетки-хозяина в подходящей среде для выращивания при физиологических условиях, чтобы сделать возможной секрецию слитого белка, состоящего из внеклеточного домена IL-22R и IL-20RB; и (d) выделение этого полипептида из клетки-хозяина. В одном варианте вторая последовательность ДНК дополнительно кодирует шарнирную область тяжелой цепи иммуноглобулина, где эта шарнирная область соединена с доменом константной области тяжелой цепи. В другом варианте вторая последовательность ДНК дополнительно кодирует вариабельную область иммуноглобулина, соединенную против хода транскрипции (слева) и в правильной рамке считывания с константной областью тяжелой цепи иммуноглобулина.

В альтернативном варианте заявлен способ для получения растворимого рецептора, состоящего из внеклеточных доменов IL-22R и IL-20RB, предусматривающий (a) введение в клетку-хозяина первой последовательности ДНК, состоящей из транскрипционного промотора, функционально связанного с первой секреторной сигнальной последовательностью, за которой следуют по ходу транскрипции (справа) и в правильной рамке считывания ДНК, которая кодирует внеклеточную часть IL-20RB, и ДНК, которая кодирует константную область легкой цепи иммуноглобулина; (b) введение в клетку-хозяина второй конструкции ДНК, состоящей из транскрипционного промотора, функционально связанного со второй секреторной сигнальной последовательностью, за которой следуют по ходу транскрипции (справа) и

в правильной рамке считывания ДНК, которая кодирует внеклеточную часть IL-22R, и ДНК, которая кодирует константную область тяжелой цепи иммуноглобулина, выбранную из группы, состоящей из C_n1, C_n2, C_n3 и C_n4; (с) выращивание этой клетки-хозяина в подходящей среде для выращивания при физиологических условиях, чтобы сделать возможной секрецию слитого белка, состоящего из внеклеточного домена IL-22R и IL-20RB; и (d) выделение этого полипептида из клетки-хозяина. В одном варианте вторая последовательность ДНК дополнительно кодирует шарнирную область тяжелой цепи иммуноглобулина, где эта шарнирная область соединена с доменом константной области тяжелой цепи. В другом варианте вторая последовательность ДНК дополнительно кодирует переменную область иммуноглобулина, соединенную против хода транскрипции (слева) и в правильной рамке считывания с константной областью тяжелой цепи иммуноглобулина.

В другом варианте заявлен способ для получения растворимого рецептора, состоящего из внеклеточных доменов IL-22R и IL-20RB, предусматривающий (а) введение в клетку-хозяина конструкции ДНК, содержащей конструкцию ДНК, которая кодирует внеклеточную часть IL-20RB, и конструкцию ДНК внеклеточной части IL-22R; (b) выращивание клетки-хозяина в подходящей среде для выращивания при физиологических условиях, чтобы сделать возможной продуцирование внеклеточного домена IL-22R и внеклеточного домена IL-20RB; и (d) выделение этих полипептидов из клетки-хозяина.

Другие аспекты данного изобретения включают в себя клетки-хозяева, трансформированные или трансфицированные конструкцией ДНК, которая кодирует внеклеточный домен IL-22R, и конструкции ДНК, которая кодирует внеклеточный домен IL-20RB. Обе конструкции могут быть на одном векторе или на отдельных векторах.

Полинуклеотид, обычно последовательность кДНК, кодирует описанные здесь полипептиды. Последовательность кДНК, которая кодирует полипептид данного изобретения, состоит из ряда кодонов, причем каждый аминокислотный остаток кодируется кодоном, и каждый кодон состоит из трех нуклеотидов. Аминокислотные остатки кодируются их соответствующими кодонами следующим образом.

Аланин (Ala) кодируется GCA, GCC, GCG или GCT.

Цистеин (Cys) кодируется TGC или TGT.

Аспарагиновая кислота кодируется GAC или GAT.

Глутаминовая кислота (Glu) кодируется GAA или GAG.

Фенилаланин (Phe) кодируется TTC или TTT.

Глицин (Gly) кодируется GGA, GGC, GGG или GGT.

Гистидин (His) кодируется CAC или CAT.

Изолейцин (Ile) кодируется ATA, ATC или ATT.

Лизин (Lys) кодируется AAA или AAG.

Лейцин (Leu) кодируется TTA, TTG, CTA, CTC, CTG или CTT.

Метионин (Met) кодируется ATG.

Аспарагин (Asp) кодируется AAC или AAT.

Пролин (Pro) кодируется CCA, CCC, CCG или CCT.

Глутамин (Gln) кодируется CAA или CAG.

Аргинин (Arg) кодируется AGA, AGG, CGA, CGC, CGG или CGT.

Серин (Ser) кодируется AGC, AGT, TCA, TCC, TCG или TCT.

Треонин (Thr) кодируется ACA, ACC, ACG или ACT.

Валин (Val) кодируется GTA, GTC, GTG или GTT.

Триптофан (Trp) кодируется TGG.

Тирозин (Tyr) кодируется TAC или TAT.

Должно быть понятно, что в соответствии с данным изобретением, когда заявляется полинуклеотид, как описано здесь, следует иметь в виду, что заявляется как смысловая цепь, так и антисмысловая цепь, причем эта ДНК в виде двухцепочечной ДНК имеет как смысловую, так и антисмысловую цепи, отоженные (гибридизованные) вместе посредством их соответствующих водородных связей. Также заявляется мессенджер-РНК (мРНК), которая кодируется описанной здесь ДНК. Мессенджер-РНК (мРНК) будет кодировать полипептид с использованием кодонов, определенных здесь, за исключением того, что каждый нуклеотид тимин (Т) заменен нуклеотидом урацилом (U).

Специалисту с обычной квалификацией в данной области будет также понятно, что различные виды могут проявлять "предпочтительное (преферентивное) использование кодонов". В общем, см., Grantham, et al., Nuc. Acids Res. 8 1893-1912, 1980; Haas, et al., Curr. Biol. 6: 315-324, 1996; Wain-Hobson, et al., Gene 13: 355-364, 1981; Grosjean and Fiers, Gene 18: 199-209, 1982; Holm, Nuc. Acids Res. 14: 3075-3087, 1986; Ikemura, J. Mol. Biol. 158: 573-597, 1982. В применении здесь, термин "предпочтительное (преферентивное) использование кодонов" или "предпочтительные (преферентивные) кодоны" является термином данной области, относящимся к кодомам трансляции белка, которые наиболее часто используются в клетках определенных видов, с проявлением, следовательно, предпочтения одному или немногим представителям возможных кодонов, кодирующих каждую аминокислоту. Например, аминокислота треонин (Thr) может кодироваться ACA, ACC, ACG или ACT, но в клетках млекопитающих наиболее обычно используемым кодоном является ACC, в других видах, например, в клетках насекомых, дрожжей, виру-

сов или бактерий, могут быть предпочтительными другие кодоны Thr. Предпочтительные кодоны для конкретных видов могут быть введены в полинуклеотиды данного изобретения различными способами, известными в этой области. Введение предпочтительных последовательностей кодонов в рекомбинантную ДНК может, например, усиливать продуцирование этого белка, делая трансляцию белка более эффективной в конкретном типе клеток или виде. Последовательности, содержащие предпочтительные кодоны, могут быть протестированы и оптимизированы для экспрессии в различных видах и протестированы на функциональность, как описано здесь.

Способы синтеза аминокислот и аминоацилирования tРНК известны в данной области. Транскрипцию и трансляцию плазмид, содержащих нонсенс-мутации, проводят в бесклеточной системе, содержащей экстракт *E. coli* S30 и коммерчески доступные ферменты и другие реагенты. Белки очищают хроматографией. См., например, Robertson et al., *J. Am. Chem. Soc.* 113: 2722, 1991; Ellman et al., *Methods Enzymol.* 202:301, 1991; Chung et al., *Science* 259:806-809, 1993 и Chung et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90 10145-1019, 1993). Во втором способе трансляцию проводят в ооцитах *Xenopus* микроинъекцией мутированной мРНК и химически аминоацилированных супрессорных tРНК (Turcatti et al., *J. Biol. Chem.* 271: 19991-19998, 1996). В третьем способе клетки *E. coli* культивируют в присутствии природной аминокислоты, которую предстоит заменить (например, фенилаланина), и в присутствии желательной природно не встречающейся аминокислоты (аминокислот) (например, 2-азафенилаланина, 3-азафенилаланина, 4-азафенилаланина или 4-фторфенилаланина). Природно не встречающаяся аминокислота включается в этот белок вместо ее природной копии. См. Koide et al., *Biochem.* 33:7470-7476, 1994. Природно встречающиеся аминокислотные остатки могут быть превращены в природно не встречающиеся разновидности химической модификацией *in vitro*. Химическая модификация может комбинироваться с сайт-направленным мутагенезом для дополнительного расширения диапазона замен (Wynn and Richards, *Protein Sci.* 2:395-403, 1993).

Аминокислотные остатки могут быть заменены ограниченным числом неконсервативных аминокислот, аминокислот, которые не кодируются генетическим кодом, не встречающихся природно аминокислот и непрототипных аминокислот.

Незаменимые аминокислоты в полипептидах данного изобретения могут быть идентифицированы в соответствии с процедурами, известными в данной области, такими как сайт-направленный мутагенез или аланинсканирующий мутагенез (Cunningham and Wells, *Science* 244 1081-1085 (1989), Baas et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 88:4498-502 (1991). В последнем способе отдельные мутации аланина вводят при каждом остатке в молекуле и полученные в результате мутантные молекулы тестируют на биологическую активность, как описано ниже, для идентификации аминокислотных остатков, которые являются критическими для активности данной молекулы. См. также Hilton et al., *J. Biol. Chem.* 271:4699-708, 1996. Сайты взаимодействия лиганд-рецептор могут быть также определены физическим анализом структуры, определяемой такими способами, как ядерный магнитный резонанс, кристаллография, дифракция электронов или фотоаффинное мечение, в сочетании с мутацией аминокислот предполагаемого сайта контакта. См., например, de Vos et al., *Science* 255:306-312, 1992, Smith et al., *J. Mol. Biol.* 224:899-904, 1992, Wlodaver et al., *FEBS Lett.* 309:59-64, 1992.

Многочисленные аминокислотные замены могут быть произведены и протестированы с использованием известных способов мутагенеза и скрининга, таких как описанные Reidhaar-Olson and Sauer *Science* 241:53-57 (1988) или Bowie and Sauer *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 86:2152-2156 (1989). Вкратце, эти авторы описывают способы одновременной рандомизации двух или более положений в полипептиде, отбора на функциональный полипептид и затем секвенирования мутагенизированных полипептидов для определения спектра допустимых замен в каждом положении. Другие способы, которые могут быть использованы, включают в себя способ фагового представления (например, Lowman et al., *Biochem.* 30:10832-10837, 1991; Ladner et al., *U.S. Patent No. 5 223 409*; Huse, *WIPO Publication WO 92/06204*) и район-направленный мутагенез, Derbyshire et al., *Gene* 46:145 (1986); Ner et al., *DNA* 7:127 (1988).

Варианты описанных последовательностей ДНК и полипептидных последовательностей IL-20, IL-22R и IL-20RB могут быть образованы перетасовкой ДНК, описанной Stemmer, *Nature* 370: 389-391, 1994, Stemmer, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 91:10747-10751, 1994 и *WIPO Publication WO 97/20078*. Вкратце, варианты ДНК генерируют посредством гомологичной рекомбинации *in vitro* случайной (неспецифической) фрагментацией исходной ДНК с последующей повторной сборкой при помощи ПЦР, приводящей к случайно введенным точковым мутациям. Этот способ может быть модифицирован с использованием семейства исходных ДНК, таких как аллельные варианты или ДНК из различных видов, для введения дополнительной вариативности в этот процесс. Отбор или скрининг на желательную активность с последующими дополнительными повторениями мутагенеза и анализа обеспечивает быструю "эволюцию" последовательностей посредством отбора на желательные мутации с одновременным отбором против вредных изменений.

Способы мутагенеза, описанные выше, могут комбинироваться с высокопроизводительными автоматизированными способами скрининга для обнаружения активности клонированных мутагенизированных полипептидов в клетках-хозяевах. Мутагенизированные молекулы ДНК, кодирующие активные полипептиды, могут быть извлечены из клеток-хозяев и быстро секвенированы с использованием совре-

менного оборудования. Эти способы делают возможным быстрое определение важности индивидуальных аминокислотных остатков в представляющем интерес полипептиде и могут применяться к полипептидам неизвестной структуры.

Получение белков

Полипептиды могут продуцироваться в генетически сконструированных клетках-хозяевах в соответствии с общепринятыми способами. Подходящими клетками-хозяевами являются те типы клеток, которые могут быть трансформированы или трансфицированы экзогенной ДНК и выращены в культуре, и они включают в себя бактерии, грибковые клетки и культивируемые высшие эукариотические клетки. Эукариотические клетки, в частности, культивируемые клетки многоклеточных организмов, являются предпочтительными. Способы манипулирования клонированными молекулами ДНК и введения экзогенной ДНК в различные клетки-хозяева описаны в Sambrook et al., *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, Second edition, (Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY, 1989) и Ausubel et al., eds., *Current Protocols in Molecular Biology* (John Wiley and Sons, Inc., NY, 1987).

Обычно последовательность ДНК, кодирующую полипептид, функционально связывают с другими генетическими элементами, требующимися для ее экспрессии, обычно включающими в себя промотор и терминатор транскрипции, в экспрессирующем векторе. Этот вектор обычно будет также содержать один или несколько селективируемых маркеров и одну или несколько точек инициации репликации, хотя специалистам в данной области будет понятно, что в некоторых системах селективируемые маркеры могут быть обеспечены на отдельных векторах, и репликация экзогенной ДНК может быть обеспечена интеграцией в геном клетки-хозяина. Выбор промоторов, терминаторов, селективируемых маркеров, векторов и других элементов является предметом рутинного конструирования в пределах обычной квалификации в данной области. Многие такие элементы описаны в литературе и являются доступными через коммерческих поставщиков.

Для направления полипептида в секреторный путь клетки-хозяина, в экспрессирующем векторе обеспечивают секреторную сигнальную последовательность (также известную как лидерная последовательность, пре-последовательность или пре-последовательность). Секреторная сигнальная последовательность может быть сигнальной последовательностью природных полипептидов или может быть произведена из другого секретируемого белка (например, t-РА (тканевого активатора плазминогена)) или синтезирована *de novo*. Секреторная сигнальная последовательность функционально соединена с последовательностью ДНК, т.е. эти две последовательности соединены в правильной рамке считывания и помещены для направления новосинтезированного полипептида в секреторный путь клетки-хозяина. Секреторные сигнальные последовательности обычно расположены 5 (слева) от последовательности ДНК, кодирующей представляющий интерес полипептид, хотя некоторые сигнальные последовательности могут быть расположены в другом месте в представляющей интерес последовательности ДНК (см., например, Welch et al., U.S. Patent № 5 037 743; Holland et al., U.S. Patent № 5 143 830).

Альтернативно, секреторную сигнальную последовательность, содержащуюся в полипептидах данного изобретения, используют для направления других полипептидов в секреторный путь. Данное изобретение обеспечивает такие слитые полипептиды. Секреторная сигнальная последовательность, содержащаяся в слитых полипептидах данного изобретения, предпочтительно слита на аминоконце с дополнительным пептидом для направления дополнительного пептида в секреторный путь. Такие конструкции имеют многочисленные применения, известные в данной области. Например, эти новые слитые конструкции секреторной сигнальной последовательности могут направлять секрецию активного компонента обычно несекретируемого белка, такого как рецептор. Такие слияния могут быть использованы *in vivo* или *in vitro* для направления пептидов через секреторный путь.

Культивируемые клетки млекопитающих являются подходящими хозяевами в данном изобретении. Способы введения экзогенной ДНК в клетки-хозяева млекопитающих включают в себя опосредованную фосфатом кальция трансфекцию, Wigler et al., *Cell* 14:725 (1978), Corsaro and Pearson, *Somatic Cell Genetics* 7:603 (1981), Graham and Van der Eb, *Virology* 52:456 (1973), электропорацию (Neumann et al., *EMBO J.* 1:841-845, 1982), опосредованную ДЭАЭ-декстраном трансфекцию (Ausubel et al., *ibid.*) и опосредованную липосомами трансфекцию, Hawley-Nelson et al., *Focus* 15:73 (1993); Ciccarone et al., *Focus* 15:80 (1993) и вирусные векторы, A. Miller and G. Rosman, *BioTechniques* 7:980 (1989), Wang and Finer, *Nature Med.* 2:714 (1996). Получение рекомбинантных полипептидов в культивируемых клетках млекопитающих описано, например, Levinson et al., U.S. Patent № 4 713 339; Hagen et al., US Patent № 4 784 950; Palmiter et al., US Patent 4 579 821 и Ringold, U.S. Patent № 4 656 134. Подходящие культивируемые клетки млекопитающих включают в себя клеточные линии COS-1 (ATCC No CRL 1650), COS-7 (ATCC No CRL 1651), ВНК (ATCC No CRL 1632), ВНК 570 (ATCC No CRL 10314), 293 (ATCC No CRL 1573; Graham et al., *J. Gen. Virol.* 36:59 (1977) линии клеток яичника китайского хомячка (например, CHO-K1, ATCC No CCL 61). Дополнительные подходящие клеточные линии известны в данной области и доступны из публичных депозитариев, таких как American Type Culture Collection, Rockville, Maryland. В общем, предпочтительны сильные промоторы транскрипции, такие как промоторы из SV-40 или цитомегаловируса. См., например, U.S. Patent No. 4 956 288. Другие подходящие промоторы включают в себя промоторы из ге-

нов металлотионеина (U.S. Patent № 4 579 821 и U.S. Patent № 4 601 978) и основной поздний промотор аденовируса.

Отбор с лекарственным средством обычно применяют для отбора на культивируемые клетки млекопитающих, в которые была встроена чужеродная ДНК. Такие клетки обычно называют "трансфектантами". Клетки, которые культивировались в присутствии селективного агента и способны передавать представляющий интерес ген их потомству, называют "стабильными трансфектантами". Предпочтительным селективируемым маркером является ген, кодирующий устойчивость к антибиотику неомизину. Отбор проводят в присутствии лекарственного средства типа неомизина, такого как G-418 или т.п. Системы отбора могут быть также использованы для увеличения уровня экспрессии представляющего интерес гена, способа, называемого "амплификацией". Амплификацию проводят культивированием трансфектантов в присутствии низкого уровня селективного агента и затем увеличением количества селективного агента для отбора клеток, которые продуцируют высокие уровни продуктов введенных генов. Предпочтительным амплифицируемым селективируемым маркером является дигидрофолатредуктаза, которая способствует клеткам устойчивости к метотрексату. Другие гены устойчивости к лекарственным средствам (например, устойчивости к гиромизину, множественной устойчивости к лекарственным средствам, пурамицинацетилтрансферазе) также могут быть использованы. Альтернативные маркеры, которые вводят измененный фенотип, такие как зеленый флуоресцентный белок или белки клеточной поверхности, такие как CD4, CD8, МНС класса I, щелочная фосфатаза плаценты, могут быть использованы для сортировки трансфицированных клеток от нетрансфицированных клеток такими способами, как FACS-сортировка (сортировка клеток с возбуждением флуоресценции) или способ разделения при помощи магнитных гранул.

Другие высшие эукариотические клетки могут быть также использованы в качестве хозяев, в том числе клетки растений, клетки насекомых и клетки птиц. Применение *Agrobacterium rhizogenes* в качестве вектора для экспрессии генов в клетках растений рассмотрено Sinkar et al., J. Biosci (Bangalore) 11:47 (1987). Трансформация клеток насекомых и получение в них чужеродных полипептидов описаны в Guanno et al., U.S. Patent № 5 162 222 и WIPO publication WO 94/06463. Клетки насекомых могут быть инфицированы рекомбинантным бакуловирусом, обычно произведенным из вируса ядерного полиэдроза *Autographa californica* (AcNPV) ДНК, кодирующую представляющий интерес полипептид, встраивают в геном бакуловируса вместо кодирующей последовательности гена полиэдрина (AcNPV) одним из двух способов. Первый способ является традиционным способом гомологичной рекомбинации ДНК между AcNPV дикого типа и вектором-переносчиком, содержащим ген, фланкированный последовательностями AcNPV. Подходящие клетки насекомых, например, клетки SF9, инфицируют AcNPV дикого типа и трансфицируют вектором-переносчиком, содержащим полинуклеотид, функционально связанный с промотором, терминатором и фланкирующими последовательностями гена полиэдрина AcNPV. См. King, L.A. and Possee, R.D. The Baculovirus Expression System: A Laboratory Guide, (Chapman and Hall, London); O'Reilly D. R. et al., Baculovirus Expression Vectors; A Laboratory Manual (Oxford University Press, New York, 1994) и Richardson, C.D., Ed., Baculovirus Expression Protocols. Methods in Molecular Biology, Humana Press, Totowa, NJ 1995. Природная рекомбинация в клетке насекомого будет приводить к рекомбинантному бакуловирусу, который содержит кодирующие последовательности, запускаемые промотором полиэдрина. Рекомбинантные вирусные исходные материалы получают способами, обычно используемыми в данной области.

