

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(21) 201690884 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2016.11.30

(51) Int. Cl. *A61K 48/00* (2006.01)
C12N 9/12 (2006.01)
C12N 15/62 (2006.01)

(22) Дата подачи заявки
2014.10.28

(54) КОДИРУЮЩАЯ ТЕЛОМЕРАЗУ ДНК-ВАКЦИНА

(31) 13190547.3

(32) 2013.10.28

(33) EP

(86) PCT/EP2014/073164

(87) WO 2015/063117 2015.05.07

(71) Заявитель:
ИНВЕКТИС (FR)

(72) Изобретатель:
Ланглад Демуайен Пьер, Уэйн-Хобсон
Симон, Юэ Тьерри, Лиар Кристель,
Плике Элоди (FR)

(74) Представитель:
Бадаева Т.Н., Фелицына С.Б. (RU)

(57) Изобретением предусмотрены нуклеино-во-кислотные конструкции, содержащие последовательность, кодирующую белок обратной транскриптазы теломеразы человека (hTERT), который лишен каталитической активности теломеразы и сигнала ядрышковой локализации. Конструкции применимы для запуска иммунного ответа у субъекта против клеток, гиперэкспрессирующих теломеразы, предпочтительно диспластических клеток или опухолевых клеток.

A1

201690884

201690884

A1

КОДИРУЮЩАЯ ТЕЛОМЕРАЗУ ДНК-ВАКЦИНА

Область техники, к которой относится изобретение

Настоящее изобретение относится к области вакцинации против опухолей. Более конкретно, изобретением предусмотрены нуклеиновокислотные конструкции, кодирующие неактивную энзиматическую форму белка обратной транскриптазы теломеразы человека.

Уровень техники

Стимуляция опухолеспецифичных Т-клеточных реакций при активной иммунотерапии имеет ряд теоретических преимуществ перед другими формами лечения рака. Для того чтобы получить клиническую отдачу, иммунотерапия на основе Т-клеток должна стимулировать ответы реагирующих на опухоли Т-клеток CD8 и Т-клеток CD4, которые распознают опухолеспецифичные антигены. Поэтому все больше внимания уделялось идентификации эпитопов МНС класса I и II у множества ассоциированных с опухолью антигенов (ТАА) (Cheever et al., 2009). Однако гетерогенная экспрессия большинства изученных опухолевых антигенов среди различных видов рака ограничивает широкое применение вакцин против рака, нацеленных на такие антигены. В течение нескольких последних лет, в качестве первого поистине общего опухолевого антигена появилась обратная транскриптаза теломеразы человека (hTERT), которая активно исследовалась в качестве универсальной мишени для иммунотерапии рака. Обратная транскриптаза теломеразы человека (hTERT) является каталитической субъединицей фермента теломеразы, который синтезирует ДНК теломеров на концах хромосом. hTERT гиперэкспрессируется в большинстве опухолей человека (>85%) и практически при всех видах рака. Кроме того, активация теломеразы оказалась одним из наиболее важных механизмов избегания у опухолей, который позволяет им обойти зависимые от теломеразы пути клеточной смерти. Хорошо установлено, что терапевтические стратегии, направленные на антигены, не задействованные в росте опухолей, могут привести к отбору потерявших антиген опухолевых мутантов, которые клинически прогрессируют. Следовательно, понижающая регуляция или потеря активности теломеразы будет серьезно влиять на потенциал роста опухолевых клеток. Более того, теломераза сравнительно специфична к раковым клеткам, так как нормальные клетки организма почти или совсем не экспрессируют теломеразу на протяжении большей части своей жизни и обычно имеют более длинные теломеры, чем в опухолевых клетках. Все эти

результаты оправдывают клиническое применения hTERT для противораковой иммунотерапии.

Пептидная вакцинация, которая широко применяется в ряде испытаний вакцин против рака, является наиболее продвинутой стратегией в отношении антигена hTERT. Однако на оптимальный исход такой стратегии вакцин на основе пептидов могут повлиять несколько факторов, таких как (1) рестрикция лейкоцитарных антигенов человека (HLA), (2) естественный процессинг пептидов в опухолевых клетках, (3) потеря презентации антигена на опухолевых клетках, (4) функциональность антиген-специфичных Т-клеток и (5) долгосрочная сохранность иммунных ответов у хозяина после вакцинации.

Реакция памяти, вырабатываемая с помощью пептидных вакцин и особенно коротких пептидов, очень коротка и не является постоянной. Эти субоптимальные результаты могут частично объясняться отсутствием содействия со стороны Т-клеток CD4. Кроме того, период полураспада комплекса МНС/вакцинный пептид на презентующих клетках составляет лишь несколько часов, после чего пептиды исчезают. При этом дендритные клетки уже больше не презентуют пептиды лимфоцитам, то есть становятся толерогенными. Этот дефект в презентации пептидов может в некоторых случаях приносить вред (Rosenberg et al., 2004).

Сущность изобретения

Авторы изобретения теперь разработали такую стратегию ДНК-вакцины, которая не проявляет недостатков пептидной (даже использующей длинные пептиды) вакцинации, приуроченной к определенным эпитопам hTERT. В частности, ДНК-вакцинация позволяет избежать дорогостоящих и сложных процедур получения и очистки белка. Кроме того, ДНК-вакцина, кодирующая белок hTERT, дает возможность индуцировать хелперные Т-клетки и CTL, и CD4, независимо от HLA-рестрикции у пациента, и в то же время она безопасна и вызывает количественно и качественно лучший иммунный ответ.

Изобретением предусмотрены нуклеиновокислотные конструкции, содержащие последовательность, кодирующую белок обратной транскриптазы теломеразы человека (hTERT), который лишен каталитической активности теломеразы и сигнала ядрышковой локализации.

В предпочтительном воплощении белок hTERT может быть слит по N-концу с таким белком, повышающим адресацию белка hTERT на протеасомы, как убиквитин.

Нуклеиновокислотные конструкции по изобретению применимы для запуска иммунного ответа у субъекта, предпочтительно клеточного иммунного ответа, против

клеток, гиперэкспрессирующих теломеразы, предпочтительно диспластических клеток или опухолевых клеток, а также клеток, инфицированных онковирусами.

При этом описан способ профилактики или лечения опухолей у пациентов, который включает введение данных конструкций из нуклеиновой кислоты нуждающимся в этом пациентам.

Такое лечение может именоваться активной иммунотерапией или терапевтической вакцинацией, так как оно запускает иммунный ответ против опухоли, в особенности ответ цитотоксических Т-клеток CD8, вместе со специфической реакцией Т-клеток CD4.

Широкий клеточный иммунитет возникает потому, что репертуары Т-клеток и CD4, и CD8 стимулируются эпитопами, доступными на hTERT. Количество Т-клеток CD4 и CD8, направленных против многих эпитопов hTERT, больше, чем при пептидной вакцинации. В дополнение к индукции Т-клеток CD4, улучшается выработка интерлейкинов, особенно цитокинов Th1, что способствует оптимальному росту и дифференцировке Т-клеток CD8 с отличительными признаками противораковых клеток.

В другом аспекте изобретения предусмотрены конструкции из нуклеиновых кислот, содержащие последовательности, происходящие из обратной транскриптазы теломеразы человека (hTERT), причем данные последовательности, происходящие из hTERT:

- i) кодируют все или практически все эпитопы hTERT, в любом порядке, и
- ii) кодируют белок, лишенный каталитической активности теломеразы и сигнала ядрышковой локализации.

Так, авторы изобретения убедились, что такие конструкции из нуклеиновых кислот, которые также обозначаются здесь как конструкции с “перетасованной” теломеразой, также запускают специфичные к hTERT иммунные ответы *in vivo*, особенно ответы цитотоксических Т-клеток CD8.

Краткое описание фигур

Фиг. 1А. Карта плазмиды INVAC-1

Расположение (нуклеотиды)	Последовательность	Источник
1-3478	вектор NTC8685-eRNA41H-HindIII-XbaI	NTC
3479-3484	сайт клонирования по HindIII: A.AGCTT	NTC/Invectys
3485-6967	транскрипт Ubi-hTERT	Invectys
6968-6973	сайт клонирования по XbaI: T.CTAGA	Invectys/NTC
6974-7120	вектор NTC8685-eRNA41H-HindIII-XbaI	NTC

Характеристики вектора:

eRNA11a агониста RIG-I: 7-532

терминатор прокариот trpA: 535-564

РНК_I аденовируса VA серотипа 5 (VA1): 568-761

удлиненный ориджин репликации, содержащий сайт сборки примосом (PAS-BH): 771-1055

ориджин репликации pUC: 1056-2070

маркер для отбора на сахарозе (RNA-OUT): 2087-2231

энхансер SV40: 2232-2451

энхансер CMV: 2452-2897

промотор CMV: 2898-3017

нетранслируемый лидер (экзон 1): 3018-3204

HTLV-1 R: 3089-3314

синтетический 3'-интрон на основе β -глобина кролика: 3323-3429

экзон 2 (сайты связывания белка SR по Kozak): 3430-3478

трансген Ubi-hTERT, включающий сайты клонирования по HindIII-XbaI (Invectys): 3479-6973

терминатор эукариот: 6980-7114.

Фиг. 1В. Гель для проверки INVAC-1

Экспрессирующий вектор INVAC-1 проверяли путем рестрикционного картирования. Профиль соответствует ожидаемой рестрикционной карте:

дорожка 1: маркер длин Ladder 1 т.п.о. .

дорожка 2: нерасщепленный INVAC-1

дорожка 3: INVAC-1, расщепленный BglII/NotI (полосы в 3496, 3262, 220, 142 п.н.)

дорожка 4: INVAC-1, расщепленный NcoI (полосы в 4084, 3036 п.н.)

дорожка 5: INVAC-1, расщепленный HindIII/XbaI (полосы в 3631, 3489 п.н.)

Фиг. 2А. hTERT, INVAC-1 и производные INVAC-1

Схема выравнивания между hTERT дикого типа и модифицированными белками Ubi-hTERT, кодируемыми INVAC-1 и производными INVAC-1: pUTD10Not (сокращенно Δ 10Not), pUTD10Cog (сокращенно Δ 10Cog) и pUTD23Tyn (сокращенно Δ 23).

Характеристики последовательностей:

VDD: делеция аминокислот 867-869 в каталитическом сайте

DGLLLRL (SEQ ID NO: 19): дополнительная делеция аминокислот 860-867; перед делецией VDD

FLLVTPH (SEQ ID NO: 20): дополнительная делеция аминокислот 869-876; после

делеции VDD

IRR: дополнительная делеция аминокислот 857-859; перед делецией DGLLLRLVDD (SEQ ID NO: 21)

LTH: дополнительная делеция аминокислот 877-879; после делеции VDDFLLVTPH (SEQ ID NO: 22)

Ubi: последовательность убиквитина человека (аминокислоты 1-76)

V5: С-концевой тег V5 для удобного выявления белка.

Фиг. 2В. Гель для проверки производных INVAC-1

Экспрессирующие векторы pUTD10Not, pUTD10Cog и pUTD23Tyn (производные INVAC-1) проверяли путем рестрикционного картирования. Профили соответствуют ожидаемым рестрикционным картам:

дорожка М: маркер длин Ladder 1 т.п.о. дорожка 1: pUTD10Cog (полосы в 5348, 3585 п.н.)

дорожка 2: pUTD10Not (полосы в 5348, 3585 п.н.)

дорожка 3: pUTD23Tyn (полосы в 5348, 3546 п.н.)

Фиг. 3. Экспрессия hTERT дикого типа, INVAC-1 и производных INVAC-1 *in vitro* в различных клеточных линиях при оценке методом вестерн-блот

Конструкции с hTERT дикого типа (pTRIP-CMV-hTERT), пустым вектором (pNTC8685-eRNA41H, каркас INVAC-1 без чужеродной кодирующей последовательности), INVAC-1 и производными INVAC-1 (pUTD10Not/ Δ 10Not, pUTD10Cog/ Δ 10Cog и pUTD23Tyn/ Δ 23) трансфецировали в клетки HEK293Т (А, С). В клетки CrFK трансфецировали конструкции с hTERT дикого типа, пустым вектором pNTC8685-eRNA41H и INVAC-1 (В).

Экспрессию белка отслеживали в течение 18-96 ч после трансфекции в клетках HEK293Т (А, С) и в течение 24-72 ч в клетках CrFK (В).

Время сбора клеток указано над каждой дорожкой. На дорожки наносили по 15 мкг общего белка из клеточных лизатов для мембран А, В, С (hTERT, INVAC-1) и 20 мкг общего белка лизатов для мембран С (Δ 10Not, Δ 10Cog, Δ 23). hTERT выявляли с помощью моноклонального антитела кролика против hTERT (hTERT, INVAC-1) или против тега V5 (Δ 10Not, Δ 10Cog, Δ 23). В качестве контроля на нанесение использовали белок β -актина, который выявляли с помощью моноклонального антитела мыши против β -актина. Выявление белков hTERT из клеток CrFK (В) и белков производных INVAC-1 из клеток HEK293Т (С) требовало более длительного времени экспозиции.

Фиг. 4. Внутриклеточная локализация hTERT и конструкций INVAC-1 в различных линиях клеток при оценке методом иммунофлуоресценции

Конструкции с hTERT дикого типа (pTRIP-CMV-hTERT), пустым вектором (pNTC8685-eRNA41H, каркас INVAC-1 без чужеродной кодирующей последовательности) и INVAC-1 трансфецировали в клетки HEK293T (A) или CrFK (D) в течение 24 часов и в клетки HeLa (B) или QT6 (C) в течение 24 ч и 48 ч.

Для иммунофлуоресцентного окрашивания клетки обрабатывали моноклональным антителом кролика против hTERT и вторичным козым антителом против кролика с Alexa Fluor 488® (зеленый). Ядра окрашивали с помощью DAPI (синий). Необработанные клетки окрашивали только DAPI. Клетки анализировали методом флуоресцентной микроскопии ($\times 63$).

Фиг. 5. Теломеразная активность hTERT, INVAC-1 и производных INVAC-1 при оценке методом TRAP

Клетки CrFK трансфецировали конструкциями с hTERT дикого типа (pTRIP-CMV-hTERT), INVAC-1 и производными INVAC-1. Через 24 часа клетки собирали, экстрагировали общие клеточные белки и определяли теломеразную активность (обратную транскриптазу) по методу протокола амплификации теломерных повторов (TRAP). Представлены значения поглощения (OD при 450/690 нм) и относительной теломеразной активности (RTA; соотношение образец/положительный контроль) у конструкций с INVAC-1 (A, B) и производными INVAC-1 (C, D) по сравнению с hTERT дикого типа и необработанными клетками CrFK ($n = 3$ для образцов с общей концентрацией белка 2,1 мкг), ** $p = 0,0016$, *** $p < 0,0001$, непарный t-критерий.

Никакой теломеразной активности не обнаруживалось в клетках CrFK, трансфецированных INVAC-1 и производными INVAC-1.

Фиг. 6. Влияние электропорации для индуцирования значительных уровней hTERT-специфичных Т-клеток CD8, секретирующих интерферон- γ после интрадермального (ID) введения INVAC-1

Самок 7-недельных мышей C57BL/6 иммунизировали ID (2-8 мышей на группу) с помощью 100 мкг INVAC-1 или $1 \times \text{PBS}$. У половины животных непосредственно после иммунизации проводили электропорацию по каждому месту вакцинации. Через 14 дней после вакцинации у всех мышей извлекали селезенки. Выделяли спленоциты на фиколле и стимулировали их для анализа ELISpot на IFN- γ в трех повторах пулом из 2 пептидов hTERT, приуроченных к H2^b МНС (p429, p660), в течение 19 часов. Пятна проявляли с помощью конъюгированного с биотином детектирующего антитела с последующим раствором стрептавидина-AP и субстрата BCIP/NBT. Результаты представлены в виде средней частоты hTERT-специфичных Т-клеток CD8, секретирующих IFN γ , на 200 000 спленоцитов. Анализ по Крускал-Уоллису с критерием Данна для множественных

сравнений: * $p < 0,05$. EP = электропорация.

Фиг. 7. Оценка различных способов введения INVAC-1 для вакцинации с последующей электропорацией для индуцирования hTERT-специфичных Т-клеток CD8, секретирующих интерферон- γ

Трансгенных 7-10-недельных мышей HLA-B7 иммунизировали (А) интрадермально (ID) или подкожно (SC) (по 3-8 мышей на группу) и (В) интрадермально (ID) или внутримышечно (IM) (по 4-5 мышей на группу) с помощью 25 мкг INVAC-1 или 1×PBS. Всех животных непосредственно после иммунизации подвергали электропорации по каждому месту вакцинации. Через 14 дней после вакцинации у всех мышей извлекали селезенки (А) или брали периферическую кровь (В). Выделяли спленоциты или PBMCs на фиколле и стимулировали их для анализа ELISpot на IFN- γ в трех повторах пулом из 3 пептидов hTERT, приуроченных к HLA-B7 МНС (p351, p1123 и p277), в течение 19 часов. Пятна проявляли с помощью конъюгированного с биотином детектирующего антитела с последующим раствором стрептавидина-AP и субстрата BCIP/NBT. Результаты представлены в виде средней частоты hTERT-специфичных Т-клеток CD8, секретирующих IFN γ , на 200 000 спленоцитов или PBMCs. Непараметрический тест Манна-Уитни: * $p < 0,05$. Пунктирная линия произвольно установлена на уровне 10 hTERT-специфичных Т-клеток CD8, секретирующих IFN γ , на 200 000 спленоцитов в качестве порога отсека, позволяющего определять восприимчивых животных.

Фиг. 8. Влияние дозы вакцины на реакцию hTERT-специфичных Т-клеток CD8 после однократной иммунизации INVAC-1 и электропорации

Самок 7-недельных мышей C57BL/6 иммунизировали ID с помощью (А) 12,5, 25, 50 или 100 мкг INVAC-1 или 1×PBS (4-6 мышей на группу) либо (В) 100, 200, 400, 800 или 1200 мкг INVAC-1 или 1×PBS (3-5 мышей на группу). Непосредственно после иммунизации проводили электропорацию по каждому месту вакцинации. Через 14 дней после вакцинации у всех мышей извлекали селезенки. Выделяли спленоциты на фиколле и стимулировали их для анализа ELISpot на IFN- γ в трех повторах пулом из 2 пептидов hTERT, приуроченных к H2^b МНС (p429, p660), в течение 19 часов. Пятна проявляли с помощью конъюгированного с биотином детектирующего антитела с последующим раствором стрептавидина-AP и субстрата BCIP/NBT. Результаты представлены в виде средней частоты hTERT-специфичных Т-клеток CD8, секретирующих IFN γ , на 200 000 спленоцитов. Анализ Крускал-Уоллис с критерием Данна для множественных сравнений: * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$. Пунктирная линия произвольно установлена на уровне 10 пятен на 200 000 спленоцитов, чтобы определять восприимчивых животных.

Фиг. 9. Влияние вакцинации в режиме прайм-буст с помощью INVAC-1 на hTERT-специфичные Т-клетки CD8, секретирующие интерферон- γ

Трансгенных 7-10-недельных мышей HLA-B7 иммунизировали интрадермально (ID) (по 5 мышей на группу) с помощью 25 мкг INVAC-1. Всех животных сразу после иммунизации подвергали электропорации по каждому месту вакцинации. Через 21 день мыши получали повторную (буст) инъекцию по такой же процедуре. Брали периферическую кровь перед первой иммунизацией, через 7, 15 и 21 день после первой (прайм) и через 9, 16 и 22 дня после повторной (буст) вакцинации.

Выделяли PBMCs на фиколле и стимулировали их для анализа ELISpot на IFN- γ в трех повторах пулом из 3 пептидов hTERT, приуроченных к HLA-B7 МНС (p351, p1123 и p277), в течение 19 часов. Пятна проявляли с помощью конъюгированного с биотином детектирующего антитела с последующим раствором стрептавидина-AP и субстрата BCIP/NBT. Результаты представлены в виде средней частоты hTERT-специфичных Т-клеток CD8, секретирующих IFN γ , на 200 000 PBMCs. Непараметрический тест Манна-Уитни: * $p < 0,05$. Пунктирная линия произвольно установлена на уровне 10 пятен на 200 000 PBMCs, чтобы определять восприимчивых животных.

Фиг. 10. Оценка ID-вакцинации (однократная иммунизация против режима прайм-буст) с помощью INVAC-1, $\Delta 10\text{Not}$, $\Delta 10\text{Cog}$ или $\Delta 23$ с последующей электропорацией для индуцирования hTERT-специфичных Т-клеток CD8, секретирующих интерферон- γ

А) Самок 7-недельных мышей C57BL/6 иммунизировали ID (по 4 мыши на группу) с помощью 100 мкг INVAC-1, $\Delta 10\text{Not}$, $\Delta 10\text{Cog}$ или $\Delta 23$ либо $1 \times \text{PBS}$. Непосредственно после иммунизации проводили электропорацию по каждому месту вакцинации. Через 21 день после первой вакцинации половина мышей получала повторную (буст) инъекцию по такой же процедуре. Через 14 или через 10 дней после последней иммунизации, соответственно, извлекали селезенки у животных, получавших однократные инъекции или же в режиме прайм-буст. Выделяли спленоциты на фиколле и стимулировали их для анализа ELISpot на IFN- γ в трех повторах пулом из 2 пептидов hTERT, приуроченных к H2^b МНС (p429, p660), в течение 19 часов. Пятна проявляли с помощью конъюгированного с биотином детектирующего антитела с последующим раствором стрептавидина-AP и субстрата BCIP/NBT. Результаты представлены в виде средней частоты hTERT-специфичных Т-клеток CD8, секретирующих IFN γ , на 200 000 спленоцитов для животных, получавших однократную инъекцию (прайм, черные точки) либо в режиме прайм-буст (PB, белые точки). Непараметрический тест Манна-Уитни: * $p < 0,05$. Порог отсечения произвольно установлен на уровне 10 hTERT-специфичных Т-

клеток CD8, секретирующих IFN γ , на 200 000 спленоцитов (пунктирная линия), чтобы определять восприимчивых животных. PB = после буста.

В) Трансгенных 7-10-недельных мышей HLA-B7 иммунизировали интрадермально (ID) (по 5 мышей на группу) с помощью 100 мкг INVAC-1, Δ 10Not, Δ 10Cog или Δ 23 либо 1 $\times$ PBS. Всех животных сразу после иммунизации подвергали электропорации по каждому месту вакцинации. Через 21 день после первой вакцинации мыши получали повторную (буст) инъекцию по такой же процедуре. Выделяли спленоциты на фиколле и стимулировали их для анализа ELISpot на IFN- γ в трех повторах пулом из 3 пептидов hTERT, приуроченных к HLA-B7 МНС (p351, p1123 и p277), в течение 19 часов. Пятна проявляли с помощью конъюгированного с биотином детектирующего антитела с последующим раствором стрептавидина-AP и субстрата BCIP/NBT. Результаты представлены в виде средней частоты hTERT-специфичных Т-клеток CD8, секретирующих IFN γ , на 200 000 спленоцитов или PBLs. Непараметрический тест Манна-Уитни: * $p < 0,05$. Порог отсеечения произвольно установлен на уровне 10 пятен на 200 000 спленоцитов с тем, чтобы определять частоту восприимчивых животных (пунктирная линия).

Фиг. 11. Широта реакции hTERT-специфичных Т-клеток после ID иммунизации с последующей электропорацией: сравнение между конструкциями INVAC-1, pNTC-hTERT и pNTC-hTERT- Δ VDD

Трансгенных 7-13-недельных мышей HLA-B7 иммунизировали интрадермально (ID) (по 6 мышей на группу) с помощью 25 мкг INVAC-1, hTERT Δ VDD (pNTC-hTERT- Δ VDD), hTERT (pNTC-hTERT) или пустого вектора NTC (pNTC8685-eRNA41H). Сразу после иммунизации 48 животных подвергали электропорации по каждому месту вакцинации. Через 21 день после первой вакцинации половина животных получала повторную (буст) инъекцию по такой же процедуре. Через 14 или через 10 дней после последней иммунизации, соответственно, извлекали селезенки у животных, получавших однократные инъекции или же в режиме прайм-буст.

Выделяли спленоциты на фиколле и стимулировали их для анализа ELISpot на IFN- γ в трех повторах комплектом из 269 очищенных пептидов hTERT (чистота > 70%, GenScript), разделенным на 27 пулов по 9-10 перекрывающихся пептидов hTERT (15-мерные пептиды с перекрыванием по 11 аминокислотам) при стимуляции в течение ночи (19 часов). Пятна проявляли с помощью конъюгированного с биотином детектирующего антитела с последующим раствором стрептавидина-AP и субстрата BCIP/NBT.

Для каждой мыши рассчитывали среднее число пятен по трем повторам и согласно условиям стимуляции (среда или пул пептидов). Затем вычисляли частоту (F) hTERT-

специфичных Т-клеток после вычитания среднего числа пятен в стимулированных средней лунках из среднего числа пятен в стимулированных пулом пептидов лунках. Отрицательные значения принимали за 0 для последующих анализов.

Такой анализ проводили по животным, получавшим однократную (А) вакцинацию или в режиме прайм-буст (В). (А и В) Для каждой вакцинированной группы (INVAC-1, hTERTΔVDD, hTERT, NTC) рассчитывали среднюю ($n = 6$) частоту (F) специфичных к теломеразе Т-клеток, секретирующих $IFN\gamma$, на 200 000 спленоцитов по каждому условию стимуляции, получая по одному значению для каждого из 27 пулов.

(С) Общая сумма средних частот (F) специфичных к теломеразе Т-клеток по 27 пулам (269 очищенных пептидов) после вакцинации с помощью INVAC-1, hTERTΔVDD, hTERT или NTC. Статистический анализ проводили с помощью программного обеспечения Prism 5, используя непараметрический критерий Крускал-Уоллис с поправкой Данна. Значения $p < 0,05$ считались статистически значимыми.

Фиг. 12. Потенциал ID-вакцинации с помощью INVAC-1 и электропорации для получения специфичных цитотоксических Т-клеток CD8 и Т-клеток Th1-CD4

А) Трансгенных 7-10-недельных мышей HLA-B7 иммунизировали интрадермально (ID) (по 5 мышей на группу) с помощью 25 мкг INVAC-1 или 1×PBS. Всех животных сразу после иммунизации подвергали электропорации по каждому месту вакцинации. Через 14 дней после инъекции сингенные спленоциты, обработанные индивидуальными пептидами hTERT, приуроченными к HLA-B7 МНС (p351 либо p1123), или же оставшиеся необработанными, метили сукцинимидиловым эфиром карбоксифлуоресцеин-диацетата (CFSE) в трех различных концентрациях: высокой = 1 мкМ (621), средней = 0,5 мкМ (987) и низкой = 0,1 мкМ (необработанные). Вакцинированным мышам вводили в/в одинаковое количество сильно, средне или слабо меченных CFSE клеток. Через 15-18 часов определяли исчезновение обработанных пептидами клеток в селезенке методом проточной цитометрии. Рассчитывали степень специфического лизиса, сравнивая соотношение обработанных и необработанных клеток у вакцинированных в сравнении с контрольными мышами. Данные представлены в виде процента специфического лизиса для каждой мыши по каждому пептиду в селезенке после вакцинации INVAC-1. Горизонтальными столбиками представлен средний процент лизиса по каждому пептиду и каждому способу иммунизации. Также представлены стандартные отклонения ($n = 10$ индивидуальных животных на группу). Статистический анализ проводили с помощью программного обеспечения Prism 5, используя непараметрический критерий Крускал-Уоллис с поправкой Данна. Значения $p < 0,05$ считались статистически значимыми.

В и С) Трансгенных 7-10-недельных мышей HLA-A2/DR1 иммунизировали

интрадермально (ID) (7-10 мышей на группу) с помощью 25 мкг INVAC-1 или 1×PBS. Всех животных сразу после иммунизации подвергали электропорации по каждому месту вакцинации. Через 14 дней после вакцинации у всех мышей извлекали селезенки. Выделяли спленоциты на фиколле и **В)** половину из них стимулировали в трех повторях для анализа ELISpot на IFN- γ пулом из 3 пептидов hTERT, приуроченных к HLA-DR1 МНС (p1029, p578 и p904), в течение 19 часов. Пятна проявляли с помощью конъюгированного с биотином детектирующего антитела с последующим раствором стрептавидина-AP и субстрата BCIP/NBT. Результаты представлены в виде средней частоты hTERT-специфичных Т-клеток CD4, секретирующих IFN γ , на 200 000 спленоцитов. Непараметрический тест Манна-Уитни: *** $p < 0,001$.

С) Другую половину спленоцитов стимулировали 24 часа пулом из 3 пептидов hTERT, приуроченных к HLA-DR1 МНС (p1029, p578 и p904). Выделяли супернатанты от стимулированных клеток и тестировали их методом СВА, чтобы определить концентрацию цитокинов Th1/Th2 и Th17, секретируемых hTERT-специфичными Т-клетками CD4. Результаты представлены в виде средних концентраций цитокинов в пг/мл. Анализ по Крускал-Уоллис с критерием Данна для множественных сравнений: * $p < 0,05$.

Фиг. 13. Влияние терапевтической или профилактической ID-вакцинации с помощью INVAC-1 с последующей электропорацией на сингенной модели опухолей у трансгенных мышей HLA-A2/DR1

А) Трансгенных 5-10-недельных мышей HLA-A2/DR1 иммунизировали интрадермально (ID) (по 5 мышей на группу) с помощью 100 мкг INVAC-1 либо 1×PBS. Всех животных сразу после иммунизации подвергали электропорации по каждому месту вакцинации. Через 21 день после первой вакцинации мыши получали повторную (буст) инъекцию по такой же процедуре. Через 1 месяц после буста мышам инокулировали подкожно (SC) 50 000 опухолевых клеток Sarc-2 (фибросаркома мыши). Представлен средний объем опухолей в каждой вакцинированной группе в различные дни после прививания опухолевых клеток. Пунктирная линия установлена на уровне 500 мм³, чтобы рассчитать замедление роста опухолей.

В) Трансгенным 24-недельным мышам HLA-A2/DR1 (по 10 мышей на группу) инокулировали подкожно (SC) 20 000 опухолевых клеток Sarc-2 (фибросаркома мыши). Через 4 дня после прививания опухолевых клеток животных иммунизировали интрадермально (ID) с помощью 25 мкг INVAC-1 либо пустой плазмидой (NTC, каркас INVAC-1 без последовательности антигена). Всех животных сразу после иммунизации подвергали электропорации по каждому месту вакцинации. Через 21 день и через 35 дней после первичной вакцинации мыши получали повторные (буст) инъекции по такой же

процедуре. Представлен средний объем опухолей в каждой вакцинированной группе в различные дни после прививания опухолевых клеток. Пунктирная линия установлена на уровне 500 мм³, чтобы рассчитать замедление роста опухолей.

Фиг. 14. Усиление индуцированных INVAC-1 клеточных иммунных ответов под действием GM-CSF и эффективность *in vivo* на сингенной модели опухолей у трансгенных мышей HLA-A2/DR1

А) Самок 7-недельных мышей C57BL/6 иммунизировали ID (по 5 мышей на группу) с помощью 25 мкг INVAC-1, 25 мкг INVAC-1 и 0,5 мкг mGM-CSF или 1×PBS. Сразу после иммунизации INVAC-1 проводили электропорацию по каждому месту вакцинации. Через 14 дней после вакцинации у всех мышей извлекали селезенки. Выделяли спленоциты на фиколле и стимулировали их для анализа ELISpot на IFN- γ в трех повторах пулом из 2 пептидов hTERT, приуроченных к H2^b МНС (p429, p660), в течение 19 часов. Пятна проявляли с помощью конъюгированного с биотином детектирующего антитела с последующим раствором стрептавидина-AP и субстрата BCIP/NBT. Результаты представлены в виде средней частоты hTERT-специфичных Т-клеток CD8, секретирующих IFN γ , на 200 000 спленоцитов. Анализ по Крускал-Уоллис с критерием Данна для множественных сравнений: ** $p < 0,01$.

В) Трансгенных 7-10-недельных мышей HLA-A2/DR1 иммунизировали интрадермально (ID) (по 5 мышей на группу) с помощью 100 мкг INVAC-1 либо 100 мкг INVAC-1 и 5 мкг GM-CSF. Всех животных сразу после иммунизации подвергали электропорации по каждому месту вакцинации. Через 14 дней после вакцинации у всех мышей извлекали селезенки. Выделяли спленоциты на фиколле и стимулировали их в трех повторах пулом из 3 пептидов hTERT, приуроченных к HLA-DR1 МНС (p1029, p578 и p904), в течение 24 часов. Выделяли супернатанты от стимулированных клеток и тестировали их методом СВА, чтобы определить концентрацию цитокинов Th1/Th2 и Th17, секретируемых hTERT-специфичными Т-клетками CD4. Результаты представлены в виде средних концентраций цитокинов в пг/мл. Анализ по Крускал-Уоллис с критерием Данна для множественных сравнений: * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$.

С) Трансгенным 7-10-недельным мышам HLA-A2/DR1 (по 10 мышей на группу) инокулировали подкожно (SC) 20 000 опухолевых клеток Sarc-2 (фибросаркома мышцы). Через 4 дня после прививания опухолевых клеток животных иммунизировали интрадермально (ID) с помощью 25 мкг INVAC-1 и 0,5 мкг mGM-CSF, пустой плазмидой (NTC, каркас INVAC-1 без последовательности антигена) и 0,5 мкг mGM-CSF или 1×PBS и 0,5 мкг mGM-CSF. Всех животных сразу после иммунизации INVAC-1 подвергали электропорации по каждому месту вакцинации. Через 21 день и через 35 дней после

первичной вакцинации мыши получали повторные (буст) инъекции по такой же процедуре. Представлен средний объем опухолей в каждой вакцинированной группе в различные дни после прививания опухолевых клеток. Пунктирная линия установлена на уровне 500 мм³, чтобы рассчитать замедление роста опухолей.

Фиг. 15. Влияние IL-12 – усиление индуцированных INVAC-1 ответов hTERT-специфичных Т-клеток CD8

Трансгенных 7-10-недельных мышей HLA-A2/DR1 иммунизировали интрадермально (ID) (по 5 мышей на группу) с помощью 100 мкг INVAC-1, 100 мкг INVAC-1 и 1 нг IL-12, 1×PBS или 1×PBS и 1 нг IL-12. Всех животных сразу после иммунизации INVAC-1 подвергали электропорации по каждому месту вакцинации. Через 14 дней после вакцинации у всех мышей извлекали селезенки. Выделяли спленоциты на фиколле и стимулировали их в трех повторах для анализа ELISpot на IFN-γ пулом из 2 пептидов hTERT, приуроченных к HLA-A2 (UCP4.1 и UCP2.1), в течение 19 часов. Пятна проявляли с помощью конъюгированного с биотином детектирующего антитела с последующим раствором стрептавидина-AP и субстрата BCIP/NBT. Результаты представлены в виде средней частоты hTERT-специфичных Т-клеток CD8, секретирующих IFNγ, на 200 000 спленоцитов. Пунктирная линия установлена на уровне 10 пятен на 200 000 спленоцитов, чтобы определять восприимчивых животных.

На фиг. 16 представлена полная нуклеотидная последовательность экспрессирующего вектора – плазмиды INVAC-1 (7120 п.н.). Характеристики вектора приведены в подписи к фиг. 1А. Кодированный INVAC-1 слитый белок hTERT (1158 а.к.) начинается в положении 3488 (ATG, кодирующий аминокислоту М) и заканчивается в положении 6961 (GAC, кодирующий аминокислоту D). Из белка INVAC-1/hTERT удалены первые 47 аминокислот (а.к. 1-47), которые заменены полипептидом убиквитина (76 а.к.). Каталитический сайт инактивирован делецией 9 п.н. (между нуклеотидами 6172-6173), кодирующих VDD (* в последовательности) и соответствующих а.к. 867-869 теломеразы дикого типа человека (hTERT; номер доступа NM_198253). Первая строка – нуклеотидная последовательность; вторая строка – соответствующая аминокислотная последовательность. Аннотации (также см. фиг. 1А) приведены над или под последовательностями. "□": стоп-кодон.

На фиг. 17 представлена последовательность вставки, кодирующей слитый белок D10Not убиквитин-теломеразы человека (Ubi-hTERT). Из hTERT удалены первые 23 аминокислоты (а.к. 1-23), которые заменены полипептидом убиквитина (76 а.к.). Введена дополнительная делеция между аминокислотами 912-913 (* см. последовательность), соответствующими а.к. 860-869 теломеразы дикого типа человека (hTERT; номер доступа

NM_198253). Эта делеция 10 аминокислот включает в себя делецию 3 а.к. (ΔVDD), что приводит к инактивации энзиматической активности TERT человека, и делецию еще 7 а.к. перед последовательностью VDD. 14 аминокислот в С-концевой последовательности Ubi-hTERT кодируют эпитопный тег V5. Первая строка – нуклеотидная последовательность; вторая строка – соответствующая аминокислотная последовательность. Аннотации приведены над или под последовательностями "□": стоп-кодон.

На фиг. 18 представлена последовательность вставки, кодирующей слитый белок D10Cог убиквитин-теломераза человека (Ubi-hTERT). Из hTERT удалены первые 23 аминокислоты (а.к. 1-23), которые заменены полипептидом убиквитина (76 а.к.). Введена дополнительная делеция между аминокислотами 919-920 (* см. последовательность), соответствующими а.к. 867-876 теломеразы дикого типа человека (hTERT; номер доступа NM_198253). Эта делеция 10 аминокислот включает в себя делецию 3 а.к. (ΔVDD), что приводит к инактивации энзиматической активности TERT человека, и делецию еще 7 а.к. после последовательности VDD. 14 аминокислот в С-концевой последовательности Ubi-hTERT кодируют эпитопный тег V5. Первая строка – нуклеотидная последовательность; вторая строка – соответствующая аминокислотная последовательность. Аннотации приведены над или под последовательностями. "□": стоп-кодон.

На фиг. 19 представлена последовательность вставки, кодирующей слитый белок D23Туп убиквитин-теломераза человека (Ubi-hTERT). Из hTERT удалены первые 23 аминокислоты (а.к. 1-23), которые заменены полипептидом убиквитина (76 а.к.). Введена дополнительная делеция между аминокислотами 909-910 (* см. последовательность), соответствующими а.к. 857-879 теломеразы дикого типа человека (hTERT; номер доступа NM_198253). Эта делеция 23 аминокислот включает в себя делецию 3 а.к. (ΔVDD), что приводит к инактивации энзиматической активности TERT человека, и делецию дополнительных 10 а.к. перед последовательностью VDD и после неё. 14 аминокислот в С-концевой последовательности Ubi-hTERT кодируют эпитопный тег V5. Первая строка – нуклеотидная последовательность; вторая строка – соответствующая аминокислотная последовательность. Аннотации приведены над или под последовательностями. "□": стоп-кодон.

Фиг. 20. Карты перетасованных производных плазмиды INVAC-1

Расположение (нуклеотиды)	Последовательность	Источник
1-882	вектор pcDNA™3.1 (+)	каркас коммерческого вектора от Invitrogen, используемый фирмой GeneCust

883-922	сайт множественного клонирования (MCS), содержащий сайт клонирования по HindIII: A.AGCTT	Invitrogen
923-4474	перетасованные трансгены Ubi-hTERT	Invectys
4475-4517	сайт множественного клонирования (MCS), содержащий сайт клонирования по XbaI: T.CTAGA	Invitrogen
4518-8918	вектор pcDNA™3.1 (+)	каркас коммерческого вектора от Invitrogen, используемый фирмой GeneCust

Фиг. 20А. pUTScram: характеристики вектора

Ген	Расположение (нуклеотиды)
Промотор CMV	232-819
Промотор T7	863-882
hUbi (убиквитин человека)	923-1150
Линкер 4xGly	1151-1162
Перетасованный hTERT (перетасованный TERT человека)	1163-4414
Фрагмент 7 hTERT	1163-1372
Линкер 6xGly	1373-1390
Фрагмент 2 hTERT	1391-1591
Линкер 6xGly	1592-1609
Фрагмент 6 hTERT	1610-1921
Линкер 6xGly	1922-1939
Фрагмент 4 hTERT	1940-2056
Линкер 6xGly	2057-2074
Фрагмент 9 hTERT	2075-2650
Линкер 6xGly	2651-2668
Фрагмент 3 hTERT	2669-2788
Линкер 6xGly	2789-2806
Фрагмент 1 hTERT	2807-3064
Линкер 6xGly	3065-3082
Фрагмент 8 hTERT	3083-3559
Линкер 6xGly	3560-3577
Фрагмент 10 hTERT	3578-4093
Линкер 6xGly	4094-4111
Фрагмент 5 hTERT	4112-4414
Линкер 6xGly	4415-4432
Тег V5	4433-4474
Последовательность полиаденилирования BGH	4518-4742
Ori f1 (ориджин репликации f1)	4788-5216
Ранний промотор и ориджин репликации SV40	5221-5564
Ген неомицина	5626-6420
pA SV40 (ранний сигнал полиаденилирования SV40)	6594-6724
Ориджин репликации pUC (комплементарная цепь)	7107-7777
Ген ампициллина (комплементарная цепь)	7922-8782

Фиг. 20В. рUTInv: характеристики вектора

Ген	Расположение (нуклеотиды)
Промотор CMV	232-819
Промотор T7	863-882
hUbi (убиквитин человека)	923-1150
Линкер 4xGly	1151-1162
Инвертированный hTERT (инвертированный TERT человека)	1163-4414
Фрагмент 10 hTERT	1163-1678
Линкер 6xGly	1679-1696
Фрагмент 9 hTERT	1697-2272
Линкер 6xGly	2273-2290
Фрагмент 8 hTERT	2291-2767
Линкер 6xGly	2768-2785
Фрагмент 7 hTERT	2786-2995
Линкер 6xGly	2996-3013
Фрагмент 6 hTERT	3014-3325
Линкер 6xGly	3326-3343
Фрагмент 5 hTERT	3344-3646
Линкер 6xGly	3647-3664
Фрагмент 4 hTERT	3665-3781
Линкер 6xGly	3782-3799
Фрагмент 3 hTERT	3800-3919
Линкер 6xGly	3920-3937
Фрагмент 2 hTERT	3938-4138
Линкер 6xGly	4139-4156
Фрагмент 1 hTERT	4157-4414
Линкер 6xGly	4415-4432
Тег V5	4433-4474
Последовательность полиаденилирования BGH	4518-4742
Ori f1 (ориджин репликации f1)	4788-5216
Ранний промотор и ориджин репликации SV40	5221-5564
Ген неомицина	5626-6420
pA SV40 (ранний сигнал полиаденилирования SV40)	6594-6724
Ориджин репликации pUC (комплементарная цепь)	7107-7777
Ген ампициллина (комплементарная цепь)	7922-8782

Фиг. 21А. Гель для проверки рUTScram

Экспрессирующий вектор рUTScram проверяли путем рестрикционного картирования. Профиль соответствует ожидаемой рестрикционной карте:

дорожка М: маркер длин Ladder 1 т.п.о.

дорожка 1: рUTScram, расщепленный HindIII/XbaI (полосы в 3576, 5342 п.н.)

Фиг. 21В. Гель для проверки рUTInv

Экспрессирующий вектор рUTInv проверяли путем рестрикционного картирования. Профиль соответствует ожидаемой рестрикционной карте:

дорожка М: маркер длин Ladder 1 т.п.о.

дорожка 1: pUTInv, расщепленный HindIII/XbaI (полосы в 3576, 5342 п.н.)

Фиг. 22. Конструкции hTERT, INVAC-1, pUTScram и pUTInv

Схема выравнивания между hTERT дикого типа и модифицированными белками Ubi-hTERT, кодируемыми INVAC-1 и перетасованными производными INVAC-1: pUTScram (перетасованный) и pUTInv (инвертированный).

Модифицированная последовательность hTERT (Δ VDD) была разделена на десять иммуногенных фрагментов: фрагмент **1** (258 п.н., Leu24-Gly109), фрагмент **2** (201 п.н., Phe115-Ala181), фрагмент **3** (120 п.н., Trp203-Ala242), фрагмент **4** (117 п.н., Ser255-Arg293), фрагмент **5** (303 п.н., Pro320-Thr420), фрагмент **6** (312 п.н., Ala423-Val526), фрагмент **7** (210 п.н., Cys528-Gln597), фрагмент **8** (477 п.н., Arg599-Lys757), фрагмент **9** (576 п.н., Lys760-Ile951), фрагмент **10** (516 п.н., Asn958-Asp1129).

Характеристики последовательностей:

VDD: делеция аминокислот 867-869 в каталитическом сайте

Ubi: последовательность убиквитина человека (аминокислоты 1-76)

F (Phe): остаток фенилаланина hTERT (а.к. 47)

G (Gly): С-концевой остаток глицина убиквитина (а.к. 76)

R (Arg): аргинин, первая аминокислота белка INVAC-1 (а.к. 77)

N (Asn): аспарагин, первая аминокислота искусственного белка hTERT (перетасованного), кодируемого pUTScram (а.к. 81)

C (Cys): цистеин, первая аминокислота искусственного белка hTERT (инвертированного), кодируемого pUTInv (а.к. 81)

V5: С-концевой тег V5 для удобного выявления белка.

Фиг. 23. Экспрессия *in vitro* hTERT дикого типа, INVAC-1 и перетасованных производных INVAC-1 при оценке методом вестерн-блот

Трансфецировали hTERT дикого типа, INVAC-1, pUTScram и pUTInv в клетки HEK293T. Отслеживали экспрессию белка в течение 18-96 ч после трансфекции. **(А и С)** Наносили образцы hTERT дикого типа и INVAC-1 для 18 ч и 72 ч по 15 мкг общей концентрации белка. Эти образцы служили в качестве положительного контроля на экспрессию белков. **(А)** Перетасованный и **(С)** инвертированный белки наносили по 20 мкг общего белка из лизатов клеток на 1 дорожку. hTERT выявляли с помощью моноклонального антитела кролика против hTERT (hTERT, INVAC-1) или мышинового моноклонального антитела против тега V5 (Перетасованный, Инвертированный). Время сбора клеток указано над каждой дорожкой. В качестве контроля на нанесение использовали белок бета-актина, который детектировали с помощью мышинового моноклонального антитела против бета-актина. Для обнаружения перетасованных

производных продуктов INVAC-1 требуется более длительное время экспозиции, чем для белков hTERT дикого типа и INVAC-1 (от 10 сек до 30 мин в сравнении с менее 1 сек).

Интенсивность сигналов перетасованных белков на вестерн-блоте нормализовали по сигналу бета-актина (А и С) с помощью программного обеспечения ImageJ. (В) Перетасованный. (D) Инвертированный. Для каждой дорожки строили графики профилей контроля на нанесение и белковых полос, получая условные числа, соответствующие площади под кривой профиля. Рассчитывали соотношения (относительные плотности) путем деления значений площади для каждого образца на значение площади для соответствующего контроля на нанесение.

Фиг. 24. Теломеразные активности hTERT, INVAC-1 и перетасованных производных INVAC-1 при оценке методом TRAP

Клетки CrFK трансфецировали конструкциями hTERT дикого типа (pTRIP-CMV-hTERT), pUTScram и pUTInv. Через 24 часа собирали клетки, выделяли общий белок из клеток и определяли теломеразную активность (обратную транскриптазу) по методу протокола амплификации теломерных повторов (TRAP). Представлены значения поглощения (OD при 450/690 нм) и относительной теломеразной активности (RTA; соотношение образец/положительный контроль) у перетасованных конструкций (А и В, соответственно) по сравнению с hTERT дикого типа и необработанными клетками CrFK (n = 3 для образцов с общей концентрацией белка 2,1 мкг), непарный t-критерий.

Никакой теломеразной активности не обнаруживалось в клетках CrFK, трансфецированных конструкциями pUTScram и pUTInv.

Фиг. 25. Оценка вакцинации с помощью INVAC-1, pUTScram и pUTInv с последующей электропорацией для индуцирования hTERT-специфичных Т-клеток CD8, секретирующих интерферон-γ

Трансгенных 9-15-недельных мышей HLA-B7 иммунизировали интрадермально (ID) (по 3-5 мышей на группу) с помощью 100 мкг INVAC-1, pUTScram, pUTInv или 1×PBS при двух циклах иммунизации (в режиме прайм-буст). Непосредственно после каждой иммунизации проводили электропорацию по каждому месту вакцинации. Через 10 дней после второй иммунизации у мышей извлекали селезенки.

Выделяли спленоциты на фиколле и стимулировали их для анализа ELISpot на IFN-γ в трех повторах пулом из 3 пептидов hTERT, приуроченных к HLA-B7 MHC (p277, p351 и p1123), или чистой средой, в течение 19 часов. Пятна проявляли с помощью конъюгированного с биотином детектирующего антитела с последующим раствором стрептавидина-AP и субстрата BCIP/NBT. Результаты представлены в виде средней частоты hTERT-специфичных Т-клеток CD8, секретирующих IFNγ, на 200 000

спленоцитов. Непараметрический тест Манна-Уитни: $*p < 0,05$. Порог отсечения произвольно установлен на уровне 10 пятен на 200 000 спленоцитов, чтобы определять частоту восприимчивых животных (пунктирная линия).

Фиг. 26. Потенциал pUTScram и pUTInv для получения hTERT-специфических цитотоксических Т-клеток CD8 после ID-вакцинации и электропорации

Трансгенных 15-недельных мышей HLA-B7 иммунизировали интрадермально (ID) (по 4-6 мышей на группу) с помощью 100 мкг INVAC-1, pUTScram, pUTInv или 1×PBS. Всех животных сразу после иммунизации подвергали электропорации по каждому месту вакцинации. Через 14 дней после инъекции сингенные спленоциты, обработанные индивидуальными пептидами hTERT, приуроченными к HLA-B7 MHC (p351 либо p1123), или же оставшиеся необработанными, метили сукцинимиდიловым эфиром карбоксифлуоресцеин-диацетата (CFSE) в трех различных концентрациях: высокой = 5 мкМ (351), средней = 2 мкМ (1123) и низкой = 0,2 мкМ (необработанные). Вакцинированным мышам вводили смесь, содержащую одинаковое количество меченных CFSE клеток из каждой концентрации, через ретроорбитальную вену (IV). Через 15-18 часов определяли исчезновение обработанных пептидами клеток в селезенке методом проточной цитометрии. Рассчитывали степень специфического лизиса, сравнивая соотношение обработанных и необработанных клеток у вакцинированных в сравнении с контрольными мышами. Данные представлены в виде процента специфического лизиса для каждой мыши по каждому отдельному пептиду в селезенке после ID-вакцинации. Горизонтальными столбиками представлен средний процент лизиса по каждому пептиду. Статистический анализ проводили с помощью программного обеспечения Prism 5, используя непараметрический критерий Крускал-Уоллис с поправкой Данна. Значения $p < 0,05$ считались статистически значимыми.

На фиг. 27 представлено разграничение иммуногенных сегментов оптимизированной по кодам последовательности Ubi-hTERT, используемой для конструирования перетасованных производных INVAC-1. Первая строка – оптимизированная по кодам нуклеотидная последовательность Ubi-hTERT (SEQ ID NO: 45), а вторая строка – соответствующая аминокислотная последовательность (SEQ ID NO: 46). Последовательность Ubi-hTERT разделена на 10 фрагментов, которые включают иммуногенные последовательности. Эти фрагменты разграничены символами (< ... >). Иммуногенные последовательности выделены серым цветом. Подчеркнуты неиммуногенные последовательности между фрагментами hTERT, которые не включены в конструкции pUTScram и pUTInv. 14 аминокислот в С-концевой последовательности Ubi-hTERT кодируют эпитопный тег V5. Аннотации приведены над или под

последовательностями. (*) означает делецию последовательности VDD. "□": стоп-кодон.

На фиг. 28 представлена полная нуклеотидная последовательность вставки pUTScram (3555 п.н.). Характеристики вектора приведены в подписи к фиг. 20. Перетасованная вставка Ubi-hTERT (Перетасованный, 1184 а.к.) начинается в положении 923 (ATG, кодирующий аминокислоту М) и заканчивается в положении 4474 (ACT, кодирующий аминокислоту Т) pUTScram. Из белка hTERT удалены первые 23 аминокислоты (а.к. 1-23), которые заменены полипептидом убиквитина (76 а.к.). Каталитический сайт инактивирован делецией 9 п.н., кодирующих VDD (* в последовательности) и соответствующих а.к. 867-869 теломеразы дикого типа человека (hTERT, патент WO 2007/014740; и изоформа 1 hTERT, номер доступа NM_198253). Последовательность hTERT разделена на 10 иммуногенных фрагментов и вновь собрана в следующем определенном порядке: фрагмент 7 (210 п.н.), фрагмент 2 (201 п.н.), фрагмент 6 (312 п.н.), фрагмент 4 (117 п.н.), фрагмент 9 (576 п.н.), фрагмент 3 (120 п.н.), фрагмент 1 (258 п.н.), фрагмент 8 (477 п.н.), фрагмент 10 (516 п.н.), фрагмент 5 (303 п.н.). Эти 10 фрагментов соединяются линкером 6xGly (G-линкер; 18 п.н.). 14 аминокислот в С-концевой последовательности перетасованной вставки Ubi-hTERT кодируют эпитопный тег V5. Первая строка – нуклеотидная последовательность (SEQ ID NO: 47), вторая строка – соответствующая аминокислотная последовательность (SEQ ID NO: 48). Аннотации (также см. фиг. 20А) приведены над или под последовательностями. "□": стоп-кодон.

На фиг. 29 представлена полная нуклеотидная последовательность вставки pUTInv (3555 п.н.). Характеристики вектора приведены в подписи к фиг. 20. Инвертированная вставка Ubi-hTERT (Инвертированный, 1184 а.к.) начинается в положении 923 (ATG, кодирующий аминокислоту М) и заканчивается в положении 4474 (ACT, кодирующий аминокислоту Т) pUTInv. Из белка hTERT удалены первые 23 аминокислоты (а.к. 1-23), которые заменены полипептидом убиквитина (76 а.к.). Каталитический сайт инактивирован делецией 9 п.н., кодирующих VDD (* в последовательности) и соответствующих а.к. 867-869 теломеразы дикого типа человека (hTERT, патент WO 2007/014740, номер доступа NM_198253). Последовательность hTERT разделена на 10 иммуногенных фрагментов и вновь собрана в следующем определенном порядке: фрагмент 10 (516 п.н.), фрагмент 9 (576 п.н.), фрагмент 8 (477 п.н.), фрагмент 7 (210 п.н.), фрагмент 6 (312 п.н.), фрагмент 5 (303 п.н.), фрагмент 4 (117 п.н.), фрагмент 3 (120 п.н.), фрагмент 2 (201 п.н.), фрагмент 1 (258 п.н.). Эти 10 фрагментов соединяются линкером 6xGly (G-линкер; 18 п.н.). 14 аминокислот в С-концевой последовательности перетасованной вставки Ubi-hTERT кодируют эпитопный тег V5. Первая строка – нуклеотидная последовательность (SEQ ID NO: 49), вторая строка – соответствующая

аминокислотная последовательность (SEQ ID NO: 50). Аннотации (также см. фиг. 20B) приведены над или под последовательностями. "□": стоп-кодон.

Раскрытие сущности изобретения

Определения

Теломеразный комплекс состоит из матрицы РНК и белковых компонентов, в том числе обратной транскриптазы, обозначаемой как “обратная транскриптаза теломеразы” (TERT), которая является основной детерминантой активности теломеразы. Если не указано иначе, в настоящем описании термин “теломераза” относится к TERT, включая теломеразу дикого типа человека, или к её вариантам. Теломераза дикого типа человека (или hTERT) известна (номер доступа в GeneBank: NM_198253) и имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 2 (её кДНК приведена в виде SEQ ID NO: 1).

“Каталитическая активность теломеразы” относится к активности TERT в качестве обратной транскриптазы теломеразы. Термин “лишенная каталитической активности теломеразы” означает, что последовательность нуклеиновой кислоты кодирует мутантную TERT, которая является неактивной.

В настоящем изобретении термин “вариант” относится к аллельным вариантам, сплайс-вариантам, естественным или искусственным мутантам, которые гомологичны стандартной последовательности hTERT. Две аминокислотные последовательности являются “гомологичными”, “существенно гомологичными” или “существенно сходными”, если один или несколько аминокислотных остатков заменены биологически сходными остатками или когда более 80% аминокислот являются идентичными или же более 90%, а предпочтительно более 95% являются аналогичными (функционально идентичными). Предпочтительно аналогичные или гомологичные последовательности идентифицируются путем выравнивания с использованием, к примеру, пакета программ GCG (Genetics Computer Group, Program Manual for the GCG Package, Version 7, Madison, Wisconsin) или любой из программ, известных в данной области (BLAST, FASTA и т.п.).

К “замещенным” или “модифицированным” в настоящем изобретении относятся такие аминокислоты, которые были изменены или модифицированы по сравнению со встречающимися в природе аминокислотами.

К вариантам относятся белки, у которых последовательность отличается от белка hTERT дикого типа одной или несколькими мутациями (т.е. заменами, делециями, вставками), более предпочтительно одной или несколькими точечными заменами. Варианты могут содержать консервативные замены.

Термин “консервативная замена” в настоящем изобретении обозначает замену

одного аминокислотного остатка другим, без изменения общей конформации и функции пептида, включая, без ограничения, замены одних аминокислот другими с близкими свойствами (такими, к примеру, как полярность, способность к образованию водородных связей, кислотность, основность, форма, гидрофобность, ароматичность и т.п.). Аминокислоты с близкими свойствами хорошо известны в данной области. Например, аргинин, гистидин и лизин являются гидрофильными основными аминокислотами и могут заменять друг друга. Точно так же изолейцин, гидрофобная аминокислота, может быть заменен на лейцин, метионин или валин. Нейтральные гидрофильные аминокислоты, которые могут заменять друг друга, включают аспарагин, глутамин, серин и треонин.

Термин “выделенный полинуклеотид” определяется как полинуклеотид, который извлечен из того окружения, в котором он встречается в природе. Например, встречающаяся в природе молекула ДНК, находящаяся в геноме живой бактерии или в составе банка генов, не является выделенной, но та же молекула, отделенная от остальной части бактериального генома в результате, напр., события клонирования (амплификации), является выделенной. Как правило, выделенная молекула ДНК лишена тех участков ДНК (напр., кодирующих участков), с которыми она непосредственно соприкасается на 5'- или 3'-конце в природном геноме. Такие выделенные полинуклеотиды могут быть частью вектора или композиции и все-таки будут определяться как выделенные, поскольку такой вектор или композиция не является частью естественного окружения данного полинуклеотида.

Термин “иммуногенная” означает, что композиция или конструкция, к которой он относится, способна индуцировать иммунный ответ при введении. “Иммунный ответ” у субъекта означает возникновение врожденного и адаптивного иммунитета, включая гуморальный иммунитет, клеточный иммунитет либо гуморальный и клеточный иммунитет к антигену. “Гуморальный иммунитет” означает такой иммунитет, который опосредуется антителами. “Клеточный иммунитет” опосредуется Т-лимфоцитами. Он включает продукцию цитокинов, хемокинов и других подобных молекул, которые вырабатываются активированными Т-клетками, лейкоцитами или теми и другими. Иммунные реакции могут быть определены с помощью стандартных методов иммуноанализа и нейтрализации для выявления тех гуморальных иммунных ответов, которые известны в данной области.

В контексте изобретения иммунный ответ предпочтительно охватывает стимуляцию или пролиферацию цитотоксических Т-клеток CD8 и/или Т-клеток CD4 и может быть определен с помощью таких методов иммуноанализа, как метод ELISpot, анализ цитотоксичности *in vivo* или анализ секреции и связывания цитокинов.

В настоящем изобретении термин “лечение” или “терапия” или “иммунотерапия” означает что-либо типа облегчения, ослабления и/или устранения, уменьшения и/или стабилизации (напр., отсутствия прогрессирования до более запущенных стадий) симптомов, а также замедления развития опухоли или дисплазии либо их симптомов. Таким образом, термин включает в себя достижение эффективного иммунного ответа против опухолей, наблюдающихся у больных раком.

В настоящем изобретении термин “профилактика” или “предотвращение” означает облегчение, ослабление и/или устранение, уменьшение и/или стабилизацию (напр., отсутствие прогрессирования до более запущенных стадий) продромов, т.е. любых изменений или ранних симптомов (или целого комплекса симптомов), которые могли бы указывать на начало заболевания прежде, чем возникнут конкретные симптомы.

Клетки, “гиперэкспрессирующие теломеразу”, означают такие клетки у субъекта, которые либо экспрессируют теломеразу, напр., при мутации или инфекции, особенно при инфекции, вызванной онковирусом, тогда как это обычно не происходит в нормальных условиях, либо такие клетки у субъекта, которые экспрессируют теломеразу на более высоком уровне (напр., при мутации или инфекции), чем при нормальных условиях. Предпочтительно клетки, гиперэкспрессирующие теломеразу, проявляют повышение экспрессии по меньшей мере на 5%, по меньшей мере на 10%, по меньшей мере на 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80% или больше.

“Пациентами” или “субъектами”, как правило, являются млекопитающие, предпочтительно люди, любого возраста, пола или тяжести заболевания.

Нуклеиновокислотные конструкции

Настоящим предусмотрены нуклеиновокислотные конструкции, которые предназначены для вакцинации пациентов. Нуклеиновокислотные конструкции кодируют теломеразы, которые лишены каталитической активности теломеразы (что устраняет их иммортализирующее действие) и лишены сигнала ядрышковой локализации (что предотвращает их переход в ядрышко).

Нуклеиновокислотные конструкции по изобретению находятся в выделенном виде.

Нуклеиновая кислота может представлять собой ДНК или РНК, но предпочтительно это ДНК, еще более предпочтительно двухцепочечная ДНК.

Нуклеиновокислотные конструкции не являются встречающимися в природе геномными нуклеиновыми кислотами, в частности, они не содержат интронов.

В качестве первой меры безопасности последовательность hTERT лишена каталитической активности теломеразы. В предпочтительном воплощении последовательность, кодирующая hTERT, содержит мутации, которые обеспечивают

инактивацию каталитической активности белка hTERT. Термин “мутация” включает в себя замены одной или нескольких аминокислот, делеции одной или нескольких аминокислот и/или вставки одной или нескольких аминокислот. В предпочтительном воплощении белок hTERT лишен каталитической активности теломеразы посредством делеции по меньшей мере одной аминокислоты.

Предпочтительно последовательность имеет делецию, предпочтительно делецию аминокислот VDD, как показано на фиг. 2A. Предпочтительно белок hTERT лишен каталитической активности теломеразы посредством единственной делеции аминокислот 867-869 (VDD). В другом предпочтительном воплощении белок hTERT лишен каталитической активности теломеразы посредством дальнейшего удаления от 1 до 10, 11 или 12 аминокислот перед и/или после аминокислот 867-869 (VDD).

В качестве второй меры безопасности последовательность, кодирующая hTERT, также лишена сигнала ядрышковой локализации. Этот сигнал ядрышковой локализации коррелирует с субклеточной локализацией hTERT и тем самым с её ферментативной активностью. Предпочтительно белок hTERT лишен сигнала ядрышковой локализации посредством делеции по крайней мере аминокислот 1-23, еще более предпочтительно посредством делеции аминокислот 1-47.

Наряду с модификациями, обеспечивающими первую и вторую меры безопасности, белок hTERT, кодируемый конструкцией из нуклеиновой кислоты по изобретению, может представлять собой последовательность hTERT дикого типа или вариант такой последовательности.

В перечне последовательностей:

- SEQ ID NO: 1 – кДНК hTERT дикого типа;
- SEQ ID NO: 2 – соответствующая аминокислотная последовательность;
- SEQ ID NO: 3 – кДНК hTERT, используемая в векторе INVAC-1;
- SEQ ID NO: 4 – соответствующая аминокислотная последовательность;
- SEQ ID NO: 5 – кДНК hTERT, используемая в векторе pUTD10Not;
- SEQ ID NO: 6 – соответствующая аминокислотная последовательность;
- SEQ ID NO: 7 – кДНК hTERT, используемая в векторе pUTD10Cog;
- SEQ ID NO: 8 – соответствующая аминокислотная последовательность;
- SEQ ID NO: 9 – кДНК hTERT, используемая в векторе pUTD23Tyn;
- SEQ ID NO: 10 – соответствующая аминокислотная последовательность.

В предпочтительном воплощении изобретения используется нуклеиновая кислота, кодирующая белок по SEQ ID NO: 4.

Такая нуклеиновая кислота может включать последовательность SEQ ID NO: 3.

В другом воплощении нуклеиновокислотная конструкция кодирует аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 6, 8 или 10 и предпочтительно включает SEQ ID NO: 5, 7 или 9.

В предпочтительном воплощении нуклеиновая кислота также может кодировать белок, который усиливает адресацию белка hTERT на протеасомы (повышая презентацию производных пептидов классом I). В частности, белок hTERT может быть слит по N-концу с таким белком, повышающим адресацию белка hTERT на протеасомы. Таким белком предпочтительно может быть убиквитин или же любой белок-шаперон, напр., кальретикулин.

В перечне последовательностей:

SEQ ID NO: 11 – полноразмерная последовательность плазмиды INVAC-1, включающая кДНК Ubi-hTERT, кодируемого INVAC-1;

SEQ ID NO: 12 – соответствующая аминокислотная последовательность Ubi-hTERT, кодируемого INVAC-1;

SEQ ID NO: 13 – кДНК вставки pUTD10Not;

SEQ ID NO: 14 – соответствующая аминокислотная последовательность;

SEQ ID NO: 15 – кДНК вставки pUTD10Cog;

SEQ ID NO: 16 – соответствующая аминокислотная последовательность;

SEQ ID NO: 17 – кДНК вставки pUTD23Tyn;

SEQ ID NO: 18 – соответствующая аминокислотная последовательность.

В предпочтительном воплощении нуклеиновокислотная конструкция кодирует аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 12.

Более предпочтительно нуклеиновокислотная конструкция может включать в себя SEQ ID NO: 11 или нуклеотиды 3488-6961 из SEQ ID NO: 11.

В другом воплощении нуклеиновокислотная конструкция кодирует аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 14, 16 или 18 и предпочтительно включает в себя последовательность SEQ ID NO: 13, 15 или 17.

В другом воплощении предусмотрены нуклеиновокислотные конструкции, включающие последовательности, происходящие из обратной транскриптазы теломеразы человека (hTERT), причем данные последовательности, происходящие из hTERT:

- i) кодируют все или практически все эпитопы hTERT, в любом порядке, и
- ii) кодируют белок, лишенный каталитической активности теломеразы и сигнала ядрышковой локализации.

Нуклеиновокислотные конструкции по изобретению находятся в выделенном виде.

Нуклеиновая кислота может представлять собой ДНК или РНК, но

предпочтительно это ДНК, еще более предпочтительно двухцепочечная ДНК. Нуклеиновокислотные конструкции не являются встречающимися в природе геномными нуклеиновыми кислотами, в частности, они не содержат интронов.

Эти конструкции в настоящем описании обозначаются как “перетасованные конструкции” или “полиэпитопные конструкции”.

Термин “эпитоп hTERT” относится к таким аминокислотным фрагментам hTERT, которые являются антигенными детерминантами, т.е. они распознаются клетками иммунной системы и являются иммуногенными, т.е. могут вызывать иммунные ответы. Предпочтительно они специфически распознаются Т-клетками против hTERT. Описано несколько последовательностей иммуногенных эпитопов hTERT. Напр., см. международную патентную заявку WO 07014740 насчет приуроченных к МНС класса I эпитопов hTERT. Некоторые другие описаны здесь (см. фиг. 27 и приведенную ниже таблицу).

Эти “перетасованные конструкции” способны вызывать специфические иммунные ответы против hTERT, то есть цитотоксические Т-лимфоциты (CTLs) распознают их как эпитопы дикого типа.

Ни одна из этих “перетасованных конструкций” не совпадает с кодирующей последовательностью полноразмерного hTERT.

Термин “практически все эпитопы” означает, что нуклеиновокислотная конструкция кодирует белок, который содержит по меньшей мере 80%, более предпочтительно по меньшей мере 85%, еще более предпочтительно по меньшей мере 90% или по меньшей мере 95% всех эпитопов hTERT дикого типа,

Полинуклеотидные звенья, кодирующие множественные эпитопы, могут располагаться в любом порядке: последовательно, т.е. 3'-конец первого полинуклеотидного звена непосредственно связан с 5'-концом второго полинуклеотидного звена (и так далее), в результате чего образуется полинуклеотид, кодирующий пептидные последовательности, состоящие исключительно из следующих друг за другом эпитопов. С другой стороны, множественные эпитопы могут разделяться спейсерами из одной аминокислоты или пептидными спейсерами, т.е. это значит, что различные полинуклеотидные звенья отделяются друг от друга одним или несколькими кодонами, кодирующими, соответственно, одну или несколько аминокислот. Как правило, иммуногенные фрагменты hTERT могут отделяться друг друга посредством от 4 до 6 аминокислот Gly.

Порядок, в котором располагаются эпитопы, может быть определен специалистом в данной области по следующим критериям: некоторые порядки могут способствовать

транскрипции и/или трансляции полинуклеотида, могут способствовать переносу полученного экспрессируемого полиэпитопа в эндоплазматический ретикулум (ER), особенно если трехмерная конформация воздействует на свойства, и могут способствовать процессингу полиэпитопа на несколько эпитопов или аналогов, чтобы избежать обработки перекрывающихся эпитопов.

В предпочтительном воплощении конструкцией из нуклеиновой кислоты кодируются все или практически все иммуногенные эпитопы hTERT от аминокислоты 24 до аминокислоты 1132, хотя бы и в любом порядке.

В приведенной ниже таблице представлены иммуногенные последовательности, которые могут располагаться в “перетасованной” конструкции.

Иммуногенная последовательность	SEQ ID NO:
R R L G P Q G W R L V Q R G D P A A F R A L V A Q C L V C V P W D A R	61
V S C L K E L V A R V L Q R L	62
V L A F G F A L L	63
R S Y L P N T V T D A L R G S G A W G L L L R R V G D D V L V H L L A R C A L F V L V A P S C A Y Q V C G P P L Y	64
R E A G V P L G L	65
R R R G G S A S R S L P L P K R	66
G R T R G P S D R G F C V V S P A R P A E E A T S L E G A	67
Y A E T K H F L Y S S G D K E Q L R P S F L L S S L R P S L	68
A R R L V E T I F L G S R P	69
R R L P R L P Q R Y W Q M R P L F L E L L G N H A Q C P	70
V L L K T H C P L	71
R E K P Q G S V A	72
E E D T D P R R L V Q L L R	73
V Y G F V R A C L R R L V P P G L W G S	74
R R F L R N T K K	75
H A K L S L Q E L	76
S V R G C A W L R	77
E H R L R E E I L A K F L H W L M S V Y V V E L L R S F	78
E T T F Q K N R L	79
K S V W S K L Q S I G I R Q H	80
A E V R Q H R E A R P A L L T S R L R F I P K	81
D Y V V G A R T F R R E K R A E R L T S R V K A L	82
Y E R A R R P G L L G A S V L G L	83
H R A W R T F V L R V R A Q D P P P E L Y F V K V D V T G A Y D T I P Q D R L T E V I A S I I K P Q	84
T Y C V R R Y A V V Q K A A H	85
T L T D L Q P Y M R Q F V A H L	86
S P L R D A V V I E Q S S S L N E A S S G L F D V F L R	87
A V R I R G K S Y	88
I L S T L L C S L C Y G D M E N K L	89
I R R D G L L L R L F L L V T P H L T H A K T F L R T L V R G V P E Y G C V V N L R K T V V N F	90
D E A L G G T A F V Q M P A H G L F P W C G L L L D T R T L E V Q S D Y S S Y	91
A G R N M R R K L F G V L R L K C H S L F L D L Q V N S L Q T	92

I Y K I L L L Q A Y R F H A C V L Q L P F H Q Q V	93
N P T F F L R V I S D T A S L C Y S I L K A K N A G M S	94
G A K G A A G P L	95
W L C H Q A F L L K L T R H R V T Y V P L L G S L R T A Q	96
T Q L S R K L P G T T L	97
L E A A A N P A L P S D F K T I L	97

Соответственно, изобретением предусмотрены полиэпитопные нуклеиновокислотные конструкции, включающие все или практически все иммуногенные последовательности, приведенные в виде SEQ ID NO: 61-97, в любом порядке.

Последовательность лишена каталитической активности теломеразы. В предпочтительном воплощении фрагмент, несущий каталитическую активность hTERT, содержит мутации, обеспечивающие инактивацию каталитической активности. Термин “мутация” включает замены одной или нескольких аминокислот, делеции одной или нескольких аминокислот и/или вставки одной или нескольких аминокислот. В предпочтительном воплощении белок лишен каталитической активности теломеразы посредством делеции по крайней мере одной аминокислоты.

Предпочтительно последовательность содержит делецию, предпочтительно делецию аминокислот VDD, как показано на фиг. 22. Предпочтительно белок hTERT лишен каталитической активности теломеразы посредством единственной делеции аминокислот 867-869 (VDD). В другом предпочтительном воплощении белок лишен каталитической активности теломеразы посредством дальнейшего удаления от 1 до 10, 11 или 12 аминокислот перед и/или после аминокислот 867-869 (VDD) hTERT.

Последовательность также лишена сигнала ядрышковой локализации. Этот сигнал ядрышковой локализации коррелирует с субклеточной локализацией hTERT и тем самым с её ферментативной активностью. Предпочтительно белок hTERT лишен сигнала ядрышковой локализации посредством делеции по меньшей мере аминокислот 1-23, еще более предпочтительно посредством делеции аминокислот 1-47 hTERT.

В предпочтительном воплощении нуклеиновая кислота также может кодировать белок, который усиливает адресацию белка hTERT на протеасомы (повышая презентацию производных пептидов классом I). В частности, белок hTERT может быть слит по N-концу с таким белком, повышающим адресацию белка hTERT на протеасомы. Таким белком предпочтительно может быть убиквитин или же любой белок-шаперон, напр., кальретикулин.

Δ hTERT означает hTERT с делецией аминокислот 867-869 VDD.

Предпочтительная нуклеиновокислотная конструкция включает, в любом порядке, фрагмент 1, кодирующий от Leu24 до Gly109 у Δ hTERT (SEQ ID NO: 51), фрагмент 2,

кодирующий от Phe115 до Ala181 у ΔhTERT (SEQ ID NO: 52), фрагмент **3**, кодирующий от Trp203 до Ala242 у ΔhTERT (SEQ ID NO: 53), фрагмент **4**, кодирующий от Ser255 до Arg293 у ΔhTERT (SEQ ID NO: 54), фрагмент **5**, кодирующий от Pro320 до Thr420 у ΔhTERT (SEQ ID NO: 55), фрагмент **6**, кодирующий от Ala423 до Val526 у ΔhTERT (SEQ ID NO: 56), фрагмент **7**, кодирующий от Cys528 до Gln597 у ΔhTERT (SEQ ID NO: 57), фрагмент **8**, кодирующий от Arg599 до Lys757 у ΔhTERT (SEQ ID NO: 58), фрагмент **9**, кодирующий от Lys760 до Ile951 у ΔhTERT (SEQ ID NO: 59), фрагмент **10**, кодирующий от Asn958 до Asp1129 у ΔhTERT (SEQ ID NO: 60).

Предпочтительная конструкция кодирует SEQ ID NO: 48 (которая также именуется здесь “перетасованной”), как показано на фиг. 28.

Другая предпочтительная конструкция кодирует SEQ ID NO: 50 (которая также именуется здесь “инвертированной”), как показано на фиг. 29.

Генетические конструкции, иммуногенные композиции и их введение

Предпочтительно нуклеиновая кислота представляет собой генетическую конструкцию, содержащую полинуклеотидную последовательность, как определено здесь, и регуляторные последовательности (как-то подходящие промоторы, энхансеры, терминаторы и т.п.), способствующие экспрессии (напр., транскрипции и трансляции) белкового продукта в клетках хозяина или организме хозяина.

Генетические конструкции по изобретению могут представлять собой ДНК или РНК, а предпочтительно это двухцепочечная ДНК. Генетические конструкции по изобретению также могут находиться в виде, подходящем для трансформации заданных клеток хозяина или организма хозяина, в виде, подходящем для встраивания в геномную ДНК заданных клеток хозяина, или же в виде, подходящем для независимой репликации, поддержания и/или наследования в заданном организме хозяина. Например, генетические конструкции по изобретению могут находиться в виде вектора, такого, к примеру, как плаزمид, космид, YAC, вирусный вектор или транспозон. В частности, вектор может представлять собой экспрессирующий вектор, т.е. вектор, который может обеспечивать экспрессию *in vitro* и/или *in vivo* (напр., в подходящих клетках хозяина, организме хозяина и/или в экспрессирующей системе).

В предпочтительном аспекте, без ограничения, генетическая конструкция по изобретению включает в себя: i) по меньшей мере одну нуклеиновую кислоту по изобретению; функционально связанную с ii) одним или несколькими регуляторными элементами, такими как промотор и необязательно подходящий терминатор; а также, необязательно, и iii) одним или несколькими другими элементами генетической конструкции типа последовательностей 3'- или 5'-UTR, лидерных последовательностей,

селективных маркеров, маркеров экспрессии/генов-репортеров и/или таких элементов, которые могут способствовать, усиливать или повышать эффективность трансформации или встраивания.

В предпочтительном воплощении генетические конструкции могут быть получены путем расщепления полимера нуклеиновой кислоты рестрикционной эндонуклеазой и клонирования в плазмиду, содержащую промотор типа промотора SV40, промотора цитомегаловируса (CMV) или промотора вируса саркомы Рауса (RSV). В предпочтительном воплощении последовательности нуклеиновой кислоты TERT вставляются в экспрессирующую плазмиду NTC8685-eRNA41H (см. фиг 1A).

Другие векторы включают ретровирусные векторы, лентивирусные векторы, аденовирусные векторы, векторы из вируса осповакцины, поксвирусные векторы, векторы из вируса кори и векторы из аденоассоциированных вирусов.

Можно приготовить композиции, содержащие такие нуклеиновые кислоты или векторы. Композиции являются иммуногенными. Они могут содержать носители или наполнители, которые подходят для введения людям или млекопитающим (т.е. нетоксичные, а при необходимости и стерильные). Такие наполнители включают жидкие, полужидкие или твердые разбавители, служащие в качестве фармацевтических носителей, изотонические средства, стабилизаторы или какие-либо адъюванты. Разбавители могут включать воду, физраствор, декстрозу, этанол, глицерин и др. Изотонические средства могут включать хлорид натрия, декстрозу, маннит, сорбит и лактозу, среди прочего. Стабилизаторы включают альбумин, среди прочего. В вакцинных композициях можно использовать любые адъюванты, известные в данной области, в том числе масляные адъюванты, такие как полный адъювант Фрейнда и неполный адъювант Фрейнда, адъюванты на основе миколатов, бактериального липополисахарида (LPS), пептидогликанов, протеогликанов, гидроксида алюминия, сапонины, DEAE-декстрана, нейтральных масел (типа миглиола), растительных масел (типа арахисового масла), полиолов Pluronic®.

Нуклеиновые кислоты или композиции можно вводить непосредственно или же можно упаковывать в липосомы или наносить на коллоидные частицы золота перед введением. Методы упаковки ДНК вакцин в липосомы известны в данной области, к примеру, см. Murray, 1991. Точно так же методы нанесения голей ДНК на золотые частицы изложены в Yang, 1992, а методы экспрессирования белков с помощью вирусных векторов приведены в Adolph, 1996.

Для генетической иммунизации вакцинные композиции предпочтительно вводятся внутривенно, подкожно, внутримышечно, в опухоли или в лимфоидные органы любого

типа путем инъекции или газовой бомбардировки частицами, причем они вводятся в количестве, эффективном для стимуляции иммунного ответа в организме хозяина. В предпочтительном воплощении настоящего изобретения введение включает стадию электропорации, которая также обозначается здесь термином “электроперенос”, в дополнение к операции инъекции (как описано в Mir, 2008, и Sardesai and Weiner, 2011).

Композиции также можно вводить *ex vivo* в лимфоидные или миелоидные клетки с помощью липосомной трансфекции, бомбардировки частицами или вирусной трансдукции (включая методы совместного культивирования). Затем обработанные клетки вводятся обратно подлежащему иммунизации субъекту.

Хотя и следует иметь в виду, что количество необходимого материала будет зависеть от иммуногенности каждой отдельной конструкции и не может быть предсказано *a priori*, однако процесс определения подходящей дозы для любой данной конструкции является несложным. В частности, соответствующим видам вводится ряд возрастающих доз, к примеру, начиная с 5 до 30 мкг или предпочтительно 20-25 мкг, от 500 мкг до 5 мг, предпочтительно 500-1500 мкг, 500-1200 мкг или 500-1000 мкг, и наблюдается возникающий иммунный ответ, к примеру, путем определения клеточного иммунного ответа методом ELISpot на IFN γ (как описано в экспериментальном разделе), путем определения реакций CTL методом лизиса *in vivo* или методом высвобождения хрома либо путем определения Th (хелперных Т-клеток) методом высвобождения цитокинов.

В предпочтительном воплощении схема вакцинации включает в себя от одной до трех инъекций, которые предпочтительно повторяются через 3 или 4 недели.

В предпочтительном воплощении график вакцинации может состоять из одной или двух инъекций с последующим через 3 или 4 недели по меньшей мере одним циклом от трех до пяти инъекций.

В другом воплощении первичная доза (прайм) состоит из 1-3 инъекций, а впоследствии по меньшей мере одна повторная доза (буст) каждый год или через каждые два года, к примеру.

Все это лишь примеры, предусматриваются и любые другие схемы вакцинации.

Профилактика или лечение опухолей

Нуклеиновые кислоты или иммуногенные композиции, которые описаны выше, применимы в способе профилактики или лечения опухолей у пациентов.

Описан способ профилактики или лечения опухолей у пациентов, который включает введение эффективного количества указанной нуклеиновой кислоты или иммуногенной композиции нуждающемуся в этом пациенту. Данная нуклеиновая кислота или иммуногенная композиция вводится в количестве, достаточном для того, чтобы

вызвать иммунный ответ у пациента.

Опухоль может представлять собой любую нежелательную пролиферацию клеток, в частности, доброкачественную опухоль или злокачественную опухоль, особенно рак.

Рак может быть на любой стадии развития, в том числе метастатической стадии. Рак может быть хроническим или не хроническим (острым).

В предпочтительном воплощении опухоль представляет собой солидный рак или карциному. Примеры включают меланомы, опухоли головного мозга типа глиобластомы, нейробластомы и астроцитомы, карциномы мочевого пузыря, молочной железы, шейки матки, толстой кишки, легких, в особенности немелкоклеточный рак легких (NSCLC), рак поджелудочной железы, простаты, головы и шеи или рак желудка.

В другом воплощении опухоль может представлять собой жидкую опухоль, напр., гемопоэтическую опухоль или лейкемию типа хронической или острой лимфоцитарной лейкемии, хронической или острой миелоидной лейкемии, лимфомы, включая болезнь Ходжкина, множественной миеломы, злокачественной миеломы.

В предпочтительном воплощении лечение по изобретению может комбинироваться с традиционной терапией, включая химиотерапию, лучевую терапию или хирургию. Также может применяться комбинирование с молекулами иммуномодулирующих адъювантов типа GM-CSF или цитокинами типа IL-2 или IL-12.

Фигуры и примеры иллюстрируют изобретение, не ограничивая его объем.

Пример I

Сокращения

AA: аминокислота; APC: антигенпрезентирующая клетка; п.н.: пара нуклеотидов(оснований); CTL: цитотоксический Т-лимфоцит; CMV: цитомегаловирус; ДНК: дезоксирибонуклеиновая кислота; EP: электропорация; HTLV-1: Т-лимфотропный вирус I типа человека; hTERT: обратная транскриптаза теломеразы человека; ID: внутрикожно; IM: внутримышечно; IV: внутривенно; LTRs: длинные концевые повторы; NoLS: последовательность ядрышковой локализации; PBMC: мононуклеары периферической крови; RIG-I: индуцируемый ретиноевой кислотой ген 1; РНК: рибонуклеиновая кислота; RT: комнатная температура; RTA: относительная теломеразная активность; SC: подкожно; TRAP: протокол амплификации теломерных повторов; TERT: обратная транскриптаза теломеразы; Ubi: убиквитин; VDD: валин-аспарагиновая кислота-аспарагиновая кислота.

Материалы и методы

Плазмидные ДНК-векторы

INVAC-1

INVAC-1 представляет собой экспрессирующий вектор типа плазмиды в 7120 п.н., кодирующий слитую конструкцию убиквитин человека-теломеразы из 1158 а.к. (Ubi-hTERT), что соответствует белку примерно в 127,4 кДа (фиг. 1А и 16). Поскольку INVAC-1 предназначается для применения на людях, то по соображениям безопасности у теломеразы была инактивирована энзиматическая активность обратной транскриптазы. Так, последовательность кодируемой INVAC-1 TERT человека в каталитическом сайте была модифицирована посредством делеции 9 п.н., кодирующих три аминокислоты: валин-аспарагиновая кислота-аспарагиновая кислота (а.к. 867-869), сокращенно VDD в однобуквенной кодировке (фиг. 2А). Кроме того, 47 а.к. в N-концевой части белка, которые включают последовательность ядрышковой локализации (NoLS), необходимую для субклеточной локализации теломеразы (Yang, 2002), были заменены на последовательность (а.к. 1-76), кодирующую убиквитин (Ubi).

Трансген Ubi-hTERT вставляли в каркас проверенного вектора NTC (Nature Technology Corporation, Lincoln, Nebraska), сочетающего тщательно разработанные синтетические гены для высокого выхода бактериальной продукции, и повышенной экспрессии в клетках млекопитающих и вследствие этого эффективные иммунные реакции.

Экспрессия целевого гена управляется из оптимизованного химерного промотора-интрона (синтетический интрон R SV40-CMV-HTLV-1), состоящего из промотора CMV и начала экзона 1, последовательности R HTLV-I, которая содержит 5'-акцепторный сайт сплайсинга, синтетический 3'-акцепторный сайт на основе интрона β -глобина кролика, усилитель сплайсинга экзона 2, содержащий сайт связывания богатого серином-аргинином (SR) белка для улучшения экспорта РНК (Lavigne et al., 1993), и последовательность Козака из экзона 2 перед старт-кодonom целевого гена. ДНК между стоп-кодonom и терминатором ограничили, чтобы уменьшить возможность скрытой экспрессии пептида или непреднамеренного изменения экспрессии посредством микроРНК.

