

(19)



Евразийское  
патентное  
ведомство

(11) 038600

(13) B1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента  
2021.09.21

(21) Номер заявки  
201491833

(22) Дата подачи заявки  
2012.09.07

(51) Int. Cl. *C12Q 1/02* (2006.01)  
*G01N 33/48* (2006.01)

---

(54) ОСНОВАННЫЕ НА КЛЕТКАХ ПЕРЕКРЕСТНЫЕ АНАЛИЗЫ И ИХ ПРИМЕНЕНИЕ

---

(31) 61/619,326; 61/620,305; 61/665,631;  
61/668,617; 61/678,590; 61/678,596  
(32) 2012.04.02; 2012.04.04; 2012.06.28;  
2012.07.06; 2012.08.01; 2012.08.01

(33) US

(43) 2015.01.30

(86) PCT/US2012/054321

(87) WO 2013/151577 2013.10.10

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:  
БЕРГ ЛЛК (US)

(72) Изобретатель:  
Нараин Нивен Раджин,  
Сарангараджан Рангапрасад,  
Вишнудас Вивек К., Ду Минь, Уолш  
Тони (US)

(74) Представитель:  
Лыу Т.Н., Угрюмов В.М. (RU)

(56) US-B2-8000949  
US-A1-20110131027  
US-A1-20120070849  
US-A1-20110027291

---

(57) Рассмотрено открытие платформенной технологии для анализа биологической системы или процесса (например, такого патологического состояния, как злокачественная опухоль) с помощью построения модели.

---

038600

B1

038600

B1

### Родственные заявки

По заявке на настоящий патент испрашивается приоритет в соответствии с предварительной заявкой на патент с серийным номером 61/619326, поданной 2 апреля 2012 г.; предварительной заявкой на патент с серийным номером 61/668617, поданной 6 июля 2012 г.; предварительной заявкой на патент с серийным номером 61/620305, поданной 4 апреля 2012 г.; предварительной заявкой на патент с серийным номером 61/665631, поданной 28 июня 2012 г.; предварительной заявкой на патент с серийным номером 61/678596, поданной 1 августа 2012 г., и предварительной заявкой на патент с серийным номером 61/678590, поданной 1 августа 2012 г., полное содержание каждой включено в настоящий документ посредством ссылки.

### Уровень техники

Открытие новых лекарственных средств было значительно ускорено с момента открытия ДНК в 1964 году Джеймсом Уотсоном и Фрэнсисом Криком, пионерами того, что мы сегодня называем молекулярной биологией. Инструменты и продукты молекулярной биологии позволяют обеспечивать быстрое, подробное и точное измерение генной регуляции как на уровне ДНК, так и РНК. За следующие три десятилетия после перевернувшего мировоззрение открытия стало известно о генезисе нокаутных животных моделей, ключевых связанных с ферментами реакциях и появилось новое понимание механизмов заболевания и патофизиологии от вышеупомянутых платформ. Весной 2000 года, когда Крейг Вентер и Фрэнсис Коллинз анонсировали начальное секвенирование генома человека, научный мир вступил в новую волну медицины.

Картинирование генома немедленно вызвало надежды, например, возможности контролировать заболевание еще до его инициирования, использования генной терапии для полного изменения дегенеративных процессов мозга, которые вызывают заболевание Альцгеймера или Паркинсона, и конструкта, который может быть введен в опухолевый сайт и вызвать искоренение заболевания, восстанавливая нормальную архитектуру ткани и физиологию. Другие приняли спорные неожиданные повороты и предложили понятие создания желаемого потомства в соответствии с цветом глаз или волос, ростом и т.д. Десять лет спустя, однако, мы все еще ждем без определенного продвижения в видении достижения устойчивого успеха генной терапии или даже элементарного контроля генетического процесса.

Таким образом, видимая реальность такова, что генетика, по меньшей мере, зависящая от поддерживающих конструктов, не достигла конечной точки физиологии. Действительно, многие процессы, такие как посттранскрипционные модификации, мутаций, однонуклеотидные полиморфизмы (SNP) и трансляционные модификации могут изменить провидение гена и/или кодируемый им комплементарный белок, и тем самым внести свой вклад в патологический процесс.

### Сущность изобретения

Информационный век и создание Интернета вызывает информационную перегрузку, но также способствует развитию международного сотрудничества и критики. По иронии судьбы, вышеупомянутые реалии могут также быть причиной недооценивания научным сообществом нескольких простых пунктов, включающих в себя то, что связь сигнальных каскадов и взаимовлияние внутри и между клетками и/или тканями определяет гомеостаз и обмен сообщениями для осуществления корректирующих механизмов, когда что-то идет неправильно.

Доказывающий это пример относится к сердечно-сосудистому заболеванию (CVD), которое остается ведущей причиной смерти в Соединенных Штатах и большей части развитого мира и на которое приходится 1 из каждых 2,8 смертей в одних только США. Кроме того, CVD представляет собой основную патологию, которая способствует связанным с ней осложнениям, таким как хроническое заболевание почек (~ 19 млн случаев в США), синдром хронической усталости и ключевой фактор при метаболическом синдроме. Значительные достижения в области технологий, связанных с диагностикой, малоинвазивными хирургическими методами, стентами с лекарственным покрытием и эффективным клиническим надзором, способствовали беспрецедентному периоду роста в области интервенционной кардиологии и позволили более эффективное лечение CVD. Тем не менее, этиология заболевания, связанного с сердечно-сосудистым заболеванием и связанными с ним сопутствующими заболеваниями, такими как диабет и заболевание периферических сосудов, еще полностью не выяснена.

Новые подходы для изучения механизмов и путей, вовлеченных в биологический процесс, такие как этиологии патологических состояний (например, CVD) и идентификация ключевых регулирующих путей и/или молекул-мишеней (например, "лекарственных мишеней") и/или маркеров для улучшения диагностики, ведения и/или лечения заболевания, по-прежнему отсутствуют.

Описанное в настоящем документе изобретение основано, по меньшей мере частично, на новом, совместном использовании сети биологических, геномных, протеомных, метаболических, транскриптомных и биоинформатических инструментов и методологий, которые, в сочетании, могут быть использованы для изучения любой представляющей интерес биологической системы, такой как отдельные патологические состояния, включающие в себя злокачественную опухоль, диабет, ожирение, сердечно-сосудистое заболевание и ангиогенез, используя системы биологического подхода. На первом этапе разрабатывают клеточные системы моделирования для исследования различных биологических систем, таких как патологический процесс, включающий связанные с заболеванием клетки, подвергнутые различ-

ным относящимся к заболеваниям окружающим раздражителям (например, гипергликемии, гипоксии, иммунострессу и перекисному окислению липидов, плотности клеток, агонистам и антагонистам кровеносных сосудов). Согласно некоторым вариантам осуществления клеточная система моделирования включает в себя клеточные механизмы взаимовлияния между различными взаимодействующими типами клеток (например, гладкомышечные клетки аорты (HASMC), клетки проксимальных канальцев почек (HK-2), аорты, эндотелиальные клетки (HAEC) и фибробласты кожи (HDFa)). Высокоэффективное биологическое считывание от модели клеточной системы получают с использованием комбинации техник, включающим в себя, например, новейшую масс-спектрометрию (ЖХ/МСМС), проточную цитометрию, анализы на основе клеток и функциональные анализы. Высокоэффективные биологические считывания затем подвергают биоинформатическому анализу для изучения тенденций конгруэнтных данных с помощью моделирования *in vitro*, *in vivo* и *in silico*. Полученные матрицы позволяют перекрестный интеллектуальный анализ данных, где линейный и нелинейный регрессионный анализ разрабатывали для достижения неопровержимых точек давления (или "хабов"). Эти представленные в настоящем документе "хабы" представляют собой кандидатов для открытия новых лекарственных средств. В частности, эти хабы представляют собой потенциальные маркеры мишеней лекарственных средств и/или заболевания.

Молекулярные сигнатуры дифференциалов позволяют понимание механизмов, которые диктуют изменения в микроокружении ткани, которые приводят к началу и прогрессированию заболевания. Взятые вместе, комбинация вышеупомянутых технологических платформ со стратегическим клеточным моделированием позволяют получать надежную информацию, которая может быть использована в дальнейшем для установления понимания заболевания при создании библиотеки биомаркеров и кандидатных лекарственных средств, которые могут клинически усиливать стандарт лечения.

Кроме того, этот подход полезен не только для диагностики заболеваний или вмешательства, но и характеризуется общей применимостью практически во всех патологических или не патологических состояниях в биологических системах, таких как биологические системы, где взаимодействуют две или более системы клеток. Например, этот подход применим для получения способности проникнуть в сущность механизмов, связанных с или вызывающих токсичность лекарственных средств. Таким образом, в настоящем изобретении предусмотрена основа для перекрестной биологической оценки, которая может, как правило, применяться в широком спектре настроек.

Существенная особенность платформы согласно настоящему изобретению заключается в том, что основанная на ИИ система основывается на наборе данных, полученных от модели клеточной системы, не прибегая к или принимая во внимание любые имеющиеся знания в настоящей области техники, такие как известные биологические связи (т.е. нет искусственных точек данных) в отношении биологического процесса. Соответственно, полученные в результате статистические модели, полученные с платформы, характеризуются объективностью. Другая важная особенность платформы согласно настоящему изобретению и ее компонентов, например, моделей клеточных систем и наборов данных, полученных из них, заключается в том, что она позволяет постоянное построение на клеточных моделях с течением времени (например, путем введения новых клеток и/или условий), например, первоначальная консенсусная сеть причинно-следственных связей "первого поколения", полученная от клеточной модели для биологической системы или процесса, может развиваться вместе с развитием самой клеточной модели до сети причинно-следственных связей множественных поколений (и полученных оттуда дельта или дельта-дельта сетей). Таким образом, обе клеточные модели, наборы данных от клеточных моделей и сети причинно-следственных связей, получаемые от клеточных моделей с помощью способов платформенной технологии, могут постоянно развиваться и строиться на предыдущих знаниях, полученных от платформенной технологии.

Согласно настоящему изобретению предусмотрены способы идентификации модулятора биологической системы, способы, включающие

создание модели для биологической системы, использующей клетки, связанные с биологической системой, для представления характерного аспекта биологической системы;

получение первого набора данных от модели, причем первый набор данных представляет собой глобальные протеомные изменения в клетках, связанных с биологической системой;

получение второго набора данных от модели, причем второй набор данных представляет собой одну или несколько функциональных активностей или клеточных ответов клеток, связанных с биологической системой, причем указанная одна или несколько функциональных активностей или клеточных ответов клеток включает глобальную ферментативную активность и/или эффект глобальной активности фермента на метаболиты или субстраты фермента в клетках, связанных с биологической системой;

создание консенсусной сети причинно-следственных связей между глобальными протеомными изменениями и одной или несколькими функциональными активностями или клеточными ответами клеток, основанных исключительно на первом и втором наборе данных с использованием запрограммированного вычислительного устройства, причем создание консенсусной сети причинно-следственных связей не основано на любых известных биологических связях, отличных от первого и второго наборов данных; и

идентификацию из сети причинно-следственных связей причинно-следственной связи, уникальной в биологической системе, причем по меньшей мере один фермент, связанный с уникальной причинно-

следственной связью, идентифицируется в качестве модулятора биологической системы.

Согласно некоторым вариантам осуществления первый набор данных представляет собой единственный протеомный набор данных. Согласно некоторым вариантам осуществления второй набор данных представляет собой единственную функциональную активность или клеточный ответ клеток, ассоциированных с биологической системой. Согласно некоторым вариантам осуществления первый набор данных дополнительно представляет собой липидомные данные, характеризующие клетки, ассоциированные с биологической системой. Согласно некоторым вариантам осуществления консенсусная сеть причинно-следственных связей создается среди глобальных протеомных изменений, липидомных данных и одной или нескольких функциональных активностей или клеточных ответов клеток, причем указанная одна или несколько функциональных активностей или клеточных ответов клеток включает глобальную ферментативную активность.

Согласно некоторым вариантам осуществления первый набор данных дополнительно представляет собой один или несколько из липидомных, метаболомических, транскриптомных, геномных и SNP данных, характеризующих клетки, связанные с биологической системой. Согласно некоторым вариантам осуществления первый набор данных дополнительно представляет собой два или более из липидомных, метаболомических, транскриптомных, геномных и SNP данных, характеризующих клетки, связанные с биологической системой. Согласно некоторым вариантам осуществления консенсусная сеть причинно-следственных связей создается среди глобальных протеомных изменений, одних или нескольких из липидомных, метаболомических, транскриптомных, геномных и SNP данных и одной или нескольких функциональных активностей или клеточных ответов клеток, причем упомянутая одна или несколько функциональных активностей или клеточных ответов клеток включает глобальную ферментативную активность и/или эффект глобальной ферментативной активности на по меньшей мере один метаболит или субстрат фермента.

Согласно некоторым вариантам осуществления глобальная ферментативная активность включает глобальную киназную активность. Согласно некоторым вариантам осуществления эффект глобальной ферментативной активности на метаболиты или субстраты фермента включает фосфопротеом клеток.

Согласно некоторым вариантам осуществления второй набор данных, представляющий собой одну или несколько функциональных активностей или клеточные ответы клетки, дополнительно содержит одно или несколько из биоэнергетики, пролиферации клеток, апоптоза, функционирования органелл, миграции клеток, формирования трубки, хемотаксиса, деградации внеклеточного матрикса, прорастания и партнера по генотипу-фенотипу, актуализированного с помощью функциональных моделей, выбранных из анализов АТФ, АФК, OXPHOS и Seahorse. Согласно некоторым вариантам осуществления консенсусная сеть причинно-следственных связей создается между глобальными протеомными изменениями, одними или несколькими из липидомных, метаболомических, транскриптомных, геномных и SNP данных и одной или несколькими функциональными активностями или клеточными ответами клеток, причем упомянутая одна или несколько функциональных активностей или клеточных ответов клеток включает глобальную ферментативную активность и/или влияние глобальной ферментативной активности на по меньшей мере один метаболит или субстрат фермента и дополнительно включает одно или несколько из биоэнергетики, пролиферации клеток, апоптоза, функционирования органелл, миграции клеток, формирования трубки, хемотаксиса, деградации внеклеточного матрикса, прорастания и партнера по генотипу-фенотипу, актуализированного с помощью функциональных моделей, выбранных из анализов АТФ, АФК, OXPHOS и Seahorse.

Согласно некоторым вариантам осуществления настоящего изобретения модель биологической системы включает культуру клеток *in vitro*, связанную с биологической системой. Согласно некоторым вариантам осуществления настоящего изобретения модель биологической системы необязательно дополнительно содержит соответствие культуры контрольных клеток *in vitro*.

Согласно некоторым вариантам осуществления настоящего изобретения модель биологической системы - культура клеток *in vitro* подвергается возмущающему воздействию окружающей среды, и культура *in vitro* соответствующих контрольных клеток идентична клеткам, не подвергнутым возмущающему воздействию окружающей среды. Согласно некоторым вариантам осуществления модель биологической системы возмущающего воздействия окружающей среды включает одно или несколько из контакта с биологически активным средством, изменения условия культивирования, введения генетической модификации/мутации и введения наполнителя, который вызывает генетическую модификацию/мутацию. Согласно некоторым вариантам осуществления модель биологической системы возмущающего воздействия окружающей среды включает контактирование клеток с ингибитором ферментативной активности. Согласно некоторым вариантам осуществления в модели биологической системы ингибитор ферментативной активности представляет собой ингибитор киназы. Согласно некоторым вариантам осуществления возмущающее воздействие окружающей среды включает контактирование клеток с CoQ10. Согласно некоторым вариантам осуществления возмущающее воздействие окружающей среды включает дополнительное контактирование клеток с CoQ10.

Согласно некоторым вариантам осуществления настоящего изобретения стадия создания осуществляется посредством основанной на искусственном интеллекте (ИИ) платформы информатики. Согласно

некоторым вариантам осуществления основанная на ИИ платформа информатики получает все входные данные от первого и второго наборов данных, не применяя статистическую пороговую величину. Согласно некоторым вариантам осуществления настоящего изобретения консенсусная сеть причинно-следственных связей, установленная на этапе создания, дополнительно дорабатывается до моделирующей сети причинно-следственных связей, перед идентифицирующим этапом, путем моделирования *in silico* на основе входных данных, чтобы обеспечить уровень достоверности предположения для одной или нескольких причинно-следственных связей внутри консенсусной сети причинно-следственных связей.

Согласно некоторым вариантам осуществления настоящего изобретения уникальная причинно-следственная связь идентифицируется как часть дифференциальной сети причинно-следственных связей, которая уникально присутствует в клетках, связанных с биологической системой, и отсутствует в соответствующих контрольных клетках. Согласно некоторым вариантам осуществления уникальная причинно-следственная связь идентифицируется как часть дифференциальной сети причинно-следственных связей, которая однозначно присутствует в клетках, связанных с биологической системой, и отсутствует в соответствующих контрольных клетках.

Согласно некоторым вариантам осуществления настоящего изобретения идентифицированная уникальная причинно-следственная связь представляет собой связь между по меньшей мере одной парой, выбранной из группы, состоящей из экспрессии гена и содержания липида; экспрессии гена и содержания транскрипта; экспрессии гена и содержания метаболита; экспрессии первого гена и экспрессии второго гена; экспрессии гена и наличия SNP; экспрессии гена и функциональной активности; содержания липида и содержания транскрипта; содержания липида и содержания метаболита; содержания первого липида и содержания второго липида; содержания липида и наличия SNP; содержания липида и функциональной активности; содержания первого транскрипта и содержания второго транскрипта; содержания транскрипта и содержания метаболита; содержания транскрипта и наличия SNP; содержания первого транскрипта и уровня функциональной активности; содержания первого метаболита и содержания второго метаболита; содержания метаболита и наличия SNP; содержания метаболита и функциональной активности; наличия первого SNP и наличия второго SNP; и наличия SNP и функциональной активности. Согласно некоторым вариантам осуществления идентифицированная уникальная причинно-следственная связь представляет собой связь между, по меньшей мере, содержанием липида, экспрессией гена и одной или несколькими функциональными активностями, причем функциональная активность представляет собой киназную активность.

Согласно настоящему изобретению предусмотрены способы идентификации модулятора патологического процесса, содержащий

создание модели патологического процесса, используя связанные с заболеванием клетки, для представления характерного аспекта патологического процесса;

получение первого набора данных от модели, причем первый набор данных представляет собой глобальные протеомные изменения в клетках, связанных с заболеванием;

получение второго набора данных от модели, причем второй набор данных представляет собой одну или несколько функциональных активностей или клеточных ответов клеток, связанных с биологической системой, причем указанная одна или несколько функциональных активностей или клеточных ответов клеток включает глобальную ферментативную активность и/или эффект глобальной ферментативной активности на метаболиты или субстраты фермента в клетках, связанных с заболеванием;

создание консенсусной сети причинно-следственных связей между глобальными протеомными изменениями и одной или несколькими функциональными активностями или клеточными ответами клеток, основанных исключительно на первом и втором наборе данных с использованием запрограммированного вычислительного устройства, причем создание консенсусной сети причинно-следственных связей не основано на любых известных биологических связях, отличных от первого и второго наборов данных; и

идентификацию из сети причинно-следственных связей причинно-следственной связи, уникальной в патологическом процессе, причем по меньшей мере один фермент, связанный с уникальной причинно-следственной связью, идентифицируется в качестве модулятора патологического процесса.

Согласно некоторым вариантам осуществления первый набор данных представляет собой единственный протеомный набор данных. Согласно некоторым вариантам осуществления второй набор данных представляет собой единственную функциональную активность или клеточный ответ клеток, ассоциированных с биологической системой. Согласно некоторым вариантам осуществления первый набор данных дополнительно представляет собой липидомные данные, характеризующие клетки, ассоциированные с биологической системой. Согласно некоторым вариантам осуществления консенсусная сеть причинно-следственных связей создается среди глобальных протеомных изменений, липидомных данных и одной или нескольких функциональных активностей или клеточных ответов клеток, причем указанная одна или несколько функциональных активностей или клеточных ответов клеток включает глобальную ферментативную активность. Согласно некоторым вариантам осуществления первый набор данных дополнительно представляет собой одни или несколько из липидомных, метаболомических, транскриптомных, геномных и SNP данных, характеризующих клетки, связанные с биологической системой. Согласно некоторым вариантам осуществления первый набор данных дополнительно представляет собой два или более

из липидомных, метаболомических, транскриптомных, геномных и SNP данных, характеризующих клетки, связанные с биологической системой. Согласно некоторым вариантам осуществления консенсусная сеть причинно-следственных связей создается среди глобальных протеомных изменений, одних или нескольких из липидомных, метаболомических, транскриптомных, геномных и SNP данных и одной или нескольких функциональных активностей или клеточных ответов клеток, причем указанная одна или несколько функциональных активностей или клеточных ответов клеток включает глобальную ферментативную активность и/или эффект глобальной ферментативной активности на по меньшей мере один метаболит или субстрат фермента.

Согласно некоторым вариантам осуществления глобальная ферментативная активность включает глобальную киназную активность, и причем эффект глобальной ферментативной активности на метаболиты или субстраты фермента включает фосфопротеом клеток. Согласно некоторым вариантам осуществления второй набор данных, представляющий собой одну или несколько функциональных активностей или клеточные ответы клетки, дополнительно содержит одно или несколько из биоэнергетики, пролиферации клеток, апоптоза, функционирования органелл, миграции клеток, формирования трубки, хемотаксиса, деградации внеклеточного матрикса, прорастания и партнера по генотипу-фенотипу, актуализированного с помощью функциональных моделей, выбранных из анализов АТФ, АФК, OXPHOS и Seahorse. Согласно некоторым вариантам осуществления консенсусная сеть причинно-следственных связей создается между глобальными протеомными изменениями, одними или несколькими из липидомных, метаболомических, транскриптомных, геномных и SNP данных, и одной или несколькими функциональными активностями или клеточными ответами клеток, причем упомянутая одна или несколько функциональных активностей или клеточных ответов клеток включает одно или несколько из биоэнергетики, пролиферации клеток, апоптоза, функционирования органелл, миграции клеток, формирования трубки, хемотаксиса, деградации внеклеточного матрикса, прорастания и партнера по генотипу-фенотипу, актуализированного с помощью функциональных моделей, выбранных из анализов АТФ, АФК, OXPHOS и Seahorse.

Согласно некоторым вариантам осуществления настоящего изобретения патологический процесс представляет собой злокачественную опухоль, диабет, ожирение, сердечно-сосудистое заболевание, возрастную дегенерацию макулы, диабетическую ретинопатию, воспалительное заболевание. Согласно некоторым вариантам осуществления патологический процесс включает ангиогенез. Согласно некоторым вариантам осуществления патологический процесс включает гепатоцеллюлярную карциному, злокачественную опухоль легких, злокачественную опухоль молочной железы, злокачественную опухоль предстательной железы, меланому, карциному, саркому, лимфому, лейкомию, плоскоклеточную карциному, злокачественную опухоль толстой и прямой кишок, злокачественную опухоль поджелудочной железы, злокачественную опухоль щитовидной железы, злокачественную опухоль эндометрия, злокачественную опухоль мочевого пузыря, злокачественную опухоль почек, солидную опухоль, лейкоз, неходжкинскую лимфому или злокачественную опухоль с лекарственной устойчивостью.

Согласно некоторым вариантам осуществления настоящего изобретения модель заболевания включает культуру *in vitro* патологических клеток, необязательно дополнительно содержащая соответствующую культуру *in vitro* контрольных или нормальных клеток. Согласно некоторым вариантам осуществления культура *in vitro* патологических клеток подвергается возмущающему воздействию окружающей среды, и культура *in vitro* соответствующих контрольных клеток идентична патологическим клеткам, не подвергнутым возмущающему воздействию окружающей среды. Согласно некоторым вариантам осуществления возмущающее воздействие окружающей среды включает одно или несколько из контакта с биологически активным средством, изменения условия культивирования, введения генетической модификации/мутации и введения наполнителя, который вызывает генетическую модификацию/мутацию. Согласно некоторым вариантам осуществления возмущающее воздействие окружающей среды включает контактирование клеток с ингибитором ферментативной активности. Согласно некоторым вариантам осуществления ингибитор ферментативной активности представляет собой ингибитор киназы. Согласно некоторым вариантам осуществления возмущающее воздействие окружающей среды дополнительно включает контактирование клеток с CoQ10. Согласно некоторым вариантам осуществления возмущающее воздействие окружающей среды включает контактирование клеток с CoQ10.

Согласно некоторым вариантам осуществления характерный аспект патологического процесса включает в себя состояние гипоксии, гипергликемическое состояние, обогащенные молочной кислотой условия культивирования или их комбинации. Согласно некоторым вариантам осуществления этап создания осуществляется посредством основанной на искусственном интеллекте (ИИ) платформы информатики. Согласно некоторым вариантам осуществления основанная на ИИ платформа информатики получает все входные данные от первого и второго наборов данных, не применяя статистическую пороговую величину.

Согласно некоторым вариантам осуществления консенсусная сеть причинно-следственных связей, установленная на этапе создания, дополнительно дорабатывается до моделирующей сети причинно-следственных связей, перед идентифицирующим этапом путем моделирования *in silico* на основе входных данных, чтобы обеспечить уровень достоверности предсказания для одной или нескольких причин-

но-следственных связей внутри консенсусной сети причинно-следственных связей. Согласно некоторым вариантам осуществления уникальная причинно-следственная связь идентифицируется как часть дифференциальной сети причинно-следственных связей, которые уникально присутствуют в модели патологических клеток и отсутствуют в соответствующих контрольных клетках. Согласно некоторым вариантам осуществления уникальная причинно-следственная связь идентифицируется как часть дифференциальной сети причинно-следственных связей, которая уникально присутствует в клетках, подвергнутых возмущающему воздействию окружающей среды, и отсутствует в соответствующих контрольных клетках.

В настоящем изобретении предусмотрены способы идентификации модуляторов биологической системы, способы, включающие

создание модели биологической системы, используя клетки, связанные с биологической системой, для представления характерного аспекта биологической системы;

получение первого набора данных от модели, причем первый набор данных представляет собой глобальные протеомные изменения в клетках и одного или нескольких липидомных, метаболомических, транскриптомных, геномных и SNP данных, характеризующих клетки, связанные с биологическими системами;

получение второго набора данных от модели, причем второй набор данных представляет собой одну или несколько функциональных активностей или клеточных ответов клеток, связанных с биологической системой, причем указанная одна или несколько функциональных активностей или клеточных ответов клеток включает глобальную киназную активность и эффект глобальной киназной активности на метаболиты или субстраты киназы в клетках, связанных с биологической системой;

создание консенсусной сети причинно-следственных связей между глобальными протеомными изменениями, одними или несколькими липидомными, метаболомическими, транскриптомными, геномными и SNP данными и одной или несколькими функциональными активностями или клеточными ответами клеток, основанных исключительно на первом и втором наборе данных с использованием запрограммированного вычислительного устройства, причем создание консенсусной сети причинно-следственных связей не основано на любых известных биологических связях, отличных от первого и второго наборов данных; и

идентификацию из сети причинно-следственных связей причинно-следственной связи, уникальной в биологической системе, причем по меньшей мере одна киназа, связанная с уникальной причинно-следственной связью, идентифицируется в качестве модулятора биологической системы.

В настоящем изобретении предусмотрены способы лечения, облегчения симптома, ингибирования прогрессирования, профилактики, диагностики или прогнозирования заболевания у субъектов-млекопитающих, способы, включающие

введение нуждающемуся в этом млекопитающему терапевтически эффективного количества фармацевтической композиции, содержащей биологически активное вещество, которое влияет на модулятор, идентифицированный с помощью любого из предусмотренных в настоящем документе способов, таким образом, оказывая лечение, облегчение симптома, ингибирование прогрессирования, профилактику, диагностику или прогнозирование заболевания.

В настоящем изобретении предусмотрены способы диагностики или прогнозирования заболевания у субъекта-млекопитающего, включающие

определения уровня экспрессии или активности в полученном от субъекта биологическом образце одного или нескольких модуляторов, идентифицированных с помощью любого из предусмотренных в настоящем документе способов; и

сравнение уровня у субъекта с уровнем экспрессии или активности одного или нескольких модуляторов в контрольном образце,

причем разница между уровнем у субъекта и уровнем экспрессии или активности одного или нескольких модуляторов в контрольном образце, представляет собой индикатор того, что субъект страдает от заболевания или предрасположен к развитию заболевания, благоприятно реагирующий на лечение заболевания, тем самым диагностируя или прогнозируя заболевание у субъекта-млекопитающего.

В настоящем изобретении предусмотрены способы идентификации терапевтического соединения для лечения, облегчения симптома, ингибирования прогрессирования или профилактики заболевания у субъекта-млекопитающего, способы, включающие

контактирование биологического образца от субъекта-млекопитающего с исследуемым соединением;

определение уровня экспрессии в биологическом образце одного или нескольких модуляторов, идентифицированных с помощью любого из предусмотренных в настоящем документе способов;

сравнение уровня экспрессии одного или нескольких модуляторов в биологическом образце с контрольным образцом, не контактировавшим с исследуемым соединением; и

выбор исследуемого соединения, которое модулирует уровень экспрессии одного или нескольких модуляторов в биологическом образце,

таким образом, идентифицируя терапевтическое соединение для лечения, облегчения симптома, ингибирования прогрессирования или профилактики заболевания у субъекта-млекопитающего.

В настоящем изобретении предусмотрены способы лечения, облегчения симптома, ингибирования прогрессирования или профилактики заболевания у субъекта-млекопитающего, способы, включающие введение нуждающемуся в этом млекопитающему терапевтически эффективного количества фармацевтической композиции, содержащей терапевтическое соединение, идентифицированное с использованием любого из предусмотренных в настоящем документе способов, таким образом, оказывая лечение, облегчение симптома, ингибирование прогрессирования или предупреждение заболевания.

В настоящем изобретении предусмотрены способы лечения, облегчения симптома, ингибирования прогрессирования или профилактики заболевания у субъекта-млекопитающего, способы, включающие введение нуждающемуся в этом млекопитающему терапевтически эффективного количества фармацевтической композиции, содержащей биологически активное вещество, которое влияет на экспрессию или активность одного или нескольких из TCOF1, TOP2A, CAMK2A, CDK1, CLTCL1, EIF4G1, ENO1, FBL, GSK3B, HDLBP, HIST1H2BA, HMGB2, HNRNPK, HNRPDL, HSPA9, MAP2K2, LDHA, MAP4, MAPK1, MARCKS, NME1, NME2, PGK1, PGK2, RAB7A, RPL17, RPL28, RPS5, RPS6, SLTM, TMED4, TNRCBA, TUBB и UBE21, таким образом, оказывая лечение, облегчение симптома, ингибирование прогрессирования или предупреждение заболевания. Согласно некоторым вариантам осуществления заболевание представляет собой гепатоцеллюлярную карциному.

В настоящем изобретении предусмотрены способы диагностики или прогнозирования заболеваний у субъекта-млекопитающего, способы, включающие

определение уровня экспрессии или активности в полученном от субъекта биологическом образце одного или нескольких белков TCOF1, TOP2A, CAMK2A, CDK1, CLTCL1, EIF4G1, ENO1, FBL, GSK3B, HDLBP, HIST1H2BA, HMGB2, HNRNPK, HNRPDL, HSPA9, MAP2K2, LDHA, MAP4, MAPK1, MARCKS, NME1, NME2, PGK1, PGK2, RAB7A, RPL17, RPL28, RPS5, RPS6, SLTM, TMED4, TNRCBA, TUBB и UBE21; и

сравнение уровня у субъекта с уровнем экспрессии или активности одного или нескольких белков в контрольном образце,

причем разница между уровнем у субъекта и уровнем экспрессии или активности одного или нескольких белков в контрольном образце, представляет собой индикатор того, что субъект страдает от заболевания или предрасположен к развитию заболевания, или благоприятно реагирующий на лечение заболевания, тем самым диагностируя или прогнозируя заболевание у субъекта-млекопитающего. Согласно некоторым вариантам осуществления заболевание представляет собой гепатоцеллюлярную карциному.

В настоящем изобретении предусмотрены способы идентификации терапевтических соединений для лечения, облегчения симптома, ингибирования прогрессирования или профилактики заболеваний у субъекта-млекопитающего, способы, включающие

контактирование биологического образца от субъекта-млекопитающего с исследуемым соединением;

определение уровня экспрессии в биологическом образце одного или нескольких белков TCOF1, TOP2A, CAMK2A, CDK1, CLTCL1, EIF4G1, ENO1, FBL, GSK3B, HDLBP, HIST1H2BA, HMGB2, HNRNPK, HNRPDL, HSPA9, MAP2K2, LDHA, MAP4, MAPK1, MARCKS, NME1, NME2, PGK1, PGK2, RAB7A, RPL17, RPL28, RPS5, RPS6, SLTM, TMED4, TNRCBA, TUBB и UBE21;

сравнения уровня экспрессии одного или нескольких белков в биологическом образце с контрольным образцом, не контактировавшим с исследуемым соединением; и

выбор исследуемого соединения, которое модулирует уровень экспрессии одного или нескольких белков в биологическом образце,

таким образом, идентифицируя терапевтическое соединение для лечения, облегчения симптома, ингибирования прогрессирования или профилактики заболевания у субъекта-млекопитающего. Согласно некоторым вариантам осуществления заболевание представляет собой гепатоцеллюлярную карциному.

В настоящем изобретении предусмотрены способы лечения, облегчения симптома, ингибирования прогрессирования или профилактики заболеваний у субъекта-млекопитающего, способы, включающие

введение нуждающемуся в этом млекопитающему терапевтически эффективного количества фармацевтической композиции, содержащей терапевтическое соединение, идентифицированное с помощью любого из предусмотренных в настоящем документе способов, таким образом, оказывая лечение, облегчение симптома, ингибирование прогрессирования или предупреждение заболевания.

В настоящем изобретении предусмотрены способы идентификации модулятора ангиогенеза, указанные способы, включающие:

(1) создание модели ангиогенеза с использованием клеток, связанных с ангиогенезом, чтобы представить характерный аспект ангиогенеза;

(2) получение первого набора данных от модели ангиогенеза, причем первый набор данных представляет собой одни или несколько геномных данных, липидомных данных, протеомных данных, метаболомических данных, транскриптомных данных и данных однонуклеотидного полиморфизма (SNP), характеризующих клетки, связанные с ангиогенезом;

(3) получение второго набора данных от модели ангиогенеза, причем второй набор данных пред-

ставляет собой одну или несколько функциональных активностей или клеточных ответов клеток, связанных с ангиогенезом;

(4) создание консенсусной сети причинно-следственных связей среди одних или нескольких геномных данных, липидомных данных, протеомных данных, метаболомических данных, транскриптомных данных и данных однонуклеотидного полиморфизма (SNP), характеризующих клетки, связанные с ангиогенезом, и одной или несколькими функциональными активностями или клеточными ответами клеток, связанных с ангиогенезом, основанных исключительно на первом наборе данных и втором наборе данных с использованием запрограммированного вычислительного устройства, причем создание консенсусной сети причинно-следственных связей не основано на любых известных биологических связях, отличных от первого набора данных и второго наборов данных;

(5) идентификацию из сети причинно-следственных связей причинно-следственной связи, уникальной в ангиогенезе, причем ген, липид, белок, метаболит, транскрипт или SNP, связанные с уникальной причинно-следственной связью, идентифицируются в качестве модулятора ангиогенеза.

В настоящем изобретении предусмотрены способы идентификации модулятора ангиогенеза, указанные способы, включающие:

(1) создание модели ангиогенеза с использованием клеток, связанных с ангиогенезом, чтобы представить характерный аспект ангиогенеза;

(2) получение первого набора данных от модели ангиогенеза, причем первый набор данных представляет собой липидомные данные;

(3) получение второго набора данных от модели ангиогенеза, причем второй набор данных представляет собой одну или несколько функциональных активностей или клеточных ответов клеток, связанных с ангиогенезом;

(4) создание консенсусной сети причинно-следственных связей среди липидомных данных и функциональной активности или клеточного ответа, основанных исключительно на первом наборе данных и втором наборе данных с использованием запрограммированного вычислительного устройства, причем создание консенсусной сети причинно-следственных связей не основано на любых известных биологических связях, отличных от первого набора данных и второго наборов данных;

(5) идентификацию из сети причинно-следственных связей причинно-следственной связи, уникальной в ангиогенезе, причем липид, связанный с уникальной причинно-следственной связью, идентифицируется в качестве модулятора ангиогенеза.

Согласно некоторым вариантам осуществления второй набор данных, представляющий одну или несколько функциональных активностей или клеточных ответов клеток, связанных с ангиогенезом, содержит глобальную ферментативную активность и влияние глобальной ферментативной активности на метаболиты или субстраты ферментов в клетках, связанных с ангиогенезом.

В настоящем изобретении предусмотрены способы идентификации модулятора ангиогенеза, указанные способы, включающие:

(1) создание модели ангиогенеза с использованием клеток, связанных с ангиогенезом, чтобы представить характерный аспект ангиогенеза;

(2) получение первого набора данных от модели ангиогенеза, причем первый набор данных представляет собой одни или несколько геномных данных, липидомных данных, протеомных данных, метаболомических данных, транскриптомных данных и данных однонуклеотидного полиморфизма (SNP), характеризующих клетки, связанные с ангиогенезом;

(3) получение второго набора данных от модели ангиогенеза, причем второй набор данных представляет собой одну или несколько функциональных активностей или клеточных ответов киназной активности клеток, связанных с ангиогенезом, причем одна или несколько функциональных активностей или клеточных ответов включает глобальную ферментативную активность и/или влияние глобальной ферментативной активности на метаболиты или субстраты ферментов в клетках, связанных с ангиогенезом;

(4) создание консенсусной сети причинно-следственных связей среди одних или нескольких геномных данных, липидомных данных, протеомных данных, метаболомических данных, транскриптомных данных и данных однонуклеотидного полиморфизма (SNP), характеризующих клетки, связанные с ангиогенезом, и одной или несколькими функциональными активностями или клеточными ответами клеток, связанных с ангиогенезом, основанных исключительно на первом наборе данных и втором наборе данных с использованием запрограммированного вычислительного устройства, причем создание консенсусной сети причинно-следственных связей не основано на любых известных биологических связях, отличных от первого набора данных и второго наборов данных;

(5) идентификацию из сети причинно-следственных связей причинно-следственной связи, уникальной в ангиогенезе, причем фермент, связанный с уникальной причинно-следственной связью, идентифицируется в качестве модулятора ангиогенеза.

Согласно некоторым вариантам осуществления настоящего изобретения глобальная ферментативная активность включает глобальную киназную активность и влияние глобальной ферментативной активности на метаболиты или субстраты фермента в клетках, связанных с ангиогенезом, включает фосфо-

протеом клетки. Согласно некоторым вариантам осуществления глобальная ферментативная активность включает глобальную протеазную активность.

Согласно некоторым вариантам осуществления настоящего изобретения модулятор стимулирует или способствует ангиогенезу. Согласно некоторым вариантам осуществления настоящего изобретения модулятор ингибирует ангиогенез.

Согласно некоторым вариантам осуществления модель ангиогенеза, содержащая клетки, связанные с ангиогенезом, выбирают из группы, состоящей из культуры клеток *in vitro* модели ангиогенеза, крысиной модели микрососудов аорты, модели сетчатки новорожденной мыши, модели хорион-аллантоисной мембраны (CAM) модели кармана роговицы с ангиогенными факторами роста, модель имплантации подкожной губки с ангиогенными факторами роста, модель имплантации MATRIGEL® с ангиогенными факторами роста и модель имплантации опухоли; и причем модель ангиогенеза, необязательно, дополнительно включает соответствующую контрольную модель ангиогенеза, содержащую контрольные клетки. Согласно некоторым вариантам осуществления модель ангиогенеза культуры *in vitro* выбирают из группы, состоящей из анализа образования трубки MATRIGEL®, миграционного анализа, анализа камеры Бойдена, анализа способом зарастания царапин.

Согласно некоторым вариантам осуществления клетки, связанные с ангиогенезом в модели культуры *in vitro*, представляют собой эндотелиальные клетки пупочной вены человека (HUVEC). Согласно некоторым вариантам осуществления ангиогенный фактор роста в модели кармана роговицы с ангиогенными факторами роста, модели имплантации подкожной губки с ангиогенными факторами роста, модели имплантации MATRIGEL® с ангиогенными факторами роста выбирают из группы, состоящей из FGF-2 и VEGF.

Согласно некоторым вариантам осуществления настоящего изобретения клетки в модели ангиогенеза подвергаются возмущающему воздействию окружающей среды, и клетки в соответствующей модели ангиогенеза представляют собой идентичные клетки, не подвергнутые возмущающему воздействию окружающей среды. Согласно некоторым вариантам осуществления возмущающее воздействие окружающей среды включает одно или несколько из контакта со средством, изменения в условиях культивирования, введенной генетической модификации или мутации, наполнителя, которое вызывает генетическую модификацию или мутацию, и индукцию ишемии.

Согласно некоторым вариантам осуществления средство представляет собой проангиогенное средство или антиангиогенное средство. Согласно некоторым вариантам осуществления проангиогенное средство выбирают из группы, состоящей из FGF-2 и VEGF. Согласно некоторым вариантам осуществления антиангиогенное средство выбирают из группы, состоящей из ингибиторов VEGF, антагонистов интегрина, ангиостатина, эндостатина, тумстатина, Авастиана, сорафениба, сунитиниба, пазопаниба и эверолимуса, растворимого VEGF-рецептора, ангиопоэтина 2, тромбоспондина 1, тромбоспондина 2, вазостатина, калретикулина, протромбина (kringle домена-2), фрагмента антитромбина III, ингибитора сосудистого эндотелиального роста (VEGI), секретируемого кислого белка, обогащенного цистеином (SPARC) и пептида SPARC, соответствующего домену фоллистатину белка (FS E) и коэнзим Q10.

Согласно любому из вариантов осуществления средство представляет собой ингибитор ферментативной активности. Согласно любому из вариантов осуществления средство представляет собой ингибитор киназы.

Согласно любому из вариантов осуществления настоящего изобретения первый набор данных содержит уровни экспрессии белка и/или мРНК множества генов в геномном наборе данных. Согласно некоторым вариантам осуществления настоящего изобретения первый набор данных содержит двое или более из геномных данных, липидомных данных, протеомных данных, метаболомических данных, транскриптомных данных, а также данных однонуклеотидного полиморфизма (SNP). Согласно некоторым вариантам осуществления настоящего изобретения первый набор данных содержит трое или более геномных данных, липидомных данных, протеомных данных, метаболомических данных, транскриптомных данных, а также данных однонуклеотидного полиморфизма (SNP).

Согласно любому из вариантов осуществления настоящего изобретения второй набор данных, представляющий одну или несколько функциональных активностей или клеточных ответов клеток, связанных с ангиогенезом, содержащий одно или несколько из биоэнергетики, пролиферации клеток, апоптоза, функции органелл, миграции клеток, формирование трубки, ферментативной активности, хемотаксиса, деградации внеклеточного матрикса, прорастания и партнера по генотипу-фенотипу, актуализированного с помощью функциональных моделей, выбранных из анализов АТФ, АФК, OXPHOS и Seahorse.

Согласно любому из вариантов осуществления настоящего изобретения первый набор данных может представлять собой единственный набор данных, такой как одни из геномных данных, липидомных данных, протеомных данных, метаболомических данных, транскриптомных данных, а также данных однонуклеотидного полиморфизма (SNP). Согласно любому из вариантов осуществления первый набор данных может представлять собой два набора данных. Согласно любому из вариантов осуществления первый набор данных может представлять собой три набора данных. Согласно любому из вариантов осуществления первый набор данных может представлять собой четыре набора данных. Согласно любому

му из вариантов осуществления первый набор данных может представлять собой пять наборов данных. Согласно любому из вариантов осуществления первый набор данных может представлять собой шесть наборов данных.

Согласно любому из вариантов осуществления настоящего изобретения второй набор данных представляет собой единственный набор данных, такой как одна или несколько функциональных активностей или клеточных ответов клеток, связанных с ангиогенезом, содержащих одно или несколько из биоэнергетики, пролиферации клеток, апоптоза, функции органелл, миграции клеток, формирование трубки, ферментативной активности, хемотаксиса, деградации внеклеточного матрикса, прорастания и партнера по генотипу-фенотипу, актуализированного с помощью функциональных моделей, выбранных из анализов АТФ, АФК, OXPHOS и Seahorse. Согласно любому из вариантов осуществления второй набор данных может представлять собой два набора данных. Согласно любому из вариантов осуществления второй набор данных может представлять собой три набора данных. Согласно некоторым вариантам осуществления второй набор данных может представлять собой четыре набора данных. Согласно любому из вариантов осуществления второй набор данных может представлять собой пять наборов данных. Согласно любому из вариантов осуществления второй набор данных может представлять собой шесть наборов данных. Согласно любому из вариантов осуществления второй набор данных может представлять собой семь наборов данных. Согласно любому из вариантов осуществления второй набор данных может представлять собой восемь наборов данных. Согласно любому из вариантов осуществления второй набор данных может представлять собой девять наборов данных. Согласно некоторым вариантам осуществления второй набор данных может представлять собой десять наборов данных.

Согласно любому из вариантов осуществления настоящего изобретения ферментативная активность может представлять собой киназную активность. Согласно любому из вариантов осуществления настоящего изобретения ферментативная активность может представлять собой протеазную активность.

Согласно некоторым вариантам осуществления настоящего изобретения стадия (4) осуществляется посредством основанной на искусственном интеллекте (ИИ) платформы информатики. Согласно некоторым вариантам осуществления основанная на ИИ платформа информатики содержит REFS(TM). Согласно некоторым вариантам осуществления основанная на ИИ платформа информатики получает все входные данные от первого набора данных и второго набора данных, не применяя статистическую пороговую величину. Согласно некоторым вариантам осуществления консенсусная сеть причинно-следственных связей, установленная на этапе (4), дополнительно дорабатывается до моделирующей сети причинно-следственных связей, перед этапом (5), путем моделирования *in silico* на основе входных данных, чтобы обеспечить уровень достоверности предсказания для одной или нескольких причинно-следственных связей внутри консенсусной сети причинно-следственных связей.

Согласно некоторым вариантам осуществления настоящего изобретения уникальная причинно-следственная связь идентифицируется как часть дифференциальной консенсусной сети причинно-следственных связей, которая уникально присутствует в клетках и отсутствует в соответствующих контрольных клетках.

Согласно настоящему изобретению идентифицированная уникальная причинно-следственная связь представляет собой связь между по меньшей мере одной парой, выбранной из группы, состоящей из экспрессии гена и содержания липида; экспрессии гена и содержания транскрипта; экспрессии гена и содержания метаболита; экспрессии первого гена и экспрессии второго гена; экспрессии гена и наличия SNP; экспрессии гена и функциональной активности; содержания липида и содержания транскрипта; содержания липида и содержания метаболита; содержания первого липида и содержания второго липида; содержания липида и наличия SNP; содержания липида и функциональной активности; содержания первого транскрипта и содержания второго транскрипта; содержания транскрипта и содержания метаболита; содержания транскрипта и наличия SNP; содержания первого транскрипта и уровня функциональной активности; содержания первого метаболита и содержания второго метаболита; содержания метаболита и наличия SNP; содержания метаболита и функциональной активности; наличия первого SNP и наличия второго SNP; и наличия SNP и функциональной активности.

Согласно некоторым вариантам осуществления функциональную активность выбирают из группы, состоящей из биоэнергетики, пролиферации клеток, апоптоза, функции органелл, миграции клеток, формирования трубки, ферментативной активности, хемотаксиса, деградации внеклеточного матрикса, прорастания и партнера по генотипу-фенотипу, актуализированного с помощью функциональных моделей, выбранных из анализов АТФ, АФК, OXPHOS и Seahorse. Согласно некоторым вариантам осуществления функциональная активность представляет собой киназную активность. Согласно некоторым вариантам осуществления функциональная активность представляет собой протеазную активность.

Согласно некоторым вариантам осуществления идентифицированная уникальная причинно-следственная связь представляет собой связь между, по меньшей мере, содержанием липида, экспрессией гена и одной или несколькими функциональными активностями, причем функциональная активность представляет собой киназную активность.

Согласно настоящему изобретению способы могут дополнительно включать проверку идентифицированной уникальной причинно-следственной связи в ангиогенезе.

Согласно настоящему изобретению предусмотрены способы обеспечения модели ангиогенеза для использования в способах платформы, включающие создание модели ангиогенеза с использованием клеток, связанных с ангиогенезом, чтобы представить характерный аспект ангиогенеза, причем модель ангиогенеза применима для создания наборов данных, используемых в способе платформы; тем самым обеспечивая модель ангиогенеза для использования в способе платформы.

Согласно настоящему изобретению предусмотрены способы для получения первого набора данных и второго набора данных от модели ангиогенеза для использования в способе платформы, включающие:

(1) получение первого набора данных от модели ангиогенеза для использования в способе платформы, причем модель ангиогенеза содержит клетки, связанные с ангиогенезом и причем первый набор данных представляет собой одни или несколько геномных данных, липидомных данных, протеомных данных, метаболомических данных, транскриптомных данных и данных однонуклеотидного полиморфизма (SNP), характеризующих клетки, связанные с ангиогенезом;

(2) получение второго набора данных от модели ангиогенеза для использования в способе платформы, причем второй набор данных представляет собой одну или несколько функциональных активностей или клеточных ответов клеток, связанных с ангиогенезом;

таким образом, получая первый набор данных и второй набор данных от модели ангиогенеза для использования в способе платформы.

Согласно настоящему изобретению предусмотрены способы для идентификации модулятора ангиогенеза, указанный способ, включающий:

(1) создание консенсусной сети причинно-следственных связей между первым набором данных и вторым набором данных, полученных от модели ангиогенеза, причем модель содержит клетки, связанные с ангиогенезом, и причем первый набор данных представляет собой одни или несколько из геномных данных, липидомных данных, протеомных данных, метаболомических данных, транскриптомных данных и данных однонуклеотидного полиморфизма (SNP), характеризующих клетки, связанные с ангиогенезом, и второй набор данных представляет собой одну или несколько функциональных активностей или клеточных ответов клеток, связанных с ангиогенезом, с использованием запрограммированного вычислительного устройства, причем создание консенсусной сети причинно-следственных связей не основано на любых известных биологических связях, отличных от первого набора данных и второго наборов данных;

(2) идентификацию из консенсусной сети причинно-следственных связей причинно-следственной связи, уникальной в ангиогенезе, причем по меньшей мере один ген, липид, белок, метаболит, транскрипт или SNP, связанный с уникальной причинно-следственной связью, идентифицируется в качестве модулятора ангиогенеза;

таким образом, идентифицируя модулятор ангиогенеза.

Согласно настоящему изобретению предусмотрены способы для идентификации модулятора ангиогенеза, указанный способ, включающий:

(1) обеспечение консенсусной сети причинно-следственных связей, полученной от модели ангиогенеза;

(2) идентификацию из консенсусной сети причинно-следственных связей причинно-следственной связи, уникальной в ангиогенезе, причем по меньшей мере один ген, липид, белок, метаболит, транскрипт или SNP, связанный с уникальной причинно-следственной связью, идентифицируется в качестве модулятора ангиогенеза;

таким образом, идентифицируя модулятор ангиогенеза.

Согласно некоторым вариантам осуществления консенсусная сеть причинно-следственных связей создается между первым набором данных и вторым набором данных, полученных от модели ангиогенеза, причем модель содержит клетки, связанные с ангиогенезом, и причем первый набор данных представляет собой одни или несколько из геномных данных, липидомных данных, протеомных данных, метаболомических данных, транскриптомных данных и данных однонуклеотидного полиморфизма (SNP), характеризующих клетки, связанные с ангиогенезом; и второй набор данных представляет собой одну или несколько функциональных активностей или клеточных ответов клеток, связанных с ангиогенезом, с использованием запрограммированного вычислительного устройства, причем создание консенсусной сети причинно-следственных связей не основано на любых известных биологических связях, отличных от первого набора данных и второго наборов данных.

Согласно некоторым вариантам осуществления модель ангиогенеза выбирают из группы, состоящей из культуры клеток *in vitro* модели ангиогенеза, крысиной модели микрососудов аорты, модели сетчатки новорожденной мыши, модели хорион-аллантоисной мембраны (CAM), модели кармана роговицы с ангиогенными факторами роста, модели имплантации подкожной губки с ангиогенными факторами роста, модели имплантации MATRIGEL® с ангиогенными факторами роста и модели имплантации опухоли; и причем модель ангиогенеза, необязательно, дополнительно включает соответствующую контрольную модель ангиогенеза, содержащую контрольные клетки.

Согласно некоторым вариантам осуществления первый набор данных содержит липидомные данные. Согласно некоторым вариантам осуществления первый набор данных содержит только липидомные

данные.

Согласно некоторым вариантам осуществления второй набор данных представляет собой одну или несколько функциональных активностей или клеточных ответов клеток, связанных с ангиогенезом, содержащий глобальную ферментативную активность, а также влияние глобальной ферментативной активности на метаболиты или субстраты ферментов в клетках, связанных с ангиогенезом.

Согласно некоторым вариантам осуществления второй набор данных содержит киназную активность или протеазную активность. Согласно некоторым вариантам осуществления второй набор данных содержит только киназную активность или протеазную активность.

Согласно некоторым вариантам осуществления второй набор данных представляет собой одну или несколько функциональных активностей или клеточных ответов клеток, связанных с ангиогенезом, содержит одно или несколько из биоэнергетического профилирования, пролиферации клеток, апоптоза, функции органелл, миграции клеток, формирования трубки, киназной активности, протеазной активности и партнера по генотипу-фенотипу, актуализированного с помощью функциональных моделей, выбранных из анализов АТФ, АФК, OXPHOS и Seahorse.

Согласно некоторым вариантам осуществления настоящего изобретения ангиогенез связан с патологическим состоянием.

В настоящем изобретении предусмотрены способы для модулирования ангиогенеза у субъекта-млекопитающего, способы, включающие введение нуждающемуся в этом млекопитающему терапевтически эффективного количества фармацевтической композиции, содержащей биологически активное вещество, которое влияет на модулятор, идентифицированный с помощью любого одного из представленных в настоящем документе способов, таким образом, модулируя ангиогенез.

В настоящем изобретении предусмотрен способ определения модулированного ангиогенеза у субъекта-млекопитающего, включающий:

определение содержания, активности или наличия в полученном от субъекта биологическом образце одного или нескольких модуляторов, определенных с помощью любого одного из представленных в настоящем документе способов; и

сравнение содержания, активности или наличия у субъекта с содержанием, активностью или наличием одного или нескольких модуляторов в контрольном образце,

причем разница между содержанием, активностью или наличием у субъекта и содержанием, активностью или наличием одного или нескольких модуляторов в контрольном образце представляет собой показатель того, что ангиогенез модулируется у субъекта-млекопитающего.

Согласно настоящему изобретению предусмотрены способы идентификации терапевтического соединения для модуляции ангиогенеза у субъекта-млекопитающего, способы, включающие

контактирование биологического образца от субъекта-млекопитающего с исследуемым соединением;

определение в биологическом образце уровня экспрессии одного или нескольких модуляторов, идентифицированных с помощью любого одного из представленных в настоящем документе способов;

сравнение содержания, активности или наличия одного или нескольких модуляторов в биологическом образце с контрольным образцом, не контактировавшим с исследуемым соединением; и

выбор исследуемого соединения, которое модулирует содержание, активность или наличие одного или нескольких модуляторов в биологическом образце,

таким образом, идентифицируя терапевтическое соединение для модуляции ангиогенеза у субъекта-млекопитающего.

В настоящем изобретении предусмотрены способы модулирования ангиогенеза у субъекта-млекопитающего, способы, включающие введение нуждающемуся в этом млекопитающему терапевтически эффективного количества фармацевтической композиции, содержащей биологически активное вещество, которое влияет на модулятор, идентифицированный с помощью любого одного из представленных в настоящем документе способов, таким образом, оказывая лечение, облегчение симптома, ингибирование прогрессирования, профилактику, диагностику или прогнозирование заболевания.

Согласно некоторым вариантам осуществления "возмущающее воздействие окружающей среды", также называемое в настоящем документе как "компонент внешнего раздражителя", представляет собой терапевтическое средство. Согласно некоторым вариантам осуществления компонент внешнего раздражителя представляет собой небольшую молекулу (например, небольшая молекула не более чем 5, 4, 3, 2, 1 кДа, 500 Да или 250 Да). Согласно некоторым вариантам осуществления компонент внешнего раздражителя представляет собой биологическое вещество. Согласно некоторым вариантам осуществления компонент внешнего раздражителя представляет собой химическое вещество. Согласно некоторым вариантам осуществления компонент внешнего раздражителя характеризуется эндогенностью или экзогенностью по отношению к клеткам. Согласно некоторым вариантам осуществления компонент внешнего раздражителя представляет собой MIM или epishifter. Согласно некоторым вариантам осуществления компонент внешнего раздражителя представляет собой стрессовый фактор для такой клеточной системы, как гипоксия, гипергликемия, гиперлипидемия, гиперинсулинемия и/или обогащенные молочной кислотой условия.

Согласно некоторым вариантам осуществления компонент внешнего раздражителя может включать

в себя терапевтическое средство или кандидатное терапевтическое средство для лечения патологического состояния, включающее в себя химиотерапевтическое средство, основанные на белках биологические лекарственные средства, антитела, слитые белки, низкомолекулярные лекарственные средства, липиды, полисахариды, нуклеиновые кислоты и т.д.

Согласно некоторым вариантам осуществления компонент внешнего раздражителя может представлять собой один или несколько стрессовых факторов, такие как те, которые обычно встречаются *in vivo* при различных патологических состояниях, включающих в себя гипоксию, состояния гипергликемии, кислая среда (которая может быть имитирована путем обработки молочной кислоты) и т.д.

Согласно другим вариантам осуществления компонент внешнего раздражителя может включать в себя один или несколько МІМ и/или *epishifter*, определенных в настоящем документе ниже. Иллюстративные МІМ включают в себя коэнзим Q10 (также называемый в настоящем документе CoQ10) и соединения в семействе витамина В, или нуклеозиды, мононуклеотиды или динуклеотиды, которые содержат соединение в семействе витамина В. Согласно некоторым вариантам осуществления внешний раздражитель представляет собой не CoQ10. Согласно некоторым вариантам осуществления внешний раздражитель представляет собой не витамин В или соединения в семействе витамина В.

В процессе измерений выходных клеточных данных (например, экспрессии белка, содержания липидов) может быть использовано либо абсолютное количество (например, экспрессия или общее количество), либо относительный уровень (например, относительный уровень экспрессии или количества). Согласно одному варианту осуществления используются абсолютные количества (например, экспрессия или общее количество). Согласно одному варианту осуществления используются относительные уровни или количества (например, относительные уровни экспрессии или количества). Например, чтобы определить относительный уровень экспрессии белка в клеточной системе, количество любого данного белка в клеточной системе с или без внешнего раздражителя к клеточной системе, может быть сравнено с подходящей контрольной клеточной линией или смесью клеточных линий (например, всех клеток, используемых в том же эксперименте) и заданным значением кратного увеличения или кратного снижения. Специалисту в настоящей области техники будет понятно, что абсолютные количества или относительные количества могут быть использованы в любом измерении выходных клеточных данных, таких как уровень транскрипции гена и/или РНК, содержание липида или любые функциональные выходные данные, например, уровень апоптоза, уровень токсичности или ECAR или OCR, описанные в настоящем документе. Заранее заданный пороговый уровень для кратного увеличения (например, по меньшей мере 1,2, 1,3, 1,4, 1,5, 1,6, 1,7, 1,8, 1,9, 2, 2,5, 3, 3,5, 4, 4,5, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 75 или 100 или более кратное увеличение) или кратного снижения (например, снижение по меньшей мере до 0,9, 0,8, 0,75, 0,7, 0,6, 0,5, 0,45, 0,4, 0,35, 0,3, 0,25, 0,2, 0,15, 0,1 или 0,05 раза, или снижение на 90, 80, 75, 70, 65, 60, 55, 50, 45, 40, 35, 30, 25, 20, 15, 10 или 5% или менее) могут быть использованы для выбора статистически достоверных дифференциалов, и выходные данные для статистически достоверных дифференциалов могут быть затем включены в наборы данных (например, первый и второй наборы данных), используемые в способах платформенной технологии согласно настоящему изобретению. Все представленные в вышеприведенном списке значения, которые также могут быть верхним или нижним пределом диапазона, например, от 1,5 и до 5 раз, от 5 и до 10 раз, от 2 и до 5 раз или между 0,9 и 0,7, 0,9 и 0,5, или 0,7 и 0,3 раза, предназначены для того, чтобы быть частью настоящего изобретения.

В настоящем изобретении все представленные в перечне значения, например, такие как вышеуказанные, которые также могут быть верхним или нижним пределом диапазона, предназначены для того, чтобы быть частью настоящего изобретения.

Согласно одному варианту осуществления способов настоящего изобретения не каждая наблюдаемая причинно-следственная связь в сети причинно-следственных связей может характеризоваться биологическим значением. В отношении любой данной биологической системы, для которой применяется перекрестная биологическая оценка субъекта, некоторые (или могут быть все) причинно-следственные связи (и связанные с ними гены) могут быть "определяющими" по отношению к специфической рассматриваемой биологической проблеме, например, либо быть ответственными за способствование патологическому состоянию (потенциальная мишень для терапевтического вмешательства), либо представлять собой биомаркер патологического состояния (потенциальный диагностический или прогностический фактор). Согласно одному варианту осуществления наблюдаемая уникальная в биологической системе причинно-следственная связь представляет собой определяющий фактор по отношению к специфической рассматриваемой биологической проблеме. Согласно одному варианту осуществления не каждая наблюдаемая уникальная в биологической системе причинно-следственная связь представляет собой определяющую по отношению к специфической рассматриваемой проблеме.

Такие определяющие причинно-следственные связи могут быть выбраны конечным пользователем рассматриваемого способа или они могут быть выбраны с помощью такого программного обеспечения биоинформатики, как REFS, программы анализа сравнительных путей DAVID или программы анализа пути KEGG. Согласно некоторым вариантам осуществления используется более одного программного обеспечения биоинформатики, и предпочтительны консенсусные результаты от двух или более программных обеспечений биоинформатики.

Используемые в настоящем документе "дифференциалы" клеточных выходных данных включают в себя различия (например, повышенные или сниженные уровни) в любом одном или нескольких параметрах клеточных выходов. Согласно некоторым вариантам осуществления дифференциалы, каждый независимо, выбирают из группы, состоящей из дифференциалов в транскрипции мРНК, экспрессии белка, активности белка, уровня метаболита/интермедиата и/или взаимодействия лиганд-мишень. Например, касательно уровня экспрессии белка, дифференциалы между двумя клеточными выходными данными, например, выходные данные, связанные с клеточной системой до и после лечения с помощью компонента внешнего раздражителя, могут быть измерены и количественно определены с использованием известных в настоящей области техники таких технологий, как основанные на масс-спектрометрии анализы, (например, iTRAQ, 2D-ЖХ-МСМС и т.д.).

Согласно одному аспекту клеточная модель биологической системы содержит клеточную взаимовлияющую систему, причем первая клеточная система, содержащая первую клеточную окружающую среду с компонентом внешнего раздражителя, создает первую модифицированную клеточную окружающую среду; таким образом, что взаимовлияющая клеточная система устанавливается путем воздействия на вторую клеточную систему, содержащую вторую клеточную окружающую среду, первой модифицированной клеточной окружающей средой.

Согласно одному варианту осуществления создается по меньшей мере один значимый клеточный взаимовлияющий дифференциал от взаимовлияющей клеточной системы; и по меньшей мере один определяющий клеточный взаимовлияющий дифференциал идентифицируется таким образом, что происходит перекрестная биологическая оценка. Согласно некоторым вариантам осуществления по меньшей мере один значимый клеточный взаимовлияющий дифференциал представляет собой множество дифференциалов.

Согласно некоторым вариантам осуществления по меньшей мере один определяющий клеточный взаимовлияющий дифференциал выбирают с помощью конечного пользователя. Альтернативно, согласно другому варианту осуществления по меньшей мере один определяющий клеточный взаимовлияющий дифференциал выбирают с помощью программного обеспечения биоинформатики (такого как, например, REFS, анализ пути KEGG или анализ сравнительных путей DAVID) на основе количественных данных протеомики.

Согласно некоторым вариантам осуществления способ дополнительно включает создание статистически значимого дифференциала клеточных выходных данных для первой клеточной системы.

Согласно некоторым вариантам осуществления дифференциалы, каждый независимо, выбирают из группы, состоящей из дифференциалов в транскрипции мРНК, экспрессии белка, активности белка, уровня метаболита/интермедиата и/или взаимодействия лиганд-мишень.

Согласно некоторым вариантам осуществления первую клеточную систему и вторую клеточную систему независимо выбирают из: гомогенной популяции первичных клеток, клеточной линии злокачественной опухоли или нормальной клеточной линии.

Согласно некоторым вариантам осуществления первая модифицированная клеточная окружающая среда содержит факторы, секретируемые первой клеточной системой в первую клеточную окружающую среду в результате контактирования первой клеточной системы с компонентом внешнего раздражителя. Факторы могут содержать секретируемые белки или другие сигнальные молекулы. Согласно некоторым вариантам осуществления первая модифицированная клеточная среда по существу свободна от первоначального компонента внешнего раздражителя.

Согласно некоторым вариантам осуществления взаимодействующая клеточная система содержит трансвел, характеризующийся наличием встроенного отсека и луночного отсека, разделенных мембраной. Например, первая клеточная система может расти во встроенном отсеке (или луночном отсеке), а вторая клеточная система может расти в луночном отсеке (или во встроенном отсеке).

Согласно некоторым вариантам осуществления взаимодействующая клеточная система содержит первую культуру для выращивания первой клеточной системы и вторую культуру для выращивания второй клеточной системы. В этом случае, первая модифицированная клеточная окружающая среда может представлять собой кондиционированную среду от первой клеточной системы.

Согласно некоторым вариантам осуществления первая клеточная среда и вторая клеточная среда могут быть одинаковыми. Согласно некоторым вариантам осуществления первая клеточная среда и вторая клеточная среда могут быть различным.

Согласно некоторым вариантам осуществления взаимодействующая клеточная система содержит совместную культуру первой клеточной системы и второй клеточной системы.

Способы согласно настоящему изобретению могут быть использованы или применимы к любому количеству "перекрестных биологических оценок". Применение способов согласно настоящему изобретению в перекрестной биологической оценке позволяет идентифицировать один или несколько модуляторов биологической системы или "драйверы" определяющего клеточного процесса биологической системы или процесса.

Способы согласно настоящему изобретению могут быть использованы для проведения широкого спектра перекрестных биологических оценок. Согласно некоторым вариантам осуществления перекрест-

ная биологическая оценка представляет собой диагноз патологического состояния. Согласно некоторым вариантам осуществления, перекрестная биологическая оценка представляет собой определение эффективности препарата. Согласно некоторым вариантам осуществления перекрестная биологическая оценка представляет собой определение токсичности препарата. Согласно некоторым вариантам осуществления перекрестная биологическая оценка представляет собой постановку патологического состояния. Согласно некоторым вариантам осуществления перекрестная биологическая оценка определяет мишени для антивозрастной косметики.

Используемая в настоящем документе "перекрестная биологическая оценка" может включать в себя идентификацию одного или нескольких модуляторов биологической системы, например, "драйверов" определяющего клеточного процесса (например, увеличение или снижение активности биологического пути или ключевых представителей пути, или ключевых регуляторов представителей пути), связанных с возмущающим воздействием окружающей среды или компонентом внешнего раздражителя, или уникальной причинно-следственной связью, уникальной в биологической системе или процессе. Она может дополнительно включать в себя дополнительные стадии, разработанные для исследования или проверки того, необходимы и/или достаточны идентифицированные драйверы определяющего клеточного процесса для последующих событий, связанных с возмущающим воздействием окружающей среды или компонентом внешнего раздражителя, включающие в себя эксперименты на животных моделях *in vivo* и/или в культуре ткани *in vitro*.

Согласно некоторым вариантам осуществления перекрестная биологическая оценка представляет собой диагностику или постановку патологического состояния, причем идентифицированные модуляторы биологической системы, например, драйверы определяющего клеточного процесса (например, взаимодействующие дифференциалы или причинно-следственные связи, уникальные в биологической системе или процессе) представляют собой либо маркеры заболеваний, либо терапевтические мишени, которые могут быть подвергнуты терапевтическому вмешательству. Рассматриваемая перекрестная биологическая оценка подходит для любого патологического состояния в теории, но может быть особенно применимой в таких областях, как биология онкологии/злокачественной опухоли, сахарный диабет, ожирение, сердечно-сосудистое заболевание и неврологические заболевания (особенно нейродегенеративные заболевания, такие как без ограничения болезнь Альцгеймера, болезнь Паркинсона, болезнь Хантингтона, боковой амиотрофический склероз (ALS) и связанная со старением нейродегенерация) и связанные с ангиогенезом состояния.

Согласно некоторым вариантам осуществления перекрестная биологическая оценка представляет собой определение эффективности лекарственного средства, причем идентифицированные модуляторы биологической системы, например, драйвер определяющего клеточного процесса (например, взаимодействующие дифференциалы или причинно-следственные связи, уникальные в биологической системе или процессе) могут быть отличительными признаками успешного лекарственного средства, и, в свою очередь, могут быть использованы для идентификации дополнительных средств, таких как MIM или *er-shifter*, для лечения того же патологического состояния.

Согласно некоторым вариантам осуществления перекрестная биологическая оценка представляет собой идентификацию мишеней лекарственных средств для профилактики или лечения инфекции, причем идентифицированный драйвер определяющего клеточного процесса (например, взаимодействующие дифференциалы или причинно-следственные связи, уникальные в биологической системе или процессе) могут быть маркерами/индикаторами или ключевыми биологическими молекулами, вызывающими инфекционное состояние, и могут, в свою очередь, быть использованы для идентификации противoinфекционных средств.

Согласно некоторым вариантам осуществления перекрестная биологическая оценка представляет собой оценку молекулярного эффекта средства, например, лекарственного средства, на данный профиль заболевания, причем идентифицированные модуляторы биологической системы, например, драйвер определяющего клеточного процесса (например, взаимодействующие дифференциалы или причинно-следственные связи, уникальные в биологической системе или процессе) могут вызывать увеличение или снижение активности одного или нескольких биологических путей или ключевых представителей пути(ей), или регуляторов представителей пути(ей), и, в свою очередь, могут быть использованы, например, для предсказания терапевтической эффективности средства для данного заболевания.

Согласно некоторым вариантам осуществления перекрестная биологическая оценка представляет собой оценку токсикологического профиля средства, например, лекарственного средства, на клетку, ткань, орган или организм, причем идентифицированные модуляторы биологической системы, например, драйвер определяющего клеточного процесса (например, взаимодействующие дифференциалы или причинно-следственные связи, уникальные в биологической системе или процессе) могут быть индикаторами токсичности, например цитотоксичности, и, в свою очередь, могут быть использованы для прогнозирования или идентификации токсикологического профиля средства. Согласно одному варианту осуществления идентифицированные модуляторы биологической системы, например, драйвер определяющего клеточного процесса (например, взаимодействующие дифференциалы или причинно-следственные связи, уникальные в биологической системе или процессе) представляет собой индикатор

кардиотоксичности лекарственного средства или кандидатного лекарственного средства, и может быть, в свою очередь, использован для прогнозирования или идентификации кардиотоксикологического профиля лекарственного средства или кандидатного лекарственного средства.

Согласно некоторым вариантам осуществления перекрестная биологическая оценка представляет собой идентификацию мишеней лекарственных средств для профилактики или лечения заболевания или нарушения, вызванного биологическим оружием, таким как болезнетворные простейшие, грибы, бактерии, протесты, вирусы или токсины, причем идентифицированные модуляторы биологической системы, например, драйвер определяющего клеточного процесса (например, взаимодействующие дифференциалы или причинно-следственные связи, уникальные в биологической системе или процессе) могут быть маркерами/индикаторами или ключевыми биологическими молекулами, вызывающими указанное заболевание или нарушение, и могут, в свою очередь, использоваться для идентификации средств биологической защиты.

Согласно некоторым вариантам осуществления перекрестная биологическая оценка представляет собой идентификацию мишеней для антивозрастных средств, таких как антивозрастная косметика, причем идентифицированные модуляторы биологической системы, например, драйвер определяющего клеточного процесса (например, взаимодействующие дифференциалы или причинно-следственные связи, уникальные в биологической системе или процессе) могут быть маркерами или индикаторами процесса старения, в частности, процесса старения в коже, и в свою очередь, могут быть использованы для идентификации антивозрастных средств.

Согласно одному варианту осуществления клеточная модель старения, которая используется в способах согласно настоящему изобретению для идентификации мишеней для антивозрастной косметики, клеточная модель содержит стареющие эпителиальные клетки, которые представляют собой, например, обработанные УФ-светом (возмущающее воздействие окружающей среды или компонент внешнего раздражителя) и/или клетки новорожденных, которые также необязательно обработаны УФ-светом. Согласно одному варианту осуществления клеточная модель старения содержит клеточную взаимодействующую систему. В одной иллюстративной двухклеточной взаимодействующей системе, установленной для определения мишеней для антивозрастной косметики, стареющая эпителиальная клетка (первая клеточная система) может быть обработана ультрафиолетовым светом (компонент внешнего раздражителя), и могут быть измерены изменения, например, протеомные изменения и/или функциональные изменения в неонатальной клетке (вторая клеточная система) в результате контактирования неонатальных клеток с кондиционированной средой обработанной стареющей эпителиальной клетки, например, протеомные изменения могут быть измерены с использованием обычной количественной масс-спектрометрии, или причинно-следственная связь, уникальная при старении может быть идентифицирована из сети причинно-следственных связей, полученной из данных.

Согласно другому аспекту в настоящем изобретении предусмотрен набор для проведения перекрестной биологической оценки с использованием открытой платформенной технологии, содержащей один или несколько реагентов для обнаружения наличия и/или для количественного определения количества анализируемого вещества, которое представляет собой предмет сети причинно-следственных связей, полученной из способов согласно настоящему изобретению. Согласно одному варианту осуществления указанное анализируемое вещество представляет собой предмет уникальной причинно-следственной связи в биологической системе, например, ген, связанный с уникальной причинно-следственной связью в биологической системе. Согласно некоторым вариантам осуществления анализируемое вещество представляет собой белок, и реагенты содержат антитела к белку, метки к белку и/или одно или несколько средств для подготовки белка к высокоскоростному анализу (например, основанному на масс-спектрометрии секвенированию).

Согласно еще одному аспекту технология включает способ лечения, облегчения симптома, ингибирования прогрессирования, профилактики, диагностики или прогнозирования заболевания у субъекта-млекопитающего. Способ включает введение нуждающемуся в этом млекопитающему терапевтически эффективного количества фармацевтической композиции, содержащей биологически активное вещество, которое влияет на экспрессию или активность одного или нескольких из TCOF1, TOP2A, CAMK2A, CDK1, CLTCL1, EIF4G1, ENO1, FBL, GSK3B, HDLBP, HIST1H2BA, HMGB2, HNRNPK, HNRPDL, HSPA9, MAP2K2, LDHA, MAP4, MAPK1, MARCKS, NME1, NME2, PGK1, PGK2, RAB7A, RPL17, RPL28, RPS5, RPS6, SLTM, TMED4, TNRCBA, TUBB и UBE21, тем самым оказывая лечение, облегчение симптома, ингибирование прогрессирования, профилактику, диагностику или прогнозирование заболевания. Согласно некоторым вариантам осуществления заболевание представляет собой злокачественная опухоль, например, гепатоцеллюлярную карциному. Согласно различным вариантам осуществления способ может использовать 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33 или 34 киназы. Согласно одному варианту осуществления композиция усиливает экспрессию и/или активность одной или нескольких киназ. Согласно другому варианту осуществления композиция снижает экспрессию и/или активность одной или нескольких киназ.

Согласно еще одному аспекту технология включает способ диагностики заболевания у субъекта-млекопитающего. Способ включает (i) определение уровня экспрессии или активности в полученной от

субъекта биологическом образце любого одного или нескольких из TCOF1, TOP2A, CAMK2A, CDK1, CLTCL1, EIF4G1, ENO1, FBL, GSK3B, HDLBP, HIST1H2BA, HMGB2, HNRNPK, HNRPDL, HSPA9, MAP2K2, LDHA, MAP4, MAPK1, MARCKS, NME1, NME2, PGK1, PGK2, RAB7A, RPL17, RPL28, RPS5, RPS6, SLTM, TMED4, TNRCBA, TUBB и UBE21, и (ii) сравнение уровня у субъекта с уровнем экспрессии или активности одного или нескольких белков в контрольном образце, причем разница между уровнем у субъекта и уровнем экспрессии или активности одного или нескольких белков в контрольном образце представляет собой индикатор того, что субъект страдает от заболевания или предрасположен к развитию заболевания, благоприятно реагирующий на лечение заболевания, тем самым диагностируя или прогнозируя заболевание у субъекта-млекопитающего. Согласно некоторым вариантам осуществления заболевание представляет собой злокачественную опухоль, например, гепатоцеллюлярную карциному. Согласно различным вариантам осуществления способ может использовать 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33 или 34 киназы. Согласно одному варианту осуществления композиция усиливает экспрессию и/или активность одной или нескольких киназ. Согласно другому варианту осуществления композиция снижает экспрессию и/или активность одной или нескольких киназ.

Согласно еще одному аспекту технология включает способ идентификации терапевтического соединения для лечения, облегчения симптома, ингибирования прогрессирования, профилактики, диагностики или прогнозирования заболевания у субъекта-млекопитающего. Способ включает (i) контактирование биологического образца от субъекта-млекопитающего с исследуемым соединением, (ii), определение уровня экспрессии в биологическом образце любого одного или нескольких из TCOF1, TOP2A, CAMK2A, CDK1, CLTCL1, EIF4G1, ENO1, FBL, GSK3B, HDLBP, HIST1H2BA, HMGB2, HNRNPK, HNRPDL, HSPA9, MAP2K2, LDHA, MAP4, MAPK1, MARCKS, NME1, NME2, PGK1, PGK2, RAB7A, RPL17, RPL28, RPS5, RPS6, SLTM, TMED4, TNRCBA, TUBB и UBE21, (iii) сравнения уровня экспрессии одного или нескольких белков в биологическом образце с контрольным образцом, не контактировавшим с исследуемым соединением, и (iv) отбор исследуемого соединения, которое модулирует уровень экспрессии одного или нескольких белков в биологическом образце, тем самым идентифицируя терапевтическое соединение для лечения, облегчения симптома, ингибирования прогрессирования, профилактики, диагностики или прогнозирования заболевания у субъекта-млекопитающего. Согласно некоторым вариантам осуществления заболевание представляет собой злокачественную опухоль, например, гепатоцеллюлярную карциному. Согласно различным вариантам осуществления способ может использовать 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33 или 34 киназы. Согласно одному варианту осуществления композиция усиливает экспрессию и/или активность одной или нескольких киназ. Согласно другому варианту осуществления композиция снижает экспрессию и/или активность одной или нескольких киназ.

Согласно еще одному аспекту технология включает способ лечения, облегчения симптома, ингибирования прогрессирования, профилактики, диагностики или прогнозирования заболевания у субъекта-млекопитающего. Способ включает введение нуждающемуся в этом млекопитающему терапевтически эффективного количества фармацевтической композиции, содержащей терапевтическое соединение, идентифицированное с помощью описанного выше аспекта (т.е. с использованием любого одного или нескольких из TCOF1, TOP2A, CAMK2A, CDK1, CLTCL1, EIF4G1, ENO1, FBL, GSK3B, HDLBP, HIST1H2BA, HMGB2, HNRNPK, HNRPDL, HSPA9, MAP2K2, LDHA, MAP4, MAPK1, MARCKS, NME1, NME2, PGK1, PGK2, RAB7A, RPL17, RPL28, RPS5, RPS6, SLTM, TMED4, TNRCBA, TUBB и UBE21), тем самым оказывая лечение, облегчение симптома, ингибирование прогрессирования, профилактику, диагностику или прогнозирование заболевания. Согласно некоторым вариантам осуществления заболевание представляет собой злокачественную опухоль, например, гепатоцеллюлярную карциному. Согласно различным вариантам осуществления способ может использовать 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33 или 34 киназы.

Следует иметь в виду, что все описанные в настоящем документе варианты осуществления, в том числе те, которые описаны только в примерах, представляют собой части общего описания настоящего изобретения, и могут быть объединены с любыми другими вариантами осуществления настоящего изобретения, если это явно не отвергается или неприменимо.

#### **Краткое описание чертежей**

Различные варианты осуществления настоящего изобретения будут описаны в настоящем документе ниже со ссылкой на фигуры, где:

- фиг. 1: изображение подхода к идентификации терапевтических средств;
- фиг. 2: изображение системной биологии злокачественной опухоли и соответствующего интегрированного мультифизиологического интерактивного регулирования выходных данных;
- фиг. 3: изображение систематического запроса биологической актуальности использования МИМ.
- фиг. 4: изображение моделирования сети злокачественной опухоли для того, чтобы сделать возможным перекрестный биологический запрос;
- фиг. 5: изображение платформенной технологии перекрестной биологии;
- фиг. 6: изображение технологий, используемых в платформенной технологии;

фиг. 7: схематическое представление компонентов платформы, включающей в себя сбор данных, интеграцию данных и интеллектуальный анализ данных;

фиг. 8: схематическое представление систематического запроса с использованием MIM и сбор ответных данных от каскада "омика";

фиг. 9: эскиз компонентов, используемых для построения моделей *in vitro*, представляющих нормальные и диабетические состояния;

фиг. 10: схематическое представление платформы информатики REFS™, используемой для создания причинно-следственных сетей белка, как они относятся к патофизиологии заболевания;

фиг. 11: схематическое представление подхода к созданию дифференциальной сети при диабетическом состоянии, по сравнению с нормальным состоянием, и диабетические узлы, которые восстанавливаются в нормальное состояние обработкой MIM;

фиг. 12: показательная дифференциальная сеть при диабетическом состоянии, по сравнению с нормальным состоянием;

фиг. 13: схематическое представление узла и связанных с ним представляющих интерес ребер (узел 1 в центре). Представлена клеточная функциональность, связанная с каждым ребром;

фиг. 14: блок-схема высокого уровня иллюстративного способа в соответствии с некоторыми вариантами осуществления;

фиг. 15A-D: схематическое изображение высокого уровня компонентов и процесса основанной на ИИ системе информатики, которое может быть использовано с иллюстративными вариантами осуществления;

фиг. 16: блок-схема процесса в основанной на ИИ системе информатики, которая может быть использована с некоторыми вариантами осуществления;

фиг. 17: схематически изображает иллюстративную вычислительную среду, подходящую для практикования описанных в настоящем документе иллюстративных вариантов осуществления;

фиг. 18: изображение разработки конкретной ситуации, описанной в примере 1;

фиг. 19: влияние лечения с CoQ10 на нижележащие узлы;

фиг. 20: лечение с CoQ10 снижает экспрессию LDHA в клеточной линии злокачественной опухоли HepG2;

фиг. 21: иллюстративная консенсусная сеть белковых взаимодействий при частоте фрагмента 70% на основании данных от клеточных линий Pasa2, HepG2 и THLE2;

фиг. 22: белки, реагирующие на моделирование экспрессии LDHA в двух клеточных линиях злокачественной опухоли, были выявлены с помощью платформенной технологии;

фиг. 23: анализ Ingenuity Pathway Assist® сети LDHA - PARK7 идентифицирует TP53 как вышележащий хаб;

фиг. 24: влияние лечения с CoQ10 на уровни экспрессии TP53 в клеточной линии злокачественной опухоли SKMEL28;

фиг. 25: активация TP53, связанного с измененной экспрессией белков BCL-2, осуществляющих апоптоз в клеточной линии злокачественной опухоли SKMEL28, и эффекта лечения с CoQ10 на уровни экспрессии Bcl-2, Bax и Caspase3 в SKMEL28;

фиг. 26: изображение математического подхода к созданию сетей дельта-дельта;

фиг. 27: сеть дифференциала злокачественная опухоль-здоровый (дельта-дельта), которая запускает ECAR и OCR. Каждый драйвер содержит дифференциальные эффекты на конечной точке, как показано с помощью толщины ребра. Толщина ребра в Cytoscape представляет собой прочность кратности изменения;

фиг. 28: картирование PARK7 и связанных узлов из перекрестных выходных данных платформенной технологии с использованием IPA: Серые формы включают в себя все узлы, связанные с PARK7 от выходных данных перекрестной биологии, которые были импортированы в IPA. Незаполненные формы (с названиями) представляют собой новые соединения, включенные с помощью IPA для создания полной карты;

фиг. 29: перекрестная платформенная технология согласно настоящему изобретению демонстрирует новые ассоциации узлов, связанных с PARK7. Ребра, показанные пунктирными линиями, представляют собой связи между двумя узлами в моделировании, которые содержат промежуточные узлы, но не содержат промежуточные узлы в IPA. Ребра, показанные линиями в точку, представляют собой связи между двумя узлами в моделировании, которые содержат промежуточные узлы, но содержат разные промежуточные узлы в IPA;

фиг. 30: изображение математического подхода к созданию сетей дельта-дельта. Сравнение уникальных ребер от NG в сети дельта NG∩HG с уникальными ребрами HGT1 в сети дельта HG∩HGT1. Ребра в пересечении NG и HGT1 представляют собой ребра HG, которые восстанавливаются к NG с T1;

фиг. 31: сеть дельта-дельта диабетических ребер, восстановленных к нормальным значениям с лечением коэнзимом Q10, наложенным на сеть дельта NG∩HG;

фиг. 32: сеть дельта-дельта гиперлипидемических ребер, восстановленных к нормальным значениям

с лечением коэнзимом Q10, наложенным на сеть дельта нормальной липидемии  $\cap$  гиперлипидемии;

фиг. 33: схема, представляющая измененную судьбу жирной кислоты при заболевании и лечении лекарственными средствами. Баланс между использованием свободной жирной кислоты (FFA) для создания АТФ и ремоделирования мембраны в ответ на нарушение биологии мембраны был вовлечен в индуцированную лекарственными средствами кардиотоксичность;

фиг. 34: схематическое представление экспериментальной разработки и параметров моделирования, используемых для изучения индуцированной лекарственным средством токсичности в диабетических кардиомиоцитах;

фиг. 35: нарушение регуляции транскрипционной сети и экспрессии человеческих митохондриальных генов энергетического обмена в диабетических кардиомиоцитах при лекарственной терапии (Т): спасательная молекула (R) нормализует экспрессию генов;

фиг. 36: А. Лекарственная терапия (Т) индуцировала экспрессию GPAT1 и TAZ в митохондриях из кардиомиоцитов, поддерживаемых в условиях гипергликемии. В сочетании со спасательной молекулой (Т+R) уровни GPAT1 и TAZ были нормализованы. В. Синтез TAG из G3P;

фиг. 37: А. Лекарственная терапия (Т) снижает митохондриальную OCR (скорость потребления кислорода) в кардиомиоцитах, поддерживаемых в условиях гипергликемии. Спасательная молекула (Т+R) нормализует OCR. В. Лекарственная терапия (Т) подавляет митохондриальный синтез АТФ в кардиомиоцитах, поддерживаемых в условиях гипергликемии;

фиг. 38: аннотация GO белков, отрицательно регулируемых лекарственной терапией. Белки, участвующие в митохондриальном энергетическом метаболизме, отрицательно регулировались лекарственной терапией;

фиг. 39: изображение математического подхода к созданию дельта сетей. Сравнение уникальных ребер от Т против УТ обеих моделей, находящихся в диабетической среде;

фиг. 40: схема, представляющая потенциальные хабы и сети белков, которые управляют патофизиологией вызванной лекарственными средствами токсичности;

на фиг. 41 показан способ для идентификации модулятора биологической системы или патологического процесса;

на фиг. 42 показано значительное снижение активности ENO1 и не белковой экспрессии в HepG2, обработанных сорафенибом;

на фиг. 43 показано значительное снижение активности PGK1 и не белковой экспрессии в HepG2, обработанных сорафенибом;

на фиг. 44 показано значительное снижение активности LDHA и не белковой экспрессии в HepG2, обработанных сорафенибом;

на фиг. 45 показана сеть причинно-следственных молекулярных взаимодействий, которые могут быть произведены путем анализа набора данных с использованием основанной на ИИ системе REFS™;

на фиг. 46 показано, как интеграция мультиомных данных, использующих алгоритмы следствия байесовской сети, может привести к более глубокому пониманию сигнальных путей при гепатоцеллюлярной карциноме. Желтые квадраты представляют данные посттранскрипционной модификации (фосфо), синие треугольники представляют основанные на активности данные (киназа) и зеленые круги представляют данные протеомики;

на фиг. 47 показано, как ауторегуляция и обратная регуляция с отрицательной обратной связью в сигнальных путях гепатоцеллюлярной карциномы может быть выведена с помощью платформы. Квадраты представляют данные посттранскрипционной модификации (фосфо) (серый/темный = киназа, желтый/светлый - нет киназной активности), круги представляют данные активности на основе (киназы) + протеомики (серый/темный = киназа, желтый/светлый - нет киназной активности);

на фиг. 48-51 показаны примеры причинно-следственной ассоциации в сигнальных путях, распознанных с помощью платформы. Киназные изоформы указаны на репрезентативных квадратах и кругах с причинно-следственными ассоциациями, указанными с помощью соединителей;

на фиг. 52A-52B показаны эндотелиальные клетки пупочной вены человека (HUVEC), выращенные в (А) конфлюэнтной или (Б) субконфлюэнтной культурах, которые обрабатывали в течение 24 ч указанным диапазоном концентраций CoQ10. Конфлюэнтные клетки сильно напоминают "нормальные" клетки, тогда как субконфлюэнтные клетки наиболее сильно представляют ангиогенный фенотип пролиферирующих клеток. В конфлюэнтных культурах добавление повышенных концентраций CoQ10 приводит к более тесной ассоциации, удлинению и выравниванию ЕС. 5000 мкМ приводит к малозаметному увеличению у закругленных клеток;

на фиг. 53A-53C показаны конфлюэнтные (А) и субконфлюэнтные (В) культуры клеток HUVEC, которые обрабатывали в течение 24 ч с 100 или 1500 мкМ CoQ10 и анализировали на положительные по пропидиййодиду апоптотические клетки. CoQ10 был защитным для ЕС, обработанных при конфлюэнтности, в то время как субконфлюэнтные клетки были чувствительны к CoQ10 и отображали увеличенный апоптоз при 1500 мкМ CoQ10. (С) Репрезентативные гистограммы субконфлюэнтных контрольных ЕС (слева), 100 мкМ CoQ10 (посередине) и 1500 мкМ CoQ10 (справа);

на фиг. 54A-54C показаны субконфлюэнтные культуры клеток HUVEC, обработанных в течение

72 ч с 100 или 1500 мкМ CoQ10, и анализировали обе на количество клеток (А) и пролиферацию (В) с использованием анализа включения пропидиййодида (обнаруживает G2/М фазу ДНК). Высокие концентрации CoQ10 приводят к значительному снижению количества клеток и характеризуются дозозависимым эффектом на пролиферацию ЕС. Репрезентативные гистограммы пролиферации клеток, гейтированные на клетки в G2/М фазе клеточного цикла [контроль ЕС (слева), 100 мкМ CoQ10 (посередине) и 1500 мкМ CoQ10 (справа)] показаны на (С);

на фиг. 55 показаны клетки HUVEC, выращенные до конfluenceции, исследованные на миграцию с использованием анализа методом зарастания царапины. 100 или 1500 мкМ CoQ10 наносили в момент получения царапины, и очищенную область контролировали в течение 48 ч. 100 мкМ CoQ10 задерживал закрытие эндотелия, по сравнению с контролем. Добавление 1500 мкМ CoQ10 предотвращало закрытие даже до 48 ч (данные не показаны);

на фиг. 56 показаны эндотелиальные клетки, растущие в 3-D матрикеле в форме трубок с течением времени. Наблюдались дифференциальные эффекты 100 мкМ и 1500 мкМ CoQ10 на формирование трубки. Нарушенная ассоциация клеток с клетками и распад ранней трубчатой структуры были значительными при 1500 мкМ CoQ10. Показанные изображения снимали через 72 ч;

на фиг. 57A-57B показаны эндотелиальные клетки, выращенные в субконфлюэнтных и конфлюэнтных культурах в присутствии или в отсутствие CoQ10 как в нормальных, так и гипоксических условиях. Оценивали образование оксида азота (NO) (А) и активных форм кислорода (АФК) (В) в ответ на коэнзим Q10 и гипоксию;

на фиг. 58A-58D показаны эндотелиальные клетки, выращенные в субконфлюэнтных и конфлюэнтных культурах в присутствии или в отсутствие CoQ10 для оценки митохондриального потребления кислорода при указанных условиях роста. Показана оценка общей OCR (А); митохондриальная OCR (В); производство АТФ (С); ECAR (D);

на фиг. 59A-59C показаны результаты от платформы перекрестной биологии, используемой для идентификации ключевых биологических функциональных узлов через модуляцию функции эндотелиальных клеток с помощью CoQ10. Эти узлы представлены с помощью полной мультиомной сети (А), хаба обогащенной белками сети (В) и хаба сети киназных, липидомных и функциональных конечных точек (С). Фиг. 59B и 59C представляют собой разорванные части фиг. 59A.

## Подробное описание изобретения

### I. Обзор

Иллюстративные варианты осуществления настоящего изобретения включают в себя способы, которые могут быть выполнены с использованием платформы перекрестной биологии ("платформа"), которая представляет собой инструмент для понимания широкого спектра биологических процессов, таких как патофизиология заболевания или ангиогенез, и ключевых молекулярных драйверов, лежащих в основе таких биологических процессов, включающих в себя факторы, которые делают возможным процесс заболевания. Некоторые иллюстративные варианты осуществления включают в себя системы, которые могут включать в себя по меньшей мере часть или всю платформу. Некоторые иллюстративные способы могут использовать по меньшей мере часть или всю платформу. Цели и задачи некоторых иллюстративных вариантов осуществления, связанных с платформой, в общем приводятся ниже в иллюстративных целях:

i) создать специфические молекулярные сигнатуры в качестве драйверов критических компонентов биологического процесса (например, патологического процесса, ангиогенеза), как они относятся к общему биологическому процессу;

ii) получить молекулярные сигнатуры или дифференциальные карты, относящиеся к биологическому процессу, который может помочь идентифицировать дифференциальные молекулярные сигнатуры, которые различают одно биологическое состояние (например, патологическое состояние, ангиогенное состояние) от другой биологической стадии (например, нормальное состояние), и развивать понимание того, как сигнатуры или молекулярные субстанции выносят решение относительно механизмов изменения между двумя биологическими состояниями (например, от нормального до патологического состояния или ангиогенного состояния); и

iii) исследовать роль "хабов" молекулярной активности, как потенциальных мишеней вмешательств для внешнего контроля биологического процесса (например, использовать хаб в качестве потенциальной терапевтической мишени или мишени для модуляции ангиогенеза), или как потенциальных биомаркеров для исследуемого биологического процесса (например, использование специфических к заболеванию биомаркеров и специфических ангиогенных маркеров в прогностике и/или тераностике).

Некоторые иллюстративные способы, включающие в себя платформу, могут включать в себя одну или несколько из следующих особенностей:

1) моделирование биологических процессов (например, патологического процесса, ангиогенного процесса) и/или компонентов биологического процесса (например, физиологии и патофизиологии заболевания, физиологии ангиогенеза) в одной или нескольких моделях, предпочтительно моделях *in vitro* или лабораторных моделях (например, САМ модели, модели роговичного кармана, модели Матригель®), с использованием клеток, связанных с биологическим процессом. Например, клетки могут представлять

собой полученные от человека клетки, которые обычно участвуют в биологическом процессе, о котором идет речь. Модель может включать в себя различные клеточные сигналы/условия/возмущения, которые специфичны для биологического процесса (например, заболевания, ангиогенеза). В идеале, модель представляет собой различные (заболевание, ангиогенез) состояния и постоянно меняющиеся компоненты вместо статической оценки биологического (заболевание, ангиогенез) состояния.

2) профилирование мРНК и/или белковых сигнатур с использованием любых известных в настоящей области техники средств. Например, количественной полимеразной цепной реакции (кПЦР) и инструментов протеомного анализа, таких как масс-спектрометрии (МС). Такие наборы данных мРНК и белков представляют собой биологическую реакцию на окружающую среду/возмущающее воздействие. Когда применимо и возможно, также могут быть интегрированы данные липидомики, метаболомики и транскриптомики в качестве вспомогательных или альтернативных измерений для биологического процесса, о котором идет речь. Анализ SNP представляет собой еще один компонент, который может быть время от времени использован в процессе. Для исследования может быть полезно, например, оказывает ли SNP или специфическая мутация какой-нибудь эффект на биологический процесс. Эти переменные могут быть использованы для описания биологического процесса либо как статический "снимок", либо как представление динамического процесса.

3) анализ одного или нескольких клеточных ответов на сигналы и возмущающие воздействия, включающие в себя без ограничения биоэнергетическое профилирование, пролиферацию клеток, апоптоз и функцию органелл. Истинный партнер по генотипу-фенотипу актуализируется с помощью использования функциональных моделей, таких как АТФ, АФК, OXPHOS, анализы Seahorse, анализы каспазы, анализы миграции, анализы хемотаксиса, анализы образования трубок и т.д. Такие клеточные ответы представляют собой реакцию клеток в биологическом процессе (или его модели) в ответ на соответствующее состояние(я) экспрессии мРНК/белка и любые другие связанные состояния в 2) выше.

4) интеграция данных функциональных анализов, полученных таким образом в 3) с данными протеомики и другими, полученными в 2), и определение белковых ассоциаций в качестве ведущих с помощью причинной зависимости, с помощью использования основанной на искусственном интеллекте (ИИ) системы информатики или платформы. Такая основанная на ИИ система базируется на и предпочтительно базируется только на наборах данных, полученных в 2) и/или 3), не прибегая к существующим знаниям о биологическом процессе. Предпочтительно, нет точек данных, выпадающих статистически или искусственно. Вместо этого, все полученные данные подаются в системы ИИ для определения белковых ассоциаций. Одна из целей или выходных данных процесса интеграции заключается в одной или нескольких дифференциальных сетях (иначе могут называться в настоящем документе "сетями дельта" или, в некоторых случаях, "сетями дельта-дельта" в зависимости от обстоятельств) между различными биологическими состояниями (например, заболевание против нормальных состояний).

5) профилирование выходных данных из основанной на ИИ платформы информатики для исследования каждого хаба активности в качестве потенциальной терапевтической мишени и/или биомаркера. Такое профилирование может быть сделано исключительно *in silico* на основе полученных наборов данных, не прибегая к любым актуальным практическим экспериментам.

6) проверки хаба активности путем использования молекулярных и клеточных техник. Такая проверка выходных после информатики данных с практическими основанными на клетках экспериментами может быть необязательна, но они помогают создать полный круг опроса.

Любой или все из описанных выше подходов может быть использован в любой конкретной области применения в отношении любого биологического процесса, в зависимости, по меньшей мере частично, от природы конкретного применения. То есть, один или несколько описанных выше подходов могут быть опущены или модифицированы, и может быть использован один или несколько дополнительных подходов, в зависимости от конкретного применения.

Предусмотрены различные схемы, иллюстрирующие платформу. В частности, изображение иллюстративного подхода для идентификации терапевтических средств с использованием платформы, показано на фиг. 1. Изображение системной биологии злокачественной опухоли и соответствующего интегрированного мультифизиологического интерактивного регулирования выходных данных показано на фиг. 2. Изображение систематического опроса биологической актуальности использования МИМ показано на фиг. 3. Изображение моделирования сети злокачественной опухоли для того, чтобы сделать возможным перекрестный биологический запрос, показано на фиг. 4.

Изображения платформы перекрестной биологии и технологий, используемых в платформе, показаны на фиг. 5 и 6. Схематическое представление компонентов платформы, включающей в себя сбор данных, интеграцию данных и интеллектуальный анализ данных показано на фиг. 7. Схематическое представление систематического опроса с использованием МИМ и сбор ответных данных от каскада "омика" показан на фиг. 8.

На фиг. 14 показана блок-схема высокого уровня иллюстративного способа 10, в котором указаны компоненты иллюстративной системы, которая может быть использована для выполнения иллюстративного способа. Изначально модель (например, модель *in vitro*) устанавливается для биологического процесса (например, патологического процесса) и/или компонентов биологического процесса (например,

физиологии заболевания и патофизиологии) с использованием клеток, обычно связанных с биологическим процессом (стадия 12). Например, клетки могут представлять собой полученные от человека клетки, которые обычно участвуют в биологическом процессе (например, заболевании). Клеточная модель может включать в себя различные клеточные сигналы, условия и/или возмущения, которые специфичны для биологического процесса (например, заболевания). В идеале, клеточная модель представляет собой различные (заболевание) состояния и постоянно меняющиеся компоненты биологического процесса (например, заболевания), а не статическую оценку биологического процесса. Сравнительная клеточная модель может включать в себя контрольные клетки или нормальные (например, не патологические) клетки. Дополнительное описание клеточных моделей появляется ниже в разделах III.A и IV.

Первый набор данных получают от клеточной модели биологического процесса, который включает в себя информацию, представляющую уровни экспрессии множества генов (например, сигнатур мРНК и/или белков) (стадия 16) с использованием любого известного процесса или системы (например, количественной полимеразной цепной реакции (кПЦР) и таких инструментов протеомного анализа, как масс-спектрометрия (МС)).

Третий набор данных получают от сравнительной клеточной модели биологического процесса (стадия 18). Третий набор данных включает в себя информацию, представляющую уровни экспрессии множества генов в клетках сравнения от сравнительной клеточной модели.

Согласно некоторым вариантам осуществления способов согласно настоящему изобретению эти первый и третий наборы данных в совокупности называются в настоящем документе как "первый набор данных", который представляет уровни экспрессии множества генов в клетках (все клетки, включающие в себя клетки сравнения), связанных с биологической системой.

Первый набор данных и третий набор данных могут быть получены от одной или нескольких системы анализа сигнатуры мРНК и/или белка. Данные мРНК и белка в первом и третьем наборе данных могут представлять биологические реакции на окружающую среду и/или возмущающее воздействие. Когда применимо и возможно, также могут быть интегрированы данные липидомики, метаболомики и транскриптомики в качестве вспомогательных или альтернативных измерений биологического процесса, о котором идет речь. Анализ SNP представляет собой еще один компонент, который может быть время от времени использован в процессе. Для исследования может быть применимо, например, оказывает ли однонуклеотидный полиморфизм (SNP) или специфическая мутация какой-нибудь эффект на биологический процесс. Эти переменные могут быть использованы для описания биологического процесса либо как статический "снимок", либо как представление динамического процесса. Дополнительное описание рассмотрения получения информации, представляющей уровни экспрессии множества генов в клетках, появляется ниже в разделе III.B.

Второй набор данных получают от клеточной модели биологического процесса, который включает в себя информацию, представляющую функциональную активность или ответ клеток (стадия 20). Аналогично, четвертый набор данных получают от сравнительной клеточной модели биологического процесса, который включает в себя информацию, представляющую функциональную активность или ответ клеток сравнения (стадия 22).

Согласно некоторым вариантам осуществления способов согласно настоящему изобретению эти второй и четвертый наборы данных в совокупности называются в настоящем документе как "второй набор данных", который представляет функциональную активность или клеточный ответ клеток (всех клеток, включающим в себя клетки сравнения), связанных с биологической системой.

Одна или несколько систем функционального анализа могут быть использованы для получения информации о функциональной активности или ответа клеток или клеток сравнения. Информация, касающаяся функциональных клеточных ответов на сигналы и возмущения, может включать в себя без ограничения профилирование биоэнергетики, пролиферацию клеток, апоптоз и функцию органелл. Функциональные модели процессов и путей (например, аденозинтрифосфата (АТФ), активных форм кислорода (АФК), окислительного фосфорилирования (ОХРНОС), анализы Seahorse, анализы каспазы, анализы миграции, анализы хемотаксиса, анализы образования трубок и т.д. Такая функциональная активность или клеточные ответы представляют собой реакцию клеток в биологическом процессе (или его модели) в ответ на соответствующее состояние(я) экспрессии мРНК/белка и любые другие связанные состояния или возмущающие воздействия. Дополнительная информация о получении информации, представляющей функциональную активность или ответ клеток, приведена ниже в разделе III.B.

Способ также включает в себя создание реализованных с помощью компьютера моделей биологических процессов в клетках и в контрольных клетках. Например, одна или несколько (например, ансамбль) байесовских сетей причинно-следственных связей между уровнем экспрессии множества генов и функциональной активностью или клеточным ответом могут быть созданы для клеточной модели ("созданные сети клеточной модели") из первого набора данных и второго набора данных (стадия 24). Созданные сети клеточной модели, индивидуально или коллективно, включают в себя количественную вероятностную информацию о направлении связей. Созданные сети клеточной модели не основаны на известных биологических связях между геной экспрессией и/или функциональной активностью или клеточным ответом, отличной от информации, полученной от первого набора данных и второго набора дан-

ных. Одна или несколько созданных сетей клеточной модели могут все вместе называться консенсусной сетью клеточной модели.

Одна или несколько (например, ансамбль) байесовских сетей причинно-следственных связей между уровнем экспрессии множества генов и функциональной активностью или клеточным ответом могут быть созданы для клеточной модели ("созданные сети клеточной модели") из первого набора данных и второго набора данных (стадия 26). Созданные сети сравнительной клеточной модели, индивидуально или коллективно, включают в себя количественную вероятностную информацию о направлении связей. Созданные сети клеточной модели не основаны на известных биологических связях между генной экспрессией и/или функциональной активностью или клеточным ответом, отличной от информации, полученной от первого набора данных и второго набора данных. Одна или несколько созданных сетей сравнительной клеточной модели могут все вместе называться консенсусной сетью клеточной модели.

Созданные сети клеточной модели и созданные сети сравнительной клеточной модели могут быть созданы с использованием основанной на искусственном интеллекте (ИИ) системы информатики. Дополнительная информация о получении созданных сетей клеточной модели, получении созданных сетей сравнительной клеточной модели и основанной на ИИ системы информатики приводится ниже в разделе III.C и в описании фиг. 2A-3.

Следует отметить, что многие различные основанные на ИИ платформы или системы могут быть использованы для создания байесовских сетей причинно-следственных связей, включающих в себя количественную вероятностную информацию о направлении. Хотя некоторые описанные в настоящем документе примеры используют одну конкретную имеющуюся в продаже систему, т.е. REFS™ (обратное конструирование/прямое моделирование) от GNS (Cambridge, MA), варианты осуществления не ограничены. Основанные на ИИ системы или платформы, подходящие для реализации некоторых вариантов осуществления, используют математические алгоритмы для установления причинно-следственных связей между входными переменными (например, первый и второй набор данных), основанных только на входных данных, не принимая во внимание предварительные существующие знания о любых потенциальных, установленных и/или проверенных биологических связях.

Например, основанная на ИИ платформа информатики REFS™ использует экспериментально полученные сырые (первоначальные) или минимально обработанные входные биологические данные (например, генетические, геномные, эпигенетические, протеомные, метаболомические и клинические данные), и быстро выполняет триллионы расчетов для определения того, как молекулы взаимодействуют друг с другом в полной системе. Основанная на ИИ платформа информатики REFS™ выполняет обратный процесс конструирования, направленный на создание компьютерно-реализованной клеточной модели *in silico* (например, созданные сети клеточной модели), на основе входных данных, которые количественно представляют базовую биологическую систему. Кроме того, гипотезы о базовой биологической системе могут быть разработаны и быстро смоделированы на основе реализуемой компьютером клеточной модели, с тем чтобы получить предположения, сопровождаемые связанными уровнями достоверности, в отношении гипотез.

При таком подходе биологические системы представлены количественными реализованными компьютерами клеточными моделями, в которых "вмешательства" моделируются для того, чтобы узнать подробные механизмы биологической системы (например, заболевания), эффективные стратегии вмешательства и/или клинические биомаркеры, которые определяют, какие пациенты будут отвечать на данную схему лечения. Обычные известные в биологии биоинформатические и статистические подходы, а также подходы, основанные на моделировании, как правило, не в состоянии обеспечить эти типы идей.

После того как получены созданные сети клеточной модели и созданные сети сравнительной клеточной модели, они сравниваются. Определяется одна или несколько причинно-следственных связей, присутствующие, по меньшей мере, в некоторых из созданных сетей клеточной модели и отсутствующие или характеризующиеся по меньшей мере одним значительно отличающимся параметром в созданной сети сравнительной клеточной модели (стадия 28). Такое сравнение может приводить к созданию дифференциала сети. Создание сравнения, идентификации и/или дифференциала (дельта) сети может быть проведено с помощью модуля создания дифференциала сети, который описан более подробно ниже в разделе III.D и в описании фиг. 26.

Согласно некоторым вариантам осуществления наборы входных данных представляют собой данные от одного типа клеток и одного типа клеток сравнения, которые создают ансамбль сетей клеточных моделей на основе одного типа клеток и другой ансамбль сетей сравнительных клеточных моделей на основе одного типа контрольных клеток сравнения. Дифференциал может быть выполнен между ансамблем сетей одного типа клеток и ансамблем сетей типа(ов) клеток сравнения.

Согласно другим вариантам осуществления наборы входных данных получают из множества типов клеток (например, двух или более типов злокачественных опухолевых клеток, двух или более типов клеток в различных ангиогенных состояниях, например, индуцированных различными проангиогенными раздражителями) и множества типов клеток сравнения (например, двух или более нормальных типов клеток без злокачественной опухоли, двух или более неангиогенных или ангиогенных типов клеток).

Ансамбль сетей клеточных моделей может быть получен для каждого типа клеток и каждого типа клеток сравнения по отдельности, и/или данные от множества клеточных типов и множества клеточных типов сравнения могут быть объединены в соответствующие составные наборы данных. Составные наборы данных производят ансамбль сетей, соответствующий множеству типов клеток (составные данные), а другой ансамбль сетей, соответствующий множеству клеточных типов сравнения (составные данные сравнения). Дифференциал может быть выполнен на ансамбле сетей для составных данных в сравнении с ансамблем сетей для составных данных сравнения.

Согласно некоторым вариантам осуществления дифференциал может быть выполнен между двумя различными дифференциалами сетей. Эти выходные данные могут упоминаться как сеть дельта-дельта, и они описаны ниже со ссылкой на фиг. 26.

Количественная информация связей может быть идентифицирована для каждой связи в созданных сетях клеточных моделей (стадия 30). Аналогично, может быть идентифицирована количественная информация связей для каждой связи в созданных сетях сравнительных клеточных моделей (стадия 32). Количественная информация о связи может включать в себя направление, указывающее причинность, меру статистической ошибки относительно связи (например, статистическое измерение площади под кривой (AUC)) и/или выражение количественной величины силы связи (например, кратность). Различные связи в созданных сетях клеточных моделей могут быть профилированы с использованием количественной информации связей для того, чтобы исследовать каждый хаб активности в сетях в качестве потенциальной терапевтической мишени и/или биомаркера. Такое профилирование может быть сделано полностью *in silico* на основе результатов от созданных сетей клеточных моделей, не прибегая к реальным практическим экспериментам.

Согласно некоторым вариантам осуществления хаб активности в сетях может быть подтвержден с использованием молекулярных и клеточных техник. Такая проверка выходных после информатики данных с практическими основанными на клетках экспериментами может не выполняться, но она помогает создать полный круг опроса. На фиг. 15 показано схематическое изображение упрощенного представления высокого уровня функциональности иллюстративной основанной на ИИ системе информатики (например, которое может быть использовано с иллюстративными вариантами осуществления (например, основанная на ИИ система информатики REFS™) и взаимодействия между основанной на ИИ системой и другими элементами или частями платформы перекрестной биологии ("платформы"). На фиг. 15A различные наборы данных, полученные от модели биологического процесса (например, модели заболевания), например, дозировка лекарственного средства, дозировка лечения, экспрессия белка, экспрессия мРНК и любые из многих, связанных с функцией, измерений (например, OCR, ECAR), представлены в основанной на ИИ системе. Как показано на фиг. 15B, из наборов входных данных основанная на ИИ система создает библиотеку "фрагментов сети", которые включают в себя переменные (белки, липиды и метаболиты), которые управляют молекулярными механизмами в биологическом процессе (например, заболевании), в процессе, названном набором байесовских фрагментов (фиг. 15B).

На фиг. 15C основанная на ИИ система выбирает подмножество фрагментов сети в библиотеке и конструирует первоначальную пробную сеть из фрагментов. Основанная на ИИ система также выбирает другое подмножество фрагментов сети в библиотеке, чтобы сконструировать еще одну первоначальную пробную сеть. В конце концов, создается ансамбль первоначальных пробных сетей (например, 1000 сетей) из разных подмножеств фрагментов сети в библиотеке. Этот процесс можно назвать параллельным отбором образцов ансамблей. Каждая пробная сеть в ансамбле развивается или оптимизируется путем добавления, вычитания и/или замены дополнительных фрагментов сети из библиотеки. Если получают дополнительные данные, дополнительные данные могут быть включены в фрагменты сети в библиотеке и могут быть включены в ансамбль пробных сетей через эволюцию каждой пробной сети. После завершения процесса оптимизации/эволюции, ансамбль пробных сетей может быть описан как созданная сеть клеточных моделей.

Как показано на фиг. 15D, ансамбль созданных сетей клеточных моделей может быть использован для моделирования поведения биологической системы. Моделирование может быть использовано для прогнозирования поведения биологической системы при изменениях в условиях, что может быть экспериментально проверено с использованием практических основанных на клетках или животных экспериментах. Кроме того, количественные параметры связей в созданных сетях клеточных моделей могут быть извлечены с использованием функциональности моделирования путем применения смоделированных возмущающих воздействий к каждому узлу отдельно, наблюдая за влияниями на другие узлы в созданных сетях клеточных моделей. Более подробная информация представлена ниже в разделе III.C.

Автоматизированный обратный процесс конструирования основанной на ИИ системы информатики, который изображен на фигурах 2A-2D, создает ансамбль созданных сетей клеточных моделей, что представляет собой беспристрастную и систематическую основанную на компьютере клеточную модель.

Обратное конструирование определяет вероятностные направления соединений сети между молекулярными измерениями в данных, и фенотипическими представляющими интерес выходными данными. Изменение молекулярных измерений позволяет изучать вероятностные причинно-следственные связи между этими понятиями и изменениями в конечных точках. Машинное изучение природы платформы

также позволяет взаимодействие и прогнозирование на основе набора данных, которые постоянно развиваются.

Сетевые соединения между молекулярными измерениями в данных представляют собой "вероятностные", отчасти потому, что связь может быть основана на корреляции между наблюдаемыми наборами данных, "изученными" с помощью алгоритма компьютера. Например, если уровень экспрессии белка X и белка Y положительно или отрицательно коррелирует, основываясь на статистическом анализе набора данных, причинно-следственная связь может быть предназначена для установления сетевого соединения между белками X и Y. Надежность такой предполагаемой причинно-следственной связи может быть дополнительно определена с помощью вероятности связи, которая может быть измерена с помощью величины (например,  $p < 0,1, 0,05, 0,01$  и т.д.).

Сетевые соединения между молекулярными измерениями в данных представляют собой "направленные", отчасти потому, что сетевые соединения между молекулярными измерениями, как это определено путем процесса обратного конструирования, отражают причину и влияние связи между соединенным геном/белком, таким образом, что повышение уровня экспрессии одного белка может приводить к росту или падению уровня экспрессии другого, в зависимости от того, стимулирующее ли соединение или ингибирующее.

Сетевые соединения между молекулярными измерениями в данных представляют собой "количественные", отчасти потому, что сетевые соединения между молекулярными измерениями, как это определено с помощью процесса, могут моделироваться *in silico*, на основе существующего набора данных и вероятностных измерений, связанных с ним. Например, в установленных сетевых соединениях между молекулярными измерениями, теоретически возможно увеличить или уменьшить (например, в 1, 2, 3, 5, 10, 20, 30, 50, 100 раз или более) уровень экспрессии данного белка (или "узла" в сети) и количественно моделировать его воздействие на другие соединенные белки в сети.

Сетевые соединения между молекулярными измерениями в данных представляют собой "беспристрастные", по меньшей мере, отчасти потому, что никакие точки данных статистически или искусственно не удаляются, и отчасти потому, что сетевые соединения основаны на одних вводных данных, не обращаясь к уже существующим знаниям о биологическом процессе, о котором идет речь.

Сетевые соединения между молекулярными измерениями в данных представляют собой "системные" и (несмещенные), отчасти потому, что все потенциальные соединения среди всех входных переменных были систематически исследованы, например, попарным способом. Зависимость от вычислительной мощности для выполнения таких системных исследований экспоненциально увеличивается вместе с увеличением количества входных переменных.

В общем, ансамбль из ~1000 сетей, как правило, достаточно, чтобы предсказать, вероятностные причинно-следственные количественные отношения между всеми измеренными понятиями. Ансамбль сетей захватывает неопределенность в данных и позволяет рассчитать доверительные метрики для каждого предсказания модели. Предсказания, полученные с помощью ансамбля сетей вместе, где различия в предсказаниях от отдельных сетей в ансамбле представляет собой степень неопределенности при прогнозировании. Эта функция позволяет присваивать доверительные метрики для предсказаний клинического ответа, полученного от модели.

После того как модели обратно сконструированы, дополнительные запросы моделирования могут быть проведены на ансамбле моделей для определения ключевых молекулярных драйверов биологического процесса, о котором идет речь, например, болезненного состояния.

Эскиз компонентов, используемых для создания иллюстративных моделей *in vitro*, представляющих нормальное и диабетическое состояния, изображен на фиг. 9 Схематическое представление иллюстративной платформы информатики REFS<sup>TM</sup>, используемой для создания причинно-следственных сетей белка, как они относятся к патофизиологии заболевания изображено на фиг. 10. Схематическое представление иллюстративного подхода к созданию дифференциальной сети при диабетическом состоянии, по сравнению с нормальным состоянием, и диабетические узлы, которые восстанавливаются в нормальное состояние обработкой MIM, изображены на фиг. 11. Показательная дифференциальная сеть при диабетическом состоянии, по сравнению с нормальным состоянием изображена на фиг. 12. Схематическое представление узла и связанных с ним представляющих интерес ребер (узел 1 в центре) и клеточная функциональность, связанная с каждым ребром изображены на фиг. 13.

Изобретение в общем описано выше, в разделах ниже предусмотрено более подробное описание различных аспектов или элементов общего изобретения, в сочетании с одной или несколькими конкретными биологическими системами, которые могут быть проанализированы с использованием способов согласно настоящему документу. Следует отметить, однако, используемые для цели иллюстрации конкретные биологические системы ниже не представляют собой ограничивающие. Напротив, предполагается, что другие различные биологические системы, включающие в себя любые их альтернативные варианты, модификации и эквиваленты могут быть проанализированы аналогичным образом с использованием предмета технологии платформы.

## II. Определения

Используемые в настоящем документе некоторые термины, предназначенные для специального оп-

ределения, но еще не определенные в других разделах спецификации, определены в настоящем документе.

Использование единственного числа в настоящем документе обозначает один или более чем один (например, по меньшей мере одного) грамматический объект статьи. В качестве примера, "элемент" означает один элемент или более чем один элемент.

Термин "включающий в себя" используется в настоящем документе для обозначения и используется взаимозаменяемо с фразой "включающий в себя без ограничения".

Термин "или" используется в настоящем документе для обозначения и используется взаимозаменяемо с термином "и/или", если в контексте явно не указано иное.

Термин "такие как" используется в настоящем документе для обозначения и используется взаимозаменяемо с фразой "такие как без ограничения".

"Метаболический путь" относится к последовательности опосредованной ферментом реакции, которая преобразуют одно соединение в другое и обеспечивает промежуточные соединения и энергию для клеточных функций. Метаболический путь может быть линейным или циклическим, или разветвленным.

"Метаболическое состояние" относится к молекулярному содержанию конкретной клеточной, многоклеточной или тканевой окружающей среды в данной точке во времени, измеренной с помощью различных химических и биологических показателей, как они относятся к состоянию здоровья или заболевания.

"Ангиогенез" относится к физиологическому процессу, включающему в себя рост новых кровеносных сосудов от уже существующих сосудов. Ангиогенез включает в себя, по меньшей мере, пролиферацию сосудистых эндотелиальных клеток, миграцию сосудистых эндотелиальных клеток, как правило, в ответ на хемоаттрактанты, деградацию внеклеточного матрикса, как правило, с помощью производства металлопротеазы матрикса, производство металлопротеиназы матрикса, образование трубки, образование просвета сосуда, прорастание сосуда, экспрессию адгезивной молекулы, обычно экспрессию интегринов, и дифференцировку. В зависимости от системы культуры (например, одномерная в сравнении с трехмерной) и типа клеток, различные аспекты ангиогенеза можно наблюдать в клетках, выращенных как *in vitro*, так и *in vivo*. Ангиогенные клетки или клетки, проявляющие по меньшей мере одну характеристику ангиогенной клетки, проявляют 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или больше указанных выше характеристик. Модуляторы ангиогенеза увеличивают или уменьшают по меньшей мере одну из характеристик, приведенную выше. Ангиогенез отличается от васкулогенеза, который представляет собой спонтанное образование кровеносных сосудов или вращение, это термин для образования новых кровеносных сосудов путем расщепления существующих.

Термин "микрочипы" относится к массиву различных полинуклеотидов, олигонуклеотидов, полипептидов (например, антител) или пептидов, синтезированных на таком субстрате, как бумага, нейлон или другой тип мембраны, фильтр, чип, стекло или любом другом подходящем твердом носителе.

Термины "нарушения" и "заболевания" используются включительно и относятся к любому отклонению от нормального строения или функции любой части, органа или системы организма (или любой их комбинации). Конкретное заболевание проявляется характерными симптомами и признаками, в том числе биологическими, химическими и физическими изменениями, и часто ассоциируется с целым рядом других факторов, включающих в себя без ограничения демографический, экологический, занятости, генетический и медицинский исторический факторы. Некоторые характерные признаки, симптомы и связанные с ними факторы могут быть количественно определены с помощью различных способов, чтобы получить важную диагностическую информацию.

Термин "экспрессия" включает в себя процесс, при котором полипептид получается из полинуклеотидов, таких как ДНК. Этот процесс может включать в себя транскрипцию гена в мРНК и трансляцию этой мРНК в полипептид. В зависимости от контекста, в котором он используется, термин "экспрессия" может относиться к производству РНК, белка или того и другого.

Термины "уровень экспрессии гена" или "уровень генной экспрессии" относятся к содержанию мРНК, а также пре-мРНК образующегося транскрипта(ов), промежуточных соединений процессинга транскрипта, зрелой мРНК и продуктов распада или содержания белка, кодируемого геном в клетке.

Термин "модуляция" относится к положительной регуляции (т.е. активации или стимуляции), отрицательной регуляции (т.е. ингибированию или подавлению) ответа, или обоим в комбинации или по отдельности. "Модулятор" представляет собой соединение или молекулу, которая модулирует и может представлять собой, например, агонист, антагонист, активатор, стимулятор, супрессор или ингибитор.

Фраза "влияет на модулятор" понимается как изменение экспрессии, изменение содержания или изменение активности модулятора.

Используемый в настоящем документе термин "троламин" относится к троламину NF, триэтанолламину, TEALAN®, TEAlap 99%, триэтанолламину, 99%, триэтанолламину, NF или триэтанолламину, 99%, NF. Эти термины могут быть использованы в настоящем описании взаимозаменяемо.

Термин "геном" относится ко всей генетической информации биологической сущности (клетки, ткани, органы, система, организм). Он кодируется либо в ДНК или РНК (у некоторых вирусов, например). Геном включает в себя как гены, так и некодирующие последовательности ДНК.

Термин "протеом" относится ко всему набору белков, экспрессированных геномом, клеткой, тканью или организмом в данный момент времени. Более конкретно, он может относиться ко всей совокупности экспрессированных белков в данном типе клеток или организме в данный момент времени в определенных условиях. Протеом может включать в себя варианты белка в связи с, например, альтернативным сплайсингом генов и/или посттрансляционными модификациями (например, гликозилизацией или фосфорилированием).

Термин "транскриптом" относится ко всему набору транскрибированных молекул РНК, включающим в себя мРНК, рРНК, тРНК, микроРНК, дайсер-субстратные РНК и другую не-кодирующую РНК, произведенные в одной или нескольких популяциях клеток в данный момент времени. Этот термин может быть применен к общему набору транскриптов в данном организме или к конкретному подмножеству транскриптов, присутствующих в определенном типе клеток. В отличие от генома, который примерно фиксирован для данной клеточной линии (за исключением мутаций), транскриптом может меняться вместе с окружающими условиями. Поскольку он включает в себя все транскрипты мРНК в клетке, транскриптом отражает гены, которые в настоящее время активно экспрессируются в любой момент времени, за исключением явлений деградации мРНК, такие как транскрипционное затухание.

Изучение транскриптомики, также упоминаемое как профилирование экспрессии, анализирует уровень экспрессии мРНК в данной популяции клеток, часто с использованием высокоэффективных техник, основанных на технологии микрочипов ДНК.

Термин "метаболом" относится к полному набору низкомолекулярных метаболитов (например, метаболомических промежуточных продуктов, гормонов и других сигнальных молекул и вторичных метаболитов), найденным в биологическом образце, таком как единственный организм, в данный момент времени при данном состоянии. Метаболом динамичен и может изменяться каждую секунду.

Термин "липидом" относится к полному набору липидов, который можно найти в биологическом образце, таком как единственный организм, в данный момент времени при данном состоянии. Липидом динамичен и может изменяться каждую секунду.

Термин "интерактом" относится ко всему набору молекулярных взаимодействий в изучаемой биологической системе (например, клетках). Он может отображаться в виде ориентированной графы. Молекулярные взаимодействия могут происходить между молекулами, принадлежащими к разным биохимическим семействам (белки, нуклеиновые кислоты, липиды, углеводы и т.д.), а также в рамках данного семейства. Когда говорят в терминах протеомики, интерактом относится к сети взаимодействий белок-белок (PPI) или сети взаимодействия белка (PIN). Другой широко изучаемый тип интерактома представляет собой интерактом белок-ДНК (сеть, образованная транскрипционными факторами (и регуляторными белками ДНК или хроматина) и их генами-мишенями).

Термин "клеточные выходные данные" включает в себя коллекцию параметров, предпочтительно измеримых параметров, относящихся к клеточному статусу, включающему в себя (без ограничения): уровень транскрипции одного или нескольких генов (например, измеряемый с помощью ОТ-ПЦР, кПЦР, микрочипом и т.д.), уровень экспрессии одного или нескольких белков (например, измеряемый с помощью масс-спектрометрии или вестерн-блоттинга), абсолютную активность (например, измеряемую как коэффициент конверсии субстрата) или относительную активность (например, измеряемую как % значения по сравнению с максимальной активностью) одного или нескольких ферментов или белков, уровень одного или нескольких метаболитов или интермедиатов, уровень окислительного фосфорилирования (например, измеряемый по коэффициенту потребления кислорода или OCR), уровень гликолиза (например, измеряемый по коэффициенту внеклеточного закисления ECAR), протяженность связывания лиганд-мишень или взаимодействия, активность внеклеточных секретируемых молекул и т.д. Клеточные выходные данные могут включать в себя данные для заранее определенного количества генов-мишеней или белков и т.д., или могут включать в себя глобальную оценку всех обнаруживаемых генов или белков. Например, масс-спектрометрия может быть использована для идентификации и/или количественной оценки всех обнаруживаемых белков, экспрессированных в данном образце или популяции клеток, без предварительного знания того, может ли любой конкретный белок быть экспрессирован в образце или клеточной популяции.

Используемый в настоящем документе термин "система клеток" включает в себя популяцию гомогенных или гетерогенных клеток. Клетки в системе могут расти *in vivo*, в естественной или физиологической среде, или могут расти *in vitro*, например, контролируемом окружении культуры тканей. Клетки в системе могут быть относительно гомогенными (например, не менее 70, 80, 90, 95, 99, 99,5, 99,9% гомогенности) или могут содержать два или более типов клеток, таких как типы клеток, которые обычно растут в непосредственной близости *in vivo*, или типы клеток, которые могут взаимодействовать друг с другом *in vivo* через, например, паракрин или другое дальнейшее межклеточное взаимодействие. Клетки в системе клеток могут быть получены из установленных клеточных линий, включающих в себя клеточные линии злокачественных опухолей, бессмертные клеточные линии или нормальные клеточные линии, или могут быть первичными клетками или клетками, только выделенными из живых тканей или органов.

Клетки в клеточной системе, как правило, находятся в контакте с "клеточной окружающей средой", которая может обеспечивать питательными веществами, газами (кислородом или CO<sub>2</sub> и т.д.), химиче-

скими веществами или белковыми/небелковыми стимуляторами, которые могут определять условия, влияющие на клеточное поведение. Клеточная окружающая среда может представлять собой химические среды с определенными химическими компонентами и/или менее четко определенными тканевыми экстрактами или компонентами сыворотки, и может включать в себя определенное значение pH, содержание CO<sub>2</sub>, давление и температуру, при которых клетки растут. Кроме того, клеточная окружающая среда может быть естественной или физиологической окружающей средой, найденной *in vivo* для конкретной системы клеток.

Согласно некоторым вариантам осуществления клеточная окружающая среда содержит условия, которые моделируют аспект биологической системы или процесса, например, моделируют состояние, процесс или окружающую среду заболевания. Такие условия культивирования включают в себя, например, гипергликемию, гипоксию или обогащенные молочной кислотой условия. Многочисленные другие подобные условия описаны в настоящем документе.

Согласно некоторым вариантам осуществления клеточная окружающая среда для конкретной системы клеток также включает в себя определенные особенности клеточной поверхности системы клеток, такие как типы рецепторов или лигандов на клеточной поверхности и их соответствующие активности, структуру углеводных или липидных молекул, полярность или текучесть мембраны, состояние кластеризации определенных мембранных белков и т.д. Эти особенности клеточной поверхности могут повлиять на функцию соседних клеток, таких как клетки, принадлежащие к другой системе клеток. Согласно некоторым другим вариантам осуществления, однако, клеточная окружающая среда системы клеток не включает в себя особенности клеточной поверхности системы клеток.

Клеточная окружающая среда может быть изменена для того, чтобы стать "модифицированной клеточной окружающей средой". Изменения могут включать в себя изменения (например, увеличение или уменьшение) любого одного или нескольких компонентов, найденных в клеточной окружающей среде, включающей в себя добавление одного или нескольких "компонентов внешнего раздражителя" к клеточной окружающей среде. Возмущающее воздействие окружающей среды или компонент внешнего раздражителя может быть эндогенным по отношению к клеточной окружающей среде (например, клеточная окружающая среда содержит несколько уровней стимулятора, и больше того же добавляют для увеличения его содержания) или может быть экзогенным по отношению к клеточной окружающей среде (например, стимулятор в основном отсутствует в клеточной окружающей среде перед изменением). Клеточная окружающая среда может быть дополнительно изменена путем вторичных изменений, представляющих собой результат добавления компонента внешнего раздражителя, так как компонент внешнего раздражителя может изменить клеточные выходные данные системы клеток, включающие в себя молекулы, секретируемые в клеточной окружающей среде системы клеток.

Используемый в настоящем документе термин "компонент внешнего раздражителя", также называемый в настоящем документе "возмущающим воздействием окружающей среды", включает в себя любой внешний физический и/или химический раздражитель, который может повлиять на клеточную функцию. Он может включать в себя любые большие или маленькие органические или неорганические молекулы, природные или синтетические химические вещества, температурные сдвиги, изменение pH, радиацию, свет (UVA, UVB и т.д.), микроволны, звуковые волны, электрический ток, модулированные или немодулированные магнитные поля и т.д.

Термин "многомерная внутриклеточная молекула (MIM)" представляет собой выделенную версию или синтетический вариант эндогенной молекулы, которая естественным образом вырабатывается в организме и/или присутствует по меньшей мере в одной клетке человека. MIM может входить в клетку, и вход в клетку включает в себя полный или частичный вход в клетку до тех пор, пока биологически активная часть молекулы полностью проникнет в клетку. MIM способны индуцировать механизм передачи сигнала и/или экспрессии гена внутри клетки. MIM характеризуются многомерностью, поскольку молекулы содержат, как терапевтическое средство, так и носитель, например, доставка лекарственных средств, эффект. MIM также характеризуются многомерностью, потому что молекулы действуют одним путем при патологическом состоянии и по-другому при нормальном состоянии. Например, в случае CoQ-10, введение CoQ-10 в клетку меланомы в присутствии VEGF приводит к снижению уровня Bcl2, который, в свою очередь, приводит к снижению онкогенного потенциала клеток меланомы. В отличие от этого, в нормальном фибробласте совместное введение CoQ-10 и VEGF не влияет на содержание Bcl2.

Согласно одному варианту осуществления MIM представляет собой также *epi-shifter*. Согласно другому варианту осуществления MIM представляет собой *epi-shifter*. Согласно другому варианту осуществления MIM характеризуется одной или несколькими из указанных выше функций. Согласно другому варианту осуществления MIM характеризуется двумя или более из указанных выше функций. Согласно дополнительному варианту осуществления MIM характеризуется тремя или более из указанных выше функций. Согласно еще одному варианту MIM характеризуется всеми из вышеуказанных функций. Специалисту в настоящей области техники будет понятно, что MIM согласно настоящему изобретению также охватывает смесь двух или более эндогенных молекул, причем смесь характеризуется одной или несколькими из указанных выше функций. Эндогенные молекулы в смеси присутствуют в таком соотношении, чтобы смесь действовала как MIM.

ММ могут представлять собой молекулы на основе липидов или не липидов. Примеры ММ включают в себя без ограничения CoQ10, ацетил Co-A, пальмитил Co-A, L-карнитин, такие аминокислоты, как, например, тирозин, фенилаланин и цистеин. Согласно одному варианту осуществления ММ представляет собой небольшую молекулу. Согласно одному варианту осуществления настоящего изобретения ММ представляет собой не CoQ10. ММ могут быть обычно определены специалистом в настоящей области техники с использованием любого из анализов, описанных подробно в настоящем документе. ММ описаны более подробно в патенте США 12/777902 (US 2011-0110914), полное содержание которого специально включено в настоящий документ посредством ссылки.

Используемый в настоящем документе "вещество, вызывающее выраженные метаболомические сдвиги" (epi-shifter) представляет собой молекулу, которая модулирует метаболомический сдвиг от здорового (или нормального) состояния в патологическое состояние и наоборот, тем самым сохраняя или восстанавливая клеточное, тканевое, органное и/или системное здоровье у человека. Epi-shifter способны осуществлять нормализацию в тканевой микросреде. Например, epi-shifter включает в себя любую молекулу, которая способна, когда добавляется или расщепляется в клетке, влиять на микроокружение (например, метаболомическое состояние) клетки. Специалисту в настоящей области техники будет понятно, что epi-shifter согласно настоящему изобретению также охватывает смесь двух или более молекул, причем смесь характеризуется одной или несколькими из указанных выше функций. Молекулы в смеси присутствуют в таком соотношении, чтобы смесь функционировала как epi-shifter. Примеры epi-shifter включают в себя без ограничения CoQ-10; витамин D3; такие компоненты ECM, как фибронектин; такие иммуномодуляторы, как TNF или любые из интерлейкинов, например, IL-5, IL-12, IL-23; ангиогенные факторы и факторы апоптоза.

Согласно одному варианту осуществления epi-shifter представляет собой также ММ. Согласно одному варианту осуществления epi-shifter представляет собой не CoQ10. Epi-shifter могут быть обычно определены специалистом в настоящей области техники с использованием любого из анализов, описанных подробно в настоящем документе. Epi-shifter описаны более подробно в патенте США 12/777902 (US 2011-0110914), полное содержание которого специально включено в настоящий документ посредством ссылки.

Другие термины явно не определенные в настоящем изобретении характеризуются тем же значением, которое понятно любому специалисту в настоящей области техники.

### **III. Иллюстративные стадии и компоненты платформенной технологии**

Только для цели иллюстрации, следующие стадии предмета платформенной технологии могут быть описаны ниже как иллюстративная утилита для интеграции данных, полученных от пользовательского построения модели злокачественной опухоли, а также для идентификации новых белков/путей управления патогенезом злокачественной опухоли. Реляционные карты, полученные в результате этого анализа, включают мишени лечения злокачественных опухолей, а также диагностические/прогностические маркеры, связанные со злокачественной опухолью. Тем не менее, предмет платформенной технологии характеризуется общей применимостью к любой биологической системе или процессу и не ограничивается какой-либо конкретной злокачественной опухолью или другими конкретными моделями заболеваний.

Кроме того, хотя описание ниже представлено в некоторых частях, как дискретные стадии, оно предназначено для цели иллюстрации и простоты, и, таким образом, в действительности, это не означает такой жесткий порядок и/или разграничение стадий. Кроме того, стадии настоящего изобретения могут быть выполнены отдельно, и предусмотренное в настоящем документе изобретение предназначено для охвата каждой из стадий в отдельности, а также комбинации из одной или нескольких (например, любой одной, двух, трех, четырех, пяти, шести или всех семи стадий) стадий предмета платформенной технологии, которые могут быть проведены независимо от остальных стадий.

Настоящее изобретение также предназначено для включения в себя всех аспектов платформенной технологии в виде отдельных компонентов, а также вариантов осуществления настоящего изобретения. Например, созданные наборы данных предназначены для того, чтобы представлять собой варианты осуществления настоящего изобретения. В качестве дополнительных примеров, созданные сети причинно-следственных связей, созданные консенсусные сети причинно-следственных связей и/или созданные смоделированные сети причинно-следственных связей также предназначены для того, чтобы представлять собой варианты осуществления настоящего изобретения. Причинно-следственные связи, идентифицированные как уникальные в биологической системе, предназначены для того, чтобы представлять собой варианты осуществления настоящего изобретения. Кроме того, построенные по заказу модели для конкретной биологической системы также предназначены для того, чтобы представлять собой варианты осуществления настоящего изобретения. Например, построенные по заказу модели патологического состояния или процесса, такие как, например, модели ангиогенеза, клеточные модели злокачественных опухолей, ожирения/диабета/сердечно-сосудистых заболеваний или пользовательские построенные модели токсичности (например, кардиотоксичности) лекарственного средства, также предназначены для того, чтобы представлять собой варианты осуществления настоящего изобретения.

#### **A. Построение модели по заказу.**

Первая стадия в платформенной технологии представляет собой создание модели биологической

системы или процесса.

### 1. Модели ангиогенеза.

Известны как *in vitro*, так и *in vivo* модели ангиогенеза. Например, модель *in vitro* с использованием человеческих эндотелиальных клеток сосудов пуповины (HUVEC) предусмотрена более подробно в примерах. Вкратце, когда HUVEC выращивают в суб-конфлюэнтных культурах, они проявляют характеристики ангиогенных клеток. Когда HUVEC выращивают в конфлюэнтных культурах, они не проявляют характеристики ангиогенных клеток. Большинство стадий в ангиогенном каскаде могут быть проанализированы *in vitro*, в том числе пролиферация, миграция и дифференциация эндотелиальных клеток. Исследования пролиферации основаны на подсчете клеток, включении тимидина или иммуногистохимическом окрашивании на клеточную пролиферацию (путем измерения PCNA) или гибель клеток (по терминальному дезоксиуридиновому мечению концов или анализу Tunel). Хемотаксис может быть измерен в камере бойдена, которая состоит из верхней и нижней лунок, разделенных мембранным фильтром. Хемотаксические растворы помещают в нижнюю лунку, клетки добавляют в верхнюю лунку, и после периода инкубации клетки, которые мигрировали в сторону хемотаксического стимула, подсчитывают на нижней поверхности мембраны. Миграцию клеток также можно изучать с помощью анализа способом зарастания царапины, представленного в приведенных ниже примерах. Дифференциация может быть вызвана *in vitro* путем культивирования эндотелиальных клеток в разных компонентах ЕСМ, включающим в себя двух- и трехмерные сгустки фибрина, гели коллагена и матригель. Также было показано, что микрососуды растут из колец аорты крысы, встроенных в трехмерный фибриновый гель. Экспрессия матриксной металлопротеиназы может быть проанализирована с помощью анализа зимогена.

Сосудистая сеть сетчатки не сформирована полностью у мышей в момент рождения. Сосудистый рост и ангиогенез были подробно изучены на этой модели. Становление сетчатки может быть использовано для анализа ангиогенеза, как нормального биологического процесса.

Анализ с куриной хорион-аллантаической мембраной (САР) хорошо известен в настоящей области техники. Ранний куриный эмбрион не характеризуется зрелой иммунной системой и, следовательно, используется для изучения индуцированного опухолью ангиогенеза. Трансплантаты ткани помещают на САР через отверстие в скорлупе. Это вызывало типичную радиальную перестройку сосудов в сторону и явное увеличение сосудов вокруг трансплантата в течение четырех дней после имплантации. Входящие в трансплантат кровеносные сосуды подсчитываются под стереомикроскопом. Для оценки антиангиогенной или ангиогенной активности исследуемых соединений, соединения получают либо медленным высвобождением полимерных гранул, абсорбированных желатиновыми губками, либо сушат на воздухе на пластиковых дисках, а затем имплантируют на САР. Были описано несколько вариантов анализа САР, включающих в себя культивирование безоболочечных эмбрионов в чашках Петри, а также различные количественные способы (т.е. измерение скорости биосинтеза базальной мембраны с использованием радио-меченного пролина, подсчета количества судов под микроскопом или анализа изображений).

Роговица представляет бессосудистый участок *in vivo*. Таким образом, любые сосуды, проникающие от лимба в строму роговицы, могут быть идентифицированы как вновь образованные. Чтобы индуцировать ангиогенный ответ, полимерные гранулы с замедленным высвобождением [т.е. поли-2-гидроксиэтилметакрилат (гидрон) или сополимер этилена и винилацетата (ELVAX)], содержащие ангиогенное вещество (например, FGF-2 VEGF), имплантируют в "карманы", созданные в строме роговицы кролика. Кроме того, большое разнообразие тканей, клеток, клеточных экстрактов и кондиционированных сред было исследовано на их влияние на ангиогенез в роговице. Сосудистая реакция может быть определена количественно с помощью компьютерного анализа изображения после перфузии роговицы с тушью. Роговица может быть собрана и проанализирована с использованием предусмотренных в настоящем документе способов платформы.

MATRIGEL® представляет собой матрикс новообразования мышшиной базальной мембраны, известный как мышшиная саркома Engelbreth-Holm-Swarm. Он представляет собой сложную смесь белков базальной мембраны, включающих в себя ламинин, коллаген типа IV, гепарансульфат, фибрин и факторы роста, включающие в себя EGF, TGF- $\beta$ , PDGF и IGF-1. Изначально он был разработан для изучения дифференцировки эндотелиальных клеток *in vitro*. Тем не менее, содержащие MATRIGEL® FGF-2 могут быть введены подкожно мышам. MATRIGEL® представляет собой жидкость при температуре 4°C, но образует твердый гель при 37°C, который захватывает фактор роста, чтобы обеспечить его медленное высвобождение. Как правило, через 10 дней, пробки MATRIGEL® удаляют и ангиогенез количественно определяют гистологически или морфометрически в срезах пробки. Пробки MATRIGEL® могут быть собраны и проанализированы с использованием способов платформы, предусмотренных в настоящем документе.

### 2. Модели заболевания *in vitro*.

Пример биологической системы или процесса представляет собой злокачественную опухоль. Как и любой другой сложный биологический процесс или система, злокачественная опухоль представляет собой сложное патологическое состояние, характеризующееся множественными уникальными аспектами. Например, благодаря своей высокой скорости роста многие клетки злокачественной опухоли адаптиро-

ваны к росту в условиях гипоксии, характеризуются повышающей регуляцией гликолиза и метаболическими путями сниженного окислительного фосфорилирования. В результате, клетки злокачественной опухоли могут по-разному реагировать на возмущающее воздействие окружающей среды, такое как лечение с помощью потенциального лекарственного средства, по сравнению с реакцией нормальных клеток в ответ на такое же лечение. Таким образом, было бы интересно расшифровать уникальные реакции злокачественной опухоли на лекарственную терапию в сравнении с реакциями нормальных клеток. Для этого может быть создана пользовательская модель злокачественной опухоли, чтобы моделировать окружение клетки злокачественной опухоли, например, в опухоли *in vivo* путем создания условий культивирования клеток близких к условиям клетки злокачественной опухоли в опухоли *in vivo*, или для имитации различных аспектов роста злокачественной опухоли путем выделения различных условий роста клеток злокачественной опухоли.

Такая "окружающая среда" злокачественной опухоли или стрессовое условие роста представляет собой гипоксию, состояние, как правило, обнаруживаемое в солидной опухоли. Гипоксия может быть индуцирована в клетках с использованием известных в настоящей области техники способов. Например, гипоксия может быть вызвана путем помещения клеточных систем в камеру модульного инкубатора (MIC-101, Billups-Rothenberg Inc. Del Mar, CA), которая может быть заполнена промышленной газовой смесью, содержащей 5% CO<sub>2</sub>, 2% O<sub>2</sub> и 93% азота. Эффекты могут быть измерены после заранее определенного периода, например, через 24 ч после лечения гипоксии с и без дополнительных компонентов внешнего раздражителя (например, CoQ10 при 0, 50 или 100 мкМ).

Точно так же, воздействие молочной кислоты клеток имитирует клеточную окружающую среду, в которой активность гликолиза так же высока, как она существует в окружающей опухоль среде *in vivo*. Индуцированный молочной кислотой стресс можно исследовать в конечной концентрации молочной кислоты, равной приблизительно 12,5 мМ, в заранее определенное время, например, через 24 ч с и без дополнительных компонентов внешнего раздражителя (например, CoQ10 при 0, 50 или 100 мкМ).

Гипергликемия обычно представляет собой обязательное условие, найденное при диабете; однако, гипергликемия также в некоторой степени имитирует один аспект роста злокачественной опухоли, потому что многие клетки злокачественной опухоли зависят от глюкозы как от их основного источника энергии. Воздействие на исследуемые клетки типичным условием гипергликемии может включать добавление 10% по отношению к культуре глюкозы в подходящие среды, так что конечная концентрация глюкозы в средах составляет около 22 мМ.

