



**ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ**

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ(21)(22) Заявка: **2009135270/10, 22.02.2008**(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
22.02.2008

Приоритет(ы):

(30) Конвенционный приоритет:
22.02.2007 US 60/891,196
13.11.2007 US 60/987,752
28.01.2008 US 61/024,170(43) Дата публикации заявки: **27.03.2011** Бюл. № 9(45) Опубликовано: **27.12.2013** Бюл. № 36(56) Список документов, цитированных в отчете о
поиске: **WO 0061629 A1, 19.10.2000. WO 0077026 A1,**
21.12.2000. SU 1650094 A1, 23.05.1991.(85) Дата начала рассмотрения заявки РСТ на
национальной фазе: **22.09.2009**(86) Заявка РСТ:
US 2008/054805 (22.02.2008)(87) Публикация заявки РСТ:
WO 2008/103962 (28.08.2008)

Адрес для переписки:

129090, Москва, ул. Б.Спасская, 25, стр.3,
ООО "Юридическая фирма Городисский и
Партнеры", пат.пов. Е.Е.Назиной

(72) Автор(ы):

ДИЛЬ Лори (US),
ФЛЭНЭГАН Кеннет (US),
МО Лянь (US)

(73) Патентообладатель(и):

ДЖЕНЕНТЕК, ИНК. (US)**(54) СПОСОБЫ ВЫЯВЛЕНИЯ ВОСПАЛИТЕЛЬНОГО ЗАБОЛЕВАНИЯ КИШЕЧНИКА**

(57) Реферат:

Изобретение относится к области
молекулярной биологии и генной инженерии.
Предложен способ выявления воспалительного
заболевания кишечника млекопитающего
посредством детекции повышенной экспрессиигенов LY6 в желудочно-кишечных тканях или
клетках по сравнению с контролем. Изобретение
может быть использовано в медицине для
диагностики воспалительных заболеваний
кишечника. 3 н. и 52 з.п. ф-лы, 36 ил., 9 табл.



FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(12) **ABSTRACT OF INVENTION**

(21)(22) Application: **2009135270/10, 22.02.2008**

(24) Effective date for property rights:
22.02.2008

Priority:

(30) Convention priority:
22.02.2007 US 60/891,196
13.11.2007 US 60/987,752
28.01.2008 US 61/024,170

(43) Application published: **27.03.2011 Bull. 9**

(45) Date of publication: **27.12.2013 Bull. 36**

(85) Commencement of national phase: **22.09.2009**

(86) PCT application:
US 2008/054805 (22.02.2008)

(87) PCT publication:
WO 2008/103962 (28.08.2008)

Mail address:

129090, Moskva, ul. B.Spaskaja, 25, str.3, OOO
"Juridicheskaja firma Gorodisskij i Partnery",
pat.pov. E.E.Nazinoj

(72) Inventor(s):

DIL' Lori (US),
FLEhNEhGAN Kennet (US),
MO Ljan' (US)

(73) Proprietor(s):

DZhENENTEK, INK. (US)

(54) **DETECTION METHOD OF INTESTINE INFLAMMATORY DISEASE**

(57) Abstract:

FIELD: biotechnologies.

SUBSTANCE: invention proposes a detection method of intestine inflammatory disease of a mammal by detection of increased expression of genes LY6 in

gastrointestinal tissues or cells in comparison to control. Invention can be used in medicine for diagnostics of intestine inflammatory diseases.

EFFECT: improving diagnostics accuracy.

55 cl, 36 dwg, 9 tbl

RU 2 502 806 C2

RU 2 502 806 C2

ОБЛАСТЬ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Настоящее изобретение относится к профилям экспрессии генов в патогенезе воспалительного заболевания кишечника. Это открытие применимо в выявлении и диагностике воспалительного заболевания кишечника.

ПРЕДПОСЫЛКИ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Воспалительное заболевание кишечника (IBD), хроническое воспалительное расстройство желудочно-кишечного тракта, которым в США страдает приблизительно один миллион пациентов, состоит из двух основных групп заболеваний: язвенный колит (UC) и болезнь Крона (CD). При обеих формах IBD микроорганизмы кишечника могут инициировать заболевание у генетически предрасположенных индивидов. UC часто ограничивается толстым кишечником, в то время как CD, как правило, возникает в подвздошной кишке тонкого кишечника и в толстом кишечнике (Podolsky, D.K., N. Engl. J. Med. 347:417-429 (2002)).

Определение профиля экспрессии генов в тканях пациентов с IBD обеспечило некоторое понимание возможных мишеней для лечения и/или диагностики (см., например, Dieckgraefe, V.K. et al., *Physiol. Genomics* 4:1-11 (2000); Lawrance I.C. et al., *Hum Mol Genet.* 10:445-456 (2001); Dooley T.P. et al., *Inflamm. Bowel Dis.* 10:1-14 (2004); и Uthoff S.M., *Int J Oncol.* 19:803-810 (2001)). Другие исследования нарушения регуляции генов у пациентов, страдающих воспалительным заболеванием кишечника, включают, например, исследование Lawrance, I.C. et al., которые описали характерные профили генной экспрессии для нескольких генов при UC и CD (Lawrance, I.C. et al., *Human Mol. Genetics* 10(5):445-456 (2001)). Uthoff, S.M.S. et al. описали идентификацию генов-кандидатов для UC и CD с использованием анализа на микрочипах (Uthoff, S.M.S. et al., *Int'l. J. Oncology* 19:803-810 (2001)). Dooley, T.P. et al. описали корреляцию экспрессии генов при IBD с медикаментозным лечением нарушения (Dooley, T.P. et al., *Inflamm. Bowel Dis.* 10(1):1-14 (2004)).

Существует необходимость в идентификации дополнительных биологических маркеров воспалительного заболевания кишечника для применения в диагностике этого хронического заболевания. Настоящее описание удовлетворяет эту необходимость.

Полное содержание всех цитированных в настоящем описании документов включено в настоящий документ в качестве ссылки.

СУЩНОСТЬ ИЗОБРЕТЕНИЯ

В настоящем документе описано уникальное открытие того, что члены суперсемейства генов LY6 активированы на поверхности эпителиальных клеток кишечника (IEC) в моделях колита на мышах и в ткани кишечника пациентов (людей), страдающих IBD, причем эти гены не экспрессируются на здоровых IEC. Большинство членов семейства LY6 представляют собой GPI-заякоренные гликопротеины клеточной поверхности, широко распространенные на клетках гематопоэтического происхождения и более ограниченно экспрессирующиеся на негематопоэтических клетках. Несмотря на широкое применение в качестве маркеров дифференцировки иммунных клеток (Sunderkotter, C. et al., *J. Immunol.* 172: 4410-4417 (2004)), функции семейства LY6 трудно установить (Shevach, E.M. и P.E. Korty, *Immunol. Today* 10:195-200 (1989)). В отчетах показано, что молекулы LY6 вовлечены в ряд различных функций, включая активацию Т-клеток (Zhang, Z.X. et al., *Eur. J. Immunol.* 32:1584-1592 (2002) и Henderson, S.C. et al., *J. Immunol.* 168:118-126 (2002)), обоняние (Chou, J.H. et al., *Genetics* 157:211-224 (2001)) и адгезию клеток (Jaakkola, I. et al., *J. Immunol.* 170:1283-1290 (2003)).

В наиболее широком смысле изобретение относится к способу выявления повышенной экспрессии генов семейства генов LY6 человека в ткани кишечника первого млекопитающего, страдающего расстройством кишечника, по сравнению с контрольным млекопитающим. Более конкретно, ожидается, что способ будет применен для диагностики расстройств, связанных с нарушениями кишечника, ассоциированными с экспрессией LY6H, LYPD1, LYPD3 и LYPD5 человека, эти расстройства включают, но не ограничиваются ими, воспалительное заболевание кишечника (IBD), такое как язвенный колит (UC) и болезнь Крона (CD). В одном варианте осуществления способ по изобретению пригоден для выявления лиц, отвечающих и не отвечающих на терапевтическое лечение IBD. В одном варианте осуществления IBD представляет собой язвенный колит (UC). В одном варианте осуществления IBD представляет собой болезнь Крона (CD). В одном варианте осуществления ткань кишечника представляет собой ткань толстого кишечника. В одном варианте осуществления ткань толстого кишечника представляет собой сигмовидную кишку. В одном варианте осуществления экспрессия генов LY6H, LYPD1, LYPD3 и/или LYPD5 повышена в ткани кишечника (такой как ткань толстого кишечника) млекопитающего с IBD, UC или CD по сравнению с нормальным кишечником (таким как нормальная ткань толстого кишечника) млекопитающего, не страдающего IBD, CD или UC. В одном варианте осуществления ген LY6H включает нуклеиновую кислоту SEQ ID NO:1 и кодирует полипептид LY6H, включающий SEQ ID NO:2. В одном варианте осуществления ген LYPD1 включает нуклеиновую кислоту SEQ ID NO:3 или 4 и кодирует полипептид LYPD1, включающий SEQ ID NO:5. В одном варианте осуществления ген LYPD3 включает нуклеиновую кислоту SEQ ID NO:6 и кодирует полипептид LYPD3, включающий SEQ ID NO:7. В одном варианте осуществления ген LYPD5 включает нуклеиновую кислоту SEQ ID NO:8 или 9 и кодирует полипептид LYPD5, включающий SEQ ID NO: 10.

В одном варианте осуществления способ по изобретению включает получение образца ткани у тестируемого млекопитающего, предположительно страдающего расстройством кишечника, контактирование ткани с детектируемым средством, которое взаимодействует с белком LY6H, LYPD1, LYPD3 и/или LYPD5, или с нуклеиновой кислотой, кодирующей LY6H, LYPD1, LYPD3 и/или LYPD5, и определение уровня экспрессии LY6H, LYPD1, LYPD3 и/или LYPD5 по сравнению с контрольной тканью. В одном варианте осуществления повышенная экспрессия LY6H, LYPD1, LYPD3 и/или LYPD5 по сравнению с контролем указывает на IBD у тестируемого млекопитающего. В одном варианте осуществления повышенная экспрессия LY6H, LYPD1, LYPD3 и/или LYPD5 в тестируемой ткани кишечника по сравнению с контрольной тканью кишечника указывает на UC у тестируемого млекопитающего. В одном варианте осуществления повышенная экспрессия LY6H, LYPD1, LYPD3 и/или LYPD5 в тестируемой ткани кишечника по сравнению с контрольной тканью кишечника указывает на CD у тестируемого млекопитающего. В одном варианте осуществления ткань или клетки тестируемого и контрольного млекопитающих представляют собой ткань или клетки из толстого кишечника.

В одном варианте осуществления экспрессию LY6H, LYPD1, LYPD3 и/или LYPD5 определяют посредством выявления экспрессии генов, например посредством выявления мРНК, кодирующей LY6H, LYPD1, LYPD3 и/или LYPD5 в образце ткани или клеток. В одном варианте осуществления контрольный образец представляет

собой образец ткани или клеток того же типа ткани или клеток, полученный у млекопитающего, о котором известно, что оно не страдает желудочно-кишечным расстройством, таким как IBD, UC или CD. В одном варианте осуществления контрольный образец представляет собой универсальный стандарт, содержащий РНК из нескольких нормальных тканей или из множества клеточных линий. В анализе на микрочипах такие универсальные стандарты пригодны для мониторинга и контроля внутриэкспериментальных и межэкспериментальных вариаций. В одном варианте осуществления универсальный стандарт (или универсальную стандартную РНК (URR)) получают, как описано в Novoradovskaya, N. et al. (2004) BMC Genomics 5: 20, которая включена в настоящий документ в качестве ссылки в полном объеме. В одном варианте осуществления для применения в качестве контроля в анализе на микрочипах РНК мыши, URR представляет собой универсальную стандартную РНК мыши от Stratagene® (каталожный #740100, Stratagene®, La Jolla, CA). В одном варианте осуществления для применения в качестве контроля в анализе на микрочипах РНК человека, URR представляет собой универсальную стандартную РНК человека от Stratagene® (каталожный #740000). В одном варианте осуществления для применения в качестве контроля в анализе на микрочипах РНК крысы, URR представляет собой универсальную стандартную РНК крысы от Stratagene® (каталожный #740200). В одном варианте осуществления, где РНК представляет собой РНК мыши, клеточные линии, из которых экстрагирована тотальная РНК, включают клеточные линии, полученные из эмбриона, фибробластов эмбриона, почки, гепатоцитов печени, альвеолярных макрофагов легких, В-лимфоцитов, Т-лимфоцитов (тимус), молочной железы, мышечных миоцитов, кожи и семенника. В одном варианте осуществления, где РНК представляет собой РНК человека, клеточные линии, из которых экстрагирована тотальная РНК, включают клеточные линии, полученные из аденокарциномы молочной железы, гепатобластомы печени, аденокарциномы шейки матки, эмбриональной карциномы или карциномы яичка, глиобластомы головного мозга, меланомы, липосаркомы, гистиоцитарной лимфомы (макрофаги, гистоциты), Т-лимфобластного лейкоза, В-лимфобластной плазматомы и меланомы. В одном варианте осуществления, где РНК представляет собой РНК крысы, клеточные линии, из которых экстрагирована тотальная РНК, включают клеточные линии, полученные из крови при базофильном лейкозе, из крови при Т-лимфоцитарной лимфоме, из В-лимфобластной гибридомы крови, глиомы мозга, карциномы желточного мешка эмбриона, нормальных фибробластов эмбриона, нормальной почки, гепатомы печени, нормальных альвеолярных макрофагов легкого, нормальных альвеолярных клеток II типа легкого, аденокарциномы молочной железы, мышечных миоцитов, нормальной кожи и опухоли клеток Лейдига семенника.