Для улучшения клеточных иммунных реакций вектор кодирует транскрибируемую РНК-полимеразой III двухцепочечную РНК агониста индуцируемого ретиноевой кислотой гена-1 (RIG-I) активатора врожденного иммунитета.

У этого вектора нет известных признаков вирулентности. Плазмида не подвергается репликации в эукариотических клетках мишени. Сам каркас вектора не

содержит последовательностей, кодирующих белки, и в каркасе вектора не было установлено альтернативных открытых рамок считывания, кодирующих белки, следовательно, не имеется генов устойчивости к антибиотикам. Отбор плазмиды осуществляется при помощи селективного маркера для отбора на лишенной антибиотиков сахарозе (RNA-OUT).

Синтез и клонирование гена

Ген Ubi-hTERT синтезировали *de novo* методом сборки из перекрывающихся олигонуклеотидов – 40-меров (GeneCust, Люксембург). Делали несколько консервативных замен оснований, чтобы устранить рестрикционные сайты и истощить богатые GC последовательности. Вставку клонировали в экспрессирующий вектор pcDNA3.1(+) (Invitrogen, Carlsbad, США) по сайтам клонирования HindIII-XbaI и проверяли секвенированием.

Субклонирование вставки Ubi-hTERT в клонирующий вектор NTC8685-eRNA41H-HindIII-XbaI

Вставку убиквитин-теломераза клонировали в экспрессирующий вектор NTC8685-eRNA41H-HindIII-XbaI, разработанный на фирме NTC. Однако их наиболее подходящий вектор NTC8685-eRNA41H (№ NTC-DV8685-41HLV) не имеет рестрикционных сайтов, совместимых со вставкой Ubi-hTERT. Соответственно, этот вектор расщепляли с помощью SalI и BglII и лигировали с синтетическим двухцепочечным олигонуклеотидом, содержащим соответствующие рестрикционные сайты для субклонирования Ubi-hTERT, т.е. Hind III-XbaI:

SalI **HindIII** SmaI **XbaI** BglII
 GTCGACAAGCTTCCCGGGTCTAGAAGATCT (SEQ ID NO: 23)

Этот новый вектор (NTC8685-eRNA41H-HindIII-XbaI), который теперь включает в себя вышеприведенный полилинкер, проверяли путем рестрикционного расщепления и секвенирования с помощью праймеров pVAC5' (GCTTTTCTGCCAGGTGCTGA, SEQ ID NO: 24) и pVAC3' (GCCAGAAGTCAGATGCTCAA; SEQ ID NO: 25) для отжига с последовательностями перед и после сайта полилинкера, соответственно.

Изготовленный по заказу вектор NTC8685-eRNA41H-HindIII-XbaI расщепляли с помощью HindIII и XbaI и вектор в 3631 п.н. очищали в геле от линкера в 12 п.н. Конструкцию pcDNA3.1-Ubi-hTERT расщепляли с помощью HindIII и XbaI и вставку Ubi-hTERT в 3489 п.н. переносили путем лигирования в акцептор NTC8685-eRNA41H-HindIII-XbaI, получая NTC8685-eRNA41H-HindIII-XbaI-Ubi-hTERT (INVAC-1) (фиг. 1А). Продукт лигирования путем трансформации вводили в клетки NTC4862 для свободного от антибиотиков отбора (DH5α att_λ::P_{5/6} 6/6-RNA-IN-SacB, catR) (№ NTC-DVU-CC1).

Полученный вектор проверяли путем рестрикционного расщепления (фиг. 1B): BglII/NotI = полосы в 3496, 3262, 220, 142 п.н.; NcoI = полосы в 4084, 3036 п.н.; HindIII/XbaI = полосы в 3631, 3489 п.н., а концы вставки Ubi-hTERT проверяли путем секвенирования ДНК с помощью праймеров pVAC5' и pVAC3'. Не было выявлено никаких изменений нуклеотидов.

Продукция плазмиды

INVAC-1 сначала производилась на фирме NTC в условиях уровня качества для исследования. ДНК плазмиды путем трансформации вводили в клетки *E. coli* NTC4862 с помощью электропорации. Клетки высевали и культивировали на средах с 6% сахарозы согласно рекомендациям производителя (NTC Instruction Manual, June 2011). После экстрагирования плазмидную ДНК ресуспендировали в лишенном эндотоксинов 1×PBS до конечной концентрации 2 мг/мл.

Впоследствии INVAC-1 производилась на фирме Eurogentec (Бельгия) в масштабе GLP и GMP и на производстве типа GMP. В это же время проводилось полноразмерное секвенирование плазмиды INVAC-1.

Производные INVAC-1

Все конструкции производных INVAC-1 представляют собой плазмиды из двухцепочечной ДНК примерно в 8,9 т.п.о., кодирующие слитые белки убиквитин-теломераза человека, которые энзиматически неактивны (фиг. 2A). Трансгены Ubi-hTERT вставляли в вектор pcDNA3.1(+) от Invitrogen (5,4 т.п.о.), происходящий из pcDNA3.0, который был разработан для стабильной или краткосрочной экспрессии на высоком уровне в клетках млекопитающих. Этот вектор содержит самый ранний промотор цитомегаловируса человека (CMV-IE) и сигнал полиаденилирования бычьего гормона роста (BHG-polyA) в качестве последовательности терминации.

pUTD10Not (сокращенно Δ10Not)

Кодирующая hTERT последовательность располагается между нуклеотидом 923 и 4492 п.н. каркаса плазмиды pcDNA3.1. pUTD10Not кодирует слитый белок убиквитин человека-теломераза из 1189 а.к. (Δ10Not), что соответствует молекулярной массе примерно в 130,8 кДа (фиг. 2A). Из hTERT были удалены первые 23 аминокислоты (а.к. 1-23), которые заменены полипептидом убиквитина (76 а.к.). В области каталитического сайта введена дополнительная делеция между аминокислотами 912-913 (метка *, фиг. 17), что соответствует а.к. 860-869 ((DGLLLRLVDD; SEQ ID NO: 21) у hTERT дикого типа (номер доступа NM_198253). Эта делеция 10 аминокислот включает делецию 3 а.к. (ΔVDD), приводящую к инактивации ферментативной активности hTERT, и делецию дополнительных 7 а.к. перед последовательностью VDD. Четырнадцать аминокислот на

С-концевой последовательности Ubi-hTERT кодируют эпитопный тег V5 (фиг. 2А).

pUTD10Cog (сокращенно Δ10Cog)

Кодирующая hTERT последовательность располагается между нуклеотидом 923 и 4492 п.н. каркаса плазмиды pcDNA3.1. pUTD10Cog кодирует слитый белок убиквитин человека-теломераза из 1189 а.к. (Δ10Cog), что соответствует молекулярной массе примерно в 130,8 кДа (фиг. 2А). Из hTERT были удалены первые 23 аминокислоты (а.к. 1-23), которые заменены полипептидом убиквитина (76 а.к.). В области каталитического сайта введена дополнительная делеция между аминокислотами 912-913 (метка *, фиг. 18), что соответствует а.к. 867-876 (**VDDFLLVTPH**; SEQ ID NO: 22) у hTERT дикого типа (номер доступа NM_198253). Эта делеция 10 аминокислот включает делецию 3 а.к. (ΔVDD), приводящую к инактивации ферментативной активности hTERT, и делецию дополнительных 7 а.к. после последовательности VDD. Четырнадцать аминокислот на С-концевой последовательности Ubi-hTERT кодируют эпитопный тег V5 (фиг. 2А).

pUTD23Tyn (сокращенно Δ23)

Кодирующая hTERT последовательность располагается между нуклеотидом 923 и 4453 п.н. каркаса плазмиды pcDNA3.1. pUTD23Tyn кодирует слитый белок убиквитин человека-теломераза из 1176 а.к. (Δ23), что соответствует молекулярной массе примерно в 129,4 кДа (фиг. 2А). Из hTERT были удалены первые 23 аминокислоты (а.к. 1-23), которые заменены полипептидом убиквитина (76 а.к.). В области каталитического сайта введена дополнительная делеция между аминокислотами 909-910 (метка *, фиг. 19), что соответствует а.к. 857-879 (**IRRDGLLLRLVDDFLLVTPHLTH**; SEQ ID NO: 26) у hTERT дикого типа (номер доступа NM_198253). Эта делеция 23 аминокислот включает делецию 3 а.к. (ΔVDD), приводящую к инактивации ферментативной активности hTERT, и делеции дополнительных 10 а.к. перед и 10 а.к. после последовательности VDD. Четырнадцать аминокислот на С-концевой последовательности Ubi-hTERT кодируют эпитопный тег V5 (фиг. 2А).

Синтез и клонирование генов

Гены синтезировали *de novo* в виде слитых конструкций убиквитин-теломераза методом сборки из перекрывающихся олигонуклеотидов – 40-меров (GeneCust, Люксембург). Синтез генов включал уникальные фланговые рестрикционные сайты HindIII/XbaI для субклонирования гена в желательной системе экспрессии. Синтезированные гены клонировали между рестрикционными сайтами HindIII и XbaI экспрессирующего вектора pcDNA3.1(+) (Invitrogen, Carlsbad, США). Последовательности плазмид проверяли путем секвенирования с помощью праймеров PEGFP-N5' (CGGTGGGAGGTCTATATAAG; SEQ ID NO: 27) и BGH (CAGGGTCAAGGAAGGCAC;

SEQ ID NO: 28).

Продукция плазмид

Все производные INVAC-1 подвергали трансформации и производили в клетках *E. coli* 5-α (fhuA2Δ(argF-lacZ)U169 phoA glnV44 Φ80 Δ(lacZ)M15 gyrA96 recA1 relA1 endA1 thi-1 hsdR17) (Lucigen Corporation, Middleton, США, № 60602-2) на фирме RD Biotech (Besançon, Франция). Готовили концентрированные препараты лишенных эндотоксинов плазмид типа гигапреп (2 мг/мл) и ресуспендировали их в стерильном 1×PBS. Векторы проверяли методом рестрикционного картирования (HindIII-XbaI; фиг. 2B).

pTRIP-CMV-hTERT

pTRIP-CMV-hTERT кодирует белок TERT дикого типа человека (hTERT) из 1132 а.к. (что соответствует примерно 124,5 кДа) с каталитической активностью. Эта плазмида использовалась в качестве положительного контроля для анализов *in vitro*. Конструкция была впервые описана в патентной заявке WO 2007/014740. pTRIP-CMV-hTERT конструировали, сначала субклонируя вставку EcoRI-SalI hTERT, полученную из плазмиды pBABE-hygro-hTERT (любезно предоставленной Dr. Robert Weinberg), в вектор pSP73 (Promega Life Science, Wisconsin, США), получая конструкцию pSPhTERT. Затем фрагмент BglII-SalI вставляли в ретровирусный вектор pTRIP-CMV, расщепленный BamHI и XhoI, получая pTRIP-CMV-hTERT. Экспрессия hTERT управляется промотором цитомегаловируса человека (CMV).

Плазмиду pTRIP-CMV-hTERT подвергали трансформации и производили в клетках *E. coli* 5-α (fhuA2Δ(argF-lacZ)U169 phoA glnV44 Φ80 Δ(lacZ)M15 gyrA96 recA1 relA1 endA1 thi-1 hsdR17) (Lucigen Corporation, Middleton, США, № 60602-2) на фирме RD Biotech (Besançon, Франция).

Готовили концентрированный препарат лишенной эндотоксинов плазмиды типа гигапреп (2 мг/мл) и ресуспендировали его в стерильном 1×PBS. Полученный вектор проверяли путем расщепления рестрикционными ферментами (EcoRI + BamHI = полосы в 10286 + 2720 + 886 п.н.).

pNTC-hTERT

pNTC-hTERT кодирует белок TERT дикого типа человека (hTERT) из 1132 а.к. с каталитической активностью (SEQ ID NO: 2). Эта плазмида использовалась для исследования широты реакции hTERT-специфичных Т-клеток *in vivo* в сравнении с конструкцией INVAC-1.

Вставку hTERT дикого типа синтезировали *de novo* с сайтами клонирования HindIII-XbaI методом сборки из перекрывающихся олигонуклеотидов (GenScript, США). Синтетическую конструкцию (3417 п.н.) клонировали в pUC57 (2710 п.н.) по сайтам

HindIII и XbaI, а затем проверяли путем секвенирования с помощью праймеров M13/pUC (-20) и M13/pUC (-26) и рестрикционного картирования (HindIII/XbaI). После этого вставку hTERT субклонировали на фирме NTC в клонирующий вектор NTC8685-eRNA41H-HindIII-XbaI, как описано выше (см. конструкцию INVAC-1). Полученный вектор pNTC-hTERT проверяли путем рестрикционного расщепления (XmaI = полосы в 4375, 2041, 506, 120 п.н.; BamHI/XmnI = полосы в 6887, 155 п.н.; HindIII/XbaI = полосы в 3631, 3411 п.н.) и секвенирования ДНК с помощью праймеров pVAC5', pVAC3' и hTERTseq (5'-GGCAAGTCCTACGTCCAGTG-3'; SEQ ID NO: 44).

Плазмида pNTC-hTERT производилась на фирме NTC в условиях уровня качества для исследования, как описано выше для плазмиды INVAC-1.

pNTC-hTERT-ΔVDD

pNTC-hTERT-ΔVDD кодирует последовательность TERT человека (hTERT) в 1129 а.к., модифицированную в каталитическом сайте делецией 9 п.н., кодирующих валин-аспарагиновая кислота-аспарагиновая кислота (ΔVDD; а.к. 867-869). Эта плазмида использовалась для исследования широты реакций hTERT-специфичных Т-клеток *in vivo* в сравнении с конструкцией INVAC-1.

Последовательность ДНК hTERT-ΔVDD идентична hTERT дикого типа, за исключением делеции 3 аминокислот (ΔVDD). Вставку ДНК hTERT в 167 п.н., включающую фрагмент BamHI/XmnI в 152 п.н., но с делецией ΔVDD и дополнительным рестрикционным сайтом EcoRV, синтезировали *de novo* на фирме GenScript. Этот синтетический фрагмент клонировали в вектор pUC57 (2710 п.н.) по сайтам клонирования EcoRV. Синтезированный ген проверяли путем секвенирования с помощью праймеров M13/pUC (-20) и M13/pUC (-26) и рестрикционного расщепления (BamHI/NdeI). Затем этот вектор расщепляли по сайтам BamHI/XmnI и фрагмент ΔVDD-BamHI/XmnI клонировали в предварительно расщепленный BamHI/XmnI участок hTERT вектора pNTC-hTERT (полосы в 6887, 155 п.н.). Полученный при этом вектор pNTC-hTERT-ΔVDD проверяли путем рестрикционного расщепления (XmaI = полосы в 4375, 2032, 506, 120 п.н.; BamHI/XmnI = полосы в 6887, 146 п.н.; HindIII/XbaI = полосы в 3631, 3402 п.н.) и секвенирования ДНК с помощью праймеров pVAC5', pVAC3' и hTERTseq (5'-GGCAAGTCCTACGTCCAGTG-3'; SEQ ID NO: 44).

Культивирование клеток и краткосрочная трансфекция для анализа методами вестерн-блот и TRAP

Клетки линии CrFK (из почек кошки Crandell Rees), HEK293T (эмбриональных почек человека) и HeLa (Henrietta Lacks' – аденокарцинома шейки матки человека) культивировали в модифицированной Дюльбекко среде Игла (DMEM) с добавлением 10%

инактивированной нагреванием фетальной телячьей сыворотки (PAA, Velizy-Villacoublay, Франция) и 1% пенициллина/стрептомицина (Life Technologies, Saint-Aubin, Франция).

Клетки линии QT6 (фибросаркома японского перепела) культивировали в среде Ham's F10 (Eurobio, Courtaboeuf, Франция) с добавлением 10% инактивированной нагреванием фетальной телячьей сыворотки (PAA), 1% пенициллина/стрептомицина (Life Technologies), 1% куриной сыворотки (PAA), 10 мМ L-глутамина (Sigma-Aldrich, St. Louis, США), 0,5% триптозного бульона (Sigma-Aldrich, St. Louis, США).

Клетки культивировали в виде монослоя в чашках на 75 см² при 37°C в увлажненной атмосфере, содержащей 5% CO₂. Клетки культивировали до конfluence 70-80% в день трансфекции. Для метода вестерн-блот высевали 5×10⁵ клеток в 6-луночные планшеты для тканевой культуры и инкубировали в течение 24 ч. Для метода TRAP высевали 7×10⁵ клеток в 6-луночные планшеты для тканевой культуры и инкубировали в течение 24 ч.

Конструкции INVAC-1 и производных INVAC-1 вводили путем трансфекции в клетки мишени с помощью реагента для трансфекции – катионного полимера jetPrime согласно инструкциям изготовителя (Polyplus-transfection Inc., Франция). В качестве положительного контроля использовали клетки, трансфецированные плазмидой pTRIP-CMV-hTERT, а в качестве отрицательного контроля – нетрансфецированные клетки или клетки, трансфецированные пустой плазмидой pNTC8685-eRNA41H. Через 4 часа трансфекционные среды удаляли и заменяли на 2 мл культуральной среды DMEM. После соответствующего времени для трансфекции – 18-96 часов для метода вестерн-блот и 24 ч для метода TRAP, клетки собирали и подвергали анализу на экспрессию и активность теломеразы.

Вестерн-блот

Для метода вестерн-блот трансфецированные клетки CrFK и HEK293T лизировали на льду в течение 10-20 минут в буфере RIPA (Sigma-Aldrich, St. Louis, США) с добавлением коктейля ингибиторов протеаз (Roche Diagnostic, Indianapolis, США). Лизаты осветляли центрифугированием при 14000 об/мин в течение 15 минут при 4°C. Собирали супернатанты и измеряли концентрацию белка колориметрическим методом Брэдфорда. Образцы белка денатурировали 5 мин при 95°C, разделяли на 4-12% гелях Nu-PAGE® Novex Bis-Tris (Invitrogen, Carlsbad, США) и подвергали электроблоттингу на мембраны PVDF (пакет для переноса iBlot®, Invitrogen, Carlsbad, США) с помощью устройства iBlot® (Invitrogen, Carlsbad, США). Для определения молекулярной массы использовали маркер молекулярной массы белка Sharp Prestained Protein Ladder Novex® (Invitrogen, Carlsbad, США). Мембраны нарезали примерно по 60 кДа и блокировали с помощью 1×PBS, 0,05%

Tween[®] 20, 3% молока. Верхнюю часть мембраны анализировали с помощью моноклонального антитела кролика против hTERT (Abcam, Cambridge, UK), разведенного 1/2000 в блокирующем буфере, или моноклонального антитела мыши против V5 (Invitrogen, Carlsbad, США), разведенного 1/5000. Нижнюю часть мембраны анализировали с помощью моноклонального антитела мыши против β -актина (Sigma-Aldrich SARL, Saint-Quentin Fallavier, Франция), разведенного 1/5000. Наконец, соответствующие белки визуализировали путем окрашивания с помощью соответствующего вторичного антитела, конъюгированного с пероксидазой хрена (HRP), в течение 1 ч при комнатной температуре – соединенного с HRP антитела против мыши (GE Healthcare, Vélizy, Франция), разведенного 1/5000, или соединенного с HRP антитела против кролика (Cell Signaling, Danvers, США), разведенного 1/1000 в блокирующем буфере. Сигналы на иммуноблоте проявляли методом усиленной хемилюминесценции с помощью набора реагентов с хемилюминесцентным субстратом ECL для HRP. Пленки и соответствующие кассеты приобретали у фирмы GE Healthcare (Buckinghamshire, UK).

Метод TRAP

Активность теломеразы определяли по протоколу амплификации теломерных повторов (TRAP) (Kim et al., 1994) с помощью набора TeloTAGGG Telomerase PCR ELISAPlus kit (Roche Diagnostic GmbH, Mannheim, Германия) согласно инструкциям изготовителя. Через 24 часа после трансфекции, как описано выше, собирали клетки CrFK. Клетки промывали 1×PBS с последующим центрифугированием при 1600 об/мин в течение 5 минут при 4°C. Клетки ресуспендировали в 0,2 мл буфера для лизиса и инкубировали на льду в течение 30 минут. Лизаты осветляли центрифугированием при 14000 об/мин, 20 мин при 4-8°C. Собирали супернатанты и измеряли концентрацию белка колориметрическим методом Брэдфорда. Супернатанты использовали для опосредованного теломеразой удлинения теломерных последовательностей, а продукты амплифицировали методом ПЦР с использованием биотинилированных праймеров. Каждый клеточный супернатант предварительно разделяли на две порции перед выполнением анализа: одну использовали для получения отрицательного контроля путем тепловой инактивации теломеразы в течение 10 мин при 85°C, а другую использовали для оценки опосредованного теломеразой удлинения теломерных последовательностей. Кроме того, одновременно амплифицировали внутренний стандарт длиной 216 п.н., присутствующий в реакционной смеси, чтобы исключить ложноотрицательные результаты из-за ингибиторов ДНК-полимеразы Taq, которые могут присутствовать в лизатах. В качестве отрицательного контроля использовали буфер для лизиса. Все реакционные смеси инкубировали 20 мин при 25°C, а затем 5 мин при 94°C.

Теломеразные продукты амплифицировали за 30 циклов ПЦР: 30 сек при 94°C, 30 сек при 50°C, 90 сек при 72°C, а в завершение 1 цикл в течение 10 мин при 72°C и оставляли при 4°C.

По 2,5 мкл продуктов ПЦР-амплификации инкубировали 10 минут при комнатной температуре с денатурирующим реагентом, представленным в наборе. После инкубации в каждую лунку добавляли 100 мкл буфера для гибридизации. Каждый раствор перемешивали, по 100 мкл переносили в покрытый стрептавидином микропланшет и инкубировали 2 часа при 37°C с осторожным перемешиванием (300 об/мин). Затем лунки отмывали промывочным буфером и инкубировали со связанным с пероксидазой хрена (HRP) антителом против дигоксигенина (1/50) в течение 30 минут при комнатной температуре. Затем добавляли субстрат HRP (TMB) на 15 минут при комнатной температуре для колориметрического измерения. Реакцию останавливали с помощью стоп-реагента для ELISA.

Уровень теломеразной активности в каждом образце определяли путем сравнения сигнала от образца с сигналом, полученным с использованием известного количества матрицы положительного контроля (ДНК-матрица с такой же последовательностью, как у продукта теломеразы с 8 теломерными повторами). Значения поглощения приводятся в виде A_{450} против холостой пробы (длина волны сравнения: A_{690} нм). Относительную теломеразную активность (RTA) получали по следующей формуле:

$$RTA = [(A_s - A_{s0})/A_{s,IS}]/[(A_{TS8} - A_{TS8,0})/A_{TS8,IS}] \times 100,$$

где:

A_s – поглощение образца,

A_{s0} – поглощение обработанного нагреванием образца,

$A_{s,IS}$ – поглощение внутреннего контроля (IS) в образце,

A_{TS8} – поглощение контрольной матрицы (TS8),

$A_{TS8,0}$ – поглощение буфера для лизиса,

$A_{TS8,IS}$ – поглощение внутреннего контроля (IS) в контрольной матрице (TS8).

Иммунофлуоресценция

Клетки CrFK, HEK293T, Hela и QT6 высевали на 8-луночные предметные стекла Lab-Tek® (Sigma-Aldrich, St. Louis, США) по 2×10^4 клеток на лунку в 200 мкл культуральной среды и инкубировали в течение ночи при 37°C, 5% CO₂. На следующий день культуральную среду отбрасывали и добавляли 200 мкл свежей среды. В соответствующие лунки добавляли 10 мкл раствора смеси, содержащей 0,2 мкг INVAC-1, pTRIP-CMV-hTERT или контрольной пустой плазмиды pNTC8685-eRNA41H и 0,5 мкл Eugene HD (Promega France, Charbonnières-les-Bains, Франция) в OptiMEM (Life

Technologies, Saint-Aubin, Франция). В качестве отрицательного контроля использовали по 2×10^4 необработанных клеток на лунку. Предметные стекла инкубировали в течение 24 и 48 часов при 37°C, 5% CO₂. Трансфецированные клетки тщательно промывали 1×PBS и в каждую лунку добавляли 200 мкл 2% PFA на 10 мин при 4°C для того, чтобы фиксировать и сделать клетки проницаемыми. Затем лунки дважды промывали 1×PBS с 0,05% Tween[®]20 и инкубировали 30 мин при комнатной температуре с 200 мкл блокирующего раствора (0,5% Triton X100, Sigma-Aldrich; 3% BSA, Sigma-Aldrich; 10% козьей сыворотки, Invitrogen; в 1×PBS с 0,05% Tween[®]20). На клетки наносили первичное моноклональное антитело кролика против hTERT (Abcam, Cambridge, UK), разведенное 1/100 в блокирующем буфере, на 1,5 ч при комнатной температуре с перемешиванием. После трех промывок в 1×PBS с 0,05% Tween[®]20 наносили вторичное козье антитело против кролика с Alexa Fluor 488[®] (Life Technologies, Saint-Aubin, Франция), разведенное в блокирующем растворе (1/500), на 45 мин при комнатной температуре с перемешиванием. Лунки три раза отмывали 1×PBS с 0,05% Tween[®]20 и заключали в заливочную среду VectaShield[®], содержащую DAPI (Vector Laboratories, Cambridgeshire, UK). Предметные стекла анализировали под флуоресцентным микроскопом (Axio Observer Z1, Carl Zeiss MicroImaging GmbH, Jena, Германия), оснащенным системой обработки и анализа изображений (AxioVision, Carl Zeiss MicroImaging GmbH, Jena, Германия).

Мыши

Самок мышей C57BL/6 (6-8-недельных) приобретали у Janvier Laboratories (Saint-Berthevin, France).

Использовали две трансгенные линии мышей: HLA-B*0702 и HLA-A2/DR1.

Трансгенные мыши HLA-B*0702 экспрессируют домены $\alpha 1$ - $\alpha 2$ молекулы HLA-B*0702 человека и домен $\alpha 3$ молекулы H2D мыши. Эти мыши не экспрессируют молекулы H2-D^b и H2-K^b (Rohrlich et al., 2003).

Трансгенные мыши HLA-A2/DR1 экспрессируют домены $\alpha 1$ - $\alpha 2$ HLA-A*0201 человека, домен $\alpha 3$ молекулы H2D мыши и $\beta 2$ -микроглобулин человека. Кроме того, эти трансгенные мыши экспрессируют молекулы HLA-DRB1*0101 и HLA-DRA*0101 человека. Они нокауты по генам H2-D^b, H2-K^b и IA^b мыши (Pajot et al., 2004).

Обе трансгенные линии мышей использовались в возрасте от 6 до 10 недель и их получали из Pasteur Institute of Paris. Животных содержали в свободном от патогенов виварии Института Пастера (виварий Lwoff n°22, соглашение № В 75 15-07). Перед внутрикожной (ID), внутримышечной (IM) или подкожной (SC) иммунизацией или внутривенным (IV) введением мышей анестезировали раствором смеси 2% ксилазина

(Rompun, Bayer Santé, Loos, Франция) и 8% кетамина (Imalgen 1000, Merial, Lyon, Франция) в 1×фосфатно-солевом буфере (1×PBS, Life Technologies, Saint-Aubin, Франция) внутривенно (IP) в соответствии с весом индивидуального животного и продолжительностью анестезии. Все работы с животными велись в строгом соответствии с принципами надлежащего обращения с животными и соответствовали местным нормам по экспериментам на животных (Директива 2010/63/UE).

Пептиды hTERT

Пептиды hTERT, рестрицированные (ограниченные по) HLA-B*0702, HLA-A*0201 или HLA-DR, были описаны ранее (см. ссылки в табл. 1). Пептиды hTERT, рестрицированные (ограниченные по) H2-D^b и H2-K^b, определяли путем прогнозирования эпитопов *in silico* для связывания с молекулами МНС мыши класса I с помощью четырех алгоритмов, доступных в сети: Syfpeithi (<http://www.syfpeithi.de/>), Bimas (<http://www-bimas.cit.nih.gov/>), NetMHCpan и SMM (<http://tools.immuneepitope.org/main/>). Все синтетические пептиды приобретали в лиофилизованном виде (чистота >90%) у фирмы Proimmune (Оксфорд, Великобритания). Лيوфилизованные пептиды растворяли в стерильной воде при 2 мг/мл и хранили при -20°C до использования. Сведения о последовательностях пептидов и МНС-рестрикции представлены в таблице 1.

Таблица 1. Пептиды hTERT и МНС-рестрикция

Код пептида (ссылка)	Последовательность	МНС- рестрикция	Линия мышей
277 (Adotevi et al., 2006)	RPAEEATSL (SEQ ID NO: 30)	HLA-B*0702	трансгенные HLA-B7
351 (Adotevi et al., 2006)	RPSLTGARRL (SEQ ID NO: 29)		
1123 (Cortez-Gonzalez et al., 2006)	LPSDFKTIL (SEQ ID NO: 31)		
540 (Firat et al., 2002)	ILAKFLHWL (SEQ ID NO: 32)	HLA-A*0201	трансгенные HLA-A2/DR1
Y572 (Firat et al., 2002)	YLFFYRKSV (SEQ ID NO: 33)		
Y988 (Firat et al., 2002)	YLQVNSLQTV (SEQ ID NO: 34)		
UCP2.1 (Dosset et al., 2012)	SVWSKLQSI (SEQ ID NO: 35)	HLA-A*0201	
UCP4.1 (Dosset et al., 2012)	SLCYSILKA (SEQ ID NO: 36)	HLA-A*0201	
UCP2 (Godet et al., 2012)	KSVWSKLQSIGIRQH (SEQ ID NO: 37)	HLA-DR	трансгенные HLA-A2/DR1
UCP3 (Godet et al., 2012)	GTAQVQMPAHGLFPW (SEQ ID NO: 38)		
UCP4 (Godet et al., 2012)	SLCYSILKAKNAGMS (SEQ ID NO: 39)		
429	RPIVNMDYV (SEQ ID NO: 40)	H2D ^b	C57/BL6J
660	HAQCPYGVV (SEQ ID NO: 41)	H2K ^b	C57/BL6J

1034	QAYRFHACVL (SEQ ID NO: 42)	H2K ^b	C57/Bl6J
1021	QTVCTINIYKI (SEQ ID NO: 43)	H2D ^b	C57/Bl6J

Библиотека пептидов hTERT

Леофилизированные пептиды hTERT (чистота > 70%) приобретали у GenScript (США). Этот набор состоит из 269 пептидов по 15 а.к. с перекрытием в 11 а.к. и охватывает всю последовательность белка hTERT из INVAC-1. Перед использованием каждый пептид ресуспендировали в дистиллированной воде при 2 мг/мл согласно рекомендациям поставщика и хранили в замороженном виде при -20°C. Двадцать семь пулов по 9-10 перекрывающихся пептидов hTERT (таблица 2) использовали для изучения широты реакций hTERT-специфичных Т-клеток методом ELISpot на IFN γ .

Таблица 2. Пулы перекрывающихся пептидов hTERT

P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9	P10	P11	P12	P13	P14	P15	P16	P17	P18	P19	P20	P21	P22	P23	P24	P25	P26	P27
1	11	21	31	41	51	61	71	81	91	101	111	121	131	141	151	161	171	181	191	201	211	221	231	241	251	261
2	12	22	32	42	52	62	72	82	92	102	112	122	132	142	152	162	172	182	192	202	212	222	232	242	252	262
3	13	23	33	43	53	63	73	83	93	103	113	123	133	143	153	163	173	183	193	203	213	223	233	243	253	263
4	14	24	34	44	54	64	74	84	94	104	114	124	134	144	154	164	174	184	194	204	214	224	234	244	254	264
5	15	25	35	45	55	65	75	85	95	105	115	125	135	145	155	165	175	185	195	205	215	225	235	245	255	265
6	16	26	36	46	56	66	76	86	96	106	116	126	136	146	156	166	176	186	196	206	216	226	236	246	256	266
7	17	27	37	47	57	67	77	87	97	107	117	127	137	147	157	167	177	187	197	207	217	227	237	247	257	267
8	18	28	38	48	58	68	78	88	98	108	118	128	138	148	158	168	178	188	198	208	218	228	238	248	258	268
9	19	29	39	49	59	69	79	89	99	109	119	129	139	149	159	169	179	189	199	209	219	229	239	249	259	269
10	20	30	40	50	60	70	80	90	100	110	120	130	140	150	160	170	180	190	200	210	220	230	240	250	260	

Линия опухолевых клеток

Линия опухолевых клеток Sarc-2, которая использовалась для оценки противоопухолевого эффекта INVAC-1, была получена из спонтанной фибросаркомы у мыши HLA-A2/DR3. Опухолевую массу диссоциировали в стерильных условиях и получали первичную суспензию клеток. Было показано, что эта линия клеток экспрессирует молекулу HLA-A*0201. Клетки культивировали в среде RPMI glutamax (Life Technologies) с добавлением 10% FBS (Life Technologies) и 1% пенициллина/стрептомицина.

Иммунизация мышей и процедура электропорации in vivo

Интрадермальная (ID) иммунизация проводилась в нижней части боков мышей с помощью инсулиновых шприцов и специальных игл (U-100, 29GX1/2" – 0,33×12 мм, Terumo, Бельгия) после бритья. Ни после бритья, ни во время и после процедур иммунизации не наблюдалось никаких эритем. Внутримышечная (IM) иммунизация проводилась в передней части мышцы *tibialis cranialis*, также с помощью инсулиновых шприцов и специальных игл U-100. Подкожная (SC) иммунизация проводилась у основания хвоста, также с помощью инсулиновых шприцов и специальных игл U-100. Каждое животное получало первичную IM, ID или SC инъекцию плазмиды (INVAC-1,

NTC, pUTD10Not, pUTD10Cog или pUTD23Tyn), соответствующую 12,5, 25, 50, 100, 200, 400, 800 или 1200 мкг ДНК, либо 1×PBS, в зависимости от эксперимента. В соответствии с режимом вакцинации, мыши могли получать аналогичную вторую или третью инъекцию ДНК либо 1×PBS.

Электропорация ДНК *in vivo* проводилась с помощью системы электропорации Cliniporator® 2 с программным обеспечением (IGEA, Италия), снабженной пластинчатыми электродами (P-30-8G, IGEA). Непосредственно после ID или SC вакцинации, по месту инъекции делали кожную складку, полностью покрытую проводящим гелем (Labo FH, синий контактный гель, NM Médical, Франция), и помещали её между пластинчатыми электродами. Подавали два импульса различного напряжения (HV-LV): HV: 1250 В/см, 1 Гц, 100 мкс; 1 импульс, перерыв 1000 мс; LV: 180 В/см, 1 Гц, 400 мс, 1 импульс. Непосредственно после IM инъекции каждую мышцу полностью покрывали проводящим гелем и помещали между пластинчатыми электродами. Подавали два импульса различного напряжения (HV-LV): HV: 750 В/см, 1 Гц, 100 мкс, 1 импульс, перерыв 1000 мс; LV: 100 В/см, 1 Гц, 400 мс, 1 импульс.

В некоторых экспериментах, за 18 часов до вакцинации ДНК или одновременно с введением INVAC-1, мышам вводили ID 0,5 мкг мышинового GM-CSF или 1 нг мышинового IL-12 в конечном объеме 25 мкл на 1 бок. Оба цитокина приобретали у фирмы Miltenyi (Германия).

Метод ELISpot

У иммунизированных мышей извлекали и размельчали селезенки, а клеточные суспензии фильтровали через нейлоновую сетку на 70 мм (Cell Strainer, BD Biosciences, Франция) для выделения спленоцитов. У иммунизированных мышей брали кровь путем ретроорбитальной пункции под анестезией для выделения мононуклеаров периферической крови (PBMC). Спленоциты или PBMC очищали на фиколле (Ficoll – среда для выделения лимфоцитов, Eurobio, Франция). Очищенные на фиколле лимфоциты из крови или селезенки подсчитывали на счетчике Cellometer® Auto T4 Plus (Ozyme, Франция).

Микропланшеты из PVDF для ELISpot (набор IFN γ Elispot, Diaclone, Abcys, Франция, № 862.031.010P) покрывали в течение ночи захватывающим антителом (против IFN- γ мыши) и блокировали 1×PBS с 2% молока. На планшеты вносили клеточные суспензии в трех повторах по 2×10^5 клеток на лунку и стимулировали приуроченными к HLA или H2 производными пептидов hTERT при 5 мкг/мл в бессывороточной культуральной среде или с помощью PMA-иономицина (0,1 мкМ и 1 мкМ, соответственно). Через 19 часов пятна проявляли с помощью конъюгированного с

биотином детектирующего антитела с последующим раствором стрептавидина-AP и субстрата BCIP/NBT. Пятна подсчитывали на счетчике Immunospot ELISpot с программным обеспечением (CTL, Германия). При анализе данных по ELISpot вакцинированные животные считались восприимчивыми, если частота пятен, соответствующих hTERT-специфичным Т-клеткам CD8 или CD4, превышала порог отсечения в 10 пятен.

Анализ на цитотоксичность *in vivo*

Для получения клеток-мишеней, спленоциты из наивных мышей HLA-B7 метили раствором 1×PBS, содержащим высокую (5 мкМ), среднюю (1 мкМ) или низкую (0,2 мкМ) концентрацию CFSE (набор клеточных индикаторов Vybrant CFDA-SE; Life Technologies, Saint-Aubin, Франция). Наивные спленоциты, меченные при 5 и 1 мкМ CFSE, обрабатывали 2 различными пептидами HLA-B7, 1123 и 351, соответственно, при 5мкг/мл в течение 1,5 ч при комнатной температуре. Спленициты, меченные при низком уровне CFSE, оставляли необработанными. Через 14 дней после первой (прайм) или через 10 дней после повторной (буст) инъекции каждая мышь, ранее вакцинированная INVAC-1 или 1×PBS, получала 10^7 меченных CFSE клеток из смеси, содержащей равное число клеток из каждой фракции, через ретроорбитальную вену. Через 15-18 часов, суспензии одиночных клеток из селезенок анализировали методом проточной цитометрии на проточном цитометре Macsquant[®] (Miltenyi, Германия).

Исчезновение обработанных пептидами клеток определяли путем сравнения соотношения обработанных (высокая/средняя интенсивность флуоресценции CFSE) и необработанных (низкая интенсивность флуоресценции CFSE) популяций у иммунизированных INVAC-1 мышей по сравнению с контрольными (1×PBS) мышами. Процент специфической гибели на 1 подопытное животное определяли по следующей формуле:

$$[1 - \frac{\text{[среднее (CFSE}^{\text{низкая}}_{\text{PBS}}/\text{CFSE}^{\text{высокая/средняя}}_{\text{PBS}})]}{\text{[CFSE}^{\text{низкая}}_{\text{пДНК}}/\text{CFSE}^{\text{высокая/средняя}}_{\text{пДНК}}]}}] \times 100.$$

Анализ связывания цитокинов

Спленициты (6×10^5 клеток) из вакцинированных мышей HLA-A2/DR1 культивировали 24 ч при 37°C с приуроченными к HLA-DR производными пептидами hTERT (578, 904 и 1029) при 5 мкг/мл. Собирали супернатанты культур с цитокинами и хранили в замороженном виде при -20°C до определения. Концентрации IL-2, IFN γ , TNF α , IL-4, IL-6, IL-17A и IL-10, соответственно, определяли с помощью коммерчески доступного набора – набора Mouse Th1/Th2/Th17 Cytometric Beads Array (CBA, BD Biosciences). Иммуноанализ CBA проводили согласно инструкциям изготовителя.

Проточную цитометрию проводили на проточном цитометре FACScan LSR II (BD Biosciences); анализ данных проводили с помощью программы FCAP Array™ Software версии 3.0 (BD Biosciences).

Противоопухолевый эффект in vivo

Для экспериментов по терапевтической вакцинации 24-недельным мышам HLA-A2/DR1 подкожно прививали 2×10^4 клеток Sarc-2 в правый бок брюшной стенки. Затем животных иммунизировали с помощью ДНК-вакцин внутрикожно с последующей электропорацией, как описано выше, через 4, 21 и 35 дней после прививания. Через каждые 2-3 дня отмечали рост опухолей с помощью штангенциркуля. Также через каждые 2-3 дня отмечали вес мышей. Мышей забивали, когда опухоли достигали 2000 мм³. Следовали рекомендациям по содержанию и использованию животных при исследовании рака, особенно насчет выявления клинических признаков, требующих немедленного вмешательства (Workman et al., 2010, BJC). Объем опухолей рассчитывали по следующей формуле: $(L \times l^2)/2$. Результаты выражали в мм³ (L = длина; l = ширина).

Для профилактической вакцинации 5-10-недельных мышей HLA-A2/DR1 подвергали вакцинации дважды (в дни 0 и 21), как описано выше. Через 32 дня после последней иммунизации животным подкожно прививали 5×10^4 клеток Sarc-2. Через каждые 2-3 дня отмечали вес мышей и рост опухолей, как описано выше. Мышей забивали, когда опухоли достигали 2000 мм³.

В качестве критерия оценки эффективности вакцин использовали замедление роста опухолей (TGD). При этом сравнивается время до достижения заданного объема опухолей (500 мм³) в контрольной и опытной группе.

Статистический анализ и обработка данных

Для обработки, анализа и графического представления данных использовали программу Prism-5. Данные представлены в виде среднего $\pm$ стандартное отклонение или в виде медианы. Статистический анализ данных ELISpot проводили с помощью непараметрического теста Манна-Уитни и/или анализа по Крускал-Уоллис с критерием Данна для множественных сравнений. Значимость устанавливали по значению $p < 0,05$.

Результаты

Характеристика и анализ последовательности ДНК плазмиды INVAC-1

Трансген Ubi-hTERT был успешно вставлен в pNTC 8685-eRNA41H-HindIII-XbaI, как показало рестрикционное картирование с помощью различных рестрикционных эндонуклеаз (фиг. 1A и 1B). Образовавшийся вектор pNTC8685-eRNA41H-HindIII-XbaI-Ubi-hTERT (INVAC-1) также частично просеквенировали на стыках с помощью праймеров pVAC5' и pVAC3'. Последовательности подтвердили, что процесс

клонирования был успешным.

Полномасштабное секвенирование плазмиды INVAC-1 проводили на материале плазмиды из Master Cell Bank (SEQ ID NO: 11 и фиг. 16). Результат соответствовал ожидаемой последовательности, за исключением одного нуклеотида. Так, это полное секвенирование выявило молчащую мутацию (G6064C; глицин GGG на глицин GGC) по сравнению с геном теломеразы человека, фигурирующим в базах данных (номер доступа NM_198253). Эта молчащая мутация может рассматриваться как дополнительная сигнатура INVAC-1, так как эта замена основания разрушает уникальный сайт BamHI (GGATCC на GCATCC), представленный в гене теломеразы дикого типа.

Характеристика и анализ последовательностей производных конструкций INVAC-1

Были синтезированы и клонированы три ДНК-плазмиды – производные INVAC-1, экспрессирующие различные слитые белки Ubi-hTERT (фиг. 2А). Все трансгены Ubi-hTERT были успешно лигированы в экспрессирующий вектор pcDNA3.1(+) от Invitrogen, как показало расщепление HindIII и XbaI и электрофорез (фиг. 2В). Вставки и стыки секвенировали с помощью праймеров PEGFP-N5' и BGH, соответствующих последовательностям вектора, фланкирующим ДНК вставки. Результаты секвенирования подтвердили, что трансгены были клонированы правильно (SEQ ID NO: 13, 15, 17 и фиг. 17-19).

Белки INVAC-1 и производных INVAC-1 правильно экспрессируются *in vitro* и подвергаются деградации в протеасомном пути

Проводили анализ вестерн-блот, чтобы получить информацию о глобальной экспрессии белков hTERT дикого типа, INVAC-1 и производных INVAC-1 от 18 ч до 96 ч после краткосрочной трансфекции *in vitro* в клетки линии HEK293Т и CrFK. Полосы белка hTERT дикого типа соответствовали размеру немодифицированного hTERT в 124,5 кДа (фиг. 3А и 3В, слева). Экспрессия белка hTERT дикого типа оказалась стабильной по времени, особенно в клетках HEK293Т. Напротив, белки INVAC-1 (фиг. 3А и 3В, справа, и фиг. 3С, сверху) и производных INVAC-1 (фиг. 3С, снизу) быстро подвергались деградации с течением времени.

В отличие от hTERT дикого типа (pTRIP-CMV-hTERT), конструкция INVAC-1 давала две отдельные полосы: слабую верхнюю полосу, соответствующую слитому белку Ubi-hTERT ожидаемого размера в 127,4 кДа, и нижнюю полосу, соответствующую кодируемому INVAC-1 белку hTERT без полипептида убиквитина (119 кДа). Эти две формы кодируемого INVAC-1 белка hTERT обнаруживались в обеих линиях клеток, HEK293Т и CrFK (фиг. 3А и 3В). Такая же картина наблюдалась у конструкций

производных INVAC-1, $\Delta 10\text{Not}$, $\Delta 10\text{Cog}$ и $\Delta 23$ (фиг. 3С). В целом более слабая экспрессия белков INVAC-1 и производных INVAC-1 по сравнению с hTERT дикого типа, их профили экспрессии и их кинетика исчезновения по времени свидетельствуют, что эти белки быстро подвергаются деградации в убиквитин-зависимом протеасомном пути в соответствии с предложенной моделью деградации слитых с убиквитином белков (Bachmaier, 1986). Быстрое появление полосы INVAC-1 в 119 кДа указывает на то, что большая или почти большая часть белка котрансляционно расщепляется убиквитин-специфичными протеазами процессинга на стыке Ubi-hTERT. Следовательно, белок вступает на путь быстрой протеасом-зависимой деградации в соответствии с так называемым правилом N-конца для деградации белков (Tasaki, 2012; Varshavsky, 1996).

Эти результаты подтверждают профиль экспрессии *in vitro* и идентичность слитых белков Ubi-hTERT, кодируемых INVAC-1 и производными INVAC-1. Полипептид убиквитина, слитый с производными белками hTERT, играет свою роль путем усиления деградации белков в соответствии с правилом N-конца. В соответствии с этим правилом N-конца, белок hTERT становится нестабильным и быстро подвергается деградации системой протеасом, участвующей в продукции пептидов для презентации антигенов молекулами главного комплекса гистосовместимости (МНС) класса I (Cadima-Couto, 2009; Michalek et al., 1993). Таким образом, эти данные указывают на то, что слитые конструкции Ubi-hTERT, которые подвергаются усиленной деградации в клетках тканевых культур млекопитающих, также могут быстро подвергаться деградации *in vivo* и эффективно индуцировать большие ответы Т-клеток CD8⁺, чем hTERT дикого типа.

Белок INVAC-1 имеет преимущественно цитоплазматическое распределение и профиль исключения из ядрышек

С целью делокализации происходящего из INVAC-1 белка hTERT для усиления его деградации удаляли сигнал ядрышковой локализации (N-концевую часть hTERT). При этом клеточную локализацию hTERT, кодируемого INVAC-1, определяли методом иммунофлуоресцентного анализа после трансфекции в клетки линии CrFK, HEK293, HeLa, QT6 (фиг. 4).

Было показано, что hTERT дикого типа (pTRIP-CMV-hTERT) преимущественно локализуется в ядре и ядрышках в трансфецированных клетках HEK293T через 24 ч (фиг. 4А). Напротив, белок INVAC-1 распределялся между ядром и цитоплазмой, проявляя, прежде всего, четкое исключение из ядрышек (фиг. 4А). Временная трансфекция плазмид hTERT дикого типа (pTRIP-CMV-hTERT) и INVAC-1 в клетки HeLa давала аналогичный профиль локализации через 24 и 48 часов после трансфекции для обоих белков (фиг. 4В).

Слабый сигнал флуоресценции анти-hTERT, который наблюдался в клетках

НЕК293Т и HeLa после трансфекции пустым каркасом вектора pNTC8685-eRNA41H, вероятно, обусловлен перекрестной реактивностью с эндогенным hTERT.

Чтобы избежать неспецифической фоновой флуоресценции из-за экспрессии эндогенного белка hTERT, использовали для иммуноокрашивания клеточные линии не человека, а фибросаркомы QT6 перепела и почечных клеток CrFK кошки. В обеих линиях клеток не наблюдалось никаких фоновых сигналов после краткосрочной трансфекции пустым каркасом вектора pNTC8685-eRNA41H (фиг. 4С и 4D). Как и ожидалось, экзогенный белок hTERT дикого типа (pTRIP-CMV-hTERT) в основном обнаруживался в ядре и ядрышках обеих клеточных линий (фиг. 4С и 4D). Белок INVAC-1, как уже отмечалось в клетках НЕК293Т и HeLa, в клетках CrFK через 24 ч распределялся в ядре и цитоплазме (фиг. 4D). Интересно, что экспрессия INVAC-1 в клетках QT6 через 24 и 48 ч была только цитоплазматической, свидетельствуя, что удаление сигнала ядрышковой локализации сильно изменило распределение белка в этой линии клеток.

В целом эти результаты показали, что происходящий из INVAC-1 белок hTERT имеет модифицированное субклеточное распределение по сравнению с hTERT дикого типа в различных клеточных линиях. Это изменение может давать преимущество типа усиления протеасомной деградации белка на пептиды для презентации с МНС класса I при выработке специфических клеточных иммунных реакций (Andersson and Barry, 2004).

Трансфекция клеток QT6 и CrFK (без неспецифического фона hTERT) с помощью производных INVAC-1 (pUTD10Not, pUTD10Cog и pUTD23Tyn) подтвердила картину исключения из ядрышек этих производных белков hTERT (данные не приводятся). Их субклеточное распределение было в основном цитоплазматическим по сравнению с hTERT дикого типа.

INVAC-1 и производные INVAC-1 не обладают ферментативной активностью

Теломераза у человека играет решающую роль в росте опухолей тем, что она участвует в иммортализации и предотвращении старения опухолевых клеток. Следовательно, использование теломеразы дикого типа в качестве вакцинного продукта может вызывать проблемы с безопасностью.

Для оценки теломеразной активности у конструкций Ubi-hTERT в отрицательной по теломеразе линии клеток CrFK проводили анализ TRAP. Активность теломеразы выявлялась только в клетках CrFK, трансфецированных hTERT дикого типа с помощью плазмиды pTRIP-CMV-hTERT. Теломеразная активность не обнаруживалась в клетках CrFK, трансфецированных INVAC-1 или производными INVAC-1 (фиг. 5).

Как видно из фиг. 5А и 5С, необработанные данные по поглощению показывают, что уровень теломеразной активности у INVAC-1 и производных INVAC-1 сравним с её

уровнем в необработанных клетках.

Данные по относительной теломеразной активности (RTA) (фиг. 5B и 5D), которые представляют полностью обработанные результаты с учетом специфичности анализа с использованием различных отрицательных контролей, включая инактивированные нагреванием образцы, показывают, что INVAC-1 и производные INVAC-1 полностью лишены какой бы то ни было теломеразной активности.

Все образцы, обработанные контролем на амплификацию внутреннего стандарта (IS), оказались очень положительными, что подтверждает отсутствие ингибиторов ДНК-полимеразы Taq в образцах лизатов CgFK и тем самым подчеркивает специфичность метода.

В заключение, эти результаты подтверждают, что INVAC-1 и производные INVAC-1 не обладают ферментативной активностью. Следовательно, в отношении теломеразной активности не должно быть проблем с безопасностью при использовании INVAC-1 на людях.

Электропорация полезна для получения значительных уровней hTERT-специфичных Т-клеток CD8, секретирующих интерферон- γ , после ID введения INVAC-1

Оценивали интенсивность реакций hTERT-специфичных Т-клеток CD8 у мышей C57BL/6, ранее иммунизированных INVAC-1 внутрикожно с последующей электропорацией кожи или без неё (фиг. 6). Через 14 дней после инъекции у мышей брали селезенки и измеряли индуцированные иммунные реакции методом ELISpot на IFN- γ , используя пептиды hTERT, рестрицированные H2. Наблюдалось значительное различие в частоте Т-клеток CD8 IFN γ ⁺ между группой мышей, получавших электропорацию после ID инъекции INVAC-1, и группой, которая не получала ($p < 0,05$). Таким образом, эти результаты свидетельствуют, что электропорация полезна для получения значительных уровней реакции hTERT-специфичных Т-клеток CD8 после ID-вакцинации с помощью INVAC-1.

Вакцинация с INVAC-1 различными способами введения с последующей электропорацией индуцирует hTERT-специфичные Т-клетки CD8, секретирующие интерферон- γ . Наилучшим способом вакцинации представляется ID-вакцинация

Стандартные вакцины обычно вводятся подкожно (SC) или внутримышечно (IM). Однако сейчас в области вакцинации возрастает интерес к интрадермальному (ID) способу иммунизации (Combadiere and Liard, 2011). Поэтому тестировали способ ID для введения INVAC-1 и сравнивали с обычными способами SC и IM.

В первой серии экспериментов различные группы трансгенных мышей HLA-B7

иммунизировали INVAC-1 способом ID или SC с последующей сразу же электропорацией (фиг. 7A). Через 14 дней после вакцинации/электропорации у мышей брали селезенки и измеряли индуцированные иммунные реакции методом ELISpot на IFN- γ , используя пептиды hTERT, рестрицированные HLA-B7. Во второй серии экспериментов одну группу трансгенных мышей HLA-B7 иммунизировали INVAC-1 способом ID, а другую – способом IM с последующей сразу же электропорацией (фиг. 7B). Определяли частоту hTERT-специфичных Т-клеток CD8 в PBMCs методом ELISpot на IFN- γ , используя пептиды hTERT, рестрицированные HLA-B7. Было установлено, что вакцинация с помощью INVAC-1 с последующей электропорацией способна индуцировать hTERT-специфичные реакции Т-клеток CD8 у мышей HLA-B7 независимо от способа вакцинации (фиг. 7A и 7B).

Кроме того, как видно из фиг. 7A, количество восприимчивых животных было выше в группе мышей, вакцинированных способом ID, по сравнению с группой, вакцинированной способом SC, при 6 из 8 против 3 из 8 восприимчивых, соответственно. Существенное различие наблюдалось также в частоте hTERT-специфичных Т-клеток CD8 между группой мышей, вакцинированных ID, в сравнении с животными, вакцинированными IM ($p < 0,05$) (фиг. 7B).

Оба эксперимента показали, что способ ID вакцинации более эффективен, чем способы IM и SC для опосредованной INVAC-1 индукции hTERT-специфичных Т-клеток CD8. Аналогичные данные были получены на других моделях у мышей, т.е. на мышах HLA-A2-DR1 (данные не приводятся). Поэтому все последующие исследования по иммуногенности с INVAC-1 планировались при ID введении вакцины с последующей электропорацией.

Влияние дозы вакцины на hTERT-специфичные реакции Т-клеток CD8 после однократной ID-иммунизации с помощью INVAC-1 и электропорации

Другим важным параметром для изучения является влияние дозы вакцины на hTERT-специфичные реакции Т-клеток CD8. Мышей C57BL/6 иммунизировали способом ID с последующей электропорацией в оба нижних бока при возрастающих дозах INVAC-1. Объем вакцины оставался неизменным на уровне 50 мкл на 1 место. Животных вакцинировали в 2-х или 4-х местах в зависимости от конечной дозы вакцины. Через 14 дней после вакцинации/электропорации у мышей брали селезенки и измеряли специфические клеточные иммунные реакции методом ELISpot на IFN- γ , используя пептиды hTERT, рестрицированные H2.

В первой серии экспериментов мыши C57BL/6 получали однократную ID инъекцию INVAC-1 с электропорацией в дозах от 12,5 мкг до 100 мкг (фиг. 8A).

Наблюдалось значительное различие по частоте hTERT-специфичных Т-клеток CD8 в группе животных, вакцинированных 100 мкг INVAC-1, по сравнению с контрольными животными, вакцинированными PBS ($p < 0,01$) (фиг. 8А). Также отмечалось, что среднее число hTERT-специфичных Т-клеток CD8 возрастало пропорционально полученной дозе вакцины (от 12,5 мкг до 100 мкг). Число восприимчивых животных также возрастало вместе с дозой вакцины при 4 восприимчивых из 6 для дозы 12,5 мкг, 4 из 5 для дозы 25 мкг и 6 восприимчивых из 6 для доз 50 и 100 мкг, соответственно.

Во второй серии экспериментов мыши C57BL/6 получали однократную ID инъекцию INVAC-1 с электропорацией в дозах от 100 мкг до 1200 мкг (фиг. 8В). Наблюдалось значительное различие по частоте hTERT-специфичных Т-клеток CD8 в группе животных, вакцинированных 800 мкг INVAC-1 при введении в виде 4 мг/мл по сравнению с контрольными животными, вакцинированными PBS ($p < 0,05$) (фиг. 8В). Отмечалось, что среднее число hTERT-специфичных Т-клеток CD8 возрастало пропорционально полученной дозе вакцины от 100 мкг до 800 мкг, причем это среднее число уменьшалось при введении 1200 мкг. Число восприимчивых животных возрастало вместе с дозой вакцины при 4 восприимчивых из 5 для дозы 100 мкг, 5 восприимчивых из 5 или 4 из 4 для доз свыше 200 мкг, соответственно. При дозе в 1200 мкг, даже если все животные были восприимчивы, то все таки у 2 из 5 животных уровень специфических реакций был близким к порогу отсечения.

В заключение, по критерию специфичных к вакцине Т-клеток CD8 у мышей C57BL/6, наблюдалась зависимость типа “доза-ответ” в результате введения различных количеств INVAC-1. Интересно, что не наблюдалось никаких признаков токсичности вакцины у животных, получавших самые высокие дозы вакцины (800 и 1200 мкг), при сравнении с контрольными мышами (отмечали вес тела и макроскопическую картину при вскрытии). Аналогичные данные были получены на трансгенных мышах HLA-B7 (данные не приводятся).

Для вакцинации INVAC-1 рекомендуется режим прайм-буст с целью повышения уровня hTERT-специфичной реакции Т-клеток CD8

Большинство протоколов вакцинации, рекомендуемых для традиционных вакцин (БЦЖ, корь, грипп...), включают режим прайм-буст с тем, чтобы улучшить частоту специфичных к вакцине иммунных реакций. Поэтому исследовали влияние режима прайм-буст на выработку hTERT-специфичных реакций Т-клеток CD8 при ID-вакцинации с INVAC-1 и электропорации. С этой целью трансгенных мышей HLA-B7 иммунизировали ID с помощью INVAC-1, а места вакцинации на коже подвергали электропорации сразу же после введения вакцины. Через 21 день после первой

иммунизации мыши получали вторую инъекцию INVAC-1 по такой же процедуре вакцинации. В различные моменты времени после первичной (прайм) и повторной (буст) иммунизации брали периферическую кровь для измерения hTERT-специфичных реакций Т-клеток CD8 методом ELISpot на IFN- γ , используя пептиды hTERT, рестрицированные HLA-B7 (фиг. 9). Пик hTERT-специфичной реакции Т-клеток CD8 наблюдался через 14 дней после прайминга. Однако средняя частота hTERT-специфичных Т-клеток CD8 в группе вакцинированных животных была сравнительно низкой (11,3 пятен на 200 000 PBMCs), при этом 2 из 5 животных не реагировали на вакцину. После бустинга пик hTERT-специфичных Т-клеток CD8 наблюдался на 10-й день после инъекции. Средняя частота hTERT-специфичных Т-клеток CD8 в группе вакцинированных животных в это время (D31 после прайминга, D10 после бустинга) существенно отличалась от средней частоты hTERT-специфичных Т-клеток CD8 в неиммунизированных образцах ($p < 0,05$). После бустинга 4 из 5 животных были восприимчивыми.

В заключение, для ID-вакцинации INVAC-1 с электропорацией рекомендуется режим вакцинации прайм-буст, потому что, во-первых, он позволяет повысить частоту hTERT-специфичных Т-клеток CD8, циркулирующих в крови (эффекторные Т-клетки), а во-вторых, сокращает время, необходимое для достижения пика специфического клеточного иммунного ответа, что является важным параметром в контексте вакцинации против рака.

ID-вакцинация с помощью конструкций $\Delta 10Not$, $\Delta 10Cog$ или $\Delta 23$ с последующей электропорацией также индуцирует hTERT-специфичную реакцию Т-клеток CD8. Для повышения частоты специфичных к вакцине Т-клеток CD8 рекомендуется режим прайм-буст

Вместе с разработкой INVAC-1 разрабатывали еще 3 другие конструкции ДНК-плазмид (производных INVAC-1): $\Delta 10Not$ (pUTD10Not), $\Delta 10Cog$ (pUTD10Cog) или $\Delta 23$ (pUTD23Tyn). В каталитическом сайте фермента hTERT были устроены три делеции. Они составляли 10-23 аминокислотных остатка и охватывали важнейшее трио остатков валин-аспарагиновая кислота-аспарагиновая кислота (Val-Asp-Asp, или VDD в однобуквенной кодировке) (фиг. 2A). Эти конструкции разрабатывали с тем, чтобы показать, что любые делеции, устраняющие активность фермента, могут сохранять иммуногенность.

Для проверки этой гипотезы мышей C57BL/6 иммунизировали способом ID с последующей электропорацией с помощью INVAC-1, $\Delta 10Not$, $\Delta 10Cog$, $\Delta 23$ или PBS (фиг. 10A). Половина животных получала вторую инъекцию ДНК или PBS через 21 день после первой иммунизации по такой же процедуре. Животных забивали через 14 дней (группа мышей, получавшая однократную инъекцию) или 10 дней (группа мышей, получавшая 2

инъекции) после последней вакцинации/электропорации. У мышей брали селезенки и измеряли индуцированные Т-клеточные ответы CD8 методом ELISpot на IFN- γ , используя пептиды hTERT, рестрицированные H2 (пул из 4 пептидов).

У животных, получавших однократную инъекцию ДНК, существенное отличие по частоте hTERT-специфичных Т-клеток CD8 наблюдалось только в группе мышей, вакцинированных 100 мкг INVAC-1, по сравнению с контрольными животными, вакцинированными PBS ($p < 0,05$) (фиг. 10А, темные точки). При анализе частоты восприимчивых 3 из 4 были восприимчивы в группах мышей, вакцинированных INVAC-1 и $\Delta 10\text{Cog}$. Однако животные с $\Delta 10\text{Cog}$ были слабо восприимчивы при менее 50 hTERT-специфичных ответов Т-клеток CD8 на 200 000 спленоцитов. В группе животных, вакцинированных $\Delta 23$, только 1 из 4 было восприимчивым, и их совсем не было среди животных, обработанных $\Delta 10\text{Not}$. У животных, получавших две вакцинации (фиг. 10А, белые точки), наблюдалась значительная средняя частота hTERT-специфичных Т-клеток CD8, секретирующих IFN- γ , в селезенке мышей, иммунизированных INVAC-1, $\Delta 10\text{Not}$ и $\Delta 10\text{Cog}$, по сравнению с контрольными мышами, получавшими PBS ($p < 0,001$). Только 2 из 4 животных были восприимчивы в группе мышей, вакцинированных $\Delta 23$, что не было статистически значимо. В заключение, после одного или двух циклов вакцинации, конструкции INVAC-1 и производных INVAC-1 вызывали появление hTERT-специфичных Т-клеток CD8, причем INVAC-1 был более иммуногенным на мышях C57BL/6.

Во второй серии экспериментов, трансгенных мышей HLA-B7 вакцинировали ID с помощью INVAC-1, $\Delta 10\text{Not}$, $\Delta 10\text{Cog}$, $\Delta 23$ или PBS (фиг. 10В) с последующей электропорацией и делали вторую инъекцию через 21 день после первой по такой же процедуре. Через 10 дней после последней инъекции у мышей брали селезенки и измеряли индуцированные Т-клеточные ответы CD8 методом ELISpot на IFN- γ , используя пептиды hTERT, рестрицированные B7. Как видно из фиг. 10В, наблюдалась значительная средняя частота hTERT-специфичных Т-клеток CD8, секретирующих IFN- γ , в селезенке мышей, иммунизированных INVAC-1, $\Delta 10\text{Not}$, $\Delta 10\text{Cog}$ и $\Delta 23$, по сравнению с контрольными мышами, получавшими PBS ($p < 0,001$).

Как показано для INVAC-1, 3 производные INVAC-1 – $\Delta 10\text{Not}$, $\Delta 10\text{Cog}$ и $\Delta 23$ также оказались способными индуцировать hTERT-специфичные Т-клетки CD8 *in vivo* после ID-вакцинации и электропорации у двух разных штаммов мышей. Для производных INVAC-1 также рекомендуется режим вакцинации прайм-буст для достижения значительных уровней реакции hTERT-специфичных Т-клеток CD8. В целом эти результаты показывают, что именно INVAC-1 является той конструкцией, которая

наилучшим образом индуцирует hTERT-специфичные реакции Т-клеток CD8. Вероятно, это вызвано наблюдавшимися различиями в уровне экспрессии белков ΔhTERT после плазмидной трансфекции, как это видно при вестерн-блоттинге (фиг. 3).

Широта реакции hTERT-специфичных Т-клеток после ID-вакцинации с последующей электропорацией различается в зависимости от конструкции плазмиды с hTERT, используемой для вакцинации (INVAC-1, pNTC-hTERT или pNTC-hTERT-ΔVDD)

Оценивали влияние модификаций последовательности hTERT, устроенных в конструкции INVAC-1, а именно: (1) удаление сигнала ядрышковой локализации, (2) добавление последовательности убиквитина и (3) делеции в пределах каталитического сайта, на репертуар Т-клеточного иммунного ответа против hTERT. Изучали hTERT-специфичные клеточные иммунные реакции на INVAC-1 после ID-иммунизации с электропорацией INVAC-1 и сравнивали с ответами, вызванными ДНК, кодирующей нативную последовательность TERT дикого типа человека (pNTC-hTERT), и ДНК, кодирующей последовательность hTERT с делецией только лишь участка VDD (pNTC-hTERT-ΔVDD). Контрольные животные получали инъекции ID по 25 мкг пустого вектора pNTC с последующей электропорацией.

Первая серия трансгенных мышей HLA-B7 получала однократную инъекцию какой-либо одной из 4 конструкций по протоколу вакцинации, описанному выше (25 мкг на 1 мышь). Вторая серия животных получала первичную инъекцию (прайм) и повторную (буст) через 21 день после первой вакцинации любой одной из 4 конструкций какой-либо одной из 4 конструкций по протоколу вакцинации, описанному выше (25 мкг на 1 мышь).

Через 14 дней после однократной инъекции или через 10 дней после повторной (буст) исследовали спленоциты от вакцинированных и контрольных мышей методом ELISpot на IFN γ , используя 269 пептидов в 15 а.к. с перекрытием по 11 а.к., охватывающих всю последовательность белка hTERT (27 пулов по 10 пептидов каждый).

Иммунизация с INVAC-1 индуцировала большой Т-клеточный репертуар против многочисленных эпитопов hTERT, поскольку после прайминга распознавалось около 12 пулов пептидов (фиг. 11А). Эти данные свидетельствуют о том, что после процессинга на поверхности дендритных клеток экспрессировалось как минимум 12 эпитопов, приуроченных к HLA-B7, с такой плотностью комплексов МНС-пептид, которая позволяет индуцировать сильный Т-клеточный ответ. Эти важные результаты свидетельствуют о способности INVAC-1 к процессингу и экспрессии многочисленных пептидов hTERT на поверхности APC. Отличия, полученные с другими конструкциями (hTERT и hTERTΔVDD), подтверждают, что особенности оптимизации, проделанной на

INVAC-1, приводят к увеличению широты репертуара Т-клеток против hTERT. Кроме того, эти результаты подчеркивают преимущество ДНК-вакцинации перед пептидной иммунизацией.

В данном исследовании подтвердилось преимущество второго цикла иммунизации (prime-буст) с INVAC-1 на трансгенных мышах. Улучшался Т-клеточный репертуар *in vivo*, поскольку выявлялось по меньшей мере 5 новых эпитопов (фиг. 11В). В общей сложности после бустинга распознавалось как минимум 17 эпитопов. Эти данные подтверждают, что несколько инъекций пациенту будут полезны для получения лучшего противоопухолевого ответа.

При глобальном анализе этих данных путем суммирования общей средней частоты специфических Т-клеток, выявленных для 27 пулов пептидов, не обнаружилось никаких значительных отличий после одного (прайм) или двух (prime-буст) циклов иммунизации между тремя конструкциями hTERT (фиг. 11С). Это свидетельствует, что модификации, внесенные в INVAC-1 hTERT, не оказывали влияния на широту иммунного ответа, даже если наблюдался значительно более высокий опосредованный Т-клетками иммунный ответ после бустинга с помощью INVAC-1.

В заключение, вакцинация с помощью INVAC-1 индуцирует большой репертуар Т-клеточных иммунных ответов против многочисленных эпитопов hTERT, отличных от hTERT дикого типа и конструкций hTERTΔVDD, в смысле пептидов/эпитопов, распознаваемых Т-клетками.

ID-вакцинация с помощью INVAC-1 с последующей электропорацией индуцирует hTERT-специфичные Т-клеточные реакции с отличительными признаками иммунного ответа против рака: цитотоксическими Т-клетками CD8 и Т-клетками Th1 CD4

Среди иммунных клеток, имеющих существенное значение в противоопухолевых иммунных реакциях, цитотоксические Т-лимфоциты (CTL) CD8 и Т-клетки Th1 CD4 были идентифицированы как наиболее сильные эффекторные клетки (Vesely et al., 2011; Braumuller et al., 2013).

На первом этапе, исследовали цитотоксическую активность hTERT-специфичных Т-клеток CD8 *in vivo* после ID-вакцинации/электропорации с INVAC-1. Действительно, эта активность необходима для уничтожения раковых клеток. Для того, чтобы измерить *in vivo* цитолитическую мощность ответа hTERT-специфичных Т-клеток CD8⁺, вызванного иммунизацией с INVAC-1, проводили анализ на цитотоксичность *in vivo*, используя меченные сукцинимидиловым эфиром карбоксифлуоресцеин-диацетата (CFSE) и обработанные пептидами спленоциты в качестве клеток мишени. Трансгенным мышам

HLA-B7, получавшим ранее вакцинацию типа prime или prime-буст с помощью INVAC-1 (или PBS в качестве контроля) способом ID, как описано выше, вводили внутривенно 7×10^6 клеток мишени. Клетками мишени служили спленоциты от наивных конгенных мышей, меченные независимо друг от друга при 3 различных концентрациях CFSE и либо обработанные пептидами hTERT, приуроченными к HLA-B7 (p351, иммунодоминантный пептид, или p1123, субдоминантный пептид), либо оставленные необработанными в качестве внутреннего контроля. Через 15-18 часов собирали клетки селезенки и определяли исчезновение обработанных пептидами клеток у иммунизированных мышей в сравнении с контрольными методом проточной цитометрии.

Результаты показывают, что у всех мышей вырабатывались специфические CTLs против иммунодоминантного пептида p351 после однократной инъекции (фиг. 12А, белые точки) со средним уровнем специфического лизиса в 35%. У одной трети животных вырабатывались специфические CTLs против субдоминантного пептида p1123 (фиг. 12А, черные точки). Можно ожидать, что при многократных циклах инъекций будет возрастать количество животных, у которых возникает специфический лизис CTLs против субдоминантного пептида p1123.

Недавно сообщалось, что hTERT-специфичный ответ Т-клеток CD4 может быть связан с лучшей реакцией на химиотерапию у пациентов с NSCLC (Godet et al., 2012). Поэтому исследовали наличие hTERT-специфичного ответа Т-клеток CD4 после ID инъекции INVAC-1. С этой целью трансгенных мышей HLA-A2/DR1 иммунизировали ID с INVAC-1 с последующей электропорацией и измеряли hTERT-специфичный ответ Т-клеток CD4 в селезенке через 14 дней после вакцинации методом ELISpot на IFN- γ , используя пептиды hTERT, рестрицированные DR1. Как видно из фиг. 12В, наблюдалась значительная средняя частота hTERT-специфичных Т-клеток CD4, секретирующих IFN- γ , в селезенке ID-вакцинированных мышей по сравнению с контрольными мышами, получавшими PBS ($p < 0,001$).

Уже подчеркивалось, что Th1-иммунитет оказывает четкое положительное действие на элиминацию раковых клеток *in vivo* (Braumuller et al., 2013). Так, Th1-клетки CD4⁺ вырабатывают несколько цитокинов (как-то IFN- γ , TNF- α и IL-2), необходимых для индукции клеточного иммунитета против опухолей. Поэтому, после ID-вакцинации с INVAC-1, исследовали различные цитокины, секретируемые hTERT-специфичными Т-клетками CD4. С этой целью спленоциты из вакцинированных INVAC-1 трансгенных мышей HLA-A2/DR1 стимулировали *in vitro* в течение 24 часов пулом пептидов hTERT или отставляли без стимуляции. Выделяли супернатанты и анализировали их на связывание цитокинов (CBA), чтобы определить концентрацию цитокинов Th1, Th2 и

Th17, секретируемых hTERT-специфичными Т-клетками CD4.

Как видно из фиг. 12С, наблюдались значительные концентрации Th1-цитокинов IL-2, TNF α и IFN γ в супернатантах от спленоцитов, выделенных из мышей, вакцинированных INVAC-1, по сравнению с супернатантами от контрольных мышей ($p < 0,05$).

Таким образом, ID-вакцинация/электропорация с INVAC-1 способна усиливать экспансию hTERT-специфичных Т-клеток CD8, обладающих цитотоксической активностью *in vivo*, наряду со специфичными Т-клетками CD4 с профилем Th1. Оба типа ответов являются отличительным признаком хорошего иммунного ответа против рака.

Терапевтическая и профилактическая ID-вакцинация с помощью INVAC-1 с последующей электропорацией замедляет рост опухолей после инокуляции сингенных опухолей у трансгенных мышей HLA-A2/DR1

Вплоть до этого момента, результаты показывали, что ID-инъекция INVAC-1 с последующей электропорацией способна индуцировать цитотоксические Т-клетки CD8 и Т-клетки Th1 CD4 у мышей. Следующим этапом была оценка степени защиты трансгенных мышей HLA-A2/DR1 при ID-вакцинации с INVAC-1 и электропорации после инокуляции опухолевых клеток Sarc-2 (фибросаркома). В первых опытах трансгенных мышей HLA-A2/DR1 подвергали ID-вакцинации с помощью INVAC-1 с последующей электропорацией в режиме прайм-буст или ложной вакцинации с PBS. Через 1 месяц после профилактической вакцинации мышей заражали подкожно 50 000 клеток Sarc-2. Через каждые 2-3 дня измеряли объем опухолей. На фиг. 13А представлена кинетика среднего объема опухолей после заражения в зависимости от обработки мышей. Затем рассчитывали замедление роста опухолей (TGD) на уровне 500 мм³. Этот критерий позволяет измерять эффект обработки вакциной на рост опухолей путем сравнения времени до достижения заданного объема опухолей в контрольной и опытной группах. Наблюдалось 11-дневное замедление роста опухолей между группой мышей, вакцинированных INVAC-1, и группой животных, получавших PBS. Таким образом, профилактическая вакцинация с INVAC-1 была ответственна за замедление роста опухолей. Поскольку инокуляция опухолей проводилась через 1 месяц после последней вакцинации, то противоопухолевые эффекты в какой-то степени можно объяснить наличием hTERT-специфичных Т-клеток памяти.

Во второй серии экспериментов, трансгенным мышам прививали 20 000 клеток Sarc-2 и подвергали их ID-вакцинации INVAC-1 с последующей электропорацией через 4 дня после инокуляции клеток (фиг. 13В). Контрольные животные получали ID инъекцию “пустой” плазмиды (NTC), которая имеет тот же каркас, что и INVAC-1, но не кодирует

никаких опухолевых антигенов. Проводили 2 повторные (буст) вакцинации по такой же процедуре через 21 и 35 дней после прививания опухолей. Рассчитывали замедление роста опухолей на уровне 500 мм³. Наблюдалось 4-дневное замедление роста опухолей между группой мышей, вакцинированных INVAC-1, и группой животных, получавших пустую плазмиду NTC. В заключение, терапевтическая вакцинация с INVAC-1 вызывала сравнительно слабое, хотя и неоднократно отмечавшееся, замедление роста опухолей.

Введение мышиногo GM-CSF вместе с ID-вакцинацией/электропорацией INVAC-1 повышает интенсивность и качество hTERT-специфичного клеточного иммунного ответа и замедляет рост опухолей после прививания сингенных опухолей у трансгенных мышей HLA-A2/DR1

До сих пор в качестве иммуномодуляторов, способствующих распознаванию антигенов и экспансии Т-клеток, в исследованиях по вакцинации против рака на моделях у животных и на людях использовались различные цитокины. Одним из наиболее часто используемых цитокинов является GM-CSF (гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор). Этот цитокин, как известно, способствует созреванию антигенпрезентирующих клеток и усиливает Th1-клеточные иммунные ответы (Parmiani et al., 2007). Учитывая важную роль, которую играет GM-CSF в контексте противоопухолевых вакцин, исследовали влияние добавления мышиногo GM-CSF (mGM-CSF) на hTERT-специфичные Т-клеточные ответы после ID-вакцинации INVAC-1 и электропорации. С этой целью мышам C57BL/6 делали ID инъекцию mGM-CSF за 18 часов до вакцинации с INVAC-1 внутрикожно с последующей электропорацией (фиг. 14A). Другую группу мышей подвергали ID-вакцинации с INVAC-1/электропорации без добавления mGM-CSF. Контрольных животных подвергали ложной вакцинации с PBS и электропорации. Через 14 дней после инъекции у мышей брали селезенки и измеряли индуцированные иммунные ответы методом ELISpot на IFN- γ , используя пептиды hTERT, рестрицированные H2. Наблюдалось значительное отличие по частоте Т-клеток CD8 IFN γ ⁺ между группой мышей, получавших mGM-CSF перед ID инъекцией INVAC-1, и группой, которая не получала ($p < 0,001$). Таким образом, добавление mGM-CSF вызывало сильное повышение частоты hTERT-специфичных Т-клеток CD8. Вторым этапом заключался в исследовании влияния этого иммуномодулятора на качество hTERT-специфичных Т-клеток CD4, в особенности на образование Th1-специфичных Т-клеток. Для этого спленоциты из вакцинированных INVAC-1 или INVAC-1/mGM-CSF трансгенных мышей HLA-A2/DR1 стимулировали *in vitro* в течение 24 часов пулом пептидов hTERT, приуроченных к DR1, или оставляли без стимуляции. Выделяли супернатанты и анализировали их на связывание цитокинов (CBA), чтобы определить концентрацию

цитокинов Th1, Th2 и Th17, секретируемых hTERT-специфичными Т-клетками CD4. Как видно из фиг. 14В, отмечались значительные концентрации Th1-цитокинов IL-2, TNF α и IFN γ в супернатантах от спленоцитов, выделенных из мышей, вакцинированных INVAC-1/mGM-CSF, по сравнению с супернатантами от мышей, вакцинированных только лишь INVAC-1. При добавлении mGM-CSF отмечалось сильное повышение концентрации TNF α ($p < 0,01$), IFN γ ($p < 0,05$) и IL-2 ($p < 0,05$), которые являются противоопухолевыми цитокинами Th1.

После этого исследовали комбинацию mGM-CSF/INVAC-1 на модели опухолей Sarc-2 у животных с тем, чтобы установить, может ли mGM-CSF усиливать противоопухолевые эффекты.

С этой целью трансгенным мышам HLA-A2/DR1 прививали 20 000 клеток Sarc-2 и подвергали их ID-вакцинации INVAC-1 с последующей электропорацией через 4 дня после прививания клеток (фиг. 14С). Контрольные животные получали ID инъекцию пустой плазмиды (NTC) и mGM-CSF либо PBS и mGM-CSF. Проводили 2 повторные (буст) вакцинации по такой же процедуре через 21 и 35 дней после прививания опухолей. Рассчитывали замедление роста опухолей (TGD) на уровне 500 мм³. Наблюдалось 14-дневное TGD между группой мышей, вакцинированных INVAC-1/mGM-CSF, и группой животных, получавших NTC/mGM-CSF; наблюдалось 10-дневное TGD между группами INVAC-1/mGM-CSF и PBS/mGM-CSF. Эти результаты показывают, что терапевтическая вакцинация INVAC-1 в сочетании с mGM-CSF вызывает замедление роста опухолей.

Введение мышиногo IL-12 вместе с ID-вакцинацией/электропорацией INVAC-1 повышает интенсивность hTERT-специфичного ответа Т-клеток CD8

Также исследовали влияние цитокина IL-12 на hTERT-специфичный ответ Т-клеток CD8 после ID-вакцинации INVAC-1 и электропорации. С этой целью мыши HLA-A2/DR1 получали ID инъекцию IL-12 вместе с ID введением INVAC-1 и последующей электропорацией (фиг. 15). Другую группу мышей подвергали ID-вакцинации INVAC-1/электропорации без добавления IL-12. Контрольных животных подвергали ложной вакцинации PBS и IL-12 либо одним PBS с последующей электропорацией. Через 14 дней после инъекции у мышей брали селезенки и измеряли индуцированные иммунные реакции методом ELISpot на IFN- γ , используя пептиды hTERT, рестрицированные A2. Частота реагирующих мышей повышалась при добавлении IL-12. Так, 2 из 5 и 4 из 5 животных были восприимчивы в группе, вакцинированной INVAC-1, и в группе, вакцинированной INVAC-1/IL-12, соответственно.

Пример II

Сокращения

AA: аминокислота; п.н.: пара нуклеотидов(оснований); CTL: цитотоксический Т-лимфоцит; CMV: цитомегаловирус; ДНК: дезоксирибонуклеиновая кислота; EP: электропорация; ID: интрадермально; NoLS: последовательность ядрышковой локализации; РНК: рибонуклеиновая кислота; RTA: относительная теломеразная активность; TRAP: протокол амплификации теломерных повторов; TERT: обратная транскриптаза теломеразы; Ubi: убиквитин; VDD: валин-аспарагиновая кислота-аспарагиновая кислота.

Материалы и методы

Плазмидные ДНК-векторы

INVAC-1

Конструкция INVAC-1 уже описана в Примере I.

Перетасованные производные INVAC-1

Конструкции pUTScram и pUTInv представляют собой плазмиды из двухцепочечной ДНК примерно в 8,9 т.п.о., кодирующие слитые белки типа убиквитин-теломераза человека, которые ферментативно неактивны. Трансгены Перетасованный (перетасованный) и Инвертированный (инвертированный) вставляли в вектор pcDNA3.1(+) от Invitrogen (5,4 т.п.о.), происходящий из pcDNA3.0, который был разработан для стабильной или краткосрочной экспрессии на высоком уровне в клетках млекопитающих. Экспрессия трансгена управляется самым ранним промотором цитомегаловируса человека (CMV), который обеспечивает эффективную экспрессию на высоком уровне в широком круге клеток млекопитающих. Вектор содержит множественные сайты клонирования (MCS) для облегчения клонирования. Эффективная терминация транскрипции управляется сигналом полиаденилирования бычьего гормона роста (BGH).

pUTScram (именуется перетасованный)

Вставка Ubi-перетасованный hTERT (Перетасованный, 1184 а.к.) начинается в положении 923 и заканчивается в положении 4474 плазмиды pUTScram (фиг. 20А). pUTScram кодирует слитую конструкцию типа убиквитин-теломераза человека (перетасованная) из 1184 а.к., что соответствует белку примерно в 130,2 кДа. Из белка hTERT удалены первые 23 аминокислоты (а.к. 1-23), которые заменены полипептидом убиквитина (76 а.к.). Каталитический сайт инактивирован делецией 9 п.н., кодирующих VDD (отметка *; фиг. 28) и соответствующих а.к. 867-869 теломеразы дикого типа человека (hTERT, патент WO 2007/014740; и изоформа 1 hTERT, номер доступа

NM_198253). Последовательность hTERT была разделена на 10 иммуногенных фрагментов и вновь собрана в следующем определенном порядке: фрагмент 7 (210 п.н.), фрагмент 2 (201 п.н.), фрагмент 6 (312 п.н.), фрагмент 4 (117 п.н.), фрагмент 9 (576 п.н.), фрагмент 3 (120 п.н.), фрагмент 1 (258 п.н.), фрагмент 8 (477 п.н.), фрагмент 10 (516 п.н.), фрагмент 5 (303 п.н.). Эти 10 фрагментов соединяются линкером 6xGly (G-линкер; 18 п.н.). Следовательно, из последовательности hTERT удалены 76 неиммуногенных а.к. (228 п.н.). 14 аминокислот в С-концевой последовательности перетасованной вставки Ubi-hTERT кодируют эпитопный тег V5 (фиг. 22).

pUTInv (именуется Инвертированный)

Вставка Ubi-инвертированный hTERT (Инвертированный, 1184 а.к.) начинается в положении 923 и заканчивается в положении 4474 плазмиды pUTInv (фиг. 20B). pUTInv кодирует слитую конструкцию типа убиквитин-теломераза человека (инвертированная) из 1184 а.к., что соответствует белку примерно в 130,2 кДа. Из белка hTERT удалены первые 23 аминокислоты (а.к. 1-23), которые заменены полипептидом убиквитина (76 а.к.). Каталитический сайт инактивирован делецией 9 п.н., кодирующих **VDD** (отметка *; фиг. 29) и соответствующих а.к. 867-869 теломеразы дикого типа человека (hTERT, патент WO 2007/014740; номер доступа NM_198253). Последовательность hTERT была разделена на 10 иммуногенных фрагментов и вновь собрана в следующем определенном порядке: фрагмент 10 (516 п.н.), фрагмент 9 (576 п.н.), фрагмент 8 (477 п.н.), фрагмент 7 (210 п.н.), фрагмент 6 (312 п.н.), фрагмент 5 (303 п.н.), фрагмент 4 (117 п.н.), фрагмент 3 (120 п.н.), фрагмент 2 (201 п.н.), фрагмент 1 (258 п.н.). Эти 10 фрагментов соединяются линкером 6xGly (G-линкер; 18 п.н.). Следовательно, из последовательности hTERT удалены 76 неиммуногенных а.к. (228 п.н.). 14 аминокислот в С-концевой последовательности перетасованной вставки Ubi-hTERT кодируют эпитопный тег V5 (фиг. 22).