Индивидуальные условия, отражающие различные аспекты роста опухоли, могут быть исследованы отдельно в построенной по заказу модели злокачественной опухоли и/или могут быть объединены вместе. Согласно одному варианту осуществления комбинации по меньшей мере 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 25, 30, 40, 50 или более условий, отражающие или моделирующие различные аспекты роста/условий опухоли исследуются в построенной по заказу модели злокачественной опухоли. Согласно одному варианту осуществления отдельные условия и, кроме того, комбинации по меньшей мере 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 25, 30, 40, 50 или более условий, отражающие или моделирующие различные аспекты роста/условий опухоли исследуются в построенной по заказу модели злокачественной опухоли. Все значения, представленные в вышеизложенном списке, также могут представлять собой верхний или нижний предел диапазонов, которые предназначены, чтобы быть частью этого изобретения, например, от 1 до 5, от 1 до 10, от 1 до 20, от 1 до 30, от 2 до 5, от 2 до 10, от 5 до 10, от 1 до 20, от 5 до 20, от 10 до 20, от 10 до 25, от 10 до 30 или от 10 до 50 разных условий.

В настоящем документе ниже перечислены несколько иллюстративных комбинаций условий, которые могут быть использованы для воздействия на клетки. Другие комбинации могут быть легко составлены в зависимости от конкретной перекрестной биологической оценки, которая проводится.

1. Только среды.
2. 50 мкМ CTL коэнзим Q10 (CoQ10).
3. 100 мкМ CTL коэнзим Q10.
4. 12,5 мМ молочная кислота.
5. 12,5 мМ молочная кислота + 50 мкМ CTL коэнзим Q10.
6. 12,5 мМ молочная кислота + 100 мкМ CTL коэнзим Q10.
7. Гипоксия.
8. Гипоксия + 50 мкМ CTL коэнзим Q10.
9. Гипоксия + 100 мкМ CTL коэнзим Q10.
10. Гипоксия + 12,5 мМ молочная кислота.
11. Гипоксия + 12,5 мМ молочная кислота + 50 мкМ CTL коэнзим Q10.
12. Гипоксия + 12,5 мМ молочная кислота + 100 мкМ CTL коэнзим Q10.
13. Среда + 22 мМ глюкоза.
14. 50 мкМ CTL коэнзим Q10 + 22 мМ глюкоза.
15. 100 мкМ CTL коэнзим Q10 + 22 мМ глюкоза.
16. 12,5 мМ молочная кислота + 22 мМ глюкоза.
17. 12,5 мМ молочная кислота + 22 мМ глюкоза + 50 мкМ CTL коэнзим Q10.

18. 12,5 мМ молочная кислота + 22 мм глюкоза +100 мкМ CTL коэнзим Q10.
19. Гипоксия + 22 мМ глюкоза.
20. Гипоксия + 22 мМ глюкоза + 50 мкМ CTL коэнзим Q10.
21. Гипоксия + 22 мМ глюкоза + 100 мкМ CTL коэнзим Q10.
22. Гипоксия + 12,5 мМ молочная кислота + 22 мМ глюкоза.
23. Гипоксия + 12,5 мМ молочная кислота + 22 мМ глюкоза + 50 мкМ CTL коэнзим Q10.
24. Гипоксия + 12,5 мМ молочная кислота + 22 мМ глюкоза +100 мкМ CTL коэнзим Q10.

В качестве контроля одну или несколько нормальных клеточных линий (например, THLE2 и HDFA) культивируют в аналогичных условиях для того, чтобы идентифицировать уникальные белки или пути злокачественной опухоли (см. ниже). Контролем может выступать описанная выше сравнительная клеточная модель.

Множественные клетки злокачественной опухоли одного и того же или разного происхождения (например, линии злокачественных опухолей PaCa2, HepG2, PC3 и MCF7), в отличие от одного типа клеток злокачественной опухоли, могут быть включены в модель злокачественной опухоли. В определенных ситуациях эксперименты по взаимовлиянию или ECS между различными клетками злокачественных опухолей (например, HepG2 и PaCa2) могут проводиться для нескольких взаимосвязанных целей.

Согласно некоторым вариантам осуществления, которые включают в себя взаимовлияние, эксперименты, проведенные на клеточных моделях, разрабатывают для определения модуляции клеточного состояния или функции одной системы клеток или популяции (например, клетка гепатокарциномы HepG2) с помощью другой системы клеток или популяции (например, злокачественная опухоль поджелудочной железы PaCa2) при определенных условиях воздействия (например, гипергликемия, гипоксия (ишемия)). В соответствии с типичной постановкой первая клеточная система/популяция контактирует с компонентами внешних раздражителей, такими как кандидатная молекула (например, низкомолекулярное лекарственное средство, белок) или кандидатное состояние (например, гипоксия, окружающая среда с высоким содержанием глюкозы). В ответ на это первая клеточная система/популяция изменяет свой транскриптом, протеом, метаболом и/или интерактом, что приводит к изменениям, которые можно легко обнаружить как внутри, так и вне клетки. Например, изменения в транскриптоме могут быть измерены по уровню транскрипции множества мРНК-мишеней; изменения в протеоме могут быть измерены по уровню экспрессии множества белков-мишеней и изменения в метаболоме могут быть измерены по уровню множества метаболитов-мишеней с помощью анализов, разработанных специально для данных метаболитов. С другой стороны, вышеупомянутые изменения в метаболоме и/или протеоме, по меньшей мере, в отношении определенных секретируемых метаболитов или белков, могут также быть измерены по влиянию на вторую клеточную систему/популяцию, включающую в себя модуляцию транскриптома, протеома, метаболома и интерактома второй клеточной системы/популяции. Таким образом, эксперименты могут быть использованы для идентификации эффектов представляющей интерес молекулы(-), секретируемой первой клеточной системой/популяцией, на вторую клеточную систему/популяцию при различных условиях воздействия. Эксперименты также могут быть использованы, чтобы идентифицировать любые белки, которые модулируются в результате передачи сигналов от первой клеточной системы (в ответ на воздействие компонентом внешнего раздражителя) к другой системе клеток с помощью, например, дифференциального скрининга протеомики. Те же экспериментальные условия также могут быть приспособлены для обратной постановки таким образом, что взаимные эффекты между двумя клеточными системами также могут быть оценены. В общем, для этого типа эксперимента выбор пар клеточных линий в значительной степени основан на таких факторах, как происхождение, патологическое состояние и клеточная функция.

Хотя двухклеточные системы, как правило, участвуют в этом типе экспериментальной постановки, аналогичные эксперименты также могут быть разработаны для более чем двухклеточных систем, например иммобилизация каждой отдельной системы клеток на отдельной твердой подложке.

После того как пользовательская модель построена, к системе могут быть применены одно или несколько "возмущающих воздействий", такие как генетическая изменчивость от пациента к пациенту или наличие/отсутствие лечения некоторыми лекарственными средствами или пролекарствами. См. фиг. 15D. Эффекты таких возмущающих воздействий на систему, в том числе эффект на связанные с заболеванием клетки злокачественной опухоли и связанные с заболеванием нормальные контрольные клетки может быть измерен с помощью различных известных в настоящей области техники или запатентованных средств, описанных в разделе III.B ниже.

В иллюстративном эксперименте линии злокачественных опухолей PaCa2, HepG2, PC3 и MCF7 и нормальные клеточные линии THLE2 и HDFA выдерживали при каждом из условий гипергликемии, гипоксии и обогащенности молочной кислотой, а также во всех комбинациях двух или трех условий, и в дополнение с или без возмущающего воздействия окружающей среды, в частности, воздействия коэнзимом Q10.

Построенная по заказу клеточная модель может быть установлена и использоваться на стадиях платформенной технологии изобретения конечной идентификации причинно-следственной связи, уникальной в биологической системе, путем проведения описанных в настоящем документе стадий. Специа-

листу в настоящей области техники будет понятно, однако, что построенная по заказу клеточная модель, которая используется для получения начальной, "первого поколения" консенсусной сети причинно-следственных связей для биологического процесса, может постоянно развиваться или расширяться с течением времени, например, за счет введения дополнительных клеточных линий злокачественных опухолей или нормальных и/или дополнительных условий злокачественных опухолей. Могут быть собраны дополнительные данные от усовершенствованной клеточной модели, т.е. данные вновь добавленной части(ей) клеточной модели. Новые данные, собранные от расширенной или развитой модели клеток, т.е. от вновь добавленной части(ей) клеточной модели, могут быть затем введены в наборы данных, ранее используемые для создания консенсусной сети причинно-следственных связей "первого поколения" для того, чтобы получить более консенсусную сеть причинно-следственных связей "второго поколения". Новые причинно-следственные связи, уникальные для биологической системы, могут быть затем идентифицированы из консенсусной сети причинно-следственных связей "второго поколения". Таким образом, эволюция клеточной модели включает эволюцию консенсусных сетей причинно-следственных связей, тем самым обеспечивая новое и/или более надежное понимание модуляторов биологической системы.

Дополнительные примеры, построенные по заказу клеточных моделей, подробно описаны в настоящем документе.

#### В. Сбор данных.

Как правило, два типа данных могут быть собраны от любых построенных по заказу модельных систем. Один тип данных (например, первый набор данных, третий набор данных), как правило, относится к содержанию определенных макромолекул, таких как ДНК, РНК, белок, липид и т.д. Иллюстративный набор данных в этой категории представляет собой протеомные данные (например, качественные и количественные данные, касающиеся экспрессии всех или по существу всех измеримых белков от образца). Другой тип данных, как правило, представляет собой функциональные данные (например, второй набор данных, четвертый набор данных), которые отражают фенотипические изменения, представляющие собой результат изменений в первом типе данных.

Что касается первого типа данных, в некоторых примерных вариантах осуществления количественная полимеразная цепная реакция (кПЦР) и протеомика выполняются на изменениях профиля в экспрессии клеточной мРНК и белка с помощью количественной полимеразной цепной реакции (кПЦР) и протеомики. Общая РНК может быть выделена с использованием коммерческого набора для выделения РНК. После синтеза кДНК определенные коммерчески доступные массивы кПЦР (например, из SA Biosciences) для области заболевания или таких клеточных процессов, как ангиогенез, апоптоз и диабет, могут быть использованы для характеристики предопределенного набора генов, следуя инструкциям производителя. Например, система амплификации Biorad CFX-384 может быть использована для всех экспериментов профилирования транскрипции. После сбора данных (Ct) окончательная кратность изменения по отношению к контролю может быть определена с использованием способа  $\delta Ct$ , как указано в протоколе производителя. Протеомный анализ образцов может быть выполнен, как описано в последующих разделах.

Рассматриваемый способ может использовать масштабный высокоэффективный количественный протеомный анализ сотен образцов сходной характеристики и предоставлять данные, необходимые для идентификации клеточных выходных дифференциалов.

Существует множество известных в настоящей области техники технологий, пригодных для этой цели. Иллюстративная техника, анализ iTRAQ в сочетании с масс-спектрометрией, кратко описана ниже.

Подход количественной протеомики базируется на стабильном изотопном мечении с реагентом 8-plex iTRAQ и 2D-ЖХ MALDI MC/MC для идентификации пептидов и количественного определения. Количественное определение с этой техникой характеризуется относительностью: пептидам и белкам присваиваются относительные содержания, по сравнению с эталонным образцом. Общие эталонные образцы при многочисленных экспериментах iTRAQ облегчают сравнение образцов во множественных экспериментах iTRAQ.

Например, для реализации этой схемы анализа, шесть основных образцов и два пула контрольных образцов могут быть объединены в одну смесь 8-plex iTRAQ в соответствии с рекомендациями изготовителя. Эта смесь из восьми образцов может быть затем фракционирована путем двумерной жидкостной хроматографии; сильным катионным обменом (SCX) в первом измерении, и обращенно-фазовой ВЭЖХ во втором измерении, затем может быть подвергнута масс-спектрометрическому анализу.

В настоящем документе предусмотрен краткий обзор иллюстративных лабораторных процедур, которые могут быть использованы.

Экстракция белка: клетки могут быть лизированы буфером для лизиса с 8 М мочевиной с ингибиторами протеазы (ингибитор протеазы Thermo Scientific Halt без ЭДТА) и инкубированы на льду в течение 30 мин с перемешиванием в течение 5 с каждые 10 мин. Лизис может быть завершен ультразвуком с 5-секундным импульсом. Клеточные лизаты могут быть центрифугированы при 14000×g в течение 15 мин (4°C) для удаления продуктов распада клеток. Для определения концентрации белка может быть выполнен анализ брэдфорда. 100 мкг белка из каждого образца могут быть редуцированы (10 mM дити-

отреитола (ДТТ), 55°C, 1 ч), алкилированы (25 мМ йодацетамида, при комнатной температуре, 30 мин), а затем расщеплены трипсином (1:25 вес./вес., 200 мМ триэтиламмониевый бикарбонат (TEAB), 37°C, 16 ч).

Подготовка образца секретома: 1) согласно одному варианту осуществления клетки могут быть культивированы в бессывороточной среде: кондиционированные среды могут быть сконцентрированы путем сублимационной сушки, редуцированы (10 мМ дитиотреитола (ДТТ), 55°C, 1 ч), алкилированы (25 мМ йодацетамида, при комнатной температуре, 30 мин), а затем обессолены с помощью актоновой преципитации. Равное количество белков из концентрированных кондиционированных сред могут быть расщеплены трипсином (1:25 вес./вес., 200 мМ триэтиламмониевый бикарбонат (TEAB), 37°C, 16 ч).

Согласно одному варианту осуществления клетки могут быть культивированы в среде, содержащей сыворотку: объем среды может быть уменьшен с помощью колонок 3k MWCO Vivaspin (GE Healthcare Life Sciences), а затем может быть восстановлен с 1xPBS (Invitrogen). Сывороточный альбумин может быть истощен из всех образцов с использованием колонки AlbuVoid (Biotech Support Group, LLC), следуя инструкциям производителя с модификациями замены буфера обмена для оптимизации состояния применения среды.

Мечение 8 Plex iTRAQ: аликвоты от каждого триптического гидролизата в каждом экспериментальном наборе могут быть объединены вместе для создания объединенного контрольного образца. Равные аликвоты от каждого образца и объединенный контрольный образец могут быть помечены с помощью реагентов iTRAQ 8 Plex в соответствии с протоколами изготовителя (AB Sciex). Реакции могут быть комбинированы, высушены под вакуумом, ресуспендированы добавлением 0,1% муравьиной кислоты и проанализированы с помощью ЖХ-МС/МС.

2D-наноЖХ-МС/МС: все меченых смеси пептидов могут быть разделены с помощью онлайн-2D-наноЖХ и проанализированы с помощью тандемной масс-спектрометрии с электрораспылением. Эксперименты можно проводить на ультра системе Eksigent 2D NanoLC, подключенной к масс-спектрометру LTQ Orbitrap Velos, оборудованному источником ионов наноэлектрораспыления (Thermo Electron, Bremen, Germany).

Смеси пептидов могут быть введены в колонку 5 см SCX (300 мкм ID, 5 мкм, колонку PolySULFOETHYL Aspartamide от PolyLC, Columbia, MD) с потоком 4 мкл/мин и элюированы в 10 ионные обменные сегменты элюирования в колонку-ловушку C18 (2,5 см, 100 мкм ID, 5 мкм, 300 А ProteoPep II от New Objective, Woburn, MA) и промыты в течение 5 мин с H<sub>2</sub>O/0,1% FA. Разделение может быть дополнительно проведено при 300 нл/мин с использованием градиента 2-45% В (H<sub>2</sub>O /0,1% FA (растворитель А) и ACN /0,1% FA (растворитель В)) в течение 120 мин на 15 см слитых колонках с силикагелем (75 мкм ID, 5 мкм, 300 А ProteoPep II от New Objective, Woburn, MA).

Полное сканирование спектра МС (м/з 300-2000) может быть достигнуто в Orbitrap с разрешением 30000. Наиболее интенсивные ионы (до 10) могут быть последовательно выделены для фрагментации с использованием высокоэнергетической С-ловушки диссоциации (HCD) и динамически исключены в течение 30 с. HCD может быть проведена с шириной изоляции 1,2 Da. Полученные ионы фрагментов могут быть отсканированы в Orbitrap с разрешением 7500. LTQ Orbitrap Velos может управляться Xcalibur 2,1 с основанием 1.0.1.

Идентификация и количественное определение пептидов/белков: пептиды и белки могут быть идентифицированы с помощью автоматизированного поиска в базе данных с использованием программного обеспечения Proteome Discoverer (Thermo Electron) с поисковиком Mascot по базе данных SwissProt. Параметры поиска могут включать в себя 10 миллионных долей для толерантности MS, 0,02 Da для толерантности MS2 и полное расщепление трипсином, позволяющее до 2 пропущенных расколов. Карбамидометилирование (C) может быть установлено как фиксированная модификация. Окисление (M), TMT6 и дезамидирование (NQ) могут быть установлены как динамические изменения. Идентификации пептидов и белков могут быть отфильтрованы с Mascot Significant Threshold (p <0,05). Фильтры могут позволять 99% доверительный уровень идентификации белка (1% FDA).

Программное обеспечение Proteome Discoverer может применять поправочные коэффициенты на репортерные ионы и может отклонять все количественные значения, если не все количественные каналы присутствуют. Относительное количественное определение белка может быть достигнуто за счет нормализации при средней интенсивности.

Что касается второго типа данных в некоторых иллюстративных вариантах осуществления, биоэнергетическое профилирование моделей злокачественной опухоли и нормальных моделей может использовать анализатор Seahorse™ XF24, чтобы обеспечить понимание компонентов гликолиза и окислительного фосфорилирования.

В частности, клетки могут быть посеяны на культуральные планшеты Seahorse при оптимальных плотностях. Эти клетки могут быть посеяны в 100 мкл среды или обработаны и оставлены в инкубаторе при 37°C с 5% CO<sub>2</sub>. Через 2 ч, когда клетки адгезируют к 24-луночному планшету, могут быть добавлены дополнительные 150 мкл либо среды, либо обрабатывающего раствора, и планшеты могут быть оставлены в культуральном инкубаторе на ночь. Эта двухэтапная процедура посева позволяет равномерное распределение клеток в культуральном планшете. Картриджи Seahorse, которые содержат датчик кислорода

и pH, могут быть увлажнены в течение ночи в калибровочной жидкости в инкубаторе без CO<sub>2</sub> при 37°C. Три митохондриальных препарата, как правило, загружают на три порта в картридже. Олигомицин, ингибитор комплекса III, FCCP, разобщитель и ротенон, ингибитор комплекса I могут быть загружены в порты картриджа A, B и C соответственно. Все исходные препараты могут быть приготовлены в 10-кратной концентрации в незабуференных DMEM средах. Картриджи могут быть сначала проинкубированы с митохондриальными соединениями в инкубаторе без CO<sub>2</sub> в течение примерно 15 мин до анализа. Культуральные планшеты Seahorse могут быть отмыты в основанных на DMEM незабуференных средах, которые содержат глюкозу в концентрации, найденной в нормальной ростовой среде. Клетки могут быть наложены с 630 мкл незабуференных сред и могут быть эквilibрированы в инкубаторе без CO<sub>2</sub> до размещения в прибор Seahorse с предварительно откалиброванным картриджем. Прибор может работать в течение трех-четырех петель со смесью, ждать и измерять цикл для получения базовой линии, перед иницированием введения препаратов через порт. Может быть две петли перед введением следующего препарата.

OCR (норма потребления кислорода) и ECAR (норма внеклеточного закисления) могут быть записаны с помощью электродов в камере 7 мкл и могут быть созданы с картриджем, толкающим против планшета культуры Seahorse.

#### С. Интеграция данных и получение модели *in silico*.

После того как были получены соответствующие наборы данных, интеграция наборов данных и получение реализованных компьютером статистических моделей может быть выполнена с использованием основанной на ИИ системы или платформы информатики (например, платформы REFS<sup>TM</sup>). Например, иллюстративная основанная на ИИ система может производить основанные на моделировании сети белковых ассоциаций в качестве ключевых драйверов метаболических конечных точек (Ecar/OCR). См. фиг. 15. Некоторые предшествующие детали о системе REFS<sup>TM</sup> могут быть найдены в Xing et al., "Causal Modeling Using Network Ensemble Simulations of Genetic and Gene Expression Data Predicts Genes Involved in Rheumatoid Arthritis", PLoS Computational Biology, vol. 7, issue. 3, 1-19 (March 2011) (e100105) и в патенте США 7512497 to Periwai, полное содержание каждой из которых полностью включено в настоящий документ посредством ссылки. По существу, как описано ранее, система REFS<sup>TM</sup> представляет собой основанную на ИИ систему, которая использует математические алгоритмы для установления причинно-следственных связей между входными переменными (например, уровнями экспрессии белка, уровнями экспрессии мРНК и соответствующими функциональными данными, такими как значения OCR/ECAR, измеренные на культуральных планшетах Seahorse). Этот процесс основан только на одних входных данных, не принимая во внимание предварительно существующие знания о любых потенциальных, установленных и/или проверенных биологических связях.

В частности, существенное преимущество платформы согласно настоящему изобретению представляет собой то, что система на основе ИИ основана на наборах данных, полученных от клеточной модели, не прибегая к или не принимая во внимание любые имеющиеся знания в настоящей области техники в отношении биологического процесса. Кроме того, предпочтительно, никакие точки данных статистически или искусственно не удаляются и, вместо этого, все полученные данные попадают в ИИ-систему для определения белковых ассоциаций. Соответственно, в результате статистические модели, полученные с платформы, представляют собой беспристрастные, так как они не принимают в рассмотрение любые известные биологические связи.

В частности, данные протеомики и ECAR/OCR могут быть введены в основанную на ИИ информационную систему, которая строит статистические модели, основанные на ассоциациях данных, как описано выше. Основанные на моделировании сети белковых ассоциаций затем получают для каждого заболевания в сравнении с нормальным сценарием, в том числе способы лечения и условия с использованием следующих методов.

Подробное описание иллюстративного процесса для построения полученных (например, оптимизированных или развитых) сетей появится ниже со ссылкой на фиг. 16. Как описано выше, данные из протеомики и функциональные данные клеток вводятся в систему на основе ИИ (стадия 210). Входные данные, которые могут быть необработанными данными или минимально обработанными данными, предварительно обрабатывают, что может включать в себя нормирование (например, с использованием квантильной функции или внутренних стандартов) (стадия 212). Предварительная обработка может также включать в себя внесение недостающих значений данных (например, с использованием алгоритма ближайшего к K соседа (K-NN)) (стадия 212).

Предварительно обработанные данные используются для конструирования библиотеки фрагментов сетей (стадия 214). Сетевые фрагменты определяют количественные, продолжительные связи между всеми возможными небольшими наборами (например, наборами по 2-3 представителя или наборами по 2-4 представителя) измеряемых величин (входных данных). Связи между переменными во фрагменте могут быть линейными, логистическими, мультиномиальными, доминантными или рецессивными гомозиготными и т.д. Связи в каждом фрагменте присваивается байесовый вероятностный показатель, который отражает, насколько вероятно кандидатная связь дается входными данными, а также забраковывает

связь за ее математическую сложность. Путем оценивания всех возможных попарных и трех направленных связей (и согласно некоторым вариантам осуществления также четырех направленных связей), выведенных из входных данных, могут быть идентифицированы наиболее вероятные фрагменты в библиотеке (вероятные фрагменты). Количественные параметры связей также вычисляют, основываясь на входных данных, и сохраняют для каждого фрагмента. Различные типы моделей могут быть использованы в перечислении фрагментов, включающие в себя без ограничения линейную регрессию, логистическую регрессию, (дисперсионный анализ) моделей ANOVA, (корреляционный анализ) моделей ANCOVA, нелинейные/полиномиальные регрессионные модели и даже непараметрическую регрессию. Предыдущие предположения о параметрах моделей можно считать поправочными коэффициентами распределения Gull или байесовского информационного критерия (BIC), связанными с числом параметров, используемых в модели. В процессе логического вывода сети каждая сеть в ансамбле начальных пробных сетей конструируется из подмножества фрагментов в библиотеке фрагментов. Каждая начальная пробная сеть в ансамбле начальных пробных сетей конструируется с другим подмножеством фрагментов из библиотеки фрагментов (стадия 216).

Обзор математических представлений, лежащих в основе сетей Байеса и сетевых фрагментов, который основан на Xing et al., "Causal Modeling Using Network Ensemble Simulations of Genetic and Gene Expression Data Predicts Genes Involved in Rheumatoid Arthritis", PLoS Computational Biology, vol. 7, issue. 3, 1-19 (March 2011) (e100105), представлен ниже.

Многомерная система со случайными величинами  $(X_1, \dots, X_n)^{(Mod)}$  может характеризоваться многомерной функцией распределения вероятностей  $(X_1, \dots, X_n; \Theta)^{(Mod)}$ , что включает в себя большое количество параметров  $\Theta$ . Многомерная функция распределения вероятности может быть разложена и представлена в виде произведения локальных условных распределений вероятности:

$$P(X_1, \dots, X_n; \Theta) = \prod_{i=1}^n P_i(X_i | Y_{j_1}, \dots, Y_{j_{K_i}}; \Theta_i),$$

в которой каждая переменная  $X_i^{(Mo)}$  не зависит от не происходящих от нее переменных, учитывая ее  $K_i$  исходные переменные, которые представляют собой  $Y_{j_1}, \dots, Y_{j_{K_i}}^{(Mod)}$ .

После разложения на множители каждое локальное распределение вероятностей имеет свои параметры  $\Theta_i$ .

Многомерная функция распределения вероятности может быть разложена на множители по-разному с каждой конкретной факторизацией и соответствующими параметрами, представляющими собой отдельную вероятностную модель. Каждая фиксированная факторизация (модель) может быть представлена в виде направленного ациклического графа (DAG), характеризующегося вершиной для каждой переменной  $X_i^{(Mo)}$  и ориентированными ребрами между вершинами, представляющими зависимости между переменными в локальных условных распределениях

$$P_i(X_i | Y_{j_1}, \dots, Y_{j_{K_i}}).$$

Подграфы DAG, каждый из которых включает в себя вершину и связанные направленные ребра, представляет собой сетевые фрагменты.

Модель развивают или оптимизируют путем определения наиболее вероятного разложение и наиболее вероятных параметров приведенных входных данных. Это может быть описано как "обучение байесовской сети" или, другими словами, с учетом обучающего набора входных данных, обнаружение сети, которая наилучшим образом соответствует входным данным. Это достигается с помощью оценочной функции, которая оценивает каждую сеть по отношению к входным данным.

Байесовский каркас используется для определения вероятности факторизации данных входных данных. Закон байеса гласит, что апостериорная вероятность,  $P(D|M)$ , модели  $M$  приведенных данных  $D$  пропорциональна произведению апостериорной вероятности данных, приведенных в ограничениях модели,  $P(D|M)$ , умноженному на априорную вероятность модели,  $P(M)$ , допуская, что вероятность данных,  $P(D)$ , постоянна в моделях. Это выражается в следующей формуле:

$$P(M|D) = \frac{P(D|M) * P(M)}{P(D)}.$$

Апостериорная вероятность данных, допускающих, что модель представляет собой интеграл правдоподобия данных по сравнению с априорным распределением параметров:

$$P(D|M) = \int P(D|M(\Theta))P(\Theta|M)d\Theta$$

Допуская, что все модели одинаково вероятны (т.е. что  $P(M)$  представляет собой константу), апостериорная вероятность модели  $M$  приведенных данных  $D$  может быть разложена в произведение интегралов по параметрам для каждого локального сетевого фрагмента  $M_i$  следующим образом:

$$P(M|D) = \prod_{i=1}^n \int P_i(X_i | Y_{j_1}, \dots, Y_{j_{K_i}}; \Theta_i).$$

Следует отметить, что в приведенном выше уравнении ведущий свободный член был опущен. Согласно некоторым вариантам осуществления байесовский информационный критерий (BIC), который принимает отрицательный логарифм апостериорной вероятности модели  $P(D|M)$ , может быть использо-

ван для "оценки" каждой модели следующим образом:

$$S_{\text{tot}}(M) = -\log P(M|D) = \sum_{i=1}^n S(M_i),$$

где общее число  $S_{\text{tot}}$  для модели  $M$  представляет собой сумму локальных чисел  $S$ , для каждого локального фрагмента сети. BIC дополнительно дает выражение для определения числа каждого отдельного сетевого фрагмента:

$$S(M_i) \approx S_{\text{BIC}}(M_i) = S_{\text{MLE}}(M_i) + \frac{\kappa(M_i)}{2} \log N$$

где  $\kappa(M_i)$  представляет собой число подгоняемого параметра в модели  $M_i$  и  $N$  представляет собой число образцов (точек данных).  $S_{\text{MLE}}(M_i)$  представляет собой отрицательный логарифм функции правдоподобия для сетевого фрагмента, который может быть вычислен из функциональных связей, используемых для каждого сетевого фрагмента. Для числа BIC, чем ниже число, тем больше шансов, что модель соответствует входным данным.

Ансамбль пробных сетей в целом оптимизируют, что может быть описано как оптимизирование или развитие сетей (стадия 218). Например, пробные сети могут быть развиты и оптимизированы в соответствии с алгоритмом сэмпирования Метрополис способа Монте-Карло. Смоделированный отжиг может быть использован для оптимизации или развития каждой пробной сети в ансамбле через локальные преобразования. В качестве примера моделируются процессы отжига, каждая пробная сеть изменяется путем добавления фрагмента сети из библиотеки, удаления фрагмента сети из пробной сети, путем замены фрагмента сети или иных изменений топологии сети, а затем рассчитывается новая оценка для сети. В целом, если оценка улучшается, изменение сохраняется, и если оценка ухудшается - изменение отвергается. Параметр "температура" обеспечивает некоторые локальные изменения, которые ухудшают поддерживаемую оценку, которая помогает процессу оптимизации в предотвращении некоторых локальных минимумов. Параметр "температура" уменьшается с течением времени, чтобы обеспечить схождение процесса оптимизации/эволюции.

Весь или часть процесса вывода сети может быть проведен параллельно для пробных различных сетей. Каждая сеть может быть оптимизирована параллельно на отдельном процессоре и/или на отдельном вычислительном устройстве. Согласно некоторым вариантам осуществления процесс оптимизации может быть проведен на суперкомпьютере, включающем от сотен до тысяч процессоров, которые работают параллельно. Информация может быть поделена среди процессов оптимизации, проводимых на параллельных процессорах.

Процесс оптимизации может включать в себя сетевой фильтр, который пропускает любые сети из ансамбля, которые не удовлетворяют пороговому стандарту для общей оценки. Пропущенная сеть может быть заменена новой исходной сетью. Кроме того любые сети, которые не "без оценки" могут быть исключены из ансамбля. После того как ансамбль сетей был оптимизирован или развит, результат можно назвать ансамблем полученных сетей клеточных моделей, которые могут быть совместно именованы полученной консенсусной сетью.

D. Моделирование для извлечения количественной информации о связях и для прогнозирования.

Моделирование может быть использовано для извлечения информации о количественных параметрах относительно каждой связи в полученных сетях клеточных моделей (стадия 220). Например, моделирование для извлечения количественной информации может включать в себя 10-кратное возмущающее воздействие (увеличение или уменьшение) на каждый узел в сети и вычисление апостериорных распределений для других узлов (например, белков) в моделях. Конечные точки сравнивают с помощью t-теста с предположением о 100 образцах в группе и отсечением значимости 0,01. Статистика t-теста представляет собой медиану 100 t-тестов. Благодаря использованию этой техники моделирования AUC (площадь под кривой), представляющая силу предсказания и кратность изменения, представляющая изменение величины *in silico* узла, управляющего конечной точкой, получают для каждой связи в ансамбле сетей.

Количественный модуль связей локальной компьютерной системы может быть использован, чтобы направлять основанную на ИИ систему на выполнение возмущающего воздействия и извлечения информации AUC и кратной информации. Извлеченная количественная информация может включать в себя кратное изменение и AUC для каждого ребра, соединяющего исходный узел и дочерний узел. Согласно некоторым вариантам осуществления построенная на заказ программа R может быть использована для извлечения количественной информации.

Согласно некоторым вариантам осуществления ансамбль полученных сетей клеточных моделей может быть использован через моделирование для прогнозирования реакций на изменение условий, которые могут быть позже проверены через практические основанные на клетках или животных эксперименты.

Выходные данные из системы на основе ИИ могут представлять собой количественные параметры связей и/или других предсказания моделирования (222).

E. Получение дифференциальных (дельта) сетей.

Модуль создания дифференциальной сети может быть использован для получения дифференциальных (дельта) сетей между полученными сетями клеточных моделей и полученными сетями сравнитель-

ных клеточных моделей. Как описано выше, согласно некоторым вариантам осуществления дифференциальная сеть сравнивает все количественные параметры этих связей в полученных сетях клеточных моделей и полученных сравнительных сетях клеточных моделей. Количественные показатели для каждой связи в дифференциальной сети основываются на сравнении. Согласно некоторым вариантам осуществления дифференциал может быть выполнен между различными дифференциальными сетями, которые могут быть названы сетью дельта-дельта. Пример сети дельта-дельта описан ниже со ссылкой на фиг. 26 в разделе "Примеры". Модуль создания дифференциальной сети может представлять собой программу или скрипт, написанный на Perl.

#### F. Визуализация сетей.

Значения связей для ансамбля сетей и для дифференциальных сетей могут быть визуализированы с использованием программы сетевой визуализации (например, платформы с открытым кодом Cytoscape для комплексного анализа сети и визуализации от консорциума Cytoscape). В визуальных изображениях сетей толщина каждого ребра (например, каждой линии, соединяющей белки) представляет собой силу кратности изменения. Ребра также представляют собой направленное указание причинности, и каждое ребро характеризуется соответствующим уровнем доверия предсказания.

#### G. Иллюстративная компьютерная система.

На фиг. 17 схематически изображена иллюстративная компьютерная система/окружающая среда, которая может быть использована согласно некоторым вариантам осуществления для связи с основанной на ИИ информационной системой для получения дифференциальных сетей, для визуализации сетей, для сохранения и хранения данных и/или для взаимодействия с пользователем. Как объясняется выше, расчеты для основанной на ИИ информационной системы могут быть выполнены на отдельном суперкомпьютере с сотней или тысячей параллельных процессоров, который взаимодействуют прямо или косвенно с иллюстративной компьютерной системой. Окружение включает в себя вычислительное устройство 100 с соответствующими периферийными устройствами. Вычислительное устройство 100 программируется для реализации исполняемого кода 150 для выполнения различных способов или части способов, описанных в настоящем документе. Вычислительное устройство 100 включает в себя запоминающее устройство 116, например, жесткий диск, CD-ROM или другой не-временный машиночитаемый носитель. Устройство хранения 116 может хранить операционную систему 118 и другое связанное программное обеспечение. Вычислительное устройство 100 может дополнительно включать в себя память 106. Память 106 может содержать компьютерную системную память или оперативное запоминающее устройство, такое как DRAM, SRAM, EDO RAM и т.п. Память 106 может содержать другие типы памяти или их комбинации. Вычислительное устройство 100 может хранить в запоминающем устройстве 116 и/или памяти 106 инструкции для реализации и процессинга каждой части исполняемого кода 150.

Исполняемый код 150 может включать в себя код для связи с основанной на ИИ информационной системой 190 для получения дифференциальных сетей (например, модуль создания дифференциальных сетей) для извлечения количественной информации связей из основанной на ИИ информационной системы (например, о количественном модуле связей) и для визуализации сетей (например, Cytoscape).

Согласно некоторым вариантам осуществления настоящего изобретения вычислительное устройство 100 может взаимодействовать непосредственно или опосредованно с основанной на ИИ информационной системой 190 (например, системой для выполнения REFS). Например, вычислительное устройство 100 может взаимодействовать с основанной на ИИ информационной системой 190 путем передачи файлов данных (например, массивов данных) в основанную на ИИ информационную систему 190 через сеть. Кроме того, вычислительное устройство 100 может содержать исполняемый код 150, что обеспечивает интерфейс и инструкции к основанной на ИИ информационной системе 190.

Согласно некоторым вариантам осуществления настоящего изобретения вычислительное устройство 100 может взаимодействовать непосредственно или опосредованно с одной или несколькими экспериментальными системами 180, которые обеспечивают данные для множества входных данных. Экспериментальные системы 180 для получения данных могут включать в себя системы для основанной на масс-спектрометрии протеомики, микрочипов геной экспрессии, кПЦР геной экспрессии, основанной на масс-спектрометрии метаболомики и основанной на масс-спектрометрии липидомики, микрочипов SNP, панели функциональных анализов и других *in vitro* платформ и технологий биологии.

Вычислительное устройство 100 также включает в себя процессор 102 и может включать в себя один или несколько дополнительных процессоров 102' для выполнения программного обеспечения, сохраненного в памяти 106, и других программ для управления комплектующими системы, периферийными устройствами и/или периферийными комплектующими. Процессор 102 и процессор(ы) 102' каждый может представлять собой одноядерный процессор или многоядерный (104 и 104') процессор. Виртуализация может быть использована в вычислительном устройстве 100 так, что инфраструктура и ресурсы в вычислительном устройстве могут быть разделены динамически. Виртуализированные процессоры могут также быть использованы с исполняемым кодом 150 и другим программным обеспечением в запоминающем устройстве 116. Виртуальная машина 114 может быть предусмотрена для управления процессом, запущенным на нескольких процессорах, так что процесс, как кажется, использует только один вычислительный ресурс, а не несколько. Несколько виртуальных машин также могут быть использованы с

одним процессором.

Пользователь может взаимодействовать с вычислительным устройством 100 через такое устройство визуального отображения 122, как компьютерный монитор, который может отображать пользовательский интерфейс 124 или любой другой интерфейс. Пользовательский интерфейс 124 устройства отображения 122 может быть использован для отображения необработанных данных, визуального представления сетей и т.д. Устройство визуального отображения 122 может также отображать другие аспекты или элементы иллюстративных вариантов осуществления (например, символ запоминающего устройства 116). Вычислительное устройство 100 может включать в себя другие устройства ввода/вывода, такие как клавиатуру или многоточечный сенсорный интерфейс (например, сенсорный экран) 108 и указывающее устройство 110 (например, мышь, трекбол и/или трекпад) для приема информации от пользователя. Клавиатура 108 и указывающее устройство 110 могут быть подключены к устройству визуального отображения 122 и/или к вычислительному устройству 100 с помощью проводной и/или беспроводной связи.

Вычислительное устройство 100 может включать в себя сетевой интерфейс 112 для взаимодействия с сетевым устройством 126 через локальную сеть (LAN), глобальную сеть (WAN) или через Интернет с помощью различных соединений, включающих в себя без ограничения стандартные телефонные линии, ссылки LAN или WAN (например, 802.11, T1, T3, 56Kb, X.25), широкополосные соединения (например, ISDN, высокоскоростную технологию, основанную на коммутации пакетов, ATM), беспроводные соединения, сети контроллеров (CAN) или некоторую комбинацию или все из вышеперечисленных. Сетевой интерфейс 112 может содержать встроенный сетевой адаптер, сетевую карту, сетевую карту PCMCIA, адаптер сети с шинной организацией, адаптер беспроводной сети, адаптер сети USB, модем или любое другое устройство, подходящее для включения вычислительного устройства 100, чтобы взаимодействовать с любым описанным в настоящем документе типом сети, способным к связи и выполнению операций.

Кроме того, вычислительное устройство 100 может представлять собой любую компьютерную систему, например, рабочую станцию, настольный компьютер, сервер, ноутбук, КПК или другую форму вычислительного или телекоммуникационного устройства, которая способна к передаче информации и которая характеризуется достаточной мощностью процессора и объемом памяти для выполнения описанных в настоящем документе операций.

Вычислительное устройство 100 может управляться любой операционной системой 118, такой как любая из версий операционных систем Microsoft Windows, различные выпуски операционных систем Unix и Linux, любая версия MacOS для компьютеров Macintosh, любая встроенная операционная система, любая операционная система реального времени, любая открытая операционная система, любая собственная операционная система, любые операционные системы для мобильных вычислительных устройств или любая другая операционная система, способная работать на вычислительном устройстве и выполнять описанные в настоящем документе операции. Операционная система может быть установлена в основном режиме или эмулируемом режиме.

#### **IV. Модели биологической системы и их использование**

##### **A. Создание модели биологической системы.**

Практически все биологические системы или процессы включают в себя сложные взаимодействия между различными типами клеток и/или системами органов. Возмущающее воздействие критических функций в одном типе клеток или органе может привести к вторичным эффектам у других взаимодействующих типов клеток и органов и такие последующие изменения могут, в свою очередь, передавать по обратной связи начальные изменения и вызывать дальнейшие осложнения. Поэтому, выгодно рассекать данную биологическую систему или процесс на ее компоненты, такие как взаимодействие между парами клеточных типов или органов и системно исследовать взаимодействия между этими компонентами, чтобы получить более полное, общее представление о биологической системе или процессе.

Таким образом, настоящее изобретение включает клеточные модели для биологических систем. Для этого, заявители построили клеточные модели для нескольких иллюстративных биологических систем, которые были использованы в предмете открытия платформенной технологии. Заявители провели эксперименты с клеточными моделями с использованием предмета открытия платформенной технологии для создания консенсусных сетей причинно-следственных связей, включающих в себя причинно-следственные связи, уникальные в биологической системе, и тем самым идентифицируя "модуляторы" или критические молекулярные "драйверы", важные для конкретных биологических систем и процессов.

Одним значительным преимуществом платформенной технологии и ее компонентов, например, построенных по заказу клеточных моделей и наборов данных, полученных от клеточных моделей, заключается в том, что первоначальная, консенсусная сеть причинно-следственных связей "первого поколения", созданная для биологической системы или процесса, может постоянно развиваться или расширяться со временем, например, путем введения дополнительных клеточных линий/типов и/или дополнительных условий. Могут быть собраны дополнительные данные от усовершенствованной клеточной модели, т.е. данные вновь добавленной части(ей) клеточной модели. Новые данные, собранные от расширенной или усовершенствованной модели клеток, т.е. от вновь добавленной части(ей) клеточной модели, могут быть затем введены в наборы данных, ранее используемые для создания консенсусной сети причинно-

следственных связей "первого поколения" для того, чтобы получить более устойчивую консенсусную сеть причинно-следственных связей "второго поколения". Новые причинно-следственные связи, уникальные для биологической системы, могут быть затем идентифицированы из консенсусной сети причинно-следственных связей "второго поколения". Таким образом, эволюция клеточной модели включает эволюцию консенсусных сетей причинно-следственных связей, тем самым обеспечивая новое и/или более надежное понимание модуляторов биологической системы. Таким образом, обе клеточные модели, наборы данных от клеточных моделей и сети причинно-следственных связей, полученные из клеточных моделей с использованием способов платформенной технологии, могут постоянно развиваться и строиться на предыдущем знании, полученном от платформенной технологии.

Таким образом, настоящее изобретение включает консенсусные сети причинно-следственных связей, полученные от клеточных моделей, используемых в платформенной технологии. Эти консенсусные сети причинно-следственных связей могут представлять собой консенсусные сети причинно-следственных связей первого поколения или могут представлять собой консенсусные сети причинно-следственных связей множественного поколения, например, консенсусные сети причинно-следственных связей 2-го, 3-го, 4-го, 5-го, 6-го, 7-го, 8-го, 9-го, 10-го, 11-го, 12-го, 13-го, 14-го, 15-го, 16-го, 17-го, 18-го, 19-го, 20-го или большего поколения. Кроме того, настоящее изобретение включает смоделированные консенсусные сети причинно-следственных связей, полученные из клеточных моделей, используемых в платформенной технологии. Эти смоделированные консенсусные сети причинно-следственных связей могут представлять собой смоделированные консенсусные сети причинно-следственных связей первого поколения или могут представлять собой смоделированные консенсусные сети причинно-следственных связей множественного поколения, например, смоделированные консенсусные сети причинно-следственных связей 2-го, 3-го, 4-го, 5-го, 6-го, 7-го, 8-го, 9-го, 10-го, 11-го, 12-го, 13-го, 14-го, 15-го, 16-го, 17-го, 18-го, 19-го, 20-го или большего поколения. Кроме того, настоящее изобретение включает дельта сети и дельта-дельта сети, полученные от любой из консенсусных сетей причинно-следственных связей настоящего изобретения.

Построенная по заказу клеточная модель биологической системы или процесса содержит одну или несколько клеток, связанных с биологической системой. Модель биологической системы/процесса может быть создана для моделирования окружающей среды биологической системы, например, окружающей среды клетки злокачественной опухоли *in vivo* путем создания условий (например, условий культивирования клеток), которые имитируют характерный аспект биологической системы или процесса.

Множественные клетки одного и того же или различного происхождения, в отличие от клеток одного типа, могут быть включены в клеточную модель. Согласно одному варианту осуществления по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 25, 30, 35, 40, 50 или более различных клеточных линий или типов клеток включены в клеточную модель. Согласно одному варианту осуществления клетки представляют собой все одного типа, например, все клетки злокачественной опухоли молочной железы или растительные клетки, но различаются установленными клеточными линиями, например, различные установленные клеточные линии клеток злокачественной опухоли молочной железы или клеток растений. Все показатели, представленные в предыдущем перечне, также могут представлять собой верхний или нижний предел диапазонов, которые предназначены, чтобы быть частью настоящего изобретения, например, от 1 до 5, от 1 до 10, от 2 до 5, или от 5 до 15 различных клеточных линий или типов клеток.

Примеры типов клеток, которые могут быть включены в клеточные модели согласно настоящему изобретению, включают в себя без ограничения клетки человека, клетки животных, клетки млекопитающих, клетки растений, дрожжей, бактерий или грибов. Согласно одному варианту осуществления клетки клеточной модели могут включать в себя патологические клетки, такие как клетки злокачественной опухоли, или бактериально или инфицированные вирусом клетки. Согласно одному варианту осуществления клетки клеточной модели могут включать в себя связанные с заболеваниями клетки, такие как клетки, вовлеченные в патологические состояния сахарного диабета, ожирения и сердечно-сосудистого заболевания, например, гладкомышечные клетки аорты или гепатоциты. Специалист в настоящей области техники узнает клетки, которые участвуют или связаны с определенным биологическим состоянием/процессом, например, патологическим состоянием/процессом, и любые такие клетки могут быть включены в клеточную модель согласно настоящему изобретению.

Клеточные модели согласно настоящему изобретению могут включать в себя одну или несколько "контрольных клеток". Согласно одному варианту осуществления контрольная клетка может представлять собой необработанную клетку либо клетку без возмущающего воздействия. Согласно другому варианту осуществления "контрольная клетка" может представлять собой нормальную, например, не патологическую клетку. Согласно одному варианту осуществления по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50 или более различных контрольных клеток включены в клеточную модель. Все показатели, представленные в предыдущем перечне, также могут представлять собой верхний или нижний предел диапазонов, которые предназначены, чтобы быть частью настоящего изобретения, например, от 1 до 5, от 1 до 10, от 2 до 5, или от 5 до 15 различных контрольных клеточных линий или контрольных типов клеток. Согласно одному варианту осуществления кон-

трольные клетки представляют собой все одного типа, но различных установленных клеточных линий этого типа клеток. Согласно одному варианту осуществления в качестве контроля одну или несколько нормальных, например, не патологических, клеточных линии культивируют в аналогичных условиях и/или подвергают тому же возмущающему воздействию, что и первичные клетки клеточной модели с целью идентификации белков или путей, уникальных для биологического состояния или процесса.

Пользовательская клеточная модель согласно настоящему изобретению может также содержать условия, которые имитируют характерный аспект биологического состояния или процесса. Например, условия для культивирования клеток могут быть выбраны такие, чтобы близко соответствовать условиям клетки злокачественной опухоли в среде опухоли *in vivo* или гладкомышечных клеток аорты пациента, страдающего от сердечно-сосудистого заболевания. В некоторых случаях, условия представляют собой стрессовые условия. Различные условия/стрессовые факторы могут быть использованы в клеточных моделях согласно настоящему изобретению. Согласно одному варианту осуществления эти стрессовые факторы/условия могут составлять "возмущающее воздействие", например, внешний раздражитель, для клеточных систем. Одно иллюстративное стрессовое условие представляет собой гипоксию, условие, которое обычно можно найти, например, в солидных опухолях. Гипоксия может быть индуцирована с использованием известных в настоящей области техники способов. Например, гипоксия может быть индуцирована путем помещения клеточных систем в камеру модульного инкубатора (MIC-101, Billups-Rothenberg Inc. Del Mar, CA), которая может быть заполнена промышленной газовой смесью, содержащей 5% CO<sub>2</sub>, 2% O<sub>2</sub> и 93% азота. Эффекты могут быть измерены после заранее определенного периода, например, через 24 ч после лечения гипоксии с и без дополнительных компонентов внешнего раздражителя (например, CoQ10 при 0, 50 или 100 мкМ). Точно так же, воздействие молочной кислоты клеток имитирует клеточную окружающую среду, в которой активность гликолиза высока. Индуцированный молочной кислотой стресс можно исследовать в конечной концентрации молочной кислоты, равной приблизительно 12,5 мМ, в заранее определенное время, например, через 24 ч с и без дополнительных компонентов внешнего раздражителя (например, CoQ10 при 0, 50 или 100 мкМ). Гипергликемия представляет собой условие, обнаруженное при диабете, а также при злокачественной опухоли. Типичное условие гипергликемии, которое можно использовать для воздействия на исследуемые клетки, включает в себя 10% по отношению к культуре глюкозу, добавленную в подходящие среды, так что конечная концентрация глюкозы в средах составляет около 22 мМ. Гиперлипидемия представляет собой условие, найденное, например, при ожирении и сердечно-сосудистом заболевании. Гиперлипидемические условия могут быть обеспечены при культивировании клеток в средах, содержащих 0,15 мМ пальмитат натрия. Гиперинсулинемия представляет собой условие, найденное, например, при диабетах. Гиперинсулинемические условия могут быть индуцированы путем культивирования клеток в средах, содержащих 1000 нМ инсулина.

Отдельные условия могут быть исследованы отдельно в построенных по заказу моделях согласно настоящему изобретению и/или могут быть объединены вместе. Согласно одному варианту осуществления комбинация по меньшей мере 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 25, 30, 40, 50 или более условий, отражающих или моделирующих различные характерные аспекты биологической системы исследуются в построенной по заказу клеточной модели. Согласно одному варианту осуществления отдельные условия и, кроме того, комбинации по меньшей мере 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 25, 30, 40, 50 или более условий, отражающих или моделирующих различные характерные аспекты биологической системы исследуются в построенной по заказу клеточной модели. Все значения, представленные в вышеизложенном перечне, также могут представлять собой верхний или нижний предел диапазонов, которые предназначены для того, чтобы быть частью этого изобретения, например, от 1 до 5, от 1 до 10, от 1 до 20, от 1 до 30, от 2 до 5, от 2 до 10, от 5 до 10, от 1 до 20, от 5 до 20, от 10 до 20, от 10 до 25, от 10 до 30 или от 10 до 50 разных условий.

После того как пользовательская клеточная модель построена, одно или несколько "возмущающих воздействий" могут быть применены к системе, такие как генетическая изменчивость от пациента к пациенту или наличие/отсутствие лечения некоторыми лекарственными средствами или пролекарствами. См. фиг. 15 D. Эффекты таких возмущающих воздействий в модели клеточной системы могут быть измерены с использованием различных известных в настоящей области техники или запатентованных средств, как описано в разделе III.B ниже.

Построенная по заказу клеточная модель может подвергаться возмущающему воздействию, например, "возмущающему воздействию окружающей среды" или "компоненту внешнего раздражителя". "Возмущающее воздействие окружающей среды" или "компонент внешнего раздражителя" могут быть эндогенными по отношению к окружающей клетку среде (например, окружающая клетку среда содержит несколько уровней стимулятора, и больше такого же добавляется для увеличения его содержания) или могут быть экзогенными по отношению к окружающей клетку среде (например, стимулятор/возмущающее воздействие в значительной степени отсутствует в окружающей клетку среде до изменения). Окружающая клетку среда может быть дополнительно изменена с помощью вторичных изменений, представляющих собой результат добавления возмущающего воздействия окружающей среды или компонента внешнего раздражителя, так как компонент внешнего раздражителя может изменить клеточные выходные данные клеточной системы, в том числе молекулы, секретируемые в клеточную окру-

жающую среду клеточной системой. Возмущающее воздействие окружающей среды или компонент внешнего раздражителя может включать в себя любой внешний физический и/или химический раздражитель, который может повлиять на клеточную функцию. Он может включать в себя любые большие или маленькие органические или неорганические молекулы, природные или синтетические химические вещества, температурные сдвиги, изменение pH, радиацию, свет (UVA, UVB и т.д.), микроволны, звуковые волны, электрический ток, модулированные или немодулированные магнитные поля и т.д. Возмущающее воздействие окружающей среды или компонент внешнего раздражителя может также включать в себя введенную генетическую модификацию или мутацию, или носитель (например, вектор), который вызывает генетическую модификацию/мутацию.

(i) Взаимовлияющие клеточные системы.

В некоторых ситуациях, когда требуется исследовать взаимодействие между двумя или более клеточными системами, может быть сформирована "взаимовлияющая клеточная система", например, приводящая модифицированную клеточную окружающую среду первой клеточной системы в контакт со второй клеточной системой для влияния на клеточные выходные данные второй клеточной системы.

Используемая в настоящем документе "взаимовлияющая клеточная система" содержит две или более клеточных систем, в которых клеточная окружающая среда по меньшей мере одной клеточной системы вступает в контакт со второй клеточной системой, так что по меньшей мере одни клеточные выходные данные во второй клеточной системе изменяются или подвергаются влиянию. Согласно некоторым вариантам осуществления клеточные системы в пределах взаимовлияющей клеточной системы могут находиться в непосредственном контакте друг с другом. Согласно другим вариантам осуществления ни одна из клеточных систем не находится в непосредственном контакте друг с другом.

Например, согласно некоторым вариантам осуществления взаимовлияющая клеточная система может быть в виде трансвелл, в которой первая клеточная система растет во вставке, а вторая клеточная система растет в соответствующем компартменте лунки. Эти две клеточные системы могут контактировать с теми же или разными средами, и могут обмениваться всеми или некоторыми из компонентов сред. Компонент внешнего раздражителя, добавленный в одну клеточную систему, может быть значительно абсорбирован одной клеточной системой и/или деградирован прежде, чем он может диффундировать в другую клеточную систему. Кроме того, компонент внешнего раздражителя в конечном итоге может приблизиться или достичь равновесия в двух клеточных системах.

Согласно некоторым вариантам осуществления взаимовлияющая клеточная система может принимать форму отдельно культивируемых клеточных систем, где у каждой клеточной системы может быть своя собственная среда и/или условия культивирования (температура, содержание CO<sub>2</sub>, pH и т.д.) или аналогичные или идентичные условия культивирования. Эти две клеточные системы могут контактировать, например, путем получения кондиционированной среды от одной клеточной системы и приведения ее в контакт с другой клеточной системой. Также могут быть осуществлены при желании прямые контакты клетка-клетка между двумя клеточными системами. Например, клетки из двух клеточных систем могут совместно культивироваться в любой момент, если необходимо, и совместно культивируемые клеточные системы в дальнейшем могут быть разделены, например, путем FACS-сортировки, когда клетки по меньшей мере в одной клеточной системе содержат маркер или метку для сортировки (например, стабильно экспрессируемый флуоресцентный маркер-белок GFP).

Аналогичным образом, согласно некоторым вариантам осуществления взаимовлияющая клеточная система может просто представлять собой сокультуру. Селективная обработка клеток в одной клеточной системе может быть подвергнута воздействию первоначальной обработки клеток в этой клеточной системе перед культивированием обработанных клеток в сокультуре клеток в другой клеточной системе. Установка сокультуры взаимовлияющей клеточной системы может быть полезна, когда желательно изучить, например, эффекты на вторую клеточную систему, вызванные изменениями клеточной поверхности в первой клеточной системе после стимуляции первой клеточной системы с помощью компонента внешнего раздражителя.

Взаимовлияющая клеточная система согласно настоящему изобретению представляет собой особенно подходящую для исследования эффекта заранее определенного компонента внешнего раздражителя на клеточные выходные данные одной или обеих клеточных систем. Первичный эффект такого раздражителя на первую клеточную систему (с которой раздражитель непосредственно контактирует) может быть определен путем сравнения клеточных выходных данных (например, уровня экспрессии белка) до и после контакта первой клеточной системы с внешним раздражителем, который, как используется в настоящем описании, может быть отнесен к "(значимым) клеточным выходным дифференциалам". Вторичный эффект такого раздражителя на вторую клеточную систему, которая опосредуется через модифицированную клеточную окружающую среду первой клеточной системы (например, ее секретом), также может быть аналогичным образом измерен. Там сравнение, например, протеомом второй клеточной системы может быть сделано между протеомом второй клеточной системы с воздействием внешнего раздражителя на первую клеточную систему, и протеомом второй клеточной системы без воздействия внешнего раздражителя на первую клеточную систему. Любые значительные изменения, наблюдаемые (в протеоме или любых других представляющих интерес клеточных выходных данных), могут упоми-

наться как "значимый клеточный выходной дифференциал".

В процессе измерений клеточных выходных данных (например, экспрессии белка) могут быть использованы либо абсолютное количество экспрессии, либо относительный уровень экспрессии. Например, чтобы определить относительный уровень экспрессии белка второй клеточной системы, количество любого данного белка во второй клеточной системе с или без внешнего раздражителя к первой клеточной системе может быть сравнено с подходящей контрольной клеточной линией и смесью клеточных линий и данным значением кратного увеличения или кратного снижения. Заранее определенный пороговый уровень для такого кратного увеличения (например, по меньшей мере 1,2, 1,3, 1,4, 1,5, 1,6, 1,7, 1,8, 1,9, 2, 2,5, 3, 3,5, 4, 4,5, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 75 или 100 или более кратное увеличение) или кратного снижения (например, по меньшей мере снижение до 0,95, 0,9, 0,8, 0,75, 0,7, 0,6, 0,5, 0,45, 0,4, 0,35, 0,3, 0,25, 0,2, 0,15, 0,1 или 0,05 раза или на 90, 80, 75, 70, 65, 60, 55, 50, 45, 40, 35, 30, 25, 20, 15, 10 или 5% или менее) может быть использован для выбора значимых клеточных взаимовлияющих дифференциалов. Все значения, представленные в вышеизложенном перечне, также могут представлять собой верхний или нижний предел диапазонов, например, от 1,5 до 5 раз, от 2 до 10 раз, от 1 до 2 раз или от 0,9 до 0,7 раз, которые предназначены, чтобы быть частью настоящего изобретения.

В настоящем изобретении все значения, представленные в перечне, например, таком, как выше, также могут представлять собой верхний или нижний предел диапазона, который предназначен, чтобы быть частью настоящего изобретения.

Для иллюстрации, в одной иллюстративной двухклеточной системе, установленной для того, чтобы имитировать аспекты модели сердечно-сосудистого заболевания, на линию гладкомышечных клеток сердца (первая клеточная система) можно воздействовать условием гипоксии (компонентом внешнего раздражителя), и изменения протеома в клеточной линии почки (вторая клеточная система) в результате контактирования почечных клеток с кондиционированной средой гладкомышечных клеток сердца могут быть измерены с использованием обычной количественной масс-спектрометрии. Значимые клеточные взаимовлияющие дифференциалы в этих клетках почек могут быть определены основываясь на сравнении с надлежащим контролем (например, сходным образом культивированными клетками почки, контактировавшими с кондиционированной средой от сходным образом культивированных гладкомышечных клеток сердца, не подвергнутых воздействию условиями гипоксии).

Не каждые наблюдаемые значимые клеточные взаимовлияющие дифференциалы могут характеризоваться биологическим значением. В отношении любой данной биологической системы, для которой применяется рассматриваемая перекрестная биологическая оценка, некоторые (или, могут быть все) из значимых клеточных взаимовлияющих дифференциалов могут быть "определяющими" по отношению к изучаемой специфической биологической проблеме, например, либо отвечать за причинение патологического состояния (потенциальная мишень для терапевтического вмешательства), либо представлять собой биомаркеры патологического состояния (потенциальный диагностический или прогностический фактор).

Такие определяющие взаимовлияющие дифференциалы могут быть выбраны конечным пользователем рассматриваемого способа или они могут быть выбраны с помощью программного обеспечения биоинформатики, такого как совместимая с DAVID программа анализа сравнительного пути или программа анализа пути KEGG. Согласно некоторым вариантам осуществления используется более одного программного обеспечения биоинформатики и предпочтительны консенсусные результаты от двух или более программных обеспечений биоинформатики.

Используемые в настоящем документе "дифференциалы" клеточных выходных данных включают в себя различия (например, повышенные или сниженные уровни) любого одного или нескольких параметров клеточных выходных данных. Например, с точки зрения уровня экспрессии белка, дифференциалы между двумя клеточными выходными данными, такими как выходные данные, связанные с клеточной системой до и после воздействия компонентом внешнего раздражителя, могут быть измерены и количественно определены с использованием известных в настоящей области техники технологий, таких как основанные на масс-спектрометрии анализы (например, iTRAQ, 2D-ЖХ-МСМС и т.д.).

#### (ii) Специфичные к злокачественной опухоли модели.

Пример биологической системы или процесса представляет собой злокачественную опухоль. Как и любой другой сложный биологический процесс или система, злокачественная опухоль представляет собой сложное патологическое состояние, характеризующееся множественными уникальными аспектами. Например, благодаря своей высокой скорости роста, многие клетки злокачественной опухоли адаптированы к росту в условиях гипоксии, характеризуются повышающей регуляцией гликолиза и метаболическими путями сниженного окислительного фосфорилирования. В результате, клетки злокачественной опухоли могут по-разному реагировать на возмущающее воздействие окружающей среды, такое как лечение с помощью потенциального лекарственного средства, по сравнению с реакцией нормальных клеток в ответ на такое же лечение. Таким образом, было бы интересно расшифровать уникальные реакции злокачественной опухоли на лекарственную терапию в сравнении с реакциями нормальных клеток. Для этого, может быть создана пользовательская модель злокачественной опухоли, чтобы моделировать окружающую среду клетки злокачественной опухоли, например, в опухоли *in vivo* путем выбора соответствующих клеточных линий злокачественной опухоли и создания условий культивирования клеток, ко-

которые имитируют характерный аспект состояние или процесс заболевания. Например, условия культивирования клеток могут быть выбраны такие, которые близко соответствуют условиям клетки злокачественной опухоли *in vivo*, или для имитации различных аспектов роста злокачественной опухоли путем выделения различных условий роста клеток злокачественной опухоли.

Множественные клетки злокачественной опухоли одного и того же или разного происхождения (например, линии злокачественной опухоли PaCa2, HepG2, PC3 и MCF7), в отличие от одного типа клеток злокачественной опухоли, могут быть включены в модель злокачественной опухоли. Согласно одному варианту осуществления по меньшей мере 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50 или более различных клеточных линий злокачественной опухоли или клеточных типов злокачественной опухоли включают в модель злокачественной опухоли. Все значения, представленные в вышеизложенном перечне, также могут представлять собой верхний или нижний предел диапазонов, которые предназначены для того, чтобы быть частью этого изобретения, например, от 1 до 5, от 1 до 10, от 2 до 5 или от 5 до 15 различных клеточных линий или клеточных типов злокачественной опухоли.

Согласно одному варианту осуществления клетки злокачественной опухоли представляют собой все одного и того же типа, например, все клетки злокачественной опухоли молочной железы, но представляют собой различные установленные клеточные линии, например, различные установленные клеточные линии злокачественной опухоли молочной железы.

Примеры клеточных типов злокачественной опухоли, которые могут быть включены в модель злокачественной опухоли, включают в себя без ограничения, злокачественную опухоль легких, злокачественную опухоль молочной железы, злокачественную опухоль предстательной железы, меланому, плоскоклеточную карциному, злокачественную опухоль толстой и прямой кишок, злокачественную опухоль поджелудочной железы, злокачественную опухоль щитовидной железы, злокачественную опухоль эндометрия, злокачественную опухоль мочевого пузыря, злокачественную опухоль почки, солидную опухоль, лейкоз, неходжкинскую лимфому. Согласно одному варианту осуществления клетка злокачественной опухоли с лекарственной устойчивостью может быть включена в модель злокачественной опухоли. Конкретные примеры клеточных линий, которые могут быть включены в модель злокачественной опухоли, включают в себя без ограничения клетки PaCa2, HepG2, PC3 и MCF7. Многочисленные клеточные линии злокачественной опухоли известны в настоящей области техники, и любая такая клеточная линия злокачественной опухоли может быть включена в модели злокачественной опухоли согласно настоящему изобретению.

Клеточные модели согласно настоящему изобретению могут включать в себя одну или несколько "контрольных клеток". Согласно одному варианту осуществления контрольная клетка может представлять собой необработанную клетку либо клетку без возмущающего воздействия. Согласно другому варианту осуществления "контрольная клетка" может представлять собой нормальную, не злокачественную опухолевую клетку. Любая из многочисленных нормальных, незлокачественных опухолевых клеточных линий может быть включена в клеточную модель. Согласно одному варианту осуществления нормальные клетки представляют собой одну или несколько из клеток THLE2 и HDFA. Согласно одному варианту осуществления по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50 или более различных нормальных клеточных типов включены в клеточную модель. Все показатели, представленные в предыдущем перечне, также могут представлять собой верхний или нижний предел диапазонов, которые предназначены, чтобы быть частью настоящего изобретения, например, от 1 до 5, от 1 до 10, от 2 до 5, или от 5 до 15 различных нормальных клеточных линий или клеточных типов. Согласно одному варианту осуществления нормальные клетки представляют собой все одного типа, например, все здоровые клетки эпителия или молочной железы, но различаются установленными клеточными линиями, например, различные установленные клеточные линии эпителиальных клеток или клеток молочной железы. Согласно одному варианту осуществления в качестве контроля одну или несколько нормальных клеточных линий не злокачественной опухоли (например, THLE2 и HDFA) культивируют в аналогичных условиях и/или подвергают тому же возмущающему воздействию, что и клетки злокачественной опухоли в клеточной модели с целью идентификации белков или путей, уникальных для злокачественной опухоли.

Пользовательская модель злокачественной опухоли может также содержать условия культивирования клеток, которые имитируют характерный аспект состояния или процесса злокачественной опухоли. Например, условия для культивирования клеток могут быть выбраны так, чтобы близко соответствовать условиям клетки злокачественной опухоли в окружающей среде опухоли *in vivo* или, чтобы имитировать различные аспекты роста злокачественной опухоли путем выделения различных условий роста клеток злокачественной опухоли. В некоторых случаях условия культивирования клеток представляют собой стрессовые условия.

Такая "окружающая среда" злокачественной опухоли или стрессовое условие представляет собой гипоксию, состояние, как правило, обнаруживаемое в солидной опухоли. Гипоксия может быть индуцирована в клетках с использованием известных в настоящей области техники способов. Например, гипоксия может быть индуцирована путем помещения клеточных систем в камеру модульного инкубатора (MIC-101, Billups-Rothenberg Inc. Del Mar, CA), которая может быть заполнена промышленной газовой

смесью, содержащей 5% CO<sub>2</sub>, 2% O<sub>2</sub> и 93% азота. Эффекты могут быть измерены после заранее определенного периода, например, через 24 ч после лечения гипоксии с и без дополнительных компонентов внешнего раздражителя (например, CoQ10 при 0, 50 или 100 мкМ).

Точно так же, воздействие молочной кислоты клеток имитирует клеточную окружающую среду, в которой активность гликолиза так же высока, как она существует в окружающей опухоль среде *in vivo*. Индуцированный молочной кислотой стресс можно исследовать в конечной концентрации молочной кислоты, равной приблизительно 12,5 мМ, в заранее определенное время, например, через 24 ч с и без дополнительных компонентов внешнего раздражителя (например, CoQ10 при 0, 50 или 100 мкМ).

Гипергликемия представляет собой нормальное условие, найденное при диабете; однако, гипергликемия также в некоторой степени имитирует один аспект роста злокачественной опухоли, потому что многие клетки злокачественной опухоли зависят от глюкозы как от их основного источника энергии. Воздействие на исследуемые клетки типичным условием гипергликемии может включать добавление 10% по отношению к культуре глюкозы в подходящие среды, так что конечная концентрация глюкозы в средах составляет около 22 мМ.

Отдельные условия, отражающие различные аспекты роста злокачественной опухоли, могут быть исследованы отдельно в построенной по заказу модели злокачественной опухоли и/или могут быть объединены вместе. Согласно одному варианту осуществления комбинации по меньшей мере 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 25, 30, 40, 50 или более условий, отражающих или имитирующих различные аспекты роста/условия злокачественной опухоли, исследуются в построенной по заказу модели злокачественной опухоли. Согласно одному варианту осуществления отдельные условия и, кроме того, комбинации по меньшей мере 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 25, 30, 40, 50 или более условий, отражающих или имитирующих различные аспекты роста/условия злокачественной опухоли, исследуются в построенной по заказу модели злокачественной опухоли. Все показатели, представленные в предыдущем перечне, также могут представлять собой верхний или нижний предел диапазонов, которые предназначены, чтобы быть частью настоящего изобретения, например, от 1 до 5, от 1 до 10, от 1 до 20, от 1 до 30, от 2 до 5, от 2 до 10, от 5 до 10, от 1 до 20, от 5 до 20, от 10 до 20, от 10 до 25, от 10 до 30 или от 10 до 50 разных условий.

После того как пользовательская клеточная модель построена, к системе могут быть применены одно или несколько "возмущающих воздействий", такие как генетическая изменчивость от пациента к пациенту или наличие/отсутствие лечения некоторыми лекарственными средствами или пролекарствами. См. фиг. 15D. Эффекты таких возмущающих воздействий на систему, включающие в себя эффект на связанные с заболеванием клетки злокачественной опухоли и связанные с заболеванием нормальные контрольные клетки, могут быть измерены с использованием различных известных в настоящей области техники или запатентованных средств, как описано в разделе III.B ниже.

В иллюстративном эксперименте линии злокачественных опухолей PaCa2, HepG2, PC3 и MCF7 и нормальные клеточные линии THLE2 и HDFA выдерживали при каждом из условий гипергликемии, гипоксии и обогащенности молочной кислотой, а также во всех комбинациях двух или трех условий и в дополнение с или без возмущающего воздействия окружающей среды, в частности, воздействия коэнзимом Q10. Перечисленные в настоящем документе ниже представляют собой такие условия иллюстративных сочетаний, с или без возмущающего воздействия, воздействия коэнзимом Q10, которые могут быть использованы для обработки клеток злокачественной опухоли и/или контрольных (например, нормальных) клеток клеточной модели злокачественной опухоли. Другие комбинации могут быть легко составлены в зависимости от проводимой конкретной перекрестной биологической оценки.

1. Только среды.
2. 50 мкМ CTL коэнзим Q10 (CoQ10).
3. 100 мкМ CTL коэнзим Q10.
4. 12,5 мМ молочная кислота.
5. 12,5 мМ молочная кислота + 50 мкМ CTL коэнзим Q10.
6. 12,5 мМ молочная кислота + 100 мкМ CTL коэнзим Q10.
7. Гипоксия.
8. Гипоксия + 50 мкМ CTL коэнзим Q10.
9. Гипоксия + 100 мкМ CTL коэнзим Q10.
10. Гипоксия + 12,5 мМ молочная кислота.
11. Гипоксия + 12,5 мМ молочная кислота + 50 мкМ CTL коэнзим Q10.
12. Гипоксия + 12,5 мМ молочная кислота + 100 мкМ CTL коэнзим Q10.
13. Среда + 22 мМ глюкоза.
14. 50 мкМ CTL коэнзим Q10 + 22 мМ глюкоза.
15. 100 мкМ CTL коэнзим Q10 + 22 мМ глюкоза.
16. 12,5 мМ молочная кислота + 22 мМ глюкоза.
17. 12,5 мМ молочная кислота + 22 мМ глюкоза + 50 мкМ CTL коэнзим Q10.
18. 12,5 мМ молочная кислота + 22 мМ глюкоза + 100 мкМ CTL коэнзим Q10.
19. Гипоксия + 22 мМ глюкоза.
20. Гипоксия + 22 мМ глюкоза + 50 мкМ CTL коэнзим Q10.

21. Гипоксия + 22 mM глюкоза + 100 мкМ CTL коэнзим Q10.
22. Гипоксия + 12,5 mM молочная кислота + 22 mM глюкоза.
23. Гипоксия + 12,5 mM молочная кислота + 22 mM глюкоза + 50 мкМ CTL коэнзим Q10.
24. Гипоксия + 12,5 mM молочная кислота + 22 mM глюкоза + 100 мкМ CTL коэнзим Q10.

В определенных ситуациях взаимовлияющие или ECS эксперименты между различными клетками злокачественных опухолей (например, HepG2 и PaCa2) могут проводиться для нескольких взаимосвязанных целей. Согласно некоторым вариантам осуществления, которые включают взаимовлияние, эксперименты, проведенные на клеточных моделях, разрабатывают для определения модуляции клеточного состояния или функции одноклеточной системы или популяции (например, клетка гепатокарциномы HepG2) с помощью другой системы клеток или популяции (например, злокачественная опухоль поджелудочной железы PaCa2) при определенных условиях воздействия (например, гипергликемия, гипоксия (ишемия)). В соответствии с типичной постановкой первая клеточная система/популяция контактирует с компонентами внешних раздражителей, такими как кандидатная молекула (например, низкомолекулярное лекарственное средство, белок) или кандидатное состояние (например, гипоксия, окружающая среда с высоким содержанием глюкозы). В ответ на это первая клеточная система/популяция изменяет свой транскриптом, протеом, метаболом и/или интерактом, что приводит к изменениям, которые можно легко обнаружить как внутри, так и вне клетки. Например, изменения в транскриптоме могут быть измерены по уровню транскрипции множества мРНК-мишеней; изменения в протеоме могут быть измерены по уровню экспрессии множества белков-мишеней и изменения в метаболоме могут быть измерены по уровню множества метаболитов-мишеней с помощью анализов, разработанных специально для данных метаболитов. С другой стороны, выше упомянутые изменения в метаболоме и/или протеоме, по меньшей мере, в отношении определенных секретируемых метаболитов или белков, могут также быть измерены по влиянию на вторую клеточную систему/популяцию, включающую в себя модуляцию транскриптома, протеома, метаболома и интерактома второй клеточной системы/популяции. Таким образом, эксперименты могут быть использованы для идентификации эффектов представляющей интерес молекулы(-), секретируемой первой клеточной системой/популяцией, на вторую клеточную систему/популяцию при различных условиях воздействия. Эксперименты также могут быть использованы, чтобы идентифицировать любые белки, которые модулируются в результате передачи сигналов от первой клеточной системы (в ответ на воздействие компонентом внешнего раздражителя) к другой системе клеток с помощью, например, дифференциального скрининга протеомики. Те же экспериментальные условия также могут быть приспособлены для обратной постановки таким образом, что взаимные эффекты между двумя системами клеток также могут быть оценены. В общем, для этого типа эксперимента выбор пар клеточных линий в значительной степени основан на таких факторах, как происхождение, патологическое состояние и клеточная функция.

Хотя двухклеточные системы, как правило, участвуют в этом типе экспериментальной постановки, аналогичные эксперименты также могут быть разработаны для более чем двухклеточных систем, например иммобилизация каждой отдельной системы клеток на отдельной твердой подложке.

Построенная по заказу клеточная модель может быть установлена и использоваться на стадиях платформенной технологии согласно настоящему изобретению для конечной идентификации причинно-следственной связи, уникальной в биологической системе, путем проведения описанных в настоящем документе стадий. Специалисту в настоящей области техники будет понятно, однако, что построенная по заказу модель злокачественной опухоли, которая используется для получения начальной, "первого поколения" консенсусной сети причинно-следственных связей может постоянно развиваться или расширяться с течением времени, например, за счет введения дополнительных клеточных линий злокачественных опухолей или нормальных и/или дополнительных условий злокачественных опухолей. Могут быть собраны дополнительные данные от усовершенствованной модели злокачественной опухоли, т.е. данные из вновь добавленной части(ей) модели злокачественной опухоли. Новые данные, собранные от расширенной или усовершенствованной модели клеток, т.е. от вновь добавленной части(ей) модели злокачественной опухоли, могут быть затем введены в наборы данных, ранее используемые для создания консенсусной сети причинно-следственных связей "первого поколения" для того, чтобы получить более совершенную консенсусную сеть причинно-следственных связей "второго поколения". Новые причинно-следственные связи, уникальные для состояния злокачественной опухоли, могут быть затем идентифицированы из консенсусной сети причинно-следственных связей "второго поколения". Таким образом, эволюция модели злокачественной опухоли включает эволюцию консенсусных сетей причинно-следственных связей, тем самым обеспечивая новое и/или более надежное понимание определяющих драйверов (или модуляторов) состояния злокачественной опухоли.

(iii) Клеточные модели сахарного диабета/ожирения/сердечно-сосудистого заболевания.

Другие примеры биологической системы или процесса представляют собой сахарный диабет, ожирение и сердечно-сосудистое заболевание. Как со злокачественной опухолью, родственные патологические состояния сахарный диабет, ожирение и сердечно-сосудистое заболевание представляют собой сложные патологические состояния, характеризующиеся несколькими уникальными аспектами. Представляет интерес идентификация белков/путей, управляющих патогенезом сахарного диабе-

та/ожирения/сердечно-сосудистого заболевания. Было бы также интересно расшифровать уникальный ответ клеток, связанных с сахарным диабетом/ожирением/сердечно-сосудистым заболеванием к воздействию лекарственными средствами, по сравнению с ответами нормальных клеток. С этой целью может быть установлена модель сахарного диабета/ожирения/сердечно-сосудистого заболевания, чтобы имитировать окружающую среду, которая сталкивается с устойчивыми к заболеванию клетками, путем выбора соответствующих клеточных линий и создания условий для культивирования клеток, которые имитируют характерный аспект патологического состояния или процесса. Например, условия для культивирования клеток могут быть выбраны такие, которые близко соответствуют гипергликемии, гиперлипидемии, гиперинсулинемии, гипоксии или обогащенным молочной кислотой условиям.

Любые клетки, относящиеся к сахарному диабету/ожирению/сердечно-сосудистому заболеванию, могут быть включены в модель сахарного диабета/ожирения/сердечно-сосудистого заболевания. Примеры клеток, относящиеся к сахарному диабету/ожирению/сердечно-сосудистому заболеванию, включают в себя, например, адипоциты, мышечные трубки, гепатоциты, гладкомышечные клетки аорты (HASMC) и клетки проксимальных канальцев (например, HK2). Множественные типы клеток одного и того же или различного происхождения, в отличие от одного типа клеток, могут быть включены в модель сахарного диабета/ожирения/сердечно-сосудистого заболевания. Согласно одному варианту осуществления по меньшей мере 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50 или более различных типов клеток, включены в модель сахарного диабета/ожирения/сердечно-сосудистого заболевания. Все значения, представленные в вышеизложенном перечне, также могут представлять собой верхний или нижний предел диапазонов, которые предназначены для того, чтобы быть частью настоящего изобретения, например, от 1 до 5, от 1 до 10, от 2 до 5 или от 5 до 15 различных клеточных типов. Согласно одному варианту осуществления клетки представляют собой все одного типа, например, все адипоциты, но различаются установленными клеточными линиями, например, различными установленными клеточными линиями адипоцитов. Многочисленные другие клеточные типы, которые вовлечены в состояние сахарного диабета/ожирения/сердечно-сосудистого заболевания, известны в настоящей области техники, и любые такие клетки могут быть включены в модель сахарного диабета/ожирения/сердечно-сосудистого заболевания согласно настоящему изобретению.

Клеточные модели сахарного диабета/ожирения/сердечно-сосудистого заболевания согласно настоящему изобретению могут включать в себя одну или несколько "контрольных клеток". Согласно одному варианту осуществления контрольная клетка может представлять собой необработанную клетку либо клетку без возмущающего воздействия. Согласно другому варианту осуществления "контрольная клетка" может представлять собой не относящуюся к заболеванию клетку, такую как клетка эпителия. Любые из многочисленных не относящихся к заболеванию клеток, могут быть включены в клеточную модель. Согласно одному варианту осуществления по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50 или более различных не патологических клеточных типов включены в клеточную модель. Все показатели, представленные в предыдущем перечне, также могут представлять собой верхний или нижний предел диапазонов, которые предназначены, чтобы быть частью настоящего изобретения, например, от 1 до 5, от 1 до 10, от 2 до 5, или от 5 до 15 различных не патологических клеточных линий или клеточных типов. Согласно одному варианту осуществления не относящиеся к заболеванию клетки представляют собой все одного типа, например, все клетки здорового эпителия или молочной железы, но различаются установленными клеточными линиями, например, различными установленными клеточными линиями эпителиальных клеток или клеток молочной железы. Согласно одному варианту осуществления в качестве контроля, одну или несколько не относящихся к заболеванию клеточных линий культивируют в аналогичных условиях и/или подвергают такому же возмущающему воздействию, что и относящиеся к заболеванию клетки клеточной модели с целью идентификации белков или путей, уникальных для сахарного диабета/ожирения/сердечно-сосудистого заболевания.

Пользовательская модель сахарного диабета/ожирения/сердечно-сосудистого заболевания может также содержать условия культивирования клеток, которые имитируют характерный аспект (представляют патофизиологию) состояния или процесса сахарного диабета/ожирения/сердечно-сосудистого заболевания. Например, условия для культивирования клеток могут быть выбраны так, чтобы близко соответствовать условиям клетки, относящейся к сахарному диабету/ожирению/сердечно-сосудистому заболеванию в ее окружающей среде *in vivo* или, чтобы имитировать различные аспекты сахарного диабета/ожирения/сердечно-сосудистого заболевания. В некоторых случаях условия культивирования клеток представляют собой стрессовые условия.

Иллюстративные условия, которые представляют патофизиологию сахарного диабета/ожирения/сердечно-сосудистого заболевания, например, любое одно или несколько из гипоксии, обогащенных молочной кислотой условий, гипергликемии, гиперинсулинемии и гиперлипидемии. Гипоксия может быть индуцирована в клетках с использованием известных в настоящей области техники способов. Например, гипоксия может быть индуцирована путем помещения клеточных систем в камеру модульного инкубатора (MIC-101, Billups-Rothenberg Inc. Del Mar, CA), которая может быть заполнена промышленной газовой смесью, содержащей 5% CO<sub>2</sub>, 2% O<sub>2</sub> и 93% азота. Эффекты могут быть измерены

после заранее определенного периода, например, через 24 ч после лечения гипоксии с и без дополнительных компонентов внешнего раздражителя (например, CoQ10 при 0, 50 или 100 мкМ).

Точно так же, воздействие молочной кислоты клеток имитирует клеточную окружающую среду, в которой активность гликолиза высока. Индуцированный молочной кислотой стресс можно исследовать в конечной концентрации молочной кислоты, равной приблизительно 12,5 мМ в заранее определенное время, например, через 24 ч с и без дополнительных компонентов внешнего раздражителя (например, CoQ10 при 0, 50 или 100 мкМ). Гипергликемия представляет собой условие, обнаруженное при сахарном диабете. Воздействие на рассматриваемые клетки типичным условием гипергликемии может включать в себя добавление 10% по отношению к культуре глюкозы в подходящие среды, так что конечная концентрация глюкозы в средах составляет приблизительно 22 мМ. Гиперлипидемия представляет собой условие, обнаруженное при ожирении и сердечно-сосудистом заболевании. Гиперлипидемические условия могут быть обеспечены путем культивирования клеток в средах, содержащих 0,15 мМ пальмитат натрия. Гиперинсулинемия представляет собой условие, обнаруженное при сахарном диабете. Гиперинсулинемические условия могут быть индуцированы путем культивирования клеток в средах, содержащих 1000 нМ инсулина.

Дополнительные условия, которые представляют патофизиологию сахарного диабета/ожирения/сердечно-сосудистого заболевания включают в себя, например, любой один или несколько из воспаления, стресса эндоплазматического ретикулума, митохондриального стресса и пероксисомального стресса. Способы создания подобного воспалению состояния в клетках известны в настоящей области техники. Например, воспалительное состояние может быть смоделировано посредством культивирования клеток в присутствии TNF альфа и или IL-6. Способы создания условий, моделирующих стресс эндоплазматического ретикулума также известны в настоящей области техники. Например, условия, моделирующие стресс эндоплазматического ретикулума, могут быть созданы путем культивирования клеток в присутствии тапсигаргина и/или туникамицина. Способы создания условий, моделирующих митохондриальный стресс также известны в настоящей области техники. Например, условия, моделирующие митохондриальный стресс, могут быть созданы путем культивирования клеток в присутствии рапамицина и/или галактозы. Способы создания условий, моделирующих пероксисомальный стресс, также известны в настоящей области техники. Например, условия, моделирующие пероксисомальный стресс, могут быть созданы путем культивирования клеток в присутствии абсцизовой кислоты.

Отдельные условия, отражающие различные аспекты сахарного диабета/ожирения/сердечно-сосудистого заболевания, могут быть исследованы отдельно в построенной по заказу модели сахарного диабета/ожирения/сердечно-сосудистого заболевания и/или могут быть объединены вместе. Согласно одному варианту осуществления комбинации по меньшей мере 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 25, 30, 40, 50 или более условий, отражающих или имитирующих различные аспекты сахарного диабета/ожирения/сердечно-сосудистого заболевания, исследуются в построенной по заказу модели сахарного диабета/ожирения/сердечно-сосудистого заболевания. Согласно одному варианту осуществления отдельные условия и, кроме того, комбинации по меньшей мере 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 25, 30, 40, 50 или более условий, отражающих или имитирующих различные аспекты сахарного диабета/ожирения/сердечно-сосудистого заболевания, исследуются в построенной по заказу модели сахарного диабета/ожирения/сердечно-сосудистого заболевания. Все показатели, представленные в предыдущем перечне, также могут представлять собой верхний или нижний предел диапазонов, которые предназначены, чтобы быть частью настоящего изобретения, например, от 1 до 5, от 1 до 10, от 1 до 20, от 1 до 30, от 2 до 5, от 2 до 10, от 5 до 10, от 1 до 20, от 5 до 20, от 10 до 20, от 10 до 25, от 10 до 30 или от 10 до 50 разных условий.

После того как пользовательская клеточная модель построена, одно или несколько "возмущающих воздействий" могут быть применены к системе, такие как генетическая изменчивость от пациента к пациенту или наличие/отсутствие лечения некоторыми лекарственными средствами или пролекарствами. См. фиг. 15D. Эффекты таких возмущающих воздействий в системе, включающей в себя эффект на сахарный диабет/ожирение/сердечно-сосудистое заболевание, могут быть измерены с использованием различных известных в настоящей области техники или запатентованных средств, как описано в разделе III.B ниже.

В иллюстративном эксперименте каждый из адипоцитов, мышечных трубок, гепатоцитов, гладкомышечных клеток аорты (HASMC) и клеток проксимальных канальцев (например, HK2) выдерживают при каждом из условий гипергликемии, гипоксии, гиперлипидемии, гиперинсулинемии и обогащенности молочной кислотой, а также во всех комбинациях двух, трех, четырех или всех пяти условий, и в дополнение с или без внешнего возмущающего воздействия, в частности, воздействия коэнзимом Q10. В дополнение к иллюстративным комбинациям условий, описанным выше в контексте модели злокачественной опухоли, перечисленным в настоящем документе ниже, представлены некоторые дополнительные иллюстративные комбинации условий, с или без возмущающего воздействия, например, обработка коэнзимом Q10, который может быть использован для обработки относящихся к сахарному диабету/ожирению/сердечно-сосудистому заболеванию клеток (и/или контрольных клеток) клеточной модели сахарного диабета/ожирения/сердечно-сосудистого заболевания. Они предназначены только в качестве

примеров, и специалисту в настоящей области техники будет понятно, что любое отдельное и/или комбинация вышеуказанных условий, которые представляют патофизиологию сахарного диабета/ожирения/сердечно-сосудистого заболевания, могут быть использованы в клеточной модели для получения наборов выходных данных. Другие комбинации могут быть легко составлены в зависимости от конкретной проводимой перекрестной биологической оценки.

1. Только среды.
2. 50 мкМ CTL коэнзим Q10.
3. 100 мкМ CTL коэнзим Q10.
4. 0,15 мМ пальмитат натрия.
5. 0,15 мМ пальмитат натрия + 50 мкМ CTL коэнзим Q10.
6. 0,15 мМ пальмитат натрия + 100 мкМ CTL коэнзим Q10.
7. 1000 нМ инсулин.
8. 1000 нМ инсулин + 50 мкМ CTL коэнзим Q10.
9. 1000 нМ инсулин + 100 мкМ CTL коэнзим Q10.
10. 1000 нМ инсулин + 0,15 мМ пальмитат натрия.
11. 1000 нМ инсулин + 0,15 мМ пальмитат натрия + 50 мкМ CTL коэнзим Q10.
12. 1000 нМ инсулин + 0,15 мМ пальмитат натрия + 100 мкМ CTL коэнзим Q10.

В определенных ситуациях взаимовлияющие или ECS эксперименты между различными относящимися к заболеванию клетками (например, клетки HASMC и НК2 или клетки печени и адипоциты) могут проводиться для нескольких взаимосвязанных целей. Согласно некоторым вариантам осуществления, которые включают взаимовлияние, эксперименты, проведенные на клеточных моделях, разрабатывают для определения модуляции клеточного состояния или функции одноклеточной системы или популяции (например, клеток печени) с помощью другой системы клеток или популяции (например, адипоцитов) при определенных условиях воздействия (например, гипергликемия, гипоксия, гиперлипидемия, гиперинсулинемия). В соответствии с типичной постановкой первая клеточная система/популяция контактирует с компонентами внешних раздражителей, такими как кандидатная молекула (например, низкомолекулярное лекарственное средство, белок) или кандидатное состояние (например, гипоксия, окружающая среда с высоким содержанием глюкозы). В ответ на это первая клеточная система/популяция изменяет свой транскриптом, протеом, метаболом и/или интерактом, что приводит к изменениям, которые можно легко обнаружить как внутри, так и вне клетки. Например, изменения в транскриптоме могут быть измерены по уровню транскрипции множества мРНК-мишеней; изменения в протеоме могут быть измерены по уровню экспрессии множества белков-мишеней и изменения в метаболоме могут быть измерены по уровню множества метаболитов-мишеней с помощью анализов, разработанных специально для данных метаболитов. С другой стороны, выше упомянутые изменения в метаболоме и/или протеоме, по меньшей мере, в отношении определенных секретируемых метаболитов или белков, могут также быть измерены по влиянию на вторую клеточную систему/популяцию, включающую в себя модуляцию транскриптома, протеома, метаболома и интерактома второй клеточной системы/популяции. Таким образом, эксперименты могут быть использованы для идентификации эффектов представляющей интерес молекулы(-), секретируемой первой клеточной системой/популяцией, на вторую клеточную систему/популяцию при различных условиях воздействия. Эксперименты также могут быть использованы, чтобы идентифицировать любые белки, которые модулируются в результате передачи сигналов от первой клеточной системы (в ответ на воздействие компонентом внешнего раздражителя) к другой клеточной системе с помощью, например, дифференциального скрининга протеомики. Те же экспериментальные условия также могут быть приспособлены для обратной постановки таким образом, что взаимные эффекты между двумя клеточными системами также могут быть оценены. В общем, для этого типа эксперимента выбор пар клеточных линий в значительной степени основан на таких факторах, как происхождение, патологическое состояние и клеточная функция.

Хотя двухклеточные системы, как правило, участвуют в этом типе экспериментальной постановки, аналогичные эксперименты также могут быть разработаны для более чем двух клеточных систем, например, иммобилизация каждой отдельной системы клеток на отдельной твердой подложке.

Построенная по заказу модель сахарного диабета/ожирения/сердечно-сосудистого заболевания может быть установлена и использоваться на стадиях платформенной технологии согласно настоящему изобретению для конечной идентификации причинно-следственной связи, уникальной при состоянии сахарного диабета/ожирения/сердечно-сосудистого заболевания путем проведения описанных в настоящем документе стадий. Специалисту в настоящей области техники будет понятно, однако, что, как и в случае с моделью злокачественной опухоли, построенная по заказу модель сахарного диабета/ожирения/сердечно-сосудистого заболевания, которая используется для получения начальной, "первого поколения" консенсусной сети причинно-следственных связей может постоянно развиваться или расширяться с течением времени, например, за счет введения дополнительных относящихся к заболеванию клеточных линий и/или дополнительных относящихся к заболеванию условий. Могут быть собраны дополнительные данные от усовершенствованной модели сахарного диабета/ожирения/сердечно-сосудистого заболевания, т.е. данные из вновь добавленной части(ей) модели. Новые данные, собранные

от расширенной или усовершенствованной модели, т.е. от вновь добавленной части(ей) модели, могут быть затем введены в наборы данных, ранее используемые для создания консенсусной сети причинно-следственных связей "первого поколения" для того, чтобы получить более совершенную консенсусную сеть причинно-следственных связей "второго поколения". Новые причинно-следственные связи, уникальные для состояния сахарного диабета/ожирения/сердечно-сосудистого заболевания (или уникальные для реакции состояния сахарного диабета/ожирения/сердечно-сосудистого заболевания на возмущающее воздействие), могут быть затем идентифицированы из консенсусной сети причинно-следственных связей "второго поколения". Таким образом, эволюция модели сахарного диабета/ожирения/сердечно-сосудистого заболевания включает эволюцию консенсусных сетей причинно-следственных связей, тем самым обеспечивая новое и/или более надежное понимание определяющих драйверов (или модуляторов) состояния сахарного диабета/ожирения/сердечно-сосудистого заболевания.

В. Использование клеточных моделей для перекрестных биологических оценок.

Предусмотренные в настоящем изобретении способы и клеточные модели могут быть использованы для или применительно к любому количеству "перекрестных биологических оценок." Использование способов согласно настоящему изобретению для перекрестной биологической оценки облегчает идентификацию "модуляторов" или "драйверов" определяющих клеточные процессы биологической системы.

Используемая в настоящем документе "перекрестная биологическая оценка" может включать в себя идентификацию одного или нескольких модуляторов биологической системы, например, "драйверов" определяющих клеточных процессов (например, повышение или снижение активности биологической реакции или ключевых представителей пути, или ключевых регуляторов представителей пути), связанных с возмущающим воздействием окружающей среды или компонентом внешнего раздражителя, или с уникальной причинно-следственной связью, уникальной в биологической системе или процессе. Она может дополнительно включать в себя добавочные стадии, разработанные для исследования или проверки того, необходимы и/или достаточны ли идентифицированные определяющие драйверы клеточного процесса для последующих событий, связанных с возмущающим воздействием окружающей среды или компонентом внешнего раздражителя, в том числе в животных моделях *in vivo* и/или экспериментах на культуре ткани *in vitro*.

Согласно некоторым вариантам осуществления перекрестная биологическая оценка представляет собой диагностику или постановку патологического состояния, причем идентифицированные модуляторы биологической системы, например, драйверы определяющих клеточных процессов (например, взаимовлияющие дифференциалы или причинно-следственные связи, уникальные в биологической системе или процессе) представляют собой либо маркеры заболеваний, либо терапевтические мишени, которые могут быть предметом терапевтического вмешательства. Рассматриваемая перекрестная биологическая оценка подходит для любого патологического состояния в теории, но может быть особенно полезна в таких областях, как биология онкологии/злокачественных опухолей, диабет, ожирение, сердечно-сосудистое заболевание и неврологические состояния (особенно нейродегенеративные заболевания, такие как, без ограничения, болезнь Альцгеймера, болезнь Паркинсона, болезнь Хантингтона, боковой амиотрофический склероз (ALS) и связанная со старением нейродегенерация).

Согласно некоторым вариантам осуществления перекрестная биологическая оценка представляет собой определение эффективности лекарственного средства, причем идентифицированные модуляторы биологической системы, например, драйвер определяющих клеточных процессов (например, взаимовлияющие дифференциалы или причинно-следственные связи, уникальные в биологической системе или процессе) могут представлять собой отличительные черты успешного лекарственного средства, и, в свою очередь, могут быть использованы, чтобы идентифицировать дополнительные средства, такие как MIM или epishifter, для лечения того же патологического состояния.

Согласно некоторым вариантам осуществления перекрестная биологическая оценка представляет собой идентификацию мишеней лекарственных средств для профилактики или лечения инфекции (например, бактериальной или вирусной инфекции), причем идентифицированные драйверы определяющих клеточных процессов (например, взаимовлияющие дифференциалы или причинно-следственные связи, уникальные в биологической системе или процессе) могут представлять собой маркеры/индикаторы или ключевые биологические молекулы, вызывающие инфекционное состояние, и могут, в свою очередь, использоваться для идентификации противомикробных средств.

Согласно некоторым вариантам осуществления перекрестная биологическая оценка представляет собой оценку молекулярного эффекта средства, например, лекарственного средства, на данный профиль заболевания, причем идентифицированные модуляторы биологической системы, например, драйвер определяющих клеточных процессов (например, взаимовлияющие дифференциалы или причинно-следственные связи, уникальные в биологической системе или процессе), могут представлять собой увеличение или снижение активности одного или нескольких биологических путей или ключевых представителей пути(ей), или регуляторов представителей пути(ей), и, в свою очередь, могут быть использованы, например, для предсказания терапевтической эффективности средства при данном заболевании.

Согласно некоторым вариантам осуществления перекрестная биологическая оценка представляет собой оценку токсикологического профиля средства, например, лекарственного средства, на клетку,

ткань, орган или организм, причем идентифицированные модуляторы биологической системы, например, драйвер определяющих клеточных процессов (например, взаимовлияющие дифференциалы или причинно-следственные связи, уникальные в биологической системе или процессе), могут представлять собой показатели токсичности, например цитотоксичности, и, в свою очередь, могут быть использованы для прогнозирования или идентификации токсикологического профиля средства. Согласно одному из вариантов осуществления идентифицированные модуляторы биологической системы, например, драйвер определяющих клеточных процессов (например, взаимовлияющие дифференциалы или причинно-следственные связи, уникальные в биологической системе или процессе), представляют собой показатель кардиотоксичности лекарственного средства или кандидатного лекарственного средства, и могут быть, в свою очередь, использованы для прогнозирования или идентификации кардиотоксического профиля лекарственного средства или кандидатного лекарственного средства.

Согласно некоторым вариантам осуществления перекрестная биологическая оценка представляет собой идентификацию мишеней лекарственных средств для профилактики или лечения заболевания или нарушения, вызванного биологическим оружием, таким как болезнетворные простейшие, грибы, бактерии, вирусы, протесты или токсины, причем идентифицированные модуляторы биологической системы, например, драйвер определяющих клеточных процессов (например, взаимовлияющие дифференциалы или причинно-следственные связи, уникальные в биологической системе или процессе), могут представлять собой маркеры/индикаторы или ключевые биологические молекулы, вызывающие указанное заболевание или нарушение, и могут быть, в свою очередь, использованы для идентификации средств биологической защиты.

Согласно некоторым вариантам осуществления перекрестная биологическая оценка представляет собой идентификацию мишеней для антивозрастных средств, таких как антивозрастная косметика, причем идентифицированные модуляторы биологической системы, например драйвер определяющих клеточных процессов (например, взаимовлияющие дифференциалы или причинно-следственные связи, уникальные в биологической системе или процессе), могут представлять собой маркеры или индикаторы процесса старения, в частности процесс старения в коже, и в свою очередь могут быть использованы для идентификации антивозрастных средств.

Согласно одному варианту осуществления клеточная модель старения, которая используется в способах согласно настоящему изобретению для идентификации мишеней для антивозрастной косметики, клеточная модель содержит стареющие эпителиальные клетки, которые представляют собой, например, обработанный УФ-светом (окружающее возмущающее воздействие или компонент внешнего раздражителя) и/или клетки новорожденных, которые также необязательно обработаны УФ-светом. Согласно одному варианту осуществления клеточная модель старения содержит клеточную взаимовлияющую систему. В одной иллюстративной двухклеточной взаимовлияющей системе, установленной для идентификации мишеней для антивозрастной косметики, стареющая эпителиальная клетка (первая клеточная система) может быть обработана ультрафиолетовым светом (компонент внешнего раздражителя) и изменения, например, протеомные изменения и/или функциональные изменения в неонатальной клетке (вторая клеточная система) в результате контактирования неонатальных клеток с кондиционированной средой, обработанной стареющей эпителиальной клеткой, например, протеомные изменения могут быть измерены с использованием обычной количественной масс-спектрометрии, или причинно-следственная связь, уникальная при старении, может быть идентифицирована из сети причинно-следственных связей, полученной из данных.

## V. Протеомный анализ образцов

Согласно некоторым вариантам осуществления рассматриваемый способ использует масштабный высокоэффективный количественный протеомный анализ сотен образцов аналогичного характера, и включает данные, необходимые для идентификации клеточных выходных дифференциалов.

Существуют многочисленные известные в настоящей области техники технологии, пригодные для этой цели. Иллюстративная техника, анализ iTRAQ в сочетании с масс-спектрометрией, кратко описана ниже.

Для обеспечения эталонных образцов для относительного количественного определения техникой iTRAQ создают множество пулов QC. Два отдельных пула QC, состоящих из аликвот каждой пробы, были получены от образцов клетки #1 и клетки #2 - эти образцы обозначены как QCS1 и QCS2, и QCP1 и QCP2 для супернатантов и осадков соответственно. Для того чтобы обеспечить сравнения концентрации белка в двух клеточных линиях, аликвоты клеточных осадков описанных выше пулов QC объединяют в равных объемах для получения эталонных образцов (QCP).

Подход количественной протеомики базируется на стабильном изотопном мечении с реагентом 8-Plex iTRAQ и 2D-ЖХ MC/MC MALDI для идентификации и количественного определения пептидов. Количественное определение с этой техникой характеризуется относительностью: пептидам и белкам присваиваются относительные содержания, по сравнению с эталонным образцом. Общие эталонные образцы при многочисленных экспериментах iTRAQ облегчают сравнение образцов во множественных экспериментах iTRAQ.

Для реализации этой схемы анализа шесть основных образцов и два пула контрольных образцов

могут быть объединены в одну смесь 8-plex iTRAQ с контрольным пулом образцов, помеченным реагентами 113 и 117, в соответствии с инструкциями изготовителя. Эта смесь из восьми образцов может быть затем фракционирована путем двумерной жидкостной хроматографии; сильным катионным обменом (SCX) в первом измерении, и обращенно-фазовой ВЭЖХ во втором измерении. Элюент ВЭЖХ непосредственно фракционировали на планшеты MALDI, и планшеты анализировали на масс-спектрометре MDS SCIEX/AB 4800 MALDI TOF/TOF.

В отсутствие дополнительной информации предполагается, что наиболее важные изменения в экспрессии белка представляют собой те, которые находятся в одних и тех же типах клеток при различных условиях обработки. По этой причине, первичные образцы из клетки #1 и клетки #2 анализируют в отдельных смесях iTRAQ. Для облегчения сравнения экспрессии белка в образцах клетки #1 и клетки #2, универсальные образцы QCP анализируют в доступных "слотах iTRAQ", не занятых первичными или специфичными к клеточной линии QC образцами (QC1 и QC2).

Краткий обзор применяемых лабораторных процедур предусмотрен в настоящем документе.

А. Экстракция белка из образцов клеточных супернатантов.

Для образцов клеточных супернатантов (CSN) белки из культуральной среды присутствуют в большом избытке по сравнению с белками, секретируемыми культивируемыми клетками. В попытке уменьшить этот фон, осуществляли предварительное истощение находящегося в избытке белка. В качестве специфичных колонок для аффинной хроматографии не доступных для сывороточных белков крупного рогатого скота или лошади, использовали колонку к человеческим IgY14. В то время как антитела направлялись против белков человека, ожидалась широкая специфичность, обеспечиваемая поликлональной природой антител, для выполнения истощения белков как крупного рогатого скота, так и лошадей, присутствующих в клеточных культуральных средах, которые использовались.

Аликвоту объемом 200 мкл материала CSN QC загружают на истощающую колонку с 10 мл IgY14 до начала исследования, чтобы определить общую концентрацию белка (анализ с бичинхоиновой кислотой (BCA)) в проточном материале. Вводимый объем затем выбирается для достижения истощенной фракции, содержащей около 40 мкг общего белка.

В. Экстракция белка из клеточных осадков.

Аликвоту клетки #1 и клетки #2 лизируют в "стандартном" лизирующем буфере, используемом для анализа образцов ткани при BGM, и общее содержание белка определяется с помощью анализа BCA. Установив содержание белка этих репрезентативных лизатов клеток, все образцы клеточных осадков (в том числе образцы QC, описанных в разделе 1.1) процессировали до клеточных лизатов. Количества лизатов приблизительно с 40 мкг общего белка переносили в рабочий процесс процессирования.

С. Подготовка образцов для масс-спектрометрии.

Подготовка образца следует стандартным операционным процедурам и состоит из следующих действий:

- восстановление и алкилирование белков;
- очистка белков на колонке для обращенно-фазовой хроматографии (только клеточные осадки);
- расщепление трипсином;
- мечение iTRAQ;
- сильная катионообменная хроматография - сбор из шести фракций (система Agilent 1200);
- фракционирование ВЭЖХ и точечное нанесение на планшеты MALDI (система Dionex Ultimate3000/Probot).

D. MALDI MS и MC/MC.

ВЭЖХ-МС обычно использует стратегии онлайн ESI MC/MC. BG Medicine использует офф-лайн платформы ЖХ-MALDI MC/MC, что приводит к лучшему согласованию наблюдаемых наборов белка по всем первичным образцам без необходимости введения одного и того же образца множество раз. После первого прохода сбора данных во всех смесях iTRAQ, поскольку пептидные фракции сохраняются на планшетах-мишенях MALDI, образцы могут быть проанализированы во второй раз с использованием нацеленного образца обнаружения MC/MC, полученного из знаний, полученных в ходе первого обнаружения. Таким образом, осуществляется максимальная частота наблюдения для всех идентифицированных белков (в идеале, каждый белок должен быть измерен в каждой смеси iTRAQ).

Е. Обработка данных.

Процесс обработки данных в рабочем процессе BGM протеомики может быть разделен на такие процедуры, как предварительная идентификация и количественное определение пептидов, которые заполнены для каждой смеси iTRAQ отдельно (раздел 1.5.1) и такие процессы (раздел 1.5.2), как окончательное распределение пептидов к белкам и окончательная количественная оценка белков, которые не заполнены до завершения сбора данных в рамках проекта.

Основные этапы обработки данных в рамках рабочего процесса BGM протеомики представляют собой

- идентификацию пептидов с помощью поисковика по базе данных Mascot (Matrix Science);
- автоматизированную проверку на месте идентификационных номеров Mascot количественное определение пептидов и предварительное количественное определение белков;

квалифицированное курирование конечного набора данных заключительное распределение пептидов из каждой смеси в общий набор белков с использованием специальной утилиты PVT; устранение выбросов и окончательное количественное определение белков.

(i) Обработка данных отдельных смесей iTRAQ.

Поскольку каждая смесь iTRAQ обрабатывается через рабочий процесс, спектры MS/MS анализируются с использованием запатентованных программных средств BGM для идентификаций пептидов и белков, а также первоначальную оценку количественной информации. На основании результатов этого предварительного анализа качество рабочего процесса для каждого первичного образца в смеси судят по набору метрик производительности BGM. Если данный образец (или смесь) не проходит установленные минимальные метрики производительности и дополнительный материал доступен, этот образец повторяется в полном объеме и данные из этого второго осуществления рабочего процесса включают в конечный набор данных.

(ii) Идентификация пептидов.

Спектры MS/MS искали по базе данных белковых последовательностей Uniprot, содержащей человеческие, бычьи и лошадиные последовательности, дополненные общими последовательностями-примесями, такими как свиной трипсин. Детали параметров поиска Mascot, включающие в себя полный список модификаций, приведены в таблице.

Параметры поиска Mascot

|                                                       |                                                                                                                                                                                     |
|-------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Экспериментальная масса предшественника               | 100 ppm                                                                                                                                                                             |
| Экспериментальная масса фрагмента                     | 0,4 Da                                                                                                                                                                              |
| Переменные модификации                                | N-конец iTRAQ8<br>Лизин iTRAQ8<br>Карбамидометилцистеин<br>Пироглутаминовая кислота (N-конец)<br>Пирокарбамидометилцистеин (N-конец)<br>Дезамидирование (только N)<br>Окисление (M) |
| Специфичность фермента                                | Полностью трипсиновый                                                                                                                                                               |
| Количество разрешенных пропущенных трипсиновых сайтов | 2                                                                                                                                                                                   |
| Рассматриваемый класс пептида                         | 1                                                                                                                                                                                   |

После завершения поиска Mascot процедура автоматической проверки используется для продвижения (т.е. проверки) конкретных пептидных совпадений Mascot. Дифференциация между действительными и недействительными совпадениями основана на достигнутой оценке Mascot по отношению к ожидаемой оценке Mascot и разнице между оценками Mascot пептида 1 ранга и пептида 2 ранга. Необходимые для проверки критерии несколько смягчают, если пептид представляет собой один из нескольких согласованных с единственным белком в смеси iTRAQ или если пептид присутствует в каталоге ранее проверенных пептидов.

(iii) Количественное определение пептидов и белков.

Набор проверенных пептидов для каждой смеси используют для вычисления предварительных количественных метрик белков для каждой смеси. Отношения пептидов рассчитывают путем деления площади пика от метки iTRAQ (т.е. m/z 114, 115, 116, 118, 119 или 121) для каждого проверенного пептида путем лучшего представления площади пика эталонного пула (QC1 или QC2). Это площадь пика представляет собой среднее из пиков 113 и 117, предусмотренных обоими образцами, выдержавшими критерии приемлемости QC. Предварительные соотношения белков определяют путем расчета среднего соотношения всех "полезных" проверенных пептидов, совпадающих с этим белком. "Полезные" пептиды представляют собой полностью помеченные iTRAQ (все N-концы помечены либо лизином, либо пироглутаминовой кислотой) и полностью помеченные цистеином (т.е. все остатки цистеина алкилируют карбамидометиллом или N-концевым пирокарбамидометилцистеином).

(iv) Обработка после сбора.

После того как все проходы сбора данных MS/MS завершены для каждой смеси в проекте, данные сопоставляются с использованием трех стадий, обсуждаемых ниже, которые направлены на предоставление результатов от каждого первичного образца, чтобы просто и достоверно сравнить с другим.

(v) Глобальное распределение пептидных последовательностей к белкам.

Итоговое распределение пептидных последовательностей к белковым учетным номерам осуществляется через запатентованный инструмент проверки белка (PVT). Процедура PVT определяет наилучший, минимальный не излишний набор белков для описания полной коллекции пептидов, идентификации

рованных в проекте. Она представляет собой автоматизированную процедуру, которая была оптимизирована для обработки данных из гомогенной таксономии.

Белковые распределения для экспериментов с супернатантами вручную проверяли, чтобы справиться с трудностями смешанных таксономии в базе данных. Поскольку автоматизированная парадигма не распространяется на клеточные культуры, выращенные в бычьей и лошадиной сыворотке, дополненной средами, подробная проверка вручную необходима для минимизирования неопределенности источника любого данного белка.

(vi) Нормирование пептидных соотношений.

Пептидные соотношения для каждого образца нормируют на основе способа Vandesompele et al. *Genome Biology*, 2002, 3(7), research 0034.1-11. Эта процедура применяется только к измерениям клеточных осадков. Для надосадочных образцов количественные данные не нормируют с учетом наибольшего вклада пептидных идентификаций, поступающих от сред.

(vii) Конечный расчет соотношений белков.

Стандартная статистическая процедура элиминации выброса используется для удаления выбросов из окружения каждого срединного соотношения белков, выше уровня  $1,96 \sigma$  в наборе преобразованных логарифмически данных. После этого процесса элиминации окончательный набор белковых соотношений (пере)рассчитывается.

## **VI. Маркеры согласно настоящему изобретению и их применение**

Настоящее изобретение основано, по меньшей мере частично, на идентификации новых биомаркеров, которые связаны с такой биологической системой, как патологический процесс, или реакцией биологической системы на возмущающее воздействие, такое как терапевтическое средство.

В частности, настоящее изобретение относится к маркерам (далее "маркеры" или "маркеры согласно настоящему изобретению"), которые описаны в примерах. Изобретение включает нуклеиновые кислоты и белки, которые кодируются с помощью или соответствуют маркерам (в дальнейшем "маркерные нуклеиновые кислоты" и "маркерные белки", соответственно). Эти маркеры особенно полезны в диагностике патологических состояний; прогнозировании патологических состояний; разработки мишеней лекарственных средств для различных патологических состояний; в скрининге на наличие токсичности, предпочтительно вызванной лекарственными средствами токсичности, например, кардиотоксичности; идентификации средств, которые вызывают или обуславливают риск возникновения токсичности; идентификации средства, которое может уменьшить или предотвратить индуцированную лекарственными средствами токсичность, уменьшении или предотвращении лекарственной кардиотоксичности и идентификации маркеров прогнозирования вызванной лекарственными средствами кардиотоксичности.

"Маркер" представляет собой ген, чей измененный уровень экспрессии в ткани или клетке, по сравнению с уровнем экспрессии в нормальной или здоровой ткани или клетке, связан с патологическим состоянием, таким как злокачественная опухоль, сахарный диабет, ожирение, сердечно-сосудистое заболевание или таким состоянием токсичности, как индуцированная лекарственным средством токсичность, например, кардиотоксичность. "Маркерная нуклеиновая кислота" представляет собой нуклеиновую кислоту (например, мРНК, кДНК), кодируемую или соответствующую маркеру настоящего изобретения. Такие маркерные нуклеиновые кислоты включают в себя ДНК (например, кДНК), содержащую полную или частичную последовательность любого из генов, которые представляют собой маркеры согласно настоящему изобретению или комплементарны такой последовательности. Такие последовательности известны специалистам в настоящей области техники и могут быть найдены, например, на веб-сайте Pubmed государственного национального института здравоохранения. Маркерные нуклеиновые кислоты также включают в себя РНК, содержащую полную или частичную последовательность любого из маркер-генов согласно настоящему изобретению или комплементарны такой последовательности, в которой все остатки тимидина заменены остатками уридина. "Маркерный белок" представляет собой белок, кодируемый или соответствующий маркеру настоящего изобретения. Маркерный белок содержит полную или частичную последовательность любого из маркерных белков согласно настоящему изобретению. Такие последовательности известны специалистам в настоящей области техники и могут быть найдены, например, на веб-сайте Pubmed государственного национального института здравоохранения. Термины "белок" и "полипептид" взаимозаменяемы.

"Связанная с патологическим состоянием или токсичным состоянием" биологическая жидкость организма представляет собой жидкость в организме пациента, которая контактирует или проходит через клетки саркомы или в которую клетки или белки выделяются из клеток саркомы. Иллюстративные связанные с патологическим состоянием или токсическим состоянием жидкости организма включают в себя жидкости крови (например, цельную кровь, сыворотку крови, кровь с удаленными из нее тромбоцитами) и описаны более подробно ниже. Связанные с патологическим состоянием или токсическим состоянием жидкости организма не ограничены цельной кровью, кровью с удаленными из нее тромбоцитами, лимфой, жидкостью предстательной железы, мочой и спермой.

"Нормальный" уровень экспрессии маркера представляет собой уровень экспрессии маркера в клетках субъекта-человека или пациента, не страдающего патологическим состоянием или состоянием токсичности.

"Гиперэкспрессия" или "повышенный уровень экспрессии" маркера относится к уровню экспрессии в исследуемом образце, который больше, чем стандартная ошибка анализа, используемая для оценки экспрессии, и, предпочтительно, по меньшей мере в два раза, а более предпочтительно в три, четыре, пять, шесть, семь, восемь, девять или десять раз превышает уровень экспрессии маркера в контрольном образце (например, образце от здорового человека, не содержащего маркер, связанный с патологическим состоянием или состоянием токсичности, например, злокачественная опухоль, сахарный диабет, ожирение, сердечно-сосудистое заболевание и кардиотоксичность) и предпочтительно, средний уровень экспрессии маркера в нескольких контрольных образцах.

"Пониженный уровень экспрессии" маркера относится к уровню экспрессии в исследуемом образце, который по меньшей мере в два раза, и более предпочтительно в три, четыре, пять, шесть, семь, восемь, девять или десять раз ниже, чем уровень экспрессии маркера в контрольном образце (например, образце от здорового человека, не содержащего маркер, связанный с патологическим состоянием или состоянием токсичности, например, злокачественная опухоль, сахарный диабет, ожирение, сердечно-сосудистое заболевание и кардиотоксичность) и предпочтительно, средний уровень экспрессии маркера в нескольких контрольных образцах.

"Транскрибируемый полинуклеотид" или "транскрипт нуклеотида" представляет собой полинуклеотид (например, мРНК, гяРНК, кДНК или аналог такой РНК или кДНК), который комплементарен или гомологичен всей или части зрелой мРНК, произведенной транскрипцией маркера согласно настоящему изобретению и обычной пост-транскрипционной обработке (например, сплайсинг), если таковая имеется, РНК-транскрипта, а также обратной транскрипции РНК-транскрипта.

"Комплементарный" относится к широкой концепции комплементарности последовательностей между областями двух нитей нуклеиновой кислоты или между двумя областями одной и той же нити нуклеиновой кислоты. Известно, что остаток аденина первой области нуклеиновой кислоты способен образовывать специфические водородные связи ("спаривание оснований") с остатком второй области нуклеиновой кислоты, которая антипараллельна к первой области, если остаток представляет собой тимин или урацил. Кроме того, известно, что остаток цитозина первой цепи нуклеиновой кислоты способен к спариванию оснований с остатком второй цепи нуклеиновой кислоты, которая антипараллельна по отношению к первой цепи, если остаток представляет собой гуанин. Первая область нуклеиновой кислоты комплементарна второй области той же или другой нуклеиновой кислоты, если, когда две области расположены антипараллельно, по меньшей мере один нуклеотидный остаток первой области способен к спариванию оснований с остатком второй области. Предпочтительно, чтобы первая область содержала первую часть и вторая область содержала вторую часть, в результате чего, когда первая и вторая части расположены антипараллельно, по меньшей мере приблизительно 50%, а предпочтительно по меньшей мере приблизительно 75%, по меньшей мере приблизительно 90% или по меньшей мере приблизительно 95% нуклеотидных остатков первой части способны к спариванию оснований с нуклеотидными остатками во второй части. Более предпочтительно, чтобы все нуклеотидные остатки из первой части были способны к спариванию оснований с нуклеотидными остатками во второй части.

Используемый в настоящем документе термин "гомологичный" относится к сходству нуклеотидных последовательностей между двумя областями одной и той же нити нуклеиновой кислоты или между областями двух различных нитей нуклеиновых кислот. Когда положение нуклеотидного остатка в обеих областях занимает тот же нуклеотидный остаток, тогда области гомологичны в этом положении. Первая область гомологична второй области, если по меньшей мере одно положение нуклеотидного остатка в каждой области занимает тот же остаток. Гомологии между двумя областями выражается в терминах пропорций положений нуклеотидных остатков двух областей, которые занимают тем же нуклеотидным остатком. В качестве примера, область, содержащая нуклеотидную последовательность 5'-ATTGCC-3', и область, содержащая нуклеотидную последовательность 5'-TATGGC-3' характеризуются 50% гомологии. Предпочтительно, первая область содержит первую часть и вторая область содержит вторую часть, при этом по меньшей мере приблизительно 50% и предпочтительно по меньшей мере приблизительно 75%, по меньшей мере приблизительно 90% или по меньшей мере приблизительно 95% положений нуклеотидных остатков каждой из частей занимает тот же нуклеотидный остаток. Более предпочтительно, все положения нуклеотидных остатков каждой из частей занимает тот же нуклеотидный остаток.

"Белки согласно настоящему изобретению" охватывают маркерные белки и их фрагменты; варианты маркерные белки и их фрагменты; пептиды и полипептиды, содержащие сегмент по меньшей мере 15 аминокислот маркера или вариантного маркерного белка; и слитые белки, содержащие маркер или вариантный маркерный белок, или сегмент по меньшей мере 15 аминокислот маркера или вариантного маркерного белка.

Согласно настоящему изобретению предусмотрены антитела, производные антител и фрагменты антител, которые специфически связываются с маркерными белками и фрагментами маркерных белков согласно настоящему изобретению. Если не указано иное, термины "антитело" и "антитела" охватывают в широком смысле встречающиеся в природе формы антител (например, IgG, IgA, IgM, IgE) и такие рекомбинантные антитела, как одноцепочечные антитела, химерные и гуманизированные антитела и мультиспецифические антитела, а также фрагменты и производные всех из вышеперечисленных, при этом

фрагменты и производные содержат по меньшей мере один антигенный сайт связывания. Производные антител могут содержать белок или химический фрагмент, конъюгированный с антителом.

Согласно некоторым вариантам осуществления маркеры согласно настоящему изобретению включают в себя один или несколько генов (или белков), выбранных из группы, состоящей из HSPA8, FLNB, PARK7, HSPA1A/HSPA1B, ST13, TUBB3, MIF, KARS, NARS, LGALS1, DDX17, EIF5A, HSPA5, DHX9, HNRNPC, SKAP4, HSPA9, PARP1, HADHA, PHB2, ATP5A1, CANX, GRP78, GRP75, TIMP1, PTX3, HSP76, PDIA4, PDIA1, CA2D1, GPAT1 и TAZ. Согласно некоторым вариантам осуществления маркеры представляют собой сочетание по меньшей мере двух, трех, четырех, пяти, шести, семи, восьми, девяти, десяти, одиннадцати, двенадцати, тринадцати, четырнадцати, пятнадцати, шестнадцати, семнадцати, восемнадцати, девятнадцати, двадцати, двадцати пяти, тридцати или более из вышеуказанных генов (или белков). Все значения, представленные в вышеизложенном списке, также могут представлять собой верхний или нижний предел диапазонов, которые предназначены, чтобы быть частью этого изобретения, например, от 1 до 5, от 1 до 10, от 1 до 20, от 1 до 30, от 2 до 5, от 2 до 10, от 5 до 10, от 1 до 20, от 5 до 20, от 10 до 20, от 10 до 25, от 10 до 30 вышеуказанных генов (или белков).

Согласно одному варианту осуществления маркеры настоящего изобретения представляют собой гены или белки, связанные с или участвующие в злокачественной опухоли. Такие гены или белки, участвующие в злокачественной опухоли, включают в себя, например, HSPA8, FLNB, PARK7, HSPA1A/HSPA1B, ST13, TUBB3, MIF, KARS, NARS, LGALS1, DDX17, EIF5A, HSPA5, DHX9, HNRNPC, SKAP4, HSPA9, PARP1, HADHA, PHB2, ATP5A1 и/или CANX. Согласно некоторым вариантам осуществления маркеры представляют собой сочетание по меньшей мере двух, трех, четырех, пяти, шести, семи, восьми, девяти, десяти, одиннадцати, двенадцати, тринадцати, четырнадцати, пятнадцати, шестнадцати, семнадцати, восемнадцати, девятнадцати, двадцати или более из вышеуказанных генов (или белков). Все значения, представленные в вышеизложенном списке, также могут представлять собой верхний или нижний предел диапазонов, которые предназначены, чтобы быть частью этого изобретения, например, от 1 до 5, от 1 до 10, от 1 до 20, от 1 до 30, от 2 до 5, от 2 до 10, от 5 до 10, от 1 до 20, от 5 до 20, от 10 до 20, от 10 до 25, от 10 до 30 вышеуказанных генов (или белков).

Согласно одному варианту осуществления маркеры настоящего изобретения представляют собой гены или белки, связанные с или участвующие в вызванной лекарственными средствами токсичности. Такие гены или белки, участвующие в вызванной лекарственными средствами токсичности включают в себя, например, GRP78, GRP75, TIMP1, PTX3, HSP76, PDIA4, PDIA1, CA2D1, GPAT1 и/или TAZ. Согласно некоторым вариантам осуществления маркеры согласно настоящему изобретению представляют собой сочетание по меньшей мере двух, трех, четырех, пяти, шести, семи, восьми, девяти, десяти из вышеуказанных генов (или белков). Все значения, представленные в вышеизложенном списке, также могут представлять собой верхний или нижний предел диапазонов, которые предназначены, чтобы быть частью этого изобретения, например, от 1 до 5, от 1 до 10, от 1 до 20, от 1 до 30, от 2 до 5, от 2 до 10, от 5 до 10, от 1 до 20, от 5 до 20, от 10 до 20, от 10 до 25, от 10 до 30 вышеуказанных генов (или белков).

#### А. Связанные с кардиотоксичностью маркеры.

Настоящее изобретение основано, по меньшей мере частично, на идентификации новых биомаркеров, которые связаны с индуцированной лекарственными средствами кардиотоксичностью. Кроме того, настоящее изобретение основано, по меньшей мере частично, на открытии, что коэнзим Q10 способен уменьшать или предотвращать индуцированную лекарственными средствами кардиотоксичность.

Таким образом, в настоящем изобретении предусмотрены способы идентификации средства, которое вызывает или подвергает риску вызывания токсичности. Согласно одному варианту осуществления средство представляет собой лекарственное средство или кандидатное лекарственное средство. Согласно одному варианту осуществления токсичность представляет собой индуцированную лекарственными средствами токсичность, например, кардиотоксичность. Согласно одному варианту осуществления средство представляет собой лекарственное средство или кандидатное лекарственное средство для лечения сахарного диабета, ожирения или сердечно-сосудистого нарушения. В этих способах оценивают количество одного или нескольких биомаркеров/белков в паре образцов (первый образец не подлежит медикаментозному лечению, а второй образец подвергают обработке лекарственным средством). Модуляция уровня экспрессии одного или нескольких биомаркеров во втором образце по сравнению с первым образцом представляет собой показатель того, что лекарственное средство вызывает или подвергает риску получения вызванной лекарственным средством токсичности, например, кардиотоксичности. Согласно одному варианту осуществления один или несколько биомаркеров выбирают из группы, состоящей из GRP78, GRP75, TIMP1, PTX3, HSP76, PDIA4, PDIA1, CA2D1, GPAT1 и TAZ. Способы согласно настоящему изобретению могут быть осуществлены на практике в сочетании с любым другим способом, используемым специалистом в настоящей области техники, чтобы идентифицировать лекарственное средство с риском вызванной лекарственным средством кардиотоксичности.

Соответственно, согласно одному аспекту в настоящем изобретении предусмотрен способ идентификации лекарственного средства, которое вызывает или подвергает риску вызывания индуцированной лекарственным средством токсичности (например, кардиотоксичности), включающий сравнение (i) уровня экспрессии одного или нескольких биомаркеров, присутствующих в первом образце клеток, по-

лученных до воздействия лекарственным средством; с (ii) уровнем экспрессии одного или нескольких биомаркеров, присутствующих во втором образце клеток, полученных после воздействия лекарственным средством; причем один или несколько биомаркеров выбирают из группы, состоящей из GRP78, GRP75, TIMP1, PTX3, HSP76, PDIA4, PDIA1, CA2D1, GPAT1 и TAZ; причем модуляция в уровне экспрессии одного или нескольких биомаркеров во втором образце в сравнении с первым образцом представляет собой показатель того, что лекарственное средство вызывает или подвергает риску получения вызванной лекарственным средством токсичности (например, кардиотоксичности).

Согласно одному варианту осуществления индуцированная лекарственным средством токсичность представляет собой индуцированную лекарственным средством кардиотоксичность. Согласно одному варианту осуществления клетки представляют собой клетки сердечно-сосудистой системы, например, кардиомиоциты. Согласно одному варианту осуществления клетки представляют собой диабетические кардиомиоциты. Согласно одному варианту осуществления лекарственное средство представляет собой лекарственное средство или кандидатное лекарственное средство для лечения сахарного диабета, ожирения или сердечно-сосудистого заболевания.

Согласно одному варианту осуществления модуляции (например, увеличение или снижение) уровня экспрессии одного, двух, трех, четырех, пяти, шести, семи, восьми, девяти или всех десяти биомаркеров, выбранных из группы, состоящей из GRP78, GRP75, TIMP1, PTX3, HSP76, PDIA4, PDIA1, CA2D1, GPAT1 и TAZ во втором образце, по сравнению с первым образцом, представляет собой показатель того, что лекарственное средство вызывает или подвергает риску получения индуцированной лекарственным средством токсичности.

Способы идентификации средства, которое может уменьшить или предотвратить вызванную лекарственным средством токсичность, также предусмотрен согласно настоящему изобретению. Согласно одному варианту осуществления индуцированная лекарственным средством токсичность представляет собой индуцированную лекарственным средством кардиотоксичность. Согласно одному варианту осуществления лекарственное средство представляет собой лекарственное средство или кандидатное лекарственное средство для лечения сахарного диабета, ожирения или сердечно-сосудистого нарушения. В этих способах оценивают количество одного или нескольких биомаркеров в трех образцах (первый образец не подвергают воздействию лекарственного средства, второй образец подвергают воздействию лекарственного средства и третий образец подвергают как воздействию лекарственного средства, так и средства). Практически такой же уровень экспрессии одного или нескольких биомаркеров в третьем образце, по сравнению с первым образцом, представляет собой показатель того, что средство может уменьшать или предотвращать индуцированную лекарственными средствами токсичность, например, индуцированную лекарственными средствами кардиотоксичность. Согласно одному варианту осуществления один или несколько биомаркеров выбирают из группы, состоящей из GRP78, GRP75, TIMP1, PTX3, HSP76, PDIA4, PDIA1, CA2D1, GPAT1 и TAZ.

Используя описанные в настоящем документе способы, разнообразные молекулы, в частности включающие в себя молекулы достаточно небольшие, чтобы быть в состоянии пересечь клеточную мембрану, могут быть подвергнуты скринингу с целью идентификации молекул, которые модулируют, например, повышают или снижают экспрессию и/или активность маркера согласно настоящему изобретению. Идентифицированные таким образом соединения могут быть предоставлены субъекту, чтобы снизить, облегчить или предотвратить вызванную лекарственным средством токсичность у субъекта.

Соответственно, согласно другому аспекту в настоящем изобретении предусмотрен способ идентификации средства, которое может снижать или предотвращать индуцированную лекарственным средством токсичность, предусматривающий: (i) определение уровня экспрессии одного или нескольких биомаркеров, присутствующих в первом образце клеток, полученном до воздействия индуцирующим токсичность лекарственным средством; (ii) определение уровня экспрессии одного или нескольких биомаркеров, присутствующих во втором образце клеток, полученном после воздействия индуцирующим токсичность лекарственным средством; (iii) определение уровня экспрессии одного или нескольких биомаркеров, присутствующих в третьем образце клеток, полученном после воздействия индуцирующим токсичность лекарственным средством и средством; и (iv) сравнение уровня экспрессии одного или нескольких биомаркеров, присутствующих в третьем образце с первым образцом; причем один или несколько биомаркеров выбирают из группы, состоящей из GRP78, GRP75, TIMP1, PTX3, HSP76, PDIA4, PDIA1, CA2D1, GPAT1 и TAZ; и причем приблизительно один и тот же уровень экспрессии одного или нескольких биомаркеров в третьем образце, по сравнению с первым образцом, представляет собой показатель того, что средство может снижать или предотвращать индуцированную лекарственным средством токсичность.

Согласно одному варианту осуществления индуцированная лекарственным средством токсичность представляет собой индуцированную лекарственным средством кардиотоксичность. Согласно одному варианту осуществления клетки представляют собой клетки сердечно-сосудистой системы, например, кардиомиоциты. Согласно одному варианту осуществления клетки представляют собой диабетические кардиомиоциты. Согласно одному варианту осуществления лекарственное средство представляет собой лекарственное средство или кандидатное лекарственное средство для лечения сахарного диабета, ожирения

ния или сердечно-сосудистого заболевания.

Согласно одному варианту осуществления приблизительно тот же уровень экспрессии одного, двух, трех, четырех, пяти, шести, семи, восьми, девяти или всех десяти биомаркеров, выбранных из группы, состоящей из GRP78, GRP75, TIMP1, PTX3, HSP76, PDIA4, PDIA1, CA2D1, GPAT1 и TAZ в третьем образце, по сравнению с первым образцом, представляет собой показатель того, что средство может снижать или предотвращать индуцированную лекарственным средством токсичность.

В настоящем изобретении дополнительно предусмотрены способы ослабления, уменьшения или предотвращения индуцированной лекарственным средством кардиотоксичности у нуждающегося в этом субъекта, включающее введение субъекту (например, млекопитающему, человеку или отличному от человека животному) средства, идентифицированного с помощью предусмотренных в настоящем документе способов скрининга, таким образом уменьшая или предотвращая индуцированную лекарственным средством кардиотоксичность у субъекта. Согласно одному варианту осуществления средство вводят субъекту, которому уже вводили индуцирующее кардиотоксичность лекарственное средство. Согласно одному варианту осуществления средство вводят субъекту в то же самое время, что и воздействуют на субъект индуцирующим кардиотоксичность лекарственным средством. Согласно одному варианту осуществления средство вводят субъекту до начала воздействия на субъект индуцирующим кардиотоксичность лекарственным средством.

В настоящем изобретении дополнительно предусмотрены способы ослабления, снижения или предотвращения индуцированной лекарственным средством кардиотоксичности у нуждающегося в этом субъекта, включающий введение коэнзима Q10 субъекту (например, млекопитающему, человеку или отличному от человека животному), тем самым уменьшая или предотвращая индуцированную лекарственным средством кардиотоксичность у субъекта. Согласно одному варианту осуществления коэнзим Q10 вводят субъекту, которому уже вводили индуцирующее кардиотоксичность лекарственное средство. Согласно одному варианту осуществления коэнзим Q10 вводят субъекту в то же самое время, что и воздействуют на субъект индуцирующим кардиотоксичность лекарственным средством. Согласно одному варианту осуществления коэнзим Q10 вводят субъекту до начала воздействия на субъект индуцирующим кардиотоксичность лекарственным средством. Согласно одному варианту осуществления индуцированная лекарственным средством кардиотоксичность связана с модуляцией экспрессии одного, двух, трех, четырех, пяти, шести, семи, восьми, девяти или всех десяти биомаркеров, выбранных из группы, состоящей из GRP78, GRP75, TIMP1, PTX3, HSP76, PDIA4, PDIA1, CA2D1, GPAT1 и TAZ. Все значения, представленные в вышеизложенном списке, также могут представлять собой верхний или нижний предел диапазонов, которые предназначены, чтобы быть частью этого изобретения, например, от 1 до 5, от 1 до 10, от 2 до 5, от 2 до 10 или от 5 до 10 вышеуказанных генов (или белков).

В настоящем изобретении дополнительно предусмотрены биомаркеры (например, гены и/или белки), которые применимы в качестве предсказывающих маркеров кардиотоксичности, например, индуцированной лекарственным средством кардиотоксичности. Эти биомаркеры включают в себя GRP78, GRP75, TIMP1, PTX3, HSP76, PDIA4, PDIA1, CA2D1, GPAT1 и TAZ. Специалист в настоящей области техники, однако, способен идентифицировать дополнительные биомаркеры, прогнозирующие индуцированную лекарственным средством кардиотоксичность, используя описанные в настоящем документе способы, например, путем осуществления описанных в примере 3 способов, но с использованием другого лекарственного средства известного, как вызывающее кардиотоксичность. Примеры биомаркеров индуцированной лекарственным средством кардиотоксичности согласно настоящему изобретению дополнительно описаны ниже.

GRP78 и GRP75 также упоминаются как глюкозо-регулируемые белки. Эти белки связаны с эндо/саркоплазматическим ретикуломом (ER стресс) кардиомиоцитов. SERCA, или кальциевая АТФаза саркоэндоплазматического ретикулума, регулирует гомеостаз Ca в клетках сердца. Любое разрушение этих АТФаз может приводить к сердечной дисфункции и сердечной недостаточности. Основываясь на предусмотренных в настоящем документе данных, GRP75 и GRP78 и ребра вокруг них представляют собой новые прогностические факторы индуцированной лекарственным средством кардиотоксичности.

TIMP1, также упоминаемый как ингибитор 1 металлопротеазы TIMP, участвует в ремоделировании внеклеточного матрикса в сочетании с MMP. Экспрессия TIMP1 коррелирует с фиброзом сердца, и гипоксия сосудистых эндотелиальных клеток также индуцирует экспрессию TIMP1. Основываясь на предусмотренных в настоящем документе данных, TIMP1 представляют собой новый прогностический фактор индуцированной лекарственным средством кардиотоксичности.

PTX3, также упоминаемый как пентраксин-3, принадлежит к семейству С-реактивных белков (CRP) и представляет собой хороший маркер воспалительного состояния сердца. Тем не менее, PTX3 плазмы также может быть представителем системного воспалительного ответа в связи с сепсисом или другими медицинскими состояниями. Основываясь на предусмотренных в настоящем документе данных, PTX3 может быть новым маркером сердечной функции или кардиотоксичности. Кроме того, связанные с PTX3 в сети ребра могут образовать новую панель биомаркеров.

HSP76, также упоминаемый как HSPA6, известен только тем, что экспрессируется в эндотелиальных клетках и В-лимфоцитах. Не известна роль этого белка в сердечной функции. Основываясь на пре-

дусмотренных в настоящем документе данных, HSP76 может быть новым прогностическим фактором индуцированной лекарственным средством кардиотоксичности.

PDIA4, PDIA1, также упоминаемые как белки семейства А протеиндисульфидизомеразы, связаны со стрессовой реакцией ER, подобно GRP. Не известна роль этих белков в сердечной функции. Основываясь на предусмотренных в настоящем документе данных, эти белки могут быть новыми прогностическими факторами индуцированной лекарственным средством кардиотоксичности.

CA2D1, также упоминаемый как кальциевый канал, потенциал зависимый, субъединица альфа-2/дельта. Субъединица альфа-2/дельта потенциал зависимого кальциевого канала регулирует плотность потока кальция и кинетику активации/инактивации кальциевого канала. CA2D1 играет важную роль в электромеханическом сопряжении в сердце. Не известна роль этого белка в сердечной функции. Основываясь на предусмотренных в настоящем документе данных, CA2D1 представляет собой новый прогностический фактор индуцированной лекарственным средством кардиотоксичности.

GPAT1 представляет собой одну из четырех известных изоформ глицерин-3-фосфатацилтрансферазы, и расположен на наружной мембране митохондрий, что обеспечивает реципрокное регулирование с карнитин пальмитоил трансферазой-1. GPAT1 активируется транскрипционно инсулином и SREBP-1c и сильно подавляется AMP-активированной протеинкиназой, в соответствии с ролью в синтезе триацилглицерина. Основываясь на предусмотренных в настоящем документе данных, GPAT1 представляет собой новый прогностический фактор индуцированной лекарственным средством кардиотоксичности.

TAZ, также упоминаемый как тафаззин, экспрессируется на высоком уровне в сердечной и скелетных мышцах. TAZ участвует в метаболизме кардиолипина и функционирует как фосфолипид-лизофосфолипид трансацилаза. Тафаззин отвечает за ремоделирование фосфолипидов кардиолипина (CL), сигнатурного липида внутренней мембраны митохондрий. Основываясь на предусмотренных в настоящем документе данных, TAZ представляет собой новый прогностический фактор индуцированной лекарственным средством кардиотоксичности.

В. Связанные со злокачественной опухолью маркеры.

Настоящее изобретение основано, по меньшей мере частично, на идентификации новых биомаркеров, которые связаны со злокачественной опухолью. Такие маркеры, связанные со злокачественной опухолью, включают в себя, например, HSPA8, FLNB, PARK7, HSPA1A/HSPA1B, ST13, TUBB3, MIF, KARS, NARS, LGALS1, DDX17, EIF5A, HSPA5, DHX9, HNRNPC, CKAP4, HSPA9, PARP1, HADHA, PHB2, ATP5A1 и/или CANX. Согласно некоторым вариантам осуществления маркеры согласно настоящему изобретению представляют собой сочетание по меньшей мере двух, трех, четырех, пяти, шести, семи, восьми, девяти, десяти, одиннадцати, двенадцати, тринадцати, четырнадцати, пятнадцати, шестнадцати, семнадцати, восемнадцати, девятнадцати, двадцати или более из вышеуказанных маркеров.

Таким образом, в настоящем изобретении предусмотрены способы идентификации средства, которое вызывает или характеризуется риском индуцирования злокачественной опухоли. Согласно одному варианту осуществления средство представляет собой лекарственное средство или кандидатное лекарственное средство. В этих способах оценивают количество одного или нескольких биомаркеров/белков в паре образцов (первый образец не подвергают медикаментозному лечению, а второй образец подвергают обработке лекарственным средством). Модуляция уровня экспрессии одного или нескольких биомаркеров во втором образце по сравнению с первым образцом представляет собой показатель того, что лекарственное средство вызывает или подвергает риску получения злокачественной опухоли. Согласно одному варианту осуществления один или несколько биомаркеров выбирают из группы, состоящей из HSPA8, FLNB, PARK7, HSPA1A/HSPA1B, ST13, TUBB3, MIF, KARS, NARS, LGALS1, DDX17, EIF5A, HSPA5, DHX9, HNRNPC, CKAP4, HSPA9, PARP1, HADHA, PHB2, ATP5A1 и CANX. Способы согласно настоящему изобретению могут быть осуществлены на практике в сочетании с любым другим способом, используемым специалистом в настоящей области техники, чтобы идентифицировать лекарственное средство, подвергающее риску развития злокачественной опухоли.

Согласно одному аспекту в настоящем изобретении предусмотрены способы оценки эффективности терапии для лечения злокачественной опухоли у субъекта, включающий: сравнение уровня экспрессии одного или нескольких маркеров, присутствующих в первом образце, полученном от субъекта перед введением по меньшей мере части схемы лечения субъекту, причем один или несколько маркеров выбирают из группы, состоящей из HSPA8, FLNB, PARK7, HSPA1A/HSPA1B, ST13, TUBB3, MIF, KARS, NARS, LGALS1, DDX17, EIF5A, HSPA5, DHX9, HNRNPC, CKAP4, HSPA9, PARP1, HADHA, PHB2, ATP5A1 и CANX; и уровня экспрессии одного или нескольких маркеров, присутствующих во втором образце, полученном от субъекта после введения по меньшей мере части схемы лечения, причем модуляции уровня экспрессии одного или нескольких маркеров во втором образце по сравнению с первым образцом представляет собой показатель того, что лечение эффективно для лечения злокачественной опухоли у субъекта.

Согласно одному варианту осуществления образец содержит жидкость, полученную от субъекта. Согласно одному варианту осуществления жидкость выбирают из группы, состоящей из жидкостей крови, слюны, рвоты, лимфы, кистозной жидкости, мочи, собранных с помощью бронхиального лаважа

жидкостей, собранных с помощью перитонеального полоскания жидкостей и гинекологических жидкостей. Согласно одному варианту осуществления образец представляет собой образец крови или ее компонент.

Согласно другому варианту осуществления образец содержит ткань или ее компонент, полученный от субъекта. Согласно одному варианту осуществления ткань выбирают из группы, состоящей из кости, соединительной ткани, хряща, легких, печени, почек, мышечной ткани, сердца, поджелудочной железы и кожи.

Согласно одному варианту осуществления субъект представляет собой человека.

Согласно одному варианту осуществления уровень экспрессии одного или нескольких маркеров в биологическом образце определяют путем анализа транскрибированного полинуклеотида или его части в образце. Согласно одному варианту осуществления анализируемый транскрибированный полинуклеотид содержит амплификацию транскрибированного полинуклеотида.

Согласно одному варианту осуществления уровень экспрессии маркера в образце субъекта определяют путем анализа белка или его части в образце. Согласно одному варианту осуществления белок анализируют с использованием реагента, который специфически связывается с белком.

Согласно одному варианту осуществления уровень экспрессии одного или нескольких маркеров в образце определяют с использованием техники, выбранной из группы, состоящей из полимеразной цепной реакции (ПЦР) реакции амплификации, анализа с помощью ПЦР обратной транскриптазы, анализа одноцепочечного конформационного полиморфизма (SSCP), обнаружения расщепления ошибочно спаренных оснований, гетеродуплексного анализа, саузерн-блот анализа, нозерн-блот анализа, вестерн-блот анализа, гибридизации *in situ*, матричного анализа, секвенирования дезоксирибонуклеиновой кислоты, анализа полиморфизма длин рестрикционных фрагментов и их комбинации или суб-комбинации.

Согласно одному варианту осуществления уровень экспрессии маркера в образце определяют с использованием техники, выбранной из группы, состоящей из иммуногистохимии, иммуноцитохимии, проточной цитометрии, ELISA и масс-спектрометрии.

Согласно одному варианту осуществления определяют уровень экспрессии множества маркеров.

Согласно одному варианту осуществления субъекта подвергают лечению терапией, выбранной из группы, состоящей из влияющего соединения окружающей среды, хирургии, лучевой, гормональной терапии, терапии с антителами, терапии с факторами роста, цитокинами, химиотерапии, аллогенной терапии стволовыми клетками. Согласно одному варианту осуществления влияющее соединение окружающей среды представляет собой молекулу коэнзима Q10.

В настоящем изобретении дополнительно предусмотрены способы оценки того, поражен ли субъект злокачественной опухолью, включающий: определение уровня экспрессии одного или нескольких маркеров, присутствующих в биологическом образце, полученном от субъекта, причем один или несколько маркеров выбирают из группы, состоящей из HSPA8, FLNB, PARK7, HSPA1A/HSPA1B, ST13, TUBB3, MIF, KARS, NARS, LGALS1, DDX17, EIF5A, HSPA5, DHX9, HNRNPC, CKAP4, HSPA9, PARP1, HADHA, PHB2, ATP5A1 и CANX; и сравнение уровня экспрессии одного или нескольких маркеров, присутствующих в биологическом образце, полученном от субъекта, с уровнем экспрессии одного или нескольких маркеров, присутствующих в контрольном образце, причем модуляция уровня экспрессии одного или нескольких маркеров в биологическом образце, полученном от субъекта, по отношению к уровню экспрессии одного или нескольких маркеров в контрольном образце, представляет собой показатель того, что субъект поражен злокачественной опухолью, тем самым оценивая, поражен ли субъект злокачественной опухолью.