В одном аспекте изобретение относится к изделию, содержащему контейнер и композицию, содержащуюся в контейнере, где композиция содержит нуклеиновую кислоту, кодирующую LY6H, LYPD1, LYPD3 и/или LYPD5, или комплементарную ей нуклеиновую кислоту, и/или антитело или антитела против LY6H, LYPD1, LYPD3 и/или LYPD5, или их связывающий LY6H, LYPD1, LYPD3 и/или LYPD5 фрагмент, где нуклеиновые кислоты и/или антитела являются детектируемыми. В одном варианте осуществления композиция содержит детектирующие средства для детекции связывания нуклеиновых кислот, таких как, но не ограничиваясь ими, нуклеиновые кислоты, кодирующие LY6H, LYPD1, LYPD3 и/или LYPD5, или комплементарные им

нуклеиновые кислоты, с нуклеиновой кислотой LY6H, LYPD1, LYPD3 и/или LYPD5 в образце ткани тестируемого млекопитающего, предположительно страдающего расстройством кишечника. В одном варианте осуществления композиция содержит детектирующие средства для детекции антитела, связывающегося, например, с LY6H, LYPD1, LYPD3 и/или LYPD5 в образце ткани тестируемого млекопитающего, предположительно страдающего расстройством кишечника. В одном варианте осуществления антитело композиции является детектируемо меченным. В одном варианте осуществления антитело композиции детектируют с помощью второго антитела, это второе антитело является детектируемым или является детектируемо меченным. Кроме того, изделие необязательно может содержать ярлык, прикрепленный к контейнеру, или вкладыш в упаковку, включенный вместе с контейнером, которые относятся к применению нуклеиновой кислоты LY6H, LYPD1, LYPD3 и/или LYPD5 или комплементарной ей нуклеиновой кислоты и/или антитела против LY6H, LYPD1, LYPD3 и/или LYPD5 или его связывающего LY6H, LYPD1, LYPD3 и/или LYPD5 фрагмента для выявления повышенной экспрессии LY6H, LYPD1, LYPD3 и/или LYPD5 в ткани кишечника, включая, но не ограничиваясь этим, ткань толстого кишечника. В одном варианте осуществления расстройство кишечника представляет собой IBD. В одном варианте осуществления расстройство кишечника представляет собой UC или CD. В одном варианте осуществления полипептид LYPD1 и антитело против LYPD1 представляют собой полипептид и антитело, как описано в US 7157558 и US 7144990 соответственно.

В одном аспекте настоящее изобретение относится к способу диагностики наличия расстройства кишечника у млекопитающего, включающему детекцию уровня экспрессии гена, кодирующего полипептид LY6H, LYPD1, LYPD3 и/или LYPD5 (a) в тестируемом образце ткани или клеток, полученном у указанного млекопитающего, и (b) в контрольном образце известных нормальных клеток у млекопитающего, не страдающего расстройством кишечника, из ткани того же происхождения или типа, где более высокий уровень экспрессии полипептида LY6H, LYPD1, LYPD3 и/или LYPD5 в тестируемом образце, по сравнению с контрольным образцом, указывает на наличие расстройства кишечника у млекопитающего, у которого был получен тестируемый образец. В одном варианте осуществления расстройство кишечника представляет собой IBD. В одном варианте осуществления IBD представляет собой UC. В одном варианте осуществления IBD представляет собой CD. В одном варианте осуществления детекцию проводят посредством контактирования антитела с полипептидом LY6H, LYPD1, LYPD3 и/или LYPD5, или связывающего фрагмента антитела, с тестируемым и контрольным образцами и определения относительного количества образования комплекса антитело-полипептид. Более высокий уровень образования комплекса антитело-полипептид в тестируемом образце по сравнению с контрольным образцом указывает на расстройство кишечника, такое как IBD, UC или CD, у тестируемого млекопитающего. Антитело по изобретению является детектируемо меченным, или, альтернативно, антитело выявляют посредством последующего связывания второго антитела, которое является детектируемым.

В другом варианте осуществления настоящее изобретение относится к способу диагностики наличия расстройства кишечника у млекопитающего, включающему (a) контактирование тестируемого образца, содержащего ткань или клетки, полученные у тестируемого млекопитающего, с олигонуклеотидом, который гибридизуется в условиях высокой строгости с нуклеиновой кислотой LY6H, LYPD1, LYPD3

и/или LYPD5 (или комплементарной ей нуклеиновой кислотой) или антителом, которое специфично связывается с полипептидом LY6H, LYPD1, LYPD3 и/или LYPD5,

и (b) детекцию образования комплекса между олигонуклеотидом или антителом и нуклеиновой кислотой LY6H, LYPD1, LYPD3 и/или LYPD5 (или комплементарной ей

нуклеиновой кислотой) или полипептидом LY6H, LYPD1, LYPD3 и/или LYPD5 соответственно, в тестируемом образце, где повышенное образование такого

комплекса в тестируемом образце по сравнению с контрольным образцом указывает на наличие расстройства кишечника (такого как IBD, UC или CD) у тестируемого

млекопитающего. В одном варианте осуществления расстройство кишечника представляет собой IBD. В одном варианте осуществления расстройство представляет собой UC. В одном варианте осуществления расстройство представляет собой CD. В одном варианте осуществления ткань тестируемого и

контрольного млекопитающих представляет собой ткань толстого кишечника. Не обязательно, связывающее полипептид LY6H, LYPD1, LYPD3 и/или LYPD5 антитело или гибридизующийся с геном LY6H, LYPD1, LYPD3 и/или LYPD5 олигонуклеотид, используемые в способе по изобретению, являются

детектируемыми, детектируемо меченными, связанными с твердой подложкой, или

сходные с ними, и/или тестируемый образец ткани или клеток получают у индивида,

предположительно страдающего расстройством кишечника, где расстройство представляет собой IBD, такое как, но не ограничиваясь ими, UC или CD.

В другом варианте осуществления настоящее изобретение относится к применению (a) полипептида LY6H, LYPD1, LYPD3 и/или LYPD5, (b) нуклеиновой кислоты, кодирующей полипептид LY6H, LYPD1, LYPD3 и/или LYPD5, или вектора или клетки-хозяина, содержащих нуклеиновую кислоту (a), (c) антитела против полипептида LY6H, LYPD1, LYPD3 и/или LYPD5 или (d) связывающего LY6H, LYPD1, LYPD3 и/или LYPD5 олигопептида, для получения лекарственного средства, пригодного для диагностического выявления расстройства кишечника, включая, но не ограничиваясь ими, IBD CD или UC, в ткани кишечника млекопитающего, включая, но не ограничиваясь этим, ткань толстого кишечника.

В одном аспекте изобретение относится к способу выявления ответа на терапевтическое лекарственное средство у млекопитающего, подвергаемого лечению лекарственным средством против IBD, где способ включает определение экспрессии LY6H, LYPD1, LYPD3 и/или LYPD5 в желудочно-кишечной ткани тестируемого млекопитающего по сравнению с контрольной желудочно-кишечной тканью контрольного млекопитающего, где более высокий уровень экспрессии LY6H, LYPD1, LYPD3 и/или LYPD5 в тестируемой ткани по сравнению с контрольной тканью указывает на болезненное состояние или продолжение болезненного состояния. Отличие экспрессии LY6H, LYPD1, LYPD3 и/или LYPD5 в тестируемой ткани, которое не является значимо превышающим нормальные контрольные уровни экспрессии или уровни, которые находятся в диапазоне нормальных уровней экспрессии для LY6H, LYPD1, LYPD3 и/или LYPD5 в популяции млекопитающих, указывает на улучшение или смягчение расстройства кишечника, и это улучшение или смягчение может быть связано с лекарственным средством. В одном варианте осуществления ответ на лечение определяют, когда уровни экспрессии LY6H, LYPD1, LYPD3 и/или LYPD5 в желудочно-кишечных тканях или клетках или тканях или клетках толстого кишечника млекопитающего, подвергаемого лечению лекарственным средством, отличаются (экспрессия является более сходной с нормальными контрольными уровнями, т.е. уровни LY6H, LYPD1,

LYPD3 и/или LYPD5 являются более низкими, чем уровни экспрессии LY6H, LYPD1, LYPD3 и/или LYPD5, у млекопитающего до лечения).

Другие варианты осуществления настоящего изобретения будут очевидны специалисту в данной области при прочтении настоящего описания.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ РИСУНКОВ

На фигурах 1Аи 1В представлена последовательность нуклеиновой кислоты (SEQ ID NO:1), кодирующая полипептид LY6H человека, и аминокислотная последовательность полипептида LY6H человека (SEQ ID NO:2).

На фигурах 2Аи 2В представлены последовательности нуклеиновых кислот (SEQ ID NO:3 и 4), кодирующие полипептид LYPD1 человека, и на фигуре 2С представлена аминокислотная последовательность полипептида LYPD1 человека (SEQ ID NO:5).

На фигурах 3Аи 3В представлена последовательность нуклеиновой кислоты (SEQ ID NO:6), кодирующая полипептид LYPD3 человека, и аминокислотная последовательность полипептида LYPD3 человека (SEQ ID NO:7).

На фигурах 4Аи 4В представлены последовательности нуклеиновых кислот (SEQ ID NO:8 и 9), кодирующие полипептид LYPD5 человека, и на фигуре 4С представлена аминокислотная последовательность полипептида LYPD5 человека (SEQ ID NO:10).

На фигурах 5Аи 5В представлена последовательность нуклеиновой кислоты (SEQ ID NO:11), кодирующая полипептид LY6D человека, и аминокислотная последовательность полипептида LY6D человека (SEQ ID NO:12).

На фигурах 6Аи 6В представлена последовательность нуклеиновой кислоты (SEQ ID NO:13), кодирующая полипептид LY6E человека, и аминокислотная последовательность полипептида LY6E человека (SEQ ID NO:14).

На фигурах 7Аи 7В представлена последовательность нуклеиновой кислоты (SEQ ID NO:15), кодирующая полипептид LYPD2 человека, и аминокислотная последовательность полипептида LYPD2 человека (SEQ ID NO:16).

На фигурах 8А-8Н представлены последовательности молекул GLG-1 (ESL-1): (А-В) регистрационный номер No. U64791, последовательность нуклеиновой кислоты (SEQ ID NO:17), кодирующая полипептид GLG-1 (ESL-1) человека (SEQ ID NO:18); (С-Д) регистрационный номер No. NM_012201, последовательность нуклеиновой кислоты (SEQ ID NO:19), кодирующая полипептид GLG-1 (ESL-1) человека (SEQ ID NO:20); (Е-Ф) регистрационный номер No. AK172806, последовательность нуклеиновой кислоты (SEQ ID NO:21), кодирующая полипептид GLG-1 (ESL-1) человека (SEQ ID NO:22); и регистрационный No. AK131501, последовательность нуклеиновой кислоты (SEQ ID NO:23), кодирующая полипептид GLG-1 (ESL-1) человека (SEQ ID NO:24).

На фигурах 9Аи 9В представлена последовательность нуклеиновой кислоты (SEQ ID NO:25), кодирующая полипептид LY6А человека, и аминокислотная последовательность полипептида LY6А человека (SEQ ID NO:26).

На фигурах 10Аи 10В представлена последовательность нуклеиновой кислоты (SEQ ID NO:27), кодирующая полипептид LY6С мыши, и аминокислотная последовательность полипептида LY6С мыши (SEQ ID NO:28).

На фигурах 11Аи 11В представлена последовательность нуклеиновой кислоты (SEQ ID NO:29), кодирующая полипептид LY6D мыши, и аминокислотная последовательность полипептида LY6D мыши (SEQ ID NO:30).

На фигурах 12Аи 12В представлена последовательность нуклеиновой кислоты (SEQ ID NO:31), кодирующая полипептид LY6Е мыши и аминокислотная последовательность полипептида LY6Е мыши (SEQ ID NO:32).

На фигурах 13Аи 13В представлена последовательность нуклеиновой кислоты (SEQ ID NO:33), кодирующая полипептид LY6F мыши, и аминокислотная последовательность полипептида LY6F мыши (SEQ ID NO:34).

На фигурах 14Аи 14В представлена последовательность нуклеиновой кислоты (SEQ ID NO:35), кодирующая полипептид LY6I мыши, и аминокислотная последовательность полипептида LY6I мыши (SEQ ID NO:36).

На фигурах 15Аи 15В представлена последовательность нуклеиновой кислоты (SEQ ID NO:37), кодирующая полипептид LY6K мыши, и аминокислотная последовательность полипептида LY6K мыши (SEQ ID NO:38).