Второй способ получения рекомбинантного бакуловируса использует систему на основе транспозона, описанную Luckow V.A., et al., J. Virol. 67:4566 (1993). Эта система продается в наборе Bac-to-Bac (Life Technologies, Rockville, MD). Эта система использует вектор-переносчик, pFastBac™ (Life Technologies), содержащий транспозон Tn7, для перемещения ДНК, кодирующей полипептид, в геном бакуловируса, поддерживаемый в *E. coli*, в виде большой плазмиды, названной "бакмидой". Вектор-переносчик pFastBac™ использует промотор полиэдрина AcNPV для управления экспрессией представляющего интерес гена. Однако, pFastBac™ может быть в значительной степени модифицирован. Промотор полиэдрина может быть удален и заменен промотором основного белка бакуловируса (также известного как Pcoq, р6.9 или промотор MP), который экспрессируется раньше в бакуловирусной инфекции и, как было показано, является предпочтительным для экспрессии секретируемых белков. См. Hill - Perkins, M.S. and Possee, R.D. J. Gen. Virol. 71:971 (1990), Bonning, B.C. et al., J. Gen. Virol. 75:1551 (1994) и Chazenbalk G.D. and Rapoport, B., J. Biol. Chem. 270:1543 (1995). В таких векторах-переносчиках могут быть использованы короткая или длинная версия промотора основного белка. Кроме того, могут быть сконструированы векторы-переносчики, которые заменяют природные секреторные сигнальные последовательности секреторными сигнальными последовательностями, полученными из белков насекомых. Например, секреторная сигнальная последовательность из эрдистероидглюкозилтрансферазы (EGT), мелиттина медоносной пчелы (Invitrogen, Carlsbad, CA) или бакуловируса gp67 (PharMingen, San Diego, CA) могут быть использованы для замены природной секреторной сигнальной последовательности. Кроме того, векторы-переносчики могут содержать слияние в рамке считывания с ДНК, кодирующей метку эпитопа, на С- или N-конце экспрессируемого полипептида, например, метку эпитопа Glu-Glu (Grussmeyer T. et al., Proc. Natl. Acad. Sci. 82:7952 (1985)). При помощи способа, известного в данной области, вектор-переносчик, содержащий рекомбинантный ген, трансформируют в *E. coli* и подвергают скринингу.

гу на бакмиды, которые содержат прерванный ген *lacZ*, свидетельствующий о рекомбинантном бакуловирусе. Бакмидную ДНК, содержащую рекомбинантный геном бакуловируса, выделяют при помощи известных способов и используют для трансфекции клеток *Spodoptera frugiperda*, например, клеток Sf9. Затем получают рекомбинантный вирус, экспрессирующий этот полипептид. Исходные материалы рекомбинантного вируса готовят способами, обычно используемыми в данной области.

Этот рекомбинантный вирус используют для инфицирования клеток-хозяев, обычно клеточной линии, полученной из осенних "походных (ратных) червей", *Spodoptera frugiperda*. См., в общих чертах, Glick and Pasternak, *Molecular Biotechnology: Principles and Applications of Recombinant DNA* (ASM Press, Washington, D.C., 1994). Другой подходящей клеточной линией является клеточная линия High FiveTM (Invitrogen), произведенная из *Trichoplusia ni* (Патент США № 5 300 435). Для выращивания и поддержания этих клеток используют коммерчески доступные бессывороточные среды. Подходящими средами являются Sf900 ПTM (Life Technologies) или ESF 921TM (Expression Systems) для клеток Sf9; или Ex-cellO405TM (JRH Biosciences, Lenexa, KS) или Express FiveOTM (Life Technologies) для клеток *T. ni*. Клетки выращивают от плотности инокуляции приблизительно $2-5 \times 10^5$ клеток до плотности приблизительно $1-2 \times 10^6$ клеток и в это время добавляют исходный материал рекомбинантного вируса при множественности заражения (MOI) 0,1-10, более часто около 3. Рекомбинантные инфицированные вирусом клетки обычно продуцируют рекомбинантный полипептид при 12-72 ч после инфицирования и секретируют его с варьирующей эффективностью в среду. Культуру обычно собирают спустя 48 ч после инфицирования. Для отделения клеток от среды используют центрифугирование (супернатант). Супернатант, содержащий полипептид, фильтруют через микропористые фильтры, обычно с размером пор 0,45 мкм. Используемые процедуры в общем описаны в доступных лабораторных руководствах (King, L.A. and Possee, R.D., *ibid*, O'Reilly, D.R. et al., *ibid*, Richardson, C. D., *ibid*). Последующая очистка полипептида из супернатанта может быть достигнута с использованием описанных здесь способов.

Грибковые клетки, в том числе дрожжевые клетки, могут быть также использованы в данном изобретении. Виды дрожжей, представляющие особый интерес в этом отношении, включают в себя *Saccharomyces cerevisiae*, *Pichia pastons* и *Pichia methanolica*. Способы трансформации клеток *S. cerevisiae* экзогенной ДНК и получения из них рекомбинантных полипептидов описаны, например Kawasaki, U.S. Patent № 4 599 311, Kawasaki et al., U.S. Patent № 4 931 373, Brake, U.S. Patent № 4 870 008, Welch et al., U.S. Patent № 5 037 743 и Murray et al., U.S. Patent № 4 845 075. Трансформированные клетки отбирают по фенотипу, определяемому селективируемым маркером, обычно по устойчивости к лекарственному средству или по способности расти в отсутствии определенного питательного вещества (например, лейцина). Предпочтительной векторной системой для применения в *Saccharomyces cerevisiae* является векторная система POT1, описанная Kawasaki et al. (U.S. Patent № 4 931 373), которая позволяет отбирать трансформированные клетки по росту в содержащей глюкозу среде. Подходящие промоторы и терминаторы для применения в дрожжах включают в себя промоторы и терминаторы из генов гликолитических ферментов (см., например, Kawasaki, U.S. Patent № 4 599 311, Kingsman et al., U.S. Patent № 4 615 974 и Bitter, U.S. Patent № 4 977 092) и генов алкогольдегидрогеназы. См. также патенты США с номерами 4 990 446, 5 063 154, 5 139 936 и 4 661 454. Системы трансформации для других дрожжей, в том числе *Hansenula polymorpha*, *Schizosaccharomyces pombe*, *Kluyveromyces lactis*, *Kluyveromyces fragilis*, *Ustilago maydis*, *Pichia pastons*, *Pichia methanolica*, *Pichia guilliermondii* и *Candida maltosa*, известны в данной области. См., например, Gleeson et al., *J. Gen. Microbiol.* 132:3459 (1986) и Cregg, U.S. Patent № 4 882 279. Клетки *Aspergillus* могут быть использованы в соответствии со способами McKnight et al., U.S. Patent № 4 935 349. Способы трансформации *Acremonium chrysogenum* описаны Sumino et al., U.S. Patent № 5 162 228. Способы трансформации *Neurospora* описаны Lambowitz, U.S. Patent № 4 486 533.

Применение *Pichia methanolica* в качестве хозяина для получения рекомбинантных белков описано в WIPO публикациях с номерами WO 97/17450, WO 97/17451, WO 98/02536 и WO 98/02565. Молекулы ДНК для применения в трансформации *P. methanolica* обычно получают в виде двухцепочечных кольцевых плазмид, которые предпочтительно линеаризуют перед трансформацией. Для получения полипептидов в *P. methanolica* предпочтительно, чтобы промотор и терминатор в этой плазмиде были промотором и терминатором гена *P. methanolica*, таким как ген утилизации спирта *P. methanolica* (AUG1 или AUG2). Другие применимые промоторы включают в себя промоторы генов дигидроксиацетонсинтазы (DHAS), форматдегидрогеназы (FMD) и каталазы (CAT). Для облегчения интеграции этой ДНК в хромосому хозяина предпочтительно иметь весь сегмент экспрессии этой плазмиды, фланкированный на обоих концах последовательностями ДНК хозяина. Предпочтительным селективируемым маркером для применения в *Pichia methanolica* является ген ADE2 *P. methanolica*, который кодирует фосфорибозил-5-аминоимидазолкарбоксилазу (AIRC; EC 4.1.1.21), который позволяет клеткам-хозяевам *ade2* расти в отсутствии аденина. Для крупномасштабных, промышленных процессов, где желательно минимизировать применение метанола, предпочтительно использовать клетки-хозяева, в которых делетированы оба гена утилизации метанола (AUG1 и AUG2). Для получения секретируемых белков предпочтительны клетки-хозяева, дефектные по генам вакуолярных протеаз (PEP4 и PRB1). Электропорацию используют для облегчения введения плазмиды, содержащей ДНК, кодирующую представляющий интерес полипептид, в клетки *P. methanolica*. Предпочтительно трансформировать клетки *P. methanolica* электропорацией с ис-

пользованием экспоненциально затухающего, пульсирующего электрического поля, имеющего напряженность поля от 2,5 до 4,5 кВ/см, предпочтительно ~3,75 кВ/см, и константу времени (τ) от 1 до 40 мс, наиболее предпочтительно приблизительно 20 мс.

Прокариотические клетки-хозяева, в том числе штаммы бактерий *Escherichia coli*, *Bacillus* и другие роды, также являются применимыми клетками-хозяевами в данном изобретении. Способы трансформации этих хозяев и экспрессии клонированных в них чужеродных ДНК хорошо известны в данной области (см, например, Sambrook et al., ibid.). При экспрессии полипептида в бактериях, таких как *E. coli*, этот полипептид может сохраняться в цитоплазме, обычно в виде нерастворимых гранул, или может быть направлен в периплазматическое пространство бактериальной секреторной последовательностью. В первом случае эти клетки лизируют и гранулы извлекают и денатурируют при помощи, например, гуанидин-тиоцианата или мочевины. Затем денатурированный полипептид может быть повторно уложен и димеризован разведением продукта денатурации, например, диализом против раствора мочевины и комбинации восстановленного и окисленного глутатиона, с последующим диализом против забуференного солевого раствора. В последнем случае этот полипептид может быть извлечен из периплазматического пространства в растворимой и функциональной форме разрушением этих клеток (например, обработкой ультразвуком или осмотическим шоком) для высвобождения содержимого периплазматического пространства и извлечения этого белка, посредством чего устраняется необходимость денатурации и второй укладки.

Трансформированные или трансфицированные клетки-хозяева культивируют в соответствии с общепринятыми процедурами в культуральной среде, содержащей питательные вещества и другие компоненты, необходимые для роста выбранных клеток-хозяев. Различные подходящие среды, в том числе среды с определенным составом среды и комплексные среды, известны в данной области и обычно включают в себя источник углерода, источник азота, незаменимые аминокислоты, витамины и минеральные соединения. Среда может также содержать такие компоненты, как факторы роста или сыворотка, если требуется. Среда для выращивания будет обычно производить отбор на клетки, содержащие экзогенно добавленную ДНК, например, посредством отбора с использованием лекарственного средства или недостаточности незаменимого питательного компонента, который дополняется селективируемым маркером, имеющимся на экспрессирующем векторе или котрансфицируемым в клетку-хозяина. Клетки *P. methanolicus* культивируют в среде, содержащей адекватные источники углерода, азота и микроэлементов, при температуре приблизительно 25-35°C. Жидкие культуры обеспечивают достаточной аэрацией с использованием общепринятых средств, таких как встряхивание небольших колб или барботирование ферментеров. Предпочтительной культуральной средой для *P. methanolicus* является YEPD (2% D-глюкоза, 2% Бакто™ Пептон (Difco Laboratories, Detroit, MI), 1% Бакто™ дрожжевой экстракт (Difco Laboratories), 0,004% аденин и 0,006% L-лейцин).

Выделение белков

Предпочтительной является очистка полипептидов данного изобретения до $\geq 80\%$ чистоты, более предпочтительно до $\geq 90\%$ чистоты, еще более предпочтительно до $\geq 95\%$ чистоты и особенно предпочтительно до фармацевтической чистоты, которая является 99,9% чистотой, в отношении загрязняющих макромолекул, в частности, других белков и нуклеиновых кислот и инфекционных и пирогенных агентов. Предпочтительно, очищенный полипептид является по существу не содержащим других полипептидов, в частности, других полипептидов животного происхождения.

Экспрессируемые рекомбинантные полипептиды (или химерные полипептиды) могут быть очищены с использованием фракционирования и/или общепринятых способов и сред очистки. Для фракционирования проб могут быть использованы осаждение сульфатом аммония и кислотная или хаотропная экстракция. Примеры стадий очистки могут включать в себя гидроксиапатитную, гель-фильтрационную, жидкостную экспресс-хроматографию белков (FPLC) и высокоэффективную жидкостную хроматографию с обращенной фазой. Подходящие анионообменные среды включают в себя производные декстрана, агарозу, целлюлозу, полиакриламид, специальные диоксиды кремния и т.п. Предпочтительными являются производные PEI, DEAE, QAE и Q. Примеры хроматографических сред включают в себя среды, дериватизованные фенильной, бутильной или октильной группами, такие как Phenyl-Sepharose FF (Pharmacia), Toyopearl butyl 650 (Toso Haas, Montgomeryville, PA), Octyl-Sepharose (Pharmacia) и т.п.; или полиакриловые смолы, такие как Amberchrom CG 71 (Toso Haas) и т.п. Подходящие твердые носители включают в себя стеклянные гранулы, смолы на основе диоксида кремния, целлюлозные смолы, агарозные гранулы, сшитые агарозные гранулы, полистироловые гранулы, сшитые полиакриламидные смолы и т.п., которые являются нерастворимыми в условиях, в которых они должны использоваться. Эти носители могут быть модифицированы реакционноспособными группами, позволяющими присоединение белков посредством аминокислотных групп, карбоксильных групп, сульфгидрильных групп, гидроксильных групп и/или углеводных частей молекул. Примеры химических способов связывания включают в себя активацию цианогенбромидом, активацию N-гидроксисукцинимидом, активацию эпоксидом, активацию сульфгидрильными группами, активацию гидразидом и карбоксил- и аминокислотными производными для химических способов сочетания с использованием карбодимида. Эти и другие твердые среды являются хорошо из-

вестными и широко используемыми в данной области и доступны из коммерческих источников. Способы связывания рецепторных полипептидов со средами-носителями хорошо известны в данной области. Выбор конкретного способа является рутинным и определяется отчасти свойствами выбранного носителя. См., например, *Affinity Chromatography: Principles & Methods* (Pharmacia LKB Biotechnology, Uppsala, Sweden, 1988).

Полипептиды могут быть выделены путем использования их свойств. Например, адсорбционная хроматография с иммобилизованным ионом металла (ИМАС) может быть использована для очистки богатых гистидином белков, в том числе белков, содержащих полигистидиновые метки. Вкратце, гель сначала загружают ионами двухвалентного металла с образованием хелата, Sulkowski, *Trends in Biochem* 3:1 (1985). Богатые гистидином белки будут адсорбироваться на этом матриксе с различными аффинностями в зависимости от используемого иона металла и будут элюироваться конкурентной элюцией, понижением pH или применением сильных хелатообразователей. Другие способы очистки включают в себя очистку гликозилированных белков аффинной хроматографией с иммобилизованным лектином и ионообменной хроматографией. Белок, слитый с Fc-частью иммуноглобулина, может быть очищен с использованием Протеин А-колонок, *Methods in Enzymol.*, Vol. 182, "Guide to Protein Purification", M. Deutscher, (ed.), pages 529-539 (Acad. Press, San Diego, 1990). В дополнительных вариантах данного изобретения может быть сконструировано слияние представляющего интерес полипептида и аффинной метки (например, мальтозусвязывающего белка, домена иммуноглобулина) для облегчения очистки.

В применении здесь, термин «антитела» включает в себя поликлональные антитела, аффинно-очищенные поликлональные антитела, моноклональные антитела и антигенсвязывающие фрагменты, такие как протеолитические F(ab')₂- и Fab-фрагменты. Также включены генетически сконструированные природные антитела или фрагменты, такие как химерные антитела, Fv-фрагменты, одноцепочечные антитела и т.д., а также синтетические антигенсвязывающие пептиды и полипептиды. Антитела не из человека могут быть "гуманизированы" ("очеловечены") прививкой только CDR не человека на каркасные и константные области иммуноглобулина человека или включением полных переменных доменов не человека (необязательно «окутыванием» их подобной человеческой поверхностью путем замещения экспонированных остатков, результатом чего является "облицованное" антитело). В некоторых случаях "гуманизированные" ("очеловеченные") антитела могут сохранять остатки иммуноглобулина не человека в каркасных доменах переменной области человека для усиления характеристик правильного связывания. Посредством "гуманизирования" антител может быть увеличен биологический полупериод существования в организме, и уменьшается потенциал неблагоприятных иммунных реакций при введении людям.

Разнообразные анализы, известные специалистам с квалификацией в данной области, могут быть использованы для детектирования антител, которые связываются с белком или пептидом. Примеры анализов описаны подробно в *Antibodies: A Laboratory Manual*, Harlow and Lane (Eds.) (Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1988). Репрезентативные примеры таких анализов включают в себя: конкурентный иммуноэлектрофорез, радиоиммуноанализ, радиоиммунопреципитацию, твердофазный иммуноферментный анализ (ELISA), дот-блот или Вестерн-блот-анализ, анализ ингибирования или конкурентный анализ и сэндвич-анализ.

Растворимые рецепторы данного изобретения могут быть использованы для понижающей регуляции IL-20, который, как было показано, участвует с рядом воспалительных процессов. Конкретно, было показано, что IL-20 повышающим образом регулирует IL-8. Воспалительными заболеваниями, в которых важную роль играет IL-8 и для которых уменьшение количества IL-8 было бы полезным, являются респираторный дистресс-синдром взрослых (ARD), септический шок, недостаточность множественных органов, воспалительное повреждение легких, такое как астма или бронхит, бактериальная пневмония, псориаз, экзема, атопический и контактный дерматит и воспалительное заболевание пищеварительного тракта, такое как язвенный колит и болезнь Крона. Таким образом, растворимый рецептор IL-20 данного изобретения может вводиться пациентам для лечения этих заболеваний.

Биология IL-20, его рецептор и его роль в псориазе

Два orphan-рецептора цитокинов класса II, оба из которых экспрессируются на коже, были идентифицированы в качестве субъединиц рецептора IL-20. Обе субъединицы IL-20 являются необходимыми для связывания лиганда, что отличает их роль от роли субъединиц в четырех других известных рецепторах цитокинов класса II. IL-22R и IL-20RB также коэкспрессируются в ряде тканей человека, кроме кожи, в том числе яичнике, надпочечниках, яичке, слюнных железах, мышцах, легких, почках, сердце и в меньшей степени в тонкой кишке, что предполагает дополнительные ткани-мишени для действия IL-20. Авторы изобретения делают вывод, что этот гетеродимерный рецептор IL-20 является структурно сходным с другими рецепторами цитокинов класса II и экспрессируется в коже, где авторы продемонстрировали активность лиганда IL-20.

Две линии доказательств указывают на роль IL-20 и его рецептора в псориазе. Это мультигенное кожное заболевание отличается увеличенной пролиферацией кератиноцитов, измененной дифференцировкой кератиноцитов и инфильтрацией иммунных клеток в кожу. Первой линией доказательств роли IL-20 в псориазе является то, что наблюдаемый гиперкератоз и утолщенный эпидермис в трансгенных

мышцах сходны с аномалиями псориаза человека. Уменьшенные количества тонофиламентов, которые, как считают, связаны с дефектной кератинизацией, являются поразительным признаком псориаза человека. Интрамитохондриальные включения были обнаружены как в химически индуцированных, так и в природно встречающихся гиперпластических состояниях кожи в мышцах. Причина этих включений и их влияние на функцию митохондрий, если они имеются, являются неизвестными. Авторы приходят к выводу, что IL-20-трансгенные мыши проявляют многие характеристики, наблюдаемые в псориазе человека.

Применение антагониста к IL-20 для лечения псориаза

Как указывалось в приведенном выше обсуждении и указывается в примерах ниже, IL-20 участвует в патологии псориаза. Таким образом, растворимые рецепторы данного изобретения могут вводиться индивидууму для понижающей регуляции IL-20 и, следовательно, лечить псориаз.

Псориаз является одним из наиболее обычных дерматологических заболеваний, поражающих 1-2 процента населения всего мира. Он является хроническим воспалительным кожным нарушением, отличающимся эриматозными; резко разграниченными папулами и округленными бляшками, покрытыми серебристой подобной слюде чешуйкой. Травмированные зоны часто развивают повреждения псориаза. Кроме того, другие внешние факторы могут обострять псориаз, в том числе инфекции, стресс и лекарственные средства, например литий, бета-блокаторы и противомаларийные средства.