Согласно одному варианту осуществления образец содержит жидкость, полученную от субъекта. Согласно одному варианту осуществления жидкость выбирают из группы, состоящей из жидкостей крови, рвоты, слюны, лимфы, кистозной жидкости, мочи, собранных с помощью бронхиального лаважа жидкостей, собранных с помощью перитонеального полоскания жидкостей и гинекологических жидкостей. Согласно одному варианту осуществления образец представляет собой образец крови или ее компонент.

Согласно другому варианту осуществления образец содержит ткань или ее компонент, полученный от субъекта. Согласно одному варианту осуществления ткань выбирают из группы, состоящей из кости, соединительной ткани, хряща, легких, печени, почек, мышечной ткани, сердца, поджелудочной железы и кожи.

Согласно одному варианту осуществления субъект представляет собой человека.

Согласно одному варианту осуществления уровень экспрессии одного или нескольких маркеров в биологическом образце определяют путем анализа транскрибированного полинуклеотида или его части в образце. Согласно одному варианту осуществления анализируемый транскрибированный полинуклеотид содержит амплификацию транскрибированного полинуклеотида.

Согласно одному варианту осуществления уровень экспрессии маркера в образце субъекта определяют путем анализа белка или его части в образце. Согласно одному варианту осуществления белок анализируют с использованием реагента, который специфически связывается с белком.

Согласно одному варианту осуществления уровень экспрессии одного или нескольких маркеров в образце определяют с использованием техники, выбранной из группы, состоящей из полимеразной цеп-

ной реакции (ПЦР) реакции амплификации, анализа с помощью ПЦР обратной транскриптазы, анализа одноцепочечного конформационного полиморфизма (SSCP), обнаружения расщепления ошибочно спаренных оснований, гетеродуплексного анализа, саузерн-блот анализа, нозерн-блот анализа, вестерн-блот анализа, гибридизации *in situ*, матричного анализа, секвенирования дезоксирибонуклеиновой кислоты, анализа полиморфизма длин рестрикционных фрагментов и их комбинации или суб-комбинации.

Согласно одному варианту осуществления уровень экспрессии маркера в образце определяют с использованием техники, выбранной из группы, состоящей из иммуногистохимии, иммуноцитохимии, проточной цитометрии, ELISA и масс-спектрометрии.

Согласно одному варианту осуществления определяют уровень экспрессии множества маркеров.

Согласно одному варианту осуществления субъекта подвергают лечению терапией, выбранной из группы, состоящей из влияющего соединения окружающей среды, хирургии, лучевой, гормональной терапии, терапии с антителами, терапии с факторами роста, цитокинами, химиотерапии, аллогенной терапии стволовыми клетками. Согласно одному варианту осуществления влияющее соединение окружающей среды представляет собой молекулу коэнзима Q10.

В настоящем изобретении дополнительно предусмотрены способы прогнозирования того, предрасположен ли субъект к развитию злокачественной опухоли, включающий: определение уровня экспрессии одного или нескольких маркеров, присутствующих в биологическом образце, полученном от субъекта, причем один или несколько маркеров выбирают из группы, состоящей из HSPA8, FLNB, PARK7, HSPA1A/HSPA1B, ST13, TUBB3, MIF, KARS, NARS, LGALS1, DDX17, EIF5A, HSPA5, DHX9, HNRNPC, SKAP4, HSPA9, PARP1, HADHA, PHB2, ATP5A1 и CANX; и сравнение уровня экспрессии одного или нескольких маркеров, присутствующих в биологическом образце, полученном от субъекта, с уровнем экспрессии одного или нескольких маркеров, присутствующих в контрольном образце, причем модуляция уровня экспрессии одного или нескольких маркеров в биологическом образце, полученном от субъекта, по отношению к уровню экспрессии одного или нескольких маркеров в контрольном образце, представляет собой показатель того, что субъект предрасположен к развитию злокачественной опухоли, тем самым оценивая, предрасположен ли субъект к развитию злокачественной опухоли.

Согласно одному варианту осуществления образец содержит жидкость, полученную от субъекта. Согласно одному варианту осуществления жидкость выбирают из группы, состоящей из жидкостей крови, рвоты, слюны, лимфы, кистозной жидкости, мочи, собранных с помощью бронхиального лаважа жидкостей, собранных с помощью перитонеального полоскания жидкостей и гинекологических жидкостей. Согласно одному варианту осуществления образец представляет собой образец крови или ее компонент.

Согласно другому варианту осуществления образец содержит ткань или ее компонент, полученный от субъекта. Согласно одному варианту осуществления ткань выбирают из группы, состоящей из кости, соединительной ткани, хряща, легких, печени, почек, мышечной ткани, сердца, поджелудочной железы и кожи.

Согласно одному варианту осуществления субъект представляет собой человека.

Согласно одному варианту осуществления уровень экспрессии одного или нескольких маркеров в биологическом образце определяют путем анализа транскрибированного полинуклеотида или его части в образце. Согласно одному варианту осуществления анализируемый транскрибированный полинуклеотид содержит амплификацию транскрибированного полинуклеотида.

Согласно одному варианту осуществления уровень экспрессии маркера в образце субъекта определяют путем анализа белка или его части в образце. Согласно одному варианту осуществления белок анализируют с использованием реагента, который специфически связывается с белком.

Согласно одному варианту осуществления уровень экспрессии одного или нескольких маркеров в образце определяют с использованием техники, выбранной из группы, состоящей из полимеразной цепной реакции (ПЦР) реакции амплификации, анализа с помощью ПЦР обратной транскриптазы, анализа одноцепочечного конформационного полиморфизма (SSCP), обнаружения расщепления ошибочно спаренных оснований, гетеродуплексного анализа, саузерн-блот анализа, нозерн-блот анализа, вестерн-блот анализа, гибридизации *in situ*, матричного анализа, секвенирования дезоксирибонуклеиновой кислоты, анализа полиморфизма длин рестрикционных фрагментов и их комбинации или суб-комбинации.

Согласно одному варианту осуществления уровень экспрессии маркера в образце определяют с использованием техники, выбранной из группы, состоящей из иммуногистохимии, иммуноцитохимии, проточной цитометрии, ELISA и масс-спектрометрии.

Согласно одному варианту осуществления определяют уровень экспрессии множества маркеров.

Согласно одному варианту осуществления субъекта подвергают лечению терапией, выбранной из группы, состоящей из влияющего соединения окружающей среды, хирургии, лучевой, гормональной терапии, терапии с антителами, терапии с факторами роста, цитокинами, химиотерапии, аллогенной терапии стволовыми клетками. Согласно одному варианту осуществления влияющее соединение окружающей среды представляет собой молекулу коэнзима Q10.

В настоящем изобретении дополнительно предусмотрены способы прогнозирования рецидива злокачественной опухоли у субъекта, включающий определение уровня экспрессии одного или нескольких маркеров, присутствующих в биологическом образце, полученном от субъекта, причем один или не-

сколько маркеров выбирают из группы, состоящей из HSPA8, FLNB, PARK7, HSPA1A/HSPA1B, ST13, TUBB3, MIF, KARS, NARS, LGALS1, DDX17, EIF5A, HSPA5, DHX9, HNRNPC, SKAP4, HSPA9, PARP1, HADHA, PHB2, ATP5A1 и CANX; и сравнение уровня экспрессии одного или нескольких маркеров, присутствующих в биологическом образце, полученном от субъекта, с уровнем экспрессии одного или нескольких маркеров, присутствующих в контрольном образце, причем модуляция уровня экспрессии одного или нескольких маркеров в биологическом образце, полученном от субъекта, по отношению к уровню экспрессии одного или нескольких маркеров в контрольном образце, представляет собой показатель рецидива злокачественная опухоли, тем самым прогнозируя рецидив злокачественной опухоли у субъекта.

Согласно одному варианту осуществления образец содержит жидкость, полученную от субъекта. Согласно одному варианту осуществления жидкость выбирают из группы, состоящей из жидкостей крови, рвоты, слюны, лимфы, кистозной жидкости, мочи, собранных с помощью бронхиального лаважа жидкостей, собранных с помощью перитонеального полоскания жидкостей и гинекологических жидкостей. Согласно одному варианту осуществления образец представляет собой образец крови или ее компонент.

Согласно другому варианту осуществления образец содержит ткань или ее компонент, полученный от субъекта. Согласно одному варианту осуществления ткань выбирают из группы, состоящей из кости, соединительной ткани, хряща, легких, печени, почек, мышечной ткани, сердца, поджелудочной железы и кожи.

Согласно одному варианту осуществления субъект представляет собой человека.

Согласно одному варианту осуществления уровень экспрессии одного или нескольких маркеров в биологическом образце определяют путем анализа транскрибированного полинуклеотида или его части в образце. Согласно одному варианту осуществления анализируемый транскрибированный полинуклеотид содержит амплификацию транскрибированного полинуклеотида.

Согласно одному варианту осуществления уровень экспрессии маркера в образце субъекта определяют путем анализа белка или его части в образце. Согласно одному варианту осуществления белок анализируют с использованием реагента, который специфически связывается с белком.

Согласно одному варианту осуществления уровень экспрессии одного или нескольких маркеров в образце определяют с использованием техники, выбранной из группы, состоящей из полимеразной цепной реакции (ПЦР) реакции амплификации, анализа с помощью ПЦР обратной транскриптазы, анализа одноцепочечного конформационного полиморфизма (SSCP), обнаружения расщепления ошибочно спаренных оснований, гетеродуплексного анализа, саузерн-блот анализа, нозерн-блот анализа, вестерн-блот анализа, гибридизации *in situ*, матричного анализа, секвенирования дезоксирибонуклеиновой кислоты, анализа полиморфизма длин рестрикционных фрагментов и их комбинации или суб-комбинации.

Согласно одному варианту осуществления уровень экспрессии маркера в образце определяют с использованием техники, выбранной из группы, состоящей из иммуногистохимии, иммуноцитохимии, проточной цитометрии, ELISA и масс-спектрометрии.

Согласно одному варианту осуществления определяют уровень экспрессии множества маркеров.

Согласно одному варианту осуществления субъекта подвергают лечению терапией, выбранной из группы, состоящей из влияющего соединения окружающей среды, хирургии, лучевой, гормональной терапии, терапии с антителами, терапии с факторами роста, цитокинами, химиотерапии, аллогенной терапии стволовыми клетками. Согласно одному варианту осуществления влияющее соединение окружающей среды представляет собой молекулу коэнзима Q10.

В настоящем изобретении дополнительно предусмотрены способы прогнозирования выживания субъекта со злокачественной опухолью, включающий определение уровня экспрессии одного или нескольких маркеров, присутствующих в биологическом образце, полученном от субъекта, причем один или несколько маркеров выбирают из группы, состоящей из HSPA8, FLNB, PARK7, HSPA1A/HSPA1B, ST13, TUBB3, MIF, KARS, NARS, LGALS1, DDX17, EIF5A, HSPA5, DHX9, HNRNPC, SKAP4, HSPA9, PARP1, HADHA, PHB2, ATP5A1 и CANX; и сравнение уровня экспрессии одного или нескольких маркеров, присутствующих в биологическом образце, полученном от субъекта, с уровнем экспрессии одного или нескольких маркеров, присутствующих в контрольном образце, причем модуляция уровня экспрессии одного или нескольких маркеров в биологическом образце, полученном от субъекта, по отношению к уровню экспрессии одного или нескольких маркеров в контрольном образце, представляет собой показатель выживания субъекта, тем самым прогнозируя выживание субъекта со злокачественной опухолью.

Согласно одному варианту осуществления образец содержит жидкость, полученную от субъекта. Согласно одному варианту осуществления жидкость выбирают из группы, состоящей из жидкостей крови, рвоты, слюны, лимфы, кистозной жидкости, мочи, собранных с помощью бронхиального лаважа жидкостей, собранных с помощью перитонеального полоскания жидкостей и гинекологических жидкостей.

Согласно одному варианту осуществления образец представляет собой образец крови или ее компонент.

Согласно другому варианту осуществления образец содержит ткань или ее компонент, полученный

от субъекта. Согласно одному варианту осуществления ткань выбирают из группы, состоящей из кости, соединительной ткани, хряща, легких, печени, почек, мышечной ткани, сердца, поджелудочной железы и кожи.

Согласно одному варианту осуществления субъект представляет собой человека.

Согласно одному варианту осуществления уровень экспрессии одного или нескольких маркеров в биологическом образце определяют путем анализа транскрибированного полинуклеотида или его части в образце. Согласно одному варианту осуществления анализируемый транскрибированный полинуклеотид содержит амплификацию транскрибированного полинуклеотида.

Согласно одному варианту осуществления уровень экспрессии маркера в образце субъекта определяют путем анализа белка или его части в образце. Согласно одному варианту осуществления белок анализируют с использованием реагента, который специфически связывается с белком.

Согласно одному варианту осуществления уровень экспрессии одного или нескольких маркеров в образце определяют с использованием техники, выбранной из группы, состоящей из полимеразной цепной реакции (ПЦР) реакции амплификации, анализа с помощью ПЦР обратной транскриптазы, анализа одноцепочечного конформационного полиморфизма (SSCP), обнаружения расщепления ошибочно спаренных оснований, гетеродуплексного анализа, саузерн-блот анализа, нозерн-блот анализа, вестерн-блот анализа, гибридизации *in situ*, матричного анализа, секвенирования дезоксирибонуклеиновой кислоты, анализа полиморфизма длин рестрикционных фрагментов и их комбинации или суб-комбинации.

Согласно одному варианту осуществления уровень экспрессии маркера в образце определяют с использованием техники, выбранной из группы, состоящей из иммуногистохимии, иммуноцитохимии, проточной цитометрии, ELISA и масс-спектрометрии.

Согласно одному варианту осуществления определяют уровень экспрессии множества маркеров.

Согласно одному варианту осуществления субъекта подвергают лечению терапией, выбранной из группы, состоящей из влияющего соединения окружающей среды, хирургии, лучевой, гормональной терапии, терапии с антителами, терапии с факторами роста, цитокинами, химиотерапии, аллогенной терапии стволовыми клетками. Согласно одному варианту осуществления влияющее соединение окружающей среды представляет собой молекулу коэнзима Q10.

В настоящем изобретении дополнительно предусмотрены способы контроля прогрессирования злокачественной опухоли у субъекта, включающий: сравнение уровня экспрессии одного или нескольких маркеров, присутствующих в первом образце, полученном от субъекта перед введением по меньшей мере части схемы лечения субъекту, и уровнем экспрессии одного или нескольких маркеров, присутствующих во втором образце, полученном от субъекта после введения по меньшей мере части схемы лечения, причем один или несколько маркеров выбирают из группы, состоящей из HSPA8, FLNB, PARK7, HSPA1A/HSPA1B, ST13, TUBB3, MIF, KARS, NARS, LGALS1, DDX17, EIF5A, HSPA5, DHX9, HNRNPC, SKAP4, HSPA9, PARP1, HADHA, PHB2, ATP5A1 и CANX, тем самым контролируя прогрессирование злокачественной опухоли у субъекта.

Согласно одному варианту осуществления образец содержит жидкость, полученную от субъекта. Согласно одному варианту осуществления жидкость выбирают из группы, состоящей из жидкостей крови, рвоты, слюны, лимфы, кистозной жидкости, мочи, собранных с помощью бронхиального лаважа жидкостей, собранных с помощью перитонеального полоскания жидкостей и гинекологических жидкостей. Согласно одному варианту осуществления образец представляет собой образец крови или ее компонент.

Согласно другому варианту осуществления образец содержит ткань или ее компонент, полученный от субъекта. Согласно одному варианту осуществления ткань выбирают из группы, состоящей из кости, соединительной ткани, хряща, легких, печени, почек, мышечной ткани, сердца, поджелудочной железы и кожи.

Согласно одному варианту осуществления субъект представляет собой человека.

Согласно одному варианту осуществления уровень экспрессии одного или нескольких маркеров в биологическом образце определяют путем анализа транскрибированного полинуклеотида или его части в образце. Согласно одному варианту осуществления анализируемый транскрибированный полинуклеотид содержит амплификацию транскрибированного полинуклеотида.

Согласно одному варианту осуществления уровень экспрессии маркера в образце субъекта определяют путем анализа белка или его части в образце. Согласно одному варианту осуществления белок анализируют с использованием реагента, который специфически связывается с белком.

Согласно одному варианту осуществления уровень экспрессии одного или нескольких маркеров в образце определяют с использованием техники, выбранной из группы, состоящей из полимеразной цепной реакции (ПЦР) реакции амплификации, анализа с помощью ПЦР обратной транскриптазы, анализа одноцепочечного конформационного полиморфизма (SSCP), обнаружения расщепления ошибочно спаренных оснований, гетеродуплексного анализа, саузерн-блот анализа, нозерн-блот анализа, вестерн-блот анализа, гибридизации *in situ*, матричного анализа, секвенирования дезоксирибонуклеиновой кислоты, анализа полиморфизма длин рестрикционных фрагментов и их комбинации или суб-комбинации.

Согласно одному варианту осуществления уровень экспрессии маркера в образце определяют с ис-

пользованием техники, выбранной из группы, состоящей из иммуногистохимии, иммуноцитохимии, проточной цитометрии, ELISA и масс-спектрометрии.

Согласно одному варианту осуществления определяют уровень экспрессии множества маркеров.

Согласно одному варианту осуществления субъекта подвергают лечению терапией, выбранной из группы, состоящей из влияющего соединения окружающей среды, хирургии, лучевой, гормональной терапии, терапии с антителами, терапии с факторами роста, цитокинами, химиотерапии, аллогенной терапии стволовыми клетками. Согласно одному варианту осуществления влияющее соединение окружающей среды представляет собой молекулу коэнзима Q10.

В настоящем изобретении дополнительно предусмотрены способы идентификации соединения для лечения злокачественной опухоли у субъекта, включающий получение биологического образца от субъекта; контактирование биологического образца с исследуемым соединением; определение уровня экспрессии одного или нескольких маркеров, присутствующих в биологическом образце, полученном от субъекта, причем один или несколько маркеров выбирают из группы, состоящей из HSPA8, FLNB, PARK7, HSPA1A/HSPA1B, ST13, TUBB3, MIF, KARS, NARS, LGALS1, DDX17, EIF5A, HSPA5, DHX9, HNRNPC, SKAP4, HSPA9, PARP1, HADHA, PHB2, ATP5A1 и CANX с положительной кратностью изменения и/или с отрицательной кратностью изменения; сравнение уровня экспрессии одного или нескольких маркеров в биологическом образце с соответствующим контролем; и выбор исследуемого соединения, которое снижает уровень экспрессии одного или нескольких маркеров с отрицательной кратностью изменения, присутствующей в биологическом образце, и/или увеличивает уровень экспрессии одного или нескольких маркеров с положительной кратностью изменения, присутствующей в биологическом образце, тем самым идентифицируя соединение для лечения злокачественной опухоли у субъекта.

Согласно одному варианту осуществления образец содержит жидкость, полученную от субъекта. Согласно одному варианту осуществления жидкость выбирают из группы, состоящей из жидкостей крови, рвоты, слюны, лимфы, кистозной жидкости, мочи, собранных с помощью бронхиального лаважа жидкостей, собранных с помощью перитонеального полоскания жидкостей и гинекологических жидкостей. Согласно одному варианту осуществления образец представляет собой образец крови или ее компонент.

Согласно другому варианту осуществления образец содержит ткань или ее компонент, полученный от субъекта. Согласно одному варианту осуществления ткань выбирают из группы, состоящей из кости, соединительной ткани, хряща, легких, печени, почек, мышечной ткани, сердца, поджелудочной железы и кожи.

Согласно одному варианту осуществления субъект представляет собой человека.

Согласно одному варианту осуществления уровень экспрессии одного или нескольких маркеров в биологическом образце определяют путем анализа транскрибированного полинуклеотида или его части в образце. Согласно одному варианту осуществления анализируемый транскрибированный полинуклеотид содержит амплификацию транскрибированного полинуклеотида.

Согласно одному варианту осуществления уровень экспрессии маркера в образце субъекта определяют путем анализа белка или его части в образце. Согласно одному варианту осуществления белок анализируют с использованием реагента, который специфически связывается с белком.

Согласно одному варианту осуществления уровень экспрессии одного или нескольких маркеров в образце определяют с использованием техники, выбранной из группы, состоящей из полимеразной цепной реакции (ПЦР) реакции амплификации, анализа с помощью ПЦР обратной транскриптазы, анализа одноцепочечного конформационного полиморфизма (SSCP), обнаружения расщепления ошибочно спаренных оснований, гетеродуплексного анализа, саузерн-блот анализа, нозерн-блот анализа, вестерн-блот анализа, гибридизации *in situ*, матричного анализа, секвенирования дезоксирибонуклеиновой кислоты, анализа полиморфизма длин рестрикционных фрагментов и их комбинации или суб-комбинации.

Согласно одному варианту осуществления уровень экспрессии маркера в образце определяют с использованием техники, выбранной из группы, состоящей из иммуногистохимии, иммуноцитохимии, проточной цитометрии, ELISA и масс-спектрометрии.

Согласно одному варианту осуществления определяют уровень экспрессии множества маркеров.

Согласно одному варианту осуществления субъекта подвергают лечению терапией, выбранной из группы, состоящей из влияющего соединения окружающей среды, хирургии, лучевой, гормональной терапии, терапии с антителами, терапии с факторами роста, цитокинами, химиотерапии, аллогенной терапии стволовыми клетками. Согласно одному варианту осуществления влияющее соединение окружающей среды представляет собой молекулу коэнзима Q10.

В настоящем изобретении дополнительно предусмотрен набор для оценки эффективности терапии для лечения злокачественной опухоли, набор, содержащий реагенты для определения уровня экспрессии по меньшей мере одного маркера, выбранного из группы, состоящей из HSPA8, FLNB, PARK7, HSPA1A/HSPA1B, ST13, TUBB3, MIF, KARS, NARS, LGALS1, DDX17, EIF5A, HSPA5, DHX9, HNRNPC, SKAP4, HSPA9, PARP1, HADHA, PHB2, ATP5A1 и CANX, и инструкции по применению набора для оценки эффективности терапии для лечения злокачественной опухоли.

В настоящем изобретении дополнительно предусмотрен набор для оценки того, поражен ли субъект

злокачественной опухолью, набор, содержащий реагенты для определения уровня экспрессии по меньшей мере одного маркера, выбранного из группы, состоящей из HSPA8, FLNB, PARK7, HSPA1A/HSPA1B, ST13, TUBB3, MIF, KARS, NARS, LGALS1, DDX17, EIF5A, HSPA5, DHX9, HNRNPC, CKAP4, HSPA9, PARP1, HADHA, PHB2, ATP5A1 и CANX, и инструкции по применению набора для оценки того, поражен ли субъект злокачественной опухолью.

В настоящем изобретении дополнительно предусмотрен набор для оценки того, предрасположен ли субъект к развитию злокачественной опухоли, набор, содержащий реагенты для определения уровня экспрессии по меньшей мере одного маркера, выбранного из группы, состоящей из HSPA8, FLNB, PARK7, HSPA1A/HSPA1B, ST13, TUBB3, MIF, KARS, NARS, LGALS1, DDX17, EIF5A, HSPA5, DHX9, HNRNPC, CKAP4, HSPA9, PARP1, HADHA, PHB2, ATP5A1 и CANX, и инструкции по применению набора для оценки того, предрасположен ли субъект к развитию злокачественной опухоли.

В настоящем изобретении дополнительно предусмотрен набор для прогнозирования рецидива злокачественной опухоли у субъекта, набор, содержащий реагенты для оценки уровня экспрессии по меньшей мере одного маркера, выбранного из группы, состоящей из HSPA8, FLNB, PARK7, HSPA1A/HSPA1B, ST13, TUBB3, MIF, KARS, NARS, LGALS1, DDX17, EIF5A, HSPA5, DHX9, HNRNPC, CKAP4, HSPA9, PARP1, HADHA, PHB2, ATP5A1 и CANX, и инструкции по применению набора для прогнозирования рецидива злокачественной опухоли.

В настоящем изобретении дополнительно предусмотрен набор для прогнозирования рецидива злокачественной опухоли, набор, содержащий реагенты для определения уровня экспрессии по меньшей мере одного маркера, выбранного из группы, состоящей из HSPA8, FLNB, PARK7, HSPA1A/HSPA1B, ST13, TUBB3, MIF, KARS, NARS, LGALS1, DDX17, EIF5A, HSPA5, DHX9, HNRNPC, CKAP4, HSPA9, PARP1, HADHA, PHB2, ATP5A1 и CANX, и инструкции по применению набора для прогнозирования рецидива злокачественной опухоли.

В настоящем изобретении дополнительно предусмотрен набор для прогнозирования выживания субъекта со злокачественной опухолью, набор, содержащий реагенты для определения уровня экспрессии по меньшей мере одного маркера, выбранного из группы, состоящей из HSPA8, FLNB, PARK7, HSPA1A/HSPA1B, ST13, TUBB3, MIF, KARS, NARS, LGALS1, DDX17, EIF5A, HSPA5, DHX9, HNRNPC, CKAP4, HSPA9, PARP1, HADHA, PHB2, ATP5A1 и CANX, и инструкции по применению набора для прогнозирования выживания субъекта со злокачественной опухолью.

В настоящем изобретении дополнительно предусмотрен набор для контроля прогрессирования злокачественной опухоли у субъекта, набор, содержащий реагенты для определения уровня экспрессии по меньшей мере одного маркера, выбранного из группы, состоящей из HSPA8, FLNB, PARK7, HSPA1A/HSPA1B, ST13, TUBB3, MIF, KARS, NARS, LGALS1, DDX17, EIF5A, HSPA5, DHX9, HNRNPC, CKAP4, HSPA9, PARP1, HADHA, PHB2, ATP5A1 и CANX, и инструкции по применению набора для прогнозирования прогрессирования злокачественной опухоли у субъекта.

Наборы согласно настоящему изобретению могут дополнительно содержать средства для получения биологического образца от субъекта, контрольного образца и/или влияющего соединения окружающей среды.

Средства для определения уровня экспрессии по меньшей мере одного маркера могут содержать средства для анализа транскрибированного полинуклеотида или его части в образце и/или средства для анализа белка или его части в образце.

Согласно одному варианту осуществления наборы содержат реагенты для определения уровня экспрессии множества маркеров.

Различные аспекты настоящего изобретения будут описаны более подробно в следующих подразделах.

### С. Выделенные молекулы нуклеиновых кислот.

Один аспект настоящего изобретения относится к выделенным молекулам нуклеиновых кислот, включающим в себя нуклеиновые кислоты, которые кодируют маркерный белок или его часть. Выделенные нуклеиновые кислоты согласно настоящему изобретению также включают в себя молекулы нуклеиновых кислот, достаточные для использования в качестве зондов гибридизации для идентификации молекул маркерных нуклеиновых кислот, и фрагменты маркерных молекул нуклеиновых кислот, например, пригодные для использования в качестве ПЦР-праймеров для амплификации или мутации молекул маркерных нуклеиновых кислот. Используемый в настоящем документе термин "молекула нуклеиновой кислоты" предназначен для включения молекул ДНК (например, кДНК или геномной ДНК) и молекул РНК (например, мРНК) и аналогов ДНК или РНК, полученных с использованием нуклеотидных аналогов. Молекула нуклеиновой кислоты может быть одноцепочечной или двухцепочечной, но предпочтительно представляет собой двухцепочечную ДНК.

"Выделенная" молекула нуклеиновой кислоты представляет собой ту, которая отделена от других молекул нуклеиновых кислот, которые присутствуют в природном источнике молекулы нуклеиновой кислоты. Согласно одному варианту осуществления "выделенная" молекула нуклеиновой кислоты представляет собой свободную от последовательностей (предпочтительно кодирующих белки последовательностей), которые в норме фланкируют нуклеиновую кислоту (т.е. последовательности, расположенные

на 5' и 3' концах нуклеиновой кислоты) в геномной ДНК организма, из которого нуклеиновая кислота получена. Например, согласно различным вариантам осуществления выделенная молекула нуклеиновой кислоты может содержать менее чем приблизительно 5, 4, 3, 2, 1, 0,5 или 0,1 т.п.н. нуклеотидных последовательностей, которые в норме фланкируют молекулу нуклеиновой кислоты в геномной ДНК клетки, из которой нуклеиновая кислота получена. Согласно другому варианту осуществления "выделенная" молекула нуклеиновой кислоты, такая как молекула кДНК, может быть по существу свободна от другого клеточного материала или культуральной среды при получении рекомбинантными способами или по существу свободна от химических предшественников или других химических веществ при химическом синтезе. Молекула нуклеиновой кислоты, которая по существу не содержит клеточный материал, включает в себя препараты, содержащие меньше чем приблизительно 30, 20, 10 или 5% гетерологичной нуклеиновой кислоты (также называемой в настоящем документе как "загрязняющая нуклеиновая кислота").

Молекула нуклеиновой кислоты согласно настоящему изобретению может быть выделена с использованием стандартных способов молекулярной биологии и информации о последовательности в записях баз данных, описанных в настоящем документе. Используя все или части таких последовательностей нуклеиновых кислот, молекулы нуклеиновой кислоты согласно настоящему изобретению могут быть выделены с использованием стандартных техник гибридизации и клонирования (например, как описано в Sambrook et al., ed, *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, 2nd ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY, 1989).

Молекула нуклеиновой кислоты согласно настоящему изобретению может быть амплифицирована с использованием кДНК, мРНК или геномной ДНК в качестве шаблона и соответствующих олигонуклеотидных праймеров в соответствии со стандартными техниками ПЦР-амплификации. Нуклеиновая кислота, таким образом амплифицированная, может быть клонирована в подходящий вектор и охарактеризована путем анализа последовательности ДНК. Кроме того, нуклеотиды, соответствующие всей или части молекулы нуклеиновой кислоты согласно настоящему изобретению могут быть получены с помощью стандартных синтетических техник, например, с использованием автоматического ДНК-синтезатора.

Согласно другому предпочтительному варианту осуществления выделенная молекула нуклеиновой кислоты согласно настоящему изобретению содержит молекулу нуклеиновой кислоты, которая содержит нуклеотидную последовательность, комплементарную нуклеотидной последовательности маркерной нуклеиновой кислоты или нуклеотидной последовательности нуклеиновой кислоты, кодирующей маркерный белок. Молекула нуклеиновой кислоты, которая комплементарна данной нуклеотидной последовательности, представляет собой ту, которая достаточно комплементарна данной нуклеотидной последовательности, которую может гибридизовать до данной нуклеотидной последовательности, таким образом, образуя стабильный дуплекс.

Кроме того, молекула нуклеиновой кислоты согласно настоящему изобретению может содержать только часть последовательности нуклеиновой кислоты, причем полноразмерная последовательность нуклеиновой кислоты содержит маркерную нуклеиновую кислоту или ту, которая кодирует маркерный белок. Такие нуклеиновые кислоты могут быть использованы, например, в качестве зонда или праймера. Зонд/праймер обычно используется в качестве одного или нескольких, по существу, очищенных олигонуклеотидов. Олигонуклеотид, как правило, содержит область нуклеотидной последовательности, которая гибридизует в строгих условиях по меньшей мере приблизительно 7, предпочтительно приблизительно 15, более предпочтительно приблизительно 25, 50, 75, 100, 125, 150, 175, 200, 250, 300, 350 или 400 или более последовательных нуклеотидов нуклеиновой кислоты согласно настоящему изобретению.

Зонды, на основе последовательности молекулы нуклеиновой кислоты согласно настоящему изобретению, могут быть использованы для обнаружения транскриптов или геномных последовательностей, соответствующих одному или нескольким маркерам согласно настоящему изобретению. Зонд содержит меченую группу, присоединенную к нему, например, радиоактивный изотоп, флуоресцентное соединение, фермент или кофактор фермента. Такие зонды могут быть использованы как часть диагностического набора для идентификации клеток или тканей, которые неправильно экспрессируют белок, например, путем измерения содержания молекулы нуклеиновой кислоты, кодирующей белок в образце клеток от субъекта, например, обнаружения содержания мРНК или определения того, был ли мутирован кодирующий белок ген или удален.

Кроме того, изобретение охватывает молекулы нуклеиновых кислот, которые отличаются из-за вырожденности генетического кода от нуклеотидной последовательности нуклеиновых кислот, кодирующих маркерный белок, и, таким образом, кодируют тот же белок.

Специалистам в настоящей области техники будет понятно, что полиморфизмы последовательностей ДНК, которые приводят к изменениям в аминокислотной последовательности, могут существовать в популяции (например, человеческой популяции). Такие генетические полиморфизмы могут существовать среди особей в пределах популяции за счет естественной аллельной вариации. Аллель представляет собой один из группы генов, которые происходят альтернативно в данном генетическом локусе. Кроме того, следует иметь в виду, что также могут существовать и ДНК-полиморфизмы, которые влияют на уровни экспрессии РНК, которые могут повлиять на общий уровень экспрессии этого гена (например,

путем воздействия на регулирование или деградацию).

Используемая в настоящем документе фраза "аллельный вариант" относится к нуклеотидной последовательности, которая происходит в данном локусе или полипептиде, кодируемом нуклеотидной последовательностью.

Используемые в настоящем документе термины "ген" и "рекомбинантный ген" относятся к молекулам нуклеиновой кислоты, содержащим открытую рамку считывания, кодирующую полипептид, соответствующий маркеру настоящего изобретения. Такие природные аллельные вариации, как правило, могут приводить к 1-5% дисперсии в нуклеотидной последовательности данного гена. Альтернативные аллели могут быть идентифицированы путем секвенирования представляющего интерес гена в ряде различных индивидуумов. Это может быть легко осуществимо с использованием зондов гибридизации для идентификации того же генетического локуса у различных индивидуумов. Любые и все такие нуклеотидные вариации и полученные в результате аминокислотные полиморфизмы или вариации, которые представляют собой результат естественной изменчивости аллелей и которые не изменяют функциональную активность, предназначены, чтобы быть в пределах объема настоящего изобретения.

Согласно другому варианту осуществления выделенная молекула нуклеиновой кислоты согласно настоящему изобретению составляет по меньшей мере 7, 15, 20, 25, 30, 40, 60, 80, 100, 150, 200, 250, 300, 350, 400, 450, 550, 650, 700, 800, 900, 1000, 1200, 1400, 1600, 1800, 2000, 2200, 2400, 2600, 2800, 3000, 3500, 4000, 4500 или более нуклеотидов в длину и гибридизуется в строгих условиях до маркерной нуклеиновой кислоты или до нуклеиновой кислоты, кодирующей маркерный белок. Используемый в настоящем документе термин "гибридуется в строгих условиях" предназначен для описания условий гибридизации и отмывания, при которых нуклеотидные последовательности, по меньшей мере на 60% (65, 70, предпочтительно 75%) идентичны друг другу, обычно остаются гибридизованными друг с другом. Такие строгие условия известны специалистам в настоящей области техники и могут быть найдены в разделах 6.3.1-6.3.6 в *Current Protocols in Molecular Biology*, John Wiley & Sons, N.Y. (1989). Предпочтительный неограничивающий пример строгих условий гибридизации представляет собой гибридизацию в 6X хлориде натрия/цитрата натрия (SSC) при температуре около 45°C с последующими одной или несколькими отмываниями в 0,2×SSC, 0,1% DCH при 50-65°C.

В дополнение к встречающимся в природе аллельным вариантам молекулы нуклеиновой кислоты согласно настоящему изобретению, которые могут существовать в популяции, специалисту в настоящей области техники будет понятно, что изменения последовательности могут быть введены с помощью мутации, таким образом приводя к изменениям в аминокислотной последовательности кодируемого белка без изменения биологической активности белка, кодируемого тем же. Например, можно сделать нуклеотидные замены, приводящие к заменам аминокислот в "незначимых" аминокислотных остатках. "Незначимый" аминокислотный остаток представляет собой остаток, который может быть изменен по сравнению с последовательностью дикого типа без изменения биологической активности, в то время как "значимый" аминокислотный остаток необходим для биологической активности. Например, аминокислотные остатки, которые не консервативны или полуконсервативны среди гомологов различных видов, могут быть незначимыми для активности и, таким образом, по всей вероятности мишенями для изменения. Альтернативно, аминокислотные остатки, которые консервативны среди гомологов различных видов (например, мыши и человека) могут быть значимыми для активности и, следовательно, не будут вероятными мишенями для изменения.

Соответственно, другой аспект настоящего изобретения относится к молекулам нуклеиновых кислот, кодирующим вариантный маркерный белок, который содержит изменения в аминокислотных остатках, которые не представляют собой незначимые для активности. Такие вариантные маркерные белки отличаются по аминокислотной последовательности от маркерных белков природного происхождения, но сохраняют биологическую активность. Согласно одному варианту осуществления такой вариантный маркерный белок содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере приблизительно на 40, 50, 60, 70, 80, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98 или 99% идентична аминокислотной последовательности маркерного белка.

Выделенная молекула нуклеиновой кислоты, кодирующая вариантный маркерный белок, может быть создана путем введения одной или нескольких нуклеотидных замен, добавлений или делеций в нуклеотидную последовательность маркерных нуклеиновых кислот таким образом, что одна или несколько замен, добавлений или делеций аминокислотных остатков вводятся в кодируемый белок. Мутации могут быть введены с помощью стандартных техник, таких как сайт-направленный мутагенез и опосредованный ПЦР мутагенез. Предпочтительно, консервативные аминокислотные замены осуществляют в одном или нескольких предсказанных незначимых аминокислотных остатках. "Консервативная замена аминокислоты" представляет собой ту, в которой аминокислотный остаток замещается на аминокислотный остаток, характеризующийся сходной боковой цепью. Семейства аминокислотных остатков, характеризующиеся сходными боковыми цепями, определены в настоящей области техники. Эти семейства включают в себя аминокислоты с основными боковыми цепями (например, лизин, аргинин, гистидин), кислыми боковыми цепями (например, аспарагиновая кислота, глутаминовая кислота), незаряженными полярными боковыми цепями (например, глицин, аспарагин, глутамин, серин, треонин, тирозин, цисте-

ин), неполярными боковыми цепями (например, аланин, валин, лейцин, изолейцин, пролин, фенилаланин, метионин, триптофан), бета-разветвленными боковыми цепями (например, треонин, валин, изолейцин) и ароматическими боковыми цепями (например, тирозин, фенилаланин, триптофан, гистидин). Кроме того, мутации могут быть введены случайным образом вдоль всей или части кодирующей последовательности, например, путем насыщающего мутагенеза, и полученные мутанты могут быть подвергнуты скринингу на биологическую активность для идентификации мутантов, которые сохраняют активность. После мутагенеза, кодируемый белок можно экспрессировать рекомбинантно, и может быть определена активность белка.

Настоящее изобретение охватывает антисмысловые молекулы нуклеиновых кислот, т.е. молекулы, которые комплементарны смысловой нуклеиновой кислоте согласно настоящему изобретению, например, комплементарны кодирующей цепи двухцепочечной молекулы маркерной кДНК или комплементарны последовательности маркерной мРНК. Соответственно, антисмысловая нуклеиновая кислота согласно настоящему изобретению может образовывать водородную связь (т.е. соединять комплементарные нити с) со смысловой нуклеиновой кислотой согласно настоящему изобретению. Антисмысловая нуклеиновая кислота может быть комплементарной к целой кодирующей цепи или только ее части, например, всей или части кодирующей белок области (или открытой рамки считывания). Антисмысловая молекула нуклеиновой кислоты может также быть антисмысловой ко всей или части некодирующей области кодирующей цепи нуклеотидной последовательности, кодирующей маркерный белок. Некодирующие области ("5' и 3' нетранслируемые области") представляют собой 5' и 3' последовательности, которые фланкируют кодирующую область и не кодируют аминокислоты.

Антисмысловой олигонуклеотид может составлять, например, приблизительно 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45 или 50 или более нуклеотидов в длину. Антисмысловая нуклеиновая кислота согласно настоящему изобретению может быть получена с использованием химического синтеза и ферментативной реакции лигирования с использованием процедур, известных в настоящей области техники. Например, антисмысловая нуклеиновая кислота (например, антисмысловой олигонуклеотид) может быть химически синтезирована с использованием встречающихся в природе нуклеотидов или по-разному модифицированных нуклеотидов, разработанных для увеличения биологической стабильности молекул или для повышения физической стабильности дуплекса, образованного между антисмысловыми и смысловыми нуклеиновыми кислотами, например, могут быть использованы фосфоротиоатные производные и замещенные с акридином нуклеотиды. Примеры модифицированных нуклеотидов, которые можно использовать для получения антисмысловой нуклеиновой кислоты, включают в себя 5-фторурацил, 5-бром урацил, 5-хлор урацил, 5-йод урацил, гипоксантин, ксантин, 4-ацетилцитозин, 5-(карбоксигидроксиметил)урацил, 5-карбоксиметиламинотимил-2-тиоуридин, 5-карбоксиметиламинотимилурацил, дигидроурацил, бета-D-галактозилквеозин, инозин, N6-изопентениладенин, 1-метилгуанин, 1-метилюридин, 2,2-диметилгуанин, 2-метиладенин, 2-метилгуанин, 3-метилцитозин, 5-метилцитозин, N6-аденин, 7-метилгуанин, 5-метиламинотимилурацил, 5-метоксиаминометил-2-тиоурацил, бета-D-маннозилквеозин, 5'-метоксикарбоксиметилурацил, 5-метоксиурацил, 2-метилтио-N6-изопентениладенин, урацил-5-оксиуксусную кислоту (v), вибутоксозин, псевдоурацил, квеозин, 2-тиоцитозин, 5-метил-2-тиоурацил, 2-тиоурацил, 4-тиоурацил, 5-метилурацил, метиловый эфир урацил-5-оксиуксусной кислоты, урацил-5-оксиуксусную кислоту (v), 5-метил-2-тиоурацил, 3-(3-амино-3-N-2-карбоксипропил)урацил, (аср3)w и 2,6-диаминопурин. Альтернативно, антисмысловая нуклеиновая кислота может быть получена биологически с использованием вектора экспрессии, в котором нуклеиновая кислота была субклонирована в антисмысловой ориентации (т.е. РНК, транскрибированная из встроенной нуклеиновой кислоты, будет характеризоваться антисмысловой ориентацией к представляющей интерес нуклеиновой кислоте-мишени, описанной дополнительно в следующем пункте).

Используемый в настоящем документе ингибитор "нуклеиновой кислоты" представляет собой любой ингибитор на основе нуклеиновой кислоты, который вызывает снижение экспрессии мишени путем гибридизации по меньшей мере с частью РНК-транскрипта от гена-мишени для того, чтобы уменьшить экспрессию мишени. Ингибиторы нуклеиновых кислот включают в себя, например, одноцепочечные молекулы нуклеиновых кислот, например, антисмысловые нуклеиновые кислоты, и двухцепочечные нуклеиновые кислоты, такие как мРНК, короткая шпилечная РНК, dsiРНК (см., например, опубликованный патент США 20070104688). Используемые в настоящем документе двухцепочечные молекулы нуклеиновых кислот разрабатывают, чтобы они составляли по меньшей мере 12, предпочтительно по меньшей мере 15 нуклеотидов. Двухцепочечные молекулы нуклеиновой кислоты могут представлять собой одноцепочечную нуклеиновую кислоту, предназначенную для гибридизации с собой, например, короткую шпилечную РНК. Понятно, что ингибитор нуклеиновой кислоты мишени может быть введен в виде выделенной нуклеиновой кислоты. Кроме того, ингибитор нуклеиновой кислоты может быть введен в виде конструктора экспрессии с получением ингибитора в клетке. Согласно некоторым вариантам осуществления ингибитор нуклеиновой кислоты включает в себя одну или несколько химических модификаций, чтобы улучшить активность и/или стабильность ингибитора нуклеиновой кислоты. Такие модификации хорошо известны в настоящей области техники. Конкретные модификации, которые будут использоваться, будут зависеть, например, от типа ингибитора нуклеиновой кислоты.

Терапевтическое средство в виде антисмысловой нуклеиновой кислоты относится к одноцепочечным терапевтическим нуклеиновым кислотам, как правило, приблизительно от 16 до 30 нуклеотидов в длину, и оно комплементарно последовательности нуклеиновой кислоты-мишени в клетке-мишени, либо в культуре или в организме.

Предусмотрены патенты, направленные на антисмысловые нуклеиновые кислоты, химические модификации и применение терапевтических средств, например, патент США № 5898031 связан с химически модифицированным РНК-содержащим терапевтическим соединением, и патент США № 6107094 связан со способами использования этих соединений в качестве терапевтического средства. Патент США № 7432250 связан со способами лечения пациентов путем введения одноцепочечных химически модифицированных РНК-подобных соединений; и патент США № 7432249 связан с фармацевтическими композициями, содержащими одноцепочечные химически модифицированные РНК-подобные соединения. Патент США № 7629321 связан со способами расщепления мРНК-мишени с использованием одноцепочечного олигонуклеотида, содержащего множество РНК нуклеозидов и по меньшей мере одну химическую модификацию. Каждый из перечисленных в пункте патентов включен в настоящий документ посредством ссылки.

Согласно многим вариантам осуществления дуплексная область составляет 15-30 пар нуклеотидов в длину. Согласно некоторым вариантам осуществления дуплексная область составляет 17-23 пары нуклеотидов в длину, 17-25 пар нуклеотидов в длину, 23-27 пар нуклеотидов в длину, 19-21 пару нуклеотидов в длину и 21-23 пары нуклеотидов в длину.

Согласно некоторым вариантам осуществления каждая нить содержит 15-30 нуклеотидов.

Средства РНК интерференции, которые можно использовать в способах согласно настоящему изобретению, включают средства с химическими модификациями, описанными, например, в предварительной заявке США 61/561710, поданной 18 ноября 2011 г., международной заявке PCT/US2011/051597, поданной 15 сентября 2010 г., и публикации PCT WO 2009/073809, полное содержание каждой из которых включено в настоящий документ посредством ссылки.

"Средство РНК-интерференции", "средство интерференции двухцепочечной РНК", молекула двухцепочечной РНК (дцРНК), также упоминаемая как "средство дцРНК", "дцРНК", "миРНК", "средство иРНК" используемые в настоящем документе взаимозаменяемо, относится к комплексу молекул рибонуклеиновых кислот, характеризующихся дуплексной структурой, содержащей две анти-параллельные и по существу комплементарные, как определено ниже, цепи нуклеиновой кислоты. Используемое в настоящем документе средство РНК интерференции может также включать в себя dsiРНК (см., например, опубликованный патент США 20070104688, включенный в настоящий документ посредством ссылки). В общем, большинство из нуклеотидов каждой цепи представляет собой рибонуклеотиды, но, как описано выше, каждая или обе цепи могут также включать один или несколько не-рибонуклеотидов, например, дезоксирибонуклеотид и/или модифицированный нуклеотид. Кроме того, используемое в настоящем документе "средство РНК-интерференции" может включать рибонуклеотиды с химическими модификациями; средство РНК-интерференции может включать существенные модификации во множестве нуклеотидов. Такие модификации могут включать в себя все типы модификаций, описанные в настоящем документе или известные в настоящей области техники. Любые такие модификации, использованные в молекуле типа миРНК, охватываются "средством РНК интерференции" для целей настоящего описания и формулы изобретения.

Две нити, образующие дуплексную структуру, могут представлять собой различные части одной крупной молекулы РНК или они могут быть отдельными молекулами РНК. Там, где две цепи представляют собой часть одной крупной молекулы, и, следовательно, соединены в непрерывную цепь нуклеотидов между 3'-концом одной нити и 5'-концом соответствующей другой нити, образующей дуплексную структуру, соединяющая цепь РНК упоминается как "петля шпильки". Там, где две нити соединены ковалентно посредством отличной от непрерывной цепи нуклеотидов между 3'-концом одной нити и 5'-концом соответствующей другой нити, образуя дуплексную структуру, соединительная конструкция упоминается как "линкер". РНК нити могут содержать одинаковое или различное число нуклеотидов. Максимальное количество пар оснований представляет собой число нуклеотидов в самой короткой цепи дцРНК минус любые выступы, которые присутствуют в дуплексе. В дополнение к дуплексной структуре средство РНК-интерференции может содержать одну или несколько нуклеотидных выступов. Термин "миРНК" также используется в настоящем документе для обозначения средства описанной выше РНК-интерференции.

Согласно другому аспекту средство представляет собой одноцепочечную антисмысловую молекулу РНК. Антисмысловая молекула РНК комплементарна последовательности в мРНК-мишени. Антисмысловая РНК может ингибировать трансляцию стехиометрическим способом путем спаривания оснований с мРНК и физически препятствуя трансляционной машине, см. Dias, N. et al. (2002), *Mol Cancer Ther* 1:347-355. Антисмысловая молекула РНК может содержать около 15-30 нуклеотидов, которые комплементарны мРНК-мишени. Например, молекула антисмысловой РНК может содержать последовательность по меньшей мере из 15, 16, 17, 18, 19, 20 или более смежных нуклеотидов из одного из антисмысловых последовательностей таблицы.

Термин "антисмысловая цепь" относится к цепи средства интерференции двухцепочечной РНК, которая включает в себя область, которая по существу комплементарна последовательности-мишени. Используемый в настоящем документе термин "область, комплементарная части мРНК, кодирующей" представляющий интерес белок, относится к области на антисмысловой цепи, которая по существу комплементарна части последовательности мРНК-мишени, кодирующей белок. В случае, если область комплементарности не полностью комплементарна последовательности-мишени, ошибочно спаренные основания наиболее толерантны в концевых областях и, если присутствуют, как правило, находятся в концевой области или областях, например, в пределах 6, 5, 4, 3 или 2 нуклеотидов 5' и/или 3' конца.

Используемый в настоящем документе термин "смысловая цепь" относится к нити дцРНК, которая включает в себя область, которая по существу комплементарна области антисмысловой нити.

Согласно различным вариантам осуществления молекулы нуклеиновых кислот согласно настоящему изобретению могут быть модифицированы в основном фрагменте, фрагменте сахара или фосфатного остова, чтобы улучшить, например, стабильность, гибридизацию или растворимость молекулы. Например, сахарофосфатный остов нуклеиновых кислот может быть модифицирован, чтобы производить пептидные нуклеиновые кислоты (см. Нугур et al., 1996, *Bioorganic & Medicinal Chemistry* 4(1): 5-23). Используемые в настоящем документе термины "пептидные нуклеиновые кислоты" или "ПНК" относятся к имитаторам нуклеиновых кислот, например, имитаторам ДНК, в которых сахарофосфатный остов замещен на псевдопептидный остов и сохраняются только четыре природных нуклеотидных основания. Нейтральный остов ПНК, как было показано, обеспечивает специфическую гибридизацию с ДНК и РНК в условиях низкой ионной силы. Синтез олигомеров ПНК может быть выполнен с использованием стандартных протоколов синтеза пептидов в твердой фазе, как описано в Нугур et al. (1996), выше; Perry-O'Keefe et al. (1996) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 93:14670-675.

ПНК могут быть использованы в терапевтических и диагностических применениях. Например, ПНК могут быть использованы в качестве антисмысловых или антигенных средств для специфичной к последовательности модуляции генной экспрессии, например, путем индуцирования остановки транскрипции или трансляции или ингибирования репликации. ПНК также могут быть использованы, например, при анализе отдельных мутаций пар оснований в гене путем, например, направленного ПНК фиксирования ПЦР; в качестве искусственных ферментов рестрикции при использовании в комбинации с другими ферментами, например, S1 нуклеазы (Нугур (1996), выше), или в качестве зондов или праймеров для последовательности ДНК и гибридизации (Нугур, 1996, выше; Perry-O'Keefe et al. (1996) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 93:14670-675).

Согласно другому варианту осуществления ПНК могут быть модифицированы, например, для повышения их стабильности или клеточного поглощения, путем присоединения липофильных или других вспомогательных групп к ПНК с образованием химерных ПНК-ДНК или путем использования липосом или других способов доставки лекарственных средств, известных в настоящей области техники. Например, могут быть получены химеры ПНК-ДНК, которые могут объединить выгодные свойства ПНК и ДНК. Такие химеры позволяют распознавания ДНК ферментами, например, РНКазой H и ДНК-полимеразами, чтобы взаимодействовать с частью ДНК, в то время как часть ПНК будет обеспечивать высокую аффинность и специфичность связывания. Химеры ПНК-ДНК могут быть связаны с помощью линкеров соответствующих длин, выбранных с точки зрения базовой укладки, количества связей между нуклеотидными основаниями и ориентации (Нугур, 1996, выше). Синтез химер ПНК-ДНК может быть выполнен, как описано в Нугур (1996), выше, и Finn et al. (1996) *Nucleic Acids Res.* 24(17):3357-63. Например, цепь ДНК может быть синтезирована на твердой подложке с использованием стандартной фосфорамидитной химии присоединения и модифицированных аналогов нуклеозидов. Такие соединения, как 5'-(4-метокситритил)амино-5'-дезокситимидинфосфорамидит, могут быть использованы в качестве связующего звена между ПНК и 5'-концом ДНК (Mag et al., 1989, *Nucleic Acids Res.* 17:5973-88). Мономеры ПНК затем соединяют ступенчатым образом, чтобы получить химерную молекулу с 5' сегментом ПНК и 3' сегментом ДНК (Finn et al., 1996, *Nucleic Acids Res.* 24(17):3357-63). Кроме того, химерные молекулы могут быть синтезированы с сегментом 5' ДНК и сегментом 3' ПНК (Peterser et al., 1975, *Bioorganic Med. Chem. Lett.* 5:1119-1124).

Согласно другим вариантам осуществления олигонуклеотид может включать в себя другие прилагаемые группы, такие как пептиды (например, для нацеленного воздействия на рецепторы клетки-хозяина *in vivo*) или средства, облегчающие транспорт через клеточную мембрану (см., например, Letsinger et al., 1989, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 86:6553-6556; Lemaitre et al., 1987, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 84:648-652; публикация РСТ № WO 88/09810) или гематоэнцефалический барьер (см., например, публикации РСТ WO 89/10134). Кроме того, олигонуклеотиды могут быть модифицированы с запускающими гибридизацию расщепляющими средствами (см., например, Krol et al., 1988, *Bio/Techniques* 6:958-976) или интеркалирующими средствами (см., например, Zon, 1988, *Pharm. Res.* 5:539-549). С этой целью олигонуклеотид может быть конъюгирован с другой молекулой, например, пептидом, запускающим гибридизацию сшивающим средством, транспортным средством, запускающим гибридизацию расщепляющим средством и т.д.

Настоящее изобретение также включает в себя молекулярные маяки нуклеиновые кислоты, содер-

жащие по меньшей мере одну область, которая комплементарна нуклеиновой кислоте согласно настоящему изобретению, таким образом, что молекулярный маяк полезен для количественного определения присутствия нуклеиновой кислоты согласно настоящему изобретению в образце. "Молекулярный маяк" нуклеиновой кислоты представляет собой нуклеиновую кислоту, содержащую пару комплементарных областей и содержащую флуорофор и связанный с ним флуоресцентный гаситель. Флуорофор и гаситель связаны с различными участками нуклеиновой кислоты в такой ориентации, что, когда комплементарные области отжигают друг с другом, флуоресценция флуорофора гасится гасителем. Когда комплементарные области нуклеиновой кислоты не отжигают друг с другом, флуоресценция флуорофора гасится в меньшей степени. Молекулярные маяки нуклеиновые кислоты, описаны, например, в патенте США 5876930.

#### D. Выделенные белки и антитела.

Один аспект настоящего изобретения относится к выделенным маркерным белкам и их биологически активным частям, а также полипептидным фрагментам, пригодным для использования в качестве иммуногенов для получения антител, направленных против маркерного белка или его фрагмента. Согласно одному варианту осуществления нативный маркерный белок может быть выделен из клеточных или тканевых источников с помощью соответствующей схемы очистки с использованием стандартных способов очистки белков. Согласно другому варианту осуществления белок или пептид, содержащий весь или сегмент маркерного белка, производится с помощью способов рекомбинантной ДНК. Альтернативно рекомбинантной экспрессии, такой белок или пептид может быть синтезирован химически с использованием стандартных методик пептидного синтеза.

"Выделенный" или "очищенный" белок или его биологически активная часть представляет собой по существу свободный от клеточного материала или других загрязняющих белков клеточного или тканевого источника, из которого получают белок, или, по существу, свободный от химических предшественников или других химических веществ при химическом синтезе. Выражение "по существу свободные от клеточного материала" включает в себя препараты белка, в которых белок отделен от клеточных компонентов клеток, из которых он выделен или рекомбинантно получен. Таким образом, белок, который по существу свободен от клеточного материала, включает в себя препараты белка, содержащие менее чем приблизительно 30, 20, 10 или 5% (по сухому весу) гетерологичного белка (также называемый в настоящем документе как "загрязняющий белок"). Когда белок или его биологически активная часть получены рекомбинантным путем, также предпочтительно чтобы он по существу был свободен от культуральной среды, т.е. культуральная среда должна составлять менее чем приблизительно 20, 10 или 5% от объема белкового препарата. Когда белок получают путем химического синтеза, он предпочтительно по существу свободен от химических предшественников или других химических веществ, т.е. он отделен от химических предшественников или других химических веществ, которые участвуют в синтезе белка. Соответственно такие препараты белка содержат менее чем приблизительно 30, 20, 10, 5% (сухого веса) химических предшественников или других соединений, чем представляющий интерес полипептид.

Биологически активные части маркерного белка включают в себя полипептиды, содержащие аминокислотные последовательности, в достаточной степени идентичные или полученные из аминокислотной последовательности маркерного белка, которые включают в себя меньше аминокислот, чем в полноразмерном белке, и проявляют по меньшей мере одну активность соответствующего полноразмерного белка. Как правило, биологически активные части содержат домен или мотив по меньшей мере одной активности, соответствующий полноразмерному белку. Биологически активная часть маркерного белка согласно настоящему изобретению может быть полипептидом, который составляет, например, 10, 25, 50, 100 или более аминокислот в длину. Кроме того, другие биологически активные части, в которых другие области маркерного белка удалены, могут быть получены с помощью рекомбинантных способов и оценены на одну или несколько функциональных активностей нативной формы маркерного белка.

Предпочтительные маркерные белки кодируются нуклеотидными последовательностями, содержащими последовательности, кодирующие любой из генов, описанных в примерах. Другие полезные белки по существу идентичны (например, по меньшей мере около 40%, предпочтительно 50, 60, 70, 80, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98 или 99%) одной из этих последовательностей и сохраняют функциональную активность соответствующего природного маркерного белка, но отличаются по аминокислотной последовательности вследствие естественной изменчивости аллелей или мутагенеза.

Для определения процента идентичности двух аминокислотных последовательностей или двух нуклеиновых кислот, последовательности выравнивают с целью оптимального сравнения (например, пробелы могут быть введены в последовательности первой аминокислоты или последовательности нуклеиновой кислоты для оптимального выравнивания со второй последовательностью аминокислоты или нуклеиновой кислоты). Аминокислотные остатки или нуклеотиды в соответствующих положениях аминокислот или положениях нуклеотидов затем сравниваются. Когда положение в первой последовательности занимают те же аминокислотные остатки или нуклеотиды, что и в соответствующем положении во второй последовательности, то молекулы представляют собой идентичные в данном положении. Предпочтительно, процент идентичности между двумя последовательностями рассчитывается с использованием глобального выравнивания. Кроме того, процент идентичности между двумя последовательностями

рассчитывается с использованием локального выравнивания. Процент идентичности между двумя последовательностями представляет собой функцию числа идентичных положений, общих для последовательностей (т.е. % идентичности = числу идентичных положений/общее число положений (например, перекрывающихся положений)×100). Согласно одному варианту осуществления эти две последовательности характеризуются одинаковой длиной. Согласно другому варианту осуществления две последовательности не характеризуются одинаковой длиной.

Определение процента идентичности между двумя последовательностями может быть достигнуто с использованием математического алгоритма. Предпочтительный неограничивающий пример математического алгоритма, используемого для сравнения двух последовательностей, представляет собой алгоритм Karlin and Altschul (1990) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 87:2264-2268, модифицированного как в Karlin and Altschul (1993) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90:5873-5877. Такой алгоритм включен в программы BLASTN и BLASTX Altschul, et al. (1990) *J. Mol. Biol.* 215:403-410. Поиски нуклеотидов BLAST могут быть выполнены с помощью программы BLASTN, оценка = 100, длина слова = 12, чтобы получить нуклеотидные последовательности, гомологичные молекулам нуклеиновых кислот согласно настоящему изобретению. Поиски белка BLAST могут быть выполнены с помощью программы BLASTP, оценка = 50, длина слова = 3 для получения аминокислотных последовательностей, гомологичных молекулам белка согласно настоящему изобретению. Для получения содержащего пробелы выравнивания для сравнения, более новая версия алгоритма BLAST, названная Gapped BLAST, может быть использована, как описано в Altschul et al. (1997) *Nucleic Acids Res.* 25:3389-3402, который способен выполнять содержащие пробелы локальные выравнивания для программ BLASTN, BLASTX и BLASTP. Кроме того, PSI-BLAST может быть использован для выполнения повторного поиска, который обнаруживает отдаленные связи между молекулами. При использовании программ BLAST, Gapped BLAST и PSI-BLAST, могут быть использованы параметры по умолчанию соответствующих программ (например, BLASTX и BLASTN). См. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>. Другой предпочтительный, неограничивающий пример математического алгоритма, используемого для сравнения последовательностей, представляет собой алгоритм Myers and Miller, (1988) *CABIOS* 4:11-17. Такой алгоритм включен в программу ALIGN (версия 2.0), которая представляет собой часть последовательности GCG пакета программного обеспечения для выравнивания. При использовании программы ALIGN для сравнения аминокислотных последовательностей могут быть использованы таблица веса остатков PAM120, длина штрафного балла пропуска 12 и штрафной балл пропуска 4. Еще один полезный алгоритм для идентификации областей локального сходства последовательностей и выравнивания представляет собой алгоритм FASTA, описанный в Pearson and Lipman (1988) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 85:2444-2448. При использовании алгоритма FASTA для сравнения нуклеотидных или аминокислотных последовательностей, таблица веса остатков PAM120 может, например, быть использована со значением  $k$ , кратного 2.

Процент идентичности между двумя последовательностями может быть определен с использованием техник, аналогичных описанным выше, с или без учета пробелов. При расчете процента идентичности считаются только точные совпадения.

В настоящем изобретении также предусмотрены химерные или слитые белки, содержащие маркерный белок или его сегмент. Используемый в настоящем документе "химерный белок" или "слитый белок" содержит весь или часть (предпочтительно биологически активную часть) маркерного белка, функционально связанного с гетерологичным полипептидом (например, полипептидом, отличным от маркерного белка). В слитом белке термин "функционально связанный" предназначен для обозначения того, что маркерный белок или его сегмент и гетерологичный полипептид слиты в рамке считывания друг с другом. Гетерологичный полипептид может быть слит с amino-концом или карбоксильным концом маркерного белка или сегмента.

Один полезный слитый белок представляет собой слитый белок GST, в котором маркерный белок или сегмент слит с карбоксильным концом последовательностей GST. Такие слитые белки могут облегчать очистку рекомбинантного полипептида согласно настоящему изобретению.

Согласно другому варианту осуществления слитый белок содержит гетерологичную сигнальную последовательность на своем amino-конце. Например, нативная сигнальная последовательность маркерного белка может быть удалена и заменена сигнальной последовательностью из другого белка. Например, секреторная последовательность gp67 оболочечного белка бакуловируса может быть использована в качестве гетерологичной сигнальной последовательности (Ausubel et al., ed., *Current Protocols in Molecular Biology*, John Wiley & Sons, NY, 1992). Другие примеры эукариотических гетерологичных сигнальных последовательностей включают в себя секреторные последовательности мелиттина и плацентарную щелочную фосфатазу человека (Stratagene; La Jolla, California). В еще одном примере, полезные прокариотические гетерологичные сигнальные последовательности включают в себя секреторный сигнал PhoA (Sambrook et al., выше), и секреторный сигнал белок A (Pharmacia Biotech; Piscataway, New Jersey).

Согласно еще одному варианту осуществления слитый белок представляет собой слитый белок-иммуноглобулин, в котором все или часть маркерного белка сливаются с последовательностями, полученными от представителя семейства белков-иммуноглобулинов. Слитые белки-иммуноглобулины согласно настоящему изобретению могут быть включены в фармацевтические композиции и введены субъекту,

чтобы ингибировать взаимодействие между лигандом (растворимым или мембраносвязанным) и белком на поверхности клетки (рецептором), чтобы тем самым подавить передачу сигнала *in vivo*. Слитый белок-иммуноглобулин может быть использован для воздействия на биологическую доступность родственного лиганда маркерного белка. Ингибирование взаимодействия лиганда/рецептора может быть полезно в терапевтических целях, как для лечения пролиферативных, так и дифференцирующих нарушений, и для модуляции (например, стимуляции или ингибирования) выживаемости клеток. Кроме того, слитые белки-иммуноглобулины согласно настоящему изобретению могут быть использованы в качестве иммуногенов для получения антител, направленных против маркерного белка у субъекта, чтобы очистить лиганды и в скрининговых анализах для идентификации молекул, которые ингибируют взаимодействие маркерного белка с лигандами.

Химерные и слитые белки согласно настоящему изобретению могут быть получены с помощью стандартных техник рекомбинантной ДНК. Согласно другому варианту осуществления слитый ген может синтезировать обычными способами, включающими в себя автоматизированный синтезатор ДНК. Кроме того, ПЦР-амплификация фрагментов генов может быть проведена с использованием якорных праймеров, которые порождают комплементарные выступы между двумя последовательными генными фрагментами, которые впоследствии могут быть ренатурированы и повторно амплифицированы для получения последовательности химерного гена (см., например, Ausubel et al., выше). Кроме того, коммерчески доступны многие векторы экспрессии, которые уже кодируют слитый фрагмент (например, полипептид GST). Нуклеиновая кислота, кодирующая полипептид согласно настоящему изобретению, может быть клонирована в такой вектор экспрессии таким образом, что слитый фрагмент присоединен в рамке считывания к полипептиду согласно настоящему изобретению.

Сигнальная последовательность может быть использована, чтобы облегчить секрецию и выделение маркерных белков. Сигнальные последовательности, как правило, характеризуются основой из гидрофобных аминокислот, которые, как правило, отщепляются от зрелого белка в процессе секреции в один или нескольких событий расщепления. Такие сигнальные пептиды содержат сайты процессинга, которые обеспечивают отщепление сигнальной последовательности от зрелых белков, когда они проходят через секреторный путь. Таким образом, настоящее изобретение относится к маркерным белкам, слитым белкам или их сегментам, обладающим сигнальной последовательностью, а также к таким белкам, из которых сигнальная последовательность протеолитически отщепляется (например, продукты расщепления). Согласно одному варианту осуществления последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующая сигнальную последовательность, может быть функционально связана в векторе экспрессии с представляющим интерес белком, таким как маркерный белок или его сегмент. Сигнальная последовательность направляет секрецию белка, например, от эукариотического хозяина, в котором вектор экспрессии трансформируют, и сигнальная последовательность впоследствии или одновременно расщепляется. Белок может быть легко очищен из внеклеточной среды с помощью известных в настоящей области техники способов. Кроме того, сигнальная последовательность может быть связана с представляющим интерес белком с использованием последовательности, которая облегчает очистку, например, с доменом GST.

Настоящее изобретение также относится к вариантам маркерных белков. Такие варианты характеризуются измененной аминокислотной последовательностью и могут функционировать либо как агонисты (миметики), либо как антагонисты. Варианты могут быть получены путем мутагенеза, например, мутацией или усечением дискретной точки. Агонист может сохранять по существу такую же или подмножество биологических активностей природных форм белка. Антагонист белка может ингибировать одну или несколько активностей природной формы белка путем, например, конкурентного связывания находящихся на нижних стадиях или на верхних стадиях представителей клеточного сигнального каскада, который включает в себя представляющий интерес белок. Таким образом, специфические биологические эффекты могут быть выявлены с помощью обработки с вариантом ограниченной функции. Лечение субъекта вариантом, характеризующимся подмножеством биологических активностей встречающейся в природе формы белка, может иметь меньше побочных эффектов у субъекта, по сравнению с лечением не встречающейся в природе формой белка.

Варианты маркерного белка, которые функционируют либо как агонисты (миметики), либо как антагонисты могут быть идентифицированы путем скрининга комбинаторных библиотек мутантов, например процессированных мутантов белка согласно настоящему изобретению для активности агониста или антагониста. Согласно одному варианту осуществления смешанная библиотека вариантов создается путем комбинаторного мутагенеза на уровне нуклеиновых кислот и кодируется смешанной библиотекой генов. Смешанная библиотека вариантов может быть получена с помощью, например, ферментативного лигирования смеси синтетических олигонуклеотидов в генные последовательности таким образом, что вырожденный набор потенциальных последовательностей белков можно представить в виде отдельных полипептидов, или, альтернативно, в виде набора более крупных слитых белков (например, для фагового дисплея). Существуют различные способы, которые могут быть использованы для получения библиотек потенциальных вариантов маркерных белков из вырожденной олигонуклеотидной последовательности. Способы синтеза вырожденных олигонуклеотидов известны в настоящей области техники (см., например, Narang, 1983, Tetrahedron 39:3; Itakura et al., 1984, Annu. Rev. Biochem. 53:323; Itakura et al., 1984,

Science 198:1056; Ike et al., 1983 Nucleic Acid Res. 11:477).

Кроме того, библиотеки сегментов маркерного белка могут быть использованы для создания смешанной популяции полипептидов для скрининга и последующего отбора вариантных маркерных белков или их сегментов. Например, библиотека фрагментов кодирующих последовательностей может быть получена путем обработки двухцепочечного фрагмента ПЦР представляющей интерес кодирующей последовательности нуклеазой в условиях, в которых разрезание одной нити происходит только один раз на молекулу, денатурации двухцепочечной ДНК, ренатурации ДНК с образованием двухцепочечной ДНК, которая может включать в себя смысловые/антисмысловые пары из различных разорванных по одной нити продуктов, удаление одноцепочечных частей из реформированных дуплексов путем обработки нуклеазой S1, и лигирование полученной библиотеки фрагментов в вектор экспрессии. С помощью этого способа может быть получена библиотека экспрессии, которая кодирует amino-конец и внутренние фрагменты различных размеров представляющего интерес белка.

В настоящей области техники известно несколько способов для скрининга генных продуктов комбинаторных библиотек с помощью точечных мутаций или усечений, а также для скрининга библиотек кДНК на генные продукты, характеризующиеся выбранным свойством. Наиболее широко используемые техники, которые поддаются высокоскоростному анализу для скрининга больших библиотек генов, обычно включают в себя клонирование генной библиотеки в реплицируемые векторы экспрессии, трансформацию подходящих клеток с полученной библиотекой векторов и экспрессию комбинаторных генов в условиях, в которых обнаружение желаемой активности облегчает выделение вектора, кодирующего ген, продукт которого был обнаружен. Рекурсивный множественный мутагенез (REM), который повышает частоту функциональных мутантов в библиотеках, может быть использован в комбинации со скрининговыми анализами для идентификации вариантов белка согласно настоящему изобретению (Arkin and Yourvan, 1992, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 59:7811-7815; Delgrave et al., 1993, Protein Engineering 6(3):327-331).

Еще один аспект настоящего изобретения относится к антителам, направленным против белка согласно настоящему изобретению. Согласно предпочтительным вариантам осуществления антитела специфически связываются с маркерным белком или его фрагментом. Используемые взаимозаменяемо в настоящем документе термины "антитело" и "антитела" относятся к молекулам иммуноглобулинов, а также их фрагментам и производным, которые содержат иммунологически активную часть молекулы иммуноглобулина (т.е. такая часть содержит антигенсвязывающий сайт, который специфически связывается с таким антигеном, как маркерный белок, например, с эпитопом маркерного белка). Антитело, которое специфически связывается с белком согласно настоящему изобретению, представляет собой антитело, которое связывается с белком, но по существу не связывается с другими молекулами в образце, например биологическом образце, который в норме содержит белок. Примеры иммунологически активной части молекулы иммуноглобулина включают в себя без ограничения одноцепочечные антитела (scAb), фрагменты F(ab) и F(ab')<sub>2</sub>.

Выделенный белок согласно настоящему изобретению или его фрагмент может быть использован в качестве иммуногена для получения антител. Может быть использован полноразмерный белок, или, альтернативно, настоящее изобретение включает антигенные пептидные фрагменты для использования в качестве иммуногенов. Антигенный пептид белка согласно настоящему изобретению содержит по меньшей мере 8 (предпочтительно 10, 15, 20 или 30 или более) аминокислотных остатков аминокислотной последовательности одного из белков согласно настоящему изобретению и охватывает по меньшей мере один такой эпитоп белка, что антитело, индуцированное против пептида, образует специфический иммунный комплекс с белком. Предпочтительные эпитопы, охватываемые антигенным пептидом, представляют собой области, расположенные на поверхности белка, например, гидрофильные области. Анализ последовательности гидрофобности, анализ последовательности гидрофильности или похожие анализы могут быть использованы для идентификации гидрофильных областей. Согласно предпочтительным вариантам осуществления выделенный маркерный белок или его фрагмент используется в качестве иммуногена.

Иммуноген, как правило, используют для получения антител путем иммунизации подходящего (т.е. иммунокомпетентного) субъекта, такого как кролик, коза, мышь или другое млекопитающее или позвоночное. Соответствующий иммуногенный препарат может содержать, например, рекомбинантно экспрессированный или химически синтезированный белок или пептид. Препарат может дополнительно включать в себя адъювант, такой как полный или неполный адъювант Фрейнда, или аналогичное иммуностимулирующее средство. Предпочтительные композиции иммуногена представляют собой те, которые не содержат другие человеческие белки, такие как, например, композиции иммуногена, полученные с использованием отличной от человеческой клетки-хозяина для рекомбинантной экспрессии белка согласно настоящему изобретению. Таким образом, полученные в результате композиции антител характеризуются сниженным связыванием или его отсутствием белков человека, отличных от белка согласно настоящему изобретению.

В настоящем изобретении предусмотрены поликлональные и моноклональные антитела. Используемый в настоящем документе термин "моноклональное антитело" или "композиция моноклонального

антитела" относится к популяции молекул антител, которые содержат только один вид антигенсвязывающего сайта, способного к иммунной реакции с конкретным эпитопом. Предпочтительные композиции поликлональных и моноклональных антител представляют собой те, которые были отобраны для антител, направленных против белка согласно настоящему изобретению. Особенно предпочтительны препараты поликлональных и моноклональных антител, которые содержат только антитела, направленные против маркерного белка или его фрагмента.

Поликлональные антитела могут быть получены путем иммунизации подходящего субъекта белком согласно настоящему изобретению в качестве иммуногена. Титр антител у иммунизированного субъекта можно контролировать с течением времени с помощью стандартных техник, таких как твердофазный иммуноферментный анализ (ELISA) с использованием иммобилизованного полипептида. В соответствующее время после иммунизации, например, когда специфические титры антител наиболее высоки, продуцирующие антитела клетки могут быть получены от субъекта и использованы для получения моноклональных антител (mAb) с помощью стандартных техник, таких как техника гибридомы, впервые описанная Kohler and Milstein (1975) *Nature* 256:495-497, техника гибридомы В-клеток человека (см. Kozbor et al., 1983, *Immunol. Today* 4:72), техника EBV-гибридомы (см. Cole et al., p. 77-96 In *Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy*, Alan R. Liss, Inc., 1985) или техники триомы. Технология получения гибридом хорошо известна (см., в основном, *Current Protocols in Immunology*, Coligan et al. ed., John Wiley & Sons, New York, 1994). Клетки гибридомы, продуцирующие моноклональное антитело согласно настоящему изобретению обнаруживают путем скрининга гибридомных культуральных супернатантов на наличие антител, которые связываются с представляющим интерес полипептидом, например, с использованием стандартного анализа ELISA.

Альтернативно получению секретирующих моноклональные антитела гибридом, моноклональное антитело, направленное против белка согласно настоящему изобретению, может быть идентифицировано и выделено путем скрининга рекомбинантной комбинаторной библиотеки иммуноглобулинов (например, библиотеки фагового дисплея антител) с представляющим интерес полипептидом. Наборы для получения и скрининга библиотек фагового дисплея коммерчески доступны (например, the Pharmacia Recombinant Phage Antibody System, № в каталоге 27-9400-01; и the Stratagene SurfZAP Phage Display Kit, № в каталоге 240612). Кроме того, примеры способов и реагентов, особенно подходящих для использования в создании и скрининге библиотеки дисплея антител могут быть найдены, например, в патенте США № 5223409; публикации согласно PCT WO 92/18619; публикации согласно PCT WO 91/17271; публикации согласно PCT WO 92/20791; публикации согласно PCT WO 92/15679; публикации согласно PCT WO 93/01288; публикации согласно PCT WO 92/01047; публикации согласно PCT WO 92/09690; публикации согласно PCT WO 90/02809; Fuchs et al. (1991) *Bio/Technology* 9:1370-1372; Hay et al. (1992) *Hum. Antibod. Hybridomas* 3:81-85; Huse et al. (1989) *Science* 246:1275-1281; Griffiths et al. (1993) *EMBO J.* 12:725-734.

В настоящем изобретении также предусмотрены рекомбинантные антитела, которые специфически связываются с белком согласно настоящему изобретению. Согласно предпочтительным вариантам осуществления рекомбинантные антитела специфически связываются с маркерным белком или его фрагментом. Рекомбинантные антитела включают в себя без ограничения химерные и гуманизированные моноклональные антитела, содержащие как человеческую, так и отличную от человеческой части, одноцепочечные антитела и мультиспецифические антитела. Химерное антитело представляет собой молекулу, в которой различные части происходят от различных видов животных, таких как те, которые содержат вариабельную область, полученную из мышинового моноклонального антитела, и константную область человеческого иммуноглобулина. (См., например, Cabilly et al., патент США № 4816567; и Boss et al., патент США № 4816397, которые полностью включены в настоящий документ посредством ссылки.) Одноцепочечные антитела содержат антигенсвязывающий сайт и состоят из одного полипептида. Они могут быть получены способами, известными в настоящей области техники, например, с помощью способов, описанных в Ladner et al. US Pat. No. 4,946,778 (which is incorporated herein by reference in its entirety); Bird et al. (1988), *Science* 242:423-426; Whitlow et al. (1991), *Methods in Enzymology* 2:1-9; Whitlow et al. (1991), *Methods in Enzymology* 2:97-105; и Huston et al. (1991), *Methods in Enzymology Molecular Design and Modeling: Concepts and Applications* 203:46-88. Мультиспецифические антитела представляют собой молекулы антител, содержащие по меньшей мере два антигенсвязывающих сайта, которые специфически связываются с различными антигенами. Такие молекулы могут быть получены способами, известными в настоящей области техники, например, с помощью способов, описанных в Segal, патент США

№ 4676980 (описание которого полностью включено в настоящий документ посредством ссылки); Holliger et al. (1993), *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90:6444-6448; Whitlow et al. (1994), *Protein Eng.* 7:1017-1026 и в патенте США №6121424.

Гуманизированные антитела представляют собой молекулы антител от отличных от человеческих видов, содержащие одну или несколько определяющих комплементарность областей (CDR) от отличных от человеческих видов и каркасную область от молекулы иммуноглобулина человека. (См., например, Queen, патент США № 5585089, который полностью включен в настоящий документ посредством ссылки)

ки.) Гуманизированные моноклональные антитела могут быть получены с помощью способов рекомбинантной ДНК, известных в настоящей области техники, например, с использованием способов, описанных в публикации согласно PCT WO 87/02671; европейской патентной заявке 184187; европейской патентной заявке 171496; европейской патентной заявке 173494; в публикации согласно PCT WO 86/01533; в патенте США № 4816567; европейской патентной заявке 125023; Better et al. (1988) *Science* 240:1041-1043; Liu et al. (1987) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 84:3439-3443; Liu et al. (1987) *J. Immunol.* 139:3521-3526; Sun et al. (1987) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 84:214-218; Nishimura et al. (1987) *Cancer Res.* 47:999-1005; Wood et al. (1985) *Nature* 314:446-449; and Shaw et al. (1988) *J. Natl. Cancer Inst.* 80:1553-1559; Morrison (1985) *Science* 229:1202-1207; Oi et al. (1986) *Bio/Techniques* 4:214; в патенте США 5225539; Jones et al. (1986) *Nature* 321:552-525; Verhoeyan et al. (1988) *Science* 239:1534 и Beidler et al. (1988) *J. Immunol.* 141:4053-4060.

Более конкретно, гуманизированные антитела могут быть получены, например, с использованием трансгенных мышей, которые не способны к экспрессии эндогенных генов тяжелых и легких цепей иммуноглобулина, но которые могут экспрессировать гены тяжелых и легких цепей человека. Трансгенных мышей иммунизируют обычным образом выбранным антигеном, например, всем или частью полипептида, соответствующего маркеру согласно настоящему изобретению. Моноклональные антитела, направленные против антигена, могут быть получены с использованием обычной технологии гибридомы. Трансгены иммуноглобулина человека, собранные от трансгенных мышей, реаранжируют во время дифференцировки В-клеток, а затем подвергаются переключению класса и соматической мутации. Таким образом, с использованием такой техники можно производить терапевтически применимые антитела IgG, IgA и IgE. Для дополнительной информации о данной технологии получения антител человека см. Lonberg and Huszar (1995) *Int. Rev. Immunol.* 13:65-93). Для детального обсуждения этой технологии получения человеческих антител и человеческих моноклональных антител и протоколов получения таких антител, см., например, патент США 5625126; патент США 5633425; патент США 5569825; патент США 5661016 и патент США 5545806. Кроме того, такие компании, как Abgenix, Inc (Freemont, CA), могут быть задействованы, чтобы обеспечить человеческие антитела, направленные против выбранного антигена с использованием технологии, аналогичной описанной выше.

Полностью человеческие антитела, которые распознают выбранный эпитоп, могут быть получены с использованием техники, относящейся к "направляемой селекции". В этом подходе выбранное отличное от человеческого моноклональное антитело, например мышинное антитело, используется для направления селекции полностью человеческого антитела, распознающего тот же эпитоп (Jespers et al., 1994, *Bio/technology* 12:899-903).

Антитела согласно настоящему изобретению могут быть выделены после производства (например, из крови или сыворотке субъекта) или синтеза и дополнительно очищены с помощью хорошо известных способов. Например, антитела IgG могут быть очищены с использованием хроматографии белка А. Антитела, специфичные к белку согласно настоящему изобретению, могут быть выбраны или (например, частично очищены) или очищены путем, например, аффинной хроматографии. Например, рекомбинантно экспрессированный и очищенный (или частично очищенный) белок согласно настоящему изобретению получают, как описано в настоящем документе, и ковалентно или нековалентно присоединяют к твердой подложке, такой как, например, хроматографическая колонка. Колонка затем может быть использована для аффинной очистки антител, специфических в отношении белков согласно настоящему изобретению, из образца, содержащего антитела, направленные против большого числа различных эпитопов, тем самым создавая композицию по существу очищенных антител, т.е. ту, которая по существу свободна от загрязняющих антител. Композиция по существу очищенных антител означает, в этом контексте, что образец антител содержит самое большее только 30% (сухой массы) загрязняющих антител, направленных против эпитопов, отличных от желаемого белка согласно настоящему изобретению, и предпочтительно самое большее 20%, еще более предпочтительно самое большее 10% и наиболее предпочтительно самое большее 5% (сухой массы) образца составляют загрязняющие антитела. Композиция очищенных антител означает, что по меньшей мере 99% антител в составе направлены против желаемого белка согласно настоящему изобретению.

Согласно предпочтительному варианту осуществления по существу очищенные антитела согласно настоящему изобретению могут специфически связываться с сигнальным пептидом, секретруемой последовательностью, внеклеточным доменом, трансмембранным или цитоплазматическим доменом или цитоплазматической мембраной белка согласно настоящему изобретению. Согласно особенно предпочтительному варианту осуществления по существу очищенные антитела согласно настоящему изобретению специфически связываются с секретруемой последовательностью или внеклеточным доменом аминокислотных последовательностей белка согласно настоящему изобретению. Согласно более предпочтительному варианту осуществления по существу очищенные антитела согласно настоящему изобретению специфически связываются с секретруемой последовательностью или внеклеточным доменом аминокислотных последовательностей маркерного белка.

Антитело, направленное против белка согласно настоящему изобретению, может быть использовано для выделения белка с помощью стандартных способов, таких как аффинная хроматография или им-

мунопреципитация. Кроме того, такие антитела могут быть использованы для выявления маркерного белка или его фрагмента (например, в клеточном лизате или клеточном супернатанте), чтобы оценить уровень и характер экспрессии маркера. Антитела могут быть также использованы диагностически для контроля содержания белка в тканях или биологических жидкостях организма (например, связанных с состоянием заболевания или токсичности жидкостях организма) в качестве части процедуры клинических испытаний, например, чтобы определить эффективность данного режима лечения. Обнаружение может быть облегчено использованием производного антитела, которое содержит антитело согласно настоящему изобретению в сочетании с детектируемым веществом. Примеры детектируемых веществ включают в себя различные ферменты, простетические группы, флуоресцентные материалы, люминесцентные материалы, биолюминесцентные материалы и радиоактивные материалы. Примеры подходящих ферментов включают в себя пероксидазу хрена, щелочную фосфатазу,  $\beta$ -галактозидазу, или ацетилхолинэстеразу; примеры подходящих простетических групп включают в себя стрептавидин/биотин и авидин/биотин; примеры подходящих флуоресцентных материалов включают в себя умбеллиферон, флуоресцеин, флуоресцеинизотиоцианат, родамин, дихлоротриазиниламинфлуоресцеин, дансилхлорид или фикоэритрин; пример люминесцентного материала включает в себя люминол; примеры биолюминесцентных материалов включают в себя люциферазу, люциферин и экворин, и примеры подходящих радиоактивных материалов включают в себя  $^{125}\text{I}$ ,  $^{131}\text{I}$ ,  $^{35}\text{S}$  или  $^3\text{H}$ .

Антитела согласно настоящему изобретению могут быть также использованы в качестве терапевтических средств при лечении злокачественных опухолей. Согласно предпочтительному варианту осуществления полностью человеческие антитела согласно настоящему изобретению используются для терапевтического лечения людей больных злокачественной опухолью, в частности тех, которые характеризуются наличием злокачественной опухоли. Согласно другому предпочтительному варианту осуществления антитела, которые специфически связываются с маркерным белком или его фрагментом, используются для терапевтического лечения. Кроме того, такое терапевтическое антитело может быть производным антитела или иммунотоксина, содержащее антитело, конъюгированное с терапевтической молекулой, такой как цитотоксин, терапевтическое средство или ион радиоактивного металла. Цитотоксин или цитотоксическое средство включает в себя любое средство, которое вредно для клеток. Примеры включают в себя таксол, цитохалазин В, грамицидин D, этидиумбромид, эметин, митомицин, этопозид, тенопозид, винкристин, винбластин, колхицин, доксорубин, даунорубин, диgidроксиантрацидин, митоксантрон, митрамицин, актиномицин D, 1-дегидротестостерон, глюкокортикоиды, прокаин, тетракаина, лидокаин, пропранолол и пуромидин и их аналоги или гомологи. Терапевтические средства включают в себя без ограничения антиметаболиты (например, метотрексат, 6-меркаптопурин, 6-тиогуанин, цитарабин, 5-фторурацилдекарбазин), алкилирующие средства (например, мехлорэтамин, тиоэпахлорамбуцил, мелфалан, кармустин (BSNU) и ломустин (CCNU), циклотосфамид, бусульфид, дибромоманнитол, стрептозотоцин, митомицин С и цис-дихлородиаминоплатину (II), (DDP) цисплатин), антрациклины (например, даунорубин (ранее дауномицин) и доксорубин), антибиотики (например, дактиномицин (ранее актиномицин), блеомицин, митрамицин и антрамицин (АМС)) и антимитотические средства (например, винкристин и винбластин).

Конъюгированные антитела согласно настоящему изобретению могут быть использованы для модификации данного биологического ответа, для фрагмента лекарственного средства, что не должно быть истолковано как ограничение классических химических терапевтических средств. Например, фрагмент лекарственного средства может представлять собой белок или полипептид, обладающий желаемой биологической активностью. Такие белки могут включать в себя, например, токсин, такой как ингибирующий рибосомы белок (см. Better et al., патент США № 6146631, раскрытие которого полностью включено в настоящий документ), абрин, ризин, экзотоксин сине-гнойной палочки или дифтерийный токсин; такой белок, как фактор некроза опухоли, альфа-интерферон,  $\beta$ -интерферон, фактор роста нервов, тромбоцитарный фактор роста, тканевый активатор плазминогена или такие модификаторы биологического ответа, как, например, лимфокины, интерлейкин-1 ("IL-1"), интерлейкин-2 ("IL-2"), интерлейкин-6 ("IL-6"), гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор ("GM-CSF"), гранулоцитарный колониестимулирующий фактор ("G-CSF") или другие факторы роста.

Способы конъюгации такого терапевтического фрагмента с антителами хорошо известны, см., например, Arnon et al., "Monoclonal Antibodies For Immunotargeting Of Drugs In Cancer Therapy", in *Monoclonal Antibodies And Cancer Therapy*, Reisfeld et al. (eds.), pp. 243-56 (Alan R. Liss, Inc. 1985); Hellstrom et al., "Antibodies For Drug Delivery", in *Controlled Drug Delivery* (2nd Ed.), Robinson et al. (eds.), pp. 623-53 (Marcel Dekker, Inc. 1987); Thorpe, "Antibody Carriers Of Cytotoxic Agents In Cancer Therapy: A Review", in *Monoclonal Antibodies '84: Biological And Clinical Applications*, Pinchera et al. (eds.), pp. 475-506 (1985); "Analysis, Results, And Future Prospective Of The Therapeutic Use Of Radiolabeled Antibody In Cancer Therapy", in *Monoclonal Antibodies For Cancer Detection And Therapy*, Baldwin et al. (eds.), pp. 303-16 (Academic Press 1985) и Thorpe et al., "The Preparation And Cytotoxic Properties Of Antibody-Toxin Conjugates", *Immunol. Rev.*, 62:119-58 (1982).

Соответственно, согласно одному аспекту в настоящем изобретении предусмотрены по существу

очищенные антитела, фрагменты антител и производные, все из которых специфически связываются с белком согласно настоящему изобретению, предпочтительно, маркерным белком. Согласно различным вариантам осуществления по существу очищенные антитела согласно настоящему изобретению или их фрагменты или производные могут быть человеческими, отличными от человеческих, химерными и/или гуманизированными антителами. Согласно другому аспекту в настоящем изобретении предусмотрены отличные от человеческих антитела, фрагменты антител и производные, все из которых специфически связываются с белком согласно настоящему изобретению, предпочтительно, маркерным белком. Такие отличные от человеческих антитела могут представлять собой антитела козы, мыши, овцы, лошади, курицы, кролика или крысы. Альтернативно, отличные от человеческих антитела согласно настоящему изобретению могут представлять собой химерные и/или гуманизированные антитела. Кроме того, отличные от человеческих антитела согласно настоящему изобретению могут представлять собой поликлональные антитела или моноклональные антитела. Согласно еще одному аспекту в настоящем изобретении предусмотрены моноклональные антитела, фрагменты антител и производные, все из которых специфически связываются с белком согласно настоящему изобретению, предпочтительно, маркерным белком. Моноклональные антитела могут представлять собой человеческие, гуманизированные, химерные и/или отличные от человеческих антитела.

В настоящем изобретении также предусмотрен набор, содержащий антитело согласно настоящему изобретению, конъюгированное с детектируемым веществом, и инструкции по применению. Еще один аспект настоящего изобретения представляет собой фармацевтическую композицию, содержащую антитело согласно настоящему изобретению. Согласно одному варианту осуществления фармацевтическая композиция содержит антитело согласно настоящему изобретению и фармацевтически приемлемый носитель.

#### Е. Предиктивная медицина.

Настоящее изобретение относится к области предиктивной медицины, в котором диагностические анализы, прогностические анализы, фармакогеномика, а также мониторинговые клинические испытания используются для прогностических (предиктивных) целей, чтобы тем самым воздействовать на индивидуума профилактически. Соответственно, один аспект настоящего изобретения относится к диагностическим анализам для определения уровня экспрессии одного или нескольких маркерных белков или нуклеиновых кислот, для того, чтобы определить, находится ли индивидуум в зоне риска развития некоторых заболеваний или индуцированной лекарственным средством токсичности. Такие анализы могут быть использованы для прогностических или предиктивных целей, тем самым обеспечивая профилактическое лечение индивидуума до начала заболевания.

Еще один аспект настоящего изобретения относится к мониторингу влияния средств (например, лекарственных средств или других соединений, вводимых либо для ингибирования, либо для лечения или профилактики заболевания или индуцированной лекарственным средством токсичности {т.е. для того, чтобы понять индуцированные лекарственным средством токсические эффекты, которые такое лечение может вызывать}) на экспрессию или активность маркера согласно настоящему изобретению в клинических испытаниях. Эти и другие средства описаны более подробно в следующих разделах.

#### Г. Диагностические анализы.

Иллюстративный способ для обнаружения наличия или отсутствия маркерного белка или нуклеиновой кислоты в биологическом образце включает в себя получение биологического образца (например, связанной с токсичностью жидкости организма или образца ткани) от исследуемого субъекта и контактирование биологического образца с соединением или средством, способным обнаруживать полипептид или нуклеиновую кислоту (например, мРНК, геномная ДНК или кДНК). Способы обнаружения согласно настоящему изобретению, таким образом, могут быть использованы для обнаружения мРНК, белка, кДНК или геномной ДНК, например, в биологическом образце *in vitro*, а также *in vivo*. Например, способы *in vitro* для обнаружения мРНК включают в себя нозерн гибридизации и гибридизации *in situ*. Техники *in vitro* для обнаружения маркерного белка включают в себя твердофазные иммуноферментные анализы (ELISA), вестерн блоттинг, иммунопреципитацию и иммунофлюоресценцию. Техники *in vitro* для обнаружения геномной ДНК включают в себя саузерн гибридизацию. Техники *in vivo* для обнаружения мРНК включают в себя полимеразную цепную реакцию (ПЦР), нозерн гибридизации и гибридизации *in situ*. Кроме того, техники *in vivo* для обнаружения маркерного белка включают в себя введение субъекту меченого антитела, направленного против белка или его фрагмента. Например, антитело может быть помечено радиоактивным маркером, присутствие и расположение которого у субъекта может быть обнаружено с помощью стандартных способов визуализации.

Общий принцип таких диагностических и прогностических анализов включает в себя подготовку образца или реакционной смеси, который может содержать маркер и зонд, при соответствующих условиях и в течение времени, достаточного, чтобы позволить маркеру и зонду взаимодействовать и связываться, образуя комплекс, который может быть удален и/или обнаружен в реакционной смеси. Эти анализы могут быть проведены различными путями.

Например, один из способов проведения такого анализа предполагает закрепление маркера или зонда на твердофазном носителе, также известном как субстрат, и обнаружение комплексов-мишеней

маркеров/зондов, закрепленных на твердой фазе в конце реакции. Согласно одному варианту осуществления такого способа образец от субъекта, которого должны исследовать на наличие и/или концентрацию маркера, могут быть закреплены на носителе или твердофазной подложке. Согласно другому варианту осуществления возможна обратная ситуация, в которой зонд может быть прикреплен к твердой фазе, и образец от субъекта может реагировать как незакрепленный компонент анализа.

Существует много установленных способов для анализа крепления компонентов к твердой фазе. Они включают в себя без ограничения маркеры или молекулы зондов, которые иммобилизуют через конъюгацию биотина и стрептавидина. Такие компоненты биотинилированного анализа могут быть получены из биотин-NHS (N-гидроксисукцинимид) с помощью способов, известных в настоящей области техники (например, набора для биотинилирования, Pierce Chemicals, Rockford, IL), и иммобилизованы в лунки покрытых стрептавидином 96-луночные планшеты (Pierce Chemical). Согласно некоторым вариантам осуществления поверхности с компонентами иммобилизованного анализа, могут быть получены заранее и храниться.

Другие подходящие носители или твердофазные подложки для таких анализов включают в себя любой материал, способный связываться с молекулой класса, к которому принадлежит маркер или зонд. Хорошо известные подложки или носители представляют собой без ограничения стекло, полистирол, нейлон, полипропилен, нейлон, полиэтилен, декстран, амилазы, природные и модифицированные целлюлозы, полиакриламиды, габбро и магнетит.

Для проведения анализов с упомянутыми выше подходами неиммобилизованный компонент добавляют к твердой фазе, на которой прикреплен второй компонент. После завершения реакции не образовавшие комплексы компоненты могут быть удалены (например, отмывкой) в таких условиях, что любые образованные комплексы останутся иммобилизованными на твердой фазе. Обнаружение прикрепленных к твердой фазе комплексов маркеров/зондов может быть осуществлено несколькими способами, описанными в настоящем документе.

Согласно предпочтительному варианту осуществления зонд, когда он представляет собой компонент не прикрепленного анализа, может быть помечен с целью обнаружения и считывания анализа, прямо или косвенно, с описанными в настоящем документе детектируемыми метками и хорошо известными специалистам в настоящей области техники.

Кроме того, возможно непосредственно определить образование комплекса маркеров/зондов без дальнейшей обработки или мечения любого компонента (маркера или зонда), например, с использованием техники переноса энергии флуоресценции (см., например, Lakowicz et al., US Patent No. 5631169; Stavianopoulos, et al., патент США № 4868103). Флуорофорную метку на первой, "донорской" молекуле выбирают так, чтобы при возбуждении падающим светом соответствующей длины волны его излучаемая флуоресцентная энергия поглощалась флуоресцентной меткой на второй "акцепторной" молекуле, которая, в свою очередь, имеет возможность флуоресцировать за счет поглощенной энергии. С другой стороны, "донорская" молекула белка может просто использовать естественную энергию флуоресценции остатков триптофана. Метки выбирают таким образом, чтобы излучать различные длины волн света, так, чтобы метка "акцепторной" молекулы могла быть дифференцирована от таковой "донора". Поскольку эффективность передачи энергии между метками связана с разделяющим молекулы расстоянием, могут быть оценены пространственные отношения между молекулами. В ситуации, в которой происходит связывание между молекулами, флуоресцентное излучение метки "акцепторной" молекулы в анализе должно быть максимальным. Событие связывания FET может быть легко измерено с помощью стандартного флуорометрического обнаружения способами, хорошо известными в настоящей области техники (например, с использованием флуориметра).

Согласно другому варианту осуществления определение способности зонда распознавать маркер может быть достигнуто без мечения анализируемого компонента (зонда или маркера) за счет использования такой технологии, как биомолекулярный анализ взаимодействия (BIA) в режиме реального времени (см., например, Sjolander, S. and Urbaniczky, C., 1991, Anal. Chem. 63:2338-2345 and Szabo et al., 1995, Curr. Opin. Struct. Biol. 5:699-705). Используемый в настоящем документе "BIA" или "поверхностный плазмонный резонанс" представляет собой технологию для изучения биоспецифических взаимодействий в режиме реального времени без мечения любого из взаимодействующих компонентов (например, BIAcore). Изменения в массе на поверхности связывания (указывающие на событие связывания) приводят к изменениям индекса преломления света вблизи поверхности (оптическое явление поверхностного плазмонного резонанса (SPR)), приводя к детектируемому сигналу, который может быть использован в качестве указания реакции в реальном времени между биологическими молекулами.

Кроме того, согласно другому варианту осуществления аналогичные диагностические и прогностические анализы могут быть проведены с маркером и зондом в качестве растворенных веществ в жидкой фазе. В таком анализе образовавших комплекс маркер и зонд отделяют от не образовавших комплекс компонентов с помощью любого из нескольких стандартных способов, включающих в себя без ограничения: дифференциальное центрифугирование, хроматографию, электрофорез и иммунопреципитацию. В дифференциальном центрифугировании комплексы маркера/зонда могут быть отделены от не образовавших комплекс компонентов анализа путем серии стадий центрифугирования благодаря различным

равновесиям седиментации комплексов на основе их различных размеров и плотностей (см., например, Rivas, G., and Minton, A.P., 1993, *Trends Biochem Sci.* 18(8):284-7). Стандартные хроматографические техники также могут быть использованы для разделения образовавшихся комплексов молекул от не образовавшихся. Например, гель-фильтрационная хроматография отделяет молекулы в зависимости от размера и за счет использования соответствующей гель-фильтрационной смолы в формате колонки, например, относительно большой комплекс может быть отделен от относительно меньших необразовавшихся комплексных компонентов. Точно так же относительно разные зарядные свойства комплекса маркера/зонда по сравнению с необразовавшимися комплексными компонентами могут быть использованы для дифференциации комплекса от не образовавшихся комплексных компонентов, например путем использования смол ионообменной хроматографии. Такие смолы и хроматографические способы хорошо известны специалистам в настоящей области техники (см., например, Heegaard, N.H., 1998, *J. Mol. Recognit.* Winter 11(1-6):141-8; Hage, D.S., and Tweed, S.A. *J Chromatogr B Biomed Sci Appl* 1997 Oct 10; 699(1-2):499-525). Гель-электрофорез также может быть использован для разделения образующих комплексов компонентов анализа от несвязанных компонентов (см., например, Ausubel et al., ed., *Current Protocols in Molecular Biology*, John Wiley & Sons, New York, 1987-1999). В этой технике комплексы белка или нуклеиновой кислоты разделяют в зависимости от размера или заряда, например. Для того чтобы поддерживать связывающее взаимодействие в электрофоретическом процессе, как правило, предпочтительны матричные материалы неденатурирующего геля и условия в отсутствие восстанавливающего средства. Подходящие условия для конкретного анализа и его компоненты хорошо известны специалисту в настоящей области техники.

Согласно конкретному варианту осуществления уровень маркерной мРНК может быть определен как в формате *in situ*, так и *in vitro* в биологическом образце с использованием способов, известных в настоящей области техники. Термин "биологический образец" предназначен для включения тканей, клеток, биологических жидкостей и их изолятов, выделенных из субъекта, а также тканей, клеток и жидкостей, присутствующих в субъекте. Многие способы обнаружения экспрессии используют выделенную РНК. Для способов *in vitro* любая техника выделения РНК, которая не отбирает против выделения мРНК, может быть использована для очистки РНК от клеток (см., например, Ausubel et al., ed., *Current Protocols in Molecular Biology*, John Wiley & Sons, New York 1987-1999). Кроме того, большое количество образцов ткани могут быть легко процессированы с использованием способов, хорошо известных специалистам в настоящей области техники, таких как, например, одностадийный процесс выделения РНК Chomczynski (1989, патент США № 4843155).

Выделенная мРНК может быть использована в анализах гибридизации или амплификации, которые включают в себя без ограничения саузерн или нозерн анализы, полимеразную цепную реакцию и матрицы зондов. Один предпочтительный способ диагностики для обнаружения содержания мРНК включает в себя контактирование выделенной мРНК с молекулой нуклеиновой кислоты (зондом), которая может гибридизоваться с мРНК, кодируемой обнаруживаемым геном. Зонд нуклеиновой кислоты может представлять собой, например, полноразмерную кДНК или его часть, например, олигонуклеотид, составляющий по меньшей мере 7, 15, 30, 50, 100, 250 или 500 нуклеотидов в длину, и достаточно специфически гибридизуется в строгих условиях с мРНК или геномной ДНК, кодирующей маркер согласно настоящему изобретению. Другие подходящие зонды для использования в диагностических анализах согласно настоящему изобретению описаны в настоящем документе. Гибридизация мРНК с зондом указывает на то, что изучаемый маркер экспрессируется.

В одном формате мРНК иммобилизуют на твердой поверхности и приводят в контакт с зондом, например, путем разделения выделенной мРНК в агарозном геле и переноса мРНК из геля на такую мембрану, как нитроцеллюлоза. В альтернативном формате, зонд(ы) иммобилизуют на твердой поверхности и мРНК приводят в контакт с зондом(ами), например, в виде массива геного чипа Affymetrix. Специалист в настоящей области техники может легко адаптировать известные способы обнаружения мРНК для использования в определении содержания мРНК, кодируемой маркерами согласно настоящему изобретению.

Альтернативный способ определения содержания маркерной мРНК в образце включает в себя процесс амплификации нуклеиновых кислот, например, путем ОТ-ПЦР (экспериментальный вариант осуществления, изложен в Mullis, 1987, патент США 4683202), лигазной цепной реакции (Barany, 1991, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 88:189-193), самоподдерживающейся репликации последовательности (Guatelli et al., 1990, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 87:1874-1878), транскрипционной системы амплификации (Kwoh et al., 1989, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 86:1173-1177), Q-бета репликазы (Lizardi et al., 1988, *Bio/Technology* 6:1197), репликации по типу "катящегося кольца" (Lizardi et al., патент США № 5854033) или любого другого способа амплификации нуклеиновой кислоты с последующим обнаружением амплифицированных молекул с использованием техник, хорошо известных специалистам в настоящей области техники. Эти схемы обнаружения особенно полезны для обнаружения молекул нуклеиновых кислот, если такие молекулы присутствуют в очень малых количествах. Используемые в настоящем документе праймеры амплификации определяются как пара молекул нуклеиновых кислот, которые могут ренатурировать до 5' или 3' области гена (плюс и минус нити, соответственно, или наоборот), и содержат короткую область между ними. В общем, праймеры амплификации составляют примерно от 10 до 30 нуклеотидов в длину

и фланкируют область от приблизительно 50 до 200 нуклеотидов в длину. При соответствующих условиях и с соответствующими реагентами такие праймеры позволяют амплификацию молекулы нуклеиновой кислоты, содержащей нуклеотидную последовательность, фланкированную праймерами.

Для способов *in situ* мРНК не должна быть выделена до обнаружения. В таких способах клеточный или тканевой образец получают/обрабатывают с использованием известных гистологических способов. Затем образец иммобилизуют на носителе, обычно, предметном стекле, и затем приводят в контакт с зондом, который может гибридизоваться с мРНК, которая кодирует маркер.

В качестве альтернативы получения определений на основе абсолютного уровня экспрессии маркера, определения могут быть основаны на нормированном уровне экспрессии маркера. Уровни экспрессии нормированы с помощью коррекции абсолютного уровня экспрессии маркера, сравнивая его экспрессию с экспрессией гена, который не представляет собой маркер, например ген домашнего хозяйства, который экспрессируется конститутивно. Подходящие гены для нормирования включают в себя гены домашнего хозяйства, такие как ген актина, или эпителиальные клеточно-специфические гены. Такое нормирование позволяет сравнивать уровень экспрессии в одном образце, например, в образце пациента, с другим образцом, например, не патологическим или нетоксическим образцом, или между образцами из разных источников.

С другой стороны, уровень экспрессии может быть предусмотрен в виде относительного уровня экспрессии. Для определения относительного уровня экспрессии маркера, уровень экспрессии маркера определяют для 10 или более образцов нормальных против патологических или токсических изолятов клеток, предпочтительно 50 или больше образцов, до определения уровня экспрессии для исследуемого образца. Средний уровень экспрессии каждого из генов, проанализированных в большем количестве анализов, определяют и используют в качестве базового уровня экспрессии для маркера. Уровень экспрессии маркера, определяемый для исследуемого образца (абсолютный уровень экспрессии) затем делится на полученное среднее значение экспрессии для этого маркера. Это обеспечивает относительный уровень экспрессии.

Предпочтительно, образцы, используемые при определении базового уровня, будут от не патологических или не токсических клеток. Выбор источника клеток зависит от использования относительного уровня экспрессии. Использование экспрессии, обнаруженной в нормальных тканях как средняя оценка экспрессии, помогает в проверке того, характеризуется ли анализируемый маркер специфичностью к заболеванию или токсичности (по сравнению с нормальными клетками). Кроме того, как будет накоплено больше данных, среднее значение экспрессии может быть пересмотрено, обеспечивая улучшенные относительные величины экспрессии на основе накопленных данных. Данные экспрессии из патологических клеток или токсических клеток обеспечивают средства для классификации тяжести заболевания или интоксикации.

Согласно другому варианту осуществления настоящего изобретения обнаруживают маркерный белок. Предпочтительное средство для обнаружения маркерного белка согласно настоящему изобретению представляет собой антитело, способное связываться с таким белком или его фрагментом, предпочтительно антитело с детектируемой меткой. Антитела могут быть поликлональными или, более предпочтительно, моноклональными. Может быть использовано интактное антитело или его фрагмент или его производное (например, Fab или F(ab')<sub>2</sub>). Термин "меченое" по отношению к зонду или антителу предназначен для охвата прямого мечения зонда или антитела путем связывания (т.е. физического соединения) детектируемого вещества с зондом или антителом, а также непрямого мечения зонда или антитела по реактивности с другим реагентом, который прямо помечен. Примеры косвенного мечения включают в себя обнаружение первичного антитела с использованием флуоресцентно меченого вторичного антитела и меченого на конце ДНК-зонда с биотином таким образом, что он может быть обнаружен с флуоресцентно меченным стрептавидином.

Белки из клеток могут быть выделены с использованием техник, которые хорошо известны специалистам в настоящей области техники. Используемые способы выделения белков могут, например, быть такими, как те, которые описаны в Harlow и Lane (Harlow and Lane, 1988, *Antibodies: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York).

Могут быть использованы различные форматы, чтобы определить, содержит ли образец белок, который связывается с данным антителом. Примеры таких форматов включают в себя без ограничения иммуноферментный анализ (ИФА), радиоиммуноанализ (РИА), вестерн-блот анализ и твердофазный иммуноферментный анализ (ELISA). Специалист в настоящей области техники может легко адаптировать известные способы обнаружения белка/антитела для использования при определении того, экспрессируют ли клетки маркер согласно настоящему изобретению.

В одном формате антитела или фрагменты антител или их производные могут быть использованы в таких способах, как вестерн-блоттинг или иммунофлуоресценция для выявления экспрессированных белков. В таких применениях, как правило, предпочтительнее для иммобилизации либо антитело, либо белки на твердой подложке. Подходящие твердофазные подложки или носители включают в себя любую подложку, способную связываться с антигеном или антителом. Хорошо известные подложки или носители включают в себя стекло, полистирол, полипропилен, полиэтилен, декстран, нейлон, амилазы, при-

родные и модифицированные целлюлозы, полиакриламиды, габбро и магнетит.

Специалисту в настоящей области техники известны многие другие подходящие носители для связывания антитела или антигена, и он сможет адаптировать такую подложку для использования с настоящим изобретением. Например, белок, выделенный из патологических или токсических клеток, может быть разделен на электрофореze в полиакриламидном геле и иммобилизован на твердофазной подложке, такой как нитроцеллюлоза. Носитель может быть затем отмыт подходящими буферами с последующей обработкой обнаруживаемого помеченного антитела. Твердофазная подложка может быть отмыта буфером во второй раз для удаления несвязанного антитела. Количество связанной метки на твердом носителе можно затем обнаружить с помощью обычных средств.

Настоящее изобретение также охватывает наборы для обнаружения наличия маркерного белка или нуклеиновой кислоты в биологическом образце. Такие наборы могут быть использованы для определения того, страдает ли субъект от или находится в повышенном риске развития определенных заболеваний или индуцированной лекарственным средством токсичности. Например, набор может содержать меченое соединение или средство, способное обнаруживать маркерный белок или нуклеиновую кислоту в биологическом образце, и средства для определения количества белка или мРНК в образце (например, антитело, которое связывается с белком или его фрагментом, или олигонуклеотидный зонд, который связывается с ДНК или мРНК, кодирующей белок). Наборы могут также включать в себя инструкции для интерпретации результатов, полученных с использованием набора.

Для наборов на основе антител, набор может содержать, например: (1) первое антитело (например, прикрепленное к твердой подложке), которое связывается с маркерным белком; и, необязательно, (2) второе, другое антитело, которое связывается либо с белком, либо с первым антителом, и конъюгировано с детектируемой меткой.

Для наборов на основе олигонуклеотидов набор может содержать, например, (1) олигонуклеотид, например, помеченный обнаруживаемой меткой олигонуклеотид, который гибридизуется с последовательностью нуклеиновой кислоты, кодирующей маркерный белок или (2) пару праймеров, применимых для амплификации маркерной молекулы нуклеиновой кислоты. Набор может также содержать, например, буферное средство, консервант или стабилизирующее белок средство. Набор может дополнительно содержать компоненты, необходимые для обнаружения обнаруживаемой метки (например, фермент или субстрат). Набор может также содержать контрольный образец или серию контрольных образцов, которые могут быть проанализированы и сравнены с исследуемым образцом. Каждый компонент набора может быть заключен в отдельном контейнере, и все различные контейнеры могут быть в пределах одного пакета вместе с инструкциями для интерпретации результатов анализов, выполненных с использованием набора.

#### G. Фармакогеномика.

Маркеры согласно настоящему изобретению могут быть также применимы в качестве маркеров фармакогеномики. Используемый в настоящем документе "фармакогеномный маркер" представляет собой объективный биохимический маркер, чей уровень экспрессии коррелирует со специфической клинической реакцией на лекарственное средство или восприимчивость у пациента (см., например, McLeod et al. (1999) Eur. J. Cancer 35(12): 1650-1652). Наличие или количество экспрессии фармакогеномного маркера связано с прогнозируемой реакцией пациента и, в частности, патологическими или токсическими клетками пациента на терапию со специфическим лекарственным средством или классом лекарственных средств. По оценке наличия или количества экспрессии одного или нескольких фармакогеномных маркеров у пациента может быть выбрана лекарственная терапия, которая наиболее подходит для пациента, или которая по прогнозам характеризуется более высокой степенью успеха. Например, на основании наличия или количества РНК или белка, кодируемого специфическими опухолевыми маркерами у пациента, может быть выбрано лекарство или курс лечения, который оптимизирован для лечения конкретной опухоли, предположительно присутствующей в организме пациента. Использование фармакогеномных маркеров поэтому позволяет выбрать или разработать наиболее подходящее лечение для каждого больного злокачественной опухолью, без опробования разных лекарственных средств или режимов.

Другой аспект фармакогеномики связан с генетическими условиями, которые изменяют путь, которым организм действует на лекарственные средства. Эти фармакогенетические условия могут произойти либо в качестве редких дефектов, либо как полиморфизмы. Например, дефицит глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (G6PD) представляет собой наследственную энзимопатию, в которой основное клиническое осложнение представляет собой гемолиз после приема оксидантных лекарственных средств (противомаларийные препараты, сульфаниламиды, анальгетики, нитрофураны) и потребления бобовых.

В качестве иллюстративного варианта осуществления активность метаболизирующих лекарственных средств ферментов представляет собой основной фактор, определяющий как интенсивность, так и продолжительность действия лекарственного средства. Открытие генетических полиморфизмов метаболизирующих лекарственных средств ферментов (например, N-ацетилтрансферазы 2 (NAT 2) и цитохрома P450 CYP2D6 и CYP2C19) предоставило объяснение того, почему некоторые пациенты не получают ожидаемые эффекты лекарственных средств или показывают усиленную реакцию на лекарственные средства и серьезную токсичность после приема стандартной и безопасной дозы лекарственного средства.

ва. Эти полиморфизмы экспрессируются в двух фенотипах в популяции, быстрый метаболизатор (ЕМ) и медленный метаболизатор (РМ). Распространенность РМ отличается среди различных популяций. Например, ген, кодирующий CYP2D6, высоко полиморфен, и были идентифицированы несколько мутаций в РМ, которые приводят к отсутствию функциональной CYP2D6. Медленные метаболизаторы CYP2D6 и CYP2C19 довольно часто испытывают повышенную реакцию на лекарственные средства и побочные эффекты, когда они получают стандартные дозы. Если метаболит представляет собой активный терапевтический фрагмент, РМ не покажет терапевтической реакции, что продемонстрировано на обезболивающем действии кодеина, опосредованным образованным CYP2D6 метаболитом морфина. Другую крайность представляют собой так называемые ультра-быстрые метаболизаторы, которые не отвечают на стандартные дозы. В последнее время, молекулярная основа ультра-быстрого метаболизма была определена, как происходящая за счет амплификации гена CYP2D6.

Таким образом, уровень экспрессии маркера согласно настоящему изобретению у индивидуума может быть определен, чтобы таким образом выбрать соответствующее средство(а) для терапевтического или профилактического лечения индивидуума. Кроме того, фармакогенетические исследования могут быть использованы для применения генотипирования полиморфных аллелей, кодирующих метаболизирующие лекарственные средства ферменты, для идентификации фенотипа отклика на лекарственное средство индивидуума. Это знание, в применении к дозированию или выбору препарата, может помочь избежать побочные реакции или терапевтическую недостаточность и тем самым повысить терапевтическую или профилактическую эффективность при лечении субъекта с модулятором экспрессии маркера согласно настоящему изобретению.

#### Н. Мониторинг клинических испытаний.

Мониторинг влияния средств (например, лекарственных соединений) на уровень экспрессии маркера согласно настоящему изобретению может быть применен не только в основном скрининге лекарственных средств, но и в клинических испытаниях. Например, эффективность средства, влияющего на экспрессию маркера, можно контролировать в ходе клинических испытаний субъектов, получающих лечение от некоторых заболеваний, таких как злокачественная опухоль, сахарный диабет, ожирение, сердечно-сосудистое заболевание и кардиотоксичность или индуцированная лекарственными средствами токсичность. Согласно предпочтительному варианту осуществления в настоящем изобретении предусмотрен способ для контроля эффективности лечения субъекта средством (например, агонистом, антагонистом, пептидомиметиком, белком, пептидом, нуклеиновой кислотой, малой молекулой или другим кандидатным лекарственным средством), содержащим стадии (i) получения образца от субъекта перед введением средства; (ii) определения уровня экспрессии одного или нескольких выбранных маркеров согласно настоящему изобретению в образце перед введением; (iii) получения одного или нескольких образцов после введения от субъекта; (iv) определения уровня экспрессии маркера(ов) в образцах после введения; (v) сравнения уровня экспрессии маркера(ов) в образце до введения с уровнем экспрессии маркера(ов) в образце или образцах после введения и (vi) изменения введения средства субъекту соответственно. Например, увеличенная экспрессия гена(ов) маркера во время курса лечения может указывать на неэффективную дозу и желательность увеличения дозы. И наоборот, снижение экспрессии гена(ов) маркера может указывать на эффективное лечение и отсутствие необходимости изменять дозировку.

#### I. Матрицы.

Настоящее изобретение также включает в себя матрицу, содержащую маркер согласно настоящему изобретению. Матрица может быть использована для анализа экспрессии одного или нескольких генов в матрице. Согласно одному варианту осуществления матрица может быть использована для анализа экспрессии генов в ткани, чтобы установить тканевую специфичность генов в матрице. Таким образом, вплоть до примерно 7600 генов могут быть одновременно проанализированы на экспрессию. Это позволяет разрабатывать профиль, показывающий батарею генов, специфически экспрессируемых в одной или нескольких тканях.

В дополнение к такому качественному определению, настоящее изобретение позволяет количественное определение экспрессии гена. Таким образом, может быть определена не только тканевая специфичность, но также и уровень экспрессии батареи генов в ткани. Таким образом, гены могут быть сгруппированы на основе их тканевой экспрессии *per se* и уровня экспрессии в этой ткани. Это применимо, например, в определении отношения экспрессии генов между или среди тканей. Таким образом, одна ткань может быть подвергнута возмущающему воздействию и может быть определен эффект на экспрессию генов во второй ткани. В этом контексте, может быть определен эффект одного типа клеток на другой тип клеток в ответ на биологический стимул. Такое определение применимо, например, чтобы узнать эффект взаимодействия клетка-клетка на уровне экспрессии генов. Если средство вводят терапевтически для воздействия на один тип клеток, но оно оказывает нежелательный эффект на другой тип клеток, настоящее изобретение включает анализ, чтобы определить молекулярную основу нежелательного эффекта и, таким образом, включает возможность совместного введения противодействующего средства или иным образом воздействовать на нежелательный эффект. Кроме того, даже в пределах одного типа клеток, нежелательные биологические эффекты могут быть определены на молекулярном уровне. Таким образом, влияние средства на экспрессию отличного от гена-мишени может быть установлено и оказано

противодействие.

Согласно другому варианту осуществления матрица может быть использована для контроля зависимости от времени экспрессии одного или нескольких генов в матрице. Это может происходить в различных биологических контекстах, как описано в настоящем документе, например, развития индуцированной лекарственным средством токсичности, прогрессирования индуцированной лекарственным средством токсичности и таких процессов, как клеточная трансформация, связанной с индуцированной лекарственным средством токсичностью.

Матрица также применима для установления эффект экспрессии гена на экспрессию других генов в той же клетке или в различных клетках. Это включает, например, выбор альтернативных молекулярных мишеней для терапевтического вмешательства, если конечная или нижележащая мишень не может регулироваться.

Матрица также применима для установления дифференциальных паттернов экспрессии одного или нескольких генов в нормальных и ненормальных клетках. Это включает батарею генов, которые могут служить в качестве молекулярной мишени для диагностики или терапевтического вмешательства.

## **VII. Способы получения образцов**

Образцы, используемые в способах согласно настоящему изобретению, включают в себя любую ткань, клетку, биопсию или образец биологической жидкости, который экспрессирует маркер согласно настоящему изобретению. Согласно одному варианту осуществления образец может представлять собой ткань, клетку, цельную кровь, сыворотку, плазму, буккальный соскоб, слюну, спинномозговую жидкость, мочу, кал или бронхоальвеолярный лаваж. Согласно предпочтительным вариантам осуществления образец ткани представляет собой образец патологического состояния или состояние токсичности. Согласно более предпочтительным вариантам осуществления образец ткани представляет собой образец злокачественной опухоли, образец сахарного диабета, образец ожирения, образец сердечно-сосудистого заболевания или образец индуцированной лекарственным средством токсичности.

Биологические образцы могут быть получены от субъекту различными способами, известными в настоящей области техники, включающими в себя, например, использование биопсии или соскабливания или мочной области или с использованием иглы для аспирации жидкостей организма. Способы сбора различных биологических образцов хорошо известны в настоящей области техники.

Образцы тканей, пригодные для обнаружения и количественного определения маркера согласно настоящему изобретению могут быть свежими, замороженными или фиксированными в соответствии со способами, известными специалистам в настоящей области техники. Подходящие образцы тканей представляют собой предпочтительно срезы и помещаются на предметное стекло для дальнейшего анализа. С другой стороны, твердые образцы, т.е. образцы тканей, могут быть растворены и/или гомогенизированы и затем проанализированы в виде растворимых экстрактов.

Согласно одному варианту осуществления свежеприготовленные образцы биопсии замораживают с использованием, например, жидкого азота или дифтордихлорметана. Замороженный образец устанавливают для секционирования, используя, например, ОСТ и серийно делают срезы в криостате. Последовательные срезы собирают на предметное стекло микроскопа. Для иммуногистохимического окрашивания слайды могут быть покрыты, например, с помощью хромовых квасцов, желатина или поли-L-лизина, чтобы гарантировать, что участки прилипают к слайдам. Согласно другому варианту осуществления образцы фиксируют и заливают до секционирования. Например, образец ткани может быть зафиксирован, например, в формалине, последовательно обезвожен и залит, например, в парафин.

После того как получают образец, может быть использован любой известный в настоящей области техники способ как подходящий для обнаружения и количественного определения маркера согласно настоящему изобретению (либо в нуклеиновой кислоте, либо на уровне белка). Такие способы хорошо известны в настоящей области техники и включают в себя без ограничения вестерн-блоттинг, нозерн-блоттинг, саузерн-блоттинг, ELISA, иммуногистохимический анализ, например, амплифицированный анализ ELISA, иммунопреципитацию, иммунофлюоресценцию, проточную цитометрию, иммуноцитохимию, масс-спектрометрические анализы, например, MALDI-TOF и SELDI-TOF, техники гибридизации нуклеиновых кислот, способы обратной транскрипции нуклеиновых кислот и способы амплификации нуклеиновых кислот. Согласно конкретным вариантам осуществления экспрессия маркера согласно настоящему изобретению обнаруживается на уровне белка с использованием, например, антител, которые специфически связываются с этими белками.

Образцы, возможно, должны быть модифицированы для того, чтобы получить маркер согласно настоящему изобретению доступный для связывания антител. В конкретном аспекте иммуноцитохимического или иммуногистохимического способов, слайды могут быть переданы в буфер предварительной обработки и, возможно, нагреты, чтобы повысить доступность антигена. Нагревание образца в буфере предварительной обработки быстро разрушает липидный бислой клеток и делает антигены (может быть в случае свежих образцов, но не типично, что происходит в фиксированных образцах) более доступными для связывания антитела. Термины "буфер предварительной обработки" и "буфер подготовки" используются в настоящем документе взаимозаменяемо для обозначения буфера, который используется для подготовки цитологических или гистологических образцов для иммунного окрашивания, в частности, за

счет увеличения доступности маркера согласно настоящему изобретению для связывания антитела. Буфер предварительной обработки может содержать солевой раствор со специфическим pH, полимер, детергент или неионное или анионное поверхностно-активное вещество, такое как, например, этилоксилированное анионное или неионное поверхностно-активное вещество, алканоат или алкоксилат или даже смеси этих поверхностно-активных веществ или даже использование солей желчных кислот. Буфер предварительной обработки может, например, представлять собой раствор от 0,1% до 1% дезоксихолевой кислоты, натриевой соли или раствор лаурет-13-карбоксилата натрия (например, Sandopan LS) или этоксилированный анионный комплекс. Согласно некоторым вариантам осуществления буфер предварительной обработки также может быть использован в качестве буфера для хранения слайдов.

Любой способ получения маркерных белков согласно настоящему изобретению, более доступный для связывания антител, может быть использован в практике настоящего изобретения, включающий способы извлечения антигена, известные в настоящей области техники. См., например, Bibbo, et al. (2002) *Acta. Cytol.* 46:25-29; Saqi, et al. (2003) *Diagn. Cytopathol.* 27:365-370; Bibbo, et al. (2003) *Anal. Quant. Cytol. Histol.* 25:8-11, полное содержание каждого из которых включено в настоящий документ посредством ссылки.

После предварительной обработки для увеличения доступности маркерного белка образцы могут быть заблокированы с использованием соответствующего блокирующего средства, например, блокирующего реагента-пероксидазы, такой как перекись водорода. Согласно некоторым вариантам осуществления образцы могут быть заблокированы с использованием блокирующего белок реагента для предотвращения неспецифического связывания антитела. Блокирующий белок реагент может содержать, например, очищенный казеин. Антитело, в частности, моноклональное или поликлональное антитело, которое специфически связывается с маркером согласно настоящему изобретению, затем инкубируют с образцом. Специалисту в настоящей области техники будет понятно, что более точный прогноз или диагноз может быть получен в некоторых случаях путем обнаружения множественных эпитопов на маркерном белке согласно настоящему изобретению в образце пациента. Таким образом, согласно конкретным вариантам осуществления используют по меньшей мере два антитела, направленные на различные эпитопы маркера согласно настоящему изобретению. При использовании более чем одного антитела, эти антитела могут быть добавлены к одному образцу последовательно в виде отдельных реагентов антител, либо одновременно в виде коктейля антител. Кроме того, каждое индивидуальное антитело может быть добавлено в отдельный образец от того же пациента и полученные в результате данные объединены.

Техники для определения связывания антител хорошо известны в настоящей области техники. Связывание антител с маркером согласно настоящему изобретению может быть обнаружено посредством использования химических реагентов, которые создают обнаруживаемый сигнал, соответствующий уровню связывания антитела и, соответственно, уровню экспрессии маркерного белка. В одном из иммуногистохимических или иммуноцитохимических способов согласно настоящему изобретению связывание антитела обнаруживают путем использования вторичного антитела, которое конъюгировано с меченым полимером. Примеры меченых полимеров включают в себя без ограничения полимер-ферментные конъюгаты. Ферменты в этих комплексах, как правило, используются в качестве катализатора отложение хромогена в антиген-связывающем сайте антитела, таким образом приводя к окрашиванию клеток, что соответствует уровню экспрессии представляющего интерес биомаркера. Ферменты, представляющие особый интерес, включают в себя без ограничения пероксидазу хрена (HRP) и щелочную фосфатазу (AP).

В одном конкретном иммуногистохимическом или иммуноцитохимическом способе согласно настоящему изобретению антитело, связывающееся с маркером согласно настоящему изобретению, обнаруживают посредством использования с HRP-меченого полимера, который конъюгирован с вторичным антителом. Связывание антител также может быть определено посредством использования видоспецифического зонда реагента, который связывается с моноклональными или поликлональными антителами, и полимера, конъюгированного с HRP, который связывается с реагентом видоспецифического зонда. Слайды окрашивают на связывание антитела с использованием любого хромогена, например, хромогена 3,3-диаминобензидина (DAB), а затем контрастно окрашивают гематоксилином и, необязательно, подсиновым средством, таким как гидроксид аммония или TBS/Твин-20. Другие подходящие хромогены включают в себя, например, 3-амино-9-этилкарбазол (АЕС). Согласно некоторым аспектам настоящего изобретения слайды рассматривают микроскопически с помощью лаборанта цитологической лаборатории и/или патологоанатома для оценки окрашивания клеток, например, флуоресцентного окрашивания (т.е. экспрессии маркера). Кроме того, образцы могут быть просмотрены с помощью автоматизированной микроскопии или персоналом с помощью компьютерного программного обеспечения, облегчающего идентификацию положительного окрашивания клеток.

Обнаружение связывания антитела может быть облегчено путем связывания антител к маркерам с детектируемым веществом. Примеры детектируемых веществ включают в себя различные ферменты, простетические группы, флуоресцентные материалы, люминесцентные материалы, биолюминесцентные материалы и радиоактивные материалы. Примеры подходящих ферментов включают в себя пероксидазу хрена, щелочную фосфатазу,  $\beta$ -галактозидазу или ацетилхолинэстеразу; примеры подходящих комплексов простетических групп включают в себя стрептавидин/биотин и авидин/биотин; примеры подходящих

флуоресцентных материалов включают в себя умбеллиферон, флуоресцеин, флуоресцеинизотиоцианат, родамин, дихлоротриазиниламинфлуоресцеин, дансилхлорид или фикоэритрин; пример люминесцентного материала включает в себя люминол; примеры биолюминесцентных материалов включают в себя люциферазу, люциферин и экворин, и примеры подходящих радиоактивных материалов включают в себя  $^{125}\text{I}$ ,  $^{131}\text{I}$ ,  $^{35}\text{S}$  или  $^3\text{H}$ .

Согласно одному варианту осуществления настоящего изобретения замороженные образцы получают, как описано выше, и затем окрашивают антителами к маркеру согласно настоящему изобретению, разбавленными до соответствующей концентрации с использованием, например, трис-буферного солевого раствора (TBS). Первичные антитела могут быть обнаружены путем инкубации слайдов в биотинилированном анти-иммуноглобулине. Этот сигнал может быть, необязательно, амплифицирован и визуализирован с использованием осаждения диаминобензидином антигена. Кроме того, слайды могут быть, необязательно, контрастно окрашены, например, гематоксилином, чтобы визуализировать клетки.

Согласно другому варианту осуществления фиксированные и встроенные образцы окрашивали антителами против маркера согласно настоящему изобретению и контрастно окрашивали, как описано выше для замороженных срезов. Кроме того, пробы могут быть дополнительно обработаны средствами для усиления сигнала для визуализации окрашивания антител. Например, может быть использовано катализируемое пероксидазой осаждение биотинил-тирамида, который в свою очередь взаимодействует с конъюгированным с пероксидазой стрептавидином (система катализируемого усиления сигнала (CSA), DAKO, Carpinteria, CA).

Анализ на основе ткани (т.е. иммуногистохимия) представляют собой предпочтительные способы обнаружения и количественного определения маркера согласно настоящему изобретению. Согласно одному варианту осуществления наличие или отсутствие маркера согласно настоящему изобретению может быть определено с помощью иммуногистохимии. Согласно одному варианту осуществления иммуногистохимический анализ использует низкие концентрации антитела к маркеру таким образом, что клетки, лишённые маркера, не окрашиваются. Согласно другому варианту осуществления наличие или отсутствие маркера согласно настоящему изобретению определяется с использованием иммуногистохимического способа, использующего высокие концентрации антитела к маркеру, такие, что клетки, лишённые маркерного белка, окрашиваются в значительной степени. Клетки, которые не окрашиваются, содержат либо мутировавший маркер и не приводят к антигенно узнаваемому маркерному белку, или представляют собой клетки, в которых пути, которые регулируют содержание маркера, характеризуются нарушением регуляции, приводя к стационарному состоянию экспрессии незначительного маркерного белка.

Специалисту в настоящей области техники будет понятно, что концентрация конкретного антитела, используемая для практического применения способов согласно настоящему изобретению, будет изменяться в зависимости от таких факторов, как время связывания, уровень специфичности антитела к маркеру согласно настоящему изобретению и способа пробоподготовки. Кроме того, когда используют множественные антитела, требуемая концентрация может зависеть от порядка, в котором антитела применяются к образцу, например, одновременно в виде коктейля или последовательно в виде отдельных реагентов антител. Кроме того, химическое обнаружение, используемое для визуализации связывания антител с маркером согласно настоящему изобретению, также должно быть оптимизировано для получения желаемого сигнала к коэффициенту шумов.

Согласно одному варианту осуществления настоящего изобретения протеомные способы, например, масс-спектрометрию, используют для обнаружения и количественного определения маркерных белков согласно настоящему изобретению. Например, времяпролетная масс-спектрометрия с лазерной ионизацией и десорбцией из жидкой матрицы (MALDI-TOF MC) или времяпролетная масс-спектрометрия с усиленной поверхностной лазерной десорбцией/ионизацией (SELDI-TOF MC), которые включают в себя применение биологического образца, такого как сыворотка, к связывающему белок чипу (Wright, G.L., Jr., et al. (2002) *Expert Rev Mol Diagn* 2:549; Li, J., et al. (2002) *Clin Chem* 48:1296; Laronga, C., et al. (2003) *Dis Markers* 19:229; Petricoin, E.F., et al. (2002) 359:572; Adam, B.L., et al. (2002) *Cancer Res* 62:3609; Tolson, J., et al. (2004) *Lab Invest* 84:845; Xiao, Z., et al. (2001) *Cancer Res* 61:6029) могут быть использованы для обнаружения и количественного определения белков PY-Shc и/или P66-Shc. Масс-спектрометрические способы описаны, например, в патентах США № 5622824, 5605798 и 5547835, полное содержание каждого из которых включено в настоящий документ посредством ссылки.

Согласно другим вариантам осуществления экспрессию маркера согласно настоящему изобретению обнаруживается на уровне нуклеиновой кислоты. Техники на основе нуклеиновых кислот для оценки экспрессии хорошо известны в настоящей области техники и включают в себя, например, определение уровня маркерной мРНК в образце от субъекта. Многие способы обнаружения экспрессии используют изолированную РНК. Любая техника выделения РНК, которая не выбирает против выделения мРНК, может быть использована для очистки РНК из клеток, которые экспрессируют маркер согласно настоящему изобретению (см., например, Ausubel et al., ed., (1987-1999) *Current Protocols in Molecular Biology* (John Wiley & Sons, New York. Кроме того, большое количество образцов ткани может быть легко обработано с использованием техник, хорошо известных специалистам в настоящей области техники, таких

как, например, одностадийный процесс выделения РНК Chomczynski (1989, патент США № 4843155).

Термин "зонд" относится к любой молекуле, которая способна селективно связываться с маркером согласно настоящему изобретению, например, нуклеотидным транскриптом и/или белком. Зонды могут быть синтезированы специалистом в настоящей области техники или получены из соответствующих биопрепаратов. Зонды могут быть специально разработаны для мечения. Примеры молекул, которые могут быть использованы в качестве зондов, включают в себя без ограничения РНК, ДНК, белки, антитела и органические молекулы.

Выделенная мРНК может быть использована в гибридизационных анализах или анализах амплификации, которые включают в себя без ограничения саузерн или нозерн анализ, полимеразную цепную реакцию и матрицы зондов. Один способ обнаружения содержания мРНК включает в себя контактирование выделенной мРНК с молекулой нуклеиновой кислоты (зондом), которая может гибридизоваться с маркерной мРНК. Зонд нуклеиновой кислоты может представлять собой, например, полноразмерную кДНК или ее часть, например, олигонуклеотид, составляющий по меньшей мере 7, 15, 30, 50, 100, 250 или 500 нуклеотидов в длину, и достаточно специфически гибридизуется в строгих условиях с маркерной геномной ДНК.

Согласно одному варианту осуществления мРНК иммобилизуют на твердой поверхности и приводят в контакт с зондом, например, путем разделения выделенной мРНК в агарозном геле и переноса мРНК из геля на такую мембрану, как нитроцеллюлоза. Согласно альтернативному варианту осуществления зонд(ы) иммобилизуют на твердой поверхности и мРНК приводят в контакт с зондом(ами), например, в виде матрицы генного чипа Affymetrix. Специалист в настоящей области техники может легко адаптировать известные способы обнаружения мРНК для использования в определении уровня маркерной мРНК.

Альтернативный способ определения уровня маркерной мРНК в образце включает в себя процесс амплификации нуклеиновых кислот, например, путем ОТ-ПЦР (экспериментальный вариант осуществления, изложен в Mullis, 1987, патент США 4683202), лигазной цепной реакции (Barany, 1991, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 88:189-193), самоподдерживающейся репликации последовательности (Guatelli et al., 1990, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 87:1874-1878), транскрипционной системы амплификации (Kwoh et al., 1989, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86:1173-1177), Q-бета репликазы (Lizardi et al., 1988, Bio/Technology 6:1197), репликации по типу "катящегося кольца" (Lizardi et al., патент США № 5854033) или любого другого способа амплификации нуклеиновой кислоты с последующим обнаружением амплифицированных молекул с использованием техник, хорошо известных специалистам в настоящей области техники. Эти схемы обнаружения особенно применимы для обнаружения молекул нуклеиновых кислот, если такие молекулы присутствуют в очень малых количествах. Согласно конкретным аспектам настоящего изобретения экспрессия маркера оценивается с помощью количественной флуорогенной ОТ-ПЦР (т.е. TaqMan™ System). Такие способы обычно используют пары олигонуклеотидных праймеров, которые специфичны для маркера согласно настоящему изобретению. Способы разработки олигонуклеотидных праймеров, специфичных к известной последовательности, хорошо известны в настоящей области техники.

Уровни экспрессии маркера согласно настоящему изобретению можно контролировать с использованием мембранного блота (такого, как используется в гибридизационном анализе, таком как нозерн, саузерн, дот и т.п.) или микролунок, пробирок, гелей, гранул или волокон (или любой твердой подложки, содержащей связанные нуклеиновые кислоты). См. патенты США № 5770722, 5874219, 5744305, 5677195 и 5445934, которые включены в настоящий документ посредством ссылки. Обнаружение экспрессии маркера может также включать использование зондов нуклеиновых кислот в растворе.

Согласно одному варианту осуществления настоящего изобретения микрочипы используются для обнаружения экспрессии маркера согласно настоящему изобретению. Микрочипы особенно хорошо подходят для этой цели благодаря воспроизводимости между различными экспериментами. ДНК-чипы обеспечивают один способ для одновременного измерения уровней экспрессии большого числа генов. Каждая матрица состоит из воспроизводимого паттерна захватывающих зондов, прикрепленных к твердой подложке. Меченую РНК или ДНК гибридизуют с комплементарными зондами на матрице, а затем обнаруживают с помощью лазерного сканирования. Интенсивность гибридизации для каждого зонда на матрице определяют и преобразуют в количественное значение, представляющее относительные уровни экспрессии гена. См. патенты США № 6040138, 5800992 и 6020135, 6033860 и 6344316, которые включены в настоящий документ посредством ссылки. Высокоплотные массивы олигонуклеотидов особенно применимы для определения профиля экспрессии генов для большого количества РНК в образце.

Количества маркера и/или математическое соотношение количеств маркера согласно настоящему изобретению могут быть использованы для вычисления риска рецидива патологического состояния, например, злокачественной опухоли, сахарного диабета, ожирения, сердечно-сосудистого заболевания или состояния токсичности, например, индуцированной лекарственным средством токсичности или кардиотоксичности, у субъекта, которого подвергают лечению от патологического состояния или состояния токсичности, выживание субъекта, которого подвергают лечению от патологического состояния или состояния токсичности, агрессивное ли патологическое состояние или состояние токсичности, эффективна ли схема лечения для лечения патологического состояния или состояния токсичности и тому подобное, с

использованием способов согласно настоящему изобретению, которые могут включать в себя способы регрессионного анализа, известные в настоящей области техники. Например, подходящие модели регрессии включают в себя без ограничения CART (например, Hill, T, and Lewicki, P. (2006) "STATISTICS Methods and Applications" StatSoft, Tulsa, OK), Cox (например, [www.evidence-based-medicine.co.uk](http://www.evidence-based-medicine.co.uk)), экспоненциальный, нормальный и логарифмически нормальный (например, [www.obgyn.cam.ac.uk/mrg/statsbook/stsurvan.html](http://www.obgyn.cam.ac.uk/mrg/statsbook/stsurvan.html)), логистический (например, [www.en.wikipedia.org/wiki/Logistic\\_regression](http://www.en.wikipedia.org/wiki/Logistic_regression)), параметрический, непараметрический, семипараметрический (например, [www.socserv.mcmaster.ca/jfox/Books/Companion](http://www.socserv.mcmaster.ca/jfox/Books/Companion)), линейный (например, [www.en.wikipedia.org/wiki/Linear\\_regression](http://www.en.wikipedia.org/wiki/Linear_regression)) или аддитивный (например, [www.en.wikipedia.org/wiki/Generalized\\_additive\\_model](http://www.en.wikipedia.org/wiki/Generalized_additive_model)).

Согласно одному варианту осуществления регрессионный анализ включает в себя количество маркера. Согласно другому варианту осуществления регрессионный анализ включает в себя маркерную математическую связь. Согласно еще одному варианту осуществления регрессионный анализ количества маркера и/или маркерная математическая связь может включать в себя дополнительные клинические и/или молекулярные коварианты. Такие клинические коварианты включают в себя без ограничения состояние лимфоузлов, стадии опухоли, степень злокачественности, размер опухоли, режим лечения, например, химиотерапию и/или лучевую терапию, клинический исход (например, рецидив, специфическую выживаемость, недостаточность терапии) и/или клинический результат в виде функции времени после постановки диагноза, времени после начала терапии и/или времени после завершения лечения.

### **VIII. Наборы**

В настоящем изобретении также предусмотрены композиции и наборы для прогнозирования патологического состояния, например, злокачественной опухоли, сахарного диабета, ожирения, сердечно-сосудистого заболевания или состояния токсичности, например, индуцированной лекарственным средством токсичности или кардиотоксичности, рецидива патологического состояния или состояния токсичности или выживания субъекта, которого подвергают лечению из-за патологического состояния или состояния токсичности. Эти наборы включают в себя одно или несколько из следующего: обнаруживаемое антитело, которое специфически связывается с маркером согласно настоящему изобретению, реагенты для получения и/или подготовки образцов тканей субъекта для окрашивания и инструкции по применению.

Наборы согласно настоящему изобретению могут необязательно содержать дополнительные компоненты, применимые для выполнения способов согласно настоящему изобретению. В качестве примера, эти наборы могут содержать жидкости (например, буфер SSC), пригодные для отжига комплементарных нуклеиновых кислот или для связывания антитела с белком, с которым он специфически связывается, один или несколько компартментов образцов, инструкционный материал, который описывает производительность способа согласно настоящему изобретению и тканеспецифические контроли/стандарты.

### **IX. Скрининговые анализы**

Мишени настоящего изобретения включают в себя без ограничения гены и/или белки, перечисленные в настоящем документе. На основании результатов экспериментов, описанных заявителями в настоящем документе, ключевых белки, модулированные при патологическом состоянии или состоянии токсичности, связаны с или могут быть разделены на различные пути или группы молекул, включающие в себя цитоскелетные компоненты, факторов транскрипции, апоптотическую реакцию, пентозофосфатный путь, путь биосинтеза, окислительный стресс (прооксидант), мембранные изменения и метаболизм окислительного фосфорилирования. Соответственно, согласно одному варианту осуществления настоящего изобретения маркер может включать в себя один или несколько генов (или белков), выбранных из группы, состоящей из HSPA8, FLNB, PARK7, HSPA1A/HSPA1B, ST13, TUBB3, MIF, KARS, NARS, LGALS1, DDX17, EIF5A, HSPA5, DHX9, HNRNPC, SKAP4, HSPA9, PARP1, HADHA, PHB2, ATP5A1, CANX, GRP78, GRP75, TIMP1, PTX3, HSP76, PDIA4, PDIA1, CA2D1, GPAT1 и TAZ. Согласно одному варианту осуществления маркер может включать в себя один или несколько генов (или белков), выбранных из группы, состоящей из GRP78, GRP75, TIMP1, PTX3, HSP76, PDIA4, PDIA1, CA2D1, GPAT1 и TAZ. Согласно некоторым вариантам осуществления маркеры представляют собой сочетание по меньшей мере двух, трех, четырех, пяти, шести, семи, восьми, девяти, десяти, одиннадцати, двенадцати, тринадцати, четырнадцати, пятнадцати, шестнадцати, семнадцати, восемнадцати, девятнадцати, двадцати, двадцати пяти, тридцати или более вышеуказанных генов (или белков).

Скрининговые анализы, применимые для идентификации модуляторов идентифицированных маркеров, описаны ниже.

В настоящем изобретении также предусмотрены способы (также упоминаемые в настоящем документе как "скрининговые анализы") для идентификации модуляторов, т.е. кандидатных или исследуемых соединений или средств (например, белков, пептидов, пептидомиметиков, пептоидов, небольших молекул или других препаратов), которые применимы для лечения или предупреждения патологического состояния или состояния токсичности путем модулирования экспрессии и/или активности маркера согласно настоящему изобретению. Такие анализы обычно включают реакцию между маркером согласно настоящему изобретению и один или несколько компонентов анализа. Другие компоненты могут представ-

лать собой либо само исследуемое соединение, либо сочетание исследуемых соединений и естественного партнера по связыванию маркера согласно настоящему изобретению. Соединения, идентифицированные с помощью таких анализов, как те, что описаны в настоящем документе, могут быть применимы, например, для модуляции, например, ингибирования, уменьшения интенсивности симптомов, лечения или предотвращения агрессивности патологического состояния или состояния токсичности.