На фигурах 16Аи 16В представлена последовательность нуклеиновой кислоты (SEQ ID NO:45), кодирующая полипептид LYPD3 мыши, и аминокислотная последовательность полипептида LYPD3 мыши (SEQ ID NO:46).

На фигурах 17Аи 17В представлена последовательность нуклеиновой кислоты (SEQ ID NO:47), кодирующая полипептид LY6H мыши, и аминокислотная последовательность полипептида LY6H мыши (SEQ ID NO:48).

На фигурах 18Аи 18В представлена последовательность нуклеиновой кислоты (SEQ ID NO:49), кодирующая полипептид LYPD1 мыши, и аминокислотная последовательность полипептида LYPD1 мыши (SEQ ID NO:50).

На фигурах 19Аи 19В представлена последовательность нуклеиновой кислоты (SEQ ID NO:51), кодирующая полипептид LYPD2 мыши, и аминокислотная последовательность полипептида LYPD2 мыши (SEQ ID NO:52).

На фигурах 20Аи 20В представлена последовательность нуклеиновой кислоты (SEQ ID NO:53), кодирующая полипептид LY6g5c мыши, и аминокислотная последовательность полипептида LY6g5c мыши (SEQ ID NO:54).

На фигурах 21Аи 22В представлена последовательность нуклеиновой кислоты (SEQ ID NO:55), кодирующая полипептид LY6g6c мыши, и аминокислотная последовательность полипептида LY6g6c мыши (SEQ ID NO:56).

На фигурах 22Аи 22В представлена последовательность нуклеиновой кислоты (SEQ ID NO:57), кодирующая полипептид SLURP2/LYNX1 мыши, и аминокислотная последовательность полипептида SLURP2/LYNX1 мыши (SEQ ID NO:58).

На фигуре 23 показано, что члены семейства LY6 активируются в ИЕС в моделях колита на мышах. ИЕС, как в модели IL10^{-/-} (фигура 23А), так и в модели перенесенного колита CD45RB^{Hi} (фигура 23В), выделяли посредством LCM и РНК очищали. Проводили анализ на микрочипах и анализировали, как описано в разделе "Примеры". Числовые значения соответствуют среднему значению изменения в кратности по сравнению с универсальным стандартом РНК для мышей с колитом по сравнению со здоровыми мышами. Числовые значения ниже тепловой карты указывают на показатель воспаления у отдельной мыши.

На фигурах 24А-24D показано, что поверхностная экспрессия молекул LY6 активируется на ИЕС в модели колита IL10^{-/-}. В моделях перенесенного колита мышей дикого типа (фигура 24А) или IL10^{-/-} (фигура 24В) проводили окрашивание на поверхностную экспрессию LY6А (зеленый, с контрастирующим окрашиванием DAPI). Аналогично, для мышей дикого типа (фигура 24С) или IL10^{-/-} (фигура 24D) проводили окрашивание на поверхностную экспрессию LY6С.

На фигурах 25А-25I показано, что поверхностная экспрессия LY6А и LY6С повышается в ответ на воспалительные цитокины, в частности IFN γ . Клетки YAMC обрабатывали указанным цитокином в течение 15 часов и окрашивали на

поверхностную экспрессию LY6C (фигура 25A) и LY6A (фигура 25B). Клетки YAMC культивировали в течение 15 часов в присутствии возрастающих доз IFN γ и анализировали проточной цитометрией в отношении экспрессии LY6C (фигура 25C) и LY6A (фигура 25D). Стимулированные посредством IFN γ клетки YAMC собирали в различные моменты времени, как указано, и анализировали проточной цитометрией в отношении экспрессии LY6C (фигура 25E) и LY6A (фигура 25F). IL-22 повышал экспрессию как LY6C (фигура 25G), так и LY6A (фигура 25H). Уровни как LY6A, так и LY6C были повышены в линии IEC мышей, СМТ93, в ответ на обработку посредством IFN γ (фигура 25I).

Фигуры 26А-26Е. Истощение липидных рафтов приводит к ингибированию опосредуемой LY6C продукции хемокинов. Клетки YAMC с истощением холестерина (темные столбики) или без истощения (незакрашенные столбики) инкубировали со связанным с планшетом антителом против KLH или против LY6C, как указано, в течение 15 часов. РНК собирали и определяли уровни экспрессии CXCL2, CXCL5 и CCL7 (фигуры 26А-26С). Поверхностные уровни LY6A (фигура 26D) и LY6C (фигура 26Е) снижались в ответ на истощение холестерина.

На фигурах 27А-27D показано, что поперечное связывание LY6C, но не LY6A, индуцирует повышение поверхностной экспрессии LY6A и LY6C. Клетки YAMC инкубировали в течение 24 часов на планшетах, покрытых контрольным антителом против KLH, антителом против LY6A или антителом против LY6C, и анализировали проточной цитометрией в отношении экспрессии LY6C (фигура 27А) или LY6A (фигура 27В). Клетки предварительно обрабатывали в течение 12 часов 100 ед./мл IFN γ и аналогично помещали в покрытые антителом планшеты и анализировали в отношении экспрессии LY6C (фигура 27С) или LY6A (фигура 27D).

На фигурах 28А-28С показано, что поперечное связывание LY6C, но не LY6A, индуцирует секрецию хемокинов. Фигура 28А: клетки YAMC предварительно инкубировали, как указано, с 100 ед./мл IFN γ в течение 15 часов, или предварительно не инкубировали, и культивировали на планшетах, покрытых 10 мкг/мл антитела LY6A (черные столбики) или антитела против LY6C (заштрихованный столбики) или контрольным антителом против KLH (незакрашенные столбики). РНК выделяли через 24 (слева), 48 (центр) и 72 (справа) часов и анализировали в отношении экспрессии CXCL5 или CCL7 (А). Данные указывают на среднее значение \pm SD изменение в кратности (как определяют способом $2^{-\Delta\Delta C_t}$) по сравнению с необработанными клетками, поперечно-связанными изотипическим антителом. Фигура 28В: Супернатанты собирали через 48 часов в клетках, поперечно-связанных, как указано выше, посредством 1, 5 или 10 мкг/мл (как указано) антитела, и в супернатанте определяли секрецию CXCL5 посредством ELISA. * $<0,05$. Фигура 28С: Уровни как CXCL5, так и CXCL2 в ответ на поперечное связывание LY6C снижались, когда уровни LY6C снижали посредством siРНК.

На фигурах 29А-29В показано, что IEC при колите обладают сходным паттерном экспрессии генов хемокинов. IEC как в модели IL10 $^{-/-}$ (фигура 29А), так и в модели перенесенного колита CD45RB Hi (фигура 29В) выделяли посредством LCM и РНК очищали. Проводили анализ на микрочипах и анализировали, как описано в разделе "Примеры". Числовые значения соответствуют среднему значению изменений в кратности по сравнению с универсальным стандартом РНК для мышей с колитом относительно здоровых мышей. Числовые значения ниже тепловой карты указывают на показатель воспаления у отдельной мыши.

На фигурах 30А-30С показано, что экспрессия генов семейства LY6 человека

повышается в клетках толстого кишечника, обработанных цитокинами. Клетки Colo-205 человека обрабатывали указанными цитокинами или сочетаниями цитокинов в течение 18 или 24 часов. Возрастание в кратности экспрессии LY6H человека (фигура 30А), LYPD3 человека (фигура 30В) и LYPD5 человека (фигура 30С) показано по сравнению с контролем, представляющим собой β -актин человека.

На фигурах 31А-31В показано, что пациенты с болезнью Крона обладают повышенными уровнями LYPD1 (фигура 31А) и LYPD5 (фигура 31В) в толстом кишечнике. Получали образцы тканей у людей-пациентов с IBD и определяли экспрессию генов LYPD1 и LYPD5. Наблюдала статистически значимое повышение экспрессии LYPD1 и LYPD5 в воспаленной ткани пациентов с CD. Также наблюдали статистически значимое повышение экспрессии LYPD5 в воспаленной ткани пациентов с UC. Значения на оси Y отражают экспрессию генов относительно универсального стандарта РНК.

На фигурах 32А и 32В показаны (А) нетрансфицированные клетки COS и (В) клетки COS, трансфицированные полипептидом GLG-1 (ESL-1), окрашенные белком LYPD5-Fc.

На фигуре 33А представлена структура GLG-1 или ESL-1 и различные фрагменты, пригодные для охарактеризации связывания LYPD5, а на фигуре 33В показаны результаты исследования коиммунопреципитации, характеризующие связывание LYPD5 и лиганда LYPD5.

На фигуре 34А представлена структура GLG-1 или ESL-1 и различных фрагментов, пригодных для охарактеризации связывания LYPD5, а на фигуре 34В показаны результаты исследования коиммунопреципитации, характеризующие связывание LYPD5 и лиганда LYPD5.

На фигуре 35А представлена структура GLG-1 или ESL-1 и различных фрагментов, пригодных для охарактеризации связывания LYPD5, а на фигуре 35В показаны результаты исследования коиммунопреципитации, характеризующие связывание LYPD5 и лиганда LYPD5.

На фигурах 36А и 36В представлена последовательность нуклеиновой кислоты (SEQ ID NO:68), кодирующая интегрин бета 7 человека, и аминокислотная последовательность полипептида интегрин бета 7 человека (SEQ ID NO: 69).

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Определения

“Воспалительное заболевание кишечника” или “IBD” используют в настоящем документе взаимозаменяемо для определения заболеваний кишечника, которые вызывают воспаление и/или изъязвление, и они включают, но не ограничиваются ими, болезнь Крона и язвенный колит.

“Болезнь Крона (CD)” или “язвенный колит (UC)” представляют собой хронические воспалительные заболевания кишечника неизвестной этиологии. Болезнь Крона, в отличие от язвенного колита, может поражать любую часть кишечника. Наиболее выделяющимся признаком болезни Крона является гранулярное красновато-фиолетовое отечное утолщение стенки кишечника. При развитии воспаления эти гранулемы часто теряют их ограниченные границы и интегрируются с окружающей тканью. Преобладающими клиническими признаками являются диарея и обструкция кишечника. Как и в случае язвенного колита, течение болезни Крона может быть постоянным или рецидивирующим, мягким или тяжелым, но, в отличие от язвенного колита, болезнь Крона не поддается излечению резекцией вовлеченного сегмента кишечника. Большинству пациентов с болезнью Крона в

некоторый момент времени требуется хирургическая операция, однако часто происходит последующее обострение и обычным является постоянное медикаментозное лечение.

5 Болезнь Крона может поражать любую часть пищеварительного тракта от ротовой полости до анального отверстия, хотя, как правило, она возникает в подвздошно-ободочной области, области тонкого кишечника или области толстой кишки и заднего прохода. Гистопатологически заболевание проявляется дискретными гранулемами, абсцессами крипт, трещинами и афтозными язвами. 10 Воспалительный инфильтрат является смешанным, состоящим из лимфоцитов (как Т-, так и В-клеток), плазматических клеток, макрофагов, и нейтрофилов. Происходит непропорциональное повышение IgM- и IgG-секретирующих плазматических клеток, макрофагов и нейтрофилов.

15 Противовоспалительные лекарственные средства сульфасалазин и 5-аминосалициловая кислота (5-ASA) пригодны для лечения болезни Крона в толстом кишечнике с мягкой активностью, и их обычно назначают для поддержания ремиссии заболевания. Метронидазол и ципрофлоксацин обладают эффективностью, сходной с сульфасалазином, и оказываются особенно пригодными для лечения 20 перианального заболевания. В более тяжелых случаях для лечения активных обострений эффективны кортикостероиды, и они могут даже поддерживать ремиссию. Азатиоприн и 6-меркаптопурин также продемонстрировали успех у пациентов, которым требуется длительное введение кортикостероидов. Также возможно, что эти лекарственные средства могут участвовать в длительной 25 профилактике. К сожалению, у некоторых пациентов перед возникновением эффекта может быть очень длительная задержка (вплоть до шести месяцев).

Лекарственные средства против диареи также могут обеспечить смягчение симптомов у некоторых пациентов. Лечебное питание или элементная диета могут 30 улучшить состояние питания пациентов и индуцировать улучшение симптомов острого заболевания, однако они не индуцируют длительных клинических ремиссий. Для лечения вторичного избыточного роста бактерий и лечения гнойных осложнений применяют антибиотики.

35 “Язвенный колит (UC)” поражает толстый кишечник. Течение заболевания может быть постоянным или рецидивирующим, мягким или тяжелым. Наиболее ранним повреждением является воспалительная инфильтрация с образованием абсцесса в основании либеркюновых крипт. Сращение этих растянутых и разорвавшихся крипт обеспечивает тенденцию к разделению вышележащей слизистой оболочки и 40 кровоснабжения, что ведет к изъязвлению. Симптомы заболевания включают спазм, боль в нижней части живота, кровотечение из прямой кишки и частые опорожнения с жидким стулом, состоящим, главным образом, из крови, гноя и слизи со скудными частицами кала. При остром, тяжелом или хроническом неремитирующем язвенном колите может потребоваться колэктомия.

45 Клинические признаки UC в значительной степени варьируют, и начало может быть постепенным или внезапным, и оно может включать диарею, тенезмы и рецидивирующее кровотечение из прямой кишки. При быстром вовлечении всего толстого кишечника может произойти токсический мегаколон, угрожающая жизни 50 ситуация. Внекишечные проявления включают артрит, гангренозную пиодермию, увеит и узловатую эритему.