Наиболее обычную разновидность псориаза называют псориазом типа бляшек. Пациенты с псориазом типа бляшек имеют стабильные, медленно растущие бляшки, которые остаются в основном неизменными в течение продолжительных периодов времени. Наиболее обычными встречающимися зонами для псориаза в виде бляшек являются сгибы локтей, ягодичная щель и волосистая часть кожи головы. Поражение склонно к симметричному расположению. Отклоняющийся от обычного расположения псориаз поражает интертригинозные районы, в том числе подмышечные ямки, паховую область, зону под молочными железами и пупок, а также склонен поражать волосистую кожу головы, ладони и подошвы. Отдельные поражения являются резко разграниченными бляшками, но могут быть влажными вследствие их местоположения. Псориаз типа бляшек обычно развивается медленно и проходит безболезненную стадию. Он редко проявляет спонтанные временные ослабления.

Эруптивный псориаз (каплевидный псориаз) является наиболее обычным у детей и молодых взрослых людей. Он развивается остро в индивидуумах без псориаза или в индивидуумах с хроническим псориазом типа бляшек. Пациенты обнаруживают множественные небольшие эриматозные, чешуйчатые папулы, часто после инфекции верхних дыхательных путей бета-гемолитическими стрептококками. Пациенты с псориазом могут также развивать пустулезные повреждения. Они могут быть локализованы на ладонях и подошвах или могут быть генерализованными и связанными с лихорадкой, недомоганием, диареей и артралгиями.

Приблизительно половина всех пациентов с псориазом имеют поражения ногтей пальцев рук, проявляющихся в виде пятнистых углублений, утолщения ногтей или подногтевого гиперкератоза. Около 5-10 процентов пациентов с псориазом имеют жалобы, связанные с суставами, и они наиболее часто обнаруживаются в случае пациентов с поражениями ногтей. Хотя некоторые пациенты имеют одновременное наличие классического ревматоидного артрита, многие имеют заболевание суставов, которое попадает в один из пяти типов, ассоциированных с псориазом: (1) заболевание, ограниченное единственным суставом или небольшим числом небольших суставов (70 процентов случаев); (2) серонегативное подобное ревматоидному артриту заболевание; (3) поражение дистальных межфаланговых суставов; (4) тяжелый деструктивный артрит с развитием «артритных инвалидов»; и (5) заболевание, ограниченное позвоночником.

Псориаз может лечиться введением антагонистов к IL-20. Предпочтительными антагонистами являются растворимый рецептор к IL-20 или антитела, фрагменты антител или одноцепочечные антитела, которые связываются либо с рецептором IL-20, либо с IL-20. Антагонисты к IL-20 могут вводиться отдельно или в комбинации с другими установленными средствами терапии, такими как смазывающие вещества, кератолитические агенты, кортикостероиды для местного применения, производные витамина D для местного применения, антралин, системные антиметаболиты, такие как метотрексат, терапия с использованием псоралена-ультрафиолетового света (PUVA), этретинат, изотретиноин, циклоспорин и производное витамина D кальципотриол для местного применения. Эти антагонисты, в частности, растворимый рецептор или антитела, которые связываются с IL-20 или рецептором IL-20, могут вводиться индивидууму подкожно, внутривенно и трансдермально с использованием крема или трансдермального пластыря, который содержит антагонист IL-20. При подкожном введении антагонист может быть введен инъекцией в одну или несколько псориазных бляшек. При трансдермальном введении эти антагонисты могут вводиться непосредственно на бляшки с использованием крема, содержащего антагонист к IL-20.

Применение антагонистов к IL-20 для лечения воспалительных состояний легкого

Растворимый рецептор IL-20 данного изобретения может вводиться лицу, имеющему астму, бронхит или муковисцидоз или другое воспалительное заболевание легких, для лечения этого заболевания.

Антагонисты могут вводиться любым подходящим способом, в том числе внутривенным, подкожным, бронхиальным лаважем и с использованием ингалируемого агента, содержащего антагонист к IL-20.

Введение растворимого рецептора IL-20

Количество растворимого рецептора IL-20, необходимое для эффективной терапии, будет зависеть от многих различных факторов, в том числе от способа введения, участка-мишени, физиологического состояния пациента и других вводимых лекарственных средств. Таким образом, дозы для лечения должны титроваться для оптимизации безопасности и эффективности. Обычно дозы, используемые *in vitro*, могут обеспечивать полезное руководство в отношении количеств, применимых для введения *in vivo* этих реагентов. Испытание на животных эффективных доз для лечения конкретных нарушений обеспечивает дополнительное прогностическое указание дозы для человека. Способы введения включают в себя пероральное, внутривенное, внутримышечное, трансдермальное введение или введение в легкое или трахею в форме спрея с использованием распылителя или пульверизатора. Фармацевтически приемлемые носители включают в себя воду, солевой раствор, буферы, если называть лишь немногие. Диапазоны доз обычно ожидаются от 1 до 1000 мкг на килограмм веса тела в день. Доза рецептора IL-20 для среднего взрослого могла бы быть приблизительно 25 мг, предоставляемая дважды в неделю в виде подкожной инъекции. Инъекции могли бы производиться в участке псориазических повреждений для лечения псориаза. Для подкожного или внутривенного введения антагонист к IL-20, антитело или растворимый рецептор может находиться в забуференном фосфатом солевом растворе. Для кожных заболеваний, таких как псориаз, антагонист к IL-20 может вводиться через мазь или трансдермальный пластырь. Дозы могут быть более высокими или более низкими, как может быть определено врачом с обычной квалификацией в данной области. В отношении полного обсуждения форм лекарственных средств и диапазонов доз см. Remington's Pharmaceutical Sciences, 18th Ed., (Mack Publishing Co., Easton, Penn., 1996) и Goodman and Gilman's: The Pharmacological Bases of Therapeutics, 9th Ed. (Pergamon Press 1996).

Далее данное изобретение иллюстрируется следующими неограничивающими примерами.

Пример 1.

Повышающая регуляция IL-8 при помощи IL-20

Способы

Эпидермальные неонатальные кератиноциты здорового человека (NHEK) (из Clonetics) при 2-ом пассаже высевали и выращивали до конfluence в 12-луночных планшетах для культуры ткани. Среду для выращивания кератиноцитов (KGM) покупали в Clonetics. При достижении клетками конfluence их промывали средой KGM минус факторы роста = KBM (основная питательная среда для кератиноцитов). Клетки голодали в бессывороточной среде KBM в течение 72 ч перед добавлением тест-соединений. В качестве положительных контролей использовали тромбин при 1 МЕ/мл и трипсин при 25 нМ. Добавляли 1 мл среды на лунку. Только KBM использовали в качестве отрицательного контроля.

IL-20 готовили в среде KBM и добавляли при варьирующихся концентрациях от 2,5 мкг/мл до 618 нг/мл в первом эксперименте и от 2,5 мкг/мл до 3 нг/мл во втором эксперименте.

Клетки инкубировали при 37°C, 5% CO₂ в течение 48 ч.

Супернатанты удаляли и замораживали при -80°C в течение нескольких дней до анализа на уровни IL-8 и GM-CSF. Набор для иммуноанализа IL-8 человека № D8050 (RandD Systems, Inc.) и набор для иммуноанализа GM-CSF человека № HSGMO (RandD Systems, Inc.) использовали для определения продукции цитокинов в соответствии с инструкциями изготовителя.

Результаты.

Результаты показали, что экспрессия IL-8 и GM-CSF индуцировалась IL-20.

Пример 2.

Клонирование IL-20RB

Клонирование кодирующего района IL-20RB.

Конструировали два ПЦР-праймера на основе последовательности из Международной патентной заявки № PCT/US99/03735 (публикация № WO 99/46379), поданной 8 марта 1999 г. SEQ ID NO:38 содержит кодон ATG (Met) с сайтом рестрикции EcoRI, SEQ ID NO:37 содержит стоп-кодон (TAG) с сайтом рестрикции XhoI. ПЦР-амплификацию проводили с использованием ДНК библиотеки кДНК кератиноцитов человека (HaCaT) в качестве матрицы и SEQ ID NO:37 и SEQ ID NO:38 в качестве праймеров. ПЦР-реакцию выполняли следующим образом: инкубирование при 94°C в течение 1 мин с последующими 30 циклами 94°C в течение 30 с и 68°C в течение 2 мин, после дополнительных 68°C в течение 4 мин реакционную смесь хранили при 4°C. Продукты ПЦР подвергали электрофорезу на 1% агарозном геле и наблюдали полосу ДНК 1 т.п.н. Продукты ПЦР вырезали из геля и ДНК очищали с использованием набора для экстракции гелей QIAquick (Qiagen). Очищенную ДНК расщепляли EcoRI и XhoI и клонировали в вектор pZP, который был назван pZP7N. Плазмида pZP является экспрессирующим вектором млекопитающих, содержащим экспрессионную кассету, имеющую промотор мышинового металлопротеина-1, лидерный пептид tPA человека, множественные сайты рестрикции для инсертирования кодирующих последовательностей, метку Glu-Glu и терминатор гормона роста человека. Эта плазмида имеет также сайт инициации репликации E. coli, экспрессионную единицу селективного маркера млекопитающих, имеющую промотор, энхансер и сайт инициации репликации SV40, а также ген DHFR и терминатор

SV40. Несколько клонов IL-20RB-pZP7N секвенировали. Все они содержат три неконсервативные мутации в сравнении с последовательностью IL-20RB в PCT/US99/03735: (последовательность IL-20RB-pZP7N), 146 Pro (CCC) → Thr (ACC), 148 His (CAT) → Asp (GAT) и 171 Thr (ACG) → Arg (AGG).

Для подтверждения этих трех мутаций в клоне IL-20RB-pZP7N ПЦР-амплификацию проводили с использованием трех различных источников кДНК-marathon (марафон)-кДНК, ДНК кДНК-библиотеки HaCaT и ДНК кДНК-библиотеки гладких мышц предстательной железы - в качестве матриц. Продукты ПЦР очищали из геля и секвенировали. Последовательность каждого из трех продуктов ПЦР согласовалась с последовательностью клона IL-20RB-pZP7N. IL-20RB соответствует SEQ ID NO:22 и 23, а зрелый внеклеточный домен является SEQ ID NO:21.

Пример 3.

Связывание IL-20 с гетеродимером IL-20RB/IL-22R

Для подтверждения, что IL-20 связывается с гетеродимером IL-22R-IL-20RB, использовали анализ связывания на основе клеток.

Экспрессирующие векторы, содержащие известные и orphan-рецепторы цитокинов класса II (в том числе IL-22R и IL-20RB) транзитивно (нестабильно) трансфицировали в клетки Baf3.

Клетки высевали при 5000 клеток на лунку, обрабатывали их IL-20 (zcyto10), MDA-7 и растворимыми белками.

Клетки инкубировали при 37°C в течение 3 дней (72 ч).

Добавляли 20 мкл на лунку красителя Alamar Blue, инкубировали при 37°C в течение ночи (24 ч).

Считывали на fMax (Molecular Devices) в помещении Robotics при установке возбуждение 544 нм/испускание 590 нм.

Результаты:

Положительная реакция пролиферации с обработками IL-20 (zcyto10) и MDA-7 от 0,1 нг/мл до 100 нг/мл на клеточной линии Baf3/DIRS1/cytoR11.

Пример 4.

Положительная регуляция воспалительных цитокинов посредством IL-20

Обработка клеток

Клеточную линию кератиноцитов человека, HaCaT выращивали при 37°C до нескольких дней после конfluence в колбах T-75 для культуры ткани. В этот момент нормальную среду для выращивания (DMEM + 10% ФТС) удаляли и заменяли бессывороточной средой. Затем клетки инкубировали в течение двух дней при 37°C. Затем DMEM удаляли и четыре колбы клеток на каждую обработку обрабатывали одним из следующих условий в течение 4 ч при 37°C: рекомбинантный человеческий (rh) IL-1 альфа при 5 нг/мл, rh IL-1 альфа при 20 нг/мл, rh IL-1 альфа при 5 нг/мл + IL-20 при 1 мкг/мл, IL-20 при 1 мкг/мл или rh IL-10 альфа при 10 нг/мл.

Выделение РНК

После обработки цитокинами среды удаляли и клетки лизировали с использованием раствора тиоцианата гуанидиния. Тотальную РНК выделяли из клеточного лизата откручиванием в течение ночи на градиенте хлорида цезия. На следующий день осадок РНК ресуспендировали в растворе ТЭ/ДСН и осаждали этанолом. Затем РНК определяли количественно с использованием спектрофотометра с последующей обработкой ДНКазой, как описано в Section V.B. of Clontech's Atlas™ cDNA Expression Arrays User Manual (version PT3140-1/PR9X390, published 11/5/99). Качество проб РНК подтверждали расчетами чистоты на основе считываний спектрофотометра и визуализацией на агарозном геле. Геномное загрязнение этих проб РНК исключали ПЦР-анализом гена бета-актина.

Протоколы Clontech для поли A+ обогащения, синтез зондов и гибридизацию выполняли в соответствии с матрицами Atlas™ (см. выше, плюс Atlas™ Pure Total RNA Labeling System User Manual, PT3231-1/PR96157, published 6/22/99). Вкратце, полиA+ РНК выделяли из 50 мг тотальной РНК с использованием покрытых стрептавидином магнитных гранул (Clontech, Palo Alto, CA) и сепаратора магнитных частиц. Затем полиA+ РНК метили альфа-³²P-dATP через ОТ-ПЦР. Праймеры CDS Clontech, специфические для 268 генов на матрице цитокин человека/рецептор Atlas™ (Cat # 7744-1), использовали в этой реакции. Меченый зонд выделяли колоночной хроматографией и считали в сцинтилляционной жидкости.

Гибридизация на мембранах с матрицами

Матрицы Atlas™ предгибридизовали с Clontech ExpressHyb плюс 100 мг/мл денатурированной нагреванием ДНК спермы лосося в течение по меньшей мере тридцати минут при 68°C при непрерывном встряхивании. Затем мембраны гибридизовали с $1,9 \times 10^6$ имп/мин/мл (всего $1,14 \times 10^7$ имп/мин) в течение ночи при 68°C при непрерывном встряхивании. На следующий день мембраны промывали в течение тридцати минут 4x в 2x SSC, 1% ДСН при 68°C, плюс в течение тридцати минут 1x в 0,1x SSC, 0,5% ДСН при 68°C затем одной конечной промывкой при комнатной температуре в течение пяти минут в 2x SSC. Затем мембраны с матрицами помещали в пластиковые мешочки Kodak, герметизировали и экспонировали с экраном для прибора, визуализирующего фосфор, в течение ночи при комнатной температуре. На следующий день экраны с изображением фосфора сканировали на приборе для визуализации фосфора и анализировали с использованием программного обеспечения Clontech AtlasImage™ 1.0.

Результаты

Гены, положительно регулируемые IL-20.

1. Фактор некроза опухолей (TNF) положительно регулировался в 1,9-2,4 раза IL-20.
2. Факторы роста плаценты 1 и 2 (PLGF) положительно регулировались в 1,9-2,0 раза IL-20.
3. Рецептор фактора свертывания II положительно регулировался в 2,0-2,5 раза IL-20.
4. Рецептор кальцитонина положительно регулировался в 2,2-2,3 раза IL-20.
5. Индуцируемый TNF гиалуронатсвязывающий белок TSG-6 положительно регулировался в 2,1-2,2 раза IL-20.
6. Предшественник рецептора-1 васкулярного эндотелиального фактора (VEGF), рецептор тирозин-протеинкиназы (FLT-1) (SFLT) положительно регулировался в 2,1-2,7 раза IL-20.
7. MRP-8 (кальцийсвязывающий белок в макрофагах MIF-родственный) положительно регулировался в 2,9-4,1 раза IL-20.
8. MRP-14 (кальцийсвязывающий белок в макрофагах, MIF-родственный) положительно регулировался в 3,0-3,8 раза IL-20.
9. Релаксин H2 положительно регулировался в 3,14 раза IL-20.
10. Рецептор III 300 кДа трансформирующего фактора роста бета (TGFB) положительно регулировался в 2,4-3,6 раза IL-20.

Гены, обнаруживающие синергизм с обработкой IL-20 + IL-1

1. Костный морфогенетический белок 2a положительно регулировался в 1,8 раза обработкой одним IL-20, в 2,5 раза обработкой одним IL-1 и в 8,2 раза обработкой обоими IL-20 и IL-1 вместе.
2. MRP-8 положительно регулировался в 2,9 раза обработкой одним IL-20, в 10,7 раза обработкой одним IL-1 и в 18,0 раз обработкой обоими IL-20 и IL-1 вместе.
3. Белок дифференцировки эритроидов (EDF) положительно регулировался в 1,9 раза обработкой одним IL-20, в 9,7 раза обработкой одним IL-1 и в 19,0 раз обработкой обоими IL-20 и IL-1 вместе.
4. MRP-14 (кальцийсвязывающий белок в макрофагах MIF-родственный) положительно регулировался в 3,0 раза обработкой одним IL-20, в 12,2 раза обработкой одним IL-1 и в 20,3 раза обработкой обоими IL-20 и IL-1 вместе.
5. Гепаринсвязывающий EGF-подобный фактор роста положительно регулировался в 2,0 раза обработкой одним IL-20, в 14,0 раз обработкой одним IL-1 и в 25,0 раз обработкой обоими IL-20 и IL-1 вместе.
6. Подобный бета-тромбоглобулину белок положительно регулировался в 1,5 раза обработкой одним IL-20, в 15,0 раз обработкой одним IL-1 и в 27,0 раз обработкой обоими IL-20 и IL-1 вместе.
7. Полученный из мозга нейротрофический фактор (BDNF) положительно регулировался в 1,7 раза обработкой одним IL-20, в 25,0 раз обработкой одним IL-1 и в 48,0 раз обработкой обоими IL-20 и IL-1 вместе.
8. Моноцитарный хемотактический и активирующий фактор MCAF положительно регулировался в 1,3 раза обработкой одним IL-20, в 32,0 раза обработкой одним IL-1 и в 56,0 раз обработкой обоими IL-20 и IL-1 вместе.

Пример 5.

Трансгенный фенотип IL-20

Как человеческий, так и мышинный IL-20 сверхэкспрессировали в трансгенных мышцах с использованием различных промоторов. Первоначально использовали специфический для печени мышинный промотор альбумина, управляющий экспрессией IL-20 человека, в попытке получения уровней белка в кровотоке. Последующие исследования проводили с использованием промотора кератина 14 (K14), который прежде всего запускает экспрессию в эпидермисе и другом многослойном плоском эпителии; мышинного промотора металлотионеина-1, который дает широкое распределение экспрессии, и промотор E μ LCK, который запускает экспрессию в клетках лимфоидного направления дифференцировки. Во всех четырех случаях получали сходные результаты, возможно, вследствие того, что все эти промоторы приводят к появлению циркулирующих в кровотоке уровней IL-20.

Во всех случаях трансгенные детеныши, экспрессирующие трансген IL-20, были меньше, чем не-трансгенные детеныши того же помета, имели блестящий вид с плотной, сморщенной кожей и умирали в пределах нескольких дней после рождения. Детеныши имели молоко в их желудках, что свидетельствовало о том, что они были способны сосать молоко. Эти мыши имели опухшие конечности, хвост, участки ноздрей и рта и имели затруднения в передвижении. Кроме того, эти мыши были слабыми, не имели видимой жировой ткани и имели задержанное развитие ушей и пальцев. Низкие уровни экспрессии в печени (менее 100 молекул мРНК-на клетку) были достаточными как для неонатальной летальности, так и кожных аномалий. Трансгенные мыши без видимого фенотипа либо не экспрессировали этот трансген, либо не экспрессировали его при достаточных уровнях, либо были мозаичными.

Гистологический анализ кожи IL-20-трансгенных мышей показал утолщенный эпидермис, гиперкератоз и компактный роговой слой в сравнении с нетрансгенными однопотетными мышами. Иногда наблюдались сероклеточные струнья (корки). Электронно-микроскопический анализ (ЕМ) кожи трансгенных мышей показал интрамитохондриальные липоидные включения, пестрые кератогиалиновые гранулы

и относительно небольшие тонофиламенты, сходные с наблюдаемыми в псориатической коже человека и мышинных моделях заболеваний кожи. Кроме того, многие из трансгенных мышей имели апоптотические лимфоциты тимуса. Другие аномалии не были обнаружены гистопатологическим анализом. Эти гистологические и ЕМ-результаты подтверждают и развивают наблюдаемые макроскопические изменения кожи.

Пример 6.