Исследуемые соединения, используемые в скрининговых анализах согласно настоящему изобретению, могут быть получены из любого доступного источника, включающего в себя системные библиотеки натуральных и/или синтетических соединений. Исследуемые соединения могут быть также получены с помощью любого из многочисленных подходов в способах комбинаторных библиотек, известных в настоящей области техники, включающих в себя: биологические библиотеки; пептоидные библиотеки (библиотеки молекул, характеризующихся функциональными возможностями пептидов, но с новым, непептидным скелетом, который устойчив к ферментативному расщеплению, но которые тем не менее остающиеся биологически активными; см., например, Zuckermann et al., 1994, *J. Med. Chem.* 37:2678-85); библиотеки пространственно адресуемых параллельных твердых фаз или растворимых фаз; синтетические способы библиотек, требующие деконволюцию; способ библиотеки "одна-гранула-одно-соединение" и синтетические способы библиотек, использующие выбор с аффинной хроматографией. Подходы биологической библиотеки и пептоидной библиотеки ограничены пептидными библиотеками, в то время как другие четыре подхода применимы к пептидной, непептидной олигомерной или низкомолекулярной библиотекам соединений (Lam, 1997, *Anticancer Drug Des.* 12:145).

Примеры способов синтеза молекулярных библиотек можно найти в настоящей области техники, например в: DeWitt et al. (1993) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90:6909; Erb et al. (1994) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 91:11422; Zuckermann et al. (1994). *J. Med. Chem.* 37:2678; Cho et al. (1993) *Science* 261:1303; Carrell et al. (1994) *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 33:2059; Carrell et al. (1994) *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 33:2061; and in Gallop et al. (1994) *J. Med. Chem.* 37:1233.

Библиотеки соединений могут быть представлены в растворе (например, Houghten, 1992, *Biotechniques* 13:412-421) или на гранулах (Lam, 1991, *Nature* 354:82-84), чипсах (Fodor, 1993, *Nature* 364:555-556), бактериях и/или спорах, (Ladner, USP 5223409), плаزمидях (Cull et al., 1992, *Proc Natl Acad Sci USA* 89:1865-1869) или на фарах (Scott and Smith, 1990, *Science* 249:386-390; Devlin, 1990, *Science* 249:404-406; Cwirla et al., 1990, *Proc. Natl. Acad. Sci.* 87:6378-6382; Felici, 1991, *J. Mol. Biol.* 222:301-310; Ladner, выше).

Способы скрининга согласно настоящему изобретению включают контактирование клетки патологического состояния или клетки состояния токсичности с исследуемым соединением и определение способности исследуемого соединения модулировать экспрессию и/или активность маркера согласно настоящему изобретению в клетке. Экспрессия и/или активность маркера согласно настоящему изобретению может быть определена, как описано в настоящем документе.

Согласно другому варианту осуществления в настоящем изобретении предусмотрены анализы скринингового кандидата или исследуемого соединения, которые представляют собой субстраты маркера согласно настоящему изобретению или их биологически активные части. Согласно еще одному варианту осуществления в настоящем изобретении предусмотрены анализы скринингового кандидата или исследуемого соединения, которое связывается с маркером согласно настоящему изобретению или его биологически активной частью. Определение способности исследуемого соединения напрямую связываться с маркером может быть достигнуто, например, путем связывания соединения с радиоизотопной или ферментной меткой таким образом, что связывание соединения с маркером может быть определено путем обнаружения меченого маркерного соединения в комплексе. Например, соединения (например, маркерные субстраты) могут быть помечены  $^{131}\text{I}$ ,  $^{125}\text{I}$ ,  $^{35}\text{S}$ ,  $^{14}\text{C}$  или  $^3\text{H}$ , прямо или косвенно, и радиоактивный изотоп обнаружен путем непосредственного подсчета радиоизлучения или с помощью сцинтилляционного счетчика. С другой стороны, компоненты анализа могут быть ферментативно помечены, например, пероксидазой хрена, щелочной фосфатазой или люциферазой, а ферментативная метка обнаружена с помощью определения преобразования соответствующего субстратного продукта.

Настоящее изобретение дополнительно относится к новым средствам, идентифицированным описанными выше скрининговыми анализами. Таким образом, в пределах объема настоящего изобретения находится дальнейшее использование средства, идентифицированного, как описано в настоящем документе в соответствующей животной модели. Например, средства, способные модулировать экспрессию и/или активность маркера согласно настоящему изобретению, идентифицированные, как описано в настоящем документе, могут быть использованы в качестве животной модели для определения эффективности, токсичности и побочных эффектов лечения с таким средством. Кроме того, средство, идентифицированное, как описано в настоящем документе, может быть использовано в животной модели, чтобы определить механизм действия такого средства. Кроме того, настоящее изобретение относится к использованию новых средств, идентифицированных описанными выше скрининговыми анализами для лечения, как описано выше.

### Примеры

Пример 1. Использование платформенной технологии для построения консенсусных и имитационных сетей для злокачественной опухоли.

В настоящем примере подробно описанную выше платформенную технологию используют для интеграции данных, полученных от построенной по заказу *in vitro* модели злокачественной опухоли, и, тем самым, идентификации новых белков/путей, управляющих патогенезом злокачественной опухоли. Реляционные карты, полученные в результате анализа, предоставили мишени для лечения злокачественной опухоли, а также диагностические/прогностические маркеры, связанные со злокачественной опухолью.

Схема исследования изображена на фиг. 18. Кратко, две клеточные линии злокачественных опухолей (PaCa2, HepG2) и одну нормальную клеточную линию (THLE2) подвергали воздействию одному из семи условий, имитирующих окружающую среду, воздействию которой подвергаются клетки злокачественной опухоли *in vivo*. В частности, клетки подвергали воздействию гипергликемического условия, условия гипоксии, условия воздействия молочной кислоты, условия комбинации гипергликемия + гипоксия, условия комбинации гипергликемия + воздействие молочной кислоты, условия комбинации гипоксия + воздействие молочной кислоты или условия комбинации гипергликемия + гипоксия + воздействие молочной кислоты. Различные условия создавали следующим образом:

Гипергликемическое условие создавали культивированием клеток в средах, содержащих 22 mM глюкозы.

Условие гипоксии индуцировали помещением клеток в камеру модульного инкубатора (MIC-101, Billups-Rothenberg Inc. Del Mar, CA), которую заполняли промышленной газовой смесью, содержащей 5% CO<sub>2</sub>, 2% O<sub>2</sub> и 93% азота.

Условие воздействия молочной кислоты создавали культивированием клеток в средах, содержащих 12,5 mM молочной кислоты.

Условие комбинации гипергликемия + гипоксия создавали культивированием клеток в средах, содержащих 22 mM глюкозы и клетки помещали в камеру модульного инкубатора, заполненную промышленной газовой смесью, содержащей 5% CO<sub>2</sub>, 2% O<sub>2</sub> и 93% азота.

Условие комбинации гипергликемия + воздействие молочной кислоты создавали культивированием клеток в средах, содержащих 22 mM глюкозы и 12,5 mM молочной кислоты.

Условие комбинации гипоксия + воздействие молочной кислоты создавали культивированием клеток в средах, содержащих 12,5 mM молочной кислоты и клетки помещали в камеру модульного инкубатора, заполненную промышленной газовой смесью, содержащей 5% CO<sub>2</sub>, 2% O<sub>2</sub> и 93% азота.

Условие комбинации гипергликемия + гипоксия + воздействие молочной кислоты создавали культивированием клеток в средах, содержащих 22 mM глюкозы и 12,5 mM молочной кислоты и клетки помещали в камеру модульного инкубатора, заполненную промышленной газовой смесью, содержащей 5% CO<sub>2</sub>, 2% O<sub>2</sub> и 93% азота.

Клеточную модель, содержащую вышеупомянутые клетки, в которой клетки подвергали каждому из описанных выше условий, дополнительно тщательно исследовали, подвергая клетки возмущающему воздействию окружающей среды путем обработки с помощью коэнзима Q10. В частности, клетки обрабатывали коэнзимом Q10 в концентрации 0, 50 или 100 мкМ.

Образцы клеток, а также образцы сред для каждой клеточной линии при каждом условии и каждой обработке коэнзимом Q10 собирали в различные моменты времени после обработки, включая в себя через 24 и 48 ч после обработки.

Кроме того, проводили эксперименты по взаимовлиянию между двумя различными клетками злокачественной опухоли, клетками PaCa2 и HepG2, в которых сокультивировали клетки PaCa2 и HepG2. Этот подход сокультивирования называется эксперимент с применением внеклеточного секрета (ECS). Первую клеточную систему (PaCa2) вначале высевали во вставки лунок ростовой камеры типа Трансвелл. Шестилуночные планшеты использовали для обеспечения лучшего статистического анализа. Во время посева первой клеточной системы во вставки вставки помещали в отдельный 6-луночный планшет. Вторую клеточную систему (HepG2) высевали в первичную рамку. Рамку со вставками, содержащую первую клеточную систему, и первичную рамку, содержащую вторую клеточную систему, инкубировали при 37°C в течение ночи. Каждую из клеточных систем выращивали в специфических для конкретных клеток средах (причем альтернативно каждую из клеточных систем могли выращивать в среде, адаптированной для поддержания роста обоих типов клеток). На следующий день заданную обработку проводили путем замены сред. В частности, вставки, содержащие первую клеточную систему, помещали в первичную рамку, содержащую вторую клеточную систему. Рамку затем инкубировали в течение заданного периода времени, например 24 или 48 ч. Лунки в двух параллелях устанавливали в одинаковых условиях, и клетки объединяли для получения достаточного материала для 2D анализа. Среды (1 мл аликвоту), клетки из вставок и клетки из лунок первичной рамки собирали как отдельные образцы. Эксперименты проводили в трех параллелях для обеспечения лучшей статистической мощности анализа.

Эксперименты по взаимовлиянию также проводили с помощью экспериментов "замены сред". В частности, культивированные среды или "секретом" из первой клеточной системы (PaCa2) собирали через 24 или 48 ч после возмущающего воздействия или кондиционирования, как описано выше, и затем

добавляли ко второй клеточной системе (HerG2) в течение 24-48 ч. Затем собирали конечные культивированные среды или "секретом" из второй клеточной системы. Все конечные секретомы подвергали протеомному анализу.

Исследование профиля изменений общей клеточной экспрессии белков с помощью количественной протеомики проводили для образцов клеток и сред, собранных для каждой клеточной линии при каждом условии и с каждым "возмущающим воздействием окружающей среды", т.е. обработкой коэнзимом Q10, с применением техник, описанных выше в подробном описании. Аналогично проводили исследование профиля изменений общей клеточной экспрессии белков с помощью количественной протеомики для образцов клеток и сред, собранных для каждой сокультивированной клеточной линии при каждом условии с каждой обработкой.

Кроме того, биоэнергетическое профилирование клеток злокачественной опухоли, нормальных клеток и клеток в экспериментах по взаимовлиянию, подвергнутых каждому условию и с возмущающим воздействием коэнзима Q10 или без него, создавали путем использования анализатора Seahorse, главным образом, как рекомендовано производителем. OCR (скорость потребления кислорода) и ECAR (коэффициент внеклеточного закисления) регистрировали с помощью электродов в 7 мкл камере, разработанной с картриджом, давящим на культуральный планшет Seahorse.

Все протеомные данные, собранные для каждой клеточной линии (включая в себя клетки в экспериментах по взаимовлиянию) при каждом условии и с каждым возмущающим воздействием, и все данные биоэнергетического профилирования, собранные для каждой клеточной линии при каждом условии и с каждым возмущающим воздействием, вводили в систему REFS<sup>TM</sup> и обрабатывали с помощью нее. Сырые данные для Pasa2, HerG2, THLE2 и экспериментов по взаимовлиянию затем комбинировали с применением стандартизированной номенклатуры. Гены с больше чем 15% потерей протеомных данных отфильтровывали. Разрабатывали стратегию ввода данных. Например, в пределах повторностей использовали модель ошибок, чтобы присвоить данным из экспериментальных условий с повторностями. Алгоритм K-NN, основанный на 10 соседних значениях, использовали, чтобы присвоить данным без повторностей. Различные модели REFS<sup>TM</sup> строили для трех биологических систем вместе, только для системы Pasa2 или только для системы HerG2, объединенные с фенотипическими данными.

Площадь под кривой и кратность изменений для каждого ребра, соединяющего родительский узел с дочерним узлом в имитационных сетях, извлекали с помощью разработанной по заказу программы с применением языка программирования R, где язык программирования R представляет собой программную среду с открытым исходным кодом для статистических вычислений и графического вывода.

Выходные данные из программы R вводили в Cytoscape, программу с открытым исходным кодом, для создания визуального представления консенсусной сети.

Из всех построенных моделей на фиг. 21 показана иллюстративная консенсусная сеть белкового взаимодействия REFS при частоте фрагмента 70%.

Каждый узел в показанной на фиг. 21 консенсусной сети имитировали путем увеличения или снижения экспрессии LDHA в 4 раза для создания имитационной сети с применением REFS<sup>TM</sup>, как описано подробно выше в подробном описании.

Исследовали эффект имитированного изменения экспрессии LDHA на PARK7 и белки в узлах, ассоциированных с PARK7 с высоким содержанием в иллюстративной консенсусной сети, показанной на фиг. 21. Белки, ответственные за имитацию LDHA в двух клеточных линиях злокачественных опухолей, т.е. Pasa2 и HerG2, идентифицировали с применением REFS<sup>TM</sup> (см. фиг. 22). Значения представляли конкретную кратность изменений уровня экспрессии белка.

Для подтверждения соединений белков, идентифицированных с применением описанного выше способа, маркеры, идентифицированные как находящиеся в непосредственной близости к LDHA в имитационной сети, вводили в IPA, программное обеспечение, которое использует нейронные сети для определения молекулярной связи между экспериментальными выходными данными в сети, основанными на ранее опубликованной литературе. Выходные данные программы IPA показаны на фиг. 23, причем маркеры в серых формах идентифицировали как находящиеся в непосредственной близости к LDHA в имитационной сети, созданной с помощью платформы, и маркеры в незаполненных формах представляли собой соединения, идентифицированные с помощью IPA на основании известной информации в ранее опубликованной литературе.

Обнаружили, что маркеры, идентифицированные в выходных данных из платформенной технологии перекрестной биологии (показанной на фиг. 21), т.е. DHX9, HNRNPC, SKAP4, HSPA9, PARP1, NADHA, PHB2, ATF5A1 и CANX, являлись соединенными с такими хорошо известными маркерами злокачественной опухоли, как TP53 и PARK7, в пределах созданной IPA сети (показанной на фиг. 23). Факт того, что факторы, идентифицированные с применением платформы перекрестной биологии, характеризуются общей связностью с известными факторами, опубликованными в научной литературе, подтверждает точность сети, созданной с применением платформы перекрестной биологии. Кроме того, сетевая ассоциация в пределах подсети LDHA, созданной путем применения выходных данных платформы перекрестной биологии, продемонстрировала присутствие направленного влияния каждого фак-

тора, в отличие от IPA сети, в которой связь между молекулярными объектами не обеспечивает функциональную направленность между взаимодействующими узлами. Таким образом, путем использования непредвзятого подхода для генерации данных, интеграции и обратного проектирования для создания вычислительной модели с последующим анализом имитационных и дифференциальных сетей, раскрытая платформа перекрестной биологии обеспечивает понимание ранее неизвестных механизмов в патофизиологии злокачественной опухоли, которые согласуются с общепринятыми научными представлениями о патофизиологии заболевания.

На фиг. 19 показан эффект обработки CoQ10 на нижележащие узлы (регистрационные номера белков в PubMed приведены на фиг. 19) на основании данных об экспрессии белка из исследования профиля. Белок с регистрационным номером P00338 представляет собой LDHA. Подтверждение протеомных данных с помощью практических экспериментов проводили для экспрессии LDHA в клетках HepG2 (см. фиг. 20). Как показано на фиг. 20, уровни экспрессии LDHA снижались, когда HepG2 обрабатывали 50 мкМ CoQ10 или 100 мкМ CoQ10 в течение 24 или 48 ч.

Для хорошо известных маркеров злокачественных опухолей TP53, Bcl-2, Bax и Каспаза3 проводили подтверждение эффектов обработки CoQ10 на уровень экспрессии указанных маркеров с помощью практических экспериментов в SKMEL 28 клетках (см. фиг. 24 и 25).

Пример 2. Использование платформенной технологии для построения сети дельта-дельта для злокачественной опухоли.

В настоящем примере подробно описанную выше платформенную технологию использовали для интеграции данных, полученных из построенной по заказу *in vitro* модели злокачественной опухоли, и, тем самым, идентификации новых белков/путей, управляющих патогенезом злокачественной опухоли. Реляционные карты, полученные в результате анализа, предоставили мишени для лечения злокачественной опухоли, а также диагностические/прогностические маркеры, связанные со злокачественной опухолью.

Кратко, четыре линии злокачественных опухолей (PaCa2, HepG2, PC3 и MCF7) и две нормальные клеточные линии (THLE2 и HDFa) подвергали воздействию различных условий, имитирующих окружающую среду, воздействию которой подвергаются клетки злокачественной опухоли *in vivo*. В частности, клетки подвергали воздействию отдельно каждого из гипергликемических условий, гипоксических условий и обработке молочной кислотой. Например, гипергликемическое условие создавали культивированием клеток в средах, содержащих 22 мМ глюкозы. Гипоксическое условие индуцировали помещением клеток в камеру модульного инкубатора (MIC-101, Billups-Rothenberg Inc. Del Mar, CA), которую заполняли промышленной газовой смесью, содержащей 5% CO<sub>2</sub>, 2% O<sub>2</sub> и 93% азота. Для обработки молочной кислотой каждую клеточную линию обрабатывали 0 или 12,5 мМ молочной кислоты. Кроме того, чтобы подвергнуть клетки воздействию каждого из трех вышеупомянутых условий отдельно, клетки также подвергали действию комбинаций двух или всех трех условий (т.е. воздействию гипергликемического и гипоксического условий; воздействию гипергликемического условия и обработки молочной кислотой; воздействию гипоксического условия и обработки молочной кислотой; и воздействию гипергликемического и гипоксического условий и обработки молочной кислотой).

Клеточную модель, содержащую вышеупомянутые клетки, в которой каждый тип клеток подвергали воздействию каждого описанного выше условия, дополнительно тщательно исследовали, подвергая клетки возмущающему воздействию окружающей среды путем обработки коэнзимом Q10. В частности, клетки обрабатывали коэнзимом Q10 в концентрации 0, 50 или 100 мкМ.

Образцы клеток, а также образцы сред, содержащие секретом из клеток, для каждой клеточной линии, подвергнутой воздействию каждого условия (или комбинации условий), с обработкой коэнзимом Q10 и без нее, собирали в различные моменты времени после обработки, включая в себя через 24 и 48 ч после обработки.

Кроме того, проводили эксперименты по взаимовлиянию между двумя различными клетками злокачественной опухоли, клетками PaCa2 и HepG2, в которых сокультивировали клетки PaCa2 и HepG2. Этот подход сокультивирования называется эксперимент с использованием внеклеточного секрета (ECS). Первую клеточную систему (PaCa2) высевали во вставки лунок ростовой камеры типа Трансвелл. Шестилуночные планшеты, как правило, использовали для обеспечения лучшего статистического анализа. Во время посева первой клеточной системы во вставки вставки помещали в отдельный 6-луночный планшет. Вторую клеточную систему (HepG2) высевали в первичную рамку. 6-луночный планшет, содержащий вставки, которые содержали первую клеточную систему, и первичную рамку, содержащую вторую клеточную систему, инкубировали при 37°C в течение ночи. Каждую из клеточных систем выращивали в соответствующих ее клеткам специфических средах (причем альтернативно, каждую из клеточных систем могли выращивать в среде, адаптированной для поддержания роста обоих типов клеток). На следующий день заданную обработку проводили путем замены сред. В частности, вставки, содержащие первую клеточную систему и соответствующие среды первой клеточной системы, помещали в первичную рамку, содержащую вторую клеточную систему и соответствующие среды второй клеточной системы. Во всех случаях сокультуры, тем не менее, сокультивированные клетки подвергали воздействию одинакового "условия злокачественной опухоли" (например, гипергликемии, гипоксии, воздействию молочной кислоты или их комбинациям, хотя и отдельно, в течение первого дня перед со-

культивированием. Иными словами, первую клеточную систему во вставках и вторую клеточную систему в рамках подвергали воздействию одинакового условия перед переносом в устройство для "сокультивирования". Рамку затем инкубировали в течение заданного периода времени, например 24 или 48 ч. Лунки в двух параллелях устанавливали с одинаковыми условиями, и клетки объединяли для получения достаточного материала для последующего протеомного анализа. Среда, содержащая секретом (1 мл аликвоту), клетки из вставок и клетки из лунок первичной рамки собирали в виде отдельных образцов. Эксперименты проводили в трех параллелях для обеспечения лучшей статистической мощности.

Эксперименты по взаимовлиянию также проводили с помощью экспериментов с "заменой сред". В частности, культивированные среды или "секретом" из первой клеточной системы (PaCa2) собирали через 24 ч или 48 ч после возмущающего воздействия и/или кондиционирования и затем добавляли ко второй клеточной системе в течение 24-48 ч. Затем собирали конечные культивированные среды или "секретом" из второй клеточной системы. Все конечные секреты подвергали протеомному анализу.

После воздействия на клеточную систему описанного выше "условия злокачественной опухоли", возмущающего воздействия (т.е. обработки коэнзимом Q10) и/или условий, произведенных в секрете спаренной клетки из эксперимента с сокультурой, затем анализировали ответ клеток путем анализа различных показателей от клеточной системы. Показатели включали в себя протеомные данные, в частности, экспрессию внутриклеточных белков, а также белков, секретируемых в среды клеточных культур, и функциональные данные, в частности, биоэнергетические показатели клеток.

Исследование профиля изменений в общей клеточной экспрессии белков с помощью количественной протеомики проводили для образцов клеток и сред, собранных для каждой клеточной линии (нормальных клеточных линий и клеточных линий злокачественных опухолей), подвергнутой воздействию каждого условия (или комбинации условий, с "возмущающим воздействием окружающей среды" или без него, т.е. с обработкой коэнзимом Q10 или без нее, с применением описанных выше в подробном описании техник.

Кроме того, биоэнергетическое профилирование каждой клеточной линии (нормальных клеточных линий и клеточных линий злокачественных опухолей), подвергнутой воздействию каждого условия (или комбинации условий), с "возмущающим воздействием окружающей среды" или без него, т.е. с обработкой коэнзимом Q10 или без нее, создавали путем использования анализатора Seahorse, главным образом, как рекомендовано производителем. Скорость потребления кислорода (OCR) и коэффициент внеклеточного закисления (ECAR) регистрировали с помощью электродов в 7 мкл камере, построенной с картриджем, дающим на культуральный планшет Seahorse.

Протеомные данные, собранные для каждой клеточной линии при каждом условии(ях) и с/без каждого возмущающего воздействия, и данные биоэнергетического профилирования, собранные для каждой клеточной линии при каждом условии(ях) и с/без каждого возмущающего воздействия, затем обрабатывали с помощью системы REFS™. "Составную сеть для злокачественной опухоли с возмущающим воздействием" создавали из комбинированных данных, полученных от всех клеточных линий злокачественных опухолей, каждая из которых подверглась воздействию каждого конкретного условия (и комбинации условий), и дополнительно подверглась возмущающему воздействию (CoQ10). "Составную сеть для злокачественной опухоли без возмущающего воздействия" создавали из комбинированных данных, полученных от всех клеточных линий злокачественных опухолей, каждая из которых подверглась воздействию каждого конкретного условия (и комбинации условий), без возмущающего воздействия (без CoQ10). Аналогично, "составную нормальную сеть с возмущающим воздействием" создавали из комбинированных данных, полученных от всех нормальных клеточных линий, каждая из которых подверглась воздействию каждого конкретного условия (и комбинации условий), и дополнительно подверглась возмущающему воздействию (CoQ10). "Составную нормальную сеть без возмущающего воздействия" создавали из комбинированных данных, полученных от всех нормальных клеточных линий, каждая из которых подверглась воздействию каждого конкретного условия (и комбинации условий), без возмущающего воздействия (без CoQ10).

Далее, "имитационные составные сети" (также в настоящем документе имеющие название "имитационные сети") создавали для каждой из четырех составных сетей, описанных выше с применением REFS™. Для осуществления этого каждый узел в данной консенсусной составной сети имитировали (путем увеличения или уменьшения в 10 раз) для создания имитационных сетей с применением REFS™, как подробно описано выше в подробном описании.

Площадь под кривой и кратность изменений для каждого ребра, соединяющего родительский узел с дочерним узлом в имитационных сетях, извлекали с помощью разработанной по заказу программы с применением языка программирования R, где язык программирования R представляет собой программную среду с открытым исходным кодом для статистических вычислений и графического вывода данных.

В итоге, создавали дельта сети, где дельта сети представляют дифференциал между двумя имитационными составными сетями. Дельта сети создавали из имитационных составных сетей. Для создания дифференциальной сети злокачественной опухоли в сравнении с нормой в ответ на воздействие коэнзима Q10 (сеть дельта-дельта), проводили последовательные стадии сравнения, как проиллюстрировано на

фиг. 26, с помощью разработанной по заказу программы с применением языка программирования PERL.

Во-первых, необработанные сети для злокачественной опухоли (T0) и обработанные сети для злокачественной опухоли (T1) сравнивали с применением программы R, и отделяли уникальные обработанные сети для злокачественной опухоли T1 (см. темно-серую серповидную форму на фиг. 26). Это представляет собой "дельта" сеть для злокачественной опухоли T1  $\cap$  (область пересечения) злокачественной опухоли T0. Белковое взаимодействие/ассоциации в пределах этой дельта сети могут рассматриваться как репрезентативный уникальный ответ злокачественной опухоли на обработку коэнзимом Q10.

Аналогично, нормальные необработанные (T0) и нормальные обработанные (T1) сети сравнивали с применением программы R, и отделяли уникальные нормальные обработанные T1 сети (см. светло-серую серповидную форму на фиг. 26). Это представляет собой нормальную T1  $\cap$  нормальную T0 "дельта" сеть. Белковые взаимодействия / ассоциации в пределах этой дельта сети могут рассматриваться в качестве репрезентативного уникального ответа нормальной клетки на обработку коэнзимом Q10.

В итоге, уникальные сети злокачественной опухоли T1 (см. темно-серую серповидную форму на фиг. 26) и уникальные нормальные T1 сети (см. светло-серую серповидную форму на фиг. 26) сравнивали с применением программы R, и создавали сети, которые являются уникальными только для злокачественной опухоли, и не присутствуют в нормальных клетках, в ответ на коэнзим Q10 (см. фиг. 26). Этот набор белковых взаимодействий/ассоциаций представляет уникальные пути в клетках злокачественной опухоли, которые отсутствуют в нормальных клетках при обработке коэнзимом Q10. Этот набор белковых взаимодействий/ассоциаций называется "сеть дельта-дельта", поскольку представляет собой дифференциальную карту, полученную в результате сравнения дифференциальной карты от клеток злокачественной опухоли и дифференциальной карты от нормальных контрольных клеток.

Выходные данные из программ PERL и R вводили в Cytoscape, программу с открытым исходным кодом, для создания визуального представления сети дельта-дельта.

Сети дельта-дельта, идентифицированные с применением описанного в настоящем документе способа, являются в высокой степени применимыми для идентификации мишеней для лечения злокачественных опухолей. Например, согласно сети дельта-дельта, представленной на фиг. 27, белок A ингибирует OCR3 (параметр для окислительного фосфорилирования) и усиливает ECAR3 (параметр для гликолиза). Поскольку это взаимодействие является уникальным в клетках злокачественной опухоли (так как сеть дельта-дельта вычла какие-либо взаимодействия, которые обычно присутствуют в нормальных клетках при обработке коэнзимом Q10), ингибирование экспрессии белка A, как предполагают, снижает основанный на гликолизе энергетический метаболизм, что является признаком метаболомического пути злокачественной опухоли, и сдвигает клетки в направлении основанного на окислительном фосфорилировании энергетического метаболизма, который представляет собой фенотип, ближе всего связанный с нормальными клетками. Таким образом, предполагают, что комбинированная терапия с применением коэнзима Q10 и ингибитора белка A является эффективной в лечении злокачественной опухоли, по меньшей мере частично, путем сдвига профиля энергетического метаболизма клетки злокачественной опухоли в сторону профиля, присущего нормальной клетке.

Преимущество платформенной технологии перекрестной биологии согласно настоящему изобретению дополнительно иллюстрируют путем применения примера по существу, в котором подсеть, полученную из сетей причинно-следственных связей, сравнивали с молекулярной сетью с применением IPA, программы системы программного обеспечения, которая использует нейронные сети для определения молекулярной связи между экспериментальными выходными данными и сетями на основании ранее опубликованной литературы. Подсеть причинно-следственных связей, содержащая PARK7, обработанную с применением платформы перекрестной биологии (показанной на фиг. 29), применяли в качестве примера по существу. Все молекулярные сигнатуры сети PARK7 из платформы перекрестной биологии включали в IPA для создания сети на основании известных/существующих литературных данных. Затем сравнивали сетевые выходные данные между выходными данными перекрестной биологии и полученными с применением IPA.

Обнаружили, что шесть маркеров, идентифицированных с помощью выходных данных из платформенной технологии перекрестной биологии (показанной на фиг. 29), т.е. A, B, C, X, Y и Z на фиг. 27-29, являлись соединенными с TP53 в пределах созданной IPA сети (фиг. 28). В литературе сообщалось, что среди шести маркеров, A, B и C связаны со злокачественной опухолью, а также HSPA1A/HSPA1B. X, Y и Z идентифицировали как "хабы" или ключевые пусковые факторы состояния злокачественной опухоли, и, следовательно, их идентифицировали как новые маркеры злокачественной опухоли. Кроме того, MIF1 и KARS также идентифицировали как "хабы" или ключевые пусковые факторы состояния злокачественной опухоли и, следовательно, идентифицировали как новые маркеры злокачественной опухоли. Факт того, что идентифицированные путем применения платформы перекрестной биологии факторы характеризуются общей связностью с известными опубликованными в научной литературе факторами, подтверждает точность сети, созданной путем применения платформы перекрестной биологии. Кроме того, сетевая ассоциация в пределах подсети PARK7, созданной путем применения выходных данных из платформы перекрестной биологии (показанных на фиг. 29), продемонстрировала присутствие направленного влияния каждого фактора, в отличие от сети IPA (показанной на фиг. 28), в которой связь между мо-

лекулярными объектами не обеспечивает функциональную направленность между взаимодействующими узлами. Более того, выходные данные из платформы перекрестной биологии (показанные как пунктирные линии на фиг. 29) продемонстрировали ассоциацию этих компонентов, ведущую к потенциальным механизмам посредством PARK7. Обнаружили, что белок C, белок A и другие узлы PARK7 являются ключевыми пусковыми факторами метаболизма злокачественной опухоли (фиг. 27).

Как подтверждается настоящим примером, с использованием непредвзятого подхода к генерации данных, интеграции и обратному проектированию для создания вычислительной модели с последующим анализом имитационных и дифференциальных сетей, раскрытая платформа перекрестной биологии обеспечивает понимание ранее неизвестных механизмов в патофизиологии злокачественных опухолей, которые согласуются с общепринятыми научными представлениями о патофизиологии заболевания.

Пример 3. Использование платформенной технологии для построения сети дельта-дельта для сахарного диабета/ожирения/сердечно-сосудистого заболевания.

В настоящем примере подробно описанную выше в подробном описании платформенную технологию использовали для интеграции данных, полученных из разработанной по заказу модели сахарного диабета/ожирения/сердечно-сосудистого заболевания (CVD), и для идентификации новых белков/путей, управляющих патогенезом сахарного диабета/ожирения/CVD. Реляционные карты, полученные в результате настоящего анализа, предоставили мишени для лечения сахарного диабета/ожирения/CVD, а также диагностические/прогностические маркеры, связанные с сахарным диабетом/ожирением/CVD.

Пять первичных клеточных линий человека, а именно адипоциты, мышечные трубки, гепатоциты, гладкомышечные клетки аорты (HASMC) и клетки проксимальных канальцев (HK2) подвергали воздействию одного из пяти условий, имитирующих окружающую среду, воздействию которой подвергаются относящиеся к этим заболеваниям клетки *in vivo*. В частности, каждую из пяти клеточных линий подвергали отдельно воздействию каждого из следующих условий: гипергликемические условия, гиперлипидемические условия, гиперинсулинемические условия, гипоксические условия и воздействие молочной кислоты. Гипергликемическое условие индуцировали культивированием клеток в средах, содержащих 22 mM глюкозы. Гиперлипидемическое условие индуцировали культивированием клеток в средах, содержащих 0,15 mM пальмитата натрия. Гиперинсулинемическое условие индуцировали культивированием клеток в средах, содержащих 1000 nM инсулина. Гипоксическое условие индуцировали помещением клеток в камеру модульного инкубатора (MIC-101, Billups-Rothenberg Inc. Del Mar, CA), которую заполняли промышленной газовой смесью, содержащей 5% CO<sub>2</sub>, 2% O<sub>2</sub> и 93% азота. Каждую клеточную линию также обрабатывали 0 или 12,5 mM молочной кислоты.

Кроме того, проводили эксперименты по взаимовлиянию между двумя различными парами клеток, клетками HASMC (клеточная система 1) и HK2 (клеточная система 2) или клетками печени (клеточная система 1) и адипоцитами (клеточная система 2), в которых сокультивировали спаренные клетки. Этот подход сокультивирования называется экспериментом с использованием внеклеточного секрета (ECS). Первую клеточную систему (например, HASMC) вначале высевали во вставки лунок ростовой камеры типа Трансвелл. Шестилуночные планшеты использовали для обеспечения лучшего статистического анализа. Во время посева первой клеточной системы во вставки помещали в отдельный 6-луночный планшет. Вторую клеточную систему (например, HK2) высевали первичную рамку. Рамку со вставками, содержащую первую клеточную систему, и первичную рамку, содержащую вторую клеточную систему, инкубировали при 37°C в течение ночи. Каждую из клеточных систем выращивали в специфических для конкретных клеток средах (причем альтернативно, каждую из клеточных систем могли выращивать в средах, адаптированных для поддержания роста обоих типов клеток). На следующий день заданную обработку проводили путем замены сред. В частности, содержащие первую клеточную систему вставки помещали в первичную рамку, содержащую вторую клеточную систему. Рамку затем инкубировали в течение заданного периода времени, например 24 или 48 ч. Лунки в двух параллелях устанавливали с одинаковыми условиями и клетки объединяли для получения достаточного материала для 2D анализа. Среда (1 мл аликвоту), клетки из вставок и клетки из лунок первичной рамки собирали как отдельные образцы. Эксперименты проводили в трех параллелях для обеспечения лучшей статистической мощности анализа.

Эксперименты по взаимовлиянию также проводили с помощью экспериментов с "заменой сред". В частности, культивированные среды или "секретом" из первой клеточной системы, HASMC, собирали через 24 или 48 ч после возмущающего воздействия или кондиционирования и затем добавляли ко второй клеточной системе, адипоцитам, в течение 24-48 ч. Затем собирали конечные культивированные среды или "секретом" из второй клеточной системы. Все конечные секретомы подвергали протеомному анализу.

Клеточную модель, содержащую вышеупомянутые клетки, в которой клетки подвергали воздействию каждого описанного выше условия, дополнительно "тщательно исследовали", подвергая клетки "возмущающему воздействию окружающей среды" путем обработки коэнзимом Q10. В частности, клетки обрабатывали коэнзимом Q10 в концентрации 0, 50 или 100 мкМ.

Образцы клеток для каждой клеточной линии, условия и обработки коэнзимом Q10 собирали в различные моменты времени после обработки, включая в себя через 24 и 48 ч после обработки. Для опреде-

ленных клеток и при определенных условиях, образцы сред также собирали и анализировали.

Исследование профиля изменений в общей клеточной экспрессии белка с помощью количественной протеомики проводили для образцов клеток и сред, собранных для каждой клеточной линии при каждом условии и с каждым "возмущающим воздействием окружающей среды", т.е. обработкой коэнзимом Q10, с применением описанных выше в подробном описании техник.

Протеомные данные, собранные для каждой клеточной линии, перечисленной выше при каждом условии и с каждым возмущающим воздействием, и данные биоэнергетического профилирования, собранные для каждой клеточной линии при каждом условии и с каждым возмущающим воздействием, затем обрабатывали с помощью системы REFS<sup>TM</sup>. Составную сеть с возмущающим воздействием создавали из комбинированных данных, полученных от всех клеточных линий для одного конкретного условия (например, гипергликемии), подвергнутых возмущающему воздействию (CoQ10). Составную сеть без возмущающего воздействия создавали из комбинированных данных, полученных от всех клеточных линий для одинакового одного конкретного условия (например, гипергликемии), без возмущающего воздействия (без CoQ10). Аналогично, составную сеть с возмущающим воздействием создавали из комбинированных данных, полученных от всех клеточных линий для второго, контрольного условия (например, нормальной гликемии), подвергнутых возмущающему воздействию (CoQ10). Составную сеть без возмущающего воздействия создавали из комбинированных данных, полученных от всех клеточных линий для одинакового второго, контрольного условия (например, нормальной гликемии), без возмущающего воздействия (без CoQ10).

Каждый узел в описанных выше консенсусных составных сетях имитировали (путем увеличения или уменьшения в 10 раз) для создания имитационных сетей с применением REFS<sup>TM</sup>, как описано подробно выше в подробном описании.

Площадь под кривой и кратность изменений для каждого ребра, соединяющего родительский узел с дочерним узлом в имитационных сетях, извлекали с помощью разработанной по заказу программы с применением языка программирования R, где язык программирования R представляет собой программную среду с открытым исходным кодом для статистических вычислений и графического вывода данных.

Дельта сети создавали из имитированных составных сетей. Для создания дифференциальной сети для условия сахарного диабета/ожирения/сердечно-сосудистого заболевания в сравнении с нормальным состоянием в ответ на коэнзим Q10 (сеть дельта-дельта), проводили стадии сравнения, как проиллюстрировано на фиг. 30, с помощью разработанной по заказу программы с применением языка программирования PERL.

В частности, как показано на фиг. 30, обработка T1 относится к обработке коэнзимом Q10 и NG и HG относятся к нормогликемии и гипергликемии в качестве условий. Уникальные ребра из NG в дельта сети  $NG \cap HG$  сравнивали с уникальными ребрами HGT1 в дельта сети  $HG \cap HGT1$ . Ребра в области пересечения NG и HGT1 представляют собой ребра HG, которые восстанавливаются до NG с T1. Ребра HG, восстановленные до NG с T1, накладывали на дельта сеть  $NG \cap HG$  (показанную более темными кружками на фиг. 31)

В частности, имитированную составную карту условия нормальной гликемии (NG) и имитированную составную карту условия гипергликемии (HG) сравнивали с применением разработанной по заказу программы Perl для создания уникальных ребер условия нормальной гликемии. Имитированную составную карту условия гипергликемии без обработки коэнзимом Q10 (HG) и имитированную карту условия гипергликемии с обработкой коэнзимом Q10 (HGT1) сравнивали с применением разработанной по заказу программы Perl для создания уникальных ребер условия гипергликемии с обработкой коэнзимом Q10 (HGT1). Ребра в области пересечения уникальных ребер из условия нормальной гликемии (NG) и уникальные ребра из условия гипергликемии с обработкой коэнзимом Q10 (HGT1) идентифицировали с применением программы Perl. Эти ребра представляют факторы/сети, которые восстанавливаются до условия нормальной гликемии из условия гипергликемии с помощью обработки коэнзимом Q10. Сеть дельта-дельта гипергликемических ребер, восстановленных до нормальных с помощью обработки коэнзимом Q10, накладывали на дельта сеть нормальная гликемия  $\cap$  гипергликемия. Образец наложенных сетей показан на фиг. 31. На фиг. 31 представлена иллюстративная дифференциальная сеть сахарный диабет/ожирение/сердечно-сосудистое заболевание условие в сравнении с нормальным условием в ответ на коэнзим Q10 (сеть дельта-дельта). Более темные кружки на фиг. 31 представляют собой идентифицированные ребра, которые восстанавливались до условия нормальной гликемии из условия гипергликемии с помощью обработки коэнзимом Q10. Более светлые кружки на фиг. 31 представляют собой идентифицированные уникальные ребра нормальной гликемии.

Выходные данные из программ PERL и R вводили в Cytoscape, программу с открытым исходным кодом, для создания визуального представления сети дельта-дельта.

Аналогично экспериментам, описанным выше для гипергликемии в сравнении с нормальным гликемическим условием, имитированную составную сеть условия гиперлипидемии (комбинируя данные от всех связанных с сахарным диабетом/ожирением/сердечно-сосудистым заболеванием клеток, описанных выше) без обработки коэнзимом Q10 и имитированную составную сеть условия гиперлипидемии (ком-

бинируя данные от всех связанных с сахарным диабетом/ожирением/сердечно-сосудистым заболеванием клеток, описанных выше) с обработкой коэнзимом Q10 сравнивали с применением программы Perl для создания уникальных ребер условия гиперлипидемии с обработкой коэнзимом Q10. Ребра в области пересечения уникальных ребер из условия нормальной липидемии и уникальных ребер из гиперлипидемического условия с обработкой коэнзимом Q10 идентифицировали с применением программы Perl. Эти ребра представляют факторы/сети, которые восстанавливаются до условия нормальной липидемии из условия гиперлипидемии с помощью обработки коэнзимом Q10. Сеть дельта-дельта гиперлипидемических ребер, восстановленных до нормальных с помощью обработки коэнзимом Q10, накладывали на дельта сеть нормальной липидемии  $\cap$  гиперлипидемии. Образец наложенных сетей показан на фиг. 32. Более темные кружки на фиг. 32 представляют собой идентифицированные ребра, которые восстанавливались до условия нормальной липидемии из условия гиперлипидемии с помощью обработки коэнзимом Q10. Более светлые кружки на фиг. 32 представляют собой идентифицированные уникальные ребра нормальной липидемии. FASN идентифицировали как один важный фактор пути передачи сигнала, который модулирует эффект коэнзима Q10 в восстановлении гиперлипидемии до условия нормальной липидемии.

Жирнокислотная синтаза - ферменты синтеза жирных кислот, такие как FASN, были вовлечены практически во все аспекты изменений метаболизма человека, такие как ожирение, устойчивость к инсулину или дислипидемия. Ингибиторы FASN предложили в качестве ведущих молекул для лечения ожирения, хотя молекулярные механизмы неизвестны (Mobbs et al. 2002). Было показано, что ингибиторы церуленин и синтетическое соединение C75- FASN характеризуются эффектом в снижении потребления пищи и приводят к потере массы тела (Loftus et al. 2000).

Факт того, что FASN идентифицировали с помощью платформенной технологии, описанной в настоящем документе, в качестве одного важного фактора в сигнальном пути, который модулирует эффект коэнзима Q10 в восстановлении диабетического состояния до нормального, как показано на фиг. 32, подтвердил точность этой сети дельта-дельта. Следовательно, другие новые факторы, идентифицированные в этой сети дельта-дельта, будут представлять собой потенциальные терапевтические факторы или мишени лекарственных средств для дальнейшего исследования.

Пример 4. Использование платформенной технологии для построения моделей индуцированной лекарственным средством кардиотоксичности.

В настоящем примере описанную подробно выше в подробном описании платформенную технологию использовали для интеграции данных, полученных из разработанной по заказу модели кардиотоксичности и для идентификации новых белков/путей, управляющих патогенезом/токсичностью лекарственных средств. Реляционные карты, полученные в результате настоящего анализа, предоставили биомаркеры токсичности.

В здоровом сердце сократительная функция зависит от баланса окисления жирных кислот и углеводов. Считается, что хронический дисбаланс в поглощении, утилизации, биогенезе и секреции в органеллах в нежировой ткани (сердце и печени) находится в центре митохондриального повреждения и дисфункции и является ключевым участником в индуцированной лекарственными средствами кардиотоксичности. В настоящем документе авторы настоящего изобретения описывают системный подход, комбинирующий белковые и липидные сигнатуры с функциональными анализами клинических результатов, в частности, рассматривая биоэнергетические параметры и функцию митохондриальной мембраны. Модели *in vitro*, содержащие диабетические и нормальные кардиомиоциты, дополненные избытком жирных кислот и гипергликемией, обрабатывали панелью лекарственных средств для создания сигнатур и потенциальных механизмов токсичности. Авторы настоящего изобретения продемонстрировали изменяющиеся эффекты лекарственных средств в дестабилизации митохондрий путем разрушения компонента энергетического метаболизма на различных уровнях, включая в себя (i) дисрегуляцию транскрипционных сетей, которые контролируют экспрессию генов митохондриального энергетического метаболизма; (ii) индукцию GPAT1 и таффазина в диабетических кардиомиоцитах, тем самым иницируя синтез фосфолипидов *de novo* и ремоделируя митохондриальную мембрану; и (iii) измененное поведение жирной кислоты в диабетических кардиомиоцитах, влияя на поглощение, окисление жирной кислоты и синтез АТФ. Кроме того, авторы настоящего изобретения комбинировали мощность данных практических лабораторных биологических экспериментов и ИИ, получая платформу для создания сети причинно-следственных связей на основании байесовских моделей. Сети белков и липидов, которые являются сетями причинно-следственных связей для потери нормальной функции клеток, использовали для установления механизмов индуцированной лекарственными средствами токсичности из клеточных защитных механизмов. Этот новый подход будет служить в качестве мощного нового инструмента для понимания механизмов токсичности, при этом обеспечивая разработку более безопасных терапевтических средств, которые корректируют измененный фенотип.

Кардиомиоциты человека подвергали воздействию условия, имитирующего диабетическую окружающую среду, воздействию которой подвергаются связанные с заболеванием клетки *in vivo*. В частности, клетки подвергали воздействию гипергликемического условия и условия гиперлипидемии. Гипергликемическое условие индуцировали культивированием клеток в средах, содержащих 22 mM глюкозы. Условие гиперлипидемии индуцировали культивированием клеток в средах, содержащих 1 mM L-

карнитин, 0,7 мМ олеиновой кислоты и 0,7 мМ линолевой кислоты.

Клеточную модель, содержащую вышеупомянутые клетки, причем клетки подвергали воздействию каждого описанного выше условия, дополнительно "тщательно исследовали", подвергая клетки "возмущающему воздействию окружающей среды" путем обработки противодиабетическим лекарственным средством (Т), которое, как известно, вызывает кардиотоксичность, молекулой восстановления (R) или как противодиабетическим лекарственным средством, так и молекулой восстановления (Т+R). В частности, клетки обрабатывали противодиабетическим лекарственным средством; или обрабатывали молекулой восстановления коэнзимом Q10 в концентрации 0, 50 или 100 мкМ; или обрабатывали как противодиабетическим лекарственным средством, так и молекулой восстановления коэнзимом Q10.

Образцы клеток из каждого условия с каждым возмущающей обработкой собирали в различные моменты времени после обработки, включая в себя через 6 ч после обработки. Для определенных условий также собирали и анализировали образцы сред.

Исследование профиля изменений общей клеточной экспрессии белков с помощью количественной протеомики проводили для образцов клеток и сред, собранных для каждого условия и с каждым "возмущающим воздействием окружающей среды", т.е. обработкой противодиабетическим лекарственным средством, обработкой коэнзимом Q10 или тем и другим, с применением техник, описанных выше в подробном описании. Эксперименты в отношении транскрипционного профилирования проводили с применением системы амплификации Biorad cfx-384. После сбора данных (Ct) конечную кратность изменений по сравнению с контролем определяли с применением способа  $\delta Ct$ , изложенного в протоколе производителя. Липидомные эксперименты проводили с применением масс-спектрометрии. Такие функциональные анализы, как скорость потребления кислорода OCR, измеряли с использованием анализатора Seahorse, главным образом, как рекомендовано производителем. OCR регистрировали с помощью электродов в 7 мкл камере, построенной с картриджем, давящим на культуральный планшет Seahorse.

Как показано на фиг. 35, транскрипционную сеть и экспрессию генов митохондриального энергетического метаболизма человека в диабетических кардиомиоцитах (кардиомиоцитах, подвергнутых воздействию гипергликемического условия и условия гиперлипидемии) сравнивали между обработками с возмущающим воздействием и без возмущающего воздействия. В частности, данные относительно транскрипционной сети и экспрессии генов митохондриального энергетического метаболизма человека сравнивали между образцами диабетических кардиомиоцитов, обработанных противодиабетическим лекарственным средством (Т) и необработанных диабетических кардиомиоцитов (UT). Данные относительно транскрипционной сети и экспрессии генов митохондриального энергетического метаболизма человека сравнивали между образцами диабетических кардиомиоцитов, обработанных как противодиабетическим лекарственным средством, так и молекулой восстановления коэнзимом Q10 (Т+R), и образцами необработанных диабетических кардиомиоцитов (UT). Сравнивая с данными от необработанных диабетических кардиомиоцитов, экспрессия определенных генов и транскрипция изменялись, когда диабетические кардиомиоциты обрабатывали противодиабетическим лекарственным средством. Продемонстрировали, что молекула восстановления коэнзим Q10 изменяет на противоположный токсический эффект противодиабетического лекарственного средства и нормализует генную экспрессию и транскрипцию.

Как показано на фиг. 36А, кардиомиоциты культивировали или в условии нормогликемии (NG), или в условии гипергликемии (HG) и обрабатывали или противодиабетическим лекарственным средством отдельно (Т), или как противодиабетическим лекарственным средством, так и молекулой восстановления коэнзимом Q10 (Т+R). Уровни экспрессии белка GPAT1 и TAZ для каждого условия и каждой обработки исследовали с помощью вестерн-блоттинга. Как GPAT1, так и TAZ положительно регулировались в находящихся в условиях гипергликемии и обработанных противодиабетическим лекарственным средством кардиомиоцитах. Когда находящиеся в условиях гипергликемии кардиомиоциты обрабатывали как противодиабетическим лекарственным средством, так и молекулой восстановления коэнзимом Q10, уровень подвергнутой положительной регуляции экспрессии белка GPAT1 и TAZ нормализовался.

Как показано на фиг. 37А, эксперименты относительно митохондриальной скорости потребления кислорода (%) проводили для находящихся в условиях гипергликемии образцов кардиомиоцитов. Находящиеся в условиях гипергликемии кардиомиоциты были или необработанными (UT), или обработанными противодиабетическим лекарственным средством Т1, которое, как известно, вызывает кардиотоксичность, или обработанными противодиабетическим лекарственным средством Т2, которое, как известно, вызывает кардиотоксичность, или обработанными как противодиабетическим лекарственным средством Т1, так и молекулой восстановления коэнзимом Q10 (Т1+R) или обработанными как противодиабетическим лекарственным средством Т2, так и молекулой восстановления коэнзимом Q10 (Т2+R). Сравнивая с необработанными контрольными образцами, митохондриальная OCR снижалась, когда находящиеся в условиях гипергликемии кардиомиоциты обрабатывали противодиабетическим лекарственным средством Т1 или Т2. Тем не менее, митохондриальная OCR нормализовалась, когда находящиеся в условиях гипергликемии кардиомиоциты обрабатывали как противодиабетическим лекарственным средством, так и молекулой восстановления коэнзимом Q10 (Т1 + R или Т2 + R).

Как показано на фиг. 37В, эксперименты относительно синтеза АТФ в митохондриях проводили для находящихся в условиях гипергликемии образцов кардиомиоцитов. Находящиеся в условиях гиперг-

ликемии кардиомиоциты либо оставляли необработанными (UT), либо обрабатывали противодиабетическим лекарственным средством (Т), либо обрабатывали как противодиабетическим лекарственным средством, так и молекулой восстановления коэнзимом Q10 (Т+R). Сравнивая с необработанными контрольными образцами, синтез митохондриальной АТФ подавлялся, когда находящиеся в условиях гипергликемии кардиомиоциты обрабатывали противодиабетическим лекарственным средством (Т).

Как показано на фиг. 38, на основании собранных протеомных данных, белки, отрицательно регулируемые обработкой лекарственным средством, снабжали комментариями с помощью терминов GO. Белки, вовлеченные в митохондриальный энергетический метаболизм, подвергались отрицательной регуляции, когда находящиеся в условиях гипергликемии кардиомиоциты обрабатывали противодиабетическим лекарственным средством, которое, как известно, вызывает кардиотоксичность.

Данные протеомного, липидного анализа, транскрипционного профилирования, функциональных анализов и вестерн-блоттинга, собранные для каждого условия и с каждым возмущающим воздействием, затем обрабатывали с помощью системы REFS™. Составные сети с возмущающим воздействием создавали из комбинированных данных, полученных от одного конкретного условия (например, гипергликемии или гиперлипидемии), подвергая каждому возмущающему воздействию (например, противодиабетическому лекарственному средству, CoQ10 или обоим воздействиям). Составные сети без возмущающего воздействия создавали из комбинированных данных, полученных от того же одного конкретного условия (например, гипергликемии или гиперлипидемии) без возмущающего воздействия (необработанные образцы). Аналогично, составные сети с возмущающим воздействием создавали из комбинированных данных, полученных для второго, контрольного условия (например, нормальной гликемии), подвергая каждому возмущающему воздействию (например, противодиабетическому лекарственному средству, CoQ10 или обоим воздействиям). Составные сети без возмущающего воздействия создавали из комбинированных данных, полученных от того же второго, контрольного условия (например, нормальной гликемии), без возмущающего воздействия (необработанные образцы).

Каждый узел в описанных выше консенсусных составных сетях имитировали (путем увеличения или уменьшения в 10 раз) для создания имитационных сетей с применением REFS™, как описано подробно выше в подробном описании.

Площадь под кривой и кратность изменений для каждого ребра, соединяющего родительский узел с дочерним узлом в имитационных сетях, извлекали с помощью разработанной по заказу программы с применением языка программирования R, где язык программирования R представляет собой программную среду с открытым исходным кодом для статистических вычислений и графического вывода данных.

Дельта сети создавали из имитированных составных сетей. Для создания дифференциальной сети условия индуцированной лекарственным средством токсичности в сравнении с нормальным условием в ответ на противодиабетическое лекарственное средство (дельта сеть), проводили стадии сравнения, как проиллюстрировано на фиг. 39, с помощью разработанной по заказу программы с применением языка программирования PERL.

В частности, как показано на фиг. 39, UT относится к сетям экспрессии белка необработанных контрольных кардиомиоцитов в условии гипергликемии. Обработка Т относится к сетям экспрессии белка обработанных противодиабетическим лекарственным средством кардиомиоцитов в условиях гипергликемии. Уникальные ребра от Т в  $UT \cap T$  дельта сети представлены на фиг. 40.

В частности, имитированную составную карту необработанных кардиомиоцитов в условии гипергликемии и имитированную составную карту обработанных противодиабетическим лекарственным средством кардиомиоцитов в условии гипергликемии сравнивали с применением разработанной по заказу программы Perl для создания уникальных ребер обработанных противодиабетическим лекарственным средством кардиомиоцитов в условии гипергликемии. Выходные данные из программ PERL и R вводили в Cytoscape, программу с открытым исходным кодом, для создания визуального представления дельта сети. Как показано на фиг. 40, сеть представляет дельта сети, которые управляются кардиотоксическими моделями обработанными противодиабетическим лекарственным средством в сравнении с необработанными кардиомиоцитами в условии гипергликемии.

Из дифференциальной сети условия индуцированной лекарственным средством токсичности в сравнении с нормальным условием, показанной на фиг. 40, идентифицировали белки, которые управляют патофизиологией индуцированной лекарственным средством кардиотоксичности, такие как GRP78, GRP75, TIMP1, PTX3, HSP76, PDIA4, PDIA1, CA2D1. Указанные белки могут функционировать в качестве биомаркеров для идентификации других индуцирующих кардиотоксичность лекарственных средств. Указанные белки также могут функционировать в качестве биомаркеров для идентификации средств, которые могут облегчать кардиотоксичность. Описанные в настоящем примере эксперименты демонстрируют, что подвергнутая возмущающему воздействию биология мембраны и измененное поведение жирных кислот в диабетических кардиомиоцитах, подвергнутых обработке лекарственным средством, представляют собой ключевой элемент индуцированной лекарственным средством токсичности. Интеграция данных и биология сетей предоставили возможность лучшего понимания кардиотоксичности и идентификации новых биомаркеров, прогностических для кардиотоксичности.

Пример 5. Использование платформенной технологии для осуществления мультипротеомики.

Модели для выяснения ферментативной активности.

Как правило, описанную в примере 1-4 выше платформенную технологию можно адаптировать для осуществления дополнительных способов для идентификации модулятора биологической системы или процесса заболевания. Способы используют модель для биологической системы с применением клеток, ассоциированных с биологической системой, для представления характерного аспекта биологической системы. Модель применяли для получения по меньшей мере трех уровней данных, а именно (i) первого набора данных, представляющего глобальную ферментативную активность в клетках, ассоциированных с биологической системой, (ii) второго набора данных, представляющего эффект глобальную ферментативную активность на метаболиты или субстраты ферментов в клетках, ассоциированных с биологической системой, и (iii) третьего набора данных, представляющего глобальные протеомные изменения в клетках, ассоциированных с биологической системой. Данные применяли для создания консенсусной сети причинно-следственных связей между глобальной ферментативной активностью, эффектом глобальной ферментативной активности и глобальными протеомными изменениями. Консенсусную сеть причинно-следственных связей основывали исключительно на первом, втором и третьем наборах данных с применением программируемого вычислительного устройства (т.е. не на основании какой-либо другой известной биологической взаимосвязи). Консенсусную сеть причинно-следственных связей затем используют для идентификации причинно-следственной связи, уникальной для биологической системы, где по меньшей мере один ген или белок, ассоциированный с уникальной причинно-следственной связью, идентифицируют как модулятор биологической системы или процесса заболевания.

В настоящем примере платформенную технологию адаптировали для осуществления техник мультипротеомики для измерения ферментативной активности и прямых эффектов этой активности на протеом, тем самым, обеспечивая систему, которую можно использовать для понимания причинно-следственных связей между ферментами и их метаболитами/субстратами в контексте глобальных изменений в клеточном протеоме. Такие техники могут предоставить ценные сведения, поскольку, как продемонстрировано в настоящем примере, ферментативная активность может быть независима от экспрессии фермента (например, активность отрицательно регулируется, а экспрессия положительно регулируется). Реляционные карты, полученные в результате такого анализа, могут предоставить мишени для лечения заболевания, а также диагностические/прогностические маркеры, связанные с заболеванием. Такие мишени и маркеры могут включать терапевтические композиции и способы. Техники создания моделей, получения наборов данных, создания консенсусных сетей причинно-следственных связей и идентификации причинно-следственной связи, уникальной для биологической системы, обсуждают в кратком и подробном раскрытии настоящего изобретения и примерах выше. Дополнительные техники создания моделей и получения наборов данных, представляющих глобальную ферментативную активность и эффект глобальной ферментативной активности на метаболиты или субстраты ферментов, представлены ниже.

На фиг. 41A проиллюстрирован способ идентификации модулятора биологической системы или процесса заболевания, который использует мультипротеомные техники для установления ферментативной (например, киназной) активности. Во-первых, модель создавали в соответствии с платформенной технологией, причем клеточные линии подвергают воздействию условий, имитирующих заболевание, и тщательно исследуют, подвергая возмущающему воздействию окружающей среды (например, воздействию сорафениба в конкретном примере гепатоклеточной карциномы, представленном ниже). Контроль включают для сравнения. Во-вторых, ферментативную активность и ее нижележащие эффекты отслеживают в контексте глобальных протеомных изменений путем анализа (i) глобальной ферментативной активности, (ii) конкретного эффекта ферментативной активности на протеом (например, метаболиты/субстраты ферментативной активности), и (iii) глобального эффекта на клеточный протеом. В-третьих, наборы данных анализируют в соответствии с платформенной технологией для идентификации представляющих интерес модуляторов. Например, модель злокачественной опухоли могут тщательно исследовать с помощью известного противоракового лекарственного средства - ингибитора киназы; эффекты этого возмущающего воздействия на систему на глобальную киназную активность могут анализировать, наряду с полученными эффектами на фосфопротеом и полный протеом; и набор данных могут анализировать с помощью основанной на ИИ системы REFS™.

В настоящем примере гепатоклеточную карциному (НСС) выбирали для предоставления иллюстративного осуществления платформенной технологии. НСС представляет собой одну из ведущих причин связанной со злокачественными опухолями смертности во всем мире, занимающую третье место среди наиболее летальных злокачественных опухолей после карцином легких и желудка. Различная этиология, высокая заболеваемость/смертность, отсутствие диагностических маркеров для ранней диагностики и крайне изменчивое клиническое течение НСС препятствовали продвижениям в диагностике и лечении. После многих лет изучения НСС понимание молекулярных механизмов, действующих в НСС, остается неполным. Геномные, транскриптомные и сравнительные протеомные профили дали несколько ценных сведений для исследования НСС. Тем не менее, многие исследования фокусировались на одном аспекте клеточных изменений, связанных с НСС, затрудняя полное понимание биологических систем в их действительной сложности и динамике.

Настоящий иллюстративный пример комбинирует мощность (i) клеточной биологии, (ii) интегрированных платформ протеомики и платформы информатики, что создает белковые сети причинно-следственных связей для выявления роли посттрансляционной модификации, например, фосфорилирования, и ферментов, которые участвуют в таких механизмах, например, киназ, в патофизиологии НСС. В частности, указанный подход включает основанную на активности протеомику, использующую зонды обогащения по доменам связывания АТФ и картирование фосфопротеома общих белков в клеточных моделях НСС.

Мультикиназный ингибитор сорафениб, химиотерапевтическое средство первой линии для пациентов с НСС на поздних стадиях, использовали для определения роли общей киназной активности и изменений фосфорилирования белка, связанных с этим лечением. Клеточную линию HepG2 (ATCC регистрационный № HB-8065) выбирали для моделирования клеток НСС и клеточную линию THLE2 (ATCC регистрационный № CRL-10149) выбирали для моделирования нормальных клеток печени.

На фиг. 41В проиллюстрирован способ профилирования общего обогащения ферментом (например, киназой). Во-первых, получают клеточный лизат, включающий в себя целевой фермент (например, киназу). Вторая стадия представляет собой связывание с зондом (например, зондом АТФ в случае киназы). Затем фермент обрабатывают и связанные с зондом фрагменты захватывают. Эти фрагменты можно анализировать (например, с помощью ЖХ-МС/МС) и, таким образом, идентифицировать соответствующий белок (например, посредством поиска в базе данных ЖХ-МС/МС).

Наборы для обогащения киназой THERMO SCIENTIFIC® PIERCE® и зонды ACTIVX® (инструкции доступны от THERMO SCIENTIFIC® и PIERCE® Biotechnology [www.thermoscientific.com/pierce](http://www.thermoscientific.com/pierce)) использовали для анализа глобальной ферментативной активности. Кратко, указанные и аналогичные наборы обеспечивают селективное мечение и обогащение АТФаз, включая в себя киназы, шапероны и метаболомические ферменты. Зонды АТФ и АДФ, как правило, представляют собой нуклеотидные производные, которые ковалентно модифицируют активный сайт ферментов с консервативными остатками лизина в сайте связывания нуклеотида. Например, структура дитиобiotин-АТФ и дитиобiotин-АДФ состоит из модифицированного биотина, прикрепленного к нуклеотиду лабильной ацил-фосфатной связью. В зависимости от положения лизина в пределах активного сайта фермента, либо дитиобiotин-АТФ, либо дитиобiotин-АДФ может быть предпочтительным для мечения конкретных АТФаз.

Как дитиобiotин-АТФ, так и дитиобiotин-АДФ может селективно обогащать, идентифицировать и определять профиль целевых классов ферментов в образцах или оценивать специфичность и аффинность ингибиторов ферментов. Многие АТФазы и другие связывающие нуклеотиды белки связывают нуклеотиды или ингибиторы, даже если они являются ферментативно неактивными; эти реагенты связывают как неактивные, так и активные ферменты в сложном образце. Предварительную инкубацию образцов с низкомолекулярными ингибиторами, которые конкурируют за зонды с активным сайтом, могут использовать для определения аффинности связывания ингибитора и специфичности к мишени.

Оценку мечения активного сайта можно осуществить или с помощью вестерн-блоттинга, или масс-спектрометрии (МС). Для последовательности операций в вестерн-блоттинге меченные дитиобiotином белки обогащают для анализа SDS-PAGE и последующего обнаружения с помощью конкретных антител. Для последовательности операций в МС меченные дитиобiotином белки восстанавливают, алкилируют и ферментативно обрабатывают до пептидов. Только меченные дитиобiotином пептиды с активным сайтом обогащают для анализа с помощью ЖХ-МС/МС. Обе последовательности операций могут использовать для определения связывания ингибитора с мишенью, но только последовательность операций в МС может идентифицировать глобальные мишени ингибитора и то, что мишенями не является.

Наборы для  $\text{TiO}_2$  фосфопептидного обогащения и очищения THERMO SCIENTIFIC® PIERCE® (инструкции доступны от THERMO SCIENTIFIC® и PIERCE® Biotechnology [www.thermoscientific.com/pierce](http://www.thermoscientific.com/pierce)) использовали для фосфопротеомного анализа. Кратко, указанные и аналогичные наборы могут обеспечить эффективное выделение фосфорилированных пептидов из комплекса и обработку фракционированного белка для анализа с помощью масс-спектрометрии (MS). Сферический пористый диоксид титана ( $\text{TiO}_2$ ), комбинированный с оптимизированными буферами, обеспечивает усиленное обогащение и идентификацию фосфопептидов с минимальным неспецифическим связыванием. Формат спин-колонки является быстрым и простым в использовании и может обогатить до 100 мкг фосфопептидов из 300-1000 мкг образца обработанного белка. Оптимизированный протокол в наборах, компоненты буферов и графитные спин-колонки дают в результате высокий выход чистых образцов фосфопептидов, готовых к анализу МС.

Фосфорилирование представляет собой модификацию белка, необходимую для таких биологических функций, как передача сигнала в клетке, рост, дифференциация и деление и программируемая клеточная смерть. Тем не менее, фосфопептиды характеризуются высокой гидрофильностью и низким содержанием, что приводит к неэффективной хроматографии, ионизации и фрагментации. Обогащение фосфопептидами, следовательно, необходимо для успешного анализа МС. Набор для обогащения и очищения фосфопептидов может совмещаться с лизисом, восстановлением, алкилированием, обработкой ферментами и графитными спин-колонками для обеспечения полного последовательности операций для

обогащения и идентификации фосфопептидов.

Данные сравнительной протеомики, фосфопротеома и ферментативной активности интегрировали в основанную на ИИ REFS™ платформу информатики. Затем создавали сети причинно-следственных связей белкового взаимодействия, в частности из функциональной точки, а именно киназной/ферментативной активности и потенциальных мишеней, которые киназы могут фосфорилировать. Кроме того, с применением клеточных функциональных выходных данных определяют ферменты/киназы, которые модулируют фосфорилирование мишеней и управляют механизмами патофизиологического клеточного поведения. Иллюстративное осуществление, раскрытое в настоящем документе, облегчает определение глобальных характеристик клеточных ответов, проникает в механизмы хемочувствительности и потенциальных мишеней/биомаркеров для клинического ведения НСС.

Материалы и способы.

Клетки культивировали согласно следующему протоколу. День 1: HepG2/Hep3B - высеять  $3,2 \times 10^6$  клеток в колбы для культуры T-75;  $7,4 \times 10^6$  клетки в колбы для культуры T-175; или  $9,5 \times 10^6$  клеток в колбы для культуры T-225. THLE-2 - высеять  $1,3 \times 10^6$  клеток в колбы для культуры T-75. День 2: через 16-24 ч, с конфлюэнтностью 50-70% - добавить обработку. Контроль: DMSO в конечной концентрации, составляющей 0,01%. EGF: 500 нг/мл в 10 мМ уксусной кислоты. Сорафениб: 1 мкМ в 0,1% объеме в DMSO. День 3: через 24 ч после обработки, собрать клетки путем трипсинизации. Отмыть осадки 2 раза с помощью PBS перед замораживанием.

Анализ глобальной ферментативной активности проводили согласно следующему протоколу.

Лизис клеток.

Свежеприготовленный лизирующий буфер - 5 М мочевины, 50 мМ трис-HCl pH 8,4, 0,1% SDS, 1% коктейль ингибиторов протеазы, 1% коктейль ингибиторов фосфатазы.

1) Осадить клетки в 1,5-2 мл микроцентрифужных пробирках Эппендорфа центрифугированием при 2000 g в течение 5 мин и удалить супернатант.

2) Отмыть клетки ресуспендированием осадка в PBS. Повторить отмывку еще раз.

3) Добавить соответствующее количество лизирующего буфера к каждому образцу и перемешать вихревым способом.

4) Инкубировать на льду в течение 10 мин с периодическим перемешиванием.

5) Обработать ультразвуком каждый образец по завершении лизиса.

6) Центрифугировать при верхнем пределе скорости в течение 15 мин.

7) Перенести лизат (супернатант) в новую пробирку.

Лизирующий буфер-замена.

Использовали предварительно приготовленный реакционный буфер Pierce.

Реакционный буфер - 20 мМ HEPES pH 7,4, 150 мМ NaCl, 0,1% TritonX-100.

1) Открутить нижнюю крышку деминерализирующей спин-колонки Zeba и ослабить колпачок.

2) Поместить в 15 мл коническую пробирку.

3) Центрифугировать колонку при комнатной температуре при 1000 g в течение 2 мин для удаления раствора для хранения.

4) Добавить 3 мл реакционного буфера к колонке. Центрифугировать при 1000 g в течение 2 мин для удаления буфера. Повторить еще 2 раза, удаляя буфер.

а. Дополнительно центрифугировать при 1000 g в течение 2-3 мин, если есть избыток буфера при последней отмывке.

5) Перенести колонку в новую коническую пробирку.

6) Медленно нанести весь лизат в центр слоя смолы.

7) Центрифугировать при 1000 g в течение 2 мин для сбора образца. Удалить колонку.

8) Добавить 1:100 коктейль ингибиторов протеазы/фосфатазы к образцу и поместить на лед.

а. Образцы можно заморозить в морозильной камере при  $-80^{\circ}\text{C}$ .

Точка остановки.

Мечение образца с помощью зонда.

Использовали предварительно приготовленный 1 М  $\text{MgCl}_2$  от Pierce.

Приготовили свежий 1 М  $\text{MnCl}_2$ .

1) Определить концентрацию белка с применением анализа Бредфорда.

2) Разбавить лизат водой до 2 мг/мл (2 мкг/мкл) по возможности.

3) Перенести 2 мкл в новую микроцентрифужную пробирку.

4) Добавить 20 мкл 1 М  $\text{MgCl}_2$  к каждому образцу, перемешать, инкубировать в течение 1 мин при комнатной температуре.

Примечание: конечная концентрация составляет 0,02 М  $\text{MgCl}_2$ .

5) Добавить 10 мкл 1 М  $\text{MgCl}_2$  к каждому образцу, перемешать, инкубировать в течение 1 мин при комнатной температуре.

Примечание: конечная концентрация составляет 10 мМ  $\text{MgCl}_2$ .

6) Привести реагент АТФ/АДФ к комнатной температуре с помощью осушителя. Хранить остаток

при -80°C.

7) Для 20 мкМ реакции - добавить 10 мкл воды высшей степени очистки к реагенту для получения 1 мМ маточного раствора.

8) Добавить 20 мкл маточного раствора АТФ/АДФ к каждому образцу и инкубировать в течение 1 ч при комнатной температуре.

Восстановление и алкилирование меченного белка.

Приготовить свежий раствор 10 М мочевины/50 мМ трис-НСl pH 8,4.

1) Добавить 1 мл 10 М мочевины/50 мМ трис-НСl к каждой реакции.

2) Добавить 100 мкл 200 мМ ТСЕР к каждому образцу. Инкубировать при 55°C в течение 1 ч.

3) Добавить 100 мкл 375 мМ йодацетамида к каждому образцу. Инкубировать при комнатной температуре в течение 30 мин в темноте.

Замена буфера.

Приготовить свежий буфер для ферментативной обработки - 2 М мочевины, 200 мМ трис-НСl pH 8,4.

1) Открутить нижнюю крышку деминерализирующей спин-колонки Zeba и ослабить колпачок.

2) Поместить в 15 мл коническую пробирку.

3) Центрифугировать колонку при комнатной температуре при 1000 g в течение 2 мин для удаления раствора для хранения.

4) Добавить 3 мл буфера для ферментативной обработки к колонке. Центрифугировать при 1000 g в течение 2 мин для удаления буфера. Повторить еще 2 раза, удаляя буфер.

а. Дополнительно центрифугировать при 1000 g в течение 2-3 мин, если есть избыток буфера при последней отмывке.

5) Перенести колонку в новую коническую пробирку.

6) Медленно нанести весь образец в центр слоя смолы.

7) Центрифугировать при 1000 g в течение 2 мин для сбора образца. Удалить колонку.

Ферментативная обработка меченого белка.

1) Добавить трипсин в соотношении 1:50 (трипсин:белок).

2) Инкубировать при 37°C со встряхиванием в течение ночи.

Захват и элюирование меченого пептида.

Приготовить свежий буфер для элюирования (50% ACN; 0,1% муравьиная кислота).

1) Добавить 50 мкл суспензии к каждому обработанному трипсином образцу. Инкубировать в течение 1,5 ч при комнатной температуре с постоянным перемешиванием.

2) Перенести образец на спин-колонку Pierce. Центрифугировать при 1000 g в течение 1 мин. Собрать элюат и сохранить.

3) При 1000 g в течение 1 мин на отмывку.

а. Отмыть смолу 3 раза с помощью 500 мкл 4 М мочевины/50 мМ трис-НСl pH 8,4.

б. Отмыть смолу 4 раза с помощью 500 мкл PBS.

с. Отмыть смолу 4 раза с помощью 500 мкл воды.

4) Элюировать пептиды с помощью 75 мкл буфера для элюирования и инкубировать в течение 3 мин. Повторить еще 2 раза, комбинируя фракции элюата.

5) Лиофилизировать образцы в вакуумном концентраторе.

Не использующее метки, 1-D разделение для анализа ЖХ-МС/МС.

1) Как только образцы высушивали с помощью лиофилизации, ресуспендировать каждый образец в 25 мкл 0,1% муравьиной кислоты.

2) Перенести 10 мкл во флаконы для ЖХ-МС/МС.

Мечение iTRAQ.

1) Оставшиеся 15 мкл образцы полностью высушивали.

2) Ресуспендировать образцы в 30 мкл 200 мМ TEAB.

3) 15 мкл образца метили с помощью 30 мкл реагента iTRAQ и инкубировали в течение 2 ч при комнатной температуре.

а. 6 мкл на образец объединяли для QCP.

4) После мечения 8 мкл 5% гидроксамина добавляли для гашения в течение 15 мин при 4°C.

5) Все МР объединяли вместе, высушивали, деминерализировали и ресуспендировали в 20 мкл 0,1% муравьиной кислоты.

С прибор Eksigent/LTQ Orbitrap возникли проблемы, поэтому МР высушивали и ресуспендировали в 18 мкл 20 мМ формиата аммония.

Остатки на каждый образец.

9 мкл элюата в 200 мМ TEAB в -80°C.

МР в 20 мМ формиата аммония на приборе.

Анализ фосфопротеина проводили согласно следующему протоколу.

Протокол получения образца.

1. Лизис клеток.

а. Лизирующий буфер - 5 М мочевины, 50 мМ трис-HCl, 0,1% SDS, 1% коктейль ингибиторов про-

теазы, 1% коктейль ингибиторов фосфатазы.

- b. Суспендировать осадок в соответствующем количестве лизирующего буфера.
- c. Перемешать вихревым способом и инкубировать в течение 10 мин на льду. Повторить.
- d. Обработать ультразвуком и инкубировать в течение 10 мин на льду.
- e. Центрифугировать при верхнем значении скорости в течение 15 мин.
- f. Повторно обработать ультразвуком, если лизат все еще вязкий/липкий.
- g. Перенести лизат в новую пробирку.

2. Провести анализ Бредфорда для определения концентрации белка.

3. Перенести 700 мкг белка (400 мкг для THLE-2) в новую микроцентрифужную пробирку с 45 мкл 200 мМ TEAB.

4. Восстановить с помощью 200 мМ TCEP при соотношении 5 мкл TCEP: 100 мкл объема в течение 1 ч при 55°C.

5. Алкилировать с помощью 375 мМ йодацетамида при соотношении 5 мкл йодацетамида:100 мкл объема при комнатной температуре в течение 30 мин в темноте.

6. Осаждение ацетоном в 7-кратном объеме в течение ночи в -20°C.

7. Ресуспендировать белок в 200 мМ TEAB в концентрации 50 мкг/мкл. Обработать с помощью трипсин в соотношении 1:40 (трипсин:белок) при 37°C в течение ночи.

Во время приготовления колонки ресуспендировать образец пептида в 150 мкл буфера В.

Приготовление колонки.

1. Поместить переходник для центрифугирования колонки в пробирку-сборник и вставить TiO<sub>2</sub> спин-наконечник в переходник.

2. Добавить 20 мкл буфера А. Центрифугировать при 3000 g в течение 2 мин. Удалить FT.

3. Добавить 20 мкл буфера В. Центрифугировать при 3000 g в течение 2 мин. Удалить FT.

Связывание фосфопептидов.

1. Перенести спин-наконечник в чистую микроцентрифужную пробирку.

2. Нанести суспендированный образец на спин-наконечник. Центрифугировать при 1000 g в течение 10 мин.

3. Повторно нанести на спин-наконечник и центрифугировать 1000 g в течение 10 мин. Сохранить FT.

4. Перенести спин-наконечник в новую микроцентрифужную пробирку.

5. Отмыть колонку путем добавления 20 мкл буфера В. Центрифугировать при 3000 g в течение 2 мин.

6. Отмыть колонку путем добавления 20 мкл буфера А. Центрифугировать при 3000 g в течение 2 мин. Повторить еще раз.

Элюирование.

1. Поместить спин-наконечник в новую пробирку-сборник. Добавить 50 мкл буфера для элюирования 1. Центрифугировать при 1000 g в течение 5 мин.

2. С использованием этой же пробирки-сборника добавить 50 мкл буфера для элюирования 2 к спин-наконечнику. Центрифугировать при 1000 g в течение 5 мин.

3. Подкислить элюированную фракцию путем добавления 100 мкл 2,5% муравьиной кислоты.

Графитная очистка фосфопептидов.

\*\* Заменить TFA муравьиной кислотой, поскольку это окончательная очистка перед анализом ЖХ/МС/МС.

Приготовление колонки.

1. Удалить верхний и нижний колпачок из графитной спин-колонки. Поместить колонку в 1,5 мл микроцентрифужную пробирку. Центрифугировать при 2000 g в течение 1 мин для удаления буфера для хранения.

2. Добавить 100 мкл 1 М NH<sub>4</sub>OH. Центрифугировать при 2000 g в течение 1 мин. Удалить FT. Повторить еще раз.

3. Активировать графит путем добавления 100 мкл ацетонитрила. Центрифугировать при 2000 g в течение 1 мин. Удалить FT.

4. Добавить 100 мкл 1% муравьиной кислоты. Центрифугировать при 2000 g в течение 1 мин. Удалить FT. Повторить еще раз.

Связывание и элюирование образца: элюирование = 0,1% FA + 50% ACN.

1. Поместить колонку в новую пробирку-сборник. Нанести образец поверх слоя смолы. Дать произойти связыванию в течение 10 мин с периодическим перемешиванием вихревым способом.

2. Центрифугировать при 1000 g в течение 3 мин. Удалить FT.

3. Поместить колонку в новую пробирку-сборник. Отмыть колонку путем добавления 200 мкл 1% FA. Центрифугировать при 2000 g в течение 1 мин. Удалить FT. Повторить еще раз.

4. Поместить колонку в новую пробирку-сборник. Добавить 100 мкл 0,1% FA/50% ACN для элюирования образца. Центрифугировать при 2000 g в течение 1 мин. Повторить еще 3 раза для общего элюирования 400 мкл.

5. Высушить образцы в вакуумном испарителе (SpeedVac).

HerG2 и Her3B.

Начать с 700 мкг белка.

После обогащения  $\text{TiO}_2$  и графитной очистки фосфопептиды элюировали в 400 мкл 0,1% муравьиной кислоты/50% ACN.

400 мкл аликвоты с соотношением (400/700)\* забирали из элюента и полностью высушивали. Ее ресуспендировали в 20 мкл 200 мМ TEAB для мечения iTRAQ.

После мечения, образцы деминерализировали, высушивали и ресуспендировали в 20 мкл 0,1% муравьиной кислоты.

Оставшуюся аликвоту полностью высушивали и ресуспендировали в 20 мкл 0,1% муравьиной кислоты.

10 мкл переносили во флаконы для не использующего метки анализа ЖХ-МС/МС.

THLE-2.

Собирали только 400 мкг белка.

Весь белок обогащали с помощью  $\text{TiO}_2$  колонок и очищали с помощью графитных колонок.

Элюаты высушивали, ресуспендировали в 20 мкл 200 мМ TEAB для мечения iTRAQ.

После мечения образцы деминерализировали, высушивали и ресуспендировали в 20 мкл 0,1% муравьиной кислоты.

Оставшиеся образцы.

Образцы iTRAQ - на приборе в 20 мМ формиата аммония.

Не содержащий меток HerG2/Her3B - 10 мкл в 0,1% муравьиной кислоты в  $-80^\circ\text{C}$ ; 10 мкл в 0,1% муравьиной кислоты на приборе.

Результаты.

На фиг. 42 проиллюстрировано значительное снижение в активности ENO1, но не в экспрессии ENO1 в HerG2, обработанных сорафенибом. На фиг. 43 проиллюстрировано значительное снижение в активности PGK1, но не в PGK1 экспрессии белка в HerG2, обработанных сорафенибом. На фиг. 44 проиллюстрировано значительное снижение в активности LDHA в HerG2, обработанных сорафенибом. В каждом случае экспрессию ENO1 измеряли в единицах относительно образца QC и изменение активности ENO1 измеряли в единицах относительно контрольного, необработанного образца.

Данные на фиг. 42-44 показывают, что для ENO1, LDHA и PGK1 в модели заболевания НСС, обработка клеток сорафенибом давала в результате положительную регуляцию экспрессии белка при одновременной отрицательной регуляции ферментативной активности белка. Таким образом, фосфопротеом предоставляет дополнительный слой информации, которую можно использовать для установления сложной взаимосвязи между эффектом внеклеточного сигнала (например, молекулы лекарственного средства) на киназную активность и общий клеточный белок, тем самым облегчая идентификацию мишеней для лечения заболевания, а также диагностических/прогностических маркеров, связанных с заболеванием.

На фиг. 45 проиллюстрирована (см. рамку слева) сеть причинно-следственных связей молекулярных взаимодействий, которую можно получить путем анализа полученного набора данных с применением основанной на ИИ системы REFS<sup>TM</sup>. Сеть можно использовать, например, для идентификации представляющих интерес сетей, которые различным образом регулируются в нормальных клетках и клетках злокачественной опухоли (см. рамки посередине и справа соответственно). Такую информацию можно использовать для обеспечения мишеней для лечения НСС, а также диагностических/прогностических маркеров, связанных с НСС.

На фиг. 46-51 проиллюстрировано, как двухмерный химический опрос онкогенных систем и мультиомная интеграция сигнатур может выявить новые сигнальные пути, вовлеченные в патофизиологию злокачественной опухоли, тем самым, идентифицируя терапевтические мишени, релевантные биомаркеры и/или терапевтические средства. В частности, на фиг. 46-51 проиллюстрировано осуществление общей методологии, показанной на фиг. 41 и в соответствии с различными способами, описанными в настоящем документе. Как показано на фиг. 41, подход работает на базе "двухмерного химического опроса", при котором *in vitro* модели злокачественной опухоли и контроля тщательно исследовали с помощью ингибитора киназы (сорафениба) в первом измерении. Глобальные изменения киназной активности фиксировали с помощью второго измерения химического опроса, используя основанные на активности зонды обогащения киназ. Киназы идентифицировали с помощью ЖХ-МС. Кроме того, изменения в фосфопротеоме в ответ на воздействие с ингибитором киназы фиксировали с применением способа обогащения фосфопротеином с последующей ЖХ-МС для идентификации белков. В итоге, получали количественные изменения в общей экспрессии белка. Полученные мультиомные данные интегрировали с применением основанной на ИИ информатики, приводя к созданию управляемых данными сетей причинно-следственных связей, представляющих дифференциальную киназную активность, управляющую фосфорилированием белков, которые действуют в модели злокачественной опухоли, но не в "нормальной" модели. Интеграция этого дополнительного анализа показана в логически выведенных путях фиг. 46 и 47. Технология привела к открытию новых киназ и взаимосвязей, которые относятся к механизмам патофизиологии злокачественной опухоли (например, фиг. 48-50).

На фиг. 46 проиллюстрировано, как интеграция мультиомных данных, с использованием алгорит-

мов следствия байесовских сетей, может привести к более глубокому пониманию сигнальных путей в гепатоклеточной карциноме. Желтые квадраты представляют данные посттранскрипционной модификации (фосфо), синие треугольники представляют основанные на активности данные (киназа) и зеленые кружки представляют протеомные данные. На фиг. 47 проиллюстрировано, как ауторегуляция и обратная регуляция с отрицательной обратной связью в сигнальных путях гепатоклеточной карциномы может быть логически выведена с помощью платформы. Квадраты представляют данные PMT (фосфо) (серый/темный = киназа, желтый/светлый - отсутствие киназной активности), квадраты представляют основанные на активности данные (киназа) + протеомные данные (серый/темный = киназа, желтый/светлый - отсутствие киназной активности). Указанные анализы проводили с применением трехслойной мультипротеомной методологии, описанной выше и обобщенно приведенной на фиг. 41. Результаты этих анализов показаны на фиг. 48-51 и обсуждаются подробно ниже.

На фиг. 48-50 проиллюстрированы примеры причинно-следственной ассоциации в сигнальных путях, логически выведенной с помощью платформы. Названия киназ указаны на репрезентативных квадратах и кружках, с причинно-следственными ассоциациями, указанными соединителями. На фиг. 48 идентифицируют изоформы киназы CLTCL1, MAPK1, NME1, HIST1H2BA, RPS5, TMED4 и MAP4 и показывают логически выведенную взаимосвязь между ними. На фиг. 49 идентифицируют изоформы киназы HNRPD, HNRNP, RAB7A, RPL28, HSPA9, MAP2K2, RPS6, FBL, TCOF1, PGK1, SLTM, TUBB, PGK2, CDK1, MARCKS, HDLBP и GSK3B и показывают логически выведенную взаимосвязь между ними. На фиг. 50 идентифицируют изоформы киназы RPS5, TNRC18, CLTCL1, NME1, MAPK1, RPL17, CAMK2A, NME2, UBE2L, CLTCL1, HMGB2 и NME2 и показывают логически выведенную взаимосвязь между ними. Указанные изоформы киназы представляют потенциальные терапевтические мишени, маркеры и терапевтические средства.

На фиг. 51 проиллюстрирована причинно-следственная ассоциация, выведенная с помощью платформы. В частности, на фиг. 51 идентифицируют изоформы киназы EIF4G1, MAPK1 и TOP2A и показывают логически выведенную взаимосвязь между ними. Эта взаимосвязь обеспечивает подтверждение для модели и способа, поскольку она соответствует опубликованной взаимосвязи между киназами EIF, MAPK и TOP.

В заключение следует отметить, что основанный на мультиомике анализ активности фермента (например, киназы) представляет применимый способ определения нижележащих причинно-следственных связей между метаболитами и субстратами как функции поведения клеток. Аналогично, основанный на активности протеомный мониторинг изменений глобальной ферментативной активности в ответ на терапевтическое лечение может предоставить критически важное понимание динамики передачи сигнала в клетке по сравнению с мониторингом только общей клеточной экспрессии белков (например, ферментов). Более того, было показано, что платформа может делать правильные заключения относительно сигнальных путей и обратной регуляции с отрицательной обратной связью в онкогенных окружающих средах в отличие от нормальных окружающих сред и, следовательно, идентифицировать новые причинно-следственные ассоциации в онкогенных сигнальных путях. Соответственно, технология обеспечивает идентификацию новых киназ и расшифровку механизмов действия ингибиторов киназ.

Пример 6. Модель ангиогенеза *in vitro* и модуляция с помощью CoQ10.

Введение: прогрессирование размера опухоли больше чем 2-5 мм нуждается в индукции ангиогенеза для снабжения опухоли кислородом и питательными веществами. Ангиогенез происходит вследствие внутриопухолевого высвобождения клетками эндотелиальных митогенных факторов в ответ на гипоксию или генетическую мутацию, и в настоящее время в клинической разработке находятся многочисленные эндогенные белки в качестве терапевтических мишеней антиангиогенеза, например VEGF и PlGF. В настоящем документе авторы исследовали коэнзим Q10 (CoQ10) *in vitro*, который в настоящее время находится в стадии исследования прогрессирования злокачественных опухолей на людях.

Способы: определяющие поведение эндотелиальных клеток (HUVEC) пупочной вены человека решения, которые модулируют ангиогенный фенотип, изучали в присутствии 100 или 1500 мкМ CoQ10 или вспомогательного вещества и сравнивали с необработанными контрольными клетками. Проводили анализ поведения эндотелиальных клеток в отношении апоптоза, пролиферации, миграции и образования трубок в 3-D MATRIGEL®.

Результаты: морфологический и проточно-цитометрический анализ положительных в отношении аннеклина V/пропидийиода клеток выявил увеличение апоптоза HUVEC в присутствии 1500 мкМ CoQ10 по сравнению со вспомогательным веществом или контрольными клетками. Наряду с увеличенной клеточной смертью вследствие действия CoQ10, количество клеток HUVEC существенно снизилось в присутствии 1500 мкМ CoQ10. Для оценки потенциальных эффектов CoQ10 на эндотелиальную миграцию HUVEC исследовали через 5 ч после клеточного клиренса, в эндотелиальном анализе методом зарастания царапины. Как CoQ10, так и вспомогательное вещество существенно ослаблял миграцию HUVEC в обеих концентрациях: 100 и 1500 мкМ, демонстрируя антимиграционную активность как вспомогательного вещества, так и CoQ10. Для определения того, обусловлена ли противоопухолевая активность CoQ10 эффектами на прорастание эндотелиальных кровеносных сосудов, авторы настоящего

изобретения исследовали образование эндотелиальных трубок в культурах 3-D MATRIGEL® с течением времени. Добавление вспомогательного вещества как в гель, так и наносимые сверху среды нарушало образование трубок по сравнению с контролем. Более того, добавление 1500 мкМ CoQ10 дополнительно нарушало образование трубок HUVEC по сравнению как со вспомогательным веществом, так и с контрольными необработанными клетками. Эти эффекты отмечали не позже 24 ч после посева и вплоть до 96 ч в культуре. Обобщая, указанные исследования показывают, что эффект CoQ10, вероятно, по меньшей мере частично, обусловлен ингибированием рекрутинга опухоли местного кровоснабжения для формирования новых сосудов.

Эффект CoQ10 на эндотелиальную морфологию: эндотелиальные клетки пупочной вены человека (клетки HUVEC) обрабатывали в течение 24 ч с диапазоном концентраций CoQ10. Лекарственное средство наносили на конфлюэнтные клетки, которые сильно напоминают "нормальные" клетки, а также на субконфлюэнтные клетки, которые наиболее близко представляют ангиогенный фенотип пролиферирующих клеток. В конфлюэнтных культурах добавление увеличивающихся концентраций CoQ10 привело к более сильной ассоциации, удлинению и выравниванию EC. 5000 мкМ привела к малозаметному увеличению закругленных клеток (фиг. 52A). Ответ субконфлюэнтных эндотелиальных клеток на CoQ10 отличался от ответа конфлюэнтных клеток (фиг. 52B). Эндотелий визуально не выглядел здоровым при концентрации 1000 мкМ CoQ10 и выше. Увеличенную клеточную смерть наблюдали с увеличением концентраций CoQ10.

CoQ10 характеризуется дивергентными эффектами на выживаемость эндотелиальных клеток: конфлюэнтные и субконфлюэнтные культуры клеток HUVEC обрабатывали в течение 24 ч с помощью 100 или 1500 мкМ CoQ10 и анализировали в отношении положительных к пропидиййодиду апоптических клеток. Результаты показаны на фигурах 53A и 53B соответственно. CoQ10 оказывал защитное действие на EC, обработанные при конфлюэнтности, тогда как субконфлюэнтные клетки были чувствительными к CoQ10 и проявляли увеличенный апоптоз при концентрации 1500 мкМ CoQ10. Репрезентативные гistogramмы субконфлюэнтных контрольных EC (слева), 100 мкМ CoQ10 (посередине) и 1500 мкМ CoQ10 (справа), демонстрирующие повышенные уровни апоптоза с увеличением концентраций CoQ10, показаны на фиг. 53C.

CoQ10 снижает количество и пролиферацию эндотелиальных клеток: субконфлюэнтные культуры клеток HUVEC обрабатывали в течение 72 ч с помощью 100 или 1500 мкМ CoQ10 и анализировали как в отношении количества клеток (фиг. 54A), так и пролиферации (фиг. 54B) с применением анализа включения пропидиййодида (обнаруживает G2/M фазу ДНК). Высокие концентрации CoQ10 приводили к значительному снижению количества клеток и характеризовались дозозависимым эффектом на пролиферацию EC. Репрезентативные гistogramмы клеточной пролиферации, гейтированные на клетки в фазе G2/M клеточного цикла, демонстрирующие сниженную клеточную пролиферацию с увеличением концентраций CoQ10 [фигура 54C, контрольные EC (слева), 100 мкМ CoQ10 (посередине) и 1500 мкМ CoQ10 (справа)].

CoQ10 снижает миграцию эндотелиальных клеток: клетки HUVEC выращивали до конфлюэнтности, исследуемой в отношении миграции с применением анализа методом зарастания царапины. 100 или 1500 мкМ CoQ10 наносили в момент нанесения царапины и закрытие очищенной области подвергали мониторингу в течение 48 ч. 100 мкМ CoQ10 замедлял закрытие эндотелия по сравнению с контролем. Репрезентативные изображения в 0, 12, 24 и 36 ч представлены на фиг. 55. Добавление 1500 мкМ CoQ10 предотвращало закрытие, даже вплоть до 48 ч (данные не показаны).

CoQ10 нарушает образование эндотелиальных трубок: эндотелиальные клетки, растущие в 3-D матрикеле, со временем образуют трубки. Наблюдали дифференциальные эффекты 100 мкМ и 1500 мкМ CoQ10 на образование трубок. Нарушенная межклеточная ассоциация и разрушение ранней трубчатой структуры был значительным при концентрации 1500 мкМ CoQ10. Интересно, что образование трубок действительно начиналось в присутствии 1500 мкМ CoQ10, тем не менее, процесс роста и формирования трубок нарушался в течение 48 ч. Изображения, показанные на фиг. 56, сделали через 72 ч.

Результаты и заключение.

Авторы настоящего изобретения исследовали потенциальные модулирующие ангиогенез эффекты CoQ10. CoQ10 представляет собой противораковое средство, находящееся в настоящее время на стадии исследования на людях в изучении солидных опухолей, который модулирует клеточный энергетический метаболизм.

CoQ10 в низких дозах оказывал защитный эффект на конфлюэнтные эндотелиальные клетки, тогда как добавление CoQ10 к субконфлюэнтным клеткам приводило к увеличенному апоптозу, снижению количеству клеток и являлось сильным ингибитором эндотелиальной пролиферации. Авторы настоящего изобретения демонстрируют дивергентные эффекты на конфлюэнтные и субконфлюэнтные клетки, что будет защищать "нормальную" сосудистую систему.

Функциональная оценка способности эндотелиальных клеток мигрировать в 2-D анализах методом зарастания царапины выявила сильное ингибирование эндотелиальной миграции. Цейтраферная фото-съемка выявила динамический эндотелиальный "фронт", которые не может закрыть очищенную зону в течение 2 дней культивирования/обработки.

Суспензия эндотелиальных клеток в 3-D матрикеле приводит к образованию трубок с течением времени. С применением хорошо охарактеризованного анализа, который выявляет многие из факторов, играющих роль в ангиогенезе опухоли, авторы настоящего изобретения изучили эффект CoQ10 на образование эндотелиальных трубок. Добавление 100 мкМ CoQ10 характеризовалось умеренным эффектом образования трубок, тем не менее, добавление 1500 мкМ CoQ10 привело к сильному нарушению образования эндотелиальных трубок.

Обобщенно, указанные результаты демонстрируют эффект CoQ10 на прорастание, миграцию и пролиферацию эндотелия и селективно индуцирует клеточную смерть в ангиогенных эндотелиальных клетках.

Пример 7. Коэнзим Q10 дифференциально модулировал функциональные ответы в конфлюэнтных и субконфлюэнтных клетках HUVEC.

Продemonстрировав дифференциальный эффект CoQ10 на клеточную пролиферацию и миграцию клеток HUVEC, растущих при конфлюэнтных и субконфлюэнтных условиях, исследовали эффекты CoQ10 на биохимические пути клеток HUVEC.

Оценивали ответ клеток HUVEC на нормоксию и гипоксию в присутствии или при отсутствии CoQ10. В частности, клетки HUVEC выращивали в субконфлюэнтных и конфлюэнтных культурах в условиях нормоксии или гипоксии, как описано в настоящем документе. Клетки также подвергали действию 0, 100 или 1500 мкМ CoQ10. Содержание оксида азота (NO) и активных форм кислорода (ROS) определяли с применением способов, представленных в настоящем документе. Как показано на фиг. 57, клетки HUVEC демонстрировали дифференциальное дозозависимое производство оксида азота (NO) и активных форм кислорода (ROS) в ответ на CoQ10 и гипоксию.

Биоэнергетические показатели клеток HUVEC оценивали в присутствии различных концентраций CoQ10. В частности, клетки HUVEC выращивали в субконфлюэнтных или конфлюэнтных условиях при отсутствии или в присутствии CoQ10 (10, 100, 1500 мкМ). Скорости потребления кислорода (OCR), как общую, так и митохондриальную, производство АТФ и коэффициент внеклеточного закисления (ECAR) оценивали с применением анализов Seahorse. Клетки HUVEC, растущие в субконфлюэнтных культурах, ограничивают митохондриальное потребление кислорода по сравнению с конфлюэнтными культурами, как показано на фиг. 58A-D ((A) общая OCR; (B) митохондриальная OCR; (C) АТФ; (D) ECAR. Добавление CoQ10 к субконфлюэнтным культурам возвращает митохондриальную OCR до конфлюэнтного уровня OCR (фиг. 58B).

Пример 8. Применение функциональной протеомики и липидомики для выяснения антиангиогенных механизмов CoQ10.

Ангиогенез представляет собой ключевой фактор, обеспечивающий признак прогрессирования опухоли, который поставляет кислород и питательные вещества, которые необходимы для роста опухолевых клеток. Авторы настоящего изобретения исследовали антиангиогенные свойства CoQ10, противоопухолевого лекарственного средства, которое в настоящее время находится на стадии исследования прогрессирования злокачественных опухолей на людях. CoQ10 нарушает эндотелиальную миграцию в анализах "методом зарастания царапины" и образование трубок в анализах образования трубок в 3-D MATRIGEL®. Добавление CoQ10 также нарушает эндотелиальную пролиферацию, что обнаружили с помощью клеток в G2/M фазе и белка ядерного антигена клеточной пролиферации (pCNA). CoQ10 индуцирует активацию каспазы 3 и увеличивает апоптоз ангиогенных/пролиферирующих эндотелиальных клеток, тогда как клеточная смерть непролиферирующих конфлюэнтных эндотелиальных клеточных культур снижается по сравнению с контролями.

Для определения внутриклеточного протеомного профиля ангиогенных пролиферирующих эндотелиальных клеток и непролиферирующих эндотелиальных клеток, использовали протеомный, липидомный и функциональный протеомный подход. Протеомный анализ и липидомный анализ методом дробовика проводили на LTQ-Orbitrap-Velos и Vantage-Qq соответственно. В функциональном протеомном подходе использовали основанные на активности зонды в комбинации со сравнительной протеомикой. Киназы и другие АТФазы, в частности, метили с помощью зондов обогащения АТФ-связывающим доменом, которые взаимодействуют с активными сайтами ферментов в их нативной конформации. Обогащение проводили посредством иммунопреципитации с помощью стрептавидиновой смолы.

С применением интегрированных липидомных и протеомных платформ и основанной на ИИ платформы байесовской информатики, которая генерирует липид-белковые функциональные протеомные сети причинно-следственных связей, идентифицировали новые белки, липиды и ферменты, которые модулируют ангиогенез. Обработанные CoQ10 клетки и сравнение нормальных и ангиогенных эндотелиальных клеток использовали для зондирования глобальной киназной активности. Данные сравнительной протеомики и ферментативной активности интегрировали в основанную на ИИ платформу байесовской информатики для исследования сетей причинно-следственных функциональных белок-белковых взаимодействий для выяснения сложности и динамики ангиогенеза. Причинно-следственная интерактивная сеть показана на фиг. 59A-C. В частности, на фиг. 59A представлена полная мультиомная сеть причинно-следственных взаимодействий липидов, белков и киназ. На фиг. 59B показан хаб обогащенной белком сети и на фиг. 59C показан хаб сети киназы, липидомики и функциональных конечных результатов. В

сетях белки показаны кружками, киназы показаны квадратами, липиды показаны ромбами и функциональная активность или клеточный ответ показаны восьмиугольниками. Представлены некоторые названия белков и киназ. Выходные данные из платформы подтвердили известные белковые взаимодействия.

В заключение следует упомянуть, что с применением платформенной технологии исследовали антиангиогенные механизмы CoQ10 и уникальные характеристики пролиферирующих эндотелиальных клеток путем применения интегрированных функциональных протеомных анализов для определения глобальных изменений в ферментативной активности. Основанная на опросной "омике" платформа правильно выявляет клеточный интеллект. Подход конструирования основанных на ИИ сетей для анализа данных для установления причинно-следственных связей дает в результате практически реализуемый биологический интеллект. Более того, раскрытая платформа обеспечивает улучшенное понимание патофизиологии эндотелиальных клеток в ответ на сенсibiliзирующее воздействие окружающей среды, изменение в метаболическом статусе и производство адаптивных молекул для ослабления физиологических возмущающих воздействий.

Пример 9. Использование платформенной технологии для построения моделей ангиогенеза.

В настоящем примере подробно описанную выше в подробном описании платформенную технологию используют для интеграции данных, полученных из разработанной по заказу модели ангиогенеза, и для идентификации новых белков/путей, управляющих ангиогенезом. Реляционные карты, полученные в результате настоящего анализа, обеспечивают биомаркеры ангиогенеза.

Ангиогенез представляет собой результат сложной серии сигнальных путей, которые являются не до конца понятными. Ангиогенез играет роль в ряде патологических состояний, включая в себя без ограничения злокачественную опухоль. Системный подход, комбинирующий белковые и липидные сигнатуры с анализами функциональных конечных результатов, в частности, изучением клеточных биоэнергетических показателей и функции митохондриальной мембраны, предусмотрен в настоящем документе. Как продемонстрировано выше, субконфлюэнтные клетки HUVEC можно использовать для имитации ангиогенного состояния, тогда как конфлюэнтные клетки HUVEC можно использовать для имитации неангиогенного, т.е. нормального, состояния.

В модели *in vitro* клетки HUVEC выращивают при условиях контактного ингибирования (например, конфлюэнтные культуры) или при условиях, в которых отсутствует контактное ингибирование (например, субконфлюэнтные культуры, например, меньше чем приблизительно на 60% конфлюэнтные, меньше чем приблизительно на 70% конфлюэнтные, меньше чем приблизительно на 80% конфлюэнтные, меньше чем приблизительно на 90% конфлюэнтные; трехмерные культуры; или культуры, в которых лоскут клеток удаляют с помощью "процарапывания" культуры), в присутствии или при отсутствии такого средства воздействия окружающей среды, как ингибитор ангиогенеза, например, CoQ10, для создания сигнатур и выяснения потенциальных механизмов ангиогенеза. Протеомные и липидомные сигнатуры анализируют с применением платформенных способов, предусмотренных в настоящем документе. Биомаркеры ангиогенеза дополнительно подтверждают с применением практических лабораторных способов. Указанный подход служит мощным инструментом для понимания механизмов ангиогенеза, обеспечивая идентификацию новых ангиогенных биомаркеров и разработку и испытание средств, которые модулируют ангиогенез.

Эндотелиальные клетки пупочной вены человека подвергают действию условий, имитирующих воздействие ангиогенной окружающей среды, которой подвергаются относящиеся к заболеванию клетки *in vivo*. В частности, клетки выращивают в условиях, при которых рост ингибируется вследствие контактного ингибирования (т.е. нормальные клетки) или в условиях, при которых, по меньшей мере в части культуры, рост не ингибируется вследствие контактного ингибирования (т.е. ангиогенные клетки). С целью упрощения такие клетки, выращиваемые в условиях, при которых, по меньшей мере в части культуры, рост не ингибируется вследствие контактного ингибирования, в настоящем документе будут называться неконфлюэнтными культурами.

Клеточную модель, содержащую вышеупомянутые клетки, в которой клетки выращивают в конфлюэнтных или неконфлюэнтных культурах, дополнительно "тщательно исследуют", подвергая клетки "возмущающему воздействию окружающей среды" путем обработки средством, которое модулирует ангиогенез, например, средством, которое ингибирует ангиогенез. Например, клетки обрабатывают коэнзимом Q10 в различных концентрациях, например, одной или нескольких из 0, 50, 100, 250, 500, 750, 1000, 1250 или 1500 мкМ. Как предусмотрено в настоящем документе, возмущающее воздействие может включать в себя механическое разрыв клеток, например, с помощью "процарапывания" культуры или субкультивирования клеток с низкой плотностью.

Образцы клеток из каждого условия с обработкой каждым возмущающим воздействием собирали в различные моменты времени после обработки, например, через 6, 12, 18, 24, 36, 48, 60, 72, 84, 96, 108 или 120 ч или в некоторые моменты времени между ними после обработки. Для определенных условий также собирают и анализируют образцы сред. Образцы можно анализировать в отношении одного или нескольких из следующих параметров: уровень экспрессии или активности белка, экспрессия генов и содержание липидов.

Исследование профиля изменений общей клеточной экспрессии белков с помощью количественной

протеомики проводят для образцов клеток и сред, собранных для каждого условия и с каждым "возмущающим воздействием окружающей среды", т.е. обработкой коэнзимом Q10, с применением описанных выше в подробном описании техник. Эксперименты по транскрипционному профилированию проводят, например, с применением системы амплификации Biorad® CFX-384. После сбора данных (Ct) конечную кратность изменений по сравнению с контролем определяют с применением, например, способа  $\delta\text{Ct}$ , как изложено в протоколе производителя. Липидомные эксперименты проводят с применением масс-спектрометрии. Такие функциональные анализы, как скорость потребления кислорода (OCR), измеряют, например, с использованием анализатора Seahorse, главным образом, как рекомендовано производителем. OCR можно регистрировать с помощью электродов в 7 мкл камере, построенной с картриджем, дающим на культуральный планшет Seahorse.

В заключение следует отметить, что морфологический, ферментативный и проточно-цитометрический анализ выявил сильные изменения в апоптозе, миграции, производстве оксида азота и ROS и биоэнергетическом потенциале в ответ на обработку CoQ10. Липидомный анализ выявил новые изменения в липидных путях, подавленных путем изменения митохондриальной функции и плотности клеток. Протеомная интеграция с использованием платформенных способов выявила неохарактеризованную ассоциацию внутриклеточной адаптации и передачи сигнала, направляемого митохондриальной модуляцией. Обобщая, эти исследования выявляют, что CoQ10 изменяет эндотелиальную миграцию, пролиферацию, апоптоз, продукцию оксида азота, ROS и белок/липидную архитектуру. В настоящем документе представлены новые механизмы, в которых противоопухолевая активность CoQ10 обусловлена метаболомическим взаимодействием ангиогенных и апоптических факторов для ингибирования опухолевого рекрутинга локального кровоснабжения для образования новых сосудов. Кроме того, протеомная и липидомная адаптация была ассоциирована с интерактивными сетями, которые поддерживают физиологические потребности в эндотелиальных клетках в ответ на стимулы окружающей среды. Указанные данные обеспечивают принципиальное понимание селективной адаптации опухолевого ангиогенеза за счет разрегулированных элементов, контролирующих митохондриальный метаболизм.

Пример 10. Использование платформенной технологии для осуществления мультипротеомики.

Модели для установления ферментативной активности.

Как правило, описанную в примере 5 выше ферментативную платформенную технологию можно адаптировать для осуществления дополнительных способов для идентификации модулятора биологической системы или процесса заболевания, такого как ангиогенез. Способы используют модель ангиогенеза, содержащую клетки, связанные с ангиогенезом, для представления характерного аспекта ангиогенеза. Модель применяли для получения по меньшей мере трех уровней данных, а именно (i) первого набора данных, представляющего глобальную ферментативную активность в клетках, связанных с ангиогенезом, (ii) второго набора данных, представляющего эффект глобальной ферментативной активности на метаболиты или субстраты ферментов в клетках, связанных с ангиогенезом, и (iii) третьего набора данных, представляющего глобальные протеомные изменения в клетках, связанных с ангиогенезом. Дополнительные наборы данных представляли собой липидомные, транскриптомные, метаболомические и SNP данные. Данные применяли для создания консенсусной сети причинно-следственных связей между глобальной ферментативной активностью, эффектом глобальной ферментативной активности и глобальными протеомными изменениями. Консенсусную сеть причинно-следственных связей основывают исключительно на первом, втором и третьем наборах данных с применением программируемого вычислительного устройства (т.е. не на основании какой-либо другой известной биологической взаимосвязи). Консенсусную сеть причинно-следственных связей затем используют для идентификации причинно-следственной связи, уникальной для ангиогенеза, где по меньшей мере один ген или белок, связанный с уникальной причинно-следственной связью, идентифицируют как модулятор ангиогенеза.

В настоящем примере платформенную технологию адаптировали для осуществления мультипротеомных техник для измерения ферментативной активности, связанной с ангиогенезом, и прямых эффектов этой активности на протеом; и тем самым, для обеспечения системы, которую можно использовать для понимания причинно-следственных связей между ферментами (например, киназами и/или протеазами) и их метаболитами/субстратами в контексте глобальных изменений в клеточном протеоме в ходе ангиогенеза. Такие техники могут предоставить ценные сведения, поскольку ферментативная активность может быть противоположна экспрессии фермента (например, активность отрицательно регулируется, а экспрессия положительно регулируется). Реляционные карты, полученные в результате такого анализа, могут предоставить мишени для лечения заболевания путем модуляции ангиогенеза, а также диагностические/прогностические маркеры, связанные с ангиогенезом. Такие мишени и маркеры могут включать терапевтические композиции и способы. Техники создания моделей, получения наборов данных, создания консенсусных сетей причинно-следственных связей и идентификации причинно-следственных связей, уникальных для ангиогенеза, обсуждаются в кратком и подробном раскрытии настоящего изобретения и примерах выше. Дополнительные техники создания моделей и получения наборов данных, представляющих глобальную ферментативную активность и эффект глобальной ферментативной активности на метаболиты или субстраты ферментов, представлены ниже.

Во-первых, модель создают в соответствии с платформенной технологией, в которой, например, клеточные линии подвергают воздействию условий, имитирующих заболевание, и тщательно исследуют, подвергая возмущающему воздействию окружающей среды (например, воздействию модулятора ангиогенеза, например, CoQ10, авастина, ингибитора VEGF, ангиостатина, бевацизумаба, изменением конфлюэнтности клеток HUVEC). Контроль включали для сравнения. Во-вторых, ферментативную активность и ее нижележащие эффекты отслеживали в контексте глобальных протеомных изменений путем анализа (i) глобальной ферментативной активности, (ii) конкретного эффекта ферментативной активности на протеом (например, метаболиты/субстраты ферментативной активности), и (iii) глобального эффекта на клеточный протеом. В-третьих, наборы данных анализируют в соответствии с платформенной технологией для идентификации представляющих интерес модуляторов. Например, ангиогенную модель можно тщательно исследовать с помощью известного модулятора ангиогенеза; можно анализировать эффекты этого возмущающего воздействия на систему на глобальную киназную активность, наряду с полученными эффектами на фосфопротеом и целый протеом; и набор данных можно анализировать с помощью основанной на ИИ системы REFS™.

Например, клетки HUVEC, выращиваемые при различных условиях, могут использовать для имитации ангиогенных и нормальных (например, неангиогенных) состояний. Так как ангиогенез не происходит у взрослых людей, за исключением конкретных обстоятельств, например, при беременности, заживлении ран и т.д., присутствие ангиогенных маркеров, идентифицированных с применением указанного подхода, может применяться в качестве маркеров-индикаторов болезненного состояния, например, злокачественной опухоли, ревматоидного артрита, возрастной макулярной дегенерации или диабетической ретинопатии.

Указанный иллюстративный пример комбинирует мощность (i) клеточной биологии, (ii) интегрированных платформ протеомики и платформы информатики, что генерирует сети белковых причинно-следственных связей для выяснения роли посттрансляционной модификации, например, фосфорилирования, и ферментов, которые участвуют в таких механизмах, например, киназ, в ангиогенезе. В частности, указанный подход включает основанную на активности протеомику с использованием зондов обогащения по АТФ-связывающим доменам и фосфопротеомное картирование общих белков в моделях ангиогенеза.

Данные сравнительной протеомики, фосфопротеома и ферментативной активности интегрируют в основанную на ИИ платформу информатики REFS™. Затем создают сети причинно-следственных связей белкового взаимодействия, в частности, из функциональной конечной точки, а именно киназной/ферментативной активности и потенциальных мишеней, которые киназы могут фосфорилировать. Кроме того, с применением клеточных функциональных выходных данных определяют ферменты/киназы, которые модулируют фосфорилирование мишеней и управляют механизмом патофизиологического клеточного поведения. Иллюстративное осуществление, предусмотренное в настоящем документе, облегчает получение глобальных характеристик клеточных ответов, дает понимание механизмов ангиогенеза и предоставляет потенциальные мишени/биомаркеры для клинического ведения ангиогенеза.

В качестве иллюстративного примера, клетки, представляющие нормальные клетки и ангиогенные клетки, выбирают для сравнения. Как продемонстрировано в настоящем документе, клетки HUVEC, которые выращивали в субконфлюэнтных культурах, демонстрируют характеристики ангиогенеза, тогда как конфлюэнтные клетки HUVEC этого не показывают. Обработка субконфлюэнтных культур клеток HUVEC с помощью CoQ10 сдвигает клетки HUVEC в неангиогенное состояние, как продемонстрировано в настоящем документе. Как и в случае предусмотренных выше протеомных способов, способы анализа ферментативной активности могут включать в себя парный анализ клеток HUVEC, выращенных в любых условиях, и необязательно дополнительный анализ результатов из парного сравнения с результатами из третьего набора данных.

В качестве иллюстративного варианта осуществления собирают эквивалентные количества клеток HUVEC, культивированных в конфлюэнтных и неконфлюэнтных культурах, и клетки обогащают в отношении присутствия представляющих интерес пептидов, например, фосфопептидов. Сравнительный анализ проводят, как в примере 5, для обнаружения изменений в ферментативной активности, связанной с ангиогенезом.

Включение посредством ссылки.

Содержание всех приведенных ссылок (включающих в себя литературные ссылки, патенты, патентные заявки, GenBank Numbers в версии, доступной на дату подачи настоящей заявки, и веб-сайты), которые могут быть приведены в настоящем изобретении, явным образом полностью включены в настоящий документ посредством ссылки, так же как и приведенные ссылки. В практическом использовании настоящего изобретения будут использованы, если не указано иное, обычные техники состава белка, которые хорошо известны в настоящей области техники.

Эквиваленты.

Настоящее изобретение может быть осуществлено в других конкретных формах без отхода от сущности или существенных характеристик настоящего изобретения. Предшествующие варианты осуществ-

ления, следовательно, следует рассматривать во всех отношениях как иллюстративные, а не ограничивающие настоящее изобретение, описанное в настоящем документе. Объем изобретения, таким образом, определяется прилагаемой формулой изобретения, а не вышеприведенным описанием, и все изменения, которые подпадают под значение и диапазон эквивалентности формулы изобретения, следовательно, предназначены для включения в настоящий документ.

#### Аминокислотные и кДНК последовательности для родственных белков

1. TCOF1: синдром Тричера Коллинза-Франческетти 1

ЛОКУС NM\_000356

АК: MAEARKRRELPLIYHHLLRAGYVRAAREVKEQSGQKCFLAQPV

TLLDIYTHWQQTSELGRKRKAEEDAAALQAKKTRVSDPISTSESEEEEEAEATAKAT  
PRLASTNSSVLGADLPSSMKEKAKAETEKAGKTGNSMPHATGKTVANLLSGKSPRKS  
AEP SANTTLVSETEEEGSPAFGAAPGMVSAGQADSSSEDTSSSSDET DVEVKASE  
KLLQVRAASAPAKGTPGKGATPAPPGKAGAVASQTKAGKPEEDSESSSESSDSEET  
PAAKALLQAKASGKTSQVGAASAPAKESPRKGAAPAPPGKTGPVAKAQAGKREEDSQ  
SSSEESDSEEEAPQAKPSGKAPQVRAASAPAKESPRKGAAPAPPRKTGPAAAQVQVG  
KQEEDSRSSSEESDSDREALAAMNAAQVKPLGKSPQVKPASTMGMPGLGKGAGPVPFG  
KVGPA TP SAQVGKWEEDSESSSEESSDSDGEVPTAVAPAEKSLGNILQAKPTSSPA  
KGPPQKAGPVAQVKA EKPM DNSESSSEESSDSDADSEEPAAAMTAAQAKPALKI PQTKA  
CPKKTNTTASAKVAPVRVGTQAPRKAGTATSPAGSSP AVAGGTQRP AEDSSSEESSD  
EEK TGLAVTVGQAKSVGKGLQVKAASVPVKGSLGQGTAPVLPKGTGPTVTQVKA EKQ  
EDSESEESSDSEEAASPAQVKTSVKKTQAKANPAAARAPSAKGTISAPGKVVTA  
AAQAKQ RSPSKVKPPVRNPQNSTVLRGPASVPSVGKAVATAAQAQTGPEEDSGSSEES  
DSEEEAETLAQVKPSGKTHQIRALAPAKESPRKGAAPT PPGKTGPSAAQAGKQDDSG  
SSSEESSDSDGEAPAAVTSAQVIKPLIFVDPNRS PAGPAATPAQAQAASTPRKARASE  
STARSSSESEDEDVIPATQCLTPGIRTNVVTMPTAHPRIAPKASMAGASSSKESSRI  
SDGKKQEGPATQVSKKNPASLPLTQAALKVLAQKASEAQP PVARTQPSGVD SAVGTL  
PATSPQSTSVQAKGTNKL RPKLPEVQQA TKAPESDSDSDSSSGSEEDGEGPQG  
AKSAHTLGP TSPRTETLVEETA AESSEDDVVA PSQSLLSGYMT PGLTPANSQASKATP  
KLDSSPSVSSTLAAKDDPDGQEA KPQQAAGMLS PKTGGKEAASGTT PQKSRKPKKGA  
GNPQASTLALQSNITQCLLGQPWPLNEAQVQASVVKVLTLELLEQERKKVVDTTKESSR  
KGWESRKRKLSGDQPAARTPRSKKKKKLGAGEGGEASVSPEKTSTTSKGAKRDKASG  
DVKEKKKGSLGSGQAKDEPEELQKGMGTVEGGDQSNPKSKKEKKKSDKRKKDKKEKK  
EKKKKAKKASTKDSSEPSQKKKKKKKKTAEQTV

кДНК: 1 gaaagaggag ccggaagtgt ggcgcgcgag gtctaagggc gcgagggaag tggcgggagg  
61 ggactaaggc ggggctgtgca ggtagccggc cggccggggg tcgagggtat ggccgaggcc  
121 aggaagcggc gggagctact tcccctgatac taccaccatc tgctgcgggc tggctatgtg  
181 cgtgcggcgc ggggaagtga ggagcagagc ggccagaagt gtttccttgc tcagccccta  
241 acccttctgg acatctatac acactggcaa caaacctcag agcttggtcg gaagcggaag  
301 gcagaggaag atgcggcact gcaagctaag aaaaccctgt tgtcagaccc catcagacc  
361 tcggagagct cggaagagga ggaagaagca gaagccgaaa ccgccaaagc caccccaaga  
421 ctagcatcta ccaactcctc agtcctgggg gcggacttgc catcaagcat gaaagaaaaa  
481 gccaaaggcag agacagagaa agctggcaag actgggaatt ccatgccaca ccctgccact  
541 ggggaagacgg tggccaacct tcttcttggg aagtctccca ggaagtcagc agagccctca  
601 gcaataacta cgttggtctc agaaactgag gaggagggca gcgtcccggc ctttgagct  
661 gctgccaaagc ctgggatggt gtcagcgggc caggccgaca gctccagcga ggacacctcc  
721 agctccagtg atgagacaga cgtggaggta aaggcctctg aaaaaattct ccaggtcaga  
781 gctgcctcag cccctgccaa ggggacctct gggaaagggg ctacccagc acccctggg  
841 aaggcagggg ctgtagcctc ccagaccaag gcagggaagc cagaggagga ctcagagagc  
901 agcagcgagg agtcattctga cagtgaggag gagacgccag ctgccaaagg cctgcttcag  
961 gcgaaggcct caggaaaaac ctctcaggtc ggagctgcct cagccctgc caaggagtcc  
1021 ccagggaag gagctgcccc agcgccccct ggaagacag ggcctgcagt tgccaaggcc  
1081 caggcgggga agcgggagga ggactcgag agcagcagcg aggaatcgga cagtgaggag  
1141 gaggcgctg ctcaggcgaa gccttcaggg aaggccccc aggtcagagc cgcctcggcc  
1201 cctgccaaag agtccccag gaaaggggct gccccagcac ctctagtaga aacagggcct  
1261 gcagccgccc aggtccagggt ggggaagcag gaggaggact caagaagcag cagcgaggag  
1321 tcagacagtg acagagaggg actggcagcc atgaatcgag ctcaggtgaa gcccttggg  
1381 aaaagcccc aggtgaaacc tgctctacc atgggcatgg ggcccttggg gaaaggcgcc  
1441 ggccagtgct caccgggaa ggtggggcct gcaacccct cagccagggt ggggaagtgg  
1501 gaggaggact cagagagcga tagtgaggag tcatcagaca gcagtgatgg agagggtccc  
1561 acagctgtgg ccccggctca ggaagaagtc ttggggaaca tcctccaggc caaaccacc  
1621 tccagtcctg ccaaggggcc ccctcagaag gcagggcctg tagccgtcca ggtcaaggct  
1681 gaaaagccca tggacaactc ggagagcagc gaggagtcac cggacagtgc ggacagttag

```

1741 gaggcaccag cagccatgac tgcagctcag gcaaaaccag ctctgaaaat tcctcagacc
1801 aaggcctgcc caaagaaaaac caataccact gcactctgcc aggtcgcccc tgtgcgagtg
1861 ggaccccaag cccccggaa agcaggaaact gcgacttctc cagcaggctc atccccagct
1921 gtggctgggg gcaccagag accagcagag gattcttcaa gcagtggagg atcagatagt
1981 gaggaagaga agacagggtct tgcagtaacc gtgggacagg caaagtctgt ggggaaaggc
2041 ctccagggtga aagcagcctc agtgccctgtc aaggggtcct tggggcaagg gactgctcca
2101 gtactccctg ggaagacggg gcctacagtc acccagggtga aagctgaaaa gcaggaagac
2161 tctgagagca gtgaggagga atcagacagt gaggaagcag ctgcatctcc agcacagggtg
2221 aaaaacctcag taaagaaaaac ccaggccaaa gccaaaccag ctgccgccag agcaccttca
2281 gcaaaaggga caatttcagc ccctggaaaa gttgtcactg cagctgctca agccaagcag
2341 aggtctccat ccaagggtgaa gccaccagtg agaaccctcc agaacagtac cgtcttggcg
2401 aggggccccag catctgtgcc atctgtgggg aaggccgtgg ctacagcagc tcaggccccag
2461 acagggccag agggaggactc agggagcagt gagggagggt cagacagtga ggaggaggcg
2521 gagacgctgg ctcagggtgaa gccttcaggg aagacccacc agatcagagc tgccttggct
2581 cctgccaaagg agtccccccag gaaaggggct gcccaaacac ctctgggaa gacagggcct
2641 tctgctgccc aggcagggaa gcaggatgac tcaggagca gcagcgagc gcagcaggtg
2701 gatggggagg caccggcagc tgtgacctct gcccagggtga ttaaacctcc tctgattttt
2761 gtcgacccta atcgtagtcc agctggccca gctgtacac ccgcacaagc ccaggctgca
2821 agcaccctga ggaaggcccg agcctcggag agcacagcca ggagctctc ctccgagagc
2881 gaggatgagg acgtgatccc cgctacacag tgcttgactc ctggcatcag aaccaatgtg
2941 gtgaccatgc ccactgccc cccaagaata gcccctaaag ccagcatggc tggggccagc
3001 agcagcaagg agtccagtcg gatatacagat ggcaagaaac aggagggacc agccactcag
3061 gtgtcaaaaga agaaccacagc ttccctccca ctgacccagg ctgccctgaa ggtcctcgcc
3121 cagaaagcca gtgaggctca gcctcctgtt gccaggaccc agccttcaag tggggttgac
3181 aglgctlgly gaacactccc lgcaacaagl ccccagagca cclccglcca ggccaaagg
3241 accaacaagc tcagaaaacc taagcttctc gaggtccagc agggccacca agccctgag
3301 agctcagatg acagtggagg cagcagcgac agttcttcag ggagtggagg agatggtgaa
3361 gggccccagg gggccaagtc agcccacacg ctgggtccca cccctccag gacagagacc
3421 ctggtggagg agaccgcagc agagtccagc gaggatgatg tgggtggcgg atcccagctc
3481 ctctctcag gttatatgac ccctggacta accccagcca attcccaggc ctcaaaagcc
3541 actcccaagc tagactccag cccctcagtt tcctctactc tggccgcca agatgaccca
3601 gatggcaagc aggaggcaaa gccccaacag gcagcaggca tgtgtgcccc taaaacaggt
3661 ggaagaggag ctgcttcagg caccacacct cagaagtccc ggaagcccaa gaaaggggct
3721 gggaaccccc aagcctcaac cctggcgctg caaagcaaca tcaccagtg cctcctgggc
3781 caacctggc cctgaatga ggcccagggt caggcctcag tgggtgaagg cctgactgag
3841 ctgctggaac aggaagaaa gaaggtgggt gacaccacca aggagagcag caggaagggc
3901 tgggagagcc gcaagcggaa gctatcggga gaccagccag ctgccaggac ccccaggagc
3961 aagaagaaga agaagctggg ggccggggaa ggtggggagg cctctgttcc ccagaaaaag
4021 acctccacga cttccaaggg gaaagcaaa agagacaaag caagtgggtg tgtcaaggag
4081 aagaaaggga aggggtctct tggctcccaa ggggccaagg acgagccaga agaggagctt
4141 cagaagggga tggggacggg tgaaggtgga gatcaaaagc acccaagag caagaaggag
4201 aagaagaaat cgcacaagag aaaaaaagac aaagaaaaaa aagaaaaaga gaagaaagca
4261 aaaaaggcct caaccaaaaga ttctgagtca ccgtcccaga agaaaaagaa gaaaaagaa
4321 aagacagcag agcagactgt atgacgagca ccagaccag gcacagggat ttcttagccg
4381 agcagtggcc atccccatgc ctctgacctc caccgacctc tgcccaccat ggggttgaac
4441 taaactgtta ccttccctcg ctccacagaa gaagacagcc agcttcaggg gtcctctgtc
4501 tggccaagcc agtgagcctg cggggagggt ggtccaagga gaaagtggac cagctcccat
4561 gacctacccc cactccccca acacaggacg cttcatatag atgtgtacag tatatgtatt
4621 tttttaagtg acctcctctc cttccacaga ccccatatgc ccaaaggcct cgggacttcc
4681 caccaccttg ctccacagat ccagctaggc ctgacctgtg cctcatcccc tgccgctcgg
4741 tctctggctg atcccgaggc tttgtcttcc tctcgtcagt tcttttggtg gtgttttttg
4801 tttttttttt aataactcaa aaaaaaata aaagacttgg aggaaggggt caagctccca
4861 gtgcaaaaaa aaaaaaaaaa aa
//

```

## 2. TOP2A: топоизомеразa Homo sapiens

ЛОКУС NM\_001067

AK трансляция="MEVSPLQPVNENMQVNKIKKNEDAKKRLSVERIYQKKTQLEHIL  
LRPDTYIGSVELVTQQMWVYDEDDVGINIREVTFVPGLYKIFDEILVNAADNKQRPKM  
SCI RVTIDPENNLISIWNNGKGI PVVEHKVEKMYVPALIFGQLLTSSNYDDDEKKVTG  
GRNGYAKLCNIFSTKFTVETASREYKMKQTWMDNMGRAGEMELKPFNGEDYTCIT

FQPDLSKFKMQSLDKDIVALMVRRAYDIAGSTKDVKVFLNGNKL PVKGFRSYVDMYLK  
 DKLDETGNSLKVIEHQVNHRWEVCLTMSEKGFQQISFVNSIATSKGGRHVDYVADQIV  
 TKLVVDVVKKNKGGVAVKAHQVKNHMWI FVNALIENPTFDSQTKENMTLQPKSFGSTC  
 QLSEKFIKAAIGCGIVESILNWVKFKAQVQLNKKCSAVKHNRIGIPKLDNDANDAGGR  
 NSTECTLILTEGSAKTLAVSGLGVVGRDKYGVFPLRGKILNVREASHKQIMENAEIN  
 NIIKIVGLQYKKNYEDSLKTLRYGKIMIMTDQDQDGSHTKGLLINFHNNWPSLLR  
 HRFLEEFITPIVKVSKNQEMAFYSLPEFEWKSSTPNHKKWKVKYKGLGTSTSKEA  
 KEYFADMKRHRIQFKYSGPEDDAISLAFSKQIDDRKEWLTNFMEDRRQRKLLGLPE  
 DYLYGQQTTTYLTYNDFINKELILFSNSDNERSIPSMVDGLKPGQRKVLFTCFKRNDKR  
 EVKVAQLAGSVAEMSSYHHGEMSLMMTIINLAQNFVGSNNLNLQPIGQFGTRLHGGK  
 DSASPRYIFTMLSSLARLLFPKDDHTLKFLYDDNQREVEPEWYIPIIPMVLINGAEGI  
 GTGWSCKIPNFDVREIVNNIRRLMDGEEPLPMLPSYKNFKGTIEELAPNQYVISGEVA  
 ILNSTTIEISELPVRTWTQTYKEQVLEPMLNGTEKTPPLITDYREYHTDTTVKFVVKM  
 TEEKLAEAEVGLHKVFKLQTSLTCNSMVLFDHVGLKKYDTVLDLRDFEELRLKYY  
 GLRKEWLLGMLGAESAKLNNQARFILEKIDGKIIENKPKKELIKVLIQRGYDSDPVK  
 AWKEAQKQVPDEEENESDNEKETEKSDSVTDSGPTFNLYLDMPLWLTKKEDDEL  
 LRNEKEQELDTLKRKSPDLWKEDLATFIEELEAVEAKEKQDEQVGLPGKGGKAKGKK  
 TQMAEVLPSPRGQRVIPRITIEKAEAEKKNKKIKNENTEGSPQEDGVELEGLKQRL  
 EKKQKREPQTKTKQTTLAFKPIKKGKKRNPWSDSESDRSDESNDVPPRETEPRRA  
 ATKTKFTMDLSDDEDFDDEKTDDEDFVPSDASPCKTKTSPKLSNKLKPKQSVVSD  
 LEADDVKGSVPLSSPPATHFPDETEITNPVPKKNVTVKKTAAKSQSSTSTTGAKKRA  
 APKGTKRDPALNSGVSQKPDPAKTKNRRKRKPSTSDSDSNFEKIVSKAVTSKKSKE  
 SDDFHMDFDSAVAPRAKSVRAKKPIKYLEESDEDDLF

кДНК: 1 gattggctgg tctgcttcgg gcgggctaaa ggaagggttca agtggagctc tcctaaccga  
 61 cgcgcgtctg tggagaagcg gcttggctcg ggggtggtctc gtggggctct gcctgtttag  
 121 tcgctttcag ggttcttgag ccccttcacg accgtcacca tggaaagtgc accattgcag  
 181 cctgtaaatg aaaatatgca agtcaacaaa ataaagaaaa atgaagatgc taagaaaaga  
 241 ctgtctgttg aaagaatcta tcaaaagaaa acacaattgg aacatatatt gctccgcccc  
 301 gacacctaca ttggttctgt ggaattagtg acccagcaaa tgtgggttta cgatgaagat  
 361 gttggcatta actataggga agtcaactttt gttcctggtt tgtacaaaat ctttgatgag  
 421 attctagtta atgctgcgga caacaaacaa agggacccaa aaatgtcttg tattagagtc  
 481 acaattgatc cggaaaacaa ttttaattagt atatggaata atggaaaagg tattcctggt  
 541 gttgaacaca aagttgaaaa gatgtatgtc ccagctctca tatttggaaca gctcctaact  
 601 tctagtaact atgatgatga tgaaaagaaa gtgacagggtg gtcgaaatgg ctatggagcc  
 661 aaattgtgta acatattcag taccaaattt actgtggaaa cagccagtag agaatacaag  
 721 aaaatgttca aacagacatg gatggataat atgggaagag ctggtgagat ggaactcaag  
 781 cccttcaatg gagaagatta tacatgtatc acctttcagc ctgattgtgc taagtttaaa  
 841 atgcaaagcc tggacaaaga tattgttgca ctaatggtca gaagagcata tgatattgct  
 901 ggatccacca aagatgtcaa agtctttctt aatggaaata aactgccagt aaaaggattt  
 961 cgtagttatg tggacatgta tttgaaggac aagttggatg aaactggtaa ctccttgaaa  
 1021 gtaatacatg aacaagtaaa ccacagggtg gaagtgtgtt taactatgag tgaaaaaggc  
 1081 tttcagcaaa tttagctttgt caacagcatt gctacatcca aggggtggcag acatgttgat  
 1141 tatgtagctg atcagattgt gactaaactt gttgatgttg tgaagaagaa gaacaagggt  
 1201 ggtgttgtag taaaagcaca tcagggtgaaa aatcacatgt ggatttttgt aaatgcctta  
 1261 attgaaaacc caacctttga ctctcagaca aaagaaaaca tgactttaca acccaagagc  
 1321 tttggatcaa catgccaatg gagtgaaaaa tttatcaaaag ctgccattgg ctgtggtatt  
 1381 gtagaaagca tactaaactg ggtgaagttt aaggcccaag tccagttaaa caagaagtgt  
 1441 tcagctgtaa aacataatag aatcaaggga attcccaaac tcgatgatgc caatgatgca  
 1501 gggggccgaa actccactga gtgtacgctt atcctgactg agggagattc agccaaaact  
 1561 ttgctgtgtt caggccttgg tgtggttggg agagacaaat atggggtttt ccctcttaga  
 1621 ggaaaaatac tcaatgttgc agaagcttct cataagcaga tcatggaaaa tgctgagatt  
 1681 aacaatatca tcaagattgt gggctcttcag tacaagaaaa actatgaaga tgaagattca  
 1741 ttgaagacgc ttcgttatgg gaagataatg attatgacag atcaggacca agatggttcc  
 1801 cacatcaaa gcttgcgtgat taattttatc catcacaact ggcctctctc tctgcgacat  
 1861 cgtttttctg aggaatttat cactcccatg gtaaagggtat ctaaaaaaaa gcaagaaatg  
 1921 gcatttttaca gccttctcga atttgaagag tggaagagtt ctactccaaa tcataaaaaa  
 1981 tggaaagtca aatattacaa aggtttgggc accagcacat caaagggaagc taaagaatac  
 2041 tttgcagata tgaagagaca tcgtatccag ttcaaatatt ctggtcctga agatgatgct  
 2101 gctatcagcc tggcctttg caaaaaacag atagatgatc gaaagggaatg gtttaactaat  
 2161 ttcatggagg atagaagaca acgaaagtta cttgggcttc ctgaggatta cttgtatgga

2221 caaactacca catatctgac atataatgac ttcatcaaca aggaacttat cttgttctca  
 2281 aattctgata acgagagatc tatcccttct atggtggatg gtttgaaacc aggtcagaga  
 2341 aagggtttgt ttacttgctt caaacggaat gacaagcgag aagtaaagggt tgcccaatta  
 2401 gctggatcag tggctgaaat gtcttcttat catcatgggt agatgtcact aatgatgacc  
 2461 attatcaatt tggctcagaa ttttgtgggt agcaataatc taaacctctt gcagcccatt  
 2521 ggtcagtttg gtaccaggct acatgggtggc aaggattctg ctagtccacg atacatcttt  
 2581 acaatgctca gctctttggc tctgattgta tttccaccaa aagatgatca cacgttgaag  
 2641 tttttatatg atgacaacca gcgtgttgag cctgaatggg acattcctat tattcccatg  
 2701 gtgctgataa atggtgctga aggaatcggg actgggtggg cctgcaaaat ccccaacttt  
 2761 gatgtgcgtg aaattgtaaa taacatcagg cgtttgatgg atggagaaga acctttgcc  
 2821 atgcttccaa gttacaagaa cttcaagggt actattgaag aactggctcc aaatcaatat  
 2881 gtgattagtgt gtgaagtagc tattcttaat tctacaacca ttgaaatctc agagcttccc  
 2941 gtcagaacat ggaccagac atacaaagaa caagtcttag aacctatgtt gaatggcacc  
 3001 gagaagacac ctctctcat aacagactat agggaatacc atacagatac cactgtgaaa  
 3061 tttgttgta agatgactga agaaaaactg gcagaggcag agagagttgg actacacaaa  
 3121 gttttcaaac tccaaactag tctcacatgc aactctatgg tgcttttttg ccagtagggc  
 3181 tgttttaaga aatatgacac ggtgttggtt attctaagag acttttttga actcagactt  
 3241 aaatattatg gattaagaaa agaattggctc ctagggaatgc ttgtgctga atctgctaaa  
 3301 ctgaataatc aggtctcgctt tatcttagag aaaatagatg gcaaaataat cattgaaaat  
 3361 aagcctaaga agaattaat taaagtcttg attcagaggg gatatgattc ggatcctgtg  
 3421 aaaggcctga aagaagccca gcaaaagggt ccagatgaag aagaaaaatga agagagtgc  
 3481 aacgaaaagg aaactgaaaa gactgactcc gtaacagatt ctggaccaac cttcaactat  
 3541 cttcttgata tgcccccttg gtatttaacc aaggaaaaaga aagatgaact ctgcaggcta  
 3601 agaaatgaaa aagaacaaga gctggacaca ttaaaaagaa agagtccatc agattttgtg  
 3661 aaagaagact tggctacatt tattgaagaa ttggaggctg ttgaagccaa ggaaaaacaa  
 3721 gatgaacaag tcggacttcc tgggaaaggg ggggaaggcca aggggaaaaa aacacaaatg  
 3781 gctgaagttt tgcttctcc gcgtgggtcaa agagtcatc cagcaataac catagaaatg  
 3841 aaagcagagg cagaaaaaga aaataaaaag aaaattaaga atgaaaatac tgaagggaagc  
 3901 cctcaagaag atggtgtgga actagaaggc ctaaaacaaa gattagaaaa gaaacagaaa  
 3961 agagaaccag gtacaaagac aaagaaacaa actacattgg catttaagcc aatcaaaaaa  
 4021 ggaaagaaga gaaatccctg gtctgattca gaatcagata ggagcagtga cgaaagtaat  
 4081 tttgatgtcc ctccacgaga aacagagcca cggagagcag caacaaaaac aaaattcaca  
 4141 atggatttgg attcagatga agatttctca gattttgatg aaaaaactga tgatgaagat  
 4201 tttgtcccat cagatgctag tccacctaaag accaaaactt ccccaaaact tagtaacaaa  
 4261 gaactgaaac cacagaaaag tctcgtgtca gaccttgaag ctgatgatgt taagggcagt  
 4321 gtaccactgt cttcaagccc tctgtctaca catttcccag atgaaactga aattacaaa  
 4381 ccagttccta aaaagaatgt gacagtgaag aagacagcag caaaaagtca gtcttccacc  
 4441 tccactaccg gtgccccaaa aagggtctgc ccaaaaggaa ctaaaaggga tccagctttg  
 4501 aattctggtg tctctcaaaa gctgatcct gccaaaacca agaatcgccg caaaagggaag  
 4561 ccattccact ctgatgatc tgactctaatt tttgagaaaa ttgtttcgaa agcagtcaca  
 4621 agcaagaaat ccaaggggga gactgatgac ttccatattg actttgactc agctgtggct  
 4681 cctcgggcaa aatctgtacg ggcaaagaaa cctataaagt acctggaaga gtcagatgaa  
 4741 gatgatctgt tttaaaatgt gaggcgatta ttttaagtaa ttatcttacc aagcccaaga  
 4801 ctgggttttaa agttacctga agctcttaac ttcctcccct ctgaatttag tttggggaag  
 4861 gtgttttttag tacaagacat caaagtgaag taaagcccaa gtgttcttta gctttttata  
 4921 atactgtcta aatagtgaac atctcatggg cattgttttc tctctgtctt tgtctgtgtt  
 4981 ttgagttctg tttcttttgg ctttaaaacc tgatttttaa gttcttctga actgtagaaa  
 5041 tagctatctg atcacttcag cgtaaagcag tgtgtttatt aaccatccac taagctaaaa  
 5101 ctagagcagt ttgattttaa agtgtcactc ttcctccttt tctactttca gtagatatga  
 5161 gatagagcat aattatctgt tttatcttag ttttatacat aatttaccat cagatagaac  
 5221 ttattggttc tagtacagat actctactac actcagcctc ttatgtgcca agtttttctt  
 5281 taagcaatga gaaattgctc atgttcttca tcttctcaaa tcatcagagg ccgaagaaaa  
 5341 acactttggc tgtgtctata acttgacaca gtcaatagaa tgaagaaaat tagagttagt  
 5401 atgtgattat ttcagctctt gacctgtccc ctctggctgc ctctgagctc gaatctccca  
 5461 aagagagaaa ccaattttcta agaggactgg attgcagaag actcggggac aacatttgat  
 5521 ccaagatctt aaatgttata ttgataacca tgctcagcaa tgagctatta gattcatttt  
 5581 gggaaatctc cataatttca atttgtaaac tttgttaaga cctgtctaca ttgttatatg  
 5641 tgtgtgactt gagtaatgtt atcaacgttt ttgtaaatat ttactatggt tttctattag  
 5701 ctaaaattcca acaattttgt actttaataa aatgttctaa acattgcaac cca

//

3. CAMK2A: CAMK2A кальций/кальмодулин-зависимая протеинкиназа II  
 альфа [ Homo sapiens ]  
 ЛОКУС: NM\_015981.3 (изоформа 1)  
 АК /трансляция="MATITCTRFTEEYQLFEELGKGAFSVVRRCKVLAGQEYAAKII  
 NTKKLSARDHQKLEREARICRLKHPNIVRLHDSISEEGHHYLI FDLVTGGELFEDIV  
 AREYYSEADASHCTQQILEAVLHCHQMGMVHRDLKPENLLLASKLKGA AVKLADFGLA  
 IEVEGEQQA WFGFAGTPGYLSPEVLRKDPYKPVDLWACGVILYILLVGYPFWDEDQ  
 HRLYQQIKAGAYDFPSPEWDTVTPEAKDLINKMLTINPSKRITAAEALKHPWISHRST  
 VASCMHRQETVDCLKKFNARRKLKGAILTMTLATRNFGSGKSGGNKSDGVKKRKSSS  
 SVQLMESSESTNTTIEDEDTKVRKQEI IKVTEQLIEAISNGDFESYTKMCDPGMTAFE  
 PEALGNLVEGLDFHRFYFENLWSRNSKPVHTTILNPHIHLMGDESACIAYIRITQYLD  
 AGGIPRTAQSEETRVWHRRDGKWQIVHFRSGAPSVLPH