Лечение UC включает сульфасалазин и сходные салицилат-содержащие лекарственные средства при мягких случаях и кортикостероидные лекарственные

средства в тяжелых случаях. Иногда является эффективным местное введение либо салицилатов, либо кортикостероидов, в частности когда заболевание ограничено дистальным отделом кишечника, и оно ассоциировано со сниженными побочными эффектами по сравнению с системным применением. Иногда показаны поддерживающие меры, такие как введение железа и средств против диареи. Также иногда назначают азатиоприн, 6-меркаптопурин и метотрексат для применения в рефрактерных кортикостероид-зависимых случаях.

Как используют в настоящем документе, “член семейства генов LY6” или “член суперсемейства генов LY6” используют в настоящем документе взаимозаменяемо для определения гена, имеющего гомологию с членами семейства генов LY6, большинство из которых представляют собой GPI-заякоренные гликопротеины клеточной поверхности, широко распространенные на клетках гематопоэтического происхождения и более ограниченно экспрессирующиеся на негематопоэтических клетках. Члены этого семейства генов используют в качестве маркеров дифференцировки иммунных клеток (Sunderkotter, C. et al., J. Immunol. 172:4410-4417 (2004)). Гены семейства LY6 были изучены (Shevach, E.M. и P.E. Kory, Immunol. Today 10:195-200 (1989)), и их функции включают активацию Т-клеток (Zhang, Z.X. et al., Eur. J. Immunol. 32:1584-1592 (2002) и Henderson, S.C. et al., J. Immunol. 168:118-126 (2002)), обоняние (Chou, J.H. et al., Genetics 157:211-224 (2001)) и клеточную адгезию (Jaakkola, I. et al., J. Immunol. 170:1283-1290 (2003)). Члены семейства генов LY6 включают, но не ограничиваются ими, члены семейства генов LY6 млекопитающих, такие как гены семейства LY6 мыши или человека. Как используют в настоящем документе, “ген LY6” относится к члену семейства генов LY6, а “полипептид LY6” относится к полипептиду, кодируемому геном LY6. Члены семейства генов LY6 мыши включают, но не ограничиваются ими, LY6A (NM_010738, нуклеиновая кислота SEQ ID NO:25, которая кодирует полипептид SEQ ID NO:26), LY6C (NM_010741, нуклеиновая кислота SEQ ID NO:27, которая кодирует полипептид SEQ ID NO:28), LY6D (NM_003695, нуклеиновая кислота SEQ ID NO:29, которая кодирует полипептид SEQ ID NO:30), LY6E (NM_002346, нуклеиновая кислота SEQ ID NO:31, которая кодирует полипептид SEQ ID NO:32), LY6F (NM_008530, нуклеиновая кислота SEQ ID NO:33, которая кодирует полипептид SEQ ID NO:34), LY6I (NM_020498, нуклеиновая кислота SEQ ID NO:35, которая кодирует полипептид SEQ ID NO:36) и LY6K (NM_017527, нуклеиновая кислота SEQ ID NO:37, которая кодирует полипептид SEQ ID NO:38). Члены семейства генов LY6 человека включают, но не ограничиваются ими, LY6H (NM_002347, нуклеиновая кислота SEQ ID NO:1, которая кодирует полипептид SEQ ID NO:2), LYPD1 (NM_144586, нуклеиновая кислота SEQ ID NO:3 или 4, которая кодирует полипептид SEQ ID NO:5), LYPD3 (NM_014400, нуклеиновая кислота SEQ ID NO:6, которая кодирует полипептид SEQ ID NO:7), LYPD5 (NM_182573, нуклеиновая кислота SEQ ID NO:8 или 9, которая кодирует полипептид SEQ ID NO:10), LY6D (NM_003695, нуклеиновая кислота SEQ ID NO:11, которая кодирует полипептид SEQ ID NO:12), LY6E (NMNM_002346, нуклеиновая кислота SEQ ID NO:13, которая кодирует полипептид SEQ ID NO:14), LYPD2 (NM_205545, нуклеиновая кислота SEQ ID NO:15, которая кодирует полипептид SEQ ID NO:16). В вариантах осуществления полинуклеотид каждого члена семейства генов LY6, описанного в настоящем документе, включает по меньшей мере 15, по меньшей мере 25, по меньшей мере 50, по меньшей мере 100, по меньшей мере 250, по меньшей мере 500, по меньшей мере 750, по меньшей мере 1000, по меньшей мере 1250, по меньшей мере 1500, по

меньшей мере 1750, по меньшей мере 2000 или по меньшей мере 2040 последовательных нуклеотидов SEQ ID NO:1, 3, 4, 6, 8, 9, 11, 13, 15, 25, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 45, 47, 49, 51, 53, 55, или 57, или полинуклеотид члена семейства генов LY6 содержит SEQ ID NO:1, 3, 4, 6, 8, 9, 11, 13, 15, 25, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 45, 47, 49, 51, 53, 55 или 57. В одном варианте осуществления полинуклеотид, который связывает полинуклеотид члена семейства генов LY6 (SEQ ID NO:1, 3, 4, 6, 8, 9, 11, 13, 15, 25, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 45, 47, 49, 51, 53, 55 или 57), или его фрагмент обладает по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 99% или 100% идентичностью последовательности с полипептидом LY6 или его фрагментом. В одном варианте осуществления полипептид члена семейства генов LY6 содержит по меньшей мере 10, по меньшей мере 25, по меньшей мере 50, по меньшей мере 75, по меньшей мере 100, по меньшей мере 125, по меньшей мере 150, по меньшей мере 175, по меньшей мере 200, по меньшей мере 225, по меньшей мере 250, по меньшей мере 275, по меньшей мере 300 или по меньшей мере 325, по меньшей мере последовательных аминокислот SEQ ID NO:2, 5, 7, 10, 12, 14, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 46, 48, 50, 52, 54, 56 или 58, или полипептид семейства генов LY6 содержит SEQ ID NO: 2, 5, 7, 10, 12, 14, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 46, 48, 50, 52, 54, 56 или 58.

“Полипептид с нативной последовательностью” любого из членов семейства генов LY6 содержит полипептид, имеющий ту же аминокислотную последовательность, что и соответствующий природный полипептид члена семейства генов LY6. Такие полипептиды с нативной последовательностью LY6 можно выделять из природных источников или их можно получать рекомбинантными или синтетическими способами. Термин “полипептид LY6 с нативной последовательностью” конкретно охватывает природные укороченные или секретируемые формы конкретного полипептида LY6 (например, последовательности внеклеточного домена), природные формы вариантов (например, альтернативно-сплайсированные формы) и природные аллельные варианты полипептида. В одном конкретном аспекте полипептиды LY6 с нативной последовательностью, описанные в настоящем документе, представляют собой зрелые или полноразмерные полипептиды с нативной последовательностью, соответствующие последовательностям на фигурах 1-7 и SEQ ID NO:2, 5, 7, 10, 12, 14, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 46, 48, 50, 52, 54, 56 или 58.

Как используют в настоящем документе, “вариант полипептида LY6” означает полипептид LY6, предпочтительно его биологически активные формы, как определено выше, обладающий по меньшей мере приблизительно 80% идентичностью аминокислотной последовательности с полноразмерной последовательностью полипептида LY6 с нативной последовательностью, как описано в настоящем документе, и его формами вариантов, лишенными сигнального пептида, внеклеточного домена, или любым другим фрагментом полноразмерного полипептида LY6 с нативной последовательностью, таким как фрагменты, упоминаемые в настоящем документе. Такие варианты полипептидов включают, например, полипептиды, где добавлены или удалены один или несколько аминокислотных остатков на N- или C-конце полноразмерной нативной аминокислотной последовательности. В конкретном аспекте такие варианты полипептидов будут обладать по меньшей мере приблизительно 80% идентичностью аминокислотной последовательности, альтернативно по меньшей мере приблизительно 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%,

94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичностью аминокислотной последовательности, с последовательностью полноразмерного полипептида LY6 с нативной последовательностью, как описано в настоящем документе, и его формами вариантов, лишенными сигнального пептида, внеклеточного домена, или любым другим фрагментом полноразмерного полипептида LY6 с нативной последовательностью, таким как фрагмент, описанный в настоящем документе.

"Процентную (%) идентичность аминокислотных последовательностей" в отношении последовательности полипептида LY6, идентифицированного в настоящем документе, определяют как процент аминокислотных остатков в последовательности-кандидате, которые идентичны аминокислотным остаткам в конкретной последовательности полипептида LY6, после выравнивания последовательностей и внесения разрывов, если необходимо, для достижения максимальной процентной идентичности последовательностей, и не считая какие-либо консервативные замены частью идентичности последовательностей.

Выравнивание для целей определения процентной идентичности аминокислотных последовательностей можно проводить различными способами, которые находятся в пределах специальных знаний, например с использованием общедоступного компьютерного программного обеспечения, такого как программное обеспечение BLAST, BLAST-2, ALIGN или Megalign (DNASTAR). Специалисты в данной области могут определить соответствующие параметры для проведения выравнивания, включая любые алгоритмы, требуемые для достижения максимального выравнивания на протяжении всей длины сравниваемых последовательностей. Однако для целей, представленных в настоящем документе, значения % идентичности аминокислотных последовательностей получают с использованием компьютерной программы для сравнения последовательностей ALIGN-2, где полный исходный текст для программы ALIGN-2 предоставлен в таблице 1 ниже. Компьютерная программа для сравнения последовательностей ALIGN-2 была составлена в Genentech, Inc. и исходный текст, представленный в таблице 1 ниже, был представлен с пользовательской документацией в U.S. Copyright Office, Washington D.C., 20559, где он зарегистрирован под U.S. Copyright Registration No. TXU510087. Программа ALIGN-2 является общедоступной через Genentech, Inc., South San Francisco, California, или ее можно составить из исходного текста, представленного в таблице 1 ниже.

Программа ALIGN-2 должна быть составлена для применения на операционной системе UNIX, предпочтительно цифровой UNIX V4.0D. Все параметры сравнения последовательностей установлены программой ALIGN-2 и не изменяются.

Как используют в настоящем документе, "вариант полинуклеотида LY6", или "вариант последовательности нуклеиновой кислоты LY6", или "ген LY6" относится к молекуле нуклеиновой кислоты, которая кодирует полипептид члена семейства генов LY6, предпочтительно его биологически активную форму, как определено в настоящем документе, и которая обладает по меньшей мере приблизительно 80% идентичностью последовательности нуклеиновой кислоты с последовательностью нуклеиновой кислоты, кодирующей последовательность полноразмерного полипептида LY6 с нативной последовательностью, идентифицированного в настоящем документе, или любой другой фрагмент соответствующей последовательности полноразмерного полипептида LY6, как указано в настоящем документе (такой как фрагменты, кодируемые нуклеиновой кислотой, которая соответствует только части полной кодирующей последовательности для

полноразмерного полипептида LY6). Как правило, такие варианты полинуклеотидов будут обладать по меньшей мере приблизительно 80% идентичностью последовательности нуклеиновой кислоты, альтернативно по меньшей мере приблизительно 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичностью последовательности нуклеиновой кислоты с последовательностью нуклеиновой кислоты, кодирующей соответствующую полноразмерную последовательность полипептида LY6 с нативной последовательностью или любой другой фрагмент соответствующей полноразмерной последовательности полипептида LY6, идентифицированный в настоящем документе. Такие варианты полинуклеотидов не охватывают нативную нуклеотидную последовательность.

Как правило, длина таких вариантов полинуклеотидов варьирует по меньшей мере приблизительно на 50 нуклеотидов относительно полипептида с нативной последовательностью, альтернативно вариабельность длины может составлять по меньшей мере приблизительно 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 100, 105, 110, 115, 120, 125, 130, 135, 140, 145, 150, 155, 160, 165, 170, 175, 180, 185, 190, 195, 200, 210, 220, 230, 240, 250, 260, 270, 280, 290, 300, 310, 320, 330, 340, 350, 360, 370, 380, 390, 400, 410, 420, 430, 440, 450, 460, 470, 480, 490, 500, 510, 520, 530, 540, 550, 560, 570, 580, 590, 600, 610, 620, 630, 640, 650, 660, 670, 680, 690, 700, 710, 720, 730, 740, 750, 760, 770, 780, 790, 800, 810, 820, 830, 840, 850, 860, 870, 880, 890, 900, 910, 920, 930, 940, 950, 960, 970, 980, 990 или 1000 нуклеотидов, где в этом контексте термин "приблизительно" означает указанную длину нуклеотидной последовательности плюс или минус 10% этой указанной длины.