Синтез и клонирование генов

Гены синтезировали *de novo* методом сборки из перекрывающихся олигонуклеотидов – 40-меров (GeneCust, Люксембург). Делали несколько консервативных замен оснований, чтобы устранить рестрикционные сайты и истощить богатые GC последовательности. Синтез генов включал уникальные фланговые рестрикционные сайты HindIII/XbaI для субклонирования гена в желательной системе экспрессии. Синтезированные гены клонировали между рестрикционными сайтами HindIII и XbaI экспрессирующего вектора pcDNA3.1(+) (Invitrogen, Carlsbad, США). Последовательности плазмид проверяли путем секвенирования с помощью праймеров PEGFP-N5' (CGGTGGGAGGTCTATATAAG; SEQ ID NO: 27) и BGH (CAGGGTCAAGGAAGGCAC; SEQ ID NO: 28).

Продукция плазмид

Эти перетасованные производные INVAC-1, синтезированные на фирме GeneCust, подвергали трансформации и производили в клетках *E. coli* 5- α (fhuA2 Δ (argF-lacZ)U169 phoA glnV44 Ф80 Δ (lacZ)M15 gyrA96 recA1 relA1 endA1 thi-1 hsdR17) (Lucigen Corporation, Middleton, США, № 60602-2) на фирме RD Biotech (Besançon, Франция). Клетки высевали и культивировали в среде Lenox Broth, содержащей ампициллин (# EU04000D, Euromedex). После экстракции и очистки готовили концентрированные препараты лишенных эндотоксинов плазмид типа гигапреп (2 мг/мл) и ресуспендировали их в стерильном 1 $\times$ PBS. Векторы проверяли методом рестрикционного картирования (HindIII-XbaI; фиг. 21).

pTRIP-CMV-hTERT

Эта ДНК-плазида уже описана в Примере I.

Культивирование клеток и краткосрочная трансфекция для анализа методами вестерн-блот и TRAP

Клетки линии CrFK (из почек кошки Crandell Rees) и HEK293T (эмбриональных почек человека) культивировали в модифицированной Дюльбекко среде Игла (DMEM) с добавлением 10% инактивированной нагреванием фетальной телячьей сыворотки (РАА, Velizy-Villacoublay, Франция) и 1% пенициллина/стрептомицина (Life Technologies, Saint-Aubin, Франция).

Клетки культивировали в виде монослоя в чашках на 75 см² при 37°C в увлажненной атмосфере, содержащей 5% CO₂. Клетки культивировали до конфлюэнтности 70-80% в день трансфекции. Для метода вестерн-блот высевали 5 $\times$ 10⁵ клеток в 6-луночные планшеты для тканевой культуры и инкубировали в течение 24 ч. Для метода TRAP высевали 7 $\times$ 10⁵ клеток в 6-луночные планшеты для тканевой культуры и инкубировали в течение 24 ч.

Конструкции INVAC-1, pUTScram и pUTInv вводили путем трансфекции в клетки мишени с помощью реагента для трансфекции – катионного полимера jetPrime согласно инструкциям изготовителя (Polyplus-transfection Inc., Франция). В качестве положительного контроля использовали клетки, трансфецированные плазмидой pTRIP-CMV-hTERT, а в качестве отрицательного контроля – нетрансфецированные клетки. Через 4 часа трансфекционные среды удаляли и заменяли на 2 мл культуральной среды DMEM. После соответствующего времени для трансфекции – 18-96 часов для метода вестерн-блот и 24 ч для метода TRAP, клетки собирали и подвергали анализу на экспрессию и активность теломеразы.

Вестерн-блот

Анализ методом вестерн-блот проводили с использованием трансфицированных клеток НЕК293Т. Процедура вестерн-блота описана в Примере I.

Метод TRAP

Эта процедура уже описана в Примере I.

Мыши

В этих экспериментах использовали трансгенную линию мышей HLA-B*0702.

Трансгенные мыши HLA-B*0702 экспрессируют домены $\alpha 1$ - $\alpha 2$ молекулы HLA-B*0702 человека и домен $\alpha 3$ молекулы H2D мыши. Эти мыши не экспрессируют молекулы H2-D^b и H2-K^b (Rohrlich, Cardinaud et al., 2003).

Мышей использовали в возрасте от 9 до 15 недель и получали из Pasteur Institute of Paris. Животных содержали в свободном от определенных патогенов виварии Института Пастера (виварий Lwoff n°22, соглашение № В 75 15-07). Перед интрадермальным (ID) или внутривенным (IV) введением мышей анестезировали раствором смеси 2% ксилазина (Rompun, Bayer Santé, Loos, Франция) и 8% кетамина (Imalgen 1000, Merial, Lyon, Франция) в 1×фосфатно-солевом буфере (1×PBS, Life Technologies, Saint-Aubin, Франция) внутрибрюшинно (IP) в соответствии с весом индивидуального животного и продолжительностью анестезии. Все работы с животными велись в строгом соответствии с принципами надлежащего обращения с животными и соответствовали местным нормам по экспериментам на животных (Директива 2010/63/UE).

Пептиды hTERT

Пептиды hTERT, рестрицированные HLA-B0702, были описаны ранее в Примере I. Лиофилизированные пептиды растворяли в стерильной воде при 2 мг/мл и хранили при -20°C перед использованием.

Иммунизация мышей и процедура электропорации *in vivo*

Интрадермальная (ID) иммунизация проводилась в нижней части боков мышей с помощью инсулиновых шприцов и специальных игл (U-100, 29GX1/2" – 0,33×12 мм, Teguto, Бельгия) после бритья. Ни после бритья, ни во время и после процедур иммунизации не наблюдалось никаких эритем. Каждое животное получало первичную ID инъекцию плазмиды (INVAC-1, pUTScram или pUTInv) по 100 мкг ДНК либо 1×PBS. В соответствии с режимом вакцинации, мыши могли получать аналогичную вторую инъекцию ДНК либо 1×PBS.

Электропорация ДНК *in vivo* проводилась с помощью системы электропорации Cliniporator[®] 2 с программным обеспечением (IGEА, Италия), снабженной пластинчатыми электродами (P-30-8G, IGEА). Непосредственно после ID или SC вакцинации, по месту

инъекции делали кожную складку, полностью покрытую проводящим гелем (Labo FH, синий контактный гель, NM Médical, Франция), и помещали её между пластинчатыми электродами. Подавали два импульса различного напряжения (HV-LV): HV: 1250 В/см, 1 Гц, 100 мкс; 1 импульс, перерыв 1000 мс; LV: 180 В/см, 1 Гц, 400 мс, 1 импульс.

Метод ELISpot

Анализ методом ELISpot проводили в соответствии с методикой, описанной в Примере I. В примере II использовали только пул из трех специфических пептидов hTERT, приуроченных к HLA-B*0702 (p277, p351 и p1123).

Анализ на цитотоксичность *in vivo*

Анализ методом лизиса *in vivo* проводили в соответствии с методикой, описанной в Примере I. В примере II использовали только два специфических пептида hTERT, приуроченных к HLA-B*0702 (p351 и p1123), соответственно, в качестве иммунодоминантного и субдоминантного пептидов.

Статистический анализ и обработка данных

Для обработки, анализа и графического представления данных использовали программу GraphPad Prism 5. Данные представлены в виде среднего $\pm$ стандартное отклонение или в виде медианы. Статистический анализ данных ELISpot проводили с помощью непараметрического теста Манна-Уитни и/или анализа по Крускал-Уоллис с критерием Данна для множественных сравнений. Значимость устанавливали по значению $p < 0,05$.

Результаты

Характеристика и анализ последовательности ДНК плазмиды INVAC-1

Характеристики и анализ последовательности ДНК плазмиды INVAC-1 уже описаны в Примере I.

Характеристика и анализ последовательностей перетасованных производных конструкций INVAC-1 (pUTScram и pUTInv)

Были синтезированы и клонированы гены двух перетасованных производных INVAC-1 (фиг. 20). Эти конструкции основаны на нуклеотидной последовательности INVAC-1, описанной в Примере I, и аминокислотной последовательности hTERT дикого типа, описанной в международной патентной заявке WO 2007/014740.

Проводили оптимизацию кодонов для высокого уровня экспрессии в клетках млекопитающих (фиг. 27). Перетасованные трансгены Ubi-hTERT Перетасованный и Инвертированный были успешно лигированы в экспрессирующий вектор pcDNA3.1(+) от Invitrogen, как показало расщепление HindIII и XbaI и электрофорез (фиг. 21). Вставки и стыки секвенировали с помощью праймеров PEGFP-N5' и BGH, соответствующих

последовательностям вектора, фланкирующим ДНК вставки. Результаты секвенирования подтвердили, что трансгены были клонированы правильно (фиг. 28 и 29).

Белки перетасованных производных INVAC-1 правильно экспрессируются *in vitro* и подвергаются деградации в протеасомном пути

Проводили анализ вестерн-блот, чтобы получить информацию о глобальной экспрессии белков hTERT дикого типа, INVAC-1, pUTScram и pUTInv от 18 ч до 96 ч после краткосрочной трансфекции *in vitro* в клетки линии HEK293T. Полосы белка hTERT дикого типа соответствовали размеру немодифицированного hTERT в 124,5 кДа (фиг. 23А и 23С, слева). В примере I было показано, что белки INVAC-1 быстро деградируют по времени в отличие от белков hTERT дикого типа, которые экспрессируются на стабильном уровне. Все время обнаруживались специфические полосы перетасованных белков Перетасованный и Инвертированный (фиг. 23А и 23С, справа). У обоих эти полосы наблюдались при меньшем размере (<110 кДа), чем было предсказано для целых белков (130,2 кДа). Эти формы белков Перетасованный и Инвертированный соответствуют продуктам деградации. Действительно, на вестерн-блотах не обнаруживались неразрушенные продукты экспрессии Перетасованный и Инвертированный. Эти конструкции давали от 1 до 3 специфических полос, соответственно, что свидетельствует о быстрой деградации этих белков сразу же после их выработки. Как и у INVAC-1, такой же профиль деградации по времени для продуктов деградации проявлялся и после нормализации по β -актину в качестве контроля на нанесение (анализ по ImageJ; фиг. 23В). Продукты деградации Инвертированный проявляют профиль, более близкий к белкам других производных INVAC-1 (фиг. 23С, 23D и фиг. 3С: pUTD10Not, pUTD10Cog и pUTD23Tup, см. Пример I).

Перетасованные производные INVAC-1 имеют преимущественно цитоплазматическое распределение и профиль исключения из ядрышек

Как показано для INVAC-1 и производных INVAC-1 (pUTD10Not, pUTD10Cog и pUTD23Tup, см. Пример I), перетасованные белки Перетасованный и Инвертированный, кодируемые pUTScram и pUTInv, распределяются между ядром и цитоплазмой с профилем исключения из ядрышек (данные не приводятся).

Перетасованные производные INVAC-1 не обладают ферментативной активностью

Для оценки теломеразной активности у перетасованных конструкций Ubi-hTERT в отрицательной по теломеразе линии клеток CrFK проводили анализ TRAP. Активность теломеразы выявлялась только в клетках CrFK, трансфецированных hTERT дикого типа с помощью плазмиды pTRIP-CMV-hTERT.

Как видно из фиг. 24А, необработанные данные по поглощению показывают, что уровень теломеразной активности у белков Перетасованный и Инвертированный сравним с её уровнем в необработанных клетках.

Данные по относительной теломеразной активности (RTA) (фиг. 24В), которые представляют полностью обработанные результаты с учетом специфичности анализа с использованием различных отрицательных контролей, включая инактивированные нагреванием образцы, показывают, что INVAC-1 и производные INVAC-1 полностью лишены какой бы то ни было теломеразной активности.

Перетасованные конструкции hTERT индуцируют hTERT-специфичные реакции Т-клеток CD8

Конструкции pUTScram и pUTInv разрабатывались с тем, чтобы индуцировать презентацию антигена из нескольких эпитопов hTERT, что повышает объем функций INVAC-1. Проводили сравнение иммуногенности pUTScram, pUTInv и INVAC-1 у мышей HLA-B7, иммунизированных ID с помощью различных конструкций с последующей электропорацией кожи после двух циклов иммунизации (режим прайм-буст). Через 10 дней после второй вакцинации/электропорации животных забивали. У мышей брали селезенки и измеряли индуцированные ответы Т-клеток CD8 методом ELISpot на IFN- γ , используя пептиды hTERT, приуроченных к HLA-B7 МНС класса I (пул из 3 пептидов: p277, p351 и p1123). У мышей, вакцинированных INVAC-1, pUTScram (Перетасованный) и pUTInv (Инвертированный), наблюдались значительные отличия по частоте hTERT-специфичных Т-клеток CD8 от контрольных животных (фиг. 25).

Эти результаты показывают, что искусственно перетасованные конструкции hTERT, то есть pUTScram (перетасованный) и pUTInv (инвертированный), были способны индуцировать существенно высокие уровни hTERT-специфичных реакций Т-клеток CD8 после двух циклов иммунизации, как и INVAC-1. Действительно, как показано ранее для INVAC-1, преимущество режима вакцинации прайм-буст состоит в избирательной стимуляции ранее активированных специфических Т-клеток и расширенной презентации эпитопов для выработки вторичных hTERT-специфичных Т-клеток с участием новых специфичных TCRs.

Вакцинация с помощью искусственно перетасованных конструкций hTERT, pUTScram и pUTInv, индуцирует цитотоксические hTERT-специфичные Т-клетки CD8 *in vivo*

Среди иммунных клеток, имеющих существенное значение в противоопухолевых иммунных реакциях, цитотоксические Т-лимфоциты (CTL) CD8 и Т-клетки Th1 CD4 были идентифицированы как наиболее сильные эффекторные клетки (Vesely, Kershaw et al.,

2011; Braumuller, Wieder et al., 2013).

Исследовали цитотоксическую активность hTERT-специфичных Т-клеток CD8 *in vivo* после ID-вакцинации/электропорации с INVAC-1, pUTScram и pUTInv. Для того, чтобы измерить *in vivo* цитолитическую мощность ответа hTERT-специфичных Т-клеток CD8⁺, вызванного иммунизацией при помощи ДНК, проводили анализ на цитотоксичность *in vivo*, используя меченные сукцинимидиловым эфиром карбоксифлуоресцеин-диацетата (CFSE) и обработанные пептидами спленоциты в качестве клеток мишени. Трансгенным мышам HLA-B7, получившим одну вакцинацию с помощью ДНК-конструкций (или PBS в качестве контроля) интрадермально (ID), как описано выше, вводили внутривенно 7×10^6 клеток мишени. Клетками мишени служили спленоциты от наивных конгенных мышей, меченные независимо друг от друга при 3 различных концентрациях CFSE и либо обработанные пептидами hTERT, приуроченными к HLA-B7 (p351, иммунодоминантный пептид, или p1123, субдоминантный пептид), либо оставленные необработанными в качестве внутреннего контроля. Через 15-18 часов у иммунизированных мышей брали селезенки и подвергали анализу суспензии спленоцитов методом проточной цитометрии. Рассчитывали процент специфического лизиса оценивали путем сравнения соотношения обработанных и необработанных меченных CFSE клеток у вакцинированных мышей в сравнении с контрольными мышами.

Результаты показывают, что у всех мышей, иммунизированных различными конструкциями, вырабатывались hTERT-специфичные цитотоксические Т-лимфоциты (CTLs) после одной иммунизации.

Как и ожидалось, цитотоксичность против иммунодоминантного пептида p351 была выше, чем против субдоминантного пептида p1123 для всех трех групп (фиг. 26).

Иммунизация с помощью INVAC-1 и pUTInv приводила к специфическому лизису несущих иммунодоминантные эпитопы теломеразы (p351) клеток мишени на 37% и 35%, соответственно (фиг. 26, черные точки). Для сравнения, иммунизация с помощью pUTScram приводила к специфическому лизису на 20%. У двух из 5 иммунизированных INVAC-1 мышей и одной из 6 pUTScram вырабатывались специфические CTLs против субдоминантного пептида p1123 (фиг. 26, серые точки).

Как уже сказано выше, можно ожидать, что многократные циклы инъекций позволят увеличить количество животных, у которых возникают специфические CTLs с лизисом против и иммунодоминантных, и субдоминантных пептидов. Действительно, предыдущие результаты (см. пример I) показали, что вторая иммунизация увеличивает широту иммунного ответа против субдоминантных эпитопов.

В заключение, как и с INVAC-1, иммунизация с помощью искусственно

перетасованного hTERT Перетасованный или Инвертированный может генерировать hTERT-специфичные Т-клетки CD8, проявляющие цитолитическую активность *in vivo*.

Библиография

- Adolph, K. 1996, ed. "Viral Genome Methods" CRC Press, Florida.
- Adotevi, O., Mollier, K., Neuveut, C., Cardinaud, S., Boulanger, E., Mignen, B., Fridman, W.H., Zanetti, M., Charneau, P., Tartour, E., et al. (2006). Immunogenic HLA-B*0702-restricted epitopes derived from human telomerase reverse transcriptase that elicit antitumor cytotoxic T-cell responses. *Clin Cancer Res* 12, 3158-3167.
- Andersson, H.A., and Barry, M.A. (2004). Maximizing antigen targeting to the proteasome for gene-based vaccines. *Mol Ther* 10, 432-446.
- Bachmair, A., Finley, D., and Varshavsky, A. (1986). In vivo half-life of a protein is a function of its amino-terminal residue. *Science* 234, 179-186.
- Braumuller, H., Wieder, T., Brenner, E., Assmann, S., Hahn, M., Alkhaled, M., Schilbach, K., Essmann, F., Kneilling, M., Griessinger, C., et al. (2013). T-helper-1-cell cytokines drive cancer into senescence. *Nature* 494, 361-365.
- Cadima-Couto, I., Freitas-Vieira, A., Nowarski, R., Britan-Rosich, E., Kotler, M., and Goncalves, J. (2009). Ubiquitin-fusion as a strategy to modulate protein half-life: A3G antiviral activity revisited. *Virology* 393, 286-294.
- Cheever et al., The prioritization of cancer antigens: a national cancer institute pilot project for the acceleration of translational research. *Clin Cancer Res*, 2009. 15(17): 5323-37.
- Combadiere, B., and Liard, C. (2011). Transcutaneous and intradermal vaccination. *Human Vaccines* 7, 811-827.
- Cortez-Gonzalez, X., Sidney, J., Adotevi, O., Sette, A., Millard, F., Lemonnier, F., Langlade-Demoyen, P., and Zanetti, M. (2006). Immunogenic HLA-B7-restricted peptides of hTERT. *Int Immunol* 18, 1707-1718.
- Dosset, M., Godet, Y., Vauchy, C., Beziaud, L., Lone, Y.C., Sedlik, C., Liard, C., Levionnois, E., Clerc, B., Sandoval, F., et al. (2012). Universal cancer peptide-based therapeutic vaccine breaks tolerance against telomerase and eradicates established tumor. *Clin Cancer Res* 18, 6284-6295.
- Firat, H., Cochet, M., Rohrllich, P.S., Garcia-Pons, F., Darche, S., Danos, O., Lemonnier, F.A., and Langlade-Demoyen, P. (2002). Comparative analysis of the CD8(+) T cell repertoires of H-2 class I wild-type/HLA-A2.1 and H-2 class I knockout/HLA-A2.1 transgenic mice. *Internat Immunol* 14, 925-934.
- Godet, Y., Fabre-Guillevin, E., Dosset, M., Lamuraglia, M., Levionnois, E., Ravel, P., Benhamouda, N., Cazes, A., Le Pimpec-Barthes, F., Gaugler, B., et al. (2012). Analysis of spontaneous tumor-specific CD4 T cell immunity in lung cancer using promiscuous HLA-DR telomerase-derived epitopes: potential synergistic effect with chemotherapy response. *Clin*

Cancer Res 18, 2943-2953.

Lavigne, A., H. La Branche, et al. (1993). A splicing enhancer in the human fibronectin alternate ED1 exon interacts with SR proteins and stimulates U2 snRNP binding. *Genes Dev* 7: 2405-2417.

Michalek, M.T., Grant, E.P., Gramm, C., Goldberg, A.L., and Rock, K.L. (1993). A role for the ubiquitin-dependent proteolytic pathway in MHC class I-restricted antigen presentation. *Nature* 363, 552-554.

Mir L.M. 2008. Application of electroporation gene therapy: past, current, and future. *Methods Mol Biol* 423: 3-17.

Murray, 1991, ed. "Gene Transfer and Expression Protocols" Humana Press, Clifton, N.J.

Pajot, A., Michel, M.L., Fazilleau, N., Pancre, V., Auriault, C., Ojcius, D.M., Lemonnier, F.A., and Lone, Y.C. (2004). A mouse model of human adaptive immune functions: HLA-A2.1-/HLA-DR1- transgenic H-2 class I-/class II-knockout mice. *Eur J Immunol* 34, 3060-3069.

Parmiani, G., Castelli, C., Pilla, L., Santinami, M., Colombo, M.P., and Rivoltini, L. (2007). Opposite immune functions of GM-CSF administered as vaccine adjuvant in cancer patients. *Ann Oncol* 18, 226-232.

Rohrlich, P.S., Cardinaud, S., Firat, H., Lamari, M., Briand, P., Escriou, N., and Lemonnier, F.A. (2003). HLA-B*0702 transgenic, H-2KbDb double-knockout mice: phenotypical and functional characterization in response to influenza virus. *Int Immunol* 15, 765-772.

Rosenberg SA, Yang JC, Restifo NP (2004). Cancer immunotherapy: moving beyond current vaccines. *Nat Med*. 10: 909-15.

Sardesai NY, Weiner DB. 2011. Electroporation delivery of DNA vaccines: prospects for success. *Curr Opin Immunol* 23: 421-429.

Tasaki, T., Sriram, S.M., Park, K.S., and Kwon, Y.T. (2012). The N-end rule pathway. *Annu Rev Biochem* 81, 261-289.

Varshavsky, A. (1996). The N-end rule: functions, mysteries, uses. *Proc Natl Acad Sci USA* 93, 12142-12149.

Vesely, M.D., Kershaw, M.H., Schreiber, R.D., and Smyth, M.J. (2011). Natural innate and adaptive immunity to cancer. *Annu Rev Immunol* 29, 235-271.

Yang, 1992, "Gene transfer into mammalian somatic cells *in vivo*", *Crit. Rev. Biotech.* 12: 335-356.

Yang, Y., Chen, Y., Zhang, C., Huang, H., and Weissman, S.M. (2002). Nucleolar localization of hTERT protein is associated with telomerase function. *Exp Cell Res* 277, 201-209.

SEQUENCE LISTING

<110> INVECTYS

<120> A telomerase encoding DNA vaccine

<130> B1698PC00

<160> 50

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 4018

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> CDS

<222> (59)..(3457)

<400> 1

caggcagcgc tgcgtcctgc tgcgcacgtg ggaagccctg gccccggcca cccccgcg 58

atg ccg cgc gct ccc cgc tgc cga gcc gtg cgc tcc ctg ctg cgc agc 106
Met Pro Arg Ala Pro Arg Cys Arg Ala Val Arg Ser Leu Leu Arg Ser
1 5 10 15

cac tac cgc gag gtg ctg ccg ctg gcc acg ttc gtg cgg cgc ctg ggg 154
His Tyr Arg Glu Val Leu Pro Leu Ala Thr Phe Val Arg Arg Leu Gly
20 25 30

ccc cag ggc tgg cgg ctg gtg cag cgc ggg gac ccg gcg gct ttc cgc 202
Pro Gln Gly Trp Arg Leu Val Gln Arg Gly Asp Pro Ala Ala Phe Arg
35 40 45

gcg ctg gtg gcc cag tgc ctg gtg tgc gtg ccc tgg gac gca cgg ccg 250
Ala Leu Val Ala Gln Cys Leu Val Cys Val Pro Trp Asp Ala Arg Pro
50 55 60

ccc ccc gcc gcc ccc tcc ttc cgc cag gtg tcc tgc ctg aag gag ctg 298
Pro Pro Ala Ala Pro Ser Phe Arg Gln Val Ser Cys Leu Lys Glu Leu
65 70 75 80

gtg gcc cga gtg ctg cag agg ctg tgc gag cgc ggc gcg aag aac gtg 346
Val Ala Arg Val Leu Gln Arg Leu Cys Glu Arg Gly Ala Lys Asn Val
85 90 95

ctg gcc ttc ggc ttc gcg ctg ctg gac ggg gcc cgc ggg ggc ccc ccc 394
Leu Ala Phe Gly Phe Ala Leu Leu Asp Gly Ala Arg Gly Gly Pro Pro
100 105 110

gag gcc ttc acc acc agc gtg cgc agc tac ctg ccc aac acg gtg acc 442
Glu Ala Phe Thr Thr Ser Val Arg Ser Tyr Leu Pro Asn Thr Val Thr
115 120 125

gac gca ctg cgg ggg agc ggg gcg tgg ggg ctg ctg ctg cgc cgc gtg 490
Asp Ala Leu Arg Gly Ser Gly Ala Trp Gly Leu Leu Leu Arg Arg Val
130 135 140

ggc gac gac gtg ctg gtt cac ctg ctg gca cgc tgc gcg ctc ttt gtg 538
Gly Asp Asp Val Leu Val His Leu Leu Ala Arg Cys Ala Leu Phe Val
145 150 155 160

ctg	gtg	gct	ccc	agc	tgc	gcc	tac	cag	gtg	tgc	ggg	ccg	ccg	ctg	tac	586
Leu	Val	Ala	Pro	Ser	Cys	Ala	Tyr	Gln	Val	Cys	Gly	Pro	Pro	Leu	Tyr	
			165						170					175		
cag	ctc	ggc	gct	gcc	act	cag	gcc	cgg	ccc	ccg	cca	cac	gct	agt	gga	634
Gln	Leu	Gly	Ala	Ala	Thr	Gln	Ala	Arg	Pro	Pro	Pro	His	Ala	Ser	Gly	
			180					185					190			
ccc	cga	agg	cgt	ctg	gga	tgc	gaa	cgg	gcc	tgg	aac	cat	agc	gtc	agg	682
Pro	Arg	Arg	Arg	Leu	Gly	Cys	Glu	Arg	Ala	Trp	Asn	His	Ser	Val	Arg	
		195					200					205				
gag	gcc	ggg	gtc	ccc	ctg	ggc	ctg	cca	gcc	ccg	ggt	gcg	agg	agg	cgc	730
Glu	Ala	Gly	Val	Pro	Leu	Gly	Leu	Pro	Ala	Pro	Gly	Ala	Arg	Arg	Arg	
	210					215					220					
ggg	ggc	agt	gcc	agc	cga	agt	ctg	ccg	ttg	ccc	aag	agg	ccc	agg	cgt	778
Gly	Gly	Ser	Ala	Ser	Arg	Ser	Leu	Pro	Leu	Pro	Lys	Arg	Pro	Arg	Arg	
225					230				235						240	
ggc	gct	gcc	cct	gag	ccg	gag	cgg	acg	ccc	gtt	ggg	cag	ggg	tcc	tgg	826
Gly	Ala	Ala	Pro	Glu	Pro	Glu	Arg	Thr	Pro	Val	Gly	Gln	Gly	Ser	Trp	
				245					250					255		
gcc	cac	ccg	ggc	agg	acg	cgt	gga	ccg	agt	gac	cgt	ggt	ttc	tgt	gtg	874
Ala	His	Pro	Gly	Arg	Thr	Arg	Gly	Pro	Ser	Asp	Arg	Gly	Phe	Cys	Val	
			260				265						270			
gtg	tca	cct	gcc	aga	ccc	gcc	gaa	gaa	gcc	acc	tct	ttg	gag	ggt	gcg	922
Val	Ser	Pro	Ala	Arg	Pro	Ala	Glu	Glu	Ala	Thr	Ser	Leu	Glu	Gly	Ala	
		275					280					285				
ctc	tct	ggc	acg	cgc	cac	tcc	cac	cca	tcc	gtg	ggc	cgc	cag	cac	cac	970
Leu	Ser	Gly	Thr	Arg	His	Ser	His	Pro	Ser	Val	Gly	Arg	Gln	His	His	
	290					295					300					
gcg	ggc	ccc	cca	tcc	aca	tcg	cgg	cca	cca	cgt	ccc	tgg	gac	acg	cct	1018
Ala	Gly	Pro	Pro	Ser	Thr	Ser	Arg	Pro	Pro	Arg	Pro	Trp	Asp	Thr	Pro	
305					310					315					320	
tgt	ccc	ccg	gtg	tac	gcc	gag	acc	aag	cac	ttc	ctc	tac	tcc	tca	ggc	1066
Cys	Pro	Pro	Val	Tyr	Ala	Glu	Thr	Lys	His	Phe	Leu	Tyr	Ser	Ser	Gly	
				325					330					335		
gac	aag	gag	cag	ctg	cgg	ccc	tcc	ttc	cta	ctc	agc	tct	ctg	agg	ccc	1114
Asp	Lys	Glu	Gln	Leu	Arg	Pro	Ser	Phe	Leu	Leu	Ser	Ser	Leu	Arg	Pro	
			340					345					350			
agc	ctg	act	ggc	gct	cgg	agg	ctc	gtg	gag	acc	atc	ttt	ctg	ggt	tcc	1162
Ser	Leu	Thr	Gly	Ala	Arg	Arg	Leu	Val	Glu	Thr	Ile	Phe	Leu	Gly	Ser	
		355					360					365				
agg	ccc	tgg	atg	cca	ggg	act	ccc	cgc	agg	ttg	ccc	cgc	ctg	ccc	cag	1210
Arg	Pro	Trp	Met	Pro	Gly	Thr	Pro	Arg	Arg	Leu	Pro	Arg	Leu	Pro	Gln	
	370					375					380					
cgc	tac	tgg	caa	atg	cgg	ccc	ctg	ttt	ctg	gag	ctg	ctt	ggg	aac	cac	1258
Arg	Tyr	Trp	Gln	Met	Arg	Pro	Leu	Phe	Leu	Glu	Leu	Leu	Gly	Asn	His	
385					390				395						400	
gcg	cag	tgc	ccc	tac	ggg	gtg	ctc	ctc	aag	acg	cac	tgc	ccg	ctg	cga	1306
Ala	Gln	Cys	Pro	Tyr	Gly	Val	Leu	Leu	Lys	Thr	His	Cys	Pro	Leu	Arg	
				405					410					415		

gct gcg gtc acc cca gca gcc ggt gtc tgt gcc cgg gag aag ccc cag Ala Ala Val Thr Pro Ala Ala Gly Val Cys Ala Arg Glu Lys Pro Gln 420 425 430	1354
ggc tct gtg gcg gcc ccc gag gag gag gac aca gac ccc cgt cgc ctg Gly Ser Val Ala Ala Pro Glu Glu Glu Asp Thr Asp Pro Arg Arg Leu 435 440 445	1402
gtg cag ctg ctc cgc cag cac agc agc ccc tgg cag gtg tac ggc ttc Val Gln Leu Leu Arg Gln His Ser Ser Pro Trp Gln Val Tyr Gly Phe 450 455 460	1450
gtg cgg gcc tgc ctg cgc cgg ctg gtg ccc cca ggc ctc tgg ggc tcc Val Arg Ala Cys Leu Arg Arg Leu Val Pro Pro Gly Leu Trp Gly Ser 465 470 475 480	1498
agg cac aac gaa cgc cgc ttc ctc agg aac acc aag aag ttc atc tcc Arg His Asn Glu Arg Arg Phe Leu Arg Asn Thr Lys Lys Phe Ile Ser 485 490 495	1546
ctg ggg aag cat gcc aag ctc tcg ctg cag gag ctg acg tgg aag atg Leu Gly Lys His Ala Lys Leu Ser Leu Gln Glu Leu Thr Trp Lys Met 500 505 510	1594
agc gtg cgg gac tgc gct tgg ctg cgc agg agc cca ggg gtt ggc tgt Ser Val Arg Asp Cys Ala Trp Leu Arg Arg Ser Pro Gly Val Gly Cys 515 520 525	1642
gtt ccg gcc gca gag cac cgt ctg cgt gag gag atc ctg gcc aag ttc Val Pro Ala Ala Glu His Arg Leu Arg Glu Glu Ile Leu Ala Lys Phe 530 535 540	1690
ctg cac tgg ctg atg agt gtg tac gtc gtc gag ctg ctc agg tct ttc Leu His Trp Leu Met Ser Val Tyr Val Val Glu Leu Leu Arg Ser Phe 545 550 555 560	1738
ttt tat gtc acg gag acc acg ttt caa aag aac agg ctc ttt ttc tac Phe Tyr Val Thr Glu Thr Thr Phe Gln Lys Asn Arg Leu Phe Phe Tyr 565 570 575	1786
cgg aag agt gtc tgg agc aag ttg caa agc att gga atc aga cag cac Arg Lys Ser Val Trp Ser Lys Leu Gln Ser Ile Gly Ile Arg Gln His 580 585 590	1834
ttg aag agg gtg cag ctg cgg gag ctg tcg gaa gca gag gtc agg cag Leu Lys Arg Val Gln Leu Arg Glu Leu Ser Glu Ala Glu Val Arg Gln 595 600 605	1882
cat cgg gaa gcc agg ccc gcc ctg ctg acg tcc aga ctc cgc ttc atc His Arg Glu Ala Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser Arg Leu Arg Phe Ile 610 615 620	1930
ccc aag cct gac ggg ctg cgg ccg att gtg aac atg gac tac gtc gtg Pro Lys Pro Asp Gly Leu Arg Pro Ile Val Asn Met Asp Tyr Val Val 625 630 635 640	1978
gga gcc aga acg ttc cgc aga gaa aag agg gcc gag cgt ctc acc tcg Gly Ala Arg Thr Phe Arg Arg Glu Lys Arg Ala Glu Arg Leu Thr Ser 645 650 655	2026
agg gtg aag gca ctg ttc agc gtg ctc aac tac gag cgg gcg cgg cgc Arg Val Lys Ala Leu Phe Ser Val Leu Asn Tyr Glu Arg Ala Arg Arg 660 665 670	2074

ccc ggc ctc ctg ggc gcc tct gtg ctg ggc ctg gac gat atc cac agg Pro Gly Leu Leu Gly Ala Ser Val Leu Gly Leu Asp Asp Ile His Arg 675 680 685	2122
gcc tgg cgc acc ttc gtg ctg cgt gtg cgg gcc cag gac ccg ccg cct Ala Trp Arg Thr Phe Val Leu Arg Val Arg Ala Gln Asp Pro Pro Pro 690 695 700	2170
gag ctg tac ttt gtc aag gtg gat gtg acg ggc gcg tac gac acc atc Glu Leu Tyr Phe Val Lys Val Asp Val Thr Gly Ala Tyr Asp Thr Ile 705 710 715 720	2218
ccc cag gac agg ctc acg gag gtc atc gcc agc atc atc aaa ccc cag Pro Gln Asp Arg Leu Thr Glu Val Ile Ala Ser Ile Ile Lys Pro Gln 725 730 735	2266
aac acg tac tgc gtg cgt cgg tat gcc gtg gtc cag aag gcc gcc cat Asn Thr Tyr Cys Val Arg Arg Tyr Ala Val Val Gln Lys Ala Ala His 740 745 750	2314
ggg cac gtc cgc aag gcc ttc aag agc cac gtc tct acc ttg aca gac Gly His Val Arg Lys Ala Phe Lys Ser His Val Ser Thr Leu Thr Asp 755 760 765	2362
ctc cag ccg tac atg cga cag ttc gtg gct cac ctg cag gag acc agc Leu Gln Pro Tyr Met Arg Gln Phe Val Ala His Leu Gln Glu Thr Ser 770 775 780	2410
ccg ctg agg gat gcc gtc gtc atc gag cag agc tcc tcc ctg aat gag Pro Leu Arg Asp Ala Val Val Ile Glu Gln Ser Ser Ser Leu Asn Glu 785 790 795 800	2458
gcc agc agt ggc ctc ttc gac gtc ttc cta cgc ttc atg tgc cac cac Ala Ser Ser Gly Leu Phe Asp Val Phe Leu Arg Phe Met Cys His His 805 810 815	2506
gcc gtg cgc atc agg ggc aag tcc tac gtc cag tgc cag ggg atc ccg Ala Val Arg Ile Arg Gly Lys Ser Tyr Val Gln Cys Gln Gly Ile Pro 820 825 830	2554
cag ggc tcc atc ctc tcc acg ctg ctc tgc agc ctg tgc tac ggc gac Gln Gly Ser Ile Leu Ser Thr Leu Leu Cys Ser Leu Cys Tyr Gly Asp 835 840 845	2602
atg gag aac aag ctg ttt gcg ggg att cgg cgg gac ggg ctg ctc ctg Met Glu Asn Lys Leu Phe Ala Gly Ile Arg Arg Asp Gly Leu Leu Leu 850 855 860	2650
cgt ttg gtg gat gat ttc ttg ttg gtg aca cct cac ctc acc cac gcg Arg Leu Val Asp Asp Phe Leu Leu Val Thr Pro His Leu Thr His Ala 865 870 875 880	2698
aaa acc ttc ctc agg acc ctg gtc cga ggt gtc cct gag tat ggc tgc Lys Thr Phe Leu Arg Thr Leu Val Arg Gly Val Pro Glu Tyr Gly Cys 885 890 895	2746
gtg gtg aac ttg cgg aag aca gtg gtg aac ttc cct gta gaa gac gag Val Val Asn Leu Arg Lys Thr Val Val Asn Phe Pro Val Glu Asp Glu 900 905 910	2794
gcc ctg ggt ggc acg gct ttt gtt cag atg ccg gcc cac ggc cta ttc Ala Leu Gly Gly Thr Ala Phe Val Gln Met Pro Ala His Gly Leu Phe 915 920 925	2842

ccc tgg tgc ggc ctg ctg ctg gat acc cgg acc ctg gag gtg cag agc Pro Trp Cys Gly Leu Leu Leu Asp Thr Arg Thr Leu Glu Val Gln Ser 930 935 940	2890
gac tac tcc agc tat gcc cgg acc tcc atc aga gcc agt ctc acc ttc Asp Tyr Ser Ser Tyr Ala Arg Thr Ser Ile Arg Ala Ser Leu Thr Phe 945 950 955 960	2938
aac cgc ggc ttc aag gct ggg agg aac atg cgt cgc aaa ctc ttt ggg Asn Arg Gly Phe Lys Ala Gly Arg Asn Met Arg Arg Lys Leu Phe Gly 965 970 975	2986
gtc ttg cgg ctg aag tgt cac agc ctg ttt ctg gat ttg cag gtg aac Val Leu Arg Leu Lys Cys His Ser Leu Phe Leu Asp Leu Gln Val Asn 980 985 990	3034
agc ctc cag acg gtg tgc acc aac atc tac aag atc ctc ctg ctg cag Ser Leu Gln Thr Val Cys Thr Asn Ile Tyr Lys Ile Leu Leu Leu Gln 995 1000 1005	3082
gcg tac agg ttt cac gca tgt gtg ctg cag ctc cca ttt cat cag Ala Tyr Arg Phe His Ala Cys Val Leu Gln Leu Pro Phe His Gln 1010 1015 1020	3127
caa gtt tgg aag aac ccc aca ttt ttc ctg cgc gtc atc tct gac Gln Val Trp Lys Asn Pro Thr Phe Phe Leu Arg Val Ile Ser Asp 1025 1030 1035	3172
acg gcc tcc ctc tgc tac tcc atc ctg aaa gcc aag aac gca ggg Thr Ala Ser Leu Cys Tyr Ser Ile Leu Lys Ala Lys Asn Ala Gly 1040 1045 1050	3217
atg tcg ctg ggg gcc aag ggc gcc gcc ggc cct ctg ccc tcc gag Met Ser Leu Gly Ala Lys Gly Ala Ala Gly Pro Leu Pro Ser Glu 1055 1060 1065	3262
gcc gtg cag tgg ctg tgc cac caa gca ttc ctg ctc aag ctg act Ala Val Gln Trp Leu Cys His Gln Ala Phe Leu Leu Lys Leu Thr 1070 1075 1080	3307
cga cac cgt gtc acc tac gtg cca ctc ctg ggg tca ctc agg aca Arg His Arg Val Thr Tyr Val Pro Leu Leu Gly Ser Leu Arg Thr 1085 1090 1095	3352
gcc cag acg cag ctg agt cgg aag ctc ccg ggg acg acg ctg act Ala Gln Thr Gln Leu Ser Arg Lys Leu Pro Gly Thr Thr Leu Thr 1100 1105 1110	3397
gcc ctg gag gcc gca gcc aac ccg gca ctg ccc tca gac ttc aag Ala Leu Glu Ala Ala Ala Asn Pro Ala Leu Pro Ser Asp Phe Lys 1115 1120 1125	3442
acc atc ctg gac tga tggccacccg cccacagcca ggccgagagc agacaccagc Thr Ile Leu Asp 1130	3497
agccctgtca cgccgggctc tacgtcccag ggagggaggg gcgggccaca cccaggcccg	3557
caccgctggg agtctgaggc ctgagtgagt gtttggccga ggcctgcatg tccggctgaa	3617
ggctgagtgt ccggctgagg cctgagcgag tgtccagcca agggctgagt gtccagcaca	3677
cctgccgtct tcacttcccc acaggctggc gctcggctcc accccagggc cagcttttcc	3737

tcaccaggag cccggcttcc actccccaca taggaatagt ccatccccag attcgccatt	3797
gttcaccctt cgccctgccc tcctttgcct tccacccccca ccatccaggt ggagaccctg	3857
agaaggaccc tgggagctct gggaatttgg agtgaccaaa ggtgtgccct gtacacaggc	3917
gaggaccctg cacctggatg ggggtccctg tgggtcaaat tggggggagg tgctgtggga	3977
gtaaaatact gaatatatga gtttttcagt tttgaaaaaa a	4018

<210> 2
 <211> 1132
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 2

Met	Pro	Arg	Ala	Pro	Arg	Cys	Arg	Ala	Val	Arg	Ser	Leu	Leu	Arg	Ser
1				5					10					15	

His	Tyr	Arg	Glu	Val	Leu	Pro	Leu	Ala	Thr	Phe	Val	Arg	Arg	Leu	Gly
			20					25					30		

Pro	Gln	Gly	Trp	Arg	Leu	Val	Gln	Arg	Gly	Asp	Pro	Ala	Ala	Phe	Arg
		35					40					45			

Ala	Leu	Val	Ala	Gln	Cys	Leu	Val	Cys	Val	Pro	Trp	Asp	Ala	Arg	Pro
	50					55					60				

Pro	Pro	Ala	Ala	Pro	Ser	Phe	Arg	Gln	Val	Ser	Cys	Leu	Lys	Glu	Leu
65					70					75					80

Val	Ala	Arg	Val	Leu	Gln	Arg	Leu	Cys	Glu	Arg	Gly	Ala	Lys	Asn	Val
				85					90					95	

Leu	Ala	Phe	Gly	Phe	Ala	Leu	Leu	Asp	Gly	Ala	Arg	Gly	Gly	Pro	Pro
			100					105					110		

Glu	Ala	Phe	Thr	Thr	Ser	Val	Arg	Ser	Tyr	Leu	Pro	Asn	Thr	Val	Thr
		115					120					125			

Asp	Ala	Leu	Arg	Gly	Ser	Gly	Ala	Trp	Gly	Leu	Leu	Leu	Arg	Arg	Val
	130					135					140				

Gly	Asp	Asp	Val	Leu	Val	His	Leu	Leu	Ala	Arg	Cys	Ala	Leu	Phe	Val
145					150					155					160

Leu	Val	Ala	Pro	Ser	Cys	Ala	Tyr	Gln	Val	Cys	Gly	Pro	Pro	Leu	Tyr
				165					170					175	

Gln	Leu	Gly	Ala	Ala	Thr	Gln	Ala	Arg	Pro	Pro	Pro	His	Ala	Ser	Gly
-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----

180	185	190
Pro Arg Arg Arg Leu Gly Cys Glu Arg Ala Trp Asn His Ser Val Arg		
195	200	205
Glu Ala Gly Val Pro Leu Gly Leu Pro Ala Pro Gly Ala Arg Arg Arg		
210	215	220
Gly Gly Ser Ala Ser Arg Ser Leu Pro Leu Pro Lys Arg Pro Arg Arg		
225	230	235
Gly Ala Ala Pro Glu Pro Glu Arg Thr Pro Val Gly Gln Gly Ser Trp		
245	250	255
Ala His Pro Gly Arg Thr Arg Gly Pro Ser Asp Arg Gly Phe Cys Val		
260	265	270
Val Ser Pro Ala Arg Pro Ala Glu Glu Ala Thr Ser Leu Glu Gly Ala		
275	280	285
Leu Ser Gly Thr Arg His Ser His Pro Ser Val Gly Arg Gln His His		
290	295	300
Ala Gly Pro Pro Ser Thr Ser Arg Pro Pro Arg Pro Trp Asp Thr Pro		
305	310	315
Cys Pro Pro Val Tyr Ala Glu Thr Lys His Phe Leu Tyr Ser Ser Gly		
325	330	335
Asp Lys Glu Gln Leu Arg Pro Ser Phe Leu Leu Ser Ser Leu Arg Pro		
340	345	350
Ser Leu Thr Gly Ala Arg Arg Leu Val Glu Thr Ile Phe Leu Gly Ser		
355	360	365
Arg Pro Trp Met Pro Gly Thr Pro Arg Arg Leu Pro Arg Leu Pro Gln		
370	375	380
Arg Tyr Trp Gln Met Arg Pro Leu Phe Leu Glu Leu Leu Gly Asn His		
385	390	395
Ala Gln Cys Pro Tyr Gly Val Leu Leu Lys Thr His Cys Pro Leu Arg		
405	410	415
Ala Ala Val Thr Pro Ala Ala Gly Val Cys Ala Arg Glu Lys Pro Gln		
420	425	430
Gly Ser Val Ala Ala Pro Glu Glu Glu Asp Thr Asp Pro Arg Arg Leu		

435						440						445					
Val	Gln	Leu	Leu	Arg	Gln	His	Ser	Ser	Pro	Trp	Gln	Val	Tyr	Gly	Phe		
450						455					460						
Val	Arg	Ala	Cys	Leu	Arg	Arg	Leu	Val	Pro	Pro	Gly	Leu	Trp	Gly	Ser		
465					470					475					480		
Arg	His	Asn	Glu	Arg	Arg	Phe	Leu	Arg	Asn	Thr	Lys	Lys	Phe	Ile	Ser		
				485					490					495			
Leu	Gly	Lys	His	Ala	Lys	Leu	Ser	Leu	Gln	Glu	Leu	Thr	Trp	Lys	Met		
			500					505					510				
Ser	Val	Arg	Asp	Cys	Ala	Trp	Leu	Arg	Arg	Ser	Pro	Gly	Val	Gly	Cys		
	515						520					525					
Val	Pro	Ala	Ala	Glu	His	Arg	Leu	Arg	Glu	Glu	Ile	Leu	Ala	Lys	Phe		
530						535					540						
Leu	His	Trp	Leu	Met	Ser	Val	Tyr	Val	Val	Glu	Leu	Leu	Arg	Ser	Phe		
545					550					555					560		
Phe	Tyr	Val	Thr	Glu	Thr	Thr	Phe	Gln	Lys	Asn	Arg	Leu	Phe	Phe	Tyr		
				565					570					575			
Arg	Lys	Ser	Val	Trp	Ser	Lys	Leu	Gln	Ser	Ile	Gly	Ile	Arg	Gln	His		
			580					585					590				
Leu	Lys	Arg	Val	Gln	Leu	Arg	Glu	Leu	Ser	Glu	Ala	Glu	Val	Arg	Gln		
		595					600					605					
His	Arg	Glu	Ala	Arg	Pro	Ala	Leu	Leu	Thr	Ser	Arg	Leu	Arg	Phe	Ile		
610						615					620						
Pro	Lys	Pro	Asp	Gly	Leu	Arg	Pro	Ile	Val	Asn	Met	Asp	Tyr	Val	Val		
625					630					635					640		
Gly	Ala	Arg	Thr	Phe	Arg	Arg	Glu	Lys	Arg	Ala	Glu	Arg	Leu	Thr	Ser		
				645					650					655			
Arg	Val	Lys	Ala	Leu	Phe	Ser	Val	Leu	Asn	Tyr	Glu	Arg	Ala	Arg	Arg		
			660					665					670				
Pro	Gly	Leu	Leu	Gly	Ala	Ser	Val	Leu	Gly	Leu	Asp	Asp	Ile	His	Arg		
		675					680					685					
Ala	Trp	Arg	Thr	Phe	Val	Leu	Arg	Val	Arg	Ala	Gln	Asp	Pro	Pro	Pro		

690					695					700					
Glu	Leu	Tyr	Phe	Val	Lys	Val	Asp	Val	Thr	Gly	Ala	Tyr	Asp	Thr	Ile
705					710					715					720
Pro	Gln	Asp	Arg	Leu	Thr	Glu	Val	Ile	Ala	Ser	Ile	Ile	Lys	Pro	Gln
				725					730					735	
Asn	Thr	Tyr	Cys	Val	Arg	Arg	Tyr	Ala	Val	Val	Gln	Lys	Ala	Ala	His
			740					745					750		
Gly	His	Val	Arg	Lys	Ala	Phe	Lys	Ser	His	Val	Ser	Thr	Leu	Thr	Asp
		755					760					765			
Leu	Gln	Pro	Tyr	Met	Arg	Gln	Phe	Val	Ala	His	Leu	Gln	Glu	Thr	Ser
	770					775					780				
Pro	Leu	Arg	Asp	Ala	Val	Val	Ile	Glu	Gln	Ser	Ser	Ser	Leu	Asn	Glu
					790					795					800
Ala	Ser	Ser	Gly	Leu	Phe	Asp	Val	Phe	Leu	Arg	Phe	Met	Cys	His	His
				805					810					815	
Ala	Val	Arg	Ile	Arg	Gly	Lys	Ser	Tyr	Val	Gln	Cys	Gln	Gly	Ile	Pro
			820					825					830		
Gln	Gly	Ser	Ile	Leu	Ser	Thr	Leu	Leu	Cys	Ser	Leu	Cys	Tyr	Gly	Asp
		835					840					845			
Met	Glu	Asn	Lys	Leu	Phe	Ala	Gly	Ile	Arg	Arg	Asp	Gly	Leu	Leu	Leu
	850					855					860				
Arg	Leu	Val	Asp	Asp	Phe	Leu	Leu	Val	Thr	Pro	His	Leu	Thr	His	Ala
					870					875					880
Lys	Thr	Phe	Leu	Arg	Thr	Leu	Val	Arg	Gly	Val	Pro	Glu	Tyr	Gly	Cys
				885					890					895	
Val	Val	Asn	Leu	Arg	Lys	Thr	Val	Val	Asn	Phe	Pro	Val	Glu	Asp	Glu
			900					905					910		
Ala	Leu	Gly	Gly	Thr	Ala	Phe	Val	Gln	Met	Pro	Ala	His	Gly	Leu	Phe
		915					920					925			
Pro	Trp	Cys	Gly	Leu	Leu	Leu	Asp	Thr	Arg	Thr	Leu	Glu	Val	Gln	Ser
	930					935					940				
Asp	Tyr	Ser	Ser	Tyr	Ala	Arg	Thr	Ser	Ile	Arg	Ala	Ser	Leu	Thr	Phe

945		950		955		960
Asn Arg Gly Phe	Lys Ala Gly Arg Asn Met Arg Arg Lys Leu Phe Gly					
	965		970		975	
Val Leu Arg	Leu Lys Cys His Ser	Leu Phe Leu Asp Leu Gln Val Asn				
	980	985	990			
Ser Leu Gln Thr Val Cys Thr Asn	Ile Tyr Lys Ile Leu	Leu Leu Gln				
	995	1000	1005			
Ala Tyr Arg Phe His Ala Cys	Val Leu Gln Leu Pro	Phe His Gln				
	1010	1015	1020			
Gln Val Trp Lys Asn Pro Thr	Phe Phe Leu Arg Val	Ile Ser Asp				
	1025	1030	1035			
Thr Ala Ser Leu Cys Tyr Ser	Ile Leu Lys Ala Lys	Asn Ala Gly				
	1040	1045	1050			
Met Ser Leu Gly Ala Lys Gly	Ala Ala Gly Pro Leu	Pro Ser Glu				
	1055	1060	1065			
Ala Val Gln Trp Leu Cys His	Gln Ala Phe Leu Leu	Lys Leu Thr				
	1070	1075	1080			
Arg His Arg Val Thr Tyr Val	Pro Leu Leu Gly Ser	Leu Arg Thr				
	1085	1090	1095			
Ala Gln Thr Gln Leu Ser Arg	Lys Leu Pro Gly Thr	Thr Leu Thr				
	1100	1105	1110			
Ala Leu Glu Ala Ala Ala Asn	Pro Ala Leu Pro Ser	Asp Phe Lys				
	1115	1120	1125			
Thr Ile Leu Asp						
	1130					

<210> 3
 <211> 3246
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<220>
 <221> CDS
 <222> (1)..(3246)

<400> 3
 cgc gct ctg gtg gcc cag tgc ctg gtg tgc gtg ccc tgg gac gca cgg
 Arg Ala Leu Val Ala Gln Cys Leu Val Cys Val Pro Trp Asp Ala Arg

1	5				10				15								
cca	ccc	cct	gcc	gca	ccc	tca	ttc	cgc	caa	gtg	tcc	tgc	ctg	aag	gag		96
Pro	Pro	Pro	Ala	Ala	Pro	Ser	Phe	Arg	Gln	Val	Ser	Cys	Leu	Lys	Glu		
			20					25					30				
ctg	gtg	gcc	cga	gtg	ctg	cag	agg	ctg	tgc	gag	cgc	ggc	gcg	aag	aac		144
Leu	Val	Ala	Arg	Val	Leu	Gln	Arg	Leu	Cys	Glu	Arg	Gly	Ala	Lys	Asn		
		35				40						45					
gtg	ctg	gcc	ttc	ggc	ttc	gcg	ctg	ctg	gac	ggg	gct	cgc	gga	ggc	cca		192
Val	Leu	Ala	Phe	Gly	Phe	Ala	Leu	Leu	Asp	Gly	Ala	Arg	Gly	Gly	Pro		
	50					55					60						
ccc	gag	gcc	ttc	acc	acc	agc	gtg	cgc	agc	tac	ctg	ccc	aac	acg	gtg		240
Pro	Glu	Ala	Phe	Thr	Thr	Ser	Val	Arg	Ser	Tyr	Leu	Pro	Asn	Thr	Val		
65				70					75						80		
acc	gac	gca	ctg	cgg	ggg	agc	ggg	gcg	tgg	ggg	ctg	ctg	ttg	cgc	cgc		288
Thr	Asp	Ala	Leu	Arg	Gly	Ser	Gly	Ala	Trp	Gly	Leu	Leu	Leu	Arg	Arg		
				85					90					95			
gtg	ggc	gac	gac	gtg	ctg	gtt	cac	ctg	ctg	gca	cgc	tgc	gcg	ctc	ttt		336
Val	Gly	Asp	Asp	Val	Leu	Val	His	Leu	Leu	Ala	Arg	Cys	Ala	Leu	Phe		
			100					105					110				
gtg	ctg	gtg	gct	ccc	agc	tgc	gcc	tac	cag	gtg	tgc	ggg	ccg	ccg	ctg		384
Val	Leu	Val	Ala	Pro	Ser	Cys	Ala	Tyr	Gln	Val	Cys	Gly	Pro	Pro	Leu		
		115					120					125					
tac	cag	ctc	ggc	gct	gcc	act	cag	gca	cgg	cct	cca	cct	cac	gct	agt		432
Tyr	Gln	Leu	Gly	Ala	Ala	Thr	Gln	Ala	Arg	Pro	Pro	Pro	His	Ala	Ser		
	130					135				140							
gga	ccc	cga	agg	cgt	ctg	gga	tgc	gaa	cgg	gcc	tgg	aac	cat	agc	gtc		480
Gly	Pro	Arg	Arg	Arg	Leu	Gly	Cys	Glu	Arg	Ala	Trp	Asn	His	Ser	Val		
145				150						155					160		
agg	gag	gcc	ggg	gtc	ccc	ctg	ggc	ctg	cca	gcc	ccg	ggt	gcg	agg	agg		528
Arg	Glu	Ala	Gly	Val	Pro	Leu	Gly	Leu	Pro	Ala	Pro	Gly	Ala	Arg	Arg		
				165					170					175			
cgc	ggg	ggc	agt	gcc	agc	cga	agt	ctg	ccg	ttg	ccc	aag	agg	ccc	agg		576
Arg	Gly	Gly	Ser	Ala	Ser	Arg	Ser	Leu	Pro	Leu	Pro	Lys	Arg	Pro	Arg		
			180					185					190				
cgt	ggc	gct	gcc	cct	gag	ccg	gag	cgg	acg	ccc	gtt	ggg	cag	ggg	tcc		624
Arg	Gly	Ala	Ala	Pro	Glu	Pro	Glu	Arg	Thr	Pro	Val	Gly	Gln	Gly	Ser		
		195					200					205					
tgg	gcc	cac	ccg	ggc	agg	acg	cgt	gga	ccg	agt	gac	cgt	ggt	ttc	tgt		672
Trp	Ala	His	Pro	Gly	Arg	Thr	Arg	Gly	Pro	Ser	Asp	Arg	Gly	Phe	Cys		
	210					215					220						
gtg	gtg	tca	cct	gcc	aga	ccc	gcc	gaa	gaa	gcc	acc	tct	ttg	gag	ggt		720
Val	Val	Ser	Pro	Ala	Arg	Pro	Ala	Glu	Glu	Ala	Thr	Ser	Leu	Glu	Gly		
225					230					235					240		
gcg	ctc	tct	ggc	acg	cgc	cac	tcc	cac	cca	tcc	gtg	ggc	cgc	cag	cac		768
Ala	Leu	Ser	Gly	Thr	Arg	His	Ser	His	Pro	Ser	Val	Gly	Arg	Gln	His		
				245					250					255			
cac	gcg	ggc	ccc	cca	tcc	aca	tcg	cgg	cca	cca	cgt	ccc	tgg	gac	acg		816
His	Ala	Gly	Pro	Pro	Ser	Thr	Ser	Arg	Pro	Pro	Arg	Pro	Trp	Asp	Thr		

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

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

770	775	780	
ccg cag ggc tcc atc ctc tcc acg ctg ctc tgc agc ctg tgc tac ggc Pro Gln Gly Ser Ile Leu Ser Thr Leu Leu Cys Ser Leu Cys Tyr Gly 785 790 795 800			2400
gac atg gag aac aag ctg ttt gcg ggg att cgg cgg gac ggg ctg ctc Asp Met Glu Asn Lys Leu Phe Ala Gly Ile Arg Arg Asp Gly Leu Leu 805 810 815			2448
ctg cgt ttg ttc ttg ttg gtg aca cct cac ctc acc cac gcg aaa acc Leu Arg Leu Phe Leu Leu Val Thr Pro His Leu Thr His Ala Lys Thr 820 825 830			2496
ttc ctc agg acc ctg gtc cga ggt gtc cct gag tat ggc tgc gtg gtg Phe Leu Arg Thr Leu Val Arg Gly Val Pro Glu Tyr Gly Cys Val Val 835 840 845			2544
aac ttg cgg aag aca gtg gtg aac ttc cct gta gaa gac gag gcc ctg Asn Leu Arg Lys Thr Val Val Asn Phe Pro Val Glu Asp Glu Ala Leu 850 855 860			2592
ggt ggc acg gct ttt gtt cag atg ccg gcc cac ggc cta ttc ccc tgg Gly Gly Thr Ala Phe Val Gln Met Pro Ala His Gly Leu Phe Pro Trp 865 870 875 880			2640
tgc ggc ctg ctg ctg gat acc cgg acc ctg gag gtg cag agc gac tac Cys Gly Leu Leu Leu Asp Thr Arg Thr Leu Glu Val Gln Ser Asp Tyr 885 890 895			2688
tcc agc tat gcc cgg acc tcc atc aga gcc agt ctc acc ttc aac cgc Ser Ser Tyr Ala Arg Thr Ser Ile Arg Ala Ser Leu Thr Phe Asn Arg 900 905 910			2736
ggc ttc aag gct ggg agg aac atg cgt cgc aaa ctc ttt ggg gtc ttg Gly Phe Lys Ala Gly Arg Asn Met Arg Arg Lys Leu Phe Gly Val Leu 915 920 925			2784
cgg ctg aag tgt cac agc ctg ttt ctg gat ttg cag gtg aac agc ctc Arg Leu Lys Cys His Ser Leu Phe Leu Asp Leu Gln Val Asn Ser Leu 930 935 940			2832
cag acg gtg tgc acc aac atc tac aag atc ctc ctg ctg cag gcg tac Gln Thr Val Cys Thr Asn Ile Tyr Lys Ile Leu Leu Leu Gln Ala Tyr 945 950 955 960			2880
agg ttt cac gca tgt gtg ctg cag ctc cca ttt cat cag caa gtt tgg Arg Phe His Ala Cys Val Leu Gln Leu Pro Phe His Gln Gln Val Trp 965 970 975			2928
aag aac ccc aca ttt ttc ctg cgc gtc atc tct gac acg gcc tcc ctc Lys Asn Pro Thr Phe Phe Leu Arg Val Ile Ser Asp Thr Ala Ser Leu 980 985 990			2976
tgc tac tcc atc ctg aaa gcc aag aac gca ggg atg tcg ctg ggg gcc Cys Tyr Ser Ile Leu Lys Ala Lys Asn Ala Gly Met Ser Leu Gly Ala 995 1000 1005			3024
aag ggc gcc gcc ggc cct ctg ccc tcc gag gcc gtg cag tgg ctg Lys Gly Ala Ala Gly Pro Leu Pro Ser Glu Ala Val Gln Trp Leu 1010 1015 1020			3069
tgc cac caa gca ttc ctg ctc aag ctg act cga cac cgt gtc acc Cys His Gln Ala Phe Leu Leu Lys Leu Thr Arg His Arg Val Thr			3114

1025	1030	1035	
tac gtg cca ctc ctg ggg tca ctc agg aca gcc cag acg cag ctg			3159
Tyr Val Pro Leu Leu Gly Ser Leu Arg Thr Ala Gln Thr Gln Leu			
1040	1045	1050	
agt cgg aag ctc ccg ggg acg acg ctg act gcc ctg gag gcc gca			3204
Ser Arg Lys Leu Pro Gly Thr Thr Leu Thr Ala Leu Glu Ala Ala			
1055	1060	1065	
gcc aac ccg gca ctg ccc tca gac ttc aag acc atc ctg gac			3246
Ala Asn Pro Ala Leu Pro Ser Asp Phe Lys Thr Ile Leu Asp			
1070	1075	1080	

<210> 4
 <211> 1082
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 4

Arg Ala Leu Val Ala Gln Cys Leu Val Cys Val Pro Trp Asp Ala Arg
1 5 10 15

Pro Pro Pro Ala Ala Pro Ser Phe Arg Gln Val Ser Cys Leu Lys Glu
20 25 30

Leu Val Ala Arg Val Leu Gln Arg Leu Cys Glu Arg Gly Ala Lys Asn
35 40 45

Val Leu Ala Phe Gly Phe Ala Leu Leu Asp Gly Ala Arg Gly Gly Pro
50 55 60

Pro Glu Ala Phe Thr Thr Ser Val Arg Ser Tyr Leu Pro Asn Thr Val
65 70 75 80

Thr Asp Ala Leu Arg Gly Ser Gly Ala Trp Gly Leu Leu Leu Arg Arg
85 90 95

Val Gly Asp Asp Val Leu Val His Leu Leu Ala Arg Cys Ala Leu Phe
100 105 110

Val Leu Val Ala Pro Ser Cys Ala Tyr Gln Val Cys Gly Pro Pro Leu
115 120 125

Tyr Gln Leu Gly Ala Ala Thr Gln Ala Arg Pro Pro Pro His Ala Ser
130 135 140

Gly Pro Arg Arg Arg Leu Gly Cys Glu Arg Ala Trp Asn His Ser Val
145 150 155 160

Arg Glu Ala Gly Val Pro Leu Gly Leu Pro Ala Pro Gly Ala Arg Arg
165 170 175

Arg Gly Gly Ser Ala Ser Arg Ser Leu Pro Leu Pro Lys Arg Pro Arg
180 185 190

Arg Gly Ala Ala Pro Glu Pro Glu Arg Thr Pro Val Gly Gln Gly Ser
195 200 205

Trp Ala His Pro Gly Arg Thr Arg Gly Pro Ser Asp Arg Gly Phe Cys
210 215 220

Val Val Ser Pro Ala Arg Pro Ala Glu Glu Ala Thr Ser Leu Glu Gly
225 230 235 240

Ala Leu Ser Gly Thr Arg His Ser His Pro Ser Val Gly Arg Gln His
245 250 255

His Ala Gly Pro Pro Ser Thr Ser Arg Pro Pro Arg Pro Trp Asp Thr
260 265 270

Pro Cys Pro Pro Val Tyr Ala Glu Thr Lys His Phe Leu Tyr Ser Ser
275 280 285

Gly Asp Lys Glu Gln Leu Arg Pro Ser Phe Leu Leu Ser Ser Leu Arg
290 295 300

Pro Ser Leu Thr Gly Ala Arg Arg Leu Val Glu Thr Ile Phe Leu Gly
305 310 315 320

Ser Arg Pro Trp Met Pro Gly Thr Pro Arg Arg Leu Pro Arg Leu Pro
325 330 335

Gln Arg Tyr Trp Gln Met Arg Pro Leu Phe Leu Glu Leu Leu Gly Asn
340 345 350

His Ala Gln Cys Pro Tyr Gly Val Leu Leu Lys Thr His Cys Pro Leu
355 360 365

Arg Ala Ala Val Thr Pro Ala Ala Gly Val Cys Ala Arg Glu Lys Pro
370 375 380

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

Leu Val Gln Leu Leu Arg Gln His Ser Ser Pro Trp Gln Val Tyr Gly
405 410 415

Phe Val Arg Ala Cys Leu Arg Arg Leu Val Pro Pro Gly Leu Trp Gly
420 425 430

Ser Arg His Asn Glu Arg Arg Phe Leu Arg Asn Thr Lys Lys Phe Ile
435 440 445

Ser Leu Gly Lys His Ala Lys Leu Ser Leu Gln Glu Leu Thr Trp Lys
450 455 460

Met Ser Val Arg Gly Cys Ala Trp Leu Arg Arg Ser Pro Gly Val Gly
465 470 475 480

Cys Val Pro Ala Ala Glu His Arg Leu Arg Glu Glu Ile Leu Ala Lys
485 490 495

Phe Leu His Trp Leu Met Ser Val Tyr Val Val Glu Leu Leu Arg Ser
500 505 510

Phe Phe Tyr Val Thr Glu Thr Thr Phe Gln Lys Asn Arg Leu Phe Phe
515 520 525

Tyr Arg Lys Ser Val Trp Ser Lys Leu Gln Ser Ile Gly Ile Arg Gln
530 535 540

His Leu Lys Arg Val Gln Leu Arg Glu Leu Ser Glu Ala Glu Val Arg
545 550 555 560

Gln His Arg Glu Ala Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser Arg Leu Arg Phe
565 570 575

Ile Pro Lys Pro Asp Gly Leu Arg Pro Ile Val Asn Met Asp Tyr Val
580 585 590

Val Gly Ala Arg Thr Phe Arg Arg Glu Lys Arg Ala Glu Arg Leu Thr
595 600 605

Ser Arg Val Lys Ala Leu Phe Ser Val Leu Asn Tyr Glu Arg Ala Arg
610 615 620

Arg Pro Gly Leu Leu Gly Ala Ser Val Leu Gly Leu Asp Asp Ile His
625 630 635 640

Arg Ala Trp Arg Thr Phe Val Leu Arg Val Arg Ala Gln Asp Pro Pro
645 650 655

Pro Glu Leu Tyr Phe Val Lys Val Asp Val Thr Gly Ala Tyr Asp Thr
660 665 670

Ile Pro Gln Asp Arg Leu Thr Glu Val Ile Ala Ser Ile Ile Lys Pro
675 680 685

Gln Asn Thr Tyr Cys Val Arg Arg Tyr Ala Val Val Gln Lys Ala Ala
690 695 700

His Gly His Val Arg Lys Ala Phe Lys Ser His Val Ser Thr Leu Thr
705 710 715 720

Asp Leu Gln Pro Tyr Met Arg Gln Phe Val Ala His Leu Gln Glu Thr
725 730 735

Ser Pro Leu Arg Asp Ala Val Val Ile Glu Gln Ser Ser Ser Leu Asn
740 745 750

Glu Ala Ser Ser Gly Leu Phe Asp Val Phe Leu Arg Phe Met Cys His
755 760 765

His Ala Val Arg Ile Arg Gly Lys Ser Tyr Val Gln Cys Gln Gly Ile
770 775 780

Pro Gln Gly Ser Ile Leu Ser Thr Leu Leu Cys Ser Leu Cys Tyr Gly
785 790 795 800

Asp Met Glu Asn Lys Leu Phe Ala Gly Ile Arg Arg Asp Gly Leu Leu
805 810 815

Leu Arg Leu Phe Leu Leu Val Thr Pro His Leu Thr His Ala Lys Thr
820 825 830

Phe Leu Arg Thr Leu Val Arg Gly Val Pro Glu Tyr Gly Cys Val Val
835 840 845

Asn Leu Arg Lys Thr Val Val Asn Phe Pro Val Glu Asp Glu Ala Leu
850 855 860

Gly Gly Thr Ala Phe Val Gln Met Pro Ala His Gly Leu Phe Pro Trp
865 870 875 880

Cys Gly Leu Leu Leu Asp Thr Arg Thr Leu Glu Val Gln Ser Asp Tyr
885 890 895

Ser Ser Tyr Ala Arg Thr Ser Ile Arg Ala Ser Leu Thr Phe Asn Arg
900 905 910

Gly Phe Lys Ala Gly Arg Asn Met Arg Arg Lys Leu Phe Gly Val Leu
915 920 925

Arg Leu Lys Cys His Ser Leu Phe Leu Asp Leu Gln Val Asn Ser Leu
930 935 940

Gln Thr Val Cys Thr Asn Ile Tyr Lys Ile Leu Leu Leu Gln Ala Tyr
 945 950 955 960

Arg Phe His Ala Cys Val Leu Gln Leu Pro Phe His Gln Gln Val Trp
 965 970 975

Lys Asn Pro Thr Phe Phe Leu Arg Val Ile Ser Asp Thr Ala Ser Leu
 980 985 990

Cys Tyr Ser Ile Leu Lys Ala Lys Asn Ala Gly Met Ser Leu Gly Ala
 995 1000 1005

Lys Gly Ala Ala Gly Pro Leu Pro Ser Glu Ala Val Gln Trp Leu
 1010 1015 1020

Cys His Gln Ala Phe Leu Leu Lys Leu Thr Arg His Arg Val Thr
 1025 1030 1035

Tyr Val Pro Leu Leu Gly Ser Leu Arg Thr Ala Gln Thr Gln Leu
 1040 1045 1050

Ser Arg Lys Leu Pro Gly Thr Thr Leu Thr Ala Leu Glu Ala Ala
 1055 1060 1065

Ala Asn Pro Ala Leu Pro Ser Asp Phe Lys Thr Ile Leu Asp
 1070 1075 1080

<210> 5
 <211> 3297
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<220>
 <221> CDS
 <222> (1)..(3297)

<400> 5
 ctg gcc acc ttc gtg cgg cgc ctg gga ccc cag ggc tgg cgg ctg gtg 48
 Leu Ala Thr Phe Val Arg Arg Leu Gly Pro Gln Gly Trp Arg Leu Val
 1 5 10 15
 cag cgc ggg gac cct gct gct ttc aga gct ctc gtc gcc cag tgt ctg 96
 Gln Arg Gly Asp Pro Ala Ala Phe Arg Ala Leu Val Ala Gln Cys Leu
 20 25 30
 gtc tgc gtt cct tgg gac gca cgg ccc cca ccc gcc gcc ccc agt ttc 144
 Val Cys Val Pro Trp Asp Ala Arg Pro Pro Pro Ala Ala Pro Ser Phe
 35 40 45
 cgg cag gtg agt tgt ctc aaa gag ttg gtt gct cgg gtg ttg cag cgg 192
 Arg Gln Val Ser Cys Leu Lys Glu Leu Val Ala Arg Val Leu Gln Arg
 50 55 60

ctt tgt gaa agg gga gca aag aac gtc ctt gcc ttt ggc ttc gct ttg Leu Cys Glu Arg Gly Ala Lys Asn Val Leu Ala Phe Gly Phe Ala Leu 65 70 75 80	240
ctc gat gga gca cgc gga ggc cct cct gag gca ttc act act agc gtc Leu Asp Gly Ala Arg Gly Gly Pro Pro Glu Ala Phe Thr Thr Ser Val 85 90 95	288
cgg tcc tac ctg ccc aac aca gtg acc gac gct ctg aga ggt tca ggt Arg Ser Tyr Leu Pro Asn Thr Val Thr Asp Ala Leu Arg Gly Ser Gly 100 105 110	336
gcc tgg ggt ctg ctg ctg cgg agg gtg ggt gat gat gtt ctg gtt cac Ala Trp Gly Leu Leu Leu Arg Arg Val Gly Asp Asp Val Leu Val His 115 120 125	384
ctc ctg gcc cgg tgt gcc ctg ttc gtg ctg gtg gct ccc tcc tgc gca Leu Leu Ala Arg Cys Ala Leu Phe Val Leu Val Ala Pro Ser Cys Ala 130 135 140	432
tac cag gtc tgc gga ccc cca ctt tat cag ctc ggc gct gct act cag Tyr Gln Val Cys Gly Pro Pro Leu Tyr Gln Leu Gly Ala Ala Thr Gln 145 150 155 160	480
gcc cgc cca cca cca cac gcc tca ggt cca aga cgc cgg ctg ggc tgc Ala Arg Pro Pro Pro His Ala Ser Gly Pro Arg Arg Arg Leu Gly Cys 165 170 175	528
gaa cgg gca tgg aat cat agc gtg cgg gag gca ggt gtg cct ctc ggc Glu Arg Ala Trp Asn His Ser Val Arg Glu Ala Gly Val Pro Leu Gly 180 185 190	576
ctg cca gcc ccc gga gca agg aga cgc ggt gga tcc gcc agt cgc tca Leu Pro Ala Pro Gly Ala Arg Arg Arg Gly Gly Ser Ala Ser Arg Ser 195 200 205	624
ctc ccc ttg cct aag agg cca aga aga gga gcc gcc cct gaa ccc gag Leu Pro Leu Pro Lys Arg Pro Arg Arg Gly Ala Ala Pro Glu Pro Glu 210 215 220	672
aga aca cct gtc ggc cag ggc tcc tgg gct cac ccc gga agg acc agg Arg Thr Pro Val Gly Gln Gly Ser Trp Ala His Pro Gly Arg Thr Arg 225 230 235 240	720
ggc cca agc gat agg ggc ttc tgt gtt gtg tca cca gcc agg cct gcc Gly Pro Ser Asp Arg Gly Phe Cys Val Val Ser Pro Ala Arg Pro Ala 245 250 255	768
gaa gag gct acc tcc ttg gaa gga gcc ctc agt ggc acc agg cat tct Glu Glu Ala Thr Ser Leu Glu Gly Ala Leu Ser Gly Thr Arg His Ser 260 265 270	816
cat cca tct gtg ggt agg cag cat cat gcc ggc ccc ccc tct aca agc His Pro Ser Val Gly Arg Gln His His Ala Gly Pro Pro Ser Thr Ser 275 280 285	864
aga cct ccc aga cct tgg gac aca ccc tgc cca cca gtg tat gcc gag Arg Pro Pro Arg Pro Trp Asp Thr Pro Cys Pro Pro Val Tyr Ala Glu 290 295 300	912
acc aag cac ttt ttg tat tcc agt ggc gat aaa gag cag ctc cgg ccc Thr Lys His Phe Leu Tyr Ser Ser Gly Asp Lys Glu Gln Leu Arg Pro 305 310 315 320	960

tct ttt ctg ctc tca agc ctc cgc ccc tct ctg acc gga gct cgc agg	1008
Ser Phe Leu Leu Ser Ser Leu Arg Pro Ser Leu Thr Gly Ala Arg Arg	
325 330 335	
ctg gtg gag acc atc ttt ctg ggc tca aga cca tgg atg cca ggc acc	1056
Leu Val Glu Thr Ile Phe Leu Gly Ser Arg Pro Trp Met Pro Gly Thr	
340 345 350	
ccc cgc aga ctg ccc agg ctc ccc cag cgg tac tgg cag atg cgc cct	1104
Pro Arg Arg Leu Pro Arg Leu Pro Gln Arg Tyr Trp Gln Met Arg Pro	
355 360 365	
ctc ttt ctg gaa ctt ctg ggt aac cac gcc cag tgc cca tat ggc gtc	1152
Leu Phe Leu Glu Leu Leu Gly Asn His Ala Gln Cys Pro Tyr Gly Val	
370 375 380	
ctg ctg aag acc cac tgt cct ctg agg gcc gcc gtg acc cca gcc gcc	1200
Leu Leu Lys Thr His Cys Pro Leu Arg Ala Ala Val Thr Pro Ala Ala	
385 390 395 400	
ggt gtg tgt gct aga gaa aaa ccc cag ggc tca gtg gct gca cct gaa	1248
Gly Val Cys Ala Arg Glu Lys Pro Gln Gly Ser Val Ala Ala Pro Glu	
405 410 415	
gag gag gac act gac cct cgc cgc ctt gtc cag ttg ctc agg cag cat	1296
Glu Glu Asp Thr Asp Pro Arg Arg Leu Val Gln Leu Leu Arg Gln His	
420 425 430	
tca tca cca tgg cag gtg tac ggc ttc gtg agg gct tgc ctg cgg aga	1344
Ser Ser Pro Trp Gln Val Tyr Gly Phe Val Arg Ala Cys Leu Arg Arg	
435 440 445	
ctg gtc ccc ccc gga ttg tgg gga tct cgg cac aac gaa cgg cgc ttt	1392
Leu Val Pro Pro Gly Leu Trp Gly Ser Arg His Asn Glu Arg Arg Phe	
450 455 460	
ctg agg aat aca aag aag ttt atc tcc ctg ggc aag cat gca aag ctc	1440
Leu Arg Asn Thr Lys Lys Phe Ile Ser Leu Gly Lys His Ala Lys Leu	
465 470 475 480	
agc ttg cag gag ctg aca tgg aag atg agc gtt aga gga tgc gca tgg	1488
Ser Leu Gln Glu Leu Thr Trp Lys Met Ser Val Arg Gly Cys Ala Trp	
485 490 495	
ctc agg cgg tca cct gga gtt gga tgc gtt cca gca gca gag cac agg	1536
Leu Arg Arg Ser Pro Gly Val Gly Cys Val Pro Ala Ala Glu His Arg	
500 505 510	
ctg cgc gaa gag att ctc gca aag ttc ctg cac tgg ctt atg agc gtc	1584
Leu Arg Glu Glu Ile Leu Ala Lys Phe Leu His Trp Leu Met Ser Val	
515 520 525	
tac gtg gtc gaa ctg ctg cgg tct ttc ttc tac gtg aca gag acc act	1632
Tyr Val Val Glu Leu Leu Arg Ser Phe Phe Tyr Val Thr Glu Thr Thr	
530 535 540	
ttt cag aag aac aga ctg ttc ttc tac agg aag tcc gtc tgg agc aag	1680
Phe Gln Lys Asn Arg Leu Phe Phe Tyr Arg Lys Ser Val Trp Ser Lys	
545 550 555 560	
ctc cag agt att ggt att aga cag cac ctt aag aga gtt cag ctt aga	1728
Leu Gln Ser Ile Gly Ile Arg Gln His Leu Lys Arg Val Gln Leu Arg	
565 570 575	

gag	ctg	tcc	gaa	gct	gaa	gtc	cgc	cag	cac	cgc	gaa	gct	cgc	ccc	gcc	1776
Glu	Leu	Ser	Glu	Ala	Glu	Val	Arg	Gln	His	Arg	Glu	Ala	Arg	Pro	Ala	
			580					585					590			
ctc	ctg	acc	tct	cgg	ctg	cgg	ttt	att	ccc	aaa	ccc	gat	ggc	ctt	aga	1824
Leu	Leu	Thr	Ser	Arg	Leu	Arg	Phe	Ile	Pro	Lys	Pro	Asp	Gly	Leu	Arg	
		595					600					605				
cct	atc	gtg	aat	atg	gat	tac	gtc	gtg	ggc	gaa	act	ttc	aga	agg		1872
Pro	Ile	Val	Asn	Met	Asp	Tyr	Val	Val	Gly	Ala	Arg	Thr	Phe	Arg	Arg	
	610					615					620					
gag	aag	cgc	gcc	gag	aga	ctg	aca	tct	cgc	gtg	aag	gca	ctt	ttt	tct	1920
Glu	Lys	Arg	Ala	Glu	Arg	Leu	Thr	Ser	Arg	Val	Lys	Ala	Leu	Phe	Ser	
625					630					635					640	
gtg	ctt	aat	tat	gaa	aga	gcc	cgc	aga	cct	ggc	ctt	ctc	gga	gcc	agc	1968
Val	Leu	Asn	Tyr	Glu	Arg	Ala	Arg	Arg	Pro	Gly	Leu	Leu	Gly	Ala	Ser	
				645					650					655		
gtg	ctc	ggc	ctg	gat	gat	atc	cat	cgg	gct	tgg	cgc	acc	ttt	gtg	ctt	2016
Val	Leu	Gly	Leu	Asp	Asp	Ile	His	Arg	Ala	Trp	Arg	Thr	Phe	Val	Leu	
			660					665					670			
cgg	gtg	agg	gca	cag	gat	cct	cct	cct	gag	ctt	tat	ttt	gtg	aaa	gtt	2064
Arg	Val	Arg	Ala	Gln	Asp	Pro	Pro	Pro	Glu	Leu	Tyr	Phe	Val	Lys	Val	
		675					680					685				
gat	gtt	act	ggc	gct	tac	gat	aca	atc	cct	cag	gac	cgg	ctc	acc	gag	2112
Asp	Val	Thr	Gly	Ala	Tyr	Asp	Thr	Ile	Pro	Gln	Asp	Arg	Leu	Thr	Glu	
	690					695					700					
gtg	atc	gcc	tct	att	atc	aaa	ccc	cag	aac	acc	tac	tgc	gtg	aga	agg	2160
Val	Ile	Ala	Ser	Ile	Ile	Lys	Pro	Gln	Asn	Thr	Tyr	Cys	Val	Arg	Arg	
705					710					715					720	
tac	gcc	gtc	gtt	cag	aaa	gcc	gca	cac	gga	cac	gtg	cgc	aaa	gct	ttc	2208
Tyr	Ala	Val	Val	Gln	Lys	Ala	Ala	His	Gly	His	Val	Arg	Lys	Ala	Phe	
				725					730					735		
aaa	tcc	cac	gtg	tct	acc	ttg	aca	gac	ctc	cag	cct	tat	atg	cgg	cag	2256
Lys	Ser	His	Val	Ser	Thr	Leu	Thr	Asp	Leu	Gln	Pro	Tyr	Met	Arg	Gln	
			740					745					750			
ttt	gtc	gca	cac	ctg	cag	gag	act	agc	ccc	ttg	agg	gac	gct	gtg	gtc	2304
Phe	Val	Ala	His	Leu	Gln	Glu	Thr	Ser	Pro	Leu	Arg	Asp	Ala	Val	Val	
		755					760					765				
atc	gaa	cag	tcc	agc	tct	ctc	aat	gag	gca	tcc	tca	ggc	ctg	ttt	gat	2352
Ile	Glu	Gln	Ser	Ser	Ser	Leu	Asn	Glu	Ala	Ser	Ser	Gly	Leu	Phe	Asp	
	770					775					780					
gtg	ttc	ctg	cgc	ttt	atg	tgc	cac	cac	gcc	gtg	cgg	att	agg	ggc	aag	2400
Val	Phe	Leu	Arg	Phe	Met	Cys	His	His	Ala	Val	Arg	Ile	Arg	Gly	Lys	
785					790					795					800	
tct	tac	gtg	cag	tgc	cag	ggc	atc	cca	cag	ggc	agc	atc	ctg	agc	aca	2448
Ser	Tyr	Val	Gln	Cys	Gln	Gly	Ile	Pro	Gln	Gly	Ser	Ile	Leu	Ser	Thr	
				805					810					815		
ctg	ctg	tgt	agc	ctg	tgc	tat	ggc	gat	atg	gag	aat	aaa	ttg	ttc	gcc	2496
Leu	Leu	Cys	Ser	Leu	Cys	Tyr	Gly	Asp	Met	Glu	Asn	Lys	Leu	Phe	Ala	
			820					825					830			