Экспериментальные процедуры: Анализ с использованием люциферазы

Люциферазные репортерные анализы выполняли с использованием клеток ВНК, стабильно трансфицированных IL-22R и IL-20RB и использующих STAT-регулируемую люциферазную репортерную кассету. Клетки переключали на бессывороточную среду в течение ночи перед обработкой серийными разведениями IL-19, IL-20 и MDA-7 в присутствии или в отсутствии растворимого рецептора IL-20RB/IL-22R. Клетки лизировали и считывали на приборе Berthold MicroLumat Plus на люциферазную репортерную активность.

Анализ пролиферации BaF3

В анализах пролиферации использовали краситель Alamar Blue, который добавляли к клеткам за 24 ч перед считыванием результатов на планшет-ридере fmax (Molecular Devices, Sunnyvale, CA) с использованием программы Softmax Pro. ОТ-ПЦР-анализ на тканях человека.

ОТ-ПЦР выполняли на панели экспрессии генов человека Rapid-Scan (Origene Technologies, Inc.) с использованием праймеров 5'-ccccagacacgggtctacagcat-3' и 5'-gggtcaggccgaagaactcatat-3' для амплификации фрагмента 440 п.н. IL-22R человека. Условия ПЦР были следующими 94°C в течение 2 мин, затем 35 циклов 94°C в течение 15 с 72°C в течение 90 с, затем конечная стадия удлинения при 72°C в течение 2 мин.

Результаты

Поскольку IL-22R является общей альфа-субъединицей, авторы изобретения оценивали панель Origene на экспрессию мРНК IL-22R. Наивысшую экспрессию IL-22R детектировали в поджелудочной железе причем кожа и легкое также обнаруживали сильную экспрессию.

Для испытания возможности, что подсемейство IL-20 может активировать другие комбинации рецепторов класса II, клетки BaF3 стабильно трансфицировали субъединицами рецепторов класса II отдельно или в комбинации и обрабатывали лигандами. Этот анализ показал что как IL-20, так и MDA-7 стимулируют дополнительный комплекс рецепторов, состоящий из IL-22R/IL-20RB (табл. 1). Затем авторы изобретения хотели определить, какие растворимые рецепторы могли бы блокировать активность лиганда. Как упоминалось выше, гетеродимерный растворимый рецептор IL-20RA/IL-20RB блокировал пролиферацию, стимулируемую IL-20, IL-19 и MDA-7. Кроме того, один растворимый рецептор IL-20RB блокировал активность IL-19 и MDA-7, но не IL-20.

Поскольку IL-22R является общей альфа-субъединицей, авторы изобретения оценивали панель Origene на экспрессию мРНК IL-22R (табл. 2). Наивысшую экспрессию детектировали в поджелудочной железе, причем кожа и легкое также обнаруживали сильную экспрессию. Таким образом, в целом, IL-20Rα, IL-20Rβ и IL-22R имеют сильную экспрессию в коже и легких.

Поскольку IL-20Rα, IL-20Rβ и IL-22R, - все экспрессируются в легком, авторы изобретения использовали гибридизацию *in situ* для оценки, экспрессировали ли те же самые типы клеток все три рецептора. Фиг. 3 показывает, что как эпителиальные клетки, так и иммунные инфильтраты проявляют положительное окрашивание в срезах легкого, испытываемых на экспрессию мРНК с использованием гибридизации *in situ*.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Выделенный растворимый рецептор, состоящий из субъединицы IL-22R и субъединицы IL-20RB, где субъединица IL-22R состоит из полипептида, имеющего аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO:12, 13, 25, 26, 31 и 32, а субъединица IL-20RB состоит из полипептида, имеющего аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO:15-21, 23, 28, 29, 34 и 35.

2. Растворимый рецептор по п.1, где субъединица IL-22R и субъединица IL-20RB связаны вместе полипептидным линкером.

3. Растворимый рецептор по п.2, где полипептидный линкер имеет приблизительно 100-240 аминокислотных остатков.

4. Растворимый рецептор по п.3, где полипептидный линкер имеет приблизительно 170 аминокислотных остатков.

5. Растворимый рецептор по п.1, где субъединица IL-22R и субъединица IL-20RB, каждая, имеют полипептидный линкер, слитый с данной субъединицей, и каждый из этих полипептидных линкеров имеет по меньшей мере один остаток цистеина, где по меньшей мере одна дисульфидная связь образуется с цистеином из полипептидного линкера субъединицы IL-22R и с цистеином из полипептидного линкера субъединицы IL-20RB.

6. Растворимый рецептор по п.5, где субъединица IL-22R слита со всей константной областью или частью константной области тяжелой цепи молекулы иммуноглобулина (Ig), а субъединица IL-20RB слита со всей константной областью или частью константной области легкой цепи молекулы иммуноглобулина, где эта легкая цепь и эта тяжелая цепи связаны между собой дисульфидной связью.

7. Растворимый рецептор по п.6, где константная область тяжелой цепи состоит из домена CH1, домена CH2 и шарнирной последовательности, которая соединяет домен CH1 с доменом CH2.

8. Растворимый рецептор по п.6, где субъединица IL-22R, слитая с константной областью тяжелой цепи, состоит из аминокислотной последовательности, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO:25, 26, 31 и 32, а субъединица IL-20RB, слитая с константной областью легкой цепи молекулы Ig, состоит из аминокислотной последовательности, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO:28, 29, 34 и 35.

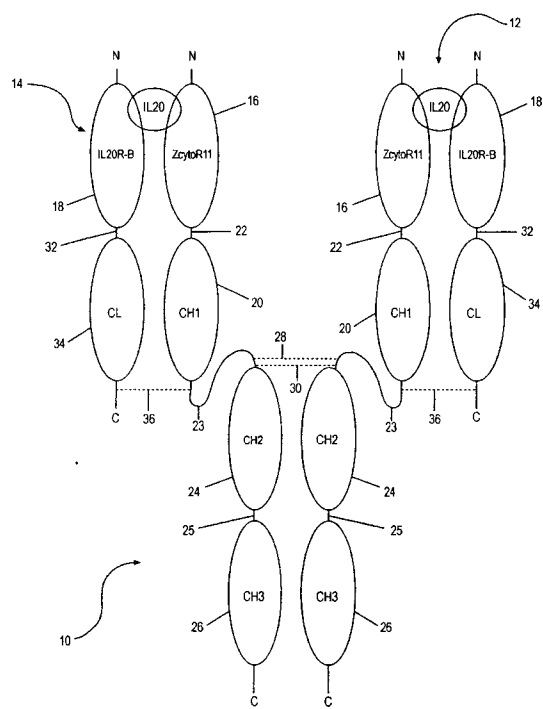
9. Растворимый рецептор по п.5, где субъединица IL-20RB слита со всей константной областью или частью константной области тяжелой цепи молекулы иммуноглобулина (Ig), а субъединица IL-22R слита со всей константной областью или частью константной области легкой цепи молекулы иммуноглобулина, где эта легкая цепь и эта тяжелая цепи связаны между собой дисульфидной связью.

10. Способ получения растворимого рецептора, состоящего из внеклеточных доменов IL-22R и IL-20RB, предусматривающий (а) введение в клетку-хозяина первой последовательности ДНК, состоящей из последовательности ДНК, которая кодирует внеклеточную часть IL-22R, и ДНК, которая кодирует константную область легкой цепи иммуноглобулина, (b) введение в клетку-хозяина второй конструкции ДНК, состоящей из последовательности ДНК, которая кодирует внеклеточную часть IL-20RB, и последовательности ДНК, которая кодирует домен константной области тяжелой цепи иммуноглобулина; (с) выращивание этой клетки-хозяина в подходящей для выращивания среде при физиологических условиях, позволяющих продуцирование слитого белка, состоящего из внеклеточных доменов IL-22R и IL-20RB, и (d) выделение этого полипептида из клетки-хозяина.

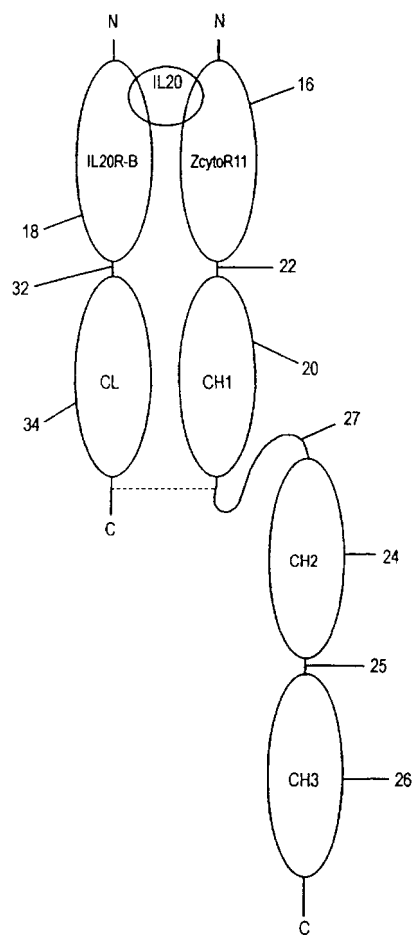
11. Способ получения растворимого рецептора, состоящего из внеклеточных доменов IL-22R и IL-20RB, предусматривающий (а) введение в клетку-хозяина первой последовательности ДНК, состоящей из ДНК, которая кодирует внеклеточную часть IL-20RB, и ДНК, которая кодирует константную область легкой цепи иммуноглобулина; (b) введение в клетку-хозяина второй конструкции ДНК, состоящей из последовательности ДНК, которая кодирует внеклеточную часть IL-22R, и последовательности ДНК, которая кодирует константную область тяжелой цепи иммуноглобулина; (с) выращивание этой клетки-хозяина в подходящей для выращивания среде при физиологических условиях, позволяющих продуцирование димеризованного гетеродимерного слитого белка, состоящего из внеклеточных доменов IL-22R и IL-20RB; и (d) выделение этого димеризованного полипептида из клетки-хозяина.

12. Способ получения растворимого рецептора, состоящего из внеклеточных доменов IL-22R и IL-20RB, предусматривающий (а) введение в клетку-хозяина конструкции ДНК, содержащей конструкцию ДНК, которая кодирует внеклеточную часть IL-20RB, и конструкцию ДНК внеклеточной части IL-22R, (b) выращивание этой клетки-хозяина в подходящей среде при физиологических условиях, позволяющих продуцирование внеклеточного домена IL-22R и внеклеточного домена IL-20RB; и (d) выделение этих полипептидов из клетки-хозяина.

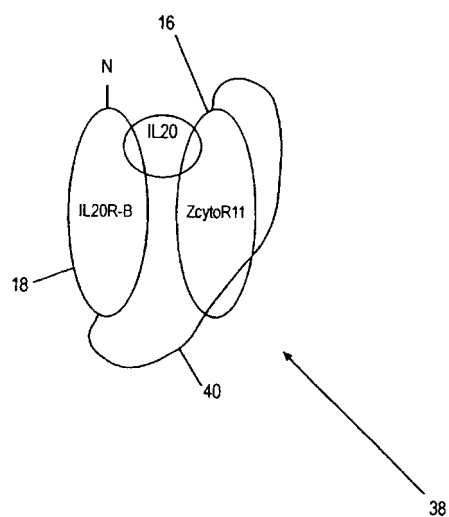
13. Клетки-хозяева, трансформированные или трансфицированные конструкцией ДНК, которая кодирует внеклеточный домен IL-22R, и конструкцией ДНК, которая кодирует внеклеточный домен IL-20RB.



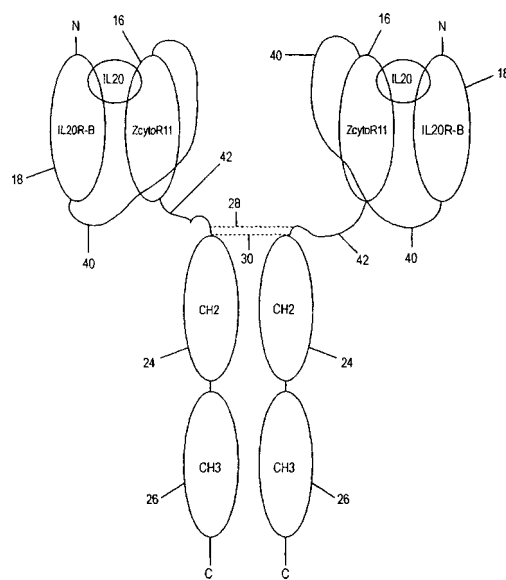
Фиг. 1



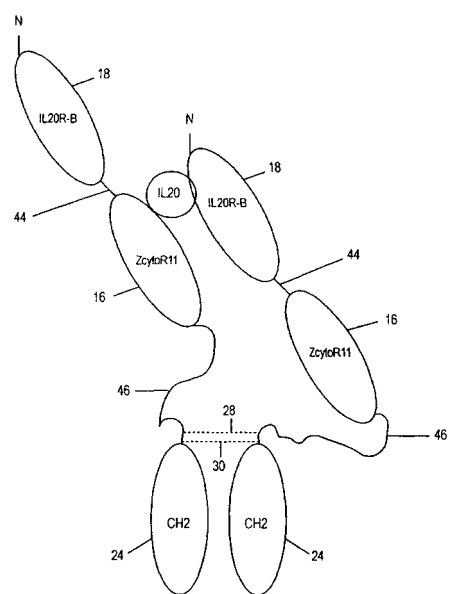
Фиг. 2



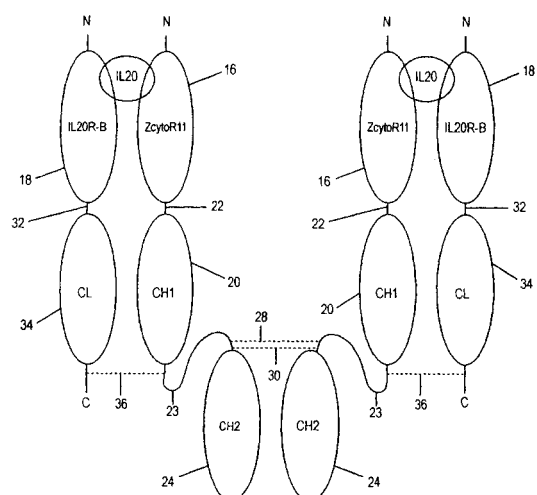
Фиг. 3



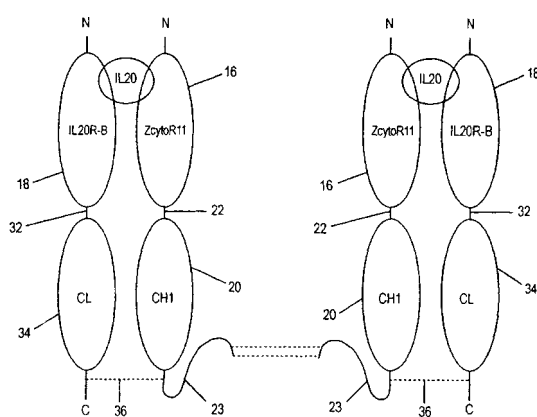
Фиг. 4



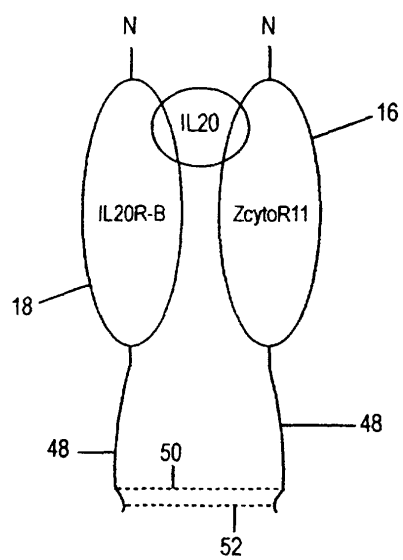
Фиг. 5



ФИГ. 6



ФИГ. 7



ФИГ. 8

Список последовательностей

<110> Chandrasekher, Yasmin A.
 Novak, Julia E.
 Foster, Donald C.
 Wenfeng, Xu
 Jaspers Stephen R.

<120> Растворимый гетеродимерный рецептор цитокина

<130> 01-10PC

<150> 60/274,560
 <151> 2001-03-09

<150> 60/299,865
 <151> 2001-06-21

<160> 40

<170> FastSEQ for Windows Version 3.0

<210> 1
 <211> 176
 <212> Белок
 <213> Homo sapiens

<400> 1

Met	Lys	Ala	Ser	Ser	Leu	Ala	Phe	Ser	Leu	Leu	Ser	Ala	Ala	Phe	Tyr
1				5					10					15	
Leu	Leu	Trp	Thr	Pro	Ser	Thr	Gly	Leu	Lys	Thr	Leu	Asn	Leu	Gly	Ser
			20				25					30			
Cys	Val	Ile	Ala	Thr	Asn	Leu	Gln	Glu	Ile	Arg	Asn	Gly	Phe	Ser	Asp
		35				40					45				
Ile	Arg	Gly	Ser	Val	Gln	Ala	Lys	Asp	Gly	Asn	Ile	Asp	Ile	Arg	Ile
	50				55				60						
Leu	Arg	Arg	Thr	Glu	Ser	Leu	Gln	Asp	Thr	Lys	Pro	Ala	Asn	Arg	Cys
65				70					75				80		
Cys	Leu	Leu	Arg	His	Leu	Leu	Arg	Leu	Tyr	Leu	Asp	Arg	Val	Phe	Lys
			85					90					95		
Asn	Tyr	Gln	Thr	Pro	Asp	His	Tyr	Thr	Leu	Arg	Lys	Ile	Ser	Ser	Leu
		100					105					110			
Ala	Asn	Ser	Phe	Leu	Thr	Ile	Lys	Lys	Asp	Leu	Arg	Leu	Cys	His	Ala
		115					120					125			
His	Met	Thr	Cys	His	Cys	Gly	Glu	Ala	Met	Lys	Lys	Tyr	Ser	Gln	
	130					135				140					
Ile	Leu	Ser	His	Phe	Glu	Lys	Leu	Glu	Pro	Gln	Ala	Ala	Val	Val	Lys
145				150					155				160		
Ala	Leu	Gly	Glu	Leu	Asp	Ile	Leu	Leu	Gln	Trp	Met	Glu	Glu	Thr	Glu
			165						170				175		

<210> 2
 <211> 152
 <212> Белок
 <213> Homo sapiens

<400> 2

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

<210> 3
 <211> 151
 <212> БЕЛОК
 <213> Homo sapiens

<400> 3
 Met Lys Ala Ser Ser Leu Ala Phe Ser Leu Leu Ser Ala Ala Phe Tyr
 1 5 10 15
 Leu Leu Trp Thr Pro Ser Thr Gly Leu Lys Thr Leu Asn Leu Gly Ser
 20 25 30
 Cys Val Ile Ala Thr Asn Leu Gln Glu Ile Arg Asn Gly Phe Ser Asp
 35 40 45
 Ile Arg Gly Ser Val Gln Ala Lys Asp Gly Asn Ile Asp Ile Arg Ile
 50 55 60
 Leu Arg Arg Thr Glu Ser Leu Gln Asp Thr Lys Pro Ala Asn Arg Cys
 65 70 75 80
 Cys Leu Leu Arg His Leu Leu Arg Leu Tyr Leu Asp Arg Val Phe Lys
 85 90 95
 Asn Tyr Gln Thr Pro Asp His Tyr Thr Leu Arg Lys Ile Ser Ser Leu
 100 105 110
 Ala Asn Ser Phe Leu Thr Ile Lys Lys Asp Leu Arg Leu Cys Leu Glu
 115 120 125
 Pro Gln Ala Ala Val Val Lys Ala Leu Gly Glu Leu Asp Ile Leu Leu
 130 135 140
 Gln Trp Met Glu Glu Thr Glu
 145 150

<210> 4
 <211> 127
 <212> БЕЛОК
 <213> Homo sapiens

<400> 4
 Leu Lys Thr Leu Asn Leu Gly Ser Cys Val Ile Ala Thr Asn Leu Gln
 1 5 10 15
 Glu Ile Arg Asn Gly Phe Ser Asp Ile Arg Gly Ser Val Gln Ala Lys
 20 25 30
 Asp Gly Asn Ile Asp Ile Arg Ile Leu Arg Arg Thr Glu Ser Leu Gln
 35 40 45
 Asp Thr Lys Pro Ala Asn Arg Cys Cys Leu Leu Arg His Leu Leu Arg
 50 55 60
 Leu Tyr Leu Asp Arg Val Phe Lys Asn Tyr Gln Thr Pro Asp His Tyr
 65 70 75 80
 Thr Leu Arg Lys Ile Ser Ser Leu Ala Asn Ser Phe Leu Thr Ile Lys
 85 90 95
 Lys Asp Leu Arg Leu Cys Leu Glu Pro Gln Ala Ala Val Val Lys Ala
 100 105 110
 Leu Gly Glu Leu Asp Ile Leu Leu Gln Trp Met Glu Glu Thr Glu
 115 120 125