"Процентная идентичность (%) последовательностей нуклеиновых кислот" в отношении последовательностей нуклеиновых кислот, кодирующих полипептид гена LY6, идентифицированных в настоящем документе, определяют как процент нуклеотидов в последовательности-кандидате, которые идентичны нуклеотидам в представляющей интерес последовательности нуклеиновой кислоты гена LY6, соответственно, после выравнивания последовательностей и внесения разрывов, если необходимо, для достижения максимальной процентной идентичности последовательностей. Выравнивание для целей определения процентной идентичности последовательностей нуклеиновых кислот можно проводить различными способами, которые находятся в пределах специальных знаний, например с использованием общедоступного компьютерного программного обеспечения, такого как программное обеспечение BLAST, BLAST-2, ALIGN или Megalign (DNASTAR). Однако для целей, представленных в настоящем документе, значения % идентичности последовательностей нуклеиновых кислот получают с использованием компьютерной программы для сравнения последовательностей ALIGN-2, где полный исходный текст для программы ALIGN-2 предоставлен в таблице 1 ниже. Компьютерная программа для сравнения последовательностей ALIGN-2 была составлена в Genentech, Inc. и исходный текст, представленный в таблице 1 ниже, был представлен с пользовательской документацией в U.S. Copyright Office, Washington D.C., 20559, где он зарегистрирован под U.S. Copyright Registration No. TXU510087. Программа ALIGN-2 является общедоступной через Genentech, Inc., South San Francisco, California, или ее можно составить из исходного текста, представленного в таблице 1 ниже. Программа ALIGN-2 должна быть составлена для применения на операционной системе UNIX, предпочтительно цифровой UNIX V4.0D. Все параметры сравнения

последовательностей установлены программой ALIGN-2 и не изменяются.

В случаях, когда ALIGN-2 используют для сравнения последовательностей нуклеиновых кислот, % идентичность последовательностей нуклеиновых кислот для данной последовательности нуклеиновой кислоты С относительно, с или против 5 данной последовательности нуклеиновой кислоты D (которая альтернативно может быть сформулирована как данная последовательность нуклеиновой кислоты С, которая имеет или включает определенную % идентичность последовательности нуклеиновой кислоты относительно, с или против данной последовательности 10 нуклеиновой кислоты D) вычисляют следующим образом:

$$100, \text{ умноженное на частное } W/Z$$

где W представляет собой количество нуклеотидов, оцененных как идентичные совпадения программой для выравнивания последовательностей ALIGN-2 при 15 выравнивании этой программой С и D, и где Z представляет собой общее число нуклеотидов в D. Будет понятно, что когда длина последовательности нуклеиновой кислоты С не равна длине последовательности нуклеиновой кислоты D, % идентичность последовательности нуклеиновой кислоты С относительно D не будет равна % идентичности последовательности нуклеиновой кислоты D относительно С. 20 В качестве примеров вычисления % идентичности последовательностей нуклеиновых кислот в таблицах 4 и 5 показано, как вычислять % идентичность последовательностей нуклеиновых кислот для последовательности нуклеиновой кислоты, обозначенной "ДНК для сравнения" с последовательностью нуклеиновой кислоты, обозначенной "REF-DNA", где "REF-DNA" представляет собой 25 гипотетическую представляющую интерес последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующую ген LY6, "ДНК для сравнения" представляет собой нуклеотидную последовательность молекулы нуклеиновой кислоты, с которой сравнивают представляющую интерес молекулу нуклеиновой кислоты "REF-DNA", и 30 каждый из "N", "L" и "V" представляют собой отличающиеся гипотетические нуклеотиды. Если конкретно не указано иное, все значения % идентичности последовательностей нуклеиновых кислот, используемые в настоящем документе, получают, как описано в предыдущем абзаце с использованием компьютерной программы ALIGN-2.

В других вариантах осуществления варианты полинуклеотидов гена LY6 35 представляют собой молекулы нуклеиновых кислот, которые кодируют полипептид LY6 соответственно и которые способны гибридизоваться в строгих условиях гибридизации и промывания с нуклеотидными последовательностями, кодирующими полноразмерный полипептид LY6 соответственно, как описано в 40 настоящем документе. Такие варианты полипептидов могут представлять собой полипептиды, которые кодируются такими вариантами полинуклеотидов.

"Выделенный" при применении для описания различных полипептидов LY6, описанных в настоящем документе, означает полипептид, который идентифицирован 45 и отделен и/или выделен из компонента его природного окружения. Загрязняющие компоненты его природного окружения представляют собой материалы, которые, как правило, препятствуют диагностическому и терапевтическому применению полипептида, и могут включать ферменты, гормоны и другие белковые или 50 небелковые растворенные вещества. В предпочтительных вариантах осуществления такие полипептиды будут очищать (1) до степени, достаточной для получения по меньшей мере 15 остатков N-концевой или внутренней аминокислотной последовательности с использованием секвенатора с вращающимся стаканом,

или (2) до гомогенности при SDS-PAGE в восстанавливающих или невосстанавливающих условиях с использованием кумасси синего или предпочтительно окрашивания серебром. Такие выделенные полипептиды включают соответствующие полипептиды в рекомбинантных клетках *in situ*, поскольку в этом случае будет отсутствовать по меньшей мере один компонент природного окружения полипептида LY6. Однако, как правило, такие полипептиды будут получать посредством по меньшей мере одной стадии очистки.

“Выделенная” нуклеиновая кислота, кодирующая полипептид LY6, представляет собой молекулу нуклеиновой кислоты, которая идентифицирована и отделена по меньшей мере у одной загрязняющей молекулы нуклеиновой кислоты, с которой она обычно ассоциирована в природном источнике кодирующей полипептид нуклеиновой кислоты. Любая из указанных выше таких выделенных молекул нуклеиновых кислот отличается формой или окружением, в котором она встречается в природе. Любые такие молекулы нуклеиновых кислот, таким образом, отличаются от конкретной кодирующей полипептид молекулы нуклеиновой кислоты, которая существует в природных клетках.

Термин “контрольные последовательности” относится к последовательностям ДНК, необходимым для экспрессии функционально связанной кодирующей последовательности в конкретном организме-хозяине. Контрольные последовательности, которые пригодны для прокариот, включают, например, промотор, необязательно последовательность оператора и участок связывания рибосом. Известно, что эукариотические клетки используют промоторы, сигналы полиаденилирования и энхансеры.

Нуклеиновая кислота является “функционально связанной”, если она находится в функциональной связи с другой последовательностью нуклеиновой кислоты. Например, ДНК для препоследовательности или секреторной лидерной последовательности функционально связана с ДНК полипептида, если она экспрессируется в качестве пребелка, который участвует в секреции полипептида; промотор или энхансер является функционально связанным с кодирующей последовательностью, если он влияет на транскрипцию последовательности; или участок связывания рибосом является функционально связанным с кодирующей последовательностью, если он расположен таким образом, чтобы облегчить трансляцию. Как правило, “функционально связанный” означает, что связанные последовательности ДНК являются смежными и, в случае секреторной лидерной последовательности, являются смежными и находятся в рамке считывания. Однако энхансеры не должны быть смежными. Связывание осуществляют посредством лигирования в соответствующих участках рестрикции. Если таких участков нет, используют синтетические олигонуклеотидные соединительные элементы или линкеры в соответствии с общепринятой практикой.

Как используют в настоящем документе, “экспрессия”, как применяют в отношении экспрессии гена, относится к транскрипции гена, кодирующего белок, с образованием мРНК, а также к трансляции мРНК с образованием белка, кодируемого геном. Таким образом, повышенная или сниженная экспрессия относится к повышенной или сниженной транскрипции гена и/или повышенной или сниженной трансляции мРНК, образовавшейся при транскрипции.

“Строгость” реакций гибридизации легко определяет специалист в данной области, и, как правило, она представляет собой эмпирическое вычисление, зависящее от длины зонда, температуры промывания и концентрации соли. Как правило, для

надлежащего отжига более длинные зонды требуют более высоких температур, в то время как более короткие зонды требуют более низких температур. Гибридизация, как правило, зависит от способности денатурированной ДНК к повторному отжигу, когда комплементарные цепи присутствуют в окружающей среде при температуре ниже их температуры отжига. Чем более высокой является степень требуемой гомологии между зондом и гибридизуемой последовательностью, тем более высокой является относительная температура, которую можно использовать. В результате из этого следует, что более высокие относительные температуры будут обеспечивать тенденцию к более строгим условиям реакции, в то время как более низкие температуры снижают строгость. Для дополнительных деталей и разъяснения строгости реакций гибридизации см. Ausubel et al., *Current Protocols in Molecular Biology*, Wiley Interscience Publishers (1995).

"Строгие условия" или "условия высокой строгости", как определено в настоящем документе, можно определить как условия, в которых: (1) используют низкую ионную силу и высокую температуру промывания, например 0,015 М хлорид натрия/0,0015 М цитрат натрия/0,1% додецилсульфат натрия при 50°C; (2) используют в ходе гибридизации денатурирующее средство, такое как формамид, например 50% (об./об.) формамид с 0,1% бычьим сывороточным альбумином/0,1% Ficoll/0,1% поливинилпирролидоном/50 мМ натрий-фосфатным буфером при pH 6,5 с 750 мМ хлоридом натрия, 75 мМ цитратом натрия при 42°C; или (3) проводят гибридизацию в течение ночи в растворе, в котором используется 50% формамид, 5 × SSC (0,75 М NaCl, 0,075 М цитрат натрия), 50 мМ фосфат натрия (pH 6,8), 0,1% пиродифосфат натрия, 5 × раствор Денхардта, обработанная ультразвуком ДНК спермы лосося (50 мкг/мл), 0,1% SDS и 10% сульфат декстрана при 42°C, с промыванием в течение 10 минут при 42°C в 0,2 × SSC (хлорид натрия/цитрат натрия) с последующим промыванием высокой строгости в течение 10 минут, состоящим из 0,1 × SSC, содержащего EDTA, при 55°C.

"Условия умеренной строгости" можно определить, как описано в Sambrook et al., *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, New York: Cold Spring Harbor Press, 1989, и они включают применение менее строгого раствора для промывания и условий гибридизации (например, температуры, ионной силы и % SDS), чем раствор для промывания и условия гибридизации, описанные выше. Примером умеренно строгих условий является инкубация в течение ночи при 37°C в растворе, содержащем: 20% формамид, 5 × SSC (150 мМ NaCl, 15 мМ трицитрат натрия), 50 мМ фосфат натрия (pH 7,6), 5 × раствор Денхардта, 10% сульфат декстрана и 20 мг/мл денатурированной расщепленной ДНК спермы лосося, с последующим промыванием фильтров в 1 × SSC при приблизительно 37-50°C. Специалисту будет понятно, каким образом корректировать температуру, ионную силу и т.д., в случае необходимости приспособления к таким факторам, как длина зонда и т.п.

Термин "меченный эпитопом" при применении в настоящем документе относится к химерному полипептиду, содержащему полипептид LY6, или к связывающему LY6 агенту, которые являются слитыми с "полипептидом-меткой". Полипептид-метка имеет достаточное количество остатков для обеспечения эпитопа, против которого можно получать антитело, но в то же время является достаточно коротким, чтобы не препятствовать активности полипептида, с которым он слит. Также полипептид-метка предпочтительно является совершенно уникальным, так что антитело по существу не вступает в перекрестные реакции с другими эпитопами. Пригодные полипептиды-метки, как правило, имеют по меньшей мере шесть аминокислотных

остатков и, как правило, между приблизительно 8 и 50 аминокислотных остатков (предпочтительно между приблизительно 10 и 20 аминокислотных остатков).

“Активный” или “активность” для целей, представленных в настоящем документе, относится к форме(ам) полипептидов, которые сохраняют биологическую и/или иммунологическую активность нативного или природного полипептида, где “биологическая” активность относится к биологической функции (либо ингибиторной, либо стимулирующей), обеспечиваемой нативным или природным полипептидом, отличной от способности индуцировать образование антитела против антигенного эпитопа, которым обладает нативный или природный полипептид, и “иммунологическая” активность относится к способности индуцировать образование антитела против антигенного эпитопа, которой обладает нативный или природный полипептид. Активный полипептид, как используют в настоящем документе, представляет собой антиген, который экспрессируется иначе, либо количественно, либо качественно, в ткани IBD, относительно его экспрессии в аналогичной ткани, которая не поражена IBD.

Термин “антагонист” используют в наиболее широком смысле, и он включает любую молекулу, которая частично или полностью блокирует, ингибирует или нейтрализует биологическую активность нативного полипептида, описанного в настоящем документе. Пригодные молекулы антагонистов конкретно включают антитела-антагонисты или фрагменты антител, фрагменты или варианты аминокислотной последовательности нативных полипептидов, пептиды, антисмысловые олигонуклеотиды, низкомолекулярные органические молекулы и т.д. Способы идентификации антагонистов могут включать контактирование такого полипептида, включая экспрессирующую его клетку, с молекулой-кандидатом агониста или антагониста и измерение детектируемого изменения одного или нескольких видов биологической активности, в норме ассоциированных с таким полипептидом.

“Проведение лечения”, или “лечение”, или “смягчение течения” относится как к терапевтическим, так и к профилактическим или превентивным мерам, где целью является предотвратить или замедлить (уменьшить) прогрессирование заболевания. Также лечение относится к модификации прогрессирования IBD.

“Диагностика” относится к процессу идентификации или определения отличительных признаков заболевания, включая, но не ограничиваясь ими, IBD, UC и/или болезнь Крона. Процесс диагностики также иногда отражает определение стадии или классификацию заболевания, исходя из тяжести или прогрессирования заболевания, а также локализации (например, такой как локализация в желудочно-кишечном тракте или вдоль него, где обнаружено воспаление и/или измененная экспрессия генов).