кДНК: 1 ggttgccatg gggacctgga tgctgacgaa ggctcgcgag gctgtgagca gccacagtgc  
 61 cctgctcaga agccccgggc tcgtcagtca aaccggttct ctgtttgcac tcggcagcac  
 121 gggcaggcaa gtggtcccta gggtcgggag cagagcagca gcgcctcagt cctgggtccc  
 181 cagtcaccaag cctcacctgc ctgcccagcg ccagatggc caccatcac tgccaccgct  
 241 tcacggaaga gtaccagctc ttcgaggaat tgggcaagg agccttctcg gtggtgcgaa  
 301 ggtgtgtgaa ggtgctggct ggccaggagt atgctgcca gatcatcaac acaaagaagc  
 361 tgtcagccag agaccatcag aagctggagc gtgaagccc catctgccgc ctgctgaagc  
 421 accccaacat cgtccgacta catgacagca tctcagagga gggacaccac tacctgatct  
 481 tcgacctggc cactggtggg gaactgtttg aagatatcgt ggcccgggag tattacagtg  
 541 aggcggatgc cagtcaactgt atccagcaga tcctggaggc tgtgctgcac tgccaccaga  
 601 tgggggtggt gcaccgggac ctgaagcctg agaactctgt gctggcctcc aagctcaagg  
 661 gtgcccagc gaagctggca gactttggcc tggccataga ggtggagggg gagcagcagg  
 721 catggttttg gtttcaggag actcctggat atctctcccc agaagtgtcg cggaaggacc  
 781 cgtacgggaa gcctgtggac ctgtgggctt gtggggtcat cctgtacatc ctgctggttg  
 841 ggtaccccc gttctgggat gaggaccagc accgcctgta ccagcagatc aaagccggcg  
 901 cctatgattt cccatcgccg gaatgggaca ctgtcaccgc ggaagccaag gatctgatca  
 961 ataagatgct gaccattaac ccatacaaac gcatcacagc tgccgaagcc cttaaagcac  
 1021 cctggatctc gcaccgctcc accgtggcat cctgcatgca cagacaggag accgtggact  
 1081 gcctgaagaa gttcaatgcc aggaggaaac tgaaggaggc cattctcacc acgatgctgg  
 1141 ccaccaggaa cttctccgga gggaagagtg ggggaacaa gaagagcgat ggtgtgaaga  
 1201 aaagaaaagtc cagttccagc gttcagttaa tggaatcctc agagagcacc aacaccacca  
 1261 tcgaggatga agacaccaa gtgcggaaac aggaatttat aaaagtgaca gagcagctga  
 1321 ttgaagccat aagcaatgga gattttgagt cctacacgaa gatgtgcgac cctggcatga  
 1381 cagccttcga acctgagggc ctggggaaac tgggttaggg cctggacttc catcgattct  
 1441 attttgaaaa cctgtggtcc cggaacagca agcccgtgca caccaccatc ctgaatcccc  
 1501 acatccacct gatgggcgac gagtgcgct gcatcgcta catccgcatc acgcagtacc  
 1561 tggacgctgg cggcatccca cgcaccgccc agtcggagga gaccctgtgc tggcacgccc  
 1621 gggatggcaa atggcagatc gtccacttcc acagatctgg ggcgcctccc gtcctgcccc  
 1681 actgagggac caggctgggg tcgctgcgtt gctgtgccgc agagatccac tctgtccgtg  
 1741 gagtggagct gctggttctc ccagggtgat tttgctggaa ttctcccatg tcatcaccac  
 1801 accaccgtca cttctgtacc tgcatcaaga aaacctgctt gttcacaaaa gtcactcgaa  
 1861 cttcagagcg aacggccaca tctccccacc tctcaccccc accctctccc ctgccaggct  
 1921 ggggcttctc caggcatggg tgtccacagc actggccccc tctccccagc ctcagctgct  
 1981 gtccgcctga tctgtcttgg gctgtaggct agaattgccc ggctggtgcc caccaggggc  
 2041 tggggagaag gaggggtggc atgatgagga aggcagcatc cgtccgtccc tctccagac  
 2101 ctctcctctt ccagtgtccc cggggaaggg cagatgacac tcccttcccc ctaagccaac  
 2161 cgactgaag gagtggggag aagagcatac gccaggagcc tcctgcctca aagtgtcccc  
 2221 ctaagtcttc ttcctcctgt gctgacctca ggggtgctcg acccttccct aggtgtgggg  
 2281 gatgtggccc tctcagggtc cctacttgc tttctgcttc cttctggtga agtccacctc  
 2341 caacattaac ctgcccaccc caccctcgtc atccctggag aattccagct ttgtcgtatc  
 2401 tcagagaggg aatctaattg tttttggggg gcaaaaagaa gcaacgttta ggtatcactt  
 2461 ctacttgga cgcagtcctt tttatagcca aatttctgtg tatttcgtaa atggatttcg  
 2521 cgttaatgga tatttatgta ataactagac tctcagatt attgtgagaa gggtcagggt  
 2581 ggaaggggtg taggaagagg ggtgaggggt agtttttttc tgttctagtt tttttttttt  
 2641 tttttgtcat ctctgaggtg gacctgtgca cctgtggtta ttggggccaa ggtggactca  
 2701 gctccgggga gaagggcctc tctgccattt cgggtcccaag gtgagctgac acaggcgctc  
 2761 cttttgggac tgtggaagca tcagatgcca gcaactgactc aggaacagca agtcagggca  
 2821 gagaggagga gggaggctgt caggatggaa atacctggac ttttctttgc ttccctcgca

```

2881 aactgggggtc ttctctaccg aacttcccag gatttcatct caccatatct gtgtgcccgc
2941 cccagcacc ccacccacc tctggggggc cgtgagcgt gtgtcttcat tgcctctctc
3001 cccttgccgt ctgatgacca cagcaaagca ctgggaatct ctactcttca tgcctcatcc
3061 tgcagcctcg ggttcgcatt ctctctttct tttctctttt ccctctttcc ctgggattga
3121 ctctgagtg aataccttgg cacatccact aggatctact gtctgactg ttttctttgc
3181 atgactttat acgcagtaag tatgttgaaa acaaacaaaa agaagaaaac actcaacaaa
3241 accaatctac atgttttggg ctaaaaaaa aaatagaggt tgtattctca gtgtccgact
3301 cggaaattatg ttgctgcctc tctgtgcttt tggcctctgt gtggccgtgt tttgccagca
3361 tgagatactg tccccctctg aggattttag gggaggaaga gccacgtccc cagggattgg
3421 aggaggctcc ggtaccctcg accctcctgg gtgttggttg gagcagaact ggtgaggatg
3481 tttgatccga gattttctga gctctcccca atcaccagct gtctgctggg ttcttttctc
3541 aagtctctg gcccaggccc aggtgagaca ggcaacgccca ggtctgcagg ccaggagaga
3601 tgctgcccag gctcctctgg ttccaagctg gtccatcact ggctctgtc cttggcagag
3661 accttgctgc ccaggcccag gggcaggctc ttggcctgccc ccaggcccag agggcttccc
3721 agtaaggccc agtgatccca ttatcccagg ggcaaaacca cctgtcccc tttgagctgc
3781 ttgattccct cagccatccc cagtcaaggg tgagggtgtg gccttcacca ggggctgtcg
3841 taattaccga gcaaggctcg agctcttctt cagcctcagt tccctcattg gttaaaaggg
3901 ttctttgttc ccatccagcc gatgaaggag caaacgtctg gctatgtgaa gcctaattta
3961 cctgcaggaa ctggcaggga tagtcaactg ctggactcct gtttacttct agacctgggt
4021 aggtcccatc cctccccca cctgcccctg attccccctg tcgggtgctg tcaactgctt
4081 ttcagcagtg gactgcagg gaaagagcag tgatttgggg tgagtaggct tcaattccca
4141 gctctgacca gacttgctgt gtgaccttgg gcaagttcct ttccctcttt ggagcttggg
4201 ttccctgcca gaggaaactg agctggagga gcctgagggtc ctgcctttca ttggctgaca
4261 cacctcctgt ccactgtgtc actctccaag tgccagagaa gtggaggcag atcgctaccc
4321 caggctgaga tggcccccc tgtgaaggcc acgctgtgtg gtgggcagcc acctggtgct
4381 accacagggc accagggatg atcctgatgt ggcaggcagg ggagactcac agaaaaatct
4441 gccagagcc tacctcacc agacaaactc tgtgctcctc caaacatcc tttagatgca
4501 aaataataat aataataata ataaataaat aaataaaaat ccaaacccaa gtcaaacctt
4561 tggctccagc atgaaaacac gtttacagga aagtgttctc ctgggtttgt gccaccatg
4621 gtgcgaatcc tgacccaagg cctcctgtct cccttcaaag ggagaccctt ttgggggatg
4681 agtttgccag actccccgtg ctggtttctt tgttactatt tgtttggggg tttgttttag
4741 ttcttttttt ttctcttttc ttttttaaaa atatgtggct gtgaacttga atgaacactg
4801 ctcaaacctt ctgctattgg ggggggcggg tgggatggga agaaggggcg tttgttttat
4861 tcttggtgtt ttcagtgcga taaatagcta caaacttctg tgcaaaaaaa aaaaaaaa
//

```

```

ЛОКУС NM_171825 (изоформа 2)
АК /трансляция="MATITCTRFTEEYQLFEELKGAFSVVRRCKVLAGQEYAAKII
NTKKLSARDHQKLEREARICRLKHPNIVRLHDSISEEGHHYLI FDLVTGGELFEDIV
AREYYSEADASHCIQQILEAVLHCHQMGMVVRDLKPENLLLASKLKGAAVKLADFGLA
IEVEGEQQAWFGAGTGYLSPEVLRKDPYKPVDLWACGVILYILLVGYPFWDEDQ
HRLYQQIKAGAYDFPSPWDVTVPKADLINKMLTINPSKRITAAEALKHPWISHRST
VACMRQETVDCLKKFNRRLKGAILTMLATRNFSGGKSGGNKSDGVKESSEST
NTTIEDEDTKVRKQEI IKVTEQLIEAISNGDFESYTKMCDPGMTAFEPALGNLVEGL
DFHRFYFENLWSRNSKPVHTTILNPHIHLMGDESACIAYIRITQYLDAGGI PRTAQSE
ETRVWHRDRDGKWQIVHFHRSGAPSVLP

```

```

кДНК: 1 ggttgccatg gggacctgga tgctgacgaa ggctcgcgag gctgtgagca gccacagtgc
61 cctgctcaga agccccgggc tcgtcagtca aaccggttct ctgtttgcac tcggcagcac
121 gggcaggcaa gtgtcccta ggttcgggag cagagcagca gcgcctcagt cctggtcccc
181 cagtcccaag cctcacctgc ctgcccagcg ccaggatggc caccatcacc tgcacccgct
241 tcacggaaga gtaccagctc ttcgaggaat tgggcaaggg agccttctcg gtggtgcgaa
301 ggtgtgtgaa ggtgctggct ggccaggagt atgctgcca gatcatcaac acaagaagc
361 tgtcagccag agaccatcag aagctggagc gtgaagccc catctgccgc ctgctgaagc
421 accccaacat cgtccgacta catgacagca tctcagagga gggacaccac tacctgatct
481 tcgacctggt cactgggtgg gaactgtttg aagatatcgt ggccgggag tattacagtg
541 aggcggatgc cagtcaactg atccagcaga tcctggaggc tgtgctgcac tgccaccaga
601 tgggggtggt gcaccgggac ctgaagcctg agaactctgtt gctggcctcc aagctcaagg
661 gtgcccagc gaagctggca gactttggcc tggccataga ggtggagggg gagcagcagg
721 catggttttg gtttcaggag actcctggat atctctcccc agaagtgtcg cggaaggacc
781 cgtacgggaa ccctgtggac ctgtgggctt gtgggtcat cctgtacatc ctgctggttg
841 ggtaccccc gttctgggat gaggaccagc accgcctgta ccagcagatc aaagccggcg

```

901 cctatgattt cccatcgccg gaatgggaca ctgtcaccce ggaagccaag gatctgatca  
 961 ataagatgct gaccattaac ccatccaaac gcatcacagc tgccgaagcc cttaagcacc  
 1021 cctggatctc gcaccgctcc accgtggcat cctgcatgca cagacaggag accgtggact  
 1081 gcctgaagaa gttcaatgcc aggaggaaac tgaagggagc cattctcacc acgatgctgg  
 1141 ccaccaggaa cttctccgga gggaagagtg ggggaaacaa gaagagcgat ggtgtgaagg  
 1201 aatcctcaga gagcaccac accaccatcg aggatgaaga caccaaagtg cggaaacagg  
 1261 aaattataaa agtgacagag cagctgattg aagccataag caatggagat tttgagtcct  
 1321 acacgaagat gtgcgaccct ggcatgacag ccttcgaacc tgaggccctg gggaacctgg  
 1381 ttgagggcct ggacttccat cgattctatt ttgaaacct gtggtcccgg aacagcaagc  
 1441 ccgtgcacac caccatcctg aatccccaca tccacctgat gggcgacgag tcagcctgca  
 1501 tcgcctacat ccgcatcacg cagtacctgg acgctggcgg catcccacgc accgcccagt  
 1561 cggaggagac ccgtgtctgg caccgccggg atggcaaatg gcagatcgtc cacttcaca  
 1621 gatctggggc gccctccgtc ctgccccact gagggaccag gctggggtcg ctgctgtgct  
 1681 gtgccgcaga gatccactct gtccgtggag tggagctgct ggttctccca ggttgatttt  
 1741 gctggaatcc tcccatgtca tcaccccacc accgtcactt ctgtacctgc atcaagaaaa  
 1801 cctgcttgtt caaaaaagt ctcgcaactt cagagcgaac ggccacatct cccacactct  
 1861 cccccccacc ctctcccctg ccaggctggg gcttccctcag gcatgggtgt ccacagcact  
 1921 ggccccctct cccagcctc agctgctgtc cgcctgatct gtcttgggct gttaggctaga  
 1981 atgccccggc tggtgccac caggggctgg ggagaaggag gggtggcag atgaggaagg  
 2041 cagcatccgt ccgtccctct cccagacctc tcctctcca gtgtccccgg ggaagggcag  
 2101 atgacactcc ctcccccta agccaaccgc actgaaggag tggggagaag agcatacgcc  
 2161 aggagcctcc tgcctcaaag tgctccccta agtcttcttc ctctgtgct gacctcaggg  
 2221 tggctgacc ctccctcgg tgtgggggat gtggccctct caggtgcccc tacttgcttt  
 2281 ctgcttctct ctggtgaagt ccacctcaa cattaacctg cccaccccac ccccgctac  
 2341 cctggagaat tccagctttg tcgtatctca gagagggaat ctaattgttt ttgggggca  
 2401 aaagaaagca acgttttagt atcacttcta cttggaccgc atgccttttt atagccaaat  
 2461 ttctgtgtat ttctgtaaag gatctcgct taatggatat ttatgtaata actagacttc  
 2521 tcagattatt gtgagaaggg tcagggttga aggggtgtag gaagaggggt gaggggtagt  
 2581 ttttttctgt tctagttttt ttttttttt ttgtcatctc tgaggtggac cttgtcacct  
 2641 gtggttatgt gggccaaggt ggactcagct ccggggagaa gggcctctct gccatttcgg  
 2701 tcccaaggtg agctgacaca ggcttccct ttgggactgt ggaagcatca gatgccagca  
 2761 ctgactcagg aacagcaagt cagggcagag aggaggagg aggtgtcag gatggaaata  
 2821 cctggacttt tctttgcttc cctcgcaaac tggggtcttc tctaccgaac ttcccaggat  
 2881 tctatctcac catatctgtg tgccgcccc agcaccctct acccacctct ggggggccc  
 2941 tgagcgtgtg tcttcattgc ctctctcccc ttggcgtctg atgaccacag caaagcactg  
 3001 ggaatttcta ctcttcacgc ctcatcctgc agcctcgggt tcgcattctc tcttctcttt  
 3061 cctctttccc tctttccctg ggattgactc tgagtggaa accttggcac atccactagg  
 3121 atctactgtc tgcactgttt tctttgcatg actttatacg cagtaagtat gttgaaaaca  
 3181 aacaaaaaga agaaaacact caacaaaacc aatctacatg ttttgacta aaaaaaaaaa  
 3241 tagaggttgt attctcagtg tccgactcgg aattatgttg ctgcctctct gtgcttttgg  
 3301 cctctgtgtg gccgtgtttt gccagcatga gatactgtcc cctctggagg attttagggg  
 3361 aggaagagcc acgtcccag ggattggagg aggtctcgg accctcgacc ctctgggtg  
 3421 ttggttgagg cagaactggt gaggatgttt gatccgagat tttctgagct ctccccaatc  
 3481 accagctgtc tgcgtgggtc tttctcaag tcctgtgtcc caggcccagg tgagacaggc  
 3541 aacgccaggt ctgcaggcca ggagagatgc tgcccaggcc tcctggtttc caagctggtc  
 3601 catcactggc ctctgtcctt ggagagacc ttgctgcca gggccagggg caggctcttg  
 3661 gcctgcccc ggcccagagg gcttcccagt aaggcccagt gatccatta tcccaggggc  
 3721 aaaaccacct gtcccccttt gagctgccag ttcctacag ccatccccag tcaaggggtga  
 3781 ggggtgtggc ttcaccagg gctgctgtaa ttaccgagca aggtctgagc tcttcttcag  
 3841 cctcagttcc ctcatgtgtt aaaagggttc tttgttcca tccagccgat gaaggagcaa  
 3901 acgtctggct atgtgaagc taatttacct gcaggaaact gcagggatag tcactggctg  
 3961 gactcctgtt tacttctaga cctggctcagg ctccatcccc tccccacct gccctgatt  
 4021 cccctcgtcg gtgcctgtca actgcttttc agcagtggac tgacggggaa agagcagtga  
 4081 tttgggggtga gtaggcttca attcccagct ctgaccagac ttgctgtgtg acctgggca  
 4141 agttccttcc cctcttttga gcttgggttc cctgccagag gaaactgagc tggaggagcc  
 4201 tgaggctcct cctttcattg gctgacacac ctctgtcca ctgtgtcact ctccaagtgc  
 4261 cagagaagtg gaggcagatc gctaccccag gctgagatgg cccccactgt gaaggccacg  
 4321 cctgtgggtg ggcagccacc tgggtgccac acagggcacc agggatgatc ctgatgtggc  
 4381 aggcagggga gactcacaga aaaatctgcc cagagcctac cctcaccaga caaactctgt  
 4441 gctcctccaa aacatccttt agatgcaaaa taataataat aataataata aataataaaa  
 4501 taaaaatcca aacccaagtc aaaaccttgg ctccagcatg aaacacggt tacaggaaag

4561 tgtttctcctg ggtttgtgcc caccatgggtg cgaatcctga cccaaggcct cctgtctccc  
 4621 ttcaaaaggga gacccttttg ggggatgagt ttgccagact ccccgctgtg gtttctttgt  
 4681 tactatttgt ttgggggtttt gtttttagttc tttttttttt tcttttcttt tttaaaaata  
 4741 tgtggctgtg aacttgaatg aacactgctc aaactttctg ctattggggg gggcgggtgg  
 4801 gatgggaaga aggggcgttt gttttattct tgggtgtttc agtgcaataa atagctacaa  
 4861 acttctgtgc aaaaaaaaaa aaaaa  
 //

4. CDK1: CDK1 циклинзависимая киназа 1 [ Homo sapiens ]  
 ЛОКУС NM\_001170406 (изоформа 4)  
 АК/трансляция="MEDYTKIEKIGEGTYGVVYKGRHKTTGQVVAMKKIRLESEEEGV  
 PSTAIREISLLKELRHPNIVSLQDVLMDQDSRLYLIFEFLSMDLKKYLDSPPGQYMD  
 SLVKVKA

кДНК: 1 agccgcctt tctcttttct ttcgcgtct agccacccgg gaaggcctgc ccagcgtagc  
 61 tgggctctga ttggctgctt tgaaagtcta cgggctaccc gattggtgaa tccggggccc  
 121 ttttagcgcg atctaccata cccattgact aactatggaa gattatacca aaatagagaa  
 181 aattggagaa ggtacctatg gagttgtgta taagggtaga cacaaaaacta cagggtcaagt  
 241 ggtagccatg aaaaaaatca gactagaaag tgaagaggaa ggggttcccta gtactgcaat  
 301 tcgggaaatt tctctattaa aggaacttcg tcatccaaat atagtcagtc ttcaggatgt  
 361 gcttatgcag gattccaggt tatatctcat ctttgagttt ctttccatgg atctgaagaa  
 421 atacttggat tctatccctc ctggtcagta catggattct tcactgttta aggtaaaagc  
 481 ttaactaatt ttattaatat ttatgactg tggatataaa gggactatat atagaagtc  
 541 ctgcatTTTT tgggaatatg cttggaaaaa gtgttagaat aagaaaaagt atttcatTTT  
 601 tctccctcat ggttagttta tacaggttag agatacccat gttattacca gatagtgtt  
 661 ctatgaagta aaaaattagtg cctgagataa catagaactg gtaggatttg ttggaagcta  
 721 gggtagtctg gtctttcttt ggctgtcaga tacatgtaaa acaaagtaat gaaagcctag  
 781 ggcagagtgg tggttgtagg tgttttattc cagttttgaa catgttttgg tcaatttatt  
 841 gtagacattt atttatattc aggtaaatta taaaattgta tagttttaag tactgaagta  
 901 tataaaaagt tcttatctct gcaccagttc taccaaacca ctctgcagag gttagcgtgt  
 961 tagttttatt tgtaatctta cacttgtagt tatgttcact ttgtatgtat ataaagattt  
 1021 ttttttttac acaaggtgga cttatttgca tatgtatata tacatatttt cctttttttg  
 1081 tgtaaaacat tatcaagacg tagatctacc tatgtctatt tacatttttg atataattaa  
 1141 accacttcca tattgatgaa catttaaatt attttccaac ttggttattg ttgctcttat  
 1201 taacagtagt gcaactgaatg tccttataga tatttatctt cgtatgcaac tttataggat  
 1261 aaatttttag aatgggaatg atggattgaa gatgtttatt tacattttga tagatattgc  
 1321 cggttgcccc ctaaaaaact tgtagcaatt tactcttaaa tactcatggt gtgtaatact  
 1381 tattgtttta gtacatcatt gccaaaaactt ggtttttatca atctgttaac tatgtgaaaa  
 1441 aggcataatta agattgtttt aattttatat ttcattgacaa tttaacactt catatttagc  
 1501 tattataaac cgcctatatt ttcgtagga tacgttcttt aacaatcttg catgactttt  
 1561 ggactttctg cttttatgtc ttgcttaagt cttcctcact caaagatcga atgtattaga  
 1621 ataatacatg tcagtatttt tctggtagtt ttagtaagtc ctgtcttcca cacatacttt  
 1681 ttttgcctta aattctgtat taagatttat tttgacttaa aaactgggat acagattctg  
 1741 ctttatcttt ttcc

//  
 ЛОКУС NM\_001786 (изоформа 1)  
 АК /трансляция="MEDYTKIEKIGEGTYGVVYKGRHKTTGQVVAMKKIRLESEEEGV  
 PSTAIREISLLKELRHPNIVSLQDVLMDQDSRLYLIFEFLSMDLKKYLDSPPGQYMD  
 SLVKSILYQILQGIIVFCHSRVLHRDLKPQNLLIDDKGTIKLADFGGLARAFGIPIRVY  
 THEVVTWLYRSPEVLLGSARYSTPVDIWSIGTIFAEELATKKPLFHGDSIDQLFRIFR  
 ALGTPNNEVWPEVESLQDYKNTFPKWKPSLASHVKNLDENGLDLSKMLIYDPAKRI  
 SGKMLNHPYFNDLDNQIKKM

кДНК: 1 agcgcggtga gtttgaaact gctcgactt ggcttcaaag ctggctcttg gaaattgagc  
 61 ggagagcgac gcggttgttg tagctgccgc tgcggccgc gcggaataat aagccgggat  
 121 ctaccatacc cattgactaa ctatggaaga ttataccaaa atagagaaaa ttggagaagg  
 181 tacctatgga gttgtgtata agggtagaca caaaactaca ggtcaagtgg tagccatgaa  
 241 aaaaatcaga ctagaaagtg aagaggaagg ggttcctagt actgcaattc gggaaatttc  
 301 tctatataag gaacttcgtc atccaaatat agtcagtcct caggatgtgc ttatgcagga  
 361 ttccaggtta tatctcatct ttgagtttct ttccatggat ctgaagaaat acttgattc  
 421 tatccctcct ggtcagtaca tggattcttc acttgtaag agttatttat accaaatcct

```

481 acaggggatt gtgttttgtc actctagaag agttcttcac agagacttaa aacctcaaaa
541 tctcttgatt gatgacaaag gaacaattaa actggctgat tttggccttg ccagagctttt
601 tggaaatcct atcagagtat atacacatga ggtagtaaca ctctgggtaca gatctccaga
661 agtattgctg gggtcagctc gttactcaac tccagttgac atttggagta taggcaccat
721 atttgctgaa ctagcaacta agaaaccact tttccatggg gattcagaaa ttgatcaact
781 cttcaggatt ttcagagctt tgggcactcc caataatgaa gtgtggccag aagtggaaatc
841 tttacaggac tataagaata catttcccaa atggaaacca ggaagcctag catcccattgt
901 caaaaacttg gatgaaaatg gcttgatttt gctctcgaaa atgttaatct atgatccagc
961 caaacgaatt tctggcaaaa tggcactgaa tcatccatat tttaatgatt tggacaatca
1021 gattaagaag atgtagcttt ctgacaaaaa gtttccatat gttatatcaa cagatagttg
1081 tgtttttatt gttactctt gtctattttt gtcttatata tatttctttg ttatcaaaact
1141 tcagctgtac ttcgtcttct aatttcaaaa atataactta aaaaatgtaaa tattctatat
1201 gaatttaaat ataattctgt aaatgtgtgt aggtctcact gtaacaacta tttgttacta
1261 taataaaact ataatttga tgcaggaat caggaaaaaa tttgagttgg cttaaatcat
1321 ctcagtcctt atggcagttt tatttctctg tagttggaac tactaaaatt taggaaaatg
1381 tcgaattcaa gtttcgtaat gctttgaaat atttttatgc tctgaatggt taaatgttct
1441 catcagtttc ttgccatgtt gttactata caacctggct aaagatgaat atttttctac
1501 tggattttta atttttgacc taaaatgttta agcattcgga atgagaaaac tatacagatt
1561 tgagaaatga tgctaaattt ataggagttt tcagtaactt aaaaagctaa catgagagca
1621 tgccaaaaat tgctaagtct tacaagaatc aagggtctgc cgcaacaggg aagaacagtt
1681 ttgaaaattt atgaactatc ttatttttag gttagttttg aaagcttttt gtctaagtga
1741 attcttatgc cttggtcaga gtaataactg aaggagttgc ttatcttggc tttcagctct
1801 gagtttaaaa ctacacatct tgacatagtg tttattagca gccatctaaa aaggctctaa
1861 tgtatattta actaaaatta ctagctttgg gaattaaact gtttaacaaa taaaaaaaaa
1921 aaa
//

```

ЛОКУС NM\_033379 (изоформа 2)  
 АК /трансляция="MEDYTKIEKIGEGTYGVVYKGRHKTGQVVMKKIRLESEEEGV  
 PSTAIREISLLKELRHPNIVSLQDVLMDQSRLYLIFEFLSMDLKKYLDSEIPPQQYMDSE  
 SLVKVVTWYRSPEVLLGSARYSTPVDIWSIGTIFAELATKKPLFHGDSEIDQLFRIF  
 RALGTPNNEVWPEVESLQDYKNTFPKWKPGSLASHVKNLDEGLDLLSKMLIYDPAKR  
 ISGKMALNHPYFNLDLNDQIKKM

кДНК: 1 agcgcggtga gtttgaaact gctcgcaact ggcttcaaag ctggctcttg gaaattgagc

```

61 ggagagcgac gcggttggtt tagctgccgc tgcggccgcc gcggaataat aagccgggat
121 ctaccatacc cattgactaa ctatggaaga ttataccaaa atagagaaaa ttggagaagg
181 tacctatgga gttgtgtata agggtagaca caaaactaca ggtcaagtgg tagccatgaa
241 aaaaatcaga ctagaaagtg aagaggaagg ggttcctagt actgcaattc gggaaatttc
301 tctattaaag gaacttcgtc atccaaatat agtcagctct caggatgtgc ttatgcagga
361 ttccagggtta tatctcatct ttgagtttct ttccatggat ctgaagaaat acttggattc
421 tatccctcct ggtcagtaca tggattcttc acttgttaag gtagtaacac tctggtacag
481 atctccagaa gtattgctgg ggtcagctcg ttactcaact ccagttgaca tttggagtat
541 aggcaccata tttgctgaac tagcaactaa gaaaccactt ttccatgggg attcagaaaat
601 tgatcaactc ttcaggattt tcagagcttt gggcactccc aataatgaag tgtggccaga
661 agtggaatct ttacaggact ataagaatac atttcccaa tggaaccag gaagcctagc
721 atcccatgtc aaaaacttgg atgaaaatgg cttggatttg ctctcgaaaa gttaaatcta
781 tgatccagcc aaacgaattt ctggcaaaat ggcactgaat catccatatt ttaatgattt
841 ggacaatcag attaagaaga tgtagctttc tgacaaaaag tttccatatg ttatatcaac
901 agatagttgt gtttttattg ttaactcttg tctatttttg tcttatatat atttctttgt
961 tatcaaaact cagctgtact tcgtcttcta atttcaaaaa tataacttaa aatgtaaaat
1021 attctatatg aatttaaata taattctgta aatgtgtgta ggtctcactg taacaactat
1081 ttgttactat aataaaacta taatattgat gtcaggaatc agggaaaaat ttgagttggc
1141 ttaaatcatc tcagtcctta tggcagtttt attttctctg agttggaact actaaaattt
1201 agggaaaatgc taagttcaag tttcgtaatg ctttgaagta tttttatgct ctgaatgttt
1261 aaatgttctc atcagtttct tgccatgttg ttaactatac aacctggcta aagatgaata
1321 tttttctact ggtattttta tttttgacct aaatgtttta gcattcgga tgagaaaact
1381 atacagattt gagaaatgat gctaaaattt taggagtttt cagtaactta aaaagctaac
1441 atgagagcat gccaaaattt gctaagtcct acaaagatca agggctgtcc gcaacagggg
1501 agaacagttt tgaaaattta tgaactatct tatttttagg taggttttga aagctttttg
1561 tctaagtga ttcttatgcc ttggtcagag taataactga aggagttgct tatcttggct

```

1621 ttccgagtctg agttttaaacc tacacattttt gacatagtgt ttattagcag ccatctaaaa  
 1681 aggcctcta gatatattaa ctaaaattac tagctttggg aattaaactg ttaacaaat  
 1741 aaaaaaaaaa aa  
 //

5. CLTCL1: CLTCL1 клатрин, подобный тяжелой цепи 1 [Homo sapiens]  
 ЛОКУС NM\_001835 (изоформа 2)  
 АК /трансляция="MAQILPVRFQEHFQLQNLGINPANIGFSTLTMESDKFICIREKV  
 GEQAQVTIIDMSDPMAPIRRPISAESAIMNPASKVIALKAGKTLQIFNIEMKSKMAH  
 TMAEEVIFWKVSVNTVALVTETAVYHWSMEGDSQPMKMFDRHTSLVGCQVIHYRTDE  
 YQKWLLLVGISAQQNRVVGAMQLYSVDRKVSQPIEGHAAFAEFKMEGNAKPATLFCF  
 AVRNPTGGKLHIIIEVGQPAAGNQPFVKKAVDVFFPPEAQNDFPVAMQIGAKHGVYLI  
 TKYGYLHLYDLESGVCICMNRISADTIFVTAPHKPTSGIIGVNKKGQVLSVCVEEDNI  
 VNYATNVLQNPDLGLRLAVRSNLAGAELFVRKFNTLFAQGSYAEAAKVAASAPKGI  
 LRTRETQKQFSIPAQSGQASPLQYFGILLDQGGQNLKLESLLELCHLVLQGRKQLEK  
 WLKEDKLECSSEELGDLVKTTPMLALSVYLRANVP SKVIQCFQETGQFQKIVLYAKKV  
 GYTPDWIFLLRGVMKISPEQGLQFSRMLVQDEEPLANISQIVDIFMENSIIQQCTSF  
 LDALKNNRPAEGLLQTLWLEMLNVHAPQVADAILGNKMFTHYDRAHIAQLCEKAGLLQ  
 QALEHYTDLYDIKRAVVHTLLNPEWLVNFFGSLSVEDSVECLHAMSANIRQNLQLC  
 VQVASKYHEQLGTQALVELFESFKSYKGLFYFLGSI VNFSDPDVHLKYIQAACKTGQ  
 IKEYERTCRESSCYNPERVKNFLKEAKLTDQLPLIIVCDRFGFVHDLVLYLRNNLQR  
 YIEIYVQKVNPSRTPAVIGLLDVCSEEVIKHLIMAVRGQFSTDELVAEVEKRNRLK  
 LLLPWLESQIQEGCEEPATHNALAKIYIDSNNSPECFLENAYYDSSVVGRYCEKRD  
 PHLACVAYERGQCDLELIKVCNENSLFKSEARYLVCRKDPPELWAHVLEETNPSRRQLD  
 QVVQALSETRDPPEEISVTVKAFTADLPNELIELEKIVLDNSVFSEHRNLQNLIL  
 TAIKADRTVMYIISRLDNYDALDIASIAVSSALYEEAFTVFKHFDMNASAIQVLEH  
 IGNLDRAYEFAERCNEPAVWSQLAQALQKDLVKEAINS YIRGDDPSYLEVQVSASR  
 SNNWEDLVKFLQMARKKGRESYIETELIFALAKTSRVSELEDFINGPNNAHIQQVGDR  
 CYEEGMVYAAKLLYSNVSNFARLASTLVHLGEYQA AVDNSRKASSTRTWKEVCFCMD  
 GQEFRFAQLCGLHIVIHADLEELMCYYQDRGYFEELILLLEAALGLERAHMGMTTEL  
 ALLYSKFKPQKMLEHLELFWSRVNI PKVLRAAEQAHLWAELVFLYDKYEEYDNVLT  
 MSHPTAEAWKEGQFKDIITKVANVELCYRALQFYLDYKPLINDLLLVLSRPLDHTWT  
 VSFSSKAGQLPLVKPYLRSVQSHNNKSVNEALNHLLEEDYQDAMQHAESRDAELAQ  
 KLLQWFLLEEGKRECFAACLFCTCYDLLRPDMVLELAWRHNLVDLAMPYFTQVMREYLSK  
 VDKLDALESLRKQEEHVTEPAPLVDFDGH

кДНК: 1 accggtcagc cgcgcgagc ggtcggcggt cattcctgcc gctgccgcgc ccgcgcgcga  
 61 ggtcccgac cagccatggc gcagatcctc cctgttcgct ttcaggagca cttccagctc  
 121 caaaccttg gaattaatcc agctaaccatt ggattcagca cactgacccat ggaatctgac  
 181 aagttcatat gtatccgaga gaaagttggg gagcaggcac aggtcaccgat cattgacatg  
 241 agtgacccaa tggctccgat ccgacggcct atctctgcag agagtcccat catgaatcca  
 301 gcctctaagg tgatagctct gaaagctggg aagacacttc agatctttaa tattgagatg  
 361 aagagtaaaa tgaaggctca tactatggca gaagaagtga tttctcggaa atgggtttct  
 421 gtgaacactg ttgccttggg gaccgagacc gcggtctacc actggagcat ggaaggtgac  
 481 tcccagccca tgaagatggt tgatagacat accagctctg tgggctgccca ggtgattcac  
 541 taccggactg atgagtacca gaagtggctg ctgctcgtag gcatctcggc tcagcaaaac  
 601 cgtgtggttg gagcaatgca gctctactct gtggatagga aggtttcaca acccatagaa  
 661 ggccatgctg cggcttttgc agagttcaag atggagggga atgccaagcc tgccaccctt  
 721 ttctgctttg ctgtacgtaa tcccacagga ggcaagttgc acatcattga agttggacag  
 781 cctgcagcgg gaaaccaacc ttttgtaaaag aaagcagtag atgtgttttt tcctccagag  
 841 gcacagaatg attttccagt ggctatgcag attggagcta aacatggtgt tatttacttg  
 901 atcacaaagt atggctatct tcatctgtac gacctagagt ctggcgtgtg catctgcatg  
 961 aaccgtatta gtgctgacac aatatttgtc actgctccac acaaaccaac ctctggaatt  
 1021 attggtgtca acaaaaaggg acaggtagct tcagtttgtg ttgagggaaga taacattgtg  
 1081 aattatgcaa ccaacgtgct tcagaatcca gaccttggtc tgcgtttggc cgttcgtagt  
 1141 aacctggctg gggcagagaa gttgtttgtg agaaaattca ataccctct tgcaacgggc  
 1201 agctatgctg aagccgcaa agttgcagcg tctgcaccaa agggaaatcct gcgtaccaga  
 1261 gagacggtcc agaaaattcca gagtataccc gctcagctct gccaggcttc tccattgctg  
 1321 cagtacttcg gaatcctgct cgaccagggt cagctcaata aacttgaatc cttagaactt  
 1381 tgccatctg ttcttcagca gggcgtaag caactcctag agaagtggt gaaagaagat  
 1441 aagctggagt gctcagagga gctcggagac ttggtcaaaa ccactgacct catgctcgct

1501 ctgagtgtgt accttcgggc aaatgtgcc agcaaagtga tccagtgttt tgcagaaaca  
 1561 ggccaattcc agaaaattgt gctctatgcc aaaaagggtt gggtacaccc agactggatc  
 1621 tttctgctga ggggtgtaat gaagatcagt ccggaacag gctgcagtt ttctcgaatg  
 1681 ctagtgcagg acgaggagcc gctggccaac attagccaga ttgtggacat tttcatggaa  
 1741 aacagtttta ttccagcagt tacttccttc ttattggatg ccttgaagaa taatcgccca  
 1801 gctgagggac tctgcagac atggctgttg gagatgaacc ttgttcatgc accccagggt  
 1861 gcagatgcc tcttggaat taaaatgttt actcattacg accgggccca cattgccag  
 1921 ctctgtgaga aggcaggcct cctgcagcaa gcaactggag actacaccga cctctatgac  
 1981 atcaagaggg ctgtgggtcca cactcacctc ctcaatccc agtggcctgt caatttcttt  
 2041 ggctccttat cgtgggagga ttctgtggag tgtctgcatg ccatgctgtc tgctaacatc  
 2101 agacagaacc ttcagctgtg tgtgcagggt gcctctaagt accacgagca gctgggcacg  
 2161 caggccctgg tggagctctt tgaatccttc aagagttaca aaggcctctt ctacttctctg  
 2221 ggctcaatcg tgaacttcag ccaagaccca gatgtgcatc tgaaatacat tcaggctgcc  
 2281 tgaagacag gcagatcaa ggaggtggag aggatatgcc gagagagcag ctgctacaac  
 2341 ccagagcgtg tgaagaactt cctgaaggag gccaaagctc cagaccagct tccctcatc  
 2401 atcgtgtgtg atcgttttgg ctttgtccat gaccttgtcc tatatttata ccgcaacaac  
 2461 ctgcagaggt acattgagat ctacgtgcag aaggtcaacc ctagccggac ccagctgtg  
 2521 attggagggc tgcttgatgt ggattgttct gaggaagtga ttaaacactt aatcatggca  
 2581 gtgagaggac agttctctac tgatgagttg gtgctgaag tagaaaaaag aaataggctc  
 2641 aagctgctgc ttccctggct ggagtcccag attcaggaag gctgtgagga gctgcccact  
 2701 cacaatgcac tggctaaaat ctacatcgac agcaacaaca gcccagagtg cttctgaga  
 2761 gagaatgcct actatgacag cagcgtgggt ggccgctact gtgagaagcg agacccccat  
 2821 ctggcctgtg ttgcctatga gcgggggcag tgtgaccttg agctcatcaa ggtgtgcaat  
 2881 gagaattctc tgttcaaaag cgaggcccg ctaactggat gcagaaagga tccggagctc  
 2941 tgggctcacg tccttgagga gaccaaccca tccaggagac agctaattga ccagggtgta  
 3001 cagacagcat tgtcagaaac acgggatcct gaagagattt cggctactgt caaagccttt  
 3061 atgacagccg acctgcctaa tgaactgatt gaactgctgg agaagatagt tctggataac  
 3121 tctgtcttca gcgagcacag gaatctacag aatctgttga tctgactgac catcaaggca  
 3181 gaccgcacac ggtcatgga gtacatcagc cgcttggaac actatgacgc actggacatc  
 3241 gcgagcatcg ctgtcagcag cgcaactgtat gaggaggcct tcaccgtttt ccacaagttt  
 3301 gatatgaatg cctcagcaat ccaggctcctg atcgagcaca ttggaacact ggaccgggca  
 3361 tatgagtttg cggagagatg caatgagcct gctgtgtgga gtcagctggc ccaagcccag  
 3421 tccagaaaag atttgggtga ggaagccatc aactcctata tcagagggga cgaccttcc  
 3481 tcttacctgg aagttgttca gtcagccagc aggaagcaaca actgggagga tctagttaaa  
 3541 tttctgcaga tggccaggaa aaagggccgt gagtccata tagagactga acttattttt  
 3601 gccttggtta aaaccagccg tgttctgag ctagaagatt ttattaatgg acccaacaat  
 3661 gcccacatcc agcagggttg agaccgctgt tacgaggagg gaatgtacga ggctgccaa  
 3721 ctgctctata gcaatgttcc taactttgct cgcttgctt ccaccttggg tccactcgtt  
 3781 gagtatcagg cagcagtgga caacagccgc aaggccagca gcacccggac gtggaaggag  
 3841 gtgtgctttg cctgcatgga tggacaagag ttccgcttcg cacagctgtg ttgtcttcac  
 3901 atcgtcattc atgcagatga gctggaggag ctgatgtgct attaccagga tctgtgctac  
 3961 tttgaggagc tgatcttgcg gttggaagcg gccctgggac tggagcgggc ccacatgggc  
 4021 atgttctact agctggccat cctctactcc aaattcaagc cacagaagat gctggagcat  
 4081 ctggagcttt tctgggtccc tgtcaacatc ccaaagggtg tgagggtgac agagcaggca  
 4141 cacctgtggg ctgagctggt gttcctctat gacaagtacg aggagtatga caatgctgtg  
 4201 ctcaccatga tgagccacc cactgaggcc tggaaaggag gtcagttcaa ggacatcatt  
 4261 accaagggtt ccaacgtcga gctctgttac agagccctgc agttctattt ggattacaaa  
 4321 cactgctca tcaatgacct gctgctggtg ctttcacccc ggctggacca cacctggaca  
 4381 gtcagtttct tttcaaaggc aggtcagctg cccctggtga agccttacct gcggtcagtc  
 4441 cagagccaca acaacaagag tgtgaatgag gcaactcaacc acctgctgac agaggaggag  
 4501 gactatcagg atgccaatga gcatgctgca gactcgcggt atgctgagct ggcccagaag  
 4561 ttgctgcagt ggttccctgga ggaaggcaag agggagtgtc tcgcagcttg tctcttcacc  
 4621 tgctatgacc tgcttcgccc agacatggtg cttgagctgg cctggaggca caacctcgtg  
 4681 gacttggtcca tgccctactt catccagggt atgagggagt acctgagcaa ggtggacaaa  
 4741 ctggatgcct tggagagtct gcgcaagcaa gaggagcatg tgacagagcc tgcccctctc  
 4801 gtgtttgatt ttgatgggca tgaatgagac ccagctgatt gcaactaagc ctgccgtggg  
 4861 ccagcccct gccagcttcc cctatggata tgcctctgct cccaacttcg ccagcctcca  
 4921 atgtacaact tccgcgtgta gtgggcgttg tcaccaccca ccctacctgc agagttaact  
 4981 acttctccaa ggagcatgtc actccagcag cacaggggac gcaatgggag gcagggacac  
 5041 ctggacaata tttatttttg ctgaaaccca atgacggcaa cctctgagcc atccagagc  
 5101 ctggggaggc cagggtagag gctgacggcg caagaccagc tttagccgac aacagagact

5161 ggactgtggg cctcctgct ggagccaggc cttcctcctg ggcgcctccg actggctgga  
 5221 gctgccccct ccaggccagt ttgaagacta catgaacacg tcttggttgg aggtaccgga  
 5281 cctcataaaa ggactctcag cctcttggca atcataaata ttaaagtcgg tttatccagg  
 5341 caaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa a

//

ЛОКУС NM\_007098 (изоформа 1)  
 АК /трансляция="MAQILPVRFQEHFQLQNLGINPANIGFSTLTMESDKFICIREKV  
 GEQAQVTIIDMSDPMAPIRRPISAESAIMNPASKVIALKAGKTLQIFNIEMKSKMKAH  
 TMAEEVIFWKVSVNTVALVTETAVYHWSMEGDSQPMKMFDRHTSLVGCQVIHYRTDE  
 YQKWLLLVGISAQQNRVVGAMQLYSVDRKVSQPIEGHAAFAEFKMEGNAKPATLFCF  
 AVRNP TGGLHIEVGPAGNQPFVKKAVDVFFPEAQNDFPVAMQIGAKHGVYILI  
 TKYGYLHLYDLESGVICMNRISADTIFVTAPHKPTSGIIGVNNKGQVLSVCVEEDNI  
 VNYATNVLQNPDLGLRLAVRSNLAGAELFVRKFNTLFAQGSYAEAAKVAASAPKGI  
 LRTRETQKQFSIPAQSGQASPLQYFGILLDQGLNKLESLCHLVLQOGRKQLEK  
 WKEDKLECESEELGDLVKTDPMLALSVYLRANVPSKVIQCFQFQKIVLYAKKV  
 GYTPDWIFLLRGVMKISPEQGLQFSRMLVQDEEPLANISQIVDIFMENSIIQOCTSF  
 LDALKNNRPAEGLLQTLWLLMNLVHAPQVADAILGNKMFTHYDRAHIAQLCEKAGLLQ  
 QALEHYTDLYDIKRAVVHHTLLNPEWLVNFFGSLSVEDSVECLHMLSANIRQLQLC  
 VQVASKYHEQLGTQALVELFESFKSYKGLFYFLGSIVNFSQDPDVHLKYIQAACKTGQ  
 IKEVERICRESSCYNPERVKNFLKEAKLTDQLPLIIVCDRFGFVHDLVLYLYRNNLQR  
 YIEIYVQKVNPSRTPAVIGGLLDVDCSEEVIKHLIMAVRGQFSTDELVAEVEKRNRLK  
 LLLPWLESQIQEGCEEPATHNALAKIYIDSNNSPECFLRENAYYDSSVVGRYCEKRD  
 PHLACVAYERGQCDLELIKVCNENSLFKSEARYLVCRKDPLEWAHVLEETNPSSRQLID  
 QVFGTALSETRDPEEISVTVKAFTADLPNELIELEKIVLDSVFSHRNLQNLIL  
 TAIKADTRVMEYISRLDNYDALDIASIAVSSALYEEAFTVFKFDMNASAIQVLIH  
 IGNLDRAVEFAERCNEPAVWSQLAQQLQKDLVKEAINSIRGDDPSYSLEVVSASR  
 SNWNEDLVKFLQMARKKGRESYIETELIFALAKTSRVSELEDFINGPNNAHIIQVGD  
 R CYEEGMYEAAKLYSNVSNFARLASTLVHLGEYQAAVDNRSKASSTRTWKEVCFACMD  
 GQEFRAQLCGLHIVIHAELEELMCYYQDRGYFEELILLEAALGLERAHMGMTTEL  
 AILYSKFKPQKMLEHLEFWSRVNIPKVLRAAEQAHLWAEVFLYDYKYEEYDNAVLT  
 MSHPTAEWKEGQFKDIITKVANVELCYRALQFYLDYKPLINDLLLVLSPRLDHTWTV  
 SFESKAGQLPLVKPYLRSVQSHNNKSVNEALNHLLEEDYQGLRASIDAYDNFDNIS  
 LAQQLEKHQLMEFRCAIAYLYKGNWNAQSVELCKKDHLKDAMQHAASRDAELAQK  
 LLQWFLEEGKRECFACFLTCYDLLRPDMVLELAWRHNLDLAMPYFIQVMREYLSKV  
 DKLDALSLRKQEEHVTEPAPLVDFDGH

кДНК: 1 accggctcagc ccgcgcgagg ggtcggcggtt cattcctgcc gctgccgcgcg ccgccgcgga  
 61 ggtcccgccac cagccatggc gcagatcctc cctgttcgct ttcaggagca cttccagctc  
 121 caaaccttg gaattaatcc agctaaccatt ggattcagca cactgaccat ggaatctgac  
 181 aagttcatat gtatccgaga gaaagttggg gagcaggcac aggtcacgat cattgacatg  
 241 agtgacccaa tggctccgat ccgacggcct atctctgcag agagtgccat catgaatcca  
 301 gcctctaagg tgatagctct gaaagctggg aagacacttc agatctttaa tattgagatg  
 361 aagagtaaaa tgaaggctca tactatggca gaagaagtga tttcttgga atgggtttct  
 421 gtgaacactg ttgccttggg gaccgagacc gcggtctacc actggagcat ggaaggtgac  
 481 tcccagccca tgaagatggt tgatagacat accagtctgg tgggctgcca ggtgattcac  
 541 taccggactg atgagtacca gaagtggctg ctgctcgtag gcatctcggc tcagcaaaac  
 601 cgtgtggttg gagcaatgca gctctactct gtggatagga aggtttcaca acccatagaa  
 661 ggccatgctg cgccttttgc agagttcaag atggaggga atgccaagcc tgccaccctt  
 721 ttctgctttg ctgtacgtaa tcccacagga ggcaagttgc acatcattga agttggacag  
 781 cctgcagcgg gaaaccaacc ttttgtaaag aaagcagtag atgtgttttt tctccagag  
 841 gcacagaatg attttccagt ggctatgcag attggagcta aacatggtgt tatttacttg  
 901 atcacaaagt atggctatct tcatctgtac gacctagagt ctggcgtgtg catctgcatg  
 961 aaccgtatta gtgctgacac aatatgtgtc actgctccac acaaccaac ctctggaatt  
 1021 attggtgtca acaaaaagg acaggtagtg tcagtttgtg ttgaggaaga taacattgtg  
 1081 aattatgcaa ccaacgtgct tcagaatcca gaccttggtc tgcgtttggc cgttcgtagt  
 1141 aacctggctg gggcagagaa gttgtttgtg agaaaattca atacctctt tgcacagggc  
 1201 agctatgctg aagccgcaa agttgcagcg tctgcaccaa agggaatcct gcgtaccaga  
 1261 gagacgggtc agaaattcca gatatacc gctcagctg gccaggctc tccattgctg  
 1321 cagtacttcg gaatcctgct cgaccagggt cagctcaata aacttgaatc cttagaactt  
 1381 tgccatctgg ttcttcagca gggcgtaag caactcctag agaagtggtc gaaagaagat

1441 aagctggagt gctcagagga gctcggagac ttggtcaaaa cactgaccc catgctcgct  
 1501 ctgagtgtgt accttcgggc aaatgtgcca agcaaagtga tccagtgttt tgcagaaaca  
 1561 ggccaattcc agaaaattgt gctctatgcc aaaaaggttg ggtacacccc agactggatc  
 1621 tttctgtctga ggggtgtaat gaagatcagt ccggaacagg gcctgcagtt ttctcgaatg  
 1681 ctagtgcagg acgaggagcc gctggccaac attagccaga ttgtggacat tttcatggaa  
 1741 aacagtttaa ttcagcagtg tacttccttc ttattggatg ccttgaagaa taatcgccca  
 1801 gctgagggac tcctgcagac atggctgttg gagatgaacc ttgttcatgc accccaggtt  
 1861 ccagatgcca tccttggaata taaaatgttt actcattacg accgggcccc cattgcccag  
 1921 ctctgtgaga aggcaggcct cctgcagcaa gcaactggagc actacaccga cctctatgac  
 1981 atcaagaggg ctgtgggtcca cactcacctc ctcaatcccg agtggcctgt caatttcttt  
 2041 ggctccttat cgggtggagga ttctgtggag tgtctgcatg ccatgctgtc tgctaaccac  
 2101 agacagaacc ttcagctgtg tgtgcaggtg gcctctaagt accacgagca gctgggcacg  
 2161 caggccctgg tggagctctt tgaatccttc aagagttaca aaggcctctt ctacttcttg  
 2221 ggctcaatcg tgaacttcag ccaagaccca gatgtgcatc tgaataacat tcaggctgac  
 2281 tgtaagacag ggcagatcaa ggaggtggag aggatatgcc gagagagcag ctgtacaac  
 2341 ccagagcgtg tgaagaactt cctgaaggag gccaaagctca cagaccaggt tccctctatc  
 2401 atcgtgtgtg atcgttttgg ctttgtccat gaccttgtcc tatatttata ccgcaacaac  
 2461 ctgcagaggt acattgagat ctacgtgcag aaggtcaacc ctaccgggac ccagctgtg  
 2521 attggagggc tgcttgatgt ggattgttct gaggaagtga ttaaacactt aatcatggca  
 2581 gtgagaggac agttctctac tgatgagttg gtggctgaag tagaaaaaa aaataggctc  
 2641 aagctgctgc ttccctggct ggagtcacag attcaggaag gctgtgagga ccctgcccac  
 2701 cacaatgcac tggctaaaat ctacatcgac agcaacaaca gccccgagtg cttcctgaga  
 2761 gagaatgcct actatgacag cagcgtggtg gcccgctact gtgagaagcg agacccccat  
 2821 ctggcctgtg ttgcctatga gcgggggcag tgtgaccttg agctcatcaa ggtgtgcaat  
 2881 gagaattctc tgttcaaaag cgaggcccg taccctggtat gcagaaagga tccggagctc  
 2941 tgggctcacg tccttgagga gaccaaccca tccaggagac agctaattga ccagggtgta  
 3001 cagacagcat tgtcagaac acgggatcct gaagagattt cggtcactgt caaagccttt  
 3061 atgacagccg acctgcctaa tgaactgatt gaactgctgg agaagatagt tctggataac  
 3121 tctgtcttca gcgagcacag gaactctacag aatctgttga tcctgactgc catcaaggca  
 3181 gaccgcacac gggctcatgga gtacatcagc cgcctggaca actatgacgc actggacatc  
 3241 gcgagcatcg ctgtcagcag cgactgtat gaggagccct tcaccgtttt ccacaagttt  
 3301 gatatgaatg cctcagcaat ccaggctctg atcgagcaca ttggaaacct ggaccgggca  
 3361 tatgagtttg cggagagatg caatgagcct gctgtgtgga gtcagctggc ccaagccag  
 3421 ctccagaaag atttgggtgaa ggaagccatc aactcctata tcagagggga cgacccttcc  
 3481 tcttacctgg aagttgttca gtcagccagc aggagcaaca actgggagga tctagttaaa  
 3541 tttctgcaga tggccaggaa aaagggccgt gactcctata tagagactga acttattttt  
 3601 gccttggcta aaaccagccg tgtttctgag ctagaagatt ttattaatgg acccaacaat  
 3661 gcccacatcc agcaggttgg agaccgctgt tacgaggagg gaatgtacga ggctgccaa  
 3721 ctgctctata gcaatgttcc taactttgcc cgcctggctt ccaccttggg tcacctcggt  
 3781 gagtatcagg cagcagtgga caacagccgc aaggccagca gcacccggac gtggaaggag  
 3841 gtgtgctttg cctgcatgga tggacaagag ttccgcttcg cacagctgtg tggctctcac  
 3901 atcgtcttca atgcagatga gctggaggag ctgatgtgct attaccagga tctgtgctac  
 3961 tttgaggagc tgatcttgct gttggaagcg gccctggggc tggagcgggc ccacatgggc  
 4021 atgttctactg agctggccat cctctactcc aaattcaagc cacagaagat gctggagcat  
 4081 ctggagcttt tctgggtccg tgtcaacatc ccaaagggtc tgagggctgc agagcaggca  
 4141 cacctgtggg ctgagctggg gttcctctat gacaagtacg aggagtatga caatgctgtg  
 4201 ctccacatga tgagccaccc cactgaggcc tggaaaggagg gtcagttcaa ggacatcatt  
 4261 accaaggttg ccaacgtcga gctctgttac agagccctgc agttctatct ggattacaaa  
 4321 ccaactgctca tcaatgacct gctgctggtg ctttcacccc ggctggacca cacctggaca  
 4381 gtcagtttct tttcaaaggc aggtcagctg ccctggtgga agccttacct gcggctcagtc  
 4441 cagagccaca acaacaagag tgtgaatgag gcaactcaacc acctgctgac agaggaggag  
 4501 gactatcagg gcttaagggc atctatcgat gcctatgaca actttgacaa catcagcctg  
 4561 gctcagcagc tggagaagca tcagctgatg gagttcaggt gcattgcggc ctatctgtac  
 4621 aagggaataa actggtgggc ccagagcgtg gagctctgca agaaggatca tctctacaag  
 4681 gatgccatgc agcatgctgc agagtccggg gatgctgagc tggcccagaa gttgctgcag  
 4741 tggttcctgg aggaaggcaa gagggagtgc ttgcagctt gtctcttcac ctgctatgac  
 4801 ctgcttcgcc cagacatggt gcttgagctg gcctggaggc acaacctcgt ggacttggcc  
 4861 atgccctact tcatccaggt gatgaggagac tacctgagca aggtggacaa actggatgcc  
 4921 ttggagagtc tgcgcaagca agaggagcat gtgacagagc ctgccccctc cgtgtttgat  
 4981 tttgatgggc atgaatgaga ccagctgat tgcactaagc cctgccgtgg gccagcccc  
 5041 tgccagcttc ccctatggat atgcctctgc tcccaacttc gccagcctcc aatgtacaac

5101 ttccgcgtgt agtgggctgt gtcaccaccc accctacctg cagagttact aacttctcca  
 5161 aggagcatgt cactccagca gcacagggga cgcaatggga ggcagggaca cctggacaat  
 5221 atttattttt gctgaaaccc aatgacggca accctctgagc catcccagag cctggggagg  
 5281 ccagggtaga ggctgacggc gcaagaccag ctttagccga caacagagac tggactgtgg  
 5341 gccctcctgc tggagccagg ccttcctcct gggcgccctcc gactggctgg agctgcccc  
 5401 tccaggccag tttgaagact acatgaacac gtcttgtttg gaggtagcgg acctcataaa  
 5461 aggactctca gcctcttggc aatcataaat attaaagtcg gtttatccag gcaaaaaaaa  
 5521 aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aa  
 //

6. EIF4G1: EIF4G1 фактор инициации трансляции эукариот 4 гамма, 1  
 [ Homo sapiens ]

ЛОКУС NM\_001194946 (изоформа 6)  
 АК /трансляция="MNKAPQSTGPPPPAPSPGLPQPAFPFGQTAPVVFSTPQATQMNTP  
 SQPRQGGFRSLQHFFYPSPRAQPPSSAASRVQSAAPARPGPAHVYPAGSQVMMIPSQIS  
 YPASQGAYYIPGQGRSTYVVPYVPTQQYPVQPGAPGFYPGASPTFEGTYAGAYYPAQGVQ  
 FPTGVAPAPVLMNQPPQIAPKRERTIRIRDPNQGGKDITEEIMSGARTASTPTPPQT  
 GGGLEPQANGETPQVAVIVRPDDRSQGAI IADRPGLPGPEHSPSESQSSSPSTPSPS  
 PVLEPGSEPNLAVLSIPGDTMTTIQMSVEESTPISRETGEPLYRLSPEPTPLAEP ILEV  
 EVTLSEKVPPESEFSSSPLQAPTPLASHTVEIHEPNMGVPSDELPEVESSPELAPPPA  
 CPSESVPVPIAPTAQPEELLNGAPSPPAVDLSPVSEPEEQAKEVTASMAPPTIPSATPA  
 TAPSATSPAQEEMEEEEEEEEEGEAGEAGEAESEKGGEEELPPESTPIPANLSQNLEA  
 AAATQVAVSVPRRRRIKELNKKAEAVGDLDDAFKEANPAVPEVENQPPAGSNPGPESE  
 GSGVPPRPEEADETWDSKEDIHNAENIQPGEQKYEYKSDQWKPLNLEEKRYDREFL  
 LGFQFI FASMQKPEGLPHISDVVLDKANKTPLRPLDPTRLQGINCQPDFTPTSFANLGR  
 TTLSTRGPPRGPGGELPRGPAGLGPRRSQGPRKEPRKIIATVLMTEDIKLNKA EKA  
 WKPSSKRTAADKDRGEEDADGSKTQDLFRVRVSI LNKLTQMFMQQLMKQVTLALDTE  
 ERLKGVLDLIFEKAISEPNFVAYANMCRCLMALKVPTTEKPTVTNFRKLLNRCQK  
 EFEDKDDDEVFEKKQKEMDEAATAEERGLKEELEEARDIARRRSLGNIKFIEGELFK  
 LKMLTEAIMHDCVVKLLKNHDEESLECLCRLLTTIGKDLDFEAKAPRMDQYFNQMEKI  
 IKEKKTSSRI RFMLQDVLDLRGSNWVPRRGDQGP KTI DQIHKEAEEMEEHREHIKVQQL  
 MAKGSKDRGGPPGPPI SRGLPLVDDGGWNTVPI SKGSRPIDTSRLTKITKPGSIDSN  
 NQLEFAPGGRLSWGKGSSGGSGAKPSDAASEAARPATSTLNRF SALQQAVPTESDNR  
 VVQRSSLSRERGEKAGDRGDRLE RSE RGGDRGDRLD RARTPATKRSFSKEVEERSRER  
 PSQPEGLRKAASLTEDRDRGRDAVKREAA LPPVSP LKAALSEEELEKSKAIIEEYLH  
 LNDMKEAVQCQVELASPSLLFI FVRHGVSTLERSAIAREHMGQLLHQLLCAGHLSTA  
 QYYQGLYEILELAEDMEIDI PHVWLYLAELVTPILQEGGVPMGELFREITKPLRPLGK  
 AASLLEILGLLCKSMGPKKVGTLWREAGLSWKEFLPEGQDIGAFVAEQKVEYTLGEE  
 SEAPGQRALPSEELNRQLEKLLKEGSSNQRFVDWIEANLSEQQIVSNTLVRAIMTAVC  
 YSAII FETPLRVDVAVLKARAKLLQKYLCEQKELQALYALQALVVTLEQPPNLLRMF  
 FDALYDEDVVKEDAFYSWESSKDPAEQQGKGVALKSVTAFFKWLREAEESDHN

кДНК: 1 cggcgccgca gatcgcccg cgcggctccg cccctcgcg cggtcacgtg gggcgccgg  
 61 ctgcgccctgc ggagaagcgg tggccgccga gcgggatctg tgcggggagc cggaaatggt  
 121 tgtggactac gtctgtgctg ctgctgctgg ctcggcccg cggactgaag gagactgaag  
 181 gccctcggat gcccagaacc tgtaggccgc accgtggact tgttcttaat cgaggggggtg  
 241 ctgggggggac cctgatgtgg caccaaatga aatgaacaaa gctccacagt ccacaggccc  
 301 cccacccgcc ccatccccc gactcccaca gccagcggtt ccccgggggc agacagcgcc  
 361 ggtggtgttc agtacgccac aagcgacaca aatgaacacg ccttctcagc cccgccaggg  
 421 aggattcagg tctctgcagc acttctaccc tagccggggc cagcccccga gcagtgcagc  
 481 ctcccagatg cagagtgcag cccctgccc cccctggccc gctgcccag tctaccctgc  
 541 tggatcccaa gtaatgatga tcccttccca gatctcctac ccagcctccc agggggccta  
 601 ctacatccct ggacaggggc gttccacata cgttgtccc acacagcagt accctgtgca  
 661 gccaggagcc ccaggcttct atccagggtgc aagccctaca gaatttgga cctacgtgg  
 721 cgctactat ccagcccaag ggggtgcagca gtttccact ggcgtggccc ccgcccagt  
 781 tttgatgaac cagccacccc agattgctcc caagaggag cgtaagacga tccgaattcg  
 841 agatccaaac caaggaggaa aggatatcac agaggagatc atgtctgggg ccgcactgc  
 901 ctccacaccc acccctcccc agacgggagg cggctctggag cctcaagcta atggggagac  
 961 gccccagggt gctgtcattg tccggccaga tgaccggtca cagggagcaa tcattgctga  
 1021 ccggccaggg ctgcctggcc cagagcatag cccttcagaa tcccagcctt cgtcgcttc  
 1081 tccgacccca tcaccatccc cagtcttggg accgggggtc gagcctaata tcgcagtcct

1141 ctctatttcct ggggacacta tgacaactat acaaatgtct gtagaagaat caacccccat  
 1201 ctcccgtaga actgggggagc catatcgccct ctctccagaa cccactcctc tcgcccgaacc  
 1261 cactactggaa gtagaagtga cacttagcaa accggttcca gaatctgagt tttcttccag  
 1321 tcctctccag gctcccacc ctttggcatc tcacacagtg gaaattcatg agcctaattg  
 1381 catgggtccca tctgaagatc tggaaccaga ggtggagtca agcccagagc ttgctcctcc  
 1441 ccagacttgc ccctccgaat cccctgtgcc cattgctcca actgcccac ctagggaact  
 1501 gctcaacgga gccccctcg caccagctgt ggacttaagc ccagtcagtg agccagagga  
 1561 gcaggccaag gaggtgacag catcaatggc gccccccacc atccccctcg ctactccagc  
 1621 tacggctcct tcagctactt cccagctca ggaggaggaa atggaagaag aagaagaaga  
 1681 ggaagaagga gaagcaggag aagcaggaga agctgagagt gagaaggag gagaggaact  
 1741 gctcccccca gagagtacc ctattccagc caacttgtct cagaatttgg aggcagcagc  
 1801 agccactcaa gtggcagtat ctgtgccaaa gaggagacgg aaaattaaag agctaaataa  
 1861 gaaggaggct gttggagacc ttctggatgc cttcaaggag gcgaaccgg cagtaaccaga  
 1921 ggtgaaaaat cagcctcctg caggcagcaa tccaggccca gagtctgagg gcagtgggtg  
 1981 gccccacgt cctgagggaag cagatgagac ctgggactca aaggaagaca aaattcacaa  
 2041 tgctgagaac atccagcccg gggaacagaa gtatgaatat aagtcagatc agtggagcc  
 2101 tctaaacctg gaggagaaaa aacgttacga ccgtgagttc ctgcttggtt gtcatttcat  
 2161 ctttggcagt atgcagaagc cagagggatt gccacatatt agtgacgtgg tgctggacaa  
 2221 ggccaataaa acaccactgc ggccactgga tcccactaga ctacaaggca taaattgtgg  
 2281 ccagacttcc actccatcct ttgccaacct tggccggaca acccttagca cccgtgggcc  
 2341 ccaagggggt gggccaggtg gggaagctgcc ccgtgggccc gctggcctg gaccccggcg  
 2401 ctctcagcag ggaccccgaa aagaaccacg caagatcatt gccacagtg gccacagtg  
 2461 agatataaaa ctgaacaaag cagagaaagc ctggaacccc agcagcaagc ggacggcggc  
 2521 tgataaggat cgagggggaag aagatgctga tggcagcaaa acccaggacc tattccgag  
 2581 gylgcygclcc alccclgaata aacagacacc ccagatgllc cagcagctga tgaagcaagl  
 2641 gacgcagctg gccatcgaca ccgaggaacg cctcaaagg gtcattgacc tcatttttga  
 2701 gaaggccatt tcagagccca acttctctgt ggcctatgcc aacatgtgcc gctgcctcat  
 2761 ggcgctgaaa gtgccacta cggaaaagcc aacagtgact gtgaacttcc gaaagctggt  
 2821 gttgaatcga tgtcagaagg agtttgagaa agacaaagat gatgatgagg tttttgagaa  
 2881 gaagcaaaaa gagatggatg aagctgctac ggacagaggaa cgaggacgccc tgaaggaaga  
 2941 gctggaagag gctcgggaca tagccggcg gcgctcttta gggaatatca agtttattgg  
 3001 agagtgtgtc aaactgaaga tgttaacaga ggcaataatg catgactgtg ttggtcaaact  
 3061 gcttaagaac catgatgaag agtcccttga gtgccttgt cgtctgtcca ccaccattgg  
 3121 caaagacctg gactttgaaa aagccaagcc ccgaatggat cagtatttca accagatgga  
 3181 aaaaatcatt aaagaaaaga agacgtcatc ccgcatccgc tttatgctgc aggcgtgct  
 3241 ggatctgcga gggagcaatt ggggtccacg ccgaggggat cagggtccca agaccattga  
 3301 ccagatccat aaggaggctg agatggaaga acatcgagag cacatcaaaag tgcagcagct  
 3361 catggccaag ggcagtgaac agcgtcgggg cggtcctcca ggccctccca tcagccgtgg  
 3421 acttccccct gtggatgatg gtggctggaa cacagttccc atcagcaaaag gtgagccgcc  
 3481 cattgacacc tcacgactca ccaagatcac caagcctggc tccatcgatt ctaacaacca  
 3541 gctcttttga cctggagggc gactgagctg gggcaagggc agcagcgag gctcaggagc  
 3601 caagccctca gacgcagcat cagaagctgc tcgcccagct actagtactt tgaatcgctt  
 3661 ctacgcccct caacaagcgg taccacaga aagcacagat aatagacgtg tgggtcagag  
 3721 gagttagctt agccgagaa gaggcgagaa agctggagac cgaggagacc gcctagagcg  
 3781 gagtgaacgg ggaggggacc gtggggaccg gcttgatcgt gcgaggacac ctgctacca  
 3841 gcggagcttc agcaaggaag tggaggagcg gactagagaa cggccctccc agcctgaggg  
 3901 gctgcgcaag gcagctagc tcacggagga tcgggaccgt gggcgggatg ccgtgaagcg  
 3961 agaagctgcc ctacccccag tgagccccct gaaggcggct ctctctgagg aggagttaga  
 4021 gaagaaatcc aaggctatca ttgaggaata tctccatctc aatgacatga aagaggcagt  
 4081 ccagtgcgtg caggagctgg cctcaccctc cttgtctctc atctttgtac ggcattgggt  
 4141 cgagtctacg ctggagcgca gtgccattgc tcgtgagcat atggggcagc tgctgcacca  
 4201 gctgctctgt gctgggcatc tgtctactgc tcagtactac caagggttgt atgaaatctt  
 4261 ggaattggct gaggacatgg aaattgacat ccccccagtg tggctctacc tagcggaaact  
 4321 ggtaacaccc attctgcagg aagggtgggt gcccatgggg gagctgttca gggagattac  
 4381 aaagcctctg agaccgttgg gcaaagctgc ttcctgttg ctggagatcc tgggcctcct  
 4441 gtgcaaaaag atgggtccta aaaagggtgg gacgctgtgg cgagaagccg ggcttagctg  
 4501 gaaggaattt ctacctgaag gccaggacat tgggtgcattc gtcgctgaac agaagggtga  
 4561 gtataccctg ggagaggagt cggaagcccc tggccagagg gcaactccct ccgaggagct  
 4621 gaacaggcag ctggagaagc tgctgaagga gggcagcagt aaccagcggg tggtcgactg  
 4681 gatagaggcc aacctgagt agcagcagat agtatccaac acgttagttc gagccctcat  
 4741 gacggctgtc tgctattctg caattatttt tgagactccc ctccgagtg acgttgacgt

4801 gctgaaagcg cgagcgaagc tgctgcagaa atacctgtgt gacgagcaga aggagctaca  
 4861 ggcgctctac gccctccagg ccctttagt gaccttagaa cagcctccca acctgctgcg  
 4921 gatgttcttt gacgcactgt atgacgagga cgtggtgaag gaggatgcct tctacagttg  
 4981 ggagagtagc aaggaccccg ctgagcagca gggcaagggt gtggccctta aatctgtcac  
 5041 agccttcttc aagtggctcc gtgaagcaga ggaggagtct gaccacaact gagggtggt  
 5101 ggggccgggg acctggagcc ccatggacac acagatggcc cggctagccg cctggactgc  
 5161 agggggggcg cagcagcgcc ggtggcagt ggtgcctgta gtgtgatgtg tctgaactaa  
 5221 taaagtggct gaagaggcag gatggcttgg ggctgctgg gccccctcc aggatgccgc  
 5281 cagggtgccc tctcctcccc ctggggcaca gagatatatt atataaaag tcttgaaatt  
 5341 tgggtgtgtc tgggggtggg aggggcacca acgctgccc ctggggctct tttttttatt  
 5401 ttctgaaaat cactctcggg actgccgtcc tcgctgctgg gggcatatgc cccagccctt  
 5461 gtaccacccc tgctgttgcc tgggcagggg gaaggggggg cacggtgcct gtaattatta  
 5521 aacatgaatt caattaagct caaaaaaaaa aaaaaaaaaa  
 //

ЛОКУС NM\_004953 (изоформа 4)  
 АК /трансляция="MSGARTASTPTPPQTGGGLEPQANGETPQVAVIVRPDDRSQGA  
 IADRPGLPREHSPSESQSSSPSPSPSPVLEPGSEPNLAVLSIPGDMTTIQMSVE  
 ESTPISRETGEPIYRLSPEPTPLAEPILEVEVTLSPKVPSESEFSSSPLQAPTPLASHTV  
 EIHPNPMVPSSEDLPEVESSPELAPPPACPSVPPIAPTAQPEELLNGAPSPPAVD  
 LSPVSEPEQAKEVTASMAPPTIPSATPATAPSATSPAQEEEEEEEEEEEGEAGEAG  
 EAESKKGGEELLPESTPIPANLSQNLAAAATQVAVSVPKRRRKIKELNKKEAVGDL  
 LDAFKEANPAVPEVENQPPAGSNPGPESEGSVPPRPEEADETWDSDKEDIHNAENIQ  
 PGEQKYEYKSDQWKPLNLEKKRYDRELLGFQFIFASMQKPEGLPHISDVVLKANK  
 TPLRPLDPTRLQGINCGPDTFSPFANLGRITLSTRGPPRGPGGELPRGPQAGLGP  
 SQQGPKEPRKI IATVLMTEDI KLNKA EKAWKPSSKRTAADKDRGEEDADGSKTQDLF  
 RRVRSILNKLTQPMFQQLMKQVTQLAIDTEERLKGVIDLIFEKAI SEPNFVAYANMC  
 RCLMALKVPTTEKPTVTNFRKLLNRCQKEFEKDKDDDEVFEKKQKEMDEAATAEER  
 GRLEKELEARDIARRRSLGNIKFIGELFKLKMTEAIMHDCVVKLLKNHDEESLECL  
 CRLTTIGKDLDFEKAKPRMDQYFNQMEKIIKEKKTSSRIRFMLQDVLDLRGSNWVPR  
 RGDQGPKTIDQIHKEAEMEEHREHIKVQQLMAKGSDDRGGPPGPPISRGLPLVDDGG  
 WNTVPI SKGRPIDTSRLTKITKPGSIDSNNQLFAPGRLSWGKSSGGSGAKPSDAA  
 SEAAPATSTLNRFSALQQAVPTTESTDNRRVVQRSSLSRERGEKAGDRGDRRLERSER  
 GDRGDRDLDRARTPATKRSFSKEVEERSRERPSQPEGLRKAASLTEDRDRGRDAVKREA  
 ALPPVSPLKAALSEEELEKKS KAIIEEYLHLNDMKEAVQCVQELASPSLLFIFVRHGV  
 ESTLERSAIAREHMGQLLHQLLCAGHLSTAQYYQGLYEILELAEDMEIDIPHWLYLA  
 ELVTPILQEGGVPMGELFREITKPLRPLGKAASLLLEILGLLCKSMGPKKVGLTWREA  
 GLSWKEFLPEGQDIGAFVAEQKVEYTLGEESEAPGQRALPSEELNRQLEKLLKEGSSN  
 QRVFDWIEANLSEQQIVSNTLVRALMTAVCYS AII FETPLRVDVAVLKARAKLLQKYL  
 CDEQKELQALYALQALVVTLEQPPNLLRMFFDALYDEDDVVKEDAFYSWESSKDPAEQQ  
 KGKVALKSVTAFFKWLREAEESDHN"

кДНК: 1 tctagatggg ggtcctgggc cccagggtgt gcagccactg acttggggac tgctggtggg  
 61 gtagggatga gggagggagg ggcattgtga tgtacagggc tgctctgtga gatcaagggg  
 121 ctcttaaggg tgggagctgg ggcagggact acgagagcag ccagatgggc tgaaagtggg  
 181 actcaagggg tttctggcac ctacctacct gcttcccgtc ggggggtggg gagttggccc  
 241 agagtcttaa gattggggca ggggtggagag gtgggctctt cctgcttccc actcatctta  
 301 tagctttctt tcccagatc cgaattcgag atccaaacca aggaggaaag gatatacag  
 361 aggagatcat gtctggggcc cgcactgcct ccacaccac ccctccccag acgggaggcg  
 421 gtctggagcc tcaagctaag ggggagacgc cccaggttgc tgtcatgtgc cggccagatg  
 481 accggtcaca gggagcaatc attgtgacc ggccagggtc gcctggcccc gagcatagcc  
 541 cttcagaatc ccagccttcg tcgccttctc cgacccatc accatcccc gtcttggaa  
 601 cggggtctga gcctaattct gcagtcctct ctattcctgg ggacactatg acaactatac  
 661 aaatgtctgt agaagaatca acccccatct cccgtgaaac tggggagcca tatcgctctt  
 721 ctccagaacc cactcctctc gccgaaccca tactggaagt agaagtgaca cttagcaaac  
 781 cggttccaga atctgagttt tcttcagtc ctctccaggc tcccaccctt ttggcatctc  
 841 acacagtga aattcatgag cctaattggc tgggtccatc tgaagatctg gaaccagagg  
 901 tggagtcaag cccagagctt gctcctcccc cagcttgccc ctccgaatcc cctgtgcccc  
 961 ttgctccaac tgcccaacct gaggaactgc tcaacggagc cccctcgcca ccagctgtgg  
 1021 acttaagccc agtcagttag ccagaggagc agggcaagga ggtgacagca tcaatggcgc  
 1081 cccccaccat cccctctgct actccagcta cggctccttc agctacttcc ccagctcagg  
 1141 aggaggaaat ggaagaagaa gaagaaggag aagaaggaga agcaggagaa gcaggagaa

1201 ctgagagtga gaaaggagga gaggaactgc tccccccaga gagtaccctt attccagcca  
 1261 acttgtctca gaatttggag gcagcagcag ccactcaagt ggcagtatct gtgccaaaga  
 1321 ggagacgga aattaaggag ctaaataaga aggaaggctgt tggagacctt ctggatgcct  
 1381 tcaaggaggc gaacccggca gtaccagagg tggaaaatca gcctcctgca ggcagcaatc  
 1441 caggcccaga gtctgagggc agtgggtgtgc cccacgtcc tgaggaaagca gatgagacct  
 1501 gggactcaaa ggaagacaaa attcacaatg ctgagaacat ccagcccggg gaacagaagt  
 1561 atgaatataa gtcagatcag ttgaagcctc taaacctaga ggagaaaaaa cgttacgacc  
 1621 gtgagttcct gcttggtttt cagttcatct ttgccagtat gcagaagcca gagggtattg  
 1681 cacatatcag tgacgtgggt ctggacaagg ccaataaaac accactgcgg ccactggatc  
 1741 ccactagact acaaggcata aattgtggcc cagacttcac tccatccttt gccaaccttg  
 1801 gccggacaac ccttagcacc cgtgggcccc caaggggtgg gccaggtggg gagctgcccc  
 1861 gtgggccgca ggctggcctg ggaccccggc gctctcagca gggaccccga aaagaaccac  
 1921 gcaagatcat tgccacagtg ttaatgaccg aagatataaa actgaacaaa gcagagaaaag  
 1981 cctggaaaacc cagcagcaag cggacggcgg ctgataagga tcgaggggaa gaagatgctg  
 2041 atggcagcaa aacccaggac ctattccgca ggggtgcgctc catcctgaat aaactgacac  
 2101 ccagatgtt ccagcagctg atgaagcaag tgacgcagct ggccatcgac accgaggaac  
 2161 gcctcaaaag ggtcattgac ctcatTTTTT agaagggcat ttcagagccc aacttctctg  
 2221 tggcctatgc caacatgtgc cgctgcctca tggcgtgtaa agtgcccact acggaaaagc  
 2281 caacagtgcac tgtgaacttc cgaagctgtg tgttgaatcg atgtcagaag gagtttgaga  
 2341 aagacaaaaga tgatgatgag gtttttgaga agaagcaaaa agagatggga agactgcta  
 2401 cggcagagga acgaggacgc ctgaaggaag agctggaaga ggctcgggac atagcccggc  
 2461 ggcgctcttt aggaataatc aagtttattg gagagtgtgt caaactgaag atgttaacag  
 2521 aggaataat gcactgactgt gtggtcaaac tgcttaagaa ccatgatgaa gagtcccttg  
 2581 agtgcctttg tctgtctgctc accaccattg gcaaaagacct ggactttgaa aaagccaagc  
 2641 ccggaatgga tcagtatttc aaccagatgg aaaaaatcat taaagaaaaa aagacgtcat  
 2701 cccgcatccg ctttatgctg caggacgtgc tggatctgct agggagcaat tgggtgccac  
 2761 gccgagggga tcaggggtccc aagaccattg accagatcca taaggaggct gagatggaag  
 2821 aacatcgaga gcacatcaaa gtgcagcagc tcatggccaa gggcagtgcac aagcgtcggg  
 2881 gcggtcctcc aggcctcctc atcagccgtg gacttcccct tgtggatgat ggtggctgga  
 2941 acacagttcc catcagcaaa ggtagccgcc ccattgacac ctcacgactc accaagatca  
 3001 ccaagcctgg ctccatcgat tctaacaacc agctctttgc acctggaggg cgactgagct  
 3061 ggggcaaggg cagcagcgga ggctcaggag ccaagccctc agacgcagca tcagaagctg  
 3121 ctgcgccagc tactagtact ttgaatcgct tctcagccct tcaacaagcg gtaccacag  
 3181 aaagcacaga taatagacgt gtggtgcaga ggagttagct gagccgagaa cgagcgaga  
 3241 aagctggaga ccgaggagac cgcctagagc ggagtgaacg gggaggggac cgtggggacc  
 3301 ggcttgatcg tgcgcggaca cctgctacca agcggagctt cagcaaggaa gtggaggagc  
 3361 ggagtagaga acggccctcc cagcctgagg ggctgcgcaa ggcagctagc ctcacggagg  
 3421 atcgggacgg tgggcgggat gccgtgaagc gagaagctgc cctaccccc gtgagcccc  
 3481 tgaaggcggc tctctctgag gaggagttag agaagaaatc caaggctatc attgaggaat  
 3541 atctccatct caatgacatg aaagaggcag tccagtgcgt gcaggagctg gcctcaccct  
 3601 ccttgcctct catctttgta cggcatgggt tgcagtctac gctggagcgc agtgccattg  
 3661 ctcgtagca tatggggcag ctgctgcacc agctgctctg tgctgggcat ctgtctactg  
 3721 ctcagtacta ccaaggggtg tatgaaatct tggaaattggc tgaggacatg gaaattgaca  
 3781 tccccacagt gtggctctac ctacgggaac tggtaacacc cattctgcag gaaggtgggg  
 3841 tgcccatggg ggagctgttc agggagatta caaagcctct gagaccgttg ggcaagctg  
 3901 cttccctgtt gctggagatc ctgggcctcc tgtgcaaaag catgggtcct aaaaaggtgg  
 3961 ggacgctgtg gcgagaagcc gggcttagct ggaaggaatt tctacctgaa ggccaggaca  
 4021 ttggtgcatt cgtcgtgtaa cagaaggtgg agtataccct gggagaggag tcggaagccc  
 4081 ctggccagag ggcactcccc tccgaggagc tgaacaggca gctggagaag ctgctgaagg  
 4141 agggcagcag taaccagcgg gtgttcgact ggatagaggc caacctgagt gagcagcaga  
 4201 tagtatccaa cacgttagtt cgagccctca tgacggctgt ctgctattct gcaattatct  
 4261 ttgagactcc cctccgagtg gacgttgacg tgcgtgaaagc gcgagcgaag ctgctgcaga  
 4321 aatacctgtg tgacgagcag aaggagctac aggcgtctca cgcctccag gccctgtgag  
 4381 tgaccttaga acagcctccc aacctgctgc ggatgttctt tgacgcactg tatgacgagg  
 4441 acgtgggtgaa ggaggatgcc ttctacagtt gggagagtag caaggacccc gctgagcagc  
 4501 agggcaaggg tgtggccctt aaatctgtca cagccttctt caagtggctc cgtgaagcag  
 4561 aggaggagtc tgaccacaac tgagggtctg tggggccggg gacctggagc ccatggaca  
 4621 cacagatggc ccgcttagcc gcctggactg cagggggggc gcagcagcgg cggtggcagt  
 4681 ggggtgcctg agtgtgatgt gtctgaacta ataaagtggc tgaagaggca ggtggcttg  
 4741 gggctgcctg ggcctccctc caggatgccg ccaggtgtcc ctctcctccc cctggggcac  
 4801 agagatatat tatatataaa gtcttgaaat ttggtgtgtc ttgggtggg gaggggcacc

4861 aacgcctgcc cctgggggtcc ttttttttat tttctgaaaa tcaactctcg gactgccgtc  
 4921 ctgctgctg ggggcatatg cccagcccc tgtaccaccc ctgctgttgc ctgggagggg  
 4981 ggaagggggg gcacgggtgcc tgtaattatt aaacatgaat tcaattaagc tcaaaaaaaa  
 5041 aaaaaaaaaa

//

ЛОКУС NM\_182917 (изоформа 1)  
 АК /трансляция="MNKAPQSTGPPAPSPGLPQPAFPPGQTAPVVFSTPQATQMNT  
 SQPRQHFYPSRAQPPSSAASRVQSAAPARPGPAHVYPAGSQVMMIPSQISYPASQGA  
 YYIPGQGRSTYVPTQQYPVQPGAPGFYPGASPTFEGTYAGAYYPAQGVQQFPTGVAP  
 APVLMNQPPQIAPKRERKTIIRIDPNQGGKDITEEIMSGARTASTPTPTPQTGGGLEPQ  
 ANGETPQVAVIVRPDDRSQGAI IADRPGLPGPEHSPSESQSSPSPTPSPSPVLEPGS  
 EENLAVLSIPGDTMTTIQMSVEESTPISRETGEPEYRLSPEPTPLAEPILLEVETLSKP  
 VFESEFSSSPLOAPTPLASHTVEIHEPNGMVPSEDLPEVESSPELAPFPACPSSESPV  
 PIAPTAQPEELNGAPSPPAVDLSPVSEPEEQAKEVTASMAPPTIPSATPATAPSATS  
 PAQEEEEEEEEEEGEAGEAGEAESEKGGELLPESTPIPANLSQNLAAAAATQVA  
 VSVPKRRRKIKELNKKKAVGDLDAFKKANPAVPEVENQPPAGSNPGPESESGVPPR  
 PEEADETWDKEDIHNAENIQPGEQKYEYKSDQWKPLNLEKKRYDRELLGFQFIF  
 ASMQKPEGLPHISDVVLKANKTPLRPLDPTRLQGINCGPDTFSPFANLGRITLSTRG  
 PPRGGPGGELPRGPQAGLPPRRSQGPRKEPRKIIATVLMTEDIKLNKAEKAWKPSK  
 RTAACKDRGEEDADGSKTQDLFRRVRSILNKLTPQMFQQLMKQVTLAIDTEERLKV  
 IDLIFEKAISEPNFSVAYANMCRCLMALKVPTTEKPTVTNFRKLLNRCQKEFEKDK  
 DDDEVFEKKQKEMDEAATAEERGLKEELEEARDIARRSLGNIKFIGELFKLKLMT  
 AIMHDCVVKLLKNHDEESLECLCLLTITIGKDLDFEAKAKPMDQYFNQMEKIIKEKKT  
 SSRIRFMLQDVLDRGSNWVPRRGDQGPKTIDQIHKEAEMEEHREHIKVQQLMAKGS  
 KRRGGPPGPPISRGLPLVDDGGWNTVPI SKGSRPIDTSRLTKITKPGSIDSNQLFAP  
 GGRLSWGKSSGGSGAKPSDAASEAAPATSTLNRFSALQQAVPTESTDNRRRVQRSS  
 LSRERGEKAGDRDRLERSERGGDRGDRDLDRARTPATKRSFSKEVEERSRERP  
 LKKAASLTEDRDRGRDAVKREAAALPPVSPKKAALSEEELEKKSIIIEEYHLNDMKE  
 AVQCVQELASPSLLFI FVRHGVSTLERSAIAREHMGQLLHQLLCAGHLSTAQYYQGL  
 YEILELAEDMEIDI PHVWLYLAELVTPILQEGGVPMGELFREITKPLRPLGKAASLLL  
 EILGLLCKSMGPKKVGTLWREAGLSWKEFLPEGQDIGAFVAEQKVEYTLGEESAPGQ  
 RALPSEELNRQLEKLLKEGSSNQRFVDWIEANLSEQQIVSNLTVRALMTAVCYSAIIF  
 ETPLRVDVAVLKARAKLLQKYLCDQKELQALYALQALVVTLEQPPNLLRMFFDALYD  
 EDVVKEDAFYSWESSKDPAEQQGKGVALKSVTAFFKWLREAEESDHN

кДНК: 1 tcaacttgctt gaaacccggt cctcgacggc cgcgcgccgc ctggcctttt agggcctgac  
 61 tccccgccctt cctggcctac actcctgggc ggcggcaggc ctagcttctg gccagtgcc  
 121 ggttccccgg cggcaggcgt atcctgtgtg cccctgggcc aggccgaac ccggtgtccc  
 181 cgggtggggg gtggggacgc cacggccgaa gcagctagct ccgttcgtga tccgggagcc  
 241 tgggtgccagc gagacctgga atttccggtc tggttggtct ggggcccccgc ggagccaggt  
 301 tgataccctc acctcccaac cccaggccct cggatgcccc gaacctgtag gccgcaccgt  
 361 ggacttggtc ttaatcgagg ggggtgctggg gggaccctga tgtggcacca aatgaaatga  
 421 acaaagctcc acagtccaca gggccccac cgcgcccatc ccccgactc ccacagccag  
 481 cgtttccccc ggggcagaca gcgcgggtgg tgttcagtac gccacaagcg acacaaatga  
 541 acacgccttc tcagccccgc cagcacttct accctagccg ggcccagccc ccgagcagtg  
 601 cagcctcccc agtgccagagt gcagcccctg cccgcctctg cccagctgcc catgtctacc  
 661 ctgctggatc ccaagtaatg atgatccctt cccagatctc ctaccagcc tcccaggggg  
 721 cctactacat cctgggacag gggcggtcca catacgttgt cccgacacag cagtaccctg  
 781 tgagccagg agccccaggc ttctatccag gtgcaagccc tacagaattt gggacctacg  
 841 ctggcgcccta ctatccagcc caaggggtgc agcagtttcc cactggcgtg gccccgccc  
 901 cagttttgat gaaccagcca cccagattg ctcccaagag ggagcgtaag acgatccgaa  
 961 ttcgagatcc aaaccaagga ggaaaggata tcacagagga gatcatgtct ggggcccgca  
 1021 ctgcctccac acccaccct cccagacgg gaggcggtct ggagcctcaa gctaattggg  
 1081 agacgcccc ggttgctgtc attgtccggc cagatgaccg gtcacaggga gcaatcattg  
 1141 ctgaccggcc agggctgcct ggcccagagc atagcccttc agaatcccag ccttcgtcgc  
 1201 cttctccgac cccatcacca tccccagctc tggaaccggg gtctgagcct aatctcgag  
 1261 tcctctctat tcctggggac actatgacaa ctatacaaat gtctgtagaa gaatcaaccc  
 1321 ccatctcccg tgaactggg gagccatata gcctctctcc agaaccact cctctcgccg  
 1381 aaccatact ggaagtagaa gtgacactta gcaaaccggg tccagaatct gagttttctt  
 1441 ccagtcctct ccaggctccc acccctttgg catctcacac agtggaatt catgagccta  
 1501 atggcatggt cccatctgaa gatctggaac cagaggtgga gtcaagccca gagcttgctc

1561 ctccccccagc ttgccccctcc gaatccccctg tgcccatttgc tccaactgcc caacctgagg  
 1621 aactgctcaa cggagccccc tcgccaccag ctgtggactt aagcccagtc agtgagccag  
 1681 agggagcagg caaggaggtg acagcatcaa tggcgccccc caccatcccc tctgtactc  
 1741 cagctacggc tccttcagct acttccccag ctccaggagga ggaaatggaa gaagaagaag  
 1801 aagaggaaga aggagaagca ggagaagcag gagaagctga gagtggagaaa ggaggagagg  
 1861 aactgctccc ccagagaggt acccctattc cagccaactt gtctcagaat ttggaggcag  
 1921 cagcagccac tcaagtggca gtatctgtgc caaagaggag acggaaaatt aaggagctaa  
 1981 ataagaagga ggctgttga gaccttctgg atgccttcaa ggaggcgaac ccggcagtac  
 2041 cagaggtgga aaatcagcct cctgcaggca gcaatccagg cccagagtct gagggcagtg  
 2101 gtgtgcccc acgtcctgag gaagcagatg agacctggga ctcaaaggaa gacaaaattc  
 2161 acaatgtcga gaacatccag cccgggggaa agaagtatga atataagtca gatcagtgga  
 2221 agcctctaaa cctagaggag aaaaaacgtt acgaccgtga gttcctgctt ggctttcagt  
 2281 tcatctttgc cagtatgcag aagccagagg gattgccaca tatcagtgcac gtggtgctgg  
 2341 acaaggccaa taaaacacca ctgcggccac tggatccccc tagactacaa ggcataaatt  
 2401 gtggcccaga cttcactcca tcctttgcca accttggccg gacaaacctt agcaccctg  
 2461 ggcctccaa ggggtgggca ggtggggagc tgccccgtgg gcccgagggt gccctgggag  
 2521 cccggcgctc tcagcaggga ccccgaaaag aaccacgcaa gatcattgcc acagtgttaa  
 2581 tgaccgaaga tataaaactg acaaaagcag agaagcctg gaaacccagc agcaagcggg  
 2641 cggcggtcga taaggatcga ggggaagaag atgctgatgg cagcaaaacc caggacctat  
 2701 tcgcagggg cgcctccatc ctgaataaac tgacacccca gatgttccag gatctgtatg  
 2761 agcaagtgc gacgtggcc atcgacaccg aggaacgcct caaagggggtc attgacctca  
 2821 tttttgagaa ggccatttca gagcccaact tctctgtggc ctatgccaac atgtgccgct  
 2881 gcctcatggc gctgaaagt cccactacgg aaaagccaac agtgactgtg aacttccgaa  
 2941 agctgttgtt gaatcgatgt cagaaggagt ttgagaaaga caaagatgat gatgaggttt  
 3001 ttgagaagaa gcaaaaagag atggatgaag ctgctacggc agagggaacga tatttcaact  
 3061 aggaagagct ggaagaggct cgggacatag cccggcgggc ctctttaggg aatatcaagt  
 3121 ttattggaga gttgttcaaa ctgaagatgt taacagaggc aataatgcat gactgtgtgg  
 3181 tcaaactgct taagaacct gatgaagagt cctttagtg cctttgtctg ctgtccacca  
 3241 ccattggcaa agacctggac tttgaaaaag ccaagccccc aatggatcag tatttcaacc  
 3301 agatggaaaa aatcattaaa gaaaagaaga cgtcatcccc catccgcttt atgtgcagg  
 3361 acgtgctgga tctgcgagg agcaattggg tgccacgcgc aggggatcag ggtcccaaga  
 3421 ccattgacca gatccataag gaggtgaga tggagaaca tcgagagcac atcaaaagtgc  
 3481 agcagctcat ggccaaggc atgacaagc gtcggggcgc tcctccagc cctcccatca  
 3541 gccgtggact tccccctgtg gatgatgggt gctggaacac agttcccatc agcaaaggta  
 3601 gccgccccat tgacacctca cgactacca agatcaccaa gcctggctcc atcgattcta  
 3661 acaaccagct ctttgacact ggagggcgac tgagctgggg caagggcagc agcggaggct  
 3721 caggagccaa gccctcagac gcagcatcag aagctgctcg cccagctact agtactttga  
 3781 atcgcttctc agcccttcaa caagcggtac ccacagaaaag cacagataat agacgtgtgg  
 3841 tgcagaggag tagcttgagc cgagaacgag gcgagaaagc tggagaccga ggagaccgcc  
 3901 tagagcggag tgaacgggga ggggaccgtg gggaccggct tgatcgtgcg cggcacactg  
 3961 ctaccaagcg gagcttcagc aaggaagtgg aggagcggag tagagaacgg ccctcccagc  
 4021 ctgaggggct cgcgaaggca gctagcctca cggaggatcg ggaccgtggg cgggatgccg  
 4081 tgaagcgaga agctgcccta cccccagtga gccccctgaa ggcggtcttc tctgaggagg  
 4141 agttagagaa gaaatccaag gctatcattg aggaatatct ccatctcaat gacatgaaag  
 4201 aggcagtcca gtgcgtgcag gagctggcct caccctcctt gctcttcac tttgtacggc  
 4261 atggtgtcga gtctacgtg gagcgacgt ccatgtctcg tgagcatatg gggcagctgc  
 4321 tgcaccagct gctctgtgct gggcatctgt ctactgctca gtactaccaa ggggtgtatg  
 4381 aaatcttga attggctgag gacatggaaa ttgacatccc ccacgtgtgg ctctacctag  
 4441 cggaactggt aacacccatt ctgcaggaaag gtgggggtgc catgggggag ctgttcaggg  
 4501 agattacaaa gcctctgaga ccgttgggca aagctgcttc cctgttgctg gagatcctgg  
 4561 gcctcctgtg caaaagcatg ggtcctaata agtgggggac gctgtggcga gaaagccggc  
 4621 ttagctggaa ggaatttcta cctgaaggcc aggacattgg tgcattcgtc gctgaacaga  
 4681 aggtggagta taccctggga gaggagtcgg aagccctgg ccagagggca ctccccctcg  
 4741 aggagctgaa caggcagctg gagaagctgc tgaaggaggg cagcagtaac cagcgggtgt  
 4801 tcgactggat agaggccaac ctgagtgaac agcagatagt atccaacacg ttagtctgag  
 4861 ccctcatgac ggctgtctgc tattctgcaa ttatttttga gactccccctc cgagtggacg  
 4921 ttgcagtgtc gaaagcgaga gcgaagctgc tgcagaaata cctgtgtgac gagcagaagg  
 4981 agctacaggc gctctacgcc ctccaggccc ttgtagtgc cttagaacag cctcccaacc  
 5041 tgctgcggat gttctttgac gcactgtatg acgaggacgt ggtgaaggag gatgccttct  
 5101 acagttggga gagttagcaag gaccccgctg agcagcaggg caagggtgtg gcccttaaat  
 5161 ctgtcacagc cttcttcaag tggctccgtg aagcagagga ggagtctgac cacaactgag

5221 ggctggtggg gccgggggacc tggagcccca tggacacaca gatggcccgg ctagccgcct  
 5281 ggactgcagg gggggggcag cagcggcggt ggcagtgggt gcctgtagtg tgatgtgtct  
 5341 gaactaataa agtggctgaa gaggcaggat ggcttggggc tgccctggggc cccctccagg  
 5401 atgccgccag gtgtccctct cctccccctg gggcacagag atatatata tataaagtct  
 5461 tgaattttgg tgtgtcttgg ggtggggagg ggcaccaacg cctgcccctg ggggtcctttt  
 5521 ttttattttc tgaatatcac tctcgggact gccgtcctcg ctgctggggg catatgcccc  
 5581 agcccctgta ccaccctgc tgttgcctgg gcagggggaa gggggggcac ggtgcctgta  
 5641 attattaac atgaattcaa ttaagctcaa aaaaaaaaaa aaaaaa  
 //

ЛОКУС NM\_198241 (изоформа 5)  
 АК / трансляция="MNKAPQSTGPPAPSPGLPQPAFPPGQTAPVVFSTPQATQMNT  
 SQPRQHFPYPSRAQPPSSAASRVQSAAPARPGPAHVYPAGSQVMMIPSQISYPASQGA  
 YYIPGQGRSTYVPTQQYVPQPGAPGFYPGASPTFEGTYAGAYYPAGGVQQPFTGVAP  
 APVLMNQFPQIAPKREKTIIRIDPNQGGKDITEIMSGARTASTPTPTTGGGLEPQ  
 ANGETPQVAVIVRPDDRSQGAIIADRPGLPGPEHSPSESPSSPSPSPSPVLEPGS  
 EPNLAVLSIPGDTMTTIQMSVEESTPISRETGEYRLSPEPTPLAEPILEVEVTLKSP  
 VPESFSSSPLQAPTPLASHTVEIHEPNGMVPSLEDLEPEVESSPELAPPPACPSSEPV  
 PIAPTAQPEELLNGAPSPPAVDLSPVSEPEEQAKEVTASMAPPTIPSATPATAPSATS  
 PAQEEEMEEEEEEEGEAGEAGEAESEKGGEEELLPESTPIPANLSQNLAAAATQVA  
 VSVPKRRRKIKELNKKAVGDLDAFKEANPAVPEVENQPPAGSNPGPESESGVPPR  
 PEEADETWDSKEDIHNAENIQPGEQKYEKSDQWKPLNLEKKRYDRELLGFQFIF  
 ASMQKPEGLPHISDVVLDAKANKTPLRLDPTRLQGINCGPDTFSPFANLGRITLSTRG  
 PPRGGPGEELPRGPAGLPPRRSQQGPKEPRKIIATVLMTEDIKLNKAEKAWKPSKR  
 TPAADKDRGEEDADGSKTDLFRVRSLNKLTPQMFQQLMKQVTQLAIDTEERLKGI  
 DLI FEKAI SEPNFSVAYANMCRCLMALKVPTTEKPTVTNFRKLLNRCQKEFEKDKD  
 DDEVFEKKQKEMDEAATAERGRLEKEELEARDIARRSLGNIKFTELFLKMLTEA  
 IMHDCVVKLLKNHDEESLECLRLTTIGKDLDFEAKAPRMDQYFNQMEKIIKEKTS  
 SRI RFLMQDVLDRGSNWVPRRGDQGPKTIDQIHKEAEMEEREHREIKVQQLMAKGS  
 RRGPPGPPI SRGLPLVDDGGWNTVPISKGSRPIDTSRLTKITKPGSIDSNNQLFAPG  
 GRLSWGKSGSGGSAKPSDAASEAARPATSTLNRFSALQQAVPTTESTDNRRVVQRSSL  
 SRERGEKAGDRGDRLESEGGDRGDRDRLDRARTPATKRSFSKEVEERSRERPSQPEGL  
 RKAASLTEDRDRGDAVKREAALPPVSPKKAALSEEELEKSKAII EYHLNDMKEA  
 VQCQVELASPSLLFIFVRHGVESTLERSAIAREHMQQLLHQLLCAGHLSTAQYYQGLY  
 EILELAEDMEIDI PHVWLYLAELVTPILQEGGVPMGELFREITKPLRPLGKAASLLE  
 ILGLLCKSMGPKKVGTLWREAGLSWKEFLPEGQDIGAFVAEQKVEYTLGEESEAPGQR  
 ALPSEELNRQLEKLLKEGSSNQRFWDWIEANLSEQQIVSNTLVRALMTAVCYSAIIFE  
 TPLRVDAVLKARAKLLQKYLCDQKELQALYALQALVVTLEQPPNLLRMFFDALYDE  
 DVVKEDAFYSWESSKDPAEQQGKGVALKSVTAFFKWLREAEESDHN

кДНК: 1 cggcgggcgca gatcgcccgg cgcggtctcg cccctgcgc cggtcacgtg gggcgccgg  
 61 ctgcgcctgc ggagaagcgg tggcgcgcca gcgggatctg tgcggggagc cggaatggg  
 121 tgtggactac gtctgtgcgg ctgcgtgggg ctgcggccgc cggactgaag gagactgaag  
 181 gccctcggat gcccagaacc tgtagggcgc accgtggact tgttcttaat cgaggggggtg  
 241 ctgggggggac cctgatgtgg caccaaatga aatgaacaaa gctccacagt ccacaggccc  
 301 cccaccgcc ccatccccg gactcccaca gccagcgttt ccccggggc agacagcgcc  
 361 ggtggtgttc agtacgccac aagcgacaca aatgaacacg ccttctcagc cccgcagca  
 421 cttctaccct agccggggcc agccccgag cagtgcagcc tcccgagtgc agagtgcagc  
 481 cctgcccgc cctggcccag ctgcccgtgt ctaccctgct ggatcccaag taatgatgat  
 541 cccttcccag atctcctacc cagcctccca gggggcctac tacatccctg gagggggcg  
 601 ttccacatac gttgtcccga cacagcagta ccctgtgcag ccaggagccc caggcttcta  
 661 tccaggtgca agccctacag aatttgggac ctacgctggc gcctactatc cagcccaagg  
 721 ggtgcagcag tttccactg gcgtggcccc cgccccagtt ttgatgaacc agccaccca  
 781 gattgctccc aagagggagc gtaagacgat ccgaattcga gatccaaacc aaggaggaaa  
 841 ggatatcaca gaggagatca tgtctggggc ccgactgcc tccacaccca cccctccca  
 901 gacgggaggg ggtctggagc ctcaagctaa tggggagacg cccaggttg ctgtcattgt  
 961 ccggccagat gaccggtcac agggagcaat cattgctgac cggccagggc tgcctggccc  
 1021 agagcatagc ccttcagaat cccagccttc gtcgccttct ccgaccccat caccatcccc  
 1081 agtcttgaa ccgggggtctg agcctaattct cgcagtcctc tctattcctg gggacactat  
 1141 gacaactata caaatgtctg tagaagaatc aaccccatc tcccgtaaa ctggggagcc  
 1201 atatgcctc tctccagaac ccactcctct cgccgaaccc atactggaag tagaagtgc

1261 acttagcaaaa ccggttccag aatctgagtt ttcttccagt cctctccagg ctcccccccc  
 1321 tttggcatct cacacagtgg aaattcatga gcctaattggc atgggtcccat ctgaagatct  
 1381 ggaaccagag gtggagtgaa gcccagagct tgctcctccc ccagcttgcc cctccgaatc  
 1441 cctgtgcccc attgctccaa ctgcccacc tgaggaaactg ctcaacggag cccctcgcc  
 1501 accagctgtg gacttaagcc cagtcagtga gccagaggag caggccaagg aggtgacagc  
 1561 atcaatggcg cccccacca tcccctctgc tactccagct acggctcctt cagctacttc  
 1621 ccagctcag gaggaggaaa tggagaaga agaagaagag gaagaaggag aagcaggaga  
 1681 agcaggagaa gctgagagtg agaaaggagg agaggaaactg ctccccccag agagtacccc  
 1741 tattccagcc aacttgctctc agaatttgga ggcagcagca gccactcaag tggcagtatc  
 1801 tgtgccaaaag aggagacgga aaattaagga gctaaataag aaggaggctg ttggagacct  
 1861 tctggatgcc ttcaaggagg cgaaccggc agtaccagag gtggaaaatc agcctcctgc  
 1921 aggcagcaat ccaggcccg agtctgaggg cagtgggtgtg ccccccacgtc ctgaggaagc  
 1981 agatgagacc tgggactcaa aggaagacaa aattcacaat gctgagaaca tccagcccg  
 2041 ggaacagaag tatgaatata agtcagatca gtggaagcct ctaaaccctag aggagaaaaa  
 2101 acgttacgac cgtgagttcc tgcttggttt tcagttcatc tttgccagta tgcagaagcc  
 2161 agagggattg ccacatatca gtgacgtggt gctggacaag gccataaaaa cccactgcg  
 2221 gccactggat cccactagac tacaaggcat aaattgtggc ccagacttca ctccatcctt  
 2281 tgccaacctt ggccggacaa cccttagcac ccgtggggcc ccaaggggtg ggccagggtg  
 2341 ggagctgccc cgtggggccg ctggcctggg accccggcgc tctcagcagg gaccccgaaa  
 2401 agaaccacgc aagatcattg ccacagtgtt aatgaccgaa gatataaaa ggaacaaagc  
 2461 agagaaagcc tggaaaccca gcagcaagcg gacggcggct gataaggatc gagggaaga  
 2521 agatgctgat ggcagcaaaa cccaggacct attccgcagg gtgcgctcca tcctgaataa  
 2581 actgacaccc cagatgttcc agcagctgat gaagcaagtg acgcagctgg ccacgcacac  
 2641 cgaggaaacgc ctcaaagggg tcattgacct catttttgag aaggccattt cagagcccaa  
 2701 cttctctgtg gcctatgcca acatgtgccc ctgctcatg gcgctgaaag tgcccactac  
 2761 ggaaaagcca acagtgactg tgaacttccg aaagctgttg ttgaatcgat gtcagaagga  
 2821 gtttgagaaa gacaaagatg atgatgaggt ttttgagaag aagcaaaaag agatggatga  
 2881 agctgctacg gcagaggaac gaggacgcct gaaggaagag ctggaagagc ctcgggacat  
 2941 agcccgccg cgctctttag ggaatatcaa gtttattgga gagtgtgtta aactgaagat  
 3001 gttaacagag gcaataatgc atgactgtgt ggtcaaaactg cttagaacc atgatgaaga  
 3061 gtcccttgag tgcccttgtc gtctgtcac caccattggc aaagacctgg actttgaaaa  
 3121 agccaagccc cgaatggatc agtatttcaa ccagatggaa aaaatcatta aagaaaagaa  
 3181 gacgtcatcc cgcatccgct ttatgtgca ggacgtgctg gatctgcgag ggagcaattg  
 3241 ggtgccacgc cgaggggatc aggttcccaa gaccattgac cagatccata agggagctga  
 3301 gatggaagaa catcgagagc acatcaaagt gcagcagctc atggccaagg gcagtgacaa  
 3361 gcgtcggggc ggtcctccag gccctcccat cagcgtgga cttcccttg tggatgatgg  
 3421 tggttggaac acagttccca tcagcaaaag tagccgcccc attgacacct cagcactcac  
 3481 caagatcacc aagcctggct ccatcgattc taacaaccag ctctttgcac ctggaggcg  
 3541 actgagctgg ggcaagggca gcagcggagg ctcaggagcc aagccctcag acgcagcatc  
 3601 agaagctgct cgcccagcta ctagtacttt gaatcgcttc tcagcccttc aacaagcggt  
 3661 acccacagaa agcacagata atagacgtgt ggtgcagagg agtagcttga gccgagaacg  
 3721 aggcgagaaa gctggagacc gaggagaccg cctagagcgg agtgaacggg gaggggaccg  
 3781 tggggaccgg cttgatcgtg cgcgacacc tgctaccaag cggagcttca gcaaggaaat  
 3841 ggaggagcgg agtagagaac ggccctccca gcctgagggg ctgcgcaagg cagctagcct  
 3901 cacggaggat cgggaccgtg ggccgggatgc cgtgaagcga gaagctgccc taccctcagt  
 3961 gagccccctg aaggcggctc tctctgagga ggagtttag agaaaatcca aggtatcat  
 4021 tgaggaatat ctccatctca atgacatgaa agaggcagtc cagtgcgtgc aggagctggc  
 4081 ctaccctcc ttgctcttca tctttgtacg gcatggtgtc gagtctacgc tggagcgcag  
 4141 tgccattgct cgtgagcata tggggcagct gctgcaccag ctgctctgtg ctgggcatct  
 4201 gtctactgct cagtactacc aagggttgta tgaatcttg gaattggctg aggacatgga  
 4261 aattgacatc ccccacgtgt ggctctacct agcggaaactg gtaacaccca ttctgcagga  
 4321 aggtgggggtg cccatggggg agctgttcag ggagattaca aagcctctga gaccgttggg  
 4381 caaagctgct tccctgttgc tggagatcct gggcctcctg tgcaaaagca tgggtcctaa  
 4441 aaaggtgggg acgctgtggc gagaagccgg gcttagctgg aaggaatttc tacctgaagg  
 4501 ccaggacatt ggtgcattcg tcgctgaaca gaaggtggag tataccctgg gagaggagtc  
 4561 ggaagcccct ggccagaggg cactccctc cgaggagctg aacaggcagc tggagaagct  
 4621 gctgaaggag ggcagcagta accagcgggt gttcgactgg atagaggcca acctgagtga  
 4681 gcagcagata gtatccaaca cgttagttcg agccctcatg acggctgtct gctattctgc  
 4741 aattattttt gagactcccc tccgagtggg cgttgacgtg ctgaaagcgc ggcgaagct  
 4801 cgtcgagaaa tacctgtgtg acgagcagaa gtagctacag gcgctctacg cctccaggc  
 4861 ccttgtagtg accttagaac agcctcccaa cctgctgcgg atgttctttg acgcactgta

4921 tgacgaggac gtggtgaagg aggatgcctt ctacagttag gagagtagca aggaccccg  
 4981 tgagcagcag ggcaaggggtg tggcccttaa atctgtcaca gccttcttca agtggctccg  
 5041 tgaagcagag gaggagctctg accacaactg agggctggtg gggccgggga cctggagccc  
 5101 catggacaca cagatggccc ggctagccgc ctggactgca gggggcgccg agcagcgccg  
 5161 gtggcagtgg gtgcctgtag tgtgatgtgt ctgaactaat aaagtggctg aagaggcagg  
 5221 atggcttggg gctgcctggg ccccccctca ggaatgcgcc aggtgtccct ctccctcccc  
 5281 tggggcacag agatatatta tatataaagt cttgaaatgt ggtgtgtctt ggggtgggga  
 5341 ggggcaccaa cgcctgcccc tggggtcctt ttttttattt tctgaaaatc actctcggga  
 5401 ctgccgtcct cgtgctggg ggcatatgcc ccagcccctg taccaccctt gctgttgctt  
 5461 gggcaggggg aagggggggc acggtgcctg taattattaa acatgaattc aattaagctc  
 5521 aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa  
 //

ЛОКУС NM\_198242 (изоформа 3)  
 АК /трансляция="MNQPPQIAPKRERKTI RIRDPNQGGKDITEEIMSGARTASTPTP  
 PQTGGGLEPQANGETPQVAVIVRPDDRSQGA IADRPGLPGHSPSPESQPSSTPTP  
 SPSPVLEPGSEPNLAVLSIPGDTMTTIQMSVEESTPISRETGEPIYRLSPEPTPLAEP  
 LEVEVTLSPKVPSEFSSSPLQAPTPLASHTVEIHEPNMGVPSSEDLPEVESSPELAP  
 PPACPSSESPVPIAPTAQPEELLNGAPSPPAVDLSPVSEPEEQAKEVTASMAPPTIPSA  
 TPATAPSATSPAQEEEMEEEEEEEGEAGEAGEAESEKGGELLPPESTPIPANLSQN  
 LEAAAAATQVAVSVPKRRRKIKELNKKEAVGDLDAFKEANPAVPEVENQPPAGSNPGP  
 ESEGSVPPRPEEADETWDSKEDIHNAENIQPGEQKYEYKSDQWKPLNLEEKRYDR  
 EFLLGQFI FASMQKPEGLPHISDVVLDAKANKTPLRPLDPTRLQGINGCPDFTPSFAN  
 LGRTTLSTRGPPRGGPGGELPRGPAGLPPRRSQQPRKEPRKI IATVLMTEDEKLNKA  
 EKAWKPSKRTAADKDRGEEDADGSKTQDLFRVRVRSILNKLTPQMFQQLMKQVTLAI  
 DTEERLKGVIDLIFEKAI SEP NFSVAYANMCRCLMALKVPTEKPTVTNFRKLLLN  
 CQKEFEKDKDDDEVFEKKQKEMDEAATAEERGLKEELEEARDIARRSLGNIKFIGE  
 LFKLKLMTAEMHDCVVKLLKNHDEESLECLRLTTIGKDLDFEAKPRMDQYFNQM  
 EKI I KEKKTSSRIRFMLQDVLDLRGSNWVPRRGDQGPKTIDQIHKEAEMEEHREHIKV  
 QQLMAKGS DKRRGGPPGPPISRGLPLVDDGGWNTVPI SKGSRPIDTSRLTKITKPGSI  
 DSNNQLFAPGGRLSWGKSSGGSGAKPSDAASEAARPATSTLNRFSALQQAVPTSTD  
 NRRVVQRSSLSRERGEKAGDRGLRERSERGGDRGLDRARTPATKRSFSKEVEERS  
 RERPSQPEGLRKAASLTEDRDRGRDAVKREAAALPPVSPKKAALSEEELEKSKAIIEE  
 YLHLNDMKEAVQCVQELASPSLLFIFVRHGVESTLERSAIAREHMGQLLHQLLCAGHL  
 STAQYYQGLYEILELAEDMEIDI PHVWLYLAELVTPI LQEGGVPMGELFREITKPLRP  
 LGKAASLLLEILGLLCKSMGPKKVGTLWREAGLSWKEFLPEGQDIGAFAEQKVEYTL  
 GESEAPGQRALPSEELNRQLEKLLKEGSSNQRFVDWIEANLSEQQIVSNTLVRLMT  
 AVCYSIAIIFETPLRVDVAVLKARAKLLQKYLCEQKELQALYALQALVVTLEQPPNLL  
 RMFFDALYDEDEVVKEDAFYSWESSKDPAEQQGKGVALKSVTAFFKWLREAEESDHN

кДНК: 1 cggcgccgca gatcgcccg cgcggtcccg cccctgcgc cggtcacgtg gggcgcccg  
 61 ctgcgcctgc ggagaagcgg tggccgcga gcgggatctg tgcggggagc cggaaatggt  
 121 tgtggactac gtctgtgcgg ctgcgtgggg ctgcgcgcgc cggactgaag gagactgaag  
 181 gggcggtcca catacggtgt cccgacacag cagtaccctg tgcagccagg agccccaggc  
 241 ttctatccag gtgcaagccc tacagaatgt gggacctacg ctggcgccca ctatccaggc  
 301 caaggggtgc agcagtttcc cactggcgtg gccccgcgc cagttttgat gaaccagcca  
 361 ccccgatttg ctccaagag ggagcgtaag acgatccgaa ttcgagatcc aaaccaagga  
 421 ggaagagata tcacagagga gatcatgtct gggggccgca ctgcctccac acccaccctt  
 481 ccccgacgag gaggcggtct ggagcctcaa gctaattggg agacgccccca ggttgctgtc  
 541 attgtccggc cagatgaccg gtcacaggga gcaatcattg ctgaccggcc agggctgcct  
 601 gggccagagc atagcccttc agaateccag ccttcgtcgc ctctctccgac cccatcacca  
 661 tccccagtct tggaaaccgg gtctgagcct aatctcgcag tcctctctat tcctggggac  
 721 actatgacaa ctatacaaat gtctgtagaa gaatcaaccc ccatctcccg tgaaactggg  
 781 gagccatata gcctctctcc agaaccact cctctgcgcg aaccataact ggaagtagaa  
 841 gtgacactta gcaaaccggt tccagaatct gagttttctt ccagtccctt ccaggctccc  
 901 accccttttg catctcacac agtggaatt catgagccta atggcatggt cccatctgaa  
 961 gatctggaac cagaggtgga gtcaagccca gagcttgctc ctccccagc ttgccccctc  
 1021 gaatccccctg tgccattgct tccaactgcc caactgagg aactgctcaa cggagcccc  
 1081 tcgccaccag ctgtggactt aagcccagtc agtgagccag aggagcaggc caaggagggtg  
 1141 acagcatcaa tggcgcccc caccatcccc tctgctactc cagctacggc tccttcagct  
 1201 acttccccag ctcaggagga ggaatggaa gaagaagaag aagaggaaga aggagaagca

1261 ggagaagcag gagaagctga gagtgagaaa ggaggagaggg aactgctccc cccagagagt  
 1321 acccctattc cagccaactt gtctcagaat ttggaggcag cagcagccac tcaagtggca  
 1381 gtatctgtgc caaagaggag acggaataat aaggagctaa ataagaagga ggctgttgga  
 1441 gaccttctgg atgccttcaa ggaggcgaac ccggcagtag cagaggtgga aaatcagcct  
 1501 cctgcaggca gcaatccagg cccagagtct gagggcagtg gtgtgcccc acgtcctgag  
 1561 gaagcagatg agacctggga ctcaaaggaa gacaaaattc acaatgctga gaacatccag  
 1621 cccggggaac agaagtatga atataagtca gatcagtgga agcctctaaa cctagaggag  
 1681 aaaaaacgtt acgaccgtga gttcctgctt ggtttctagt tcatctttgc cagtatgcag  
 1741 aagccagagg gattgccaca tatcagtgac gtggtgctgg acaaggccaa taaaacacca  
 1801 ctgcggccac tggatcccac tagactacaa ggcataaatt gtggcccaga cttcactcca  
 1861 tccttttgcca accttggccg gacaaccctt agcaccctg ggccccaag ggggtggcca  
 1921 ggtggggagc tgccccgtgg gccggctggc ctgggacccc ggcgctctca gcagggaccc  
 1981 cgaaaagaac cacgcaagat cattgccaca gtgttaatga ccgaagatat aaaactgaac  
 2041 aaagcagaga aagcctggaa acccagcagc aagcggacgg cggctgataa ggatcgaggg  
 2101 gaagaagatg ctgatggcag caaaacccag gacctattcc gcagggtgcg ctccatcctg  
 2161 aataaactga caccacagat gttccagcag ctgatgaagc aagtgcagca cgttgctc  
 2221 gacaccgagg aacgcctcaa aggggtcatt gacctcattt ttgagaaggc catttcagag  
 2281 cccaacttct ctgtggccta tgccaacatg tgccgctgcc tcatggcgct gaaagtgcc  
 2341 actacggaaa agccaacagt gactgtgaac ttccgaaagc tgtgttgtaa tcgatgtcag  
 2401 aaggagtttg agaaagacaa agatgatgat gaggtttttg agaagaagca aaaagagatg  
 2461 gataagcgtc ctacggcaga ggaacgagga cgctgaagg aagagctgga agaggctcgg  
 2521 gacatagccc ggccggcgctc tttagggaa atcaagttta ttggagagtt gttcaaactg  
 2581 aagatgttaa cagaggcaat aatgcatgac tgtgtggtca aactgcttaa gaaccatgat  
 2641 gaagagtccc ttgagtgcct ttgtcgtctg ctaccacca ttggcaaaga cctggacttt  
 2701 gaaaaagcca agccccgaat ggatcagtat ttcaaccaga tggaaaaaat cattaaagaa  
 2761 aagaagacgt catcccgcat ccgctttatg ctgcaggacg tgctggatct gcgagggagc  
 2821 aattgggtgc cagcccgagg ggaacagggt cccaagacca ttgaccagat ccataaggag  
 2881 gctgagatgg aagaacatcg agagcacatc aaagtgcagc agctcatggc caagggcagt  
 2941 gacaagcgtc gggcggtcc tccaggccct cccatcagcc gtggacttcc ctgtgtggt  
 3001 gatggtggct ggaacacagt tcccatcagc aaaggtagcc gccccattga cacctcacga  
 3061 ctaccaaga tcaccaagcc tggctccatc gattctaaca accagctctt tgcacctgga  
 3121 gggcgactga gctggggcaa gggcagcagc ggaggctcag gagccaagcc ctccagcga  
 3181 gcatcagaag ctgctcgccc agctactagt actttgaatc gcttctcagc ccttcaacaa  
 3241 gcggtacca cagaaagcac agataataga cgtgtgggtc agaggagtag cttgagccga  
 3301 gaacgaggcg agaaagctgg agaccgagga gaccgcctag agcggagtga acggggaggg  
 3361 gaccgtgggg accggcttga tcgtgcgcgg acacctgcta ccaagcggag cttcagcaag  
 3421 gaagtggagg agcggagtag agaacggccc tcccagcctg aggggctgcg caaggcagct  
 3481 agcctcacgg aggatcgga cgtggggcgg gatgccgtga agcgagaagc tgccctaccc  
 3541 ccagtgagcc ccctgaaggc ggctctctct gaggaggagt tagagaagaa atccaaggct  
 3601 atcattgagg aatatctcca tctcaatgac atgaagagg cagtccagtg cgtgcaggag  
 3661 ctggcctcac cctccttgcct cttcatcttt gtacggcatg gtgtcgagtc tacgctggag  
 3721 cgcagtcca ttgctcgtga gcatatgggg cagctgctgc accagctgct ctgtgctggg  
 3781 catctgtcta ctgctcagta ctaccaaggg ttgtatgaaa tcttggattt ggctgaggac  
 3841 atggaaattg acatccccc cgtgtggctc tacctagcgg aactggtaac acccattctg  
 3901 caggaaagtg ggtgcccac gggggagctg ttccaggaga ttacaaagcc tctgagaccg  
 3961 ttgggcaaa ctgcttcctt gttgctggag atcctgggcc tcctgtgcaa aagcatgggt  
 4021 ctaaaaaagg tggggacgct gtggcgagaa gccgggctta gctggaagga atttctacct  
 4081 gaaggccagg acattgggtg attcgtcgct gaacagaagg tggagtatac cctgggagag  
 4141 gagtgcgaag ccctggcca gagggcactc ccctccgagg agctgaacag gcagctggag  
 4201 aagctgtcga aggagggcag cagtaaccag cgggtgttcg actggataga ggccaacctg  
 4261 agtgagcagc agatagtatc caacacgtta gttcgagccc tcatgacggc tgtctgctat  
 4321 tctgcaatta tttttgagac tcccctccga gtggacgttg cagtgtgtaa agcgcgagcg  
 4381 aagctgctgc agaaatacct gtgtgacgag cagaaggagc tacaggcgct ctacgccctc  
 4441 caggcccttg tagtgacctt agaacagcct cccaacctgc tgcggatgtt ctttgacgca  
 4501 ctgtatgacg aggacgtggt gaaggaggat gccttctaca gttgggagag tagcaaggac  
 4561 cccgctgagc agcagggcaa ggggtgtggc cttaaatctg tcacagcctt cttcaagtgg  
 4621 ctccgtgaag cagaggagga gtctgaccac aactgagggc tgggtggggc ggggacctgg  
 4681 agcccatgg acacacagat gggccgcta gccgcctgga ctgcaggggg gcggcagcag  
 4741 cggcgggtggc agtgggtgcc tgtagtgtga tgtgtctgaa ctaataaagt ggctgaagag  
 4801 gcaggatggc ttggggctgc ctgggcccc cccaggatg ccgccagggt tccctctcct  
 4861 cccctggggg cacagagata tattatatat aaagtcttga aatttgggtg gtcttggggg

4921 ggggaggggc accaacgcct gcccctgggg tccttttttt tattttctga aaatcactct  
 4981 cgggactgcc gtcctcgctg ctgggggcat atgccccagc ccctgtacca cccctgctgt  
 5041 tgccctgggca gggggaaggg ggggcacggg gcctgtaatt attaaacatg aattcaatta  
 5101 agctcaaaaa aaaaaaaaaa aaa

//

ЛОКУС NM\_198244 (изоформа 2)  
 АК /трансляция="MMIPSQISYPASQGAYYIPGQGRSTYVVPQQYYPVQPGAPGFYP  
 GASPTFTGYAGAYYPAQGVQQFPTGVAPAPVLMNQPPQIAPKRERKTIIRIDPNQGG  
 KDIITEIMSGARTASTPTTPQTGGGLEPQANGETPQVAVIVRPDDRSQGAIIADRPGL  
 PGPEHSPSESQSSPSPTSPSPVLEPGSEPNLAVLSIPGDTMTTIQMSVEESTPISR  
 ETGEPYRLSPPTPLAEPILLEVETLSKVPPESEFSSSPLQAPTPLASHTVEIHEPNG  
 MVPSEDLPEVESSPELAPPACPSSESPVPIAPTAQPEELLNGAPSPPAVDLSPVSEP  
 EEQAKEVTASMAPPTIPSATPATAPSATSPAQEEEMEEEEEEEGEAGEAGEAESEKGE  
 GEELLPESTPIPANLSQNLEAAAAATQVAVSVPKRRRKIKELNKKEAVGDLDDAFKEA  
 NPAVPEVENQPPAGSNPGPESESGVPPRPEEADETWDSKEDIHNAENIQPGQKYE  
 YKSDQWKPLNLEEKRYDREFLLGFQFIFASMQKPEGLPHISDVVLDKANKTPLRPLD  
 PTRLQGINCGPDFTPSFANLGRITTLSTRGPPRGGPGGELPRGPAGLGPRRSQGPRKE  
 PRKIIATVLMTEDIKLNKAEKAWKPSKRTAADKDRGEEDADGSKTQDLFRRVRSILN  
 KLTPTQMFQQLMKQVTQLAIDTEERLKGVIDLIFEKAISEPNFSVAYANMCRCLMALKV  
 PTREKPTVTNFRKLLNRCQKEFEKDKDDDEVFEKKQKEMDEAATAEERGRLEKELE  
 EARDIARRSLGNIKFIGELFKLMLTEAIMHDCVVKLLKNHDEESLECLCRLTTIG  
 KDLDFEKAKPRMDQYFNQMEKIIKEKKTSSRIREFMLQDVLDLRGSNWVPRRGDQGPKT  
 IDQIHKEAEMEEREHIKVQQLMAKGSDDRGGPPGPPISRGLPLVDDGGWNTVPISK  
 GSRPIDTSRLTKITKPGSIDSNQLFAPGGRLSWGKSSGGSGAKPSDAASEAARPAT  
 STLNRFSALQQAVPTESTDNRRVVQRSSLSRERGEKAGDRGDRLERSEGGDRGDRLD  
 RARTPATKRSFSKEVEERSRERPSQPEGLRKAASLTEDRDRGRDAVKREAALPVPVSL  
 KAALSEEELEKSKAIIIEYLHNDMKEAVQCVELASPSLLFIFVRHGVESTLERSA  
 IAREHMQQLLHQLLCAGHLSTAQYYQGLYEILELAEDMEIDI PHVWLYLAELVTPILQ  
 EGGVPMGELFREITKPLRPLGKAASLLLEILGLLCKSMGPKKVGTLWREAGLSWKEFL  
 PEGQDIGAFVAEQKVEYTLGEESEAPGQRALPSEELNRQLEKLLKEGSSNQRFWDWIE  
 ANLSEQQIVSNTLVRALMTAVCYSALIFETPLRVDVAVLKARAKLLQKYLCDQEKELQ  
 ALYALQALVVTLEQPPNLLRMFFDALYDEDEVVKEDAFYSWESSKDPAEQQGKGVALKS  
 VTAFFKWLREAEESDHN

кДНК: 1 cgggcgcgca gatcgcccg cgcggtctcg cccctgccc cggtcacgtg gggcgccgg  
 61 ctgcgcctgc ggagaagcgg tggccgccga gggggaatctg tgcggggagc cggaaatggt  
 121 tgtggactac gtctgtcgcg ctgctggtggg ctgcgcgcgc cggactgaag gagactgaag  
 181 cacttctacc ctagcggggc ccagccccc agcagtgccag cctcccaggt gcagagtcca  
 241 gcccctgccc gccctggccc agctgcccat gtctaccctg ctggatccca agtaatgatg  
 301 atcccttccc agatctccta ccagcctccc cagggggcct actacatccc tggacagggg  
 361 cgttccacat acgttgtccc gacacagcag taccctgtgc agccaggagc cccaggcttc  
 421 tatccaggtg caagccctac agaatttggg acctacgctg gcgcctacta tccagcccaa  
 481 ggggtgcagc agtttccac tggcgtggcc cccgcccag ttttgatgaa ccagccacc  
 541 cagattgctc ccaagaggga gcgtaagacg atccgaattc gagatccaaa ccaaggagga  
 601 aaggatatca cagaggagat catgtctggg gccgcgactg cctccacacc caccctccc  
 661 cagacgggag gcggtctgga gctcaagct aatggggaga cgcgccaggt tgcgtgcatt  
 721 gtccggccag atgaccggtc acaggagga atcattgctg accggccagg gctgcctggc  
 781 ccagagcata gcccttcaga atccagcct tgcgtgcctt ctccgacccc atcaccatcc  
 841 ccagtcttgg aaccggggtc tgagcctaata ctgcagctcc tctctattcc tggggacact  
 901 atgacaacta tacaatgtc tgtagaagaa tcaaccccca tctcccgtag aactggggag  
 961 ccataatgcc tctctccaga acccactcct ctgcgcgaac ccatactgga agtagaagtg  
 1021 acacttagca aaccggttcc agaactctgag ttttcttcca gtcctctcca ggctcccacc  
 1081 cctttggcat ctacacacagt ggaaattcat gaggcctaag gcatggtccc atctgaagat  
 1141 ctggaaccag aggtggagtc aagcccagag cttgtctctc cccagcttg cccctccgaa  
 1201 tcccctgtgc ccattgctcc aactgcccga cctgaggaac tgctcaacgg agccccctcg  
 1261 ccaccagctg tggacttaag cccagtcagt gagccagagg agcaggccaa ggaggtgaca  
 1321 gcatcaatgg cgcgccccc catccctct gctactccag ctacggctcc ttcagctact  
 1381 tcccagctc agggaggagga aatggaagaa gaagaagaag aggaagaag agaagcagga  
 1441 gaagcaggag aagctgagag tgagaaagga ggagaggaac tgctccccc agagagtacc  
 1501 cctattccag ccaactgtc tcagaatttg gaggcagcag cagccactca agtggcagta

1561 tctgtgccaa agaggagacg gaaaattaag gagctaaata agaaggaggc tgttgaggac  
 1621 cttctggatg ccttcaagga ggccaacccg gcagtaccag aggtggaaaa tcagcctcct  
 1681 gcaggcagca atccaggccc agagtctgag ggcagtgggtg tgccccacg tcctgaggaa  
 1741 gcagatgaga cctgggaactc aaaggaagac aaaattcaca atgctgagaa catccagccc  
 1801 gggaacaga agtatgaata taagtcagat cagtggaaagc ctctaaacct agaggagaaa  
 1861 aaacgttacg accgtgagtt cctgcttggt tttcagttca tctttgccag tatgcagaag  
 1921 ccagagggat tgccacatat cagtgcgtg gtgctggaca aggccaataa aacaccactg  
 1981 cggccactgg atcccactag actacaaggc ataaattgtg gccagactt cactccatcc  
 2041 tttgccaaacc ttggccggac aacccttagc acccgtgggc cccaagggg tgggcccagg  
 2101 ggggagctgc cccgtgggcc ggctggcctg ggaccccgcc gctctcagca gggaccccg  
 2161 aaagaaccac gcaagatcat tgccacagtg ttaatgaccg aagatataaa actgaacaaa  
 2221 gcagagaaa cctggaaacc cagcagcaag cggacggcgg ctgataagga tcaggggaa  
 2281 gaagatgctg atggcagcaa aaccaggac ctattccgca ggggtgcgctc catcctgaat  
 2341 aaactgacac ccagatggtt ccagcagctg atgaagcaag tgacgcagct ggccatcgac  
 2401 accgaggaac gctctaaagg ggtcattgac ctcatTTTTtT agaaggccat ttcagagccc  
 2461 aacttctctg tgccctatgc caacatgtgc cgctgcctca tggcgctgaa agtggcccac  
 2521 acggaagagc caacagtgc tgtgaacttc cgaaagctgt tgttgaatcg atgtcagaag  
 2581 gaggtttgaga aagacaaaaga tgatgatgag gtttttgaga agaagcaaaa agagatggat  
 2641 gaagctgcta cggcagagga acgaggacgc ctgaaggaag agctggaaga ggctcgggac  
 2701 atagcccgcc ggcgctcttt agggaaatct aagtttattg gagagtgtt caaactgaag  
 2761 ttggttaacc aggcaataat gcctgactgt gtggtcaaac tggctaaagaa ccatgatgaa  
 2821 gagtcccttg agtgcccttg tctgtctgctc accaccattg gcaaagacct ggactttgaa  
 2881 aaagccaagc cccgaatgga tcagtattttc aaccagatgg aaaaatcat taaagaaaag  
 2941 aagacgtcat cccgcatccg ctttatgctg caggacgtgc tggatctgcg agggagcaat  
 3001 tgggtgccac gccgagggga caggggtccc aagaccattg accagatccc taaggaggct  
 3061 gaggatggaag aacatcgaga gcacatcaaa gtgcagcagc tcatggccaa gggcagtgac  
 3121 aagcgtcggg gccgtcctcc aggcctccc atcagccgtg gacttcccct tgtggatgat  
 3181 ggtggctgga acacagttcc catcagcaaa ggtagccgcc ccattgacac ctccagactc  
 3241 accaagatca ccaagcctgg ctccatcgat tctaacaacc agctctttgc acctggaggg  
 3301 cgactgagct ggggcaaggg cagcagcgga ggctcaggag ccaagccctc agacgcagca  
 3361 tcagaagctg ctgcccagc tactagtact ttgaatcgct tctcagccct tcaacaagcg  
 3421 gtacccacag aaagcacaga taatagacgt gtggtgcaga ggagtagctt gagccgagaa  
 3481 cgaggcgaga aagctggaga ccgaggagac cgcttagagc ggagtgaacg gggaggggac  
 3541 cgtggggacc ggcttgatcg tgcgcggaca cctgctacca agcggagctt cagcaaggaa  
 3601 gtggaggagc ggagtagaga acggccctcc cagcctgagg ggctgcgcaa ggcagctagc  
 3661 ctacagcagg atcgggaccg tggcggggat gccgtgaagc gagaagctgc cctaccccca  
 3721 gtgagccccc tgaaggcgcc tctctctgag gaggagttag agaagaaatc caaggctatc  
 3781 attgagggaat atctccatct caatgacatg aaagaggcag tccagtgcgt gcaggagctg  
 3841 gcctcacccct ccttgcctct catctttgta cggcatgggtg tgcagtctac gctggagcgc  
 3901 agtgccattg ctctgtgagc tatggggcag ctgctgcacc agctgctctg tgctgggcat  
 3961 ctgtctactg ctcagtacta ccaaggggtt tatgaaatct tggaaattggc tgaggacatg  
 4021 gaaattgaca tccccacgt gtggctctac ctacgggaac tggtaacacc cattctgcag  
 4081 gaagggtggg tgcccatggg ggagctgttc agggagatta caaagccctc gagaccgtt  
 4141 ggcaaagctg cttccctgtt gctggagatc ctgggcctcc tgtgcaaaag catgggtcct  
 4201 aaaaaggtgg gacgctgtg gcgagaagcc gggcttagct ggaaggaatt tctacctgaa  
 4261 ggccaggaca ttggtgcatt cgtcgtgtaa cagaaggtgg agtataccct gggagaggag  
 4321 tcggaagccc ctggccagag gccactcccc tccgaggagc tgaacaggca gctggagaag  
 4381 ctgctgaagg agggcagcag taaccagcgg gtgttcgact ggatagaggc caacctgagt  
 4441 gagcagcaga tagtatccaa cacgttagtt cgagccctca tgacggctgt ctgctattct  
 4501 gcaattattt ttgagactcc cctccgagtg gacgttgacg tgctgaaagc gcgagcgaag  
 4561 ctgctgcaga aatacctgtg tgacgagcag aaggagctac aggcgctcta cgccctccag  
 4621 gccctttag tagacctaga acagcctccc aacctgctgc ggaatgttct tgacgactg  
 4681 tatgacgagg acgtgggtgaa ggaggatgcc ttctacagtt gggagagtag caaggacccc  
 4741 gctgagcagc agggcaaggg tgtggccctt aaatctgtca cagccttctt caagtggctc  
 4801 cgtgaagcag aggaggagtc tgaccacaac tgagggtctg tggggccggg gacctggagc  
 4861 cccatggaca cacagatggc ccggctagcc gcctggactg cagggggggc gcagcagcg  
 4921 cgggtggcagt ggggtgcctgt agtgtgatgt gtctgaacta ataaagtggc tgaagaggca  
 4981 ggatggcttg gggctgcctg ggccccctc caggatgccg ccaggtgtcc ctctcctccc  
 5041 cctggggcac agagatatat tatatataaa gtcttgaaat ttggtgtgtc ttgggggtgg  
 5101 gagggggacc aacgcctgcc cctgggggtc ttttttttat tttctgaaaa tcactctcg  
 5161 gactgccgtc ctgcgtgctg ggggcatatg cccagcccc tgtaccaccc ctgctgttgc

5221 ctgggagcagg ggaagggggg gcacgggtgcc tgtaattatt aaacatgaat tcaattaagc  
5281 tcaaaaaaaaa aaaaaaaaaa

//

7. ENO1: ENO1 энолаза 1, (альфа) [ Homo sapiens ]

ЛОКУС NM\_001428

AK /трансляция="MSILKIHAREIFDSRGNPTVEVDLFTSKGLFRAAVPSGASTGIY  
EALRLDNDKTRYMGKGVSKAVEHINKTIAPALVSKKLNVTQEKIDKLMIMDGTEN  
KSKFGANAILGVSLAVCKAGAVEKGVPLRYHIADLAGNSEVILPVPFNVINGGSHAG  
NKLAMQEFMILPVGAANFREAMRIGAEVYHNLKNVKEKYGKDATNVGDEGGFAPNIL  
ENKEGLELLKTAIGKAGYTDKVVIGMDVAASEFFRSGKYDLDFKSPDDPSRYISPDQL  
ADLYKSFIDYPVVSIEDPFDQDDWGAWQKFTASAGIQVVGDDLTVTNPKRIKAVNE  
KSCNCLLLKVNQIGSVTESLQACKLAQANGWGMVSHRSGTETDTFIADLVVGLCTGQ  
IKTGAPCRSERLAKYNQLLRIEEEELGSKAKFAGRNFNPLAK

кДНК: 1 gtggggccccc agagcgacgc tgagtgcgtg cgggactcgg agtacgtgac ggagccccga  
61 gctctcatgc cgcgccacgcc gcccggggcc atcccccgga gcccgggctc cgcacacccc  
121 agttcggctc accggctccta tctggggcca gagtttcgcc cgcaccacta caggggcgct  
181 ggggagtcgg ggcggccagc atctgcccgc ctcaagtcgg cgggacgtca ccccccttc  
241 cagctactg cagccgctgc agtcccaccc ctttcgggga ggtgagggaa tgagtgcagg  
301 ctctcccgac gaatggcgag gcggagctga gggggcgctg cccggaggcg ggaagtgggt  
361 ggggctcgcc ttagctaggc aggaagtcgg cgcggggcggc gcggacagta tctgtgggta  
421 cccggagcac ggagatctcg cgggctttac gttcacctcg gtgtctgcag caccctccgc  
481 ttctctcct agcgacgagc acccagtggtc tagaagttca ccatgtctat tctcaagatc  
541 catgccaggg agatctttga ctctcgcggg aatccactg ttgaggttga tctcttcacc  
601 tcaaaaggtc tcttcagagc tgctgtgccc agtgggtgctt caactgggat cctagggcc  
661 ctgagctcc gggacaatga taagactcgc tataatgggga aggggtgtctc aaaggctgtt  
721 gagcacatca ataaaactat tgcgcctgcc ctggttagca agaaactgaa cgtcacagaa  
781 caagagaaga ttgacaaact gatgatcgag atggatggaa cagaaaataa atctaagttt  
841 ggtgcgaacg ccattctggg ggtgtccctt gccgtctgca aagctggtag cgttgagaag  
901 ggggtccccc tgtaccgcca catcgctgac ttggctggca actctgaagt catctgcca  
961 gtcccggtgt tcaatgtcat caatggcggt tctcatgctg gcaacaagct ggccatgag  
1021 gagttcatga tctctccagt cgggtgcagca aacttcaggg aagccatgag cattggagca  
1081 gaggtttacc acaacctgaa gaatgtcatc aaggagaaat atgggaaaga tggccaat  
1141 gtgggggagc aaggcggtt tgctcccaac atcttgagga ataaagaagg cctggagctg  
1201 ctgaagactg ctattgggaa agctggctac actgataagg tggatcatcg catggacgta  
1261 gcggcctccg agttcttcag gtctgggaag tatgacctg acttcaagtc tccgatgac  
1321 cccagcaggt acatctcgcc tgaccagctg gctgacctg acaagtcctt catcaaggac  
1381 taccagtggt tgtctatcga agatcccttt gaccaggatg actggggagc ttggcagaag  
1441 ttacagacca gtgcaggaat ccaggtagtg ggggatgatc tcacagtgc caacccaag  
1501 aggatcgcca agcccgtaga cgagaagtc tgcaactgcc tctgctcaa agtcaaccag  
1561 attggctccg tgaccgagtc tcttcaggcg tgcaagctgg cccaggccaa tgggtggggc  
1621 gtcattggtg tcatcgcttc gggggagact gaagatacct tcatcgctga cctggtgtg  
1681 gggctgtgca ctgggcagat caagactggt gccccttgcc gatctgagcg cttggccaag  
1741 tacaaccagc tcttcagaaat tgaagaggag ctgggcagca aggctaagtt tgccggcagg  
1801 aacttcagaa accccttgcc caagtaagct gtgggcaggc aagcccttcg gtcacctgtt  
1861 ggctacacag acccctcccc tctgtgtcagc tcaggcagct cgaggcccc gaccaacact  
1921 tgagggggtc cctgctagtt agcggccccc cgcgtggag ttcgtaccgc ttccttagaa  
1981 cttctacaga agccaagctc cctggagccc tgttggcagc tctagctttg cagtctgtga  
2041 attggcccaa gtcattgttt ttctcgctc actttccacc aagtgtctag agtcatgtga  
2101 gcctcgtgtc atctccgggg tggccacagg ctagatcccc ggtggttttg tgctcaaat  
2161 aaaaagcctc agtgacccat gagaataaaa aaaaaaaaaa aaaa  
//

8. FBL: FBL фибрилларин [ Homo sapiens ]

ЛОКУС NM\_001436

AK /трансляция="MKPGFSPRGGGFGGRGGFGDRGGRGGGFGGGRGRGGGFRGRG  
RGGGGGGGGGGGGGGGGGGFHSNGRGRGGKRGNGSGKNVMVEPHRHEGVFICRGK  
EDALVTKNLVPGESVYGEKRVSISEGDDKIEYRAWNPFRSKLAAAILGGVDQIHIKPG  
AKVLYLGAASGTTVSHVSDIVGPDGLVYAVEFSHRSGRDLINLAKKRTNIIPIVEDAR  
HPHKYRMLIAMVDVIFADVAQPDQTRIVALNAHTFLRNGGHFVISIKANCIDSTASAE  
AVFASEVKKMQQENMKPQEQLTLEPYERDHAUVVGVYRPPPKVKN

кДНК: 1 gcgtcacgca ggcacagtcg ccgcgcgcct gcgctctttt ccacgtgcga aagccccgga  
61 ctctgtggagt tgtgaacgcc ggcgactccg gagccgcaca aaccagggct cgccatgaag  
121 ccaggattca gtccccgtgg ggggtggcttt ggccggccgag ggggcttttg tgaccgtggt  
181 ggctgtggag gccgaggggg ctttggcggg ggccgaggtc gaggcggagg ctttagagggt  
241 cgtggacgag gaggaggtgg aggcggcggc ggccgtggag gaggaggaag aggtggtgga  
301 ggcttccatt ctggtggcaa ccggggtcgt ggtcggggag gaaaaagagg aaaccagtcg  
361 gggaagaatg tgatgggtga gccgcacatcg catgaggggt tcttcatttg tcgaggaaag  
421 gaagatgcac tggtcaccaa gaacctggtc cctggggaat cagtttatgg agagaagaga  
481 gtctcgattt cggaaggaga tgacaaaatt gactaccgag cctggaaccc cttccgctcc  
541 aagctagcag cagcaatcct ggggtggtgtg gaccagatcc acatcaaacc gggggctaag  
601 gttctctacc tcggggctgc ctccggcacc acgggtctccc atgtctctga catcgttggt  
661 ccggatggtc tagtctatgc agtcgagttc tcccaccgct ctggccgtga cctcattaac  
721 ttggccaaga agaggaccaa catcattcct gtgacgagg atgtctgaca cccacacaaa  
781 taccgcatgc tcacgcgaat ggtggtatgt atctttgctg atgtggccca gccagaccag  
841 acccggtatt tggccctgaa tgccacaccc ttcttgctga atggaggaca ctttgtgatt  
901 tcattaaag ccaactgcac gactccaca gcctcagccg aggccgtgtt tgccctcgaa  
961 gtgaaaaaga tgcaacagga gaacatgaag ccgcaggagc agttgaccct tgagccatat  
1021 gaaagagacc atgccgtggt cgtgggagtg tacaggccac cccccaaggt gaagaactga  
1081 agttcagcgc tgtcaggatt gcgagagatg tgtgttgata ctgttgacag tgtgtttttc  
1141 tattaanaaa ctcacccgtc tcccaaaaaa a