<210> 5
 <211> 176
 <212> БЕЛОК
 <213> mouse

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

<210> 6
 <211> 152
 <212> Белок
 <213> Mouse

<400> 6
 Leu Lys Thr Leu His Leu Gly Ser Cys Val Ile Thr Ala Asn Leu Glr
 1 5 10 15
 Ala Ile Gln Lys Glu Phe Ser Glu Ile Arg Asp Ser Val Gln Ala Glu
 20 25 30
 Asp Thr Asn Ile Asp Ile Arg Ile Leu Arg Thr Thr Glu Ser Leu Lys
 35 40 45
 Asp Ile Lys Ser Leu Asp Arg Cys Cys Phe Leu Arg His Leu Val Arg
 50 55 60
 Phe Tyr Leu Asp Arg Val Phe Lys Val Tyr Gln Thr Pro Asp His His
 65 70 75 80
 Thr Leu Arg Lys Ile Ser Ser Leu Ala Asn Ser Phe Leu Ile Ile Lys
 85 90 95
 Lys Asp Leu Ser Val Cys His Ser His Met Ala Cys His Cys Gly Glu
 100 105 110
 Glu Ala Met Glu Lys Tyr Asn Gln Ile Leu Ser His Phe Ile Glu Leu
 115 120 125
 Glu Leu Gln Ala Ala Val Val Lys Ala Leu Gly Glu Leu Gly Ile Leu
 130 135 140
 Leu Arg Trp Met Glu Glu Met Leu
 145 150

<210> 7
 <211> 144
 <212> Белок
 <213> Mouse

<400> 7
 Cys Val Ile Thr Ala Asn Leu Gln Ala Ile Gln Lys Glu Phe Ser Glu
 1 5 10 15
 Ile Arg Asp Ser Val Gln Ala Glu Asp Thr Asn Ile Asp Ile Arg Ile
 20 25 30
 Leu Arg Thr Thr Glu Ser Leu Lys Asp Ile Lys Ser Leu Asp Arg Cys
 35 40 45
 Cys Phe Leu Arg His Leu Val Arg Phe Tyr Leu Asp Arg Val Phe Lys
 50 55 60
 Val Tyr Gln Thr Pro Asp His His Thr Leu Arg Lys Ile Ser Ser Leu
 65 70 75 80
 Ala Asn Ser Phe Leu Ile Ile Lys Lys Asp Leu Ser Val Cys His Ser
 85 90 95
 His Met Ala Cys His Cys Gly Glu Glu Ala Met Glu Lys Tyr Asn Gln
 100 105 110
 Ile Leu Ser His Phe Ile Glu Leu Glu Leu Gln Ala Ala Val Val Lys
 115 120 125
 Ala Leu Gly Glu Leu Gly Ile Leu Leu Arg Trp Met Glu Glu Met Leu
 130 135 140

<210> 8
 <211> 154
 <212> Белок
 <213> Homo sapiens

<400> 8
 Met Lys Gly Phe Gly Leu Ala Phe Gly Leu Phe Ser Ala Val Gly Phe
 1 5 10 15
 Leu Leu Trp Thr Pro Leu Thr Gly Leu Lys Thr Leu His Leu Gly Ser
 20 25 30
 Cys Val Ile Thr Ala Asn Leu Gln Ala Ile Gln Lys Glu Phe Ser Glu
 35 40 45
 Ile Arg Asp Ser Val Ser Leu Asp Arg Cys Cys Phe Leu Arg His Leu
 50 55 60
 Val Arg Phe Tyr Leu Asp Arg Val Phe Lys Val Tyr Gln Thr Pro Asp
 65 70 75 80
 His His Thr Leu Arg Lys Ile Ser Ser Leu Ala Asn Ser Phe Leu Ile
 85 90 95
 Ile Lys Lys Asp Leu Ser Val Cys His Ser His Met Ala Cys His Cys
 100 105 110
 Gly Glu Glu Ala Met Glu Lys Tyr Asn Gln Ile Leu Ser His Phe Ile
 115 120 125
 Glu Leu Glu Leu Gln Ala Ala Val Val Lys Ala Leu Gly Glu Leu Gly
 130 135 140
 Ile Leu Leu Arg Trp Met Glu Glu Met Leu
 145 150

```

<210> 9
<211> 130
<212> Белок
<213> Человек

<400> 9
Leu Lys Thr Leu His Leu Gly Ser Cys Val Ile Thr Ala Asn Leu Gln
 1      5      10      15
Ala Ile Gln Lys Glu Phe Ser Glu Ile Arg Asp Ser Val Ser Leu Asp
 20      25      30
Arg Cys Cys Phe Leu Arg His Leu Val Arg Phe Tyr Leu Asp Arg Val
 35      40      45
Phe Lys Val Tyr Gln Thr Pro Asp His His Thr Leu Arg Lys Ile Ser
 50      55      60
Ser Leu Ala Asn Ser Phe Leu Ile Ile Lys Lys Asp Leu Ser Val Cys
 65      70      75      80
His Ser His Met Ala Cys His Cys Gly Glu Glu Ala Met Glu Lys Tyr
 85      90      95
Asn Gln Ile Leu Ser His Phe Ile Glu Leu Glu Leu Gln Ala Ala Val
100      105      110
Val Lys Ala Leu Gly Glu Leu Gly Ile Leu Leu Arg Trp Met Glu Glu
115      120      125
Met Leu
130

<210> 10
<211> 2831
<212> ДНК
<213> Человек

<220>
<221> CDS
<222> (34)...(1755)

<400> 10
tagaggccaa gggagggctc tgtgccagcc ccg atg agg acg ctg ctg acc atc      54
                               Met Arg Thr Leu Leu Thr Ile
                               1      5

ttg act gtg gga tcc ctg gct gct cac gcc cct gag gac ccc tcg gat      102
Leu Thr Val Gly Ser Leu Ala Ala His Ala Pro Glu Asp Pro Ser Asp
 10      15      20

ctg ctc cag cac gtg aaa ttc cag tcc agc aac ttt gaa aac atc ctg      150
Leu Leu Gln His Val Lys Phe Gln Ser Ser Asn Phe Glu Asn Ile Leu
 25      30      35

acg tgg gac agc ggg cca gag ggc acc cca gac acg gtc tac agc atc      198
Thr Trp Asp Ser Gly Pro Glu Gly Thr Pro Asp Thr Val Tyr Ser Ile
 40      45      50      55

gag tat aag acg tac gga gag agg gac tgg gtg gca aag aag ggc tgt      246
Glu Tyr Lys Thr Tyr Gly Glu Arg Asp Trp Val Ala Lys Lys Gly Cys
 60      65      70

cag cgg atc acc cgg aag tcc tgc aac ctg acg gtg gag acg ggc aac      294
Gln Arg Ile Thr Arg Lys Ser Cys Asn Leu Thr Val Glu Thr Gly Asn
 75      80      85

ctc acg gag ctc tac tat gcc agg gtc acc gct gtc agt gcg gga ggc      342
Leu Thr Glu Leu Tyr Tyr Ala Arg Val Thr Ala Val Ser Ala Gly Gly
 90      95      100

cgg tca gcc acc aag atg act gac agg ttc agc tct ctg cag cac act      390
Arg Ser Ala Thr Lys Met Thr Asp Arg Phe Ser Ser Leu Gln His Thr
105      110      115

acc ctc aag cca cct gat gtg acc tgt atc tcc aaa gtg aga tcg att      438
Thr Leu Lys Pro Pro Asp Val Thr Cys Ile Ser Lys Val Arg Ser Ile
120      125      130      135

cag atg att gtt cat cct acc ccc acg cca atc cgt gca ggc gat ggc      486

```

Gln Met Ile Val His Pro Thr Pro Thr Pro Ile Arg Ala Gly Asp Gly	
140 145 150	
cac cgg cta acc ctg gaa gac atc ttc cat gac ctg ttc tac cac tta	534
His Arg Leu Thr Leu Glu Asp Ile Phe His Asp Leu Phe Tyr His Leu	
155 160 165	
gag ctc cag gtc aac cgc acc tac caa atg cac ctt gga ggg aag cag	582
Glu Leu Gln Val Asn Arg Thr Tyr Gln Met His Leu Gly Gly Lys Gln	
170 175 180	
aga gaa tat gag ttc ttc ggc ctg acc cct gac aca gag ttc ctt ggc	630
Arg Glu Tyr Glu Phe Phe Gly Leu Thr Pro Asp Thr Glu Phe Leu Gly	
185 190 195	
acc atc atg att tgc gtt ccc acc tgg gcc aag gag agt gcc ccc tac	678
Thr Ile Met Ile Cys Val Pro Thr Trp Ala Lys Glu Ser Ala Pro Tyr	
200 205 210 215	
atg tgc cga gtg aag aca ctg cca gac cgg aca tgg acc tac tcc ttc	726
Met Cys Arg Val Lys Thr Leu Pro Asp Arg Thr Trp Thr Tyr Ser Phe	
220 225 230	
tcc gga gcc ttc ctg ttc tcc atg ggc ttc ctc gtc gca gta ctc tgc	774
Ser Gly Ala Phe Leu Phe Ser Met Gly Phe Leu Val Ala Val Leu Cys	
235 240 245	
tac ctg agc tac aga tat gtc acc aag ccg cct gca cct ccc aac tcc	822
Tyr Leu Ser Tyr Arg Tyr Val Thr Lys Pro Pro Ala Pro Pro Asn Ser	
250 255 260	
ctg aac gtc cag cga gtc ctg act ttc cag ccg ctg cgc ttc atc cag	870
Leu Asn Val Gln Arg Val Leu Thr Phe Gln Pro Leu Arg Phe Ile Gln	
265 270 275	
gag cac gtc ctg atc cct gtc ttt gac ctc agc ggc ccc agc agt ctg	918
Glu His Val Leu Ile Pro Val Phe Asp Leu Ser Gly Pro Ser Ser Leu	
280 285 290 295	
gcc cag tct gtc cag tac tcc cag atc agg gtg tct gga ccc agg gag	966
Ala Gln Pro Val Gln Tyr Ser Gln Ile Arg Val Ser Gly Pro Arg Glu	
300 305 310	
ccc gca gga gct cca cag cgg cat agc ctg tcc gag atc acc tac tta	1014
Pro Ala Gly Ala Pro Gln Arg His Ser Leu Ser Glu Ile Thr Tyr Leu	
315 320 325	
ggg cag cca gac atc tcc atc ctc cag ccc tcc aac gtg cca cct ccc	1062
Gly Gln Pro Asp Ile Ser Ile Leu Gln Pro Ser Asn Val Pro Pro Pro	
330 335 340	
cag atc ctc tcc cca ctg tcc tat gcc cca aac gct gcc cct gag gtc	1110
Gln Ile Leu Ser Pro Leu Ser Tyr Ala Pro Asn Ala Ala Pro Glu Val	
345 350 355	
ggg ccc cca tcc tat gca cct cag gtg acc ccc gaa gct caa ttc cca	1158
Gly Pro Pro Ser Tyr Ala Pro Gln Val Thr Pro Glu Ala Gln Phe Pro	
360 365 370 375	
ttc tac gcc cca cag gcc atc tct aag gtc cag cct tcc tcc tat gcc	1206
Phe Tyr Ala Pro Gln Ala Ile Ser Lys Val Gln Pro Ser Ser Tyr Ala	
380 385 390	

cct caa gcc act ccg gac agc tgg cct ccc tcc tat ggg gta tgc atg Pro Gln Ala Thr Pro Asp Ser Trp Pro Ser Tyr Gly Val Cys Met 395 400 405	1254
gaa ggt tct ggc aaa gac tcc ccc act ggg aca ctt tct agt cct aaa Glu Gly Ser Gly Lys Asp Ser Pro Thr Gly Thr Leu Ser Ser Pro Lys 410 415 420	1302
cac ctt agg cct aaa ggt cag ctt cag aaa gag cca cca gct gga agc His Leu Arg Pro Lys Gly Gln Leu Gln Lys Glu Pro Pro Ala Gly Ser 425 430 435	1350
tgc atg tta ggt ggc ctt tct ctg cag gag gtg acc tcc ttg gct atg Cys Met Leu Gly Gly Leu Ser Leu Gln Glu Val Thr Ser Leu Ala Met 440 445 450 455	1398
gag gaa tcc caa gaa gca aaa tca ttg cac cag ccc ctg ggg att tgc Glu Glu Ser Gln Glu Ala Lys Ser Leu His Gln Pro Leu Gly Ile Cys 460 465 470	1446
aca gac aga aca tct gac cca aat gtg cta cac agt ggg gag gaa ggg Thr Asp Arg Thr Ser Asp Pro Asn Val Leu His Ser Gly Glu Glu Gly 475 480 485	1494
aca cca cag tac cta aag ggc cag ctc ccc ctc ctc tcc tca gtc cag Thr Pro Gln Tyr Leu Lys Gly Gln Leu Pro Leu Leu Ser Ser Val Gln 490 495 500	1542
atc gag ggc cac ccc atg tcc ctc cct ttg caa cct cct tcc ggt cca Ile Glu Gly His Pro Met Ser Leu Pro Leu Gln Pro Pro Ser Gly Pro 505 510 515	1590
tgt tcc ccc tgc gac caa ggt cca agt ccc tgg ggc ctg ctg gag tcc Cys Ser Pro Ser Asp Gln Gly Pro Ser Pro Trp Gly Leu Leu Glu Ser 520 525 530 535	1638
ctt gtg tgt ccc aag gat gaa gcc aag agc cca gcc cct gag acc tca Leu Val Cys Pro Lys Asp Glu Ala Lys Ser Pro Ala Pro Glu Thr Ser 540 545 550	1686
gac ctg gag cag ccc aca gaa ctg gat tct ctt ttc aga ggc ctg gcc Asp Leu Glu Gln Pro Thr Glu Leu Asp Ser Leu Phe Arg Gly Leu Ala 555 560 565	1734
ctg act gtg cag tgg gag tcc tgagggaat gggaaaggct tgggtgcttc Leu Thr Val Gln Trp Glu Ser 570	1785
tccctgtccc taccagtggt cacatccttg gctgtcaatc ccatgcctgc ccatgccaca	1845
cactctgcga tctggcctca gacgggtgcc cttgagagaa gcagagggag tggcatgcag	1905
ggcccctgcc atgggtgctc tcctcaccgg aacaaagcag catgataagg actgcagcgg	1965
gggagctctg gggagcagct tgtgtagaca agcgcgtgct cgctgagccc tgcaaggcag	2025
aaatgacagt gcaaggagga aatgcaggga aactcccag gtccagagcc ccacctccta	2085
acaccatgga ttcaaagtgc tcagggaatt tgccctcctc tgccccattc ctggccagtt	2145
tcacaatcta gctcgacaga gcatgaggcc cctgcctctt ctgtcattgt tcaaagggtg	2205
gaagagagcc tggaaaagaa ccaggcctgg aaaagaacca gaaggaggct gggcagaacc	2265
agaacaacct gcacttctgc caaggccagg gccagcagga cggcaggact ctaggaggag	2325
gtgtggcctg cagctcattc ccagccaggg caactgcctg acgttgacag atttcagctt	2385
cattcctctg atagaacaaa gcgaaatgca ggtccaccag ggagggagac acacaagcct	2445
tttctgcagg caggagtctc agaccctatc ctgagaatgg ggtttgaaag gaagggtgag	2505
gctgtggccc ctggacgggt acaataacac actgtactga tgtcacaact ttgcaagctc	2565
tgcccttgggt tcagcccatc tgggctcaaa ttccagcctc accactcaca agctgtgtga	2625
cttcaaacaa atgaaatcag tgcccagaac ctcggtttcc tcatctgtta tgtggggatc	2685
ataaacaccta cctcatggag ttgtggtgaa gatgaaatga agtcatgtct ttaaagtgtc	2745
taatagtgcc tggtagatgg gcagtgccta ataaacggta gctattttaa aaaaaaaaaa	2805
aaaaaaaaaa atagcggccg cctcga	2831

<210> 11
 <211> 574
 <212> Белок
 <213> Человек

<400> 11
 Met Arg Thr Leu Leu Thr Ile Leu Thr Val Gly Ser Leu Ala Ala His
 1 5 10 15
 Ala Pro Glu Asp Pro Ser Asp Leu Leu Gln His Val Lys Phe Gln Ser
 20 25 30
 Ser Asn Phe Glu Asn Ile Leu Thr Trp Asp Ser Gly Pro Glu Gly Thr
 35 40 45
 Pro Asp Thr Val Tyr Ser Ile Glu Tyr Lys Thr Tyr Gly Glu Arg Asp
 50 55 60
 Trp Val Ala Lys Lys Gly Cys Gln Arg Ile Thr Arg Lys Ser Cys Asn
 65 70 75 80
 Leu Thr Val Glu Thr Gly Asn Leu Thr Glu Leu Tyr Tyr Ala Arg Val
 85 90 95
 Thr Ala Val Ser Ala Gly Gly Arg Ser Ala Thr Lys Met Thr Asp Arg
 100 105 110
 Phe Ser Ser Leu Gln His Thr Thr Leu Lys Pro Pro Asp Val Thr Cys
 115 120 125
 Ile Ser Lys Val Arg Ser Ile Gln Met Ile Val His Pro Thr Pro Thr
 130 135 140
 Pro Ile Arg Ala Gly Asp Gly His Arg Leu Thr Leu Glu Asp Ile Phe
 145 150 155 160
 His Asp Leu Phe Tyr His Leu Glu Leu Gln Val Asn Arg Thr Tyr Gln
 165 170 175
 Met His Leu Gly Lys Gln Arg Glu Tyr Glu Phe Phe Gly Leu Thr
 180 185 190
 Pro Asp Thr Glu Phe Leu Gly Thr Ile Met Ile Cys Val Pro Thr Trp
 195 200 205
 Ala Lys Glu Ser Ala Pro Tyr Met Cys Arg Val Lys Thr Leu Pro Asp
 210 215 220
 Arg Thr Trp Thr Tyr Ser Phe Ser Gly Ala Phe Leu Phe Ser Met Gly
 225 230 235 240
 Phe Leu Val Ala Val Leu Cys Tyr Leu Ser Tyr Arg Tyr Val Thr Lys
 245 250 255
 Pro Pro Ala Pro Pro Asn Ser Leu Asn Val Gln Arg Val Leu Thr Phe
 260 265 270
 Gln Pro Leu Arg Phe Ile Gln Glu His Val Leu Ile Pro Val Phe Asp
 275 280 285
 Leu Ser Gly Pro Ser Ser Leu Ala Gln Pro Val Gln Tyr Ser Gln Ile
 290 295 300
 Arg Val Ser Gly Pro Arg Glu Pro Ala Gly Ala Pro Gln Arg His Ser
 305 310 315 320
 Leu Ser Glu Ile Thr Tyr Leu Gly Gln Pro Asp Ile Ser Ile Leu Gln
 325 330 335
 Pro Ser Asn Val Pro Pro Pro Gln Ile Leu Ser Pro Leu Ser Tyr Ala
 340 345 350
 Pro Asn Ala Ala Pro Glu Val Gly Pro Pro Ser Tyr Ala Pro Gln Val
 355 360 365
 Thr Pro Glu Ala Gln Phe Pro Phe Tyr Ala Pro Gln Ala Ile Ser Lys
 370 375 380
 Val Gln Pro Ser Ser Tyr Ala Pro Gln Ala Thr Pro Asp Ser Trp Pro
 385 390 395 400
 Pro Ser Tyr Gly Val Cys Met Glu Gly Ser Gly Lys Asp Ser Pro Thr
 405 410 415
 Gly Thr Leu Ser Ser Pro Lys His Leu Arg Pro Lys Gly Gln Leu Gln
 420 425 430
 Lys Glu Pro Pro Ala Gly Ser Cys Met Leu Gly Gly Leu Ser Leu Gln
 435 440 445
 Glu Val Thr Ser Leu Ala Met Glu Glu Ser Gln Glu Ala Lys Ser Leu
 450 455 460
 His Gln Pro Leu Gly Ile Cys Thr Asp Arg Thr Ser Asp Pro Asn Val
 465 470 475 480
 Leu His Ser Gly Glu Glu Gly Thr Pro Gln Tyr Leu Lys Gly Gln Leu
 485 490 495
 Pro Leu Leu Ser Ser Val Gln Ile Glu Gly His Pro Met Ser Leu Pro
 500 505 510
 Leu Gln Pro Pro Ser Gly Pro Cys Ser Pro Ser Asp Gln Gly Pro Ser
 515 520 525
 Pro Trp Gly Leu Leu Glu Ser Leu Val Cys Pro Lys Asp Glu Ala Lys
 530 535 540
 Ser Pro Ala Pro Glu Thr Ser Asp Leu Glu Gln Pro Thr Glu Leu Asp
 545 550 555 560
 Ser Leu Phe Arg Gly Leu Ala Leu Thr Val Gln Trp Glu Ser
 565 570