ggt atc aga aga ttc ctg ctg gtt acc ccc cat ctg act cat gcc aaa	2544
Gly Ile Arg Arg Phe Leu Leu Val Thr Pro His Leu Thr His Ala Lys	
835 840 845	
aca ttt ttg cgg act ctg gtt agg ggc gtg cca gag tat ggc tgt gtt	2592
Thr Phe Leu Arg Thr Leu Val Arg Gly Val Pro Glu Tyr Gly Cys Val	
850 855 860	
gtg aat ttg cgg aaa act gtg gtt aat ttc cca gtg gag gac gaa gct	2640
Val Asn Leu Arg Lys Thr Val Val Asn Phe Pro Val Glu Asp Glu Ala	
865 870 875 880	
ctc gga ggc aca gct ttt gtt cag atg cct gcc cac ggc ctg ttc cca	2688
Leu Gly Gly Thr Ala Phe Val Gln Met Pro Ala His Gly Leu Phe Pro	
885 890 895	
tgg tgc gga ctg ctg ctc gat acc cgg acc ctc gag gtg cag tcc gat	2736
Trp Cys Gly Leu Leu Leu Asp Thr Arg Thr Leu Glu Val Gln Ser Asp	
900 905 910	
tat agt tcc tat gca aga aca tca att cgg gct agc ctg act ttc aac	2784
Tyr Ser Ser Tyr Ala Arg Thr Ser Ile Arg Ala Ser Leu Thr Phe Asn	
915 920 925	
agg ggc ttc aag gcc ggc cgg aat atg aga agg aaa ctg ttc gga gtg	2832
Arg Gly Phe Lys Ala Gly Arg Asn Met Arg Arg Lys Leu Phe Gly Val	
930 935 940	
ttg aga ctt aag tgt cat agt ctt ttt ttg gac ttg cag gtc aat tct	2880
Leu Arg Leu Lys Cys His Ser Leu Phe Leu Asp Leu Gln Val Asn Ser	
945 950 955 960	
ctc cag aca gtg tgt acc aac att tat aaa atc ctc ttg ctg cag gct	2928
Leu Gln Thr Val Cys Thr Asn Ile Tyr Lys Ile Leu Leu Leu Gln Ala	
965 970 975	
tac aga ttc cat gcc tgc gtc ctg cag ctg cct ttc cac cag cag gtg	2976
Tyr Arg Phe His Ala Cys Val Leu Gln Leu Pro Phe His Gln Gln Val	
980 985 990	
tgg aaa aac cct acc ttc ttc ctg cgg gtg att agc gac acc gcc agt	3024
Trp Lys Asn Pro Thr Phe Phe Leu Arg Val Ile Ser Asp Thr Ala Ser	
995 1000 1005	
ctt tgc tac tcc atc ttg aaa gca aaa aac gct ggc atg agc ttg	3069
Leu Cys Tyr Ser Ile Leu Lys Ala Lys Asn Ala Gly Met Ser Leu	
1010 1015 1020	
gga gct aag ggc gcc gct gga cct ctg ccc agt gaa gca gtc cag	3114
Gly Ala Lys Gly Ala Ala Gly Pro Leu Pro Ser Glu Ala Val Gln	
1025 1030 1035	
tgg ctg tgt cat cag gct ttc ctc ctt aaa ctg aca cgc cac cgc	3159
Trp Leu Cys His Gln Ala Phe Leu Leu Lys Leu Thr Arg His Arg	
1040 1045 1050	
gtg act tac gtc cca ctc ctg ggc tcc ctg aga act gct cag acc	3204
Val Thr Tyr Val Pro Leu Leu Gly Ser Leu Arg Thr Ala Gln Thr	
1055 1060 1065	
cag ctt tcc cgg aag ctt cca ggc act acc ctt acc gca ctc gaa	3249
Gln Leu Ser Arg Lys Leu Pro Gly Thr Thr Leu Thr Ala Leu Glu	
1070 1075 1080	

gca gcc gcc aac cct gcc ctg ccc tcc gac ttt aag act atc ctg	3294
Ala Ala Ala Asn Pro Ala Leu Pro Ser Asp Phe Lys Thr Ile Leu	
1085 1090 1095	

gac	3297
Asp	

<210> 6
 <211> 1099
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 6

Leu Ala Thr Phe Val Arg Arg Leu Gly Pro Gln Gly Trp Arg Leu Val
1 5 10 15

Gln Arg Gly Asp Pro Ala Ala Phe Arg Ala Leu Val Ala Gln Cys Leu
20 25 30

Val Cys Val Pro Trp Asp Ala Arg Pro Pro Pro Ala Ala Pro Ser Phe
35 40 45

Arg Gln Val Ser Cys Leu Lys Glu Leu Val Ala Arg Val Leu Gln Arg
50 55 60

Leu Cys Glu Arg Gly Ala Lys Asn Val Leu Ala Phe Gly Phe Ala Leu
65 70 75 80

Leu Asp Gly Ala Arg Gly Gly Pro Pro Glu Ala Phe Thr Thr Ser Val
85 90 95

Arg Ser Tyr Leu Pro Asn Thr Val Thr Asp Ala Leu Arg Gly Ser Gly
100 105 110

Ala Trp Gly Leu Leu Leu Arg Arg Val Gly Asp Asp Val Leu Val His
115 120 125

Leu Leu Ala Arg Cys Ala Leu Phe Val Leu Val Ala Pro Ser Cys Ala
130 135 140

Tyr Gln Val Cys Gly Pro Pro Leu Tyr Gln Leu Gly Ala Ala Thr Gln
145 150 155 160

Ala Arg Pro Pro Pro His Ala Ser Gly Pro Arg Arg Arg Leu Gly Cys
165 170 175

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

Leu Pro Ala Pro Gly Ala Arg Arg Arg Gly Gly Ser Ala Ser Arg Ser
195 200 205

Leu Pro Leu Pro Lys Arg Pro Arg Arg Gly Ala Ala Pro Glu Pro Glu
210 215 220

Arg Thr Pro Val Gly Gln Gly Ser Trp Ala His Pro Gly Arg Thr Arg
225 230 235 240

Gly Pro Ser Asp Arg Gly Phe Cys Val Val Ser Pro Ala Arg Pro Ala
245 250 255

Glu Glu Ala Thr Ser Leu Glu Gly Ala Leu Ser Gly Thr Arg His Ser
260 265 270

His Pro Ser Val Gly Arg Gln His His Ala Gly Pro Pro Ser Thr Ser
275 280 285

Arg Pro Pro Arg Pro Trp Asp Thr Pro Cys Pro Pro Val Tyr Ala Glu
290 295 300

Thr Lys His Phe Leu Tyr Ser Ser Gly Asp Lys Glu Gln Leu Arg Pro
305 310 315 320

Ser Phe Leu Leu Ser Ser Leu Arg Pro Ser Leu Thr Gly Ala Arg Arg
325 330 335

Leu Val Glu Thr Ile Phe Leu Gly Ser Arg Pro Trp Met Pro Gly Thr
340 345 350

Pro Arg Arg Leu Pro Arg Leu Pro Gln Arg Tyr Trp Gln Met Arg Pro
355 360 365

Leu Phe Leu Glu Leu Leu Gly Asn His Ala Gln Cys Pro Tyr Gly Val
370 375 380

Leu Leu Lys Thr His Cys Pro Leu Arg Ala Ala Val Thr Pro Ala Ala
385 390 395 400

Gly Val Cys Ala Arg Glu Lys Pro Gln Gly Ser Val Ala Ala Pro Glu
405 410 415

Glu Glu Asp Thr Asp Pro Arg Arg Leu Val Gln Leu Leu Arg Gln His
420 425 430

Ser Ser Pro Trp Gln Val Tyr Gly Phe Val Arg Ala Cys Leu Arg Arg
435 440 445

Leu Val Pro Pro Gly Leu Trp Gly Ser Arg His Asn Glu Arg Arg Phe
450 455 460

Leu Arg Asn Thr Lys Lys Phe Ile Ser Leu Gly Lys His Ala Lys Leu
465 470 475 480

Ser Leu Gln Glu Leu Thr Trp Lys Met Ser Val Arg Gly Cys Ala Trp
485 490 495

Leu Arg Arg Ser Pro Gly Val Gly Cys Val Pro Ala Ala Glu His Arg
500 505 510

Leu Arg Glu Glu Ile Leu Ala Lys Phe Leu His Trp Leu Met Ser Val
515 520 525

Tyr Val Val Glu Leu Leu Arg Ser Phe Phe Tyr Val Thr Glu Thr Thr
530 535 540

Phe Gln Lys Asn Arg Leu Phe Phe Tyr Arg Lys Ser Val Trp Ser Lys
545 550 555 560

Leu Gln Ser Ile Gly Ile Arg Gln His Leu Lys Arg Val Gln Leu Arg
565 570 575

Glu Leu Ser Glu Ala Glu Val Arg Gln His Arg Glu Ala Arg Pro Ala
580 585 590

Leu Leu Thr Ser Arg Leu Arg Phe Ile Pro Lys Pro Asp Gly Leu Arg
595 600 605

Pro Ile Val Asn Met Asp Tyr Val Val Gly Ala Arg Thr Phe Arg Arg
610 615 620

Glu Lys Arg Ala Glu Arg Leu Thr Ser Arg Val Lys Ala Leu Phe Ser
625 630 635 640

Val Leu Asn Tyr Glu Arg Ala Arg Arg Pro Gly Leu Leu Gly Ala Ser
645 650 655

Val Leu Gly Leu Asp Asp Ile His Arg Ala Trp Arg Thr Phe Val Leu
660 665 670

Arg Val Arg Ala Gln Asp Pro Pro Pro Glu Leu Tyr Phe Val Lys Val
675 680 685

Asp Val Thr Gly Ala Tyr Asp Thr Ile Pro Gln Asp Arg Leu Thr Glu
690 695 700

Val Ile Ala Ser Ile Ile Lys Pro Gln Asn Thr Tyr Cys Val Arg Arg
705 710 715 720

Tyr Ala Val Val Gln Lys Ala Ala His Gly His Val Arg Lys Ala Phe
725 730 735

Lys Ser His Val Ser Thr Leu Thr Asp Leu Gln Pro Tyr Met Arg Gln
740 745 750

Phe Val Ala His Leu Gln Glu Thr Ser Pro Leu Arg Asp Ala Val Val
755 760 765

Ile Glu Gln Ser Ser Ser Leu Asn Glu Ala Ser Ser Gly Leu Phe Asp
770 775 780

Val Phe Leu Arg Phe Met Cys His His Ala Val Arg Ile Arg Gly Lys
785 790 795 800

Ser Tyr Val Gln Cys Gln Gly Ile Pro Gln Gly Ser Ile Leu Ser Thr
805 810 815

Leu Leu Cys Ser Leu Cys Tyr Gly Asp Met Glu Asn Lys Leu Phe Ala
820 825 830

Gly Ile Arg Arg Phe Leu Leu Val Thr Pro His Leu Thr His Ala Lys
835 840 845

Thr Phe Leu Arg Thr Leu Val Arg Gly Val Pro Glu Tyr Gly Cys Val
850 855 860

Val Asn Leu Arg Lys Thr Val Val Asn Phe Pro Val Glu Asp Glu Ala
865 870 875 880

Leu Gly Gly Thr Ala Phe Val Gln Met Pro Ala His Gly Leu Phe Pro
885 890 895

Trp Cys Gly Leu Leu Leu Asp Thr Arg Thr Leu Glu Val Gln Ser Asp
900 905 910

Tyr Ser Ser Tyr Ala Arg Thr Ser Ile Arg Ala Ser Leu Thr Phe Asn
915 920 925

Arg Gly Phe Lys Ala Gly Arg Asn Met Arg Arg Lys Leu Phe Gly Val
930 935 940

Leu Arg Leu Lys Cys His Ser Leu Phe Leu Asp Leu Gln Val Asn Ser
945 950 955 960

cgg cag gtg agt tgt ctc aaa gag ttg gtt gct cgg gtg ttg cag cgg Arg Gln Val Ser Cys Leu Lys Glu Leu Val Ala Arg Val Leu Gln Arg 50 55 60	192
ctt tgt gaa agg gga gca aag aac gtc ctt gcc ttt ggc ttc gct ttg Leu Cys Glu Arg Gly Ala Lys Asn Val Leu Ala Phe Gly Phe Ala Leu 65 70 75 80	240
ctc gat gga gca cgc gga ggc cct cct gag gca ttc act act agc gtc Leu Asp Gly Ala Arg Gly Gly Pro Pro Glu Ala Phe Thr Thr Ser Val 85 90 95	288
cgg tcc tac ctg ccc aac aca gtg acc gac gct ctg aga ggt tca ggt Arg Ser Tyr Leu Pro Asn Thr Val Thr Asp Ala Leu Arg Gly Ser Gly 100 105 110	336
gcc tgg ggt ctg ctg ctg cgg agg gtg ggt gat gat gtt ctg gtt cac Ala Trp Gly Leu Leu Leu Arg Arg Val Gly Asp Asp Val Leu Val His 115 120 125	384
ctc ctg gcc cgg tgt gcc ctg ttc gtg ctg gtg gct ccc tcc tgc gca Leu Leu Ala Arg Cys Ala Leu Phe Val Leu Val Ala Pro Ser Cys Ala 130 135 140	432
tac cag gtc tgc gga ccc cca ctt tat cag ctc ggc gct gct act cag Tyr Gln Val Cys Gly Pro Pro Leu Tyr Gln Leu Gly Ala Ala Thr Gln 145 150 155 160	480
gcc cgc cca cca cca cac gcc tca ggt cca aga cgc cgg ctg ggc tgc Ala Arg Pro Pro Pro His Ala Ser Gly Pro Arg Arg Arg Leu Gly Cys 165 170 175	528
gaa cgg gca tgg aat cat agc gtg cgg gag gca ggt gtg cct ctc ggc Glu Arg Ala Trp Asn His Ser Val Arg Glu Ala Gly Val Pro Leu Gly 180 185 190	576
ctg cca gcc ccc gga gca agg aga cgc ggt gga tcc gcc agt cgc tca Leu Pro Ala Pro Gly Ala Arg Arg Arg Gly Gly Ser Ala Ser Arg Ser 195 200 205	624
ctc ccc ttg cct aag agg cca aga aga gga gcc gcc cct gaa ccc gag Leu Pro Leu Pro Lys Arg Pro Arg Arg Gly Ala Ala Pro Glu Pro Glu 210 215 220	672
aga aca cct gtc ggc cag ggc tcc tgg gct cac ccc gga agg acc agg Arg Thr Pro Val Gly Gln Gly Ser Trp Ala His Pro Gly Arg Thr Arg 225 230 235 240	720
ggc cca agc gat agg ggc ttc tgt gtt gtg tca cca gcc agg cct gcc Gly Pro Ser Asp Arg Gly Phe Cys Val Val Ser Pro Ala Arg Pro Ala 245 250 255	768
gaa gag gct acc tcc ttg gaa gga gcc ctc agt ggc acc agg cat tct Glu Glu Ala Thr Ser Leu Glu Gly Ala Leu Ser Gly Thr Arg His Ser 260 265 270	816
cat cca tct gtg ggt agg cag cat cat gcc ggc ccc ccc tct aca agc His Pro Ser Val Gly Arg Gln His His Ala Gly Pro Pro Ser Thr Ser 275 280 285	864
aga cct ccc aga cct tgg gac aca ccc tgc cca cca gtg tat gcc gag Arg Pro Pro Arg Pro Trp Asp Thr Pro Cys Pro Pro Val Tyr Ala Glu 290 295 300	912

acc aag cac ttt ttg tat tcc agt ggc gat aaa gag cag ctc cgg ccc Thr Lys His Phe Leu Tyr Ser Ser Gly Asp Lys Glu Gln Leu Arg Pro 305 310 315 320	960
tct ttt ctg ctc tca agc ctc cgc ccc tct ctg acc gga gct cgc agg Ser Phe Leu Leu Ser Ser Leu Arg Pro Ser Leu Thr Gly Ala Arg Arg 325 330 335	1008
ctg gtg gag acc atc ttt ctg ggc tca aga cca tgg atg cca ggc acc Leu Val Glu Thr Ile Phe Leu Gly Ser Arg Pro Trp Met Pro Gly Thr 340 345 350	1056
ccc cgc aga ctg ccc agg ctc ccc cag cgg tac tgg cag atg cgc cct Pro Arg Arg Leu Pro Arg Leu Pro Gln Arg Tyr Trp Gln Met Arg Pro 355 360 365	1104
ctc ttt ctg gaa ctt ctg ggt aac cac gcc cag tgc cca tat ggc gtc Leu Phe Leu Glu Leu Leu Gly Asn His Ala Gln Cys Pro Tyr Gly Val 370 375 380	1152
ctg ctg aag acc cac tgt cct ctg agg gcc gcc gtg acc cca gcc gcc Leu Leu Lys Thr His Cys Pro Leu Arg Ala Ala Val Thr Pro Ala Ala 385 390 395 400	1200
ggc gtg tgt gct aga gaa aaa ccc cag ggc tca gtg gct gca cct gaa Gly Val Cys Ala Arg Glu Lys Pro Gln Gly Ser Val Ala Ala Pro Glu 405 410 415	1248
gag gag gac act gac cct cgc cgc ctt gtc cag ttg ctc agg cag cat Glu Glu Asp Thr Asp Pro Arg Arg Leu Val Gln Leu Leu Arg Gln His 420 425 430	1296
tca tca cca tgg cag gtg tac ggc ttc gtg agg gct tgc ctg cgg aga Ser Ser Pro Trp Gln Val Tyr Gly Phe Val Arg Ala Cys Leu Arg Arg 435 440 445	1344
ctg gtc ccc ccc gga ttg tgg gga tct cgg cac aac gaa cgg cgc ttt Leu Val Pro Pro Gly Leu Trp Gly Ser Arg His Asn Glu Arg Arg Phe 450 455 460	1392
ctg agg aat aca aag aag ttt atc tcc ctg ggc aag cat gca aag ctc Leu Arg Asn Thr Lys Lys Phe Ile Ser Leu Gly Lys His Ala Lys Leu 465 470 475 480	1440
agc ttg cag gag ctg aca tgg aag atg agc gtt aga gga tgc gca tgg Ser Leu Gln Glu Leu Thr Trp Lys Met Ser Val Arg Gly Cys Ala Trp 485 490 495	1488
ctc agg cgg tca cct gga gtt gga tgc gtt cca gca gca gag cac agg Leu Arg Arg Ser Pro Gly Val Gly Cys Val Pro Ala Ala Glu His Arg 500 505 510	1536
ctg cgc gaa gag att ctc gca aag ttc ctg cac tgg ctt atg agc gtc Leu Arg Glu Glu Ile Leu Ala Lys Phe Leu His Trp Leu Met Ser Val 515 520 525	1584
tac gtg gtc gaa ctg ctg cgg tct ttc ttc tac gtg aca gag acc act Tyr Val Val Glu Leu Leu Arg Ser Phe Phe Tyr Val Thr Glu Thr Thr 530 535 540	1632
ttt cag aag aac aga ctg ttc ttc tac agg aag tcc gtc tgg agc aag Phe Gln Lys Asn Arg Leu Phe Phe Tyr Arg Lys Ser Val Trp Ser Lys 545 550 555 560	1680

ctc	cag	agt	att	ggc	att	aga	cag	cac	ctt	aag	aga	gtt	cag	ctt	aga	1728
Leu	Gln	Ser	Ile	Gly	Ile	Arg	Gln	His	Leu	Lys	Arg	Val	Gln	Leu	Arg	
				565					570					575		
gag	ctg	tcc	gaa	gct	gaa	gtc	cgc	cag	cac	cgc	gaa	gct	cgc	ccc	gcc	1776
Glu	Leu	Ser	Glu	Ala	Glu	Val	Arg	Gln	His	Arg	Glu	Ala	Arg	Pro	Ala	
			580					585					590			
ctc	ctg	acc	tct	cgg	ctg	cgg	ttt	att	ccc	aaa	ccc	gat	ggc	ctt	aga	1824
Leu	Leu	Thr	Ser	Arg	Leu	Arg	Phe	Ile	Pro	Lys	Pro	Asp	Gly	Leu	Arg	
		595					600					605				
cct	atc	gtg	aat	atg	gat	tac	gtc	gtg	ggc	gcc	cgc	act	ttc	aga	agg	1872
Pro	Ile	Val	Asn	Met	Asp	Tyr	Val	Val	Gly	Ala	Arg	Thr	Phe	Arg	Arg	
	610					615					620					
gag	aag	cgc	gcc	gag	aga	ctg	aca	tct	cgc	gtg	aag	gca	ctt	ttt	tct	1920
Glu	Lys	Arg	Ala	Glu	Arg	Leu	Thr	Ser	Arg	Val	Lys	Ala	Leu	Phe	Ser	
	625				630					635					640	
gtg	ctt	aat	tat	gaa	aga	gcc	cgc	aga	cct	ggc	ctt	ctc	gga	gcc	agc	1968
Val	Leu	Asn	Tyr	Glu	Arg	Ala	Arg	Arg	Pro	Gly	Leu	Leu	Gly	Ala	Ser	
				645					650					655		
gtg	ctc	ggc	ctg	gat	gat	atc	cat	cgg	gct	tgg	cgc	acc	ttt	gtg	ctt	2016
Val	Leu	Gly	Leu	Asp	Asp	Ile	His	Arg	Ala	Trp	Arg	Thr	Phe	Val	Leu	
			660					665					670			
cgg	gtg	agg	gca	cag	gat	cct	cct	cct	gag	ctt	tat	ttt	gtg	aaa	gtt	2064
Arg	Val	Arg	Ala	Gln	Asp	Pro	Pro	Pro	Glu	Leu	Tyr	Phe	Val	Lys	Val	
		675					680					685				
gat	gtt	act	ggc	gct	tac	gat	aca	atc	cct	cag	gac	cgg	ctc	acc	gag	2112
Asp	Val	Thr	Gly	Ala	Tyr	Asp	Thr	Ile	Pro	Gln	Asp	Arg	Leu	Thr	Glu	
	690					695					700					
gtg	atc	gcc	tct	att	atc	aaa	ccc	cag	aac	acc	tac	tgc	gtg	aga	agg	2160
Val	Ile	Ala	Ser	Ile	Ile	Lys	Pro	Gln	Asn	Thr	Tyr	Cys	Val	Arg	Arg	
	705				710					715					720	
tac	gcc	gtc	gtt	cag	aaa	gcc	gca	cac	gga	cac	gtg	cgc	aaa	gct	ttc	2208
Tyr	Ala	Val	Val	Gln	Lys	Ala	Ala	His	Gly	His	Val	Arg	Lys	Ala	Phe	
				725					730					735		
aaa	tcc	cac	gtg	tct	acc	ttg	aca	gac	ctc	cag	cct	tat	atg	cgg	cag	2256
Lys	Ser	His	Val	Ser	Thr	Leu	Thr	Asp	Leu	Gln	Pro	Tyr	Met	Arg	Gln	
			740					745					750			
ttt	gtc	gca	cac	ctg	cag	gag	act	agc	ccc	ttg	agg	gac	gct	gtg	gtc	2304
Phe	Val	Ala	His	Leu	Gln	Glu	Thr	Ser	Pro	Leu	Arg	Asp	Ala	Val	Val	
		755				760						765				
atc	gaa	cag	tcc	agc	tct	ctc	aat	gag	gca	tcc	tca	ggc	ctg	ttt	gat	2352
Ile	Glu	Gln	Ser	Ser	Ser	Leu	Asn	Glu	Ala	Ser	Ser	Gly	Leu	Phe	Asp	
	770					775					780					
gtg	ttc	ctg	cgc	ttt	atg	tgc	cac	cac	gcc	gtg	cgg	att	agg	ggc	aag	2400
Val	Phe	Leu	Arg	Phe	Met	Cys	His	His	Ala	Val	Arg	Ile	Arg	Gly	Lys	
	785				790				795						800	
tct	tac	gtg	cag	tgc	cag	ggc	atc	cca	cag	ggc	agc	atc	ctg	agc	aca	2448
Ser	Tyr	Val	Gln	Cys	Gln	Gly	Ile	Pro	Gln	Gly	Ser	Ile	Leu	Ser	Thr	
				805					810					815		

ctg ctg tgt agc ctg tgc tat ggc gat atg gag aat aaa ttg ttc gcc Leu Leu Cys Ser Leu Cys Tyr Gly Asp Met Glu Asn Lys Leu Phe Ala 820 825 830	2496
ggc atc aga aga gac ggt ttg ctc ctg agg ctg ctg act cat gcc aaa Gly Ile Arg Arg Asp Gly Leu Leu Leu Arg Leu Leu Thr His Ala Lys 835 840 845	2544
aca ttt ttg cgg act ctg gtt agg ggc gtg cca gag tat ggc tgt gtt Thr Phe Leu Arg Thr Leu Val Arg Gly Val Pro Glu Tyr Gly Cys Val 850 855 860	2592
gtg aat ttg cgg aaa act gtg gtt aat ttc cca gtg gag gac gaa gct Val Asn Leu Arg Lys Thr Val Val Asn Phe Pro Val Glu Asp Glu Ala 865 870 875 880	2640
ctc gga ggc aca gct ttt gtt cag atg cct gcc cac ggc ctg ttc cca Leu Gly Gly Thr Ala Phe Val Gln Met Pro Ala His Gly Leu Phe Pro 885 890 895	2688
tgg tgc gga ctg ctg ctc gat acc cgg acc ctc gag gtg cag tcc gat Trp Cys Gly Leu Leu Leu Asp Thr Arg Thr Leu Glu Val Gln Ser Asp 900 905 910	2736
tat agt tcc tat gca aga aca tca att cgg gct agc ctg act ttc aac Tyr Ser Ser Tyr Ala Arg Thr Ser Ile Arg Ala Ser Leu Thr Phe Asn 915 920 925	2784
agg ggc ttc aag gcc ggc cgg aat atg aga agg aaa ctg ttc gga gtg Arg Gly Phe Lys Ala Gly Arg Asn Met Arg Arg Lys Leu Phe Gly Val 930 935 940	2832
ttg aga ctt aag tgt cat agt ctt ttt ttg gac ttg cag gtc aat tct Leu Arg Leu Lys Cys His Ser Leu Phe Leu Asp Leu Gln Val Asn Ser 945 950 955 960	2880
ctc cag aca gtg tgt acc aac att tat aaa atc ctc ttg ctg cag gct Leu Gln Thr Val Cys Thr Asn Ile Tyr Lys Ile Leu Leu Leu Gln Ala 965 970 975	2928
tac aga ttc cat gcc tgc gtc ctg cag ctg cct ttc cac cag cag gtg Tyr Arg Phe His Ala Cys Val Leu Gln Leu Pro Phe His Gln Gln Val 980 985 990	2976
tgg aaa aac cct acc ttc ttc ctg cgg gtg att agc gac acc gcc agt Trp Lys Asn Pro Thr Phe Phe Leu Arg Val Ile Ser Asp Thr Ala Ser 995 1000 1005	3024
ctt tgc tac tcc atc ttg aaa gca aaa aac gct ggc atg agc ttg Leu Cys Tyr Ser Ile Leu Lys Ala Lys Asn Ala Gly Met Ser Leu 1010 1015 1020	3069
gga gct aag ggc gcc gct gga cct ctg ccc agt gaa gca gtc cag Gly Ala Lys Gly Ala Ala Gly Pro Leu Pro Ser Glu Ala Val Gln 1025 1030 1035	3114
tgg ctg tgt cat cag gct ttc ctc ctt aaa ctg aca cgc cac cgc Trp Leu Cys His Gln Ala Phe Leu Leu Lys Leu Thr Arg His Arg 1040 1045 1050	3159
gtg act tac gtc cca ctc ctg ggc tcc ctg aga act gct cag acc Val Thr Tyr Val Pro Leu Leu Gly Ser Leu Arg Thr Ala Gln Thr 1055 1060 1065	3204

cag	ctt	tcc	cgg	aag	ctt	cca	ggc	act	acc	ctt	acc	gca	ctc	gaa	3249
Gln	Leu	Ser	Arg	Lys	Leu	Pro	Gly	Thr	Thr	Leu	Thr	Ala	Leu	Glu	
	1070					1075					1080				

gca	gcc	gcc	aac	cct	gcc	ctg	ccc	tcc	gac	ttt	aag	act	atc	ctg	3294
Ala	Ala	Ala	Asn	Pro	Ala	Leu	Pro	Ser	Asp	Phe	Lys	Thr	Ile	Leu	
	1085					1090					1095				

gac															3297
Asp															

<210> 8
 <211> 1099
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 8

Leu	Ala	Thr	Phe	Val	Arg	Arg	Leu	Gly	Pro	Gln	Gly	Trp	Arg	Leu	Val
1				5					10					15	

Gln	Arg	Gly	Asp	Pro	Ala	Ala	Phe	Arg	Ala	Leu	Val	Ala	Gln	Cys	Leu
			20					25					30		

Val	Cys	Val	Pro	Trp	Asp	Ala	Arg	Pro	Pro	Pro	Ala	Ala	Pro	Ser	Phe
	35						40					45			

Arg	Gln	Val	Ser	Cys	Leu	Lys	Glu	Leu	Val	Ala	Arg	Val	Leu	Gln	Arg
	50					55					60				

Leu	Cys	Glu	Arg	Gly	Ala	Lys	Asn	Val	Leu	Ala	Phe	Gly	Phe	Ala	Leu
65					70					75					80

Leu	Asp	Gly	Ala	Arg	Gly	Gly	Pro	Pro	Glu	Ala	Phe	Thr	Thr	Ser	Val
				85					90					95	

Arg	Ser	Tyr	Leu	Pro	Asn	Thr	Val	Thr	Asp	Ala	Leu	Arg	Gly	Ser	Gly
			100					105					110		

Ala	Trp	Gly	Leu	Leu	Leu	Arg	Arg	Val	Gly	Asp	Asp	Val	Leu	Val	His
		115					120					125			

Leu	Leu	Ala	Arg	Cys	Ala	Leu	Phe	Val	Leu	Val	Ala	Pro	Ser	Cys	Ala
	130					135					140				

Tyr	Gln	Val	Cys	Gly	Pro	Pro	Leu	Tyr	Gln	Leu	Gly	Ala	Ala	Thr	Gln
145					150					155					160

Ala	Arg	Pro	Pro	Pro	His	Ala	Ser	Gly	Pro	Arg	Arg	Arg	Leu	Gly	Cys
				165					170					175	

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

Leu Pro Ala Pro Gly Ala Arg Arg Arg Gly Gly Ser Ala Ser Arg Ser
 195 200 205

Leu Pro Leu Pro Lys Arg Pro Arg Arg Gly Ala Ala Pro Glu Pro Glu
 210 215 220

Arg Thr Pro Val Gly Gln Gly Ser Trp Ala His Pro Gly Arg Thr Arg
 225 230 235 240

Gly Pro Ser Asp Arg Gly Phe Cys Val Val Ser Pro Ala Arg Pro Ala
 245 250 255

Glu Glu Ala Thr Ser Leu Glu Gly Ala Leu Ser Gly Thr Arg His Ser
 260 265 270

His Pro Ser Val Gly Arg Gln His His Ala Gly Pro Pro Ser Thr Ser
 275 280 285

Arg Pro Pro Arg Pro Trp Asp Thr Pro Cys Pro Pro Val Tyr Ala Glu
 290 295 300

Thr Lys His Phe Leu Tyr Ser Ser Gly Asp Lys Glu Gln Leu Arg Pro
 305 310 315 320

Ser Phe Leu Leu Ser Ser Leu Arg Pro Ser Leu Thr Gly Ala Arg Arg
 325 330 335

Leu Val Glu Thr Ile Phe Leu Gly Ser Arg Pro Trp Met Pro Gly Thr
 340 345 350

Pro Arg Arg Leu Pro Arg Leu Pro Gln Arg Tyr Trp Gln Met Arg Pro
 355 360 365

Leu Phe Leu Glu Leu Leu Gly Asn His Ala Gln Cys Pro Tyr Gly Val
 370 375 380

Leu Leu Lys Thr His Cys Pro Leu Arg Ala Ala Val Thr Pro Ala Ala
 385 390 395 400

Gly Val Cys Ala Arg Glu Lys Pro Gln Gly Ser Val Ala Ala Pro Glu
 405 410 415

Glu Glu Asp Thr Asp Pro Arg Arg Leu Val Gln Leu Leu Arg Gln His
 420 425 430

Ser Ser Pro Trp Gln Val Tyr Gly Phe Val Arg Ala Cys Leu Arg Arg
 435 440 445

Leu Val Pro Pro Gly Leu Trp Gly Ser Arg His Asn Glu Arg Arg Phe
 450 455 460

Leu Arg Asn Thr Lys Lys Phe Ile Ser Leu Gly Lys His Ala Lys Leu
 465 470 475 480

Ser Leu Gln Glu Leu Thr Trp Lys Met Ser Val Arg Gly Cys Ala Trp
 485 490 495

Leu Arg Arg Ser Pro Gly Val Gly Cys Val Pro Ala Ala Glu His Arg
 500 505 510

Leu Arg Glu Glu Ile Leu Ala Lys Phe Leu His Trp Leu Met Ser Val
 515 520 525

Tyr Val Val Glu Leu Leu Arg Ser Phe Phe Tyr Val Thr Glu Thr Thr
 530 535 540

Phe Gln Lys Asn Arg Leu Phe Phe Tyr Arg Lys Ser Val Trp Ser Lys
 545 550 555 560

Leu Gln Ser Ile Gly Ile Arg Gln His Leu Lys Arg Val Gln Leu Arg
 565 570 575

Glu Leu Ser Glu Ala Glu Val Arg Gln His Arg Glu Ala Arg Pro Ala
 580 585 590

Leu Leu Thr Ser Arg Leu Arg Phe Ile Pro Lys Pro Asp Gly Leu Arg
 595 600 605

Pro Ile Val Asn Met Asp Tyr Val Val Gly Ala Arg Thr Phe Arg Arg
 610 615 620

Glu Lys Arg Ala Glu Arg Leu Thr Ser Arg Val Lys Ala Leu Phe Ser
 625 630 635 640

Val Leu Asn Tyr Glu Arg Ala Arg Arg Pro Gly Leu Leu Gly Ala Ser
 645 650 655

Val Leu Gly Leu Asp Asp Ile His Arg Ala Trp Arg Thr Phe Val Leu
 660 665 670

Arg Val Arg Ala Gln Asp Pro Pro Pro Glu Leu Tyr Phe Val Lys Val
 675 680 685

Asp	Val	Thr	Gly	Ala	Tyr	Asp	Thr	Ile	Pro	Gln	Asp	Arg	Leu	Thr	Glu
690						695					700				
Val	Ile	Ala	Ser	Ile	Ile	Lys	Pro	Gln	Asn	Thr	Tyr	Cys	Val	Arg	Arg
705				710						715					720
Tyr	Ala	Val	Val	Gln	Lys	Ala	Ala	His	Gly	His	Val	Arg	Lys	Ala	Phe
				725					730					735	
Lys	Ser	His	Val	Ser	Thr	Leu	Thr	Asp	Leu	Gln	Pro	Tyr	Met	Arg	Gln
			740					745					750		
Phe	Val	Ala	His	Leu	Gln	Glu	Thr	Ser	Pro	Leu	Arg	Asp	Ala	Val	Val
		755					760					765			
Ile	Glu	Gln	Ser	Ser	Ser	Leu	Asn	Glu	Ala	Ser	Ser	Gly	Leu	Phe	Asp
	770					775					780				
Val	Phe	Leu	Arg	Phe	Met	Cys	His	His	Ala	Val	Arg	Ile	Arg	Gly	Lys
785					790					795					800
Ser	Tyr	Val	Gln	Cys	Gln	Gly	Ile	Pro	Gln	Gly	Ser	Ile	Leu	Ser	Thr
				805					810					815	
Leu	Leu	Cys	Ser	Leu	Cys	Tyr	Gly	Asp	Met	Glu	Asn	Lys	Leu	Phe	Ala
			820					825					830		
Gly	Ile	Arg	Arg	Asp	Gly	Leu	Leu	Leu	Arg	Leu	Leu	Thr	His	Ala	Lys
		835					840					845			
Thr	Phe	Leu	Arg	Thr	Leu	Val	Arg	Gly	Val	Pro	Glu	Tyr	Gly	Cys	Val
	850					855					860				
Val	Asn	Leu	Arg	Lys	Thr	Val	Val	Asn	Phe	Pro	Val	Glu	Asp	Glu	Ala
865					870					875					880
Leu	Gly	Gly	Thr	Ala	Phe	Val	Gln	Met	Pro	Ala	His	Gly	Leu	Phe	Pro
				885					890					895	
Trp	Cys	Gly	Leu	Leu	Leu	Asp	Thr	Arg	Thr	Leu	Glu	Val	Gln	Ser	Asp
			900					905					910		
Tyr	Ser	Ser	Tyr	Ala	Arg	Thr	Ser	Ile	Arg	Ala	Ser	Leu	Thr	Phe	Asn
		915					920					925			
Arg	Gly	Phe	Lys	Ala	Gly	Arg	Asn	Met	Arg	Arg	Lys	Leu	Phe	Gly	Val
	930					935					940				

Leu Arg Leu Lys Cys His Ser Leu Phe Leu Asp Leu Gln Val Asn Ser
 945 950 955 960

Leu Gln Thr Val Cys Thr Asn Ile Tyr Lys Ile Leu Leu Leu Gln Ala
 965 970 975

Tyr Arg Phe His Ala Cys Val Leu Gln Leu Pro Phe His Gln Gln Val
 980 985 990

Trp Lys Asn Pro Thr Phe Phe Leu Arg Val Ile Ser Asp Thr Ala Ser
 995 1000 1005

Leu Cys Tyr Ser Ile Leu Lys Ala Lys Asn Ala Gly Met Ser Leu
 1010 1015 1020

Gly Ala Lys Gly Ala Ala Gly Pro Leu Pro Ser Glu Ala Val Gln
 1025 1030 1035

Trp Leu Cys His Gln Ala Phe Leu Leu Lys Leu Thr Arg His Arg
 1040 1045 1050

Val Thr Tyr Val Pro Leu Leu Gly Ser Leu Arg Thr Ala Gln Thr
 1055 1060 1065

Gln Leu Ser Arg Lys Leu Pro Gly Thr Thr Leu Thr Ala Leu Glu
 1070 1075 1080

Ala Ala Ala Asn Pro Ala Leu Pro Ser Asp Phe Lys Thr Ile Leu
 1085 1090 1095

Asp

<210> 9
 <211> 3258
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<220>
 <221> CDS
 <222> (1)..(3258)

<400> 9
 ctg gcc acc ttc gtg cgg cgc ctg gga ccc cag ggc tgg cgg ctg gtg 48
 Leu Ala Thr Phe Val Arg Arg Leu Gly Pro Gln Gly Trp Arg Leu Val
 1 5 10 15
 cag cgc ggg gac cct gct gct ttc aga gct ctc gtc gcc cag tgt ctg 96
 Gln Arg Gly Asp Pro Ala Ala Phe Arg Ala Leu Val Ala Gln Cys Leu
 20 25 30
 gtc tgc gtt cct tgg gac gca cgg ccc cca ccc gcc gcc ccc agt ttc 144

Val	Cys	Val	Pro	Trp	Asp	Ala	Arg	Pro	Pro	Pro	Ala	Ala	Pro	Ser	Phe	
		35					40					45				
cgg	cag	gtg	agt	tgt	ctc	aaa	gag	ttg	gtt	gct	cgg	gtg	ttg	cag	cgg	192
Arg	Gln	Val	Ser	Cys	Leu	Lys	Glu	Leu	Val	Ala	Arg	Val	Leu	Gln	Arg	
	50					55					60					
ctt	tgt	gaa	agg	gga	gca	aag	aac	gtc	ctt	gcc	ttt	ggc	ttc	gct	ttg	240
Leu	Cys	Glu	Arg	Gly	Ala	Lys	Asn	Val	Leu	Ala	Phe	Gly	Phe	Ala	Leu	
65					70					75					80	
ctc	gat	gga	gca	cgc	gga	ggc	cct	cct	gag	gca	ttc	act	act	agc	gtc	288
Leu	Asp	Gly	Ala	Arg	Gly	Gly	Pro	Pro	Glu	Ala	Phe	Thr	Thr	Ser	Val	
				85					90					95		
cgg	tcc	tac	ctg	ccc	aac	aca	gtg	acc	gac	gct	ctg	aga	ggg	tca	ggg	336
Arg	Ser	Tyr	Leu	Pro	Asn	Thr	Val	Thr	Asp	Ala	Leu	Arg	Gly	Ser	Gly	
			100					105					110			
gcc	tgg	ggg	ctg	ctg	ctg	cgg	agg	gtg	ggg	gat	gat	gtt	ctg	gtt	cac	384
Ala	Trp	Gly	Leu	Leu	Leu	Arg	Arg	Val	Gly	Asp	Asp	Val	Leu	Val	His	
		115					120					125				
ctc	ctg	gcc	cgg	tgt	gcc	ctg	ttc	gtg	ctg	gtg	gct	ccc	tcc	tgc	gca	432
Leu	Leu	Ala	Arg	Cys	Ala	Leu	Phe	Val	Leu	Val	Ala	Pro	Ser	Cys	Ala	
	130				135						140					
tac	cag	gtc	tgc	gga	ccc	cca	ctt	tat	cag	ctc	ggc	gct	gct	act	cag	480
Tyr	Gln	Val	Cys	Gly	Pro	Pro	Leu	Tyr	Gln	Leu	Gly	Ala	Ala	Thr	Gln	
145					150					155					160	
gcc	cgc	cca	cca	cca	cac	gcc	tca	ggg	cca	aga	cgc	cgg	ctg	ggc	tgc	528
Ala	Arg	Pro	Pro	Pro	His	Ala	Ser	Gly	Pro	Arg	Arg	Arg	Leu	Gly	Cys	
				165					170					175		
gaa	cgg	gca	tgg	aat	cat	agc	gtg	cgg	gag	gca	ggg	gtg	cct	ctc	ggc	576
Glu	Arg	Ala	Trp	Asn	His	Ser	Val	Arg	Glu	Ala	Gly	Val	Pro	Leu	Gly	
			180					185					190			
ctg	cca	gcc	ccc	gga	gca	agg	aga	cgc	ggg	gga	tcc	gcc	agt	cgc	tca	624
Leu	Pro	Ala	Pro	Gly	Ala	Arg	Arg	Arg	Gly	Gly	Ser	Ala	Ser	Arg	Ser	
		195					200					205				
ctc	ccc	ttg	cct	aag	agg	cca	aga	aga	gga	gcc	gcc	cct	gaa	ccc	gag	672
Leu	Pro	Leu	Pro	Lys	Arg	Pro	Arg	Arg	Gly	Ala	Ala	Pro	Glu	Pro	Glu	
	210					215					220					
aga	aca	cct	gtc	ggc	cag	ggc	tcc	tgg	gct	cac	ccc	gga	agg	acc	agg	720
Arg	Thr	Pro	Val	Gly	Gln	Gly	Ser	Trp	Ala	His	Pro	Gly	Arg	Thr	Arg	
225					230					235					240	
ggc	cca	agc	gat	agg	ggc	ttc	tgt	gtt	gtg	tca	cca	gcc	agg	cct	gcc	768
Gly	Pro	Ser	Asp	Arg	Gly	Phe	Cys	Val	Val	Ser	Pro	Ala	Arg	Pro	Ala	
				245				250						255		
gaa	gag	gct	acc	tcc	ttg	gaa	gga	gcc	ctc	agt	ggc	acc	agg	cat	tct	816
Glu	Glu	Ala	Thr	Ser	Leu	Glu	Gly	Ala	Leu	Ser	Gly	Thr	Arg	His	Ser	
			260					265					270			
cat	cca	tct	gtg	ggg	agg	cag	cat	cat	gcc	ggc	ccc	ccc	tct	aca	agc	864
His	Pro	Ser	Val	Gly	Arg	Gln	His	His	Ala	Gly	Pro	Pro	Ser	Thr	Ser	
		275					280					285				
aga	cct	ccc	aga	cct	tgg	gac	aca	ccc	tgc	cca	cca	gtg	tat	gcc	gag	912

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

Phe 545	Gln	Lys	Asn	Arg	Leu 550	Phe	Phe	Tyr	Arg	Lys 555	Ser	Val	Trp	Ser	Lys 560	
ctc Leu	cag Gln	agt Ser	att Ile	ggg Gly 565	att Ile	aga Arg	cag Gln	cac His	ctt Leu 570	aag Lys	aga Arg	gtt Val	cag Gln	ctt Leu 575	aga Arg	1728
gag Glu	ctg Leu	tcc Ser	gaa Glu 580	gct Ala	gaa Glu	gtc Val	cgc Arg	cag Gln 585	cac His	cgc Arg	gaa Glu	gct Ala	cgc Arg 590	ccc Pro	gcc Ala	1776
ctc Leu	ctg Leu	acc Thr 595	tct Ser	cgg Arg	ctg Leu	cgg Arg	ttt Phe 600	att Ile	ccc Pro	aaa Lys	ccc Pro	gat Asp 605	ggc Gly	ctt Leu	aga Arg	1824
cct Pro 610	atc Ile	gtg Val	aat Asn	atg Met	gat Asp	tac Tyr 615	gtc Val	gtg Val	ggg Gly	gcc Ala 620	cgc Arg	act Thr	ttc Phe	aga Arg	agg Arg	1872
gag Glu 625	aag Lys	cgc Arg	gcc Ala	gag Glu	aga Arg 630	ctg Leu	aca Thr	tct Ser	cgc Arg	gtg Val 635	aag Lys	gca Ala	ctt Leu	ttt Phe	tct Ser 640	1920
gtg Val	ctt Leu	aat Asn	tat Tyr	gaa Glu 645	aga Arg	gcc Ala	cgc Arg	aga Arg	cct Pro 650	ggg Gly	ctt Leu	ctc Leu	gga Gly	gcc Ala 655	agc Ser	1968
gtg Val	ctc Leu	ggc Gly 660	ctg Leu	gat Asp	gat Asp	atc Ile	cat His	cgg Arg 665	gct Ala	tgg Trp	cgc Arg	acc Thr	ttt Phe 670	gtg Val	ctt Leu	2016
cgg Arg	gtg Val	agg Arg 675	gca Ala	cag Gln	gat Asp	cct Pro	cct Pro	cct Pro	gag Glu	ctt Leu	tat Tyr	ttt Phe 685	gtg Val	aaa Lys	gtt Val	2064
gat Asp 690	gtt Val	act Thr	ggg Gly	gct Ala	tac Tyr	gat Asp 695	aca Thr	atc Ile	cct Pro	cag Gln	gac Asp 700	cgg Arg	ctc Leu	acc Thr	gag Glu	2112
gtg Val 705	atc Ile	gcc Ala	tct Ser	att Ile	atc Ile 710	aaa Lys	ccc Pro	cag Gln	aac Asn	acc Thr 715	tac Tyr	tgc Cys	gtg Val	aga Arg	agg Arg 720	2160
tac Tyr	gcc Ala	gtc Val	gtt Val	cag Gln 725	aaa Lys	gcc Ala	gca Ala	cac His	gga Gly 730	cac His	gtg Val	cgc Arg	aaa Lys 735	gct Ala	ttc Phe	2208
aaa Lys	tcc Ser	cac His	gtg Val 740	tct Ser	acc Thr	ttg Leu	aca Thr	gac Asp 745	ctc Leu	cag Gln	cct Pro	tat Tyr	atg Met 750	cgg Arg	cag Gln	2256
ttt Phe	gtc Val	gca Ala 755	cac His	ctg Leu	cag Gln	gag Glu 760	act Thr	agc Ser	ccc Pro	ttg Leu	agg Arg	gac Asp 765	gct Ala	gtg Val	gtc Val	2304
atc Ile 770	gaa Glu	cag Gln	tcc Ser	agc Ser	tct Ser	ctc Leu 775	aat Asn	gag Glu	gca Ala	tcc Ser	tca Ser 780	ggc Gly	ctg Leu	ttt Phe	gat Asp	2352
gtg Val 785	ttc Phe	ctg Leu	cgc Arg	ttt Phe	atg Met 790	tgc Cys	cac His	cac His	gcc Ala 795	gtg Val	cgg Arg	att Ile	agg Arg	ggc Gly	aag Lys 800	2400
tct	tac	gtg	cag	tgc	cag	ggc	atc	cca	cag	ggg	agc	atc	ctg	agc	aca	2448

Ser	Tyr	Val	Gln	Cys	Gln	Gly	Ile	Pro	Gln	Gly	Ser	Ile	Leu	Ser	Thr		
				805					810					815			
ctg	ctg	tgt	agc	ctg	tgc	tat	ggc	gat	atg	gag	aat	aaa	ttg	ttc	gcc		2496
Leu	Leu	Cys	Ser	Leu	Cys	Tyr	Gly	Asp	Met	Glu	Asn	Lys	Leu	Phe	Ala		
			820					825					830				
ggc	gcc	aaa	aca	ttt	ttg	cgg	act	ctg	gtt	agg	ggc	gtg	cca	gag	tat		2544
Gly	Ala	Lys	Thr	Phe	Leu	Arg	Thr	Leu	Val	Arg	Gly	Val	Pro	Glu	Tyr		
		835					840					845					
ggc	tgt	gtt	gtg	aat	ttg	cgg	aaa	act	gtg	gtt	aat	ttc	cca	gtg	gag		2592
Gly	Cys	Val	Val	Asn	Leu	Arg	Lys	Thr	Val	Val	Asn	Phe	Pro	Val	Glu		
	850					855					860						
gac	gaa	gct	ctc	gga	ggc	aca	gct	ttt	gtt	cag	atg	cct	gcc	cac	ggc		2640
Asp	Glu	Ala	Leu	Gly	Gly	Thr	Ala	Phe	Val	Gln	Met	Pro	Ala	His	Gly		
865					870					875					880		
ctg	ttc	cca	tgg	tgc	gga	ctg	ctg	ctc	gat	acc	cgg	acc	ctc	gag	gtg		2688
Leu	Phe	Pro	Trp	Cys	Gly	Leu	Leu	Leu	Asp	Thr	Arg	Thr	Leu	Glu	Val		
				885					890					895			
cag	tcc	gat	tat	agt	tcc	tat	gca	aga	aca	tca	att	cgg	gct	agc	ctg		2736
Gln	Ser	Asp	Tyr	Ser	Ser	Tyr	Ala	Arg	Thr	Ser	Ile	Arg	Ala	Ser	Leu		
			900					905					910				
act	ttc	aac	agg	ggc	ttc	aag	gcc	ggc	cgg	aat	atg	aga	agg	aaa	ctg		2784
Thr	Phe	Asn	Arg	Gly	Phe	Lys	Ala	Gly	Arg	Asn	Met	Arg	Arg	Lys	Leu		
		915					920					925					
ttc	gga	gtg	ttg	aga	ctt	aag	tgt	cat	agt	ctt	ttt	ttg	gac	ttg	cag		2832
Phe	Gly	Val	Leu	Arg	Leu	Lys	Cys	His	Ser	Leu	Phe	Leu	Asp	Leu	Gln		
	930					935					940						
gtc	aat	tct	ctc	cag	aca	gtg	tgt	acc	aac	att	tat	aaa	atc	ctc	ttg		2880
Val	Asn	Ser	Leu	Gln	Thr	Val	Cys	Thr	Asn	Ile	Tyr	Lys	Ile	Leu	Leu		
945					950					955				960			
ctg	cag	gct	tac	aga	ttc	cat	gcc	tgc	gtc	ctg	cag	ctg	cct	ttc	cac		2928
Leu	Gln	Ala	Tyr	Arg	Phe	His	Ala	Cys	Val	Leu	Gln	Leu	Pro	Phe	His		
				965					970					975			
cag	cag	gtg	tgg	aaa	aac	cct	acc	ttc	ttc	ctg	cgg	gtg	att	agc	gac		2976
Gln	Gln	Val	Trp	Lys	Asn	Pro	Thr	Phe	Phe	Leu	Arg	Val	Ile	Ser	Asp		
			980					985					990				
acc	gcc	agt	ctt	tgc	tac	tcc	atc	ttg	aaa	gca	aaa	aac	gct	ggc	atg		3024
Thr	Ala	Ser	Leu	Cys	Tyr	Ser	Ile	Leu	Lys	Ala	Lys	Asn	Ala	Gly	Met		
		995					1000					1005					
agc	ttg	gga	gct	aag	ggc	gcc	gct	gga	cct	ctg	ccc	agt	gaa	gca			3069
Ser	Leu	Gly	Ala	Lys	Gly	Ala	Ala	Gly	Pro	Leu	Pro	Ser	Glu	Ala			
	1010					1015					1020						
gtc	cag	tgg	ctg	tgt	cat	cag	gct	ttc	ctc	ctt	aaa	ctg	aca	cgc			3114
Val	Gln	Trp	Leu	Cys	His	Gln	Ala	Phe	Leu	Leu	Lys	Leu	Thr	Arg			
	1025					1030					1035						
cac	cgc	gtg	act	tac	gtc	cca	ctc	ctg	ggc	tcc	ctg	aga	act	gct			3159
His	Arg	Val	Thr	Tyr	Val	Pro	Leu	Leu	Gly	Ser	Leu	Arg	Thr	Ala			
	1040					1045					1050						
cag	acc	cag	ctt	tcc	cgg	aag	ctt	cca	ggc	act	acc	ctt	acc	gca			3204

Gln Thr	Gln Leu Ser Arg Lys	Leu Pro Gly Thr Thr	Leu Thr Ala	
1055	1060	1065		
ctc gaa gca gcc gcc aac cct	gcc ctg ccc tcc gac	ttt aag act	3249	
Leu Glu Ala Ala Ala Asn Pro	Ala Leu Pro Ser Asp	Phe Lys Thr		
1070	1075	1080		
atc ctg gac			3258	
Ile Leu Asp				
1085				
<210>	10			
<211>	1086			
<212>	PRT			
<213>	Homo sapiens			
<400>	10			
Leu Ala Thr Phe Val Arg Arg Leu Gly Pro Gln Gly Trp Arg Leu Val				
1	5	10	15	
Gln Arg Gly Asp Pro Ala Ala Phe Arg Ala Leu Val Ala Gln Cys Leu				
	20	25	30	
Val Cys Val Pro Trp Asp Ala Arg Pro Pro Pro Ala Ala Pro Ser Phe				
	35	40	45	
Arg Gln Val Ser Cys Leu Lys Glu Leu Val Ala Arg Val Leu Gln Arg				
	50	55	60	
Leu Cys Glu Arg Gly Ala Lys Asn Val Leu Ala Phe Gly Phe Ala Leu				
65	70	75	80	
Leu Asp Gly Ala Arg Gly Gly Pro Pro Glu Ala Phe Thr Thr Ser Val				
	85	90	95	
Arg Ser Tyr Leu Pro Asn Thr Val Thr Asp Ala Leu Arg Gly Ser Gly				
	100	105	110	
Ala Trp Gly Leu Leu Leu Arg Arg Val Gly Asp Asp Val Leu Val His				
	115	120	125	
Leu Leu Ala Arg Cys Ala Leu Phe Val Leu Val Ala Pro Ser Cys Ala				
	130	135	140	
Tyr Gln Val Cys Gly Pro Pro Leu Tyr Gln Leu Gly Ala Ala Thr Gln				
145	150	155	160	
Ala Arg Pro Pro Pro His Ala Ser Gly Pro Arg Arg Arg Leu Gly Cys				
	165	170	175	
Glu Arg Ala Trp Asn His Ser Val Arg Glu Ala Gly Val Pro Leu Gly				

180	185	190
Leu Pro Ala Pro Gly Ala Arg Arg Arg Gly Gly Ser Ala Ser Arg Ser		
195	200	205
Leu Pro Leu Pro Lys Arg Pro Arg Arg Gly Ala Ala Pro Glu Pro Glu		
210	215	220
Arg Thr Pro Val Gly Gln Gly Ser Trp Ala His Pro Gly Arg Thr Arg		
225	230	235
Gly Pro Ser Asp Arg Gly Phe Cys Val Val Ser Pro Ala Arg Pro Ala		
245	250	255
Glu Glu Ala Thr Ser Leu Glu Gly Ala Leu Ser Gly Thr Arg His Ser		
260	265	270
His Pro Ser Val Gly Arg Gln His His Ala Gly Pro Pro Ser Thr Ser		
275	280	285
Arg Pro Pro Arg Pro Trp Asp Thr Pro Cys Pro Pro Val Tyr Ala Glu		
290	295	300
Thr Lys His Phe Leu Tyr Ser Ser Gly Asp Lys Glu Gln Leu Arg Pro		
305	310	315
Ser Phe Leu Leu Ser Ser Leu Arg Pro Ser Leu Thr Gly Ala Arg Arg		
325	330	335
Leu Val Glu Thr Ile Phe Leu Gly Ser Arg Pro Trp Met Pro Gly Thr		
340	345	350
Pro Arg Arg Leu Pro Arg Leu Pro Gln Arg Tyr Trp Gln Met Arg Pro		
355	360	365
Leu Phe Leu Glu Leu Leu Gly Asn His Ala Gln Cys Pro Tyr Gly Val		
370	375	380
Leu Leu Lys Thr His Cys Pro Leu Arg Ala Ala Val Thr Pro Ala Ala		
385	390	395
Gly Val Cys Ala Arg Glu Lys Pro Gln Gly Ser Val Ala Ala Pro Glu		
405	410	415
Glu Glu Asp Thr Asp Pro Arg Arg Leu Val Gln Leu Leu Arg Gln His		
420	425	430
Ser Ser Pro Trp Gln Val Tyr Gly Phe Val Arg Ala Cys Leu Arg Arg		

435					440					445					
Leu	Val	Pro	Pro	Gly	Leu	Trp	Gly	Ser	Arg	His	Asn	Glu	Arg	Arg	Phe
450					455					460					
Leu	Arg	Asn	Thr	Lys	Lys	Phe	Ile	Ser	Leu	Gly	Lys	His	Ala	Lys	Leu
465					470					475					480
Ser	Leu	Gln	Glu	Leu	Thr	Trp	Lys	Met	Ser	Val	Arg	Gly	Cys	Ala	Trp
				485					490					495	
Leu	Arg	Arg	Ser	Pro	Gly	Val	Gly	Cys	Val	Pro	Ala	Ala	Glu	His	Arg
		500						505					510		
Leu	Arg	Glu	Glu	Ile	Leu	Ala	Lys	Phe	Leu	His	Trp	Leu	Met	Ser	Val
		515					520					525			
Tyr	Val	Val	Glu	Leu	Leu	Arg	Ser	Phe	Phe	Tyr	Val	Thr	Glu	Thr	Thr
530						535					540				
Phe	Gln	Lys	Asn	Arg	Leu	Phe	Phe	Tyr	Arg	Lys	Ser	Val	Trp	Ser	Lys
545					550					555					560
Leu	Gln	Ser	Ile	Gly	Ile	Arg	Gln	His	Leu	Lys	Arg	Val	Gln	Leu	Arg
				565					570					575	
Glu	Leu	Ser	Glu	Ala	Glu	Val	Arg	Gln	His	Arg	Glu	Ala	Arg	Pro	Ala
		580						585					590		
Leu	Leu	Thr	Ser	Arg	Leu	Arg	Phe	Ile	Pro	Lys	Pro	Asp	Gly	Leu	Arg
		595					600					605			
Pro	Ile	Val	Asn	Met	Asp	Tyr	Val	Val	Gly	Ala	Arg	Thr	Phe	Arg	Arg
610					615						620				
Glu	Lys	Arg	Ala	Glu	Arg	Leu	Thr	Ser	Arg	Val	Lys	Ala	Leu	Phe	Ser
625					630					635					640
Val	Leu	Asn	Tyr	Glu	Arg	Ala	Arg	Arg	Pro	Gly	Leu	Leu	Gly	Ala	Ser
				645					650					655	
Val	Leu	Gly	Leu	Asp	Asp	Ile	His	Arg	Ala	Trp	Arg	Thr	Phe	Val	Leu
		660						665					670		
Arg	Val	Arg	Ala	Gln	Asp	Pro	Pro	Pro	Glu	Leu	Tyr	Phe	Val	Lys	Val
		675				680						685			
Asp	Val	Thr	Gly	Ala	Tyr	Asp	Thr	Ile	Pro	Gln	Asp	Arg	Leu	Thr	Glu

690

695

700

Val Ile Ala Ser Ile Ile Lys Pro Gln Asn Thr Tyr Cys Val Arg Arg
 705 710 715 720

Tyr Ala Val Val Gln Lys Ala Ala His Gly His Val Arg Lys Ala Phe
 725 730 735

Lys Ser His Val Ser Thr Leu Thr Asp Leu Gln Pro Tyr Met Arg Gln
 740 745 750

Phe Val Ala His Leu Gln Glu Thr Ser Pro Leu Arg Asp Ala Val Val
 755 760 765

Ile Glu Gln Ser Ser Ser Leu Asn Glu Ala Ser Ser Gly Leu Phe Asp
 770 775 780

Val Phe Leu Arg Phe Met Cys His His Ala Val Arg Ile Arg Gly Lys
 785 790 795 800

Ser Tyr Val Gln Cys Gln Gly Ile Pro Gln Gly Ser Ile Leu Ser Thr
 805 810 815

Leu Leu Cys Ser Leu Cys Tyr Gly Asp Met Glu Asn Lys Leu Phe Ala
 820 825 830

Gly Ala Lys Thr Phe Leu Arg Thr Leu Val Arg Gly Val Pro Glu Tyr
 835 840 845

Gly Cys Val Val Asn Leu Arg Lys Thr Val Val Asn Phe Pro Val Glu
 850 855 860

Asp Glu Ala Leu Gly Gly Thr Ala Phe Val Gln Met Pro Ala His Gly
 865 870 875 880

Leu Phe Pro Trp Cys Gly Leu Leu Leu Asp Thr Arg Thr Leu Glu Val
 885 890 895

Gln Ser Asp Tyr Ser Ser Tyr Ala Arg Thr Ser Ile Arg Ala Ser Leu
 900 905 910

Thr Phe Asn Arg Gly Phe Lys Ala Gly Arg Asn Met Arg Arg Lys Leu
 915 920 925

Phe Gly Val Leu Arg Leu Lys Cys His Ser Leu Phe Leu Asp Leu Gln
 930 935 940

Val Asn Ser Leu Gln Thr Val Cys Thr Asn Ile Tyr Lys Ile Leu Leu

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

<210> 11
 <211> 7120
 <212> DNA
 <213> Artificial

<220>
 <223> INVAC-1 plasmid expression vector

<220>
 <221> CDS
 <222> (3488)..(6961)

<400> 11	
gctagcaccg ttggtttccg tagtgtagtg gttatcacgt tcgcctaaca cgcgaaaggt	60
ccccggttcg aaaccgggca ctacaaacca acaacgttaa aaaacaggtc ctccccatac	120
tctttcattg tacacaccgc aagctcgaca atcatcggat tgaagcattg tcgcacacat	180
cttcacaca ggatcagtag ctgcttttcgc ttttaaccaa ggctttttctc caagggatat	240
ttatagtctc aaaacacaca attactttac agttagggtg agtttccttt tgtgctgttt	300
tttaaaataa taatttagta tttgtatctc ttatagaaat ccaagcctat catgtaaaat	360

gtagctagta	ttaaaaagaa	cagattatct	gtctttttatc	gcacattaag	cctctatagt	420
tactaggaaa	tattatatgc	aaattaaccg	gggcagggga	gtagccgagc	ttctcccaca	480
agtctgtgcg	aggggggccg	cgcgggccta	gagatggcgg	cgtcggatcg	gccagcccgc	540
ctaattgagcg	ggcttttttt	tcttaggggtg	caaaaggaga	gcctgtaagc	gggcactctt	600
ccgtgggtctg	gtggataaat	tcgcaagggt	atcatggcgg	acgaccgggg	ttcgagcccc	660
gtatccggcc	gtccgccgtg	atccatgcgg	ttaccgcccc	cgtgtcgaac	ccagggtgtgc	720
gacgtcagac	aacgggggag	tgctcctttt	ggcttccttc	ccctaccggt	ctgcctcgcg	780
cgtttcggtg	atgacgggtga	aaacctctga	cacatgcagc	tcccggagac	ggtcacagct	840
tgtctgtaag	cggatgccgg	gagcagacaa	gcccgtcagg	gcgcgtcagc	gggtgttggc	900
gggtgtcggg	gcgcagccat	gaccagtcga	cgtagcgata	gcggagtgtg	tactggctta	960
actatgcggc	atcagagcag	attgtactga	gagtgcacca	tatgcggtgt	gaaataccgc	1020
acagatgcgt	aaggagaaaa	taccgcatca	ggcgctcttc	cgcttcctcg	ctcactgact	1080
cgctgcgctc	ggtcgttcgg	ctgcggcgag	cggtatcagc	tcactcaaag	gcggtataac	1140
ggttatccac	agaatcaggg	gataacgcag	gaaagaacat	gtgagcaaaa	ggccagcaaa	1200
aggccaggaa	ccgtaaaaag	gccgcgttgc	tggcgttttt	ccataggctc	cgccccctg	1260
acgagcatca	caaaaatcga	cgctcaagtc	agaggtggcg	aaacccgaca	ggactataaa	1320
gataccaggc	gtttccccct	ggaagctccc	tcgtgcgctc	tcctgttccg	accctgccgc	1380
ttaccggata	cctgtccgcc	tttctccctt	cggaagcgt	ggcgctttct	catagctcac	1440
gctgtaggta	tctcagttcg	gtgtaggtcg	ttcgctccaa	gctgggctgt	gtgcacgaac	1500
ccccgttca	gcccgaaccg	tgcgcccttat	ccggtaaacta	tcgtcttgag	tccaacccgg	1560
taagacacga	cttatcgcca	ctggcagcag	ccactggtaa	caggattagc	agagcgagggt	1620
atgtaggcgg	tgctacagag	ttcttgaagt	ggtaggcctaa	ctacggctac	actagaagaa	1680
cagtatttgg	tatctgcgct	ctgctgaagc	cagttacctt	cggaaaaaga	gttggtagct	1740
cttgatccgg	caaacaacc	accgctggta	gcggtggttt	ttttgtttgc	aagcagcaga	1800
ttacgcgcag	aaaaaaagga	tctcaagaag	atcctttgat	cttttctacg	gggtctgacg	1860
ctcagtggaa	cgaaaactca	cgttaaggga	ttttggtcat	gagattatca	aaaaggatct	1920
tcacctagat	ccttttaaat	taaaaatgaa	gttttaaatac	aatctaaagt	atatatgagt	1980
aaacttggtc	tgacagttac	caatgcttaa	tcagtgaggc	acctatctca	gcgatctgtc	2040
tatttcgttc	atccatagtt	gcctgactcc	tgcaaaccac	gttgtggtag	aattggtaaa	2100
gagagtcgtg	taaaatatcg	agttcgcaca	tcttgttgtc	tgattattga	tttttggcga	2160
aaccatttga	tcatatgaca	agatgtgtat	ctaccttaac	ttaatgattt	tgataaaaaat	2220
cattaggtac	ccctgatcac	tgtggaatgt	gtgtcagtta	gggtgtggaa	agtccccagg	2280

ctccccagca ggcagaagta tgcaaagcat gcatctcaat tagtcagcaa ccagggtgtgg	2340
aaagtcccca ggctccccag caggcagaag tatgcaaagc atgcatctca attagtcagc	2400
aaccatagtc ccgcccctaa ctccgcccct cccgccccta actccgccc gttacgggggt	2460
cattagttca tagcccatat atggagttcc gcgttacata acttacggta aatggcccgc	2520
ctggctgacc gccaacgac ccccgcccct tgacgtcaat aatgacgtat gttcccatag	2580
taacgccaat agggactttc cattgacgtc aatgggtgga gtattttacgg taaactgccc	2640
acttggcagt acatcaagtg tatcatatgc caagtacgcc ccctattgac gtcaatgacg	2700
gtaaatggcc cgcctggcat tatgcccagt acatgacctt atgggacttt cctacttggc	2760
agtacatcta cgtattagtc atcgctatta ccatgggtgat gcggtttttg cagtacatca	2820
atgggcgtgg atagcggttt gactcacggg gattttcaag tctccacccc attgacgtca	2880
atgggagttt gttttggcac caaatcaac gggactttcc aaaatgtcgt aacaactccg	2940
ccccattgac gcaaatgggc ggtaggcgtg tacggtggga ggtctatata agcagagctc	3000
gtttagttaa ccgtcagatc gcctggagac gccatccacg ctgttttgac ctccatagaa	3060
gacaccggga ccgatccagc ctccgcggtt cgcattcttc cttcacgcgc ccgccgccct	3120
acctgaggcc gccatccacg ccggttgagt cgcgttctgc cgcctcccgc ctgtggtgcc	3180
tcctgaactg cgtccgccgt ctaggtaagt ttaaagctca ggtcgagacc gggcctttgt	3240
ccggcgctcc cttggagcct acctagactc agccggctct ccacgctttg cctgaccctg	3300
cttgctcaac tctagttctc tcgttaactt aatgagacag atagaaactg gtctttaga	3360
aacagagtag tcgcctgctt ttctgccagg tgctgacttc tctcccctgg gctttttct	3420
ttttctcagg ttgaaaagaa gaagacgaag aagacgaaga agacaaaccg tcgtcgacaa	3480
gcttacc atg cag atc ttc gtg aag acc ctg acc ggc aag acc atc act	3529
Met Gln Ile Phe Val Lys Thr Leu Thr Gly Lys Thr Ile Thr	
1 5 10	
ctc gag gtg gag ccc agt gac acc atc gaa aat gtg aag gcc aag atc	3577
Leu Glu Val Glu Pro Ser Asp Thr Ile Glu Asn Val Lys Ala Lys Ile	
15 20 25 30	
caa gat aaa gaa ggc atc cca ccc gac cag cag agg ctc atc ttt gct	3625
Gln Asp Lys Glu Gly Ile Pro Pro Asp Gln Gln Arg Leu Ile Phe Ala	
35 40 45	
ggc aag cag ctg gaa gat ggc cgc act ctg tct gac tac aac atc cag	3673
Gly Lys Gln Leu Glu Asp Gly Arg Thr Leu Ser Asp Tyr Asn Ile Gln	
50 55 60	
aaa gag tcg acc ctg cac ctg gtc ctg cgt ctg aga ggc ggc cgc gct	3721
Lys Glu Ser Thr Leu His Leu Val Leu Arg Leu Arg Gly Gly Arg Ala	
65 70 75	
ctg gtg gcc cag tgc ctg gtg tgc gtg ccc tgg gac gca cgg cca ccc	3769
Leu Val Ala Gln Cys Leu Val Cys Val Pro Trp Asp Ala Arg Pro Pro	
80 85 90	

cct gcc gca ccc tca ttc cgc caa gtg tcc tgc ctg aag gag ctg gtg Pro Ala Ala Pro Ser Phe Arg Gln Val Ser Cys Leu Lys Glu Leu Val 95 100 105 110	3817
gcc cga gtg ctg cag agg ctg tgc gag cgc ggc gcg aag aac gtg ctg Ala Arg Val Leu Gln Arg Leu Cys Glu Arg Gly Ala Lys Asn Val Leu 115 120 125	3865
gcc ttc ggc ttc gcg ctg ctg gac ggg gct cgc gga ggc cca ccc gag Ala Phe Gly Phe Ala Leu Leu Asp Gly Ala Arg Gly Gly Pro Pro Glu 130 135 140	3913
gcc ttc acc acc agc gtg cgc agc tac ctg ccc aac acg gtg acc gac Ala Phe Thr Thr Ser Val Arg Ser Tyr Leu Pro Asn Thr Val Thr Asp 145 150 155	3961
gca ctg cgg ggg agc ggg gcg tgg ggg ctg ctg ttg cgc cgc gtg ggc Ala Leu Arg Gly Ser Gly Ala Trp Gly Leu Leu Leu Arg Arg Val Gly 160 165 170	4009
gac gac gtg ctg gtt cac ctg ctg gca cgc tgc gcg ctc ttt gtg ctg Asp Asp Val Leu Val His Leu Leu Ala Arg Cys Ala Leu Phe Val Leu 175 180 185 190	4057
gtg gct ccc agc tgc gcc tac cag gtg tgc ggg ccg ccg ctg tac cag Val Ala Pro Ser Cys Ala Tyr Gln Val Cys Gly Pro Pro Leu Tyr Gln 195 200 205	4105
ctc ggc gct gcc act cag gca cgg cct cca cct cac gct agt gga ccc Leu Gly Ala Ala Thr Gln Ala Arg Pro Pro Pro His Ala Ser Gly Pro 210 215 220	4153
cga agg cgt ctg gga tgc gaa cgg gcc tgg aac cat agc gtc agg gag Arg Arg Arg Leu Gly Cys Glu Arg Ala Trp Asn His Ser Val Arg Glu 225 230 235	4201
gcc ggg gtc ccc ctg ggc ctg cca gcc ccg ggt gcg agg agg cgc ggg Ala Gly Val Pro Leu Gly Leu Pro Ala Pro Gly Ala Arg Arg Arg Gly 240 245 250	4249
ggc agt gcc agc cga agt ctg ccg ttg ccc aag agg ccc agg cgt ggc Gly Ser Ala Ser Arg Ser Leu Pro Leu Pro Lys Arg Pro Arg Arg Gly 255 260 265 270	4297
gct gcc cct gag ccg gag cgg acg ccc gtt ggg cag ggg tcc tgg gcc Ala Ala Pro Glu Pro Glu Arg Thr Pro Val Gly Gln Gly Ser Trp Ala 275 280 285	4345
cac ccg ggc agg acg cgt gga ccg agt gac cgt ggt ttc tgt gtg gtg His Pro Gly Arg Thr Arg Gly Pro Ser Asp Arg Gly Phe Cys Val Val 290 295 300	4393
tca cct gcc aga ccc gcc gaa gaa gcc acc tct ttg gag ggt gcg ctc Ser Pro Ala Arg Pro Ala Glu Glu Ala Thr Ser Leu Glu Gly Ala Leu 305 310 315	4441
tct ggc acg cgc cac tcc cac cca tcc gtg ggc cgc cag cac cac gcg Ser Gly Thr Arg His Ser His Pro Ser Val Gly Arg Gln His His Ala 320 325 330	4489
ggc ccc cca tcc aca tcg cgg cca cca cgt ccc tgg gac acg cct tgt Gly Pro Pro Ser Thr Ser Arg Pro Pro Arg Pro Trp Asp Thr Pro Cys 335 340 345 350	4537

ccc ccg gtg tac gcc gag acc aag cac ttc ctc tac tcc tca ggc gac	4585
Pro Pro Val Tyr Ala Glu Thr Lys His Phe Leu Tyr Ser Ser Gly Asp	
355 360 365	
aag gag cag ctg cgg cca tcc ttc ctg ctg agc tct ctg agg ccc agc	4633
Lys Glu Gln Leu Arg Pro Ser Phe Leu Leu Ser Ser Leu Arg Pro Ser	
370 375 380	
ctg act ggc gct cgg agg ctc gtg gag acc atc ttt ctg ggt tcc agg	4681
Leu Thr Gly Ala Arg Arg Leu Val Glu Thr Ile Phe Leu Gly Ser Arg	
385 390 395	
ccc tgg atg cca ggg act ccc cgc agg ttg ccc cgc ctg ccc cag cgc	4729
Pro Trp Met Pro Gly Thr Pro Arg Arg Leu Pro Arg Leu Pro Gln Arg	
400 405 410	
tac tgg caa atg cgg ccc ctg ttt ctg gag ctg ctt ggg aac cac gcg	4777
Tyr Trp Gln Met Arg Pro Leu Phe Leu Glu Leu Leu Gly Asn His Ala	
415 420 425 430	
cag tgc ccc tac ggg gtg ctc ctc aag acg cac tgc ccg ctg cga gct	4825
Gln Cys Pro Tyr Gly Val Leu Leu Lys Thr His Cys Pro Leu Arg Ala	
435 440 445	
gcg gtc acc cca gca gcc ggt gtc tgt gcc cgg gag aag ccc cag ggc	4873
Ala Val Thr Pro Ala Ala Gly Val Cys Ala Arg Glu Lys Pro Gln Gly	
450 455 460	
tct gtg gcg gcc ccc gag gag gag gac aca gac ccc cgt cgc ctg gtg	4921
Ser Val Ala Ala Pro Glu Glu Glu Asp Thr Asp Pro Arg Arg Leu Val	
465 470 475	
cag ctg ctc cgc cag cac agc agc ccc tgg cag gtg tac ggc ttc gtg	4969
Gln Leu Leu Arg Gln His Ser Ser Pro Trp Gln Val Tyr Gly Phe Val	
480 485 490	
cgg gcc tgc ctg cgc cgg ctg gtg ccc cca ggc ctc tgg ggc tcc agg	5017
Arg Ala Cys Leu Arg Arg Leu Val Pro Pro Gly Leu Trp Gly Ser Arg	
495 500 505 510	
cac aac gaa cgc cgc ttc ctc agg aac acc aag aag ttc atc tcc ctg	5065
His Asn Glu Arg Arg Phe Leu Arg Asn Thr Lys Lys Phe Ile Ser Leu	
515 520 525	
ggg aag cat gcc aag ctc tcg ctg cag gag ctg acg tgg aag atg agc	5113
Gly Lys His Ala Lys Leu Ser Leu Gln Glu Leu Thr Trp Lys Met Ser	
530 535 540	
gtg cgg ggc tgc gct tgg ctg cgc agg agc cca ggg gtt ggc tgt gtt	5161
Val Arg Gly Cys Ala Trp Leu Arg Arg Ser Pro Gly Val Gly Cys Val	
545 550 555	
ccg gcc gca gag cac cgt ctg cgt gag gag atc ctg gcc aag ttc ctg	5209
Pro Ala Ala Glu His Arg Leu Arg Glu Glu Ile Leu Ala Lys Phe Leu	
560 565 570	
cac tgg ctg atg agt gtg tac gtc gtc gag ctg ctc agg tca ttc ttt	5257
His Trp Leu Met Ser Val Tyr Val Val Glu Leu Leu Arg Ser Phe Phe	
575 580 585 590	
tac gtg acg gag acc acg ttt caa aag aac agg ctg ttt ttc tac cgg	5305
Tyr Val Thr Glu Thr Thr Phe Gln Lys Asn Arg Leu Phe Phe Tyr Arg	
595 600 605	

aag agt gtc tgg agc aag ttg caa agc att gga atc aga cag cac ttg Lys Ser Val Trp Ser Lys Leu Gln Ser Ile Gly Ile Arg Gln His Leu 610 615 620	5353
aag agg gtg cag ctg cgg gag ctg tcg gaa gca gag gtc agg cag cat Lys Arg Val Gln Leu Arg Glu Leu Ser Glu Ala Glu Val Arg Gln His 625 630 635	5401
cgg gaa gcc agg ccc gcc ctg ctg acg tcc aga ctc cgc ttc atc ccc Arg Glu Ala Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser Arg Leu Arg Phe Ile Pro 640 645 650	5449
aag cct gac ggg ctg cgg ccg att gtg aac atg gac tac gtc gtg gga Lys Pro Asp Gly Leu Arg Pro Ile Val Asn Met Asp Tyr Val Val Gly 655 660 665 670	5497
gcc aga acg ttc cgc aga gaa aag agg gcc gag cgt ctc acc tca cgg Ala Arg Thr Phe Arg Arg Glu Lys Arg Ala Glu Arg Leu Thr Ser Arg 675 680 685	5545
gtg aag gca ctg ttc agc gtg ctc aac tac gag cgg gct cgg cgc cct Val Lys Ala Leu Phe Ser Val Leu Asn Tyr Glu Arg Ala Arg Arg Pro 690 695 700	5593
ggc ctc ctg ggc gcc tct gtg ctg ggc ctg gac gat atc cac agg gcc Gly Leu Leu Gly Ala Ser Val Leu Gly Leu Asp Asp Ile His Arg Ala 705 710 715	5641
tgg cgc acc ttc gtg ctg cgt gtg cgg gcc cag gac ccg ccg cct gag Trp Arg Thr Phe Val Leu Arg Val Arg Ala Gln Asp Pro Pro Pro Glu 720 725 730	5689
ctg tac ttt gtc aag gtg gat gtg acg ggc gcg tac gac acc atc ccc Leu Tyr Phe Val Lys Val Asp Val Thr Gly Ala Tyr Asp Thr Ile Pro 735 740 745 750	5737
cag gac agg ctc acg gag gtc atc gcc agc atc atc aaa ccc cag aac Gln Asp Arg Leu Thr Glu Val Ile Ala Ser Ile Ile Lys Pro Gln Asn 755 760 765	5785
acg tac tgc gtg cgt cgg tat gcc gtg gtc cag aag gcc gcc cat ggg Thr Tyr Cys Val Arg Arg Tyr Ala Val Val Gln Lys Ala Ala His Gly 770 775 780	5833
cac gtc cgc aag gcc ttc aag agc cac gtc tct acc ttg aca gac ctc His Val Arg Lys Ala Phe Lys Ser His Val Ser Thr Leu Thr Asp Leu 785 790 795	5881
cag ccg tac atg cga cag ttc gtg gct cac ctg cag gag acc agc ccg Gln Pro Tyr Met Arg Gln Phe Val Ala His Leu Gln Glu Thr Ser Pro 800 805 810	5929
ctg agg gat gcc gtc gtc atc gag cag agc tcc tcc ctg aat gag gcc Leu Arg Asp Ala Val Val Ile Glu Gln Ser Ser Ser Leu Asn Glu Ala 815 820 825 830	5977
agc agt ggc ctc ttc gac gtc ttc cta cgc ttc atg tgc cac cac gcc Ser Ser Gly Leu Phe Asp Val Phe Leu Arg Phe Met Cys His His Ala 835 840 845	6025
gtg cgc atc agg ggc aag tcc tac gtc cag tgc cag ggc atc ccg cag Val Arg Ile Arg Gly Lys Ser Tyr Val Gln Cys Gln Gly Ile Pro Gln 850 855 860	6073

ggc tcc atc ctc tcc acg ctg ctc tgc agc ctg tgc tac ggc gac atg Gly Ser Ile Leu Ser Thr Leu Leu Cys Ser Leu Cys Tyr Gly Asp Met 865 870 875	6121
gag aac aag ctg ttt gcg ggg att cgg cgg gac ggg ctg ctc ctg cgt Glu Asn Lys Leu Phe Ala Gly Ile Arg Arg Asp Gly Leu Leu Leu Arg 880 885 890	6169
ttg ttc ttg ttg gtg aca cct cac ctc acc cac gcg aaa acc ttc ctc Leu Phe Leu Leu Val Thr Pro His Leu Thr His Ala Lys Thr Phe Leu 895 900 905 910	6217
agg acc ctg gtc cga ggt gtc cct gag tat ggc tgc gtg gtg aac ttg Arg Thr Leu Val Arg Gly Val Pro Glu Tyr Gly Cys Val Val Asn Leu 915 920 925	6265
cgg aag aca gtg gtg aac ttc cct gta gaa gac gag gcc ctg ggt ggc Arg Lys Thr Val Val Asn Phe Pro Val Glu Asp Glu Ala Leu Gly Gly 930 935 940	6313
acg gct ttt gtt cag atg ccg gcc cac ggc cta ttc ccc tgg tgc ggc Thr Ala Phe Val Gln Met Pro Ala His Gly Leu Phe Pro Trp Cys Gly 945 950 955	6361
ctg ctg ctg gat acc cgg acc ctg gag gtg cag agc gac tac tcc agc Leu Leu Leu Asp Thr Arg Thr Leu Glu Val Gln Ser Asp Tyr Ser Ser 960 965 970	6409
tat gcc cgg acc tcc atc aga gcc agt ctc acc ttc aac cgc ggc ttc Tyr Ala Arg Thr Ser Ile Arg Ala Ser Leu Thr Phe Asn Arg Gly Phe 975 980 985 990	6457
aag gct ggg agg aac atg cgt cgc aaa ctc ttt ggg gtc ttg cgg ctg Lys Ala Gly Arg Asn Met Arg Arg Lys Leu Phe Gly Val Leu Arg Leu 995 1000 1005	6505
aag tgt cac agc ctg ttt ctg gat ttg cag gtg aac agc ctc cag Lys Cys His Ser Leu Phe Leu Asp Leu Gln Val Asn Ser Leu Gln 1010 1015 1020	6550
acg gtg tgc acc aac atc tac aag atc ctc ctg ctg cag gcg tac Thr Val Cys Thr Asn Ile Tyr Lys Ile Leu Leu Leu Gln Ala Tyr 1025 1030 1035	6595
agg ttt cac gca tgt gtg ctg cag ctc cca ttt cat cag caa gtt Arg Phe His Ala Cys Val Leu Gln Leu Pro Phe His Gln Gln Val 1040 1045 1050	6640
tgg aag aac ccc aca ttt ttc ctg cgc gtc atc tct gac acg gcc Trp Lys Asn Pro Thr Phe Phe Leu Arg Val Ile Ser Asp Thr Ala 1055 1060 1065	6685
tcc ctc tgc tac tcc atc ctg aaa gcc aag aac gca ggg atg tcg Ser Leu Cys Tyr Ser Ile Leu Lys Ala Lys Asn Ala Gly Met Ser 1070 1075 1080	6730
ctg ggg gcc aag ggc gcc gcc ggc cct ctg ccc tcc gag gcc gtg Leu Gly Ala Lys Gly Ala Ala Gly Pro Leu Pro Ser Glu Ala Val 1085 1090 1095	6775
cag tgg ctg tgc cac caa gca ttc ctg ctc aag ctg act cga cac Gln Trp Leu Cys His Gln Ala Phe Leu Leu Lys Leu Thr Arg His 1100 1105 1110	6820

cgt gtc acc tac	gtg cca ctc ctg ggg	tca ctc agg aca gcc	cag	6865
Arg Val Thr Tyr	Val Pro Leu Leu Gly	Ser Leu Arg Thr Ala	Gln	
1115	1120	1125		

acg cag ctg agt	cgg aag ctc ccg ggg	acg acg ctg act gcc	ctg	6910
Thr Gln Leu Ser	Arg Lys Leu Pro Gly	Thr Thr Leu Thr Ala	Leu	
1130	1135	1140		

gag gcc gca gcc	aac ccg gca ctg ccc	tca gac ttc aag acc	atc	6955
Glu Ala Ala Ala	Asn Pro Ala Leu Pro	Ser Asp Phe Lys Thr	Ile	
1145	1150	1155		

ctg gac taataatcta	gaagatcttt	ttccctctgc	caaaaattat	ggggacatca	7011
Leu Asp					

tgaagcccct	tgagcatctg	acttctggct	aataaaggaa	atttatatttc	attgcaatag	7071
------------	------------	------------	------------	-------------	------------	------

tgtgttgga	ttttttgtgt	ctctcactcg	gaaggacata	agggcggcc	7120
-----------	------------	------------	------------	-----------	------

<210> 12
 <211> 1158
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> Synthetic Construct