Субъекты, нуждающиеся в диагностике, включают субъектов, уже имеющих измененную экспрессию LY6, а также субъектов, предрасположенных к наличию измененной экспрессии LY6, или субъектов, у которых подлежит провести профилактику измененной экспрессии LY6. Таким образом, аспектом изобретения является выявление терапевтического ответа на лекарственное средство у млекопитающего, которого лечат лекарственным средством для лечения IBD, где способ включает определение экспрессии Ih LY6 в ткани желудочно-кишечного тракта тестируемого млекопитающего по сравнению с контролем и определение того, что уровни экспрессии LY6 не отличаются значимо от нормальных контрольных уровней экспрессии. В одном варианте осуществления терапевтический

ответ определяют, когда уровни экспрессии LY6 млекопитающего, подвергаемого лечению лекарственным средством, отличаются (экспрессия более сходна с нормальным контролем, т.е. уровни экспрессии LY6 являются более низкими, чем уровни экспрессии LY6 у млекопитающего до лечения).

Указанные выше параметры для оценки успешного лечения и улучшения течения заболевания могут быть легко определены стандартными процедурами, известными клиническим специалистам. В случае терапии IBD эффективность может быть измерена, например, оценкой времени прогрессирования заболевания (ТТР) и/или определением скорости ответа (RR). Могут быть взяты биопсии для оценки экспрессии гена и наблюдения гистопатологии желудочно-кишечной ткани пациента. Изобретение, описанное в настоящем документе, относящееся к способу составления прогноза и/или диагностирования, включает определение и оценку стимуляции экспрессии гена LY6.

"Млекопитающее" для целей лечения, смягчения симптомов или диагностики IBD относится к любому животному, классифицируемому как млекопитающее, включая человека, домашних и сельскохозяйственных животных, животных зоопарков, спортивных животных или комнатных животных, таких как собаки, кошки, крупный рогатый скот, лошади, овцы, свиньи, козы, кролики, одомашненные хорьки и т.д. Предпочтительно млекопитающее представляет собой человека.

Введение "в сочетании с" одним или несколькими дополнительными лекарственными средствами включает одновременное (совместное) и последовательное введение в любом порядке.

Как используют в настоящем документе, "носители" включают фармацевтически приемлемые носители, эксципиенты или стабилизаторы, которые являются нетоксичными для клетки или млекопитающего, подвергаемых их воздействию, в используемых дозировках и концентрациях. Часто физиологически приемлемый носитель представляет собой водный рН-буферный раствор. Примеры физиологически приемлемых носителей включают буферы, такие как фосфат, цитрат и другие органические кислоты; антиоксиданты, включая аскорбиновую кислоту; низкомолекулярные (менее чем приблизительно 10 остатков) полипептиды; белки, такие как сывороточный альбумин, желатин или иммуноглобулины; гидрофильные полимеры, такие как поливинилпирролидон; аминокислоты, такие как глицин, глутамин, аспарагин, аргинин или лизин; моносахариды, дисахариды и другие углеводы, включая глюкозу, маннозу или декстрины; хелатирующие агенты, такие как EDTA; спирты сахаров, такие как маннит или сорбит; солеобразующие противоионы, такие как натрий; и/или неионные поверхностно-активные вещества, такие как TWEEN[®], полиэтиленгликоль (PEG) или PLURONICS[®].

Под "твердой фазой" или "твердой подложкой" подразумевают неводную матрицу, к которой полипептид, нуклеиновая кислота, антитело или связывающее LY6 средство могут быть присоединены или связаны. Примеры твердой фазы, охватываемые в настоящем документе, включают твердую фазу, образованную частично или полностью из стекла (например, стекла с контролируемым размером пор), полисахаридов (например, агарозы), полиакриламидов, полистирола, поливинилового спирта и силиконов. В определенных вариантах осуществления, в зависимости от контекста, твердая фаза может включать лунку планшета для анализа; в других вариантах осуществления она представляет собой колонку для очистки (например, колонку для аффинной хроматографии). Также этот термин включает дисперсную твердую фазу из

дискретных частиц, такую как твердая фаза, описанная в патенте США No. 4275149.

"Липосома" представляет собой небольшую везикулу, состоящую из различных типов липидов, фосфолипидов и/или поверхностно-активного вещества, которые пригодны для доставки лекарственного средства млекопитающему. Компоненты липосомы обычно образуют двухслойную структуру, сходную с размещением липидов биологических мембран.

"Низкомолекулярная молекула" или "низкомолекулярная органическая молекула" согласно настоящему документу имеет молекулярную массу ниже примерно 500 Дальтон.

"Эффективное количество" средства-антагониста представляет собой количество, достаточное для достижения физиологического эффекта, такого как, но не ограничиваясь ими, ингибирование, частичное или полное, функции гена или кодируемого им белка. "Эффективное количество" можно определять эмпирически и общепринятыми способами, в зависимости от поставленной цели.

Термин "терапевтически эффективное количество" относится к количеству антагониста или другого лекарственного средства, эффективному для "лечения" заболевания или расстройства у субъекта или млекопитающего. В случае IBD терапевтически эффективное количество лекарственного средства будет восстанавливать измененную экспрессию LY6 до нормальных физиологических уровней; снижать воспаление в желудочно-кишечном тракте; снижать количество очагов повреждения в желудочно-кишечном тракте; и/или смягчать в некоторой степени один или несколько симптомов, ассоциированных с IBD, UC и/или CD. См. определение "лечения" в настоящем документе.

"Ингибирующее рост количество" антагониста представляет собой количество, способное ингибировать рост клетки, особенно опухолевой, например злокачественной клетки, либо *in vitro*, либо *in vivo*. Для целей ингибирования неопластического клеточного роста такое количество можно определять эмпирически и общепринятыми способами.

"Цитотоксическое количество" антагониста представляет собой количество, способное вызывать разрушение клетки, особенно пролиферирующей клетки, например злокачественной клетки, либо *in vitro*, либо *in vivo*. Для целей ингибирования неопластического клеточного роста такое количество можно определять эмпирически и общепринятыми способами.

Термин "антитело" используют в наиболее широком смысле, и конкретно он охватывает, например, моноклональные антитела против LY6 (включая антагонистические и нейтрализующие антитела), композиции антител LY6 с плейотропной специфичностью, поликлональные антитела, одноцепочечные антитела против LY6, полиспецифичные антитела (например, биспецифичные) и антигенсвязывающие фрагменты (см. ниже) всех из перечисленных выше антител, при условии, что они проявляют требуемую биологическую или иммунологическую активность. В настоящем документе термины "иммуноглобулин" (Ig) и "антитело" используют взаимозаменяемо.

"Выделенное" антитело представляет собой антитело, которое идентифицировано и отделено и/или извлечено из компонента его естественных окружающих условий. Загрязняющие компоненты его естественных окружающих условий представляют собой вещества, которые препятствуют применению антитела для диагностики или лечения, и могут включать ферменты, гормоны и другие белковые или небелковые растворенные вещества. В предпочтительных вариантах осуществления антитело

очищают (1) до более чем 95% по массе антитела, как определяют способом Лоури, и наиболее предпочтительно до более чем 99% по массе, (2) до степени, достаточной для получения по меньшей мере 15 остатков N-концевой или внутренней аминокислотной последовательности с использованием секвенатора с вращающимся стаканом, или (3) до гомогенности при SDS-PAGE в восстанавливающих или невосстанавливающих условиях с использованием кумасси синего или предпочтительно окрашивания серебром. Выделенное антитело включает антитело в рекомбинантных клетках *in situ*, поскольку в этом случае отсутствует по меньшей мере один компонент условий естественного окружения антитела. Однако, как правило, выделенное антитело будет получено посредством по меньшей мере одной стадии очистки.

Основной элемент антитела из 4-цепей представляет собой гетеротетрамерный гликопротеин, состоящий из двух идентичных легких (L) цепей и двух идентичных тяжелых (H) цепей (антитело IgM состоит из 5 основных гетеротетрамерных элементов вместе с дополнительным полипептидом, называемым J-цепью, и, таким образом, оно содержит 10 антигенсвязывающих участков, в то время как секретируемые антитела IgA могут полимеризоваться с образованием поливалентных систем, содержащих 2-5 основных элементов из 4-цепей вместе с J-цепью). В случае IgG элемент из 4-цепей, как правило, имеет массу 150000 дальтон. Каждая L-цепь связана с H-цепью одной ковалентной дисульфидной связью, в то время как две H-цепи связаны друг с другом одной или несколькими дисульфидными связями, в зависимости от изоформа H-цепи. Каждая H- и L-цепь имеет расположенные с равными интервалами межцепочечные дисульфидные мостики. Каждая H-цепь имеет на N-конце варибельный домен (V_H), за которым следуют три константных домена (C_H) для каждой из α - и γ -цепей и четыре C_H -домена для изоформ μ и ϵ . Каждая L-цепь имеет на N-конце варибельный домен (V_L), за которым следует константный домен (C_L) на ее другом конце. V_L выравнивается с V_H и C_L выравнивается с первым константным доменом тяжелой цепи (C_H1). Полагают, что конкретные аминокислотные остатки образуют поверхность контакта между варибельными доменами легкой цепи и тяжелой цепи. Образование пары V_H и V_L формирует один антигенсвязывающий участок. Для структуры и свойств различных классов антител см., например, *Basic and Clinical Immunology*, 8th edition, Daniel P. Stites, Abba I. Terr and Tristram G. Parslow (eds.), Appleton & Lange, Norwalk, CT, 1994, page 71 and Chapter 6.

L-цепь любых видов позвоночных может быть отнесена к одному из двух четко отличающихся типов, называемых каппа и лямбда, на основе аминокислотных последовательностей их константных доменов. В зависимости от аминокислотной последовательности константного домена их тяжелых цепей (C_H), иммуноглобулины можно отнести к различным классам или изоформам. Существует пять классов иммуноглобулинов: IgA, IgD, IgE, IgG и IgM, имеющих тяжелые цепи, обозначаемые как α , δ , ϵ , γ и μ соответственно. Классы γ и α далее подразделяются на подклассы на основе относительно небольших различий в последовательности C_H и функции, например у человека экспрессируются следующие подклассы: IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 и IgA2.

Термин "варибельный" относится к тому факту, что последовательности определенных сегментов варибельных доменов значительно отличаются среди антител. V-домен опосредует связывание антигена и определяет специфичность конкретного антитела к его конкретному антигену. Однако варибельность не

является равномерной на протяжении участка переменных доменов из 110 аминокислот. Вместо этого, V-участки состоят из относительно инвариантных участков, называемых каркасными областями (FR), из 15-30 аминокислот, разделенных более короткими участками высокой изменчивости, называемыми "гиперпеременными участками", длина которых составляет 9-12 аминокислот. Переменные домены нативных тяжелых и легких цепей содержат четыре FR, главным образом, принимающих конфигурацию β -слоев, соединенных тремя гиперпеременными участками, которые формируют петли, объединяющие структуру β -слоев и в некоторых случаях формирующие ее часть. Гиперпеременные области в каждой цепи расположены вместе в непосредственной близости от FR и, совместно с гиперпеременными областями другой цепи, участвуют в формировании антигенсвязывающего центра антител (см. Kabat et al., Sequences of Protein of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD. (1991)). Константные домены не вовлечены непосредственно в связывание антитела с антигеном, но они проявляют различные эффекторные функции, такие как участие антитела в антителозависимой клеточной цитотоксичности (ADCC).

Как используют в настоящем документе, термин "гиперпеременная область" относится к аминокислотным остаткам антитела, которые отвечают за связывание антигена. Гиперпеременная область содержит аминокислотные остатки из "определяющей комплементарности области" или "CDR" (например, остатки по Kabat 24-34 (L1), 50-56 (L2) и 89-97 (L3) в V_L и остатки по Kabat 31-35 (H1), 50-65 (H2) и 95-102 (H3) в V_H (Kabat et al., Sequences of Protein of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD) (1991)) и/или остатки из "гиперпеременной петли" (например, остатки по Chothia 26-32 (L1), 50-52 (L2) и 91-96 (L3) в V_L и остатки по Chothia 26-32 (H1), 53-55 (H2) и 96-101 (H3) в V_H (Chothia and Lesk J. Mol. Biol. 196:901-917) (1987)).