<210> 12
 <211> 228
 <212> Белок
 <213> Человек

<400> 12
 Met Arg Thr Leu Leu Thr Ile Leu Thr Val Gly Ser Leu Ala Ala His
 1 5 10 15
 Ala Pro Glu Asp Pro Ser Asp Leu Leu Gln His Val Lys Phe Gln Ser
 20 25 30
 Ser Asn Phe Glu Asn Ile Leu Thr Trp Asp Ser Gly Pro Glu Gly Thr
 35 40 45
 Pro Asp Thr Val Tyr Ser Ile Glu Tyr Lys Thr Tyr Gly Glu Arg Asp
 50 55 60
 Trp Val Ala Lys Lys Gly Cys Gln Arg Ile Thr Arg Lys Ser Cys Asn
 65 70 75 80
 Leu Thr Val Glu Thr Gly Asn Leu Thr Glu Leu Tyr Tyr Ala Arg Val
 85 90 95
 Thr Ala Val Ser Ala Gly Gly Arg Ser Ala Thr Lys Met Thr Asp Arg
 100 105 110
 Phe Ser Ser Leu Gln His Thr Thr Leu Lys Pro Pro Asp Val Thr Cys
 115 120 125
 Ile Ser Lys Val Arg Ser Ile Gln Met Ile Val His Pro Thr Pro Thr
 130 135 140
 Pro Ile Arg Ala Gly Asp Gly His Arg Leu Thr Leu Glu Asp Ile Phe
 145 150 155 160
 His Asp Leu Phe Tyr His Leu Glu Leu Gln Val Asn Arg Thr Tyr Gln
 165 170 175
 Met His Leu Gly Gly Lys Gln Arg Glu Tyr Glu Phe Phe Gly Leu Thr
 180 185 190
 Pro Asp Thr Glu Phe Leu Gly Thr Ile Met Ile Cys Val Pro Thr Trp
 195 200 205
 Ala Lys Glu Ser Ala Pro Tyr Met Cys Arg Val Lys Thr Leu Pro Asp
 210 215 220
 Arg Thr Trp Thr
 225

<210> 13
 <211> 211

<212> Белок
 <213> Человек

<400> 13
 Pro Glu Asp Pro Ser Asp Leu Leu Gln His Val Lys Phe Gln Ser Ser
 1 5 10 15
 Asn Phe Glu Asn Ile Leu Thr Trp Asp Ser Gly Pro Glu Gly Thr Pro
 20 25 30
 Asp Thr Val Tyr Ser Ile Glu Tyr Lys Thr Tyr Gly Glu Arg Asp Trp
 35 40 45
 Val Ala Lys Lys Gly Cys Gln Arg Ile Thr Arg Lys Ser Cys Asn Leu
 50 55 60
 Thr Val Glu Thr Gly Asn Leu Thr Glu Leu Tyr Tyr Ala Arg Val Thr
 65 70 75 80
 Ala Val Ser Ala Gly Gly Arg Ser Ala Thr Lys Met Thr Asp Arg Phe
 85 90 95
 Ser Ser Leu Gln His Thr Thr Leu Lys Pro Pro Asp Val Thr Cys Ile
 100 105 110
 Ser Lys Val Arg Ser Ile Gln Met Ile Val His Pro Thr Pro Thr Pro
 115 120 125
 Ile Arg Ala Gly Asp Gly His Arg Leu Thr Leu Glu Asp Ile Phe His
 130 135 140
 Asp Leu Phe Tyr His Leu Glu Leu Gln Val Asn Arg Thr Tyr Gln Met
 145 150 155 160
 His Leu Gly Gly Lys Gln Arg Glu Tyr Glu Phe Phe Gly Leu Thr Pro
 165 170 175
 Asp Thr Glu Phe Leu Gly Thr Ile Met Ile Cys Val Pro Thr Trp Ala
 180 185 190
 Lys Glu Ser Ala Pro Tyr Met Cys Arg Val Lys Thr Leu Pro Asp Arg
 195 200 205
 Thr Trp Thr
 210

```

<210> 14
<211> 971
<212> ДНК
<213> Человек

<220>
<221> CDS
<222> (18)...(950)

<400> 14
gaattcgagt ctaccaa atg cag act ttc aca atg gtt cta gaa gaa atc      50
                Met Gln Thr Phe Thr Met Val Leu Glu Glu Ile
                1          5          10

tgg aca agt ctt ttc atg tgg ttt ttc tac gca ttg att cca tgt ttg      98
Trp Thr Ser Leu Phe Met Trp Phe Phe Tyr Ala Leu Ile Pro Cys Leu
                15          20          25

ctc aca gat gaa gtg gcc att ctg cct gcc cct cag aac ctc tct gta      146
Leu Thr Asp Glu Val Ala Ile Leu Pro Ala Pro Gln Asn Leu Ser Val
                30          35          40

ctc tca acc aac atg aag cat ctc ttg atg tgg agc cca gtg atc gcg      194
Leu Ser Thr Asn Met Lys His Leu Leu Met Trp Ser Pro Val Ile Ala
                45          50          55

cct gga gaa aca gtg tac tat tct gtc gaa tac cag ggg gag tac gag      242
Pro Gly Glu Thr Val Tyr Tyr Ser Val Glu Tyr Gln Gly Glu Tyr Glu
                60          65          70          75

agc ctg tac acg agc cac atc tgg atc ccc agc agc tgg tgc tca ctc      290
Ser Leu Tyr Thr Ser His Ile Trp Ile Pro Ser Ser Trp Cys Ser Leu
                80          85          90

act gaa ggt cct gag tgt gat gtc act gat gac atc acg gcc act gtg      338
Thr Glu Gly Pro Glu Cys Asp Val Thr Asp Asp Ile Thr Ala Thr Val
                95          100          105

cca tac aac ctt cgt gtc agg gcc aca ttg ggc tca cag acc tca gcc      386
Pro Tyr Asn Leu Arg Val Arg Ala Thr Leu Gly Ser Gln Thr Ser Ala
                110          115          120

tgg agc atc ctg aag cat ccc ttt aat aga aac tca acc atc ctt acc      434
Trp Ser Ile Leu Lys His Pro Phe Asn Arg Asn Ser Thr Ile Leu Thr
                125          130          135

cga cct ggg atg gag atc acc aaa gat ggc ttc cac ctg gtt att gag      482
Arg Pro Gly Met Glu Ile Thr Lys Asp Gly Phe His Leu Val Ile Glu
                140          145          150          155

ctg gag gac ctg ggg ccc cag ttt gag ttc ctt gtg gcc tac tgg agg      530
Leu Glu Asp Leu Gly Pro Gln Phe Glu Phe Leu Val Ala Tyr Trp Arg
                160          165          170

agg gag cct ggt gcc gag gaa cat gtc aaa atg gtg agg agt ggg ggt      578
Arg Glu Pro Gly Ala Glu Glu His Val Lys Met Val Arg Ser Gly Gly
                175          180          185

att cca gtg cac cta gaa acc atg gag cca ggg gct gca tac tgt gtg      626
Ile Pro Val His Leu Glu Thr Met Glu Pro Gly Ala Ala Tyr Cys Val
                190          195          200

aag gcc cag aca ttc gtg aag gcc att ggg agg tac agc gcc ttc agc      674
Lys Ala Gln Thr Phe Val Lys Ala Ile Gly Arg Tyr Ser Ala Phe Ser
                205          210          215

cag aca gaa tgt gtg gag gtg caa gga gag gcc att ccc ctg gta ctg      722
Gln Thr Glu Cys Val Glu Val Gln Gly Glu Ala Ile Pro Leu Val Leu
                220          225          230          235

gcc ctg ttt gcc ttt gtt ggc ttc atg ctg atc ctt gtg gtc gtg cca      770
Ala Leu Phe Ala Phe Val Gly Phe Met Leu Ile Leu Val Val Val Pro
                240          245          250

ctg ttc gtc tgg aaa atg ggc cgg ctg ctc cag tac tcc tgt tgc ccc      818
Leu Phe Val Trp Lys Met Gly Arg Leu Leu Gln Tyr Ser Cys Cys Pro
                255          260          265

gtg gtg gtc ctc cca gac acc ttg aaa ata acc aat tca ccc cag aag      866
Val Val Val Leu Pro Asp Thr Leu Lys Ile Thr Asn Ser Pro Gln Lys
                270          275          280

tta atc agc tgc aga agg gag gag gtg gat gcc tgt gcc acg gct gtg      914
Leu Ile Ser Cys Arg Arg Glu Glu Val Asp Ala Cys Ala Thr Ala Val
                285          290          295

atg tct cct gag gaa ctc ctc agg gcc tgg atc tca taggtttgcg      960
Met Ser Pro Glu Glu Leu Leu Arg Ala Trp Ile Ser
                300          305          310

gaaggctcga g      971

```

<210> 15
 <211> 311
 <212> БЕЛОК
 <213> Человек

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

<210> 16
 <211> 203
 <212> БЕЛОК
 <213> Человек

<400> 16
 Asp Glu Val Ala Ile Leu Pro Ala Pro Gln Asn Leu Ser Val Leu Ser
 1 5 10 15
 Thr Asn Met Lys His Leu Leu Met Trp Ser Pro Val Ile Ala Pro Gly
 20 25 30
 Glu Thr Val Tyr Tyr Ser Val Glu Tyr Gln Gly Glu Tyr Glu Ser Leu
 35 40 45
 Tyr Thr Ser His Ile Trp Ile Pro Ser Ser Trp Cys Ser Leu Thr Glu
 50 55 60
 Gly Pro Glu Cys Asp Val Thr Asp Asp Ile Thr Ala Thr Val Pro Tyr
 65 70 75 80
 Asn Leu Arg Val Arg Ala Thr Leu Gly Ser Gln Thr Ser Ala Trp Ser
 85 90 95
 Ile Leu Lys His Pro Phe Asn Arg Asn Ser Thr Ile Leu Thr Arg Pro
 100 105 110
 Gly Met Glu Ile Thr Lys Asp Gly Phe His Leu Val Ile Glu Leu Glu
 115 120 125
 Asp Leu Gly Pro Gln Phe Glu Phe Leu Val Ala Tyr Trp Arg Arg Glu
 130 135 140
 Pro Gly Ala Glu Glu His Val Lys Met Val Arg Ser Gly Gly Ile Pro
 145 150 155 160
 Val His Leu Glu Thr Met Glu Pro Gly Ala Ala Tyr Cys Val Lys Ala
 165 170 175
 Gln Thr Phe Val Lys Ala Ile Gly Arg Tyr Ser Ala Phe Ser Gln Thr
 180 185 190
 Glu Cys Val Glu Val Gln Gly Glu Ala Ile Pro
 195 200

<210> 17
 <211> 201
 <212> Белок
 <213> Homo sapiens

<400> 17
 Asp Glu Val Ala Ile Leu Pro Ala Pro Gln Asn Leu Ser Val Leu Ser
 1 5 10 15
 Thr Asn Met Lys His Leu Leu Met Trp Ser Pro Val Ile Ala Pro Gly
 20 25 30
 Glu Thr Val Tyr Tyr Ser Val Glu Tyr Gln Gly Glu Tyr Glu Ser Leu
 35 40 45
 Tyr Thr Ser His Ile Trp Ile Pro Ser Ser Trp Cys Ser Leu Thr Glu
 50 55 60
 Gly Pro Glu Cys Asp Val Thr Asp Asp Ile Thr Ala Thr Val Pro Tyr
 65 70 75 80
 Asn Leu Arg Val Arg Ala Thr Leu Gly Ser Gln Thr Ser Ala Trp Ser
 85 90 95
 Ile Leu Lys His Pro Phe Asn Arg Asn Ser Thr Ile Leu Thr Arg Pro
 100 105 110
 Gly Met Glu Ile Thr Lys Asp Gly Phe His Leu Val Ile Glu Leu Glu
 115 120 125
 Asp Leu Gly Pro Gln Phe Glu Phe Leu Val Ala Tyr Trp Arg Arg Glu
 130 135 140
 Pro Gly Ala Glu Glu His Val Lys Met Val Arg Ser Gly Gly Ile Pro
 145 150 155 160
 Val His Leu Glu Thr Met Glu Pro Gly Ala Ala Tyr Cys Val Lys Ala
 165 170 175
 Gln Thr Phe Val Lys Ala Ile Gly Arg Tyr Ser Ala Phe Ser Gln Thr
 180 185 190
 Glu Cys Val Glu Val Gln Gly Glu Ala
 195 200

<210> 18
 <211> 201
 <212> Белок
 <213> Homo sapiens

<400> 18
 Asp Glu Val Ala Ile Leu Pro Ala Pro Gln Asn Leu Ser Val Leu Ser
 1 5 10 15
 Thr Asn Met Lys His Leu Leu Met Trp Ser Pro Val Ile Ala Pro Gly
 20 25 30
 Glu Thr Val Tyr Tyr Ser Val Glu Tyr Gln Gly Glu Tyr Glu Ser Leu
 35 40 45
 Tyr Thr Ser His Ile Trp Ile Pro Ser Ser Trp Cys Ser Leu Thr Glu
 50 55 60
 Gly Pro Glu Cys Asp Val Thr Asp Asp Ile Thr Ala Thr Val Pro Tyr
 65 70 75 80
 Asn Leu Arg Val Arg Ala Thr Leu Gly Ser Gln Thr Ser Ala Trp Ser
 85 90 95
 Ile Leu Lys His Pro Phe Asn Arg Asn Ser Thr Ile Leu Thr Arg Pro
 100 105 110
 Gly Met Glu Ile Pro Lys His Gly Phe His Leu Val Ile Glu Leu Glu
 115 120 125
 Asp Leu Gly Pro Gln Phe Glu Phe Leu Val Ala Tyr Trp Thr Arg Glu
 130 135 140
 Pro Gly Ala Glu Glu His Val Lys Met Val Arg Ser Gly Gly Ile Pro
 145 150 155 160
 Val His Leu Glu Thr Met Glu Pro Gly Ala Ala Tyr Cys Val Lys Ala
 165 170 175
 Gln Thr Phe Val Lys Ala Ile Gly Arg Tyr Ser Ala Phe Ser Gln Thr
 180 185 190
 Glu Cys Val Glu Val Gln Gly Glu Ala
 195 200

<210> 19
 <211> 196
 <212> БЕЛОК
 <213> Homo sapiens

<400> 19
 Leu Pro Ala Pro Gln Asn Leu Ser Val Leu Ser Thr Asn Met Lys His
 1 5 10 15
 Leu Leu Met Trp Ser Pro Val Ile Ala Pro Gly Glu Thr Val Tyr Tyr
 20 25 30
 Ser Val Glu Tyr Gln Gly Glu Tyr Glu Ser Leu Tyr Thr Ser His Ile
 35 40 45
 Trp Ile Pro Ser Ser Trp Cys Ser Leu Thr Glu Gly Pro Glu Cys Asp
 50 55 60
 Val Thr Asp Asp Ile Thr Ala Thr Val Pro Tyr Asn Leu Arg Val Arg
 65 70 75 80
 Ala Thr Leu Gly Ser Gln Thr Ser Ala Trp Ser Ile Leu Lys His Pro
 85 90 95
 Phe Asn Arg Asn Ser Thr Ile Leu Thr Arg Pro Gly Met Glu Ile Thr
 100 105 110
 Lys Asp Gly Phe His Leu Val Ile Glu Leu Glu Asp Leu Gly Pro Gln
 115 120 125
 Phe Glu Phe Leu Val Ala Tyr Trp Arg Arg Glu Pro Gly Ala Glu Glu
 130 135 140
 His Val Lys Met Val Arg Ser Gly Gly Ile Pro Val His Leu Glu Thr
 145 150 155 160
 Met Glu Pro Gly Ala Ala Tyr Cys Val Lys Ala Gln Thr Phe Val Lys
 165 170 175
 Ala Ile Gly Arg Tyr Ser Ala Phe Ser Gln Thr Glu Cys Val Glu Val
 180 185 190
 Gln Gly Glu Ala
 195

<210> 20
 <211> 203
 <212> БЕЛОК
 <213> Homo sapiens

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

<210> 21
 <211> 196
 <212> БЕРНОК
 <213> Homo sapiens

<400> 21
 Leu Pro Ala Pro Gln Asn Leu Ser Val Leu Ser Thr Asn Met Lys His
 1 5 10 15
 Leu Leu Met Trp Ser Pro Val Ile Ala Pro Gly Glu Thr Val Tyr Tyr
 20 25 30
 Ser Val Glu Tyr Gln Gly Glu Tyr Glu Ser Leu Tyr Thr Ser His Ile
 35 40 45
 Trp Ile Pro Ser Ser Trp Cys Ser Leu Thr Glu Gly Pro Glu Cys Asp
 50 55 60
 Val Thr Asp Asp Ile Thr Ala Thr Val Pro Tyr Asn Leu Arg Val Arg
 65 70 75 80
 Ala Thr Leu Gly Ser Gln Thr Ser Ala Trp Ser Ile Leu Lys His Pro
 85 90 95
 Phe Asn Arg Asn Ser Thr Ile Leu Thr Arg Pro Gly Met Glu Ile Pro
 100 105 110
 Lys His Gly Phe His Leu Val Ile Glu Leu Glu Asp Leu Gly Pro Gln
 115 120 125
 Phe Glu Phe Leu Val Ala Tyr Trp Thr Arg Glu Pro Gly Ala Glu Glu
 130 135 140
 His Val Lys Met Val Arg Ser Gly Gly Ile Pro Val His Leu Glu Thr
 145 150 155 160
 Met Glu Pro Gly Ala Ala Tyr Cys Val Lys Ala Gln Thr Phe Val Lys
 165 170 175
 Ala Ile Gly Arg Tyr Ser Ala Phe Ser Gln Thr Glu Cys Val Glu Val
 180 185 190
 Gln Gly Glu Ala
 195
 <210> 22
 <211> 1382

<212> ДНК
 <213> Homo sapiens

<220>
 <221> CDS
 <222> (132)...(1034)

```

<400> 22
tcgacccacg cgcccgcgct gcgactcaga cctcagctcc aacatatgca ttctgaagaa      60
agatggctga gatggacaga atgctttatt ttggaaagaa acaatgttct aggtcaaact      120
gagtctacca a atg cag act ttc aca atg gtt cta gaa gaa atc tgg aca      170
              Met Gln Thr Phe Thr Met Val Leu Glu Glu Ile Trp Thr
              1              5              10

agt ctt ttc atg tgg ttt ttc tac gca ttg att cca tgt ttg ctc aca      218
Ser Leu Phe Met Trp Phe Phe Tyr Ala Leu Ile Pro Cys Leu Leu Thr
  15              20              25

gat gaa gtg gcc att ctg cct gcc cct cag aac ctc tct gta ctc tca      266
Asp Glu Val Ala Ile Leu Pro Ala Pro Gln Asn Leu Ser Val Leu Ser
  30              35              40              45

acc aac atg aag cat ctc ttg atg tgg agc cca gtg atc gcg cct gga      314
Thr Asn Met Lys His Leu Leu Met Trp Ser Pro Val Ile Ala Pro Gly
              50              55              60

gaa aca gtg tac tat tct gtc gaa tac cag ggg gag tac gag agc ctg      362
Glu Thr Val Tyr Tyr Ser Val Glu Tyr Gln Gly Glu Tyr Glu Ser Leu
              65              70              75

tac acg agc cac atc tgg atc ccc agc agc tgg tgc tca ctc act gaa      410
Tyr Thr Ser His Ile Trp Ile Pro Ser Ser Trp Cys Ser Leu Thr Glu
              80              85              90

ggc cct gag tgt gat gtc act gat gac atc acg gcc act gtg cca tac      458
Gly Pro Glu Cys Asp Val Thr Asp Asp Ile Thr Ala Thr Val Pro Tyr
              95              100              105

aac ctt cgt gtc agg gcc aca ttg ggc tca cag acc tca gcc tgg agc      506
Asn Leu Arg Val Arg Ala Thr Leu Gly Ser Gln Thr Ser Ala Trp Ser
  110              115              120              125

atc ctg aag cat ccc ttt aat aga aac tca acc atc ctt acc cga cct      554
Ile Leu Lys His Pro Phe Asn Arg Asn Ser Thr Ile Leu Thr Arg Pro
              130              135              140

ggg atg gag atc ccc aaa cat ggc ttc cac ctg gtt att gag ctg gag      602
Gly Met Glu Ile Pro Lys His Gly Phe His Leu Val Ile Glu Leu Glu
              145              150              155

gac ctg ggg ccc cag ttt gag ttc ctt gtg gcc tac tgg acg agg gag      650
Asp Leu Gly Pro Gln Phe Glu Phe Leu Val Ala Tyr Trp Thr Arg Glu
              160              165              170

cct ggt gcc gag gaa cat gtc aaa atg gtg agg agt ggg ggt att cca      698
Pro Gly Ala Glu Glu His Val Lys Met Val Arg Ser Gly Gly Ile Pro
              175              180              185

gtg cac cta gaa acc atg gag cca ggg gct gca tac tgt gtg aag gcc      746
Val His Leu Glu Thr Met Glu Pro Gly Ala Ala Tyr Cys Val Lys Ala
  190              195              200              205