//

9. GSK3B: GSK3B гликоген-синтаза-киназа-3 бета [ Homo sapiens ]  
ЛОКУС NM\_001146156 (изоформа 2)  
АК /трансляция="MSGRPRTTSFAESCKPVQPSAFGSMKVSRLDKDGSKVTTTVATP  
GQGPDRPQEVSYTDTKVINGSGFVYQAKLCDSGELVAIKVLQDKRFKNRELQIMR  
KLDHCNTVRLRYFFYSSGEKKDEVYLNVLVDYVPETVYRVARHYSRAQTLPVIYVKL  
YMYQLFRSLAYIHSFGICHRDIKPNLLLDPTAVLKLCDGSAKQLVRGEPNVSYIC  
SRYRPAELIFGATDYTSSIDVWSAGCVLAELLGQPIFPGDSGVDQLVEIIKVLGTP  
TREQIREMNPNYTEFKFPQIKHPWTKVFRPRTPEAIALCSRLLEYTPARLTPLEA  
CAHSFFDELDRDPNVKLPNGRDTPALFNFTTQELSSNPPLATILIPPHARIQAAASTPT  
NATAASDANTGDRGQTNNAASASASNST

кДНК: 1 cgggcttgtg ccgccgccgc ccgccgccgc gcccgggcca agtgacaaag gaaggaagga  
61 agcgaggagg agccggcccc gcagccgctg acagggtctt gggctggggc aaagcgcgga  
121 cacttcctga gcgggcaccg agcagagccg aggggcggga gggcggccga gctgttgccg  
181 cgagcggggg agggggcccc gagggacgga agcgggtgct ggggttcccat gtccccggcg  
241 aatgggggaa agtcgaggag ccgctgcctg gggctctgaag ggagctgcct ccgccaccgc  
301 catggccgct ggaaccagcc gccgcctgca gctgctcctg gcgcaatgag gagaggagcc  
361 gccgccaccg ccaccgcccg cctctgactg actcgcgact ccgccgccct ctagtccgcc  
421 gggccccctg cgtcagcccg ccggatcccg cggcttgccg gagctgcagc gtttcccgctc  
481 gcatctccga gccacccccct ccctccctct ccctccctcc taccatccc ctttctctt  
541 caagcgtgag actcgtgatc cttccgccgc ttcccttctt cattgactcg gaaaaaaat  
601 ccccgaggaa aatataatat tcgaagtact ctttttcaat caagtatttg ccccggtttc  
661 acgtgataca ttttttttta ggatttgccc tctcttttct ctctcccag gaaaggagg  
721 ggaagaatt gtattttttt ccaagtccta aatcatctat atgttaaata tccgtgccga  
781 tctgtcttga aggagaaata tatcgcttgt tttgtttttt atagtataca aaaggagtga  
841 aaagccaaga ggacgaagtc tttttctttt tcttctgtgg gagaacttaa tgctgcattt  
901 atcgtaaac taacacccca acataaagac aaaaggaaga aaaggaggaa ggaaggaaaa  
961 ggtgattcgc gaagagagtg atcatgtcag ggcggcccg aaccacctcc tttgcccaga  
1021 gctgcaagcc ggtgcagcag ccttcagctt ttggcagcat gaaagttagc agagacaagg  
1081 acggcagcaa ggtgacaaca gtggtggcaa ctctgggca gggccagac aggccacaag  
1141 aagtcagcta tacagacact aaagtgattg gaaatggatc atttggtgtg gtatatcaag  
1201 ccaaactttg tgattcagga gaactggctg ccatacaaga agtattgcag gacaagagat  
1261 ttaagaatcg agagctccag atcatgagaa agctagatca ctgtaacata gtccgattgc  
1321 gttatttctt ctactccagt ggtgagaaga aagatgaggt ctatcttaat ctggtgctgg  
1381 actatgttcc ggaacagta tacagagttg ccagacacta tagtcgagcc aaacagacgc  
1441 tcctgtgat ttatgtcaag ttgtatatgt atcagctgtt ccgaagttaa gcctatatcc  
1501 attccttttg aatctgccat cgggatatta aaccgcagaa cctctgtgtg gatcctgata  
1561 ctgctgtatt aaaactctgt gactttggaa gtgcaagca gctggtccga ggagaaccca

1621 atgttttcgta tatctgtttct cggtagctata gggcaccaga gttgatcttt ggagccactg  
 1681 attatacctc tagtatagat gtatggtctg ctggctgtgt gttggctgag ctgttactag  
 1741 gacaaccaat atttccaggg gatagtgggt tggatcagtt ggtagaaata atcaaggtcc  
 1801 tgggaactcc aacaagggag caaatcagag aaatgaacct aaactacaca gaattttaat  
 1861 tccctcaaat taaggcacat ccttggacta aggtcttccg accccgaact ccaccggagg  
 1921 caattgcact gtgtagccgt ctgtcggagt atacaccaac tgcccgacta acaccactgg  
 1981 aagcttgtgc acattcattt tttgatgaat tacgggacct aaatgtcaaa ctaccaaatg  
 2041 ggccgagacac acctgcactc ttcaacttca ccactcaaga actgtcaagt aatccacctc  
 2101 tggctaccat ccttattcct cctcatgctc ggattcaagc agctgcttca acccccacaa  
 2161 atgccacagc agcgtcagat gctaatactg gagaccgtgg acagaccaat aatgtcgtct  
 2221 ctgcatcagc ttccaactcc acctgaacag tcccagcag ccagctgcac aggaaaaacc  
 2281 accagttact tgagtgtcac tcagcaacac tgggtcacgt tggaaagaat attaaaaaga  
 2341 gaaaaaaatc ctgttcattt tagtgttcaa tttttttatt attattgttg ttcttattta  
 2401 accttgtaaa atatctataa atacaaacca atttcattgt attctcactt tgaggggagt  
 2461 ccaggggggtg ggaggggggtg tggggagggg gaaagcggag cactagaaca tacaatctct  
 2521 ggccgacgac aatctttttt tattaaaaagt ctgctgttgt atacttttaa acaggactc  
 2581 ctgcctcatg ccccttccac aaaagaagaa aacctttttc tgtgctgatg ggtttttttg  
 2641 aactttgttt tcttttaaag tctagtgtga gactttggta tagtcacag cttgaaattg  
 2701 gttgggagct tagcagggtat aactcaacgg ggacttaaat gtcacttgta aaattaatcc  
 2761 atactctcgg gtatttatag acttgccctt ggcatgttgg tggcagggtg ggacagaaaa  
 2821 gaaatgtgta tcattcgtaa cccaaggagg tcaataaagt ttggaactc acagggaga  
 2881 ttcttagtag atttgtaaag gttttgtttt gctctcagtt agtgctagtg atgtagaggc  
 2941 ttgtacagga ggctgccaga ggggaagcag caagcaagac tcaggcacac atgctctaca  
 3001 ggtggctctt tgtttgctg accaaagtcc tttgcaaate ttagcacagt ttcaaactag  
 3061 tgacctggga ggagatggaa ggggtgttga gcaggctgag ctagtctgtg aggtcaagg  
 3121 ctgatgagcc cagaggaagg ggacagggtc gggatacatc tcaccactgt gaataagttt  
 3181 gtccagattt ttttctaaag ttacttccct tggaagata cacttgagag gacattgtag  
 3241 ttaataatg tgaactgtaa cagtcactta ctggtttatt ttccatattt ttaattgaa  
 3301 aattgagctt gcagaaatag ccacattcta cacatagttc taatttttaa tccaaactca  
 3361 gaactgttat ttaatttgtt ttttaacctc atgcttttta cattttattt ttgatgcatg  
 3421 tcagatggta gaaatattaa aaactacaca tcagaatgat acagtcactt atacctgctg  
 3481 actttatagg aaagctgatg atataaatgt gtgtatatat gttatatata catatattca  
 3541 atactgcctt tttttttgtc tacagtatca aaattgactg gttgaagcat gagaagaatg  
 3601 tttccccac acccagttaa gagtttttgt gtctgttttc tttgtgtatc agtgaacgat  
 3661 gttaagaatc agtctctctt tttgaagaaa aagcaatatt ccttggaaag caaggagaat  
 3721 tgaaggacta tgtttgccgt gaggaatag attttcatga ctagtttgtt ttatactttt  
 3781 aaggttggca tctatgtggg ccttatatac tctaaaatga acttttagtca ccttgggtgt  
 3841 tatgggcat tacttgacct atgaatcttt aaggcacaat cagttgtact ttacatttaa  
 3901 agatcacttg agtgatggcc gcctttccct cctacccgct ccttccccac atgccttcca  
 3961 aggttagctg gtaactgtag ggctgcagag ctgagcccat ggttgtgtgt aacttgccct  
 4021 caccctctc attgccacct taggtcactt tatgggtctc gtctccaga gggttcggaa  
 4081 gttgagctc ttggcagccc tcctgcaggc cctagcacc ttgtctgtct cttaactgtg  
 4141 tgtgtgactc tccaagagag ttgtcctgcc tgctgaagtg aaccagtacc cagaaagaca  
 4201 actgtgagcc atcttgggtt tctactcgctg ttttagctgag gtcttgggac acaaaagggg  
 4261 tttcacaac ctctggatat atcagagttt atgagaaagg aaacatgctc agtcaaacca  
 4321 aatcaaaaca attgaatttt atgttttata aagtgcctct gaaagctaag atttgaaaga  
 4381 agtctgaaat caaagtattt ggcagcataa ctccctaaag gtatggcgt tgatagacca  
 4441 ttttcagaca gaatttataa agaacttgaa aaggcagggtc tgtgatagag aaatggacct  
 4501 gcattcagat ccaactgccc agcaagcgtt tggatgcaga cactgctctg gacgtgggtat  
 4561 actccccaga gtccataaaa atcagtgctt attttaggaa acaggttgcc ccccaacaat  
 4621 ggggtaaaaa aagagagaaa agtcacgctt ttctctcatt tcattgtgtg tgcattgtgtg  
 4681 cgtgtgtgtg tgtgtgtgtg tgtgtgtgaga tgtgtgattt ttctttctca aggatcatgg  
 4741 tgggatcaca gaactctttt atacaagtga gatccagggtc tctgaatatc tttttgtata  
 4801 taataataat aaaaagctcc tcaccaaatt caagcttgta catttatatt tctttctgtg  
 4861 tttttaaatt taagttttat tgttttgtat gtaaatatgt ggaccaggga actgttatta  
 4921 atgagcaaaa agttactgtt cagggcagtg attctgttta atactcagac aaaatgtaga  
 4981 cgagcttttt aaagccatat agttttaact ctgtacagta ggtaccggcc tgtattattg  
 5041 taacaataac tctagcaatg tatagtgtat ctatatagtt tggagtgcct tcgcttccat  
 5101 gtgttttttt ttttaatttg ttctttttta aatttttaatt ggtttccttt atccatgtct  
 5161 cctgtgccac cccctttccc tttgaaataa taactcactc ataacagtat ctttgccct  
 5221 tccacagtta agtttcagt ataccatact caggagtggg aaggaggaaat catattcgtat

5281 atttcatttc gttgaagccc tgcctttgtt ttggttctga atgtctttcc tcctcggtag  
 5341 cagttagacc ggtttcattt catacttagt ccattcaggg acttagtgta gcaccaggga  
 5401 gccctagagc tggaggatac cgaatagatt aaattttgct cgtctcttcc acaagcccta  
 5461 accatgggtc ttaaaaaacag cagattctgg gagccttcca tgctctctct ctctcctctt  
 5521 ttatctactt ccctcccaaa tgagagagt acagagaatt gtttttttat aaatcgaagt  
 5581 ttcttaatat tatcagggtt tgatcagtc gtggtctaaa atgctatagt gcaattacta  
 5641 gcagttactg cacggagtgc caccgtgcca atagaggact gttgttttaa caagggaact  
 5701 cttagcccat ttcctccctc ccgcatctc tacccttgct caatgaaata tcattttaat  
 5761 ttctttttaa aaaaatcagt ttaattctta ctgtgtgccc aacacgaagg ccttttttga  
 5821 aagaaaaata gaatgttttg cctcaaagta gtccatataa aatgtcttga atagaagaaa  
 5881 aaactaccaa accaaagggt actatttttg aaacatcgtg tgttcattcc agcaaggcag  
 5941 aagactgcac cttctttcca gtgacatgct gtgtcatttt ttttaagtcc tcttaatttt  
 6001 tagacacatt tttggtttat gttttaacaa tgtatgccta accagtcac ttgtctgcac  
 6061 caatgcaaag gtttctgaga ggagtattct ctatccctgt ggatatgaag acactggcat  
 6121 ttcattctatt tttccctttc ctttttaaag gatttaactt tggaatcttc caaagggaagt  
 6181 ttggccaatg ccagatcccc aggaatttgg ggggttttct tcttttttct tcgaaattgt  
 6241 atctgattcc tactgttcat gttagtgtc atctaatac agagccaaac acttttctcc  
 6301 cctgtgtgga aaagtaggta tgctttacaa taaaatctgt cttttctggg agaaacctga  
 6361 gccactgaaa ataaaagaga caactagaag cacagtagag tcccagactg agatctacct  
 6421 ttgagaggct ttgaaagtaa tccctggggg ttggattatt ttcacaaggg ttatgccgtt  
 6481 ttattcaagt ttgttgctcc gttttgcacc tctgcaataa aagcaaaatg acaaccagta  
 6541 cataaggggt tagcttgaca aagtagactt ccttgtgtta atttttaagt ttttttttcc  
 6601 ttaactatat ctgtctacag gcagatacag atagtgtgat gaaaatctgc ttgctgtgaa  
 6661 aatttgcatt tataaatgtg ttgccgatgg atcacttggg cctgtacaca taccaattag  
 6721 cgtgaccact tccatcttaa aaacaaacct aaaaaacaaa atttattata tatatatata  
 6781 tatatatata aaggactgtg ggttgtatac aaactattgc aaacacttgt gcaaatctgt  
 6841 ctgatataaa aggaaaagca aaatctgtat aacattatta ctactgaat gcctctgtga  
 6901 ctgatttttt tttcatttta aatataaact tttttgtgaa aagtatgtc aatgtttttt  
 6961 ttccctttcc ccattccctt gtaaatacat ttgttctat gtgacttggg ttggaaatag  
 7021 ttaactggta ctgtaatttg cattaaataa aaagtagggt agcctggaaa tgaaatataa  
 7081 aaaaaaaaaa aaaaa  
 //

ЛОКУС

NM\_002093

(изоформа 1)

АК/трансляция="MSGRPRTTSEAESCKPVQPSAFGSMKVS RDKDGSKVTTVVATP  
 GQGPDRPQEVSYTDTKVINGSGFVYQAKLCDSGELVAIKVLQDKRFKNRELQIMR  
 KLDHCNIVRLRYFFYSSGEKKDEVYLNVLVDYVPE TVYRVARHYSRAKQTLPIYVKL  
 YMYQLFRSLAYIHSFGICHRDIKPQNLLDPDTAVLKLCDFGSAKQLVRGEPNVSYIC  
 SRYYRAPELIFGATDYTSSIDVWSAGCVLAELLLGQPIFPDGSVDQLVEIIKVLGTP  
 TREQIREMNPNYTEFKFPQIKHPWTKDSSGTGHFTSGVVRVFRPPTPEAIALCSRL  
 EYTPPTARLTPLACAHSFDEL RDPNVKLPNGRDTPALFNFTTQELSSNPPLATILIP  
 PHARIQAAASTPTNATAASDANTGDRGQTNNAASASASNST

кДНК: 1 cgggcttgtg ccgccgcgcg cgcgcgcgcg gcccgggcca agtgacaaag gaaggaagga  
 61 agcgaggagg agccggcccc gcagccgctg acagggctct gggctggggc aaagcgcgga  
 121 cacttcctga gcgggcaccg agcagagccg agggcgcgga gggcggccga gctgttgccg  
 181 cggacggggg agggggcccc gagggacgga agcggttgcc ggggtcccat gtccccggcg  
 241 aatgggggaa agtcgaggag ccgctgcctg gggctcgaag ggagctgcct ccgccaccgc  
 301 catggccgct ggatccagcc gccgcctgca gctgctcctg gcgcaatgag gagaggagcc  
 361 gccgccaccg ccaccgcccg cctctgactg actcgcgact ccgccgccct ctagtccgcc  
 421 gggccccctg cgtcagcccg ccggatcccc cggttggccg gagctgcagc gtttcccgtc  
 481 gcattctcga gccacccccct ccctccctct ccctccctcc taccatccc ctttctctt  
 541 caagcgtgag actcgtgatc cttccgcgcg ttcctctctt cattgactcg gaaaaaaat  
 601 ccccgaggaa aatataatat tcgaagtact cattttcaat caagtatttg ccccggtttc  
 661 acgtgataca tattttttta ggatttgccc tctcttttct ctccctccag gaaagggagg  
 721 ggaagaatt gtattttttc ccaagtccta aatcatctat atgttaaata tccgtgccga  
 781 tctgtcctga aggagaaata tatcgcttgt tttgtttttt atagtataca aaaggagtga  
 841 aaagccaaga ggacgaagtc tttttctttt tcttctgtgg gagaacttaa tgctgcattt  
 901 atcgttaacc taacacccca acataaagac aaaaggaaga aaaggaggaa ggaaggaaaa  
 961 ggtgattcgc gaagagagt atcatgtcag ggcggcccg aaccacctcc ttgctggaga  
 1021 gctgcaagcc ggtgcagcag ccttcagctt ttggcagcat gaaagttagc agagacaagg  
 1081 acggcagcaa ggtgacaaca gtggtggcaa ctcctgggca gggctcagac aggccacaag

```

1141 aagtcagcta tacagacact aaagtgattg gaaatggatc atttggtgtg gtatatcaag
1201 ccaaactttg tgattccagga gaactggtcg ccatcaagaa agtattgcag gacaagagat
1261 ttaagaatcg agagctccag atcatgagaa agctagatca ctgtaacata gtccgattgc
1321 gttatcttct ctactccagt ggtgagaaga aagatgaggt ctatcttaat ctggtgctgg
1381 actatgttcc ggaaacagta tacagagttg ccagacacta tagtcgagcc aaacagacgc
1441 tccctgtgat ttatgtcaag ttgtatatgt atcagctgtt ccgaagttta gcctatatcc
1501 attcctttgg aatctgccat cgggatatta aaccgcagaa cctctgtttg gacctgata
1561 ctgctgtatt aaaactctgt gactttggaa gtgcaaagca gctggtccga ggagaacca
1621 atgtttcgta tatctgttct cggactataa gggcaccaga gttgatcttt ggagccactg
1681 attatacctc tagtatagat gtatggtctg ctgctgtgtg gttggtgtag ctgttactag
1741 gacaaccaat atttccaggg gatagtgttg tggatcagtt ggtagaaata atcaaggctc
1801 tgggaactcc aacaaggag caaatcagag aaatgaaccc aaactacaca gaatttaaat
1861 tccctcaaat taaggcacat ccttgacta aggattctgc aggaacagga catttcacct
1921 caggagtgcg ggtcttccga ccccgaaact caccggaggc aattgcactg tgtagccgtc
1981 tgctggagta tacaccaact gcccgactaa caccactgga agcttgtgca cattcathtt
2041 cagtaagaat acgggaccca aatgtcaaac taccaaagtg gcgagacaca cctgcactct
2101 tcaacttcac cactcaagaa ctgtcaagta atccacctct ggctaccatc cttattcctc
2161 ctcatgctcg gattcaagca gctgcttcaa cccccacaaa tgccacagca gcgtcagatg
2221 ctaatactgg agaccgtgga cagaccaata atgctgcttc tgcatcagct tccaactcca
2281 cctgaacagt cccgagcagc cagctgcaca gaaaaacca ccagttactt gagtgtcact
2341 cagcaacact ggtcacgttt ggaagaataa ttaaaaagag aaaaaaatcc cgttcathtt
2401 agtgttcaat ttttttatta ttattgttgt tcttatttaa ccttgtaaaa tatctataaa
2461 tacaaaccaa tttcattgta ttctcacttt gagggagatc cagggggtgg gaggggttgt
2521 ggggaggggg aaagcggagc actagaacat acaatctctc tcccacgaca atcttttttt
2581 attaaaagtc tgcgtgtgta tacttttaaa acaggactcc tgccctcatg cccctccaca
2641 aaagaagaaa acctttttct gtgctgatgg gtttttttga actttgtttt cttttaaggt
2701 ctagtgtgag actttggtat agtgcacagc ttgaaattgg ttgggagctt agcagggtata
2761 actcaacggg gacttaaatg tcacttgtaa aattaatcca tatcttcggg tatttataga
2821 cttgcctttg gcatgttggg gccaggtgtg gcagacaaag aaatgtgtat cattcgtaac
2881 ccagggaggt caataaagtt tggaactcta cagggaagat tcttagtaga ttctttaaag
2941 ttttgttttg ctctcagtta gtgctagtga tgtagaggct tgtacaggag gctgccagag
3001 gggaagcagc aagcaagact caggcacaca tgctctacag gtggctcttt gtttgcctga
3061 ccaaagtctt ttgcaaatct tagcacagtt tcaaactagt gacctgggag gagatggaag
3121 ggggtgtgag caggctgagc tagctgctga ggtcaaagcc tgatgagccc agagggaagg
3181 gacaggctcag ggatacatct caccactgtg aataagtttg tccagatttt tttctaaagt
3241 tacttccctt ggaagatac acttgagagg acattgtagt taaataatgt gaactgtaac
3301 agtcattctac tggtttattt ttcatatttt ttaattgaaa attgagcttg cagaaatagc
3361 cacattctac acatagttct aatttttaaa ccaaacttag aatctgtatt taatttgttt
3421 tttaacctca tgctttttac atttatttat tgatgcatgt cagatggtag aaatatataa
3481 aactacacat cagaatgata cagtcactta tacctgctga ctttatagga aagctgatga
3541 tataaatgtg tgtatatatg ttatatatac atatatcaa tactgccttt ttttttgtct
3601 acagtatcaa aattgactgg ttgaagcatg agaagaatgt ttccccaca cccagttaag
3661 agttttttgt tctgttttct ttgtgtatca gtgaacgatg ttaagaatca gtctctcttt
3721 ttgaagaaaa agcaatatct cttggaaagc aaggagaatt gaaggactat gtttgcctg
3781 aggaaataga ttttcatgac tagtttgttt tatactttta aggttggcat ctatgtgggc
3841 cttatatact ctaaaatgaa ctttagtcac cttggtgctt atgggccatt acttgacct
3901 tgaatcttta aggcacaatc agttgtactt tacattttaa gatcacttga gtgatggccg
3961 cctttccctc ctacccgctc cttccccaca tgcccttcaa ggttagctgg taactgtagg
4021 gctgcagagc tgagcccatg gttgtgtgta acttgccctc accctcctca ttgccacctt
4081 aggtcacttt atgggtctcg tcctccagag ggttcggaag tggagtctgt tggcagccct
4141 cctgcaggcc ctagcaccct tcctgctcc ttaactgtgt gtgtgactct ccaagagagt
4201 tgtcctgcct gctgaagtga accagtacc agaaagacaa ctgtgagcca tcttggtttt
4261 cactcgctgt ttagctgagg tcttgggcca caaaaggggt ttcaacaacc tctggatata
4321 tcagagttta tgagaaaagga aacatgctca gtcaaaccaa atcaaacaaa ttgaatttta
4381 tgttttataa agtgcttctg aaagctaaga tttgaaagaa gtctgaaatc aaagtatttg
4441 gcagcataac tccttaaagg tagtggcgtt gatagacat tttcagacag aatttataaa
4501 gaatctgaaa aggcaggtct gtgatagaga aatggacctg cattcagatc caactgccca
4561 gcaagcgttt ggatgcagac actgctctgg acgtggtata ctcccagag tccataaaaa
4621 tcagtgttta ttttaggaaa caggttgccc ccacaactg gggtaaaaga agagagaaaa
4681 gtcacgcttt tctctcattt cattgtgtgt gcatgtgtgc gtgtgtgtgt
4741 gtgctgagat gtgtgatttt tctttctcaa ggatcatggt gggatcacag aactctttta

```

```

4801 tacaagtgag atccaggctct ctgaatatct ttttgtatat aataataata aaaagctcct
4861 caccaaatcc aagcttgtag attatatatt cttctctgtgt ttttaaattt aagttttatt
4921 gttttgtatg taaatatgtg gacccaggaa ctgttattaa tgagcaaaaa gttactgttc
4981 agggcagtgga ttctgtttaa taatcagaca aaatgtagac gagcttttta aagccatata
5041 gttttaactc tgtacagtag gtaccggcct gtattattgt aacaataact ctagcaatgt
5101 atagtgtatc tatatagttt ggagtgccct cgcttccatg tgtttttttt tttaatattgt
5161 tcttttttaa attttaattg gtttccttta tccatgtctc cctgtccacc ccctttccct
5221 ttgaaataat aactcactca taacagtatc tttgcccctt ccacagttaa gtttcagtga
5281 taccatactc aggagtgagg agaggaaatc atattcgtaa tttcatttcg ttgaagccct
5341 gcctttgttt tggttctgaa tgtctttcct cctcggtagc agtgagaccg gtttcatttc
5401 atacttagtc cattcaggga cttagtgtag caccaggagg ccctagagct ggaggatata
5461 gaatagatta aattttgctc gtctcttcca caagccctaa ccatgggtct taaaaacagc
5521 agattctggg agccttccat gctctctctc tctcctcttt tatctacttc cctcccaaat
5581 gagagagtga cagagaattg tttttttata aatcgaagt tcttaaatagt atcaggtttt
5641 gatactcag tggcttaaaa tgctatagtg caattactag cagtactgc acggagtgcc
5701 accgtgcca tagaggactg ttgttttaac aagggaactc ttagcccact tcctccctcc
5761 cgccatctct acccttgctc aatgaaatat cattttaatt tcttttaaaa aaaatcagtt
5821 taattcttac tgtgtgcca acacgaaggc cttttttgaa agaaaaatag aatgttttgc
5881 ctcaaagtag tccatataaa atgtcttgaa tagaagaaaa aactaccaa ccaagggtta
5941 ctatttttga aacatcgtgt gttcattcca gcaaggcaga agactgcacc tctttccag
6001 tgacatgctg tgtcattttt ttttaagtct ctttaatttt agacacattt ttggtttatg
6061 ttttaacaat gtatgcctaa ccagtcact tgtctgcacc aatgcaaagg tttctgagag
6121 gagtattctc tatccctgtg gatatgaaga cactggcatt tcatctattt tcccccttc
6181 tttttaaagg atttaacttt ggaatcttcc aaaggaagtt tggccaatgc catagcccca
6241 ggaatttggg ggtttttctt tcttttcaac tgaaattgta tctgtattcc actgtctatg
6301 ttagtgatca tctaatacaca gagccaaaca cttttctccc ctgtgtggaa aagtaggtat
6361 gctttacaat aaaatctgtc ttttctggta gaaacctgag ccactgaaaa taaaagagac
6421 aactagaagc acagtagagt cccagactga gatctacct tgagaggctt tgaagtaat
6481 ccttggggtt tggattattt tcacaagggt tatgccgttt tattcaagtt tgttgcctcc
6541 ttttgcacct ctgcaataaa agcaaaatga caaccagtac ataaggggtt agcttgacaa
6601 agtagacttc cttgtgttaa tttttaagtt ttttttcct taactatatc tgtctacagg
6661 cagatacaga tagttgtatg aaaatctgct tgctgtgtaa atttgcattt ataaatgtgt
6721 tgccgatgga tcacttgggc ctgtacacat accaattagc gtgaccactt ccactttaa
6781 aacaaacctt aaaaaacaaa tttattatat atatataat atatataaa aggaactgtg
6841 gttgtataca aactattgca aacacttgtg caaatctgtc ttgatataaa ggaagcaa
6901 aatctgtata acattattac tacttgaatg cctctgtgac tgattttttt ttcattttaa
6961 atataaaact ttttgtgaaa agtatgtcca atgtttttt tccctttccc cattcccttg
7021 taaatacatt ttgttctatg tgacttggtt tggaataagt taactggtag tgaatttgc
7081 attaaataaa aagtaggtta gcctggaaat gaaattaaaa aaaaaaaaaa aaaa
//

```

10. HDLBP: HDLBP связывающий липопротеин высокой плотности белок [ Homo sapiens ]

```

ЛОКУС NM_001243900 (изоформа b)
АК /трансляция="MHLAERDRWLFVATVMMHFVSIKSGFPGLCVGVRSTMSSVAVLT
QESFAEHRSGLVPOQIKVATLNSEESDPPTYKDAFPPLPEKAACLESAPAGAWGN
KIRPIKASVITQVFHVPLEERKYKDMNQFGEQEQAQIKLEIMQRTGAHLELSLAKDQG
LSIMVSGKLDVMMKARKDIVARLQTSATVAIPKEHHRFVIGKNGEKLQDLELKTAT
KIQIPRPDDPSNQIKITGTKEGIEKARHEVLLISAEQDKRAVERLEVEKAFHPFIAGP
YNRLVGEIMQETGTRINIPPPSVNRTEIVFTGEKEQLAQAVARIKKIYEKANSFTVS
SVAAPSWLHRFIIGKKGNLAKITQOMPKVHIEFTGEDKITLEGPTEDVNVAQEQIE
GMVKDLINRMDYVEINIDHKFHRHLIGKSGANINRIKDQYKVSVRIPDSEKSNLIRI
EGDPQGVQQAQKRELLEASRMENERTKDLEIEQRFHRTIIGQKGERIREIRDKFPEVI
INFPDPAQKSDIVQLRGPKNVEVEKCTKYMQKMWADLVENSYSISVPIFKQFHKNIIIGK
GGANIKKIREESNTKIDLPANSENSETIIITGKRANCEAARSRLSIQKDLANIAEVE
VSIPAKLHNSLIGTKGRLIRSIMEECGGVHIHFPVEGSGSDTVVIRGPPSSDVEKAKKQ
LLHLAEKQTKSFTVDIRAKPEYHKFLIGKGGKIRKVRDSTGARVIFPAEDKDQDL
ITIGKEDAVREAQKELEALIQNLNDNVEDSMLVDPKHHRHFVIRRGQVLRREIAEEYG
GVMVSFPRSGTQSDKVTLKGAKDCVEAAKKRIQEIILEDLEAQTLECAIPQKFHRSVM
GPKGSRIQQITRDFSVQIKFPDREENAVHSTEPVQENGDEAGEGREAKDCDPGSPRR
CDIIIIISGRKECEAAKEALEALVPVTIEVEVPFDLHRYVIGQKSGGIRKMMDEFEVN

```

IHVPAPELQSDIIAITGLAANLDRAGLLERVKELQAEQEDRALRSFKLSVTVDPKY  
 HPKIIIGRKGAIVTQIRLEHDVNIQFPDKDDGNQPDQITITGYEKNTAARDAILRIV  
 GELEQMVSEDVPLDHRVHARIIGARGKAIKIMDEFKVDIREFPQSGAPDPNCVTVTGL  
 PENVEEAIIDHILNLEEEYLADVVDSEALQVYMKPPAHEEAKAPSRGFVVRDAPWTASS  
 SEKAPDMSSEEFPSFGAQVAPKTLPWGPKR

кДНК: 1 ggagcgtccc ggcttctccc gcgcgggggg cgagtaagcc agcggcagga ccagcggggg  
 61 ggggcccacg aaaaaagctg gcaggctgac agaggcggcc tcaggacgga ccttctggct  
 121 actgaccgtt ttgctgctac cacttataac cacctgggta agtcgagatt tggaggtggg  
 181 ttagtttggg gcctggatgc accttgca gaagagaccg tggctttttg tagcaactgt  
 241 catgatgcat ttgtgaagca ttaagagtgg ttttcccgga ttgtgtgtag gtgtgagatc  
 301 aaccatgagt tccgttgca ttttgaccca agagagtttt gctgaacacc gaagtgggct  
 361 ggttccgcaa caaatcaaag ttgccactct aaattcagaa gaggagagcg accctccaac  
 421 ctacaaggat gccttccctc cacttcctga gaaagctgct tgcttgaaaa gtgccaggga  
 481 acccgctgga gcctggggga acaagatccg acccatcaag gcttctgtca tcactcaggt  
 541 gttccatgta cccctggagg agagaaaaata caaggatatg aaccagtttg tgaaggtga  
 601 acaagcaaaa atctgccttg agatcatgca gagaactggt gctcacttgg agctgtcttt  
 661 ggccaaagac caaggcctct ccatcatggt gtcaggaaag ctggatgctg tcatgaaagc  
 721 tcggaaggac attgttgcta gactgcagac tcaggcctca gcaactgttg ccattcccaa  
 781 agaaccatcg cgctttgtta ttggcaaaaa ttgagagaaa ctgcaagact tggagctaaa  
 841 aactgcaacc aaaatccaga tcccacgccc agatgacccc agcaatcaga tcaagatcac  
 901 tggcaccaaa gagggcatcg agaaagctcg ccatgaagtc ttactcatct ctgccgagca  
 961 ggacaaacgt gctgtggaga ggctagaagt agaaaaggca ttccacccct tcatcgctgg  
 1021 gccgtataat agactggttg gcgagatcat gcaggagaca ggcacgcgca tcaacatccc  
 1081 cccaccacgc gtgaaccgga cagagattgt cttcactgga gagaaggaaac agttggctca  
 1141 ggctgtggct cgcatcaaga agatttatga ggagaaggcc aatagcttca ccgtctcttc  
 1201 tgtcgccgcc ccttccctgc ttcaccgttt catcatggcg aagaaaggcg agaactggc  
 1261 caaaatcact cagcagatgc caaagggtca catcgagttc acagaggggc aagacaagat  
 1321 caccctggag ggccctacag aggatgtcaa tgtggcccag gaacagatag aaggcatggt  
 1381 caaagatttg attaacggga tggactatgt ggagatcaac atcgaccaca agttccacag  
 1441 gcacctcatt ggggaagagc gtgccaacat aaacagaatc aaagaccagt acaaggtgtc  
 1501 cgtgcgcgac cctcctgaca gtgagaagag caatttgatc cgcatcgagg gggacccaca  
 1561 gggcgtgcag caggccaagc gagagctgct ggagcttgca tctcgcatgg aaaatgagcg  
 1621 taccaggat ctaatcattg agcaaaagatt tcatcgcaca atcattggcg gaaaggtga  
 1681 acggatccgt gaaattcgtg acaaattccc agaggtcac attaactttc cagaccagc  
 1741 acaaaaaagt gacattgtcc agctcagagg acctaagaat gaggtggaaa aatgcacaaa  
 1801 atacatgcag aagatggtgg cagatctggt ggaataatagc tattcaattt ctgttccgat  
 1861 cttcaaacag tttcacaaaga atatcattgg gaaaggaggc gcaaacatta aaaagattcg  
 1921 tgaagaaagc aacacaaaaa tcgaccttcc agcagagaat agcaattcag agaccattat  
 1981 catcacagcg aagcgagcca actgcgaagc tgcccggagc aggatctctg ctattcagaa  
 2041 agacctggcc aacatagccg aggtagaggt ctccatccct gccaaagctgc acaactccct  
 2101 cattggcacc aagggccgct tgatccgctc catcatggag gagtgcggcg gggtcacat  
 2161 tcactttccc gtggaaggtt caggaagcga caccgttgtt atcagggggc cttcctcgga  
 2221 tgtggagaag gccaagaagc agctcctgca tctggcggag gagaagcaaa ccaagagttt  
 2281 cactgttgac atccgcgcca agccagaata ccacaaattc ctcatcgcca agggggggcg  
 2341 caaaattcgc aaggtgcgcg acagcactgg agcacgtgtc atcttccctg cggctgagga  
 2401 caaggaccag gacctgatca ccatcattgg aaaggaggac gccgtccgag aggcacagaa  
 2461 ggagctggag gccttgatcc aaaacctgga taatgtggtg gaagactcca tgctggtgga  
 2521 ccccaagcac caccgccact tcgtcatccg cagaggccag gtcttgccgg agattgctga  
 2581 agagtatggc ggggtgatgg tcagcttccc acgctctggc acacagagcg acaaaagtcac  
 2641 cctcaaggcg gccaaggact gtgtggagcg agccaagaaa cgcattcagg agatcattga  
 2701 ggacctggaa gctcaggtga cattagaatg tgctataccc cagaaattcc atcgatctgt  
 2761 catggggccc aaagggtcca gaatccagca gattactcgg gatttcagtg ttcaaatata  
 2821 attcccagac agagaggaga acgcagttca cagtacagag ccagttgttc aggagaatgg  
 2881 ggacgaagct ggggagggga gagaggctaa agattgtgac cccgctctc caaggaggtg  
 2941 tgacatcatc atcatctctg gccggaagaa aaagtgtgag gctgccaagg aagctctgga  
 3001 ggcattggtt cctgtcacca ttgaagtaga ggtgcccttt gaccttcacc gttacgttat  
 3061 tgggcagaaa ggaagtggga tccgcaagat gatggatgag tttgaggtga acatacatgt  
 3121 cccggcacct gagctgcagt ctgacatcat cgccatcacg gccctcgctg caaatttgga  
 3181 ccgggccaag gctggactgc ttgagcgtgt gaaggagcta caggccgagc aggagaccg  
 3241 ggctttaagg agttttaagc tgagtgtcac tgtagacccc aaataccatc ccaagattat

3301 cgggagaaaag ggggcagtaa ttacccaaat ccggttgag catgacgtga acatccagtt  
 3361 tcctgataag gacgatggga accagcccca ggaccaaatt accatcacag ggtacgaaaa  
 3421 gaacacagaa gctgccaggg atgctatact gagaattgtg ggtgaacttg agcagatggt  
 3481 ttctgaggac gtcccgtgg accaccgctg tcacgcccgc atcattggtg cccgcggcaa  
 3541 agccattcgc aaaatcatgg acgaattcaa ggtggacatt cgcttccac agagcggagc  
 3601 cccagacccc aactgctga ctgtgacggg gctcccagag aatgtggagg aagccatcga  
 3661 ccacatcctc aatctggagg aggaatacct agctgacgtg gtggacagtg aggcgtgca  
 3721 ggtatacatg aaaccccag cacacgaaga ggccaaggca ccttccagag gctttgtggt  
 3781 gcgggacgca cctggaccg ccagcagcag tgagaaggct cctgacatga gcagctctga  
 3841 ggaatttccc agctttgggg ctcaggtggc tcccaagacc ctcccttggg gcccacaaacg  
 3901 ataatgatca aaaagaacag aaccctctcc agcctgctga cccaaccca accacacaat  
 3961 ggtttgtctc aatctgacct agcggctgga ccctccgtaa attgttgac ctcttcccc  
 4021 ttcccagggt cccgcaggga gctagcgcc tggctgtgtg tggggcgct cctccaggcc  
 4081 tggccgtgcc cgctcaggac ctgctccact gtttaacact aaaccaaggt catgagcatt  
 4141 cgtgctaaga taacagactc cagctcctgg tccacccggc atgtcagtca gcactctggc  
 4201 ggtatacatg agagctccgc agcgtgggt aggattccac ttctgtgtc ttacctcag  
 4261 gaaataaacg tccttgactt tataaaagcc aaacgtttgc cctcttctt tcccacctc  
 4321 ctctgccag tttcccttg tccagacagt cctgtttgtg gagtgaatc agcctcctc  
 4381 agctgccaga gcgcctcagc acaggtgtca ggtgcaagg aagacctggc aatggacagc  
 4441 aggaggcagg ttcctggagc tgggggtga cctgagaggc agagggtgac ggggtctcag  
 4501 cagctcctga tttacctgc cgtgggtgtc gaaagacca aggtccctg cccctacctc  
 4561 cactgccaga ccctcagcct gaggtctggt gaggtagcc tggaggcaag gtggtaggca  
 4621 catctgggt ccctgtggc cgtcacagt tctgctgtga ttgagatgc cacaggttg  
 4681 gggaggtagg gccttacgt tgcctcagt gggggcagtt tgccttagt gacagctggg  
 4741 cctcttctca caccacctgc agccctctcc tgcctctgcc ctagtctgt tctgttctc  
 4801 tgccttcttt ctacctcagc cggcgtggg tggctctgt gtagttagt ccacccaca  
 4861 caccctgtct ttgattgaga tgttctggt ggttatgggt ttcccgtag gctgggggtg  
 4921 ggcgcgtgt acctaaagt gaggctggcg ctctccctca gcacaggtgg gtcagtggc  
 4981 agcaggccca tctggagtgg gaggggcac ttccaccccg cccacaggc atccgctgt  
 5041 gcaggccagc ccttaggagc aggtcccggg tgactggcag ttttcacggt ctagggccga  
 5101 gacgatggca tggggcctag agcatgaggt agagcagaat gcagaccacg ccgctggatg  
 5161 ccgagagacc ctgctctccg agggaggcat ctgtgtcatg ctgtgagggc tgaggacggg  
 5221 gccctagtct ctggttttct ggtcttaaca tccttatctg tgtccgccac ggaggtgact  
 5281 ggcctgctag cgagttgtcc tgtcccaggt acttgagttt tggaaaagct gactcacgc  
 5341 catccatctc acagcccttc cctggggaca gtcgcttccg ccttgacacc tcactctcag  
 5401 ttgaataact caagcttggt catcttcaga ctccaattct tgagtagacc cagacggctt  
 5461 agcccaagtc tagttgcagc tgcctcggca agtccccatt tgcctcaggca gccctgaatg  
 5521 ggcctgttta caggaatggt aaattgggat tggaaagga atagcttcca gcttcatagg  
 5581 ctagggtgac cacggcttag gaaacaggga aagaaagcaa ggcccttttc ctgctttcc  
 5641 cgggatctgt ctactccacc tccacggggg aggccagtg ggaagggtg tcacctcttc  
 5701 cccatctgca tgagtcttg aactctgtcc tgttggtgct ttgcttccag ctcccccaa  
 5761 tctccatcgc agcgggttcc tctgtcttt tctacagtgt cataaaacat cctgccccta  
 5821 ccctctccca aaggtcaatt ttaattctca ccaagttttg cacatctctg tatgtcgctt  
 5881 gatgtcttag acgcgagccc tttcctaaac tgttcagcgc tctcttttcc tttgggtggt  
 5941 tgttgcaagg gtgatgacat gactgtcccc aggcctgtct cctgaagcg tctgtgctgt  
 6001 caggacagcc ctgggcagag atgaggcagg ggtgaggcgt gcgtgtgctt tctctcttg  
 6061 ttggatgtct tccatatcat ctgtttccat agctacaatc catcccttg ccttaacttt  
 6121 ggaatttgga gattatatgc aaacatgtgt aaaggctcat gaatatggat gacactggaa  
 6181 ttttataaat tctaaaataa aaccgaaac cagatgtagc atgctgggac tcattttgaa  
 6241 aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa a

//

ЛОКУС NM\_005336 (изоформа а)  
 АК / трансляция="MSSVAVLTQESFAEHRSGLVPPQQIKVATLNSEESDPPTYKDAF  
 PPLPEKAACLESQAQEPAGAWGNKIRPIKASVITQVFHVPLEERKYKDMNQFGEQEQA  
 ICLEIMQRTGAHLELSLAKDQGLSIMVSGKLDAVMKARKDIVARLQTQASATVAIPKE  
 HHRFVIGKNGEKLQDLELKTATKIQIPRDPDSNQIKITGTKEGIEKARHEVLLISAE  
 QDKRAVERLEVEKAFHPFIAGPYNRLVGEIMQETGTRINIPPSVNRTEIVFTGEKEQ  
 LAQAVARIKKIYEEKKKKTTTIAVEVKKSQHKYVIGPKGNSLQEI LERTGVSVEIPPS  
 DSISETVILRGEPEKLGGALTEVYAKANSFTVSSVAAPSWLHRFIIGKKGQNLAKITQ  
 QMPKVHIEFTEGEDKITLEGPTEDVNVAQEQIEGMVKDLINRMDYVEINIDHKFHRHL

IGKSGANINRIKDQYKVSRIIPDSEKSNLIRIEGDPQGVQQA KRELLELASRMENER  
TKDLIEQRFHRTIIGQKGERIREIRDKFPEVIINFPDPAQKSDIVQLRGPKNVEKEC  
TKYMQKMVADLVENSYSISVPIFKQFHKNIIGKGGANIKKIREESNTKIDLP AENSNS  
ETIIITGKRANCEAARSRLSIQKDLANIAEVEVSI PAKLHNSLIGTKGRLIRSIMEE  
CGGVHIIHFPVEGSGSDTVVIRGPSSDVEKAKKQLLHLAEKQTKSFTVDIRAKPEYHK  
FLIGKGGGKIRKVRDSTGARVIFPAAEDKDQDLITIIIGKEDAVREAQKELEALIQNLD  
NVVEDSMLVDPKHHRHFVIRRGQVLR EIAEEYGGVMVSFPRSQTQSDKVT LKGAKDCV  
EAAKKRIQEIIEDLEAQVTL ECAIPQKFHRSVMGPKGSRIQQITRDFSVQIKFPDREE  
NAVHSTEPVVQENGDEAGEGREAKDCDPGSPRRCDIIISGRKEKCEAAKEALEALVP  
VTIEVEVPFDLHRYVIGQKSGIRKMMDEFEVNIHVPAPELQSDIIAITGLAANLDRA  
KAGLLERVKELQAEQEDRALRSFKLSVTVPKYHPKIIGRKGA VITQIRLEHDVNIQF  
PDKDDGNQPDQITITGYEKNTEAARDAILRIVGELEQMVSEDPDLHRVHARIIGAR  
GKAIRKIMDEFKVDIRFPQSGAPDPNCVTVTGLPENVEEADHILNLEEY LADV VDS  
EALQVYMKPPAHEEAKAPSRGFVVRDAPWTASSEKAPDMSSEEFP SFGA QVAPKTL  
PWGPKR

кДНК: 1 atagaggctg ggggtggggg gggaggtcaa gcgtagcctc ttctccttta ccaagatggc  
61 ggcttgctcc tgtttcgcca cagttcctac cttatgagct cggttttctt atgcttataa  
121 gagtggaaaca gcaaaagctg gcaggtctgac agaggcggcc tcaggacgga ccttctggct  
181 actgaccgtt ttgctgtggt ttcccggtat tgtgtgtagg tgtgagatca accatgagtt  
241 ccgttgcaagt tttgacccaa gagagttttg ctgaacaccg aagtggtctg caagcaaaaa  
301 aaatcaaaagt tgccactcta aattcagaag aggagagcga ccctccaacc tacaaggatg  
361 ccttcctctc acttcctgag aaagctgctt gcctggaaa gtcgccaggaa cccgctggag  
421 cctgggggaa caagatccga cccatcaagg cttctgtcat cactcaggtg ttccatgtac  
481 ccgttgagga gagaaaaata aagatatga accagttttg agaaggtgaa caagcaaaaa  
541 tctgccttga gatcatgcag agaactggtg ctcacttgga gctgtctttg gccaaagacc  
601 aaggcctctc catcatggtg tcaggaaaagc tggatgctgt catgaaagct cggaaggaca  
661 ttgttgctag actgcagact caggcctcag caactgttgc cattcccaaa gaacaccatc  
721 gctttgttat tggcaaaaat ggagagaaac tgcaagactt ggagctaaaa actgcaacca  
781 aaatccagat cccacgcca gatgacccca gcaatcagat caagatcact ggcaaaaaag  
841 agggcatcga gaaagctcgc catgaagtct tactcatctc tgccgagcag gacaaacgtg  
901 ctgtggagag gctagaagta gaaaaggcat tccacccctt catcgctggg ccgtataata  
961 gactggtttg cgagatcatg caggagacag gcacgcgcac caacatcccc ccaccagcg  
1021 tgaaccggac agagattgtc ttcactggag agaaggaaca gttggtctc gctgtggtc  
1081 gcatcaagaa gatttatgag gagaagaaaa agaagactac aaccattgca gtggaagtga  
1141 agaaatccca acacaagtat gtcattgggc ccaagggcaa ttcattgcag gagatccttg  
1201 agagaactgg agtttccgtt gagatccac cctcagacag catctctgag actgtaatac  
1261 ttcgaggcga acctgaaaaa ttaggtcagg cgttgactga agtctatgcc aaggccaata  
1321 gcttcaccgt ctctctgtc gccgccccct cctggcttca ccgtttcatc attggcaaga  
1381 aagggcagaa cctggccaaa atcactcagc agatgccaaa ggttcacatc gagttcacag  
1441 agggcgaa ga caagatcacc ctggagggcc ctacagagga tgtcaatgtg gcccggaac  
1501 agatagaagg catggtcaaa gatttgatta accggatgga ctatgtggag atcaacatcg  
1561 accacaagtt ccacaggcac ctcattggga agagcgggtg caacataaac agaataaaag  
1621 accagtacaa ggtgtccgtg cgcatccctc ctgacagtga gaagagcaat ttgatccgca  
1681 tcgaggggga cccacagggc gtgcagcagg ccaagcgaga gctgctggag cttgcatctc  
1741 gcatggaaaa tgagcgtacc aaggatctaa tcattgagca aagatttcat cgcacaatca  
1801 ttgggcagaa ggtgaaacg atccgtgaaa ttcgtgacaa attcccagag gtcataatta  
1861 actttccaga cccagcaca aaaagtga ca ttgtccagct cagaggacct aagaatgagg  
1921 tggaaaaaatg caaaaaatac atgcagaaga tgggtggcaga tctggtggaa aatagctatt  
1981 caatttctgt tccgatcttc aaacagtttc acaagaatat cattgggaaa ggaggcgcaa  
2041 acattaaaaa gattcgtgaa gaaagcaaca ccaaaatcga cttccagca ggaatagca  
2101 attcagagac cattatcatc acaggcaagc gagccaactg cgaagctgcc cggagcagga  
2161 ttctgtctat tcagaaagac ctggccaaca tagccgaggt agaggtctcc atccctgcc  
2221 agctgcacaa ctccctcatt ggcaccaagg gccgtctgat ccgctccatc atggaggagt  
2281 gcggcggggt ccacattcac tttcccggtg aaggttcagg aagcgacacc gttgttatca  
2341 ggggcccttc ctcgatgtg gagaaggcca agaagcagct cctgcatctg gcggaggaga  
2401 agcaaaccaa gagtttctact gttgacatcc gcgccaagcc agaataccac aaattcctca  
2461 tcggcaaggg gggcggaaca attcgcaagg tgcgcgacag cactggagca cgtgtcatct  
2521 tcctgcggc tgaggacaag gaccaggacc tgatcaccat cattggaaa gaggacgccg  
2581 tccgagaggc acagaaggag ctggaggcct tgatccaaaa cctggataat gtggtggaag  
2641 actccatgct ggtggacccc aagcaccacc gccacttcgt catccgcaga ggccaggtct

2701 tgcgggagat tgctgaagag tatggcgggg tgatgggtcag cttcccacgc tctggcacac  
 2761 agagcgacaa agtcaccctc aaggcgccca aggactgtgt ggaggcagcc aagaaacgca  
 2821 ttcaggagat cattgaggac ctggaagctc aggtgacatt agaattgtgt ataccccaga  
 2881 aattccatcg atctgtcatg ggcccccagg gttccagaat ccagcagatt actcgggatt  
 2941 tcagtgttca aattaaattc ccagacagag aggagaacgc agttcacagt acagagccag  
 3001 ttgtccagga gaatggggac gaagctgggg aggggagaga ggctaaagat tgtgaccccc  
 3061 gctctccaag gaggtgtgac atcatcatca tctctggccg gaaagaaaag tgtgaggctg  
 3121 ccaagggaagc tctggaggca ttggttcctg tcaccattga agtagaggtag ccccttgacc  
 3181 ttcaccgtta cgttattggg cagaaaggaa gtgggatccg caagatgatg gatgagtttg  
 3241 aggtgaacat acatgtcccg gcacctgagc tgcagtctga catcatcgcc atcacgggcc  
 3301 tcgctgcaaa tttggaccgg gccaaaggctg gactgctgga gctgtgtaag gagctacagg  
 3361 ccgagcagga ggaccgggct ttaaggagtt ttaagctgag tgtcactgta gaccccaaat  
 3421 accatcccaa gattatcggg agaaaggggg cagtaattac ccaaatccgg ttggagcatg  
 3481 acgtgaacat ccagtttccct gataaggacg atgggaacca gcccaggac caaattacca  
 3541 tcacagggtta cgaagaagac acagaagctg ccagggatgc tatactgaga attgtgggtg  
 3601 caacttgagca gatggtttct gaggacgtcc cgctggacca ccgcgttcac ccccttgacc  
 3661 ttggtgcccc cgcaaaagcc attcgcaaaa tcatggacga attcaagggtg gacattcgct  
 3721 tcccacagag cggagcccca gaccccaact gcgtcactgt gacggggctc ccagagaatg  
 3781 tggagggaagc catcgaccac atcctcaatc tggaggagga atacctagct gacgtgggtg  
 3841 ccagtgaggg gctgcaggta tacatgaaac cccagcaca cgaagagggc aaggcacctt  
 3901 ccagaggctt tgtggtgctg gacgcaccct ggacggccag cagcagtagg aaggctcctg  
 3961 acatgagcag ctctgaggaa tttcccagct ttggggctca ggtggctccc aagacctcc  
 4021 cttggggccc caaacgataa tgatcaaaaa gaacagaacc ctctccagcc tgctgaccca  
 4081 aacccaacca cacaatggtt tgtctcaatc tgaccagcg gctggaccct ccgtaaatg  
 4141 ttgacgctct tcccccttcc cgaggctccc caggggagcc agcgcctggc gttgtgtgag  
 4201 gccgctcttc caggcctggc cgtgcccgtc caggacctgc tccactgttt aacactaaac  
 4261 caaggctcatg agcattcgtg ctaagataac agactccagc tccctggtcca cccggcatgt  
 4321 cagtcagcac tctggccttc atcacgagag ctccgcagcc gtggctagga ttccacttcc  
 4381 tttgtcatga cctcaggaaa taaacgtctc tgactttata aaagccaaac gtttgccctc  
 4441 ttcctttccc acctccctcc tggcagtttc ccttggtcca gacagtcctg tttgtggagt  
 4501 gcaatcagcc tcctccagct gccagagcgc ctacgacag gtgtcagggt gcaaggaaga  
 4561 cctggcaatg gacagcagga gccagggttcc tggagctggg gggtagacct agaggcagag  
 4621 ggtgacgggt tctcaggcag tcctgatttt acctgccgtg gggctctgaaa gcaccaaggg  
 4681 tcctcgcccc tacctccact gccagaccct cagcctgagg tctggtgagt ggagcctgga  
 4741 ggcaagggtg taggcaccat ctgggtcccc tgtggccgtc acagtgtctg ctgtgattga  
 4801 gatgcgcaca ggttggggga ggtagggcct tacgcttgtc ctacgtgggg gcagtttgcc  
 4861 ttagatgaca gctgggctct tcttcacacc acctgcagcc cctccctgcc cctgcccctg  
 4921 ctgctgtgtg ttcagttgcc ttctttctac ctacgcggc gtggagtggg ctctgtgcag  
 4981 ttagtgccac cccacacacc cgtctcttga ttgagatggt tctggtgggt atgggtttcc  
 5041 cgtggagctg ggggtgggag ccgtgtacct aagctggagg ctggcgctct ccctcagcac  
 5101 aggtgggtca gtggccagca ggcccatctg gagtgggagt gggcacttcc accccgcccc  
 5161 caggccatcc ggcgtgtcag gccagccctt aggaagcaggt cccgggtgac tggcagtttt  
 5221 cacgggtctag ggccgagacg atggcatggg gcctagagca tgaggtagag cagaatgcag  
 5281 accacgccgc tggatgccga gagaccctgc tctccagagg aggcattctgt gtcattgctgt  
 5341 gagggtctag gacggggccc tagtctctgg ttttctggtc ttaacatcct tatctgtgtc  
 5401 cgccacggag gtgactgagc tgctagcgag ttgtcctgtc ccaggtagct gagttttgga  
 5461 aaagctgact cacgcccac catctcacag ccttccctg gggacagtcg cttccgcctt  
 5521 gacacctcac tctcagttga ataaactcaag cttgggtcatc ttcagactcg aattcttgag  
 5581 tagaccacga cggcttagcc caagtctagt tgcagctgcc tcggcaagtc cccatttgct  
 5641 caggcagccc tgaatgggcc tgtttacagg aatggtaaat tgggattgga aggaatatag  
 5701 cttccagctt cataggctag ggtgaccacg gcttaggaaa cagggaaga aagcaaggcc  
 5761 cttttcctgc ctttcccggg atctgtctac tccacctcca cgggggaggc cagtggggaa  
 5821 gggctgtcac ctcttcccca tctgcatgag ttctggaact ctgtcctgtt ggctgcttgc  
 5881 ttccagctcc ccccaatctc catcgcagcg ggttccctct gtcttttcta cagtgtcata  
 5941 aaacatcctg cccctaccct ctcccaagg tcaattttaa ttctcaccaa gttttgcaca  
 6001 tctctgtatg tcgcttgatg tcttagacgc gagccctttc ctaaaactgtt cagcgtcttc  
 6061 ttttcctttg ggtggttgtt gcaagggtga tgacatgact gtcccaggc ctgtctccct  
 6121 gaagcgtctg tgcgtgcagg acagccctgg gcagagatga ggcagggggt aggcgtgcgt  
 6181 gtgcttttcc tccttggttg atgtcttcca tatcatctgt ttccatagct acaatccatc  
 6241 ccttggcctt aactttggaa tttggagatt atatgcaaac atgtgtaaag gctcatgaat  
 6301 atggatgaca ctggaatttt ataaattcta aaataaaacc cgaaaccaga tgtagcatgc

6361 tgggactcat tttgaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa  
 6421 aaaaaaa  
 //

ЛОКУС NM\_203346 (изоформа а, вариант транскрипта 2)

АК /трансляция="MSSVAVLTQESFAEHRSGLVPPQIKVATLNSEESDPPTYKDAF  
 PPLPEKAACLESQAQEPAGAWGNKIRPIKASVITQVFHVPLEERKYKDMNQFGEQEQA  
 ICLEIMQRTGAHLELSLAKDQGLSIMVSGKLDVAMKARKDIVARLQTQASATVAIPKE  
 HHRFVIGKNGEKLQDLELKTATKIQIPRPDDPSNQIKITGTKEGIEKARHEVLISAE  
 QDKRAVERLEVEKAFHPFIAGPYNRLVGEIMQETGTRINIPPSVNRTEIVFTGEKEQ  
 LAQAVARIKKIYEKKKKTTTIAVEVKKSQHKYVIGPKGNSLQEI LERTGVSVETPPS  
 DSISETVILRGEPEKLGQALTEVYAKANSFTVSSVAAPSWLHRFIIGKKGQNLAKITQ  
 QMPKVHIEFTEGEDKITLEGPTEDVNVAQEQIEGMVKDLINRMDYVEINIDHKFHRHL  
 IGKSGANINRIKDQYKVSVRIPDSEKSNLIRIEGDPQGVQQAQKRELELASRMENER  
 TKDLIEQRFHRTIIGQKGERIREIRDKFPEVIINFPDPAQKSDIVQLRGPKNEVEKC  
 TKYMQKMVADLVENSYSISVPIFKQFHKNIIGKGGANIKKIREESNTKIDLPAENSNS  
 ETIITIGKRANCEAARSRLSIQKDLANIAEVEVSI PAKLHNSLIGTKGRILIRSIMEE  
 CGGVHIHFPVEGSGSDTVVIRGPPSDVEKAKQLLHLAEKQTKSFTVDIRAKPEYHK  
 KAGLLERVKELQAEQEDRALRSFKLSVTVDPKYIIPKIIGRKGAUITQIRLEHVDNIQF  
 NVVEDSMIVDPKHHRHFVIRRGQVLRERIAEYGGVMVSFPRSGTQSDKVTLKGAKDVC  
 EAAKKRIQEIIEDELAQVTECAIPQKFHRSVMGPKGSRIQQITRDFSVQIKFPDREE  
 NAVHSTEPVQENGDEAGEGREAKDCDPSRRCDIIISGRKEKCEAAKEALEALVP  
 VTIEVEVPFDLHRYVIGQKSGGIRKMMDEFVNIHVPAPELQSDIIAITGLAANLDR  
 KAGLLERVKELQAEQEDRALRSFKLSVTVDPKYIIPKIIGRKGAUITQIRLEHVDNIQF  
 PDKDDGNQPDQITITGYEKNTEAARDAILRIVGELEQMVSEDPVLDHRVHARIIGAR  
 GKAIKINDEFKVIDIRFPQSGAPDPNCVTVTGLPENVEEAI DHILNLEEEYLADVDS  
 EALQVYMKPPAHEEAKAPSRGFVVRDAPWTASSSEKAPDMSSEEFPSFGAQVAPKTL  
 PWGPKR

кДНК: 1 ggagcgctccc ggcttctctccc gcgcgggggg cgagtaagcc agcggcgagga ccagcgggcg  
 61 ggggcccacg acaaaagctg gcaggtgac agaggcggcc tcaggacgga ccttctggct  
 121 actgaccgtt ttgctgtggt tttcccgat tgtgtgtagg tgtgagatca accatgagtt  
 181 ccgttgacgt tttgacccaa gagagttttg ctgaacaccg aagtggctg gttccgcaac  
 241 aaatcaaatg tgccactcta aattcagaag aggagagcga cctccaacc tacaaggatg  
 301 ccttccctcc acttcctgag aaagctgctt gcctggaag tgcccaggaa cccgctggag  
 361 cctgggggaa caagatccga cccatcaagg cttctgtcat cactcaggtg ttcctgtac  
 421 ccctggagga gaaaaatac aaggatatga accagtttgg agaaggtgaa caagcaaaa  
 481 tctgccttga gatcatgcag agaactggtg ctcacttgga gctgtcttg gccaaagacc  
 541 aaggcctctc catcatggtg tcaggaaagc tggatgctgt catgaaagct cggaaggaca  
 601 ttgttgctag actgcagact caggcctcag caactgttgc cattcccaaa gaacaccatc  
 661 gctttgttat tggcaaaaat ggagagaaac tgcaagactt ggagctaaaa actgcaacca  
 721 aaatccagat cccacgcca gatgaccca gcaatcagat caagatcact ggcaaccaag  
 781 agggcatcga gaaagctcgc catgaagtct tactcatctc tgccgagcag gacaaacgtg  
 841 ctgtggagag gctagaagta gaaaaggcat tccacccctt catcgctggg ccgtataata  
 901 gactggttgg cgagatcatg caggagacag gcacgcgcat caacatcccc ccaccagcg  
 961 tgaaccggac agagattgtc ttcactggag agaaggaaca gttggctcag gctgtggctc  
 1021 gcatcaagaa gatttatgag gagaagaaaa agaagactac aaccattgca gtggaagtga  
 1081 agaaatccca acacaagtat gtcattgggc ccaagggcaa ttcattgcag gagatccttg  
 1141 agagaactgg agtttccgtt gagatcccac cctcagacag catctctgag actgtaatac  
 1201 ttcgaggcga acctgaaaag ttaggtcagg cgttgactga agtctatgcc aaggccaata  
 1261 gcttcaccgt ctctctgtc gccgcccctt cctggcttca ccgtttcatc attggcaaga  
 1321 aagggcagaa cctggccaaa atcactcagc agatgccaaa ggttcacatc gagttcacag  
 1381 agggcgaaga caagatcacc ctggagggcc ctacagagga tgtcaatgtg gccaggaac  
 1441 agatagaagg catggtcaaa gatttgatta accgatgga ctatgtggag atcaacatcg  
 1501 accacaagtt ccacaggcac ctcatggga agagcgggtg caacataaac agaatacaag  
 1561 accagtacaa ggtgtccgtg cgcattccctc ctgacagtga gaagagcaat ttgatccgca  
 1621 tcgaggggga cccacagggc gtgcagcagg ccaagcgaga gctgctggag cttgcatctc  
 1681 gcatggaaaa tgagcgtacc aaggatctaa tcattgagca aagatttcat cgcacaatca  
 1741 ttgggcagaa ggtgaacgg atccgtgaaa ttcgtgacaa attccagag gtcattcata  
 1801 actttccaga cccagcacia aaaagtgaac ttgtccagct cagaggacct aagaatgagg

1861 tggaaaaatg cacaaaatac atgcagaaga tgggtggcaga tctggtggaa aatagctatt  
 1921 caattttctgt tccgatcttc aaacagtttc acaagaatat cattgggaaa ggaggcgcaa  
 1981 acatttaaaaa gattcgtgaa gaaagcaaca ccaaaatcga ccttccagca gagaatagca  
 2041 attcagagac cattatcatc acaggcaagc gagccaactg cgaagctgcc cggagcagga  
 2101 ttctgtctat tcagaaagac ctggccaaca tagccgaggt agaggtctcc atccctgccca  
 2161 agctgcacaa ctccctcatt ggaccaagg gccgtctgat ccgtccatc atggaggagt  
 2221 gcggcggggt ccacattcac ttcccggtg aaggttcagg aagcgacacc gttgttatca  
 2281 ggggcccttc ctcggtgtg gagaaggcca agaagcagct cctgcattct gcggaggaga  
 2341 agcaaaccaa gagtttctact gttgacatcc gcgccaagcc agaataccac aaattcctca  
 2401 tcggcaaggg gggcggcaaa attcgcaagg tgcgcgacag cactggagca cgtgtcatct  
 2461 tccctgcggc tgaggacaag gaccaggacc tgatcaccat cattggaaa gaggacgccg  
 2521 tccgagaggc acagaaggag ctggaggcct tgatccaaaa cctggataat gtggtggaag  
 2581 actccatgct ggtggacccc aagcaccacc gccacttcgt catccgcaga ggccaggtct  
 2641 tcggggagat tgctgaagag tatggcgggg tgatggtcag cttcccacgc tctggcacac  
 2701 agagcgacaa agtcacccctc aaggcgcca aggactgtgt ggaggcagcc aagaaacgca  
 2761 ttcaggagat cattgaggac ctggaagctc aggtgacatt agaattgtgt tactccagca  
 2821 aattccatcg atctgtcatg ggcccaaaag gttccagaat ccagcagatt actcgggatt  
 2881 tcagtgttca aattaaattc ccagacagag aggagaacgc agttcacagt acagagccag  
 2941 ttgtccagga gaatggggac gaagctgggg aggggagaga ggctaaagat tgtgaccccc  
 3001 gctctccaag gaggtgtgac atcatcatca tctctggccg gaaagaaaa gtgtgaggtc  
 3061 ccaaggaaagc tctggaggca ttggttcctg tcaccattga agtagaggtg ccctttgacc  
 3121 ttcaccgtta cgttattggg cagaaaggaa gtgggatccg caagatgatg gatgagtttg  
 3181 aggtgaacat acatgtccc gacccctgagc tgcagtctga catcatcgcc atcacggggc  
 3241 tcgctgcaaa tttggaccgg gccaaaggctg gactgctgga gcgtgtgaag gagctacagg  
 3301 ccgagcagga ggaccgggct ttaaggagt ttaagctgag tgtcactgta gaccccaaat  
 3361 accatcccaa gattatcggg agaaaggggg cagtaattac ccaaatccgg ttggagcatg  
 3421 acgtgaacat ccagtttctc gataaggacg atgggaacca gcccaggac caaattacca  
 3481 tcacagggtg cgaagaagac acagaagctg ccagggatgc tatactgaga atgtgggtg  
 3541 aacttgagca gatggtttct gaggacgtcc cgctggacca ccgcgttcac aagcgtcctg  
 3601 ttggtgcccg cgcaaaagcc attcgcaaaa tcattggacga attcaagggt gacattcgct  
 3661 tcccacagag cggagcccca gaccccaact gcgtcactgt gacggggctc ccagagaatg  
 3721 tggaggaagc catcgaccac atcctcaatc tggaggagga atacctagct gacgtgggtg  
 3781 acagtgaagg gctgcaggta tacatgaaac cccagcaca cgaagaggcc aaggcacctt  
 3841 ccagaggctt tgtggtgcgg gacgcaccct ggaccgccag cagcagtga aaggtcctg  
 3901 acatgagcag ctctgaggaa ttcccagct ttggggctca ggtggctccc aagacctcc  
 3961 cttggggccc caaacgataa tgatcaaaaa gaacagaacc ctctccagcc tgctgaccca  
 4021 aacccaacca cacaatgggt tgtctcaatc tgaccagcg gctggaccct ccgtaaattg  
 4081 ttgacgtct tcccccttc cgaggctccg cagggagcct agcgccctggc tgtgtgtgcg  
 4141 gccgtctctc caggcctggc cgtgcccgct caggacctgc tccactgttt aacactaaac  
 4201 caaggctcag agcattcgtg ctaagataac agactccagc tccctggtcca cccggcatgt  
 4261 cagtcagcac tctggccttc atcacgagag ctccgcagcc gtggctagga ttccacttcc  
 4321 tgtgtcatga cctcaggaat taaacgtcct tgactttata aaagccaaac gtttgcctc  
 4381 ttccctttcc accctccctc tgcagtttc ccttggcca gacagtcctg ttgtggagt  
 4441 gcaatcagcc tcctccagct gccagagcgc ctacgcagag gtgtcagggt gcaagggaaga  
 4501 cctggcaatg gacagcagga gccagggttc tggagctggg ggtgacctg agaggcagag  
 4561 ggtgacgggt tctcaggcag tctgatttt accctgccgt ggtgtgaaa gcaccaaggg  
 4621 tccctgcccc tacctccact gccagaccct cagcctgagg tctggtgagt ggagcctgga  
 4681 ggcaagggtg taggcaccat ctgggtcccc tgtggccgtc acagtgtctg ctgtgattga  
 4741 gatgcgcaca ggttggggga gtagggcct tacgcttgtc ctacgtggg gcagtttgcc  
 4801 ttagatgaca gctgggtctt tcttcacacc acctgcagcc cctccctgcc cctgccctag  
 4861 ctgctgtgtg ttacagttgc ttctttctac ctacgcggc gtggagtggg ctctgtgcag  
 4921 ttagtgccac cccacacacc cgtctcttga ttgagatgtt tctggtggtt atgggtttcc  
 4981 cgtggagctg ggggtggcg ccgtgtacct aagctggagg ctggcgctct ccctcagcac  
 5041 aggtgggtca gtggccagca gcccatctg gagtgggagt gggcacttcc accccgccca  
 5101 caggccatcc ggtgtgcag gccagccctc aggagcaggt cccgggtgac tggcagtttt  
 5161 cagggtctag ggccgagacg atggcatggg gcctagagca tgaggtagag cagaatgcag  
 5221 accacgccgc tggatgccga gagaccctgc tctccgagg aggcattctg gtcatgctgt  
 5281 gagggtctag gacggggccc tagtctctgg tttctgtgtc ttaacatcct tatctgtgtc  
 5341 cgccacggag gtgactgagc tgctagcgag ttgtcctgtc ccaggtactt gagttttgga  
 5401 aaagctgact cagcggccat catctcacag ccctccctg gggacagtcg cttccgctt  
 5461 gacacctcac tctcagttga ataactcaag cttggtcatc ttcagactcg aattcttgag

```

5521 tagacccaga cggttagcc caagtctagt tgcagctgcc tcggcaagtc cccatttgct
5581 caggcagccc tgaatgggcc tgtttacagg aatggtaa at tgggattgga aggaatatag
5641 cttccagctt cataggctag ggtgaccacg gcttaggaaa cagggaaga aagcaaggcc
5701 cttttcctgc ctttcccggt atctgtctac tccacctcca cgggggaggc cagtgggaa
5761 gggctgtcac ctcttcccca tctgcatgag ttctggaact ctgtcctgtt ggctgcttgc
5821 ttccagctcc cccaatctc catcgagcg ggttcctcct gtcttttcta cagtgtcata
5881 aaacatcctg ccctaccct ctccaaagg tcaattttaa ttctcaccaa gttttgcaca
5941 tctctgtatg tcgcttgatg tcttagacgc gagccctttc ctaaacgttt cagcgtctc
6001 ttttcctttg ggtggttgtt gcaagggtga tgacatgact gtcccaggc ctgtctcct
6061 gaagcgtctg tgctgtcagg acagccctgg gcagagatga ggcaggggtg aggcgtgctg
6121 gtgcttttcc tccttggttg atgtcttcca tatcatctgt ttccatagct acaatccatc
6181 ccttggcctt aactttgaa tttggagatt atatgcaaac atgtgtaaag gctcatgaat
6241 atggatgaca ctggaatttt ataaattcta aaataaaacc cgaaccaga tgtagcatgc
6301 tgggactcat tttgaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa
6361 aaaaaaa

```

//

11. HIST1H2BA: HIST1H2BA кластер гистона 1, H2ba [ Homo sapiens ]

ЛОКУС NM\_170610

AK /трансляция="MPEVSSKGATISKKGFKKAVVKTQKKEGKKRKRTRKESYSIYIY

KVLKQVHPDTGISSKAMSIMNSFVTDIFERIASEASRLAHYSKRSTISSREIQTAVRL

LLPGELAKHAVSEGTKAVTKYTSSK

```

кДНК: 1 atgccggagg tgtcatctaa aggtgtacc atttccaaga agggctttta gaaagctgtc
61 gtttaagacc agaaaaagga aggcaaaaag cgcaagagga cccgtaagga gaggattattc
121 atttacatct acaaaagtgt aaagcagggt catccggaca ctggcatctc ttcgaaagct
181 atgagcatta tgaattcctt cgtcactgat atctttgagc gtatagcgag cgaggcatca
241 cgtttggctc actacagcaa gcgtccacc atttcttcca gagagattca gacagcagtg
301 cgcttgctac tgccgggaga gctggctaaa catgctgtgt ctgagggcac caagcgtgtc
361 actaagtaca ccagctccaa gtaagcctgc taagtaaacg tcatttctaa cccaaaggct
421 cttttcagag ccactta
//

```

12. HMGB2: HMGB2 группа с высокой подвижностью box 2 [ Homo sapiens ]

ЛОКУС NM\_001130688 (изоформа 2)

AA /трансляция="MGKGDPNKPRGKMSSYAFFVQTCREHNKKHDPSSVNFAEFSKK

CSERWKTMSAKEKSKFEDMAKSDKARYDREMKNYVPPKGDKKGKKDENAPKRPPSAF

FLFCSEHRPKIKSEHPGLSIGDTAKKLGEMWSEQSAKDKQPYEQKAAKLKEKYEKDIA

AYRAKGKSEAGKKGPGRPTGSKKKNEPEDEEEEEDEDEDEDEDEDEE

```

кДНК: 1 aaaccagttc acgccggagc cccgtgaggg aagcgtctcc gttgggtccg gccgctctgc
61 gggactctga gaaaaagctc gcaccaggca agaataccct ccaataccct cgggtggacg
121 cggatctgtc aacatgggta aaggagacc caacaagccg cggggcaaaa tgtcctcgta
181 cgccttcttc gtgcagacct gccgggaaga gcacaagaag aaacaccccg actcttccgt
241 caatttcgag gaattctcca agaagtgttc ggagagatgg aagaccatgt ctgcaaggga
301 gaagtcgaag tttgaagata tggcaaaaag tgacaaagct cgctatgaca gggagatgaa
361 aaattacgtt cctcccaaag gtgataagaa ggggaagaaa aaggaccca atgtccttaa
421 aaggccacca tctgccttct tcctgttttg ctctgaacat cgcccaaaga tcaaaagtga
481 acaccctggc ctatccattg gggatactgc aaagaaattg ggtgaaatgt ggtctgagca
541 gtcagccaaa gataaacaac catatgaaca gaaagcagct aagctaaagg agaaatatga
601 aaaggatatt gctgcatatc gtgccaaagg caaaagtga gcaggaaaga agggccctgg
661 caggccaaca ggctcaaaga agaagaacga accagaagat gaggaggagg aggaggaaga
721 agaagatgaa gatgaggagg aaggaggatga agatgaagaa taaatggcta tcctttaatg
781 atgcgtgtgg aatgtgtgtg tgtgtctcagg caattatttt gctaagaatg tgaattcaag
841 tgcagctcaa tactagcttc agtataaaaa ctgtacagat ttttgtatag ctgataagat
901 tctctgtaga gaaaatactt ttaaaaaatg caggtttagt ctttttgatg ggctactcat
961 acagtttagat tttacagctt ctgatgttga atgttcctaa atatttaatg gtttttttaa
1021 tttcttgtgt atggtagcac agcaaaactg taggaattag tatcaatagt aaattttggg
1081 ttttttagga tgttgcatct cgttttttta aaaaaaattt tgtaataaaa ttatgtatat
1141 tatttctatt gtctttgtct taatatgcta agttaatttt cactttaaaa aagccatttg

```

1201 aagaccagag ctatgttgat ttttttcggt atttctgcct agtagttctt agacacagtt  
 1261 gacctagtaa aatgtttgag aatataaaacc aaacatgctc atatttgcaa aatgttcttt  
 1321 aaaagttaaca tgttgaaactc agtgaacttt ataagaattt atgcagtttt acagaacggt  
 1381 aagttttgta cttgacgttt ctgtttatta gctaaattgt tcctcagggtg tgtgtatata  
 1441 tatatacata tatatatata tatatat

//

ЛОКУС NM\_001130689 (изоформа 3)  
 АК /трансляция="MGKGDPNKPRGKMSSYAFVQTCREEHKKKHPDSSVNFAEFSKK  
 CSERWKTMSAKEKSKFEDMAKSDKARYDREMKNYVPPKGDKKGKKKDPNAPKRPPSAF  
 FLFCSEHRPKIKSEHPGLSIGDTAKKLGEMWSEQSAKDKQPYEQKAAKLKEKYEKDIA  
 AYRAKGKSEAGKKGPRPTGSKKNEPEDEEEEEEEDEDEEEEEDEDEE

кДНК: 1 ggatttgggc gggaagcgga gccccgccag cgccccccct ggcagctgcg ggctccgcgc  
 61 cgaccctccg gcttcccctc tccccctcgc gccccgtcag gtggacgcgg atctgtcaac  
 121 atgggtaaaag gagaccccaa caagccgcgg ggcaaaatgt cctcgtagcg cttcttcgtg  
 181 cagacctgcc gggaagagca caagaagaaa cccccggact cttccgtcaa tttcgcggaa  
 241 ttctccaaga agtgttcgga gagatggaag accatgtctg caaaggagaa gtcgaagtgt  
 301 gaagatatgg caaaaagtga caaagctcgc tatgacaggg agatgaaaaa ttacgttcct  
 361 cccaaaggtg ataagaaggg gaagaaaaag gaccccaatg ctctaaaaag gccaccatct  
 421 gccttcttcc tgttttgcgc tgaacatcgc ccaagatca aaagtgaaca ccttggccta  
 481 tccattgggg atactgcaa gaaattgggt gaaatgtggt ctgagcagtc agccaaagat  
 541 aaacaaccat atgaacagaa agcagctaag ctaaggaga aatatgaaaa ggatattgct  
 601 gcatatcgtg ccaagggcaa aagtgaagca ggaagaagg gccctggcag gccaacaggc  
 661 tcaagaaga agaacgaacc agaagatgag gaggaggagg aggaagaaga agatgaagat  
 721 gaggaggaag aggatgaaga tgaagaataa atggctatcc tttaatgatg cgtgtggaat  
 781 gtgtgtgtgt gctcaggcaa ttattttgct aagaatgtga attcaagtgc agctcaatac  
 841 tagcttcagt ataaaaactg tacagatttt tgtatagctg ataagattct ctgtagagaa  
 901 aatactttta aaaaatgcag gttgtagctt tttgatgggc tactcataca gtttagatttt  
 961 acagcttctg atgttgatg ttcctaaata tttaatggtt tttttaattt cttgtgtatg  
 1021 gtagcacagc aaactttagt gaattagtat caatagtaaa ttttgggttt tttaggatgt  
 1081 tgcatttcgt ttttttaaaa aaaattttgt aataaaatta tgtatattat ttctattgtc  
 1141 tttgtcttaa tatgctaagt taattttcac tttaaaaaag ccatttgaag accagagcta  
 1201 tgttgatttt tttcggtatt tctgcctagt agttcttaga cacagttgac ctagtaaaaat  
 1261 gtttgagaat taaaaccaa catgctcata tttgcaaaat gttcttttaa agttacatgt  
 1321 tgaactcagt gaactttata agaatttatg cagttttaca gaacgttaag ttttgtactt  
 1381 gacgtttctg tttattagct aaattgttcc tcagggtgtg gtatatatat atacatatat  
 1441 atatatatat atat

//

ЛОКУС NM\_002129 (изоформа 1)  
 АК /трансляция="MGKGDPNKPRGKMSSYAFVQTCREEHKKKHPDSSVNFAEFSKK  
 CSERWKTMSAKEKSKFEDMAKSDKARYDREMKNYVPPKGDKKGKKKDPNAPKRPPSAF  
 FLFCSEHRPKIKSEHPGLSIGDTAKKLGEMWSEQSAKDKQPYEQKAAKLKEKYEKDIA  
 AYRAKGKSEAGKKGPRPTGSKKNEPEDEEEEEEEDEDEEEEEDEDEE

кДНК: 1 ggggatgtgg cccgtggcct agctcgtcaa gttgccgtgg cgcgagaaac tctgcaaaac  
 61 aagaggctga ggattgcgtt agagataaac cagttcacgc cggagccccg tgagggaagc  
 121 gtctccgttg ggtccgcccgc ctctgcggga ctctgaggaa aagctcgcac cagggtggacg  
 181 cggatctgtc aacatgggta aaggagaccc caacaagccg cggggcaaaa tgtcctcgta  
 241 cgccttcttc gtgcagacct gccgggaaga gcacaagaag aaacacccg actcttccgt  
 301 caatttcgcg gaattctcca agaagtgttc ggagagatgg aagaccatgt ctgcaaagga  
 361 gaagtgaag tttgaagata tggcaaaaag tgacaaagct cgctatgaca gggagatgaa  
 421 aaattacgtt cctcccaaag gtgataagaa ggggaagaaa aaggaccca atgctcctaa  
 481 aaggccaacca tctgccttct tctgttttg ctctgaacat cgcccaaaga tcaaaagtga  
 541 acaccctggc ctatccattg gggatactgc aaagaaattg ggtgaaatgt ggtctgagca  
 601 gtcagccaaa gataaacaac catatgaaca gaaagcagct aagctaaagg agaaatatga  
 661 aaaggatatt gctgcatatc gtgccaaggc caaaagtga gcaggaaaga agggccctgg  
 721 caggccaaca ggctcaaaga agaagaacga accagaagat gaggaggagg agggaggaaga  
 781 agaagatgaa gatgaggagg aagaggatga agatgaagaa taaatggcta tcctttaatg  
 841 atgcgtgtgg aatgtgtgtg tgtgctcagg caattatttt gctaagaatg tgaattcaag

901 tgcagctcaa tactagcttc agtataaaaa ctgtacagat ttttgtatag ctgataagat  
 961 tctctgtaga gaaaatactt ttaaaaaatg caggttgtag ctttttgatg ggctactcat  
 1021 acagtttagat ttacagctt ctgatgttga atgttcctaa atattttaatg gtttttttaa  
 1081 tttcttgtgt atggttagcac agcaacttg taggaattag tatcaatagt aaattttggg  
 1141 ttttttagga tgttgcattht cgttttttta aaaaaaattt tgtaataaaa ttatgtatat  
 1201 tatttctatt gtctttgtct taatatgcta agttaatttt cactttaaaa aagccatttg  
 1261 aagaccagag ctatgttgat ttttttcggt atttctgcct agtagttctt agacacagtt  
 1321 gaccagtaga aatgtttgag aattaaaaac aaacatgctc atatttgcaa aatgttcttt  
 1381 aaaagttaca tgttgaactc agtgaacttt ataagaattt atgcagtttt acagaacggt  
 1441 aagttttgta cttgacgttt ctgtttatta gctaaattgt tcctcaggtg tgtgtatata  
 1501 tatatacata tatatatata tatatat

//

13. HNRNPK: HNRNPK гетерогенный ядерный рибонуклеопротеин К [ Homo sapiens ]

ЛОКУС NM\_002140

(изоформа а вариант 1)

AK/трансляция="МЕТЕQPEETFPNTETNGEFGKRP AEDMEEEQAFKRSRNTDEMVE  
 LRILLQSKNAGAVIGKGGKNIKALRTDYNASVSPDSSGPERILSISADIETIGEILK  
 KIIPTELEGLQLPSPTATSQLPLESDAVECLNYQHYKGSDFDCELRLLIHQSLAGGII  
 GVKGAKIKELRENTQTTIKLFQECPPHSTDRVVLIGGKPDVVECIKIILDILSESPI  
 KGRAQPYDPNFYDETYDYGGFTMMFDDRGRPVGFPMRGRGGFDRMPGRGRGPRMPPS  
 RRDYDDMSPRRGPPPPPPGRGGGSSRARNLPLPPPPPRGGDL MAYDRRGRPGDRYD  
 GMVGFSADETWDS AIDTWSPSEWQ MAYEPQGGSGYDYSYAGGRGSYGD LGGP IITTV  
 TIPKDLAGSIIGKGGQRIKQIRHESGASIKIDEPLEGSEDRIITITGTQDQIQNAQYL  
 LQNSVKQYADVEGF

кДНК: 1 ccctagccgc ccctcccccc agctagttag tgcgcgaacg agaaaggagg agggcgctcc  
 61 agggcagacg actgcagacg ccattatcct ctgtttctct gctgcaccga cctcgacgtc  
 121 ttgcctgtgt ccacttggtt cgcggcctat aggctactgc agcactgggg tgtcagttgt  
 181 tgggtccgacc cagaacgctt cagttctgct ctgcaaggat atataataac tgattgggtg  
 241 gcccggttaa taaaagaata tggaaactga acagccagaa gaaaccttcc ctaacactga  
 301 aaccaatggt gaatttggtg aacgcccctg agaagatatg gaagaggaac aagcatttaa  
 361 aagatctaga aacactgatg agatggttga attacgcatt ctgcttcaga gcaagaatgc  
 421 tggggcagtg attggaagaaggaggcaagaa tattaaggct ctccgtacag actacaatgc  
 481 cagtgtttca gtcccagaca gcagtggccc cgagcgcata ttgagtatca gtgctgatat  
 541 tgaaacaatt ggagaaattc tgagaaaat catccctacc ttggaagagg gcctgcagtt  
 601 gccatcacc cactgcaacca gccagctccc gctcgaatct gatgctgtgg aatgcttaaa  
 661 ttaccaacac tataaaggaa gtgactttga ctgcgagttg aggcgtgtga ttcatcagag  
 721 tctagcagga ggaattattg ggggtcaaaagg tgcataaaatc aaagaacttc gagagaacac  
 781 tcaaaccacc atcaagcttt tccaggaatg ctgtcctcat tccactgaca gagtgtgtct  
 841 tattggagga aaacccgata gggtttaga gtgcataaag atcatccttg atcttatatc  
 901 tgagtctccc atcaaaggac gtgcacagcc ttatgatccc aattttttacg atgaaccta  
 961 tgattatggt ggttttcaaa tgatgtttga tgaccgtcgc ggacgcccag tgggatttcc  
 1021 catgcgggga agaggtggtt ttgacagaat gcctcctggt cgggggtgggc gtcccatgcc  
 1081 tccatctaga agagattatg atgatatgag ccctcgtcga ggaccacctc cccctcctcc  
 1141 cggacgaggg gcccggggtg tagcagagc tcggaatctt cctcttctc caccaccacc  
 1201 acctagaggg ggagacctca tggcctatga cagaagaggg agacctggag accgttacga  
 1261 cggcatggtt ggtttcagtg ctgatgaaac ttgggactct gcaatagata catggagccc  
 1321 atcagaatgg cagatggctt atgaaccaca ggttggtctc ggatatgatt attcctatgc  
 1381 agggggtcgt ggtcatatg gtgatcttggt tggacctatt attactacac aagtaactat  
 1441 tcccaaagat ttggctggat ctattattgg caaagggtgt cagcggatta aacaaatccg  
 1501 tcatgagtcg ggagcttcga tcaaaattga tgagccttta gaaggatccg aagatcggat  
 1561 cattaccatt acaggaacac aggaccagat acagaatgca cagtatttgc tgcagaacag  
 1621 tgtgaagcag tatgcagatg ttgaaggatt ctaatgcaag atattttttc ttttttatag  
 1681 tgtgaagcag tattctggaa agtttttcta agactagtga agaactgaag gagtccctga  
 1741 tctttttttt tttatctgct tctgttttaa aagccaacat tcctctgct catagggtgt  
 1801 ctgcatttga ggtgtagtga aatctttgct gttcaccaga tgtaattgtt tagttcctta  
 1861 caaacagggg tggggggggg aagggcgtgc aaaaactaac attgaaattt tgaaacagca  
 1921 gcagagttag tggattttat ttttcgttat tgttggtggt ttaaaaaatt cccccatgt  
 1981 aattattgtg aacaccttgc tttgtggtca ctgtaacatt tgggggggtg gacagggagg  
 2041 aaaagtaaca atagtcacaca tgtccctggc atctgttcag agcagtggtc agaattgta

2101 gctcttttgt aagaaacgtt ttatgatttt taaaataaat ttagtgaacc tatttttgggt  
 2161 ggtcattttt tttttaagac agtcatttta aaatgggtggc tgaatttccc aaccaccccc  
 2221 caaactaaac actaagttta attttcagct cctctgttgg acatataagt gcatctcttg  
 2281 ttggacatag gcaaaataac ttggcaaaact tagttcttgg gatttcttga tgggttggaa  
 2341 gtctattgct gggaagaaat tccatcatatc atattcatgc ttataataag ctgggggattt  
 2401 tttgtttgtt ttgtcaaatg cttgccccta cttttcaaca attttctatg ttagttgtga  
 2461 agaactaagg tggggagcag tactacaagt tgagtaatgg tatgagtata taccagaatt  
 2521 ctgattggca gcaagtttta ttaatcagaa taacacttgg ttatgggaagt gactaatgct  
 2581 gaaaaaattg attattttta ttagataaatt tctcacctat agacttaaac tgtcaatttg  
 2641 ctctagtgtc ttattagtta aactttgtaa aatatatata tacttgtttt tccattgtat  
 2701 gcaaattgaa agaaaaagat gtaccatttc tctgttgtat gttggattat gtaggaaatg  
 2761 tttgtgtaca attcaaaaaa aaaaaagatg aaaaaagttc ctgtggatgt tttgtgtagt  
 2821 atcttggcat ttgtattgat agttaaatt cacttccaaa taaataaaac acccatgatg  
 2881 ctagatttga tgtgtgcccg atttgaacaa ggttgattg acacctgtaa aatttgttga  
 2941 aacgttcctc ttaaaaggaa atatagtaat cttatgtaaa aaaaaaaaaa aaaaa  
 //

ЛОКУС

NM\_031262

(изоформа 3 вариант 3)

АК/трансляция="МЕТЕQPEETFPNTEtNGEFgKRPaEDMEEEQAFKRSRNTDEMVE  
 LRILLQSKNAGAVIGGGKNIKALRTDYNASVSPDSSGPERILSISADIETIGEILK  
 KIIPtLEEGQLPSPTATSQLPLESDAVECLNYQHYKGSDFDCELRLLIHQSLAGGI  
 GVKGAKIKELRENTQTtIKLFQECcPHSTDRVVLIGGKPD RVVECIKIILDLISesPI  
 KGRAQPYDPNFYDEtYDYGgFTMMFDDRRGRPVGFPMRGRGGFDRMPpGRGGRPMPPS  
 RRDYDMSPRRGPPPPpPRGGRGGSrARNLPLPPPPpRGGLMAYDRRGPRGDRYD  
 GmVGFsADEtWDSaIDTWSPsEWQMayEPQGGSGYDYSYAGGRGSYGD LGGPiITtQV  
 TIpKDLAGSIIGKGQRIKQIRHESGASIKIDePLEGSEDRIITtTGtQDQIQNAQYL  
 LQNSVKQYSGKFF

КДНК: 1 ccctagccgc ccctcccccc agctagttag tgccggaacg agaaaggagg agggcgctcc  
 61 aggcgcagac actgcagacg ccattatcct ctgtttctct gctgcaccga cctcgacgtc  
 121 ttgcctgtgt ccacttgtt cgcggcctat aggctactgc agcactgggg tgtcagttgt  
 181 tgggtccgacc cagaacgctt cagtctctgt ctgcaaggat atataataac tgattggtgt  
 241 gcccgtttaa taaaagaata tggaaactga acagccagaa gaaaccttcc ctaacactga  
 301 aaccaatggt gaatttggta aacgcccctgc agaagatatg gaagaggaac aagcatttaa  
 361 aagatctaga aacactgatg agatggttga attacgcatt ctgcttcaga gcaagaatgc  
 421 tggggcagtg attgaaaaag gaggaagaa tattaaggct ctccgtacag actacaatgc  
 481 cagtgtttca gtcccagaca gcagtggccc cgagcgcata ttgagtatca gtgctgatat  
 541 tgaacaatg ggagaaattc tgaagaaaa catccctacc ttggaagagg gcctgcagtt  
 601 gccatcacc actgcaacca gccagctccc gctcgaatct gatgctgtgg aatgcttaaa  
 661 ttaccaacac tataaaggaa gtgactttga ctgagagttg aggctgttga ttcacagag  
 721 tctagcagga ggaattattg ggtcaaaag tgctaaaaatc aaagaacttc gagagaacac  
 781 tcaaaccacc atcaagcttt tccaggaatg ctgtcctcat tccactgaca gagttgttct  
 841 tattggagga aaacccgata ggttgttaga gtgcataaaag atcatccttg atcttatatc  
 901 tgagtctccc atcaaaggac gtgcacagcc ttatgatccc aatttttacg atgaaaccta  
 961 tgattatggt ggttttaca tgatgtttga tgaccgtcgc ggacgcccag tgggatttcc  
 1021 catgcgggga agaggtggtt ttgacagaat gcctcctggt cgggggtgggc gtcccatgcc  
 1081 tccatctaga agagattatg atgatatgag ccctcgtcga ggaccacctc cccctcctcc  
 1141 cggacgaggc ggccgggggtg gtagcagagc tcggaatcct cctcttctc caccaccacc  
 1201 acctagaggg ggagacctca tggcctatga cagaagaggg agacctggag accgttacga  
 1261 cggcatggtt ggtttcagtg ctgatgaaac ttgggactct gcaatagata catggagccc  
 1321 atcagaatgg cagatggctt atgaaccaca ggggtggctcc ggatagatt attcctatgc  
 1381 agggggtcgt ggctcatatg gtgatccttg tggacctatt attactacac aagtaactat  
 1441 tcccaaagat ttggctggat ctattattgg caaagggtggt cagcggatta aacaaatccg  
 1501 tcatgagtcg ggagcttcga tcaaaattga tgagccttta gaaggatccg aagatcggat  
 1561 cattaccatt acaggaacac aggaccagat acagaatgca cagtatttgc tgcagaacag  
 1621 tgtgaagcag tattctggaa agtttttcta agactagtga agaactgaag gagtccctgca  
 1681 tctttttttt tttatctgct tctgtttaaa aagccaacat tcctctgctt catagggtgtt  
 1741 ctgcatttga ggtgtagtga aatctttgct gttcaccaga tgtaattgtt tagttcctta  
 1801 caaacagggg tggggggggg aagggcgtgc aaaaactaac attgaaattt tgaacagca  
 1861 gcagagttag tggattttat ttttcgttat tgttggtggt ttaaaaaatt ccccccattg  
 1921 aattattgtg aacaccttgc tttgtggtca ctgtaacatt tgggggggtg gcaggggag  
 1981 aaaagtaaca atagtccaca tgtccctggc atctgttcag agcagtgtgc agaagtgaat

2041 gctcttttgt aagaaacggt ttatgatttt taaaataaat ttagtgaacc tatttttggg  
 2101 ggtcattttt tttttaagac agtcatttta aaatgggtggc tgaattttcc aacccacccc  
 2161 caaactaaac actaagttta attttcagct cctctgttgg acatataagt gcatctcttg  
 2221 ttggacatag gcaaaataac ttggcaaaact tagttctggg gatttcttga tggtttgga  
 2281 gtctattgct gggaaagaaat tccatcatatc atattcatgc ttataataag ctggggattt  
 2341 tttgtttgtt tttgcaaatg cttgccccta cttttcaaca attttctatg ttagttgtga  
 2401 agaactaagg tggggagcag tactacaagt tgagtaatgg tatgagtata taccagaatt  
 2461 ctgattggca gcaagtttta ttaatcagaa taacacttgg ttatgggaag gactaatgct  
 2521 gaaaaaattg attattttta ttagataaatt tctcacctat agacttaaac tgtcaatttg  
 2581 ctctagtgtc ttatttagtta aactttgtaa aatataatata tacttgtttt tccattgtat  
 2641 gcaaatgaa agaaaaagat gtaccatttc tctgttgtat gttggattat gtaggaaatg  
 2701 tttgtgtaca attcaaaaaa aaaaaagatg aaaaaagtgc ctgtggatgt tttgtgtagt  
 2761 atcttggcat ttgtattgat agttaaaatt cacttccaaa taaataaaac acccatgatg  
 2821 ctagatttga tgtgtgcccg atttgaacaa gggttgattg acacctgtaa aatttgttga  
 2881 aacgttcctc ttaaaaggaa atatagtaat cttatgtaaa aaaaaaaaaa aaaaa  
 //

ЛОКУС NM\_031263 (изоформа а вариант 2)  
 АК /трансляция="METEQPEETFPNTEtNGEFGKRPAdMEEEQAFKRSRNTDEMVE  
 LRILLQSKNAGAVIGKGGKNIKALRTDYNASVSPDSSGPERILSISADIETIGELK  
 KIIPtLEEGlQLSPtATSQlPLESDAVECLNYQHYKGSDFDCElRLlIHQSLAGGI  
 GVKGAKIKELRENTQTTIKlFQECPhSTDRVVLIGKpDRVVECIKIILDLISepI  
 KGRAQPyDPNFYDEtYDYGGFTMMFDrrGRpVGFPMRGRGGFDrmPPGRGGRPMPPS  
 RRDYDDMSpRRGPPPPPPGRGGRGGSrARNlPLPPPPPPRGDLmAYDRGRpGDRYD  
 GMVGFSAdETWDSAdTWSpSEWQMayEPQGGSGYDYSYAGGRGSYGLGGPIITtQV  
 TIPKDLAGSIIGKGGQRIKQIRHESGASIKIDePLEGSedRIITITGTQDQIQNAQYL  
 LQNSVKQYADVEGF

кДНК: 1 tagggcgcg cggcggggag gacgcgagaa ggcgggggag gggagcctgc gctcgttttc  
 61 tgtctagctc cgaccggctg aggcggcgcg gcagcgagg gacggcagtc tcgcgcggct  
 121 actgcagcac tgggggtgtca gttgttggtc cgaccagaa cgcttcagtt ctgctctgca  
 181 aggatataata ataactgatt ggtgtgcccg ttaataaaaa gaatatggaa actgaacagc  
 241 cagaagaaac cttccctaac actgaaccca atgggtgaatt tggtaaacgc cctgcagaag  
 301 atattggaaga ggaacaagca tttaaaagat ctagaacac tgatgagatg gttgaattac  
 361 gcattctgct tcagagcaag aatgctgggg cagtgtattg aaaaggaggc aagaatatta  
 421 aggcctctccg tacagactac aatgccagtg tttcagtcac agacagcagt ggccccgagc  
 481 gcattattgag tatcagtgct gatattgaaa caatttgaga aattctgaag aaaatcatcc  
 541 ctacccttga agagggcctg cagttgccat caccactgc aaccagccag ctcccgcctg  
 601 aatctgatgc tgtggaatgc ttaaatacc aacactataa aggaagtgc tttgactgcg  
 661 agttgaggct gttgattcat cagagtctag caggaggaat tattggggtc aaagggtcta  
 721 aaatcaaaaga acttcgagag aacactcaaa ccaccatcaa gcttttcag gaatgctgct  
 781 ctactccac tgacagagtt gttcttattg gaggaaaacc cgatagggtg gtagagtgc  
 841 taaagatcat ccttgatctt atatctgagt ctcccatcaa aggacgtgca cagccttatg  
 901 atcccaattt ttacgatgaa acctatgatt atgggtggtt tacaatgatg tttgatgacc  
 961 gtcgcggacg cccagtggga tttcccatgc ggggaagagg tggttttgac agaatgcctc  
 1021 ctggtcgggg tgggcgtccc atgectccat ctagaagaga ttatgatgat atgagccctc  
 1081 gtcgaggacc acctccccct cctcccgac gaggcggccg ggggtgtagc agagctcgga  
 1141 atcttcctct tcctccacca ccaccaccta gagggggaga cctcatggcc tatgacagaa  
 1201 gagggagacc tggagaccgt tacgacggca tggttggttt cagtgcctgat gaaacttggg  
 1261 actctgcaat agatacatgg agcccatcag aatggcagat ggcttatgaa ccacagggtg  
 1321 gctccggata tgattattcc tatgcagggg gtcgtggctc atatggtgat cttggtgagc  
 1381 ctattattac tacacaagta actattccca aagatttggc tggatctatt attggcaag  
 1441 gtggtcagcg gattaaacaa atccgtcatg agtcgggagc ttcgatcaaa attgatgagc  
 1501 ctttagaagg atccgaagat cggatcatta ccattacagg aacacaggac cagatacaga  
 1561 atgcacagta tttgctgcag aacagtgtga agcagtatgc agatgtttaa ggattcta  
 1621 gcaagatatt ttttcttttt tatagtgtga agcagtattc tggaaaagttt tctaagact  
 1681 agtgaagaac tgaaggagtc ctgcattctt ttttttttat ctgcttctgt ttaaaaagcc  
 1741 aacattcctc tgcttcatag gtgttctgca tttgaggtgt agtgaaatct ttgctgttca  
 1801 ccagatgtaa tgttttagtt ccttacaac aggggtgggg gggggaaggg cgtgcaaaaa  
 1861 ctaacattga aattttgaaa cagcagcaga gtgagtggat tttatttttc gttattgttg  
 1921 gtggtttaa aaattcccc catgtaatta ttgtgaacac cttgctttgt ggtcactgta

```

1981 acattttgggg ggtgggacag ggaggaaaag taacaatagt ccacatgtcc ctggcatctg
2041 ttcagagcag tgtgcagaat gtaatgctct tttgtaagaa acgttttatg atttttaaaa
2101 taaatttagt gaacctattt ttggtggtca tttttttttt aagacagtca tttttaaatg
2161 gtggctgaat ttcccaaccc acccccaaac taaacactaa gtttaatttt cagctcctct
2221 gttggacata taagtgcac tcttggttga cataggcaaa ataacttggc aaacttagtt
2281 ctggtgattt ctgatggtt tggaggtcta ttgctgggaa gaaattccat catacatatt
2341 catgcttata ataagctggg gattttttgt ttgtttttgc aaatgcttgc ccctactttt
2401 caacaatttt ctatgttagt tgtgaagaac taagggtggg agcagtacta caagttgagt
2461 aatgggtatga gtatatacca gaattctgat tggcagcaag ttttattaat cagaataaca
2521 cttggttatg gaagtgacta atgctgaaaa aattgattat ttttattaga taatttctca
2581 cctatagact taaactgtca atttgctcta gtgtcttatt agttaaaact tgtaaaatat
2641 atatatactt gtttttccat tgtatgcaaa ttgaaagaaa aagatgtacc atttctctgt
2701 tgtatgttgg attatgtagg aaatgtttgt gtacaattca aaaaaaaaaa agatgaaaaa
2761 agttccctgtg gatgttttgt gtagtatctt gccatttcta ttgatagtta aaattcactt
2821 ccaaataaat aaaacaccca tgatgctaga tttgatgtgt gcccgatttg aacaagggtt
2881 gattgacacc tgtaaaattt gttgaaacgt tcctcttaaa aggaaatata gtaattctat
2941 gtaaaaaaaaa aaaaaaaaaa

```

//

14. HNRPDЛ: HNRPDЛ гетерогенный ядерный рибонуклеопротеин D-подобный [ Homo sapiens ]

ЛОКУС NM\_001207000

(изоформа B)

AK/ трансляция="MEVPPRLSHVPPPLFSPAPATLASRSLSHWRPRPPRQLAPLLPS

LAPSSARQGARRAQRHVTAQQPSRLAGGAAIKGGRRRRPDLFRRHFKSSSIQRSAAAA

AATRTARQHPPADSSVTMEDMNEYSNIEEFAEGSKINASKNQDDGKMFIGLSWDTG

KKDLTEYLSRFGEVVDCTIKTDPVTGRSRGFGFVLFKDAASVDKVLLEKEHKLDGKLI

DPKRAKALKGKEPPKKVFVGGGLSPDTSEEQIKEYFGAFGEIENIELPMDTKTNERRGF

CFITYTDEEPPVKLLLESRYHQIGSGKCEIKVAQPKEVYRQQQQQKGGRGAAAGGRGG

TRGRGRGQQSTYGKASRGGGNHQNNYQPY

кДНК: 1 gagggccgcgc gggggccggg cttggccgca tcagcccggg agggcccgcc gcgccccctt

61 ggcccgcgcg cccgtggtca cagtggaaag ggcccgccgc ctgcgctgcc cggaggagcc

121 gtcgcgcgcc cgcttcctgt tcggtggtt cctgccagct cgaggacaaa acacgcgtgc

181 gcgcgcggg cgagcgcgct cgcgcctca gtcgccagcg ccgggcgcag tccgcctttt

241 tccggagcag actggccgcg gtgctagtcg gtagcagcgg ccgccgcagc ggctccgcac

301 tggcgaaccg agggcagaaa aaggcggggt tgacggcttt ttggtaggag tggctgggac

361 cggacgcccag agacaaaagg tccccaggca agagggactg tggccctcgc tgggtctctgc

421 tcgggactgc tgaccccagg aatttacgcc ccttcgtttt tctctctga ttctctctt

481 ctcccaagcc cgcgtccctt cagcgtggc ctctctctt gccgggaggg ccgcgatgga

541 ggtcccgccc aggttttccc atgtgccgc gccattgttc ccctccgctc ccgtactttt

601 agcctccgcg agcctctccc attggcgggc gggccgcgcg cggcagctag ccccgctcct

661 cccttcgctc gctccagct cgcgccgca gggggcgcg cgggcccagc gccacgtcac

721 cgcgccagc cctcccgat tggcgggcgg gcgggctata aagggagggc gcagggcgcg

781 cccgatctc ttccgcccgc attttaaat cagctccata caacgctccg ccgcgctgc

841 tgccgcgacc cggactgcgc gccagcacc cctgccgc agctccgtca ctatggagga

901 tatgaacgag tacagcaata tagaggaatt cgcagaggga tccaagatca acgcgagcaa

961 gaatcagcag gatgacgcta aaatgtttat tggaggcttg agctgggata caagcaaaaa

1021 agatctgaca gactacttgt ctcgatttgg ggaagtgtga gactgcacaa ttaaaacaga

1081 tccagtcact gggagatcaa gaggatttgg atttgtgctt ttcaaagatg ctgctagtgt

1141 tgataaggtt ttggaactga aagaacacaa actggatggc aaattgatag atcccaaaa

1201 ggccaaaagct ttaaaaaggga aagaacctcc caaaaaggtt tttgtgggtg gattgagccc

1261 ggatacttct gaagaacaaa ttaagaata ttttgagacc tttggagaga ttgaaaatat

1321 tgaacttccc atggatacaa aaacaaatga aagaagagga tttgttttta tcacatatac

1381 tgatgaagag ccagtaaaaa aattgttaga aagcagatac catcaaatg gttctgggaa

1441 gtgtgaaatc aaagtgtcac aaccacaaag ggtatatagg cagcaacagc aacaacaaaa

1501 aggtggaaga ggtgctgcag ctgggtggac aggtggtacg aggggtcgtg gccgaggcca

1561 acagagcact tatggcaagg catctcgagg ggtgggcaat caccacaaaca attaccagcc

1621 atactaaagg agaacattgg agaaaacagg aggagatgtt aaagtaacct atcttgacgg

1681 acgacattga agatttgtct tctgttgatc taagatgatt attttgtaaa agactttcta

1741 gtgtacaaga caccattgtg tccaactgta tatagctgcc aattagtttt ctttgttttt

1801 actttgtcct ttgctatctg tgttatgact caatgtggat ttgtttatac acattttatt

1861 tgtatcattt catgttaaac ctcaataaaa tgcttcctta tgtgattgct tttctgcgtc  
 1921 aggtactaca tagctctgta aaaaatgtaa tttaaaataa gcaataatta aggcacagtt  
 1981 gattttgtag agtattggtc catcacagaga aactgtggtc ctttataaat agccagccag  
 2041 cgtcaccttc tttccaatt ttaggtgta ttttatgctc ttaaggcttc atctctctcc  
 2101 tgtaactgag atttctacca cacttttgaa caatgttcct tcccttctgg ttatctgaag  
 2161 actgtcctga aaggaagaca taagtgttgt gattagtaga agctttctag tagaccatat  
 2221 ttcttctgga ttgtaataaa attgttagta gctcctttta ctttgttcct gtctctggaa  
 2281 agccattttt gaattgctga ttactttggc tttaatcagt ggtcacctag aaaaagcttt  
 2341 gtaatcataa cacaatgagt aattcttgat aaaagttcag atacaaaagg agcactgtaa  
 2401 aactggtagg agctatggtt taagagcatt ggaagtagtt acaactcaag gattttggta  
 2461 gaaaggtatg agtttggtcg aaaaattaaa atagtggcaa aataagattt agttgtgttt  
 2521 tctcagagcc gccacaagat tgaacaaaat gtttctgttt tgggcatcct gaggaagttg  
 2581 tattagctgt taatgctctg tgagtttaga aaaagtcttg atagtaaatc tagtttttga  
 2641 cacagtgcag gaactaagta gttaaatatt tacatatcca gaaaggaata gtggaaaagg  
 2701 tatcttggtt atgacaaaat cattacaaat gtgactaagt cattacaaat gtgactgagt  
 2761 cattacagt gacctctggt gtgcattgaa aagaatccgt tttatatcca ggtttcagag  
 2821 gacctggaat aataaaaaagc tttggatttt gcattcagt tagttggatt ttgggacctt  
 2881 ggctcagtg ttatttactg ggattggcat acgtgttcac aggcagagta gttgatctca  
 2941 cacaacgggt gatctcaca aactggtaag tttcttatgc tcatgagccc tccctttttt  
 3001 tttttaattt ggtgcctgca actttcttaa caatgattct acttctggg ctatcacatt  
 3061 ataattgctt tgacctcttt tttgctgctg ttttgctatt cttaaaactta ggccaagtac  
 3121 caatgttggc tgttagaagg gattctgttc attcaacatg caactttagg gaatggaagt  
 3181 aagttcatth ttaagtttggt ttgtcagtag gtgcgggtgc tagggtagtg aatcctgtaa  
 3241 gttcaaattt atgattaggt gacgagttga cattgagatt gtctttttcc ctgatcaaaa  
 3301 aatgaataaa gcctttttta acaaaaatcca aacttttaat caagtcttga tatgtatgac  
 3361 tgagaaaaaa tacaactacat cttagagatga ttgagatgtt ttgcaaagaa ttgaaggggg  
 3421 agtgagaatt ggtttttctt gcaggggctt tgaactctag atttgggctt tgaactctag  
 3481 atttaattca gatttcaggg tctatcagtt caccaactga tgcaaatatt aacagatact  
 3541 ctaaggctaa gtgtcctagg ttggatgaac tgaagctact atcaagatct cgttcccaag  
 3601 gattaattta gaacaaagta attggacaag tttattgggg aggggataga aatgaattct  
 3661 aaagtaccta taacaaatac tctgtgtatg ttttttacct cgtatttgcc ttttaccttg  
 3721 ttttagacca attctgtgtg atgttatcct cgggaagagg atagaaatta attctaaagt  
 3781 acctataaca aatgctcggg ttgtatatgt ttttatacat cgtatttgcc ttttgcatth  
 3841 ttcagacca attctgtgtg atgttatcct aacaaaacac cttagtaatt tctttggtta  
 3901 acatgttaat ctgtaatctc acttttataa gatgaggact attaaaatga gatgtctgtt  
 3961 gggtatgctaa aaaaaaaaaa aaaaaa

//

ЛОКУС NM\_031372 (изоформа а)  
 АК /трансляция="MEVPPRLSHVPPPLFSPAPATLASRSLSHWRPFRPPRLAPLLPS  
 LAPSSARQGARRAQRHVTAQQPSRLAGGAAIKGGRRRRPDLFRHFSSSIQPSAAAA  
 AATRTARQHPPADSSVTMEDMNEYSNIEEFAEGSKINASKNQDDGKMFIGLSWDTS  
 KKDLTEYLSRFGEVVDCTIKTDPVTGRSRGFGFVLFKDAASVDKVLLEKEHKLDGKLI  
 DPKRAKALKGKEPPKKVFVGGGLSPDTSEEQIKEYFGAFGEIENIELPMDTKTNERRGF  
 CFITYTDEEPVKLLLESRYHQIGSGKCEIKVAQPKVYRQQQQQKGGGAAAGGRGG  
 TRGRGRGQGNWNQGFNNYYDQGYGNYSAYGGDQNYSGYGGYDYGNYGNYGYGGQ  
 YADYSGQQSTYKASRGGGNHQNYPY

КДНК: 1 gaggcgcgcg ggggcccggg cttcgccgca tcagcccggg aggcgccg ccgccccctt  
 61 ggccgcgcgc cccgtggtca cagtggaaga ggcgccgcgc ctgcgctgcc cggaggagcc  
 121 gtgcgcgcgc cgttctctgt tcggtctggt cctgccagct cgaggacaaa acacgcgtgc  
 181 gcgcggcgcg cgagcgcgct cgcgcctca gtcgccagcg ccgggcgcag tccgcctttt  
 241 tccggagcag actggccgcg gtgctagtcg gtagcagcgg ccgcgcgagc ggctccgcac  
 301 tggcgaaacc agggcagaaa aaggcggggg tgacggcttt ttggtaggag tgggtcggac  
 361 cggacgccag agacaaaggc tccaaggca agagggactg tggccctgcg tcggctctgc  
 421 tcgggactgc tgacccagg aatttacgcc ccttcgtttt tctctctga tcttctctt  
 481 ctcccaagcc cgcgtcccct cagcgtggc ctctctctt gccgggaggg ccgcgatgga  
 541 ggtcccgcgc aggttttccc atgtgcgcgc gccattgttc cctccgctc ccgctacttt  
 601 agcctcccgc agcctctccc attggcgggc gcggccgcgc cggcagctag ccccgctcct  
 661 ccttctgctc gctcccagct ccgcgcgcgc gggggcgcgc cgggcccagc gccacgtcac  
 721 cgcgcagcag cctcccgcgt tggcggggcg ggcggctata aaggaggggc gcaggcggcg

```

781 cccggatctc ttccgcccgc attttaaatc cagctccata caacgctccg ccgcccgtgc
841 tgccgcgacc cggactgcgc gccagcacc cctgcccac agctccgtca ctatggagga
901 tatgaacgag tacagcaata tagaggaatt cgagaggga tccaagatca acgcgagcaa
961 gaatcagcag gatgacggta aaatgtttat tggaggcttg agctgggata caagcaaaaa
1021 agatctgaca gactacttgt ctcgatttgg ggaagttgta gactgcacaa ttaaaacaga
1081 tccagtcact gggagatcaa gaggatttgg atttgtgctt ttcaaagatg ctgctagtgt
1141 tgataagggt ttggaactga aagaacacaa actggatggc aaattgatag atcccaaaag
1201 ggccaaagct ttaaaaggga aagaacctcc caaaaagggt tttgtgggtg gattgagccc
1261 ggatacttct gaagaacaaa ttaaagaata ttttgagacc tttggagaga ttgaaatat
1321 tgaacttccc atggatacaa aaacaaatga aagaagagga ttttgtttta tcacatatac
1381 tgatgaagag ccagtaaaaa aattgttaga aagcagatac catcaaattg gttctgggaa
1441 gtgtgaaatc aaagttgcac aacccaaaaga ggtatatagg cagcaacagc aacaacaaaa
1501 aggtggaaga ggtgctgcag ctggtggacg aggtggtacg aggggtcgtg gccgaggtca
1561 gggccaaaac tggaaaccaag gatttaataa ctattatgat caaggatatg gaaattacaa
1621 tagtgccctat ggtggtgatc aaaaactatg tggctatggc ggatatgatt atactgggta
1681 ttaactggg aactatggat atggacaggg atatgcagac tacagtggcc acacagcac
1741 ttatggcaag gcatctcgag ggggtggcaa tcacaaaaac aattaccagc cataactaaag
1801 gagaacattg gaaaaaacag gaggagatgt taaagtaacc catcttgacg gacgacattg
1861 aagattgggtc ttctgttgat ctaagatgat tattttgtaa aagactttct agtgtaacaa
1921 acaccattgt gtccaactgt atatagctgc caattagttt tctttgtttt tactttgtcc
1981 tttgctatct gtgttatgac tcaatgtgga tttgtttata cacattttat ttgtatcatt
2041 tcatgttaaa cctcaaataa atgcttcctt atgtgattgc tttctgcgt cagggtactac
2101 atagctctgt aaaaaatgta atttaaaata agcaataatt aaggcacagt tgattttgta
2161 gagtattggt ccatacagag aaactgtggt cttttataaa tagccagcca gcgtcacctc
2221 cttctccaat ttgtagtggt attttatgct ctttaaggctt catcttctcc ctgtaactga
2281 gattttctacc acacctttga acaatgttct ttcccttctg gttatctgaa gactgtcctg
2341 aaaggaagac ataagtgttg tgattagtag aagcttttcta gtagaccata tttcttctgg
2401 attgtaataa aattgttagt agctcctttt actttgttcc tgtctctgga aagccatttt
2461 tgaattgctg attactttgg ctttaactcag tggtcaccta gaaaaagctt tgtaatcata
2521 acacacagag taattcttga taaaagtcca gatacaaaag gagcactgta aaactggtag
2581 gagctatggt ttaagagcat tggaagtagt tacaactcaa ggattttggt agaaagggtat
2641 gagtttggtc gaaaaattaa aatagtgga aaataagatt tagttgtgtt ttctcagagc
2701 cgccacaaga ttgaacaaaa tgttttctgt ttgggcatcc tgaggaagt gtattagctg
2761 ttaatgctct gtgagtttag aaaaagtctt gatagtaaat ctagtttttg acacagtcca
2821 tgaactaagt agttaaatat ttacatatcc agaaaggaat agtgaaaaag gtatcttggt
2881 tatgacaaag tcattacaaa tgtgactaag tcattacaaa tgtgactgag tcattacagt
2941 ggacctctct ggtgcattga aaagaatccg ttttatatcc aggtttcaga ggacctggaa
3001 taataaaaaag ctttgatttt tgcattcagt gtagttggat tttgggacct tggcctcagt
3061 gttattttact gggattggca tacgtgttca caggcagagt agttgatctc acacaacggg
3121 tgatctcaca aaactggtaa gtttcttatg ctcatgagcc ctcccttttt ttttttaatt
3181 tgggtgctgc aactttctta acaatgatcc tacttctctg gctatcacat tataatgctc
3241 ttggcctctt ttttgctgct gttttgctat tcttaacctt aggccaaagta ccaatgttgg
3301 ctgttagaag ggattctggt cattcaacat gcaactttag ggaatggaag taagtctcatt
3361 ttttaagtgt gttgtcagta ggtgcggtgt ctagggtagt gaatcctgta agttcaaatt
3421 tatgattagg tgacgagttg acattgagat tgtccttttc cctgatcaaa aaatgaataa
3481 agccttttta aacaaaatcc aaacttttaa tcaagtcttg atatgtatga ctgagaaaaa
3541 atacactaca tctagagatg attgagatgt tttgcaaaaga attgaagggg gagtgaat
3601 tggtttttct tgcaggggct ttgaactcta gatttgggct ttgaactcta gatttaattc
3661 agattttcagg gtctatcagt tcaccaactg atgcaaatcc gaacagatac tctaaggcta
3721 agtgtcctag gttggatgaa ctgaagctac tatcaagatc tcgttcccaa ggattaattt
3781 agaacaaagt aattggacaa gtttattggg gaggggatag aaatgaattc taaagtacct
3841 ataacaaata ctctgtgtat gttttttaca tcgtatttgc cttttacatt gtttagacca
3901 aattctgtgt gatgttatcc tcgggaagag gatagaaatt aattctaaag tacctataac
3961 aaatgctcgg tttgtatatg tttttataca tcgtatttgc cttttgcatt gttcagacca
4021 aattctgtgt gatgttatcc taacaaaaca ccttagtaat ttctttggtt aacatgttaa
4081 tctgtaatat cacttttata agatgaggac tattaaaatg agatgtctgt tgggatgcta
4141 aaaaaaaaaa aaaaaaa
//

```

15. HSPA9: HSPA9 70kDa белок теплового шока 9 (морталин) [ Homo sapiens ]

ЛОКУС NM\_004134  
 АК/трансляция="MISASRAAAARLVGAAASRGPTAARHQDSWNGLSHEAFRLVSR  
 DYASEAIKGAVVIGIDLGTNSCVAVMEGKQAKVLENAEGARTPSVVAFTADGERLVG  
 MPAKRQAVTNPNNTFYATKRLIGRRYDDPEVQKDIKNVPFKIVRASNGDAWVEAHGKL  
 YSPSQIGAFVLMKMKETAENYLGHATAKNAVITVPAYFNDSQRQATKDAGQISGLNVLR  
 VINEPTAAALAYGLDKSEDKVIAVYDLGGGTDFDISILEIQKGVFEVKSTNGDTFLGGE  
 DFDQALLRHIVKEFKRETGVDLTKDNMALQVRREAEEKAKCELSSSVQTDINLPYLT  
 DSSGPKHLNMKLTARQFEGIVTDLIRRTIAPCQKAMQDAEVSKSDIGEVILVGMTRM  
 PKVQQTVQDLFGRAPSKAVNPDEAVAIGAAIQGGVLAGDVTDVLLLDVTPLSLGIETL  
 GGVFTKLINRNTTPTKKSQVFSTAADGQTQVEIKVCQGEREMAGDNKLLGQFTLIGI  
 PPAPRGVPQIEVTFDIDANGIVHVSADKGTGREQQIIVIQSSGGLSKDDIENMVKNAE  
 KYAEEDRRKKERVEAVNMAEGI IHDTEETKMEEFKQDLPADECNKLKEEISKRELLAR  
 KDSETGENIRQAASSLQASLKLFEAMAYKKMASEREGSGSSGTGEQKEDQKEEKQ

кДНК: 1 ttctctcccct ggactcttttc tgagctcaga gccgcgcgag ccgggacagg agggcaggct  
 61 ttctcccaacc atcatgctgc ggagcatatt acctgtacgc cctggctccg ggagcggcag  
 121 tcgagtatcc tctggctcagg cggcgcgggc ggcgcctcag cggaagagcg ggccctctggg  
 181 ccgcagtgac caacccccgc ccctcaccac acgtggttgg aggtttccag aagcgctgcc  
 241 gccaccgcat cgcgcagctc tttgcccgtc gagcgcttgt ttgtgcctc gtactcctcc  
 301 atttattccgc catgataagt gccagccgag ctgcagcagc ccgtctcgtg ggcgcgcgag  
 361 cctcccgggg ccctacggcc gcccgccacc aggatagctg gaatggcctt agtcatgagg  
 421 ctttttagact tgtttcaagg cgggattatg catcagaagc aatcaaggga gcagtgtgtg  
 481 gtattgattt ggtactacc aactcctgcg tggcagttat ggaaggtaaa caagcaagg  
 541 tgctggagaa tgcgaagggt gccagaacca ccccttcagt tgtggccttt acagcagatg  
 601 ctgagcgact tgttggaatg cccgccaagc gacaggctgt caccacacca aacaatcat  
 661 tttatgctac caagcgtctc attggccggc gatatgatga tcctgaagta cagaaagaca  
 721 ttaaaaaatgt tccctttaaa attgtccgtg cctccaatgg tgatgcctgg gttgaggctc  
 781 atgggaaatt gtattctccg agtcagattg gagcatttgt gttgatgaag atgaaagaga  
 841 ctgcagaaaa ttacttgggg cacacagcaa aaaaatgctg gatcacagtc acaggcttatt  
 901 tcaatgactc gcagagacag gccactaaag atgctggcca gatatctgga ctgaatgtgc  
 961 ttcgggtgat taatgagccc acagctgctg ctcttcctta tggcttagac aaatcagaag  
 1021 acaaagtcac tgctgtatat gatttaggtg gtggaacttt tgataatttct atcctggaaa  
 1081 ttcagaaagg agtatttgag gtgaaatcca caaatgggga taccttctta ggtggggaag  
 1141 actttgacca ggccttgcta cggcacattg tgaaggagtt caagagagag aacagggttg  
 1201 atttgactaa agacaacatg gcacttcaga gggtagcgga agctgctgaa aaggctaaat  
 1261 gtgaactctc ctcatctgtg cagactgaca tcaatttgcc ctatcttaca atggattctt  
 1321 ctggacccaa gcatattgaat atgaagttga cccgtgctca atttgaaggg attgtcactg  
 1381 atctaatacag aaggactatc gctccatgcc aaaaagctat gcaagatgca gaagtcagca  
 1441 agagtgcacat aggagaagtg attcttctgg gtggcatgac taggatgccc aagggtcagc  
 1501 agactgtaca ggaatctttt ggacagagccc caagtaaaagc tgtcaatcct gatgaggctg  
 1561 tggccattgg agctgccatt caggagggtg tgttggccgg cgatgtcacg gatgtgctg  
 1621 tccttgatgt cactcccctg tctctgggta ttgaaactct aggaggtgtc ttaccaaac  
 1681 ttattaatag gaataccact attccaacca agaagagcca ggtattctct actgccgtg  
 1741 atgggtcaaac gcaagtggaa attaaagtgt gtcagggtga aagagagatg gctggagaca  
 1801 acaaactcct tggacagttt actttgattg gaattccacc agcccctcgt ggagttcctc  
 1861 agattgaagt tacatttgac attgatgcca atgggatagt acatgtttct gctaaagata  
 1921 aaggcacagg acgtgagcag cagattgtaa tccagtcttc tgggtgatta agcaaatg  
 1981 atattgaaaa tatggttaaa aatgcagaga aatatgctga agaagaccgg cgaaagaagg  
 2041 aacgagttga agcagttaat atggctgaag gaatcattca cgacacagaa accaagatgg  
 2101 aagaattcaa ggaccaatta cctgctgatg agtgcaacaa gctgaaagaa gagatttcca  
 2161 aatatgagga gctcctggct agaaaagaca gcgaaaacagg agaaaatatt agacaggcag  
 2221 catcctctct tcagcaggca tcaatgaagc tgttcgaaat ggcatacaaa aagatggcat  
 2281 ctgagcgaga aggtctctga agttctggca ctggggaaca aaaggaagat caaaaggagg  
 2341 aaaaacagta ataatagcag aaattttgaa gccagaagga caacatatga agcttaggag  
 2401 tgaagagact tcctgagcag aaatgggcga acttcagtct ttttactgtg tttttgcagt  
 2461 attctatata taatttcctt aatttgtaaa tttagtgaac attagctagt gatcatttaa  
 2521 tggacagtga ttctaacagt ataaagttca caatattcta tgtccctagc ctgtcatttt  
 2581 tcagctgcat gtaaaaggag gtaggatgaa ttgatcatta taaagattta actattttat  
 2641 gctgaagtga ccatattttc aagggttgaa accatctcgc acacagcaat gaaggtagtc  
 2701 atccatagac ttgaaatgag accacatatg gggatgagat ccttctagtt agcctagtac  
 2761 tgctgtactg gctgttatgt acatggggtc cttcaactga ggccttgcaa gtcaagctgg

2821 ctgtgccatg tttgtagatg gggcagagga atctagaaca atgggaaact tagctattta  
 2881 tattaggtac agctattaaa acaaggtagg aatgaggcta gacctttaac ttccctaagg  
 2941 cactactttc tagctacctt ctgccctgtg tctggcacct acatccttga tgattgttct  
 3001 cttaccatt ctggaatttt ttttttttta aataaataca gaaagcatct tgatctcttg  
 3061 tttgtgaggg gtgatgccct gagatttagc ttcaagaata tgccatggct catgcttccc  
 3121 atatttccca aagagggaaa tacaggattt gctaacactg gttaaaaatg caaattcaag  
 3181 atttggaagg gctgttataa tgaataatg agcagtatca gcatgtgcaa atcttgtttg  
 3241 aaggatttta ttttctcccc tttagacctt ggtacattta gaatcttgaa agtttctaga  
 3301 tctctaaccat gaaagtttct agatctctaa catgaaagtt tttagatctc taacatgaaa  
 3361 accaagggtg ctattttcag gttgctttca gctccaagta gaaataacca gaattggctt  
 3421 acattaaaga aactgcatct agaaataagt cctaagatac tatttctatg gctcaaaaat  
 3481 aaaaggaacc cagatttctt tcccta

//

16. MAP2K2: MAP2K2 митоген-активируемая протеинкиназа 2 [ Homo sapiens ]

ЛОКУС NM\_030662

AK/трансляция="MLARRKPVLPALTINPTIAEGPSPTSEGASEANLVDLQKKLEEL  
 ELDEQQKKRLEAFLTQKAKVGELKDDDFERISELGAGNGGVTVQVHRPSGLIMARKL  
 IHLEIKPAIRNQIIRELQVLHECNSPYIVGFYGAFYSDGEISICMEHMDGGSLDQVLK  
 EAKRIPEEILGKVSIAVLRGLAYLREKHQIMHRDVKPSNILVNSRGEIKLCDFGVSGQ  
 LIDSMANSFVGTRSYMAPERLQGTHYSVQSDIWSMGLSLVELAVGRYPISPPDAKELE  
 AIFGRPVVDGEEGEPHSISPRPRPPGRPVSGHGMDSRPAMAFELLDYIVNEPPPKLP  
 NGVFTPDFQEFVNKCLIKNPAERADLKMLTNHTFIKRSEVEEVDFAWGLCKTLRLNQP  
 GTPTRTAV

кДНК: 1 ccctgcctc tcggactcgg gctgcggcgt cagccttctt cgggcctcgg cagcggtagc  
 61 ggctcgctcg cctcagcccc agcggccctc ggctaccctc ggcccaggcc cgcagcgccg  
 121 cccgcctcgg gccgccccga cgcggccctg ggccgcggcc gcagccccgg gctcgcgtag  
 181 gcgcccagcg ctcccggccc gccccctatg ggcccggcct agaggcgccg cgcgcgcccg  
 241 cccgcggagc cccgatgctg gcccgaggga agccgggtgct gccggcgctc accatcaacc  
 301 ctaccatcgc cgaaggccca tcccctacca gcgagggcgc ctccgaggca aacctggtgg  
 361 acctgcagaa gaagctggag gagctggaac ttgacgagca gcagaagaag cggctggaag  
 421 cctttctcac ccagaaaagg aaggtcggcg aactcaaaga cgaatgactt gaaaggatct  
 481 cagagctggg cgcgggcaac ggccgggtgg tcaccaaagt ccagcacaga cctcggggcc  
 541 tcatcatggc caggaagctg atccaccttg agatcaagcc ggccatccgg aaccgatca  
 601 tccgcgagct gcaggtcctg cagcaatgca actcggccta catcggtggc ttctacgggg  
 661 ccttctacag tgacggggag atcagcattt gcatggaaca catggacggc ggctccctgg  
 721 accaggtgct gaaagaggcc aagaggattc ccgaggagat cctggggaaa gtcagcatcg  
 781 cggttctccg gggcttgccg tacctccgag agaagcacca gatcatgcac cgagatgtga  
 841 agccctccaa catcctcgtg aactctagag gggagatcaa gctgtgtgac ttccgggtga  
 901 gcggccagct catcgactcc atggccaaact ccttcgtggg caccgcctcc tacatggctc  
 961 cggagcgggt gcagggcaca cattactcgg tgcagtcgga catctggagc atgggcctgt  
 1021 ccctggtgga gctggccgct ggaaggtacc ccatcccccc gcccgacgcc aaagagctgg  
 1081 aggccatctt tggccggccc gtggtcgacg gggagaagg agagcctcac agcatctcgc  
 1141 ctccggccgag gccccccggg cggcccgcta gcggtcacgg gatggatagc cggcctgcca  
 1201 tggccatctt tgaactcctg gactataatt tgaacgagcc acctcctaag ctgcccacg  
 1261 gtgtgttcac ccccgacttc caggagtgtt tcaataaatg cctcatcaag aaccagcg  
 1321 agcgggcgga cctgaagatg ctcaaaaacc acaccttcat caagcggtcc gaggtggaag  
 1381 aagtggattt tgccggctgg ttgtgtaaaa cctcgggct gaaccagccc ggcacacca  
 1441 cgcgcaccgc cgtgtgacag tggccgggct cctcgcgtcc cgtggtgac ctgcccacg  
 1501 tccctgtcca tgccccgccc ttcagctga ggacaggctg gcgcctccac ccaccctct  
 1561 gcctcaccac tgccgagagc accgtggcgg ggcgacagcg catgcaggaa cgggggtctc  
 1621 ctctcctgcc cgtcctggcc ggggtgcctc tggggacggg cgacgctgct gtgtgtggtc  
 1681 tcagaggctc tgcttcctta ggttacaaaa caaaacaggg agagaaaaag caaaaaaaa  
 1741 aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa

//

17. LDHA: LDHA лактатдегидрогеназа А [ Homo sapiens ]

ЛОКУС NM\_001135239 (изоформа 2)

AK/трансляция="MATLKDQLIYNLLKEEQTPQNKITVVGVGAVGMACAISILMKDL

ADELALVDVIEDKLKGEMMDLQHGSFLRTPKIVSGKVDILTYVAWKISGFPKNRVIG  
SGCNLDSARFRYLMGERLGVHPLSCHGWVLGEHGDSSVPVWSGMNVAGVSLKTLHPDL  
GTDKDKKEQWKQVVEVHKQVVEVSAIYEVILKGYTSWAIGLSVADLAESIMKNLRRVHPVSTM  
IKGLYGIKDDVFLSVPCILGQNGISDLVKVTLTSEEEARLKKSADTLWGIQKELQF

кДНК: 1 gtctgccggt cggttgctctg gctgcgcgcg ccacccgggc ctctccagtgc ccccgccctgg  
61 ctccggcatcc acccccagcc cgactcacac gtgggttccc gcacgtccgc cggccccccc  
121 cgctgacgtc agcatagctg ttccacttaa ggccctccc gcgcccagct cagagtgcctg  
181 cagccgctgc gcgcgattcc ggatctcatt gccacgcgcc cccgacgacc gcccgacgtg  
241 cattcccgat tccttttgggt tccaagtcca atatggcaac tctaaaggat cagctgattt  
301 ataactctct aaaggaagaa cagacccccc agaataagat tacagttgtt ggggttggtg  
361 ctggttgcat gccctgtgcc atcagtatct taatgaagga cttggcagat gaacttgctc  
421 ttgttgatgt catcgaagac aaattgaagg gagagatgat ggatctccaa catggcagcc  
481 ttttccttag aacaccaaag attgtctctg gcaaagtgga tatcttgacc tacgtggctt  
541 ggaagataag tggttttccc aaaaaccgtg ttattggaag cggttgcaat ctggattcag  
601 cccgattccg ttacctaatg ggggaaaggc tgggagttca cccattaagg tgcatgggtg  
661 gggctccttg ggaacatgga gattccagtg tgctgtatg gagtggaatg aatgttgctg  
721 gtgtctctct gaagactctg caccagatt tagggactga taaagataag gaacagtgga  
781 aagaggttca caagcaggtg gttgagagt cttatgaggt gatcaaacctc aaaggctaca  
841 catcctgggc tattggactc tctgtagcag atttggcaga gagtataatg aagaatctta  
901 ggcgggtgca cccagtttcc accatgatta aggtctctta cggaataaag gatgatgtct  
961 tccttagtgt tccttgcat tttggacaga atggaatctc agacctgtg aaggtgactc  
1021 tgactttctga ggaagaggcc cgtttgaaga agagtgcaga tacacttttg gggatccaaa  
1081 aggagctgca attttaaagt cttctgatgt catatcattt cactgtctag gctacaacag  
1141 gattctaggt ggagggtgtg catgttgttc tttttatctg atctgtgatt aaagcagtaa  
1201 tattttaaga tggactggga aaaacatcaa ctctgaagt tagaaataag aatggtttgt  
1261 aaaatccaca gctatatcct gatgctggat ggtattaatc ttgtgtagtc ttcaactggt  
1321 tagtgtgaaa tagttctgcc acctctgacg caccactgcc aatgctgtac gtactgcatt  
1381 tgccccttga gccagggtga tgtttaccgt gtgttatata acttctctgc tccttctactg  
1441 aacatgccta gtccaacatt ttttccagt ggtcacatc ctgggatcca gtgtataaat  
1501 ccaatatcat gtcttgtgca taattcttcc aaaggatctt attttgtgaa ctatatcagt  
1561 agtggtacatt accatataat gtaaaaagat ctacatacaa acaatgcaac caactatcca  
1621 agtgttatac caactaaaac ccccaataaa ccttgaacag tgactacttt ggttaattca  
1681 ttatattaag atataaagtc ataaagctgc tagttattat attaatgttg aaatattagg  
1741 ctattcttgg gcaaccctgc aacgattttt tctaacaggg atattattga ctaatagcag  
1801 aggatgtaat agtcaactga gttgtattgg taccacttcc attgtaagtc ccaaagtatt  
1861 atatatattga taataatgct aatcataatt ggaagtaaac attctatatg taaatgtaaa  
1921 atttatttgc caactgaata taggcaatga tagtgtgtca ctataggaaa cacagatttt  
1981 tgagatcttg tcctctggaa gctggtaaca attaaaaaca atcttaaggc agggaaaaaa  
2041 aaaaaaaaaa aa

//

ЛОКУС NM\_001165414 (изоформа 3)  
АК/трансляция="MGEPSGGYTYTQTSIFLHAKIPFGSKSNMATLKDQLIYNLLKE  
EQTPQNKITVVGAVGMACAI SILMKDLADELALVDVIEDKLKGEMMDLQHGSFLR  
TPKIVSGKDYNVTANSKLVIITAGARQQEGESRLNLVQRNVNIFKFIIPNVVKYSPNC  
KLLIVSNPVDILTYVAWKISGFPKNRVIGSGCNLDSARFRYLMGERLGVHPLSCHGWV  
LGEHGDSSVPVWSGMNVAGVSLKTLHPDLGTDKDKKEQWKQVVEVSAIYEVILKGY  
TSWAIGLSVADLAESIMKNLRRVHPVSTM IKGLYGIKDDVFLSVPCILGQNGISDLVK  
VTLTSEEEARLKKSADTLWGIQKELQF

кДНК: 1 ttggggcggg cgtaaaagcc gggcggttcgg aggaccagc aattagtctg atttcgccc  
61 acctttccga gcgggaagga gagccacaaa gcgcgcagtc gcgcggatca ccgcaggctc  
121 ctgtgccttg ggccttagct ttgtggcagt taatggcttt tctgcacgta tctctggtgt  
181 ttacttgaga agcctggctg tgccttgct gtaggagccg gagttagtca gagtgcatt  
241 gtctgaggaa aggccagccc cactgggggt taataaaccg cgatgggtga accctcagga  
301 ggctatactt acacccaaac gtcgatattc cttttccacg ctaagattcc ttttggttcc  
361 aagtccaata tggcaactct aaaggatcag ctgatttata atcttctaaa ggaagaacag  
421 acccccaga ataagattac agttgttggg gttggtgctg ttggcatggc ctgtgccatc  
481 agtatcttaa tgaaggactt gccagatgaa cttgctcttg ttgatgtcat cgaagacaaa  
541 ttgaaggagg agatgatgga tctccaacat ggcagccttt tccttagaac accaaagatt

```

601 gtctctggca aagactataa tgtaactgca aactccaagc tggtcattat cacggctggg
661 gcacgtcagc aagagggaga agccggtctt aatttggtcc agcgtaacgt gaacatcttt
721 aaattcatca ttccataatgt tgtaaaatac agcccgaaact gcaagttgct tattgtttca
781 aatccagtggtg atactcttgac ctacgtggct tgggaagataa gtggttttcc caaaaaccgt
841 gttattggaa gcggttgcaa tctggattca gcccgattcc gttacctaat gggggaagg
901 ctgggagttc acccattaag ctgtcatggg tgggtccctg ggggaacatgg agattccagt
961 gtgcctgtat ggagtggaat gaatgttgct ggtgtctctc tgaagactct gcaccagat
1021 ttagggaactg ataaagataa ggaacagtg gaaagggttc acaagcaggt gggtgagagt
1081 gcttatgagg tgatcaaaact caaaggctac acatcctggg ctattggact ctctgtagca
1141 gatttggcag agagtataat gaagaatctt aggcgggtgc acccagtttc caccatgatt
1201 aagggtcttt acggaataaa ggatgatgtc ttcccttagtg ttcccttgcat tttgggacag
1261 aatgggaatct cagaccttgt gaaggtgact ctgacttctg aggaagaggc ccgtttgaag
1321 aagagtgcag atacactttg ggggatccaa aaggagctgc aattttaaag tcttctgatg
1381 tcatatcatt tcaactgtcta ggctacaaca ggattctag tggaggttgt gcatgttgtc
1441 ctttttatct gatctgtgat taaagcagta atattttaag atggactggg aaaaacatca
1501 aactctgaag ttagaataaa gaatggtttg taaaatccac agctatatcc ggttgagg
1561 tggattaat cttgtgtagt cttcaactgg ttagtgtgaa atagtctgc cacctctgac
1621 gcaccactgc caatgctgta cgtactgcat ttgccccttg agccagggtg atgtttaccg
1681 tgtgttatat aacttcctgg ctccctcact gaacatgcct agtccaacat tttttccag
1741 tgagtcacat cctgggatcc agtgtataaa tccaatatca tgtcttgtgc ataattcttc
1801 caaaggatct tattttgtga actatatcag tagtgtacat taccataaa gttaaaaaga
1861 tctacataca aacaatgcaa ccaactatcc aagtgttata ccaactaaaa cccccaataa
1921 acctgaaaca gtgactactt tgggttaattc attatattaa gatataaagt cataaagctg
1981 ctagtattat tattaatttg gaaatattag gctattcttg ggcaaccctg caacgatttt
2041 ttctaacagg gatattattg actaatagca gaggatgtaa tagtcaactg agttgtattg
2101 gtaccacttc cattgtaagt cccaaagtat tataattttg ataataatgc taatcataat
2161 tggaaagtaa cattctatat gtaaatgtaa aatttatttg ccaactgaat ataggcaatg
2221 atagtgtgtc actataggga acacagattt ttgagatctt gtccctctgga agctggtaac
2281 aatataaaac aatcttaagg cagggaaaaa aaaaaaaaaa aaa

```

//

ЛОКУС NM\_001165415 (изоформа 4)  
 АК/ трансляция="MATLKDQLIYNLLKEEQTPQNKITVVGVGAVGMACAISILMKDL  
 ADELALVDVIEDKLGEMMDLQHGSFLRTPKIVSGKDYNVTANSKLVIITAGARQQE  
 GESRLNLVQRNVNIFKFIIIPNVVKYSPNCKLLIVSNPVDILTIVAWKISGFPKNRVIG  
 SGCNLD SARFRYLMGERLGVHPLSCHGWVLGEHGDSSVPVWSGMNVAGVSLKTLHPDL  
 GTDKDKEQWKECRYTLGDPKGAAILKSSDVISFHCLGYNRI LGGGCACCPFYLICD

кДНК:

```

1 gtctgcccgt cggttgtctg gctgcgcgcg ccacccgggc ctctccagtg ccccgctgg
61 ctggcatcc acccccagcc cgactcacac gtgggttccc gcacgtccgc cggccccccc
121 cgctgacgtc agcatagctg ttccacttaa gggccctccc gcgccagct cagagtgtctg
181 cagccgctgc cggcgattcc ggaatctcatt gccacgcgcc cccgacgacc gcccgacgtg
241 cattccgat tccttttggg tccaagtcca atatggcaac tctaaaggat cagctgattt
301 ataactctct aaaggaagaa cagaccccc agaataagat tacagtgtgt ggggttgggtg
361 ctgttggcat ggcctgtgcc atcagtatct taatgaagga cttggcagat gaacttgctc
421 ttgttgatgt catcgaagac aaattgaagg gagagatgat ggatctccaa catggcagcc
481 ttttccttag aacaccaaag attgtctctg gcaaagacta taatgtaact gcaaaactcca
541 agctggtcat tatcacggct ggggcacgtc agcaagaggg agaaagccgt cttaatttgg
601 tccagcgtaa cgtgaacatc tttaaattca tcattectaa tgttgtaaaa tacagcccga
661 actgcaagtt gcttattgtt tcaaattccag tggatatctt gacctacgtg gcttgaaga
721 taagtggttt tccaaaaaac cgtgttattg gaagcgggtg caatctgcat tcagccgat
781 tccgttacct aatgggggaa aggcgtgggag ttacccatt aagctgtcat ggggtgggtcc
841 ttggggaaca tggagattcc agtgtgcctg tatggagtgg aatgaatgtt gctgtgtctc
901 ctctgaagac tctgcacca gatttaggga ctgataaaga taaggaaacag tggaaagagt
961 gcagatacac tttgggggat ccaaaggag ctgcaatttt aaagtcttct gatgtcatat
1021 catttcactg tctaggctac aacaggattc taggtggagg ttgtgcatgt tgtccttttt
1081 atctgatctg tgattaaagc agtaatatct taagatggac tgggaaaaac atcaactcct
1141 gaagtttaga ataaagaatgg tttgtaaaat ccacagctat atcctgatgc tggatgggat
1201 taatcttgtg tagtcttcaa ctggttagtg tgaatatagt ctgccacctc tgacgcacca
1261 ctgccaatgc tgtacgtact gcatttgccc cttgagccag gtggatgttt accgtgtgtt
1321 atataacttc ctggctcctt cactgaacat gcctagtcca acattttttc ccagtgagtc