Как используют в настоящем документе, термин "моноклональное антитело" относится к антителу из совокупности по существу гомогенных антител, например отдельные антитела, составляющие совокупность, являются идентичными и/или связывают один и тот же эпитоп (эпитопы), за исключением возможных вариантов, которые могут появляться в процессе получения моноклонального антитела, которые могут быть представлены в небольших количествах. Такое моноклональное антитело, как правило, включает антитело, содержащее полипептидную последовательность, которая связывает мишень, где связывающая мишень полипептидная последовательность получена посредством процесса, который включает селекцию единичной связывающей мишень полипептидной последовательности из множества полипептидных последовательностей. Например, процесс селекции может представлять собой селекцию единичного клона из множества клонов, таких как пул гибридных клонов, фаговых клонов или клонов рекомбинантных ДНК. Следует понимать, что отобранную связывающую мишень последовательность можно дополнительно изменять, например, для повышения аффинности к мишени, для гуманизации связывающей мишень последовательности, для повышения ее продукции в клеточной культуре, для снижения ее иммуногенности *in vivo*, для создания полиспецифического антитела и т.д. и что антитело, содержащее измененную связывающую мишень последовательность, также является моноклональным антителом по этому изобретению. В противоположность препаратам поликлональных антител, которые, как правило,

включают различные антитела, направленные против различных детерминант (эпитопов), каждое моноклональное антитело в препарате моноклонального антитела направлено против одной детерминанты на антигене. В дополнение к их специфичности, препараты моноклонального антитела является

5 преимущественными в том, что они, как правило, не содержат примесей других иммуноглобулинов. Определение "моноклональный" указывает на тот признак антитела, что его получают из по существу гомогенной совокупности антител, и не подразумевает того, что антитело должно быть получено каким-либо конкретным

10 способом. Например, моноклональные антитела, предназначенные для применения в соответствии с настоящим изобретением, можно получать множеством способов, включая, например, способ гибридом (например, Kohler *et al.*, Nature, 256:495 (1975); Harlow *et al.*, *Antivodies: A Laboratory Manual* (Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2nd ed. 1988); Hammerling *et al.*, *Monoclonal Antibodies and T-Cell Hybridomas* 563-681 (Elsevier, N.Y., 1981)), способы рекомбинантных ДНК (см., например, патент США No. 4816567), технологии фагового дисплея (см., например, Clackson *et al.*, Nature, 352:624-628 (1991); Marks *et al.*, J. Mol. Biol., 222:581-597 (1991); Sidhu *et al.*, J. Mol. Biol. 338(2): 299-310 (2004); Lee *et al.*, J.Mol.Biol.340(5):1073-1093 (2004); Fellouse, Proc. Nat. Acad. Sci. USA 101(34):12467-12472 (2004); и Lee *et al.* J. Immunol. Methods 284(1-2):119-132 (2004)),

20 и технологии продуцирования антитела человека или антител, подобных антителам человека, у животных, которые имеют части локусов или генов иммуноглобулинов человека, кодирующие последовательности иммуноглобулинов, или все эти локусы или гены (см., например, WO 1998/24893; WO 1996/34096; WO 1996/33735; WO 1991/10741; Jakobovits *et al.*, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 90:2551 (1993); Jakobovits *et al.*, Nature, 362:255-258 (1993); Bruggemann *et al.*, Year in Immuno., 7:33 (1993); патенты США No. 5545806; 5569825; 5591669 (all of GenPharm); 5545807; WO 1997/17852; патенты США No. 5545807; 5545806; 5569825; 5625126; 5633425; и 5661016;

25 Marks *et al.*, Bio/Technology, 10: 779-783 (1992); Lonberg *et al.*, Nature, 368: 856-859 (1994); Morrison, Nature, 368: 812-813 (1994); Fishwild *et al.*, Nature Biotechnology, 14: 845-851 (1996); Neuberger, Nature Biotechnology, 14: 826 (1996); и Lonberg and Huszar, Intern. Rev. Immunol., 13: 65-93 (1995)).

"Химерные" антитела (иммуноглобулины) имеют участок тяжелой и/или легкой цепи, идентичный или гомологичный соответствующим последовательностям в антителах, полученных из конкретного вида или принадлежащих к конкретному классу или подклассу антител, в то время как оставшаяся часть цепи(ей) является идентичной или гомологичной соответствующим последовательностям в антителах,

40 полученных из другого вида или принадлежащих другому классу или подклассу антител, а также фрагменты таких антител, при условии, что они проявляют требуемую биологическую активность (патент США No 4816567; и Morrison *et al.*, Proc. Natl. Acad. Sci USA, 81:6851-6855 (1984)). Как используют в настоящем документе, гуманизованное антитело представляет собой тип химерных антител.

45 "Гуманизованные" формы не являющихся человеческими антител (например, грызунов) представляют собой химерные антитела, которые содержат минимальную последовательность, полученную из иммуноглобулина, не являющегося человеческим. В основном гуманизованные антитела представляют собой иммуноглобулины человека (реципиентное акцепторное антитело), в которых

50 остатки из гипервариабельной области реципиента заменены остатками из гипервариабельной области видов, не относящихся к человеку (донорное антитело), таких как мышь, крыса, кролик или не относящиеся к человеку приматы, которые

обладают требуемой специфичностью, аффинностью и емкостью. В некоторых случаях остатки Fv каркасной области (FR) иммуноглобулина человека заменяют соответствующими остатками, не являющиеся человеческими. Более того, гуманизированные антитела могут содержать остатки, которые отсутствуют в реципиентном антителе или в донорном антителе. Эти модификации проводят для дополнительного улучшения параметров антитела. Как правило, гуманизированное антитело содержит по существу все по меньшей мере из одного и, как правило, из двух переменных доменов, в которых все или по существу все гипервариабельные петли соответствуют гипервариабельным петлям иммуноглобулина, не являющегося человеческим, и все или по существу все FR-области представляют собой FR-области из последовательности иммуноглобулина человека, хотя FR-области могут включать одну или несколько аминокислотных замен, которые повышают аффинность связывания. Количество этих аминокислотных замен в FR, как правило, составляет не более 6 в H-цепи и не более 3 в L-цепи. Также гуманизированное антитело необязательно содержит по меньшей мере участок константного домена (Fc) иммуноглобулина, как правило, константного домена иммуноглобулина человека. Для более подробной информации см. Jones et al., Nature 321:522-525 (1986); Riechmann et al., Nature 332:323-329 (1988); и Presta, Curr. Op. Struct. Biol. 2:593-596 (1992).

"Фрагменты антитела" содержат часть интактного полноразмерного антитела (включая, например, антитела человека), предпочтительно антигенсвязывающий или переменный участок интактного антитела. Примеры фрагментов антител включают Fab, Fab', F(ab')₂ и Fv-фрагменты, димерные антитела (diabody), линейные антитела (см., например, патент США No. 5641870, пример 2, Zapata et al., Protein Eng., 8(10): 1057-1062 (1995)); одноцепочечные молекулы антител; и полиспецифичные антитела, образованные фрагментами антител.

Расщепление антител папаином приводит к образованию двух идентичных антигенсвязывающих фрагментов, называемых "Fab"-фрагментами, и остаточного "Fc"-фрагмента, название которого отражает его способность легко кристаллизоваться. Fab-фрагмент состоит из целой L-цепи вместе с доменом переменного участка H-цепи (V_H), и первым константным доменом одной тяжелой цепи (C_{H1}). Каждый Fab-фрагмент является одновалентным в отношении связывания антигена, т.е. он обладает одним антигенсвязывающим участком. Обработка антитела пепсином приводит к одному крупному F(ab')₂-фрагменту, который приблизительно соответствует двум связанным дисульфидом Fab-фрагментам, имеющим двухвалентную антигенсвязывающую активность, и, кроме того, способен к перекрестному связыванию антигена. Fab'-фрагменты отличаются от Fab-фрагментов наличием дополнительных нескольких остатков на C-конце домена C_{H1}, включая один или несколько цистеинов из шарнирной области антитела. Fab'-SH представляет собой обозначение для Fab', в котором остаток(ки) цистеина константных доменов обладает свободной тиольной группой. F(ab')₂-фрагменты антитела исходно были получены в качестве пар Fab'-фрагментов, которые обладают шарнирными цистеинами между ними. Также известно другое химическое связывание фрагментов антител.

Fc-фрагмент содержит C-концевые части обеих H-цепей, удерживаемые вместе дисульфидами. Эффекторные функции антител определяются последовательностями Fc-участка, который также является частью, распознаваемой Fc-рецепторами (FcR), встречающимися на определенных типах клеток.

"Fv" представляет собой минимальный фрагмент антитела, который содержит полный антигенраспознающий и антигенсвязывающий центр. Этот фрагмент состоит из димера, состоящего из одного вариабельного домена тяжелой цепи и одного

5
 10
 15
 20
 25
 30
 35
 40
 45
 50

вариабельного домена легкой цепи, связанных прочной нековалентной связью. Сворачивание этих двух доменов образует шесть гипервариабельных петель (3 петли в каждой из H- и L-цепи), которые предоставляют аминокислотные остатки для связывания антигена и обеспечивают специфичность связывания антигена антителом. Однако даже один вариабельный домен (или половина Fv, содержащая только три CDR, специфичных к антигену) обладает способностью распознавать и связывать антиген, хотя и с более низкой аффинностью, чем целый участок связывания.

"Одноцепочечные Fv", также сокращаемые как "sFv" или "scFv", представляют собой фрагменты антител, которые содержат V_H и V_L-домены антитела, соединенные в единую полипептидную цепь. Предпочтительно полипептид sFv также необязательно содержит полипептидный линкер между V_H и V_L-доменами, который обеспечивает возможность формирования в sFv структуры, требуемой для связывания антигена. Для обзора sFv см. Pluckthun in The Pharmacology of Monoclonal Antibodies, vol. 113, Rosenburg and Moore eds. Springer-Verlag, New York, pp. 269-315 (1994); Vorrebaeck 1995, *infra*.

Как используют в настоящем документе, "связывающий LY6 полипептид" представляет собой олигопептид, который связывается, предпочтительно специфично, с полипептидом LY6, лигандом или компонентом передачи сигнала соответственно, или его связывающую LY6 часть, или фрагмент. Такие олигопептиды можно химически синтезировать с использованием известных способов синтеза олигопептидов или их можно получать и очищать с использованием рекомбинантной технологии. Такие олигопептиды, как правило, имеют длину по меньшей мере приблизительно 5 аминокислот, альтернативно по меньшей мере приблизительно 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, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99 или 100 аминокислот или более. Такие олигопептиды можно идентифицировать без излишнего экспериментирования с использованием хорошо известных способов. В этом отношении следует отметить, что способы скрининга олигопептидных библиотек на олигопептиды, которые способны специфично связываться с полипептидной мишенью, хорошо известны в данной области (см., например, патенты США No. 5556762, 5750373, 4708871, 4833092, 5223409, 5403484, 5571689, 5663143; публикации PCT No. WO 84/03506 и WO 84/03564; Geysen et al., Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 81:3998-4002 (1984); Geysen et al., Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 82: 178-182 (1985); Geysen et al., Synthetic Peptides as Antigens, 130-149 (1986); Geysen et al., J. Immunol. Meth., 102:259-274 (1987); Schoofs et al., J. Immunol., 140:611-616 (1988), Cwirla, S. E. et al. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 87:6378 (1990); Lowman, H.B. et al. Biochemistry, 30: 10832 (1991); Clackson, T. et al. Nature, 352: 624 (1991); Marks, J. D. et al., J. Mol. Biol., 222:581 (1991); Kang, A.S. et al. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 88:8363 (1991), и Smith, G. P., Current Opin. Biotechnol., 2:668 (1991)).

Антагонист LY6 (например, антитело, полипептид, олигопептид или низкомолекулярное соединение), "который связывает" представляющий интерес антиген-мишень, например LY6, представляет собой антагонист, который связывает

мишень с аффинностью, достаточной для того, чтобы он был пригодным диагностическим, прогностическим и/или терапевтическим средством для нацеливания на клетку или ткань, экспрессирующую антиген, и по существу не реагирует перекрестно с другими белками. Степень связывания с нежелательным маркерным полипептидом будет составлять менее чем приблизительно 10% от связывания с конкретной желательной мишенью, что определяется общепринятыми способами, такими как анализ посредством активированной флуоресценцией сортировки клеток (FACS) или радиоиммунопреципитация (RIA).

Более того, термин “специфичное связывание”, или “специфично связывается с”, или “является специфичным к” конкретному полипептиду LY6 эпитопу на конкретном полипептиде-мишени LY6 означает связывание, которое отличается от неспецифичного взаимодействия на поддающемся измерению уровне. Специфичное связывание можно определять, например, посредством определения связывания молекулы по сравнению со связыванием контрольной молекулы, которая, как правило, представляет собой молекулу со сходной структурой, которая не обладает связывающей активностью. Например, специфичное связывание можно определить по конкуренции с контрольной молекулой, которая сходна с мишенью, например, с избытком немеченой мишени. В этом случае признаком специфичного связывания является конкурентное ингибирование связывания меченой мишени с зондом избытком немеченой мишени. В одном варианте осуществления такие термины относятся к связыванию, где молекула связывается с конкретным полипептидом или эпитопом на конкретном полипептиде без существенного связывания с любым другим полипептидом или эпитопом полипептида. Альтернативно такие термины могут быть описаны посредством молекулы, имеющей K_d к мишени по меньшей мере приблизительно 10^{-4} М, 10^{-5} М, 10^{-6} М, 10^{-7} М, 10^{-8} М, 10^{-9} М, 10^{-10} М, 10^{-11} М, 10^{-12} М или более.