```

```

cag aca ttc gtg aag gcc att ggg agg tac agc gcc ttc agc cag aca      794
Gln Thr Phe Val Lys Ala Ile Gly Arg Tyr Ser Ala Phe Ser Gln Thr
                210                      215                      220

gaa tgt gtg gag gtg caa gga gag gcc att ccc ctg gta ctg gcc ctg      842
Glu Cys Val Glu Val Gln Gly Glu Ala Ile Pro Leu Val Leu Ala Leu
                225                      230                      235

ttt gcc ttt gtt ggc ttc atg ctg atc ctt gtg gtc gtg cca ctg ttc      890
Phe Ala Phe Val Gly Phe Met Leu Ile Leu Val Val Pro Leu Phe
                240                      245                      250

gtc tgg aaa atg ggc cgg ctg ctc cag tac tcc tgt tgc ccc gtg gtg      938
Val Trp Lys Met Gly Arg Leu Leu Gln Tyr Ser Cys Cys Pro Val Val
                255                      260                      265

gtc ctc cca gac acc ttg aaa ata acc aat tca ccc cag gtt aat cag      986
Val Leu Pro Asp Thr Leu Lys Ile Thr Asn Ser Pro Gln Val Asn Gln
                270                      275                      280                      285

ctg cag aag gga gga ggt gga tgc ctg tgc cac ggc tgt gat gtc tcc      1034
Leu Gln Lys Gly Gly Gly Cys Leu Cys His Gly Cys Asp Val Ser
                290                      295                      300

tgaggaaactc ctcaggccct ggatctcata tcaggtttgc ggaagggcc aggtgaagcc      1094
gagaacctgg tctgcatgac atggaaacca tgaggggaca agtttgtgtt ctgttttccg      1154
ccacggacaa gggatgagag aagtaggaag agcctgttgt ctacaagtct agaagcaacc      1214
atcagaggca ggggtgtttg tctaacagaa caactgactg aggctatggg ggttgtgacc      1274
tctagacttt gggcttccac ttgcttggtc gagcaaccct gggaaaagtg acttcatccc      1334
ttcggtccca agttttctca tctgtaatgg gggatcccta caaaactg      1382

```

<210> 23

<211> 301

<212> Белок

<213> Homo sapiens

<400> 23

```

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

```

```

<210> 24
<211> 1764
<212> ДНК
<213> Homo sapiens

<220>
<221> CDS
<222> (34)...(1752)

<400> 24
tagaggccaa gggagggctc tgtgccagcc ccg atg agg acg ctg ctg acc atc      54
                        Met Arg Thr Leu Leu Thr Ile
                        1                      5

ttg act gtg gga tcc ctg gct gct cac gcc cct gag gac ccc tcg gat      102
Leu Thr Val Gly Ser Leu Ala Ala His Ala Pro Glu Asp Pro Ser Asp
                        10                      15                      20

ctg ctc cag cac gtg aaa ttc cag tcc agc aac ttt gaa aac atc ctg      150
Leu Leu Gln His Val Lys Phe Gln Ser Ser Asn Phe Glu Asn Ile Leu
                        25                      30                      35

acg tgg gac agc ggg cca gag ggc acc cca gac acg gtc tac agc atc      198
Thr Trp Asp Ser Gly Pro Glu Gly Thr Pro Asp Thr Val Tyr Ser Ile
                        40                      45                      50                      55

gag tat aag acg tac gga gag agg gac tgg gtg gca aag aag ggc tgt      246
Glu Tyr Lys Thr Tyr Gly Glu Arg Asp Trp Val Ala Lys Lys Gly Cys
                        60                      65                      70

cag cgg atc acc cgg aag tcc tgc aac ctg acg gtg gag acg ggc aac      294
Gln Arg Ile Thr Arg Lys Ser Cys Asn Leu Thr Val Glu Thr Gly Asn
                        75                      80                      85

ctc acg gag ctc tac tat gcc agg gtc acc gct gtc agt gcg gga ggc      342
Leu Thr Glu Leu Tyr Tyr Ala Arg Val Thr Ala Val Ser Ala Gly Gly
                        90                      95                      100

cgg tca gcc acc aag atg act gac agg ttc agc tct ctg cag cac act      390
Arg Ser Ala Thr Lys Met Thr Asp Arg Phe Ser Ser Leu Gln His Thr
                        105                      110                      115

acc ctc aag cca cct gat gtg acc tgt atc tcc aaa gtg aga tcg att      438
Thr Leu Lys Pro Pro Asp Val Thr Cys Ile Ser Lys Val Arg Ser Ile
                        120                      125                      130                      135

cag atg att gtt cat cct acc ccc acg cca atc cgt gca ggc gat ggc      486
Gln Met Ile Val His Pro Thr Pro Thr Pro Ile Arg Ala Gly Asp Gly

```

140	145	150	
cac cgg cta acc ctg gaa gac atc ttc cat gac ctg ttc tac cac tta His Arg Leu Thr Leu Glu Asp Ile Phe His Asp Leu Phe Tyr His Leu 155 160 165			534
gag ctc cag gtc aac cgc acc tac caa atg cac ctt gga ggg aag cag Glu Leu Gln Val Asn Arg Thr Tyr Gln Met His Leu Gly Gly Lys Gln 170 175 180			582
aga gaa tat gag ttc ttc ggc ctg acc cct gac aca gag ttc ctt ggc Arg Glu Tyr Glu Phe Phe Gly Leu Thr Pro Asp Thr Glu Phe Leu Gly 185 190 195			630
acc atc atg att tgc gtt ccc acc tgg gcc aag gag agt gcc ccc tac Thr Ile Met Ile Cys Val Pro Thr Trp Ala Lys Glu Ser Ala Pro Tyr 200 205 210 215			678
atg tgc cga gtg aag aca ctg cca gac cgg aca tgg acc ggt gga ggc Met Cys Arg Val Lys Thr Leu Pro Asp Arg Thr Trp Thr Gly Gly 220 225 230			726
ggt tca ggc gga ggt ggc tct ggc ggt ggc gga tgc gcc tcc acc aag Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Ala Ser Thr Lys 235 240 245			774
ggc cca tgc gtc ttc ccc ctg gca ccc tcc tcc aag agc acc tct ggg Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly 250 255 260			822
ggc aca gcg gcc ctg ggc tgc ctg gtc aag gac tac ttc ccc gaa ccg Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro 265 270 275			870
gtg acg gtg tgc tgg aac tca ggc gcc ctg acc agc ggc gtg cac acc Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr 280 285 290 295			918
ttc ccg gct gtc cta cag tcc tca gga ctc tac tcc ctc agc agc gtg Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val 300 305 310			966
gtg acc gtg ccc tcc agc agc ttg ggc acc cag acc tac atc tgc aac Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn 315 320 325			1014
gtg aat cac aag ccc agc aac acc aag gtg gac aag aaa gtt gag ccc Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro 330 335 340			1062
aaa tct tgt gac aaa act cac aca tgc cca ccg tgc cca gca cct gaa Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu 345 350 355			1110
gcc gag ggg gca ccg tca gtc ttc ctc ttc ccc cca aaa ccc aag gac Ala Glu Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp 360 365 370 375			1158
acc ctc atg atc tcc cgg acc cct gag gtc aca tgc gtg gtg gtg gac Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp 380 385 390			1206

```

gtg agc cac gaa gac cct gag gtc aag ttc aac tgg tac gtg gac ggc 1254
Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
395 400 405

gtg gag gtg cat aat gcc aag aca aag ccg cgg gag gag cag tac aac 1302
Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn
410 415 420

agc acg tac cgt gtg gtc agc gtc ctc acc gtc ctg cac cag gac tgg 1350
Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp
425 430 435

ctg aat ggc aag gag tac aag tgc aag gtc tcc aac aaa gcc ctc cca 1398
Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro
440 445 450 455

tcc tcc atc gag aaa acc atc tcc aaa gcc aaa ggg cag ccc cga gaa 1446
Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu
460 465 470

cca cag gtg tac acc ctg ccc cca tcc cgg gat gag ctg acc aag aac 1494
Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn
475 480 485

cag gtc agc ctg acc tgc ctg gtc aaa ggc ttc tat ccc agc gac atc 1542
Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
490 495 500

gcc gtg gag tgg gag agc aat ggg cag ccg gag aac aac tac aag acc 1590
Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
505 510 515

acg cct ccc gtg ctg gac tcc gac ggc tcc ttc ttc ctc tac agc aag 1638
Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
520 525 530 535

ctc acc gtg gac aag agc agg tgg cag cag ggg aac gtc ttc tca tgc 1686
Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
540 545 550

tcc gtg atg cat gag gct ctg cac aac cac tac acg cag aag agc ctc 1734
Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
555 560 565

tcc ctg tct ccg ggt aaa taatctagat ct 1764
Ser Leu Ser Pro Gly Lys
570

```

<210> 25

<211> 573

<212> БЕЛОК

<213> Homo sapiens

<400> 25

```

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

```

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

<210> 26
 <211> 556
 <212> БЕЛОК
 <213> Homo sapiens

<400> 26
 Pro Glu Asp Pro Ser Asp Leu Leu Gln His Val Lys Phe Gln Ser Ser
 1 5 10 15
 Asn Phe Glu Asn Ile Leu Thr Trp Asp Ser Gly Pro Glu Gly Thr Pro
 20 25 30
 Asp Thr Val Tyr Ser Ile Glu Tyr Lys Thr Tyr Gly Glu Arg Asp Trp
 35 40 45
 Val Ala Lys Lys Gly Cys Gln Arg Ile Thr Arg Lys Ser Cys Asn Leu
 50 55 60
 Thr Val Glu Thr Gly Asn Leu Thr Glu Leu Tyr Tyr Ala Arg Val Thr
 65 70 75 80
 Ala Val Ser Ala Gly Gly Arg Ser Ala Thr Lys Met Thr Asp Arg Phe
 85 90 95
 Ser Ser Leu Gln His Thr Thr Leu Lys Pro Pro Asp Val Thr Cys Ile
 100 105 110
 Ser Lys Val Arg Ser Ile Gln Met Ile Val His Pro Thr Pro Thr Pro
 115 120 125
 Ile Arg Ala Gly Asp Gly His Arg Leu Thr Leu Glu Asp Ile Phe His
 130 135 140
 Asp Leu Phe Tyr His Leu Glu Leu Gln Val Asn Arg Thr Tyr Gln Met
 145 150 155 160
 His Leu Gly Gly Lys Gln Arg Glu Tyr Glu Phe Phe Gly Leu Thr Pro
 165 170 175
 Asp Thr Glu Phe Leu Gly Thr Ile Met Ile Cys Val Pro Thr Trp Ala
 180 185 190
 Lys Glu Ser Ala Pro Tyr Met Cys Arg Val Lys Thr Leu Pro Asp Arg
 195 200 205
 Thr Trp Thr Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
 210 215 220
 Gly Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser
 225 230 235 240
 Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys
 245 250 255
 Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu
 260 265 270
 Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu
 275 280 285
 Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr
 290 295 300
 Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val
 305 310 315 320
 Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro
 325 330 335
 Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Glu Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu Phe
 340 345 350
 Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val
 355 360 365
 Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe
 370 375 380
 Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro
 385 390 395 400
 Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr
 405 410 415
 Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val
 420 425 430
 Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala
 435 440 445
 Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg
 450 455 460
 Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly
 465 470 475 480
 Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro
 485 490 495
 Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser
 500 505 510
 Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln
 515 520 525
 Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His
 530 535 540
 Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 545 550 555

```

<210> 27
<211> 1081
<212> ДНК
<213> Homo sapiens

<220>
<221> CDS
<222> (9)... (1067)

<400> 27
ggccggcc atg cag act ttc aca atg gtt cta gaa gaa atc tgg aca agt      50
      Met Gln Thr Phe Thr Met Val Leu Glu Glu Ile Trp Thr Ser
           1                    5                    10

ctt ttc atg tgg ttt ttc tac gca ttg att cca tgt ttg ctc aca gat      98
Leu Phe Met Trp Phe Phe Tyr Ala Leu Ile Pro Cys Leu Leu Thr Asp
   15                    20                    25                    30

gaa gtg gcc att ctg cct gcc cct cag aac ctc tct gta ctc tca acc      146
Glu Val Ala Ile Leu Pro Ala Pro Gln Asn Leu Ser Val Leu Ser Thr
           35                    40                    45

aac atg aag cat ctc ttg atg tgg agc cca gtg atc gcg cct gga gaa      194
Asn Met Lys His Leu Leu Met Trp Ser Pro Val Ile Ala Pro Gly Glu
           50                    55                    60

aca gtg tac tat tct gtc gaa tac cag ggg gag tac gag agc ctg tac      242
Thr Val Tyr Tyr Ser Val Glu Tyr Gln Gly Glu Tyr Glu Ser Leu Tyr
           65                    70                    75

acg agc cac atc tgg atc ccc agc agc tgg tgc tca ctc act gaa ggt      290
Thr Ser His Ile Trp Ile Pro Ser Ser Trp Cys Ser Leu Thr Glu Gly
           80                    85                    90

cct gag tgt gat gtc act gat gac atc acg gcc act gtg cca tac aac      338
Pro Glu Cys Asp Val Thr Asp Asp Ile Thr Ala Thr Val Pro Tyr Asn
           95                    100                    105                    110

ctt cgt gtc agg gcc aca ttg ggc tca cag acc tca gcc tgg agc atc      386
Leu Arg Val Arg Ala Thr Leu Gly Ser Gln Thr Ser Ala Trp Ser Ile
           115                    120                    125

ctg aag cat ccc ttt aat aga aac tca acc atc ctt acc cga cct ggg      434

```

Leu	Lys	His	Pro	Phe	Asn	Arg	Asn	Ser	Thr	Ile	Leu	Thr	Arg	Pro	Gly		
			130					135					140				
atg	gag	atc	ccc	aaa	cat	ggc	ttc	cac	ctg	gtt	att	gag	ctg	gag	gac	482	
Met	Glu	Ile	Pro	Lys	His	Gly	Phe	His	Leu	Val	Ile	Glu	Leu	Glu	Asp		
			145					150				155					
ctg	ggg	ccc	cag	ttt	gag	ttc	ctt	gtg	gcc	tac	tgg	acg	agg	gag	cct	530	
Leu	Gly	Pro	Gln	Phe	Glu	Phe	Leu	Val	Ala	Tyr	Trp	Thr	Arg	Glu	Pro		
			160					165				170					
ggg	gcc	gag	gaa	cat	gtc	aaa	atg	gtg	agg	agt	ggg	ggg	att	cca	gtg	578	
Gly	Ala	Glu	Glu	His	Val	Lys	Met	Val	Arg	Ser	Gly	Gly	Ile	Pro	Val		
																190	
cac	cta	gaa	acc	atg	gag	cca	ggg	gct	gca	tac	tgt	gtg	aag	gcc	cag	626	
His	Leu	Glu	Thr			Pro	Gly	Ala	Ala	Tyr	Cys	Val	Lys	Ala	Gln		
																205	
aca	ttc	gtg	aag	gcc	att	ggg	agg	tac	agc	gcc	ttc	agc	cag	aca	gaa	674	
Thr	Phe	Val	Lys	Ala	Ile	Gly	Arg	Tyr	Ser	Ala	Phe	Ser	Gln	Thr	Glu		
																220	
tgt	gtg	gag	gtg	caa	gga	gag	gcc	gga	ggg	ggg	ggc	agt	gga	ggc	ggc	722	
Cys	Val	Glu	Val	Gln	Gly	Glu	Ala	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly		
																235	
ggg	agc	gga	ggc	ggg	ggc	agt	cga	act	gtg	gct	gca	cca	tct	gtc	ttc	770	
Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Arg	Thr	Val	Ala	Ala	Pro	Ser	Val	Phe		
																250	
atc	ttc	ccg	cca	tct	gat	gag	cag	ttg	aaa	tct	gga	act	gcc	tct	gtt	818	
Ile	Phe	Pro	Pro	Ser	Asp	Glu	Gln	Leu	Lys	Ser	Gly	Thr	Ala	Ser	Val		
																270	
gtg	tgc	ctg	ctg	aat	aac	ttc	tat	ccc	aga	gag	gcc	aaa	gta	cag	tgg	866	
Val	Cys	Leu	Leu	Asn	Asn	Phe	Tyr	Pro	Arg	Glu	Ala	Lys	Val	Gln	Trp		
																285	
aag	gtg	gat	aac	gcc	ctc	caa	tcg	ggg	aac	tcc	cag	gag	agt	gtc	aca	914	
Lys	Val	Asp	Asn	Ala	Leu	Gln	Ser	Gly	Asn	Ser	Gln	Glu	Ser	Val	Thr		
																300	
gag	cag	gac	agc	aag	gac	agc	acc	tac	agc	ctc	agc	agc	acc	ctg	acg	962	
Glu	Gln	Asp	Ser	Lys	Asp	Ser	Thr	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Thr	Leu	Thr		
																315	
ctg	agc	aaa	gca	gac	tac	gag	aaa	cac	aaa	gtc	tac	gcc	tgc	gaa	gtc	1010	
Leu	Ser	Lys	Ala	Asp	Tyr	Glu	Lys	His	Lys	Val	Tyr	Ala	Cys	Glu	Val		
																330	
acc	cat	cag	ggc	ctg	agc	tcg	ccc	gtc	aca	aag	agc	ttc	aac	agg	gga	1058	
Thr	His	Gln	Gly	Leu	Ser	Ser	Pro	Val	Thr	Lys	Ser	Phe	Asn	Arg	Gly		
																350	
gag	tgt	taa	tctagaggcg	cgcc												1081	
Glu	Cys	*															

<210> 28
<211> 352

<212> Белок
<213> Homo sapiens

<400> 28
Met Gln Thr Phe Thr Met Val Leu Glu Glu Ile Trp Thr Ser Leu Phe
1 5 10 15
Met Trp Phe Phe Tyr Ala Leu Ile Pro Cys Leu Leu Thr Asp Glu Val
20 25 30
Ala Ile Leu Pro Ala Pro Gln Asn Leu Ser Val Leu Ser Thr Asn Met
35 40 45
Lys His Leu Leu Met Trp Ser Pro Val Ile Ala Pro Gly Glu Thr Val
50 55 60
Tyr Tyr Ser Val Glu Tyr Gln Gly Glu Tyr Glu Ser Leu Tyr Thr Ser
65 70 75 80
His Ile Trp Ile Pro Ser Ser Trp Cys Ser Leu Thr Glu Gly Pro Glu
85 90 95
Cys Asp Val Thr Asp Asp Ile Thr Ala Thr Val Pro Tyr Asn Leu Arg
100 105 110
Val Arg Ala Thr Leu Gly Ser Gln Thr Ser Ala Trp Ser Ile Leu Lys
115 120 125
His Pro Phe Asn Arg Asn Ser Thr Ile Leu Thr Arg Pro Gly Met Glu
130 135 140
Ile Pro Lys His Gly Phe His Leu Val Ile Glu Leu Glu Asp Leu Gly
145 150 155 160
Pro Gln Phe Glu Phe Leu Val Ala Tyr Trp Thr Arg Glu Pro Gly Ala
165 170 175
Glu Glu His Val Lys Met Val Arg Ser Gly Gly Ile Pro Val His Leu
180 185 190
Glu Thr Met Glu Pro Gly Ala Ala Tyr Cys Val Lys Ala Gln Thr Phe
195 200 205
Val Lys Ala Ile Gly Arg Tyr Ser Ala Phe Ser Gln Thr Glu Cys Val
210 215 220
Glu Val Gln Gly Glu Ala Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
225 230 235 240
Gly Gly Gly Gly Ser Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe
245 250 255
Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys
260 265 270
Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val
275 280 285
Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln
290 295 300
Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser
305 310 315 320
Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His
325 330 335
Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
340 345 350

<210> 29
<211> 323
<212> Белок
<213> Homo sapiens

<400> 29
Asp Glu Val Ala Ile Leu Pro Ala Pro Gln Asn Leu Ser Val Leu Ser
1 5 10 15
Thr Asn Met Lys His Leu Leu Met Trp Ser Pro Val Ile Ala Pro Gly
20 25 30
Glu Thr Val Tyr Tyr Ser Val Glu Tyr Gln Gly Glu Tyr Glu Ser Leu
35 40 45
Tyr Thr Ser His Ile Trp Ile Pro Ser Ser Trp Cys Ser Leu Thr Glu

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

<210> 30

<211> 1714

<212> ДНК

<213> Homo sapiens

<220>

<221> CDS

<222> (34)...(1707)