```

```

1381 acatcctggg atccagtgtg taaatccaat atcatgtctt gtgcataatt cttccaaagg
1441 atcttatatt gtgaactata tcagtagtgt acattaccat ataagtataa aagatctaca
1501 tacaacaacat gcaaccaact atccaagtgt tataccaact aaaaccccca ataaaccttg
1561 aacagtgact actttgggta attcattata ttaagatata aagtcataaa gctgctagtt
1621 attatattaa tttggaaata ttaggctatt cttgggcaac cctgcaacga ttttttctaa
1681 cagggatatt attgactaat agcagaggat gtaatagtca actgagttgt attggtacca
1741 cttccattgt aagtcctaaa gtattatata tttgataata atgctaata taattggaaa
1801 gtaacattct atatgtaaat gtaaaattta tttgccaact gaatataggc aatgatagtg
1861 tgtcactata gggaaacacag atttttgaga tcttgtcttc tggaagctgg taacaattaa
1921 aaacaatctt aaggcaggga aaaaaaaaaa aaaaaaaa
//

```

ЛОКУС NM\_001165416 (изоформа 5)  
 АК/трансляция="MATLKDQLIYNLLKEEQTPQNKITVVGAVGMACAISILMKDL  
 ADELALVDVIEDKLKGEEMDLQHGSFLRTPKIVSGKDYNVTANSKLVIITAGARQQE  
 GESRLNLVQRNVNIFKFIIPNVVKYSPNCKLLIVSNPVDILTYVAWKISGFPKPNRVIG  
 SGCNLD SARFRYLMGERLGVHPLSCHGWVLGEHGDSSVPVWSGMNVAGVSLKTLHPDL  
 GTDKDKEQWKEVHKQVVERVFTE

кДНК: 1 gctctgccggc cgggtgtctg gctgcgcgcg ccacccgggc ctctccagtg ccccgccctgg  
 61 ctcgccatcc acccccagcc cgactcacac gtgggttccc gcacgtccgc cggccccccc  
 121 cgctgacgtc agcatagctg ttcacttaa ggccctccc gcgccagct cagagtgtctg  
 181 cagccgctgc cgcgattccc ggatctcatt gccacgcgcc cccgacgacc gcccgacgtg  
 241 cattcccgat tcttttgggt tccaagtcca atatggcaac tctaaaggat cagctgattt  
 301 ataactctct aaaggaagaa cagaccccc agaaataagat tacagtgtgt ggggttgggtg  
 361 ctgttggcat ggcctgtgcc atcagtatct taatgaagga cttggcagat gaacttgctc  
 421 ttgttgatgt catcgaagac aaattgaagg gagagatgat ggatctccaa catggcagcc  
 481 ttttccttag aacaccaaag attgtctctg gcaaagacta taatgtaact gcaaactcca  
 541 agctgggtcat tatcacggct ggggcacgtc agcaagaggg agaaagccgt cttaatttgg  
 601 tccagcgtaa cgtgaacatc tttaaattca tcattcctaa tgttgtaaaa tacagcccga  
 661 actgcaagtt gcttattgtt tcaaatccag tggatatctt gacctacgtg gcttgaaga  
 721 taagtggttt tcccataaac cgtgttattg gaagcgggtg caatctggat tcagcccgat  
 781 tccgttacct aatgggggaa aggcgtgggag ttcacccatt aagctgtcat ggggtgggtcc  
 841 ttgggggaaa tggagattcc agtgtgcctg tatggagtgg aatgaatggt cgtgtgtctc  
 901 ctctgaagac tctgcaccca gatttaggga ctgataaaga taaggaaacag tggaaagagg  
 961 ttcacaagca ggtggttgag agggctctta cggataaagg gatgatgtct tccttagtgt  
 1021 tccttgcat tttggacaga atggaatctc agacctgtg aaggtgactc tgacttctga  
 1081 ggaagaggcc cgtttgaaga agagtgcaga tacactttgg gggatccaaa aggagctgca  
 1141 attttaagc cttctgatgt catatcattt cactgtctag gctacaacag gattctagggt  
 1201 ggaggttgtg catgttgtcc tttttatctg atctgtgatt aaagcagtaa tattttaaga  
 1261 tggactggga aaaacatcaa ctctgaagt tagaaataag aatggttgtt aaaatccaca  
 1321 gctatatcct gatgctggat ggtattaatc ttgtgtagtc ttcaactggg tagtgtgaaa  
 1381 tagttctgcc acctctgacg caccactgcc aatgctgtac gtactgcatt tgcccttga  
 1441 gccaggtgga tgtttaccgt gtgttatata acttcctggc tccttctactg aacatgccta  
 1501 gtccaacatt ttttcccagt gagtacatc ctgggatcca gtgtataaat ccaatatcat  
 1561 gtcttgtgca taattcttcc aaaggatctt attttgtgaa ctatatcagt agtgtacatt  
 1621 accatataat gtaaaaagat ctacatacaa acaatgcaac caactatcca agtgttatac  
 1681 caactaaaac cccaataaaa ccttgaacag tgactacttt gggttaattca ttatattaag  
 1741 atataaagtc ataaagctgc tagttattat attaatattg aaatattagg ctattcttgg  
 1801 gcaaccctgc aacgattttt tctaacaggg atattattga ctaatagcag aggatgtaat  
 1861 agtcaactga gttgtattgg taccacttcc attgtaagtc ccaaagtatt atatatattga  
 1921 taataatgct aatcataatt ggaagtaac attctatatg taaatgtaaa atttatttgc  
 1981 caactgaata taggcaatga tagtgtgtca ctatagggaa cacagatttt tgagatcttg  
 2041 tcctctggaa gctggtaaca attaaaaaca atcttaaggc agggaaaaaa aaaaaaaaaa  
 2101 aa

//  
 ЛОКУС NM\_005566 (изоформа 1)  
 АК/трансляция="MATLKDQLIYNLLKEEQTPQNKITVVGAVGMACAISILMKDL  
 ADELALVDVIEDKLKGEEMDLQHGSFLRTPKIVSGKDYNVTANSKLVIITAGARQQE  
 GESRLNLVQRNVNIFKFIIPNVVKYSPNCKLLIVSNPVDILTYVAWKISGFPKPNRVIG

SGCNLDSARFRYLMGERLGVHPLSCHGWVLGEHGDSSVPVWSGMNVAGVSLKTLHPDL  
 GTDKDKEQWKEVHKQVVESAYEVIKLKGYTSWAIGLSVADLAESIMKNLRRVHPVSTM  
 IKGLYGIKDDVFLSVPCILGQNGISDLVKVTLTSEEEARLKKADTLWGIQKELQF

кДНК: 1 gtctgccggt cggttggtctg gctgcgcgcg ccaccgccgc ctctccagtg ccccgccctgg  
 61 ctccggcatcc acccccagcc cgactcacac gtgggttccc gcacgtccgc cggccccccc  
 121 cgctgacgtc agcatagctg ttccacttaa ggccctccc gcgccagct cagagtgtg  
 181 cagccgctgc cgccgattcc ggaatctcatt gccacgcgc cccgacgacc gcccgacgtg  
 241 cattccccgat tccttttggg tccaagtcca atatggcaac tctaaaggat cagctgattt  
 301 ataatcttct aaaggaagaa cagaccccc agaataagat tacagttgtt ggggttggtg  
 361 ctgttggtcat ggctgtgccc atcagtatct taatgaagga cttggcagat gaacttgctc  
 421 ttgttgatgt catcgaaagc aaattgaagg gagagatgat ggaatctcaa catggcagcc  
 481 ttttcttag aacaccaaag attgtctctg gcaaagacta taatgtaact gcaaactcca  
 541 agctggtcat tatcacggtc ggggcacgtc agcaagaggg agaaagccgt cttaatattg  
 601 tccagcgtaa cgtgaacatc tttaaattca tcattcctaa tgttgtaaaa tacagcccga  
 661 actgcaagtt gcttattgtt tcaaatccag tggatatctt gacctacgtg gcttggaaaga  
 721 taagtgggtt tccccaaaac cgtgttattg gaagcgggtg caatctggat tcagcccgat  
 781 tccgttacct aatgggggaa agcctgggag ttcacccatt aagctgtcat ggggtgggtc  
 841 ttggggaaaca tggagattcc agtgtgcctg tatggagtgg aatgaatgtt gctggtgtct  
 901 ctgtgaagac tctgcacca gatttaggga ctgataaaga taaggaaacg tggaagagg  
 961 ttcacaagca ggtgggttag agtgcttatg agtgatcaa actcaaaggc tcacatcct  
 1021 gggctattgg actctctgta gcagatttgg cagagagtat aatgaagaat cttaggcggg  
 1081 tgcacccagt ttccaccatg attaagggtc tttacggaat aaaggatgat gtcttcctta  
 1141 gtgttccttg cattttggga cagaatggaa tctcagacct tgtgaagggt actctgactt  
 1201 ctgaggaaga gggccgtttg aagaagagtg cagatacact ttggggggtc caaaaggagc  
 1261 tgcaatttta aagtcttctg atgtcatatc atttactgt ctaggctaca acaggattct  
 1321 aggtggaggt tgtgcatgtt gtctttttta tctgatctgt gattaaagca gtaatatatt  
 1381 aagatggact gggaaaaaca tcaactcctg aagttagaaa taagaatggg ttgtaaaatc  
 1441 cacagctata tcctgatgct ggaaggattt aatcttgtgt agtcttcaac tggttagtgt  
 1501 gaaatagttc tgccacctct gacgcaccac tgccaatgct gtacgtactg catttgcccc  
 1561 ttgagccagg tggatgttta ccgtgtgtta tataacttcc tggctccttc actgaacatg  
 1621 cctagtccaa cattttttcc cagttagtca catcctggga tccagtgtat aaatccaata  
 1681 tcatgtcttg tgataattc ttccaaagga tcttattttg tgaactata cagttagtga  
 1741 cattaccata taatgtaaaa agatctacat acaaacaatg caaccaacta tccaagtgtt  
 1801 ataccaacta aaaccccaa taaaccttga acagtgacta ctttggttaa ttcattatat  
 1861 taagatataa agtcataaag ctgctagtta ttatattaat ttggaaatat taggctattc  
 1921 ttgggcaacc ctgcaacgat tttttctaac agggatatta ttgactaata gcagaggatg  
 1981 taatagtcaa ctgagttgta ttggtaaccac ttccattgta agtcccaaag tattatatat  
 2041 ttgataataa tgctaatacat aattggaaag taacattcta tatgtaaatg taaaatttat  
 2101 ttgccaactg aatataggca atgatagtg gtactatag ggaacacaga tttttgagat  
 2161 cttgtcctct ggaagctggt aacaattaa aacaatctta aggcagggaa aaaaaaaaaa  
 2221 aaaaaa

//

18. MAP4: MAP4 ассоциированный с микротрубочками белок 4 [ Homo sapiens ]

ЛОКУС NM\_001134364

(изоформа 4)

AK/ трансляция="MADLSLADALTEPSPDIEGEIKRDFIATLEAEAFDDVGETVGK  
 TDYIPLLDVDEKTNSESKKKPCSETSQIEDTPSSKPTLLANGGHGVEGSDTGSPT  
 FLEEKMAYQEYPNSQNWPEDTNFCFQPEQVVDPIQTDPFKMYHDDDLADLVFPSSATA  
 DTSIFAGQNDPLKDSYGMSPCNTAVVPQGSVEALNSPHSESFVSPEAVAEPPOPTAV  
 PLELAKEIEMASEERPPAQALEIMMGLKTTDMAPSKETEMALAKDMALATKTEVALAK  
 DMESPTKLDVTLAKDMQPSMESDMALVKDMELPTEKEVALVKDVRWPTETDVSSAKNV  
 VLPTETEVAAPAKDVTLLKETERASPIKMDLAPSKDMGPPKENKKETERASPIKMDLAP  
 SKDMGPPKENKIVPAKDLVLLSEIEVAQANDIISSTEISSAEKVALSSETEVALARDM  
 TLPPETNVI LTKDKALPLEAEVAPVKDMAQLPETEIAPAKDVAPSTVKEVGLLKDMSP  
 LSETEMALGKDVTPPPETEVVLIKVNCLPPEMEVALTEDQVPALKTEAPLAKDGVLT  
 ANNVTPAKDVPPLSETEATPVPIKDMIEIAQTQKGISSEDSHLESQDVGQSAAPTFMIS  
 PETVTGTGKKCSLPAEEDSVLEKLGERKPCNSQPSSELSSETSGIARPEEGRPVVSGTG  
 NDITTPPNKELPPSPEKTKPLATTQPAKTSTSKAKTQPTSLPKQPAPTTIGGLNKKP  
 MSLASGLVPAAPPKRPASARPSILPSKDVKPKPIADAKAPEKRASPSKPASAPASR

SGSKSTQTVAKTTTAAAVASTGPPSRPSTLLPKKPTAIKTEGKPAEVKMTAKSVPA  
 DLSRPKSTSTSSMKKTTTSLGTAPAAGVVPSPVKATPMPSPSTTTFIDKKPTSAPKS  
 STTPRLSRLATNTSAPDLKNVRSKVGSTENIKHQPGGGRKAVEKKTEAAATTRKPESN  
 AVTKTAGPIASAQKQPAGKVQIVSKVSYSHIQSKCGSKDNIKHVPGGGNVQIQNKV  
 DISKVSSKCGSKANIKHKPGGGDVKIESQKLNFKKAQAKVGSLDNVGHLPPAGGAVKI  
 ETYRLTFRANARARTDHGADIVSRPPHFPGGPNSGSRVLGPLSRVH

кДНК: 1 agggccccacc cgtcgtgtggc ccggtccgcg tgtgcgcgca ctctcgcact ctcctcgctc  
 61 cgggcgcccc gactctgaga gagagcgacg gccatcatag aacagcgaag gcagtcgac  
 121 ggcttgcggt ccgcttcggc attcgcaggc cgcagcgagg aggctagagc cccagggcgc  
 181 acctgcgcc aaccgcccgc ggctcgggca gctctgcaga gacgtcgtgg cggcaggggc  
 241 agcaccattt ggtccggccac agccctccgc cctccccctc gccacgctta ttggccggag  
 301 cggcggcgct cgcgggtag gcggtggcgg cgtccctccc ttgcgcccgc cctcaagagg  
 361 cgacgaggaa gcggccgcct ccctgcgccc cgcctccctc gctagctcgc tggctcccg  
 421 ctccctccga cgtctcctac ctctcacgg ctctcccg cgtctcctg gctccctct  
 481 cccccagctc cgtctcggcg gcggcgggca gttgcagtgg tgcagaatg ctgacctcag  
 541 tcttgagat gcattaacag aacctctcc agacattgag ggagagataa agcgggactt  
 601 cattgccaca ctagaggcag aggcctttga tgatgttggt ggagaaactg ttggaaaaac  
 661 agactatatt cctctcctgg atgttgatga gaaaaccggg aactcagagt caaagaagaa  
 721 accgtgctca gaaactagcc agattgaaga tactccatct tctaaaccaa cactcctagc  
 781 caatgggtgt catggagtag aaggagcgca tactacagg tctccaactg aattccttga  
 841 agagaaaaat gcctaccagg aatacccaaa tagccagaac tggccagaag ataccaactt  
 901 ttgtttccaa cctgagcaag tggctgatcc tatccagact gatcccttta agatgtacca  
 961 tgatgatgac ctggcagatt tggctcttcc ctccagtgcg acagctgata ctccaatatt  
 1021 tgaggacaaa aatgatccct tgaaagacag ttacggtatg tctccctgca cccagctgt  
 1081 tgtacctcag ggggtgtctg ttgaagcctt aaactctcca cactcagagt cctttgtttc  
 1141 ccagaggct gttgcagaac ctctcagcc aacggcagtt cccttagagc tagccaagga  
 1201 gatagaaatg gcatcagaag agaggccacc agcacaagca ttggaaataa tgatgggact  
 1261 gaagactact gacatggcac catctaaaga aacagagatg gccctcgcca aggacatggc  
 1321 actagctaca aaaaccgagg tggcattggc taaagatatg gaatcaccca ccaaattaga  
 1381 tgtgacactg gccaaaggaca tgcagccatc catggaatca gatatggccc tagtcaagga  
 1441 catggaaacta cccacagaaa aagaagtggc cctggttaag gatgtcagat ggcccacaga  
 1501 aacagatgta tcttcagcca agaattgtgt actgcccaca gaaacagagg tagccccagc  
 1561 caaggatgtg aactgtttga aagaaacaga gagggcattc cctataaaaa tggacttagc  
 1621 cccttccaag gacatgggac caccacaaga aaacaagaaa gaaacagaga gggcatctcc  
 1681 tataaaaaat gacttggctc cttccaagga catgggacca cccaaagaaa acaagatagt  
 1741 cccagccaag gatttgggtat tactctcaga aatagagggt gcacaggcta atgacattat  
 1801 atcatccaca gaaatatcct cgtctgagaa ggtggctttg tctcagaaa cagagtagc  
 1861 cctggccagg gacatgacac tgccccgga aaccacgtg atcttgacca aggataaagc  
 1921 actaccttta gaagcagagg tggccccagt caaggacatg gctcaactcc cagaaacaga  
 1981 aatagccccc gccaaaggat tggctccgtc cacagtaaaa gaagtgggct tgttgaagga  
 2041 catgtctcca ctatcagaaa cagaaatggc tctgggcaag gatgtgactc cacctccaga  
 2101 aacagaagta gttctcatca agaacgtatg tctgcctcca gaaatggagg tggccctgac  
 2161 tgaggatcag gtcccagccc tcaaaacaga agcaccctg gctaaggatg ggggttctgac  
 2221 cctggccaac aatgtgactc cagccaaaga tgttccacca ctctcagaaa cagaggcaac  
 2281 accagttcca attaaagaca tggaaattgc acaaacacaa aaaggaataa gtgaggattc  
 2341 ccatttagaa tctctgcagg atgtggggca gtcagctgca cctactttca tgatttcacc  
 2401 agaaaccgtc acaggaacgg ggaaaaagtg cagcttgccg gccgaggagg attctgtgtt  
 2461 agaaaaacta ggggaaagga aacctgcaa cagtcaacct tctgagcttt ctccagagac  
 2521 ctcaggaata gccaggccag aagaagggaag gcctgtgggt agtgggacag gaaatgacat  
 2581 caccaccca ccgaacaagg agctcccacc aagcccagag agaaaaacaa agcctttggc  
 2641 caccactcaa cctgcaaaga cttcaacatc gaaagccaaa acacagccca ctctctccc  
 2701 taagcagcca gctcccacca ccattggtgg gttgaataaa aaacctatga gccttgcttc  
 2761 aggtcttagt ccagctgccc caccacaacg ccctgcctgc gcctctgcca ggccttccat  
 2821 cttaccttca aaagacgtga agccaaagcc cattgcagat gcaaaggctc ctgagaagcg  
 2881 ggcctacca tccaagccag cttctgcccc agcctccaga tctgggtcca agagcactca  
 2941 gactgttgca aaaaccacaa cagctgctgc tgttgctca actggcccaa gcagtaggag  
 3001 cccctccacg ctctgcccac agaagccac tgccattaag actgagggaa aacctgcaga  
 3061 agtcaagaag atgactgcaa agtctgtacc agctgacttg agtcgcccag agagcacctc  
 3121 caccagttcc atgaagaaaa ccaccactct cagtgggaca gcccccgctg caggggtggg  
 3181 tcccagccga gtcaaggcca caccatgcc ctccggccc tccacaactc ctttcataga

```

3241 caagaagccc acctcggcca aaccagctc caccaccccc cggctcagcc gcctggccac
3301 caatacttct gtcctgatc tgaagaatgt ccgctccaag gttggctcca cggaatacat
3361 caagcatcag cctggaggag gccgggccc aaacacagag cagctgctac
3421 aaccgaaaag cctgaatcta atgcagtcac taaaacagcc ggccaattg caagtgcaca
3481 gaaacaacct gcggggaaa tccagatagt ctccaaaaaa gtgagctaca gccatattca
3541 gtccaagtgt ggttccaagg acaatatata gcatgtccct ggaggtggta atgttcagat
3601 tcagaacaag aaagtggaca tctctaaggt ctccctccaag tgtgggtcta aggctaacat
3661 caagcacaag cctggtggag gagatgtcaa gattgaaagt cagaagtga acttcaagga
3721 gaaggcccag gccaaggtgg gatccctcga taatgtgggc caccctacct caggaggtgc
3781 tgtgaagatt gagacctaca ggctgacgtt ccgggcaaat gccaggggcc gcaccgacca
3841 cggggccgac attgtctccc gccccccaca ctccctggc ggcccaact cgggtctccg
3901 ggtccttgcc cccctttccc gggctgtcca ctgaccagt gagcgctgg cgccgtgct
3961 gggcagcccg ctaggctcgc ctccctcct gcttgctgt cccggggcag cagcagccct
4021 gccccacacc tcctctcact cccagcctg ggcccatct cctgctttg tcttgcacca
4081 tcaactgccc actgctccgt ggaggaggtt gggagggggt tggggtggtt gaggctaagt
4141 gggtatctag gagaggagaa ccagattcta tcctcatctt ttttggttc tttggtccaa
4201 acccaaaaaga aactgacatg cctcccttc tcctggatc tacctggagg gaagagtggg
4261 ggtggattcc gagggtgac aggacgctga ccgtggagct taagccactg cctctccctc
4321 tgggtccaca aatggcgccc cccctcctc catgcaggtg gtgtcgggac cttcttgctg
4381 ccctgcccc agttgggggt cagtgtgccc tgtcccatg cttaacatac ccgcctagct
4441 cctgtcacat tttcttgtt ttgtcctttt attttttct aataacctaa aaactggcaa
4501 aatagttctg caggttgaag ccatgtctac atgaaagtcc tcagtaagtg ttagagggaa
4561 caggggcgag atatccttat gccaccccc ctggaggatg tgggcagctt agggccctgg
4621 agggcggtgc gagggaaga ggggtgcaga ggctgtggct ggtgagccgg tcaggcacac
4681 aagggggcct tggagcggtg actggttggt tttgccattt tgttgtgtgt atctgctttt
4741 tcttttctaa ccaagaggct ggttttggca tctctgtccc attccctggg atctggtggt
4801 cagccctagg ataaaaagcc agggctggag aacaagaaag ggccaggaga tggaaattct
4861 tcaggccggc acccacaccc taggacatgt aagccctcat gtccaaggga gcctcatgca
4921 ggtgtaggaa aatcaggctt ggaattttaa aaataaaaag catgagacta aggtatctg
4981 ctccctttat gccctgactg gagaggggag ggagggagg caaggccac agagggcac
5041 ccagctaggc cttgggatgg ctgagtgag gagaaatccc gggaactgta ttgacacaaa
5101 gattcttatt gcacttgtat tttttgtatt aaagtgtgca tggtttctaa taaaggattc
5161 aaacataagt ttgtagtga atggcctgg agattccaag ggcttctctg gagggggatt
5221 ggtcgcagtg tagatttgc cctgaggagg ctgccccaga cttggcctcc tcatgcccc
5281 tcctgacctc tgcccttctc tggctctgg atccctggag aaggtagggg tcttgacctc
5341 agtttagatt tgatctccat gtgcaggagg gctgtcctgg gcctgacagg tcctccccct
5401 ttctgaggta gcagtgcctt gtggagggtt gacaccatgt ccctagctcc ccaagcacac
5461 accaggaaac tgcaggggct cacggaggaa gtgctgcctg ggccagggg accagctttc
5521 ctccgtagag accatgtgca gaacacttct gctgtgcca gaacatgagg gagccagtgt
5581 ttgtgcagca ggaagaaagg gcctgctgg atgaaagtgg gaaggaaaca ggggtgcgta
5641 gtcaggagac acctcaggg caacagcaca ggcccagagt acctgctgcc tccactgcgt
5701 ctgtcctgg gtcatgagga tgctgaggtt gacgacaggt tccaggtcct tccactcctt
5761 tggccaaaag ttgggggtag gtggcccaag tggcgtgctc tctaggtaga caacaggagt
5821 ggtcagagtt ccctcaaagg atcctccact ccagagcacc tgagaaggcc gggaccagag
5881 gccctgtgtg atgtgtactc cgcagctgtt tggggtggga catttctgta cttctcgatt
5941 tgcttatggc tcagccatta cctgtgtcag tccatgattc tgttgtaaca gttttaagag
6001 taaataaata aagctgcctg atgtcccatc acgcagaaaa aaaaaa

```

//

ЛОКУС NM\_002375 (изоформа 1)  
 АК/трансляция="MADLSLADALTEPSPDIEGEIKRDFIATLEAEAFDDVVGETVGK  
 TDYIPLLDVDEKTNSESCKKPCSETSQIEDTPSSKPTLLANGGHGVEGSDTTGSPTE  
 FLEEKMAQYEPNSQNPEDTNFCFQPEQVVDPIQTDPFKMYHDDDLADLVFPSSATA  
 DTSIFAGQNDPLKDSYGMSPCNTAVVPQGSVEALNSPHSESFVSPPEAVAEPQPTAV  
 PLELAKEIEMASEERPPAQALEIMMGLKTTDMAPSKETEMALAKDMALATKTEVALAK  
 DMESPTKLDVTLAKDMQPSMESDMALVKDMELPTEKEVALVKDVRWPTETDVSSAKNV  
 VLPTETEVAAPAKDVTLKETERASPIKMDLAPSKDMGPPKENKKETERASPIKMDLAP  
 SKDMGPPKENIIVPAKDLVLLSEIEVAQANDIISSTEISSAEKVALSSETEVALARDM  
 TLPPETNVILTKDKALPLEAEVAPVKDMAQLPETEIAPAKDVAPSTVKEVGLLKDMSP  
 LSETEMALGKDVTPPETEVVLIKNVCLPPEMEVALTEDQVPALKTEAPLAKDGVLTLL  
 ANNVTAPKDVPPVLPSETATFPVPIKMEIAQTQKGISSEDSHLESQDVGQSAAPTFMIS

PETVTGTGKKCSLPAEEDSVLEKLGERKPCNSQPSELSSSETSGIARPEEGRPVVSGTG  
 NDITPPNKELPPSPEKKTKPLATTQPAKTSTSKAKTQPTSLPKQPAPTITIGGLNKKP  
 MSLASGLVPAAPPKRPVAVASARPSILPSKDVKKPIADAKAPEKRASPSKPASAPASR  
 SGSKSTQTVAKTTTAAAVASTGPPSSRSPSTLLPKKPTAIKTEGKPAEVKKMTAKSVPA  
 DLSRPKSTSTSSMKKTTTLSGTAPAAGVVPSRVKATPMPSPSTTTFIDKKPTSAKPS  
 STTPrLSRLATNTSAPDLKNVRSKVGSTENIKHQPGGGRAKVEKKTEAAATTRKPESN  
 AVTKTAGPIASAQKQAPAGKVQIVSKKVSYSHIQSKCGSKDNIKHVPGGGNVQIQNKKV  
 DISKVSSKCGSKANIKHKPGGGDVKIESQKLNFKKAQAKVGLDNVGHLPAGGAVKT  
 EGGGSEAPLCPGPPAGEEPAISEAAPEAGAPTASGLNGHPTLSGGGDQREAQTLDSQ  
 IQETSI

кДНК: 1 aggccccacc cgctggtggc cgggtccgcg tgtgcgccga ctctcgcaact ctcctcgctc  
 61 cgggcgcccc gactctgaga gagagcgacg gccatcatag aacagcgaag gcagtcgac  
 121 ggctctcggt ccgcttcggc attcgcaggc cgcaggcggg aggcctagagc ccccgaggcg  
 181 acctcgcccc aaccgccccg ggctcgggca gctctgcaga gacgtcgtgg cggcaggggc  
 241 agcaccattt ggtccgccac agccctccgc cctccccctc gccacgctta ttggccggag  
 301 cggcggcgct cgccgggtag gcggtggcgg cgtccctccc ttgcccgggc cctcaagagg  
 361 cgacgaggaa gcgccgcgct ccctgcgccc cgccctcccg gctagctcgc tggctcccg  
 421 ctctccccga cgtctcctac ctctcacgg ctctcccg cgctctctg gctcccttct  
 481 gccccagctc cgtctcggcg gcggcgggca gttgcagtgg tgcagaatgg ctgacctcag  
 541 tcttgagat gcattaacag aaccatctcc agacattgag ggagagataa agcgggactt  
 601 cattgccaca ctagaggcag aggcctttga tgatgttggt ggagaaactg ttggaaaaac  
 661 agactatatt cctctcctgg atgttgatga gaaaaccggg aactcagagt caaagaagaa  
 721 accgtgctca gaaactagcc agattgaaga tactccatct tctaaaccaa cactcctagc  
 781 caatgggtgt catggagtag aagggagcga tactacaggg tctccaaact aattccttga  
 841 agagaaaatg gcctaccagg aatacccaaa tagccagaac tggccagaag ataccaactt  
 901 ttgtttccaa cctgagcaag tggctgatcc tatccagact gatcccttta agatgtacca  
 961 tgatgatgac ctggcagatt tggctcttcc ctccagtgcg acagctgata cttcaatatt  
 1021 tgcaggacaa aatgatccct tgaaagacag ttacggtatg tctccctgca acacagctgt  
 1081 tgtacctcag ggggtggtctg ttgaagcctt aaactctcca cactcagagt cctttgtttc  
 1141 cccagaggct gttgcagaac ctctcagcc aacggcagtt cccttagagc tagccaagga  
 1201 gatagaaatg gcatcagaag agagccacc agcacaagca ttggaaataa tgatgggact  
 1261 gaagactact gacatggcac catctaaaga aacagagatg gccctcgcca aggacatggc  
 1321 actagctaca aaaaccgagg tggcattggc taaagatatg gaatcaccca ccaaataga  
 1381 tgtgacactg gccaaaggaca tgcagccatc catggaatca gatatggccc tagtcaagga  
 1441 catggaacta cccacagaaa aagaagtggc cctggttaag gatgtcagat ggcccacaga  
 1501 aacagatgta tcttcagcca agaattgtgt actgcccaca gaaacagagg tagccccagc  
 1561 caaggatgtg acaactgttg aagaaacaga gagggcatct cctataaaaa ttgacttagc  
 1621 cctttccaag gacatgggac cacccaaaga aaacaagaaa gaaacagaga gggcatctcc  
 1681 tataaaaatg gacttggctc cttccaagga catgggacca ccaaagaaa acaagatagt  
 1741 cccagccaag gatttgggtat tactctcaga aatagagggt gcacaggcta atgacattat  
 1801 atcatccaca gaaatatcct ctgctgagaa ggtggctttg tctcagaaa cagaggtagc  
 1861 cctggccagg gacatgacac tgcccccga aaccaacgtg atcttgacca aggataaagc  
 1921 actaccttta gaagcagagg tggccccagt caaggacatg gctcaactcc cagaaaagc  
 1981 aatagccccg gccaaaggatg tggctccgtc cacagtaaaa gaagtgggct tgttgaagga  
 2041 catgtctcca ctatcagaaa cagaaatggc tctgggcaag gatgtgactc cactccaga  
 2101 aacagaagta gttctcatca agaacgtatg tctgcctcca gaaatggagg tggcctgac  
 2161 tgaggatcag gtcccagccc tcaaaacaga agcaccctg gctaaggatg gggttctgac  
 2221 cctggccaac aatgtgactc cagccaaaga tgttccacca ctctcagaaa cagaggcaac  
 2281 accagttcca attaaagaca tggaaattgc acaaacacaa aaaggaataa gtgaggattc  
 2341 ccatttagaa tctctgcagg atgtggggca gtcagctgca cctactttca tgatttcacc  
 2401 agaaaacgtc acaggaacgg ggaaaaagtg cagcttgccg gccgaggagg attctgtgtt  
 2461 agaaaaacta ggggaaagga aaccatgcaa cagtcaacct tctgagcttt cttcagagac  
 2521 ctcaggaata gccaggccag aagaaggaag gcctgtgggt agtgggacag gaaatgacat  
 2581 caccaccca ccgaacaagg agctcccacc aagcccagag aagaaaaaaa agcctttggc  
 2641 caccactcaa cctgcaaaga cttcaacatc gaaagccaaa acacagccca cttctctccc  
 2701 taagcagcca gctcccacca ccattggtgg gttgaataaa aaacctatga gccttgcttc  
 2761 aggcttagtg ccagctgccc caccaaaacg ccctgcccgc gcctctgcca ggccttccat  
 2821 cttaccttca aaagacgtga agccaaagcc cattgcagat gcaaaggctc ctgagaagcg  
 2881 ggctcacca tccaagccag cttctgcccc agcctccaga tctgggtcca agagcactca  
 2941 gactgttgca aaaaccacaa cagctgctgc tgttgctcca actggcccaa gcagtaggag

```

3001 cccctccacg ctctctgccca agaagccccc tgccattaag actgaggggaa aacctgcaga
3061 agtcaagaag atgactgcaa agtctgtacc agctgacttg agtcgcccac agagcacctc
3121 caccagttcc atgaagaaaa ccaccactct cagtgggaca gcccccgctg caggggtggt
3181 tcccagccga gtcaaggcca caccatgcc ctcccgcccc tccacaactc ctttcataga
3241 caagaagccc acctcggcca aaccagctc caccaccccc cggctcagcc gcctggccac
3301 caatacttct gctcctgac tgaagaatgt ccgctccaag gttggctcca cggaaaacat
3361 caagcatcag cctggaggag gccgggccc aaacagagg cagctgctac caagtgtac
3421 aacctgaaag cctgaatcta atgcagtcac taaaacagcc ggccaattg caagtgcaca
3481 gaacaacct gcggggaaag tccagatagt ctccaaaaaa gtgagctaca gccatattca
3541 gtccaagtgt ggttccaagg acaatatata gcatgtccct ggaggtggtg atgttcagat
3601 tcagaacaag aaagtggaca tctctaaggt ctccccaag tgtgggtcta aggctaacat
3661 caagcacaa cctgggtggag gagatgtcaa gattgaaagt cagaagtga acttcaagga
3721 gaaggcccag gccaaagtgg gatccctcga taatgtgggc caccctactg caggaggtgc
3781 tgtgaagact gagggcggtg gcagcgaggc tcctctgtgt ccgggtcccc ctgctggggg
3841 ggagccggcc atctctgagg cagcgccctg agctggcgcc cccacttcag ccagtggcct
3901 caatggccac ccacccctgt caggggggtg tgaccaaagg gagggccag ccttgacag
3961 ccagatccag gagacaagca tctaatagat acattctggt ctctctcttc gtctcccccg
4021 tgttccccctc ttgtctcccc tgttccccct tcccttccct cctcccatgt cactgcagat
4081 tgagacctac aggtctgact tccgggcaaa tgccagggcc cgcaccgacc acggggccga
4141 caatgtctcc cgccccccac acttccctgg cggcccaaac tcgggctctg gggctcttgg
4201 cccctcttcc cgggctgtcc actagaccag tgagcgcttg ggcgcgtg ccttgacag
4261 gctaggctcg ccttccctcc tgccttgctg gcccggggca gcagcagccc tgccccacac
4321 ctctctccac tccccagcct gggcccatct cctgcttttg gtcttgcccc atcactgcgc
4381 cactgctccg tggaggaggt tgggaggggg ttgggggtgt tgaggctaa ttgggatcta
4441 gaagaggaga accagattct atcctcatct ttttttggtt ctttggcca aacccaaaag
4501 aaactgacat gccctccctt ctccctggat ctacctggag ggaagagtgg aggtggattc
4561 cgagtgggtg cagcagcgtg accgtggagc ttaagccact gcctctccct ctggtccccc
4621 aaatggggcg cccccctcc ccatgcaggg ggtgtcgggc ccttcttctg gccttgcctc
4681 aagtgtgggg tcagtgtctg ctgtccccat gcttaacata cccgcctagc tgcgtcaca
4741 ttttcttctg tttgtccttt tatttttttc taataaccta aaaactggca aaatagtctc
4801 gcaggttgaa gccatgtcta catgaaagtc cttagtaagt gttagaggga acaggcgga
4861 gatattccta tgccaccccc gctggaggat gtgggcagct tagggccctg gaggggtgc
4921 ggaggggaag aggggtgcag aggtctgtggc tggtagccg gtcaggcaca caaggggccc
4981 ttggagcgtg gactggttgg ttttgccatt ttgtgtgtg gatgtgtct tcttttcta
5041 accaagaggc tggttttggc atctctgtcc cattccctgg gatctggttg tcagccctag
5101 gataaaaaag cagggttgga gaacaagaaa gggccaggag atggaattcc ttcaggcccg
5161 caccacacc ctaggacatg taagccctca tgtccaagg agcctcatgc agatagtagg
5221 aaatcaggtc tggaaattta aaaataaaa gcatgagact aaggctatct gcttccctta
5281 tgccctgact ggagagggga gggaggagag gcaaggccca cagaggcat cccagctagg
5341 ccttgggatg gctgcagtga ggagaaatcc cgggaactgt attgacacaa agattcttat
5401 tgcaattgta ttttttgat taaagtgtgc atggtttcta ataaaggatt caaacataag
5461 tttgtagtga aatggcctgg gagattccaa gggcttctct ggagggggat tggctgcagt
5521 gtagatttgc ctctgaggag gctgccccag acttggcctc ctcatgcccc ctctgacct
5581 ctgcccctct ctggtcctgg catccctgga gaaggtaggg gtcttgacct aagtttagat
5641 ttgatctcca tgtgcaggga ggctgtcctg ggctgacag gtccctcccc tttctgaggt
5701 agcagtgcct tgtggagggt tgacaccatg tccctagctc cccaagcaca caccaggaaa
5761 ctgcaggggc tcacggagga agtgcctgcc gggccagggg gaccagcttt cctccgtaga
5821 gaccatgtgc agaacacttc tgcgtgcca agaactagag ggagccagtg ttttgcagc
5881 aggaagaaag gccctgctgg gatgaaagtg ggaaggaaac aggggtgctg agtcaggaga
5941 cacctcaggg gcaacagcac agggccagag tacctgctgc ctccactgcg tctgtcctgg
6001 ggtcatgagg atgctgaggt tgacgacag ttccaggtcc tttcactcct ttggccaaag
6061 gttgggggta ggtggcccaa gtggcgtgct ctctaggtag acaacaggag tggtcagagt
6121 tccctcaaag gatcctccac tccagagcac ctgagaaggc cgggaccaga ggccctgtgt
6181 gatgtgtact ccgcagctgt ttgggggtgg acatttctgt acttctcgat ttgcttatgg
6241 ctccagccatt acctgtgtca gtccatgatt ctgttgtaac agttttaaga gtaataaat
6301 aaagctgcct gatgtcccat cagcgaaaa aaaaaaa

```

//

ЛОКУС NM\_030885 (изоформа 3)  
 АК/трансляция="MADLSLADALTEPSDIEGEIKRDFIATLEAEAFDDVVGTVGK  
 TDYIPLLDVDEKTNSESKKKPCSETSQIEDTPSSKPTLLANGGHGVEGSDTTEA

кДНК: 1 aggcccccacc cgctgggtggc ccggtccgcg tgtgcgcgca ctctcgcaact ctccctcgctc  
61 cgggcgcccga gactctgaga gagagcgacg gccatcatag aacagcgaag gcagtcgac  
121 ggccctgcggg cccgttcggc attcgcaggc cgcaggcggg aggcctagagc cccagcggc  
181 acctcgcccc aaccgcccgc ggctcgggca gctctgcaga gacgtcgtgg cggcaggggcc  
241 agcaccattt ggtccgccac agccctccgc cctccccctc gccacgctta ttggccggag  
301 cggcggcgct cgcggggtag gcggtggcgg cgtccctccc ttgcgcgggc cctcaagagg  
361 cgacgaggaa gcggcgcgct cctcgcgcc cgcctcccg gctagctcgc tggctcccg  
421 ctccctccga cgtctcctac ctccctcacg ctctcccg cgtctcctg gctccctct  
481 gcccagctc cgtctcggcg gcggcgggca gttgcagtgg tgcagaatgg ctgacctcag  
541 tcttgagat gcattaacag aaccatctcc agacattgag ggagagataa agcgggactt  
601 cattgccaca ctagaggcag aggcctttga tgatgttgtg ggagaaactg ttggaaaaac  
661 agactatatt cctctcctgg atgttgatga gaaaaccggg aactcagagt caaagaagaa  
721 accgtgctca gaaactagcc agattgaaga tactccatct tctaaaccaa cactcctagc  
781 caatgggtgt catggagtag aagggagcga tactacagaa gcctagcgtg tctctcaaca  
841 ctggggctgc tgcaacacca gaccagtgat ctttcctaag catcgttata cttctaaaaac  
901 ctcagcatt ttgcagagct ttgcttttca ttccctggaca tgatgtatga aatcagagg  
961 gtagttcttc ggggcctatt tctgctgatg cctgagcaaa caacctgctt cctcttgctg  
1021 tctgcagggt ttgatggagc ctcatctccc tttgtgaaca caaagtgcaa aatgaattct  
1081 ttttaatttt agtaattttt acaaagggtta tctaattgct tttatttctt gttttcttta  
1141 tgattttatc atttgattca ttctcacatt tttttccttt aaataatttt agttgacctt  
1201 tttccttttg ttttcaaatg ttcaacatga atcagaatag tgtaacacca aatgagaaca  
1261 tgtgttttca taaaggggtt gaggccacca gtactgcagc gaatttctct ttcttctccc  
1321 tctctcttcc ttctctgagc ttgcttttag ggaagggttaa tcttacaggc tacctatggt  
1381 tctctccacc ttactaaaat ctaaataatg atagatatat taagttttta aattgagtag  
1441 tttctgagta tcttagaata tttttccaaa ttaaataatc ctttattatt tgcaagttgg  
1501 gccaaatttt tttttttttg gagacggact cttacaacatc taagattggt tcaacaggac  
1561 tttcttattc ccatctctaa ttttttcaaa ctaattgctt aaatctagaa ccagttgaga  
1621 ttagtactgt acaatgggtat gctttgattg tatttataga aatataacat aaaacatgga  
1681 ccactgtttg aaatcttaga ggaattcttg tttaaaatct gaaatacttt aagttttct  
1741 atccttttac tgattatgca gcttcttata accccaagg tacagattat ttcagtttaa  
1801 aagaaataat tggcaccatg ttctgagaaa gattttgaga tatacattgt tttttgtttt  
1861 tgagacaggg tctcactctt gcctaggctg gagtgcgggt gcgcgatctt ggcttactgc  
1921 accctctgcc tcccagggtt aagtgggtct cctgcctcag cctcccaagt agctgggatt  
1981 ataggtgtgc gccaccacac cagctaattt ttgtattttt agtagagacg gggttttact  
2041 ttgttggcca ggctgggtct gaactcctga tctcaagtga tccaccggcc ttggccaccc  
2101 aaagtgcctg gattacaggt gtgagacact gtgcctggcc agatatacat tgttttagat  
2161 cccctgatac agaactactt ttgagatggg aagattagaa tatcatgaaa gtttaaaactg  
2221 aatccttgca cgcacttccg gaatttagga agcattccct cttctacagg ggtctgggtc  
2281 caagggtctg attctctgac aaaaatttct tctatggatt ctggacagaa gacacttgag  
2341 ggtgatattg tttaaaggaa agaggttatg cttatcttct tagcagttga taaaatatta  
2401 aaactctctt gccatagaga atacaccatc aaagaaaaca caacccttct cctttggtgt  
2461 acagtatttt attaaagtga ttttgggggt tctttcgcca gggatctttt caaaactggt  
2521 agtagttatt tttaaaaatc atgtttgaca tctttctatt gctcgtaacc agtcctgta  
2581 gctgtctaag ttatgggttg agaagcctgg gtatgacttt ccgttggtga cactcacact  
2641 tcatgattga catttattta ttcttttatt tccatttggt tatgcttatt tttgtttgaa  
2701 atttgttttt ttcaaatatg tttccttttt gaacttacag aattgttgaa attttctact  
2761 aacagccagc taaaatttgg tataatgtag ctctatctgt ttcacttggc cgtttcattt  
2821 tgaagaaaag aaattttatg tttcacatat agtttttatac aaagttagcca gtcccataat  
2881 gaaatgctgt attgccatag tggtcacacc caagtgggtc agtatctcaa tggtagaggc  
2941 gccagactgg tcagggtctc tttgttgaaa tgtgatgatt ttcatatgcc ttctttctct  
3001 ttctctctct cttttttttt cttttttttg cccaatgttg aagatgtaga actttgtttt  
3061 taaataatgt ttttataatt tcattcgtat acctaagttt gtattttttt tgactttgga  
3121 cttcaacagt ttgtatatg ggacttctaa tgtgattact gtactaaata aattccacta  
3181 ataaacatct tacattaaca ccttaaaaaa aaaaaaaaaa aaaa

//

19. MARK1: MARK1 митоген-активируемая протеинкиназа 1 [ Homo sapiens ]  
ЛОКУС NM\_002745 (изоформа 1)  
АК/трансляция="MAAAAAGAGPEMVRGQVFDVGPRYTNL SYIGEGAYGMVCSAYD

NVNKVRVAIKKISPFHQTYCQRTLREIKILLRFRHENIIGINDIIRAPTIEQMKDVY  
 IVQDLMETDLYKLLKTQHLSNDHICYFLYQILRGLKYIHSANVLHRDLKPSNLLNTT  
 CDLKICDFGLARVADPDHDTGFLTEYVATRWYRAPEIMLSNKGYSIDISVGCIL  
 AEMLSNRPIFPKGHYLDQNLNHLGLGSPSQEDLNCLINLKARNYLLSLPHKNKVPWN  
 RLFPNADSKALDLDKMLTFNPHKRIEVEQALAHPLYEQYYDPSEPIAEAPFKFDME  
 LDDLPEKELKELIFEETARFQPGYRS

кДНК: 1 gccctccct cccgccgcc gccgccgcc ccgtcagtc ggcaggcagg caggcaatcg  
 61 gtccgagtggt ctgtcggctc ttcagctctc ccgtcggcg tcttcttcc tctcccggt  
 121 cagcgtcggc ggctgcaccg gcggcggcg agtccctgc ggaggggca caagagctga  
 181 gcggcggcg ccgagcgtcg agctcagcg gcgggaggcg gcggcggccc ggcagccaac  
 241 atggcggcg cggcggcggc gggcggcggc ccggagatgg tccgcgggca ggtgttcgac  
 301 gtggggggcg gctacaccaa cctctcgta atcggcgagg gcgcctacg cattgtgtgc  
 361 tctgcttatg ataagtcaa caaagtcca gtagctatca agaaaatcag cccctttgag  
 421 caccagacct actgccagag aacctgagg gagataaaaa tcttactgcg cttcagacat  
 481 gagaacatca ttggaatcaa tgacattatt cgagcaccaa ccatcgagca aatgaaagat  
 541 gtatatatag tacaggacct catggaaaca gatctttaca agctcttgaa gacacaacac  
 601 ctgagcaatg accatatctg ctattttctc taccagatcc tcagagggtt aaaatatatc  
 661 cattcagcta acgttctgca ccgtgacctc aagccttcca acctgctgct caacaccacc  
 721 tgtgatctca agatctgtga ctttggcctg gccctgttg cagatccaga ccatgatcac  
 781 aatgggttcc tgacagaata tgtggccaca cgttgttaca gggctccaga aattatgttg  
 841 aattccaagg gctacaccaa gtccattgat atttggctg taggctgcat tctggcagaa  
 901 atgctttcta acaggcccat ctttccaggg aagcattatc ttgaccagct gaaccacatt  
 961 ttgggtattc ttggatcccc atcacaagaa gacctgaatt gtataataaa tttaaaagct  
 1021 aggaactatt tgccttctcl tccacacaaa aalaaggtgc catggaacg gctgllccca  
 1081 aatgctgact ccaaagctct ggacttattg gacaaaatgt tgacattcaa cccacacaag  
 1141 aggattgaag tagaacaggc tctggcccac ccatatctgg agcagtatta cgacccgagt  
 1201 gacgagccca tcgccgaagc accattcaag ttcgacatgg aattggatga cttgcctaag  
 1261 gaaaagctca aagaactaat tttgaagag actgctagat tccagccagg atacagatct  
 1321 taaattttgtc aggacaaggc ctcagaggac tggacgtgct cagacatcgg tgttcttctt  
 1381 cccagttctt gacccctggg cctgtctcca gccctgttg gcttatccac tttgactcct  
 1441 ttgagccgtt tggagggcg gtttctggta gttgtggctt ttatgcttcc aaagaatttc  
 1501 ttcagtcagc agaattctc ctggcagccc tgtgtgtgtc acccattggg gacctgccc  
 1561 agtatgtact tcagtgcacc tactgcttac tgttgcctta gtcactaatt gcttcttggg  
 1621 ttgaaagatg cagtgggtcc tccctctcct gaatcctttt ctacatgatg ccctgctgac  
 1681 catgcagccg caccagagag agattcttcc ccaattggct ctagtactg gcatctcact  
 1741 ttatgatagg gaaggctact acctagggca ctttaagtca gtgacagccc cttatttgca  
 1801 cttcaccttt tgaccataac tgtttcccca gagcaggagc ttgtggaaat acctgtgctg  
 1861 atgtgtcagc ctgcagcaag tgcttcgctc tccggaaatc ttggggagca cttgtccaag  
 1921 tcttttctca tatcatggta gtcactaaca tataaaggat atgtgctatt ggcccagctt  
 1981 ttgaaaaatg cagtcatctt tctaaataaa aaggaaagta tgcaccagc agtgtcactc  
 2041 tgtagttact gtggtcactt gtacatata gaggtgtaac acttgtcaag aagcgttatg  
 2101 tgcagtactt aatgtttgta agacttacaa aaaaagattt aaagtggcag cttcactcga  
 2161 catttggtga gagaagtaca aagggtgcag tgctgagctg tgggcgggtt ctggggatgt  
 2221 cccagggtgg aactccacat gctggtgcat atacgccctt gagctacttc aaatgtgggt  
 2281 gtttcagtaa ccacgttcca tgctgagga ttttagcagag aggaacactg cgtctttaa  
 2341 tgagaaaagta tacaattctt tttccttcta cagcatgtca gcatctcaag ttcatttttc  
 2401 aacctacagt ataacaattt gtaataaagc ctccaggagc tcatgacgtg aagcactgtt  
 2461 ctgtcctcaa gtactcaa atttctgata ctgctgagtc agactgtcag aaaaagctag  
 2521 cactaactcg tgtttggagc tctatccata ttttactgat ctctttaagt atttgttctt  
 2581 gccactgtgt actgtggagt tgactcgggt tctgttccca gtgcgggtgc tctcttgac  
 2641 tttcccaactg ctctctgtgg tgagaaattt gcctgttca ataattactg tacctcgca  
 2701 tgactgttac agctttctgt gcagagatga ctgtccaagt gccacatgcc tacgattgaa  
 2761 atgaaaactc tattgttacc tctgagttgt gttccacgga aaatgctatc cagcagatca  
 2821 ttttaggaaaa ataattctat ttttagcttt tcatttctca gctgtccttt tttcttgtt  
 2881 gatttttgac agcaatggag aatgggttat ataaagactg cctgctaata tgaacagaaa  
 2941 tgcatttgta attcatgaaa ataaatgtac atcttctatc ttcacattca tgttaagatt  
 3001 cagtgttgct ttcctctgga tcagcgtgtc tgaatggaca gtcagggtca ggtgtgtgctg  
 3061 aacacagaaa tgctcacagg cctcactttg ccgccaggc actggcccag cacttggtat  
 3121 tacataagat gaggtagaaa ggtacttctg tagggctcct tttacctctg ctcggcagag  
 3181 aatcgatgct gtcatgttcc tttattcaca atcttaggtc tcaaatattc tgtcaaaccc

3241 taacaaagaa gccccgacat ctcagggttg attccctggt tctctctaaa gagggcctgc  
 3301 ccttgtgtccc cagaggtgct gctgggcaca gccaaagatt gggaagggcc gccccacagt  
 3361 acgcagtcct caccacccag cccagggtgc tcacgctcac cactcctgtg gctgaggaag  
 3421 gatagctggc tcatcctcgg aaaaacagacc cacatctcta ttcttgccct gaaatacgcg  
 3481 cttttcactt gcgtgctcag agctgccgtc tgaagggtcca cacagcattg acgggacaca  
 3541 gaaatgtgac tgttaccgga taacactgat tagtcagttt tcatttataa aaaagcattg  
 3601 acagttttat tactcctgtt tctttttaa tggaagtta ctattataag gttaatttgg  
 3661 agtcctcttc taaatagaaa accatatcct tggctactaa catctggaga ctgtgagctc  
 3721 cttcccatte cccttcctgg tactgtggag tcagattggc atgaaaccac taacttcatt  
 3781 ctagaatcat tgtagccata agttgtgtgc tttttattaa tcatgccaaa cataatgtaa  
 3841 ctgggcagag aatggtccta accaaggtac ctatgaaaag cgctagctat catgtgtagt  
 3901 agatgcatca ttttggtctt tcttacattt gtaaaaatgt acagattagg tcatcttaat  
 3961 tcatattagt gacacggaac agcacctcca ctatttgtat gttcaaataa gctttcagac  
 4021 taatagcttt tttggtgtct aaaatgtaag caaaaaattc ctgctgaaac attccagtc  
 4081 tttcatttag tataaaagaa atactgaaca agccagtggtg atggaattga aagaactaat  
 4141 catgaggact ctgtcctgac acaggtcctc aaagctagca gagatagcga cgtgtgtgg  
 4201 catctgggta gaagaatact gtattgtgtg tgcagtgcac agtgtgtggt gtgtgcacac  
 4261 tcattccttc tgctcttggg cacaggcagt ggggttagag gtaaccagta gctttgagaa  
 4321 gctacatgta gctcaccagt ggttttctct aaggaaatcac aaaagtaaac taccacaaca  
 4381 catgccacgt aatatttcag ccattcagag gaaactgttt tctctttatt tgcttatatg  
 4441 ttaatatggt ttttaaatg gtaactttta tatagtatgg taacagtatg ttaatacaca  
 4501 catacatagc cacacatgct ttgggtcctt ccataatact tttatatttg taaatcaatg  
 4561 ttttgagaca atcccaagt taagggaaat atttttgtaa atgtaattgt tttgaaaatc  
 4621 tgagcaatcc ttttgcttat acatttttaa agcatttgtg ctttaaaatt gttatgtgg  
 4681 tgtttgaaac atgatactcc tgtggtgcag atgagaagct ataacagtga atatgtggtt  
 4741 tctcttacgt catccacctt gacatgatgg gtcagaaaaca aatggaaatc cagagcaagt  
 4801 cctccagggt tgccaccagt ttacctaaag cttgttgccct tttcttgtgc tgtttatgctg  
 4861 tgtagagcac tcaagaaagt tctgaaactg ctttgtatct gctttgtact gttgtgtgct  
 4921 tcttggatt gtaccccaaa attctgcata gattatttag tataatggta agttaaataa  
 4981 tgttaaagga agattttatt aagaatctga atgtttattc attatattgt tacaatttaa  
 5041 cattaacatt tatttgtggt atttgtgatt tggttaatct gtataaaaaat tgtaagtaga  
 5101 aagggtttata tttcatctta attcttttga tgtgtgaaac gtacttttta aaagatggat  
 5161 tatttgaatg tttatggcac ctgacttgta aaaaaaaaaa actacaaaaa aatccttaga  
 5221 atcattaaat tgtgtccctg tattaccaaa ataacacagc accgtgcatg tatagtttaa  
 5281 ttgcagtttc atctgtgaaa acgtgaaatt gtctagtcct tcgttatgtt cccagatgt  
 5341 cttccagatt tgctctgcat gtgtaactt gtgttagggc tgtgagctgt tcctcgagtt  
 5401 gaatggggat gtcagtgctc ctagggttct ctaggtggtt cttcagacct tcacctgtgg  
 5461 gggggggggt aggcggtgcc cagcccatc tcctcatcct cctgaacttc tgcaaccca  
 5521 ctgctgggca gacatcctgg gcaacccctt ttttcagagc aagaagtcac aaagatagga  
 5581 tttcttgagc atttggttct tatcaatatt gggcattatg taatgactta tttacaaaac  
 5641 aaagatactg gaaaatgttt tggatgtggt gttatggaaa gagcacaggc cttggaccca  
 5701 tccagctggg ttcagaacta cccctgctt ataactgcgg ctggctgtgg gccagtcatt  
 5761 ctgcgtctct gctttcttcc tctgcttcag actgtcagct gtaaaagtga agcaatatta  
 5821 cttgccttgt atatggtaaa gattataaaa atacatttca actgttcagc atagtacttc  
 5881 aaagcaagta ctcagtaaat agcaagtctt tttaaa

//

ЛОКУС NM\_138957 (изоформа 2)  
 АК/ трансляция= "MAAAAAAGAGPEMVRGQVFDVGPRYTNSYIGEGAYGMVCSAYD  
 NVNKRVAIKKISPFHQTYCQRTLREIKILLRFRHENIIGINDIIRAPTIEQMKDVE  
 IVQDLMETDLYKLLKTQHLSDHICYFLYQILRGLKYIHSANVLHRDLKPSNLLLNTT  
 CDLKICDFGLARVADPDHDHTGFLTEYVATRWYRAPEIMLNSKGYTKSIDIWSVGCIL  
 AEMLSNRPIFPKHYLDQLNHLGILGSPSQEDLNCIINLKARNYLLSLPHKNKVPWN  
 RLFPNADSKALDLDKMLTFNPHKRIEVEQALAHPLYEQYYDPSDEPIAEAPFKFDME  
 LDDLPEKELKEIFEETARFQPGYRS

КДНК: 1 gccctccct ccgcccgcgc gccggccgc ccgtcagtc ggcaggcagg caggcaatcg  
 61 gtccagatgg ctgtcggctc ttcagctctc ccgtcggcg tcttccttcc tctcccggt  
 121 cagcgtcggc ggtcgcaccg gcggcggcgc agtccctgcg ggaggggcga caagagctga  
 181 gcggcggcgc ccgagcgtcg agctcagcgc ggcggaggcg gcggcgcccc ggcaagccaa  
 241 atggcggcgc gcggcggcgc ggcgcgggc ccggagatgg tccgcgggca ggtgttcgac

301 gtggggccgc gctacaccaa cctctcgtag atcggcgagg gcgcctacgg catggtgtgc  
 361 tctgcttatg ataattgtcaa caaagtctga gtagctatca agaaaatcag cccctttgag  
 421 caccagacct actgccagag aaccttgagg gagataaaaa tcttactgcy cttcagacat  
 481 gagaacatca ttggaatcaa tgacattatt cgagcaccaa ccatcgagca aatgaaagat  
 541 gtatatatag tacaggacct catggaaca gatctttaca agctcttgaa gacacaacac  
 601 ctgagcaatg accatatctg ctattttctc taccagatcc tcagagggtt aaaatatatc  
 661 cattcagcta acgttctgca cctgacctc aagccttcca acctgctgct caacaccacc  
 721 tgtgatctca agatctgtga ctttggcctg gcccggtgtg cagatccaga ccatgatcac  
 781 acagggttcc tgacagaata tgtggccaca cgttgggtaca gggctccaga aattatgttg  
 841 aattccaagg gctacaccaa gtccattgat atttgggtctg taggtgtgat tctggcagaa  
 901 atgcttttcta acaggcccat ctttccaggg aagcattatc ttgaccagct gaaccacatt  
 961 ttgggtattc ttggatcccc atcacagaag gacctgaatt gtataataaa tttaaaagct  
 1021 aggaactatt tgcttttctc tccacacaaa aataagggtgc catggaacag gctgttccca  
 1081 aatgctgact ccaaagctct ggacttattg gacaaaatgt tgacattcaa cccacacaag  
 1141 aggattgaag tagaacaggc tctggccccc ccatatctgg agcagtatta cgacccgagt  
 1201 gacgagccca tcgcccgaag accattcaag ttcgacatgg aattggatga cttgcttaag  
 1261 gaaaagctca aagaactaat ttttgaagag actgctagat tccagccagg atacagatct  
 1321 taaattttgtc aggtacctgg agtttaatac agtgagctct agcaaggagg gcgctgcctt  
 1381 ttgttttctag aatattatgt tcctcaagggt ccattatttt gtattctttt ccaagctcct  
 1441 tattggaagg tattttttta aatttagaat taaaaattat ttagaaagt acatataaa

//

20. MARCKS: MARCKS миристоилированный богатый аланином субстрат  
 протеинкиназы C [ Homo sapiens ]  
 ЛОКУС NM\_002356

AK/ трансляция="MGAQFSKTAAKGEAAERPGAAVASSPSKANGQENGHVKNVD  
 ASPAAESGAKEELQANGSAPAADKEEPAAAGSGAASPSAAEKGEPAAPAAPEAGASP  
 VEKEAPAEGEAAEPGSPTAAEGEAASASSTSSPKAEDGATPSPSNETPKKKKKRFSF  
 KKSFKLSGFSFKKNKKEAGEGGEAEAPAAEGGKDEAAGGAAAAAEAGAASGEQAAAP  
 GEEAAAGEEGAAGGDPQEAKPQEAAPAEKPPASDETKAEEPSKVEEKKAEEAGASA  
 AACEAPSAAGPGAPPEQEAAPAEFPAAAAASSACAAPSQEAQPECSPEAPPAAEA

кДНК: 1 cttgggctgt ggaccccgca tcttatttag aaccaggagg atttctccat tttcctcttg  
 61 tctacagtgc ggctacaaat ctgggatttt tttattactt cttttttttt cgaactacac  
 121 ttgggctcct ttttttgtgc tcgacttttc cacccttttt ccctccctcc tgtgctgctg  
 181 ctttttgatc tcttcgacta aaattttttt atccggagtg tatttaatcg gttctgttct  
 241 gtcctctcca ccacccccac cccctccct cgggtgtgtg tgccgctgcc gctgttgccg  
 301 ccgcccgtgc tctgctcgc cccgtcgtta caccaaccg aggtcttttg tttccctct  
 361 tggatctgtt gagtttcttt gttgaagaag ccagcatggg tgcccagttc tccaagaccg  
 421 cagcgaaggg agaagccgcc gcgagagagg ctggggaggc ggctgtggcc tcgtcgccct  
 481 ccaaagcgaa cggacaggag aatggccacg tgaaggtaaa cggcgagcgt tcgcccgagg  
 541 ccgcccgtgc gggcgccaag gaggagctgc aggccaacgg cagcgccccg gccgcgaca  
 601 aggaggagcc cgcggccgcc gggagcgggg cggcgtcgcc ctcccgggcc gagaaagggtg  
 661 agccggccgc cgcgctgcc cccgaggccg gggccagccc ggtagagaag gaggcccccg  
 721 cgaaggcga ggtgcccag cccggtcgc ccacggccgc ggaggggag gcccgtcgg  
 781 ccgcccctc gacttcttcg cccaaggccg aggaaggggc cagccctcg ccagcaacg  
 841 agaccccgaa aaaaaaaaaa aagcgctttt cttcaagaa gtctttcaag ctgagcggct  
 901 tctccttcaa gaagaacaag aaggaggctg gagaaggcgg tgaggctgag gcgcccgtg  
 961 ccgaaggcgg caaggacgag gccgcccggg gcgcagctgc ggccgcccgc gaggcgggag  
 1021 cggcctccgg ggagcaggca gcgcccggg gcgagaggc ggagcgggg gaggaggggg  
 1081 cggcgggtgg cgaccccgag gaggccaaag cccaggaggc cgtgtcgcg ccagagaagc  
 1141 cgcggccag cgacgagacc aaggccgccc aggagcccag caagggtgg gagaaaaagg  
 1201 ccgaggaggc cggggccagc gccgcccgc cgcaggcccc ctccgcccgc gggcccggcg  
 1261 cgcggccgga gcaggaggca gcccgcggg aggagcccgc ggccgcccga gcctcgtcag  
 1321 cctgcccagc cccctcacag gaggcccagc ccgagtgcag tccagaagcc ccccagcgg  
 1381 agcggcgaga gtaaaagagc aagcttttgt gagataatcg aagaactttt ctccccggtt  
 1441 tgtttgttgg agtgggtgcca ggtactggtt ttggagaact tgtctacaac cagggattga  
 1501 ttttaaagat gtcttttttt attttacttt tttttaagca ccaaattttt ttgttttttt  
 1561 tttttctccc ctccccacag atcccatctc aaatcattct gttaaccacc attccaacag  
 1621 gtcgaggaga gcttaaacac cttcttcctc tgctttgttt ctcttttatt ttttttttt  
 1681 tcgcatcagt attaatgttt ttgcatactt tgcattctta ttcaaaagt taaactttct

```

1741 ttgtcaatct atggacatgc ccatatatga aggagatggg tgggtcaaaa agggatatca
1801 aatgaagtga taggggtcac aatggggaaa ttgaagtggg gcataacatt gccaaaatag
1861 tgtgccacta gaaatgggtg aaaggctgtc tttttttttt ttttttaaaag aaaagtattt
1921 accatgtatt ttgtgaggca ggtttacaac actacaagtc ttgagttaag aaggaaagag
1981 gaaaaaagaa aaaacaccaa taccagatt taaaaaaaaa aaaacgatca tagcttagg
2041 agttcattta aaccatagga acttttcact tatctcatgt tagctgtacc agtcagtgt
2101 taagtagaac tacaagttgt ataggcttta ttgtttattg ctggtttatg accttaataa
2161 agtgtaatta tgtattacca gcaggggtgt ttttaactgt actattgtat aaaaacaaat
2221 cttgatatcc agaagcacat gaagtttgca actttccacc ctgcccattt ttgtaaaact
2281 gcagtcatct tggacctttt aaaacacaaa ttttaaaact aaccaagctg tgataagtgg
2341 aatgggttact gtttatactg tggatatgtt ttgattacag cagataatgc tttcttttcc
2401 agtcgtcttt gagaataaag gaaaaaaaaa tcttcagatg caatgggtttt gtgtagcatc
2461 ttgtctatca tgttttgtaa atactggaga agctttgacc aatttgactt agagatggaa
2521 tgtaactttg cttacaaaaa ttgctattaa actcctgctt aaggtgttct aattttctgt
2581 gagcacacta aaagcgaaaa ataatgtga ataaaatgta caaatgtgtt gtgttttttt
2641 agtcttctaat aactctgaga cttctaggtc ttaggttaat ttttaggaag atcttgcatg
2701 ccatcaggag taaattttat tgtggttctt aatctgaagt tttcaagctc tgaaattcat
2761 aatccgcagt gtcagattac gtagaggaa atcttacaac attccatgtc aaatctgtta
2821 ccattttattg gcatttagtt ttcatttaag aattgaacat aattattttt attgtagcta
2881 tatagcatgt cagattaaat catttacaac aaaaggggtg tgaacctaa actatttaaa
2941 tgtcttatga gaaaatttca taaagccatt ctcttgcatc tcagggtccag aaacaaattt
3001 taaactgagt gagagtctat agaatccata ctgcagatgg gtcatgaaat gtgaccaaat
3061 gtgttttcaa aattgatggt gtattacctg ctattgtaat tgcttagtgc ttggctaatt
3121 tccaaattat tgcataatat gttctacctt aagaaaacag gtttatgtaa caaagtaatt
3181 gtgttgaaat gatgatgtca gttcatgggc ctttagcata gttttaagca tcattttttt
3241 tttttttttt gaaagtgtgt tagcatcttg ttactcaaag gataagacag acaataatac
3301 ttcactgaat attaataatc ttactagt ttactcctct gctctttgcc acccgataac
3361 tggatatctt ttccttcaaa ggacctaaa ctgattgaaa tttagatat gtatcaaaaa
3421 cattatttca tttaatgcac atctgttttg ctgtttttga gcagtgtgca gtttaggggt
3481 catgataaat cattgaacca catgtgtaac aactgaatgc caaatcttaa actcattaga
3541 aaaataacaa attaggtttt gacacgcatt ctttaattgga ataattggatc aaaaatagtg
3601 gttcatgacc ttaccaaaca cccttgctac taataaaaatc aaataacact tagaagggtt
3661 tgtattttta gttagggttt cttgatcttg gaggatgttt gaaagttaa aattgaattt
3721 ggtaaccaaa ggaactgatt atgggtcttt cctatcttaa ccaacgtttt cttagtacc
3781 tagatggcca agtacagtgc ctggtatgta gtaagactca gtaaaaaagt ggatttttaa
3841 aaataactcc caaagtgaat agtcaaaaaat cctgttagca aactgttata tattgctaag
3901 tttgttcttt taacagctgg aatttattaa gatgcattat tttgatttta ttcactgctt
3961 aaaacacttt ggttggtatt gatggagttg gtggattttc ctccaagtga ttaaatgaaa
4021 tttgacgtat cttttcatcc aaagtgttgt acatcatgtt ttctaacgga aaaaaatggt
4081 aatatggctt ttttgatta ctaaaaatag ctttgagatt aaggaaaaat aaataactct
4141 tgtacagttc agtattgtct attaaatctg tattggcagt atgtataatg gcatttgctg
4201 tggttacaaa atacttcctc tgggttataa taatcatttg atccaattcc tattgcttgt
4261 aaaaataaagt tttaccagtt gatataatca aaaaaaaaaa aaaa

```

//

21. NME1: NME1 NME/NM23 нуклеозид дифосфаткиназа 1 [ Homo sapiens ]  
 ЛОКУС NM\_000269 (изоформа b)  
 АК/ трансляция="MANCERTFIAIKPDGVQRLVGEI IKRFEQKGFRLVGLKFMQAS  
 EDLLKEHYVDLKDPRFFAGLVKYMHS GPVVMVWEGLNVVKTGRVMLGETNPADSKPG  
 TIRGDFCIQVGRNIIHGSDSVESA EKEIGLWFHPEELVDYTSQAQNWIIYE

кДНК: 1 gcagaagcgt tccgtgctgt caagtgctgc gaaccacgtg ggtcccgggc gcgtttcggg  
 61 tgctggcggc tgcagccgga gttcaaacct aagcagctgg aaggaaacct ggccaactgt  
 121 gagcgtaact tcattgcat caaacagat ggggtccagc ggggtcttgt gggagagatt  
 181 atcaagcgtt ttgagcagaa aggattccgc cttgttggtc tgaaattcat gcaagcttcc  
 241 gaagatcttc tcaaggaaca ctacgttgac ctgaaggacc gtccattctt tgccggcctg  
 301 gtgaaataca tgactcagg gccggtagtt gccatggtct gggaggggct gaatgtggtg  
 361 aagacgggcc gactcatgct cggggagacc aaccctgcag actccaagcc tgggaccatc  
 421 cgtggagact tctgcataca agttggcagg aacattatac atggcagtga ttctgtggag  
 481 agtgcagaga aggagatcgg cttgtggttt caccctgagg aactggtaga ttacacgagc  
 541 tgtgctcaga actggatcta tgaatgacag gagggcagac cacattgctt ttcacatcca

601 tttccctcc ttcccatggg cagaggacca ggctgttaga aatctagtta ttacaggaa  
 661 cttcatcata atttgaggg aagctcttg agctgtgagt tctccctgta cagtgttacc  
 721 atccccgacc atctgattaa aatgcttcct cccagcatag gattcattga gttggttact  
 781 tcatattgtt gcattgcttt ttttccttc t  
 //

ЛОКУС NM\_198175 (изоформа 1)  
 АК/трансляция="MVLLSTLGIVFQEGEPPISSCDTGTMANCERTFIAIKPDGVQRG  
 LVGEIIKRFEQKGFRLVGLKFMQASEDLLKEHYVDLKDPRFFAGLVKYMHS GPVAMV  
 WEGLNVVKTGRVMLGETNPADSKPGTIRGDFCIQVGRNIIHGSDSVESA EKEIGLWFH  
 PEELVDYTSCAQNWIYE

кДНК: 1 gcagaagcgt tccgtgcgtg caagtgcgtc gaaccacgtg ggtccccggc gcgtttcggg  
 61 tgctggcggc tgcagccgga gttcaaacct aagcagctgg aagggccctg tggctaggta  
 121 ccatagagtc tctacacagg actaagtcag cctggtgtgc aggggaggca gacacacaaa  
 181 cagaaaattg gactacagt ctaagatgct gtaagaagag gttactaaa ggacaggaa  
 241 atggggccaa gagatggtc tactgtctac tttaggatc gtctttcaag gcgaggggc  
 301 tcttatctca agctgtgata caggaacat ggccaactgt gagcgtacct tcattcgat  
 361 caaacagat ggggtccagc ggggtcttgt gggagagatt atcaagcgtt ttgagcagaa  
 421 aggattccgc cttgttggtc tgaattcat gcaagcttc gaagatcttc tcaaggaa  
 481 ctacgttgac ctgaaggacc gtccattctt tgccggcctg gtgaaataca tgactcagg  
 541 gccggtagtt gccatggtc gggaggggct gaatgtggtg aagacgggccc gactcatgct  
 601 cggggagacc aaccctgcag actccaagcc tgggaccatc cgtggagact tctgcataca  
 661 agttggcagg aacattatac atggcagtga ttctgtggag agtcgacaga aggagatcgg  
 721 cttgtggttt caccctgagg aactggtaga ttacacgagc tgtgctcaga actggatcta  
 781 tgaatgacag gagggcagac cacattgctt ttacatcca tttccctcc tcccatggg  
 841 cagaggacca ggctgttaga aatctagtta ttacaggaa cttcatcata atttgagggg  
 901 aagctcttg agctgtgagt tctccctgta cagtgttacc atccccgacc atctgattaa  
 961 aatgcttcct cccagcatag gattcattga gttggttact tcatattgtt gcattgcttt  
 1021 ttttccttc t

//  
 22. NME2: NME2 NME/NM23 нуклеозид дифосфаткиназа 2 [ Homo sapiens ]  
 ЛОКУС NM\_001018137 (изоформа а вариант 2)  
 АК/трансляция="MANLERTFIAIKPDGVQRLVGEIIKRFEQKGFRLVAMKFLRAS  
 EHLKQHYIDLKDRPFFGLVKYMN SGPVAMVWEGLNVVKTGRVMLGETNPADSKPG  
 TIRGDFCIQVGRNIIHGSDSVKSAEKEISLWFKPEELVDYKSCAHDWVYE

кДНК: 1 atctcagggc agtaccactg ctgtgcggct gtcagtcagt gctgcaggcg ccgagaggag  
 61 gggcttgtga cgcgccagg gaagctgggc atcaccaaag ggagcttgtt tgccagggac  
 121 actgcaagta ggaagtgtct acaggtcgat gacaggccta atctctatga cagggtctag  
 181 actttcctca ggtccaggg gcgcacctca gggggaactg gaaaactcga ccgcacttta  
 241 gtgccaggac catggccaac ctggagcgca cttcatcgc catcaagccg gacggcgtgc  
 301 agcgcggcct ggtgggcgag atcatcaagc gcttcgagca gaagggattc cgcctcgtgg  
 361 ccatgaagtt cttccgggccc tctgaagaac acctgaagca gactacatt gacctgaaag  
 421 accgaccatt cttccctggg ctggtgaagt acatgaactc agggccggtt gtggccatgg  
 481 tctgggaggg gctgaacgtg gtgaagacag gccgagtgat gcttggggag accaatccag  
 541 cagattcaaa gccaggcacc attcgtggg acttctgcat tcagggtggc aggaacatca  
 601 ttcattggcag tgattcagta aaaagtgtg aaaaagaaat cagcctatgg tttaagcctg  
 661 aagaactggt tgactacaag tctgtgctc atgactgggt ctatgaataa gaggtggaca  
 721 caacagcagt ctccttcagc acggcgtgg gtgtccctgg acacagctct tcattccatt  
 781 gacttagagg caacaggatt gatcattctt ttatagagca tatttgccaa taaagctttt  
 841 ggaagccgga aaaaaaaaa aaaaaaa

//  
 ЛОКУС NM\_001018138 (изоформа а вариант 3)  
 АК/трансляция="MANLERTFIAIKPDGVQRLVGEIIKRFEQKGFRLVAMKFLRAS  
 EHLKQHYIDLKDRPFFGLVKYMN SGPVAMVWEGLNVVKTGRVMLGETNPADSKPG  
 TIRGDFCIQVGRNIIHGSDSVKSAEKEISLWFKPEELVDYKSCAHDWVYE

кДНК: 1 gcggccgcgc gtgggtgggg aggaggacc ggccggcccc acgtggcctc cgcggggccc  
 61 gccagagcct gcgccgggc cctgaccgca cctctcgccc cgcaggacca tggccaacct

```

121 ggagcgccacc ttcacgcgcca tcaagccgga cggcgtgcag cgcggcctgg tgggcgagat
181 catcaagcgc ttcgagcaga agggattccg cctcgtggcc atgaagttcc tccgggcctc
241 tgaagaacac ctgaagcagc actacattga cctgaaagac cgaccattct tccctgggct
301 ggtgaagtac atgaactcag ggccggttgt ggccatggtc tgggaggggc tgaacgtggt
361 gaagacaggc cgagtgatgc ttggggagac caatccagca gattcaaagc caggcaccat
421 tcgtggggac tcttcgcatc aggttggcag gaacatcatt catggcagtg attcagtaaa
481 aagtgcctgaa aaagaaatca gcctatgggt taagcctgaa gaactgggtg actacaagtc
541 ttgtgctcat gactgggtct atgaataaga ggtggacaca acagcagtc ccttcagcac
601 ggcgtggtgt gtccctggac acagctcttc attccattga cttagaggca acaggattga
661 tcattctttt atagagcata tttgccataa aagcttttgg aagccgga aa aaaaaaaaaa
721 aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaa

```

//

ЛОКУС NM\_001018139 (изоформа а вариант 4)  
 АК/ трансляция="MANLERTFIAIKPDGVQRLVGEIIKRFEQKGFRLVAMKFLRAS  
 EEHLKQHYIDLKDRPFFPGLVKYMNSGPVVAMVWEGLNVVKTGRVMLGETNPADSKPG  
 TIRGDFCIQVGRNIIHGSDSVKSAEKEISLWFKPEELVDYKSCAHDWVYE

кДНК: 1 aggcgggtggg ggcgcacccc ctggcgactc ctcccgttcc ctcttcgctc tgcgctgccg  
 61 caggaccatg gccaacctgg agcgacaccc catcgccatc aagccggagc gcgtgcagcg  
 121 cggcctgggt ggcgagatca tcaagcgctt cgagcagaag ggattccgcc tcgtggccat  
 181 gaagttcctc cgggcctctg aagaacaccc gaagcagcac tacattgacc tgaagagacc  
 241 accattcttc cctgggctgg tgaagtacat gaactcaggg ccggttggtg ccatggtctg  
 301 ggaggggctg aacgtgggtg agacaggccg agtgatgctt ggggagacca atccagcaga  
 361 ttcaaagcca ggcaccattc gtggggactt ctgcattcag gttggcagga acatcattca  
 421 ttgcagtgat tcagtaaaaa gtgctgaaaa agaaatcagc ctatggttta agcctgaaga  
 481 actggttgac tacaagtctt gtgctcatga ctgggtctat gaataagagg tggacacaac  
 541 agcagtctcc ttcagcacgg cgtggtgtgt ccctggacac agctcttcat tccattgact  
 601 tagaggcaac aggattgatc attcttttat agagcatatt tgccaataaa gcttttggaa  
 661 gccggaaaaa aaaaaaaaaa aa  
 //

ЛОКУС NM\_001198682 (изоформа b вариант 5)  
 АК/ трансляция="MANLERTFIAIKPDGVQRLVGEIIKRFEQKGFRLVAMKFLRAS  
 EEHLKQHYIDLKDRPFFPGLVKYMNSGPVVAMEHHSWQ

кДНК: 1 tgccctggcga ggcgcgcccc cggctgggcg tggacactgt tctccggccg cgtcgggccg  
 61 ggcgggtggg gcgttcctgc gggttgggcg gctgggccct ccggggtgtg gccaccccg  
 121 gctccgccct gcgcccctcc tccgcgcgcg gctcccggt gtggtggtcg caccagctct  
 181 ctgctctccc agcgcagcgc cgcgcgcccg cccctccagc ttcccggaac atggccaacc  
 241 tggagcgcac cttcatcgcc atcaagccgg acggcgtgca gcgcggcctg gtggcgagaga  
 301 tcatcaagcg cttcgagcag aagggaattc gcctcgtggc catgaagttc ctccgggcct  
 361 ctgaagaaca cctgaagcag cactacattg acctgaaaga ccgaccattc ttccctgggc  
 421 tggtagaagta catgaactca gggcgggttg tggccatgga acatcattca tggcagtgat  
 481 tcagtaaaaa gtgctgaaaa agaaatcagc ctatggttta agcctgaaga actggttgac  
 541 tacaagtctt gtgctcatga ctgggtctat gaataagagg tggacacaac agcagtctcc  
 601 ttcagcacgg cgtggtgtgt ccctggacac agctcttcat tccattgact tagaggcaac  
 661 aggattgatc attcttttat agagcatatt tgccaataaa gcttttggaa gccggaaaaa  
 721 aaaaaaaaaa aaa

//

ЛОКУС NM\_002512 (изоформа а вариант 1)  
 АК/ трансляция="MANLERTFIAIKPDGVQRLVGEIIKRFEQKGFRLVAMKFLRAS  
 EEHLKQHYIDLKDRPFFPGLVKYMNSGPVVAMVWEGLNVVKTGRVMLGETNPADSKPG  
 TIRGDFCIQVGRNIIHGSDSVKSAEKEISLWFKPEELVDYKSCAHDWVYE

кДНК: 1 tgccctggcga ggcgcgcccc cggctgggcg tggacactgt tctccggccg cgtcgggccg  
 61 ggcgggtggg gcgttcctgc gggttgggcg gctgggccct ccggggtgtg gccaccccg  
 121 gctccgccct gcgcccctcc tccgcgcgcg gctcccggt gtggtggtcg caccagctct  
 181 ctgctctccc agcgcagcgc cgcgcgcccg cccctccagc ttcccggaac atggccaacc  
 241 tggagcgcac cttcatcgcc atcaagccgg acggcgtgca gcgcggcctg gtggcgagaga  
 301 tcatcaagcg cttcgagcag aagggaattc gcctcgtggc catgaagttc ctccgggcct

361 ctgaagaaca cctgaagcag cactacattg acctgaaaga ccgaccattc ttccctgggc  
 421 tgggtgaagta catgaactca gggccggttg tggccatggt ctgggagggg ctgaacgtgg  
 481 tgaagacagg ccgagtgatg cttggggaga ccaatccagc agattcaaag ccaggcacca  
 541 ttcgtgggga cttctgcatt caggttggca ggaacatcat tcatggcagt gattcagtaa  
 601 aaagtgtctga aaaagaaatc agcctatggt ttaagcctga agaactggtt gactacaagt  
 661 cttgtgtctca tgactgggtc tatgaataag aggtggacac aacagcagtc tccttcagca  
 721 cggcgtgggtg tgtccctgga cacagctctt cattccattg acttagaggc aacaggattg  
 781 atcattcttt tatagagcat atttgccaat aaagcttttg gaagccggaa aaaaaaaaaa  
 841 aaaaaa

//

23. PGK1: PGK1 фосфоглицерат-киназа 1 [ Homo sapiens ]  
 ЛОКУС NM\_000291  
 АК/трансляция="MSLSNKLTLDKLDVKGRVVMRVDENVPMKNNQITNNQRIKAAV  
 PSIKFCLDNGAKSVVLSHSLGRPDGVMPDKYSLEPVAVELKSLGKDVLFKDCVGP  
 EVEKACANPAAGSVILLENLRFHVVEEGKGKDASGNKVKAEPKIEAFRASLSKLGDV  
 YVNDAFGTAHRAHSSMVGVNLPQKAGGFLMKKELNYFAKALES PERPFLAILGGAKVA  
 DKIQLINNMLDKVNEMIIGGMAFTFLKVLNNMEIGTSLFDEEGAKIVKDLMSKAENK  
 GVKITLPVDFVTADKFDENAKTGQATVASGIPAGWMGLDCGPESKKYAEAVTRAKQI  
 VVNGPVGVFWEAFARGTKALMDEVVKATSRGCITIIIGGDTATCCAKWNTEKDVSHV  
 STGGGASLELLEGGKVLPGVDALSN

кДНК: 1 gagagcagcg gccgggaagg ggcggtgcgg gaggcggggt gtggggcggt agtgtgggccc  
 61 ctgttctctgc ccgcgcggtg ttccgcattc tgcaagcctc cggagcgcac gtcggcagtc  
 121 ggctccctcg ttgaccgaat caccgacctc tctccccagc tgtatttcca aaatgtcgct  
 181 ttctaacaag ctgacgctgg acaagctgga cgtaaaggg aagcgggtcg ttatgagagt  
 241 cgacttcaat gtccctatga agaacaacca gataacaaac aaccagaggga ttaaggctgc  
 301 tgtcccaagc atcaaatctt gcttggacaa tggagccaag tcggtagtcc ttatgagcca  
 361 cctagggcgg cctgatgggtg tgcccatgcc tgacaagtac tccttagagc cagttgctgt  
 421 agaactcaaa tctctgctgg gcaaggatgt tctgttcttg aaggactgtg tagggccaga  
 481 agtgagaaaa gcctgtgcca acccagctgc tgggtctgtc atcctgctgg agaacctccg  
 541 ctttcatgtg gaggaagaag ggaagggaaa agatgcttct ggaacaagg ttaaaagccga  
 601 gccagccaaa atagaagctt tccgagcttc actttccaag ctaggggatg tctatgtcaa  
 661 tgatgtcttt ggcatgctc acagagccca cagctccatg gtaggagtca atctgccaca  
 721 gaaggctggt gggtttttga tgaagaagg gctgaactac ttgcaaagg ccttgagag  
 781 ccagagcga cccttcctgg ccctcctgg cggagctaaa gttgcagaca agatccagct  
 841 catcaataat atgctggaca aagtcaatga gatgattatt ggtggtggaa tggcttttac  
 901 cttccttaag gtgctcaaca acatggagat tggcacttct ctgtttgatg aagagggagc  
 961 caagattgtc aaagacctaa tgtccaaagc tgagaagaat ggtgtgaaga ttaccttgcc  
 1021 tgttgacttt gtcactgctg acaagtttga tgagaatgcc aagactggcc aagccactgt  
 1081 ggcttctggc atacctgtg gctggatggg cttggactgt ggtcctgaaa gcagcaagaa  
 1141 gtatgctgag gctgtcactc gggctaagca gattgtgtg aatggctcctg tgggggtatt  
 1201 tgaatgggaa gcttttggcc ggggaacca aagctctcatg gatgaggttg tgaaagccac  
 1261 ttctaggggc tgcataacca tcataggtgg tggagacact gccacttgct gtgccaaatg  
 1321 gaacacggag gataaagtca gccatgtgag cactgggggt ggtgccagt ttgagctcct  
 1381 ggaaggtaaa gtccttctcg ggggtgatgc tctcagcaat atttagtact ttctgcctt  
 1441 ttagtctctg tgcacagccc ctaagtcaac ttagcatttt ctgcatctcc acttggcatt  
 1501 agctaaaacc ttccatgtca agattcagct agtggccaag agatgcagt ccaggaaccc  
 1561 ttaaacagtt gcacagcatc tcagctcatc ttactgcac cctggatttg catacattct  
 1621 tcaagatccc atttgaattt tttagtgact aaaccattgt gcattctaga gtgcataat  
 1681 ttataatttg cctgttaaaa agaaagtgag cagtgttagc ttagttctct tttgatgtag  
 1741 gttattatga tttagcttct cactgtttca ctactcagca tggaaacaag atgaaattcc  
 1801 atttgtaggt agtgagacaa aattgatgat ccattaagta aacaataaaa gtgtccattg  
 1861 aaaccgtgat tttttttttt ttctgtcat actttgttag gaagggtgag aatagaatct  
 1921 tgagggaacgg atcagatgtc tatattgctg aatgcaagaa gtggggcagc agcagtgag  
 1981 agatgggaca attagataaa tgtccattct ttatcaagg cctactttat ggcagacatt  
 2041 gtgctagtgc tttttattct acttttattt ttatcagtta cacatgatca taatttaaaa  
 2101 agtcaaggct tataacaaaa aagccccagc ccattcctcc cattcaagat tcccactccc  
 2161 cagaggtgac cactttcaac tcttgagttt ttcaggata tacctccatg tttctaagta  
 2221 atatgcttat attgttcact tctttttttt ttatttttta aagaaatcta tttcatacca  
 2281 tggagggaagg ctctgttcca catatatttc cacttcttca ttctctcggt atagttttgt

2341 cacaattata gattagatca aaagtctaca taactaatac agctgagcta tgtagtatgc  
 2401 tatgattaaa ttacttatg taataaaaaa aaaaaaaa

//

24. PGK2: PGK2 фосфоглицерат-киназа 2 [ Homo sapiens ]  
 ЛОКУС NM\_138733

AK/трансляция="MSLSKKLTLDKLDVRGKRVIMRVDFNVPKKNQITNNQRIKASI  
 PSIKYCLDNGAKAVVLMShLGRPDGVPMDDKYS LAPVAVELKSLLGKDVLFKDCVGA  
 EVEKACANPAPGSVILLENLRFHVEEEGKGQDPGKIKAEFDKIEAFRASLSKLGDV  
 YVNDAFGTAHRAHSSMVGVNLP HKASGFLMKKELDYFAKALENPVRPFLAILGGAKVA  
 DKIQLIKMLDKVNEMIIGGGMAYTFLKVLNNMEIGASLFDEEGAKIVKDIMAKAQKN  
 GVRITFPVDFVTGDKFDENAQVGKATVASGISPGWMGLDCGPESNKNHAQVVAQARLI  
 VWNGLGVFEWDAFAKGT KALMDEIVKATSKGCITVIGGGDTATCCAKWNTEDKVS HV  
 STGGGASLELLEGGKILPGVEALS NM

кДНК: 1 aacagtggcc gttgtgctgg agacagtggc gagaagaaag gggcgggaca agggcaaagg  
 61 cgtagaagt caccaccgac ccagcccctc aacagcaagt tggttcttca gcattaagat  
 121 ccaggtgtca gcctatgtct ttatatgttc aagatgtctc tttctaagaa gttgacttta  
 181 gacaaactgg atgttagagg gaagcagatc atcatgagag tagacttcaa tgttcccatg  
 241 aagaagaacc agattacaaa caaccagagg atcaaggctt ccatcccaag catcaagtac  
 301 ggcttgaca atggagccaa ggcagtagtt cttatgagtc atctaggctg gcctgatggt  
 361 gttcccatgc ctgacaaaata ttccttagca cctgttgctg ttgagctcaa atccttgctg  
 421 gccaaggatg ttctgttctc gaaggactgt gtaggcgcag aagtggagaa agcctgtgac  
 481 aaccagctc ctggttcagt catcctgctg gagaacctgc gctttcatgt ggaggaagaa  
 541 ggaagggcc aagatccctc tggaaagaag attaaagctg agccagataa aatagaagcc  
 601 ttcgagcat cactttccaa gctaggggac gtctatgtca atgatgctt tggcactgca  
 661 caccgcgctc atagttccat ggtgggagtg aatctgcccc ataaagcatc cggattcttg  
 721 atgaagaagg aactagatta ctttgctaaa gccttgaaa acccagtgag accctttctg  
 781 gctatacttg gtggagccaa agtggcagac aagatccaac ttatcaaaaa tatgtggac  
 841 aaagtcaatg agatgattat tgggtggtga atggcttata ccttccctaa ggtactcaac  
 901 aacatggaga ttggtgcttc cctgtttgat gaagagggag ccaagatcgt taaagatatc  
 961 atggccaaa gacaaaagaa tgggtgtaagg attacttttc ctgttgattt tgttactggg  
 1021 gacaagtttg acgagaacgc tcaggttgga aaagccactg tagcatctgg catatctcct  
 1081 ggctggatgg gtttgactg tggctctgag agcaacaaga atcatgctca agttgtggct  
 1141 caagcaaggc taattggttg gaatgggccc ttaggagtat ttgaatggga tgcctttgct  
 1201 aagggaaacca aagccctcat ggaatgaaat gtgaaagcca cttccaaggg ctgcatcact  
 1261 gttatagggg gtggagacac tgctacttgc tgtgcccatt ggaacactga agataaagtc  
 1321 agccatgtca gcactggagg cgtgcccagt ctgagcttcc tggaaaggtaa aatccttccct  
 1381 ggagtagagg ccctcagcaa catgtagtta atatagtggt acttccctct gttttctgtc  
 1441 catggccctt aagtcagctt aatgctttta catctcgatg tgacttttgt taaaatctac  
 1501 tcctagatca agacctatgt aatggacaag cagcaggcca tcaggaaactc ttaatatcag  
 1561 cacagcaatt cattttagtt tggtcacgca tttgcctggt caagttctca tttgaacttc  
 1621 accattgtgc tatctaggga ggacatatc ttaagttgcc tattaaagaa agtgagctga  
 1681 agaaactgaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa a

//

25. RAB7A: RAB7A RAB7A, представитель семейства онкогенов RAS [ Homo sapiens ]

ЛОКУС NM\_004637

AK/трансляция="MTRKKVLLKVII LGDSGVGKTS LMNQYVNKKFSNQYKATIGAD  
 FLTKEVMVDDRLVTMQIWDTAGQERFQSLGVAFYRGADCCVLVFDVTAPNTEFKTLD SW  
 RDEFLIQASPRDPENFPFVVLGNKIDLENRQVATKRAQAWCYSKNNIPYFETSAKEAI  
 NVEQAFQTIARNALKQETEVELYNEFPPEIKLDKNDRAKASAES CSC

кДНК: 1 acttccgctc gggcgggcgg cgggtggcga agtgggagcg ggcctggagt cttggccata  
 61 aagcctgagg cggcgggcag gccggagttg gcggcttgga gagctcgga gagttccctg  
 121 gaaccagaac ttggaccttc tcgcttctgt cctccgttta gtctcctcct cggcgggagc  
 181 cctcgcgacg cggcgggccc ggagccccc ggcagcggc cgcgtttgaa ggaatgacctc  
 241 taggaagaaa gtgttgctga aggttatcat cctgggagat tctggagtcg ggaagacatc  
 301 actcatgaac cagtatgtga ataagaaatt cagcaatcag taaaaagcca caataggagc  
 361 tgactttctg accaaggagg tgatgggtga tgacaggcta gtcacaatgc agatatggga

```

421 cacagcagga caggaacggt tccagtctct cgggtgtggcc ttctacagag gtgcagactg
481 ctgcggtctg gtatttgatg tgactgcccc caacacattc aaaaccctag atagctggag
541 agatgagttt ctcatccagg ccagtcctcg agatcctgaa aacttcccat ttgttggtgt
601 gggaacaag attgacctcg aaaacagaca agtggccaca aagcgggac aggcctggtg
661 ctacagcaaa aacaacattc cctactttga gaccagtgcc aaggaggcca tcaacgtgga
721 gcaggcggttc cagacgattg cacggaatgc acttaagcag gaaacggagg tggagctgta
781 caacgaattt cctgaacctc tcaaaactgga caagaatgac cggggccaagg cctcggcaga
841 aagctgcagt tgctgagggg gcagtgcagag ttgagcacag agtccttcac aaaccaagaa
901 cacacgtagg ccttcaacac aattccccctc tcctcttcca aaaaaacat acattgatct
961 ctcacatcca gctgccaata gaaaacccca tcaaacacag ttacacccca catatctctc
1021 acacacacac acacacgcac acacacacac acagatctga cgtaatcaaa ctccagccct
1081 tgcccgtgat ggctccttgg ggtctgcctg cccaccaca tgagcccgag agtatggcag
1141 caggacaagc cagcgggtgga agtcattctg atatggagtt ggcatggaa gcttattctt
1201 tttgttcaact ggagagagag agaactgttt acagttaatc tgtgtcaat tatctgattt
1261 tttttattgg tcttgtggtc tttttacccc cctttcccc tccctccttg aaggctaccc
1321 cttgggaagg ctgggtgccc atgcccatt acaggctcac accagctga atcaggctga
1381 gttttgtatg tatctatctg ttaatgcttg ttacttttaa ctaatcagat ctttttacag
1441 tatccattta ttatgtaatg cttcttagaa aagaatctta tagtacatgt taatatatgc
1501 aaccaattaa aatgtataaa ttagtgtaag aaattccttg attatgtgt taagtcctgt
1561 aatgcaggcc tgaaggtgg aggggtgaac cctgtttgga ttgcagagtg ttactcagaa
1621 ttgggaaatc cagctagcgg cagtattctg tacagttagc acaagaatta tgtacgcctt
1681 ttatcaaaga cttaagagcc aaaaagcttt tcctctctcc agggggaaaa ctgtctagtt
1741 ccttctctgt tctaaatttt ccaaaacggt gatttgcata atacagtgg atgtgcaatg
1801 gataaattgc cgttatttca aaaattaaaa ttctcatttt ctttcttttt tttccccct
1861 gctccacact tcaaaactcc cgttagatca gcattctact acaagagtga aaggaaaaac
1921 ctaacagatc tgtcctagtg attttacctt tgttctagaa ggcgctcctt tcagggttgt
1981 ggtattctta ggttagcgga gcttttctc cttttcccca cccatctccc caatattgcc
2041 cattattaat taacctcttt ctttggttgg aacctgggca gttctgctcc cttcctagga
2101 tctgcccctg cattgtagct tgcttaacgg agcacttctc ctttttccaa aggtctacat
2161 tctaggggtg gggctgagtt cttctgtaaa gagatgaacg caatgccaat aaaattgaac
2221 aagaacaatg ataaaaaaaa
//

```

26. RPL17: RPL17 рибосомальный белок L17 [ Homo sapiens ]  
 ЛОКУС NM\_000985 (изоформа А вариант 1)  
 АК/трансляция="MVRYSLDPENPTKCKSRGNSLRVHFKNTRETAQAIKGMHIRKA  
 TKYLKDVTLQKQCVPRRYNGGVGRCAQAKQWGTQGRWPKKSAEFLHMLKNAESNA  
 ELKGLDVDSLVI EHIQVNKAPKMRRTYRAHGRINPYMSSPCHIEMI L TEKEQIVPKP  
 EEEVAQKKKISQKKLKKQKLMARE

```

кДНК: 1 cctgcctcct cagatctcgt ttcttcgggt acgaatctcg cgagaagtca agttctcatg
61 agttctccca aaatccaccg ctcttcctct tcccctaagc agcctgaggg ttgactggat
121 tggtagggcc cgtgtggcta cttctgtgga agcagtgcct tagttactgg aagataaaag
181 ggaaagcaag cccttgggtg gggaaagtat ggctgcgatg atggcatttc ttaggacacc
241 tttggattaa taatgaaaac aactactctc tgagcagctg ttcgaatcat ctgatattta
301 tactgaatga gttactgtaa gtacgtattg acagaattac actgtacttt cctctaggtg
361 atctgtgaaa atggttcgct attcacttga cccggagaac cccacgaaat catgcaaatc
421 aagaggttcc aatcttcgtg ttacttttaa gaacactcgt gaaactgctc aggccatcaa
481 gggtagcatg atacgaaaag ccacgaagta tctgaaagat gtcactttac agaaacagtg
541 tgtaccattc cgacgttaca atgggtggagt tggcaggtgt gcgcaggcca agcaatgggg
601 ctggacacaa ggtcggtggc ccaaaaagag tgctgaattt ttgctgcaca tgcctaaaaa
661 cgcagagagt aatgctgaac ttaaggggtt agatgtagat tctctggtca ttgagcatat
721 ccaagtgaac aaagcaccta agatgcgccg ccggacctac agagctcatg gtcggattaa
781 cccatacatg agctctccct gccacattga gatgatcctt acggaaaaag aacagattgt
841 tcctaaacca gaagaggagg ttgccagaa gaaaaagata tcccagaaga aactgaagaa
901 acaaaaaact atggcacggg agtaaatcca gcattaaaaa aaatgtaatt aaaaggaaaa
961 gaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaa
//

```

//  
 ЛОКУС NM\_001035006 (изоформа а вариант 2)  
 АК/трансляция="MVRYSLDPENPTKCKSRGNSLRVHFKNTRETAQAIKGMHIRKA

TKYLKDVTLQKQCVFRRYNGGVGRCAQAKQWGTQGRWPKKSAEFLHMLKNAESNA  
ELKGLDVDSLVIIEHIQVNKAPKMRRTYRAHGRINPYMSSPCHIEMIITEKEQIVPKP  
EEEVAQKKKISQKKLKKQKLMARE

кДНК: 1 cctgcctcct cagatctcgt ttcttcggct acgaatctcg cgagaagtca agttctcatg  
61 agttctccca aaatccaccg ctcttcctct ttccctaagc agcctgaggt gatctgtgaa  
121 aatggttcgc tattcacttg acccgagaa cccacgaaa tcatgcaaat caagaggttc  
181 caatcttcgt gttcacttta agaacactcg tgaactgct caggccatca agggatgca  
241 tatacgaaaa gccacgaagt atctgaaaga tgtcacttta cagaaacagt gtgtaccatt  
301 ccgacgttac aatggtggag ttggcagggtg tgcgcaggcc aagcaatggg gctggacaca  
361 aggtcgggtg cccaaaaaga gtgctgaatt tttgctgcac atgcttaaaa acgcagagag  
421 taatgctgaa ctttaagggt tagatgtaga ttctctggtc attgagcata tccaagtga  
481 caaagcacct aagatgccc gccggacct cagagctcat ggtcggatta acccatacat  
541 gagctctccc tgccacattg agatgatcct tacggaaaag gaacagattg ttccataaac  
601 agaagaggag gttgcccaga agaaaaagat atcccagaag aaactgaaga acaaaaaact  
661 tatggcacgg gagtaaatc agcatataaa taaatgtaat taaaaggaaa agaaaaaaa  
721 aaaaaaaaaa aaaaaa  
//

ЛОКУС NM\_001199340 (изоформа а вариант 3)  
АК/ трансляция="MVRYSLDPENPTKCKSRGSLRVHFKNTRETAQAIKGMHIRKA  
TKYLKDVTLQKQCVFRRYNGGVGRCAQAKQWGTQGRWPKKSAEFLHMLKNAESNA  
ELKGLDVDSLVIIEHIQVNKAPKMRRTYRAHGRINPYMSSPCHIEMIITEKEQIVPKP  
EEEVAQKKKISQKKLKKQKLMARE

кДНК: 1 cctgcctcct cagatctcgt ttcttcggct acgaatctcg cgagaagtca agttctcatg  
61 agttctccca aaatccaccg ctcttcctct ttccctaagc agcctgaggg ttgactggat  
121 tggtagaggcc cgtgtggcta ctctgtgga agcagtgtg tagttactgg aagataaaag  
181 ggaagcaag cccttgggtg ggaagtgta tctgtgaaa tggttcgtca ttcaactgac  
241 ccggagaacc ccacgaaatc atgcaaatca agaggttcca atcttcgtgt tcactttaag  
301 aacactcgtg aaactgctca ggccatcaag ggtatgcata tacgaaaagc cacgaagtat  
361 ctgaaagatg tcactttaca gaaacagtgt gtaccattcc gacgttaca tggtggagtt  
421 ggcagggtg cgcaggcca gcaatggggc tggacacaag gtcggtggcc caaaaagagt  
481 gctgaatttt tgctgcacat gcttaaaaa gcaagagta atgctgaact taagggttta  
541 gatgtagatt ctctggtcat tgagcatatc caagtgaaca aagcacctaa gatgcgccgc  
601 ccgacctaca gagctcatg tcgattaac ccatacatga gctctccctg ccacattgag  
661 atgatcctta cggaaaagg aagatttgtt cctaaaccag aagaggagggt tgcacagaag  
721 aaaaagatat ccagaagaa actgaagaaa caaaaactta tggcacggga gtaaatcag  
781 cattaataa aatgtaatta aaaggaaaag aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaa  
//

ЛОКУС NM\_001199341 (изоформа а вариант 4)  
АК/ трансляция="MVRYSLDPENPTKCKSRGSLRVHFKNTRETAQAIKGMHIRKA  
TKYLKDVTLQKQCVFRRYNGGVGRCAQAKQWGTQGRWPKKSAEFLHMLKNAESNA  
ELKGLDVDSLVIIEHIQVNKAPKMRRTYRAHGRINPYMSSPCHIEMIITEKEQIVPKP  
EEEVAQKKKISQKKLKKQKLMARE

кДНК: 1 gcctgagggtg agtgtttctc ctgctgtgct ccgagggccc aatcctcctg ccatcgccgc  
61 catcctggct tcggggggcg cgcctccag gccccggga ggagaactcc tagggctact  
121 aaatcctcgc tggaggcggg gcttcttat gcgaggagg gtggcgagg gcctgacttt  
181 gggagccggg gtcagtcggc ctctgagggt atctgtgaaa atggttcgct attcacttga  
241 cccggagaa cccacgaaat catgcaaatc aagaggttcc aatcctcgtg ttcaacttaa  
301 gaacactcgt gaaactgctc aggcattcaa ggtatgcat atacgaaaag ccacgaagta  
361 tctgaaagat gtcactttac agaaacagt tgtaccattc cgacgttaca atggtggagt  
421 tggcagggtg ggcaggcca agcaatggg ctggacaca ggtcgggtgg ccaaaaagag  
481 tgctgaattt ttgctgcaca tgcttaaaaa cgcagagagt aatgctgaac ttaagggttt  
541 agatgtagat tctctggtca ttgagcata ccaagtgaac aaagcaccta agatgcgccg  
601 ccggacctac agagctcatg gtcggattaa ccatacatg agctctccct gccacattga  
661 gatgatcctt acggaagagg aacagattgt tcctaaacca gaagaggagg ttgccagaa  
721 aaaaagata tcccagaaga aactgaagaa acaaaaactt atggcacggg agtaattca  
781 gcattaaaaat aatgtaattt aaaaggaaaa gaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaa  
//

//

ЛОКУС NM\_001199342 (изоформа А вариант 5)  
 АК/ трансляция="MVRYSLDPENPTKSKSRGSNLRVHFKNTRETAQAIKGMHIRKA  
 TKYLLKDVTLQKQCVPRRYNGGVGRCAQAKQWGTQGRWPKKSAEFLHMLKNAESNA  
 ELKGLDVSLSVIEHIVNKA PKMRRRTYRAHGRINPYMSSPCHIEMILTEKEQIVPKP  
 EEEVAQKKKISQKLLKQKLMARE

кДНК: 1 gcctgaggtg agtgtttctc ctgcgttgct ccgagggccc aatcctcctg ccatcgccgc  
 61 catcctggct tcggggggcg cgccctccag gcccccgga ggagaactcc tagggctact  
 121 aaatcctcgc tggaggcggt ggcttcttat gcgggaggac gtggcgagg gcctgacttt  
 181 gggagccggg gtcagtcggc ctctgagggt tgactggatt ggtgaggccc gtgtggctac  
 241 ttcctgtgaa gcagtgtgt agttactgga agataaaagg gaaagcaagc ccttggtggg  
 301 ggaaagtgat ctgtgaaaat ggttcgctat tcacttgacc cggagaacct caccgaaatca  
 361 tgcaaatcaa gagggttcaa tcttcgtgtt cactttaaga aactcgtga aactgctcag  
 421 gccatcaagg gtatgcatat acgaaaagcc acgaagtatc tgaaagatgt cactttacag  
 481 aaacagtgtg taccattccg acgttacaat ggtggagttg gcagggtgtc gcaggccaag  
 541 caatggggct ggacacaagg tcggtggccc aaaaagagtg ctgaattttt gctgcacatg  
 601 cttaaaaacg cagagagtaa tgctgaactt aagggtttag atgtagattc tctggtcatt  
 661 gagcataacc aagtgaacaa agcacctaag atgcgcccgc ggacctacag agctcatggt  
 721 cggatttaac catacatgag ctctccctgc cacattgaga tgatccttac ggaaaaggaa  
 781 cagattgttc ctaaaaccaga agaggaggtt gcccagaaga aaaagatatc ccagaagaaa  
 841 ctgaagaaac aaaaacttat ggacgggag taaattcagc attaaaataa atgtaattaa  
 901 aaggaaaaga aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaa  
 //

ЛОКУС NM\_001199343 (изоформа а вариант 6)  
 АК/ трансляция="MVRYSLDPENPTKSKSRGSNLRVHFKNTRETAQAIKGMHIRKA  
 TKYLLKDVTLQKQCVPRRYNGGVGRCAQAKQWGTQGRWPKKSAEFLHMLKNAESNA  
 ELKGLDVSLSVIEHIVNKA PKMRRRTYRAHGRINPYMSSPCHIEMILTEKEQIVPKP  
 EEEVAQKKKISQKLLKQKLMARE

кДНК: 1 gcctgaggtg agtgtttctc ctgcgttgct ccgagggccc aatcctcctg ccatcgccgc  
 61 catcctggct tcggggggcg cgccctccag gcccccgga ggagaactcc tagggctact  
 121 aaatcctcgc tggaggcggt ggcttcttat gcgggaggac gtggcgagg gcctgacttt  
 181 gggagccggg ggttgactgg attggtgagg cccgtgtggc tacttctgtg gaagcagtg  
 241 tgtagttact ggaagataaa agggaaagca agcccttggt gggggaaagt gatctgtgaa  
 301 aatggttcgc tattcacttg acccgagaaa cccacgaaa tcatgcaaat caagagggtt  
 361 caatcttctg gttcacttta agaactcgt tgaactgct caggccatca agggatgca  
 421 tatacgaaaa gccacgaagt atctgaaaga tgctacttta cagaacagt gtgtaccatt  
 481 ccgacgttac aatggtggag ttggcaggtg tgcgcaggcc aagcaatgg gctggacaca  
 541 aggtcgggtg cccaaaaaga gtgctgaatt tttgctgcac atgcttaaaa acgcagagag  
 601 taatgctgaa cttaagggtt tagatgtaga ttctctggtc attgagcata tccaagtga  
 661 caaagcacct aagatgcgcc gccggacct cagagctcat ggtcggatta acccatacat  
 721 gagctctccc tgccacattg agatgatcct tacggaaaag gaacagattg ttcctaaacc  
 781 agaagaggag gttgcccaga agaaaaagat atcccagaag aaactgaaga aacaaaaact  
 841 tatggcacgg gagtaaatc agcattaaaa taaatgtaat taaaaggaaa agaaaaaaa  
 901 aaaaaaaaaa aaaaaa

//

ЛОКУС NM\_001199344 (изоформа а вариант 7)  
 АК/ трансляция="MVRYSLDPENPTKSKSRGSNLRVHFKNTRETAQAIKGMHIRKA  
 TKYLLKDVTLQKQCVPRRYNGGVGRCAQAKQWGTQGRWPKKSAEFLHMLKNAESNA  
 ELKGLDVSLSVIEHIVNKA PKMRRRTYRAHGRINPYMSSPCHIEMILTEKEQIVPKP  
 EEEVAQKKKISQKLLKQKLMARE

кДНК: 1 gcctgaggtg agtgtttctc ctgcgttgct ccgagggccc aatcctcctg ccatcgccgc  
 61 catcctggct tcggggggcg cgccctccag gcccccgga ggagaactcc tagggctact  
 121 aaatcctcgc tggaggcggt ggcttcttat gcgggaggac gtggcgagg gcctgacttt  
 181 gggagccggg gtgactgtg aaaaagggtt gctattcact tgaccggag aacccacga  
 241 aatcatgcaa atcaagagg tccaatcttc gtgttcact taagaacact cgtgaaactg

```

301 ctcaggccat caagggtatg catatacgaa aagccacgaa gtatctgaaa gatgtcactt
361 tacagaaaca gtgtgtacca ttccgacgtt acaatggtgg agttggcagg tgtgcgagg
421 ccaagcaatg gggctggaca caaggctcgt ggcccaaaaa gagtgcctgaa tttttgctgc
481 acatgcttaa aaacgcagag agtaatgctg aacttaaggg tttagatgta gattctctgg
541 tcattgagca tatccaagtg aacaaagcac ctaagatgcg ccgcccggacc tacagagctc
601 atgggtcggat taaccctatac atgagctctc cctgccacat tgagatgatc cttacggaaa
661 aggaacagat tgttcctaaa ccagaagagg aggttgccca gaagaaaaag atatcccaga
721 agaaactgaa gaaacaaaaa cttatggcac gggagtaaat tcagcattaa aataaatgta
781 attaaaagga aaagaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa

```

//

ЛОКУС NM\_001199345 (изоформа b вариант 8)  
 АК/ трансляция="MHIRKATKYLKDVTLQKQCVFRRYNGGVGRCAQAKQWGTQGR  
 WPKKSAEFLHMLKNAESNAELKGLDVLVI EHIQVNKAPKMRRTYRAHGRINPYM  
 SSPCHIEMI L TEKEQIVKP EEEVAQKKKISQKKLKKQKLMARE

кДНК: 1 cctgcctcct cagatctcgt ttcttcggct acgaatctcg cgagaagtca agttctcatg  
 61 agttctccca aaatccaccg ctcttcctct ttccctaagc agcctgaggt gatctgtgaa  
 121 aatggttcgc tattcacttg acccgagaaa cccacgaaa taacactcgt gaaactgctc  
 181 aggccatcaa gggatgcat atacgaaaag ccacgaagta tctgaaagat gtcactttac  
 241 agaaacagtg tgtaccattc cgacgttaca atggtggagt tggcagggtg gcgcaggcca  
 301 agcaatgggg ctggacacaa ggtcgggtggc ccaaaaagag tgctgaattt ttgctgcaca  
 361 tgcttaaaaa cgagagagt aatgctgaac ttaaggggtt agatgtagat tctctggtca  
 421 ttgagcatat ccaagtgaac aaagcaccta agatgcgcgg ccggacctac agagctcatg  
 481 tgcggattaa cccatacatg agctctcctt gccacattga gatgatcctt acggaagga  
 541 aacagattgt tcctaaacca gaagaggagg ttgccagaa gaaaaagata tcccagaaga  
 601 aactgaagaa acaaaaactt atggcacggg agtaaattca gcattaaaat aatgtaatt  
 661 aaaaggaaaa gaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaa

//

27. RPL28: RPL28 рибосомальный белок L28 [ Homo sapiens ]  
 ЛОКУС NM\_000991 (изоформа 2)  
 АК/ трансляция="MSAHLQWMVVRNCSSFLIKRNKQTYSTEPNNLKARNsFRYNGLI  
 HRKTVGEPAADGKGVVVVVKRRSGQRKPATSYVRTTINKNARATLSSIRHMI RNKY  
 RPDLRMAAIRRASAILRSQKPMVKRKRTRPTKSS

кДНК: 1 ctctttccgt ctcaggctgc cgtgcgaag ggagccgcgg ccatgtctgc gcatctgcaa  
 61 tggatggctg tcggaactg ctccagtttc ctgatcaaga ggaataagca gacctacagc  
 121 actgagccca ataacttgaa gggcgcaat tccttcgcgt acaacggact gattcaccgc  
 181 aagactgtgg gcgtggagcc ggcagccgac ggcaaagggt tctgtggtgg cattaagcgg  
 241 agatccggcc agcgggaagcc tgccacctcc tatgtgcgga ccaccatcaa caagaatgct  
 301 cgcgccacgc tcagcagcat cagacacatg atccgcaaga acaagtaccg ccccgacctg  
 361 cgcattggcag ccatccgcag ggccagcgcc atcctgcgca gccagaagcc tgtgatggtg  
 421 aagaggaagc ggacccgccc caccaagagc tcctgagccc cctgccccca gagcaataaa  
 481 gtcagctggc tttctcacct gcctcgactg ggctccctt tttgaaacgc tctggggagc  
 541 tctggccctg tgtgttgtca ttcaggccat gtcataaaaa ctctgcatgt caccttgtec  
 601 atctggagggt gatgtcaatg gctggccatg caggaggggt ggggtagctg cctgtccct  
 661 ggtgagggca agggctcactg tcttcacaga aaaagtgttc tgacttgtga ttgagacct  
 721 ctgtccatt gtgaggtggc ctgaagaatc ccagctgggg cagtggcttc cattcagaag  
 781 aagaaaggcc ttttctagcc cagaagggtg caggctgagg gctgggccct gggccctggt  
 841 gctgtagcac ggtttgggga cttgggggtg tcccaagacc tgggggacga cagacatcac  
 901 gggaggaaga tgagatgact ttgcatcca gggagtgggt gcagccacat ttggagggga  
 961 tgggctttac ttgatgcaac ctcatctctg agatgggcaa cttgggtgggt ggtggcttat  
 1021 aactgtaagg gagatggcag cccagggta cagccagcag gcattgagca gccttagcat  
 1081 tgtcccccta ctcccgtcct ccaggtgtcc ccatccctcc cctgtctctt tgagctggct  
 1141 cttgtcactt aggtctcacc tcagtggccg ctcttgggcc accctgtcac ccaagctttc  
 1201 ctgattgccc agccctcttg tttccttttg cctgtttgct ccctagtgtt tattacagct  
 1261 tgtgagggca ggagtttgag accatcctag gcaacataat gagacaccgt ctctaaaata  
 1321 aaattagctg ggtgtggtgg tgaccgcct gtggtcccag ctctcagag gttgagtaga  
 1381 ggcagagggt agcggagcac ttgagccaag agtatgaggc tgcagtgagc ccatgagccc  
 1441 caccactaca ctccagcctg gaagacacca tgacacacag tgaggcctgg atggggaaag

```

1501 agtcctgctg ttgatcctca catgtttcct gggcacctaa ctctgtcagc cactgccagg
1561 gaccaaggat ccagcatcca tggcacccct ggttcctgcc atcctggggt acccgattca
1621 aagaaggact ctgctccctg tctgagacca ccccggctc tgactgagag taaggggact
1681 gtcagggcct cgacttgcca ttggttgggg tcgtacgggg ctgggagccc tgcgttttga
1741 ggagaccac tgccttccg acctcagtc tgtctgctcc agtcttgccc agctcgaagg
1801 agagcagatc tgaccacttg ccagcccttg tctgctgtga attaccattt cctttgtcct
1861 tcccttagtt gggctctatta gctcagattg agagggtgtt ccttaaaact gagttgggtg
1921 acttggtacc tgctcaggac ccccgccact gtccaatcc cactcaggcc cacctccagc
1981 tggcctcact ccgctggtga cttcgtacct gctcaggagc cccactgtc ccagtccac
2041 tcaggcccat ctctggctgg cctcactgcy ctgggactcc gccttcataa ggagagctca
2101 ctgctcacgt tagtagatgg ccccttctcg tgaggcctct cccctggcac ctgcttcagt
2161 tgcctccac agcactgatt tgccagccac aagctggcag gtttatctgt cctcatgtttg
2221 tcttgtgctg gtgggcaagg ggtttgtcta gcacaccagc atataatgag atgcttgatg
2281 aatgggtgcat attgaatgta taaagccac cggtcctgag agtttgctca ctggagactt
2341 tctggagatg gactctcgct ctgttgccca ggtggcgag tgcaatggcg cgtcttggc
2401 tcactgcagc ctccacctcc tgggttcaag cgattctcct gcctcagcct cccgagtagc
2461 tgggattaca ggtgggtgtc accacacca gctcagtatt gtatttttag cagagatggg
2521 gtttcaccat tttgccagg ctggtttgga actcctgact tcaaattacc cacctgcctc
2581 agcctcccaa agtctggca ttacaggcgc tcgaggcttt ctgatgtggc tgctgctgct
2641 cagaaggcct tgccttaac cacctccttg cctgcctgg aggctgtgtg ccttagggcc
2701 caccctctgt ggagtcctgc tggctttctc catccctatc tgaatcctcc ctgctgtgtg
2761 gcctcccttg gtctcatccg taacacagcc cagcttagtg ggcctctgtt cctgcgggtg
2821 gcagcctgt ctgtgtggct gggctgggga ggcacgtct ggtatctgaa tgctatcggt
2881 gggttgggt ggaggaacca ggaggggct ggagggagg agatggtctc agccccacag
2941 agtttgaggt cctcagtgct ctgagcaaac gtggagacac catttccctc ccttagacct
3001 catcttgag agagagatgt tggatggggc catctattcc agctttattc acacaaatca
3061 tgtctgttgg cctggaaatt ggaaccagc ttaaaccaaa aacatgatat taagaaaaca
3121 ggcaggctca ccatagtaaa aatgctgaaa gccaaagaca aaattgggag aacaaaagaa
3181 aagcgtcttg tcacatacag aaggtccctg ataaagttag tagctgccct cctcagaaac
3241 caggccagg cagtggggac acatccagag tgcgaaaga acctcccca ggtcatccta
3301 tcccaagag tgatgcccgc cagcattccc agctcagggc taatgggtca cggaaagccag
3361 gaatcaaac gcctgggttc cagtcccagc tctgccagtt atgccagct gtggggactt
3421 gggcagctcg tttagtagca ccgtgcctca gtttccata tgtaaaaggc atttttagt
3481 gcctttcaca gccctgcata aggcaggtgt ctcagtgctc actgctgtct cccagctct
3541 tagtccagta gctgcatggt gactgagcgt agggcgacc ctggaaggct gccaaagcca
3601 aagttgtgca gacgctggg gactccagac tccccacagc agcagagact cgggactgag
3661 gcactctctg ttcacaggac atgctggcat ctactgggtc agggctctgc tgctcggtgg
3721 ctgtgcaacc ttgggcaagt tcctcaacct cctctgtgct tcgtacctc atctgtaaca
3781 tgcgtgtcga tagacctac tactcagggt tgatgagaag attaaatgtg caaaacctgc
3841 ttgactgtgc ccacaaatcc tgattgtagg aataaattaa tgacttttta taaatatttt
3901 gatcagatgg actcatgac acagatgtct tcacatgcct atgactaatt tgtacacaaa
3961 ctaatgctcg tgtttccaa gcacctgga gacatgccag atccatgtgc agtaatgcct
4021 ggtggctcca ggtctgcccc gccgtcctgt ggggctgtga gctttccag cctcctgcc
4081 gtgtttgtga atatcattct gtctcagct gcatttccag cccaggtgt ttggcgctgc
4141 ccaggaatgg tatcaattcc cctgtttctc ttgtagccag ttactagaat aaaatcatct
4201 actttaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaa
//

```

ЛОКУС NM\_001136134 (изоформа 1)  
 АК/трансляция="MSAHLQWMVVRNCSSFLIKRNKQTYSTEPNNLKARNsFRYNGLI  
 HRKTVGVPEAADGKGVVVIKRRSGQRKPATSYVRTTINKNARATLSSI RHMIRKNKY  
 RPDLRMVSWGLGIRLGETGQCCGEGPPTTGCMNGWRGMDSCFQPTPHTQHWPRGR LVE  
 CMG

кДНК:

|     |            |            |            |            |            |             |
|-----|------------|------------|------------|------------|------------|-------------|
| 1   | ctctttccgt | ctcaggctgc | cgctgcgaag | ggagccgccg | ccatgtctgc | gcactctgcaa |
| 61  | tggatggctg | tgcggaactg | ctccagtttc | ctgatcaaga | ggaataagca | gacctacagc  |
| 121 | actgagccca | ataacttgaa | ggcccgcaat | tccttccgct | acaacggact | gattcaccgc  |
| 181 | aagactgtgg | gctgggagcc | ggcagccgac | ggcaaagggt | tcgtgggtgg | cattaagcgg  |
| 241 | agatccggcc | agcggaagcc | tgccacctcc | tatgtgcgga | ccaccatcaa | caagaatgct  |
| 301 | cgcgccacgc | tcagcagcat | cagacacatg | atccgcaaga | acaagtaccg | ccccgacctg  |
| 361 | cgcaggtgga | gctgggggtt | ggggatcagg | cttggggaga | ctggccagtg | ctgtggggaa  |

421 gggcctccca ctactggttg caatatgggc tggagagggg tggattcttg ctttcagcct  
 481 actccccaca cccagcattg gcctaggggg cggcttgttg agtgtatggg ctgagccttg  
 541 ctctgctccc ccgccccag gcagccatcc gcagggccag cgccatcctg cgcagccaga  
 601 agcctgtgat ggtgaagagg aagcggaccc gccccaccaa gagctcctga gccccctgcc  
 661 cccagagcaa taaagtcagc tggttttctc acctgcctcg actgggcctc cctttttgaa  
 721 acgctctggg gagctctggc cctgtgtgtt gtcattcagg ccatgtcatc aaaactctgc  
 781 atgtcacctt gtccatctgg aggtgatgtc aatggctggc catgcaggag gggtagggta  
 841 gctgccttgt ccctggtgag ggcaagggtc actgtcttca cagaaaaagt ttgctgactt  
 901 gtgattgaga cctactgtcc cattgtgagg tggcctgaag aatcccagct ggggcagtgg  
 961 cttccattca gaagaagaaa ggccttttct agcccagaag ggtgcaggct gagggctggg  
 1021 ccctgggccc tgggtgctga gcacgggttg gggacttggg gtgttcccaa gacctggggg  
 1081 acgacagaca tcacgggagg aagatgagat gacttttgca tccaggaggt ggtgagccg  
 1141 acatttggag gggatgggct ttacttgatg caacctcatc tctgagatgg gcaacttggg  
 1201 ggggtggtggc ttataactgt aagggagatg gcagccccag ggtacagcca gcaggcattg  
 1261 agcagcctta gcattgtccc cctactcccg tcctccagggt gtccccatcc ctccccctgtc  
 1321 tctttgagct ggcctctgtc acttaggtct catctcagtg gccgctcctg ggcacccctg  
 1381 tcacccaagc tttcctgatt gccagccctt cttgtttcct ttggcctgtt tgctccctag  
 1441 tgtttattac agcttgtgag gccaggagtt tgagaccatc ctaggcaaca taatgagaca  
 1501 ccgtctctaa aataaaaatta gctgggtgtg gtgggtgacc gcctgtggtc ccagctcctc  
 1561 agagggttag tagaggctga ggtgagcggg gcacttgagc caagagtatg aggctgcagt  
 1621 agagccatga gccccaccac tacactccag cctggaagac accatgacac acagtgcagg  
 1681 ctggatgggg aaagagtcct gctgttgatc ctcacatgtt tcctgggcac ctaactctgt  
 1741 cagccactgc cagggaccaa ggatccagca tccatggcac ccctgggtcc tgccatcctg  
 1801 gggtagccga ttcaaagaag gactctgctc cctgtctgag accacccccg gctctgactg  
 1861 agagtaaggg gactgtcagg gcctcgactt gccattggtt ggggtcgtac ggggtcggga  
 1921 gccctgcgtt ttgaggcaga ccactgccct tccgacctca gtctgtctg ctccagctctt  
 1981 gccagcctcg aaggagagca gatctgacca cttgccagcc cctgtctgct gtgaattacc  
 2041 atttcccttg tccttccctt agttgggtct attagctcag attgagaggt gttgccttaa  
 2101 aactgagttg ggtgacttgg tacctgctca ggaccccccg cactgtccca atccccatca  
 2161 gccccacctc cagctggcct cactccgctg gtgacttcgt acctgctcag gagccccac  
 2221 tgtcccagtc ccactcaggc ccactctctg ctggcctcac tgcgtggga ctccgcttc  
 2281 ataaggagag ctcaactgctc acgttagtag atggccccct ctctgaggc ctctccccctg  
 2341 gcacctgctt cagttgtcct ccacagcact gatttgcagc ccacaagctg gcaggtttat  
 2401 ctgtctcatg tttgtcttgt gctgggtggc aaggggtttg tctagcacac cagcatataa  
 2461 tgagatgctt gatgaatggt gcataattgaa tgtataaagc ccaccgggtc tgagagtttg  
 2521 ctcaactggag actttctgga gatggagtct cgtctctgtg ccagggtggt cgagtgcatt  
 2581 ggcgcgatct tggctcactg cagcctccac ctccctgggt caagcgattc tctgcctca  
 2641 gcctcccgag tagctgggat tacagggtgg tgcaccaca ccagctcag tattgtattt  
 2701 ttagcagaga tgggttttca ccattttgcc caggctggtt tggaaactct gacttcaaat  
 2761 taccacactg cctcagcctc ccaaagtgtt ggcaattacag gcgctcgagg ctttctgatg  
 2821 tggctgctgc tgctcagaag gccttgtcct taaccacctc cttgcctgcc ctggaggctt  
 2881 gtgcctctag gccccacccc ctgtggagtc ctgtggctt tctccatccc tatctgaatc  
 2941 ctccctgctg tgtggcctcc cctggtctca tccgtaacac agcccagctt agtgggctc  
 3001 tgttctctgc ggtggccagc ctgtctgtgt ggctgggctg gggaggccac gtctggtatc  
 3061 tgaatgctat cgggtgggtt gggtggagga accaggagag ggctggaggg agggagatgg  
 3121 tctcagcccc acagagtttg gagtcctcag tgtgctgagc aaacgtggag acaccatttc  
 3181 cctcctctag acctcatctt ggagagagag atgttgatg gggccatcta ttccagcttt  
 3241 attcacacaa atcatgtctg ttggcctgga aattggaaaa ccagttaaac caaaaaatg  
 3301 atattaagaa aacaggcagg ctacccatag taaaaatgct gaaagccaaa gacaaaattg  
 3361 ggagaacaaa agaaaagcgt cttgtcacat acagaaggtc cctgataaag ttagtagctg  
 3421 cctcctcatg aaaccaggcc caggcagtgg ggacacatcc agagtgtga agaacctcc  
 3481 cccaggctcat cctatcccca agagtgatgc ccggcagcat tcccagctca gggctaattg  
 3541 ttcacggaag ccaggaatca aactgcctgg gttccagtc cagctctgcc agttatgccc  
 3601 agctgtgggg acttgggcag ctcgtttagt agcaccgtgc ctgagtttcc catatgtaaa  
 3661 agggcatttt gagtgccttt cacagccctg cataaggcag gtgtctcagt gttcactgct  
 3721 gtctctccag ctcttagtcc agtagctgca tggtagtga gcgtaggcg caccctggaa  
 3781 ggctgccaag cccaaagtgt tgcagagcgc tggggactcc agactcccca cagcagcaga  
 3841 gactcgggac tgaggcatcc tctgttcaca ggacatgctg gcactctact ggtcagggtc  
 3901 ctgctgctcg ttggctgtgc aaccttgggc aagtctctca acctctctgt gtcttctgac  
 3961 cctcatctgt aacatgcgtg tcgatagacc ctactactca gggttgatga gaagattaaa  
 4021 tgtgcaaaac ctgcttgact gtgccacaaa atcctgattg taggaataaa ttaatgactt

4081 tttataaata ttttgatcag atggactcat gatcacagat gtcttcacat gcctatgact  
 4141 aatttgtaga caaactaatg ctctgtgttc ccaagcacct ggaagacatg ccagatccat  
 4201 gtgcagtaat gcctggtagc tccagggtctg ccccgccgctc ctgtggggct gtgagctttc  
 4261 ccagcctcct gcccggtgtt gtgaatatca ttctgtcttc agctgcattt ccagcccagg  
 4321 ctgtttggcg ctgcccagga atggtatcaa ttccctgtt tctctgttag ccagttacta  
 4381 gaataaaatc atctacttta aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa  
 //

ЛОКУС NM\_001136135 (изоформа 3)  
 АК/ трансляция="MSAHLQWMVVRNCSSFLIKRNKQTYSTEPNNLKARNSEFRYNGLI  
 HRKTVGVEPAADGKGVVVIKRRSGQRKPATSYVRTTINKNARATLSSIRHMIKRNKY  
 REDLRMDMLASTGSGLCSSVAVQPWASSSTSLCLRTLICNMVRDRPYSGLMRRLNVQ  
 NLLDCAHKS

кДНК: 1 ctctttccgt ctcagggtcg cgctgcgaag ggagccgccg ccatgtctgc gcatctgcaa  
 61 tggatggtcg tgcggaactg ctccagtttc ctgatcaaga ggaataagca gacctacagc  
 121 actgagccca ataacttgaa ggcccgcaat tccttccgct acaacggact gattcacccg  
 181 aagactgtgg gcgtggagcc ggagccgac ggcaaagggt tcgtgggtgg cattaagcgg  
 241 agatccggcg agcggaagcc tgccacctcc tatgtgcgga ccaccatcaa caagaatgct  
 301 cgcgcacgc tcagcagcat cagacacatg atccgcaaga acaagtaccg ccccgacctg  
 361 ctcatggaca tgcctggcat tactgggtca gggctctgct gctcgggtgg tgtgcaacct  
 421 tgggcaagt cctcaacctc tctgtgtctt cgtacctca tctgtaacat gcgtgtcgat  
 481 agaccctact actcagggtt gatgagaaga ttaaatgtgc aaaacctgct tgactgtgcc  
 541 cacaatcct gattgtagga ataaattaat gactttttat aaatatattg atcagatgga  
 601 ctcatgatca cagatgtctt cactgccta tgactaattt gtacacaaac taatgctcgt  
 661 gtttcccaag cacctggaag acatgccaga tccatgtgca gtaatgcctg gtggctccag  
 721 gtctgccccg ccgtcctgtg gggctgtgag ctttcccagc ctctgccccg tgtttgtgaa  
 781 tatcattctg tctcagctg catttccagc ccaggtgtt tggcgctgcc cagggaatggt  
 841 atcaattccc ctgtttctct ttagccagt tactagaata aaatcatcta ctttaaaaaa  
 901 aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaa

//

ЛОКУС NM\_001136136 (изоформа 4)  
 АК/ трансляция="MSAHLQWMVVRNCSSFLIKRNKQTYSTEPNNLKARNSEFRYNGLI  
 HRKTVGVEPAADGKGVVVIKRRSGEFCLVWARERPLSRVWEL

кДНК: 1 ctctttccgt ctcagggtcg cgctgcgaag ggagccgccg ccatgtctgc gcatctgcaa  
 61 tggatggtcg tgcggaactg ctccagtttc ctgatcaaga ggaataagca gacctacagc  
 121 actgagccca ataacttgaa ggcccgcaat tccttccgct acaacggact gattcacccg  
 181 aagactgtgg gcgtggagcc ggagccgac ggcaaagggt tcgtgggtgg cattaagcgg  
 241 agatccggcg agttttgtct ggtttgggccc agagagcggc ccctttcccg ggtctgggag  
 301 ctgtgatttt ttactgtcag gcaggaagag cggtaactgc catcgccgcg ggcattccctg  
 361 gcgcccagggt gttggtctgg gtaccggctt ccctctcgcc cgacttgtca gctctgtgag  
 421 ccgcgccgct ctgagcccg gtctcacct gtaagtggg gaaatgaaaa aggacctgaa  
 481 ctctctcggt ggttgttgag agttaaggca cggggttgat gttttcagat gaaattctca  
 541 aagcaagtca ggtggggat ggatggtttc atccacagc tgggaagatt gagg  
 //

ЛОКУС NM\_001136137 (изоформа 5)  
 АК/ трансляция="MSAHLQWMVVRNCSSFLIKRNKQTYSTEPNNLKARNSEFRYNGLI  
 HRKTVGVEPAADGKGVVVIKRRSE

кДНК: 1 ctctttccgt ctcagggtcg cgctgcgaag ggagccgccg ccatgtctgc gcatctgcaa  
 61 tggatggtcg tgcggaactg ctccagtttc ctgatcaaga ggaataagca gacctacagc  
 121 actgagccca ataacttgaa ggcccgcaat tccttccgct acaacggact gattcacccg  
 181 aagactgtgg gcgtggagcc ggagccgac ggcaaagggt tcgtgggtgg cattaagcgg  
 241 agatccgagt gagtttttct caggctcttg attggaactg cctcagagcc aagggtcctt  
 301 ttactcagtg gcagcaacaa acgcagctctg ttggctagt atcctcctgt ctcagggaca  
 361 cgtagtccag ggagcagcca attgcttgac acttggggac cccgttctgg ggagctctga  
 421 aagctttcac ctcttgatt gccgaataca tgggtggccc ttcctagact aagggactgg  
 481 cctgagttag gctgggctc tcagccaagc tgatgttgaa ccactgctgt ggggatgggc

541 ctgggggttcc tgggaagctg ttcataccca ttgccaggag cgtgggctct ggctggacct  
 601 ggatcagatc ctaactgaag cggcagcttt ctggcatgag aaaggagtggt tttcatgggtg  
 661 gacagaattg ggctatgagt gt  
 //

28. RPS5: RPS5 рибосомальный белок S5 [ Homo sapiens ]  
 ЛОКУС NM\_001009  
 АК/трансляция="MTEWETAAPAVAETPDIKLFQKSTDDVQINDISLQDYIAVKEK  
 YAKYLPHSAGRYAAKRFKAQCPIVERLTNSMMMHGRNNGKKLMTVRIVKHAFEIHL  
 LTGENPLQVLVNAI INSGPREDSTRIGRAGTVRRQAVDVSP LRRVNQAIWLLCTGARE  
 AAFRNKTI AECLADELINAAKSSNSYAIKKKDELERVAKSNR

кДНК: 1 ctcttctctgt ctgtaccagg gcggcgcgtg gtctacgccg agtgacagag acgctcaggc  
 61 tgtgttctca ggatgaccga gtgggagaca gcagcaccag cgggtggcaga gacccagac  
 121 atcaagctct ttgggaagtg gagcaccgat gatgtgcaga tcaatgacat tccccgcag  
 181 gattacattg cagtgaagga gaagtatgcc aagtacctgc ctacagtgac agggcggtat  
 241 gccgccaac gcttcgcaa agctcagtg cccattgtgg agcgcctcac taactccatg  
 301 atgatgcacg gccgcaaca cggcaagaag ctcatgactg tgcgcatcgt caagcatgcc  
 361 ttcgagatca tacacctgct cacaggcgag aacctctgac aggtcctggt gaaccgcatc  
 421 atcaacagtg gtccccggga ggactccaca cgcattgggc gcgccgggac tgtgagacga  
 481 caggctgtgg atgtgtcccc cctgcgcctg gtgaaccagg ccatctggct gctgtgcaca  
 541 ggcgctcgtg aggtgcctt ccggaacatt aagaccattg ctgagtgcct ggcagatgag  
 601 ctcatcaatg ctgccaagg ctcctcgaa tcctatgcca ttaagaagaa ggacgagctg  
 661 gagcgtgtgg ccaagtcaa ccgctgattt tcccagctgc tgccaataa acctgtctgc  
 721 cctttggggc agtcccagcc aaaaaaaaa aaaaa

//

29. RPS6: RPS6 рибосомальный белок S6 [ Homo sapiens ]  
 ЛОКУС NM\_001010  
 АК/трансляция="MKLNISFPATGCQKLEVDDEKRLRTFYEKRMATEVAADALGEE  
 WKGYVVRISGGNDKQGFPMKQGVLTGHRVRLLSKGHSCYRPRRTGERKRKSVRGCI  
 DANLSVLNLVIVKGEKDIPGLTDTVPRLGPKRASRIKLENL SKEDDVRQYVVRK  
 PLNKEGKKPRTKAPKIQLVTPRVLQHKRRRIALKKQRTKKNKEEA EYAKLLAKRMK  
 EAKEKRQEQIAKRRRLSSLRASTSKSESSQK

кДНК: 1 cctcttttcc gtggcgcctc ggaggcgttc agctgcttca agatgaagct gaacatctcc  
 61 ttcccagcca ctggtcgcca gaaactcatt gaagtggacg atgaacgcaa acttcgtact  
 121 ttctatgaga agcgtatggc cacagaagtt gctgctgacg ctctgggtga agaaggaag  
 181 ggttatgtgg tccgaatcag tggtggaac gacaaacaag gtttcccat gaagcagggt  
 241 gtcttgacct atggcctgt cgcctgcta ctgagtaagg ggcattcctg ttacagacca  
 301 aggagaactg gagaagaaa gaaaaatca gttcgtggtt gcattgtgga tgcaaatctg  
 361 agcgttctca acttggttat tgtaaaaaaa ggagagaagg atattcctgg actgactgat  
 421 actacagtgc ctgcgcgcct gggcccaaaa agagctagca gaatccgcaa acttttcaat  
 481 ctctctaaag aagatgatgt ccgccagtat gttgtaagaa agcccttaaa taaagaagg  
 541 aagaaccta ggaccaaagc acccaagatt cagcgtcttg ttaactccacg tgcctgcag  
 601 cacaaacggc ggcgtattgc tctgaagaag cagcgtacca agaaaaataa agaagagggt  
 661 gcagaatatg ctaaaactttt ggccaagaga atgaaggagg ctaaggagaa gcgccaggaa  
 721 caaattgcga agagacgcag actttcctct ctgcgagctt ctacttctaa gtctgaatcc  
 781 agtcagaaat aagatttttt gagtaacaaa taaataagat cagactctg

//

30. SLTM: SLTM SAFB-подобный, модулятор транскрипции [ Homo sapiens ]  
 ЛОКУС NM\_001013843 (изоформа b)  
 АК/трансляция="MAAATGAVAASAASQAEGKKITDLRVIDLKSELKRRNLDITGV  
 KTVLI SRLQAI EEEGGDPDNI ELTVSTDTPNKKPTKGKGGKHEADELSGDASVEDDA  
 FIKCELENQEAHEQDGNDELKDSEEFGENEEENVHSEKLLSAEENKRAHELIEAEGI  
 EDIEKEDIESQEIEAQEGEDDTFLTAQDGEENEKEGSLAEADHTAHEEMEHAHTTVK  
 EAEDDNISVTIQAEADAITLDFDGDLLLETGKNVKITDSEASKPKDGGQDAIAQSPKES  
 KDYEMNANHKGKEDCVKGDPEKEARESSKKAESGDKEKDTLKKGPSSTGASGQAK  
 SSSKESKSKTSSKDDKGSTSSSGSSSTKNIWVSGLSSNTKAADLKNLFGKYGKV

LSAKVVTNARSPGAKCYGIVTMSSSTEVSRCIAHLHRTLHGQLISVEKVKGDPSKKE  
 MKKENDEKSSSRSSGDKKNTSDRSSKTQASVKKEEKRSEKSEKESKDTKKIEGKDE  
 KNDNGASGQTSESIKKSEEKKRISSKSPGHMVIDQTKGDHCRPSRRGRYEKIHGRSK  
 EKERASLDKKRDKYRRKEILPF EKMKEQRLREHLVRFERLRAMELRRRREIAERER  
 RERERIRIREREREERLQREERERLEIERQKLERERMERERLERERIRIEQERRKEAE  
 RIAREEREELRRQQQLRYEQEKRNLSLKRPRDVEDHRRDDPYWSENKLSLDTDARFGHG  
 SDYSRQNRNFNDFHRRERGRFPESAVQSSSFERRDRFVGQSEGKKARPTARREDPSF  
 ERYPKNFSDSRNEPPPPRNELRESDRREVRGERDERRTVIIHDRPDITHPRHPREAG  
 PNPSRPTSWKSEGSMTDKRETRVERPERSGREVS GHSVRGAPPGNRSSASGYGREG  
 DRGVITDRGGGSQHYPEERHVVERHGRDTS GPRKEWHGPPSQGPSYHDTTRMGDGRAG  
 AGMITQHSSNASPINRIVQISGNSMPRSGSGGFKPFKGGPPRRF