<400> 12

Met Gln Ile Phe	Val Lys Thr Leu Thr	Gly Lys Thr Ile Thr	Leu Glu
1	5	10	15

Val Glu Pro Ser	Asp Thr Ile Glu	Asn Val Lys Ala Lys	Ile Gln Asp
20	25	30	

Lys Glu Gly Ile	Pro Pro Asp Gln Gln	Arg Leu Ile Phe	Ala Gly Lys
35	40	45	

Gln Leu Glu Asp	Gly Arg Thr Leu Ser	Asp Tyr Asn Ile	Gln Lys Glu
50	55	60	

Ser Thr Leu His	Leu Val Leu Arg	Leu Arg Gly Gly	Arg Ala Leu Val
65	70	75	80

Ala Gln Cys Leu	Val Cys Val Pro	Trp Asp Ala Arg	Pro Pro Pro Ala
85	90	95	

Ala Pro Ser Phe	Arg Gln Val Ser	Cys Leu Lys Glu	Leu Val Ala Arg
100	105	110	

Val Leu Gln Arg	Leu Cys Glu Arg	Gly Ala Lys Asn	Val Leu Ala Phe
115	120	125	

Gly Phe Ala Leu Leu Asp Gly Ala Arg Gly Gly Pro Pro Glu Ala Phe
 130 135 140

Thr Thr Ser Val Arg Ser Tyr Leu Pro Asn Thr Val Thr Asp Ala Leu
 145 150 155 160

Arg Gly Ser Gly Ala Trp Gly Leu Leu Leu Arg Arg Val Gly Asp Asp
 165 170 175

Val Leu Val His Leu Leu Ala Arg Cys Ala Leu Phe Val Leu Val Ala
 180 185 190

Pro Ser Cys Ala Tyr Gln Val Cys Gly Pro Pro Leu Tyr Gln Leu Gly
 195 200 205

Ala Ala Thr Gln Ala Arg Pro Pro Pro His Ala Ser Gly Pro Arg Arg
 210 215 220

Arg Leu Gly Cys Glu Arg Ala Trp Asn His Ser Val Arg Glu Ala Gly
 225 230 235 240

Val Pro Leu Gly Leu Pro Ala Pro Gly Ala Arg Arg Arg Gly Gly Ser
 245 250 255

Ala Ser Arg Ser Leu Pro Leu Pro Lys Arg Pro Arg Arg Gly Ala Ala
 260 265 270

Pro Glu Pro Glu Arg Thr Pro Val Gly Gln Gly Ser Trp Ala His Pro
 275 280 285

Gly Arg Thr Arg Gly Pro Ser Asp Arg Gly Phe Cys Val Val Ser Pro
 290 295 300

Ala Arg Pro Ala Glu Glu Ala Thr Ser Leu Glu Gly Ala Leu Ser Gly
 305 310 315 320

Thr Arg His Ser His Pro Ser Val Gly Arg Gln His His Ala Gly Pro
 325 330 335

Pro Ser Thr Ser Arg Pro Pro Arg Pro Trp Asp Thr Pro Cys Pro Pro
 340 345 350

Val Tyr Ala Glu Thr Lys His Phe Leu Tyr Ser Ser Gly Asp Lys Glu
 355 360 365

Gln Leu Arg Pro Ser Phe Leu Leu Ser Ser Leu Arg Pro Ser Leu Thr
 370 375 380

Gly Ala Arg Arg Leu Val Glu Thr Ile Phe Leu Gly Ser Arg Pro Trp
 385 390 395 400

Met Pro Gly Thr Pro Arg Arg Leu Pro Arg Leu Pro Gln Arg Tyr Trp
 405 410 415

Gln Met Arg Pro Leu Phe Leu Glu Leu Leu Gly Asn His Ala Gln Cys
 420 425 430

Pro Tyr Gly Val Leu Leu Lys Thr His Cys Pro Leu Arg Ala Ala Val
 435 440 445

Thr Pro Ala Ala Gly Val Cys Ala Arg Glu Lys Pro Gln Gly Ser Val
 450 455 460

Ala Ala Pro Glu Glu Glu Asp Thr Asp Pro Arg Arg Leu Val Gln Leu
 465 470 475 480

Leu Arg Gln His Ser Ser Pro Trp Gln Val Tyr Gly Phe Val Arg Ala
 485 490 495

Cys Leu Arg Arg Leu Val Pro Pro Gly Leu Trp Gly Ser Arg His Asn
 500 505 510

Glu Arg Arg Phe Leu Arg Asn Thr Lys Lys Phe Ile Ser Leu Gly Lys
 515 520 525

His Ala Lys Leu Ser Leu Gln Glu Leu Thr Trp Lys Met Ser Val Arg
 530 535 540

Gly Cys Ala Trp Leu Arg Arg Ser Pro Gly Val Gly Cys Val Pro Ala
 545 550 555 560

Ala Glu His Arg Leu Arg Glu Glu Ile Leu Ala Lys Phe Leu His Trp
 565 570 575

Leu Met Ser Val Tyr Val Val Glu Leu Leu Arg Ser Phe Phe Tyr Val
 580 585 590

Thr Glu Thr Thr Phe Gln Lys Asn Arg Leu Phe Phe Tyr Arg Lys Ser
 595 600 605

Val Trp Ser Lys Leu Gln Ser Ile Gly Ile Arg Gln His Leu Lys Arg
 610 615 620

Val Gln Leu Arg Glu Leu Ser Glu Ala Glu Val Arg Gln His Arg Glu
 625 630 635 640

Ala Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser Arg Leu Arg Phe Ile Pro Lys Pro
 645 650 655

Asp Gly Leu Arg Pro Ile Val Asn Met Asp Tyr Val Val Gly Ala Arg
 660 665 670

Thr Phe Arg Arg Glu Lys Arg Ala Glu Arg Leu Thr Ser Arg Val Lys
 675 680 685

Ala Leu Phe Ser Val Leu Asn Tyr Glu Arg Ala Arg Arg Pro Gly Leu
 690 695 700

Leu Gly Ala Ser Val Leu Gly Leu Asp Asp Ile His Arg Ala Trp Arg
 705 710 715 720

Thr Phe Val Leu Arg Val Arg Ala Gln Asp Pro Pro Pro Glu Leu Tyr
 725 730 735

Phe Val Lys Val Asp Val Thr Gly Ala Tyr Asp Thr Ile Pro Gln Asp
 740 745 750

Arg Leu Thr Glu Val Ile Ala Ser Ile Ile Lys Pro Gln Asn Thr Tyr
 755 760 765

Cys Val Arg Arg Tyr Ala Val Val Gln Lys Ala Ala His Gly His Val
 770 775 780

Arg Lys Ala Phe Lys Ser His Val Ser Thr Leu Thr Asp Leu Gln Pro
 785 790 795 800

Tyr Met Arg Gln Phe Val Ala His Leu Gln Glu Thr Ser Pro Leu Arg
 805 810 815

Asp Ala Val Val Ile Glu Gln Ser Ser Ser Leu Asn Glu Ala Ser Ser
 820 825 830

Gly Leu Phe Asp Val Phe Leu Arg Phe Met Cys His His Ala Val Arg
 835 840 845

Ile Arg Gly Lys Ser Tyr Val Gln Cys Gln Gly Ile Pro Gln Gly Ser
 850 855 860

Ile Leu Ser Thr Leu Leu Cys Ser Leu Cys Tyr Gly Asp Met Glu Asn
 865 870 875 880

Lys Leu Phe Ala Gly Ile Arg Arg Asp Gly Leu Leu Leu Arg Leu Phe
 885 890 895

Leu Leu Val Thr Pro His Leu Thr His Ala Lys Thr Phe Leu Arg Thr
900 905 910

Leu Val Arg Gly Val Pro Glu Tyr Gly Cys Val Val Asn Leu Arg Lys
915 920 925

Thr Val Val Asn Phe Pro Val Glu Asp Glu Ala Leu Gly Gly Thr Ala
930 935 940

Phe Val Gln Met Pro Ala His Gly Leu Phe Pro Trp Cys Gly Leu Leu
945 950 955 960

Leu Asp Thr Arg Thr Leu Glu Val Gln Ser Asp Tyr Ser Ser Tyr Ala
965 970 975

Arg Thr Ser Ile Arg Ala Ser Leu Thr Phe Asn Arg Gly Phe Lys Ala
980 985 990

Gly Arg Asn Met Arg Arg Lys Leu Phe Gly Val Leu Arg Leu Lys Cys
995 1000 1005

His Ser Leu Phe Leu Asp Leu Gln Val Asn Ser Leu Gln Thr Val
1010 1015 1020

Cys Thr Asn Ile Tyr Lys Ile Leu Leu Leu Gln Ala Tyr Arg Phe
1025 1030 1035

His Ala Cys Val Leu Gln Leu Pro Phe His Gln Gln Val Trp Lys
1040 1045 1050

Asn Pro Thr Phe Phe Leu Arg Val Ile Ser Asp Thr Ala Ser Leu
1055 1060 1065

Cys Tyr Ser Ile Leu Lys Ala Lys Asn Ala Gly Met Ser Leu Gly
1070 1075 1080

Ala Lys Gly Ala Ala Gly Pro Leu Pro Ser Glu Ala Val Gln Trp
1085 1090 1095

Leu Cys His Gln Ala Phe Leu Leu Lys Leu Thr Arg His Arg Val
1100 1105 1110

Thr Tyr Val Pro Leu Leu Gly Ser Leu Arg Thr Ala Gln Thr Gln
1115 1120 1125

Leu Ser Arg Lys Leu Pro Gly Thr Thr Leu Thr Ala Leu Glu Ala
1130 1135 1140

Ala Ala Asn Pro Ala Leu Pro Ser Asp Phe Lys Thr Ile Leu Asp
1145 1150 1155

<210> 13
<211> 3570
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> pUTD10Not insert sequence

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(3570)

<400> 13
atg cag att ttc gtc aaa aca ttg aca gga aag acc atc aca ctg gaa 48
Met Gln Ile Phe Val Lys Thr Leu Thr Gly Lys Thr Ile Thr Leu Glu
1 5 10 15
gtg gag cca agc gac act att gag aac gtc aaa gcc aag att cag gac 96
Val Glu Pro Ser Asp Thr Ile Glu Asn Val Lys Ala Lys Ile Gln Asp
20 25 30
aag gag ggc atc cca cca gac cag cag agg ctg att ttt gcc gga aag 144
Lys Glu Gly Ile Pro Pro Asp Gln Gln Arg Leu Ile Phe Ala Gly Lys
35 40 45
cag ctg gag gac gga cgc aca ctc agt gac tac aat atc cag aag gaa 192
Gln Leu Glu Asp Gly Arg Thr Leu Ser Asp Tyr Asn Ile Gln Lys Glu
50 55 60
agt act ctg cat ctg gtc ctt cgc ctg cgc ggc gga ctg gcc acc ttc 240
Ser Thr Leu His Leu Val Leu Arg Leu Arg Gly Gly Leu Ala Thr Phe
65 70 75 80
gtg cgg cgc ctg gga ccc cag ggc tgg cgg ctg gtg cag cgc ggg gac 288
Val Arg Arg Leu Gly Pro Gln Gly Trp Arg Leu Val Gln Arg Gly Asp
85 90 95
cct gct gct ttc aga gct ctc gtc gcc cag tgt ctg gtc tgc gtt cct 336
Pro Ala Ala Phe Arg Ala Leu Val Ala Gln Cys Leu Val Cys Val Pro
100 105 110
tgg gac gca cgg ccc cca ccc gcc gcc ccc agt ttc cgg cag gtg agt 384
Trp Asp Ala Arg Pro Pro Pro Ala Ala Pro Ser Phe Arg Gln Val Ser
115 120 125
tgt ctc aaa gag ttg gtt gct cgg gtg ttg cag cgg ctt tgt gaa agg 432
Cys Leu Lys Glu Leu Val Ala Arg Val Leu Gln Arg Leu Cys Glu Arg
130 135 140
gga gca aag aac gtc ctt gcc ttt ggc ttc gct ttg ctc gat gga gca 480
Gly Ala Lys Asn Val Leu Ala Phe Gly Phe Ala Leu Leu Asp Gly Ala
145 150 155 160
cgc gga ggc cct cct gag gca ttc act act agc gtc cgg tcc tac ctg 528
Arg Gly Gly Pro Pro Glu Ala Phe Thr Thr Ser Val Arg Ser Tyr Leu
165 170 175
ccc aac aca gtg acc gac gct ctg aga ggt tca ggt gcc tgg ggt ctg 576
Pro Asn Thr Val Thr Asp Ala Leu Arg Gly Ser Gly Ala Trp Gly Leu

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

435					440					445						
ctt	ctg	ggg	aac	cac	gcc	cag	tgc	cca	tat	ggc	gtc	ctg	ctg	aag	acc	1392
Leu	Leu	Gly	Asn	His	Ala	Gln	Cys	Pro	Tyr	Gly	Val	Leu	Leu	Lys	Thr	
450				455				460								
cac	tgt	cct	ctg	agg	gcc	gcc	gtg	acc	cca	gcc	gcc	ggg	gtg	tgt	gct	1440
His	Cys	Pro	Leu	Arg	Ala	Ala	Val	Thr	Pro	Ala	Ala	Gly	Val	Cys	Ala	
465				470				475						480		
aga	gaa	aaa	ccc	cag	ggc	tca	gtg	gct	gca	cct	gaa	gag	gag	gac	act	1488
Arg	Glu	Lys	Pro	Gln	Gly	Ser	Val	Ala	Ala	Pro	Glu	Glu	Glu	Asp	Thr	
				485				490						495		
gac	cct	cgc	cgc	ctt	gtc	cag	ttg	ctc	agg	cag	cat	tca	tca	cca	tgg	1536
Asp	Pro	Arg	Arg	Leu	Val	Gln	Leu	Leu	Arg	Gln	His	Ser	Ser	Pro	Trp	
		500						505				510				
cag	gtg	tac	ggc	ttc	gtg	agg	gct	tgc	ctg	cgg	aga	ctg	gtc	ccc	ccc	1584
Gln	Val	Tyr	Gly	Phe	Val	Arg	Ala	Cys	Leu	Arg	Arg	Leu	Val	Pro	Pro	
		515				520						525				
gga	ttg	tgg	gga	tct	cgg	cac	aac	gaa	cgg	cgc	ttt	ctg	agg	aat	aca	1632
Gly	Leu	Trp	Gly	Ser	Arg	His	Asn	Glu	Arg	Arg	Phe	Leu	Arg	Asn	Thr	
530						535				540						
aag	aag	ttt	atc	tcc	ctg	ggc	aag	cat	gca	aag	ctc	agc	ttg	cag	gag	1680
Lys	Lys	Phe	Ile	Ser	Leu	Gly	Lys	His	Ala	Lys	Leu	Ser	Leu	Gln	Glu	
545				550				555						560		
ctg	aca	tgg	aag	atg	agc	gtt	aga	gga	tgc	gca	tgg	ctc	agg	cgg	tca	1728
Leu	Thr	Trp	Lys	Met	Ser	Val	Arg	Gly	Cys	Ala	Trp	Leu	Arg	Arg	Ser	
				565				570				575				
cct	gga	gtt	gga	tgc	gtt	cca	gca	gca	gag	cac	agg	ctg	cgc	gaa	gag	1776
Pro	Gly	Val	Gly	Cys	Val	Pro	Ala	Ala	Glu	His	Arg	Leu	Arg	Glu	Glu	
		580				585						590				
att	ctc	gca	aag	ttc	ctg	cac	tgg	ctt	atg	agc	gtc	tac	gtg	gtc	gaa	1824
Ile	Leu	Ala	Lys	Phe	Leu	His	Trp	Leu	Met	Ser	Val	Tyr	Val	Val	Glu	
		595				600				605						
ctg	ctg	cgg	tct	ttc	ttc	tac	gtg	aca	gag	acc	act	ttt	cag	aag	aac	1872
Leu	Leu	Arg	Ser	Phe	Phe	Tyr	Val	Thr	Glu	Thr	Thr	Phe	Gln	Lys	Asn	
610						615				620						
aga	ctg	ttc	ttc	tac	agg	aag	tcc	gtc	tgg	agc	aag	ctc	cag	agt	att	1920
Arg	Leu	Phe	Phe	Tyr	Arg	Lys	Ser	Val	Trp	Ser	Lys	Leu	Gln	Ser	Ile	
625				630				635				640				
ggg	att	aga	cag	cac	ctt	aag	aga	gtt	cag	ctt	aga	gag	ctg	tcc	gaa	1968
Gly	Ile	Arg	Gln	His	Leu	Lys	Arg	Val	Gln	Leu	Arg	Glu	Leu	Ser	Glu	
		645				650				655				660		
gct	gaa	gtc	cgc	cag	cac	cgc	gaa	gct	cgc	ccc	gcc	ctc	ctg	acc	tct	2016
Ala	Glu	Val	Arg	Gln	His	Arg	Glu	Ala	Arg	Pro	Ala	Leu	Leu	Thr	Ser	
		660				665				670						
cgg	ctg	cgg	ttt	att	ccc	aaa	ccc	gat	ggc	ctt	aga	cct	atc	gtg	aat	2064
Arg	Leu	Arg	Phe	Ile	Pro	Lys	Pro	Asp	Gly	Leu	Arg	Pro	Ile	Val	Asn	
675						680				685						
atg	gat	tac	gtc	gtg	ggg	gcc	cgc	act	ttc	aga	agg	gag	aag	cgc	gcc	2112
Met	Asp	Tyr	Val	Val	Gly	Ala	Arg	Thr	Phe	Arg	Arg	Glu	Lys	Arg	Ala	

690	695	700	
gag Glu 705	aga Arg	ctg Leu	2160
aca Thr	tct Ser	cgc Arg 710	
gtg Val	aag Lys	gca Ala	
ctt Leu	ttt Phe 715	tct Ser	
gtg Val	ctt Leu	aat Asn	
tat Tyr 720			
gaa Glu	aga Arg	gcc Ala	2208
cgc Arg	aga Arg 725	cct Pro	
ggc Gly	ctt Leu	ctc Leu	
gga Gly 730	gcc Ala	agc Ser	
gtg Val	ctc Leu	ggc Gly 735	
ctg Leu			
gat Asp	gat Asp	atc Ile	2256
cat His 740	cgc Arg	gct Ala	
tgg Trp	cgc Arg	acc Thr 745	
ttt Phe	gtg Val	ctt Leu	
cgg Val 750	gtg Val	agg Arg	
gca Ala			
cag Gln	gat Asp 755	cct Pro	2304
cct Pro	cct Pro	gag Glu	
ctt Leu	tat Tyr 760	ttt Phe	
gtg Val	aaa Lys	ggt Val	
gat Asp 765	ggt Val	act Thr	
ggc Gly			
gct Ala	tac Tyr 770	gat Asp	2352
aca Thr	atc Ile	cct Pro	
cag Gln 775	gac Asp	cgc Arg	
ctc Leu	acc Thr	gag Glu 780	
gtg Val	aga Arg	agg Tyr	
att Ile 785	atc Ile	aaa Lys	2400
ccc Pro	cag Gln	aac Asn 790	
acc Thr	tac Tyr	tgc Cys	
gtg Val	aga Arg	agg Tyr 795	
gtc Val	gta Ala	gtc Val 800	
ggt Val			
cag Gln	aaa Lys	gcc Ala	2448
gca Ala	cac His 805	gga Gly	
cac His	gtg Val	cgc Arg	
aaa Lys 810	gct Ala	ttc Phe	
taa Lys	aaa Lys	tcc Ser	
cac His 815	gtg Val	gta Ala	
gtg Val			
tct Ser	acc Thr	ttg Leu	2496
aca Thr 820	gac Asp	ctc Leu	
cag Gln	cct Pro	tat Tyr 825	
atg Met	cgc Arg	cag Gln	
ttt Phe 830	gtc Val	gca Ala	
cac His			
ctg Leu	cag Gln	gag Asp 835	2544
act Thr	agc Ser	ccc Pro	
ttg Leu	agg Arg	gac Asp 840	
gct Ala	gtg Val	gtc Val 845	
atc Ile	gaa Glu	cag Gln	
tcc Ser			
agc Ser 850	tct Ser	ctc Leu	2592
aat Asn	gag Glu	gca Ala	
tcc Ser 855	tca Ser	ggc Gly	
ctg Leu	ttt Phe	gat Asp 860	
gtg Val	ttc Phe	ctg Leu	
cgc Arg			
ttt Phe 865	atg Met	tgc Cys	2640
cac His	cac His	gcc Ala 870	
gtg Val	cgc Arg	att Ile	
agg Arg	ggc Gly 875	aag Lys	
tct Ser	tac Tyr	gtg Val 880	
cag Gln			
tgc Cys	cag Gln	ggc Gly	2688
atc Ile	cca Pro	cag Gln	
ggc Gly	ggc Gly	agc Ser	
atc Ile	ctg Leu	agc Ser 890	
aca Thr	ctg Leu	tgt Cys 895	
agc Ser			
ctg Leu	tgc Cys	tat Tyr 900	2736
ggc Gly	gat Asp	atg Met	
gag Glu	aat Asn	aaa Lys 905	
ttg Leu	ttc Phe	gcc Ala	
ggc Gly	atc Ile	aga Arg 910	
aga Arg			
ttc Phe	ctg Leu	ggt Val 915	2784
ctg Leu	gtt Val	acc Thr	
ccc Pro	cat His	ctg Leu 920	
act Thr	cat His	gcc Ala	
aaa Lys	aca Thr	ttt Phe 925	
ttg Leu	cgc Arg		
cgc Arg			
act Thr	ctg Leu	ggt Val 930	2832
agg Arg	ggc Gly	gtg Val	
cca Pro	gag Glu	tat Tyr 935	
ggc Gly	tgt Cys	gtt Val 940	
aat Asn	ttg Leu	cgc Arg	
aaa Lys	act Thr	gtg Val	2880
gta Ala	ggt Val	aat Asn	
ttc Phe	cca Pro	gtg Val	
gag Glu	gac Asp	gaa Glu	
gct Ala	ctc Leu	gga Gly	
ggc Gly	aca Thr		

945	950	955	960	
gct ttt gtt cag atg cct gcc cac ggc ctg ttc cca tgg tgc gga ctg				2928
Ala Phe Val Gln Met Pro Ala His Gly Leu Phe Pro Trp Cys Gly Leu	965	970	975	
ctg ctc gat acc cgg acc ctc gag gtg cag tcc gat tat agt tcc tat				2976
Leu Leu Asp Thr Arg Thr Leu Glu Val Gln Ser Asp Tyr Ser Ser Tyr	980	985	990	
gca aga aca tca att cgg gct agc ctg act ttc aac agg ggc ttc aag				3024
Ala Arg Thr Ser Ile Arg Ala Ser Leu Thr Phe Asn Arg Gly Phe Lys	995	1000	1005	
gcc ggc cgg aat atg aga agg aaa ctg ttc gga gtg ttg aga ctt				3069
Ala Gly Arg Asn Met Arg Arg Lys Leu Phe Gly Val Leu Arg Leu	1010	1015	1020	
aag tgt cat agt ctt ttt ttg gac ttg cag gtc aat tct ctc cag				3114
Lys Cys His Ser Leu Phe Leu Asp Leu Gln Val Asn Ser Leu Gln	1025	1030	1035	
aca gtg tgt acc aac att tat aaa atc ctc ttg ctg cag gct tac				3159
Thr Val Cys Thr Asn Ile Tyr Lys Ile Leu Leu Leu Gln Ala Tyr	1040	1045	1050	
aga ttc cat gcc tgc gtc ctg cag ctg cct ttc cac cag cag gtg				3204
Arg Phe His Ala Cys Val Leu Gln Leu Pro Phe His Gln Gln Val	1055	1060	1065	
tgg aaa aac cct acc ttc ttc ctg cgg gtg att agc gac acc gcc				3249
Trp Lys Asn Pro Thr Phe Phe Leu Arg Val Ile Ser Asp Thr Ala	1070	1075	1080	
agt ctt tgc tac tcc atc ttg aaa gca aaa aac gct ggc atg agc				3294
Ser Leu Cys Tyr Ser Ile Leu Lys Ala Lys Asn Ala Gly Met Ser	1085	1090	1095	
ttg gga gct aag ggc gcc gct gga cct ctg ccc agt gaa gca gtc				3339
Leu Gly Ala Lys Gly Ala Ala Gly Pro Leu Pro Ser Glu Ala Val	1100	1105	1110	
cag tgg ctg tgt cat cag gct ttc ctc ctt aaa ctg aca cgc cac				3384
Gln Trp Leu Cys His Gln Ala Phe Leu Leu Lys Leu Thr Arg His	1115	1120	1125	
cgc gtg act tac gtc cca ctc ctg ggc tcc ctg aga act gct cag				3429
Arg Val Thr Tyr Val Pro Leu Leu Gly Ser Leu Arg Thr Ala Gln	1130	1135	1140	
acc cag ctt tcc cgg aag ctt cca ggc act acc ctt acc gca ctc				3474
Thr Gln Leu Ser Arg Lys Leu Pro Gly Thr Thr Leu Thr Ala Leu	1145	1150	1155	
gaa gca gcc gcc aac cct gcc ctg ccc tcc gac ttt aag act atc				3519
Glu Ala Ala Ala Asn Pro Ala Leu Pro Ser Asp Phe Lys Thr Ile	1160	1165	1170	
ctg gac ggc aag cca att cct aat cca ttg ctg ggc ctg gac tca				3564
Leu Asp Gly Lys Pro Ile Pro Asn Pro Leu Leu Gly Leu Asp Ser	1175	1180	1185	
act tga				3570
Thr				

<210> 14
<211> 1189
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic Construct

<400> 14

Met Gln Ile Phe Val Lys Thr Leu Thr Gly Lys Thr Ile Thr Leu Glu
1 5 10 15

Val Glu Pro Ser Asp Thr Ile Glu Asn Val Lys Ala Lys Ile Gln Asp
20 25 30

Lys Glu Gly Ile Pro Pro Asp Gln Gln Arg Leu Ile Phe Ala Gly Lys
35 40 45

Gln Leu Glu Asp Gly Arg Thr Leu Ser Asp Tyr Asn Ile Gln Lys Glu
50 55 60

Ser Thr Leu His Leu Val Leu Arg Leu Arg Gly Gly Leu Ala Thr Phe
65 70 75 80

Val Arg Arg Leu Gly Pro Gln Gly Trp Arg Leu Val Gln Arg Gly Asp
85 90 95

Pro Ala Ala Phe Arg Ala Leu Val Ala Gln Cys Leu Val Cys Val Pro
100 105 110

Trp Asp Ala Arg Pro Pro Pro Ala Ala Pro Ser Phe Arg Gln Val Ser
115 120 125

Cys Leu Lys Glu Leu Val Ala Arg Val Leu Gln Arg Leu Cys Glu Arg
130 135 140

Gly Ala Lys Asn Val Leu Ala Phe Gly Phe Ala Leu Leu Asp Gly Ala
145 150 155 160

Arg Gly Gly Pro Pro Glu Ala Phe Thr Thr Ser Val Arg Ser Tyr Leu
165 170 175

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

Leu Leu Arg Arg Val Gly Asp Asp Val Leu Val His Leu Leu Ala Arg
195 200 205

Cys Ala Leu Phe Val Leu Val Ala Pro Ser Cys Ala Tyr Gln Val Cys
210 215 220

Gly Pro Pro Leu Tyr Gln Leu Gly Ala Ala Thr Gln Ala Arg Pro Pro
225 230 235 240

Pro His Ala Ser Gly Pro Arg Arg Arg Leu Gly Cys Glu Arg Ala Trp
245 250 255

Asn His Ser Val Arg Glu Ala Gly Val Pro Leu Gly Leu Pro Ala Pro
260 265 270

Gly Ala Arg Arg Arg Gly Gly Ser Ala Ser Arg Ser Leu Pro Leu Pro
275 280 285

Lys Arg Pro Arg Arg Gly Ala Ala Pro Glu Pro Glu Arg Thr Pro Val
290 295 300

Gly Gln Gly Ser Trp Ala His Pro Gly Arg Thr Arg Gly Pro Ser Asp
305 310 315 320

Arg Gly Phe Cys Val Val Ser Pro Ala Arg Pro Ala Glu Glu Ala Thr
325 330 335

Ser Leu Glu Gly Ala Leu Ser Gly Thr Arg His Ser His Pro Ser Val
340 345 350

Gly Arg Gln His His Ala Gly Pro Pro Ser Thr Ser Arg Pro Pro Arg
355 360 365

Pro Trp Asp Thr Pro Cys Pro Pro Val Tyr Ala Glu Thr Lys His Phe
370 375 380

Leu Tyr Ser Ser Gly Asp Lys Glu Gln Leu Arg Pro Ser Phe Leu Leu
385 390 395 400

Ser Ser Leu Arg Pro Ser Leu Thr Gly Ala Arg Arg Leu Val Glu Thr
405 410 415

Ile Phe Leu Gly Ser Arg Pro Trp Met Pro Gly Thr Pro Arg Arg Leu
420 425 430

Pro Arg Leu Pro Gln Arg Tyr Trp Gln Met Arg Pro Leu Phe Leu Glu
435 440 445

Leu Leu Gly Asn His Ala Gln Cys Pro Tyr Gly Val Leu Leu Lys Thr
450 455 460

His Cys Pro Leu Arg Ala Ala Val Thr Pro Ala Ala Gly Val Cys Ala
465 470 475 480

Arg Glu Lys Pro Gln Gly Ser Val Ala Ala Pro Glu Glu Glu Asp Thr
485 490 495

Asp Pro Arg Arg Leu Val Gln Leu Leu Arg Gln His Ser Ser Pro Trp
500 505 510

Gln Val Tyr Gly Phe Val Arg Ala Cys Leu Arg Arg Leu Val Pro Pro
515 520 525

Gly Leu Trp Gly Ser Arg His Asn Glu Arg Arg Phe Leu Arg Asn Thr
530 535 540

Lys Lys Phe Ile Ser Leu Gly Lys His Ala Lys Leu Ser Leu Gln Glu
545 550 555 560

Leu Thr Trp Lys Met Ser Val Arg Gly Cys Ala Trp Leu Arg Arg Ser
565 570 575

Pro Gly Val Gly Cys Val Pro Ala Ala Glu His Arg Leu Arg Glu Glu
580 585 590

Ile Leu Ala Lys Phe Leu His Trp Leu Met Ser Val Tyr Val Val Glu
595 600 605

Leu Leu Arg Ser Phe Phe Tyr Val Thr Glu Thr Thr Phe Gln Lys Asn
610 615 620

Arg Leu Phe Phe Tyr Arg Lys Ser Val Trp Ser Lys Leu Gln Ser Ile
625 630 635 640

Gly Ile Arg Gln His Leu Lys Arg Val Gln Leu Arg Glu Leu Ser Glu
645 650 655

Ala Glu Val Arg Gln His Arg Glu Ala Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser
660 665 670

Arg Leu Arg Phe Ile Pro Lys Pro Asp Gly Leu Arg Pro Ile Val Asn
675 680 685

Met Asp Tyr Val Val Gly Ala Arg Thr Phe Arg Arg Glu Lys Arg Ala
690 695 700

Glu Arg Leu Thr Ser Arg Val Lys Ala Leu Phe Ser Val Leu Asn Tyr
705 710 715 720

Glu Arg Ala Arg Arg Pro Gly Leu Leu Gly Ala Ser Val Leu Gly Leu
725 730 735

Asp Asp Ile His Arg Ala Trp Arg Thr Phe Val Leu Arg Val Arg Ala
740 745 750

Gln Asp Pro Pro Pro Glu Leu Tyr Phe Val Lys Val Asp Val Thr Gly
755 760 765

Ala Tyr Asp Thr Ile Pro Gln Asp Arg Leu Thr Glu Val Ile Ala Ser
770 775 780

Ile Ile Lys Pro Gln Asn Thr Tyr Cys Val Arg Arg Tyr Ala Val Val
785 790 795 800

Gln Lys Ala Ala His Gly His Val Arg Lys Ala Phe Lys Ser His Val
805 810 815

Ser Thr Leu Thr Asp Leu Gln Pro Tyr Met Arg Gln Phe Val Ala His
820 825 830

Leu Gln Glu Thr Ser Pro Leu Arg Asp Ala Val Val Ile Glu Gln Ser
835 840 845

Ser Ser Leu Asn Glu Ala Ser Ser Gly Leu Phe Asp Val Phe Leu Arg
850 855 860

Phe Met Cys His His Ala Val Arg Ile Arg Gly Lys Ser Tyr Val Gln
865 870 875 880

Cys Gln Gly Ile Pro Gln Gly Ser Ile Leu Ser Thr Leu Leu Cys Ser
885 890 895

Leu Cys Tyr Gly Asp Met Glu Asn Lys Leu Phe Ala Gly Ile Arg Arg
900 905 910

Phe Leu Leu Val Thr Pro His Leu Thr His Ala Lys Thr Phe Leu Arg
915 920 925

Thr Leu Val Arg Gly Val Pro Glu Tyr Gly Cys Val Val Asn Leu Arg
930 935 940

Lys Thr Val Val Asn Phe Pro Val Glu Asp Glu Ala Leu Gly Gly Thr
945 950 955 960

Ala Phe Val Gln Met Pro Ala His Gly Leu Phe Pro Trp Cys Gly Leu
965 970 975

Leu Leu Asp Thr Arg Thr Leu Glu Val Gln Ser Asp Tyr Ser Ser Tyr
980 985 990

Ala Arg Thr Ser Ile Arg Ala Ser Leu Thr Phe Asn Arg Gly Phe Lys
995 1000 1005

Ala Gly Arg Asn Met Arg Arg Lys Leu Phe Gly Val Leu Arg Leu
1010 1015 1020

Lys Cys His Ser Leu Phe Leu Asp Leu Gln Val Asn Ser Leu Gln
1025 1030 1035

Thr Val Cys Thr Asn Ile Tyr Lys Ile Leu Leu Leu Gln Ala Tyr
1040 1045 1050

Arg Phe His Ala Cys Val Leu Gln Leu Pro Phe His Gln Gln Val
1055 1060 1065

Trp Lys Asn Pro Thr Phe Phe Leu Arg Val Ile Ser Asp Thr Ala
1070 1075 1080

Ser Leu Cys Tyr Ser Ile Leu Lys Ala Lys Asn Ala Gly Met Ser
1085 1090 1095

Leu Gly Ala Lys Gly Ala Ala Gly Pro Leu Pro Ser Glu Ala Val
1100 1105 1110

Gln Trp Leu Cys His Gln Ala Phe Leu Leu Lys Leu Thr Arg His
1115 1120 1125

Arg Val Thr Tyr Val Pro Leu Leu Gly Ser Leu Arg Thr Ala Gln
1130 1135 1140

Thr Gln Leu Ser Arg Lys Leu Pro Gly Thr Thr Leu Thr Ala Leu
1145 1150 1155

Glu Ala Ala Ala Asn Pro Ala Leu Pro Ser Asp Phe Lys Thr Ile
1160 1165 1170

Leu Asp Gly Lys Pro Ile Pro Asn Pro Leu Leu Gly Leu Asp Ser
1175 1180 1185

Thr

<210> 15
<211> 3570
<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> pUTD10Cog insert sequence

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(3570)

<400> 15

atg	cag	att	ttc	gtc	aaa	aca	ttg	aca	gga	aag	acc	atc	aca	ctg	gaa	48
Met	Gln	Ile	Phe	Val	Lys	Thr	Leu	Thr	Gly	Lys	Thr	Ile	Thr	Leu	Glu	
1				5					10					15		

gtg	gag	cca	agc	gac	act	att	gag	aac	gtc	aaa	gcc	aag	att	cag	gac	96
Val	Glu	Pro	Ser	Asp	Thr	Ile	Glu	Asn	Val	Lys	Ala	Lys	Ile	Gln	Asp	
			20					25					30			

aag	gag	ggc	atc	cca	cca	gac	cag	cag	agg	ctg	att	ttt	gcc	gga	aag	144
Lys	Glu	Gly	Ile	Pro	Pro	Asp	Gln	Gln	Arg	Leu	Ile	Phe	Ala	Gly	Lys	
		35					40					45				

cag	ctg	gag	gac	gga	cgc	aca	ctc	agt	gac	tac	aat	atc	cag	aag	gaa	192
Gln	Leu	Glu	Asp	Gly	Arg	Thr	Leu	Ser	Asp	Tyr	Asn	Ile	Gln	Lys	Glu	
	50					55					60					

agt	act	ctg	cat	ctg	gtc	ctt	cgc	ctg	cgc	ggc	gga	ctg	gcc	acc	ttc	240
Ser	Thr	Leu	His	Leu	Val	Leu	Arg	Leu	Arg	Gly	Gly	Leu	Ala	Thr	Phe	
65					70					75					80	

gtg	cgg	cgc	ctg	gga	ccc	cag	ggc	tgg	cgg	ctg	gtg	cag	cgc	ggg	gac	288
Val	Arg	Arg	Leu	Gly	Pro	Gln	Gly	Trp	Arg	Leu	Val	Gln	Arg	Gly	Asp	
				85				90						95		

cct	gct	gct	ttc	aga	gct	ctc	gtc	gcc	cag	tgt	ctg	gtc	tgc	gtt	cct	336
Pro	Ala	Ala	Phe	Arg	Ala	Leu	Val	Ala	Gln	Cys	Leu	Val	Cys	Val	Pro	
			100					105					110			

tgg	gac	gca	cgg	ccc	cca	ccc	gcc	gcc	ccc	agt	ttc	cgg	cag	gtg	agt	384
Trp	Asp	Ala	Arg	Pro	Pro	Pro	Ala	Ala	Pro	Ser	Phe	Arg	Gln	Val	Ser	
		115					120					125				

tgt	ctc	aaa	gag	ttg	gtt	gct	cgg	gtg	ttg	cag	cgg	ctt	tgt	gaa	agg	432
Cys	Leu	Lys	Glu	Leu	Val	Ala	Arg	Val	Leu	Gln	Arg	Leu	Cys	Glu	Arg	
	130					135					140					

gga	gca	aag	aac	gtc	ctt	gcc	ttt	ggc	ttc	gct	ttg	ctc	gat	gga	gca	480
Gly	Ala	Lys	Asn	Val	Leu	Ala	Phe	Gly	Phe	Ala	Leu	Leu	Asp	Gly	Ala	
145					150				155						160	

cgc	gga	ggc	cct	cct	gag	gca	ttc	act	act	agc	gtc	cgg	tcc	tac	ctg	528
Arg	Gly	Gly	Pro	Pro	Glu	Ala	Phe	Thr	Thr	Ser	Val	Arg	Ser	Tyr	Leu	
			165					170						175		

ccc	aac	aca	gtg	acc	gac	gct	ctg	aga	ggc	tca	ggc	gcc	tgg	ggc	ctg	576
Pro	Asn	Thr	Val	Thr	Asp	Ala	Leu	Arg	Gly	Ser	Gly	Ala	Trp	Gly	Leu	
			180					185					190			

ctg	ctg	cgg	agg	gtg	ggc	gat	gat	gtt	ctg	gtt	cac	ctc	ctg	gcc	cgg	624
Leu	Leu	Arg	Arg	Val	Gly	Asp	Asp	Val	Leu	Val	His	Leu	Leu	Ala	Arg	
		195					200					205				

tgt	gcc	ctg	ttc	gtg	ctg	gtg	gct	ccc	tcc	tgc	gca	tac	cag	gtc	tgc	672
-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----

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

His 465	Cys	Pro	Leu	Arg	Ala 470	Ala	Val	Thr	Pro	Ala 475	Ala	Gly	Val	Cys	Ala 480	
aga Arg	gaa Glu	aaa Lys	ccc Pro	cag Gln 485	ggc Gly	tca Ser	gtg Val	gct Ala	gca Ala 490	cct Pro	gaa Glu	gag Glu	gag Glu	gac Asp 495	act Thr	1488
gac Asp	cct Pro	cgc Arg	cgc Arg 500	ctt Leu	gtc Val	cag Gln	ttg Leu	ctc Leu 505	agg Arg	cag Gln	cat His	tca Ser	tca Ser 510	cca Pro	tgg Trp	1536
cag Gln	gtg Val	tac Tyr 515	ggc Gly	ttc Phe	gtg Val	agg Arg	gct Ala 520	tgc Cys	ctg Leu	cgg Arg	aga Arg	ctg Leu 525	gtc Val	ccc Pro	ccc Pro	1584
gga Gly 530	ttg Leu	tgg Trp	gga Gly	tct Ser	cgg Arg	cac His 535	aac Asn	gaa Glu	cgg Arg	cgc Arg	ttt Phe 540	ctg Leu	agg Arg	aat Asn	aca Thr	1632
aag Lys 545	aag Lys	ttt Phe	atc Ile	tcc Ser	ctg Leu 550	ggc Gly	aag Lys	cat His	gca Ala 555	aag Lys	ctc Leu	agc Ser	ttg Leu	cag Gln	gag Glu 560	1680
ctg Leu	aca Thr	tgg Trp	aag Lys	atg Met 565	agc Ser	gtt Val	aga Arg	gga Gly	tgc Cys 570	gca Ala	tgg Trp	ctc Leu	agg Arg	cgg Arg 575	tca Ser	1728
cct Pro	gga Gly	gtt Val	gga Gly 580	tgc Cys	gtt Val	cca Pro	gca Ala	gca Ala 585	gag Glu	cac His	agg Arg	ctg Leu	cgc Arg 590	gaa Glu	gag Glu	1776
att Ile	ctc Leu	gca Ala 595	aag Lys	ttc Phe	ctg Leu	cac His	tgg Trp 600	ctt Leu	atg Met	agc Ser	gtc Val	tac Tyr 605	gtg Val	gtc Val	gaa Glu	1824
ctg Leu 610	ctg Leu	cgg Arg	tct Ser	ttc Phe	ttc Phe	tac Tyr 615	gtg Val	aca Thr	gag Glu	acc Thr	act Thr 620	ttt Phe	cag Gln	aag Lys	aac Asn	1872
aga Arg 625	ctg Leu	ttc Phe	ttc Phe	tac Tyr	agg Arg 630	aag Lys	tcc Ser	gtc Val	tgg Trp	agc Ser 635	aag Lys	ctc Leu	cag Gln	agt Ser	att Ile 640	1920
ggt Gly	att Ile	aga Arg	cag Gln	cac His 645	ctt Leu	aag Lys	aga Arg	gtt Val	cag Gln 650	ctt Leu	aga Arg	gag Glu	ctg Leu	tcc Ser 655	gaa Glu	1968
gct Ala	gaa Glu	gtc Val	cgc Arg 660	cag Gln	cac His	cgc Arg	gaa Glu	gct Ala 665	cgc Arg	ccc Pro	gcc Ala	ctc Leu	ctg Leu 670	acc Thr	tct Ser	2016
cgg Arg	ctg Leu	cgg Arg 675	ttt Phe	att Ile	ccc Pro	aaa Lys	ccc Pro 680	gat Asp	ggc Gly	ctt Leu	aga Arg	cct Pro 685	atc Ile	gtg Val	aat Asn	2064
atg Met 690	gat Asp	tac Tyr	gtc Val	gtg Val	ggc Gly 695	gcc Ala	cgc Arg	act Thr	ttc Phe	aga Arg	agg Arg 700	gag Glu	aag Lys	cgc Arg	gcc Ala	2112
gag Glu 705	aga Arg	ctg Leu	aca Thr	tct Ser	cgc Arg 710	gtg Val	aag Lys	gca Ala	ctt Leu	ttt Phe 715	tct Ser	gtg Val	ctt Leu	aat Asn	tat Tyr 720	2160
gaa	aga	gcc	cgc	aga	cct	ggc	ctt	ctc	gga	gcc	agc	gtg	ctc	ggc	ctg	2208

Glu	Arg	Ala	Arg	Arg	Pro	Gly	Leu	Leu	Gly	Ala	Ser	Val	Leu	Gly	Leu	
				725					730					735		
gat	gat	atc	cat	cgg	gct	tgg	cgc	acc	ttt	gtg	ctt	cgg	gtg	agg	gca	2256
Asp	Asp	Ile	His	Arg	Ala	Trp	Arg	Thr	Phe	Val	Leu	Arg	Val	Arg	Ala	
			740					745					750			
cag	gat	cct	cct	cct	gag	ctt	tat	ttt	gtg	aaa	gtt	gat	gtt	act	ggc	2304
Gln	Asp	Pro	Pro	Pro	Glu	Leu	Tyr	Phe	Val	Lys	Val	Asp	Val	Thr	Gly	
		755					760					765				
gct	tac	gat	aca	atc	cct	cag	gac	cgg	ctc	acc	gag	gtg	atc	gcc	tct	2352
Ala	Tyr	Asp	Thr	Ile	Pro	Gln	Asp	Arg	Leu	Thr	Glu	Val	Ile	Ala	Ser	
	770					775					780					
att	atc	aaa	ccc	cag	aac	acc	tac	tgc	gtg	aga	agg	tac	gcc	gtc	gtt	2400
Ile	Ile	Lys	Pro	Gln	Asn	Thr	Tyr	Cys	Val	Arg	Arg	Tyr	Ala	Val	Val	
785					790					795					800	
cag	aaa	gcc	gca	cac	gga	cac	gtg	cgc	aaa	gct	ttc	aaa	tcc	cac	gtg	2448
Gln	Lys	Ala	Ala	His	Gly	His	Val	Arg	Lys	Ala	Phe	Lys	Ser	His	Val	
				805					810					815		
tct	acc	ttg	aca	gac	ctc	cag	cct	tat	atg	cgg	cag	ttt	gtc	gca	cac	2496
Ser	Thr	Leu	Thr	Asp	Leu	Gln	Pro	Tyr	Met	Arg	Gln	Phe	Val	Ala	His	
			820					825					830			
ctg	cag	gag	act	agc	ccc	ttg	agg	gac	gct	gtg	gtc	atc	gaa	cag	tcc	2544
Leu	Gln	Glu	Thr	Ser	Pro	Leu	Arg	Asp	Ala	Val	Val	Ile	Glu	Gln	Ser	
		835					840					845				
agc	tct	ctc	aat	gag	gca	tcc	tca	ggc	ctg	ttt	gat	gtg	ttc	ctg	cgc	2592
Ser	Ser	Leu	Asn	Glu	Ala	Ser	Ser	Gly	Leu	Phe	Asp	Val	Phe	Leu	Arg	
	850					855					860					
ttt	atg	tgc	cac	cac	gcc	gtg	cgg	att	agg	ggc	aag	tct	tac	gtg	cag	2640
Phe	Met	Cys	His	His	Ala	Val	Arg	Ile	Arg	Gly	Lys	Ser	Tyr	Val	Gln	
865					870					875					880	
tgc	cag	ggc	atc	cca	cag	ggc	agc	atc	ctg	agc	aca	ctg	ctg	tgt	agc	2688
Cys	Gln	Gly	Ile	Pro	Gln	Gly	Ser	Ile	Leu	Ser	Thr	Leu	Leu	Cys	Ser	
				885					890					895		
ctg	tgc	tat	ggc	gat	atg	gag	aat	aaa	ttg	ttc	gcc	ggc	atc	aga	aga	2736
Leu	Cys	Tyr	Gly	Asp	Met	Glu	Asn	Lys	Leu	Phe	Ala	Gly	Ile	Arg	Arg	
			900					905					910			
gac	ggc	ttg	ctc	ctg	agg	ctg	ctg	act	cat	gcc	aaa	aca	ttt	ttg	cgg	2784
Asp	Gly	Leu	Leu	Leu	Arg	Leu	Leu	Thr	His	Ala	Lys	Thr	Phe	Leu	Arg	
		915					920					925				
act	ctg	gtt	agg	ggc	gtg	cca	gag	tat	ggc	tgt	gtt	gtg	aat	ttg	cgg	2832
Thr	Leu	Val	Arg	Gly	Val	Pro	Glu	Tyr	Gly	Cys	Val	Val	Asn	Leu	Arg	
	930					935					940					
aaa	act	gtg	gtt	aat	ttc	cca	gtg	gag	gac	gaa	gct	ctc	gga	ggc	aca	2880
Lys	Thr	Val	Val	Asn	Phe	Pro	Val	Glu	Asp	Glu	Ala	Leu	Gly	Gly	Thr	
945					950					955					960	
gct	ttt	gtt	cag	atg	cct	gcc	cac	ggc	ctg	ttc	cca	tgg	tgc	gga	ctg	2928
Ala	Phe	Val	Gln	Met	Pro	Ala	His	Gly	Leu	Phe	Pro	Trp	Cys	Gly	Leu	
				965					970					975		
ctg	ctc	gat	acc	cgg	acc	ctc	gag	gtg	cag	tcc	gat	tat	agt	tcc	tat	2976

Leu	Leu	Asp	Thr	Arg	Thr	Leu	Glu	Val	Gln	Ser	Asp	Tyr	Ser	Ser	Tyr		
			980					985					990				
gca	aga	aca	tca	att	cgg	gct	agc	ctg	act	ttc	aac	agg	ggc	ttc	aag	3024	
Ala	Arg	Thr	Ser	Ile	Arg	Ala	Ser	Leu	Thr	Phe	Asn	Arg	Gly	Phe	Lys		
		995					1000					1005					
gcc	ggc	cgg	aat	atg	aga	agg	aaa	ctg	ttc	gga	gtg	ttg	aga	ctt		3069	
Ala	Gly	Arg	Asn	Met	Arg	Arg	Lys	Leu	Phe	Gly	Val	Leu	Arg	Leu			
	1010					1015					1020						
aag	tgt	cat	agt	ctt	ttt	ttg	gac	ttg	cag	gtc	aat	tct	ctc	cag		3114	
Lys	Cys	His	Ser	Leu	Phe	Leu	Asp	Leu	Gln	Val	Asn	Ser	Leu	Gln			
	1025					1030					1035						
aca	gtg	tgt	acc	aac	att	tat	aaa	atc	ctc	ttg	ctg	cag	gct	tac		3159	
Thr	Val	Cys	Thr	Asn	Ile	Tyr	Lys	Ile	Leu	Leu	Leu	Gln	Ala	Tyr			
	1040					1045					1050						
aga	ttc	cat	gcc	tgc	gtc	ctg	cag	ctg	cct	ttc	cac	cag	cag	gtg		3204	
Arg	Phe	His	Ala	Cys	Val	Leu	Gln	Leu	Pro	Phe	His	Gln	Gln	Val			
	1055					1060					1065						
tgg	aaa	aac	cct	acc	ttc	ttc	ctg	cgg	gtg	att	agc	gac	acc	gcc		3249	
Trp	Lys	Asn	Pro	Thr	Phe	Phe	Leu	Arg	Val	Ile	Ser	Asp	Thr	Ala			
	1070					1075					1080						
agt	ctt	tgc	tac	tcc	atc	ttg	aaa	gca	aaa	aac	gct	ggc	atg	agc		3294	
Ser	Leu	Cys	Tyr	Ser	Ile	Leu	Lys	Ala	Lys	Asn	Ala	Gly	Met	Ser			
	1085					1090					1095						
ttg	gga	gct	aag	ggc	gcc	gct	gga	cct	ctg	ccc	agt	gaa	gca	gtc		3339	
Leu	Gly	Ala	Lys	Gly	Ala	Ala	Gly	Pro	Leu	Pro	Ser	Glu	Ala	Val			
	1100					1105					1110						
cag	tgg	ctg	tgt	cat	cag	gct	ttc	ctc	ctt	aaa	ctg	aca	cgc	cac		3384	
Gln	Trp	Leu	Cys	His	Gln	Ala	Phe	Leu	Leu	Lys	Leu	Thr	Arg	His			
	1115					1120					1125						
cgc	gtg	act	tac	gtc	cca	ctc	ctg	ggc	tcc	ctg	aga	act	gct	cag		3429	
Arg	Val	Thr	Tyr	Val	Pro	Leu	Leu	Gly	Ser	Leu	Arg	Thr	Ala	Gln			
	1130					1135					1140						
acc	cag	ctt	tcc	cgg	aag	ctt	cca	ggc	act	acc	ctt	acc	gca	ctc		3474	
Thr	Gln	Leu	Ser	Arg	Lys	Leu	Pro	Gly	Thr	Thr	Leu	Thr	Ala	Leu			
	1145					1150					1155						
gaa	gca	gcc	gcc	aac	cct	gcc	ctg	ccc	tcc	gac	ttt	aag	act	atc		3519	
Glu	Ala	Ala	Ala	Asn	Pro	Ala	Leu	Pro	Ser	Asp	Phe	Lys	Thr	Ile			
	1160					1165					1170						
ctg	gac	ggc	aag	cca	att	cct	aat	cca	ttg	ctg	ggc	ctg	gac	tca		3564	
Leu	Asp	Gly	Lys	Pro	Ile	Pro	Asn	Pro	Leu	Leu	Gly	Leu	Asp	Ser			
	1175					1180					1185						
act	tga															3570	
Thr																	

<210> 16
 <211> 1189
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 16

Met Gln Ile Phe Val Lys Thr Leu Thr Gly Lys Thr Ile Thr Leu Glu
1 5 10 15

Val Glu Pro Ser Asp Thr Ile Glu Asn Val Lys Ala Lys Ile Gln Asp
20 25 30

Lys Glu Gly Ile Pro Pro Asp Gln Gln Arg Leu Ile Phe Ala Gly Lys
35 40 45

Gln Leu Glu Asp Gly Arg Thr Leu Ser Asp Tyr Asn Ile Gln Lys Glu
50 55 60

Ser Thr Leu His Leu Val Leu Arg Leu Arg Gly Gly Leu Ala Thr Phe
65 70 75 80

Val Arg Arg Leu Gly Pro Gln Gly Trp Arg Leu Val Gln Arg Gly Asp
85 90 95

Pro Ala Ala Phe Arg Ala Leu Val Ala Gln Cys Leu Val Cys Val Pro
100 105 110

Trp Asp Ala Arg Pro Pro Pro Ala Ala Pro Ser Phe Arg Gln Val Ser
115 120 125

Cys Leu Lys Glu Leu Val Ala Arg Val Leu Gln Arg Leu Cys Glu Arg
130 135 140

Gly Ala Lys Asn Val Leu Ala Phe Gly Phe Ala Leu Leu Asp Gly Ala
145 150 155 160

Arg Gly Gly Pro Pro Glu Ala Phe Thr Thr Ser Val Arg Ser Tyr Leu
165 170 175

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

Leu Leu Arg Arg Val Gly Asp Asp Val Leu Val His Leu Leu Ala Arg
195 200 205

Cys Ala Leu Phe Val Leu Val Ala Pro Ser Cys Ala Tyr Gln Val Cys
210 215 220

Gly Pro Pro Leu Tyr Gln Leu Gly Ala Ala Thr Gln Ala Arg Pro Pro
225 230 235 240

Pro His Ala Ser Gly Pro Arg Arg Arg Leu Gly Cys Glu Arg Ala Trp
245 250 255

Asn His Ser Val Arg Glu Ala Gly Val Pro Leu Gly Leu Pro Ala Pro
260 265 270

Gly Ala Arg Arg Arg Gly Gly Ser Ala Ser Arg Ser Leu Pro Leu Pro
275 280 285

Lys Arg Pro Arg Arg Gly Ala Ala Pro Glu Pro Glu Arg Thr Pro Val
290 295 300

Gly Gln Gly Ser Trp Ala His Pro Gly Arg Thr Arg Gly Pro Ser Asp
305 310 315 320

Arg Gly Phe Cys Val Val Ser Pro Ala Arg Pro Ala Glu Glu Ala Thr
325 330 335

Ser Leu Glu Gly Ala Leu Ser Gly Thr Arg His Ser His Pro Ser Val
340 345 350

Gly Arg Gln His His Ala Gly Pro Pro Ser Thr Ser Arg Pro Pro Arg
355 360 365

Pro Trp Asp Thr Pro Cys Pro Pro Val Tyr Ala Glu Thr Lys His Phe
370 375 380

Leu Tyr Ser Ser Gly Asp Lys Glu Gln Leu Arg Pro Ser Phe Leu Leu
385 390 395 400

Ser Ser Leu Arg Pro Ser Leu Thr Gly Ala Arg Arg Leu Val Glu Thr
405 410 415

Ile Phe Leu Gly Ser Arg Pro Trp Met Pro Gly Thr Pro Arg Arg Leu
420 425 430

Pro Arg Leu Pro Gln Arg Tyr Trp Gln Met Arg Pro Leu Phe Leu Glu
435 440 445

Leu Leu Gly Asn His Ala Gln Cys Pro Tyr Gly Val Leu Leu Lys Thr
450 455 460

His Cys Pro Leu Arg Ala Ala Val Thr Pro Ala Ala Gly Val Cys Ala
465 470 475 480

Arg Glu Lys Pro Gln Gly Ser Val Ala Ala Pro Glu Glu Glu Asp Thr
485 490 495

Asp Pro Arg Arg Leu Val Gln Leu Leu Arg Gln His Ser Ser Pro Trp
500 505 510

Gln Val Tyr Gly Phe Val Arg Ala Cys Leu Arg Arg Leu Val Pro Pro
515 520 525

Gly Leu Trp Gly Ser Arg His Asn Glu Arg Arg Phe Leu Arg Asn Thr
530 535 540

Lys Lys Phe Ile Ser Leu Gly Lys His Ala Lys Leu Ser Leu Gln Glu
545 550 555 560

Leu Thr Trp Lys Met Ser Val Arg Gly Cys Ala Trp Leu Arg Arg Ser
565 570 575

Pro Gly Val Gly Cys Val Pro Ala Ala Glu His Arg Leu Arg Glu Glu
580 585 590

Ile Leu Ala Lys Phe Leu His Trp Leu Met Ser Val Tyr Val Val Glu
595 600 605

Leu Leu Arg Ser Phe Phe Tyr Val Thr Glu Thr Thr Phe Gln Lys Asn
610 615 620

Arg Leu Phe Phe Tyr Arg Lys Ser Val Trp Ser Lys Leu Gln Ser Ile
625 630 635 640

Gly Ile Arg Gln His Leu Lys Arg Val Gln Leu Arg Glu Leu Ser Glu
645 650 655

Ala Glu Val Arg Gln His Arg Glu Ala Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser
660 665 670

Arg Leu Arg Phe Ile Pro Lys Pro Asp Gly Leu Arg Pro Ile Val Asn
675 680 685

Met Asp Tyr Val Val Gly Ala Arg Thr Phe Arg Arg Glu Lys Arg Ala
690 695 700

Glu Arg Leu Thr Ser Arg Val Lys Ala Leu Phe Ser Val Leu Asn Tyr
705 710 715 720

Glu Arg Ala Arg Arg Pro Gly Leu Leu Gly Ala Ser Val Leu Gly Leu
725 730 735

Asp Asp Ile His Arg Ala Trp Arg Thr Phe Val Leu Arg Val Arg Ala
740 745 750

Gln Asp Pro Pro Pro Glu Leu Tyr Phe Val Lys Val Asp Val Thr Gly
 755 760 765

Ala Tyr Asp Thr Ile Pro Gln Asp Arg Leu Thr Glu Val Ile Ala Ser
 770 775 780

Ile Ile Lys Pro Gln Asn Thr Tyr Cys Val Arg Arg Tyr Ala Val Val
 785 790 795 800

Gln Lys Ala Ala His Gly His Val Arg Lys Ala Phe Lys Ser His Val
 805 810 815

Ser Thr Leu Thr Asp Leu Gln Pro Tyr Met Arg Gln Phe Val Ala His
 820 825 830

Leu Gln Glu Thr Ser Pro Leu Arg Asp Ala Val Val Ile Glu Gln Ser
 835 840 845

Ser Ser Leu Asn Glu Ala Ser Ser Gly Leu Phe Asp Val Phe Leu Arg
 850 855 860

Phe Met Cys His His Ala Val Arg Ile Arg Gly Lys Ser Tyr Val Gln
 865 870 875 880

Cys Gln Gly Ile Pro Gln Gly Ser Ile Leu Ser Thr Leu Leu Cys Ser
 885 890 895

Leu Cys Tyr Gly Asp Met Glu Asn Lys Leu Phe Ala Gly Ile Arg Arg
 900 905 910

Asp Gly Leu Leu Leu Arg Leu Leu Thr His Ala Lys Thr Phe Leu Arg
 915 920 925

Thr Leu Val Arg Gly Val Pro Glu Tyr Gly Cys Val Val Asn Leu Arg
 930 935 940

Lys Thr Val Val Asn Phe Pro Val Glu Asp Glu Ala Leu Gly Gly Thr
 945 950 955 960

Ala Phe Val Gln Met Pro Ala His Gly Leu Phe Pro Trp Cys Gly Leu
 965 970 975

Leu Leu Asp Thr Arg Thr Leu Glu Val Gln Ser Asp Tyr Ser Ser Tyr
 980 985 990

Ala Arg Thr Ser Ile Arg Ala Ser Leu Thr Phe Asn Arg Gly Phe Lys
 995 1000 1005

Ala	Gly	Arg	Asn	Met	Arg	Arg	Lys	Leu	Phe	Gly	Val	Leu	Arg	Leu
	1010					1015					1020			
Lys	Cys	His	Ser	Leu	Phe	Leu	Asp	Leu	Gln	Val	Asn	Ser	Leu	Gln
	1025					1030					1035			
Thr	Val	Cys	Thr	Asn	Ile	Tyr	Lys	Ile	Leu	Leu	Leu	Gln	Ala	Tyr
	1040					1045					1050			
Arg	Phe	His	Ala	Cys	Val	Leu	Gln	Leu	Pro	Phe	His	Gln	Gln	Val
	1055					1060					1065			
Trp	Lys	Asn	Pro	Thr	Phe	Phe	Leu	Arg	Val	Ile	Ser	Asp	Thr	Ala
	1070					1075					1080			
Ser	Leu	Cys	Tyr	Ser	Ile	Leu	Lys	Ala	Lys	Asn	Ala	Gly	Met	Ser
	1085					1090					1095			
Leu	Gly	Ala	Lys	Gly	Ala	Ala	Gly	Pro	Leu	Pro	Ser	Glu	Ala	Val
	1100					1105					1110			
Gln	Trp	Leu	Cys	His	Gln	Ala	Phe	Leu	Leu	Lys	Leu	Thr	Arg	His
	1115					1120					1125			
Arg	Val	Thr	Tyr	Val	Pro	Leu	Leu	Gly	Ser	Leu	Arg	Thr	Ala	Gln
	1130					1135					1140			
Thr	Gln	Leu	Ser	Arg	Lys	Leu	Pro	Gly	Thr	Thr	Leu	Thr	Ala	Leu
	1145					1150					1155			
Glu	Ala	Ala	Ala	Asn	Pro	Ala	Leu	Pro	Ser	Asp	Phe	Lys	Thr	Ile
	1160					1165					1170			
Leu	Asp	Gly	Lys	Pro	Ile	Pro	Asn	Pro	Leu	Leu	Gly	Leu	Asp	Ser
	1175					1180					1185			

Thr

<210> 17
 <211> 3531
 <212> DNA
 <213> Artificial

<220>
 <223> pUTD23Tyn insert sequence

<220>

<221> CDS
 <222> (1)..(3528)

<400> 17

atg	cag	att	ttc	gtc	aaa	aca	ttg	aca	gga	aag	acc	atc	aca	ctg	gaa	48
Met	Gln	Ile	Phe	Val	Lys	Thr	Leu	Thr	Gly	Lys	Thr	Ile	Thr	Leu	Glu	
1				5					10					15		
gtg	gag	cca	agc	gac	act	att	gag	aac	gtc	aaa	gcc	aag	att	cag	gac	96
Val	Glu	Pro	Ser	Asp	Thr	Ile	Glu	Asn	Val	Lys	Ala	Lys	Ile	Gln	Asp	
			20					25					30			
aag	gag	ggc	atc	cca	cca	gac	cag	cag	agg	ctg	att	ttt	gcc	gga	aag	144
Lys	Glu	Gly	Ile	Pro	Pro	Asp	Gln	Gln	Arg	Leu	Ile	Phe	Ala	Gly	Lys	
		35					40					45				
cag	ctg	gag	gac	gga	cgc	aca	ctc	agt	gac	tac	aat	atc	cag	aag	gaa	192
Gln	Leu	Glu	Asp	Gly	Arg	Thr	Leu	Ser	Asp	Tyr	Asn	Ile	Gln	Lys	Glu	
	50					55					60					
agt	act	ctg	cat	ctg	gtc	ctt	cgc	ctg	cgc	ggc	gga	ctg	gcc	acc	ttc	240
Ser	Thr	Leu	His	Leu	Val	Leu	Arg	Leu	Arg	Gly	Gly	Leu	Ala	Thr	Phe	
65					70					75					80	
gtg	cgg	cgc	ctg	gga	ccc	cag	ggc	tgg	cgg	ctg	gtg	cag	cgc	ggg	gac	288
Val	Arg	Arg	Leu	Gly	Pro	Gln	Gly	Trp	Arg	Leu	Val	Gln	Arg	Gly	Asp	
				85				90						95		
cct	gct	gct	ttc	aga	gct	ctc	gtc	gcc	cag	tgt	ctg	gtc	tgc	ggt	cct	336
Pro	Ala	Ala	Phe	Arg	Ala	Leu	Val	Ala	Gln	Cys	Leu	Val	Cys	Val	Pro	
			100					105					110			
tgg	gac	gca	cgg	ccc	cca	ccc	gcc	gcc	ccc	agt	ttc	cgg	cag	gtg	agt	384
Trp	Asp	Ala	Arg	Pro	Pro	Pro	Ala	Ala	Pro	Ser	Phe	Arg	Gln	Val	Ser	
		115					120					125				
tgt	ctc	aaa	gag	ttg	gtt	gct	cgg	gtg	ttg	cag	cgg	ctt	tgt	gaa	agg	432
Cys	Leu	Lys	Glu	Leu	Val	Ala	Arg	Val	Leu	Gln	Arg	Leu	Cys	Glu	Arg	
	130					135					140					
gga	gca	aag	aac	gtc	ctt	gcc	ttt	ggc	ttc	gct	ttg	ctc	gat	gga	gca	480
Gly	Ala	Lys	Asn	Val	Leu	Ala	Phe	Gly	Phe	Ala	Leu	Leu	Asp	Gly	Ala	
145					150				155						160	
cgc	gga	ggc	cct	cct	gag	gca	ttc	act	act	agc	gtc	cgg	tcc	tac	ctg	528
Arg	Gly	Gly	Pro	Pro	Glu	Ala	Phe	Thr	Thr	Ser	Val	Arg	Ser	Tyr	Leu	
				165					170					175		
ccc	aac	aca	gtg	acc	gac	gct	ctg	aga	ggt	tca	ggt	gcc	tgg	ggt	ctg	576
Pro	Asn	Thr	Val	Thr	Asp	Ala	Leu	Arg	Gly	Ser	Gly	Ala	Trp	Gly	Leu	
			180					185					190			
ctg	ctg	cgg	agg	gtg	ggt	gat	gat	gtt	ctg	gtt	cac	ctc	ctg	gcc	cgg	624
Leu	Leu	Arg	Arg	Val	Gly	Asp	Asp	Val	Leu	Val	His	Leu	Leu	Ala	Arg	
		195					200					205				
tgt	gcc	ctg	ttc	gtg	ctg	gtg	gct	ccc	tcc	tgc	gca	tac	cag	gtc	tgc	672
Cys	Ala	Leu	Phe	Val	Leu	Val	Ala	Pro	Ser	Cys	Ala	Tyr	Gln	Val	Cys	
	210					215					220					
gga	ccc	cca	ctt	tat	cag	ctc	ggc	gct	gct	act	cag	gcc	cgc	cca	cca	720
Gly	Pro	Pro	Leu	Tyr	Gln	Leu	Gly	Ala	Ala	Thr	Gln	Ala	Arg	Pro	Pro	
225					230					235					240	

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

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

cag gat cct cct cct gag ctt tat ttt gtg aaa gtt gat gtt act ggt	2304
Gln Asp Pro Pro Pro Glu Leu Tyr Phe Val Lys Val Asp Val Thr Gly	
755 760 765	
gct tac gat aca atc cct gag gac cgg ctc acc gag gtg atc gcc tct	2352
Ala Tyr Asp Thr Ile Pro Gln Asp Arg Leu Thr Glu Val Ile Ala Ser	
770 775 780	
att atc aaa ccc gag aac acc tac tgc gtg aga agg tac gcc gtc gtt	2400
Ile Ile Lys Pro Gln Asn Thr Tyr Cys Val Arg Arg Tyr Ala Val Val	
785 790 795 800	
cag aaa gcc gca cac gga cac gtg cgc aaa gct ttc aaa tcc cac gtg	2448
Gln Lys Ala Ala His Gly His Val Arg Lys Ala Phe Lys Ser His Val	
805 810 815	
tct acc ttg aca gac ctc gag cct tat atg cgg gag ttt gtc gca cac	2496
Ser Thr Leu Thr Asp Leu Gln Pro Tyr Met Arg Gln Phe Val Ala His	
820 825 830	
ctg cag gag act agc ccc ttg agg gac gct gtg gtc atc gaa cag tcc	2544
Leu Gln Glu Thr Ser Pro Leu Arg Asp Ala Val Val Ile Glu Gln Ser	
835 840 845	
agc tct ctc aat gag gca tcc tca ggc ctg ttt gat gtg ttc ctg cgc	2592
Ser Ser Leu Asn Glu Ala Ser Ser Gly Leu Phe Asp Val Phe Leu Arg	
850 855 860	
ttt atg tgc cac cac gcc gtg cgg att agg ggc aag tct tac gtg cag	2640
Phe Met Cys His His Ala Val Arg Ile Arg Gly Lys Ser Tyr Val Gln	
865 870 875 880	
tgc cag ggc atc cca gag ggt agc atc ctg agc aca ctg ctg tgt agc	2688
Cys Gln Gly Ile Pro Gln Gly Ser Ile Leu Ser Thr Leu Leu Cys Ser	
885 890 895	
ctg tgc tat ggc gat atg gag aat aaa ttg ttc gcc ggt gcc aaa aca	2736
Leu Cys Tyr Gly Asp Met Glu Asn Lys Leu Phe Ala Gly Ala Lys Thr	
900 905 910	
ttt ttg cgg act ctg gtt agg ggc gtg cca gag tat ggc tgt gtt gtg	2784
Phe Leu Arg Thr Leu Val Arg Gly Val Pro Glu Tyr Gly Cys Val Val	
915 920 925	
aat ttg cgg aaa act gtg gtt aat ttc cca gtg gag gac gaa gct ctc	2832
Asn Leu Arg Lys Thr Val Val Asn Phe Pro Val Glu Asp Glu Ala Leu	
930 935 940	
gga ggc aca gct ttt gtt gag atg cct gcc cac ggc ctg ttc cca tgg	2880
Gly Gly Thr Ala Phe Val Gln Met Pro Ala His Gly Leu Phe Pro Trp	
945 950 955 960	
tgc gga ctg ctg ctc gat acc cgg acc ctc gag gtg cag tcc gat tat	2928
Cys Gly Leu Leu Leu Asp Thr Arg Thr Leu Glu Val Gln Ser Asp Tyr	
965 970 975	
agt tcc tat gca aga aca tca att cgg gct agc ctg act ttc aac agg	2976
Ser Ser Tyr Ala Arg Thr Ser Ile Arg Ala Ser Leu Thr Phe Asn Arg	
980 985 990	
ggc ttc aag gcc ggc cgg aat atg aga agg aaa ctg ttc gga gtg ttg	3024
Gly Phe Lys Ala Gly Arg Asn Met Arg Arg Lys Leu Phe Gly Val Leu	
995 1000 1005	

aga ctt aag tgt cat agt ctt ttt ttg gac ttg cag gtc aat tct	3069
Arg Leu Lys Cys His Ser Leu Phe Leu Asp Leu Gln Val Asn Ser	
1010 1015 1020	
ctc cag aca gtg tgt acc aac att tat aaa atc ctc ttg ctg cag	3114
Leu Gln Thr Val Cys Thr Asn Ile Tyr Lys Ile Leu Leu Leu Gln	
1025 1030 1035	
gct tac aga ttc cat gcc tgc gtc ctg cag ctg cct ttc cac cag	3159
Ala Tyr Arg Phe His Ala Cys Val Leu Gln Leu Pro Phe His Gln	
1040 1045 1050	
cag gtg tgg aaa aac cct acc ttc ttc ctg cgg gtg att agc gac	3204
Gln Val Trp Lys Asn Pro Thr Phe Phe Leu Arg Val Ile Ser Asp	
1055 1060 1065	
acc gcc agt ctt tgc tac tcc atc ttg aaa gca aaa aac gct ggc	3249
Thr Ala Ser Leu Cys Tyr Ser Ile Leu Lys Ala Lys Asn Ala Gly	
1070 1075 1080	
atg agc ttg gga gct aag ggc gcc gct gga cct ctg ccc agt gaa	3294
Met Ser Leu Gly Ala Lys Gly Ala Ala Gly Pro Leu Pro Ser Glu	
1085 1090 1095	
gca gtc cag tgg ctg tgt cat cag gct ttc ctc ctt aaa ctg aca	3339
Ala Val Gln Trp Leu Cys His Gln Ala Phe Leu Leu Lys Leu Thr	
1100 1105 1110	
cgc cac cgc gtg act tac gtc cca ctc ctg ggc tcc ctg aga act	3384
Arg His Arg Val Thr Tyr Val Pro Leu Leu Gly Ser Leu Arg Thr	
1115 1120 1125	
gct cag acc cag ctt tcc cgg aag ctt cca ggc act acc ctt acc	3429
Ala Gln Thr Gln Leu Ser Arg Lys Leu Pro Gly Thr Thr Leu Thr	
1130 1135 1140	
gca ctc gaa gca gcc gcc aac cct gcc ctg ccc tcc gac ttt aag	3474
Ala Leu Glu Ala Ala Ala Asn Pro Ala Leu Pro Ser Asp Phe Lys	
1145 1150 1155	
act atc ctg gac ggc aag cca att cct aat cca ttg ctg ggc ctg	3519
Thr Ile Leu Asp Gly Lys Pro Ile Pro Asn Pro Leu Leu Gly Leu	
1160 1165 1170	
gac tca act tga	3531
Asp Ser Thr	
1175	

<210> 18
 <211> 1176
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> Synthetic Construct

<400> 18

Met	Gln	Ile	Phe	Val	Lys	Thr	Leu	Thr	Gly	Lys	Thr	Ile	Thr	Leu	Glu
1				5					10					15	

Val Glu Pro Ser Asp Thr Ile Glu Asn Val Lys Ala Lys Ile Gln Asp

20

25

30

Lys Glu Gly Ile Pro Pro Asp Gln Gln Arg Leu Ile Phe Ala Gly Lys
 35 40 45

Gln Leu Glu Asp Gly Arg Thr Leu Ser Asp Tyr Asn Ile Gln Lys Glu
 50 55 60

Ser Thr Leu His Leu Val Leu Arg Leu Arg Gly Gly Leu Ala Thr Phe
 65 70 75 80

Val Arg Arg Leu Gly Pro Gln Gly Trp Arg Leu Val Gln Arg Gly Asp
 85 90 95

Pro Ala Ala Phe Arg Ala Leu Val Ala Gln Cys Leu Val Cys Val Pro
 100 105 110

Trp Asp Ala Arg Pro Pro Pro Ala Ala Pro Ser Phe Arg Gln Val Ser
 115 120 125

Cys Leu Lys Glu Leu Val Ala Arg Val Leu Gln Arg Leu Cys Glu Arg
 130 135 140

Gly Ala Lys Asn Val Leu Ala Phe Gly Phe Ala Leu Leu Asp Gly Ala
 145 150 155 160

Arg Gly Gly Pro Pro Glu Ala Phe Thr Thr Ser Val Arg Ser Tyr Leu
 165 170 175

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

Leu Leu Arg Arg Val Gly Asp Asp Val Leu Val His Leu Leu Ala Arg
 195 200 205

Cys Ala Leu Phe Val Leu Val Ala Pro Ser Cys Ala Tyr Gln Val Cys
 210 215 220

Gly Pro Pro Leu Tyr Gln Leu Gly Ala Ala Thr Gln Ala Arg Pro Pro
 225 230 235 240

Pro His Ala Ser Gly Pro Arg Arg Arg Leu Gly Cys Glu Arg Ala Trp
 245 250 255

Asn His Ser Val Arg Glu Ala Gly Val Pro Leu Gly Leu Pro Ala Pro
 260 265 270

Gly Ala Arg Arg Arg Gly Gly Ser Ala Ser Arg Ser Leu Pro Leu Pro

275

280

285

Lys Arg Pro Arg Arg Gly Ala Ala Pro Glu Pro Glu Arg Thr Pro Val
 290 295 300

Gly Gln Gly Ser Trp Ala His Pro Gly Arg Thr Arg Gly Pro Ser Asp
 305 310 315 320

Arg Gly Phe Cys Val Val Ser Pro Ala Arg Pro Ala Glu Glu Ala Thr
 325 330 335

Ser Leu Glu Gly Ala Leu Ser Gly Thr Arg His Ser His Pro Ser Val
 340 345 350

Gly Arg Gln His His Ala Gly Pro Pro Ser Thr Ser Arg Pro Pro Arg
 355 360 365

Pro Trp Asp Thr Pro Cys Pro Pro Val Tyr Ala Glu Thr Lys His Phe
 370 375 380

Leu Tyr Ser Ser Gly Asp Lys Glu Gln Leu Arg Pro Ser Phe Leu Leu
 385 390 395 400

Ser Ser Leu Arg Pro Ser Leu Thr Gly Ala Arg Arg Leu Val Glu Thr
 405 410 415

Ile Phe Leu Gly Ser Arg Pro Trp Met Pro Gly Thr Pro Arg Arg Leu
 420 425 430

Pro Arg Leu Pro Gln Arg Tyr Trp Gln Met Arg Pro Leu Phe Leu Glu
 435 440 445

Leu Leu Gly Asn His Ala Gln Cys Pro Tyr Gly Val Leu Leu Lys Thr
 450 455 460

His Cys Pro Leu Arg Ala Ala Val Thr Pro Ala Ala Gly Val Cys Ala
 465 470 475 480

Arg Glu Lys Pro Gln Gly Ser Val Ala Ala Pro Glu Glu Glu Asp Thr
 485 490 495

Asp Pro Arg Arg Leu Val Gln Leu Leu Arg Gln His Ser Ser Pro Trp
 500 505 510

Gln Val Tyr Gly Phe Val Arg Ala Cys Leu Arg Arg Leu Val Pro Pro
 515 520 525

Gly Leu Trp Gly Ser Arg His Asn Glu Arg Arg Phe Leu Arg Asn Thr

530						535						540					
Lys	Lys	Phe	Ile	Ser	Leu	Gly	Lys	His	Ala	Lys	Leu	Ser	Leu	Gln	Glu		
545					550					555					560		
Leu	Thr	Trp	Lys	Met	Ser	Val	Arg	Gly	Cys	Ala	Trp	Leu	Arg	Arg	Ser		
				565					570					575			
Pro	Gly	Val	Gly	Cys	Val	Pro	Ala	Ala	Glu	His	Arg	Leu	Arg	Glu	Glu		
			580					585					590				
Ile	Leu	Ala	Lys	Phe	Leu	His	Trp	Leu	Met	Ser	Val	Tyr	Val	Val	Glu		
		595					600					605					
Leu	Leu	Arg	Ser	Phe	Phe	Tyr	Val	Thr	Glu	Thr	Thr	Phe	Gln	Lys	Asn		
	610					615					620						
Arg	Leu	Phe	Phe	Tyr	Arg	Lys	Ser	Val	Trp	Ser	Lys	Leu	Gln	Ser	Ile		
625					630					635					640		
Gly	Ile	Arg	Gln	His	Leu	Lys	Arg	Val	Gln	Leu	Arg	Glu	Leu	Ser	Glu		
				645					650					655			
Ala	Glu	Val	Arg	Gln	His	Arg	Glu	Ala	Arg	Pro	Ala	Leu	Leu	Thr	Ser		
			660					665					670				
Arg	Leu	Arg	Phe	Ile	Pro	Lys	Pro	Asp	Gly	Leu	Arg	Pro	Ile	Val	Asn		
		675					680					685					
Met	Asp	Tyr	Val	Val	Gly	Ala	Arg	Thr	Phe	Arg	Arg	Glu	Lys	Arg	Ala		
	690					695					700						
Glu	Arg	Leu	Thr	Ser	Arg	Val	Lys	Ala	Leu	Phe	Ser	Val	Leu	Asn	Tyr		
705					710					715					720		
Glu	Arg	Ala	Arg	Arg	Pro	Gly	Leu	Leu	Gly	Ala	Ser	Val	Leu	Gly	Leu		
				725					730					735			
Asp	Asp	Ile	His	Arg	Ala	Trp	Arg	Thr	Phe	Val	Leu	Arg	Val	Arg	Ala		
			740					745					750				
Gln	Asp	Pro	Pro	Pro	Glu	Leu	Tyr	Phe	Val	Lys	Val	Asp	Val	Thr	Gly		
		755					760					765					
Ala	Tyr	Asp	Thr	Ile	Pro	Gln	Asp	Arg	Leu	Thr	Glu	Val	Ile	Ala	Ser		
	770					775					780						
Ile	Ile	Lys	Pro	Gln	Asn	Thr	Tyr	Cys	Val	Arg	Arg	Tyr	Ala	Val	Val		

785		790		795		800
Gln Lys Ala Ala	His Gly His Val Arg	Lys Ala Phe Lys Ser	His Val			
	805	810	815			
Ser Thr Leu Thr	Asp Leu Gln Pro Tyr Met Arg Gln Phe	Val Ala His				
	820	825	830			
Leu Gln Glu Thr	Ser Pro Leu Arg Asp Ala Val Val	Ile Glu Gln Ser				
	835	840	845			
Ser Ser Leu Asn Glu Ala	Ser Ser Gly Leu Phe Asp Val Phe Leu Arg					
	850	855	860			
Phe Met Cys His His	Ala Val Arg Ile Arg Gly Lys Ser Tyr Val Gln					
	865	870	875			880
Cys Gln Gly Ile	Pro Gln Gly Ser Ile Leu Ser Thr Leu Leu Cys Ser					
	885	890	895			
Leu Cys Tyr Gly	Asp Met Glu Asn Lys Leu Phe Ala Gly Ala Lys Thr					
	900	905	910			
Phe Leu Arg Thr	Leu Val Arg Gly Val Pro Glu Tyr Gly Cys Val Val					
	915	920	925			
Asn Leu Arg Lys Thr	Val Val Asn Phe Pro Val Glu Asp Glu Ala Leu					
	930	935	940			
Gly Gly Thr Ala Phe	Val Gln Met Pro Ala His Gly Leu Phe Pro Trp					
	945	950	955			960
Cys Gly Leu Leu	Leu Asp Thr Arg Thr Leu Glu Val Gln Ser Asp Tyr					
	965	970	975			
Ser Ser Tyr Ala Arg Thr	Ser Ile Arg Ala Ser Leu Thr Phe Asn Arg					
	980	985	990			
Gly Phe Lys Ala Gly Arg	Asn Met Arg Arg Lys Leu Phe Gly Val Leu					
	995	1000	1005			
Arg Leu Lys Cys His Ser	Leu Phe Leu Asp Leu Gln Val Asn Ser					
	1010	1015	1020			
Leu Gln Thr Val Cys Thr	Asn Ile Tyr Lys Ile Leu Leu Leu Gln					
	1025	1030	1035			
Ala Tyr Arg Phe His Ala Cys	Val Leu Gln Leu Pro Phe His Gln					

1040		1045		1050
Gln Val Trp Lys Asn Pro Thr Phe Phe Leu Arg Val Ile Ser Asp				
1055		1060		1065
Thr Ala Ser Leu Cys Tyr Ser Ile Leu Lys Ala Lys Asn Ala Gly				
1070		1075		1080
Met Ser Leu Gly Ala Lys Gly Ala Ala Gly Pro Leu Pro Ser Glu				
1085		1090		1095
Ala Val Gln Trp Leu Cys His Gln Ala Phe Leu Leu Lys Leu Thr				
1100		1105		1110
Arg His Arg Val Thr Tyr Val Pro Leu Leu Gly Ser Leu Arg Thr				
1115		1120		1125
Ala Gln Thr Gln Leu Ser Arg Lys Leu Pro Gly Thr Thr Leu Thr				
1130		1135		1140
Ala Leu Glu Ala Ala Ala Asn Pro Ala Leu Pro Ser Asp Phe Lys				
1145		1150		1155
Thr Ile Leu Asp Gly Lys Pro Ile Pro Asn Pro Leu Leu Gly Leu				
1160		1165		1170
Asp Ser Thr				
1175				