<400> 30

tagaggccaa gggagggctc tgtgccagcc ccg atg agg acg ctg ctg acc atc	54
Met Arg Thr Leu Leu Thr Ile	
1 5	
ttg act gtg gga tcc ctg gct gct cac gcc cct gag gac ccc tcg gat	102
Leu Thr Val Gly Ser Leu Ala Ala His Ala Pro Glu Asp Pro Ser Asp	
10 15 20	
ctg ctc cag cac gtg aaa ttc cag tcc agc aac ttt gaa aac atc ctg	150
Leu Leu Gln His Val Lys Phe Gln Ser Ser Asn Phe Glu Asn Ile Leu	
25 30 35	
acg tgg gac agc ggg cca gag ggc acc cca gac acg gtc tac agc atc	198
Thr Trp Asp Ser Gly Pro Glu Gly Thr Pro Asp Thr Val Tyr Ser Ile	
40 45 50 55	

gag tat aag acg tac gga gag agg gac tgg gtg gca aag aag ggc tgt	246
Glu Tyr Lys Thr Tyr Gly Glu Arg Asp Trp Val Ala Lys Lys Gly Cys	
60 65 70	
cag cgg atc acc cgg aag tcc tgc aac ctg acg gtg gag acg ggc aac	294
Gln Arg Ile Thr Arg Lys Ser Cys Asn Leu Thr Val Glu Thr Gly Asn	
75 80 85	
ctc acg gag ctc tac tat gcc agg gtc acc gct gtc agt gcg gga ggc	342
Leu Thr Glu Leu Tyr Tyr Ala Arg Val Thr Ala Val Ser Ala Gly Gly	
90 95 100	
cgg tca gcc acc aag atg act gac agg ttc agc tct ctg cag cac act	390
Arg Ser Ala Thr Lys Met Thr Asp Arg Phe Ser Ser Leu Gln His Thr	
105 110 115	
acc ctc aag cca cct gat gtg acc tgt atc tcc aaa gtg aga tcg att	438
Thr Leu Lys Pro Pro Asp Val Thr Cys Ile Ser Lys Val Arg Ser Ile	
120 125 130 135	
cag atg att gtt cat cct acc ccc acg cca atc cgt gca ggc gat ggc	486
Gln Met Ile Val His Pro Thr Pro Thr Pro Ile Arg Ala Gly Asp Gly	
140 145 150	
cac cgg cta acc ctg gaa gac atc ttc cat gac ctg ttc tac cac tta	534
His Arg Leu Thr Leu Glu Asp Ile Phe His Asp Leu Phe Tyr His Leu	
155 160 165	
gag ctc cag gtc aac cgc acc tac caa atg cac ctt gga ggg aag cag	582
Glu Leu Gln Val Asn Arg Thr Tyr Gln Met His Leu Gly Gly Lys Gln	
170 175 180	
aga gaa tat gag ttc ttc ggc ctg acc cct gac aca gag ttc ctt ggc	630
Arg Glu Tyr Glu Phe Phe Gly Leu Thr Pro Asp Thr Glu Phe Leu Gly	
185 190 195	
acc atc atg att tgc gtt ccc acc tgg gcc aag gag agt gcc ccc tac	678
Thr Ile Met Ile Cys Val Pro Thr Trp Ala Lys Glu Ser Ala Pro Tyr	
200 205 210 215	
atg tgc cga gtg aag aca ctg cca gac cgg aca tgg acc gct agc acc	726
Met Cys Arg Val Lys Thr Leu Pro Asp Arg Thr Trp Thr Ala Ser Thr	
220 225 230	
aag ggc cca tcg gtc ttc ccc ctg gca ccc tcc tcc aag agc acc tct	774
Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser	
235 240 245	
ggg ggc aca gcg gcc ctg ggc tgc ctg gtc aag gac tac ttc ccc gaa	822
Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu	
250 255 260	
cgg gtg acg gtg tcg tgg aac tca ggc gcc ctg acc agc ggc gtg cac	870
Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His	
265 270 275	
acc ttc ccg gct gtc cta cag tcc tca gga ctc tac tcc ctc agc agc	918
Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser	
280 285 290 295	
gtg gtg acc gtg ccc tcc agc agc ttg ggc acc cag acc tac atc tgc	966
Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys	

	300	305	310	
	aac gtg aat cac aag ccc agc aac acc aag gtg gac aag aaa gtt gag			1014
	Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu			
	315	320	325	
	ccc aaa tct tgt gac aaa act cac aca tgc cca ccg tgc cca gca cct			1062
	Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro			
	330	335	340	
	gaa ctc ctg ggg gga ccg tca gtc ttc ctc ttc ccc cca aaa ccc aag			1110
	Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys			
	345	350	355	
	gac acc ctc atg atc tcc cgg acc cct gag gtc aca tgc gtg gtg gtg			1158
	Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val			
	360	365	370	
	gac gtg agc cac gaa gac cct gag gtc aag ttc aac tgg tac gtg gac			1206
	Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp			
	380	385	390	
	ggc gtg gag gtg cat aat gcc aag aca aag ccg cgg gag gag cag tac			1254
	Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr			
	395	400	405	
	aac agc acg tac cgt gtg gtc agc gtc ctc acc gtc ctg cac cag gac			1302
	Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp			
	410	415	420	
	tgg ctg aat ggc aag gag tac aag tgc aag gtc tcc aac aaa gcc ctc			1350
	Trp Leu Thr Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu			
	425	430	435	
	cca gcc ccc atc gag aaa acc atc tcc aaa gcc aaa ggg cag ccc cga			1398
	Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg			
	440	445	450	
	gaa cca cag gtg tac acc ctg ccc cca tcc cgg gat gag ctg acc aag			1446
	Glu Pro Gln Val Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys			
	460	465	470	
	aac cag gtc agc ctg acc tgc ctg gtc aaa ggc ttc tat ccc agc gac			1494
	Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp			
	475	480	485	
	atc gcc gtg gag tgg gag agc aat ggg cag ccg gag aac aac tac aag			1542
	Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys			
	490	495	500	
	acc acg cct ccc gtg ctg gac tcc gac ggc tcc ttc ttc ctc tac agc			1590
	Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser			
	505	510	515	
	aag ctc acc gtg gac aag agc agg tgg cag cag ggg aac gtc ttc tca			1638
	Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser			
	520	525	530	
	tgc tcc gtg atg cat gag gct ctg cac aac cac tac acg cag aag agc			1686
	Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser			
	540	545	550	
	ctc tcc ctg tct ccg ggt aaa tgacgcg			1714
	Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys			
	555			

<210> 31
 <211> 558
 <212> БЕРНОК
 <213> Homo sapiens

<400> 31
 Met Arg Thr Leu Leu Thr Ile Leu Thr Val Gly Ser Leu Ala Ala His
 1 5 10 15
 Ala Pro Glu Asp Pro Ser Asp Leu Leu Gln His Val Lys Phe Gln Ser
 20 25 30
 Ser Asn Phe Glu Asn Ile Leu Thr Trp Asp Ser Gly Pro Glu Gly Thr
 35 40 45
 Pro Asp Thr Val Tyr Ser Ile Glu Tyr Lys Thr Tyr Gly Glu Arg Asp
 50 55 60
 Trp Val Ala Lys Lys Gly Cys Gln Arg Ile Thr Arg Lys Ser Cys Asn
 65 70 75 80
 Leu Thr Val Glu Thr Gly Asn Leu Thr Glu Leu Tyr Tyr Ala Arg Val
 85 90 95
 Thr Ala Val Ser Ala Gly Gly Arg Ser Ala Thr Lys Met Thr Asp Arg
 100 105 110
 Phe Ser Ser Leu Gln His Thr Thr Leu Lys Pro Pro Asp Val Thr Cys
 115 120 125
 Ile Ser Lys Val Arg Ser Ile Gln Met Ile Val His Pro Thr Pro Thr
 130 135 140
 Pro Ile Arg Ala Gly Asp Gly His Arg Leu Thr Leu Glu Asp Ile Phe
 145 150 155 160
 His Asp Leu Phe Tyr His Leu Glu Leu Gln Val Asn Arg Thr Tyr Gln
 165 170 175
 Met His Leu Gly Gly Lys Gln Arg Glu Tyr Glu Phe Phe Gly Leu Thr
 180 185 190
 Pro Asp Thr Glu Phe Leu Gly Thr Ile Met Ile Cys Val Pro Thr Trp
 195 200 205
 Ala Lys Glu Ser Ala Pro Tyr Met Cys Arg Val Lys Thr Leu Pro Asp
 210 215 220
 Arg Thr Trp Thr Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala
 225 230 235 240
 Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu
 245 250 255
 Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly
 260 265 270
 Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser
 275 280 285
 Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu
 290 295 300
 Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr
 305 310 315 320
 Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr
 325 330 335
 Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe
 340 345 350
 Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
 355 360 365
 Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val
 370 375 380
 Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
 385 390 395 400
 Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val

```

          405          410          415
Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
          420          425          430
Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser
          435          440          445
Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
          450          455          460
Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val
465          470          475          480
Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
          485          490          495
Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
          500          505          510
Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
          515          520          525
Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
530          535          540          545
Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
545          550          555

```

```

<210> 32
<211> 541
<212> Бѐлок
<213> Homo sapiens

```

```

          <400> 32
Pro Glu Asp Pro Ser Asp Leu Leu Gln His Val Lys Phe Gln Ser Ser
1          5          10          15
Asn Phe Glu Asn Ile Leu Thr Trp Asp Ser Gly Pro Glu Gly Thr Pro
          20          25          30
Asp Thr Val Tyr Ser Ile Glu Tyr Lys Thr Tyr Gly Glu Arg Asp Trp
          35          40          45
Val Ala Lys Lys Gly Cys Gln Arg Ile Thr Arg Lys Ser Cys Asn Leu
          50          55          60
Thr Val Glu Thr Gly Asn Leu Thr Glu Leu Tyr Tyr Ala Arg Val Thr
65          70          75          80
Ala Val Ser Ala Gly Gly Arg Ser Ala Thr Lys Met Thr Asp Arg Phe
          85          90          95
Ser Ser Leu Gln His Thr Thr Leu Lys Pro Pro Asp Val Thr Cys Ile
          100          105          110
Ser Lys Val Arg Ser Ile Gln Met Ile Val His Pro Thr Pro Thr Pro
          115          120          125
Ile Arg Ala Gly Asp Gly His Arg Leu Thr Leu Glu Asp Ile Phe His
130          135          140          145
Asp Leu Phe Tyr His Leu Glu Leu Gln Val Asn Arg Thr Tyr Gln Met
145          150          155          160
His Leu Gly Gly Lys Gln Arg Glu Tyr Glu Phe Phe Gly Leu Thr Pro
          165          170          175
Asp Thr Glu Phe Leu Gly Thr Ile Met Ile Cys Val Pro Thr Trp Ala
          180          185          190
Lys Glu Ser Ala Pro Tyr Met Cys Arg Val Lys Thr Leu Pro Asp Arg
          195          200          205
Thr Trp Thr Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro
210          215          220          225
Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val
225          230          235          240
Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala
          245          250          255
Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly
          260          265          270
Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly
275          280          285

```

Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys
 290 295 300
 Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys
 305 310 315 320
 Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu
 325 330 335
 Phe Pro Pro Lys Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
 340 345 350
 Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys
 355 360 365
 Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
 370 375 380
 Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu
 385 390 395 400
 Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys
 405 410 415
 Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
 420 425 430
 Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser
 435 440 445
 Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys
 450 455 460
 Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
 465 470 475 480
 Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly
 485 490 495
 Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
 500 505 510
 Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
 515 520 525
 His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 530 535 540

<210> 33

<211> 1011

<212> ДНК

<213> Homo sapiens

<220>

<221> CDS

<222> (1) ... (1008)

<400> 33

atg cag act ttc aca atg gtt cta gaa gaa atc tgg aca agt ctt ttc	48
Met Gln Thr Phe Thr Met Val Leu Glu Glu Ile Trp Thr Ser Leu Phe	
1 5 10 15	
atg tgg ttt ttc tac gca ttg att cca tgt ttg ctc aca gat gaa gtg	96
Met Trp Phe Phe Tyr Ala Leu Ile Pro Cys Leu Leu Thr Asp Glu Val	
20 25 30	
gcc att ctg cct gcc cct cag aac ctc tct gta ctc tca acc aac atg	144
Ala Ile Leu Pro Ala Pro Gln Asn Leu Ser Val Leu Ser Thr Asn Met	
35 40 45	
aag cat ctc ttg atg tgg agc cca gtg atc gcg cct gga gaa aca gtg	192
Lys His Leu Leu Met Trp Ser Pro Val Ile Ala Pro Gly Glu Thr Val	
50 55 60	
tac tat tct gtc gaa tac cag ggg gag tac gag agc ctg tac acg agc	240
Tyr Tyr Ser Val Glu Tyr Gln Gly Glu Tyr Glu Ser Leu Tyr Thr Ser	
65 70 75 80	

cac atc tgg atc ccc agc agc tgg tgc tca ctc act gaa ggt cct gag	288
His Ile Trp Ile Pro Ser Ser Trp Cys Ser Leu Thr Glu Gly Pro Glu	
85 90 95	
tgt gat gtc act gat gac atc acg gcc act gtg cca tac aac ctt cgt	336
Cys Asp Val Thr Asp Asp Ile Thr Val Pro Tyr Asn Leu Arg	
100 105 110	
gtc agg gcc aca ttg ggc tca cag acc tca gcc tgg agc atc ctg aag	384
Val Arg Ala Thr Leu Gly Ser Gln Thr Ser Ala Trp Ser Ile Leu Lys	
115 120 125	
cat ccc ttt aat aga aac tca acc atc ctt acc cga cct ggg atg gag	432
His Pro Phe Asn Arg Asn Ser Thr Ile Leu Thr Arg Pro Gly Met Glu	
130 135 140	
atc acc aaa gat ggc ttc cac ctg gtt att gag ctg gag gac ctg ggg	480
Ile Thr Lys Asp Gly Phe His Leu Val Ile Glu Leu Glu Asp Leu Gly	
145 150 155 160	
ccc cag ttt gag ttc ctt gtg gcc tac tgg agg agg gag cct ggt gcc	528
Pro Gln Phe Glu Phe Leu Val Ala Tyr Trp Arg Arg Glu Pro Gly Ala	
165 170 175	
gag gaa cat gtc aaa atg gtg agg agt ggg ggt att cca gtg cac cta	576
Glu Glu His Val Lys Met Val Arg Ser Gly Gly Ile Pro Val His Leu	
180 185 190	
gaa acc atg gag cca ggg gct gca tac tgt gtg aag gcc cag aca ttc	624
Glu Thr Met Glu Pro Gly Ala Ala Tyr Cys Val Lys Ala Gln Thr Phe	
195 200 205	
gtg aag gcc att ggg agg tac agc gcc ttc agc cag aca gaa tgt gtg	672
Val Lys Ala Ile Gly Arg Tyr Ser Ala Phe Ser Gln Thr Glu Cys Val	
210 215 220	
gag gtg caa gga gag gcc act gtg gct gca cca tct gtc ttc atc ttc	720
Glu Val Gln Gly Glu Ala Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe	
225 230 235 240	
ccg cca tct gat gag cag ttg aaa tct ggt acc gcc tct gtt gtg tgc	768
Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys	
245 250 255	
ctg ctg aat aac ttc tat ccc aga gag gcc aaa gta cag tgg aag gtg	816
Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val	
260 265 270	
gat aac gcc ctc caa tcg ggt aac tcc cag gag agt gtc aca gag cag	864
Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln	
275 280 285	
gac agc aag gac agc acc tac agc ctc agc agc acc ctg acg ctg agc	912
Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser	
290 295 300	
aaa gca gac tac gag aaa cac aaa gtc tac gcc tgc gaa gtc acc cat	960
Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His	
305 310 315 320	
cag ggc ctg agc tcg ccc gtc aca aag agc ttc aac agg gga gag tgt	1008
Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys	
325 330 335	
tag	1011

<210> 34
 <211> 336
 <212> БЕЛОК
 <213> Homo sapiens

<400> 34
 Met Gln Thr Phe Thr Met Val Leu Glu Glu Ile Trp Thr Ser Leu Phe
 1 5 10 15
 Met Trp Phe Phe Tyr Ala Leu Ile Pro Cys Leu Leu Thr Asp Glu Val
 20 25 30
 Ala Ile Leu Pro Ala Pro Gln Asn Leu Ser Val Leu Ser Thr Asn Met
 35 40 45
 Lys His Leu Leu Met Trp Ser Pro Val Ile Ala Pro Gly Glu Thr Val
 50 55 60
 Tyr Tyr Ser Val Glu Tyr Gln Gly Glu Tyr Glu Ser Leu Tyr Thr Ser
 65 70 75 80
 His Ile Trp Ile Pro Ser Ser Trp Cys Ser Leu Thr Glu Gly Pro Glu
 85 90 95
 Cys Asp Val Thr Asp Asp Ile Thr Ala Thr Val Pro Tyr Asn Leu Arg
 100 105 110
 Val Arg Ala Thr Leu Gly Ser Gln Thr Ser Ala Trp Ser Ile Leu Lys
 115 120 125
 His Pro Phe Asn Arg Asn Ser Thr Ile Leu Thr Arg Pro Gly Met Glu
 130 135 140
 Ile Thr Lys Asp Gly Phe His Leu Val Ile Glu Leu Glu Asp Leu Gly
 145 150 155 160
 Pro Gln Phe Glu Phe Leu Val Ala Tyr Trp Arg Arg Glu Pro Gly Ala
 165 170 175
 Glu Glu His Val Lys Met Val Arg Ser Gly Gly Ile Pro Val His Leu
 180 185 190
 Glu Thr Met Glu Pro Gly Ala Ala Tyr Cys Val Lys Ala Gln Thr Phe
 195 200 205
 Val Lys Ala Ile Gly Arg Tyr Ser Ala Phe Ser Gln Thr Glu Cys Val
 210 215 220
 Glu Val Gln Gly Glu Ala Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe
 225 230 235 240
 Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys
 245 250 255
 Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val
 260 265 270
 Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln
 275 280 285
 Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser
 290 295 300
 Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His
 305 310 315 320
 Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 325 330 335

<210> 35
 <211> 307
 <212> Белок
 <213> Homo sapiens

<400> 35
 Asp Glu Val Ala Ile Leu Pro Ala Pro Gln Asn Leu Ser Val Leu Ser
 1 5 10 15
 Thr Asn Met Lys His Leu Leu Met Trp Ser Pro Val Ile Ala Pro Gly
 20 25 30
 Glu Thr Val Tyr Tyr Ser Val Glu Tyr Gln Gly Glu Tyr Glu Ser Leu
 35 40 45
 Tyr Thr Ser His Ile Trp Ile Pro Ser Ser Trp Cys Ser Leu Thr Glu
 50 55 60
 Gly Pro Glu Cys Asp Val Thr Asp Asp Ile Thr Ala Thr Val Pro Tyr
 65 70 75 80
 Asn Leu Arg Val Arg Ala Thr Leu Gly Ser Gln Thr Ser Ala Trp Ser
 85 90 95
 Ile Leu Lys His Pro Phe Asn Arg Asn Ser Thr Ile Leu Thr Arg Pro
 100 105 110
 Gly Met Glu Ile Thr Lys Asp Gly Phe His Leu Val Ile Glu Leu Glu
 115 120 125
 Asp Leu Gly Pro Gln Phe Glu Phe Leu Val Ala Tyr Trp Arg Arg Glu
 130 135 140
 Pro Gly Ala Glu Glu His Val Lys Met Val Arg Ser Gly Gly Ile Pro
 145 150 155 160
 Val His Leu Glu Thr Met Glu Pro Gly Ala Tyr Cys Val Lys Ala
 165 170 175
 Gln Thr Phe Val Lys Ala Ile Gly Arg Tyr Ser Ala Phe Ser Gln Thr
 180 185 190
 Glu Cys Val Glu Val Gln Gly Glu Ala Thr Val Ala Ala Pro Ser Val
 195 200 205
 Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser
 210 215 220
 Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln
 225 230 235 240
 Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val
 245 250 255
 Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu
 260 265 270
 Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu
 275 280 285
 Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg
 290 295 300
 Gly Glu Cys
 305
 <210> 36
 <211> 15
 <212> Белок
 <213> Homo sapiens

<400> 36
 Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
 1 5 10 15
 <210> 37
 <211> 32
 <212> ДНК
 <213> Homo sapiens

<400> 37
 cgctcgagcc ttccgcaaac ctatgagatc ca 32
 <210> 38
 <211> 33
 <212> ДНК
 <213> Homo sapiens

<400> 38
 gcgaattcga gtctacaaaa tgcagacttt cac 33
 <210> 39
 <211> 18
 <212> ДНК
 <213> Mouse

<400> 39
 cgccgcgttc ccgagatg 18
 <210> 40
 <211> 24
 <212> ДНК
 <213> mouse

<400> 40
 ggatgaggca gggctgacaa agtt