кДНК: 1 ggcggccgcgcg aggcctgggt ggaagtgtgc gctgtgcgcg ccgcctctgca gccactctgc  
 61 tgctctcgga ggcgctgct cttctaagat ggctgccgct accggtgcgcg tggcagcctc  
 121 ggcgcgcctcg ggtcagggcg aaggtaaaaa gatcaccgat ctgcgggtca tcgatctgaa  
 181 gtccgagctg aagcggcgga acttagacat caccggagtc aagaccgtgc tcatctccc  
 241 actcaagcag gctattgaag aggaaggagg cgatccagat aatattgaat taactgtttc  
 301 aactgatact ccaacaaga aaccaactaa aggcacaagg aaaaaacatg aagcagatga  
 361 gttgagtga gatgcttctg tggagatga tgcttttctc aaggactgtg aattggagaa  
 421 tcaagaggca catgagcaag atggaaatga tgaactaaag gactctgaag aatttggtga  
 481 aatgaagaa gaaaatgtgc attccaagga gttactctct gcagaagaaa acaagagagc  
 541 tcatgaatta atagaggcag aaggaataga agatatagaa aaagaggaca tcgaaagtca  
 601 ggaattgaa gctcaagaag gtgaagatga tacctttcta acagcccaag atggtgagga  
 661 agaagaaaat gagaaagaag ggagcctagc tgaggctgat cacacagctc atgaagagat  
 721 ggaagctcat acgactgtga aagaagctga ggatgacaac atctcgggtc caatccaggc  
 781 tgaagatgcc atcactctgg attttgatgg tgatgacctc ctagaacag gtaaaaaatgt  
 841 gaaaattaca gattctgaag caagtaagcc aaaagatggg caggacgcca ttgcacagag  
 901 cccggagaag gaaagcaagg attatgagat gaatgcgaac cataaagatg gtaagaagga  
 961 agactgcgtg aagggtgacc ctgtcgagaa ggaagccaga gaaagtctca agaaagcaga  
 1021 atctggagac aaaaaaagg atactttgaa gaaagggccc tcgtctactg gggcctctgg  
 1081 tcaagcaaag agctcttcaa aggaatctaa agacagcaag acatcatcta aagatgacaa  
 1141 aggaagtaca agtagtacta gtggtagcag tggaaagctca actaaaaata tctgggttag  
 1201 tggactttca tctaatacca aagctgctga tttgaagaac ctctttggca aatatggaaa  
 1261 ggttctgagt gcaaaagtag ttacaaatgc tcgaagctct ggggcaaaat gctatggcat  
 1321 tgtaactatg tcttcaagca cagaggtgtc caggtgtatt gcacatcttc atcgactga  
 1381 gctgcatgga cagctgattt ctgttgaaaa agtaaaaggat gatccctcta agaaagaaat  
 1441 gaagaaagaa aatgatgaaa agagtagttc aagaagttct ggagataaaa aaaatacgag  
 1501 tgatagaagt agcaagacac aagcctctgt caaaaaagaa gagaaaagat cgtctgagaa  
 1561 atctgaaaaa aaagaaagca aggatactaa gaaaatagaa ggtaaaagatg agaagaatga  
 1621 taatggagca agtgcccaaa catcagaatc gattaaaaaa agtgaagaaa agaagcgaat  
 1681 aagttccaag agtccaggac atatggtaat actagaccaa actaaaggag atcattgtag  
 1741 accatcaaga agaggaagat atgagaaaat tcatggaaga agtaaggaaa aggagagagc  
 1801 tagtctagat aaaaaaagag ataaagacta cagaaggaaa gagatcttgc cttttgaaaa  
 1861 gatgaaggaa caaagggtga gagaacattt agttcgtttt gaaaggctgc gacgagcaat  
 1921 ggaacttcga agcgaagag agattgcaga gagagagcgt cgagagcgag aacgcattag  
 1981 aataattcgt gaacgggaag aacgggaacg cttacagaga gagagagagc gcctagaaat  
 2041 tgaaggcaa aaactagaga gagagagaat ggaacgcgaa cgcttggaag gggaaacgat  
 2101 tcgtattgaa caggaacgtc gtaaggaagc tgaacggatt gctcgagaaa gagaggaaat  
 2161 cagaaggcaa caacagcagc ttctgttatga acaagaaaaa aggaattcct tgaacgccc  
 2221 acgtgatgta gatcataggc gagatgatcc ttactggagc gagaataaaa agttgtctct  
 2281 agatacagat gcacgatttg gccatggatc cgactactct cgccaacaga acagatttaa  
 2341 tgactttgat caccgagaga ggggcagggt tcctgagagt tcagcagtac agtcttcac  
 2401 ttttgaaagg cgggatcgct ttgttgggtc aagtggggg aaaaaagcac gacctactgc  
 2461 acgaaggga gatccaagct tcgaaagata tcccaaaaat ttcagtgaat ccagaagaaa  
 2521 tgagcctcca ccaccaagaa atgaacttag agaatcagac aggcgagaag tacgaggga  
 2581 gcgagacgaa aggagaacgg tgattattca tgacaggcct gatatactc atcctagaca  
 2641 tcctcgagag gcagggccca atccttcag acccaccagc tggaaaagtg aaggaagcat  
 2701 gtccactgac aaacgggaaa caagagttga aaggccagaa cgatctggga gagaagtatc  
 2761 agggcacagt gtgagaggcg ctccccctgg gaatcgtagc agcgcttcgg ggtacgggag  
 2821 cagagaggga gacagaggag tcatcacaga ccgaggaggt ggatcacagc actatcctga  
 2881 ggagcgacat gtggttgaac gccatggacg ggacacaagc ggaccaagga aagagtggca

2941 tgggtccaccc tctcaagggc ctagctatca tgatacgagg cgaatgggtg acggccgggc  
 3001 agggagcaggc atgataaccc aacattcaag taacgcatcc ccaattaata gaattgtaca  
 3061 aatcagtggc aattccatgc caagaggaag tggctccgga ttttaagccat ttaaggggtg  
 3121 acctccgcca cgattctgaa aatgagctct ctgccaaagt ttttaagataa tttattgaaa  
 3181 tctcctgtaa actttacttg actacttatg aagaggacct ctgacttgct tgagagttct  
 3241 gtcagacttt tctttttaaa aatttaacat gattgctttt ctcaattttg gagaagatgt  
 3301 ttaaatagtt ctgttgtaac ttttaatagt tttgtgtatc attcaacttt ttttcttgca  
 3361 gcaccgaggc acatttgaaa agatggaatt gaagtcgttt tgtttaacgc tgtgtgaata  
 3421 taaagagtag tttgcagctg tgtggtagt gtttaatttg cagccttagc tctgtggtgt  
 3481 ctggctctag agttacttct ttttaccagg cattttcagc ctccattttg aaggctgtct  
 3541 acacttaaga agtcttagct gtctaatttt tagagaataa gattgttcat tgcatttctg  
 3601 agtattatgt aacctatttt tgcagaagg actgttacct taagtgcac tgtgtatcct  
 3661 ggtttaaaaa aatgtaatct ttttgaaat aaaccttcat attctgtata gttgctaaag  
 3721 tgttgagAAC ctttttaatt gtaaaatgag aaccgatttt cagttagtg tagcagcaca  
 3781 cttgttcagg tttgcatggt atgaaaccaa atagattcat gaaaccttg ccatgagggt  
 3841 tgtttcaca ggttcttaga caggtttgtg caggttaagt cacttttag taatctgcac  
 3901 tgtttgtttg atggataaat tccatctctg ggaattgtgt ggggtattaat gtttccatgt  
 3961 tcccaactat gttgagaagt ggaaaaaaac ccaggttcta gatgggtgaa tcagttgggt  
 4021 tttgtaataa cttgtatgtg ggaagacat tgtgtcttt ttgtgaaat aaaaatccac  
 4081 acctggaagt gtaaaaaaaa aaaaaaaaaa

//

ЛОКУС NM\_024755 (изоформа а)  
 АК/трансляция="MAAATGAVAASAASGQAEGKKITDLRVIDLKS ELKRRNLDITGV  
 KTVLISRLKQAI EEEGGDPDNI ELTVSTDT P NKKPTKGKGKKHEADELSGDASVEDDA  
 FIKDCELENQEAHEQDGNDELKDSEEFGENEEENVH SKELLSAEENKRAHELI EAEGI  
 EDIEKEDIESQIEA QEGEDDT FLTAQD GEEEEENEKDIAGSGDGTQEVSKPLPSEGL  
 AEADHTAHEEME AH TTVKEAEDDNISVTIQAEDAITLDFDGDLLLETGKNVKITDSEA  
 SPKPKQDAIAQSP EKESKDYEMNANHKGKKEDCVKGD PVEKEARESSKKAESGDKE  
 KDTLKKGPSSTGASGQAKSSSKESKDSKTSSKDDKGSTSTSGSSGSSTKNIWVSGLS  
 SNTKAADLKNLFGKYGKVL SAKVVTNARSPGAKCYGIVTMSSTEVSR CIAHLHRTTEL  
 HGQLI SVEKVKGDP SKKEMKKENDEKSSSRSSGDKNNTSDRSSKTQASVKKEEKRSSE  
 KSEKSKDATTKKIEGKDEKNDNGASGQTSESI KKEEKKRISSKSPGHMVIDQT KGD  
 HCRPSRRGRYEKI HGRSKEKERASLDKKRDKDYRRKEILPF EKMKEQRLREHLVRFER  
 LRRAMELRRRREIAERERERERIRIRI IREEREERLQ RERERLEIERQKLERERMERE  
 RLERERIRIEQERRKEAER IAREEREELRRQQQLRYEQEKRLSKRPD VDHRRDDPY  
 WSENKKLSLDTDARFGHGS DYSRQNRNFNDFDHRERGRFP ESSAVQSSSFERRDRFVG  
 QSEKKARP TARREDPSFERYPKNFSDSRNEPPPPRNELRESDRREVRGERDERRTV  
 I IHDRPDITHPRHPREAGPNPSRPTSWKSEGSMSD KRETRVERPERSGREVSGHSVR  
 GAPPGNRSSASGYGSREGDRGVITDRGGGSHYPERHVVERHGRDTS GPRKEWHGPP  
 SQGPSYHDTRRMGDRAGAGMITQHSSNASPINRIVQISGNSMPRGSGSGFKPFKGGP  
 PRRF

кДНК: 1 gcggccgccc aggctgggt ggaagtggc gctgctgcc cgccttgca gccactcgc  
 61 tgcctcgcca gcgcgctgct cttctaagat ggctgccgct accggtgagg tggcagcctc  
 121 ggccgcctcg ggtcaggcgg aaggtaaaa gatcaccgat ctgagggtca tcgatctgaa  
 181 gtccgagctg aagcggcgga acttagacat caccggagtc aagaccgtgc tcatctccc  
 241 actcaagcag gctattgaag aggaaggagg cgatccagat aatattgaat taactgtttc  
 301 aactgatact ccaacaaga aaccaactaa aggcaaagg aaaaaacatg aagcagatga  
 361 gttgagtgga gatgcttctg tggaaatga tgcttttctc aaggactgtg aattggagaa  
 421 tcaagaggca catgagcaag atggaaatga tgaactaaag gactctgaag aatttggtga  
 481 aatgaagaa gaaaatgtgc attccaagga gttactctct gcagaagaaa acaagagagc  
 541 tcatgaatta atagaggcag aaggaataga agatataga aaaggaggaca tcgaaagtca  
 601 ggaaattgaa gctcaagaag gtgaagatga tacctttcta acagcccaag atggtgagga  
 661 agaagaaaa gagaaagata tagcagggtc tggatgaggt acacaagaag tatctaaacc  
 721 tcttcttcca gaaggagcc tagctgaggc tgatcacaca gctcatgaag agatggaagc  
 781 tcatacgact gtgaaagaag ctgaggatga caacatctcg gtcacaatcc aggcgaaga  
 841 tgccatcact ctggattttg atggtgatga cctctagaa acaggtaaaa atgtgaaaat  
 901 tacagattct gaagcaagta agccaaaaga tgggcaggac gccattgcac agagcccga  
 961 gaagggaaag aaggattatg agatgaatgc gaaccataaa gatggtaaga aggaagactg  
 1021 cgtgaagggt gacctgtctg agaaggaagc cagagaaagt tctaagaaag cagaatctgg

```

1081 agacaaagaa aaggatactt tgaagaaagg gccctcgtct actggggcct ctgggtcaagc
1141 aaagagctct tcaaaggaat ctaagacag caagacatca tctaagatg acaaaggaag
1201 tacaagtagt actagtggta gcagtggaaag ctcaactaaa aatatctggg ttagtggact
1261 ttcattctaat accaaagctg ctgatttgaa gaacctcttt ggcaaatatg gaaaggttct
1321 gagtgcacaaa gtagttacaa atgctcgaag tcctggggca aaatgctatg gcattgtaac
1381 tatgtcttca agcacagagg tgtccagggtg tattgcacat cttcatcgca ctgagctgca
1441 tggacagctg atttctgttg aaaaagtaaa aggtgatccc tctaagaaag aaatgaagaa
1501 agaaaatgat gaaaagagta gttcaagaag ttctggagat aaaaaaata cgagtgatag
1561 aagtagcaag acacaagcct ctgtcaaaaa agaagagaaa agatcgtctg agaaatctga
1621 aaaaaaagaa agcaaggata ctaagaaaat agaaggtaaa gatgagaaga atgataatgg
1681 agcaagtggc caaacatcag aatcgattaa aaaaagtga gaaaagaagc gaataagttc
1741 caagagtcga ggacatatgg taatactaga ccaactaaa ggagatcatt gtagaccatc
1801 aagaagagga agatatgaga aaattcatgg aagaagtaag gaaaaggaga gagctagtct
1861 agataaaaaa agagataaaag actacagaag gaaagagatc ttgccttttg aaaagatgaa
1921 ggaacaaagg ttgagagaa acattagtctg ttttgaaagg ctgacgacg caatggaact
1981 tcgaagacga agagagattg cagagagaga gcgtcgagag cgagaacgca ttagaataat
2041 tcgtgaacgg gaagaacggg aacgcttaca gagagagaga gagcgcttag aaattgaaag
2101 gcaaaaaacta gagagagaga gaatggaacg cgaacgcttg gaaagggaac gcattcgtat
2161 tgaacaggaa cgtcgttaagg aagctgaacg gattgctcga gaaagagagg aactcagaag
2221 gcaacaacag cagcttctgt atgaacaaga aaaaaggaat tccttgaagc gccacgtga
2281 tgtagatcat aggcgagatg atccttactg gagcgagaat aaaaagttgt cttagatcac
2341 agatgcacga tttggccatg gatccgacta ctctcgccaa cagaacagat ttaatgactt
2401 tgatcaccga gagaggggca ggtttcctga gagttcagca gtacagtctt catcttttga
2461 aaggcgggat cgctttgttg gtcaaagtga ggggaaaaaa gcacgaccta ctgacgaag
2521 ggaagalcca agcttcgaaa galalcccaa aaalllcagl gacllccagaa gaaalgagcc
2581 tccaccacca agaaatgaac ttagagaatc agacaggcga gaagtacgag gggagcgaga
2641 cgaagagaga acggtgatga tcatgacag gcctgatatc actcatccta gacatcctcg
2701 agaggcaggg cccaatcctt ccagaccac cagctggaaa agtgaaggaa gcatgtccac
2761 tgacaaacgg gaaacaagag ttgaaaggcc agaacgatct gggagagaa gtcaggggca
2821 cagtgtgaga ggcgctcccc ctgggaatcg tagcagcgct tcggggtacg gggagcagaga
2881 gggagacaga ggagtcacga cagaccgagg aggtggatca cagcactatc ctgaggagcg
2941 acatgtggtt gaacgccatg gacgggacac aagcggacca aggaagagat ggcattggtc
3001 accctctcaa ggccttagct atcatgatac gaggcgaatg ggtgacggcc gggcaggagc
3061 aggcgatga acccaacatt caagtaacgc atccccaatt aatagaattg tacaatcag
3121 tggcaattcc atgccaagag gaagtggctc cggatttaag ccatttaagg gtggacctcc
3181 gcgacgattc tgaaaatgag ctctctgcca aggttttaag ataatttatt gaaatctcct
3241 gtaaaacttta cttgactact tatgaagagg acctctgact tgcttgagag ttctgtcaga
3301 cttttctttt taaaaattta acatgattgc ttttctcaat tttggagaag atgtttaaat
3361 agttctgttg taacttttaa tagttttgtg tatcattcaa ctttttttct tgcagcaccg
3421 aggcacattt gaaaagatgg aattgaagtc gttttgttta acgctgtgtg aatataaaga
3481 gtagtttgca gctgtgtggt agtgggttaa tttgcagcct tagctctgtg gtgtctggct
3541 ctgaggttac ttctttttac caagcatttt cagcctccat tttgaaggct gtctacactt
3601 aagaagtctt agctgtctaa tttttagaga ataagattgt tcattgcatt tctgagtatt
3661 atgtaaccta tttttgcaga aggtactgtt acattaaagt catctgtgta tcctggttta
3721 aaaaaatgta atcttttttg aaataaacct tcatattctg tatagttgct aaagtgttga
3781 gaaccttttt aattgtaaaa tgagaaccga ttttcagttt agtgtagcag cacacttggt
3841 caggttttgca tggatgaaa ccaaatagat tcatgaaacc ttggccatga ggtttgtttc
3901 acaaggttct tagaccgagt tgtgcaggta agtgcacttt taggtaatct gcactgtttg
3961 tttgatggat aaattccatc tctgggaatt gtgtgggtat taatgtttcc atgttcccaa
4021 ctatgttgag aagtggaaaa aaaccaggt tctagatggg tgaatcagtt gggttttgta
4081 aatacttgta tgtggggaag acattgttgt ctttttgtga aaataaaaaat ccacacctgg
4141 aagtgtaaaa aaaaaaaaaa aaaa
//

```

31. TMED4: TMED4 трансмембранный emp24 белок-транспортный домен,  
содержащий 4 [ Homo sapiens ]  
ЛОКУС NM\_182547  
АК/трансляция="MAGVGAGPLRAMGRQALLLLALCATGAQGLYFHIGETEKRCFIE  
EIPDETMVIGNYRTQMWDKQKEVFLPSTPGLGMHVEVKDPDGKVVLSRQYGSEGRFTF  
TSHTPGDHQICLHSNSTRMALFAGGKLRVHLDIQVGEHANNYPEIAAKDKLTQLRA  
RQLLDQVEQIQEQDYQRYREERFRLTSESTNQRLWWSIAQTIVILILTGIWQMRHLK

SFFEAKKLV

кДНК: 1 ggcgcttagg ggctgagcgc cgatggcagg tgcgggggct gggcctctgc gggcgatggg  
 61 gggcgaggcc ctgctgcttc tcgcgctgtg cgccacaggc gcccgagggc tctacttcca  
 121 catcggcgag accgagaagc gctgtttcat cgaggaaatc cccgacgaga ccatgggtcat  
 181 cggaactat cgtacccaga tgtgggataa gcagaaggag gtcttcctgc cctcgacccc  
 241 tggcctgggc atgcacgtgg aagtgaagga ccccgacggc aaggtgggac tgtcccggca  
 301 gtacggctcg gaggggccgt tcacgttcac ctccacacg cccggtgacc atcaaatctg  
 361 tctgcactcc aattctacca ggatggctct ctctgctggt ggcaactgc gtgtgcatct  
 421 cgacatccag gttggggagc atgccaacaa ctaccctgag attgctgcaa aagataagct  
 481 gacggagcta cagctccgcg cccgccagtt gcttgatcag gtggaacaga ttcagaagga  
 541 gcaggattac caaaggtatc gtgaagagcg ctcccgactg acgagcgaga gcaccaacca  
 601 gagggtccta tgggtgtcca ttgctcagac tgtcatcctc atcctcactg gcatctggca  
 661 gatgcgtcac ctcaagagct tctttgaggc caagaagctg gtgtagtgcc ctctttgtat  
 721 gacccttcct ttttacctca tttatgtgtg actttcccca cacagtcctt tatccgctgt  
 781 gatttttagg gaaaaaaatg aaaaagaata agtcacattg gttccatgac cacaacacct  
 841 tcagatcagc cacttgctga ccctgggtct taaggacaca tgacattagt ccaatctttc  
 901 aaaatcttgt cttagggctt gtgaggaatc agaactaacc caggactcag tcctgtctct  
 961 tttgcctcga gtgattttcc tctgtttttc actaaataag caaatgaaaa ctctctccat  
 1021 taaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaa  
 //

32. TNRCBA: ADRBK1 адренергическая, бета, рецепторная киназа 1 [ Homo sapiens ]  
 ЛОКУС NM\_001619

AK/ трансляция= "MADLEAVLADVSYLMAMEKSKATPAARASKKILLPEPSIRSVMQ  
 KYLEDRGVTFEKI FSQKLGYLELFRDFCLNHLEEARPLVEFYEEIKKYEKLETEEEERV  
 ARSREIFDSYIMKELLACSHPFSSKATEHVQGHGKKGQVPPDLFQPYIEEICQNLRGD  
 VFQKFIESDKFTRFCQWKNVELNIHLTMNDFS VHRI IGRGGFGEVYGCGRKADTGKMYA  
 MKCLDKKRIKMKQGETLALNERIMLSLVSTGDCPFIVCMSYAFHTPDKLSFILDLMNG  
 GDLHYHLSQHGVSFSEADMRFYAAEII LGLEHMHNRFVYRDLKPANILLDEHGHVRS  
 DLGLACDFS KKKPHASVGTGMYAPEVLQKGVAYDSSADWFS LGCMLFKLLRGHS PFR  
 QHKTCKKHEIDRMTLTMAVELPDSFSPELRSLLLEGLLQRDVNRRRLGCLGRGAQEVKES  
 PFFRSLDWQMVFLOKYPPLIPRGEVNAADAFDIGSFDEEDTKGIKLLDSQELRYN  
 FPLTISERWQQEAETVFDITAEADRLEARKKAKNKQLGHEEDYALGKDCIMHGYMS  
 KMGNPFLTQWQRRYFYLFNRLERWGEGEAPQSLLTMEETQSVEETQIKERKCLLLKI  
 RGGKQFLLQCDSDPELVQWKKELRDAYREAAQQLVQRPVKMKNKPRSPVVELSKVPLVQ  
 RGSANGL

кДНК: 1 cggggcgcgcg gggggcgcgcg gggggcgcgcg cccgactgca gtcccgggcg gagcgaggcg  
 61 cgagcgggcg cggggcgccga gccggcgcca tggggcgggcg ccgcctgtga gggcgggcga  
 121 gcggagccgc gggcgccgag caggggccagg cgggagggcg cgccgcccga ggccgagcga  
 181 gccgcgcccg gggcgggccg agcgccgagc gagcaggagc ggcggcgggcg gggcgggcg  
 241 cgggagggag cagcgccgcc gccaaagatgg cggacctgga ggcgggtgctg gccgacgtga  
 301 gctacctgat ggccatggag aagagcaagg ccacgcccgc cgcgcgcgcc agcaagaaga  
 361 tcctgctgcc cgagcccagc atccgcagtg tcatgcagaa gtacctggag gaccggggcg  
 421 aggtgacctt tgagaagatc ttttcccaga agctggggta cctgctcttc cgagacttct  
 481 gcctgaacca cctggaggag gccaggccct tggtggaatt ctatgaggag atcaagaagt  
 541 acgagaagct ggagacggag gaggagcgtg tggcccgcag ccgggagatc ttcgactcat  
 601 acatcatgaa ggagctgctg gcctgctcgc atcccttctc gaagagtgcc actgagcatg  
 661 tccaaggcca cctggggaag aagcaggtgc ctccgcatct cttccagcca tacatcgaag  
 721 agatttgtca aaacctccga ggggacgtgt tccagaaatt cattgagagc gataagttca  
 781 cacggttttg ccagtggaa aatgtggagc tcaacatcca cctgacctg aatgacttca  
 841 gcgtgcatcg catcattggg cgcgggggct ttggcgaggt ctatgggtgc cgggaaggctg  
 901 acacaggcaa gatgtacgcc atgaagtgcc tggacaaaaa gcgcatcaa atgaagcagg  
 961 gggagacctt ggccctgaac gagcgcatca tgctctcgct cgtcagcact ggggactgcc  
 1021 cattcattgt ctgcatgtca tacgcgttcc acacgccaga caagctcagc ttcacctcgg  
 1081 acctcatgaa cgggtggggac ctgcaactacc acctctccca gcacggggtc ttctcagagg  
 1141 ctgacatgcy cttctatgcy gccgagatca tcctgggcct ggagcacatg cacaaccgct  
 1201 tcgtggtcta ccgggacctg aagccagcca acatccttct ggacgagcat ggccacgtgc  
 1261 ggatctcggg cctgggcctg gcctgtgact tctccaagaa gaagcccat gccagcgtgg

```

1321 gcaccacggt gtacatggct ccggaggtcc tgcagaaggc cgtggcctac gacagcagtg
1381 ccgactgggt ctctctgggg tgcattgctt tcaagtgtgt gcgggggcac agccctctcc
1441 ggagcagcaa gaccaaagac aagcatgaga tcgaccgcat gacgctgacg atggccgtgg
1501 agctgcccga ctctctctcc cctgaactac gctccctgct ggaggggttg ctgcagaggg
1561 atgtcaaccg gagattgggc tgcctgggccc gaggggctca ggaggtgaaa gagagccctc
1621 ttttcgcctc cctggactgg cagatgggtc tcttgcaaaa gtaccctccc ccgctgatcc
1681 cccacagagg ggaggtgaac gcggccgacg ccttcgacat tggctccttc gatgaggagg
1741 acacaaaagg aatcaagtta ctggacagtg atcaggagct ctaccgcaac ttccccctca
1801 ccatctcgga gcggtggcag caggaggtgg cagagactgt cttcgacacc atcaacgctg
1861 agacagaccg gctggaggct cgcaagaaa ccaagaacaa gcagctgggc catgaggaag
1921 actacgccct gggcaaggac tgcattcatg atggctacat gtccaagatg ggcaaccctc
1981 tcttgaccga gtggcagcgg cgttacttct acctgttccc caaccgctc gatggcgagg
2041 gcgagggcga gggcccgagc agcctgctga ccatggagga gatccagtcg gtggaggaga
2101 cgcagatcaa ggagcgcaag tgcctgctcc tcaagatccg cgttgggaaa cagtccatct
2161 tgcagtgcga tagcgaccct gagctgggtg agtggaagaa ggagctgctc gacgcctacc
2221 cgcagggcca gcagctgggt cagcgggtgc ccaagatgaa gaacaagccg cctcgccctc
2281 tggctggagc gagcaagggt ccgctgggtc agcgcggcag tgccaacggc ctctgacccg
2341 cccacccgcc ttttataaac ctctaattta ttttgctgaa tttttattat ttgttttccc
2401 gccaagcgga aaagggttta ttttgtaatt attgtgattt cccgtggccc cagcctggcc
2461 cagctccccc gggagggggc cgttgctcct ggctcctgct gcaccaacc agccgtgctc
2521 cggcgccctc tgtctgactc tcaggggctg cccgcttccc gtgtcttccc gtgggggaa
2581 agcacagccc tcccgcctct tcccagagg atgatgccac accaagctgt gccaccctgg
2641 gctctgtggg ctgcactctg tgcctatggg cactgctggg tggcccatcc cccctacca
2701 ggggcagcca cagcacagg atccgacttg aattttccca ctgcacccc tctgtctgca
2761 gaggggagc ccttgactg tctgtctcca cagtgttggc gagaggagg gtccgttgtc
2821 tccctggccc tcaaggctc ccacagtga tggggctcct gtgcccctat tcaggaaaag
2881 cctctgtgtc actggctgct tccactcca cttccctgac actgcggggc ttggtgtgag
2941 gactggcatt ggagcaggt gctgctaccc tccctgctgt cccctcttgc cccacccccc
3001 agcaccggg ctcagggacc acagcaaggc acctgcaggt tgggccatac tggcctcgcc
3061 tggcctgagg tctcgctgat gctgggctgg gtgcgacccc atctgcccag gacggggccg
3121 gccaggtggg cgggcagcac agcaaggagg ctggctgggg cctatcagtg tgcaccccat
3181 cctggcccat cagtgtaccc ccgcccagc tggccagccc cacagcccac gtctgtcag
3241 tgccgcccgc tcgcccaccg catgcccctc cgtgccagtc gcgctgctg tgtgtgtctg
3301 cgccttctcc ccccggggc tgggttggcg caccctcccc tcccgctcac tcattccccg
3361 gggcggttct ttgccgattt ttgaatgtga ttttaaagag tgaaaaatga gactatgcgt
3421 ttttataaaa aatggtgcct gattaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaa
//

```

33. TUBB: TUBB тубулин, бета класс I [ Homo sapiens ]  
 ЛОКУС NM\_178014  
 АК/ трансляция="MREIVHIQAGQCGNQIGAKFWEVISDEHGI DPTGTYHGSDSLQL  
 DRISVYYNEATGGKYVPRAILVDLEPGTMDSVRS GPFQI FRPDNFVFGQSGAGNWA  
 KGHYTEGAELVDSVLDVVRKEAESCDLQGFQLTHSLGGGTGSGMGTLLISKIREEYP  
 DRIMNTFSVVPSPKVS DTVVEPYNATLSVHQLVENTDET YCIDNEALYDICFRTLKLT  
 TPTYGDLNHLVSATMSGVTTCLRFPGQLNADLRKLAVNMVFPRLHFFMPGFAPLTSR  
 GSQQYRALTVPELTQQVFDKNMMAACDPRHGRYLTVA AVFRGRMSMKEVDEQMLNVQ  
 NKNSSYFVEWIPNNVKTA VCDIPRGLKMAVTFIGNSTAIQELFKRI SEQFTAMFRRK  
 AFLHWYTGEGMDEMEFTEAESNMNDLVSEYQQYQDATAEEEEEDFGEEAEAAA

кДНК: 1 gcacctcgct gctccagcct ctggggcgca ttccaacctt ccagcctgcy acctgcggag  
 61 aaaaaaaaaa acttattttc ttgcccata cataccttga ggcgagcaaa aaaattaaat  
 121 ttttaaccatg agggaaatcg tgcacatcca ggctggctcag tgtggcaacc agatcggtgc  
 181 caagtctctgg gaggtgatca gtgatgaaca tggcatcgac cccaccggca cctaccacgg  
 241 ggacagcgac ctgcagctgg accgcatctc tgtgtactac aatgaagcca caggtggcaa  
 301 atatgttctc ctgtccatcc tgggtgatct agaacctggg accatggact ctgttcgctc  
 361 aggtctcttt ggccagatct ttagaccaga caactttgta tttggctcag ctggggcagg  
 421 taacaactgg gccaaaggcc actacacaga gggcgccgag ctggttgatt ctgtcctgga  
 481 tgtggtacgg aaggaggcag agagctgtga ctgcctgcag ggcttccagc tgaccactc  
 541 actgggcggg ggcacaggct ctggaatggg cactctcctt atcagcaaga tccgagaaga  
 601 ataccctgat cgcattcatga ataccctcag tgtggtgcct tcacccaaag tgtctgacac  
 661 cgtggctcag ccctacaatg ccaccctctc cgtccatcag ttggtagaga atactgatga

```

721 gacctattgc attgacaacg aggccctcta tgatatctgc ttccgcactc tgaagctgac
781 cacaccaacc tacggggatc tgaaccacct tgtctcagcc accatgagtg gtgtcaccac
841 ctgcctccgt ttccctggcc agctcaatgc tgacctccgc aagttggcag tcaacatggt
901 ccccttccca cgtctccatt tctttatgcc tggctttgcc cctctcacca gccgtggaag
961 caagcagtat cgagctctca cagtgccgga actcaccagg caggtcttcg atgccaaaga
1021 catgatggct gctgtgacc cccgccacgg ccgatacctc accgtggctg ctgtcttcgg
1081 tggtcggatg tccatgaagg aggtcgatga gcagatgctt aacgtgcaga acaagaacag
1141 cagctacttt gtggaatgga tccccaacaa tgtcaagaca gccgtctgtg acatcccacc
1201 tcgtggcctc aagatggcag tcaccttcat tggcaatagc acagccatcc aggagctctt
1261 caagcgcac tcggagcagt tcaactgccat gttccgcagg aaggccttcc tccactggta
1321 cacaggcgag ggcattggac agatggagtt caccgaggct gagagcaaca tgaacgacct
1381 cgtctctgag tatcagcagt accaggatgc caccgcagaa gaggaggagg atttcgggtg
1441 ggaggccgaa gaggaggcct aaggcagagc ccccatcacc tcaggcttct cagttccctt
1501 agccgtctta ctcaactgcc cctttcctct cctcagaat ttgtgtttgc tgcctctatc
1561 ttgttttttg tttttcttc tggggggggg ctagaacagt gcctggcaca tagtagggcg
1621 tcaataaata cttgtttgtt gaatgtctcc tctctcttcc cactctggga aacctagggt
1681 tctgccattc tgggtgaccc tgtatttctt tctggtgccc attccatttg tccagttaat
1741 acttcctctt aaaaatctcc aagaagctgg gtctccagat cccatttaga accaaccagg
1801 tgctgaaaac acatgtagat aatggccatc atcctaagcc caaagtagaa aatggtagaa
1861 ggtagtgggt agaagtcact atataaggaa ggggatggga ttttccattt taaaagtatt
1921 ggtaggggaa atccaggcta ttaaagtcac taatttctta agtatgtcca tttcccatct
1981 cagcttcaag ggaggtgtca gcagtattat ctccactttc aatctccctc caagctctac
2041 tctggaggag tctgtccacc tctgtcaagt ggaatccttc cctttccaac tctacctccc
2101 tcaactcagct cctttccctt gatcagagaa agggatcaag ggggttggga ggggggaaag
2161 agcagcgct tggtccttaa gcctccagaa acgtcttctt aatccccacc ttttcttact
2221 cccaaaaaag aatgaacacc cctgactctg gagtgggtga tactgccaca tcagtgtttg
2281 agtcagtcac cagaggagag ggaaccctc ctccatcttt tttgcaacat ctcatctctt
2341 ccttttgctg ttgcttcccc cctcacacac ttggttttgt tctatcctac atttgagatt
2401 tctattttat gttgaacttg ctgctttttt tcatattgaa aagatgacat cgcccaaga
2461 gccaaaaata aatgggaatt gaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa

```

//

34. UBE21: UBE2I конъюгированный с убиквитином фермент E2I [ Homo sapiens ]

ЛОКУС NM\_003345 (вариант 1)

AK/трансляция="MSGIALSRLAQERKAWRKDHFFGFVAVPTKNPDGTMNLMNWECA

IPGKKGTPEWGGGLFKLRMLFKDDYPSSPPKCKFEPPLFHPNVYPSGTVCLSLIEDKD

WRPAITIKQILLGIQELLNEPNIQDPAQAEAYTIYCQNRVEYEKRVRAQAKKFAPS

кДНК: 1 gcccgcgcca gggtcctcgg agctgctctg gctgcgcgcg gagcgggctc cggaggggaag

```

61 tcccagagaca aagggaagcg ccgccgccgc cgcgccgctc ggtcctccac ctgtccgcta
121 cgctcgccgg ggctgcggcc gcccgaggga ctttgaacat gtcggggatc gccctcagca
181 gactcgccca ggagaggaaa gcatggagga aagaccacc atttggtttc gtggctgtcc
241 caacaaaaaa tcccgatggc acgatgaacc tcatgaactg ggagtgcgcc attccaggaa
301 agaaagggac tccgtgggaa ggaggcttgt taaactacg gatgcttttc aaagatgatt
361 atccatcttc gccacaaaa tgtaaattcg aaccaccatt atttcaccg aatgtgtacc
421 cttcggggac agtgtgcctg tccatcttag aggaggacaa ggactggagg ccagccatca
481 caatcaaaaa gatcctatta ggaatacagg aacttctaaa tgaacaaat atccaagacc
541 cagctcaagc agaggcctac acgatttact gccaaaacag agtggagtac gagaaaagg
601 tccgagcaca agccaagaag ttgcgccct cataagcagc gaccttgttg catcgtcaaa
661 aggaagggat tggtttgga agaacttgtt tacaacattt ttgcaaatct aaagtgtctc
721 catacaatga ctagtacact gggggggttg ggcgggcgcc atcttccatt gccgcccggg
781 gtgtgcggtc tcgattcgct gaattgcccg ttccataca ggtctcttc ctctggtctt
841 ttgtattttt gattgttatg taaaactcgc ttttatttta atattgatgt cagtatttca
901 actgctgtaa aattataaac ttttataact gggtaaagtcc ccaggggcg agttcctcgc
961 tctgggatgc aggcattgct ctaccgtgc agagctgcac ttggcctcag ctggctgtat
1021 ggaatgcac cctccctcct gccgctcctc tctagaacct tctagaacct gggctgtgct
1081 gcttttgagc ctacagcccc aggtcagcat ctcggttctg cgccacttcc tttgtgttta
1141 tatggcggtt tgtctgtgtt gctgtttaga gtaaaaaaac tgtttatata aaggttttgg
1201 ttgcattatt atcattgaaa gtgagaggag gcggcctccc agtgcccgc cctccccacc
1261 cacctgcagc cccaccgcgg gccaggacca ggctctccat ctgcttcgga tgcacgcagg

```

```

1321 ctgtgaggct ctgtcttgcc ctggatcttt gtaaacaggg ctgtgtacaa agtgcgtgctg
1381 aggtttctgt gctccccgca tctgcgggct gtagagcgct gggcagctaa gatctgcata
1441 ggtcgggatt ggcatcgaga ccctggcaac tgcaccgggt ccagctgtct tgggggcccac
1501 aaggccagggt ccagaccagg gctgggggct gctgaggac tcctatccgg gcagcctgct
1561 ggcgggggtt cccctcttca gtggccagggt cacagggatg gagctgcgct gtgcataggg
1621 tgccacctca ggtgtctgtc ccttgtgtcc tcaggaggca gccttgctac caccctgggc
1681 aaacgccagg tgctttttct gggagagccc acagccgtgg ccctccaggg cttccccgac
1741 ccttagcgcc aggtagaggg ccctgggcag cctgtgtctg gaattcttcg tcctgaggcc
1801 acctgagtgt ggtctgtcct ggggaggctg tgcgcctcag cagccgtcct gacgtgagc
1861 cctctgcaaa ggttgggccc gccaggcctc ttggggctgc ctgagccact gcaggaagt
1921 gcctggctgg gaagtgggt gccggtcacc tcccagcagg aaggcacagt ggacagagat
1981 gggaagccct gggggacaca gcccggtgct cccagccctc caacctctgg ctcccaccc
2041 agtctcccca tcctagcgag cttggccctc ctgagtttcg tttcaagcct tggggctgga
2101 gctggccctg ctgccctggc acccccgggt ggctggagct ggggtcccct ggcccaagt
2161 cagggtccca agagggcagg ggcgggctcc ccaaaggagc aaagaatgca gggagggcgg
2221 tccagggccc tggaaggagg agctcggcac cctccaggtc cgtgtgggac tccagccgct
2281 gttggctggg aatcgaaagt agaggtagt tccaaaggcc ccccgagccg gcagtgtccc
2341 ccaccacccc tccagcgact ctgcggtgcc agtgccctgt tggcttttcc ggctacgcac
2401 cctgcagtca ctgagctctc ggtctgacgt ctgatgtttg tggtttgttt ataacacggg
2461 gccttacctg ggaattcag ctggtttgaa tattttagc ccgctcccag aatgtcttat
2521 tttgtaatga ctgaactaca tttagtaata gttacacatg tataatggtt atacatatgg
2581 aaattcaata tattttagt ttaacgtatt ctgaagtaac ggatgtttct cgccaatcgt
2641 agtgacttca gtaaacgaaa tgtcttttg tagtaccacg gtcctcggcc taacgaagga
2701 cgtgaacctt gtaagaggag agctctgaaa cgcggtcacc tttgttttag ggaagggaaa
2761 gttgtttccc ggcatgaggt gcctcggaat tagtaagaaa ttgtgggcaa tggattaacc
2821 actgtatcta agaattccacc attaaagcat ttgcacagac aaaaaaaaaa a

```

//

ЛОКУС NM\_194259 (вариант 2)  
 АК/ трансляция="MSGIALSRLAQERKAWRKDHPFGFVAVPTKNPDGTMNLMNWECA  
 IPGKKGTPEWGGFLFKLRMLFKDDYPSSPKCKFEPPLFHPNVYPSGTVCLSILEEDKD  
 WRPAITIKQIILLGIQELNEPNIQDPAQAEAYTIYCQNRVEYEKRVRAQAKKEAPS

кДНК:

```

1 gcccgcgcca gggtcctcgg agctgctctg gctgcgcgcg gagcggggctc cggaggggaa
61 tcccagagaca aagggaagcg ccgcgcgcgc cgcgccgctc ggtcctccac ctgtccgcta
121 cgctcgccgg ggtgcgggcc gcccgaggct gccctgagga tctgtgtttg gtgaaaaggga
181 gccaaattca cctgcagggc agcgggctct agcagcttca gaagcctggg gccctggcga
241 cactggacct gccttggtct ctttgatccc aaccccaccc ccgatttctg ctctgctgac
301 tggggaagtc atcgtgccac ccagaacctg agtgcggggc tctcagagct ccttcgtccg
361 tgggtctgcc ggggactggg ccttgtctcc ctaacgagtg ccagggactt tgaacatgtc
421 ggggatcgcc ctcagcagac tcgcccagga gaggaaagca tggaggaaaag accacccatt
481 tggtttcgtg gctgtcccaa caaaaaatcc cgatggcacg atgaacctca tgaactggga
541 gtgcgccatt ccaggaaaaga aagggactcc gtgggaagga ggcttgttta aactacggat
601 gcttttcaaa gatgattatc catcttcgcc accaaaatgt aaattcgaac caccattatt
661 tcacccgaat gtgtaccctt cggggacagt gtgcctgtcc atcttagagg aggacaagga
721 ctggaggcca gccatcacaa tcaaacagat cctattagga atacaggaac ttctaataga
781 accaaatatc caagaccag ctcaagcaga ggctacacg atttactgcc aaaacagagt
841 ggagtacgag aaaagggtcc gagcacaagc caagaagttt gcgccctcat aagcagcgac
901 cttgtggcat cgtcaaaagg aagggattgg tttggcaaga acttgtttac aacatttttg
961 caaatctaaa gttgtccat acaatgacta gtcacctggg ggggttgggc ggggcccatc
1021 ttccattgcc gccgcgggtg tgcggtctcg attcgtgaa ttgcccgttt ccatacaggg
1081 tctcttctct cggctctttg tatttttgat tgttatgtaa aactcgcttt tattttaata
1141 ttgatgtcag tatttcaact gctgtaaaat tataaacttt tatacttggg taagtccccc
1201 aggggcgagt tcctcgctct gggatgcagg catgcttctc accgtgcaga gctgcacttg
1261 gcctcagctg gctgtatgga aatgcacct cctcctgcc gtcctctctc agaaccttct
1321 agaacctggg ctgtgctgct tttgagcctc agaccccagg tcagcatctc ggttctgcgc
1381 cacttctctt gtgtttatat ggcgttttgt ctgtgttgct gtttagagta aataaaactgt
1441 ttatataaag gttttggtg cattattatc attgaaagt agaggaggcg gcctcccagt
1501 gcccggccct cccacccac ctgcagcccc accgcgggcc aggaccaggc tctccatctg
1561 cttcgatgc acgcaggctg tgaggctctg tcttgccctg gatctttgta aacagggctg
1621 tgtacaaaagt gctgctgagg tttctgtgct ccccgcatct gcgggctgta gagcgtggg

```

```

1681 cagctaagat ctgcataggt cgggattggc atcgagaccc tggcaactgc accggtgcc
1741 gctgtcttgg gggccacaag gccaggtcca gaccagggct gggggctgcc tgaggactcc
1801 tatccgggca gcctgctggc gggggttccc ctcttcagtg gccaggtcac agggatggag
1861 ctgcgctgtg cataggggtg caccctcaggt gtctgtccct tgtgtcctca gggagcagcc
1921 ttgctaccac ccgtggcaaa cggcaggtgc tttttctggg agagcccaca gccgtggccc
1981 tccagggctt ccccgaccct tagcgccagg tagagggccc tgggcagcct gtgtctggaa
2041 ttcttcgtcc tgaggccacc tgagtgtggt ctgtcctggg gaggtgtgac gcctcagcag
2101 ccgtcctgac gctgagccct ctgcaaaggc tgggccggcc aggcctcttg gggctgectg
2161 agccactgca ggaagtggcc tggctgggaa gttgggtgcc ggtcacctcc cagcaggaag
2221 gcacagtgga cagagatggg aagccctggg ggacacagcc cgggtgctccc agccctccaa
2281 cctctggctc ccaacccagt ctccccatcc tagcgagctt ggcctctctc agtttcgttt
2341 caagccttgg gcttggagct gccctgtctg ccctggcacc ccccggtggc tggagctggg
2401 tccccgtggc ccaagtgcag ggtcccaaga gggcagggcg gggctcccca aaggagcaaa
2461 gaatgcaggg agggcggtcc agggccctgg gaaggggagc tcggcaccct ccaggtccgt
2521 gtgggactcc agccgctgtt ggctgggaat cgaagttaga ggtgacttcc aaaggccccc
2581 cgagccggca gtgcccccca ccaccctcc agcgactctg cgggtgccag ctgcttggg
2641 cttttccggc tacgcaccct gcagtcactg agctctcggt ctgacgtctg atgtttgtgg
2701 tttgtttata acacggggcc ttacctgggg aattcagctg gtttgaatat ttgtagcccg
2761 ctcccagaat gtcttatttt gtaatgactg aactacattt agtaatagtt acacatgtat
2821 atgggttaata catatggaaa ttcaatatat tttgtagtta acgtattctg aagtaacgga
2881 tgtttctcgc caatcgtagt gacttcagct aacgaaatgt tctttgttag taccacggtc
2941 ctccggcctaa cgaaggacgt gaaccttgta agaggagagc tctgaaacgc ggtcaccttt
3001 gtttagtgga agggaaagtg tgttcccgcc atgaggtgcc tcggaattag taaagaattg
3061 tgggcaatgg attaaccaact gtatctaaga atccaccatt aaagcatttg cacagacaaa
3121 aaaaaaaa
//

```

ЛОКУС NM\_194260 (вариант 3)  
 AK/трансляция="MSGIALSRLAQERKAWRKDHPFGFVAVPTKNPDGTMNLMNWECA  
 IPGKKGTPEWEGGLFKLRMLFKDDYPSPPKCKFEPPLFHPNVYPSGTVCLSILEEDKD  
 WRPAITIKQILLGIQELLNEPNIQDPAQAEAYTIYCQNRVEYEKRVRAQAKKFAPS

кДНК:

```

1 аactcgcggg agcgtcaccc tcttgcgacg cttcagagga tccttaggcc tcagtggctc
61 ttgacccccg gccccaggac ctgaccccaa ggaaacctcc gggacctgtg gctggagagg
121 tgaccgccag gcatccgggg agccttttga gatctcggct tcctttttcc cccgctgctt
181 gccggcgtgt cctcggttgg acgcgggcag cccgaagggg agtttacaga cgctccctca
241 catcggggac gcggctcctt taagggcgga ctttgaacat gtcggggatc gccctcagca
301 gactcgccca ggagaggaaa gcatggagga aagaccaccc atttggtttc gtggctgtcc
361 caacaaaaaa tccgatggc acgatgaacc tcatgaactg ggagtgcgcc attccaggaa
421 agaaagggac tccgtgggaa ggaggcttgt ttaaactacg gatgcttttc aaagatgatt
481 atccatcttc gccaccaaaa tgtaaatctg aaccaccatt atttcaccgg aatgtgtacc
541 cttcggggac agtgtgcctg tccatcttag aggaggacaa ggactggagg ccagccatca
601 caatcaaaaa gatcctatta ggaatacagg aacttctaaa tgaaccaa atccaagacc
661 cagctcaagc agaggcctac acgatttact gccaaaacag agtggagtac gagaaaaggg
721 tccgagcaca agccaagaag tttgcgccct cataagcagc gacctgtgtg catcgtcaaa
781 aggaagggat tggtttgcca agaacttgtt tacaacattt ttgcaaact aaagtgtctc
841 catacaatga ctagtacact gggggggttg ggcggggcgc atcttccatt gccgcgcgg
901 gtgtgcggtc tcgattcgct gaattgcccg tttccataca gggctctctc cttcggtctt
961 ttgtattttt gattgttatg taaaactcgc ttttatttta atattgatgt cagtatttca
1021 actgctgtaa aattataaac ttttatactt gggtaagtcc cccagggggc agttcctcgc
1081 tctgggatgc aggcattgct ctcaccgtgc agagctgcac ttggcctcag ctggctgtat
1141 ggaatatgac cctccctcct gccgctcctc tctagaacct tctagaacct gggctgtgct
1201 gcttttgagc ctcagacccc aggtcagcat ctcggttctg cggcacttcc tttgtgttta
1261 tatggcggtt tgtctgtgtt gctgtttaga gtaataaac tgtttatata aaggttttgg
1321 ttgcattatt atcattgaaa gtgagaggag gcggcctccc agtgcccggc cctccccacc
1381 caccctgacg cccaccggcg gccaggacca ggctctccat ctgcttcgga tgcaagcagg
1441 ctgtgaggct ctgtcttgcc ctggatcttt gtaaacaggg ctgtgtacaa agtgcgtgctg
1501 aggtttctgt gctccccgca tctgcgggct gtagagcgct gggcagctaa gatctgcata
1561 ggtcgggatt ggcacgcaga ccctggcaac tgcaaccgtg ccagctgtct tgggggccac
1621 aaggccaggc ccagaccagg gctgggggct gcctgaggac tcctatccgg gcagcctgct
1681 ggcggggggt cccctcttca gtggccaggc cacagggatg gagctgcgct gtgcataggg

```

```

1741 tggcacctca ggtgtctgtc ccttgtgtcc tcaggaggca gccttgctac caccctgtgc
1801 aaacgccagg tgctttttct gggagagccc acagccgtgg ccctccaggg cttccccgac
1861 ccttagcgcc aggtagaggg ccctgggcag cctgtgtctg gaattcttcg tctcgaggcc
1921 acctgagtgt ggtctgtcct ggggaggctg tgcgcctcag cagccgtcct gacgctgagc
1981 cctctgcaaa ggttgggccc gccaggcctc ttggggctgc ctgagccact gcaggaagtg
2041 gcctggctgg gaagtgggt gccggtcacc tcccagcagg aaggcacagt ggacagagat
2101 gggaagccct gggggacaca gcccggtgct ccagccctc caacctctgg cttcccaacc
2161 agtctcccca tcctagcgag cttggccctc ctcagtttcg tttcaagcct tggggctgga
2221 gctggccctg ctgccctggc acccccgggt ggctggagct ggggtcccggt ggcccaagtg
2281 caggggtcca agagggcagg gcggggctcc ccaaaggagc aaagaatgca gggagggcgg
2341 tccagggccc tggaagggg agctcggcac cctccaggtc cgtgtgggac tccagccgct
2401 gttggctggg aatcgaagtt agaggtgact tccaaaggcc ccccagccg gcagtgcctc
2461 ccaccacccc tccagcgact ctgcggtgcc agtgctttgt tggcttttcc ggctacgcac
2521 cctgcagtca ctgagctctc ggtctgacgt ctgatgtttg tggttgtttt ataacacggg
2581 gccttacctg gggaaattcag ctggtttgaa tattgttagc ccgctcccag aatgtcttat
2641 tttgtaataa ctgaactaca tttagtaata gttacacatg tatatggtta atacatatgg
2701 aaattcaata tattttgtag ttaacgtatt ctgaagtaac ggatgtttct cgccaatcgt
2761 agtgacttca gctaacgaaa gtctcttttg tagtaccacg gtcctcgccg taacgaagga
2821 cgtgaacctt gtaagaggag agctctgaaa cgcggtcacc tttgtttagt ggaagggaaa
2881 gtgtgttccc ggcatgaggt gcctcggaat tagtaagaa ttgtgggcaa tggattaacc
2941 actgtatcta agaattccacc attaaagcat ttgcacagac aaaaaaaaa a
//

```

ЛОКУС NM\_194261 (вариант 4)  
 АК/трансляция="MSGIALSRLAQERKAWRKDIIPFGFVAVPTKNPDGTMNLMNWECA  
 IPGKKGTPEWGGGLFKLRMLFKDDYPSSPKCKFEPPLFHPNVYPSGTVCLSILEEDKD  
 WRPAITIKQILLGIQELLNEPNIQDPAQAEAYTIYCQNRVEYEKRVRAQAKKFAPS

кДНК: 1 aactcgcggg agcgtcaccg tcctgcgacg cttcagagga tccttagggc tcagtgggtc

```

61 ttgacccccg gccccaggac ctgaccccaa ggaacacctc gggacctgtg gctggagagg
121 gactttgaac atgtcgggga tcgcctcag cagactcgcc caggagagga aagcatggag
181 gaaagaccac ccatttggtt tcgtggctgt cccaacaaaa aatcccgatg gcacgatgaa
241 cctcatgaac tgggagtgcg ccattccagg aaagaaaggg actccgtggg aaggaggctt
301 gtttaaaacta cggatgcttt tcaaagatga ttatccatct tcgccaccaa aatgtaattt
361 cgaaccacca ttatttcacc cgaatgtgta cccttcgggg acagtgtgcc tgtccatctt
421 agaggaggac aaggactgga ggcagccat cacaatcaaa cagatcctat taggaatata
481 ggaacttcta aatgaaccaa atatccaaag ccagctcaa gcagagggct acagatttta
541 ctgcaaaaac agagtggagt acgagaaaag ggtccgagca caagccaaga agtttgcgcc
601 ctcataagca gcgaccttgt ggcatcgcca aaaggaaggg attggtttgg caagaacttg
661 tttacaacat ttttgcaaat ctaaagttgc tcatacaat gactagtcat ctgggggggt
721 tggcgggcgg ccatcttcca ttgcgcgcgc ggtgtgtcgg tctcgattcg ctgaattgcc
781 cgtttccata caggttctct tccttcggtc ttttgtattt ttgattgtta tgtaaaactc
841 gcttttattt taatatgtat gtcagtattt caactgtgtg aaaattataa actttttatac
901 ttgggtaagt ccccaggggg cgagttcctc gctctgggat gcaggcatgc ttctcacggt
961 gcagagctgc acttggcctc agctggctgt atggaaatgc accctccctc ctgcccgtcc
1021 tctctagaac cttctagaac ctgggctgtg ctgcttttga gcctcagacc ccaggtcagc
1081 atctcggttc tgccccaact cttttgtgtt tatatggcgt tttgtctgtg ttgctgttta
1141 gagtaataaa actgtttata taaaggtttt gtttgcatat tatcattga aagtgaagg
1201 agggcgccct ccagtgcccg gccctcccca cccacctgca gcccaccgcg gggccaggac
1261 caggctctcc atctgcttcg gatgcacgca ggctgtgagg ctctgtcttg cctcggtact
1321 ttgtaaacag ggctgtgtac aaagtgtgct tgaggtttct gtgctccccg catctgcggg
1381 ctgtagagcg ctggcgagct aagatctgca taggtcggga ttggcatcga gacctcgca
1441 actgcaccgg tgccagctgt cttgggggcc acaaggccag gtccagacca gggctggggg
1501 ctgcctgagg actcctatcc gggcagcctg ctggcggggg tccccctctt cagtggccag
1561 gtcacaggga tggagctgct ctgtgcatag ggtgccacct caggtgtctg tcctttgtgt
1621 cctcaggagg cagccttgct accaccgtg gcaaacgcca ggtgcttttt ctgggagagc
1681 ccacagccgt ggcctccag ggttccccg acccttagcg ccaggtagag ggccctgggc
1741 agcctgtgtc tggaattctt cgtcctgagg ccacctgagt gtggtctgtc ctggggaggc
1801 tgtgcgctc agcagccgtc ctgacgctga gccctctgca aaggttggg cgccaggcc
1861 tcttggggct gcctgagcca ctgcaggaag tggcctggct gggaagtgg cgtccggtca
1921 cctcccagca ggaaggcaca gtggacagag atgggaagcc ctgggggaca cagcccggtg
1981 ctcccagccc tccaacctct ggctcccaac ccagtctccc catcctagcg agcttggccc
2041 tcctcagttt cgtttcaagc cttggggctg gagctggccc tgcgtgccctg gcaccccccg
2101 gtggctggag ctgggtcccc gtggcccaag tgcagggtcc caagagggca gggcggggct
2161 ccccaaagga gcaaagaatg cagggagggc ggtccagggc cctgggaagg ggagctcggc
2221 accctccagg tccgtgtggg actccagccg ctggttgctg ggaatcgaag ttagaggtga
2281 cttccaaaag cccccgagc cggcagtgcc cccaccacc cctccagcga cctgcggtg
2341 ccagtgcctt gttggctttt ccggctacgc accctgcagt cactgagctc tcggtctgac
2401 gtctgatgtt tgtggtttgt ttataaacag gggccttacc tggggaattc agctggtttg
2461 aatatttgta gccgcctccc agaattgtct attttgtaat gactgaacta catttagtaa
2521 tagttacaca tgtatatggt taatacatat ggaattcaa tatattttgt agttaacgta
2581 ttctgaagta acggatgttt ctgcgcaatc gtagtgactt cagctaacga aatgttctt
2641 tgtagtacca cggctcctcg ctaacgaag gacgtgaacc ttgtaagagg agagctctga
2701 aacgggttca cttttgttta gtggaaggga aagtgtgttc ccggcatgag gtgcctcgga
2761 attagtaaag aattgtgggc aatggattaa ccactgtatc taagaatcca ccattaaagc
2821 atttgcacag acaaaaaaaaa aaa
//

```

## ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ для идентификации модулятора биологической системы, включающий:

(1) получения первого набора данных от модели для биологической системы, причем модель для биологической системы содержит клетки, связанные с биологической системой, причем первый набор данных представляет собой протеомные изменения в клетках, связанных с биологической системой;

(2) получение второго набора данных от модели для биологической системы, причем второй набор данных представляет собой одну или более функциональных активностей или клеточных ответов этих клеток, связанных с биологической системой, причем указанная одна или более функциональных активностей или клеточных ответов клеток включает ферментативную активность и/или эффект активности ферментов на метаболиты или субстраты ферментов в клетках, связанных с биологической системой;

(3) создание первой модели сети причинно-следственных связей, основанной на одной или более байесовских сетях причинно-следственных связей между протеомными изменениями и одной или более функциональными активностями или клеточными ответами, основанными исключительно на первом и втором наборе данных с использованием запрограммированной вычислительной системы, причем создание первой модели сети причинно-следственных связей не основано на любых известных биологических связях, отличных от первого и второго наборов данных, и причем создание первой модели сети причинно-следственных связей включает

создание библиотеки фрагментов сети и определение вероятностного показателя, связанного с каждым фрагментом сети, на основании первого набора данных и второго набора данных;

создание ансамбля пробных сетей, причем каждая пробная сеть конструируется из другого подмножества библиотеки фрагментов сети; и

оптимизация ансамбля пробных сетей путем развития каждой пробной сети через локальные преобразования;

(4) создание дифференциальной сети причинно-следственных связей из первой модели сети причинно-следственных связей и второй модели сети причинно-следственных связей на основании данных о контрольных клетках; и

(5) идентификацию причинно-следственной связи, уникальной в биологической системе, из созданной дифференциальной сети причинно-следственных связей, причем по меньшей мере один фермент, связанный с уникальной причинно-следственной связью, идентифицируется в качестве модулятора биологической системы.

2. Способ для идентификации модулятора патологического процесса, включающий:

(1) получения первого набора данных от модели для патологического процесса, причем модель для патологического процесса содержит связанные с заболеванием клетки, и причем первый набор данных представляет собой протеомные изменения в связанных с заболеванием клетках;

(2) получение второго набора данных от модели, причем второй набор данных представляет собой одну или более функциональных активностей или клеточных ответов связанных с заболеванием клеток, причем указанная одна или более функциональных активностей или клеточных ответов связанных с заболеванием клеток включает ферментативную активность и/или эффект активности ферментов на метаболиты или субстраты ферментов в связанных с заболеванием клетках;

(3) создание первой модели сети причинно-следственных связей, основанной на одной или более байесовских сетях причинно-следственных связей между протеомными изменениями и одной или более функциональными активностями или клеточными ответами связанных с заболеванием клеток, основанными исключительно на первом и втором наборе данных с использованием запрограммированной вычислительной системы, причем создание первой модели сети причинно-следственных связей не основано на любых известных биологических связях, отличных от первого и второго наборов данных, и причем создание первой модели сети причинно-следственных связей включает

создание библиотеки фрагментов сети и определение вероятностного показателя, связанного с каждым фрагментом сети, на основании первого набора данных и второго набора данных;

создание ансамбля пробных сетей, причем каждая пробная сеть конструируется из другого подмножества библиотеки фрагментов сети; и

оптимизация ансамбля пробных сетей путем развития каждой пробной сети через локальные преобразования;

(4) создание дифференциальной сети причинно-следственных связей из первой модели сети причинно-следственных связей и второй модели сети причинно-следственных связей на основании данных о контрольных клетках; и

(5) идентификацию причинно-следственной связи, уникальной в патологическом процессе, из дифференциальной сети причинно-следственных связей, причем по меньшей мере один фермент, связанный с уникальной причинно-следственной связью, идентифицируется в качестве модулятора патологического процесса.

3. Способ по п.1 или 2, при котором первый набор данных дополнительно содержит липидомные данные, характеризующие клетки, связанные с биологической системой, или патологический процесс.

4. Способ по п.3, при котором первая модель сети причинно-следственных связей создается между протеомными изменениями, липидными данными, а также одной или более функциональными активностями или клеточными ответами клеток, причем указанная одна или более функциональных активностей или клеточных ответов клеток, связанных с биологической системой, или связанных с заболеванием клеток, и причем указанная одна или более функциональных активностей или клеточных ответов клеток включает ферментативную активность и/или эффект ферментативной активности на по меньшей мере один метаболит или субстрат фермента.

5. Способ по п.1 или 2, при котором первый набор данных дополнительно содержит один или более из липидных, метаболомических, транскриптомных, геномных и SNP данных, характеризующих клетки, связанные с биологической системой, или связанные с заболеванием клетки.

6. Способ по п.1 или 2, при котором первый набор данных дополнительно содержит два или более из липидных, метаболомических, транскриптомных, геномных и SNP данных, характеризующих клетки, связанные с биологической системой, или связанные с заболеванием клетки.

7. Способ по любому из п.5 или 6, при котором первая модель сети причинно-следственных связей создается среди протеомных изменений, одних или более из липидных, метаболомических, транскриптомных, геномных и SNP данных и одной или более функциональными активностями или клеточными ответами клеток, связанных с биологической системой, или связанных с заболеванием клеток, и причем указанная одна или более функциональных активностей или клеточных ответов клеток, связанных с биологической системой, или связанных с заболеванием клеток, включает ферментативную активность и/или эффект ферментативной активности на по меньшей мере один метаболит или субстрат фермента.

8. Способ по любому из пп.1-7, при котором глобальная ферментативная активность включает киназную активность.

9. Способ по любому из пп.1-8, при котором эффект от ферментативной активности на метаболиты или субстраты ферментов включает фосфопротеом клеток.

10. Способ по любому из пп.1-9, при котором по меньшей мере одна киназа, связанная с уникальной причинно-следственной связью, идентифицируется в качестве модулятора биологической системы или патологического процесса.

11. Способ по любому из пп.1-10, при котором второй набор данных дополнительно включает данные, указывающие на одно или более из пролиферации клеток, апоптоза, миграции клеток, формирования трубки, хемотаксиса, деградации внеклеточного матрикса, прорастания, уровня аденозинтрифосфата (АТФ), уровня активных форм кислорода (АФК), уровня окислительного фосфорилирования (OXPHOS), уровня скорости потребления кислорода (OCR) и уровня коэффициента внеклеточного закисления (ECAR).

12. Способ по любому из пп.1-11, при котором первая модель сети причинно-следственных связей создается среди протеомных изменений, одних или более из липидных, метаболомических, транскриптомных, геномных и SNP данных, и одной или более функциональными активностями или клеточными ответами клеток, и причем упомянутая одна или более функциональных активностей или клеточных ответов клеток включает ферментативную активность и/или эффект ферментативной активности на по меньшей мере один метаболит или субстрат фермента и дополнительно включает данные, указывающие на одно или более из пролиферации клеток, апоптоза, миграции клеток, формирования трубки, хемотаксиса, деградации внеклеточного матрикса, прорастания, уровня аденозинтрифосфата (АТФ), уровня активных форм кислорода (АФК), уровня окислительного фосфорилирования (OXPHOS), уровня скорости потребления кислорода (OCR) и уровня коэффициента внеклеточного закисления (ECAR).

13. Способ по любому из пп.1 и 3-12, при котором модель биологической системы содержит связанную с биологической системой культуру клеток *in vitro*.

14. Способ по п.13, при котором данные о контрольных клетках получают из соответствующей культуры контрольных клеток *in vitro*.

15. Способ по п.14, при котором модель биологической системы, содержащая культуру клеток *in vitro*, связанных с биологической системой, подвергается возмущающему воздействию окружающей среды, и культура *in vitro* соответствующих контрольных клеток не подвергается возмущающему воздействию окружающей среды.

16. Способ по любому из пп.2-12, при котором модель для патологического процесса содержит культуру связанных с заболеванием клеток *in vitro*.

17. Способ по п.16, при котором данные о контрольных клетках получают из соответствующей культуры контрольных клеток *in vitro*.

18. Способ по п.17, при котором модель для патологического процесса, содержащая культуру связанных с заболеванием клеток *in vitro*, подвергается возмущающему воздействию окружающей среды, и соответствующая культура *in vitro* контрольных клеток не подвергается возмущающему воздействию окружающей среды.

19. Способ по п.15 или 18, при котором возмущающее воздействие окружающей среды включает одно или более из контакта с биологически активным средством, изменения условий культивирования,

введения генетической модификации/мутации и введения наполнителя, который вызывает генетическую модификацию/мутацию.

20. Способ по п.19, при котором возмущающее воздействие окружающей среды включает контактирование клеток с ингибитором ферментативной активности.

21. Способ по п.20, при котором ингибитор ферментативной активности представляет собой ингибитор киназы.

22. Способ по п.18, при котором возмущающее воздействие окружающей среды включает контактирование клеток с CoQ10.

23. Способ по п.20, при которых возмущающее воздействие окружающей среды дополнительно включает контактирование клетки с CoQ10.

24. Способ по п.1 или 2, при котором запрограммированная вычислительная система получает все входные данные от первого и второго наборов данных, не применяя статистическую пороговую величину.

25. Способ по п.1 или 2, при котором первая модель сети причинно-следственных связей дополнительно дорабатывается путем моделирования *in silico* на основе входных данных, чтобы обеспечить уровень достоверности предположения для одной или более причинно-следственных связей внутри первой модели сети причинно-следственных связей, и причем входные данные содержат некоторые или все данные в первом наборе данных и во втором наборе данных.

26. Способ по п.1 или 2, при котором уникальная причинно-следственная связь идентифицируется как часть дифференциальной сети причинно-следственных связей, которая уникально присутствует в первой модели сети причинно-следственных связей, основанной на клетках, связанных с биологической системой, или связанных с заболеванием клеток, и отсутствует во второй модели сети причинно-следственных связей, основанной на данных о контрольных клетках.

27. Способ по п.15 или 18, при котором уникальная причинно-следственная связь идентифицируется как часть дифференциальной сети причинно-следственных связей, которая уникально присутствует в первой модели сети причинно-следственных связей, основанной на клетках, подвергнутых возмущающему воздействию окружающей среды, и отсутствует во второй модели сети причинно-следственных связей, основанной на данных о контрольных клетках.

28. Способ по п.1 или 2, дополнительно включающий перед стадией (4) создание второй модели сети причинно-следственных связей на основании данных о контрольных клетках.

29. Способ по п.11, при котором уникальная причинно-следственная связь представляет собой связь между по меньшей мере одной парой, выбранной из группы, состоящей из экспрессии гена и содержания липида; экспрессии гена и содержания транскрипта; экспрессии гена и содержания метаболита; экспрессии первого гена и экспрессии второго гена; экспрессии гена и наличия SNP; экспрессии гена и функциональной активности; содержания липида и содержания транскрипта; содержания липида и содержания метаболита; содержания первого липида и содержания второго липида; содержания липида и наличия SNP; содержания липида и функциональной активности; содержания первого транскрипта и содержания второго транскрипта; содержания транскрипта и содержания метаболита; содержания транскрипта и наличия SNP; содержания первого транскрипта и уровня функциональной активности; содержания первого метаболита и содержания второго метаболита; содержания метаболита и наличия SNP; содержания метаболита и функциональной активности; наличия первого SNP и наличия второго SNP; и наличия SNP и функциональной активности.

30. Способ по п.11, при котором идентифицированная уникальная причинно-следственная связь представляет собой связь между, по меньшей мере, содержанием липида, экспрессией гена и одной или более функциональными активностями, причем функциональная активность представляет собой киназную активность.

31. Способ по п.2, при котором патологический процесс представляет собой злокачественную опухоль, сахарный диабет, ожирение, сердечно-сосудистое заболевание, связанную с возрастом макулярную дегенерацию, диабетическую ретинопатию или воспалительное заболевание.

32. Способ по п.2, при котором патологический процесс включает ангиогенез.

33. Способ по п.2, при котором патологический процесс включает гепатоцеллюлярную карциному, злокачественную опухоль легких, злокачественную опухоль молочной железы, злокачественную опухоль предстательной железы, меланому, карциному, саркому, лимфому, лейкомию, плоскоклеточную карциному, злокачественную опухоль толстой и прямой кишок, злокачественную опухоль поджелудочной железы, злокачественную опухоль щитовидной железы, злокачественную опухоль эндометрия, злокачественную опухоль мочевого пузыря, злокачественную опухоль почек, солидную опухоль, лейкоз, неходжкинскую лимфому или злокачественную опухоль с лекарственной устойчивостью.

34. Способ идентификации модулятора ангиогенеза, включающий:

(1) получение первого набора данных от модели ангиогенеза, причем модель ангиогенеза включает клетки, связанные с ангиогенезом, и причем первый набор данных представляет собой одни или более геномных данных, липидомных данных, протеомных данных, метаболомических данных, транскриптомных данных и данных однонуклеотидного полиморфизма (SNP), характеризующих клетки, связанные с

ангиогенезом;

(2) получение второго набора данных от модели ангиогенеза, причем второй набор данных представляет собой одну или более функциональных активностей или клеточных ответов клеток, связанных с ангиогенезом;

(3) создание первой модели сети причинно-следственных связей, основанной на одной или более байесовских сетях причинно-следственных связей между одним или более из геномных данных, липидомных данных, протеомных данных, метаболомических данных, транскриптомных данных и данных однонуклеотидного полиморфизма (SNP), характеризующих клетки, связанные с ангиогенезом, и одной или более функциональными активностями или клеточными ответами клеток, связанных с ангиогенезом, основанных исключительно на первом наборе данных и втором наборе данных с использованием запрограммированной вычислительной системы, причем создание первой модели сети причинно-следственных связей не основано на любых известных биологических связях, отличных от первого набора данных и второго наборов данных, и причем создание первой модели сети причинно-следственных связей включает

создание библиотеки фрагментов сети и определение вероятностного показателя, связанного с каждым фрагментом сети, на основании первого набора данных и второго набора данных;

создание ансамбля пробных сетей, причем каждая пробная сеть конструируется из другого подмножества библиотеки фрагментов сети; и

оптимизация ансамбля пробных сетей путем развития каждой пробной сети через локальные преобразования;

(4) создание дифференциальной сети причинно-следственных связей из первой модели сети причинно-следственных связей и второй модели сети причинно-следственных связей на основании данных о контрольных клетках; и

(5) идентификацию причинно-следственной связи, уникальной в ангиогенезе, из созданной дифференциальной сети причинно-следственных связей, причем ген, липид, белок, метаболит, транскрипт или SNP, связанные с уникальной причинно-следственной связью, идентифицируются в качестве модулятора ангиогенеза.

35. Способ идентификации модулятора ангиогенеза, включающий:

(1) получение первого набора данных от модели ангиогенеза, причем модель ангиогенеза включает клетки, связанные с ангиогенезом, и причем первый набор данных представляет собой липидомные данные;

(2) получение второго набора данных от модели ангиогенеза, причем второй набор данных представляет собой одну или более функциональных активностей или клеточных ответов клеток, связанных с ангиогенезом;

(3) создание первой модели сети причинно-следственных связей среди липидомных данных и одной или более функциональными активностями или клеточными ответами, основанными исключительно на первом наборе данных и втором наборе данных с использованием запрограммированной вычислительной системы, причем создание первой модели сети причинно-следственных связей не основано на любых известных биологических связях, отличных от первого набора данных и второго наборов данных, и причем создание первой модели сети причинно-следственных связей включает

создание библиотеки фрагментов сети и определение вероятностного показателя, связанного с каждым фрагментом сети, на основании первого набора данных и второго набора данных;

создание ансамбля пробных сетей, причем каждая пробная сеть конструируется из другого подмножества библиотеки фрагментов сети; и

оптимизация ансамбля пробных сетей путем развития каждой пробной сети через локальные преобразования;

(4) создание дифференциальной сети причинно-следственных связей из первой модели сети причинно-следственных связей и второй модели сети причинно-следственных связей на основании данных о контрольных клетках; и

(5) идентификацию причинно-следственной связи, уникальной в ангиогенезе, из созданной дифференциальной сети причинно-следственных связей, причем липид, связанный с уникальной причинно-следственной связью, идентифицируется в качестве модулятора ангиогенеза.

36. Способ по п.34 или 35, при котором второй набор данных, представляющий собой одну или более функциональных активностей или клеточных ответов клеток, связанных с ангиогенезом, содержит ферментативную активность и/или эффект ферментативной активности на метаболиты или субстраты ферментов в клетках, связанных с ангиогенезом.

37. Способ идентификации модулятора ангиогенеза, включающий:

(1) получение первого набора данных от модели ангиогенеза, причем модель ангиогенеза включает клетки, связанные с ангиогенезом, и причем первый набор данных представляет собой одни или более из геномных данных, липидомных данных, протеомных данных, метаболомических данных, транскриптомных данных и данных однонуклеотидного полиморфизма (SNP), характеризующих клетки, связанные с ангиогенезом;

(2) получение второго набора данных от модели ангиогенеза, причем второй набор данных представляет собой одну или более функциональных активностей или клеточных ответов клеток, связанных с ангиогенезом, причем одна или более функциональных активностей или клеточных ответов включает ферментативную активность и/или эффект ферментативной активности на метаболиты или субстраты ферментов в клетках, связанных с ангиогенезом;

(3) создание первой модели сети причинно-следственных связей среди одних или более из геномных данных, липидомных данных, протеомных данных, метаболомических данных, транскриптомных данных и данных однонуклеотидного полиморфизма (SNP), характеризующих клетки, связанные с ангиогенезом, и одной или более функциональными активностями или клеточными ответами клеток, связанных с ангиогенезом, основанных исключительно на первом наборе данных и втором наборе данных с использованием запрограммированной вычислительной системы, причем создание первой модели сети причинно-следственных связей не основано на любых известных биологических связях, отличных от первого набора данных и второго наборов данных, и причем создание первой модели сети причинно-следственных связей включает

создание библиотеки фрагментов сети и определение вероятностного показателя, связанного с каждым фрагментом сети, на основании первого набора данных и второго набора данных;

создание ансамбля пробных сетей, причем каждая пробная сеть конструируется из другого подмножества библиотеки фрагментов сети; и

оптимизация ансамбля пробных сетей путем развития каждой пробной сети через локальные преобразования;

(4) создание дифференциальной сети причинно-следственных связей из первой модели сети причинно-следственных связей и второй модели сети причинно-следственных связей на основании данных о контрольных клетках; и

(5) идентификацию причинно-следственной связи, уникальной в ангиогенезе, из созданной дифференциальной сети причинно-следственных связей, причем фермент, связанный с уникальной причинно-следственной связью, идентифицируется в качестве модулятора ангиогенеза.

38. Способ по п.36 или 37, при котором ферментативная активность включает киназную активность и эффект ферментативной активности на метаболиты или субстраты ферментов в клетках, связанных с ангиогенезом, содержит фосфопротеом клетки.

39. Способ по п.36 или 37, при котором ферментативная активность включает протеазную активность.

40. Способ по любому из пп.34-39, при котором модулятор стимулирует или способствует ангиогенезу.

41. Способ по любому из пп.34-39, при котором модулятор ингибирует ангиогенез.

42. Способ по любому из пп.34-41, при котором модель ангиогенеза, содержащая клетки, связанные с ангиогенезом, выбирают из группы, состоящей из культуры клеток *in vitro* модели ангиогенеза, крысиной модели микрососудов аорты, модели сетчатки новорожденной мыши, модели хорион-аллантаической мембраны (CAM), модели кармана роговицы с ангиогенными факторами роста, модели имплантации подкожной губки с ангиогенными факторами роста, модели имплантации MATRIGEL® с ангиогенными факторами роста и модели имплантации опухоли.

43. Способ по п.42, при котором модель ангиогенеза культуры *in vitro* выбирают из группы, состоящей из анализа образования трубки MATRIGEL®, миграционного анализа, анализа камеры Бойдена, анализа способом зарастания царапин.

44. Способ по п.42 или 43, при котором клетки, связанные с ангиогенезом в модели культуры *in vitro*, представляют собой эндотелиальные клетки пупочной вены человека (HUVEC).

45. Способ по п.42, при котором ангиогенный фактор роста в модели кармана роговицы с ангиогенным фактором роста, модели имплантации подкожной губки с ангиогенными факторами роста, модели имплантации MATRIGEL® с ангиогенными факторами роста выбирают из группы, состоящей из FGF-2 и VEGF.

46. Способ по любому из пп.34-45, при котором клетки в модели ангиогенеза подвергаются возмущающему воздействию окружающей среды, и причем контрольные клетки, из которых получают данные о контрольных клетках, представляют собой идентичные клетки, не подвергнутые возмущающему воздействию окружающей среды.

47. Способ по п.46, при котором возмущающее воздействие окружающей среды включает одно или более из контакта со средством, изменения в условиях культивирования, введенной генетической модификации или мутации, наполнителя, который вызывает генетическую модификацию или мутацию, и индукции ишемии.

48. Способ по п.47, при котором средство представляет собой проангиогенное средство или антиангиогенное средство.

49. Способ по п.48, при котором проангиогенное средство выбирают из группы, состоящей из FGF-2 и VEGF.

50. Способ по п.48, при котором антиангиогенное средство выбирают из группы, состоящей из ингибиторов VEGF, антагонистов интегрина, ангиостатина, эндостатина, тумстатина, авастинана, сорафениба, сунитиниба, пазопаниба и эверолимуса, растворимого VEGF-рецептора, ангиопоэтина 2, тромбоспондина 1, тромбоспондина 2, вазостатина, калретикулина, протромбина (kringle домена-2), фрагмента антитромбина III, ингибитора сосудистого эндотелиального роста (VEGI), секретируемого кислого белка, обогащенного цистеином (SPARC) и пептида SPARC, соответствующего домену фоллистатину белка (FS E) и коэнзим Q10.

51. Способ по п.47, при котором средство представляет собой ингибитор ферментативной активности.

52. Способ по п.47, при котором средство представляет собой ингибитор киназной активности.

53. Способ по п.34 или 37, при котором первый набор данных содержит уровни экспрессии белка и/или мРНК множества генов в геномном наборе данных.

54. Способ по п.34 или 37, при котором первый набор данных включает в себя два или более из геномных данных, липидомных данных, протеомных данных, обмена данными, транскриптомных данных, а также данных однонуклеотидного полиморфизма (SNP).

55. Способ по п.34 или 37, при котором первый набор данных содержит три или более из геномных данных, липидомных данных, протеомных данных, метаболомических данных, транскриптомных данных, а также данных однонуклеотидного полиморфизма (SNP).

56. Способ по любому из пп.34-37, при котором второй набор данных, представляющий одну или более функциональных активностей или клеточных ответов клеток, связанных с ангиогенезом, дополнительно содержит данные, указывающие на одно или более из пролиферации клеток, апоптоза, миграции клеток, формирования трубки, ферментативной активности, хемотаксиса, деградации внеклеточного матрикса, прорастания, уровня аденозинтрифосфата (АТФ), уровня активных форм кислорода (АФК), уровня окислительного фосфорилирования (OXPHOS), уровня скорости потребления кислорода (OCR) и уровня коэффициента внеклеточного закисления (ECAR).

57. Способ по п.56, при котором ферментативная активность представляет собой киназную активность.

58. Способ по п.56, при котором ферментативная активность представляет собой протеазную активность.

59. Способ по любому из пп.34-37, при котором запрограммированная вычислительная система получает все входные данные от первого набора данных и второго набора данных, не применяя статистическую пороговую величину.

60. Способ по любому из пп.34-37, при котором первая модель сети причинно-следственных связей дополнительно дорабатывается путем моделирования *in silico* на основе входных данных, чтобы обеспечить уровень достоверности предположения для одной или более причинно-следственных связей внутри первой модели сети причинно-следственных связей, и причем входные данные содержат некоторые или все данные в первом наборе данных и во втором наборе данных.

61. Способ по любому из пп.34-37, при котором уникальная причинно-следственная связь идентифицируется как часть дифференциальной консенсусной сети причинно-следственных связей, которая уникально присутствует в первой модели сети причинно-следственных связей, основанной на клетках, связанных с ангиогенезом, и отсутствует во второй модели сети причинно-следственных связей, основанной на данных о контрольных клетках.

62. Способ по любому из пп.34-61, при котором уникальная причинно-следственная связь представляет собой связь между по меньшей мере одной парой, выбранной из группы, состоящей из экспрессии гена и содержания липида; экспрессии гена и содержания транскрипта; экспрессии гена и содержания метаболита; экспрессии первого гена и экспрессии второго гена; экспрессии гена и наличия SNP; экспрессии гена и функциональной активности; содержания липида и содержания транскрипта; содержания липида и содержания метаболита; содержания первого липида и содержания второго липида; содержания липида и наличия SNP; содержания липида и функциональной активности; содержания первого транскрипта и содержания второго транскрипта; содержания транскрипта и содержания метаболита; содержания транскрипта и наличия SNP; содержания первого транскрипта и уровня функциональной активности; содержания первого метаболита и содержания второго метаболита; содержания метаболита и наличия SNP; содержания метаболита и функциональной активности; наличия первого SNP и наличия второго SNP и наличия SNP и функциональной активности.

63. Способ по п.62, при котором функциональную активность выбирают из группы, состоящей из пролиферации клеток, апоптоза, функции органелл, миграции клеток, формирования трубки, ферментативной активности, хемотаксиса, деградации внеклеточного матрикса, прорастания, уровня аденозинтрифосфата (АТФ), уровня активных форм кислорода (АФК), уровня окислительного фосфорилирования (OXPHOS), уровня скорости потребления кислорода (OCR) и уровня коэффициента внеклеточного закисления (ECAR).

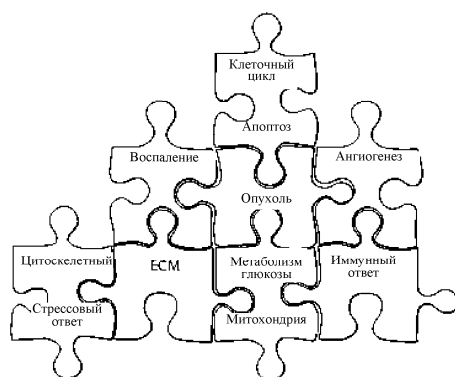
64. Способ по п.62 или 63, при котором функциональная активность представляет собой киназную активность или протеазную активность.

65. Способ по любому из пп.34-64, при котором идентифицированная уникальная причинно-следственная связь представляет собой связь между, по меньшей мере, содержанием липидов, экспрессией гена и одной или более функциональными активностями, причем функциональная активность представляет собой киназную активность.

66. Способ по любому из пп.34-65, дополнительно включающий перед стадией (4) создание второй модели сети причинно-следственных связей на основании данных о контрольных клетках.

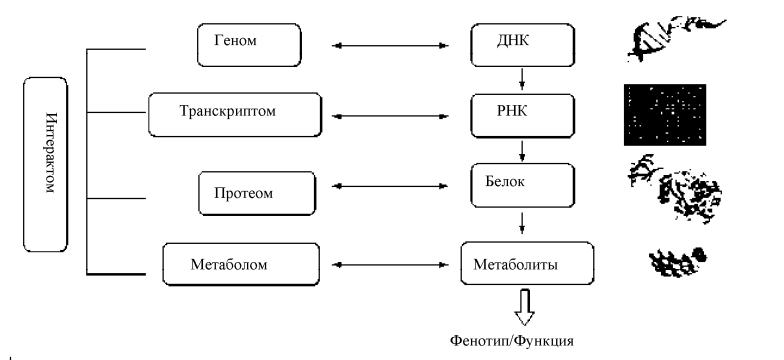


Фиг. 1

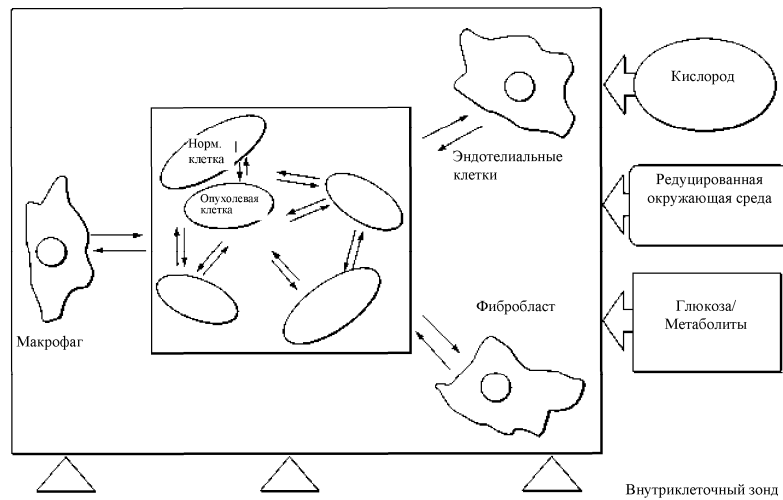


Фиг. 2

Каскад "Омики"



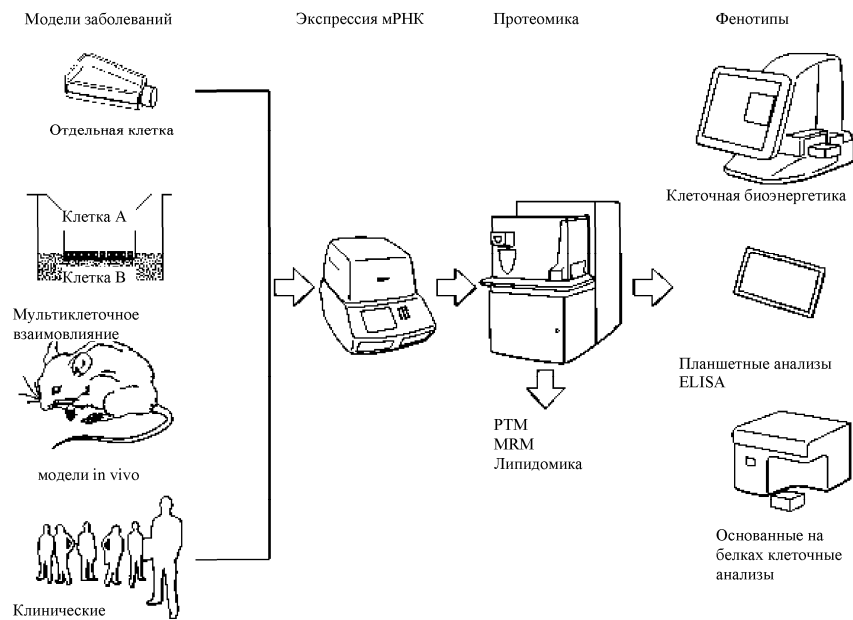
Фиг. 3



Фиг. 4



Фиг. 5

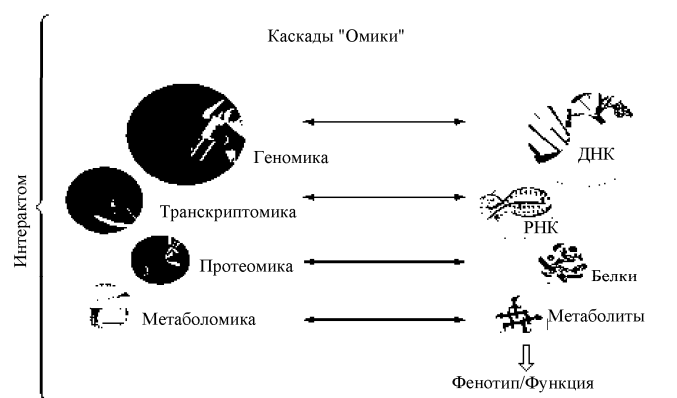


Фиг. 6

Платформа открытия лекарственных средств  
The Berg Interrogative Biology®

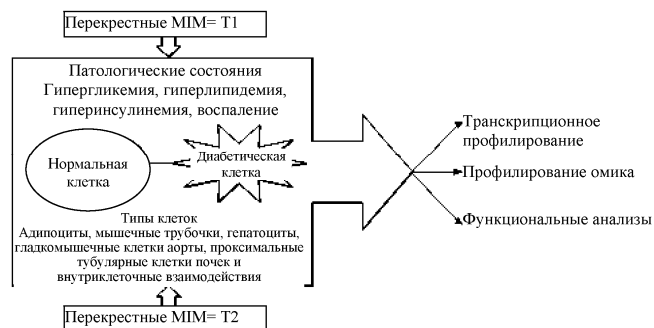


Фиг. 7

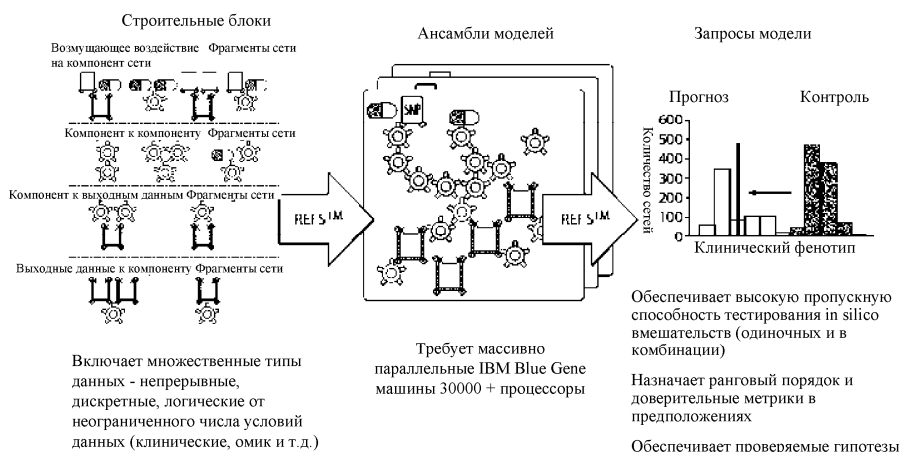


Фиг. 8

Моделирование in vitro

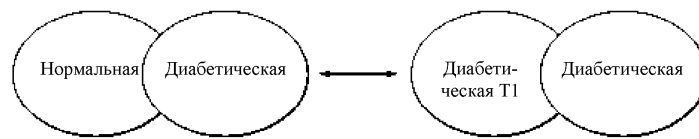


Фиг. 9



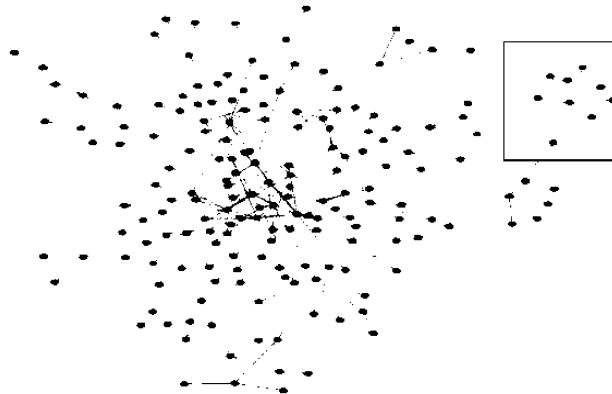
Фиг. 10

(Нормальная против Диабетическая) против (Диабетическая T1 против Диабетическая)

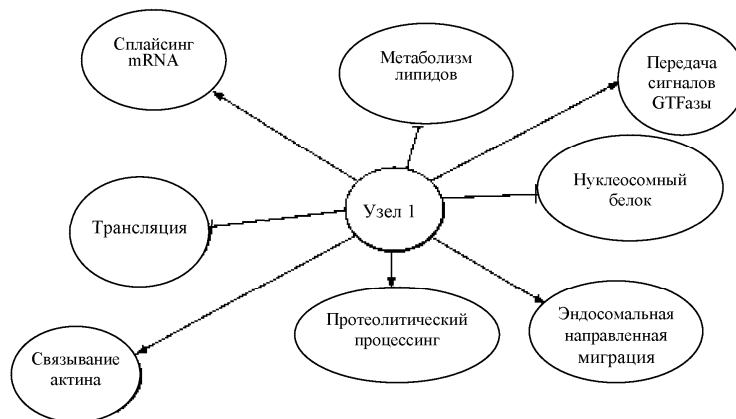


Сравните уникальные ребра **Нормальная** в дельта сети нормальная против заболевание с уникальными ребрами **Заболевание T1** в дельта сети заболевание против заболевание T1. Ребра в пересечении нормальной и заболевания T1 представляют собой ребра заболевания, которые были восстановлены к нормальной, когда подвергались воздействию T1.

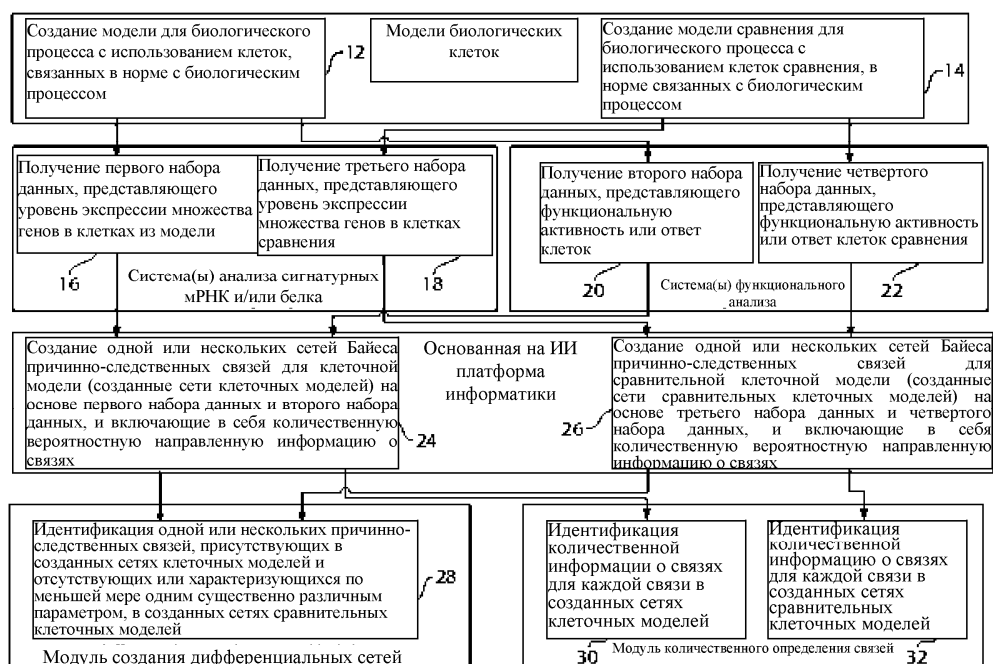
Фиг. 11



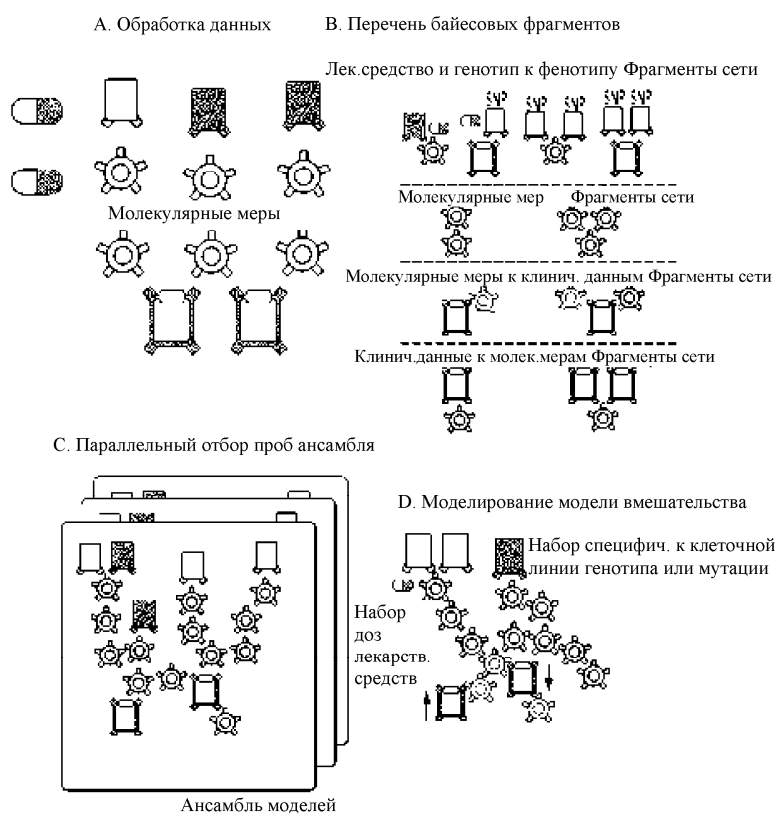
Фиг. 12



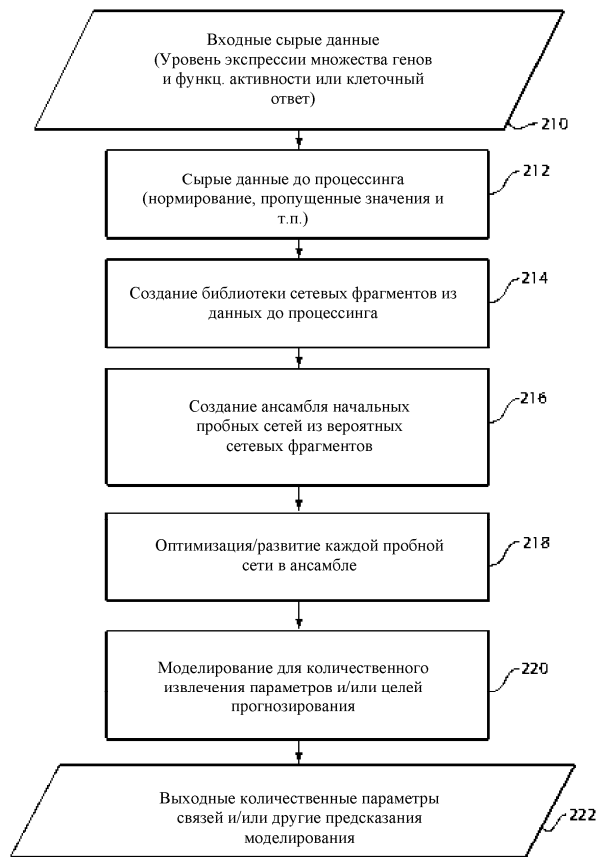
Фиг. 13



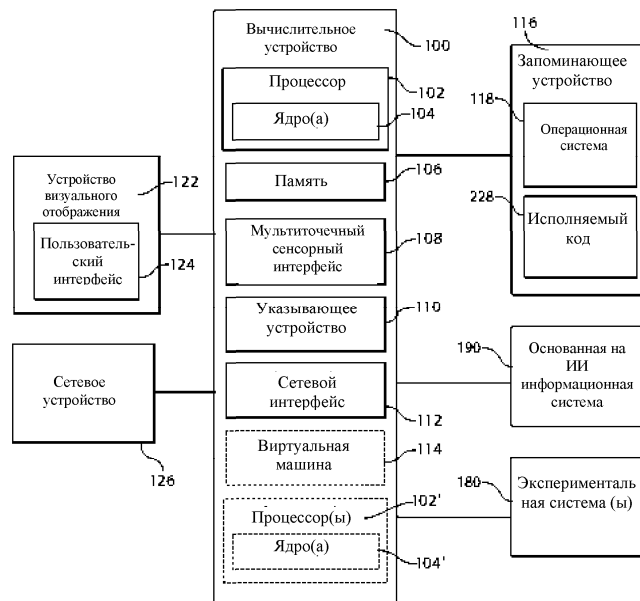
Фиг. 14



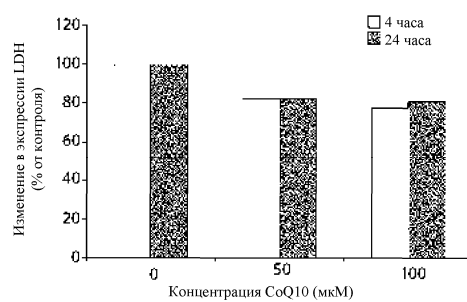
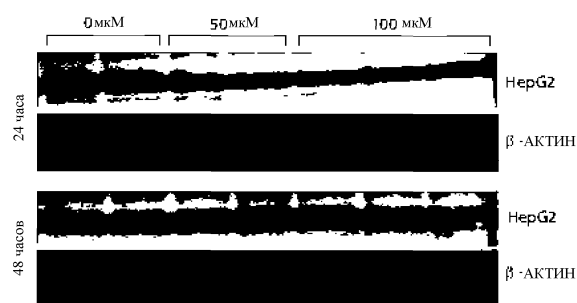
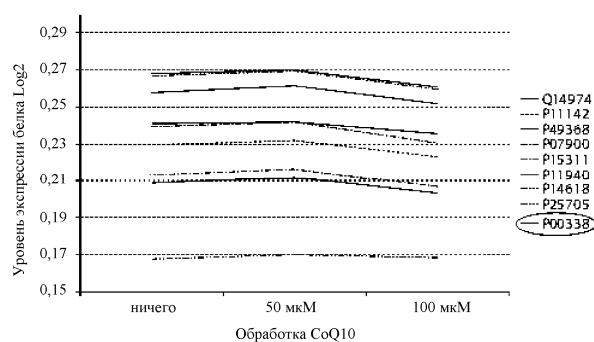
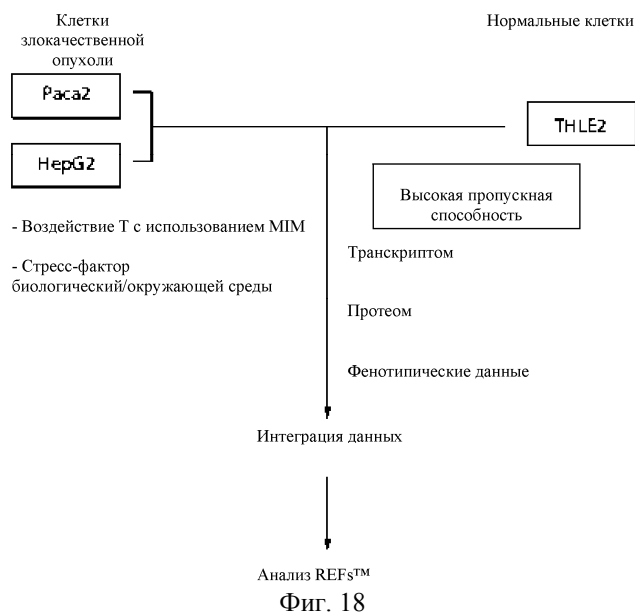
Фиг. 15

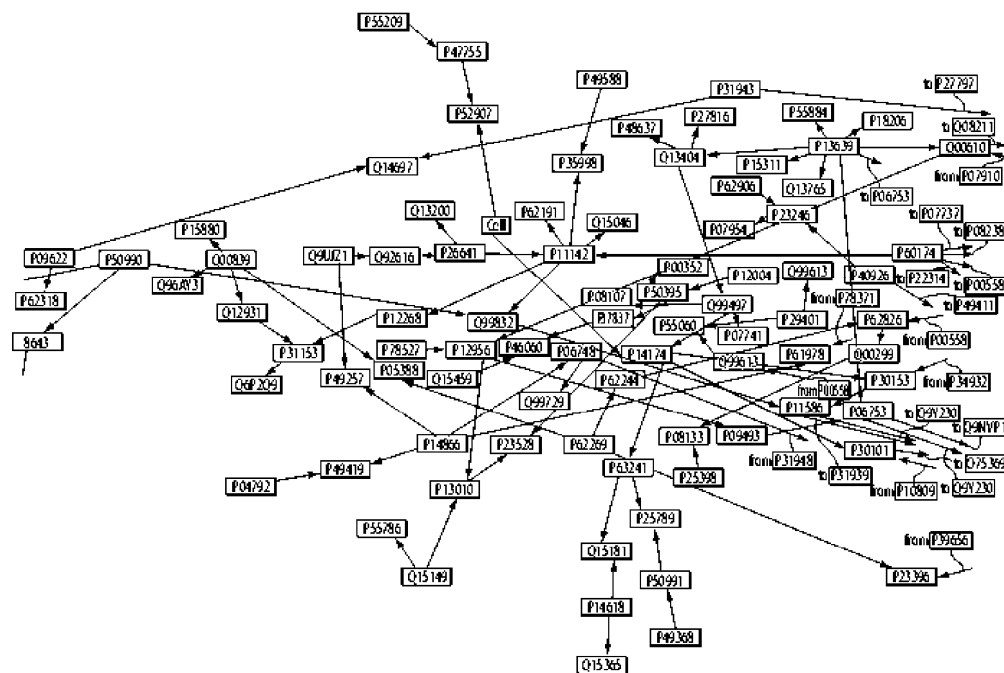


Фиг. 16

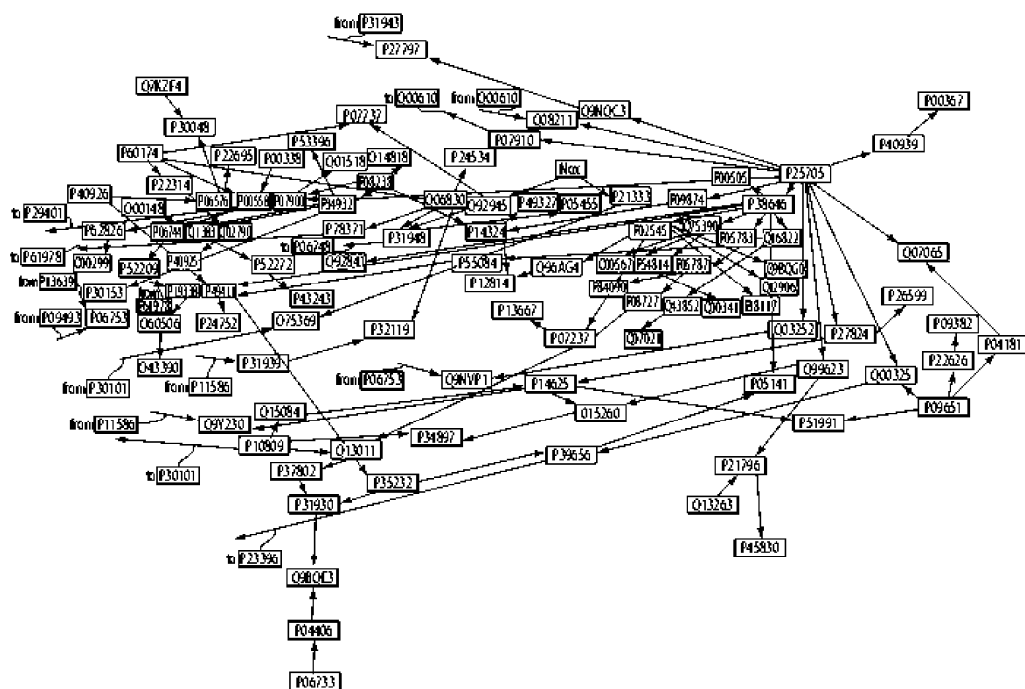


Фиг. 17

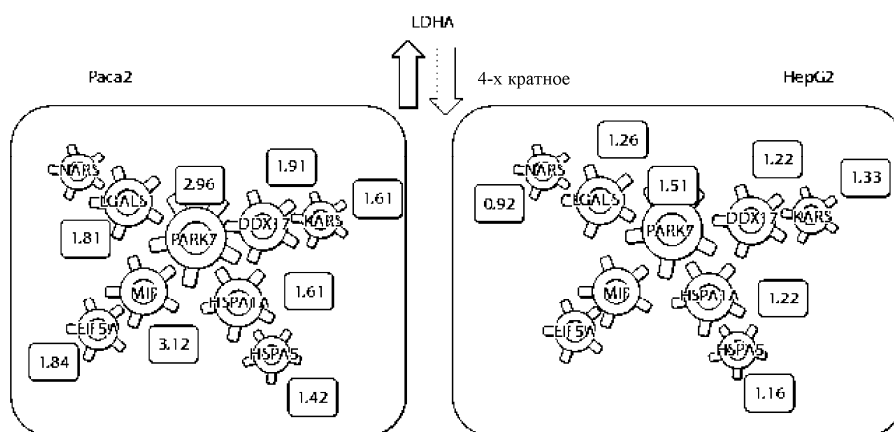




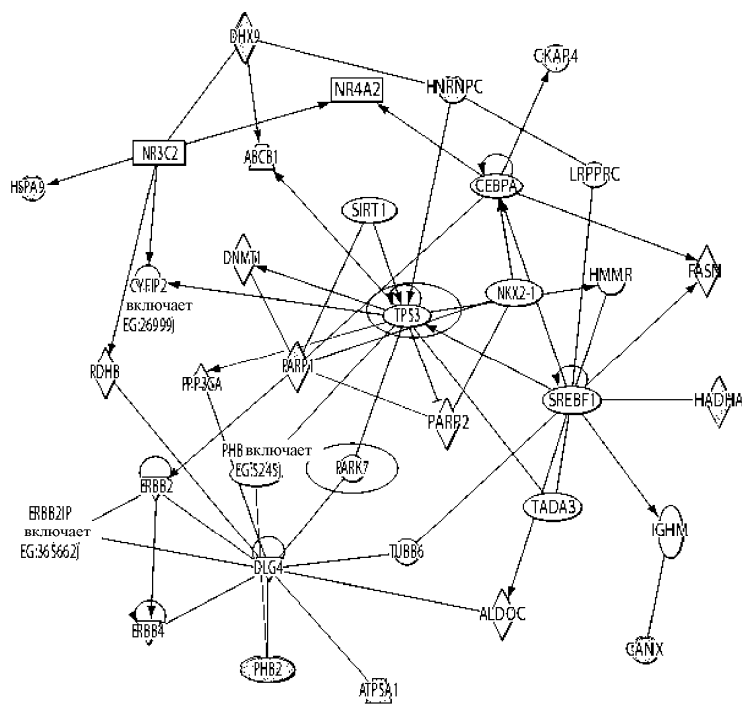
ФИГ. 21-1



ФИГ. 21-2

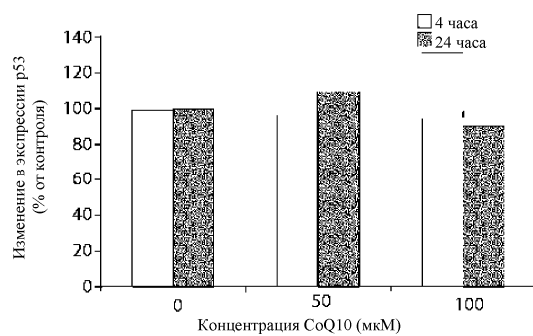
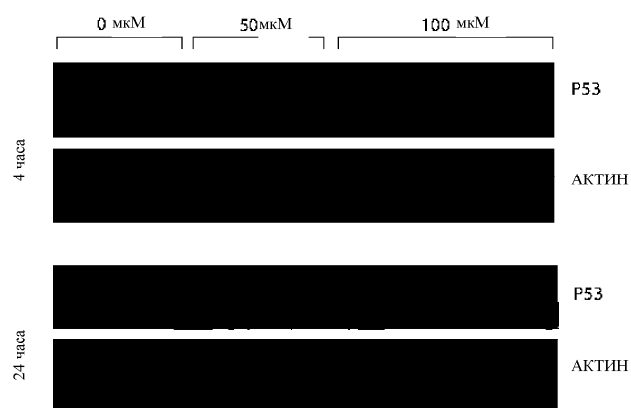


Фиг. 22

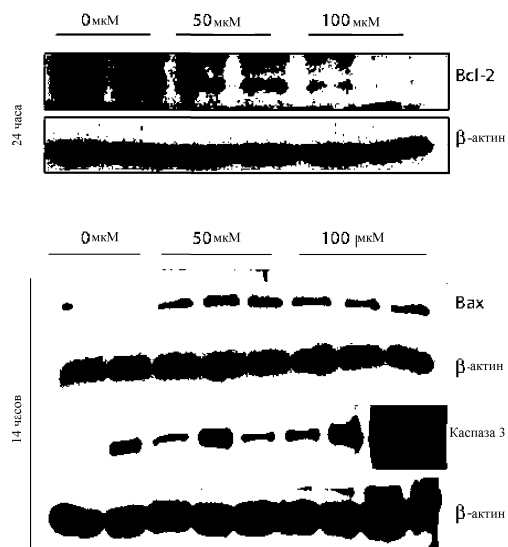


Фиг. 23

038600

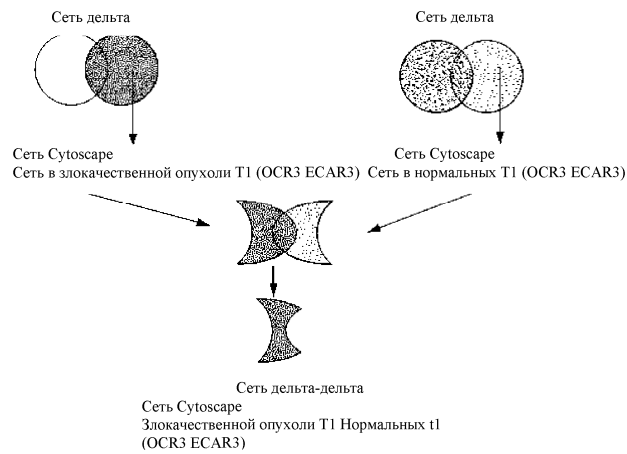


Фиг. 24

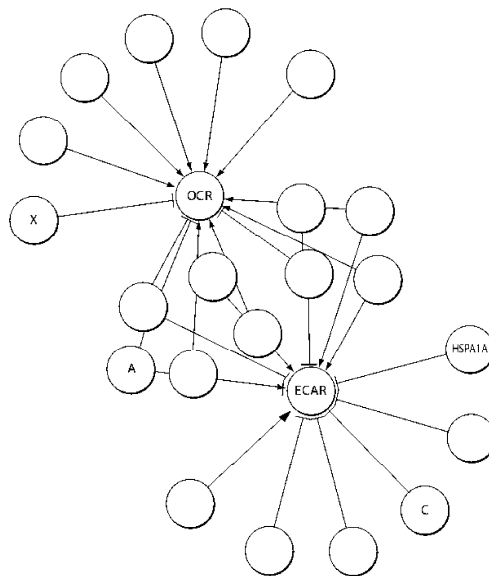


Фиг. 25

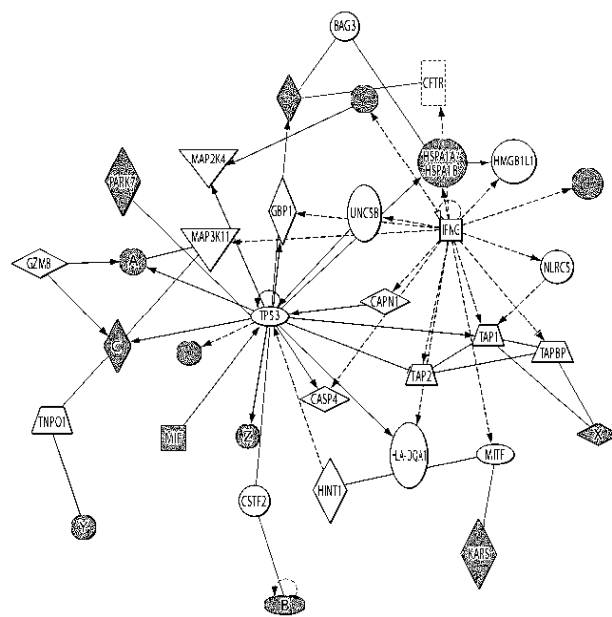
Фоновый уровень с Seahorse  
Соединения с OCR, ECAR только



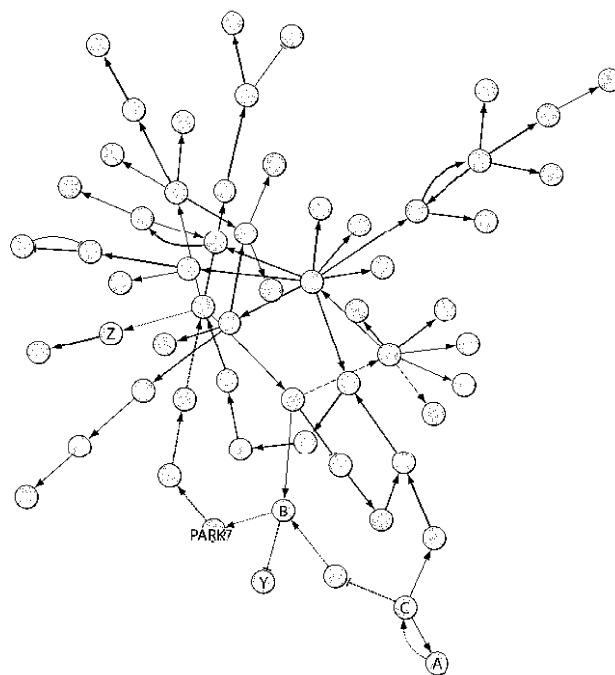
Фиг. 26



Фиг. 27



Фиг. 28

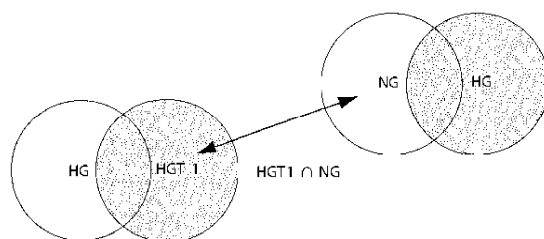


Фиг. 29

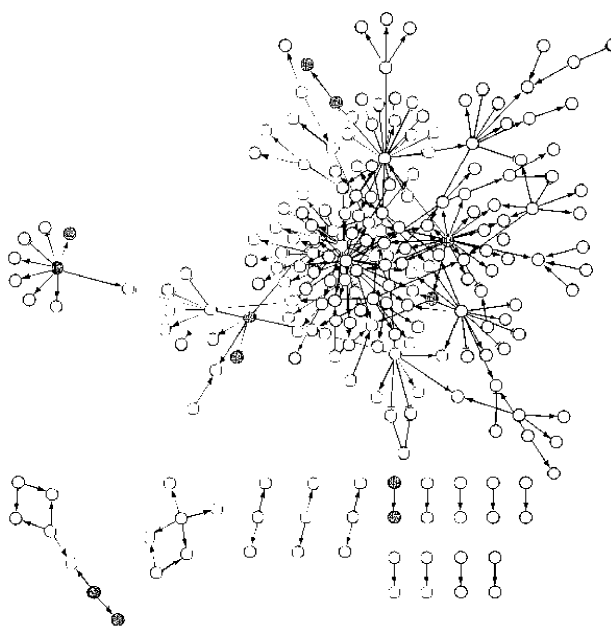
Сети дельта-дельта

DD\_NG.vs.HG.vs.HGT1.cys

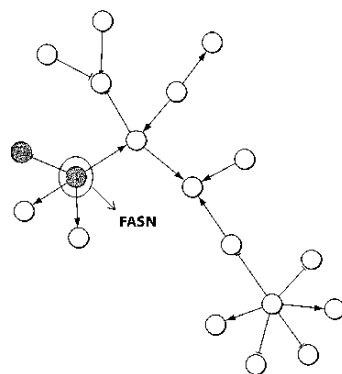
[ NG vs. HG ] vs. [ HG vs. HGT1 ]



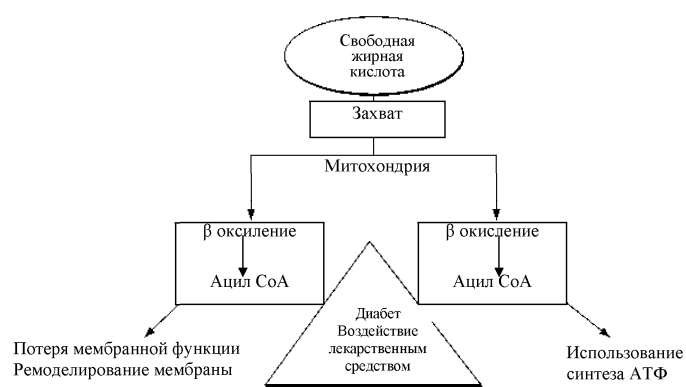
Фиг. 30



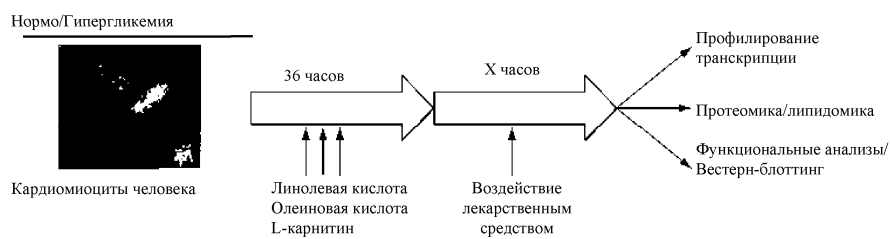
Фиг. 31



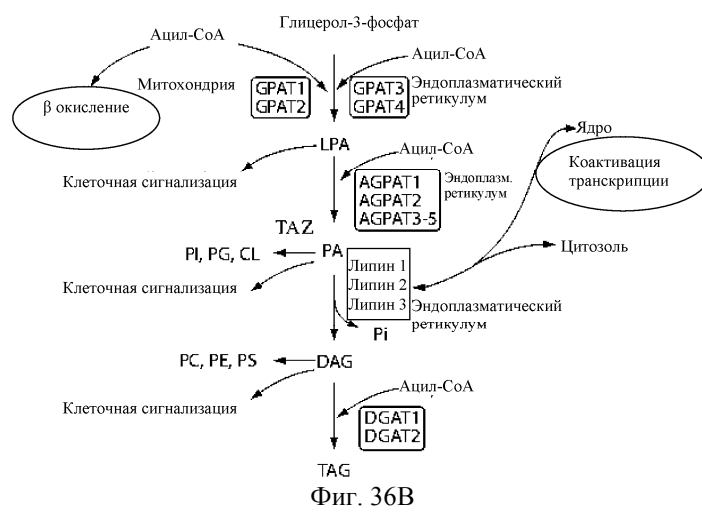
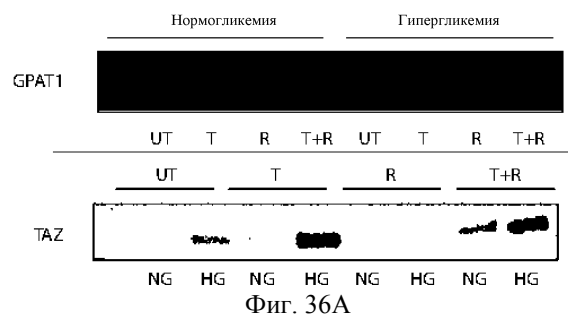
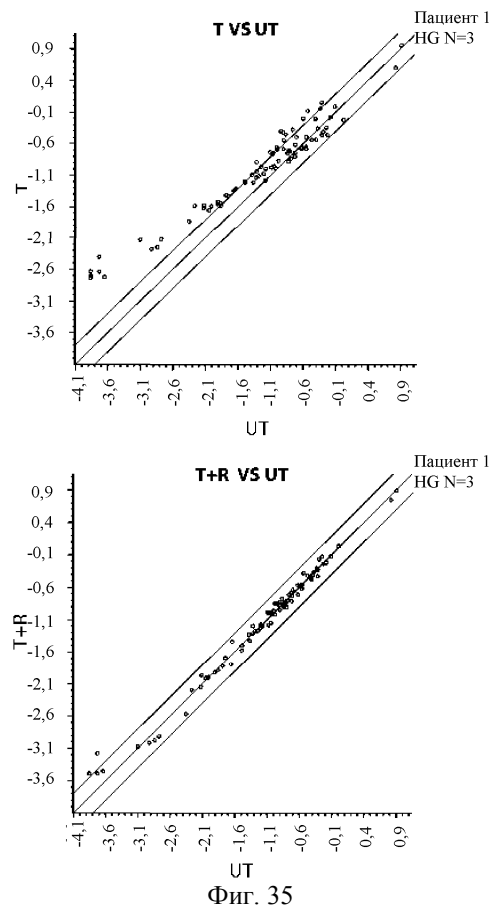
Фиг. 32

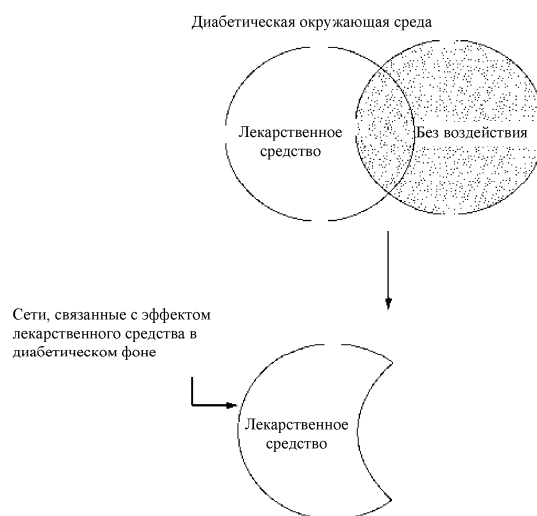
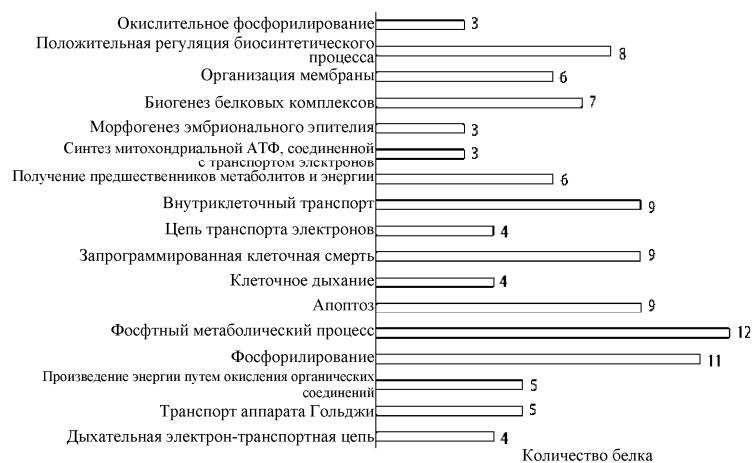
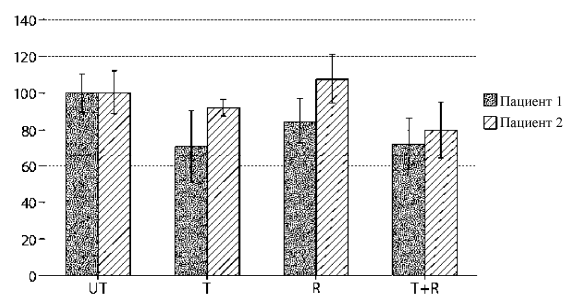
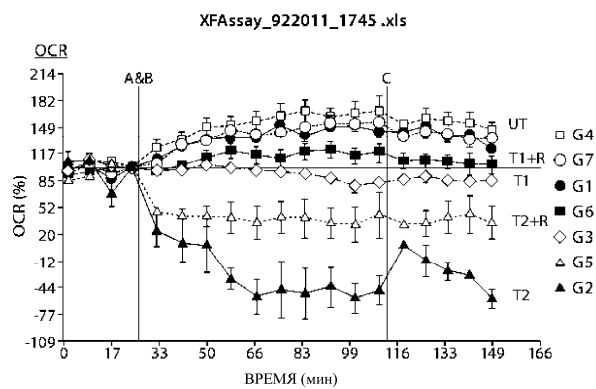


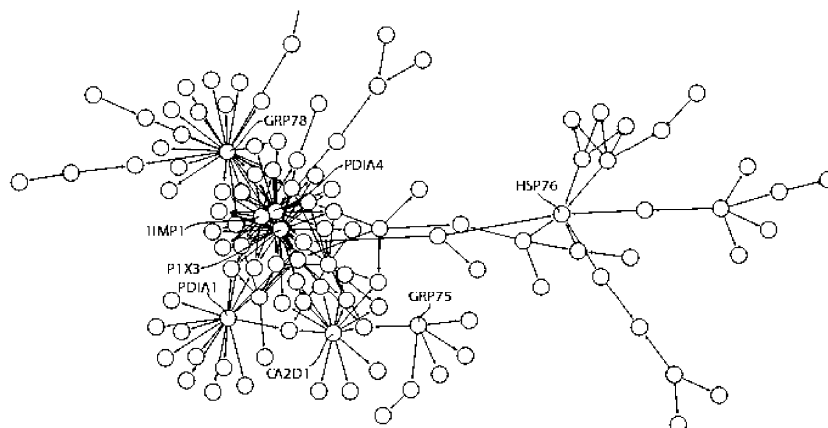
Фиг. 33



Фиг. 34

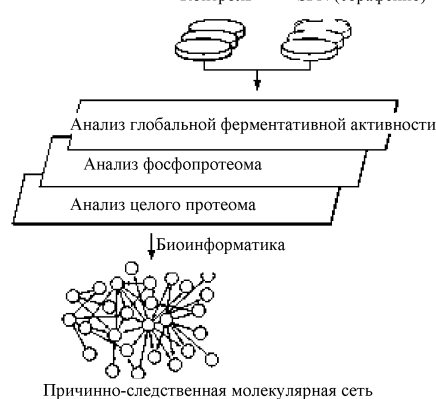






Фиг. 40

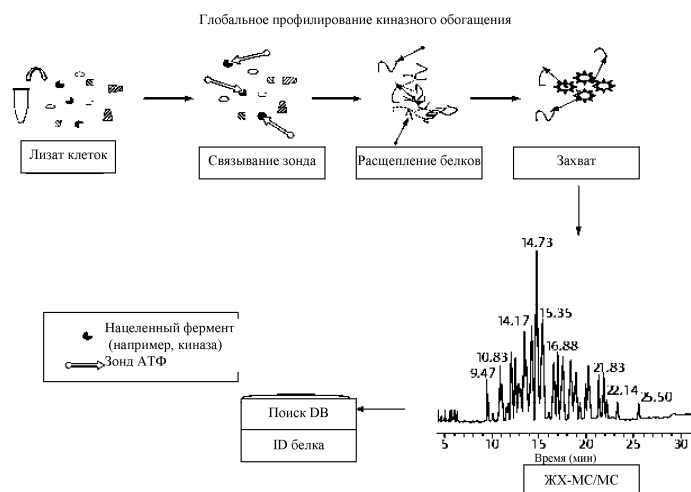
Техники "мульти-протеомики" для изучения ферментативной/киназной активности



Применение техники "мульти-протеомики" для изучения ферментативной/киназной активности.

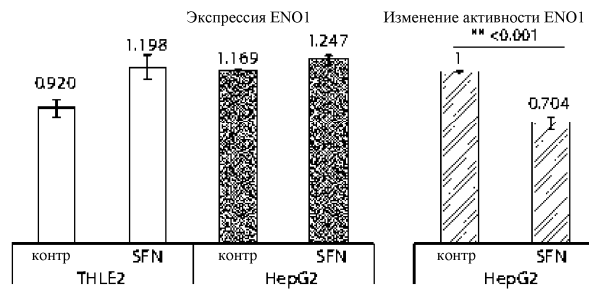
Интеграция множественных наборов данных протеомики, полученных от модели *in vitro*, обеспечивает уникальную систему для понимания причинно-следственной связи между ферментами/киназами и их метаболитами/субстратами в контексте глобальных изменений в клеточном протеоме.

Фиг. 41А



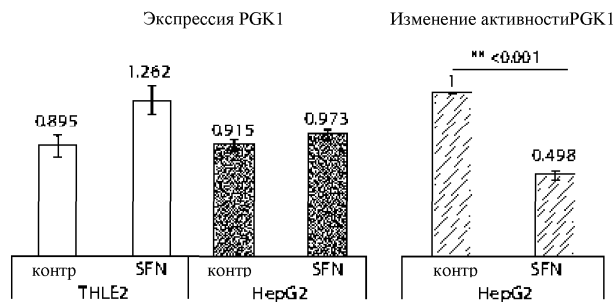
Фиг. 41В

Значительное снижение активности ENO1, но не экспрессии белка у обработанных сорафенибом HepG2.



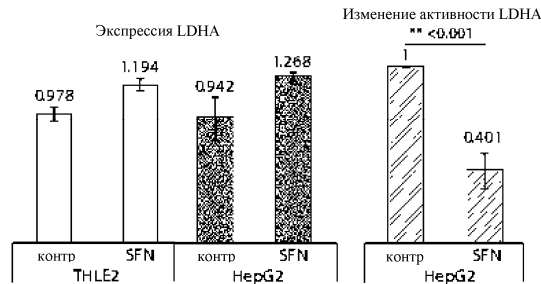
Фиг. 42

Значительное снижение активности PGK1, но не экспрессии белка у обработанных сорафенибом HepG2.



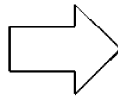
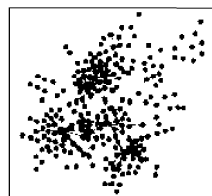
Фиг. 43

Значительное снижение активности LDHA у обработанных сорафенибом HepG2.

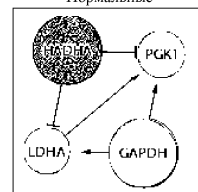


Фиг. 44

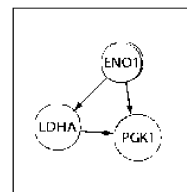
Причинно-следственная сеть молекулярных взаимодействий



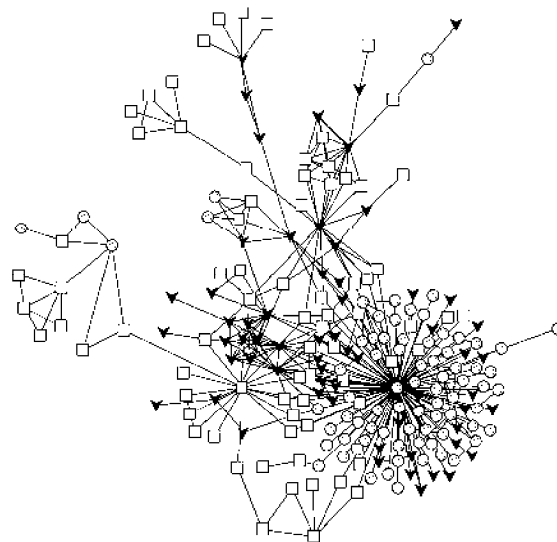
Нормальные



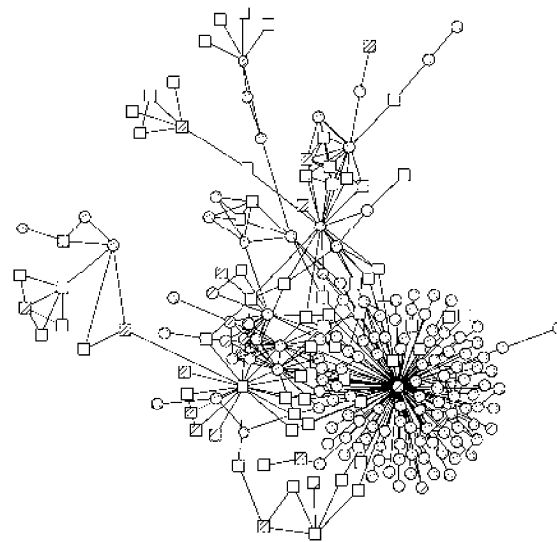
Злокачественной опухоли



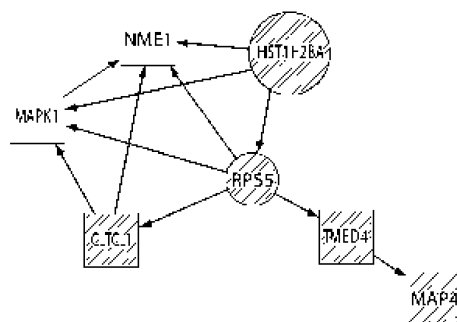
Фиг. 45



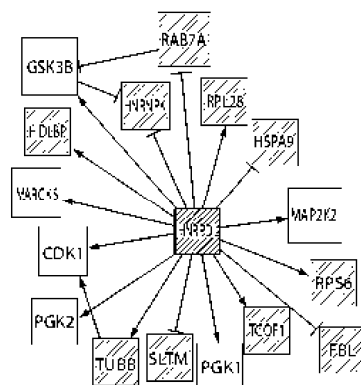
Фиг. 46



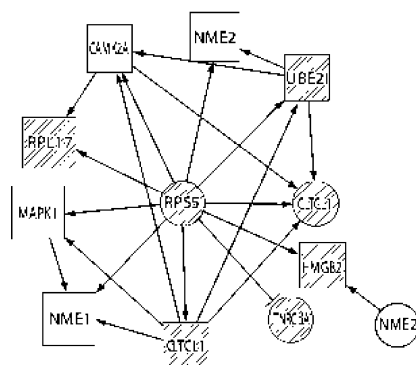
Фиг. 47



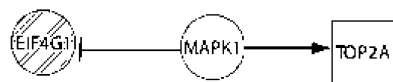
Фиг. 48



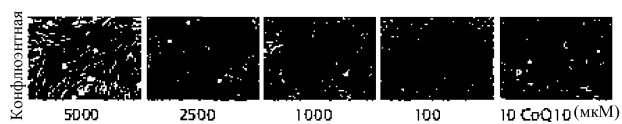
Фиг. 49



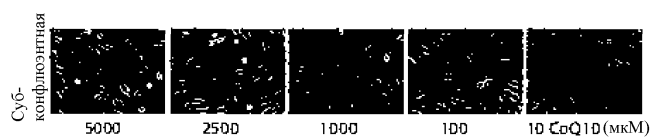
Фиг. 50



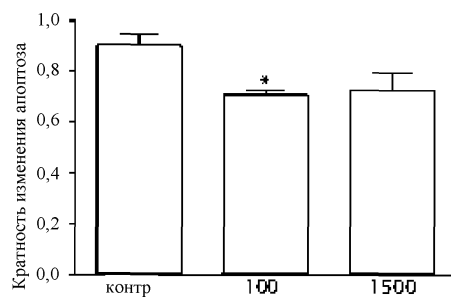
Фиг. 51



Фиг. 52А

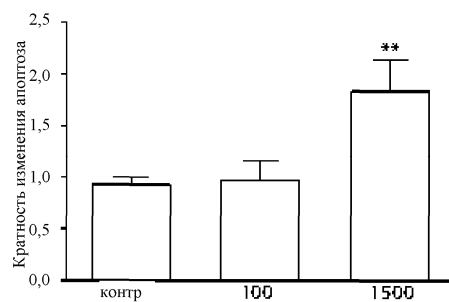


Фиг. 52В

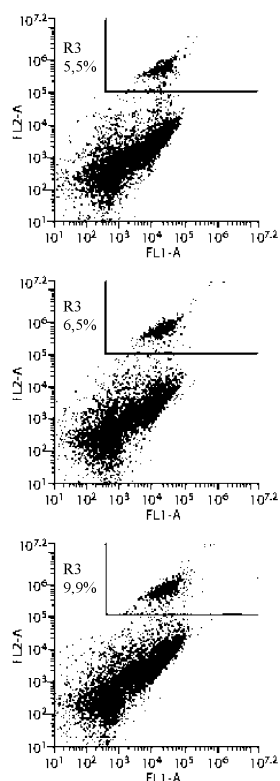


Фиг. 53А

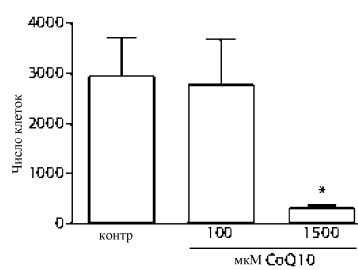
038600



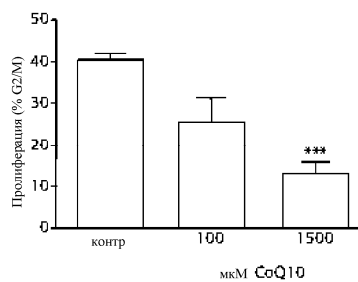
Фиг. 53В



Фиг. 53С

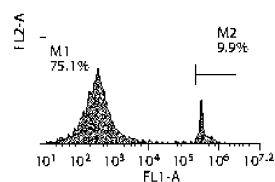
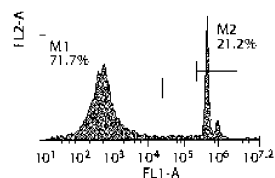
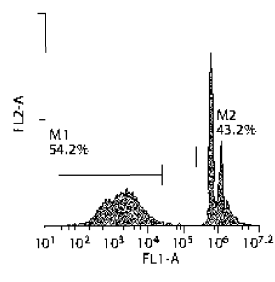


Фиг. 54А

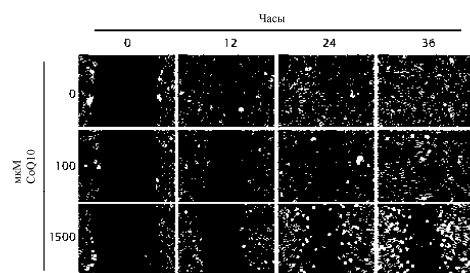


Фиг. 54В

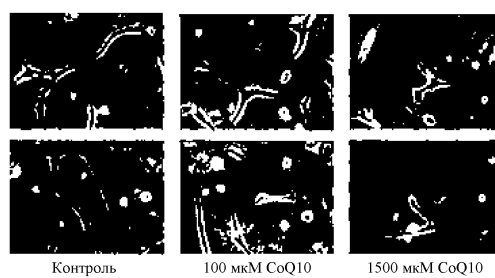
038600



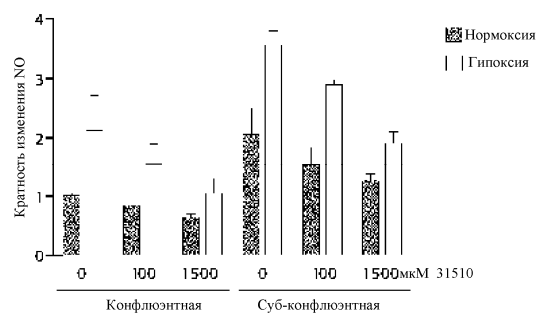
Фиг. 54С



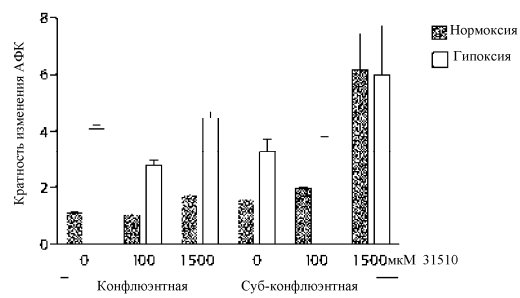
Фиг. 55



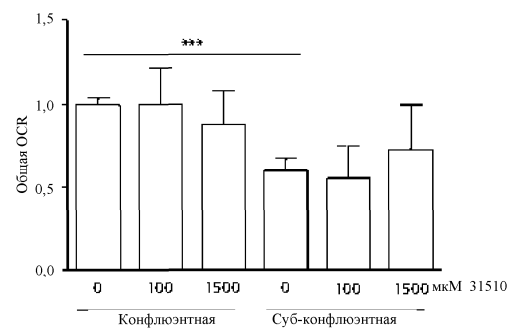
Фиг. 56



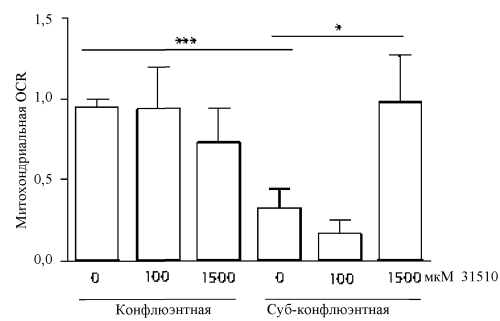
Фиг. 57А



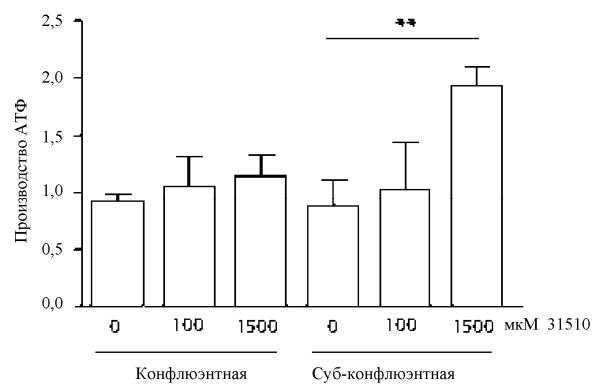
Фиг. 57В



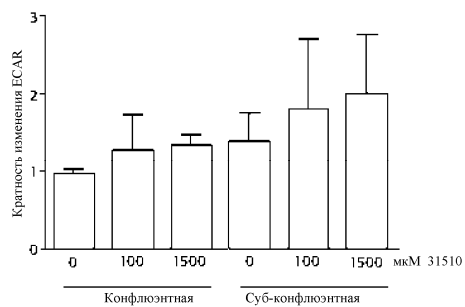
Фиг. 58А



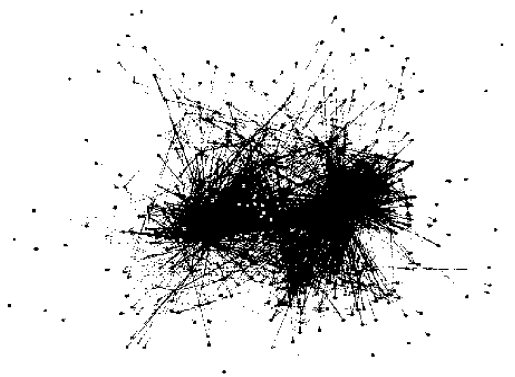
Фиг. 58В



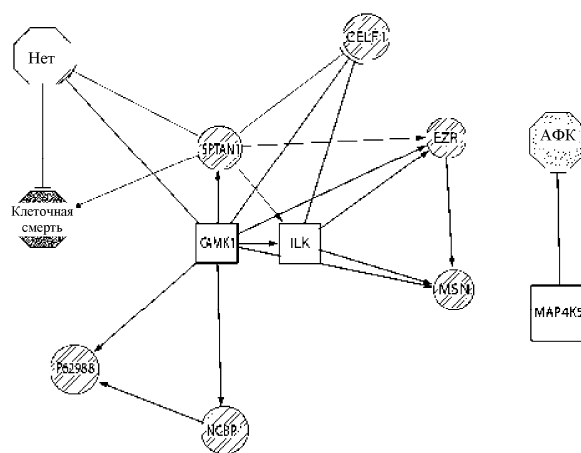
Фиг. 58С



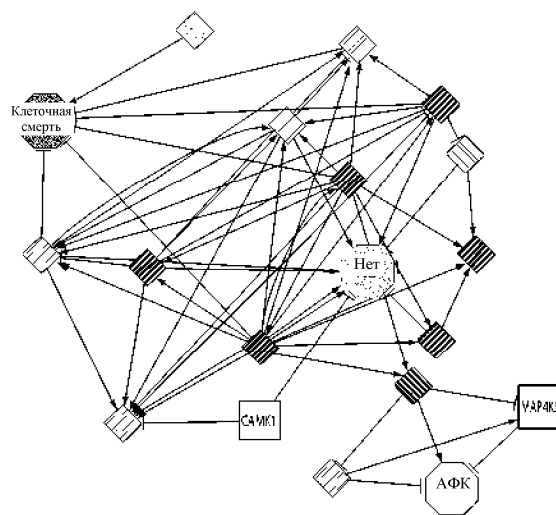
Фиг. 58D



Фиг. 59А



Фиг. 59В



Фиг. 59С