<210> 19
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 19

Asp Gly Leu Leu Leu Arg Leu
 1 5

<210> 20
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 20

Phe Leu Leu Val Thr Pro His
 1 5

<210> 21
 <211> 10
 <212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 21

Asp Gly Leu Leu Leu Arg Leu Val Asp Asp
1 5 10

<210> 22

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 22

Val Asp Asp Phe Leu Leu Val Thr Pro His
1 5 10

<210> 23

<211> 30

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> restriction site

<400> 23

gtcgacaagc ttcccggtc tagaagatct 30

<210> 24

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> primer

<400> 24

gcttttctgc caggtgctga 20

<210> 25

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> primer

<400> 25

gccagaagtc agatgctcaa 20

<210> 26

<211> 23

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 26

Ile Arg Arg Asp Gly Leu Leu Leu Arg Leu Val Asp Asp Phe Leu Leu
1 5 10 15

Val Thr Pro His Leu Thr His
20

<210> 27
<211> 20
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> primer

<400> 27
cggtgggagg tctatataag 20

<210> 28
<211> 18
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> primer

<400> 28
caggggtcaag gaaggcac 18

<210> 29
<211> 10
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 29

Arg Pro Ser Leu Thr Gly Ala Arg Arg Leu
1 5 10

<210> 30
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 30

Arg Pro Ala Glu Glu Ala Thr Ser Leu
1 5

<210> 31
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 31

Leu Pro Ser Asp Phe Lys Thr Ile Leu
1 5

<210> 32

<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 32

Ile Leu Ala Lys Phe Leu His Trp Leu
1 5

<210> 33
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 33

Tyr Leu Phe Phe Tyr Arg Lys Ser Val
1 5

<210> 34
<211> 10
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 34

Tyr Leu Gln Val Asn Ser Leu Gln Thr Val
1 5 10

<210> 35
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 35

Ser Val Trp Ser Lys Leu Gln Ser Ile
1 5

<210> 36
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 36

Ser Leu Cys Tyr Ser Ile Leu Lys Ala
1 5

<210> 37
<211> 15
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 37

Lys Ser Val Trp Ser Lys Leu Gln Ser Ile Gly Ile Arg Gln His
1 5 10 15

<210> 38
<211> 15
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 38

Gly Thr Ala Phe Val Gln Met Pro Ala His Gly Leu Phe Pro Trp
1 5 10 15

<210> 39
<211> 15
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 39

Ser Leu Cys Tyr Ser Ile Leu Lys Ala Lys Asn Ala Gly Met Ser
1 5 10 15

<210> 40
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 40

Arg Pro Ile Val Asn Met Asp Tyr Val
1 5

<210> 41
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 41

His Ala Gln Cys Pro Tyr Gly Val Leu
1 5

<210> 42
<211> 10
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 42

Gln Ala Tyr Arg Phe His Ala Cys Val Leu
1 5 10

<210> 43
<211> 11
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 43

Gln Thr Val Cys Thr Ile Asn Ile Tyr Lys Ile

1	5	10	
<210>	44		
<211>	20		
<212>	DNA		
<213>	Artificial		
<220>			
<223>	primer		
<400>	44		
ggcaagtcct acgtccagtg			20
<210>	45		
<211>	3591		
<212>	DNA		
<213>	Artificial Sequence		
<220>			
<223>	Ubi-hTERT fusion optimized sequence		
<220>			
<221>	CDS		
<222>	(1)..(3591)		
<400>	45		
atg cag att ttc gtc aaa aca ttg aca gga aag acc atc aca ctg gaa			48
Met Gln Ile Phe Val Lys Thr Leu Thr Gly Lys Thr Ile Thr Leu Glu			
1 5 10 15			
gtg gag cca agc gac act att gag aac gtc aaa gcc aag att cag gac			96
Val Glu Pro Ser Asp Thr Ile Glu Asn Val Lys Ala Lys Ile Gln Asp			
20 25 30			
aag gag ggc atc cca cca gac cag cag agg ctg att ttt gcc gga aag			144
Lys Glu Gly Ile Pro Pro Asp Gln Gln Arg Leu Ile Phe Ala Gly Lys			
35 40 45			
cag ctg gag gac gga cgc aca ctc agt gac tac aat atc cag aag gaa			192
Gln Leu Glu Asp Gly Arg Thr Leu Ser Asp Tyr Asn Ile Gln Lys Glu			
50 55 60			
agt act ctg cat ctg gtc ctt cgc ctg cgc ggc gga ctg gcc acc ttc			240
Ser Thr Leu His Leu Val Leu Arg Leu Arg Gly Gly Leu Ala Thr Phe			
65 70 75 80			
gtg cgg cgc ctg gga ccc cag ggc tgg cgg ctg gtg cag cgc ggg gac			288
Val Arg Arg Leu Gly Pro Gln Gly Trp Arg Leu Val Gln Arg Gly Asp			
85 90 95			
cct gct gct ttc aga gct ctc gtc gcc cag tgt ctg gtc tgc gtt cct			336
Pro Ala Ala Phe Arg Ala Leu Val Ala Gln Cys Leu Val Cys Val Pro			
100 105 110			
tgg gac gca cgg ccc cca ccc gcc gcc ccc agt ttc cgg cag gtg agt			384
Trp Asp Ala Arg Pro Pro Pro Ala Ala Pro Ser Phe Arg Gln Val Ser			
115 120 125			
tgt ctc aaa gag ttg gtt gct cgg gtg ttg cag cgg ctt tgt gaa agg			432
Cys Leu Lys Glu Leu Val Ala Arg Val Leu Gln Arg Leu Cys Glu Arg			
130 135 140			

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

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

gct gaa gtc cgc cag cac cgc gaa gct cgc ccc gcc ctc ctg acc tct Ala Glu Val Arg Gln His Arg Glu Ala Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser 660 665 670	2016
cgg ctg cgg ttt att ccc aaa ccc gat ggc ctt aga cct atc gtg aat Arg Leu Arg Phe Ile Pro Lys Pro Asp Gly Leu Arg Pro Ile Val Asn 675 680 685	2064
atg gat tac gtc gtg ggt gcc cgc act ttc aga agg gag aag cgc gcc Met Asp Tyr Val Val Gly Ala Arg Thr Phe Arg Arg Glu Lys Arg Ala 690 695 700	2112
gag aga ctg aca tct cgc gtg aag gca ctt ttt tct gtg ctt aat tat Glu Arg Leu Thr Ser Arg Val Lys Ala Leu Phe Ser Val Leu Asn Tyr 705 710 715 720	2160
gaa aga gcc cgc aga cct ggt ctt ctc gga gcc agc gtg ctc ggc ctg Glu Arg Ala Arg Arg Pro Gly Leu Leu Gly Ala Ser Val Leu Gly Leu 725 730 735	2208
gat gat atc cat cgg gct tgg cgc acc ttt gtg ctt cgg gtg agg gca Asp Asp Ile His Arg Ala Trp Arg Thr Phe Val Leu Arg Val Arg Ala 740 745 750	2256
cag gat cct cct cct gag ctt tat ttt gtg aaa gtt gat gtt act ggt Gln Asp Pro Pro Pro Glu Leu Tyr Phe Val Lys Val Asp Val Thr Gly 755 760 765	2304
gct tac gat aca atc cct cag gac cgg ctc acc gag gtg atc gcc tct Ala Tyr Asp Thr Ile Pro Gln Asp Arg Leu Thr Glu Val Ile Ala Ser 770 775 780	2352
att atc aaa ccc cag aac acc tac tgc gtg aga agg tac gcc gtc gtt Ile Ile Lys Pro Gln Asn Thr Tyr Cys Val Arg Arg Tyr Ala Val Val 785 790 795 800	2400
cag aaa gcc gca cac gga cac gtg cgc aaa gct ttc aaa tcc cac gtg Gln Lys Ala Ala His Gly His Val Arg Lys Ala Phe Lys Ser His Val 805 810 815	2448
tct acc ttg aca gac ctc cag cct tat atg cgg cag ttt gtc gca cac Ser Thr Leu Thr Asp Leu Gln Pro Tyr Met Arg Gln Phe Val Ala His 820 825 830	2496
ctg cag gag act agc ccc ttg agg gac gct gtg gtc atc gaa cag tcc Leu Gln Glu Thr Ser Pro Leu Arg Asp Ala Val Val Ile Glu Gln Ser 835 840 845	2544
agc tct ctc aat gag gca tcc tca ggc ctg ttt gat gtg ttc ctg cgc Ser Ser Leu Asn Glu Ala Ser Ser Gly Leu Phe Asp Val Phe Leu Arg 850 855 860	2592
ttt atg tgc cac cac gcc gtg cgg att agg ggc aag tct tac gtg cag Phe Met Cys His His Ala Val Arg Ile Arg Gly Lys Ser Tyr Val Gln 865 870 875 880	2640
tgc cag ggc atc cca cag ggt agc atc ctg agc aca ctg ctg tgt agc Cys Gln Gly Ile Pro Gln Gly Ser Ile Leu Ser Thr Leu Leu Cys Ser 885 890 895	2688
ctg tgc tat ggc gat atg gag aat aaa ttg ttc gcc ggt atc aga aga Leu Cys Tyr Gly Asp Met Glu Asn Lys Leu Phe Ala Gly Ile Arg Arg 900 905 910	2736

gac ggt ttg ctc ctg agg ctg ttc ctg ctg gtt acc ccc cat ctg act	2784
Asp Gly Leu Leu Leu Arg Leu Phe Leu Leu Val Thr Pro His Leu Thr	
915 920 925	
cat gcc aaa aca ttt ttg cgg act ctg gtt agg ggc gtg cca gag tat	2832
His Ala Lys Thr Phe Leu Arg Thr Leu Val Arg Gly Val Pro Glu Tyr	
930 935 940	
ggc tgt gtt gtg aat ttg cgg aaa act gtg gtt aat ttc cca gtg gag	2880
Gly Cys Val Val Asn Leu Arg Lys Thr Val Val Asn Phe Pro Val Glu	
945 950 955 960	
gac gaa gct ctc gga ggc aca gct ttt gtt cag atg cct gcc cac ggc	2928
Asp Glu Ala Leu Gly Gly Thr Ala Phe Val Gln Met Pro Ala His Gly	
965 970 975	
ctg ttc cca tgg tgc gga ctg ctg ctc gat acc cgg acc ctc gag gtg	2976
Leu Phe Pro Trp Cys Gly Leu Leu Leu Asp Thr Arg Thr Leu Glu Val	
980 985 990	
cag tcc gat tat agt tcc tat gca aga aca tca att cgg gct agc ctg	3024
Gln Ser Asp Tyr Ser Ser Tyr Ala Arg Thr Ser Ile Arg Ala Ser Leu	
995 1000 1005	
act ttc aac agg ggc ttc aag gcc ggc cgg aat atg aga agg aaa	3069
Thr Phe Asn Arg Gly Phe Lys Ala Gly Arg Asn Met Arg Arg Lys	
1010 1015 1020	
ctg ttc gga gtg ttg aga ctt aag tgt cat agt ctt ttt ttg gac	3114
Leu Phe Gly Val Leu Arg Leu Lys Cys His Ser Leu Phe Leu Asp	
1025 1030 1035	
ttg cag gtc aat tct ctc cag aca gtg tgt acc aac att tat aaa	3159
Leu Gln Val Asn Ser Leu Gln Thr Val Cys Thr Asn Ile Tyr Lys	
1040 1045 1050	
atc ctc ttg ctg cag gct tac aga ttc cat gcc tgc gtc ctg cag	3204
Ile Leu Leu Leu Gln Ala Tyr Arg Phe His Ala Cys Val Leu Gln	
1055 1060 1065	
ctg cct ttc cac cag cag gtg tgg aaa aac cct acc ttc ttc ctg	3249
Leu Pro Phe His Gln Gln Val Trp Lys Asn Pro Thr Phe Phe Leu	
1070 1075 1080	
cgg gtg att agc gac acc gcc agt ctt tgc tac tcc atc ttg aaa	3294
Arg Val Ile Ser Asp Thr Ala Ser Leu Cys Tyr Ser Ile Leu Lys	
1085 1090 1095	
gca aaa aac gct ggc atg agc ttg gga gct aag ggc gcc gct gga	3339
Ala Lys Asn Ala Gly Met Ser Leu Gly Ala Lys Gly Ala Ala Gly	
1100 1105 1110	
cct ctg ccc agt gaa gca gtc cag tgg ctg tgt cat cag gct ttc	3384
Pro Leu Pro Ser Glu Ala Val Gln Trp Leu Cys His Gln Ala Phe	
1115 1120 1125	
ctc ctt aaa ctg aca cgc cac cgc gtg act tac gtc cca ctc ctg	3429
Leu Leu Lys Leu Thr Arg His Arg Val Thr Tyr Val Pro Leu Leu	
1130 1135 1140	
ggc tcc ctg aga act gct cag acc cag ctt tcc cgg aag ctt cca	3474
Gly Ser Leu Arg Thr Ala Gln Thr Gln Leu Ser Arg Lys Leu Pro	
1145 1150 1155	

ggc act acc ctt acc gca ctc gaa gca gcc gcc aac cct gcc ctg	3519
Gly Thr Thr Leu Thr Ala Leu Glu Ala Ala Ala Asn Pro Ala Leu	
1160 1165 1170	

ccc tcc gac ttt aag act atc ctg gac ggc aag cca att cct aat	3564
Pro Ser Asp Phe Lys Thr Ile Leu Asp Gly Lys Pro Ile Pro Asn	
1175 1180 1185	

cca ttg ctg ggc ctg gac tca act tga	3591
Pro Leu Leu Gly Leu Asp Ser Thr	
1190 1195	

<210> 46
 <211> 1196
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Synthetic Construct

<400> 46

Met Gln Ile Phe Val Lys Thr Leu Thr Gly Lys Thr Ile Thr Leu Glu
1 5 10 15

Val Glu Pro Ser Asp Thr Ile Glu Asn Val Lys Ala Lys Ile Gln Asp
20 25 30

Lys Glu Gly Ile Pro Pro Asp Gln Gln Arg Leu Ile Phe Ala Gly Lys
35 40 45

Gln Leu Glu Asp Gly Arg Thr Leu Ser Asp Tyr Asn Ile Gln Lys Glu
50 55 60

Ser Thr Leu His Leu Val Leu Arg Leu Arg Gly Gly Leu Ala Thr Phe
65 70 75 80

Val Arg Arg Leu Gly Pro Gln Gly Trp Arg Leu Val Gln Arg Gly Asp
85 90 95

Pro Ala Ala Phe Arg Ala Leu Val Ala Gln Cys Leu Val Cys Val Pro
100 105 110

Trp Asp Ala Arg Pro Pro Pro Ala Ala Pro Ser Phe Arg Gln Val Ser
115 120 125

Cys Leu Lys Glu Leu Val Ala Arg Val Leu Gln Arg Leu Cys Glu Arg
130 135 140

Gly Ala Lys Asn Val Leu Ala Phe Gly Phe Ala Leu Leu Asp Gly Ala
145 150 155 160

Arg Gly Gly Pro Pro Glu Ala Phe Thr Thr Ser Val Arg Ser Tyr Leu
 165 170 175

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

Leu Leu Arg Arg Val Gly Asp Asp Val Leu Val His Leu Leu Ala Arg
 195 200 205

Cys Ala Leu Phe Val Leu Val Ala Pro Ser Cys Ala Tyr Gln Val Cys
 210 215 220

Gly Pro Pro Leu Tyr Gln Leu Gly Ala Ala Thr Gln Ala Arg Pro Pro
 225 230 235 240

Pro His Ala Ser Gly Pro Arg Arg Arg Leu Gly Cys Glu Arg Ala Trp
 245 250 255

Asn His Ser Val Arg Glu Ala Gly Val Pro Leu Gly Leu Pro Ala Pro
 260 265 270

Gly Ala Arg Arg Arg Gly Gly Ser Ala Ser Arg Ser Leu Pro Leu Pro
 275 280 285

Lys Arg Pro Arg Arg Gly Ala Ala Pro Glu Pro Glu Arg Thr Pro Val
 290 295 300

Gly Gln Gly Ser Trp Ala His Pro Gly Arg Thr Arg Gly Pro Ser Asp
 305 310 315 320

Arg Gly Phe Cys Val Val Ser Pro Ala Arg Pro Ala Glu Glu Ala Thr
 325 330 335

Ser Leu Glu Gly Ala Leu Ser Gly Thr Arg His Ser His Pro Ser Val
 340 345 350

Gly Arg Gln His His Ala Gly Pro Pro Ser Thr Ser Arg Pro Pro Arg
 355 360 365

Pro Trp Asp Thr Pro Cys Pro Pro Val Tyr Ala Glu Thr Lys His Phe
 370 375 380

Leu Tyr Ser Ser Gly Asp Lys Glu Gln Leu Arg Pro Ser Phe Leu Leu
 385 390 395 400

Ser Ser Leu Arg Pro Ser Leu Thr Gly Ala Arg Arg Leu Val Glu Thr
 405 410 415

Ile Phe Leu Gly Ser Arg Pro Trp Met Pro Gly Thr Pro Arg Arg Leu
 420 425 430

Pro Arg Leu Pro Gln Arg Tyr Trp Gln Met Arg Pro Leu Phe Leu Glu
 435 440 445

Leu Leu Gly Asn His Ala Gln Cys Pro Tyr Gly Val Leu Leu Lys Thr
 450 455 460

His Cys Pro Leu Arg Ala Ala Val Thr Pro Ala Ala Gly Val Cys Ala
 465 470 475 480

Arg Glu Lys Pro Gln Gly Ser Val Ala Ala Pro Glu Glu Glu Asp Thr
 485 490 495

Asp Pro Arg Arg Leu Val Gln Leu Leu Arg Gln His Ser Ser Pro Trp
 500 505 510

Gln Val Tyr Gly Phe Val Arg Ala Cys Leu Arg Arg Leu Val Pro Pro
 515 520 525

Gly Leu Trp Gly Ser Arg His Asn Glu Arg Arg Phe Leu Arg Asn Thr
 530 535 540

Lys Lys Phe Ile Ser Leu Gly Lys His Ala Lys Leu Ser Leu Gln Glu
 545 550 555 560

Leu Thr Trp Lys Met Ser Val Arg Gly Cys Ala Trp Leu Arg Arg Ser
 565 570 575

Pro Gly Val Gly Cys Val Pro Ala Ala Glu His Arg Leu Arg Glu Glu
 580 585 590

Ile Leu Ala Lys Phe Leu His Trp Leu Met Ser Val Tyr Val Val Glu
 595 600 605

Leu Leu Arg Ser Phe Phe Tyr Val Thr Glu Thr Thr Phe Gln Lys Asn
 610 615 620

Arg Leu Phe Phe Tyr Arg Lys Ser Val Trp Ser Lys Leu Gln Ser Ile
 625 630 635 640

Gly Ile Arg Gln His Leu Lys Arg Val Gln Leu Arg Glu Leu Ser Glu
 645 650 655

Ala Glu Val Arg Gln His Arg Glu Ala Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser
 660 665 670

Arg Leu Arg Phe Ile Pro Lys Pro Asp Gly Leu Arg Pro Ile Val Asn
 675 680 685

Met Asp Tyr Val Val Gly Ala Arg Thr Phe Arg Arg Glu Lys Arg Ala
 690 695 700

Glu Arg Leu Thr Ser Arg Val Lys Ala Leu Phe Ser Val Leu Asn Tyr
 705 710 715 720

Glu Arg Ala Arg Arg Pro Gly Leu Leu Gly Ala Ser Val Leu Gly Leu
 725 730 735

Asp Asp Ile His Arg Ala Trp Arg Thr Phe Val Leu Arg Val Arg Ala
 740 745 750

Gln Asp Pro Pro Pro Glu Leu Tyr Phe Val Lys Val Asp Val Thr Gly
 755 760 765

Ala Tyr Asp Thr Ile Pro Gln Asp Arg Leu Thr Glu Val Ile Ala Ser
 770 775 780

Ile Ile Lys Pro Gln Asn Thr Tyr Cys Val Arg Arg Tyr Ala Val Val
 785 790 795 800

Gln Lys Ala Ala His Gly His Val Arg Lys Ala Phe Lys Ser His Val
 805 810 815

Ser Thr Leu Thr Asp Leu Gln Pro Tyr Met Arg Gln Phe Val Ala His
 820 825 830

Leu Gln Glu Thr Ser Pro Leu Arg Asp Ala Val Val Ile Glu Gln Ser
 835 840 845

Ser Ser Leu Asn Glu Ala Ser Ser Gly Leu Phe Asp Val Phe Leu Arg
 850 855 860

Phe Met Cys His His Ala Val Arg Ile Arg Gly Lys Ser Tyr Val Gln
 865 870 875 880

Cys Gln Gly Ile Pro Gln Gly Ser Ile Leu Ser Thr Leu Leu Cys Ser
 885 890 895

Leu Cys Tyr Gly Asp Met Glu Asn Lys Leu Phe Ala Gly Ile Arg Arg
 900 905 910

Asp Gly Leu Leu Leu Arg Leu Phe Leu Leu Val Thr Pro His Leu Thr
 915 920 925

His Ala Lys Thr Phe Leu Arg Thr Leu Val Arg Gly Val Pro Glu Tyr
 930 935 940

Gly Cys Val Val Asn Leu Arg Lys Thr Val Val Asn Phe Pro Val Glu
 945 950 955 960

Asp Glu Ala Leu Gly Gly Thr Ala Phe Val Gln Met Pro Ala His Gly
 965 970 975

Leu Phe Pro Trp Cys Gly Leu Leu Leu Asp Thr Arg Thr Leu Glu Val
 980 985 990

Gln Ser Asp Tyr Ser Ser Tyr Ala Arg Thr Ser Ile Arg Ala Ser Leu
 995 1000 1005

Thr Phe Asn Arg Gly Phe Lys Ala Gly Arg Asn Met Arg Arg Lys
 1010 1015 1020

Leu Phe Gly Val Leu Arg Leu Lys Cys His Ser Leu Phe Leu Asp
 1025 1030 1035

Leu Gln Val Asn Ser Leu Gln Thr Val Cys Thr Asn Ile Tyr Lys
 1040 1045 1050

Ile Leu Leu Leu Gln Ala Tyr Arg Phe His Ala Cys Val Leu Gln
 1055 1060 1065

Leu Pro Phe His Gln Gln Val Trp Lys Asn Pro Thr Phe Phe Leu
 1070 1075 1080

Arg Val Ile Ser Asp Thr Ala Ser Leu Cys Tyr Ser Ile Leu Lys
 1085 1090 1095

Ala Lys Asn Ala Gly Met Ser Leu Gly Ala Lys Gly Ala Ala Gly
 1100 1105 1110

Pro Leu Pro Ser Glu Ala Val Gln Trp Leu Cys His Gln Ala Phe
 1115 1120 1125

Leu Leu Lys Leu Thr Arg His Arg Val Thr Tyr Val Pro Leu Leu
 1130 1135 1140

Gly Ser Leu Arg Thr Ala Gln Thr Gln Leu Ser Arg Lys Leu Pro
 1145 1150 1155

Gly Thr Thr Leu Thr Ala Leu Glu Ala Ala Ala Asn Pro Ala Leu
 1160 1165 1170

Pro Ser Asp Phe Lys Thr Ile Leu Asp Gly Lys Pro Ile Pro Asn
 1175 1180 1185

Pro Leu Leu Gly Leu Asp Ser Thr
 1190 1195

<210> 47
 <211> 3555
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> pUTScram insert

<220>
 <221> CDS
 <222> (1)..(3555)

<400> 47
 atg cag att ttc gtc aaa aca ttg aca gga aag acc atc aca ctg gaa 48
 Met Gln Ile Phe Val Lys Thr Leu Thr Gly Lys Thr Ile Thr Leu Glu
 1 5 10 15
 gtg gag cca agc gac act att gag aac gtc aaa gcc aag att cag gac 96
 Val Glu Pro Ser Asp Thr Ile Glu Asn Val Lys Ala Lys Ile Gln Asp
 20 25 30
 aag gag ggc atc cca cca gac cag cag agg ctg att ttt gcc gga aag 144
 Lys Glu Gly Ile Pro Pro Asp Gln Gln Arg Leu Ile Phe Ala Gly Lys
 35 40 45
 cag ctg gag gac gga cgc aca ctc agt gac tac aat atc cag aag gaa 192
 Gln Leu Glu Asp Gly Arg Thr Leu Ser Asp Tyr Asn Ile Gln Lys Glu
 50 55 60
 agt act ctg cat ctg gtc ctt cgc ctg cgc ggc gga ggt gga ggt gga 240
 Ser Thr Leu His Leu Val Leu Arg Leu Arg Gly Gly Gly Gly Gly Gly
 65 70 75 80
 tgc gtt cca gca gca gag cac agg ctg cgc gaa gag att ctc gca aag 288
 Cys Val Pro Ala Ala Glu His Arg Leu Arg Glu Glu Ile Leu Ala Lys
 85 90 95
 ttc ctg cac tgg ctt atg agc gtc tac gtg gtc gaa ctg ctg cgg tct 336
 Phe Leu His Trp Leu Met Ser Val Tyr Val Val Glu Leu Leu Arg Ser
 100 105 110
 ttc ttc tac gtg aca gag acc act ttt cag aag aac aga ctg ttc ttc 384
 Phe Phe Tyr Val Thr Glu Thr Thr Phe Gln Lys Asn Arg Leu Phe Phe
 115 120 125
 tac agg aag tcc gtc tgg agc aag ctc cag agt att ggt att aga cag 432
 Tyr Arg Lys Ser Val Trp Ser Lys Leu Gln Ser Ile Gly Ile Arg Gln
 130 135 140
 cac ctt aag aga gtt cag gga ggt ggt gga ggt gga ttc act act agc 480
 His Leu Lys Arg Val Gln Gly Gly Gly Gly Gly Gly Phe Thr Thr Ser
 145 150 155 160
 gtc cgg tcc tac ctg ccc aac aca gtg acc gac gct ctg aga ggt tca 528
 Val Arg Ser Tyr Leu Pro Asn Thr Val Thr Asp Ala Leu Arg Gly Ser

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

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

675					680					685						
gtg	ttg	cag	cgg	ctt	tgt	gaa	agg	gga	gca	aag	aac	gtc	ctt	gcc	ttt	2112
Val	Leu	Gln	Arg	Leu	Cys	Glu	Arg	Gly	Ala	Lys	Asn	Val	Leu	Ala	Phe	
690					695					700						
ggc	ttc	gct	ttg	ctc	gat	gga	gca	cgc	gga	gga	ggg	ggg	gga	ggg	gga	2160
Gly	Phe	Ala	Leu	Leu	Asp	Gly	Ala	Arg	Gly	Gly	Gly	Gly	Gly	Gly	Gly	
705					710					715					720	
aga	gag	ctg	tcc	gaa	gct	gaa	gtc	cgc	cag	cac	cgc	gaa	gct	cgc	ccc	2208
Arg	Glu	Leu	Ser	Glu	Ala	Glu	Val	Arg	Gln	His	Arg	Glu	Ala	Arg	Pro	
725					730					735						
gcc	ctc	ctg	acc	tct	cgg	ctg	cgg	ttt	att	ccc	aaa	ccc	gat	ggc	ctt	2256
Ala	Leu	Leu	Thr	Ser	Arg	Leu	Arg	Phe	Ile	Pro	Lys	Pro	Asp	Gly	Leu	
740					745					750						
aga	cct	atc	gtg	aat	atg	gat	tac	gtc	gtg	ggg	gcc	cgc	act	ttc	aga	2304
Arg	Pro	Ile	Val	Asn	Met	Asp	Tyr	Val	Val	Gly	Ala	Arg	Thr	Phe	Arg	
755					760					765						
agg	gag	aag	cgc	gcc	gag	aga	ctg	aca	tct	cgc	gtg	aag	gca	ctt	ttt	2352
Arg	Glu	Lys	Arg	Ala	Glu	Arg	Leu	Thr	Ser	Arg	Val	Lys	Ala	Leu	Phe	
770					775					780						
tct	gtg	ctt	aat	tat	gaa	aga	gcc	cgc	aga	cct	ggg	ctt	ctc	gga	gcc	2400
Ser	Val	Leu	Asn	Tyr	Glu	Arg	Ala	Arg	Arg	Pro	Gly	Leu	Leu	Gly	Ala	
785					790					795					800	
agc	gtg	ctc	ggc	ctg	gat	gat	atc	cat	cgg	gct	tgg	cgc	acc	ttt	gtg	2448
Ser	Val	Leu	Gly	Leu	Asp	Asp	Ile	His	Arg	Ala	Trp	Arg	Thr	Phe	Val	
805					810					815						
ctt	cgg	gtg	agg	gca	cag	gat	cct	cct	cct	gag	ctt	tat	ttt	gtg	aaa	2496
Leu	Arg	Val	Arg	Ala	Gln	Asp	Pro	Pro	Pro	Glu	Leu	Tyr	Phe	Val	Lys	
820					825					830						
gtt	gat	gtt	act	ggg	gct	tac	gat	aca	atc	cct	cag	gac	cgg	ctc	acc	2544
Val	Asp	Val	Thr	Gly	Ala	Tyr	Asp	Thr	Ile	Pro	Gln	Asp	Arg	Leu	Thr	
835					840					845						
gag	gtg	atc	gcc	tct	att	atc	aaa	ccc	cag	aac	acc	tac	tgc	gtg	aga	2592
Glu	Val	Ile	Ala	Ser	Ile	Ile	Lys	Pro	Gln	Asn	Thr	Tyr	Cys	Val	Arg	
850					855					860						
agg	tac	gcc	gtc	gtt	cag	aaa	gcc	gca	cac	gga	cac	gtg	cgc	aaa	ggg	2640
Arg	Tyr	Ala	Val	Val	Gln	Lys	Ala	Ala	His	Gly	His	Val	Arg	Lys	Gly	
865					870					875					880	
gga	gga	ggg	ggg	gga	aac	agg	ggc	ttc	aag	gcc	ggc	cgg	aat	atg	aga	2688
Gly	Gly	Gly	Gly	Gly	Asn	Arg	Gly	Phe	Lys	Ala	Gly	Arg	Asn	Met	Arg	
885					890					895						
agg	aaa	ctg	ttc	gga	gtg	ttg	aga	ctt	aag	tgt	cat	agt	ctt	ttt	ttg	2736
Arg	Lys	Leu	Phe	Gly	Val	Leu	Arg	Leu	Lys	Cys	His	Ser	Leu	Phe	Leu	
900					905					910						
gac	ttg	cag	gtc	aat	tct	ctc	cag	aca	gtg	tgt	acc	aac	att	tat	aaa	2784
Asp	Leu	Gln	Val	Asn	Ser	Leu	Gln	Thr	Val	Cys	Thr	Asn	Ile	Tyr	Lys	
915					920					925						
atc	ctc	ttg	ctg	cag	gct	tac	aga	ttc	cat	gcc	tgc	gtc	ctg	cag	ctg	2832
Ile	Leu	Leu	Leu	Gln	Ala	Tyr	Arg	Phe	His	Ala	Cys	Val	Leu	Gln	Leu	

930	935	940	
cct ttc cac cag cag gtg tgg aaa aac cct acc ttc ttc ctg cgg gtg Pro Phe His Gln Gln Val Trp Lys Asn Pro Thr Phe Phe Leu Arg Val 945 950 955 960			2880
att agc gac acc gcc agt ctt tgc tac tcc atc ttg aaa gca aaa aac Ile Ser Asp Thr Ala Ser Leu Cys Tyr Ser Ile Leu Lys Ala Lys Asn 965 970 975			2928
gct ggc atg agc ttg gga gct aag ggc gcc gct gga cct ctg ccc agt Ala Gly Met Ser Leu Gly Ala Lys Gly Ala Ala Gly Pro Leu Pro Ser 980 985 990			2976
gaa gca gtc cag tgg ctg tgt cat cag gct ttc ctc ctt aaa ctg aca Glu Ala Val Gln Trp Leu Cys His Gln Ala Phe Leu Leu Lys Leu Thr 995 1000 1005			3024
cgc cac cgc gtg act tac gtc cca ctc ctg ggc tcc ctg aga act Arg His Arg Val Thr Tyr Val Pro Leu Leu Gly Ser Leu Arg Thr 1010 1015 1020			3069
gct cag acc cag ctt tcc cgg aaa ctt cca ggc act acc ctt acc Ala Gln Thr Gln Leu Ser Arg Lys Leu Pro Gly Thr Thr Leu Thr 1025 1030 1035			3114
gca ctc gaa gca gcc gcc aac cct gcc ctg ccc tcc gac ttt aag Ala Leu Glu Ala Ala Ala Asn Pro Ala Leu Pro Ser Asp Phe Lys 1040 1045 1050			3159
act atc ctg gac gga ggt gga ggt gga ggt ccc tgc cca cca gtg Thr Ile Leu Asp Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Pro Cys Pro Pro Val 1055 1060 1065			3204
tat gcc gag acc aag cac ttt ttg tat tcc agt ggc gat aaa gag Tyr Ala Glu Thr Lys His Phe Leu Tyr Ser Ser Gly Asp Lys Glu 1070 1075 1080			3249
cag ctc cgg ccc tct ttt ctg ctc tca agc ctc cgc ccc tct ctg Gln Leu Arg Pro Ser Phe Leu Leu Ser Ser Leu Arg Pro Ser Leu 1085 1090 1095			3294
acc gga gct cgc agg ctg gtg gag acc atc ttt ctg ggc tca aga Thr Gly Ala Arg Arg Leu Val Glu Thr Ile Phe Leu Gly Ser Arg 1100 1105 1110			3339
cca tgg atg cca ggc acc ccc cgc aga ctg ccc agg ctc ccc cag Pro Trp Met Pro Gly Thr Pro Arg Arg Leu Pro Arg Leu Pro Gln 1115 1120 1125			3384
cgg tac tgg cag atg cgc cct ctc ttt ctg gaa ctt ctg ggt aac Arg Tyr Trp Gln Met Arg Pro Leu Phe Leu Glu Leu Leu Gly Asn 1130 1135 1140			3429
cac gcc cag tgc cca tat ggc gtc ctg ctg aag acc cac tgt cct His Ala Gln Cys Pro Tyr Gly Val Leu Leu Lys Thr His Cys Pro 1145 1150 1155			3474
ctg agg gcc gcc gtg acc gga ggt ggt gga gga ggt ggc aag cca Leu Arg Ala Ala Val Thr Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Lys Pro 1160 1165 1170			3519
att cct aat cca ttg ctg ggc ctg gac tca act tga Ile Pro Asn Pro Leu Leu Gly Leu Asp Ser Thr			3555

1175

1180

<210> 48
 <211> 1184
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Synthetic Construct

<400> 48

Met Gln Ile Phe Val Lys Thr Leu Thr Gly Lys Thr Ile Thr Leu Glu
 1 5 10 15

Val Glu Pro Ser Asp Thr Ile Glu Asn Val Lys Ala Lys Ile Gln Asp
 20 25 30

Lys Glu Gly Ile Pro Pro Asp Gln Gln Arg Leu Ile Phe Ala Gly Lys
 35 40 45

Gln Leu Glu Asp Gly Arg Thr Leu Ser Asp Tyr Asn Ile Gln Lys Glu
 50 55 60

Ser Thr Leu His Leu Val Leu Arg Leu Arg Gly Gly Gly Gly Gly Gly
 65 70 75 80

Cys Val Pro Ala Ala Glu His Arg Leu Arg Glu Glu Ile Leu Ala Lys
 85 90 95

Phe Leu His Trp Leu Met Ser Val Tyr Val Val Glu Leu Leu Arg Ser
 100 105 110

Phe Phe Tyr Val Thr Glu Thr Thr Phe Gln Lys Asn Arg Leu Phe Phe
 115 120 125

Tyr Arg Lys Ser Val Trp Ser Lys Leu Gln Ser Ile Gly Ile Arg Gln
 130 135 140

His Leu Lys Arg Val Gln Gly Gly Gly Gly Gly Gly Phe Thr Thr Ser
 145 150 155 160

Val Arg Ser Tyr Leu Pro Asn Thr Val Thr Asp Ala Leu Arg Gly Ser
 165 170 175

Gly Ala Trp Gly Leu Leu Leu Arg Arg Val Gly Asp Asp Val Leu Val
 180 185 190

His Leu Leu Ala Arg Cys Ala Leu Phe Val Leu Val Ala Pro Ser Cys
 195 200 205

Ala Tyr Gln Val Cys Gly Pro Pro Leu Tyr Gln Leu Gly Ala Ala Gly
210 215 220

Gly Gly Gly Gly Gly Ala Gly Val Cys Ala Arg Glu Lys Pro Gln Gly
225 230 235 240

Ser Val Ala Ala Pro Glu Glu Glu Asp Thr Asp Pro Arg Arg Leu Val
245 250 255

Gln Leu Leu Arg Gln His Ser Ser Pro Trp Gln Val Tyr Gly Phe Val
260 265 270

Arg Ala Cys Leu Arg Arg Leu Val Pro Pro Gly Leu Trp Gly Ser Arg
275 280 285

His Asn Glu Arg Arg Phe Leu Arg Asn Thr Lys Lys Phe Ile Ser Leu
290 295 300

Gly Lys His Ala Lys Leu Ser Leu Gln Glu Leu Thr Trp Lys Met Ser
305 310 315 320

Val Arg Gly Cys Ala Trp Leu Arg Arg Ser Pro Gly Val Gly Gly Gly
325 330 335

Gly Gly Gly Ser Trp Ala His Pro Gly Arg Thr Arg Gly Pro Ser Asp
340 345 350

Arg Gly Phe Cys Val Val Ser Pro Ala Arg Pro Ala Glu Glu Ala Thr
355 360 365

Ser Leu Glu Gly Ala Leu Ser Gly Thr Arg Gly Gly Gly Gly Gly Gly
370 375 380

Lys Ser His Val Ser Thr Leu Thr Asp Leu Gln Pro Tyr Met Arg Gln
385 390 395 400

Phe Val Ala His Leu Gln Glu Thr Ser Pro Leu Arg Asp Ala Val Val
405 410 415

Ile Glu Gln Ser Ser Ser Leu Asn Glu Ala Ser Ser Gly Leu Phe Asp
420 425 430

Val Phe Leu Arg Phe Met Cys His His Ala Val Arg Ile Arg Gly Lys
435 440 445

Ser Tyr Val Gln Cys Gln Gly Ile Pro Gln Gly Ser Ile Leu Ser Thr
450 455 460

Leu Leu Cys Ser Leu Cys Tyr Gly Asp Met Glu Asn Lys Leu Phe Ala
465 470 475 480

Gly Ile Arg Arg Asp Gly Leu Leu Leu Arg Leu Phe Leu Leu Val Thr
485 490 495

Pro His Leu Thr His Ala Lys Thr Phe Leu Arg Thr Leu Val Arg Gly
500 505 510

Val Pro Glu Tyr Gly Cys Val Val Asn Leu Arg Lys Thr Val Val Asn
515 520 525

Phe Pro Val Glu Asp Glu Ala Leu Gly Gly Thr Ala Phe Val Gln Met
530 535 540

Pro Ala His Gly Leu Phe Pro Trp Cys Gly Leu Leu Leu Asp Thr Arg
545 550 555 560

Thr Leu Glu Val Gln Ser Asp Tyr Ser Ser Tyr Ala Arg Thr Ser Ile
565 570 575

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Trp Asn His Ser Val Arg Glu Ala Gly Val
580 585 590

Pro Leu Gly Leu Pro Ala Pro Gly Ala Arg Arg Arg Gly Gly Ser Ala
595 600 605

Ser Arg Ser Leu Pro Leu Pro Lys Arg Pro Arg Arg Gly Ala Gly Gly
610 615 620

Gly Gly Gly Gly Leu Ala Thr Phe Val Arg Arg Leu Gly Pro Gln Gly
625 630 635 640

Trp Arg Leu Val Gln Arg Gly Asp Pro Ala Ala Phe Arg Ala Leu Val
645 650 655

Ala Gln Cys Leu Val Cys Val Pro Trp Asp Ala Arg Pro Pro Pro Ala
660 665 670

Ala Pro Ser Phe Arg Gln Val Ser Cys Leu Lys Glu Leu Val Ala Arg
675 680 685

Val Leu Gln Arg Leu Cys Glu Arg Gly Ala Lys Asn Val Leu Ala Phe
690 695 700

Gly Phe Ala Leu Leu Asp Gly Ala Arg Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
705 710 715 720

Arg Glu Leu Ser Glu Ala Glu Val Arg Gln His Arg Glu Ala Arg Pro
725 730 735

Ala Leu Leu Thr Ser Arg Leu Arg Phe Ile Pro Lys Pro Asp Gly Leu
740 745 750

Arg Pro Ile Val Asn Met Asp Tyr Val Val Gly Ala Arg Thr Phe Arg
755 760 765

Arg Glu Lys Arg Ala Glu Arg Leu Thr Ser Arg Val Lys Ala Leu Phe
770 775 780

Ser Val Leu Asn Tyr Glu Arg Ala Arg Arg Pro Gly Leu Leu Gly Ala
785 790 795 800

Ser Val Leu Gly Leu Asp Asp Ile His Arg Ala Trp Arg Thr Phe Val
805 810 815

Leu Arg Val Arg Ala Gln Asp Pro Pro Pro Glu Leu Tyr Phe Val Lys
820 825 830

Val Asp Val Thr Gly Ala Tyr Asp Thr Ile Pro Gln Asp Arg Leu Thr
835 840 845

Glu Val Ile Ala Ser Ile Ile Lys Pro Gln Asn Thr Tyr Cys Val Arg
850 855 860

Arg Tyr Ala Val Val Gln Lys Ala Ala His Gly His Val Arg Lys Gly
865 870 875 880

Gly Gly Gly Gly Gly Asn Arg Gly Phe Lys Ala Gly Arg Asn Met Arg
885 890 895

Arg Lys Leu Phe Gly Val Leu Arg Leu Lys Cys His Ser Leu Phe Leu
900 905 910

Asp Leu Gln Val Asn Ser Leu Gln Thr Val Cys Thr Asn Ile Tyr Lys
915 920 925

Ile Leu Leu Leu Gln Ala Tyr Arg Phe His Ala Cys Val Leu Gln Leu
930 935 940

Pro Phe His Gln Gln Val Trp Lys Asn Pro Thr Phe Phe Leu Arg Val
945 950 955 960

Ile Ser Asp Thr Ala Ser Leu Cys Tyr Ser Ile Leu Lys Ala Lys Asn
965 970 975

Ala Gly Met Ser Leu Gly Ala Lys Gly Ala Ala Gly Pro Leu Pro Ser
980 985 990

Glu Ala Val Gln Trp Leu Cys His Gln Ala Phe Leu Leu Lys Leu Thr
995 1000 1005

Arg His Arg Val Thr Tyr Val Pro Leu Leu Gly Ser Leu Arg Thr
1010 1015 1020

Ala Gln Thr Gln Leu Ser Arg Lys Leu Pro Gly Thr Thr Leu Thr
1025 1030 1035

Ala Leu Glu Ala Ala Ala Asn Pro Ala Leu Pro Ser Asp Phe Lys
1040 1045 1050

Thr Ile Leu Asp Gly Gly Gly Gly Gly Gly Pro Cys Pro Pro Val
1055 1060 1065

Tyr Ala Glu Thr Lys His Phe Leu Tyr Ser Ser Gly Asp Lys Glu
1070 1075 1080

Gln Leu Arg Pro Ser Phe Leu Leu Ser Ser Leu Arg Pro Ser Leu
1085 1090 1095

Thr Gly Ala Arg Arg Leu Val Glu Thr Ile Phe Leu Gly Ser Arg
1100 1105 1110

Pro Trp Met Pro Gly Thr Pro Arg Arg Leu Pro Arg Leu Pro Gln
1115 1120 1125

Arg Tyr Trp Gln Met Arg Pro Leu Phe Leu Glu Leu Leu Gly Asn
1130 1135 1140

His Ala Gln Cys Pro Tyr Gly Val Leu Leu Lys Thr His Cys Pro
1145 1150 1155

Leu Arg Ala Ala Val Thr Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Lys Pro
1160 1165 1170

Ile Pro Asn Pro Leu Leu Gly Leu Asp Ser Thr
1175 1180

<210> 49

<211> 3555

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> pUTInv insert

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(3555)

<400> 49

atg	cag	att	ttc	gtc	aaa	aca	ttg	aca	gga	aag	acc	atc	aca	ctg	gaa	48
Met	Gln	Ile	Phe	Val	Lys	Thr	Leu	Thr	Gly	Lys	Thr	Ile	Thr	Leu	Glu	
1				5					10					15		

gtg	gag	cca	agc	gac	act	att	gag	aac	gtc	aaa	gcc	aag	att	cag	gac	96
Val	Glu	Pro	Ser	Asp	Thr	Ile	Glu	Asn	Val	Lys	Ala	Lys	Ile	Gln	Asp	
			20					25					30			

aag	gag	ggc	atc	cca	cca	gac	cag	cag	agg	ctg	att	ttt	gcc	gga	aag	144
Lys	Glu	Gly	Ile	Pro	Pro	Asp	Gln	Gln	Arg	Leu	Ile	Phe	Ala	Gly	Lys	
		35					40					45				

cag	ctg	gag	gac	gga	cgc	aca	ctc	agt	gac	tac	aat	atc	cag	aag	gaa	192
Gln	Leu	Glu	Asp	Gly	Arg	Thr	Leu	Ser	Asp	Tyr	Asn	Ile	Gln	Lys	Glu	
	50					55					60					

agt	act	ctg	cat	ctg	gtc	ctt	cgc	ctg	cgc	ggc	gga	ggg	gga	ggg	gga	240
Ser	Thr	Leu	His	Leu	Val	Leu	Arg	Leu	Arg	Gly	Gly	Gly	Gly	Gly	Gly	
65					70					75					80	

aac	agg	ggc	ttc	aag	gcc	ggc	cgg	aat	atg	aga	agg	aaa	ctg	ttc	gga	288
Asn	Arg	Gly	Phe	Lys	Ala	Gly	Arg	Asn	Met	Arg	Arg	Lys	Leu	Phe	Gly	
				85					90					95		

gtg	ttg	aga	ctt	aag	tgt	cat	agt	ctt	ttt	ttg	gac	ttg	cag	gtc	aat	336
Val	Leu	Arg	Leu	Lys	Cys	His	Ser	Leu	Phe	Leu	Asp	Leu	Gln	Val	Asn	
			100					105					110			

tct	ctc	cag	aca	gtg	tgt	acc	aac	att	tat	aaa	atc	ctc	ttg	ctg	cag	384
Ser	Leu	Gln	Thr	Val	Cys	Thr	Asn	Ile	Tyr	Lys	Ile	Leu	Leu	Leu	Gln	
		115					120					125				

gct	tac	aga	ttc	cat	gcc	tgc	gtc	ctg	cag	ctg	cct	ttc	cac	cag	cag	432
Ala	Tyr	Arg	Phe	His	Ala	Cys	Val	Leu	Gln	Leu	Pro	Phe	His	Gln	Gln	
	130					135					140					

gtg	tgg	aaa	aac	cct	acc	ttc	ttc	ctg	cgg	gtg	att	agc	gac	acc	gcc	480
Val	Trp	Lys	Asn	Pro	Thr	Phe	Phe	Leu	Arg	Val	Ile	Ser	Asp	Thr	Ala	
145					150					155					160	

agt	ctt	tgc	tac	tcc	atc	ttg	aaa	gca	aaa	aac	gct	ggc	atg	agc	ttg	528
Ser	Leu	Cys	Tyr	Ser	Ile	Leu	Lys	Ala	Lys	Asn	Ala	Gly	Met	Ser	Leu	
				165					170					175		

gga	gct	aag	ggc	gcc	gct	gga	cct	ctg	ccc	agt	gaa	gca	gtc	cag	tgg	576
Gly	Ala	Lys	Gly	Ala	Ala	Gly	Pro	Leu	Pro	Ser	Glu	Ala	Val	Gln	Trp	
			180					185					190			

ctg	tgt	cat	cag	gct	ttc	ctc	ctt	aaa	ctg	aca	cgc	cac	cgc	gtg	act	624
Leu	Cys	His	Gln	Ala	Phe	Leu	Leu	Lys	Leu	Thr	Arg	His	Arg	Val	Thr	
		195					200					205				

tac	gtc	cca	ctc	ctg	ggc	tcc	ctg	aga	act	gct	cag	acc	cag	ctt	tcc	672
Tyr	Val	Pro	Leu	Leu	Gly	Ser	Leu	Arg	Thr	Ala	Gln	Thr	Gln	Leu	Ser	
	210					215					220					

cgg	aaa	ctt	cca	ggc	act	acc	ctt	acc	gca	ctc	gaa	gca	gcc	gcc	aac	720
-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----

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

Phe	Ile	Pro	Lys	Pro	Asp	Gly	Leu	Arg	Pro	Ile	Val	Asn	Met	Asp	Tyr	
				485					490					495		
gtc	gtg	ggg	gcc	cgc	act	ttc	aga	agg	gag	aag	cgc	gcc	gag	aga	ctg	1536
Val	Val	Gly	Ala	Arg	Thr	Phe	Arg	Arg	Glu	Lys	Arg	Ala	Glu	Arg	Leu	
			500					505					510			
aca	tct	cgc	gtg	aag	gca	ctt	ttt	tct	gtg	ctt	aat	tat	gaa	aga	gcc	1584
Thr	Ser	Arg	Val	Lys	Ala	Leu	Phe	Ser	Val	Leu	Asn	Tyr	Glu	Arg	Ala	
		515					520					525				
cgc	aga	cct	ggg	ctt	ctc	gga	gcc	agc	gtg	ctc	ggc	ctg	gat	gat	atc	1632
Arg	Arg	Pro	Gly	Leu	Leu	Gly	Ala	Ser	Val	Leu	Gly	Leu	Asp	Asp	Ile	
		530				535					540					
cat	cgg	gct	tgg	cgc	acc	ttt	gtg	ctt	cgg	gtg	agg	gca	cag	gat	cct	1680
His	Arg	Ala	Trp	Arg	Thr	Phe	Val	Leu	Arg	Val	Arg	Ala	Gln	Asp	Pro	
545					550					555					560	
cct	cct	gag	ctt	tat	ttt	gtg	aaa	gtt	gat	gtt	act	ggg	gct	tac	gat	1728
Pro	Pro	Glu	Leu	Tyr	Phe	Val	Lys	Val	Asp	Val	Thr	Gly	Ala	Tyr	Asp	
				565					570					575		
aca	atc	cct	cag	gac	cgg	ctc	acc	gag	gtg	atc	gcc	tct	att	atc	aaa	1776
Thr	Ile	Pro	Gln	Asp	Arg	Leu	Thr	Glu	Val	Ile	Ala	Ser	Ile	Ile	Lys	
			580					585					590			
ccc	cag	aac	acc	tac	tgc	gtg	aga	agg	tac	gcc	gtc	gtt	cag	aaa	gcc	1824
Pro	Gln	Asn	Thr	Tyr	Cys	Val	Arg	Arg	Tyr	Ala	Val	Val	Gln	Lys	Ala	
		595					600					605				
gca	cac	gga	cac	gtg	cgc	aaa	gga	ggg	gga	ggg	gga	gga	tgc	gtt	cca	1872
Ala	His	Gly	His	Val	Arg	Lys	Gly	Gly	Gly	Gly	Gly	Gly	Cys	Val	Pro	
	610					615					620					
gca	gca	gag	cac	agg	ctg	cgc	gaa	gag	att	ctc	gca	aag	ttc	ctg	cac	1920
Ala	Ala	Glu	His	Arg	Leu	Arg	Glu	Glu	Ile	Leu	Ala	Lys	Phe	Leu	His	
625					630					635					640	
tgg	ctt	atg	agc	gtc	tac	gtg	gtc	gaa	ctg	ctg	cgg	tct	ttc	ttc	tac	1968
Trp	Leu	Met	Ser	Val	Tyr	Val	Val	Glu	Leu	Leu	Arg	Ser	Phe	Phe	Tyr	
				645					650					655		
gtg	aca	gag	acc	act	ttt	cag	aag	aac	aga	ctg	ttc	ttc	tac	agg	aag	2016
Val	Thr	Glu	Thr	Thr	Phe	Gln	Lys	Asn	Arg	Leu	Phe	Phe	Tyr	Arg	Lys	
			660					665					670			
tcc	gtc	tgg	agc	aag	ctc	cag	agt	att	ggg	att	aga	cag	cac	ctt	aag	2064
Ser	Val	Trp	Ser	Lys	Leu	Gln	Ser	Ile	Gly	Ile	Arg	Gln	His	Leu	Lys	
		675					680					685				
aga	gtt	cag	ggg	ggg	gga	ggg	gga	gga	gcc	ggg	gtg	tgt	gct	aga	gaa	2112
Arg	Val	Gln	Gly	Gly	Gly	Gly	Gly	Gly	Ala	Gly	Val	Cys	Ala	Arg	Glu	
	690					695					700					
aaa	ccc	cag	ggc	tca	gtg	gct	gca	cct	gaa	gag	gag	gac	act	gac	cct	2160
Lys	Pro	Gln	Gly	Ser	Val	Ala	Ala	Pro	Glu	Glu	Glu	Asp	Thr	Asp	Pro	
705					710					715					720	
cgc	cgc	ctt	gtc	cag	ttg	ctc	agg	cag	cat	tca	tca	cca	tgg	cag	gtg	2208
Arg	Arg	Leu	Val	Gln	Leu	Leu	Arg	Gln	His	Ser	Ser	Pro	Trp	Gln	Val	
				725					730					735		
tac	ggc	ttc	gtg	agg	gct	tgc	ctg	cgg	aga	ctg	gtc	ccc	ccc	gga	ttg	2256

Tyr	Gly	Phe	Val	Arg	Ala	Cys	Leu	Arg	Arg	Leu	Val	Pro	Pro	Gly	Leu		
			740					745					750				
tgg	gga	tct	cgg	cac	aac	gaa	cgg	cgc	ttt	ctg	agg	aat	aca	aag	aag		2304
Trp	Gly	Ser	Arg	His	Asn	Glu	Arg	Arg	Phe	Leu	Arg	Asn	Thr	Lys	Lys		
			755				760					765					
ttt	atc	tcc	ctg	ggc	aag	cat	gca	aag	ctc	agc	ttg	cag	gag	ctg	aca		2352
Phe	Ile	Ser	Leu	Gly	Lys	His	Ala	Lys	Leu	Ser	Leu	Gln	Glu	Leu	Thr		
			770			775					780						
tgg	aag	atg	agc	gtt	aga	gga	tgc	gca	tgg	ctc	agg	cgg	tca	cct	gga		2400
Trp	Lys	Met	Ser	Val	Arg	Gly	Cys	Ala	Trp	Leu	Arg	Arg	Ser	Pro	Gly		
					790					795					800		
gtt	gga	gga	ggg	ggg	gga	ggg	ccc	tgc	cca	cca	gtg	tat	gcc	gag	acc		2448
Val	Gly	Gly	Gly	Gly	Gly	Gly	Pro	Cys	Pro	Pro	Val	Tyr	Ala	Glu	Thr		
						805				810				815			
aag	cac	ttt	ttg	tat	tcc	agt	ggc	gat	aaa	gag	cag	ctc	cgg	ccc	tct		2496
Lys	His	Phe	Leu	Tyr	Ser	Ser	Gly	Asp	Lys	Glu	Gln	Leu	Arg	Pro	Ser		
			820					825					830				
ttt	ctg	ctc	tca	agc	ctc	cgc	ccc	tct	ctg	acc	gga	gct	cgc	agg	ctg		2544
Phe	Leu	Leu	Ser	Ser	Leu	Arg	Pro	Ser	Leu	Thr	Gly	Ala	Arg	Arg	Leu		
			835				840					845					
gtg	gag	acc	atc	ttt	ctg	ggc	tca	aga	cca	tgg	atg	cca	ggc	acc	ccc		2592
Val	Glu	Thr	Ile	Phe	Leu	Gly	Ser	Arg	Pro	Trp	Met	Pro	Gly	Thr	Pro		
			850			855					860						
cgc	aga	ctg	ccc	agg	ctc	ccc	cag	cgg	tac	tgg	cag	atg	cgc	cct	ctc		2640
Arg	Arg	Leu	Pro	Arg	Leu	Pro	Gln	Arg	Tyr	Trp	Gln	Met	Arg	Pro	Leu		
					870					875					880		
ttt	ctg	gaa	ctt	ctg	ggg	aac	cac	gcc	cag	tgc	cca	tat	ggc	gtc	ctg		2688
Phe	Leu	Glu	Leu	Leu	Gly	Asn	His	Ala	Gln	Cys	Pro	Tyr	Gly	Val	Leu		
					885				890					895			
ctg	aag	acc	cac	tgt	cct	ctg	agg	gcc	gcc	gtg	acc	ggg	gga	gga	ggg		2736
Leu	Lys	Thr	His	Cys	Pro	Leu	Arg	Ala	Ala	Val	Thr	Gly	Gly	Gly	Gly		
			900					905					910				
ggg	gga	tcc	tgg	gct	cac	ccc	gga	agg	acc	agg	ggc	cca	agc	gat	agg		2784
Gly	Gly	Ser	Trp	Ala	His	Pro	Gly	Arg	Thr	Arg	Gly	Pro	Ser	Asp	Arg		
			915				920					925					
ggc	ttc	tgt	gtt	gtg	tca	cca	gcc	agg	cct	gcc	gaa	gag	gct	acc	tcc		2832
Gly	Phe	Cys	Val	Val	Ser	Pro	Ala	Arg	Pro	Ala	Glu	Glu	Ala	Thr	Ser		
			930			935					940						
ttg	gaa	gga	gcc	ctc	agt	ggc	acc	agg	gga	ggg	ggg	gga	ggg	gga	tgg		2880
Leu	Glu	Gly	Ala	Leu	Ser	Gly	Thr	Arg	Gly	Gly	Gly	Gly	Gly	Gly	Trp		
					950				955						960		
aat	cat	agc	gtg	cgg	gag	gca	ggg	gtg	cct	ctc	ggc	ctg	cca	gcc	ccc		2928
Asn	His	Ser	Val	Arg	Glu	Ala	Gly	Val	Pro	Leu	Gly	Leu	Pro	Ala	Pro		
					965				970					975			
gga	gca	agg	aga	cgc	ggg	gga	tcc	gcc	agt	cgc	tca	ctc	ccc	ttg	cct		2976
Gly	Ala	Arg	Arg	Arg	Gly	Gly	Ser	Ala	Ser	Arg	Ser	Leu	Pro	Leu	Pro		
			980					985					990				
aag	agg	cca	aga	aga	gga	gcc	ggg	gga	gga	ggg	ggg	gga	ttc	act	act		3024

Lys	Arg	Pro	Arg	Arg	Gly	Ala	Gly	Gly	Gly	Gly	Gly	Gly	Phe	Thr	Thr	
		995					1000					1005				
agc	gtc	cgg	tcc	tac	ctg	ccc	aac	aca	gtg	acc	gac	gct	ctg	aga		3069
Ser	Val	Arg	Ser	Tyr	Leu	Pro	Asn	Thr	Val	Thr	Asp	Ala	Leu	Arg		
	1010					1015					1020					
ggt	tca	ggt	gcc	tgg	ggt	ctg	ctg	ctg	cgg	agg	gtg	ggt	gat	gat		3114
Gly	Ser	Gly	Ala	Trp	Gly	Leu	Leu	Leu	Arg	Arg	Val	Gly	Asp	Asp		
	1025					1030					1035					
gtt	ctg	gtt	cac	ctc	ctg	gcc	cgg	tgt	gcc	ctg	ttc	gtg	ctg	gtg		3159
Val	Leu	Val	His	Leu	Leu	Ala	Arg	Cys	Ala	Leu	Phe	Val	Leu	Val		
	1040					1045					1050					
gct	ccc	tcc	tgc	gca	tac	cag	gtc	tgc	gga	ccc	cca	ctt	tat	cag		3204
Ala	Pro	Ser	Cys	Ala	Tyr	Gln	Val	Cys	Gly	Pro	Pro	Leu	Tyr	Gln		
	1055					1060					1065					
ctc	ggc	gct	gct	gga	ggt	gga	ggt	gga	ggt	ctg	gcc	acc	ttc	gtg		3249
Leu	Gly	Ala	Ala	Gly	Gly	Gly	Gly	Gly	Gly	Leu	Ala	Thr	Phe	Val		
	1070					1075					1080					
cgg	cgc	ctg	gga	ccc	cag	ggc	tgg	cgg	ctg	gtg	cag	cgc	ggg	gac		3294
Arg	Arg	Leu	Gly	Pro	Gln	Gly	Trp	Arg	Leu	Val	Gln	Arg	Gly	Asp		
	1085					1090					1095					
cct	gct	gct	ttc	aga	gct	ctc	gtc	gcc	cag	tgt	ctg	gtc	tgc	gtt		3339
Pro	Ala	Ala	Phe	Arg	Ala	Leu	Val	Ala	Gln	Cys	Leu	Val	Cys	Val		
	1100					1105					1110					
cct	tgg	gac	gca	cgg	ccc	cca	ccc	gcc	gcc	ccc	agt	ttc	cgg	cag		3384
Pro	Trp	Asp	Ala	Arg	Pro	Pro	Pro	Ala	Ala	Pro	Ser	Phe	Arg	Gln		
	1115					1120					1125					
gtg	agt	tgt	ctc	aaa	gag	ttg	gtt	gct	cgg	gtg	ttg	cag	cgg	ctt		3429
Val	Ser	Cys	Leu	Lys	Glu	Leu	Val	Ala	Arg	Val	Leu	Gln	Arg	Leu		
	1130					1135					1140					
tgt	gaa	agg	gga	gca	aag	aac	gtc	ctt	gcc	ttt	ggc	ttc	gct	ttg		3474
Cys	Glu	Arg	Gly	Ala	Lys	Asn	Val	Leu	Ala	Phe	Gly	Phe	Ala	Leu		
	1145					1150					1155					
ctc	gat	gga	gca	cgc	gga	gga	ggt	ggt	gga	gga	ggt	ggc	aag	cca		3519
Leu	Asp	Gly	Ala	Arg	Gly	Gly	Gly	Gly	Gly	Gly	Gly	Gly	Lys	Pro		
	1160					1165					1170					
att	cct	aat	cca	ttg	ctg	ggc	ctg	gac	tca	act	tga					3555
Ile	Pro	Asn	Pro	Leu	Leu	Gly	Leu	Asp	Ser	Thr						
	1175					1180										

<210> 50
 <211> 1184
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

 <220>
 <223> Synthetic Construct

 <400> 50

Met	Gln	Ile	Phe	Val	Lys	Thr	Leu	Thr	Gly	Lys	Thr	Ile	Thr	Leu	Glu	
1				5					10					15		

Val Glu Pro Ser Asp Thr Ile Glu Asn Val Lys Ala Lys Ile Gln Asp
 20 25 30

Lys Glu Gly Ile Pro Pro Asp Gln Gln Arg Leu Ile Phe Ala Gly Lys
 35 40 45

Gln Leu Glu Asp Gly Arg Thr Leu Ser Asp Tyr Asn Ile Gln Lys Glu
 50 55 60

Ser Thr Leu His Leu Val Leu Arg Leu Arg Gly Gly Gly Gly Gly Gly
 65 70 75 80

Asn Arg Gly Phe Lys Ala Gly Arg Asn Met Arg Arg Lys Leu Phe Gly
 85 90 95

Val Leu Arg Leu Lys Cys His Ser Leu Phe Leu Asp Leu Gln Val Asn
 100 105 110

Ser Leu Gln Thr Val Cys Thr Asn Ile Tyr Lys Ile Leu Leu Leu Gln
 115 120 125

Ala Tyr Arg Phe His Ala Cys Val Leu Gln Leu Pro Phe His Gln Gln
 130 135 140

Val Trp Lys Asn Pro Thr Phe Phe Leu Arg Val Ile Ser Asp Thr Ala
 145 150 155 160

Ser Leu Cys Tyr Ser Ile Leu Lys Ala Lys Asn Ala Gly Met Ser Leu
 165 170 175

Gly Ala Lys Gly Ala Ala Gly Pro Leu Pro Ser Glu Ala Val Gln Trp
 180 185 190

Leu Cys His Gln Ala Phe Leu Leu Lys Leu Thr Arg His Arg Val Thr
 195 200 205

Tyr Val Pro Leu Leu Gly Ser Leu Arg Thr Ala Gln Thr Gln Leu Ser
 210 215 220

Arg Lys Leu Pro Gly Thr Thr Leu Thr Ala Leu Glu Ala Ala Ala Asn
 225 230 235 240

Pro Ala Leu Pro Ser Asp Phe Lys Thr Ile Leu Asp Gly Gly Gly Gly
 245 250 255

Gly Gly Lys Ser His Val Ser Thr Leu Thr Asp Leu Gln Pro Tyr Met
 260 265 270

Arg Gln Phe Val Ala His Leu Gln Glu Thr Ser Pro Leu Arg Asp Ala
275 280 285

Val Val Ile Glu Gln Ser Ser Ser Leu Asn Glu Ala Ser Ser Gly Leu
290 295 300

Phe Asp Val Phe Leu Arg Phe Met Cys His His Ala Val Arg Ile Arg
305 310 315 320

Gly Lys Ser Tyr Val Gln Cys Gln Gly Ile Pro Gln Gly Ser Ile Leu
325 330 335

Ser Thr Leu Leu Cys Ser Leu Cys Tyr Gly Asp Met Glu Asn Lys Leu
340 345 350

Phe Ala Gly Ile Arg Arg Asp Gly Leu Leu Leu Arg Leu Phe Leu Leu
355 360 365

Val Thr Pro His Leu Thr His Ala Lys Thr Phe Leu Arg Thr Leu Val
370 375 380

Arg Gly Val Pro Glu Tyr Gly Cys Val Val Asn Leu Arg Lys Thr Val
385 390 395 400

Val Asn Phe Pro Val Glu Asp Glu Ala Leu Gly Gly Thr Ala Phe Val
405 410 415

Gln Met Pro Ala His Gly Leu Phe Pro Trp Cys Gly Leu Leu Leu Asp
420 425 430

Thr Arg Thr Leu Glu Val Gln Ser Asp Tyr Ser Ser Tyr Ala Arg Thr
435 440 445

Ser Ile Gly Gly Gly Gly Gly Gly Arg Glu Leu Ser Glu Ala Glu Val
450 455 460

Arg Gln His Arg Glu Ala Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser Arg Leu Arg
465 470 475 480

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

Val Val Gly Ala Arg Thr Phe Arg Arg Glu Lys Arg Ala Glu Arg Leu
500 505 510

Thr Ser Arg Val Lys Ala Leu Phe Ser Val Leu Asn Tyr Glu Arg Ala
515 520 525

Arg Arg Pro Gly Leu Leu Gly Ala Ser Val Leu Gly Leu Asp Asp Ile
530 535 540

His Arg Ala Trp Arg Thr Phe Val Leu Arg Val Arg Ala Gln Asp Pro
545 550 555 560

Pro Pro Glu Leu Tyr Phe Val Lys Val Asp Val Thr Gly Ala Tyr Asp
565 570 575

Thr Ile Pro Gln Asp Arg Leu Thr Glu Val Ile Ala Ser Ile Ile Lys
580 585 590

Pro Gln Asn Thr Tyr Cys Val Arg Arg Tyr Ala Val Val Gln Lys Ala
595 600 605

Ala His Gly His Val Arg Lys Gly Gly Gly Gly Gly Gly Cys Val Pro
610 615 620

Ala Ala Glu His Arg Leu Arg Glu Glu Ile Leu Ala Lys Phe Leu His
625 630 635 640

Trp Leu Met Ser Val Tyr Val Val Glu Leu Leu Arg Ser Phe Phe Tyr
645 650 655

Val Thr Glu Thr Thr Phe Gln Lys Asn Arg Leu Phe Phe Tyr Arg Lys
660 665 670

Ser Val Trp Ser Lys Leu Gln Ser Ile Gly Ile Arg Gln His Leu Lys
675 680 685

Arg Val Gln Gly Gly Gly Gly Gly Gly Ala Gly Val Cys Ala Arg Glu
690 695 700

Lys Pro Gln Gly Ser Val Ala Ala Pro Glu Glu Glu Asp Thr Asp Pro
705 710 715 720

Arg Arg Leu Val Gln Leu Leu Arg Gln His Ser Ser Pro Trp Gln Val
725 730 735

Tyr Gly Phe Val Arg Ala Cys Leu Arg Arg Leu Val Pro Pro Gly Leu
740 745 750

Trp Gly Ser Arg His Asn Glu Arg Arg Phe Leu Arg Asn Thr Lys Lys
755 760 765

Phe Ile Ser Leu Gly Lys His Ala Lys Leu Ser Leu Gln Glu Leu Thr
770 775 780

Trp Lys Met Ser Val Arg Gly Cys Ala Trp Leu Arg Arg Ser Pro Gly
 785 790 795 800

Val Gly Gly Gly Gly Gly Gly Pro Cys Pro Pro Val Tyr Ala Glu Thr
 805 810 815

Lys His Phe Leu Tyr Ser Ser Gly Asp Lys Glu Gln Leu Arg Pro Ser
 820 825 830

Phe Leu Leu Ser Ser Leu Arg Pro Ser Leu Thr Gly Ala Arg Arg Leu
 835 840 845

Val Glu Thr Ile Phe Leu Gly Ser Arg Pro Trp Met Pro Gly Thr Pro
 850 855 860

Arg Arg Leu Pro Arg Leu Pro Gln Arg Tyr Trp Gln Met Arg Pro Leu
 865 870 875 880

Phe Leu Glu Leu Leu Gly Asn His Ala Gln Cys Pro Tyr Gly Val Leu
 885 890 895

Leu Lys Thr His Cys Pro Leu Arg Ala Ala Val Thr Gly Gly Gly Gly
 900 905 910

Gly Gly Ser Trp Ala His Pro Gly Arg Thr Arg Gly Pro Ser Asp Arg
 915 920 925

Gly Phe Cys Val Val Ser Pro Ala Arg Pro Ala Glu Glu Ala Thr Ser
 930 935 940

Leu Glu Gly Ala Leu Ser Gly Thr Arg Gly Gly Gly Gly Gly Gly Trp
 945 950 955 960

Asn His Ser Val Arg Glu Ala Gly Val Pro Leu Gly Leu Pro Ala Pro
 965 970 975

Gly Ala Arg Arg Arg Gly Gly Ser Ala Ser Arg Ser Leu Pro Leu Pro
 980 985 990

Lys Arg Pro Arg Arg Gly Ala Gly Gly Gly Gly Gly Gly Phe Thr Thr
 995 1000 1005

Ser Val Arg Ser Tyr Leu Pro Asn Thr Val Thr Asp Ala Leu Arg
 1010 1015 1020

Gly Ser Gly Ala Trp Gly Leu Leu Leu Arg Arg Val Gly Asp Asp
 1025 1030 1035

Val Leu Val His Leu Leu Ala Arg Cys Ala Leu Phe Val Leu Val
1040 1045 1050

Ala Pro Ser Cys Ala Tyr Gln Val Cys Gly Pro Pro Leu Tyr Gln
1055 1060 1065

Leu Gly Ala Ala Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Leu Ala Thr Phe Val
1070 1075 1080

Arg Arg Leu Gly Pro Gln Gly Trp Arg Leu Val Gln Arg Gly Asp
1085 1090 1095

Pro Ala Ala Phe Arg Ala Leu Val Ala Gln Cys Leu Val Cys Val
1100 1105 1110

Pro Trp Asp Ala Arg Pro Pro Pro Ala Ala Pro Ser Phe Arg Gln
1115 1120 1125

Val Ser Cys Leu Lys Glu Leu Val Ala Arg Val Leu Gln Arg Leu
1130 1135 1140

Cys Glu Arg Gly Ala Lys Asn Val Leu Ala Phe Gly Phe Ala Leu
1145 1150 1155

Leu Asp Gly Ala Arg Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Lys Pro
1160 1165 1170

Ile Pro Asn Pro Leu Leu Gly Leu Asp Ser Thr
1175 1180

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Нуклеиновокислотная конструкция, содержащая последовательность, кодирующую белок обратной транскриптазы теломеразы человека (hTERT), который лишен каталитической активности теломеразы и сигнала ядрышковой локализации.
2. Нуклеиновокислотная конструкция по п. 1, при этом белок hTERT слит на N-конце с белком, повышающим адресацию белка hTERT на протеасомы.
3. Нуклеиновокислотная конструкция по п. 1 или 2, при этом последовательность, кодирующая белок hTERT, содержит мутацию, которая обеспечивает инактивацию каталитической активности белка TERT.
4. Нуклеиновокислотная конструкция по п. 3, при этом белок hTERT лишен каталитической активности теломеразы посредством делеции по меньшей мере одной аминокислоты.
5. Нуклеиновокислотная конструкция по п. 4, при этом белок hTERT лишен каталитической активности теломеразы посредством делеции аминокислот 867-869 (VDD).
6. Нуклеиновокислотная конструкция по п. 5, при этом белок hTERT лишен каталитической активности теломеразы посредством дальнейшего удаления от 1 до 12 аминокислот перед и/или после аминокислот 867-869 (VDD).
7. Нуклеиновокислотная конструкция по любому из п.п. 1-6, при этом белок hTERT лишен сигнала ядрышковой локализации посредством делеции по меньшей мере аминокислот 1-23.
8. Нуклеиновокислотная конструкция по п. 7, при этом белок hTERT лишен сигнала ядрышковой локализации посредством делеции аминокислот 1-47.
9. Нуклеиновокислотная конструкция по любому из п.п. 2-8, при этом белком, повышающим адресацию белка hTERT на протеасомы, служит убиквитин.
10. Нуклеиновокислотная конструкция по любому из п.п. 2-8, при этом белком, повышающим адресацию белка hTERT на протеасомы, служит белок-шаперон, например, кальретикулин.
11. Нуклеиновокислотная конструкция по любому из п.п. 1-10, которая представляет собой ДНК, предпочтительно ДНК-плазмиду.
12. Нуклеиновокислотная конструкция по п. 11, которая кодирует аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 12.
13. Нуклеиновокислотная конструкция по п. 12, которая включает в себя SEQ ID NO: 11 или нуклеотиды 3488-6961 из SEQ ID NO: 11.

14. Нуклеиновокислотная конструкция по п. 11, которая кодирует аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 14, 16 или 18 и предпочтительно включает в себя нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 13, 15 или 17.

15. Нуклеиновокислотная конструкция по любому из п.п. 1-14, для применения для запуска иммунного ответа у субъекта против клеток, гиперэкспрессирующих теломеразы, предпочтительно диспластических клеток, опухолевых клеток или клеток, инфицированных онковирусами.

16. Нуклеиновокислотная конструкция по любому из п.п. 1-14, для применения для профилактики или лечения опухоли у пациента.

17. Нуклеиновокислотная конструкция, включающая последовательность, которая происходит из обратной транскриптазы теломеразы человека (hTERT), причем данная последовательность, происходящая из hTERT:

- i) кодирует все или практически все эпитопы hTERT, в любом порядке, и
- ii) кодирует белок, лишенный каталитической активности теломеразы и сигнала ядрышковой локализации.

18. Нуклеиновокислотная конструкция по п. 17, включающая все или практически все иммуногенные последовательности, приведенные в виде SEQ ID NO: 61-97, в любом порядке.

19. Нуклеиновокислотная конструкция по п. 18, кодирующая последовательность, которая включает фрагменты от SEQ ID NO: 51 до SEQ ID NO: 60, в любом порядке.

20. Нуклеиновокислотная конструкция по любому из п.п. 17-19, при этом белок слит на N-конце с белком, повышающим адресацию белка на протеасомы.

21. Нуклеиновокислотная конструкция по любому из п.п. 17-20, при этом белок лишен каталитической активности теломеразы посредством делеции аминокислот 867-869 (VDD).

22. Нуклеиновокислотная конструкция по любому из п.п. 17-21, при этом белком, повышающим адресацию белка hTERT на протеасомы, служит убиквитин.

23. Нуклеиновокислотная конструкция по любому из п.п. 17-21, при этом белком, повышающим адресацию белка hTERT на протеасомы, служит белок-шаперон, например, кальретикулин.

24. Нуклеиновокислотная конструкция по любому из п.п. 17-23, которая представляет собой ДНК, предпочтительно ДНК-плазмиду.

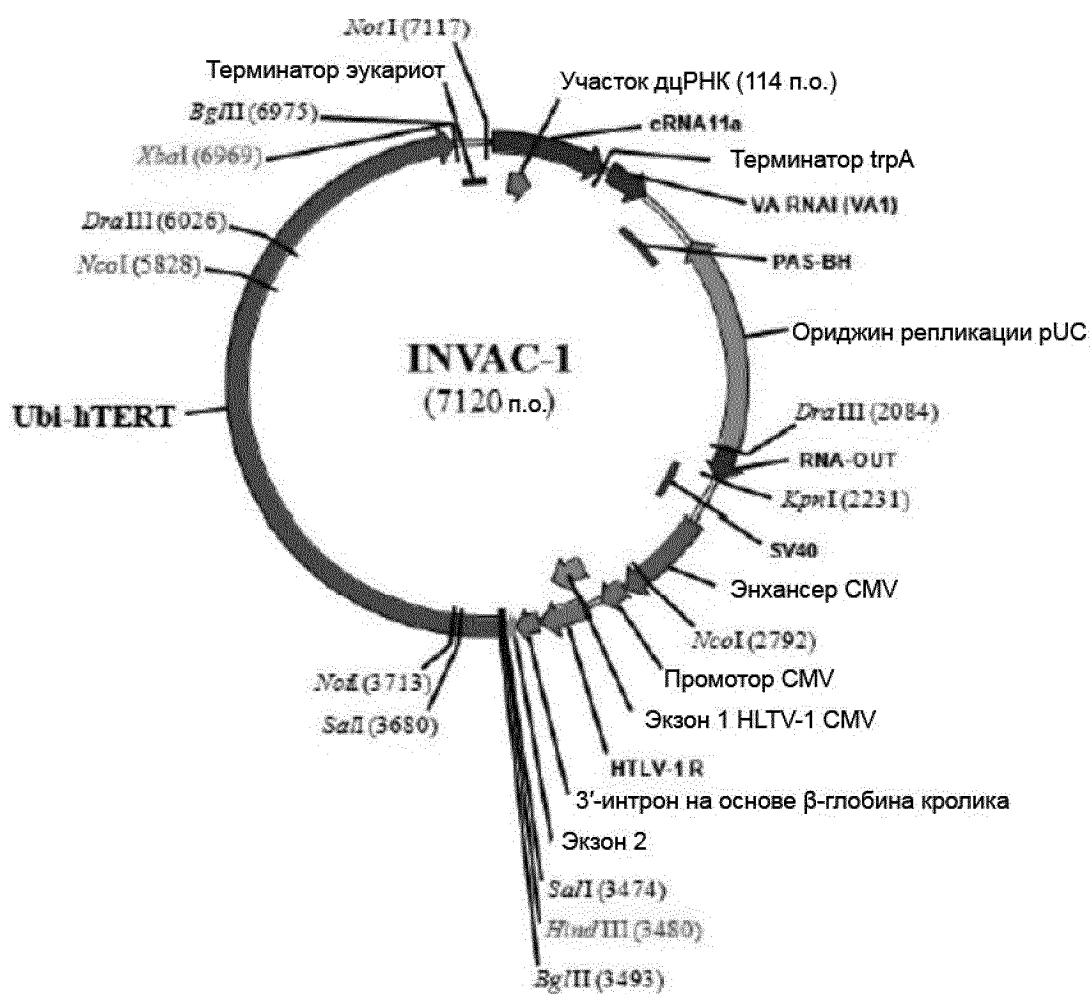
25. Нуклеиновокислотная конструкция по любому из п.п. 17-24, которая включает последовательность, кодирующую SEQ ID NO: 48.

26. Нуклеиновокислотная конструкция по любому из п.п. 17-24, которая включает

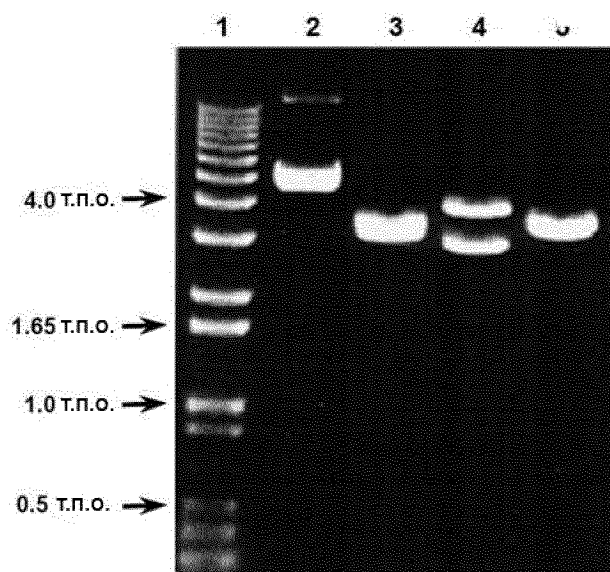
последовательность, кодирующую SEQ ID NO: 50.

27. Нуклеиновокислотная конструкция по любому из п.п. 17-26, для применения для запуска иммунного ответа у субъекта против клеток, гиперэкспрессирующих теломеразы, предпочтительно диспластических клеток, опухолевых клеток или клеток, инфицированных онковирусами.

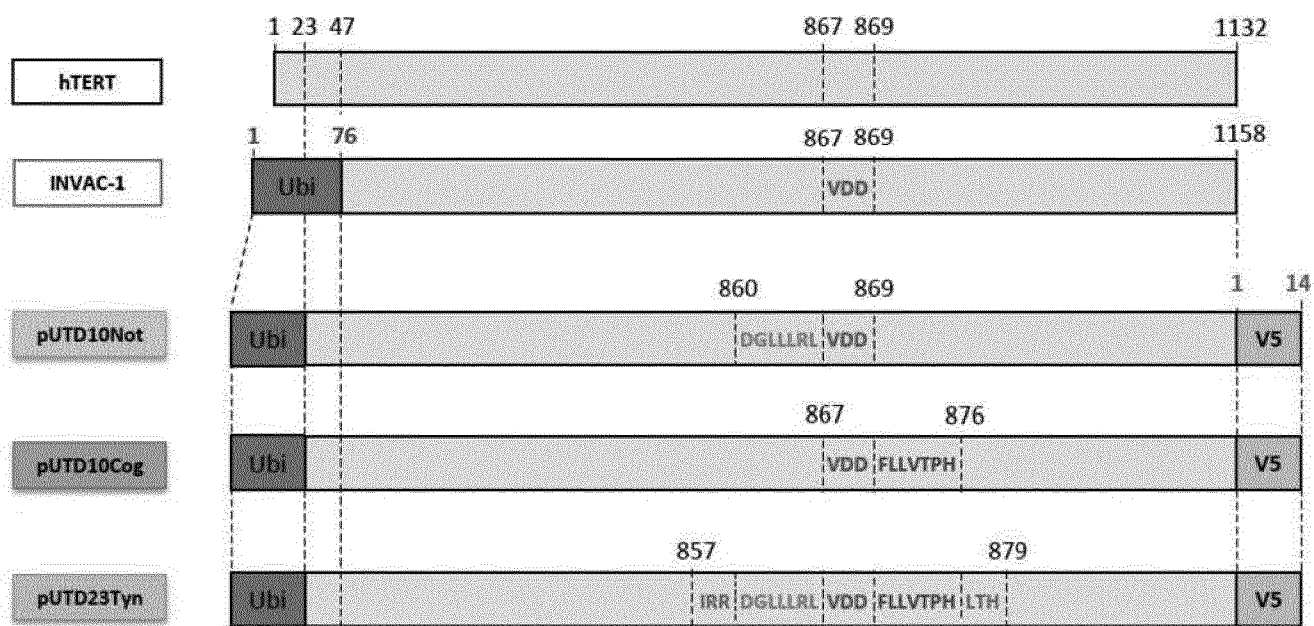
28. Нуклеиновокислотная конструкция по любому из п.п. 17-27, для применения при профилактики или лечении опухоли у пациента.



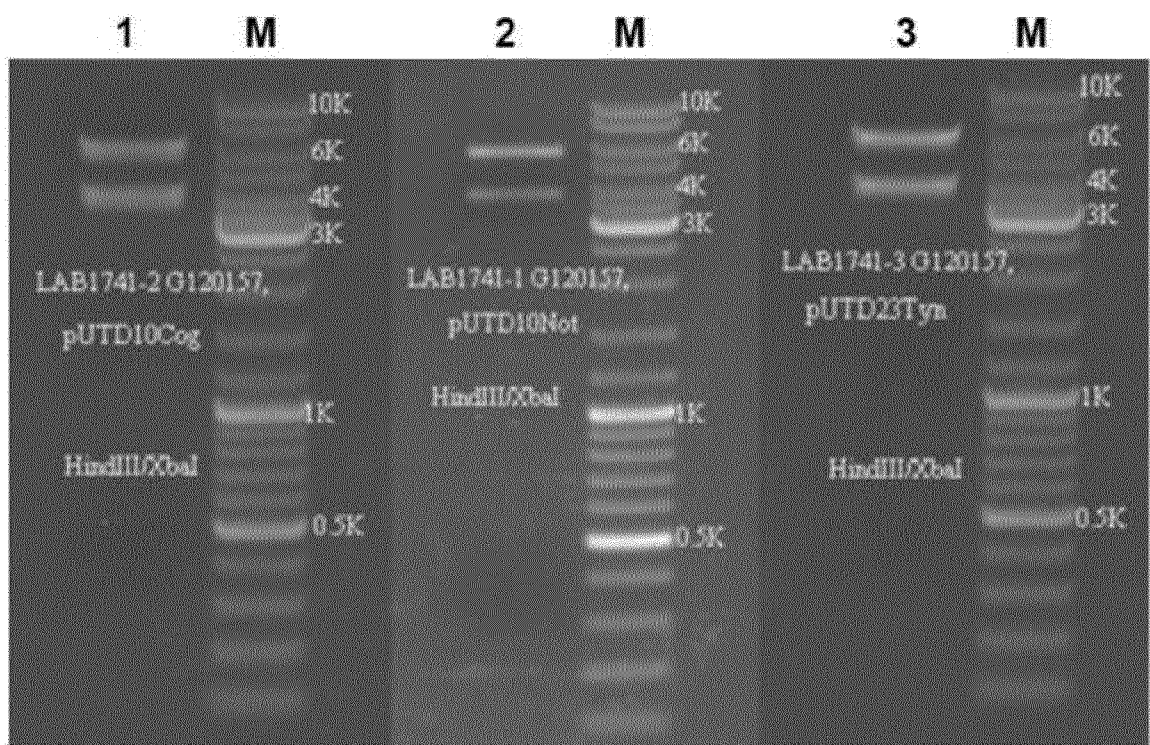
Фиг. 1А



Фиг. 1В

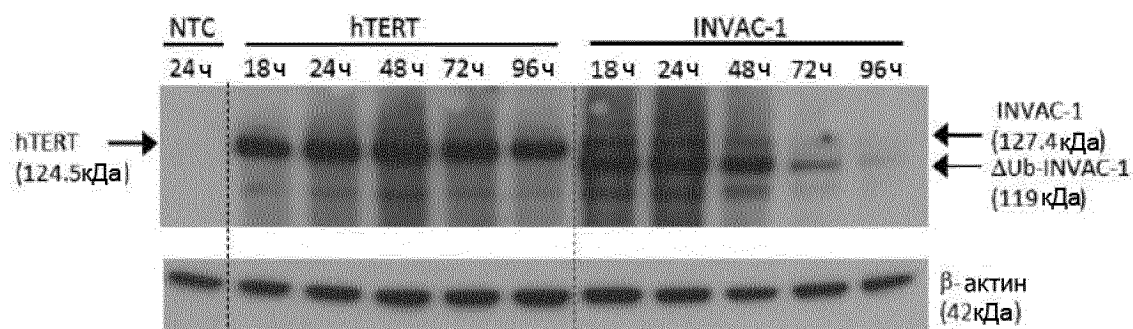


Фиг. 2А

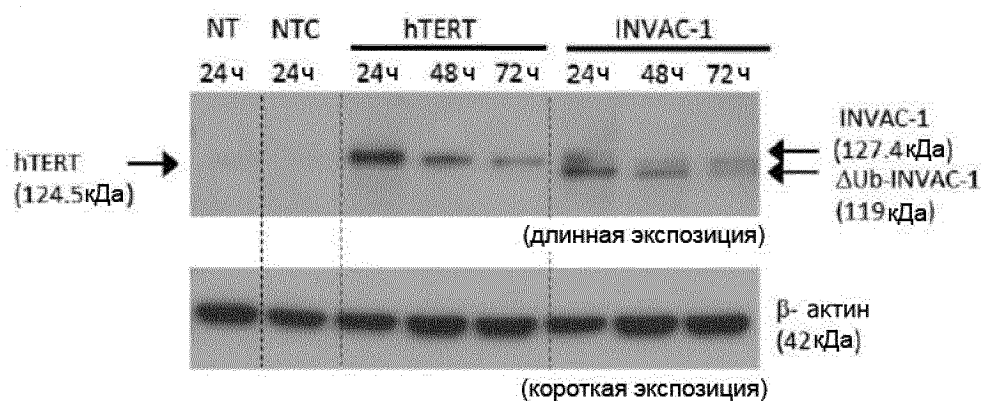


Фиг. 2В

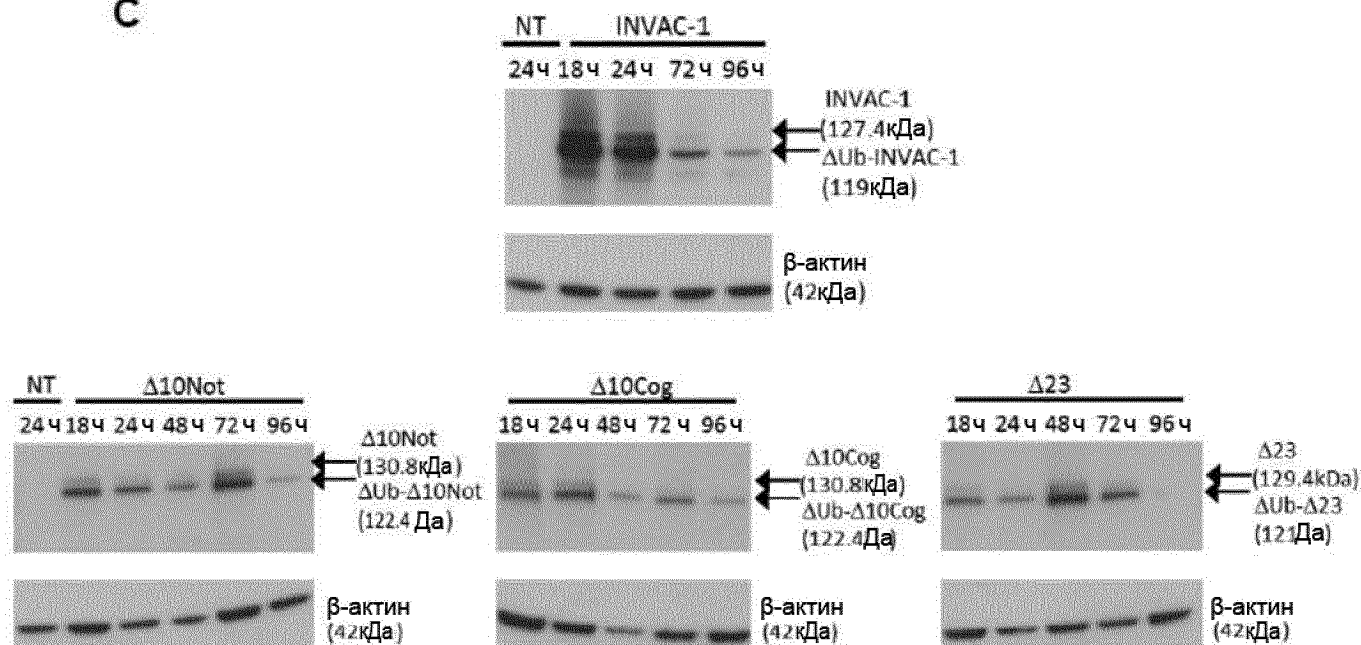
A



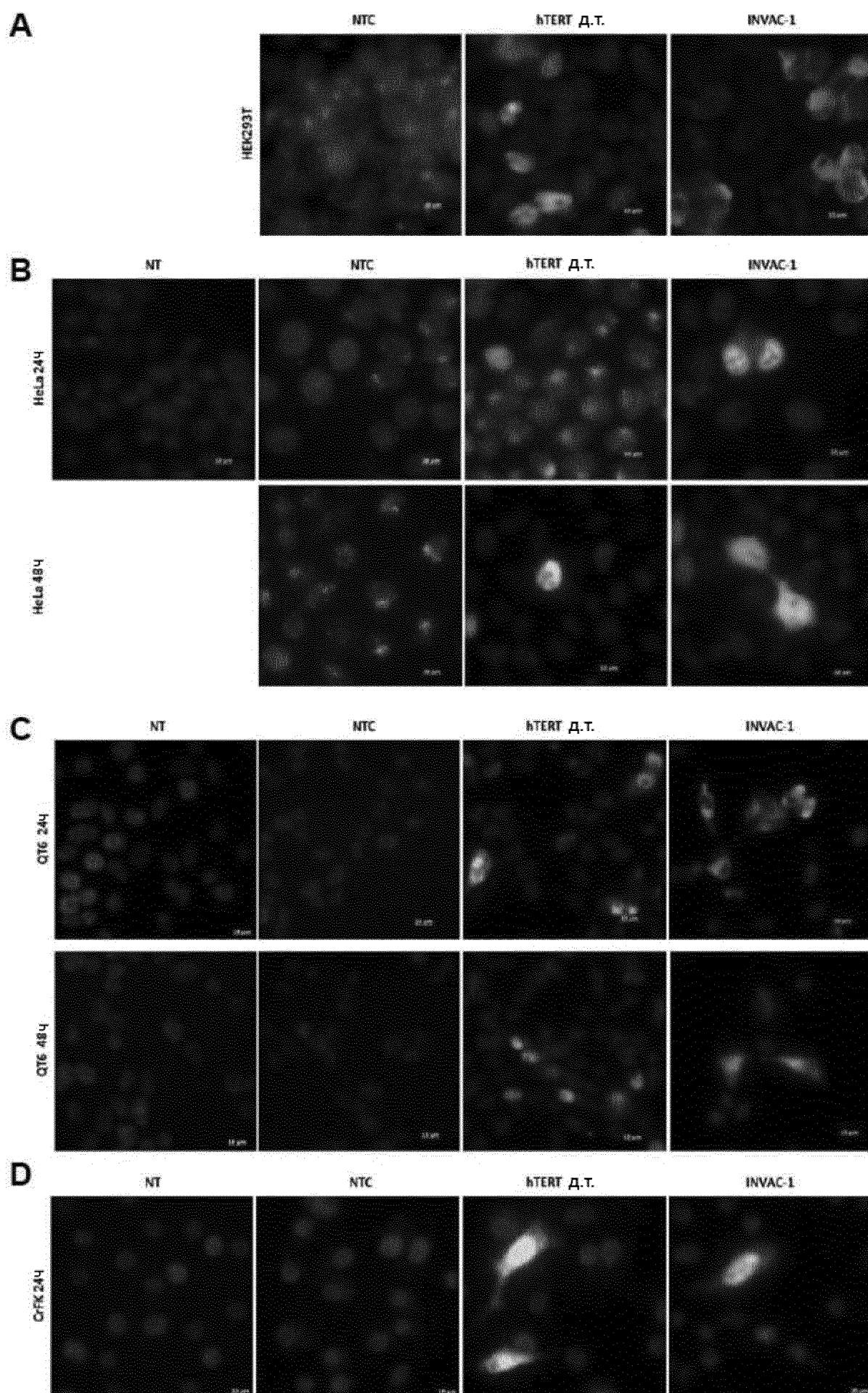
B



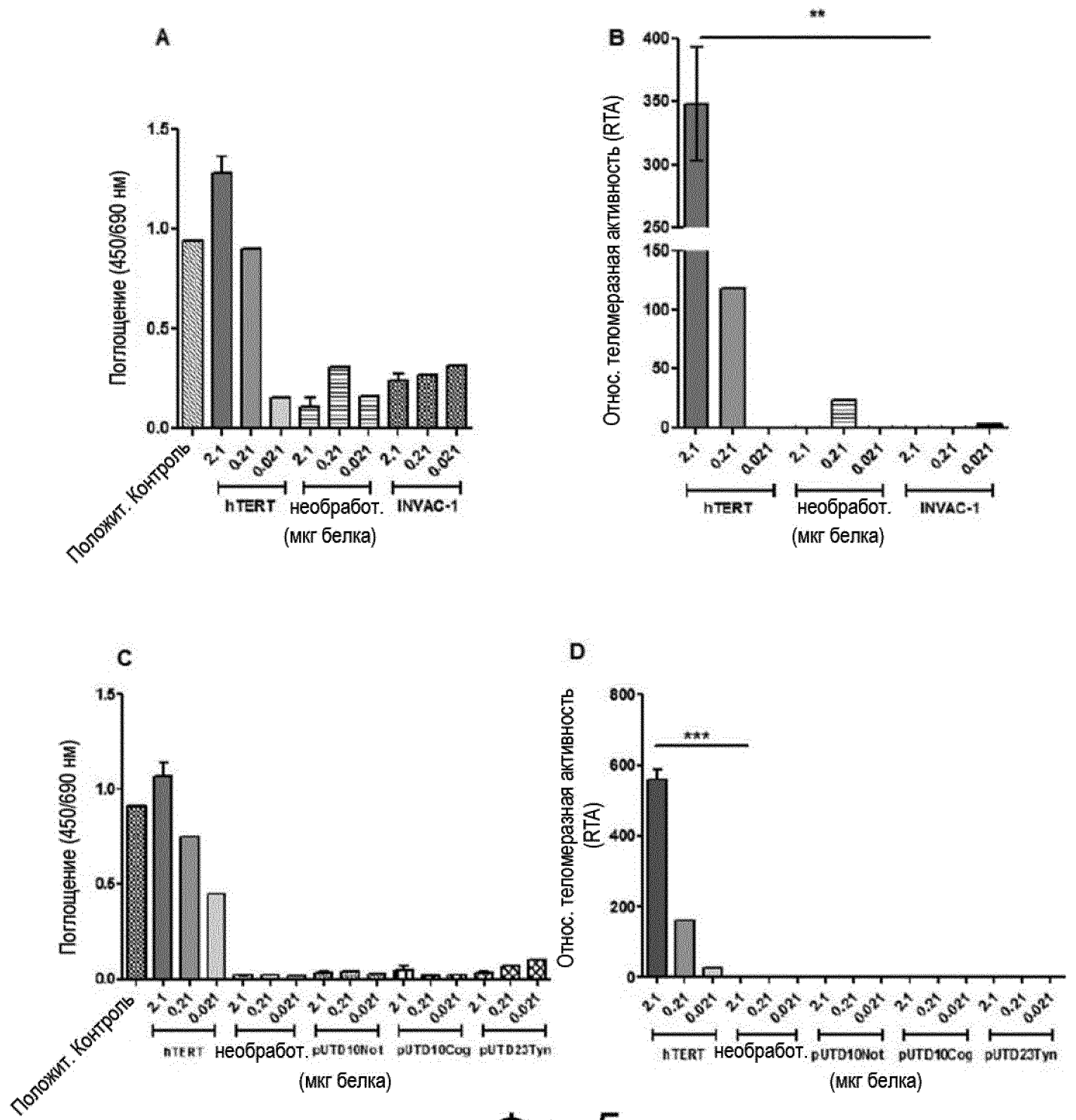
C



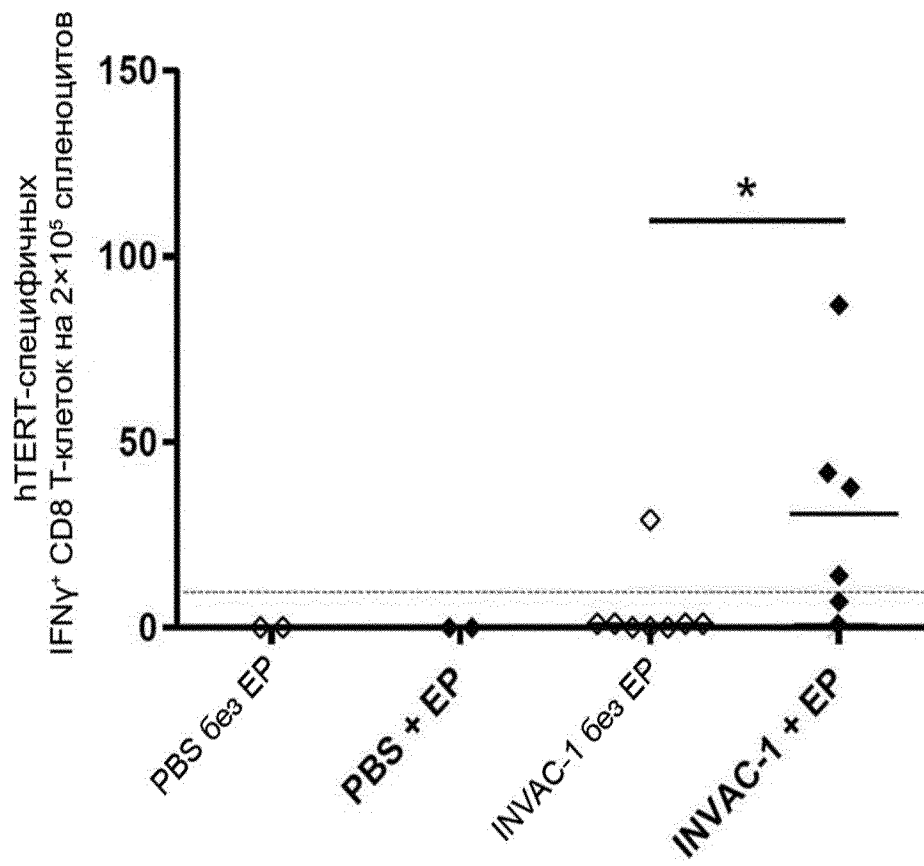
Фиг. 3



Фиг. 4

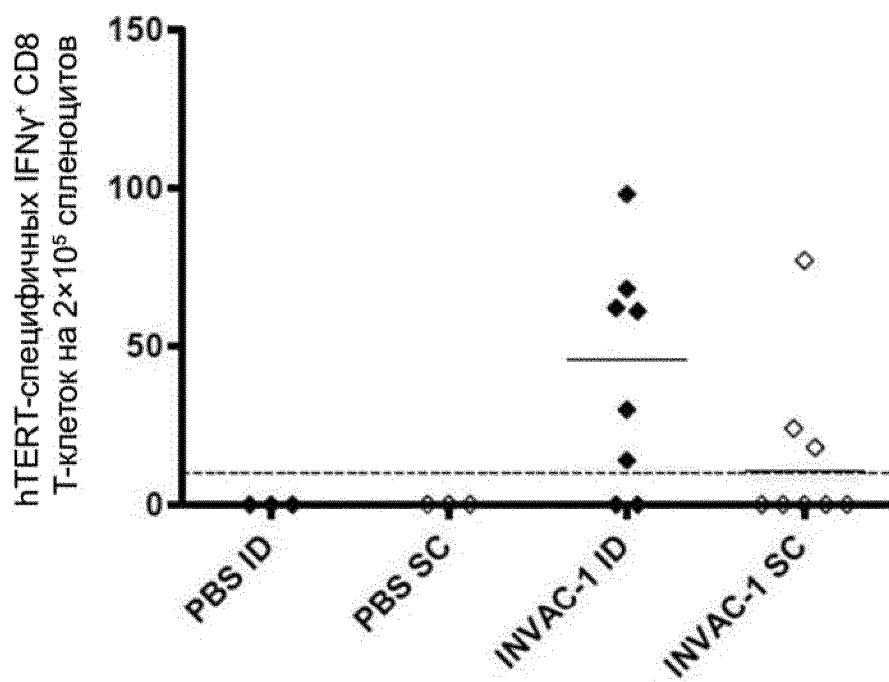


Фиг. 5

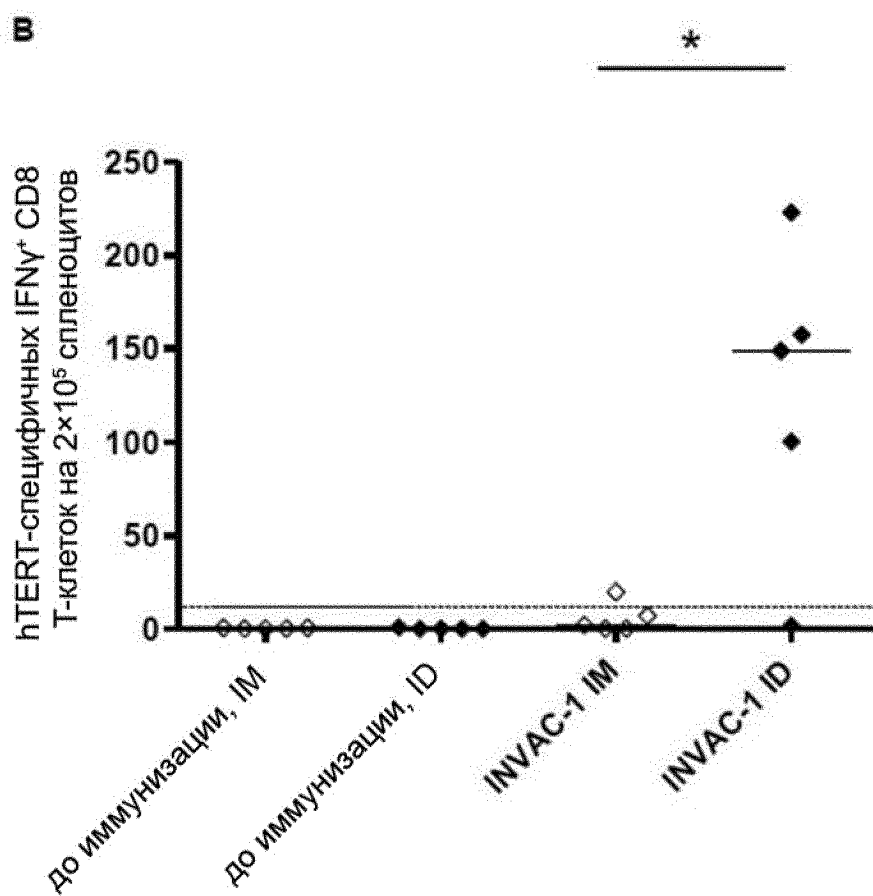


Фиг. 6

A

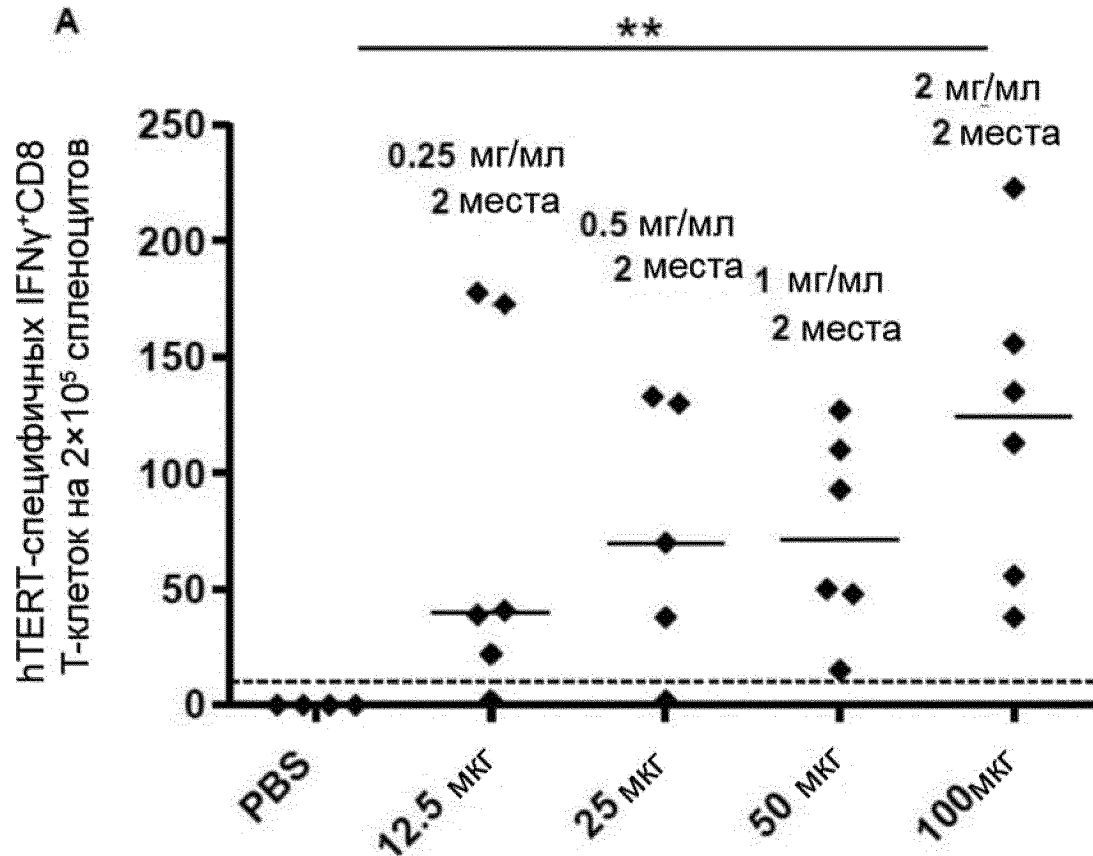


8

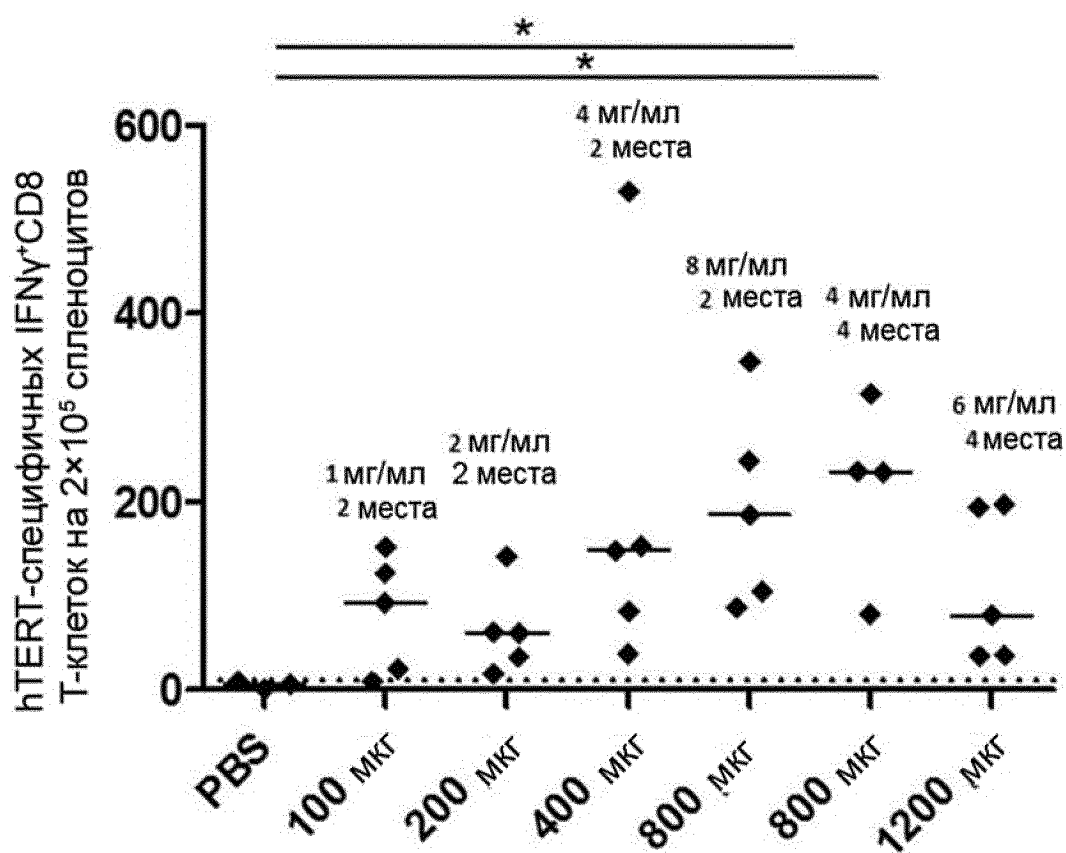


Фиг. 7

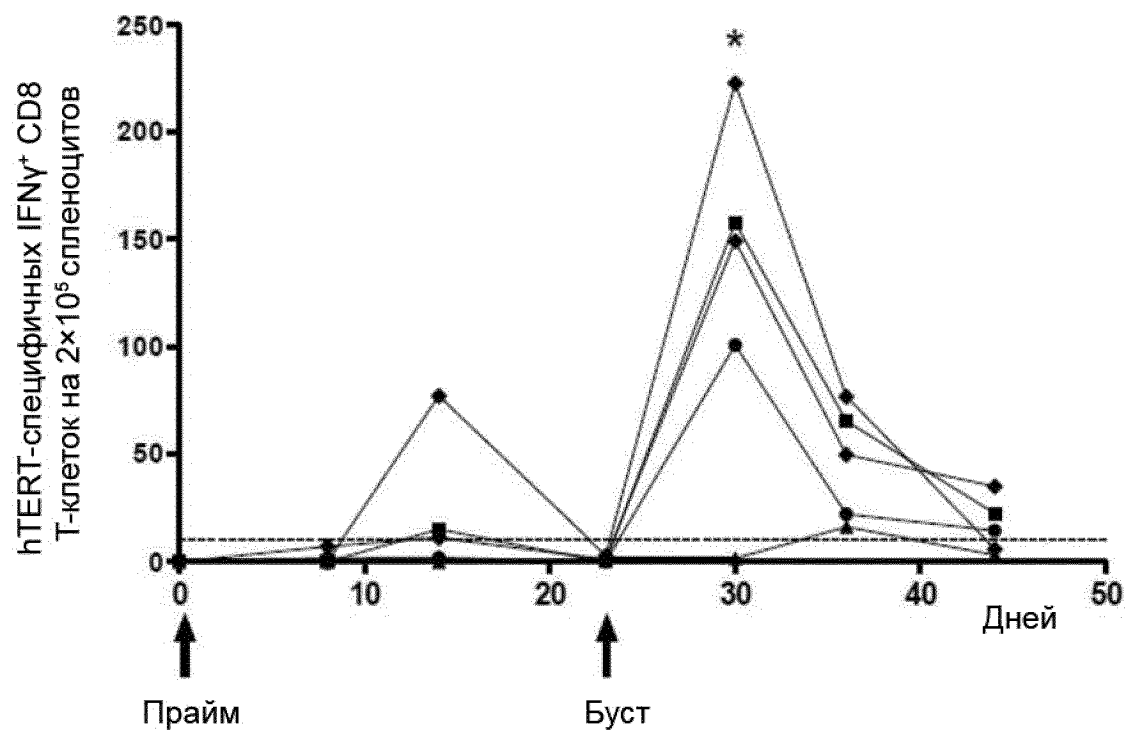
A



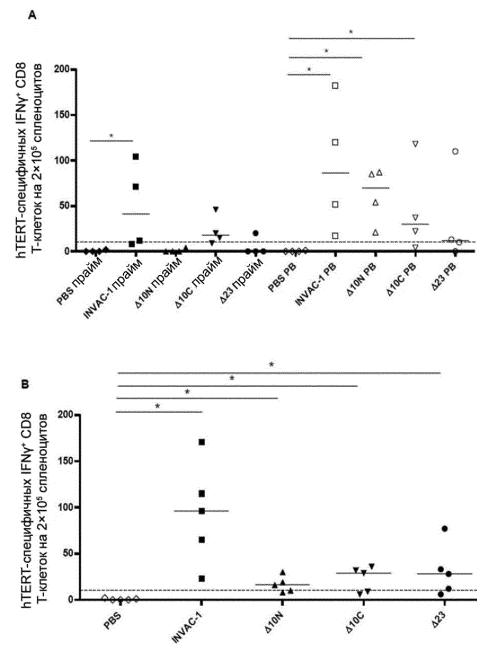
B



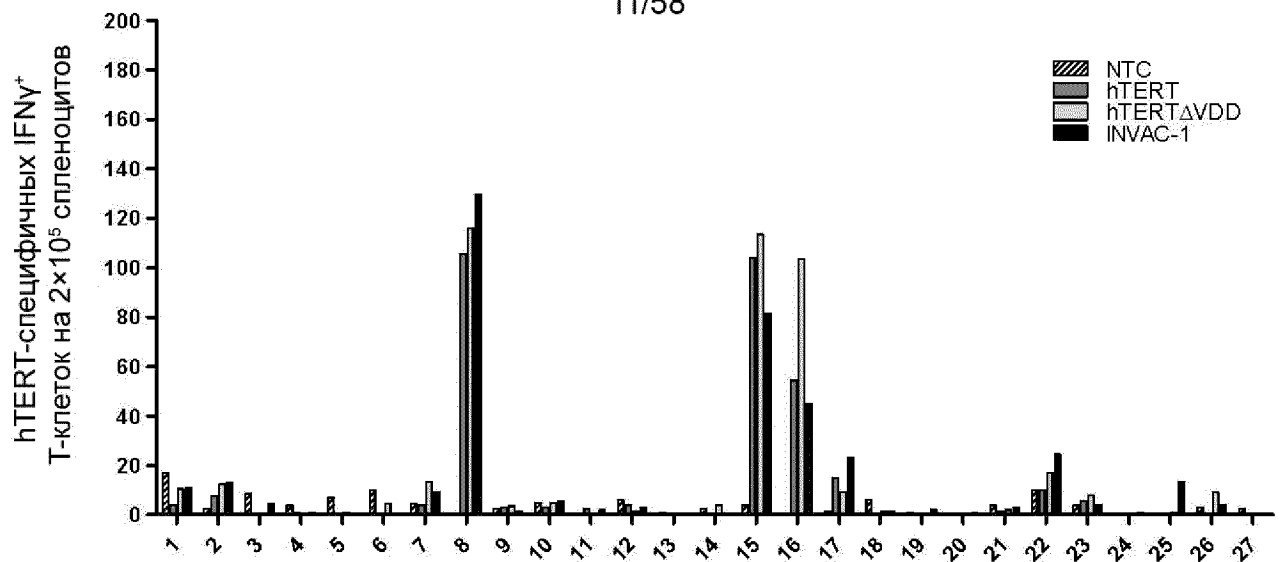
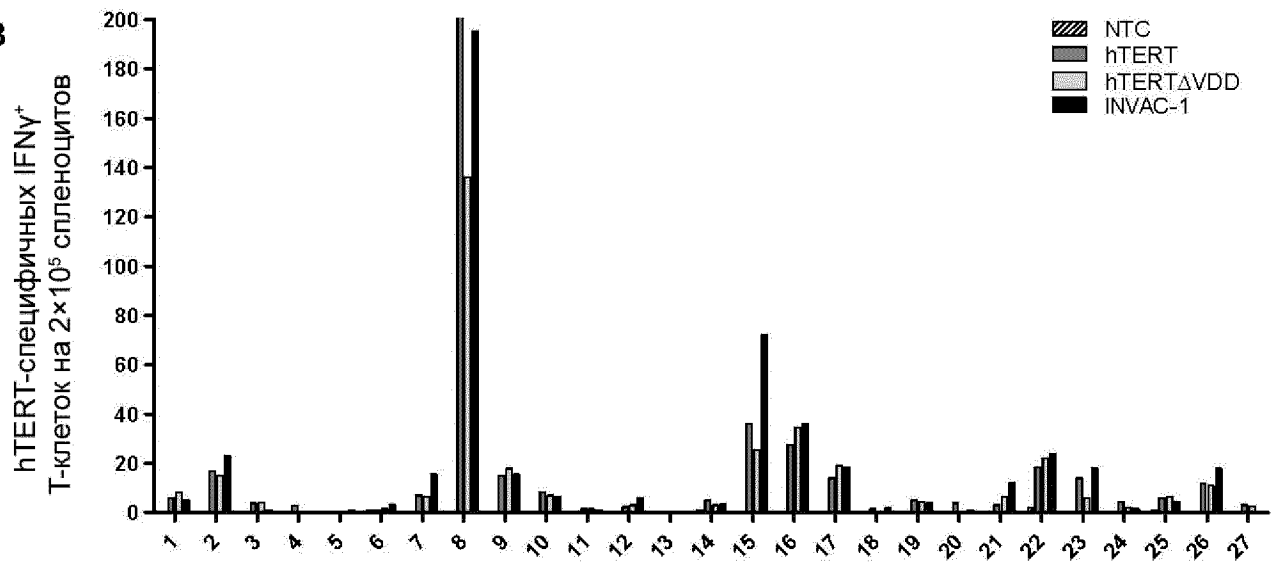
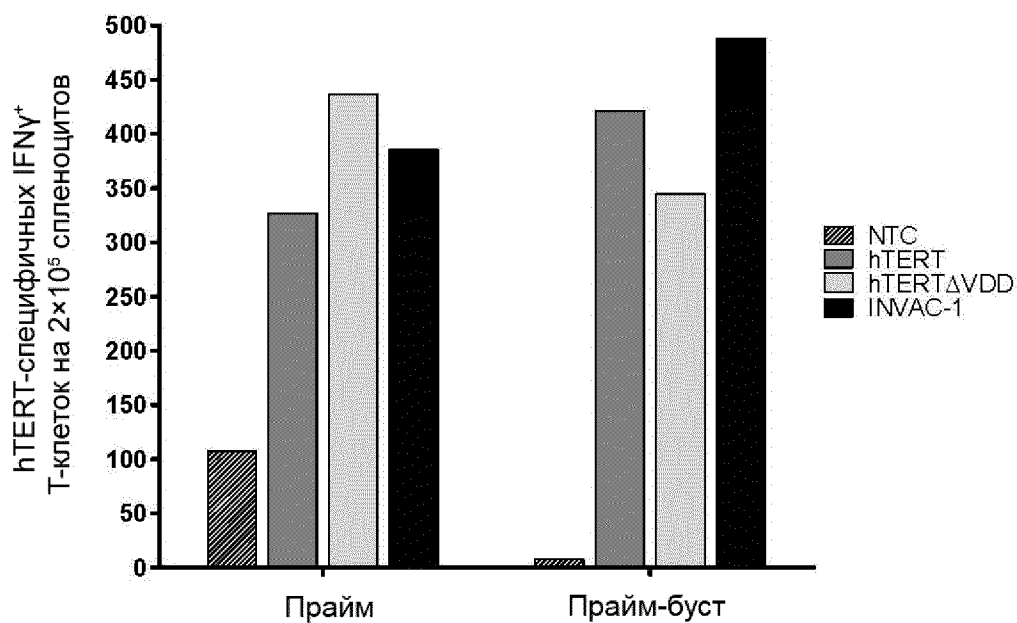
ФИГ. 8



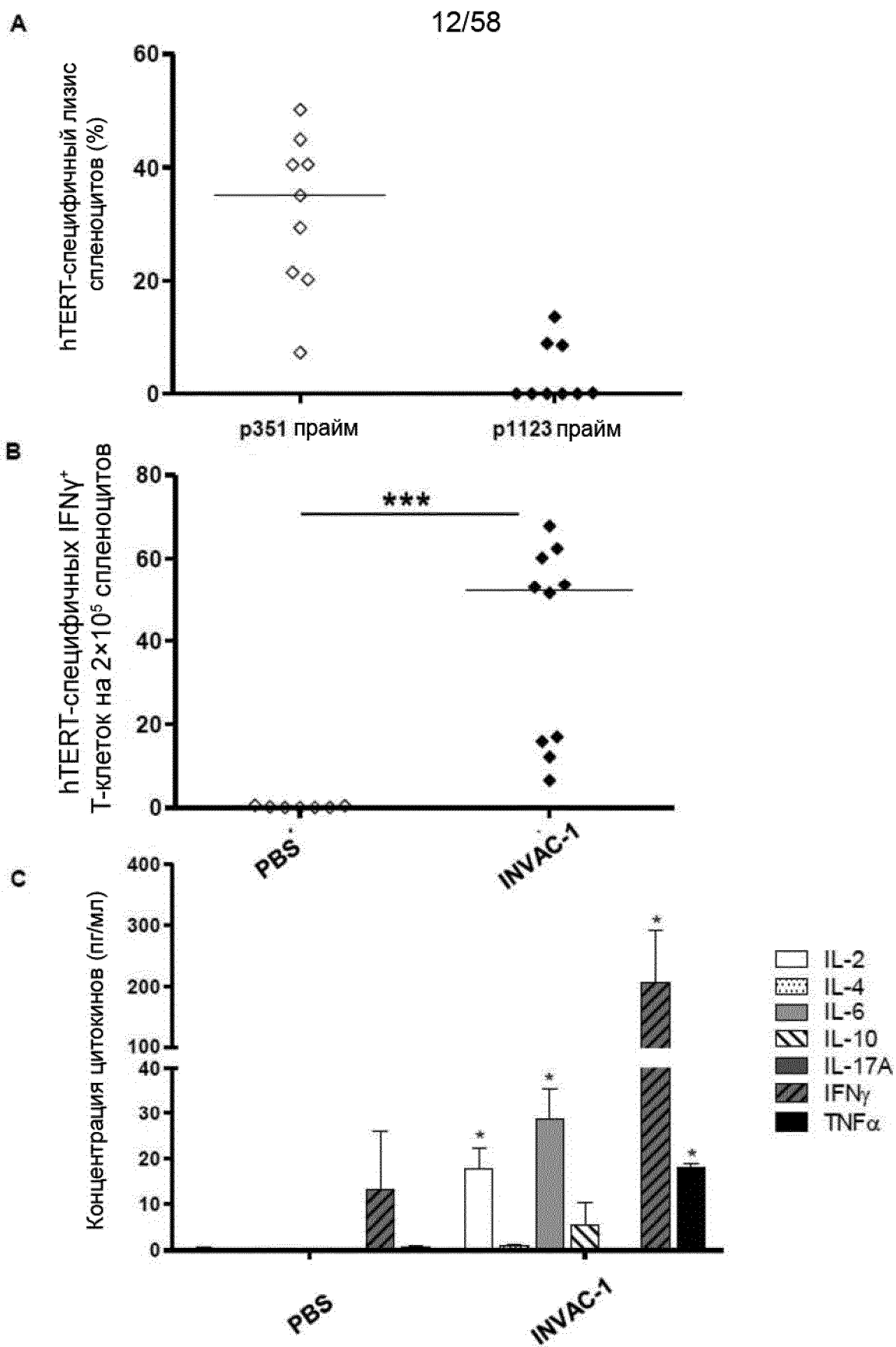
Фиг. 9



Фиг. 10

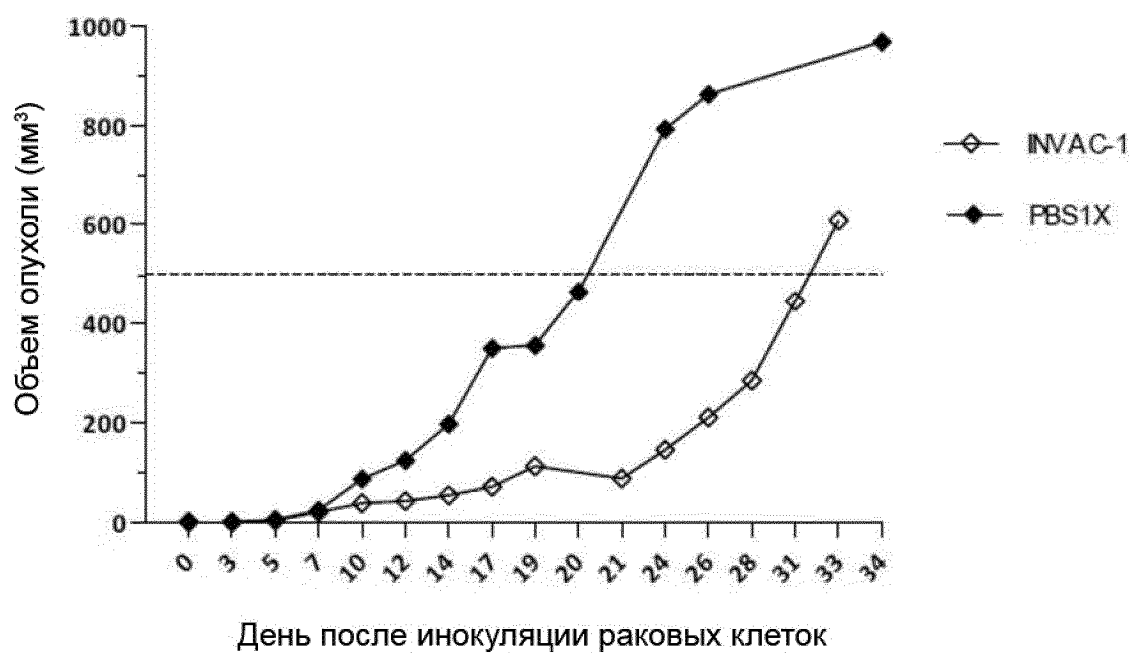
A**B****C**

Фиг. 11

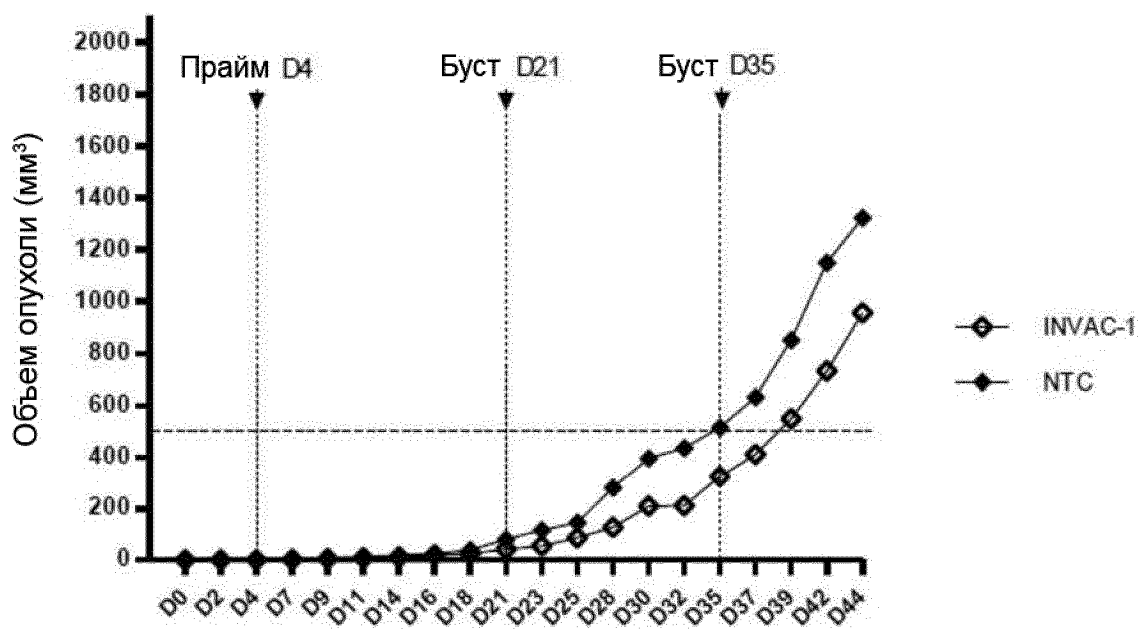


Фиг. 12

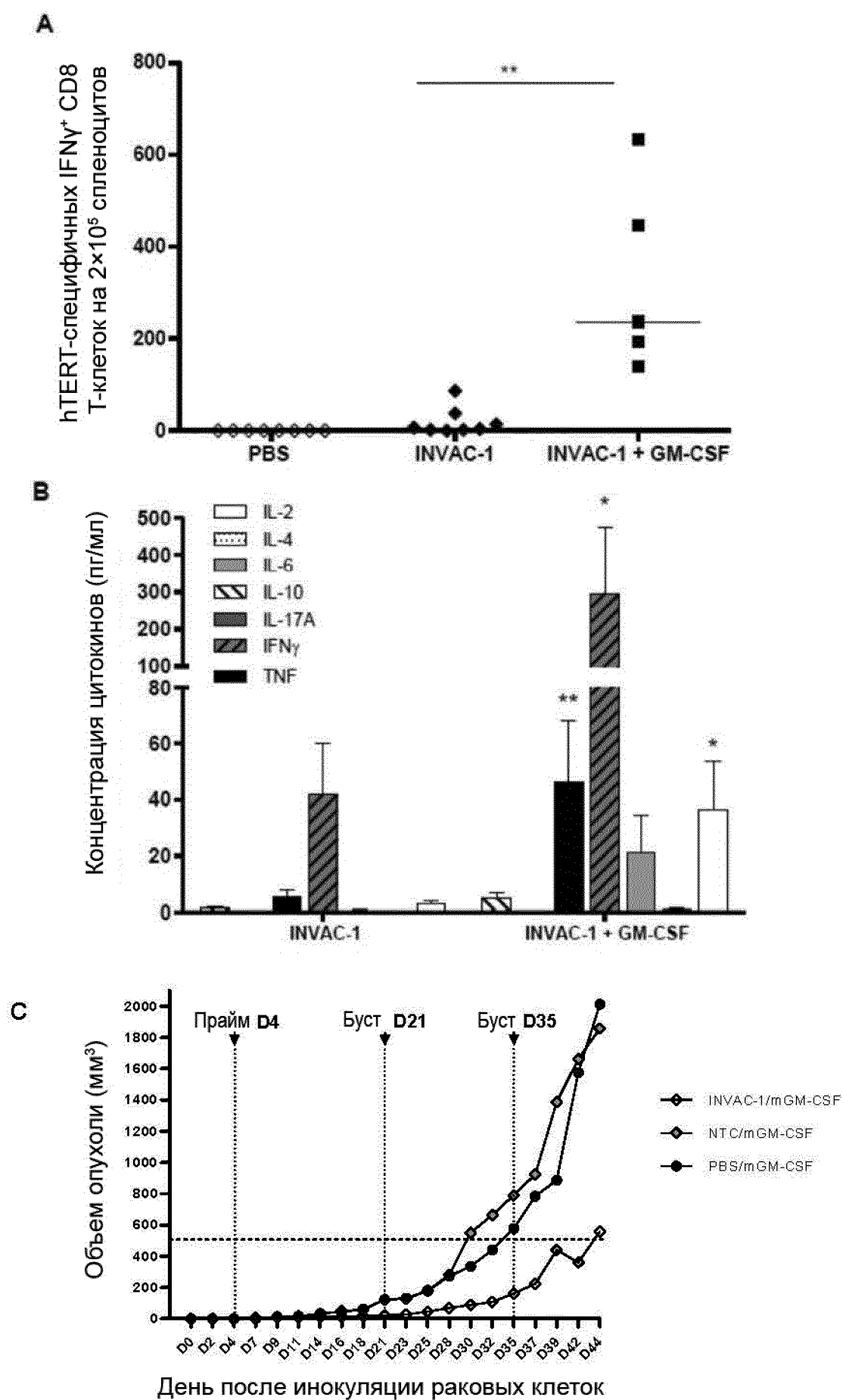
А



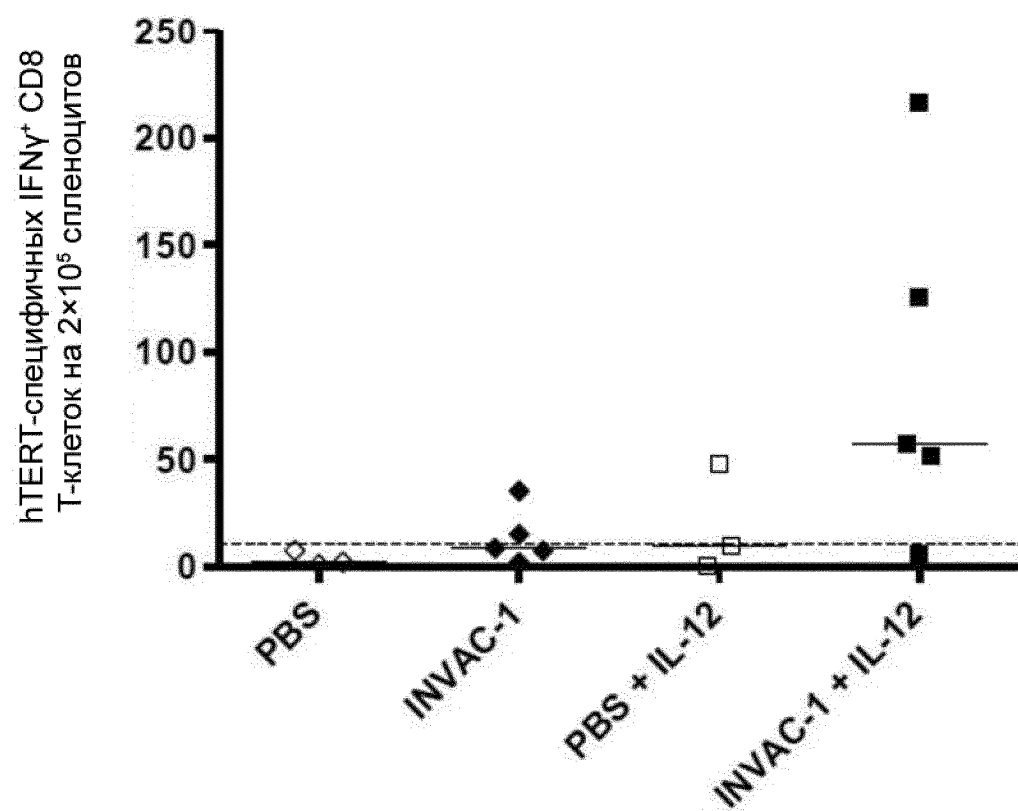
В



Фиг. 13



Фиг. 14



Фиг. 15

NotI < eRNA11a агониста RIG-I

1 gctagcaccggttggtttccgtagtgtagtggttatcacgttcgcctaacacgcgaaaggt 60

< участок дцРНК

61 ccccggttcgaaaccggggcactacaaaccaaacggttaaaaaacaggtcctccccatac 120

121 tctttcattgtacacaccgcaagctcgacaatcatcggttgaagcattgtcgacacat 180

участок дцРНК >

181 cttccacacaggatcagtagctgtttcgcttttaaccaaggcttttctccaaggatat 240

241 ttatagttctcaaaacacacaattactttacagttagggtgagtttcttttgtgctgttt 300

301 tttaaaataataattttagtatttgtatctcttatagaaatccaagcctatcatgtaaaat 360

361 gtagctagttatataaaagaacagattatctgtcttttatcgacattaagcctctatagt 420

421 tactaggaaatatttatatgcaaattaaccggggcaggggagtagccgagcttctcccaca 480

eRNA11a агониста RIG-I > < trpA

481 agtctgtgcgagggggccggcggggcctagagatggcgggctcggtacggccagcccg 540

терминатор прокариот trpA > < РНКI аденовируса 5 VA

541 ctaatgagcgggcttttttttcttaggggtgcaaaaggagagcctgtaagcgggcactctt 600

601 ccgtgggtctggtggataaattcgaagggtatcatggcggaacgacgggggttcgagcccc 660

661 gtatccggccgctccgctgatccatgcggttaccgcccgcgtgtcgaaccaggtgtgc 720

VA RNAI > < PAS-BH

721 gacgtcagacaacgggggagtgctccttttggcttccctccctaccgggtctgctcgcg 780

Удлиненный ориджин репликации, содержащий сайт сборки примосом (PAS-BH)

781 cgtttcgggtgatgacggtgaaaacctctgacacatgcagctcccggagacggtcacagct 840

841 tgtctgtaagcggatgccggggagcagacaagcccgtcagggcgcgtcagcgggtgttggc 900

901 ggggtgtcggggcgcagccatgacccagtcacgtagcgatagcggagtgatactggctta 960

961 actatgcggcatcagagcagattgtactgagagtgaccatatgoggtgtgaaataccgc 1020

PAS-BH >< ориджин репликации pUC

1021 acagatgcgtaaggagaaaaataccgcacatcaggcgctcttccgcttccctcgctcactgact 1080

1081 cgtgcgctcggctcggttcggctgcggcgagcgggtatcagctcactcaaaggcggtaatac 1140

1141 gggtatccacagaatcaggggataaacgcaggaaagaacatgtgagcaaaaggccagcaaa 1200

1201 agggccaggaaccgtaaaaaggccgcgttgctggcggtttttccataggctccgccccctg 1260

1261 acgagcatcacaaaaatcgacgctcaagtcagaggtggcgaaacccgacaggactataaa 1320

1321 gataccaggcggtttccccctggaagctccctcgctgcgctctcctgttccgaccctgccgc 1380

1381 ttaccggatacctgtccgcctttctcccttcgggaagcgtggcgcttttctcatagctcac 1440

1441 gctgtaggtatctcagttcgggtgtaggtcggttcgctccaagctgggctgtgtgcacgaac 1500

1501 ccccggttcagcccgaccgctgcgccttatccggttaactatcgctcttgagtcacaaccgg 1560

1561 taagacacgacttatcgccactggcagcagccactggtaacaggattagcagagcgaggt 1620

1621 atgtaggcgggtgctacagagttcttgaagtggtggcctaactacggtacactagaagaa 1680

1681 cagtatttggtatctgcgctctgctgaagccagttaccttcggaaaaagagttggtagct 1740

1741 cttgatccggcaaaacaaaccaccgctggttagcggtgggttttttgtttgcaagcagcaga 1800

1801 ttacgcgcagaaaaaaggatctcaagaagatcctttgatcttttctacgggggtctgacg 1860

Фиг. 16

```

1861 ctcagtggaacgaaaactcacgttaagggattttgggtcatgagattatcaaaaaggatct 1920
1921 tcacctagatccfttttaattaaaaatgaagtttttaaatcaatctaaagtatatatgagt 1980
1981 aaacttggtctgacagttaccaatgcttaatcagtgaggcacctatctcagcgatctgtc 2040
    ориджин репликации pUC >      DraIII < RNA-OUT
2041 tatttcgttcacatagttgcctgactcctgcaaaccacggttgaggtagaattggtaaa 2100
2101 gagagtcgtgtaaaaatattcgagttcgcacatcttgggtgtctgattattgatttttggcga 2160
2161 aaccatttgatcatatgacaagatgtgtatctaccttaacttaaatgattttgataaaaaat 2220
    RNA-OUT >< Блок энхансера SV40
2221 cattaggttaccccctgatcactgtggaatgtgtgacagttagggtgtggaaagtccccagg 2280
        KpnI      BclI
2281 cccccagcaggcagaagtatgcaaagcatgcatctcaattagtcagcaaccaggtgtgg 2340
2341 aaagtccccaggctccccagcaggcagaagtatgcaaagcatgcatctcaattagtcagc 2400
    Блок энхансера SV40 ><
2401 aaccatagtcccgccccctaactccgccccatccgccccctaactccgcccagttacgggggt 2460
    Блок промотора, содержащий энхансер CMV-IE человека
2461 cattagttcatagcccatatatggagttccgggttacataaacttacggtaaattggcccgcc 2520
2521 ctggctgaccgccccaacgacccccgcccattgacgtcaataatgacgtatgttcccatag 2580
2581 taacgccaatagggactttccattgacgtcaatgggtggagtatttacggtaaactgcc 2640
2641 acttggcagtagcatcaagtgtatcatatgccaaagtacgccccctattgacgtcaatgacg 2700
2701 gtaaatggcccgccctggcattatgccagtagcatgaccttatgggactttcctacttggc 2760
        NcoI
2761 agtacatctacgtatttagtcacgtctattaccatggtgatgcgggttttggcagtagcatca 2820
2821 atgggogtggatagcggtttgactcacggggatttccaagtctccaccccattgacgtca 2880
    ><      Промотор CMV
2881 atgggagtttgtttttggcaccaaaaatcaacgggaactttccaaaaatgtcgtacaactccg 2940
2941 ccccatgacgcataatgggcggtaggcgtgtacgggtgggaggtctatataagcagagctc 3000
    ><      Нетранспируемый лидер (экзон 1)
3001 gtttagtgaaacgctcagatcgccctggagacgcatccacgctgttttgacctccatagaa 3060
    < LTR области R HTLV-1
3061 gacaccggggaccgatccagcctccgcggtctcgcatctctcttcacgcgcccgccgcccct 3120
3121 acctgaggccgcatccacgcgggttgagtcgcgttctgcccgcctcccgccctgtggtgcc 3180
    Нетранспируемый лидер >
3181 tcctgaactgcgtccgccgtctagggtaagtttaaaagctcaggtcgagaccgggcctttgt 3240
3241 ccggcgctcccttgagccctacctagactcagccggctctccacgctttgacctgacctg 3300
    HTLV-1 R >      < 3'-Инtron на основе β-глобина кролика
3301 cttgctcaactctagttctctcgttaacttaatgagacagatagaaactggctctttaga 3360
3361 aacagagtagtgcgctgtttttctgccaggtgctgacttctctccctgggctttttct 3420
    ><      Экзон 2 (сайты связывания белка SR)      SalI>
3421 ttttctcaggttgaaaagaagaagacgaagaagacgaagaagacaaaaccgtcgcgacaa 3480
    HindIII      BglII
3481 gcttaccatgcagatcttcgtgaagaccctgaccggcaagaccatcactctcgaggtgga 3540
        M Q I F V K T L T G K T I T L E V E

```

Фиг. 16 (ПРОДОЛЖЕНИЕ)

< Убиквитин человека

```

3541 gccagtgacaccatcgaaaatgtgaaggccaagatccaagataaagaaggcatcccacc 3600
    P S D T I E N V K A K I Q D K E G I P P
3601 cgaccagcagaggctcatctttgctggcaagcagctggaagatggcgcgcaactctgtctga 3660
    D Q Q R L I F A G K Q L E D G R T L S D
3661 ctacaacatccagaaagagtcgacccctgcacctggctcctgctgtgagaggcgcccggc 3720
    Y N I Q K E S T L H L V L R L R G G R A
                                Убиквитин человека >> hTERT
3721 tctgggtggccagtgccctgggtgtgctgcccctgggacgcacggccacccccctgcccacc 3780
    L V A Q C L V C V P W D A R P P P A A P
    Кодирующая последовательность обратной транскриптазы теломеразы человека (hTERT)
3781 ctcattccgccaaagtgtcctgacctgaaggagctgggtggcccgagtgctgcagaggctgtg 3840
    S F R Q V S C L K E L V A R V L Q R L C
3841 cgagcgcggcgcgagaagaacgtgctggccttcggcttcgcgctgctggacggggctgcggg 3900
    E R G A K N V L A F G F A L L D G A R G
3901 agggccaccgcgagggccttcaccaccagcgtgcgcagctacctgccccaacacggtgaccga 3960
    G P P E A F T T S V R S Y L P N T V T D
3961 cgcactgcgggggagcggggcggtgggggctgctggtgcgcgcgctggggcgacgacgtgct 4020
    A L R G S G A W G L L L R R V G D D V L
4021 ggttcacctgctggcacgctgcgcgctctttgtgctgggtggctcccagctgcgcctacca 4080
    V H L L A R C A L F V L V A P S C A Y Q
4081 ggtgtgcggggcgcgcgctgtaccagctcggcgctgccactcaggcacggcctccacctca 4140
    V C G P P L Y Q L G A A T Q A R P P P H
4141 cgctagtggaaccccgaaaggcgtctgggatgcgaacgggcctggaaccatagcgtcagggga 4200
    A S G P R R R L G C E R A W N H S V R E
4201 ggccgggggtccccctgggcctgccagccccgggtgcgaggaggcgcgggggcagtgccag 4260
    A G V P L G L P A P G A R R R G G S A S
4261 ccgaagtctgcggttgcccaagaggcccaggcgtggcgctgccccctgagccggagcggac 4320
    R S L P L P K R P R R G A A P E P E R T
4321 gcccggttgggcaggggtcctgggcccacccgggcaggacgcgtggaccgagtgaccgtgg 4380
    P V G Q G S W A H P G R T R G P S D R G
4381 tttctgtgtggtgtcacctgccagaccgcgcgaagaagccacctctttggagggtgcgct 4440
    F C V V S P A R P A E E A T S L E G A L
4441 ctctggcagcgcgcactccccccatccgtgggcgcgcagcaccacgcgggccccccatc 4500
    S G T R H S H P S V G R Q H H A G P P S
4501 cacatgcgggccaccacgtccctgggacacgccttgtcccccggtgtacgccgagaccaa 4560
    T S R P P R P W D T P C P P V Y A E T K
4561 gcacttcctctactcctcaggcgacaaggagcagctgcggccatccttctctgctgagctc 4620
    H F L Y S S G D K E Q L R P S F L L S S
4621 tctgaggcccagcctgactggcgctcggaggtcgtggagaccatctttctgggttccag 4680
    L R P S L T G A R R L V E T I F L G S R
4681 gccctggatgccagggaactccccgcaggttgccccgcctgccccagcgtactggcaaat 4740
    P W M P G T P R R L P R L P Q R Y W Q M
4741 gcggccccctgtttctggagctgcttgggaaccacgcgcagtgccccctacgggggtgctcct 4800
    R P L F L E L L G N H A Q C P Y G V L L

```

Фиг. 16 (ПРОДОЛЖЕНИЕ)

4801 caagacgcactgcccgcgtgcgagctgcgggtcaccccagcagccggtgtctgtgcccgga 4860
 K T H C P L R A A V T P A A G V C A R E
 4861 gaagccccagggtctgtggcgcccccgaggaggagacacagacccccgtgcctggt 4920
 K P Q G S V A A P E E E D T D P R R L V
 4921 gcagctgctccgccagcacagcagccccctggcaggtgtacggcttcgtgcgggcctgcct 4980
 Q L L R Q H S S P W Q V Y G F V R A C L
 4981 gcgcgggtggtgccccaggcctctggggctccaggcacacgaacgcgccttcctcag 5040
 R R L V P P G L W G S R H N E R R F L R
 5041 gaacaccaagaagttcatctccctggggaagcatgccaaagctctcgtgcaggagctgac 5100
 N T K K F I S L G K H A K L S L Q E L T
 5101 gtggaagatgagcgtgcggggctgcgcttggtgcgcaggagcccaggggttggtgtgt 5160
 W K M S V R G C A W L R R S P G V G C V
 5161 tcggccgcagagcacgcgtctgcgtgaggagatcctggccaagttcctgcactggctgat 5220
 P A A E H R L R E E I L A K F L H W L M
 5221 gagtgtgtacgtcgtcgagctgctcaggtcattcttttacgtgacggagaccacgtttca 5280
 S V Y V V E L L R S F F Y V T E T T F Q
 5281 aaagaacaggctgtttttctaccggaagagtgtctggagcaagttgcaaagcattggaat 5340
 K N R L F F Y R K S V W S K L Q S I G I
 5341 cagacagcacttgaagaggggtgcagctgcgggagctgtcggaagcagaggtcaggcagca 5400
 R Q H L K R V Q L R E L S E A E V R Q H
 5401 tcgggaagccaggccccgcctgctgaagtcacagactccgcttcacccccaaagcctgacgg 5460
 R E A R P A L L T S R L R F I P K P D G
 5461 gctgcggccgattgtgaacatggactacgtcgtgggagccagaacgttcgcagagaaaa 5520
 L R P I V N M D Y V V G A R T F R R E K
 5521 gagggccgagcgtctcacctcacgggtgaaggcaactgttcagcgtgctcaactacgagcg 5580
 R A E R L T S R V K A L F S V L N Y E R
 5581 ggctcggcgccctggcctcctgggcgcctctgtgctgggcctggacgatatccacagggc 5640
 A R R P G L L G A S V L G L D D I H R A
 5641 ctggcgccacttgcgtgctgcgtgtgcgggcccaggacccgcgcctgagctgtactttgt 5700
 W R T F V L R V R A Q D P P P E L Y F V
 5701 caaggtggatgtgacgggcgcgtacgacaccatccccaggacaggctcacggaggtcat 5760
 K V D V T G A Y D T I P Q D R L T E V I
 5761 cgcagcatcatcaaacccccagaacacgtactgcgtgcgtcggtatgccgtggtccagaa 5820
 A S I I K P Q N T Y C V R R Y A V V Q K
 NcoI
 5821 ggccgc**ccatgggc**cacgtccgcaaggccttcaagagccacgtctctaccttgacagacct 5880
 A A H G H V R K A F K S H V S T L T D L
 5881 ccagccgtacatgcgacagttcgtggctcacctgcaggagaccagccgcgtgagggatgc 5940
 Q P Y M R Q F V A H L Q E T S P L R D A
 5941 cgtcgtcatcgagcagagctcctccctgaatgaggccagcagtggcctcttcgacgtctt 6000
 V V I E Q S S S L N E A S S G L F D V F
 DraIII
 6001 cctacgcttcatgtgccac**cacgccgtg**cgcatcaggggcaagtcctacgtccagtgcca 6060
 L R F M C H H A V R I R G K S Y V Q C Q
 6061 ggg**cat**cccgagggtccatcctctccacgctgctctgcagcctgtgctacggcgacat 6120
 G I P Q G S I L S T L L C S L C Y G D M

6121
ggagaacaagctgtttgcggggattcgggcggaacgggctgctcctgcggtttgttcttgtt 6180
E N K L F A G I R R D G L L L R L F L L
*

6181 ggtgacacctcacctcaccacgcgaaaaaccttcctcaggaccctgggtccgaggtgtccc 6240
V T P H L T H A K T F L R T L V R G V P

6241 tgagtatggctgcgtgggtgaacttgcggaagacagtgggtgaacttcctgtagaagaaga 6300
E Y G C V V N L R K T V V N F P V E D E

6301 ggccctgggtggcagggcttttgttcagatgcgggccacggcctattccctgggtgcgg 6360
A L G G T A F V Q M P A H G L F P W C G

6361 cctgctgctggatacccggaaccttgagggtgcagagcgactactccagctatgcccgga 6420
L L L D T R T L E V Q S D Y S S Y A R T

6421 ctocatcagagccagtctcaccttcaaccggcggttcaaggctgggaggaacatgcgtcg 6480
S I R A S L T F N R G F K A G R N M R R

6481 caaactctttggggctcttgcggtgaagtgtcacagcctgtttctggatttgaggtgaa 6540
K L F G V L R L K C H S L F L D L Q V N

6541 cagcctccagacgggtgtgcaccaacatctacaagatcctcctgctgcagggcgtacaggtt 6600
S L Q T V C T N I Y K I L L L Q A Y R F

6601 tcacgcattgtgtgctgcagctcccatttcacacagcaagtttgaagaacccccacattttt 6660
H A C V L Q L P F H Q Q V W K N P T F F

6661 cctgcgcgtcatctctgacacggcctccctctgctactccatcctgaaagccaagaacgc 6720
L R V I S D T A S L C Y S I L K A K N A

6721 agggatgtcgctgggggccaaggcgccgcggccctctgccctccgagggcgtgcagtg 6780
G M S L G A K G A A G P L P S E A V Q W

6781 gctgtgccaccaagcatttcctgctcaagctgactcgacacggtgtcacctaogtgcact 6840
L C H Q A F L L K L T R H R V T Y V P L

6841 cctgggggtcactcaggacagcccagacgcagctgagtcggaagctcccggggacgacgct 6900
L G S L R T A Q T Q L S R K L P G T T L

Конец ОРФ TERT человека

6901 gactgccctggaggccgcagccaacccggcactgccctcagacttcaagaccatcctgga 6960
T A L E A A A N P A L P S D F K T I L D

> >XbaI BglII < терминатор эукариот

6961 ctaataa**ctctagaagatct**ttttccctctgccaaaattatggggacatcatgaagcccc 7020
□ □

Сигнальная последовательность полиА

7021 ttgagcatctgacttctggcta**aat**aaaggaaattttattttcattgcaatagtgtgttga 7080

терминатор эукариот > NotI

7081 attttttgtgtctctcactcggaaggacataaagg**cgggcc** 7120

Фиг. 16 (ПРОДОЛЖЕНИЕ)

```

< Убиквитин человека
-----|-----|-----|-----|
1 atgcagatttttcgtcaaaacatttgacaggaaagaccatcacactggaagt 50
1 M Q I F V K T L T G K T I T L E V 17

-----|-----|-----|-----|
51 ggagccaagcgacactattgagaacgtcaaagccaagattcaggacaagg 100
18 E P S D T I E N V K A K E Q D K E 34

-----|-----|-----|-----|
101 agggcatcccaccagaccagcagaggtgatttttgcgggaaagcagctg 150
35 G I P P D Q Q R L I F A G K Q L 50

-----|-----|-----|-----|
151 gaggaaggacgcacactcagtgcactacaatatccagaaggaaagtactct 200
51 E D G R T L S D Y N I Q K E S T L 67
      Убиквитин человека ><hTERT
-----|-----|-----|-----|
201 gcattctggtccttcgctgcgcggcggaactggccaccttcgtgcggcgcc 250
68 H L V L R L R G G L A T F V R R L 84

-----|-----|-----|-----|
251 tgggaccccagggtggtggcggtggtgcagcgcggggacccctgctgctttc 300
85 G P Q G W R L V Q R G D P A A F 100

-----|-----|-----|-----|
301 agagctctcgtcgcgccagtggtctggtctgcgttccttgggacgcacggcc 350
101 R A L V A Q C L V C V P W D A R P 117

-----|-----|-----|-----|
351 cccaccgcgcgcgccccagtttcgggcaggtgagttgtctcaaagagttgg 400
118 P P A A P S F R Q V S C L K E L V 134

-----|-----|-----|-----|
401 ttgctcgggtgttgacagcggtttgtgaaaggggagcaaagaacgtcctt 450
135 A R V L Q R L C E R G A K N V L 150

-----|-----|-----|-----|
451 gcccttggcttcgctttgctcgatggagcacgcggagggccctcctgaggc 500
151 A F G F A L L D G A R G G P P E A 167

-----|-----|-----|-----|
501 attcactactagcgtccgggtcctacctgcccaacacagtgaccgacgctc 550
168 F T T S V R S Y L P N T V T D A L 184

-----|-----|-----|-----|
551 tgagagggttcagggtgcctggggtctgctgctgcggagggtgggtgatgat 600
185 R G S G A W G L L L R R V G D D 200

-----|-----|-----|-----|
601 gttctgggttcacctcctggcccggtgtgcctgttctgctggtggctcc 650
201 V L V H L L A R C A L F V L V A P 217

-----|-----|-----|-----|
651 ctccctgcgcataaccaggtctgcggacccccactttatcagctcggcgctg 700
218 S C A Y Q V C G P P L Y Q L G A A 234

-----|-----|-----|-----|
701 ctactcaggcccgccaccaccacacgcctcaggtccaagacgcggctg 750
235 T Q A R P P P H A S G P R R R L 250

-----|-----|-----|-----|
751 ggctgcgaacgggcatggaatcatagcgtgcgggaggcaggtgtgcctct 800
251 G C E R A W N H S V R E A G V P L 267

```

Фиг. 17

```

-----|-----|-----|-----|-----|
801 cggcctgccagcccccgagcaaggagacgcggtggatccgccagtcgct 850
268 G L P A P G A R R R G G S A S R S 284

-----|-----|-----|-----|-----|
851 cactcccccttgccctaagaggccaagaagaggagccgcccctgaacccgag 900
285 L P L P K R P R R G A A P E P E 300

-----|-----|-----|-----|-----|
901 agaacacctgtcggccagggtcctcctgggctcaccocggaaggaccagggg 950
301 R T P V G Q G S W A H P G R T R G 317

-----|-----|-----|-----|-----|
951 cccaagcgataggggcttctgtgtgtgtgcaccagccaggcctgccgaag 1000
318 P S D R G F C V V S P A R P A E E 334

-----|-----|-----|-----|-----|
1001 aggcctacctccttgaaggagccctcagtgccaccaggcattctcatcca 1050
335 A T S L E G A L S G T R H S H P 350

-----|-----|-----|-----|-----|
1051 tctgtgggtaggcagcatcatgccggccccccctctacaagcagacctcc 1100
351 S V G R Q H H A G P P S T S R P P 367

-----|-----|-----|-----|-----|
1101 cagaccttgggacacacctgccaccagtgatgcccagaccaagcact 1150
368 R P W D T P C P P V Y A E T K H F 384

-----|-----|-----|-----|-----|
1151 ttttgattccagtgccgataaagagcagctccggccctctttttctgctc 1200
385 L Y S S G D K E Q L R P S F L L 400

-----|-----|-----|-----|-----|
1201 tcaagcctccgcccctctctgaccggagctcgcaggctgggtggagaccat 1250
401 S S L R P S L T G A R R L V E T I 417

-----|-----|-----|-----|-----|
1251 ctttctgggctcaagaccatggatgccaggccacccccgcagactgccca 1300
418 F L G S R P W M P G T P R R L P R 434

-----|-----|-----|-----|-----|
1301 ggctccccagcggtaactggcagatgcgccctctctttctggaacttctg 1350
435 L P Q R Y W Q M R P L F L E L L 450

-----|-----|-----|-----|-----|
1351 ggtaaccacgcccagtgcccatatggcgctctgtgaagacccactgtcc 1400
451 G N H A Q C P Y G V L L K T H C P 467

-----|-----|-----|-----|-----|
1401 tctgagggccgccgtgacccagccgcccgggtgtgtgtgctagagaaaaac 1450
468 L R A A V T P A A G V C A R E K P 484

-----|-----|-----|-----|-----|
1451 cccagggtcagtggtgcacctgaagaggaggacactgaccctcggccgc 1500
485 Q G S V A A P E E E D T D P R R 500

-----|-----|-----|-----|-----|
1501 cttgtccagttgtcaggcagcattcatcaccatggcagggtgtacggctt 1550
501 L V Q L L R Q H S S P W Q V Y G F 517

-----|-----|-----|-----|-----|
1551 cgtgagggcttgccctgaggagactggcccccccgattgtggggatctc 1600
518 V R A C L R R L V P P G L W G S R 534

-----|-----|-----|-----|-----|
1601 ggcacaacgaacggcgctttctgaggaatacaagaagtttatctccctg 1650
535 H N E R R F L R N T K K F I S L 550

```

Фиг. 17 (ПРОДОЛЖЕНИЕ)

```

-----|-----|-----|-----|-----|
1651 ggcaagcatgcaaagctcagcttgaggagctgacatggaagatgagcgt 1700
551 G K H A K L S L Q E L T W K M S V 567

-----|-----|-----|-----|-----|
1701 tagaggatgcgcatggtcaggggtcacctggagttggatgcgttccag 1750
568 R G C A W L R R S P G V G C V P A 584

-----|-----|-----|-----|-----|
1751 cagcagagcacaggctgcgcgaagagattctcgcaaagtctctgcactgg 1800
585 A E H R L R E E I L A K F L H W 600

-----|-----|-----|-----|-----|
1801 cttatgagcgtctacgtggctcgaactgctgcgggtctttcttctacgtgac 1850
601 L M S V Y V V E L L R S F F Y V T 617

-----|-----|-----|-----|-----|
1851 agagaccacttttcagaagaacagactgttcttctacaggaagtccgtct 1900
618 E T T F Q K N R L F F Y R K S V W 634

-----|-----|-----|-----|-----|
1901 ggagcaagctccagagtattggatttagacagcaccttaagagagttcag 1950
635 S K L Q S I G I R Q H L K R V Q 650

-----|-----|-----|-----|-----|
1951 cttagagagctgtccgaagctgaagtccgccagcacccggaagctcgccc 2000
651 L R E L S E A E V R Q H R E A R P 667

-----|-----|-----|-----|-----|
2001 cgccctcctgacctctcggtgcgggtttattcccaaaccgatggcctta 2050
668 A L L T S R L R F I P K P D G L R 684

-----|-----|-----|-----|-----|
2051 gacctatcgtgaatatggattacgtcgtgggtgcccgcacttttcagaagg 2100
685 P I V N M D Y V V G A R T F R R 700

-----|-----|-----|-----|-----|
2101 gagaagcgcgcgcgagagactgacatctcgcggtgaaggcacttttttctgt 2150
701 E K R A E R L T S R V K A L F S V 717

-----|-----|-----|-----|-----|
2151 gcttaattatgaaagagcccgcagacctgggtcttctcgagagccagcgtgc 2200
718 L N Y E R A R R P G L L G A S V L 734

-----|-----|-----|-----|-----|
2201 tcggcctggatgatataccatcggttgccgcacctttgtgcttcgggtg 2250
735 G L D D I H R A W R T F V L R V 750

-----|-----|-----|-----|-----|
2251 agggcacaggatcctcctcctgagctttattttgtaagttgatgttac 2300
751 R A Q D P P P E L Y F V K V D V T 767

-----|-----|-----|-----|-----|
2301 tggtgcttacgatacaatccctcaggacccggtcacccagggtgatcgct 2350
768 G A Y D T I P Q D R L T E V I A S 784

-----|-----|-----|-----|-----|
2351 ctattatcaaaccocagaaacacctaactgcgtgagaaggtagccgtcggt 2400
785 I I K P Q N T Y C V R R Y A V V 800

-----|-----|-----|-----|-----|
2401 cagaaagccgcacacggacacgtgcgcaaagctttcaaataccacgtgct 2450
801 Q K A A H G H V R K A F K S H V S 817

-----|-----|-----|-----|-----|
2451 taccttgacagacctccagccttatatgcccagtttgctgcacacctgc 2500
818 T L T D L Q P Y M R Q F V A H L Q 834

```

Фиг. 17 (ПРОДОЛЖЕНИЕ)

```

-----|-----|-----|-----|
2501 aggagactagcccccttgagggacgtgtgggtcatcgaacagtcacagctct 2550
835 E T S P L R D A V V I E Q S S S 850

-----|-----|-----|-----|
2551 ctcaatgaggcatcctcagggcctgtttgatgtgttcctgcgcctttatgtg 2600
851 L N E A S S G L F D V F L R F M C 867

-----|-----|-----|-----|
2601 ccaccacgcgcgtgcggattaggggcaagtccttacgtgcagtgccagggca 2650
868 H H A V R I R G K S Y V Q C Q G I 884

-----|-----|-----|-----|
2651 tcccacagggtagcatcctgagcacactgctgtgttagcctgtgctatggc 2700
885 P Q G S I L S T L L C S L C Y G 900

-----|-----|-----|-----|
2701 gatatggagaataaattgttcgccggtatcagaagattcctgctggttac 2750
901 D M E N K L F A G I R R F L L V T 917
*

-----|-----|-----|-----|
2751 ccccatctgactcatgccaaaacatttttgcggactctggttaggggcg 2800
918 P H L T H A K T F L R T L V R G V 934

-----|-----|-----|-----|
2801 tgccagagtatggctgtgtgtgaatttgccgaaaactgtggttaatttc 2850
935 P E Y G C V V N L R K T V V N F 950

-----|-----|-----|-----|
2851 ccagtgaggagcgaagctctcggaggcacagcttttgttcagatgcctgc 2900
951 P V E D E A L G G T A F V Q M P A 967

-----|-----|-----|-----|
2901 ccacggcctgttcccatgggtgcggactgctgctcgatacccggaacctcg 2950
968 H G L F P W C G L L L D T R T L E 984

-----|-----|-----|-----|
2951 aggtgcagtcgcgattatagttcctatgcaagaacatcaattcgggctagc 3000
985 V Q S D Y S S Y A R T S I R A S 1000

-----|-----|-----|-----|
3001 ctgactttcaacaggggcttcaaggccggccggaatatgagaaggaaact 3050
1001 L T F N R G F K A G R N M R R K L 1017

-----|-----|-----|-----|
3051 gttcggagtggttgagacttaagtgtcatagtcttttttggacttgagg 3100
1018 F G V L R L K C H S L F L D L Q V 1034

-----|-----|-----|-----|
3101 tcaattctctccagacagtggtgtaccaacatttataaaaatcctctgtgtg 3150
1035 N S L Q T V C T N I Y K I L L L 1050

-----|-----|-----|-----|
3151 caggcttacagattccatgcctgcgtcctgcagctgcctttccaccagca 3200
1051 Q A Y R F H A C V L Q L P F H Q Q 1067

-----|-----|-----|-----|
3201 ggtgtggaaaaaccctaccttcttctgcgggtgattagcgacaccgcca 3250
1068 V W K N P T F F L R V I S D T A S 1084

-----|-----|-----|-----|
3251 gtctttgctactccatcttgaaagcaaaaaacgctggcatgagcttggga 3300
1085 L C Y S I L K A K N A G M S L G 1100

-----|-----|-----|-----|
3301 gctaaggcgccgctggacctctgccagtggaagcagtcacagtggtgtgtg 3350
1101 A K G A A G P L P S E A V Q W L C 1117

```

```

-----|-----|-----|-----|-----|
3351 tcatcaggettttcctccttaaaactgacacgccaccgcgtgacttacgtcc 3400
1118 H Q A F L L K L T R H R V T Y V P 1134

-----|-----|-----|-----|-----|
3401 cactcctgggctccctgagaactgctcagaccagctttcccggaagctt 3450
1135 L L G S L R T A Q T Q L S R K L 1150

-----|-----|-----|-----|-----|
3451 ccaggcactacccttaccgcactcgaagcagccgccaaccctgccctgcc 3500
1151 P G T T L T A L E A A A N P A L P 1167
      hTERT>< Ter V5
-----|-----|-----|-----|-----|
3501 ctccgacttttaagactatcctggacggcgaagccaattcctaattccattgc 3550
1168 S D F K T I L D G K P I P N P L L 1184
      > СТОП
-----|-----|
3551 tgggcctggactcaacttga 3570
1185 G L D S T □ 1189

```

ФИГ. 17 (ПРОДОЛЖЕНИЕ)

```

< Убиквитин человека
-----|-----|-----|-----|
1 atgcagatttttcgtcaaaacattgacaggaaagaccatcacactggaagt 50
1 M Q I F V K T L T G K T I T L E V 17

-----|-----|-----|-----|
51 ggagccaagcgacactattgagaacgtcaaagccaagattcaggacaagg 100
18 E P S D T I E N V K A K I Q D K E 34

-----|-----|-----|-----|
101 agggcatcccaccagaccagcagaggtgatttttgccggaaagcagctg 150
35 G I P P D Q Q R L I F A G K Q L 50

-----|-----|-----|-----|
151 gaggacgggacgcacactcagtgactacaatatccagaaggaaagtactct 200
51 E D G R T L S D Y N I Q K E S T L 67
      Убиквитин человека >< hTERT
-----|-----|-----|-----|
201 gcatctggctccttcgctcgtgcgcggcggaetggccaccttcgtgcggcgcc 250
68 H L V L R L R G G L A T F V R R L 84

-----|-----|-----|-----|
251 tgggaccccagggtcggcggctggtgcagcgcggggaccctgctgcttcc 300
85 G P Q G W R L V Q R G D P A A F 100

-----|-----|-----|-----|
301 agagctctcgtcgcgccagtgctgtgtcgttccttgggacgcacggcc 350
101 R A L V A Q C L V C V P W D A R P 117

-----|-----|-----|-----|
351 cccaccgcgcgccccagtttccggcaggtgagttgtctcaaagagttgg 400
118 P P A A P S F R Q V S C L K E L V 134

-----|-----|-----|-----|
401 ttgctcgggtgttgacgcggcctttgtgaaaggggagcaaagaacgtcctt 450
135 A R V L Q R L C E R G A K N V L 150

-----|-----|-----|-----|
451 gcccttggcttcgcttgcgtcgatggagcagcgggagggccctcctgaggc 500
151 A F G F A L L D G A R G G P P E A 167

-----|-----|-----|-----|
501 attcactactagcgtcgggtcctacctgcccaacacagtgaccgacgctc 550
168 F T T S V R S Y L P N T V T D A L 184

-----|-----|-----|-----|
551 tgagagggttcaggtgcctggggctcgtcgtcgcggagggtgggtgatgat 600
185 R G S G A W G L L L R R V G D D 200

-----|-----|-----|-----|
601 gttctgggttcacctcctggcccggtgtgccctgttcgtgctgggtggctcc 650
201 V L V H L L A R C A L F V L V A P 217

-----|-----|-----|-----|
651 ctccctgcgcataaccaggtctgcggacccccactttatcagctcggcgtg 700
218 S C A Y Q V C G P P L Y Q L G A A 234

-----|-----|-----|-----|
701 ctactcaggcccccaccaccacacgcctcaggtccaagacgccggctg 750
235 T Q A R P P P H A S G P R R R L 250

-----|-----|-----|-----|
751 ggctgcgaacgggcatggaatcatagcgtgcgggaggcaggtgtgcctct 800
251 G C E R A W N H S V R E A G V P L 267

```

Фиг. 18

```

-----|-----|-----|-----|-----|
801 cggcctgccagcccccgagcaaggagacgcggtggatccgccagtcgct 850
268 G L P A P G A R R R G G S A S R S 284

-----|-----|-----|-----|-----|
851 cactcccccttgccctaagaggccaagaagaggagccgccctgaacccgag 900
285 L P L P K R P R R G A A P E P E 300

-----|-----|-----|-----|-----|
901 agaacacctgtcgccagggctcctgggctcaccocggaaggaccagggg 950
301 R T P V G Q G S W A H P G R T R G 317

-----|-----|-----|-----|-----|
951 cccaagcgataggggcttctgtgtgtgtgcaccagccagggcctgccgaag 1000
318 P S D R G F C V V S P A R P A E E 334

-----|-----|-----|-----|-----|
1001 aggcctacctccttggaggagccctcagtgccaccaggcattctcatcca 1050
335 A T S L E G A L S G T R H S H P 350

-----|-----|-----|-----|-----|
1051 tctgtgggttaggcagcatcatgccggccccccctctacaagcagacctcc 1100
351 S V G R Q H H A G P P S T S R P P 367

-----|-----|-----|-----|-----|
1101 cagaccttgggacacacctgcccaccagtgatgccgagaccaagcact 1150
368 R P W D T P C P P V Y A E T K H F 384

-----|-----|-----|-----|-----|
1151 ttttgattccagtgccgataaagagcagctccggccctcttttctgctc 1200
385 L Y S S G D K E Q L R P S F L L 400

-----|-----|-----|-----|-----|
1201 tcaagcctccgccccctctctgaccggagctcgcaggtggtggagaccat 1250
401 S S L R P S L T G A R R L V E T I 417

-----|-----|-----|-----|-----|
1251 ctttctgggctcaagaccatggatgccaggcacccccccgcagactgccca 1300
418 F L G S R P W M P G T P R R L P R 434

-----|-----|-----|-----|-----|
1301 ggctccccccagcggtaactggcagatgcgccctctctttctggaacttctg 1350
435 L P Q R Y W Q M R P L F L E L L 450

-----|-----|-----|-----|-----|
1351 ggtaaccacgccagtgcccataatggcgctcctgctgaagacccactgtcc 1400
451 G N H A Q C P Y G V L L K T H C P 467

-----|-----|-----|-----|-----|
1401 tctgagggcccgctgacccagcccggtgtgtgtgctagagaaaaac 1450
468 L R A A V T P A A G V C A R E K P 484

-----|-----|-----|-----|-----|
1451 cccagggctcagtggtgcacctgaagaggaggacactgacctcgcgcgc 1500
485 Q G S V A A P E E E D T D P R R 500

-----|-----|-----|-----|-----|
1501 cttgtccagttgctcaggcagcattcatcaccatggcaggtgtacggctt 1550
501 L V Q L L R Q H S S P W Q V Y G F 517

-----|-----|-----|-----|-----|
1551 cgtgagggcttgectgaggagactggteccccccggattgtggggatctc 1600
518 V R A C L R R L V P P G L W G S R 534

-----|-----|-----|-----|-----|
1601 ggcacaacgaacggcgcttttctgaggaatacaagaagtttatctccctg 1650
535 H N E R R F L R N T K K F I S L 550

```

Фиг. 18 (ПРОДОЛЖЕНИЕ)

```

-----|-----|-----|-----|
1651 ggcaagcatgcaaagctcagcttgaggagctgacatggaagatgagcgt 1700
551 G K H A K L S L Q E L T W K M S V 567

-----|-----|-----|-----|
1701 tagaggatgcgcatggetcaggegggtcacctggagttggatgcgttccag 1750
568 R G C A W L R R S P G V G C V P A 584

-----|-----|-----|-----|
1751 cagcagagcacaggctgcgcgaagagattctcgcaaagtctcactgg 1800
585 A E H R L R E E I L A K F L H W 600

-----|-----|-----|-----|
1801 cttatgagcgtctactgtggtcgaactgctgcggtctttcttctactgac 1850
601 L M S V Y V V E L L R S F F Y V T 617

-----|-----|-----|-----|
1851 agagaccacttttcagaagaacagactgttcttctacaggaagtccgtct 1900
618 E T T F Q K N R L F F Y R K S V W 634

-----|-----|-----|-----|
1901 ggagcaagctccagagtattggtatttagacagcaccttaagagagttcag 1950
635 S K L Q S I G I R Q H L K R V Q 650

-----|-----|-----|-----|
1951 cttagagagctgtccgaagctgaagtcgccagcaccgcgaagctcgccc 2000
651 L R E L S E A E V R Q H R E A R P 667

-----|-----|-----|-----|
2001 cgccctcctgacctctcggtgcggtttattcccaaacccgatggcctta 2050
668 A L L T S R L R F I P K P D G L R 684

-----|-----|-----|-----|
2051 gacctatcgtgaatatggattacgtcgtgggtgcccgccacttttcagaagg 2100
685 P I V N M D Y V V G A R T F R R 700

-----|-----|-----|-----|
2101 gagaagcgcgccgagagactgacatctcgcggtgaaggccacttttttctgt 2150
701 E K R A E R L T S R V K A L F S V 717

-----|-----|-----|-----|
2151 gcttaattatgaaagagcccgccagacctggtcttctcggagccagcgtgc 2200
718 L N Y E R A R R P G L L G A S V L 734

-----|-----|-----|-----|
2201 tcggcctggatgatataccatcggttgccgcacctttgtgcttcgggtg 2250
735 G L D D I H R A W R T F V L R V 750

-----|-----|-----|-----|
2251 agggcacaggatcctcctcctgagctttattttgtaaagttgatgttac 2300
751 R A Q D P P P E L Y F V K V D V T 767

-----|-----|-----|-----|
2301 tgggtgcttacgataacaatccctcaggacccggtcacccagggtgatcgct 2350
768 G A Y D T I P Q D R L T E V I A S 784

-----|-----|-----|-----|
2351 ctattatcaaaccgccagaacacctaactgcgtgagaaggtagccgctcgtt 2400
785 I I K P Q N T Y C V R R Y A V V 800

-----|-----|-----|-----|
2401 cagaaagccgcacacggacacgtgcgcgaagctttcaaateccacgtgtc 2450
801 Q K A A H G H V R K A F K S H V S 817

-----|-----|-----|-----|
2451 taccttgacagacctccagccttatatgcccagtttgctgcacacctgc 2500
818 T L T D L Q P Y M R Q F V A H L Q 834

```

Фиг. 18 (ПРОДОЛЖЕНИЕ)

```

-----|-----|-----|-----|-----|
2501 aggagactagcccccttgagggacgctgtggtcatogaacagtcacagctct 2550
835 E T S P L R D A V V I E Q S S S 850

-----|-----|-----|-----|-----|
2551 ctcaatgagggcatcctcagggcctgtttgatgtgttcctgcgcctttatgtg 2600
851 L N E A S S G L F D V F L R F M C 867

-----|-----|-----|-----|-----|
2601 ccaccacgcgcgtgcggattaggggcaagtcttacgtgcagtgccagggca 2650
868 H H A V R I R G K S Y V Q C Q G I 884

-----|-----|-----|-----|-----|
2651 tcccacagggtagcatcctgagcacactgctgtgtagcctgtgctatggc 2700
885 P Q G S I L S T L L C S L C Y G 900

-----|-----|-----|-----|-----|
2701 gatatggagaataaattgttcgccggtatcagaagagacgggtttgctcct 2750
901 D M E N K L F A G F R R D G L L L 917

-----|-----|-----|-----|-----|
2751 gaggctgctgactcatgccaaaacatttttgcggactctggtttagggcg 2800
918 R L L T H A K T F L R T L V R G V 934
      *

-----|-----|-----|-----|-----|
2801 tgccagagtatggctgtgtgtgaatttgccgaaaactgtggtaatttc 2850
935 P E Y G C V V N L R K T V V N F 950

-----|-----|-----|-----|-----|
2851 ccagtggaggacgaagctctcggaggcacagcttttgttcagatgcctgc 2900
951 P V E D E A L G G T A F V Q M P A 967

-----|-----|-----|-----|-----|
2901 ccacggcctgttcccatgggtgcggactgctgctcgatacccggaacctcg 2950
968 H G L F P W C G L L L D T R T L E 984

-----|-----|-----|-----|-----|
2951 aggtgcagtcgcgattatagttcctatgcaagaacatcaattcgggctagc 3000
985 V Q S D Y S S Y A R T S I R A S 1000

-----|-----|-----|-----|-----|
3001 ctgacttttcaacaggggcttcaaggccggccggaatatgagaaggaaact 3050
1001 L T F N R G F K A G R N M R R K L 1017

-----|-----|-----|-----|-----|
3051 gttcggagtggttgagacttaagtgatagtccttttttggacttgacagg 3100
1018 F G V L R L K C H S L F L D L Q V 1034

-----|-----|-----|-----|-----|
3101 tcaattctctccagacagtggtgtaccaacatttataaaaatcctcttgcgtg 3150
1035 N S L Q T V C T N I Y K I L L L 1050

-----|-----|-----|-----|-----|
3151 caggcttacagattccatgcctgcgtcctgcagctgcctttccaccagca 3200
1051 Q A Y R F H A C V L Q L P F H Q Q 1067

-----|-----|-----|-----|-----|
3201 ggtgtggaaaaaacctaccttcttctgcgggtgattagcgacacggcca 3250
1068 V W K N P T F F L R V I S D T A S 1084

-----|-----|-----|-----|-----|
3251 gtctttgctactccatcttgaaagcaaaaaacgctggcatgagcttggga 3300
1085 L C Y S I L K A K N A G M S L G 1100

-----|-----|-----|-----|-----|
3301 gctaaggcgccgctggacacctgcgccagtgaaagcagtcacagtggtgtg 3350
1101 A K G A A G P L P S E A V Q W L C 1117

```

```

-----|-----|-----|-----|-----|
3351 tcatcaggettttcttccttaaactgacacggccacggcgtgacttacgtcc 3400
1118 H Q A F L L K L T R H R V T Y V P 1134

-----|-----|-----|-----|-----|
3401 cactcctgggctccctgagaactgctcagacccagctttcccggaagctt 3450
1135 L L G S L R T A Q T Q L S R K L 1150

-----|-----|-----|-----|-----|
3451 ccaggcactacccttacggcactcgaagcagccgccaaccctgccctgcc 3500
1151 P G T T L T A L E A A A N P A L P 1167
      hTERT>< Ter V5
-----|-----|-----|-----|-----|
3501 ctccgactttaagactatcctggacgggcaagccaattcctaataccattgc 3550
1168 S D F K T I L D G K P I P N P L L 1184
      >СТОП
-----|-----|
3551 tgggcctgggactcaacttga 3570
1185 G L D S T □ 1189

```

Фиг. 18 (ПРОДОЛЖЕНИЕ)

```

< Убиквитин человека
-----|-----|-----|-----|
1 atgcagattttcgtcaaaacattgacaggaaagaccatcacactggaagt 50
1 M Q I F V K T L T G K T I T L E V 17

-----|-----|-----|-----|
51 ggagccaagcgacactattgagaacgtcaaagccaagattcaggacaagg 100
18 E P S D T I E N V K A K I Q D K E 34

-----|-----|-----|-----|
101 agggcatcccaccagaccagcagaggctgatttttgcgggaaagcagctg 150
35 G I P P D Q Q R L I F A G K Q L 50

-----|-----|-----|-----|
151 gaggacgggacgcacactcagtgactacaatatccagaaggaaagtactct 200
51 E D G R T L S D Y N I Q K E S T L 67
      Убиквитин человека ><      hTERT
-----|-----|-----|-----|
201 gcatctggtccttcgcctgcgcggcggaactggccaccttcgtgcggcgcc 250
68 H L V L R L R G G L A T F V R R L 84

-----|-----|-----|-----|
251 tgggaccccagggtcggcggtcgtgcagcgcggggacccctgctgcttcc 300
85 G P Q G W R L V Q R G D P A A F 100

-----|-----|-----|-----|
301 agagctctcgtcgcacagtgctcgtcgttccttgggaacgcacggcc 350
101 R A L V A Q C L V C V P W D A R P 117

-----|-----|-----|-----|
351 cccaccgcgcgcgcgcagtttcgggcaggtgagttgtctcaaagagtgg 400
118 P P A A P S F R Q V S C L K E L V 134

-----|-----|-----|-----|
401 ttgctcgggtgttgacgcggctttgtgaaagggagcaaagaacgtcctt 450
135 A R V L Q R L C E R G A K N V L 150

-----|-----|-----|-----|
451 gcccttggcttcgtcttgctcgatggagcacgcggaggccctcctgagge 500
151 A F G F A L L D G A R G G P P E A 167

-----|-----|-----|-----|
501 attcactactagcgtccgggtcctacctgcccacacagtgaccgacgctc 550
168 F T T S V R S Y L P N T V T D A E 184

-----|-----|-----|-----|
551 tgagagggttcaggtgcctggggtctgctgctgcggagggtgggtgatgat 600
185 R G S G A W G L L L R R V G D D 200

-----|-----|-----|-----|
601 gttctgggttcacctcctggcccggtgtgccctgttcgtgctgggtggctcc 650
201 V L V H L L A R C A L F V L V A P 217

-----|-----|-----|-----|
651 ctctcgggcataaccagggtctgcggacccccactttatcagctcggcgctg 700
218 S C A Y Q V C G P P L Y Q L G A A 234

-----|-----|-----|-----|
701 ctactcaggccccgccaccaccacacgcctcaggtccaagacgccggctg 750
235 T Q A R P P P H A S G P R R R L 250

-----|-----|-----|-----|
751 ggtcgcgaacgggcatggaatcatagcgtgcgggaggcaggtgtgcctct 800
251 G C E R A W N H S V R E A G V P L 267

```

```

-----|-----|-----|-----|-----|
801 cggcctgccagcccccggagcaaggagacgcggtggatccgccagtcgct 850
268 G L P A P G A R R R G G S A S R S 284

-----|-----|-----|-----|-----|
851 cactcccccttgccctaagaggccaagaagaggagccgcccctgaaccggag 900
285 L P L P K R P R R G A A P E P E 300

-----|-----|-----|-----|-----|
901 agaacaacctgtcggccagggtcctctgggctcaccgccgaaggaccagggg 950
301 R T P V G Q G S W A H P G R T R G 317

-----|-----|-----|-----|-----|
951 cccaagcgataggggttctgtgtgtgtgtcaccagccaggcctgccgaag 1000
318 P S D R G F C V V S P A R P A E E 334

-----|-----|-----|-----|-----|
1001 aggcctacctccttgaaggagccctcagtgccaccaggcattctcatcca 1050
335 A T S L E G A L S G T R H S H P 350

-----|-----|-----|-----|-----|
1051 tctgtgggtaggcagcatcatgcgcgcgcgcctctacaagcagacctcc 1100
351 S V G R Q H H A G P P S T S R P P 367

-----|-----|-----|-----|-----|
1101 cagaccttgggacacaccctgccaccagtggtatgccgagaccaagcact 1150
368 R P W D T P C P P V Y A E T K H F 384

-----|-----|-----|-----|-----|
1151 ttttgtattccagtgccgataaagagcagctccggccctcttttctgtctc 1200
385 L Y S S G D K E Q L R P S F L L 400

-----|-----|-----|-----|-----|
1201 tcaagcctccgcccctctctgaccggagctcgcaggtggtggagaccat 1250
401 S S L R P S L T G A R R L V E T I 417

-----|-----|-----|-----|-----|
1251 ctttctgggctcaagaccatggatgccaggcacccccgcagactgccc 1300
418 F L G S R P W M P G T P R R L P R 434

-----|-----|-----|-----|-----|
1301 ggctccccagcgggtactggcagatgcgcctctctttctggaacttctg 1350
435 L P Q R Y W Q M R P L F L E L L 450

-----|-----|-----|-----|-----|
1351 ggtaaccacgcccagtgcccatatggcgtcctgctgaagaccactgtcc 1400
451 G N H A Q C P Y G V L L K T H C P 467

-----|-----|-----|-----|-----|
1401 tctgaggggcgcgctgacccccagccgcgggtgtgtgtgctagagaaaaac 1450
468 L R A A V T P A A G V C A R E K P 484

-----|-----|-----|-----|-----|
1451 cccagggtcagtggtgcacctgaagaggaggacactgacctcgcgcgc 1500
485 Q G S V A A P E E E D T D P R R 500

-----|-----|-----|-----|-----|
1501 cttgtccagttgctcaggcagcattcatcaccatggcaggtgtacggctt 1550
501 L V Q L L R Q H S S P W Q V Y G F 517

-----|-----|-----|-----|-----|
1551 cgtgagggtcttgctcgggagactgggtcccccccgattgtggggatctc 1600
518 V R A C L R R L V P P G L W G S R 534

-----|-----|-----|-----|-----|
1601 ggcacaacgaacgcgcgttttctgaggaatacaagaagtttatctccctg 1650
535 H N E R R F L R N T K K F I S L 550

```

Фиг. 19 (ПРОДОЛЖЕНИЕ)

```

-----|-----|-----|-----|
1651 ggcaagcatgcaaagctcagcttgccaggagctgacatggaagatgagcgt 1700
551 G K H A K L S L Q E L T W K M S V 567

-----|-----|-----|-----|
1701 tagaggatgcgcatggctcagggcggtcacctggagttggatgcgttcag 1750
568 R G C A W L R R S P G V G C V P A 584

-----|-----|-----|-----|
1751 cagcagagcacaggctgcgcgaagagattctcgcaaagttcctgcactgg 1800
585 A E H R L R E E I L A K F L H W 600

-----|-----|-----|-----|
1801 cttatgagcgtctacgtggctcgaactgctgcggctctttctctacgtgac 1850
601 L M S V Y V V E L L R S F F Y V T 617

-----|-----|-----|-----|
1851 agagaccacttttcagaagaacagactgttcttctacaggaagtccgtct 1900
618 E T T F Q K N R L F F Y R K S V W 634

-----|-----|-----|-----|
1901 ggagcaagctccagagtattggattagacagcaccttaagagagttcag 1950
635 S K L Q S I G I R Q H L K R V Q 650

-----|-----|-----|-----|
1951 cttagagagctgtccgaagctgaagtcgccagcacccgcgaagctcgccc 2000
651 L R E L S E A E V R Q H R E A R P 667

-----|-----|-----|-----|
2001 cgccctcctgacctctcggtgcgggtttattcccaaacccgatggcctta 2050
668 A L L T S R L R F I P K P D G L R 684

-----|-----|-----|-----|
2051 gacctatcgtgaatatggattacgtcgtgggtgcccgccacttttcagaagg 2100
685 P I V N M D Y V V G A R T F R R 700

-----|-----|-----|-----|
2101 gagaagcgcgcgcgagagactgacatctcgcgtgaaggcacttttttctgt 2150
701 E K R A E R L T S R V K A L F S V 717

-----|-----|-----|-----|
2151 gcttaattatgaaagagcccgcagacctgggtcttctcggagccagcgtgc 2200
718 L N Y E R A R R P G L L G A S V L 734

-----|-----|-----|-----|
2201 tcggcctggatgatatccatcggttgccgcacctttgtgcttcgggtg 2250
735 G L D D I H R A W R T F V L R V 750

-----|-----|-----|-----|
2251 agggcacaggatcctcctcctgagctttattttgtaaagttgatgttac 2300
751 R A Q D P P P E L Y F V K V D V T 767

-----|-----|-----|-----|
2301 tgggtgcttacgataacaatccctcaggaccggctcaccgaggtgatcgct 2350
768 G A Y D T I P Q D R L T E V I A S 784

-----|-----|-----|-----|
2351 ctattatcaaaccacagaacacctaactgcgtgagaaggtacgcgtcggt 2400
785 I I K P Q N T Y C V R R Y A V V 800

-----|-----|-----|-----|
2401 cagaaaagccgcacacggacacgtgcgcaaagctttcaaattccacgtgtc 2450
801 Q K A A H G H V R K A F K S H V S 817

-----|-----|-----|-----|
2451 taccttgacagacctccagccttatatgcggcagtttgctgcacacctgc 2500
818 T L T D L Q P Y M R Q F V A H L Q 834

```

Фиг. 19 (ПРОДОЛЖЕНИЕ)

```

-----|-----|-----|-----|-----|
2501 aggagactagcccccttgagggacgctgtggtcatcgaaacagtcacagctct 2550
835 E T S P L R D A V V I E Q S S S 850

-----|-----|-----|-----|-----|
2551 ctcaatgagggcatcctcaggcctgtttgatgtgttcctgcgcctttatgtg 2600
851 L N E A S S G L F D V F L R F M C 867

-----|-----|-----|-----|-----|
2601 ccaccacgcgcgtgcggattaggggcaagtcttacgtgcagtgccagggca 2650
868 H H A V R I R G K S Y V Q C Q G I 884

-----|-----|-----|-----|-----|
2651 tcccacagggtagcatcctgagcacactgctgtgtagcctgtgctatggc 2700
885 P Q G S I L S T L L C S L C Y G 900

-----|-----|-----|-----|-----|
2701 gatatggagaataaattgttcgccgggtgccaaaacatttttgcggactct 2750
901 D M E N K L F A G A K T F L R T L 917
*

-----|-----|-----|-----|-----|
2751 ggtaggggctgcagagtatggctgtgttggaatttgcggaactg 2800
918 V R G V P E Y G C V V N L R K T V 934

-----|-----|-----|-----|-----|
2801 tggtaattttcccagtgagggaacgaagctctcggaggcacagcttttgtt 2850
935 V N F P V E D E A L G G T A F V 950

-----|-----|-----|-----|-----|
2851 cagatgcctgcccacggcctgttcccatgggtgcggactgctgctcgatac 2900
951 Q M P A H G L F P W C G L L L D T 967

-----|-----|-----|-----|-----|
2901 ccggacctcgaggtgcagtcggattatagttcctatgcaagaacatcaa 2950
968 R T L E V Q S D Y S S Y A R T S I 984

-----|-----|-----|-----|-----|
2951 ttccggctagcctgactttcaacaggggcttcaaggccggccggaatatg 3000
985 R A S L T F N R G F K A G R N M 1000

-----|-----|-----|-----|-----|
3001 agaaggaaactgttcggagtggttgagacttaagtgtcatagtcttttttt 3050
1001 R R K L F G V L R L K C H S L F L 1017

-----|-----|-----|-----|-----|
3051 ggacttgcaggtcaattctctccagacagtggtgtaccaacatttataaaa 3100
1018 D L Q V N S L Q T V C T N I Y K I 1034

-----|-----|-----|-----|-----|
3101 tcctcttgctgcaggcttacagattccatgcctgcgtcctgcagctgcct 3150
1035 L L L Q A Y R F H A C V L Q L P 1050

-----|-----|-----|-----|-----|
3151 ttccaccagcaggtgtggaaaaaccctaccttcttcctgcgggtgattag 3200
1051 F H Q Q V W K N P T F F L R V I S 1067

-----|-----|-----|-----|-----|
3201 cgacacggccagtcctttgctactccatcttgaaagcaaaaaacgctggca 3250
1068 D T A S L C Y S I L K A K N A G M 1084

-----|-----|-----|-----|-----|
3251 tgagcttgggagctaaggcgccgctggacctctgccagtgaaagcagtc 3300
1085 S L G A K G A A G P L P S E A V 1100

-----|-----|-----|-----|-----|
3301 cagtggctgtgtcatcaggcttttctccttaaaactgacacgccaccgcgt 3350
1101 Q W L C H Q A F L L K L T R H R V 1117

```

Фиг. 19 (ПРОДОЛЖЕНИЕ)

```

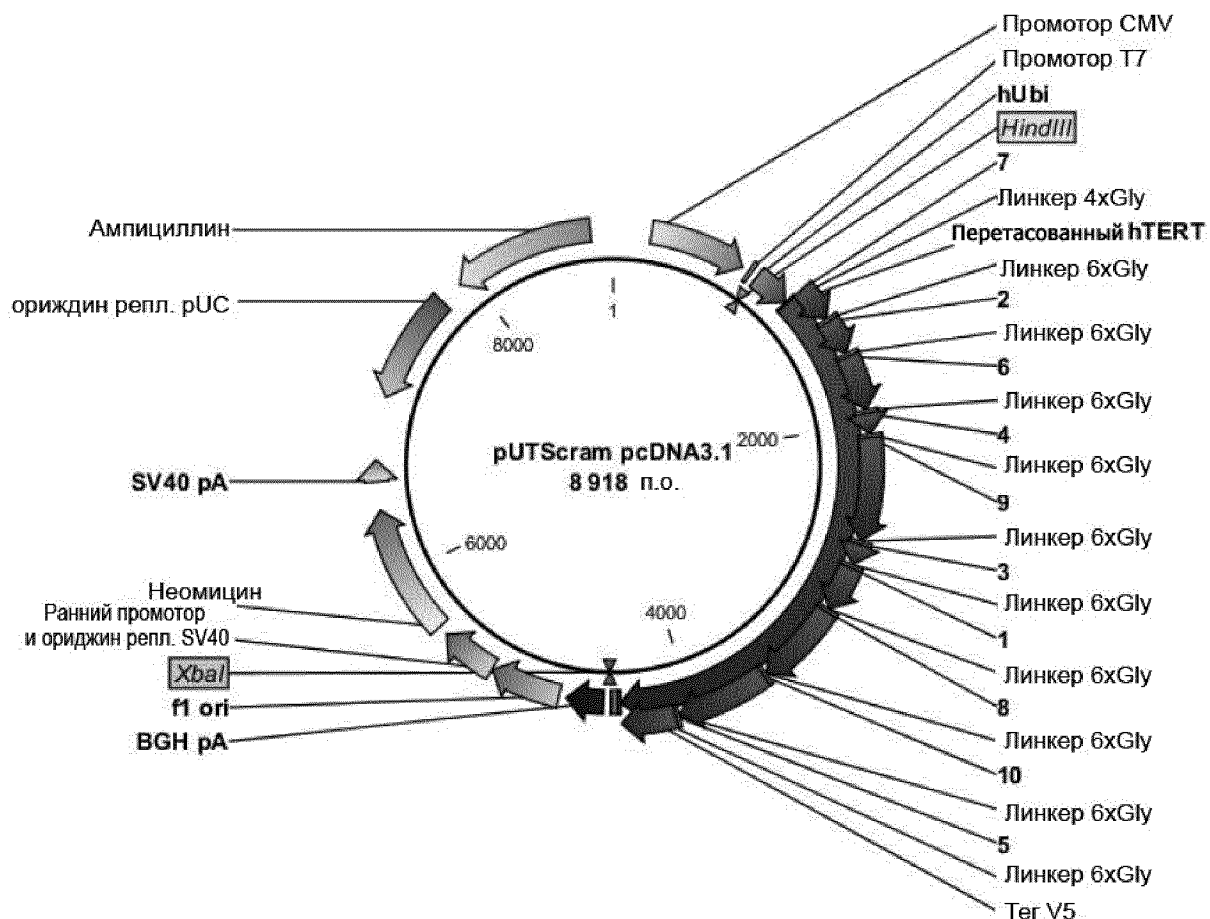
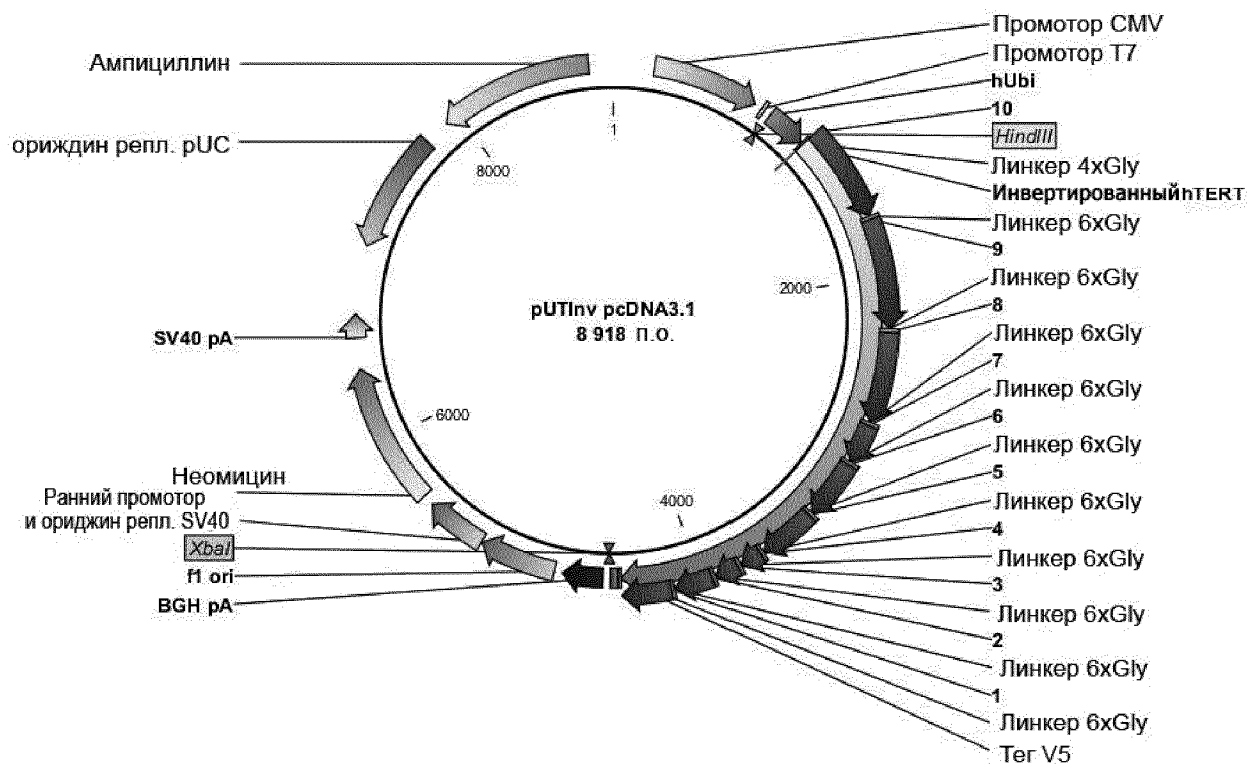
-----|-----|-----|-----|-----|
3351 gacttacgtcccaactcctgggctccctgagaactgctcagacccagcttt 3400
1118 T Y V P L L G S L R T A Q T Q L S 1134

-----|-----|-----|-----|-----|
3401 cccggaagcttccaggcaactacccttaccgcactcgaagcagccgccaac 3450
1135 R K L P G T T L T A L E A A A N 1150
                                hTERT><Ter V5
-----|-----|-----|-----|-----|
3451 cctgccctgccctccgactttaagactatcctggacgggcaagccaattcc 3500
1151 P A L P S D F K T I L D G K P I P 1167

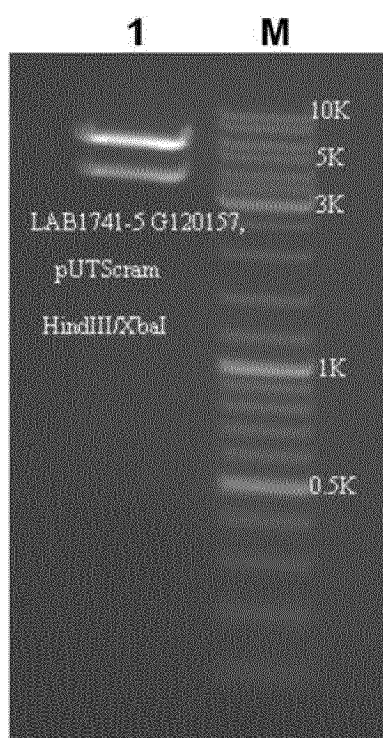
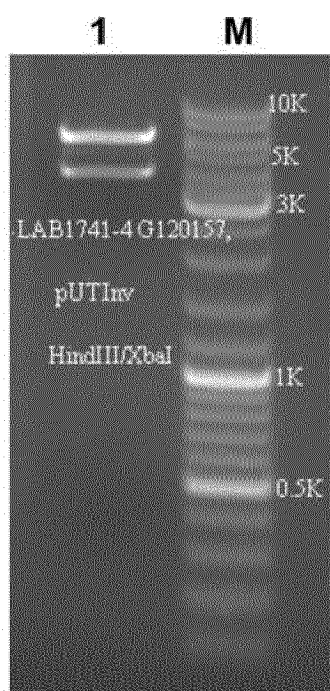
                                >СТОП
-----|-----|-----|-----|-----|
3501 taatccattgctgggctggactcaacttga 3531
1168 N P L L G L D S T □ 1176

```

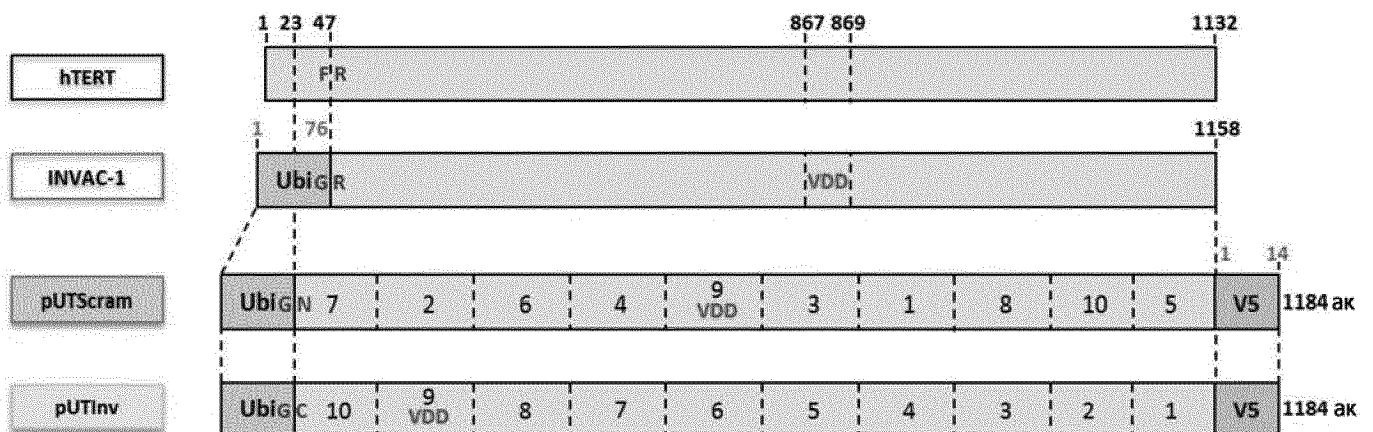
Фиг. 19 (ПРОДОЛЖЕНИЕ)

A**В**

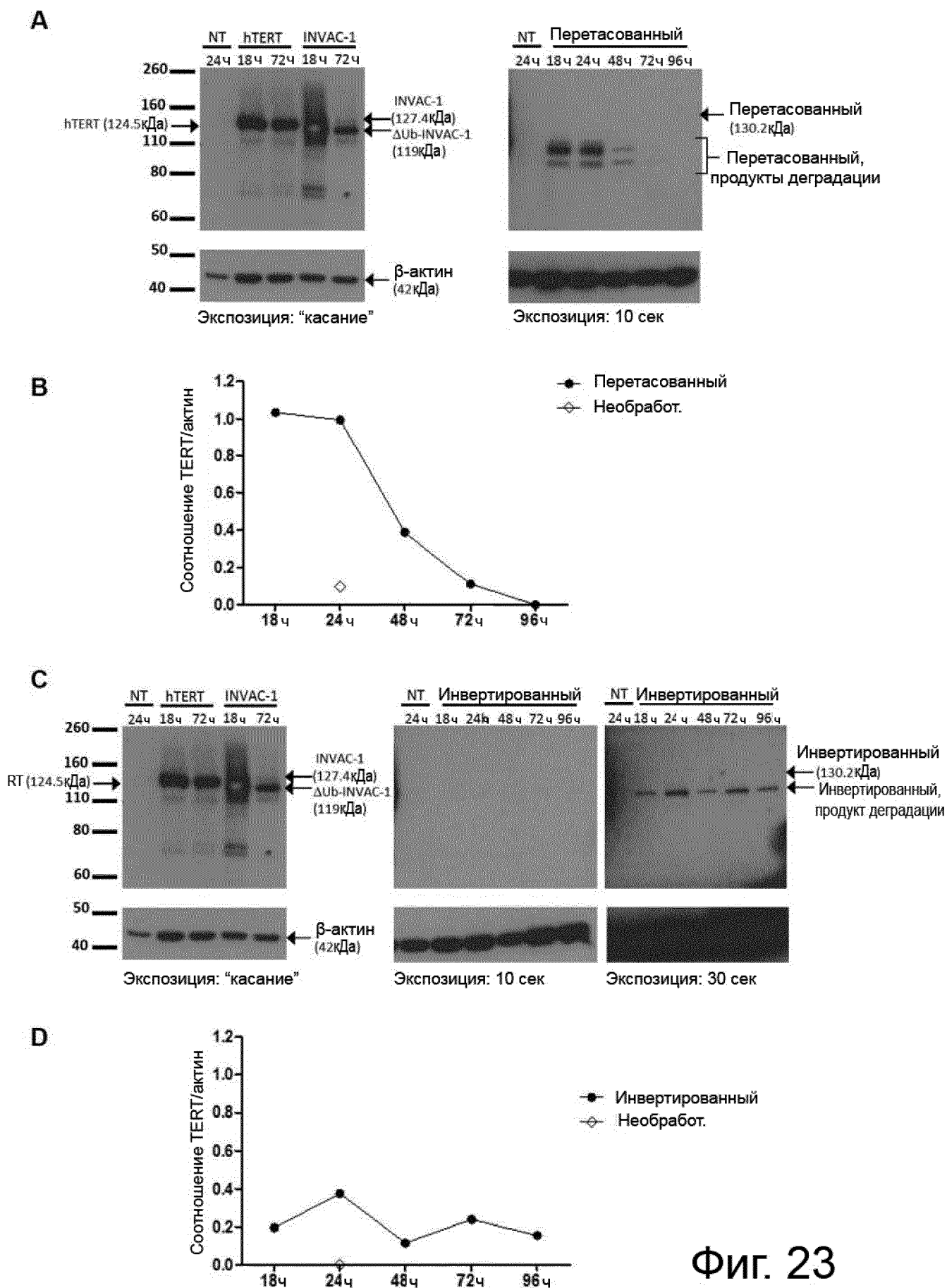
Фиг. 20

A**B**

Фиг. 21

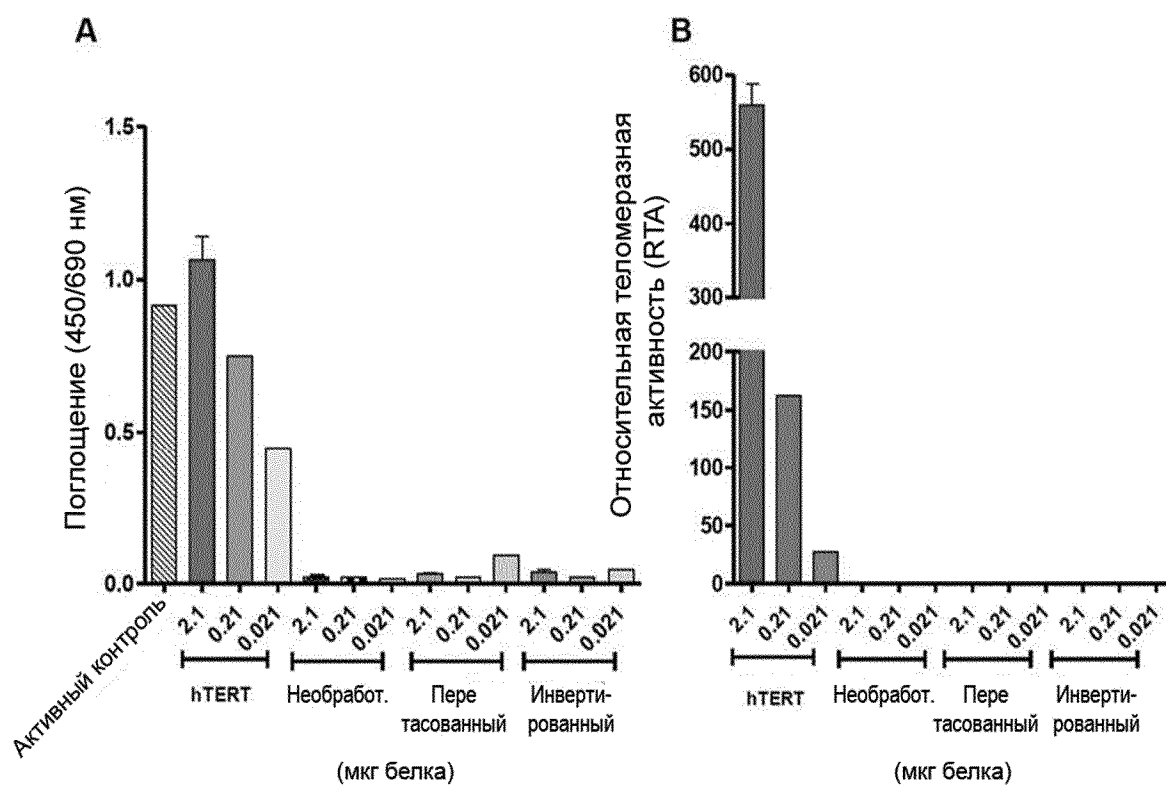


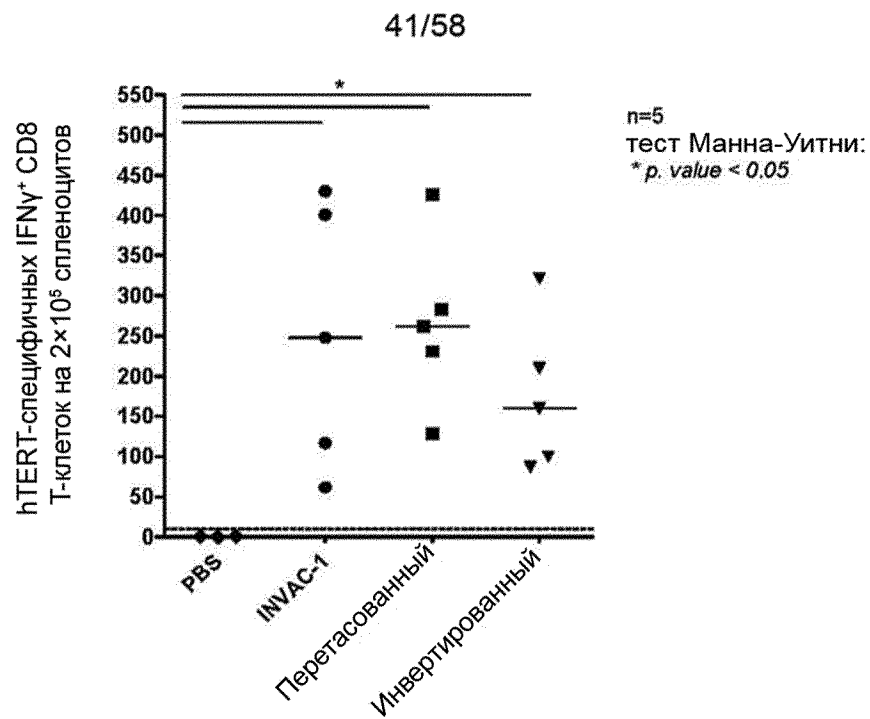
Фиг. 22



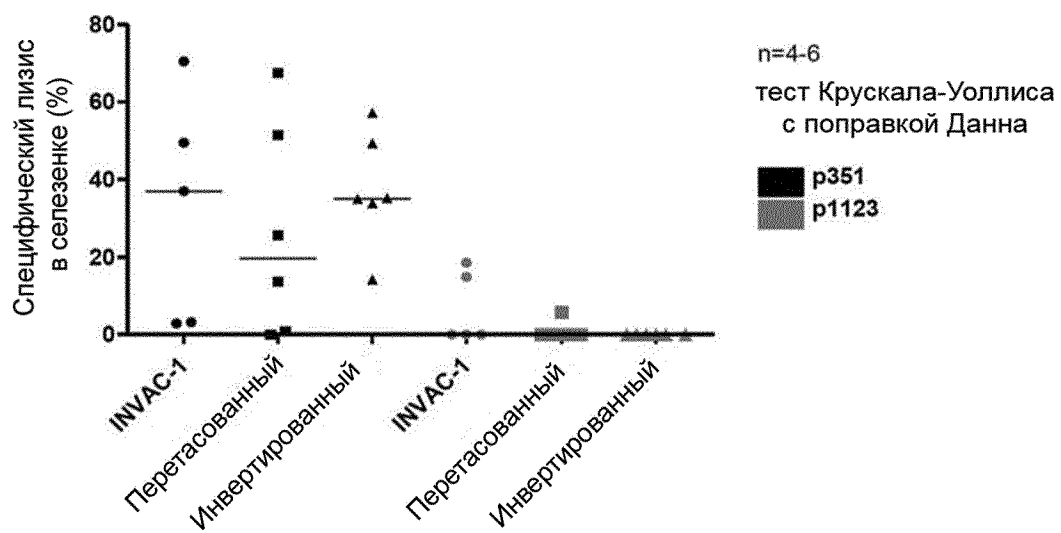
Фиг. 23

Фиг. 24





Фиг. 25



Фиг. 26

< Убиквитин человека		
1	atgcagatttttcgtcaaaacattgacaggaaagaccatcacactggaagtggagccaagc	60
1	M Q I F V K T L T G K T I T L E V E P S	20
61	gacactattgagaacgtcaaaagccaagattcaggacaaggaggggcatcccaccagaccag	120
21	D T I E N V K A K I Q D K E G I P P D Q	40
121	cagaggctgatttttgcgggaaagcagctggaggacggacgcacactcagtgactacaat	180
41	Q R L I F A G K Q L E D G R T L S D Y N	60
Убиквитин человека >< hTERT фрагмент 1		
181	atccagaaggaaagtactctgcacatctggctccttcgcctgogcgggcggaactggccaccttc	240
61	I Q K E S T L H L V L R L R G G L A T F	80
241	gtgcggcgctctgggaccccagggtctggcggtctgggtgcagcgcggggacccctgctgctttc	300
81	V R R L G P Q G W R L V Q R G D P A A F	100
301	agagctctcgtcgcccagtggtctgtgtctgcgttccttggggacgcacgggcccccaacccggc	360
101	R A L V A Q C L V C V P W D A R P P P A	120
361	gccccagtttccggcaggtgagttgtctcaaaagagttgggttgctcgggtgttgacagcgg	420
121	A P S F R Q V S C L K E L V A R V L Q R	140
hTERT		
421	ctttgtgaaaggggagcaaagaacgtcctttgccttttggcttctgctttgctdgatggagca	480
141	L C E R G A K N V L A F G F A L L D G A	160
Фрагмент 1 > < hTERT Фрагмент 2		
481	cgcgagggccctcctgaggcattcactactagcgtccggctcctacctgccccaacacagtg	540
161	R G G P P E A F T T S V R S Y L P N T V	180
541	accgacgctctgagaggttcagggtgcctgggggtctgctgctgctgagggtgggtgatgat	600
181	T D A L R G S G A W G L L L R R V G D D	200
601	gttctgggttcacctcctggcccggtgtgccctgttctgtgctgggtggctccctcctgcgca	660
201	V L V H L L A R C A L F V L V A P S C A	220

Фиг. 27

hTERT Фрагмент 2 >

```

-----|-----|-----|-----|-----|
661 taccaggtctgcggacccccactttatcagctcggegtgctactcaggcccgccacca 720
221 Y Q V C G P P L Y Q L G A A T Q A R P P 240

```

< **hTERT** Фрагмент 3

```

-----|-----|-----|-----|-----|
721 ccacacgcctcagggtccaagacgcgggtggggtgcgaacgggcatggaatcatagcgtg 780
241 P H A S G P R R R L G C E R A W N H S V 260

```

```

-----|-----|-----|-----|-----|
781 cgggaggcaggtgtgcctctcggcctgccagccccggagcaaggagacgcggtggatcc 840
261 R E A G V P L G L P A P G A R R R G G S 280

```

hTERT Фрагмент 3 >

```

-----|-----|-----|-----|-----|
841 gccagtcgctcactcccccttgccctaagaggccaagaagaggagccgcccctgaacccgag 900
281 A S R S L P L P K R P R R G A A P E P E 300

```

< **hTERT** Фрагмент 4

```

-----|-----|-----|-----|-----|
901 agaacacctgtcggccagggtcctctgggctcaccocgggaaggaccaggggcccaagcgat 960
301 R T P V G Q G S W A H P G R T R G P S D 320

```

```

-----|-----|-----|-----|-----|
961 aggggcttctgtgtgtgtgcaccagccaggcctgcogaagagggtacotccttgggaagga 1020
321 R G F C V V S P A R P A E E A T S L E G 340

```

hTERT Фрагмент 4 >

```

-----|-----|-----|-----|-----|
1021 gccctcagtggaaccaggcattctcatccatctgtgggtaggcagcatcatgccggccccc 1080
341 A L S G T R H S H P S V G R Q H H A G P 360

```

< **hTERT** Фрагмент 5

```

-----|-----|-----|-----|-----|
1081 ccctctacaagcagacctcccagacottgggacacacccctgcccaccagtgatgccgag 1140
361 P S T S R P P R P W D T P C P E V Y A E 380

```

```

-----|-----|-----|-----|-----|
1141 accaagcactttttgtattccagtgggcgataaagagcagctccggccctcttttctgtct 1200
381 T K H F L Y S S G D K E Q L R P S F L L 400

```

```

-----|-----|-----|-----|-----|
1201 tcaagcctccgccccctctctgacccggagctcgcaggctgggtggagaccatctttctgggc 1260
401 S S L R P S L T G A R R L V E T I F L G 420

```

```

-----|-----|-----|-----|-----|
1261 tcaagaccatggatgccaggcacccccgcagactgccaggctccccagcgggtactgg 1320
421 S R P W M P G T P R R L P R L P Q R Y W 440

```

```

-----|-----|-----|-----|-----|
1321 cagatgcgcctctctttctggaactttctgggtaaccacgcccagtgcccatatggcgtc 1380
441 Q M R P L F L E L L G N H A Q C P Y G V 460

```

Фиг. 27 (ПРОДОЛЖЕНИЕ)

hTERT Фрагмент 5 >			< hTERT Фрагмент 6		
1381	ctgctgaagacccactgtcctctgagggccgcgcgtgacccagccgcgcggtgtgtgtgt	1440			
461	L L K T H C P L R A A V T P A A G V C A	480			
1441	agagaaaaaccccagggctcagtggtgacacctgaagaggaggadactgacctcgcgcgc	1500			
481	R E K P Q G S V A A P E E E D T D P R R	500			
1501	cttgctccagttgctcaggcagcattcatcaccatggcaggtgtacggcttcgtgagggct	1560			
501	L V Q L L R Q H S S P W Q V Y G F V R A	520			
1561	tgcttgccgagactgggtcccccccggtattgtggggatctcggcacaacgaaaggcgcttt	1620			
521	C L R R L V P P G L W G S R H N E R R F	540			
1621	ctgaggaatacaagaagtttatctccctgggcaagcatgcaaagctcagcttgaggag	1680			
541	L R N T K K F I S L G K H A K L S L Q E	560			
hTERT Фрагмент 6 >			< hTERT Фрагмент 7		
1681	ctgacatggaagatgagcgttagaggatgcgcattggctcaggcgggtcacctggagttgga	1740			
561	L T W K M S V R G C A W L R R S P G V G	580			
1741	tgcggttcagcagcagagcacagggtgcgcgaagagattctgcgaaagttcctgcactgg	1800			
581	C V P A A E H R L R E E I L A K F L H W	600			
1801	cttatgagcgtctacgtggtcgaactgctgcgggtctttcttctacgtgacagagaccact	1860			
601	L M S V Y V V E L L R S F F Y V T E T T	620			
1861	tttcagaagaacagactgtttcttctacaggaagtcogtctggagcaagctocagagtatt	1920			
621	F Q K N R L F F Y R K S V W S K L Q S I	640			
hTERT Фрагмент 7 >			< hTERT Фрагмент 8		
1921	gggtattagacagcaccttaagagagttcagccttagagagctgtccgaagctgaagtcgc	1980			
641	G I R Q H L K R V Q L R E L S E A E V R	660			
1981	cagcaccgcgaagctgcggccgcctcctgacctctcggtgcggtttattcccaaaccc	2040			
661	Q H R E A R P A L L T S R L R F I P K P	680			
2041	gatggccttagacctatcgtgaatatggattacgtcggtgggtgcccgcactttcagaagg	2100			
681	D G L R P I V N M D Y V V G A R T F R R	700			

Фиг. 27 (ПРОДОЛЖЕНИЕ)

```

-----|-----|-----|-----|-----|
2101 gagaagcgcgcgcgagagactgacatctcgcgtgaaggcaactttttctgtgottaattat 2160
701 E K R A E R L T S R V K A L F S V L N Y 720

-----|-----|-----|-----|-----|
2161 gaaagagcccgagacactgggtctctcggagccagcgtgctcggcctggatgatataccat 2220
721 E R A R R P G L L G A S V L G L D D I H 740

-----|-----|-----|-----|-----|
2221 cgggcttggcgcacactttgtgcttgggtgagggcacaggatcctcctcctgagctttat 2280
741 R A W R T F V L R V R A Q D P P P E L Y 760

-----|-----|-----|-----|-----|
2281 ttgtgaaagttgatgttactgggtgcttacgatacaatccctcaggaccggctcacagag 2340
761 F V K V D V T G A Y D T I P Q D R L T E 780

-----|-----|-----|-----|-----|
2341 gtgategcctctattatcaaaacccagaaacacactactgctgagaaggtaagcgcgtcgtt 2400
781 V I A S I I K P Q N T Y C V R R Y A V V 800

      hTERT Фрагмент 8 > < hTERT Фрагмент 9
-----|-----|-----|-----|-----|
2401 cagaaagccgcacacgggacacgtgogcaaaagctttcaaatcccacgtgtctaccttgaca 2460
801 Q K A A H G H V R K A F K S H V S T L T 820

-----|-----|-----|-----|-----|
2461 gacctccagccttatatgcggcagtttgtgcgacacctgcaggagactagcccccttgagg 2520
821 D L Q P Y M R Q F V A H L Q E T S P L R 840

-----|-----|-----|-----|-----|
2521 gacgctgtgggtcatcgaaacagtcacagctctctcaatgaggcatcctcaggcctgtttgat 2580
841 D A V V I E Q S S S L N E A S S G L F D 860

-----|-----|-----|-----|-----|
2581 gtgttctcgcgttttatgtgccaccacgcctgoggtattaggggcaagtcttaagtgacg 2640
861 V F L R F M C H H A V R I R G K S Y V Q 880

-----|-----|-----|-----|-----|
2641 tgccagggcaccccacagggtagcatcctgagcacactgctgtgttagcctgtgctatggc 2700
881 C Q G I P Q G S I L S T L L C S L C Y G 900

-----|-----|-----|-----|-----|
2701 gatatggagaataaattgttcgccgggtatcagaagagacgggtttgctcctgaggctgttc 2760
901 D M E N K L F A G I R R D G L L L R L E 920
      *
-----|-----|-----|-----|-----|
2761 ctgctgggttaccocccatctgactcatgccaaaacatttttgcggactctggttaggggc 2820
921 L L V T P H L T H A K T F L R T L V R G 940

-----|-----|-----|-----|-----|
2821 gtgccagagtatggctgtgttgtgaatttgcggaaaactgtggttaatttccagtgagg 2880
941 V P E Y G C V V N L R K T V V N F F V E 960

-----|-----|-----|-----|-----|
2881 gacgaagctctcggaggccacagcttttgttcagatgcctgcccaaggcctgttcccatgg 2940
961 D E A L G G T A F V Q M P A H G L F P W 980

```

Фиг. 27 (ПРОДОЛЖЕНИЕ)

```

-----|-----|-----|-----|-----|-----|
2941 tgcgggactgctgctcgatacccggaaccctcgagggtgcagtcogattatagttcctatgca 3000
981 C G L L L D T R T L E V Q S D Y S S Y A 1000

```

hTERT Фрагмент 9 >

< hTERT Фрагмент 10

```

-----|-----|-----|-----|-----|-----|
3001 agaacatcaattcgggctagcctgactttcaacaggggcttcaaggcccggcoggaatatg 3060
1001 R T S I R A S L T F N R G F K A G R N M 1020

```

```

-----|-----|-----|-----|-----|-----|
3061 agaaggaaactgttcggagtggttgagacttaagtgcatagtccttttttggacttgcag 3120
1021 R R K L F G V L R L K C H S L F L D L Q 1040

```

```

-----|-----|-----|-----|-----|-----|
3121 gtcaattctctccagacagtggtgtaccaacatttataaaaatcctcttgctgcaggcttac 3180
1041 V N S L Q T V C T N I Y K I L L L Q A Y 1060

```

```

-----|-----|-----|-----|-----|-----|
3181 agattccatgcctgcgtcctgcagctgcctttccaccagcaggtgtggaaaaaacctacc 3240
1061 R F H A C V L Q L P F H Q Q V W K N P T 1080

```

```

-----|-----|-----|-----|-----|-----|
3241 ttcttctctgcgggtgattagcgacacccgcccagtcctttgctactccatcttgaaagcaaaa 3300
1081 F F L R V I S D T A S L C Y S I L K A K 1100

```

```

-----|-----|-----|-----|-----|-----|
3301 aacgctggcatgagcttgggagctaagggcgccgctggacctctgcccagtggaagcagtc 3360
1101 N A G M S L G A K G A A G P L P S E A V 1120

```

```

-----|-----|-----|-----|-----|-----|
3361 cagtggtgtgtcatcaggctttcctccttaaaactgacacgccacccgctgacttaagtc 3420
1121 Q W L C H Q A F L L K L T R H R V T Y V 1140

```

```

-----|-----|-----|-----|-----|-----|
3421 ccactcctgggctccctgagaactgctcagacccagctttcccggaagcttccaggcaact 3480
1141 P L L G S L R T A Q T Q L S R K L P G T 1160

```

hTERT

```

-----|-----|-----|-----|-----|-----|
3481 acccttaccgcaactegaagcagccgccaaccctgccctgccctccgactttaagaactatc 3540
1161 T L T A L E A A A N P A L P S D F K T I 1180

```

Фрагмент 10 >> Ter V5

Ter V5 >

```

-----|-----|-----|-----|-----|-----|
3541 ctggacggcaagccaatttcotaatccattgctgggctggactcaacttga 3591
1181 L D G K P I P N P L L G L D S T □ 1196

```

Фиг. 27 (ПРОДОЛЖЕНИЕ)

< Убиквитин человека

```

-----|-----|-----|-----|-----|
1 atgcagatttttcgtcaaaacattgacaggaaagaccatcacactggaagt 50
1 M Q I F V K T L T G K T I T L E V 17

-----|-----|-----|-----|-----|
51 ggagccaagcgacactattgagaaogtcaaagccaagattcaggacaagg 100
18 E P S D T I E N V K A K I Q D K E 34

-----|-----|-----|-----|-----|
101 agggcatcccaccagaccagcagaggctgatttttgcgggaaagcagctg 150
35 G I P P D Q Q R L I F A G K Q L 50

-----|-----|-----|-----|-----|
151 gaggaacggacgcacactcagtgactacaatatccagaaggaaagtactct 200
51 E D G R T L S D Y N I Q K E S T L 67

```

Убиквитин человека >> G-линкер >> hTERT

```

-----|-----|-----|-----|-----|
201 gcattctgggtcccttcgcctgcgcggcggaGGTGGAGGTGGAtgcgttccag 250
68 H L V L R L R G G G G G G C V P A 84

```

Фрагмент 7

```

-----|-----|-----|-----|-----|
251 cagcagagcacaggctgcgcggaagagattctcgcaaagttcctgcactgg 300
85 A E H R L R E E I L A K F L H W 100

-----|-----|-----|-----|-----|
301 cttatgagcgtctacgtgggtogaactgctgogggtottttcttctacgtgac 350
101 L M S V Y V V E L L R S F F Y V T 117

-----|-----|-----|-----|-----|
351 agagaccacttttcagaagaacagactgttcttctacaggaagtcctgtct 400
118 E T T F Q K N R L F F Y R K S V W 134

```

hTERT : Фрагмент 7 >

```

-----|-----|-----|-----|-----|
401 ggagcaagctccagagttattgggtattagacagcaccttaagagagttcag 450
135 S K L Q S I G I R Q H L K R V Q 150

```

< G-линкер >> hTERT Фрагмент 2

```

-----|-----|-----|-----|-----|
451 GGAGGTGGTGGAGGTGGAttcactactagcgtcgggtccctacctgcccaa 500
151 G G G G G G F T T S V R S Y L P N 167

-----|-----|-----|-----|-----|
501 cacagtgaccgacgctctgagagggttcagggtgcctgggggtctgctgctgc 550
168 T V T D A L R G S G A W G L L L R 184

-----|-----|-----|-----|-----|
551 ggagggtgggtgatgatgttctgggttcacctcctgggccgggtgtgccctg 600
185 R V G D D V L V H L L A R C A L 200

```

```

-----|-----|-----|-----|-----|
601 ttctgtgctgggtggctccctcctgcgcataccagggtctgcgggacccccact 650
201 F V L V A P S C A Y Q V C G P P L 217

```

```

hTERT Фрагмент 2 >< G-линкер >< hTERT
-----|-----|-----|-----|-----|
651 ttatcagctcggcgctgctGGTGGAGGTGGTGGAGGTgccgggtgtgtgtg 700
218 Y Q L G A A G G G G G G A G V C A 234

```

```

Фрагмент 6
-----|-----|-----|-----|-----|
701 ctagagaaaaaacccagggtcagtggtgcacctgaagaggaggacact 750
235 R E K P Q G S V A A P E E E D T 250

```

```

-----|-----|-----|-----|-----|
751 gacctcgcgcgcttgtccagttgctcaggcagcattcatcaccatggca 800
251 D P R R L V Q L L R Q H S S P W Q 267

```

```

-----|-----|-----|-----|-----|
801 ggtgtacggcttcgtgagggcttgccctgcggagactgggtcccccccgat 850
268 V Y G F V R A C L R R L V P P G L 284

```

```

-----|-----|-----|-----|-----|
851 tgtggggatctcggcacaacgaacggcgctttctgaggaatacaaagaag 900
285 W G S R H N E R R F L R N T K K 300

```

```

-----|-----|-----|-----|-----|
901 tttatctccctgggcaagcatgcaaagctcagcttgccaggagctgacatg 950
301 F I S L G K H A K L S L Q E L T W 317

```

```

hTERT Фрагмент 6 ><
-----|-----|-----|-----|-----|
951 gaagatgagcgtagaggatgcgcctggctcaggcgggtcacctggagttG 1000
318 K M S V R G C A W L R R S P G V G 334

```

```

G-линкер >< hTERT Фрагмент 4
-----|-----|-----|-----|-----|
1001 GAGGTGGAGGTGGAGGAtcctgggctcaccccggaaggaccagggggcca 1050
335 G G G G G S W A H P G R T R G P 350

```

```

-----|-----|-----|-----|-----|
1051 agcgataggggcttctgtgttgtgtgcaccagccaggcctgccgaagaggc 1100
351 S D R G F C V V S P A R P A E E A 367

```

```

hTERT Фрагмент 4 >< G-линкер
-----|-----|-----|-----|-----|
1101 tacctccttgggaaggagccctcagtggcaccaggGGTGGTGGAGGTGGAG 1150
368 T S L E G A L S G T R G G G G G G 384

```

```

>< hTERT Фрагмент 9
-----|-----|-----|-----|-----|
1151 GAaaatcccacgtgtctaccttgacagacctccagccttatatgcggcag 1200
385 K S H V S T L T D L Q P Y M R Q 400

```

```

-----|-----|-----|-----|-----|
1201 ttgtgtgcacacctgcaggagactagcccccttgaggggacgctgtgggtcat 1250
401 F V A H L Q E T S P L R D A V V I 417

-----|-----|-----|-----|-----|
1251 cgaacagttccagctctctcaatgagggcatcctcaggcctgtttgatgtgt 1300
418 E Q S S S L N E A S S G L F D V F 434

-----|-----|-----|-----|-----|
1301 tctgtgcgttttatgtgccaccacgcctgctgggattaggggcaagtcttac 1350
435 L R F M C H H A V R I R G K S Y 450

-----|-----|-----|-----|-----|
1351 gtgcagtgcacagggcatccacagggtagcatcctgagcacactgctgtg 1400
451 V Q C Q G I P Q G S I L S T L L C 467

-----|-----|-----|-----|-----|
1401 tagcctgtgctatggcgatatggagaataaattgttcgcgggtatcagaa 1450
468 S L C Y G D M E N K L F A G I R R 484

-----|-----|-----|-----|-----|
1451 gagacgggtttgctcctgaggctgtttcctgctggttaccccccatctgact 1500
485 D G L L L R L F L L V T P H L T 500
      *

-----|-----|-----|-----|-----|
1501 catgccaaaacatttttgoggactctggttaggggctgcccagagtatgg 1550
501 H A K T F L R T L V R G V P E Y G 517

-----|-----|-----|-----|-----|
1551 ctgtgttgtgaattttgcggaactgtgggttaattttcccagtgaggagacg 1600
518 C V V N L R K T V V N F P V E D E 534

-----|-----|-----|-----|-----|
1601 aagctctcggaggcacagcttttggttcagatgcctgccccacggcctgttc 1650
535 A L G G T A F V Q M P A H G L F 550

-----|-----|-----|-----|-----|
1651 ccatgggtgcggactgctgctcgatacccggaacctcgaggtgcagtcoga 1700
551 P W C G L L L D T R T L E V Q S D 567
      hTERT Фрагмент 9 > G-линкер > hTERT

-----|-----|-----|-----|-----|
1701 ttatagttcctatgcaagaacatcaattGGAGGAGGTGGTGGAGGTtggga 1750
568 Y S S Y A R T S I G G G G G G W N 584
      Фрагмент 3

-----|-----|-----|-----|-----|
1751 atcatagcgtgcgggagggcaggtgtgcctctcggcctgcccagcccccgga 1800
585 H S V R E A G V P L G L P A P G 600

-----|-----|-----|-----|-----|
1801 gcaaggagacgcgggtggatccgcagtcgctcactcccccttgccctaagag 1850
601 A R R R G G S A S R S L P L P K R 617

```

Фиг. 28 (ПРОДОЛЖЕНИЕ)

```

hTERT          3 ><                                >< hTERT          1
-----|-----|-----|-----|-----|
1851 gccaagaagaggaggccGGTGGAGGAGGTGGTGGActggccacattcgtgc 1900
618 P R R G A G G G G G G L A T F V R 634

-----|-----|-----|-----|-----|
1901 ggcgccctgggaccccagggctggcggtggtgcagcgcggggacccctgct 1950
635 R L G P Q G W R L V Q R G D F A 650

-----|-----|-----|-----|-----|
1951 gctttcagagctctcgtcgccagtgctctggtctgcgttccttgggacgc 2000
651 A F R A L V A Q C L V C V P W D A 667

-----|-----|-----|-----|-----|
2001 acggccccccacccgcgcgcgcgcagtttccggcaggtgagttgtctcaaag 2050
668 R P P P A A P S F R Q V S C L K E 684

-----|-----|-----|-----|-----|
2051 agttgggttgcctcggtgttgcagcggtttgtgaaagggagcaaaagaac 2100
685 L V A R V L Q R L C E R G A K N 700

hTERT Фрагмент 1 >< G-линкер
-----|-----|-----|-----|-----|
2101 gtccttgccttttggttcgctttgctcgatggagcaacgcggaGGAGGTGG 2150
701 V L A F G F A L L D G A R G G G G 717

>< hTERT Фрагмент 8
-----|-----|-----|-----|-----|
2151 TGGAGGTGGAagagagctgtccgaagctgaagtcggccagcaccgcgaag 2200
718 G G G R E L S E A E V R Q H R E A 734

-----|-----|-----|-----|-----|
2201 ctgcgcgcgcctcctgaacctctcggtgcgggtttattcccaaaccgat 2250
735 R P A L L T S R L R F I P K P D 750

-----|-----|-----|-----|-----|
2251 ggccttagacctatcgtgaatatggattacgtcgtgggtgcccgcacttt 2300
751 G L R P I V N M D Y V V G A R T F 767

-----|-----|-----|-----|-----|
2301 cagaagggagaagcgcgccgagagactgacatctcgcggtgaaggcacttt 2350
768 R R E K R A E R L T S R V K A L F 784

-----|-----|-----|-----|-----|
2351 tttctgtgcttaattatgaaagagcccgcagacctggtcttctcggagacc 2400
785 S V L N Y E R A R R P G L L G A 800

-----|-----|-----|-----|-----|
2401 agcgtgctcggcctggatgatataccatcggttggtgcacctttgtgct 2450
801 S V L G L D D I H R A W R T F V L 817

```

Фиг. 28 (ПРОДОЛЖЕНИЕ)

```

-----|-----|-----|-----|
2451 tcgggtgaggggcacaggatcctcctcctgagctttattttgtgaaagttg 2500
818 R V R A Q D P P P E L Y F V K V D 834

```

```

-----|-----|-----|-----|-----|
2501 atgttactgggtgcttacgatacaatccctcaggaccgggtcaccgaggtg 2550
835 V T G A Y D T I P Q D R L T E V 850

```

```

-----|-----|-----|-----|-----|
2551 atcgccctctattatcaaaccacagaacacctactgcgtgagaagggtacgc 2600
851 I A S I I K P Q N T Y C V R R Y A 867

```

hTERT Фрагмент 8 >< G-линкер

```

-----|-----|-----|-----|-----|
2601 cgtcgttcagaaagccgcacacggacacgtgcgcaaaGGTGGAGGAGGTG 2650
868 V V Q K A A H G H V R K G G G G G 884

```

>< hTERT Фрагмент 10

```

-----|-----|-----|-----|-----|
2651 GTGGAaacaggggcttcaaggccggccggaatatgagaaggaaactgttc 2700
885 G N R G F K A G R N M R R K L F 900

```

```

-----|-----|-----|-----|-----|
2701 ggagtgttgagacttaagtgtcatagtcttttttggacttgcaggtcaa 2750
901 G V L R L K C H S L F L D L Q V N 917

```

```

-----|-----|-----|-----|-----|
2751 ttctctccagacagtgtgttaccacattttataaaaatcctcttgcaggtg 2800
918 S L Q T V C T N I Y K I L L L Q A 934

```

```

-----|-----|-----|-----|-----|
2801 ctacagattccatgcctgcgtcctgcagctgcctttccaccagcaggtg 2850
935 Y R F H A C V L Q L P F H Q Q V 950

```

```

-----|-----|-----|-----|-----|
2851 tggaaaaaacctaccttcttccctgcgggtgattagcgacaccgccagttc 2900
951 W K N P T F F L R V I S D T A S L 967

```

```

-----|-----|-----|-----|-----|
2901 ttgtactccatcttgaaagcaaaaaacgctggcatgagcttgggagcta 2950
968 C Y S I L K A K N A G M S L G A K 984

```

```

-----|-----|-----|-----|-----|
2951 aggggcgcgcgtggacctctgccagtgaaacagtcagtggtgtgtcat 3000
985 G A A G P L P S E A V Q W L C H 1000

```

```

-----|-----|-----|-----|-----|
3001 caggcttttccctcttaaaactgacaacgccacgcgtgacttacgtccca 3050
1001 Q A F L L K L T R H R V T Y V P L 1017

```

```

-----|-----|-----|-----|-----|
3051 cctgggctccctgagaactgctcagaccagctttcccgaaaacttccag 3100
1018 L G S L R T A Q T Q L S R K L P G 1034

```

Фиг. 28 (ПРОДОЛЖЕНИЕ)

```

-----|-----|-----|-----|
3101 gcactacccttaccgcactcgaagcagccgccaaaccctgccctgccctcc 3150
1035 T T L T A L E A A A N P A L P S 1050

```

hTERT Фрагмент 10 >< G-линкер >< **hTERT**

```

-----|-----|-----|-----|
3151 gactttaagactatcctggacGGAGGTGGAGGTGGAGGTccctgcccaacc 3200
1051 D F K T I L D G G G G G G P C P P 1067

```

Фрагмент 5

```

-----|-----|-----|-----|
3201 agtgtatgccgagaccaagcactttttgtattccagtggcgataaagagc 3250
1068 V Y A E T K H F L Y S S G D K E Q 1084

```

```

-----|-----|-----|-----|
3251 agctccggccctctttttctgtctctcaagcctccgccctctctgaccgga 3300
1085 L R P S F L L S S L R P S L T G 1100

```

```

-----|-----|-----|-----|
3301 gctcgcaggetggtggagaccatctttctgggctcaagaccatggatgcc 3350
1101 A R R L V E T I F L G S R P W M P 1117

```

```

-----|-----|-----|-----|
3351 aggcacccccccgcagactgccaggetccccagcggtaactggcagatgc 3400
1118 G T P R R L P R L P Q R Y W Q M R 1134

```

```

-----|-----|-----|-----|
3401 gccctctctttctggaacttctgggtaaccaagcccagtgcccatatggc 3450
1135 P L F L E L L G N H A Q C P Y G 1150

```

hTERT Фрагмент 5 >< G-линкер

```

-----|-----|-----|-----|
3451 gtcctgctgaagaccactgtcctctgagggccgccgtgaccGGAGGTGG 3500
1151 V L L K T H C P L R A A V T G G G 1167

```

>< **Ter V5**

```

-----|-----|-----|-----|
3501 TGGAGGAGGTggcaagccaattcctaataccattgctgggcctggactcaa 3550
1168 G G G G K P I P N P L L G L D S T 1184

```

Ter V5 ><

```

-----
3551 cttga 3555
      □

```

< Убиквитин человека

```

-----|-----|-----|-----|-----|
1 atgcagatcttctcgtcaaaacattgacaggaaagaccatcacactgggaagt 50
1 M Q I F V K T L T G K T I T L E V 17

-----|-----|-----|-----|-----|
51 ggagccaagcgacactattgagaacgtcaaagccaagattcaggacaagg 100
18 E P S D T I E N V K A K I Q D K E 34

-----|-----|-----|-----|-----|
101 agggcatccaccagaccagcagaggctgatttttgcgggaaagcagctg 150
35 G I P P D Q Q R L I F A G K Q L 50

-----|-----|-----|-----|-----|
151 gaggacgggacgcacactcagtgactacaatatccagaaggaaagtactct 200
51 E D G R T L S D Y N I Q K E S T L 67

```

Убиквитин человека >> G-линкер >> hTERT

```

-----|-----|-----|-----|-----|
201 gcacatctggctccttcgcctgcgcgggcggaGGTGGAGGTGGAAaacaggggct 250
68 H L V L R L R G G G G G G N R G F 84

```

Фрагмент 10:

```

-----|-----|-----|-----|-----|
251 tcaagggcggccgggaatatgagaaggaaactgttcggagtggttgagactt 300
85 K A G R N M R R K L F G V L R L 100

-----|-----|-----|-----|-----|
301 aagtgtcatagtccttttttggacttgcagggtcaattctctccagacagt 350
101 K C H S L F L D L Q V N S L Q T V 117

-----|-----|-----|-----|-----|
351 gtgtaccaacatttataaaaatcctcttgcctgcagggttacagattccatg 400
118 C T N I Y K I L L L Q A Y R F H A 134

-----|-----|-----|-----|-----|
401 cctgcgtcctgcagctgcctttccaccagcagggtgtggaaaaaccctacc 450
135 C V L Q L P F H Q Q V W K N P T 150

-----|-----|-----|-----|-----|
451 ttcttcctgcgggtgatttagcgacaccgccagtccttgcctactccatctt 500
151 F F L R V I S D T A S L C Y S I L 167

-----|-----|-----|-----|-----|
501 gaaagcaaaaaacgctggcatgagcttgggagctaaagggcgccgctggac 550
168 K A K N A G M S L G A K G A A G P 184

-----|-----|-----|-----|-----|
551 ctctgcccagtggaagcagtcagtggtgtgtcatcagggtttcctcctt 600
185 L P S E A V Q W L C H Q A F L L 200

```

Фиг. 29

```

-----|-----|-----|-----|-----|
601 aaactgacacgcccacgcgtgacttacgtcccaactcctgggctccctgag 650
201 K L T R H R V T Y V P L L G S L R 217

```

```

-----|-----|-----|-----|-----|
651 aactgctcagacccagctttcccggaacttccaggcaactacccttaccg 700
218 T A Q T Q L S R K L P G T T L T A 234

```

hTERT

```

-----|-----|-----|-----|-----|
701 cactcgaagcagccgcgaacccctgccttgcctccgactttaagactatc 750
235 L E A A A N P A L P S D F K T I 250

```

Фрагмент 10 >> G-линкер >> hTERT Фрагмент 9

```

-----|-----|-----|-----|-----|
751 ctggacGGAGGTGGTGGAGGTGGAAAAatcccacgtgtctaccttgacaga 800
251 L D G G G G G G K S H V S T L T D 267

```

```

-----|-----|-----|-----|-----|
801 cctccagccttatatgcccagctttgtgcacacctgcaggagactagacc 850
268 L Q P Y M R Q F V A H L Q E T S P 284

```

```

-----|-----|-----|-----|-----|
851 ccttgagggacgctgtggtcatcgaacagctccagctctctcaatgaggca 900
285 L R D A V V I E Q S S S L N E A 300

```

```

-----|-----|-----|-----|-----|
901 tctcagggcctgtttgatgtgttcctgogctttatgtgccaccacgcctg 950
301 S S G L F D V F L R F M C H H A V 317

```

```

-----|-----|-----|-----|-----|
951 gcggattaggggcaagtcttacgtgcagtgccaggggcatcccacagggta 1000
318 R I R G K S Y V Q C Q G I P Q G S 334

```

```

-----|-----|-----|-----|-----|
1001 gcctcctgagcacactgctgtgttagcctgtgctatggcgatatggagaat 1050
335 I L S T L L C S L C Y G D M E N 350

```

```

-----|-----|-----|-----|-----|
1051 aaattgttcgccgggtatcagaagagacgggtttgctcctgaggctgttcc 1100
351 K L F A G I R R D G L L L R L F L 367

```

*

```

-----|-----|-----|-----|-----|
1101 gctgggttaccctccatctgactcatgccaaaacatttttgcccactctgg 1150
368 L V T P H L T H A K T F L R T L V 384

```

```

-----|-----|-----|-----|-----|
1151 ttaggggcgtgccagagtatggctgtgttggaatttgccgaaaactgtg 1200
385 R G V P E Y G C V V N L R K T V 400

```

```

-----|-----|-----|-----|-----|
1201 gttaatttcccagtgaggagcgaagctctcggaggccacagcttttgttca 1250
401 V N F P V E D E A L G G T A F V Q 417

```

Фиг. 29 (ПРОДОЛЖЕНИЕ)

```

-----|-----|-----|-----|-----|
1251 gatgcctgcccacggcctgttcccatgggtgoggactgctgctcgataccc 1300
418 M P A H G L F P W C G L L L D T R 434
                                hTERT Фрагмент 9 >
-----|-----|-----|-----|-----|
1301 ggaccctcgaggtgcagtcogattatagttcctatgcaagaacatcaatt 1350
435 T L E V Q S D Y S S Y A R T S I 450
<      G-линкер      >< hTERT Фрагмент 8
-----|-----|-----|-----|-----|
1351 GGTGGAGGTGGTGGAGGTagagagctgtccgaagctgaagtcogccagca 1400
451 G G G G G G R E L S E A E V R Q H 467
-----|-----|-----|-----|-----|
1401 ccgcgaagctcgccccgcctcctgacctctcggtgcgggtttattccca 1450
468 R E A R P A L L T S R L R F I P K 484
-----|-----|-----|-----|-----|
1451 aaccgatggccttagacctatogtgaatatggattacgtcgtgggtgcc 1500
485 P D G L R P I V N M D Y V V G A 500
-----|-----|-----|-----|-----|
1501 cgcactttcagaagggagaagcgcgcgcgagagactgacatctcgcgtaga 1550
501 R T F R R E K R A E R L T S R V K 517
-----|-----|-----|-----|-----|
1551 ggcactttttctgtgcttaattatgaaagagcccgacagacctggtcttc 1600
518 A L F S V L N Y E R A R R P G L L 534
-----|-----|-----|-----|-----|
1601 tcggagccagcgtgctcgccctggatgatatccatcggtcttgccgcacc 1650
535 G A S V L G L D D I H R A W R T 550
-----|-----|-----|-----|-----|
1651 tttgtgcttcgggtgagggcacaggatcctcctcctgagctttatttgt 1700
551 F V L R V R A Q D P P P E L Y F V 567
-----|-----|-----|-----|-----|
1701 gaaagttgatgttactgggtgcttaacgatacaaatccctcaggaccggctca 1750
568 K V D V T G A Y D T I P Q D R L T 584
-----|-----|-----|-----|-----|
1751 ccgaggtgatcgctctattatcaaacccagaaacactactgcgtgaga 1800
585 E V I A S I I K P Q N T Y C V R 600
                                hTERT Фрагмент 8      >< G
-----|-----|-----|-----|-----|
1801 aggtacgccgtcgttcagaaagccgcacacggacacgtgcgcaaaGGAGG 1850
601 R Y A V V Q K A A H G H V R K G G 617
                                линкер      >< hTERT Фрагмент 7
-----|-----|-----|-----|-----|
1851 TGGAGGTGGAGGatgcgttcagcagcagagcacaggctgcgcgaagaga 1900
618 G G G G C V P A A E H R L R E E I 634

```

Фиг. 29 (ПРОДОЛЖЕНИЕ)

```

-----|-----|-----|-----|
1901 ttctcgcaaagtccctgcactggccttatgagcgtotacgtggtcgaactg 1950
635 L A K F L H W L M S V Y V V E L 650

```

```

-----|-----|-----|-----|
1951 ctgcgggtctttcttctacgtgacagagaccacttttcagaagaacagact 2000
651 L R S F F Y V T E T T F Q K N R L 667

```

```

-----|-----|-----|-----|
2001 gttctttctacaggaagtcgcgtctggagcaagctccagagtattgggtatta 2050
668 F F Y R K S V W S K L Q S I G I R 684

```

```

      hTERT   Фрагмент 7   ><      G-линкер      ><      hTERT
-----|-----|-----|-----|
2051 gacagcaccttaagagagttcagGGTGGTGGAGGTGGAGGAgccgggtgtg 2100
685 Q H L K R V Q G G G G G G A G V 700

```

Фрагмент 6

```

-----|-----|-----|-----|
2101 tgtgctagagaaaaaccccagggctcagtggtgcacctgaagaggaggga 2150
701 C A R E K P Q G S V A A P E E E D 717

```

```

-----|-----|-----|-----|
2151 cactgaccctcgcgccttgcagttgctcaggcagcattcatcaccat 2200
718 T D P R R L V Q L L R Q H S S P W 734

```

```

-----|-----|-----|-----|
2201 ggcagggtgtacggcttcgtgagggccttgccctgcggagactgggtcccccc 2250
735 Q V Y G F V R A C L R R L V P P 750

```

```

-----|-----|-----|-----|
2251 ggattgtgggatctcggcacaaacgaacggcgctttctgaggaatacaaaa 2300
751 G L W G S R H N E R R F L R N T K 767

```

```

-----|-----|-----|-----|
2301 gaagtttatctccctgggcaagcatgcaaagctcagcttgccaggagctga 2350
768 K F I S L G K H A K L S L Q E L T 784

```

```

                                     hTERT
-----|-----|-----|-----|
2351 catggaagatgagcgttagaggatgcgcagtggtcaggcgggtcacctgga 2400
785 W K M S V R G C A W L R R S P G 800

```

Фрагмент 6 >< G-линкер >< hTERT Фрагмент 5

```

-----|-----|-----|-----|
2401 gttGGAGGAGGTGGTGGAGGTccctgcccaccagtgtatgccgagaccaa 2450
801 V G G G G G G P C P P V Y A E T K 817

```

```

-----|-----|-----|-----|
2451 gcactttttgtattccagtgggcgataaagagcagctccggccctcttttt 2500
818 H F L Y S S G D K E Q L R P S F L 834

```

Фиг. 29 (ПРОДОЛЖЕНИЕ)

```

-----|-----|-----|-----|-----|
2501 tgctctcaagcctccgcccctctctgacccggagctcgcaggctggtggag 2550
835 L S S L R P S L T G A R R L V E 850

-----|-----|-----|-----|-----|
2551 accatctttctggtgctcaagaccatggatgccaggcacccccgcagaact 2600
851 T I F L G S R P W M P G T P R R L 867

-----|-----|-----|-----|-----|
2601 gcccaggctccccagcggtaactggcagatgcgccctctctttctggaac 2650
868 P R L P Q R Y W Q M R P L F L E L 884

-----|-----|-----|-----|-----|
2651 ttctgggtaaccacgccccagtgcccatatggcgctcctgctgaagaccac 2700
885 L G N H A Q C P Y G V L L K T H 900

hTERT Фрагмент 5 >< G-линкер >< hTERT
-----|-----|-----|-----|-----|
2701 tgctctctgagggccgcggtgaccGGTGGAGGAGGTGGTGGATccctgggc 2750
901 C P L R A A V T G G G G G S W A 917

Фрагмент 4
-----|-----|-----|-----|-----|
2751 tcaccccggaaggaccagggggccaagcgataggggcttctgtgtgtgt 2800
918 H P G R T R G P S D R G F C V V S 934

-----|-----|-----|-----|-----|
2801 caccagccaggcctgcgaagaggctacctccttgggaaggagccctcagt 2850
935 P A R P A E E A T S L E G A L S 950

hTERT Фрагмент 4 >< G-линкер >< hTERT Фрагмент 3
-----|-----|-----|-----|-----|
2851 ggcaccaggGGAGGTGGTGGAGGTGGATtggaatcatagcgtgcgggaggc 2900
951 G T R G G G G G W N H S V R E A 967

-----|-----|-----|-----|-----|
2901 aggtgtgcctctcggcctgccagcccccgagcaaggagacgcggtggat 2950
968 G V P L G L P A P G A R R R G G S 984

hTERT Фрагмент 3 ><
-----|-----|-----|-----|-----|
2951 ccgccagtcgctcactcccccttgccctaagaggccaagaagaggaggccGGT 3000
985 A S R S L P L P K R P R R G A G 1000

G-линкер >< hTERT Фрагмент 2
-----|-----|-----|-----|-----|
3001 GGAGGAGGTGGTGGATttcactactagcgtccggtcctacctgccccaacac 3050
1001 G G G G G F T T S V R S Y L P N T 1017

-----|-----|-----|-----|-----|
3051 agtgaccgacgctctgagagggttcagggtgcctggggctctgctgctgcgga 3100
1018 V T D A L R G S G A W G L L L R R 1034

```

Фиг. 29 (ПРОДОЛЖЕНИЕ)

```

-----|-----|-----|-----|-----|
3101 ggggtgggtgatgatgttctggttcacacctggtggcccggtgtgacctgttc 3150
1035 V G D D V L V H L L A R C A L F 1050

```

```

-----|-----|-----|-----|-----|
3151 gtgctgggtgggtccctcctggtgcataaccaggtctggtggaccccccaattta 3200
1051 V L V A P S C A Y Q V C G P P L Y 1067

```

hTERT Фрагмент 2 >< G-лиinker >< **hTERT** Фрагмент 1

```

-----|-----|-----|-----|-----|
3201 tcagctcggtcgctgctGGAGGTGGAGGTGGAGGTctggccaccttcgtgc 3250
1068 Q L G A A G G G G G G L A T F V R 1084

```

```

-----|-----|-----|-----|-----|
3251 gggtcctgggtggacccaggggtggcggtggtgcagcggtgggacctgtgc 3300
1085 R L G P Q G W R L V Q R G D P A 1100

```

```

-----|-----|-----|-----|-----|
3301 gctttcagagctctctgtcgccagtggtctggtctgcttccctgggacgc 3350
1101 A F R A L V A Q C L V C V P W D A 1117

```

```

-----|-----|-----|-----|-----|
3351 acggccccccaccggtcgccccagtttccggcaggtgagttgtctcaaag 3400
1118 R P P P A A P S F R Q V S C L K E 1134

```

```

-----|-----|-----|-----|-----|
3401 agttgggtgctcgggtgttgccagcggtcttggtgaaaggggagcaaagaac 3450
1135 L V A R V L Q R L C E R G A K N 1150

```

hTERT Фрагмент 1 >< G

```

-----|-----|-----|-----|-----|
3451 gtccttgcccttgggttcgtcttgcctgatggagcaccgggaGGAGGTGG 3500
1151 V L A F G F A L L D G A R G G G G 1167

```

лиinker >< Ter V5

```

-----|-----|-----|-----|-----|
3501 TGGAGGAGGTggcaagccaattcctaattccattgctgggcctggactcaa 3550
1168 G G G G K P I P N P L L G L D S T 1184

```

Ter V5 ><

```

-----
3551 cttga 3555
      □

```

Фиг. 29 (ПРОДОЛЖЕНИЕ)