Желудочно-кишечная клетка или ткань “сверхэкспрессирует” LY6, если показано, что эта клетка или ткань имеет повышенное количество нуклеиновой кислоты, кодирующей LY6 в клетках, или если эта клетка или ткань обладает избыточной продукцией и секрецией белка LY6 по сравнению с нормальной желудочно-кишечной клеткой или тканью того же типа. Такая сверхэкспрессия может быть результатом амплификации гена или повышенной транскрипции или трансляции. Известны различные диагностические или прогностические анализы, которые измеряют измененные уровни экспрессии, приводящие к повышенным или сниженным уровням секретируемого белка на поверхности клетки, и они включают, но не ограничиваются ими, иммуногистохимический анализ с использованием антител против LY6, анализ FACS и т.д. Альтернативно уровни кодирующей LY6 нуклеиновой кислоты или мРНК можно измерять в клетке, например, посредством флуоресцентной гибридизации *in situ* с использованием зонда на основе нуклеиновой кислоты, соответствующего кодирующей LY6 нуклеиновой кислоте или нуклеиновой кислоте, комплементарной ей (FISH; см. WO98/45479, опубликованную в октябре 1998 года), саузерн-блоттинга, нозерн-блоттинга или способов полимеразной цепной реакции (PCR), таких как количественная PCR (RT-PCR) с детекцией в реальном времени. Альтернативно сверхэкспрессию полипептида LY6 определяют измерением “слушывающегося” антигена в биологической жидкости, такой как сыворотка, например, с использованием анализа на основе антител (также см., например, патент США No. 4933294, выданный 12 июня 1990 года; WO 91/05264, опубликованную 18 апреля 1991 года; патент США 5401638, выданный 28 марта 1995

года; и Sias et al., J. Immunol. Methods, 132:73-80 (1990)). В дополнение к указанным выше анализам квалифицированному специалисту доступны различные анализы *in vivo*. Например, можно подвергать клетки в организме действию антитела, которое является необязательно детектируемо меченым, например, радиоактивным изотопом, и связывание антитела с клетками у пациента можно оценивать, например, посредством внешнего сканирования на радиоактивность или анализа биоптата, взятого у пациента, на которого ранее воздействовали лекарственным средством.

Как используют в настоящем документе, термин "иммуноадгезин" означает подобные антителу молекулы, которые сочетают специфичность связывания гетерологичного белка ("адгезин") с эффекторными функциями константных доменов иммуноглобулинов. Структурно иммуноадгезины содержат аминокислотную последовательность с требуемой специфичностью связывания, отличающуюся от участка распознавания антигена и участка связывания антитела (т.е. являющуюся "гетерологичной"), слитую с последовательностью константного домена иммуноглобулина. Часть адгезина в молекуле иммуноадгезина, как правило, представляет собой непрерывную аминокислотную последовательность, содержащую по меньшей мере участок связывания рецептора или лиганда. Последовательность константного домена иммуноглобулина в иммуноадгезине может быть получена из любого иммуноглобулина, такого как изотипы IgG-1, IgG-2, IgG-3 или IgG-4, IgA (включая IgA-1 и IgA-2), IgE, IgD или IgM.

Слово "метка" при использовании в настоящем документе относится к детектируемому соединению или композиции, которые конъюгированы непосредственно или опосредованно с антителом, олигопептидом или другой органической молекулой с образованием "меченого" антитела, олигопептида или другой органической молекулы. Метка сама может быть детектируемой (например, радиоизотопные метки или флуоресцентные метки), или, в случае ферментной метки, она может катализировать химическое изменение соединения или композиции субстрата, которые являются детектируемыми.

Термин "цитотоксическое средство", как используют в настоящем документе, относится к веществу, которое ингибирует функционирование клеток, или препятствует ему, и/или вызывает разрушение клеток. Подразумевают, что термин включает радиоактивные изотопы (например, At²¹¹, I¹³¹, I¹²⁵, Y⁹⁰, Re¹⁸⁶, Re¹⁸⁸, Sm¹⁵³, Bi²¹², P³² и радиоактивные изотопы Lu), химиотерапевтические средства, ферменты и их фрагменты, такие как нуклеолитические ферменты, антибиотики и токсины, такие как низкомолекулярные токсины или ферментативно активные токсины из бактерий, грибов, растений или животных, включая их фрагменты и/или варианты, и различные противоопухолевые средства или средства против злокачественной опухоли, как описано ниже. Другие цитотоксические средства описаны ниже. Уничтожающее опухолевые клетки средство вызывает разрушение опухолевых клеток.

"Химиотерапевтическое средство" представляет собой химическое соединение, пригодное для лечения расстройства или заболевания. Примеры химиотерапевтических или лекарственных средств для лечения IBD включают, но не ограничиваются ими, противовоспалительные лекарственные средства сульфасалазин и 5-аминосалициловую кислоту (5-ASA); метронидазол и ципрофлоксацин обладают эффективностью, сходной с сульфасалазином, и они оказываются особенно пригодными для лечения перианального заболевания; в более тяжелых случаях для лечения активных обострений эффективны кортикостероиды, и они могут даже поддерживать ремиссию; азатиоприн и 6-

меркаптопурин также продемонстрировали успех у пациентов, которым требуется длительное введение кортикостероидов; лекарственные средства против диареи также могут обеспечить смягчение симптомов у некоторых пациентов; лечебное питание или элементная диета могут улучшить состояние питания пациентов и индуцировать улучшение симптомов острого заболевания; для лечения вторичного избыточного роста бактерий и лечения гнойных осложнений применяют антибиотики. Химиотерапевтические средства от IBD, кроме того, включают следующие биологические средства и другие средства: антитела против бета 7 (см., например, WO 2006026759), антитела против альфа4 (такие как ANTEGEN®), антитело против TNF (REMICADE®) или небелковые соединения, включающие, но не ограничивающиеся ими, соединения 5-ASA ASACOL®, PENTASA™, ROWASA™, COLAZAL™, и другие соединения, такие как пуринемол и стероиды, такие как преднизон. Примеры химиотерапевтических средств для лечения злокачественной опухоли включают гидроксуреатаксаны (такие как паклитаксел и доксетаксел) и/или антрациклиновые антибиотики; алкилирующие средства, такие как тиотепа и циклофосфамид СУТОХАН®; алкилсульфонаты, такие как бисульфат, импросульфат и пипосульфат; азиридины, такие как бензодопа, карбоквон, метуредопа и уредопа; этиленимины и метиламеламины, включая алтретамин, триэтиленмеламин, триэтиленфосфорамид, триэтилентифосфорамид и триметилломеламин; ацетогенины (особенно буллатацин и буллатацинон); дельта-9-тетрагидроканнабинол (дронабинол, MARINOL®); бета-лапахон; лапахол; колхицины; бетулиновую кислоту; камптотецин (включая синтетический аналог топотекан (НУСАМТИН®), СРТ-11 (иринотекан, САМПОСАР®), ацетилкамптотецин, скополетин и 9-аминокамптотецин); бриостатин; каллистатин; СС-1065 (включая его синтетические аналоги на основе адозелезина, карзелезина и бизелезина); подофиллотоксин; подофиллиновую кислоту; тенипозид; криптофицины (в частности, криптофицин 1 и криптофицин 8); доластатин; дуокармицин (включая синтетические аналоги, KW-2189 и СВ1-ТМ1); элеутеробин; панкреастатин; саркодиктиин; спонгистатин; азотистые иприты, такие как хлорамбуцил, хлорнафазин, хлорфосфамид, эстрамустин, ифосфамид, мехлорэтамин, гидрохлорид оксида мехлорэтамина, мелфалан, новэмбихин, фенестерин, преднемустин, трофосфамид, иприт урацила; нитрозомочевины, такие как кармустин, хлорзотоцин, фотемустин, ломустин, нимустин и ранимустин; антибиотики, такие как эндиинового антибиотика (например, калихеамицин, особенно калихеамицин гаммаII и калихеамицин омегаII (см., например, Agnew, Chem Intl. Ed. Engl., 33: 183-186 (1994))); динемистин, включая динемистин А; эсперамицин; а также хромофор на основе неокарциностатина и сходные хромопротеиновые хромофоры на основе эндиинового антибиотиков), аклациномизины, актиномицин, аутрамицин, азасерин, блеомицины, сактиномицин, карабицин, карминомицин, карцинофилин, хромомицины, дактиномицин, даунорубицин, декторубицин, 6-диазо-5-оксо-L-норлейцин, ADRIAMYCIN® доксорубицин (включая морфолинодоксорубицин, цианоморфолинодоксорубицин, 2-пирролинодоксорубицин и дезоксидоксорубицин), эпирубицин, эзорубицин, идарубицин, марселломицин, митомицины, такие как митомицин С, микофеноловая кислота, ногаламицин, оливомицины, пепломицин, потфиромицин, пурамицин, квеламицин, родорубицин, стрептоницин, стрептозоцин, туберцидин, убенимекс, зиностатин, зорубицин; антиметаболиты, такие как метотрексат и 5-фторурацил (5-FU); аналоги фолиевой кислоты, такие как деноптерин, метотрексат, птероптерин,

5 триметрексат; аналоги пуринов, такие как флударабин, 6-меркаптопурин, тиамиприн, тиогуанин; аналоги пиримидинов, такие как анцитабин, азацитидин, 6-азауридин, кармофур, цитарабин, дидезоксиуридин, доксифлуридин, эноцитабин, флоксуридин; андрогены, такие как калуостерон, дромостанолон пропионат,

10 эпителиостанол, мепитиостан, тестолактон; антиадренальные средства, такие как аминоклутетимид, митоган, трилостан; средства для восполнения фолиевой кислоты, такие как фролиновая кислота; ацеглатон; альдофосфамид гликозид; аминоклевулиновую кислоту; энилурацил; амсакрин; бестрабуцил; бисантрен;

15 эдатраксат; дефофамин; демекольцин; диазиквон; эльфорнитин; ацетат эллиптиния; эпотилон; этоглуцид; нитрат галлия; гидроксимочевину; лентинан; лонидаинин; майтанзиноиды, такие как майтанзин и ансамитоцины; митогуазон; митоксантрон; мопиданмол; нитраэрин; пентостатин; фенамет; пирарубицин; лозоксантрон; 2-этилгидразид; прокарбазин; полисахаридный комплекс PSK[®] (JHS Natural Products, Eugene, OR); разоксан; ризоксин; сизофиран; спирогерманий; тенуазоновую кислоту; триазиквон; 2,2',2"-трихлортриэтиламин; трихотецены (особенно токсин Т-2, верракурин А, роридин А и ангвидин); уретан; виндезин (ELDISINE[®], FILDESIN[®]);

20 декарбазин; манномустин; митобронитол; митолактол; пипоброман; гацитозин; арабинозид ("Ara-C"); тиотепу; таксоиды, например паклитаксел TAXOL[®] (Bristol-Myers Squibb Oncology, Princeton, N.J.), ABRAXANE[™], не содержащий Cremophor, сконструированный с альбумином состав паклитаксела в виде частиц (American Pharmaceutical Partners, Schaumburg, Illinois), и доксетаксел TAXOTERE[®] (Rhône-Poulenc

25 Rorer, Antony, France); хлорамбуцил; гемцитабин (GEMZAR[®]); 6-тиогуанин; меркаптопурин; метотрексат; аналоги платины, такие как цисплатин и карбоплатин; винбластин (VELBAN[®]); платина; этопозид (VP-16); ифосфамид; митоксантрон; винкристин (ONCOVIN[®]); оксалиплатин; лейковорин; винорелбин (NAVELBINE[®]);

30 новантрон; эдатрексат; дауномицин; аминокптерин; ибандронат; ингибитор топоизомеразы RFS 2000; дифторметилорнитин (DMFO); ретиноиды, такие как ретиноевая кислота; капецитабин (XELODA[®]); фармацевтически приемлемые соли, кислоты или производные любого из указанных выше; а также сочетания двух или

35 нескольких из указанных выше, такие как СНОР, сокращенное название для комбинированной терапии циклофосфамидом, доксорубицином, винкристином и преднизолоном, и FOLFOX, сокращенное название для схемы лечения оксалиплатином (ELOXATIN[™]) в сочетании с 5-FU и лейковорином.

Термин "цитокин" является общим термином для белков, высвобождаемых одной

40 популяцией клеток, которые воздействуют на другую клетку в качестве межклеточных медиаторов. Примерами таких цитокинов являются лимфокины, монокины и традиционные полипептидные гормоны. Цитокины включают гормоны роста, такие как гормон роста человека, гормон роста человека с N-метионилом и бычий гормон роста; паратиреоидный гормон; тироксин; инсулин; проинсулин;

45 релаксин; прорелаксин; гликопротеиновые гормоны, такие как фолликулостимулирующий гормон (FSH), тиреоидстимулирующий гормон (TSH) и лютеинизирующий гормон (LH); печеночный фактор роста; фактор роста фибробластов; пролактин; плацентарный лактоген; фактор некроза опухолей- α и - β ;

50 ингибирующее вещество Мюллера; гонадотропин-ассоциированный пептид мышцы; ингибин; активин; сосудисто-эндотелиальный фактор роста; интегрин; тромбопоэтин (TPO); факторы роста нервов, такие как NGF- β ; фактор роста тромбоцитов; трансформирующие факторы роста (TGF), такие как TGF- α и TGF- β ;

инсулиноподобный фактор роста-I и -II; эритропоэтин (EPO); остеоиндуктивные факторы; интерфероны, такие как интерферон- α , - β и - γ ; колониестимулирующие факторы (CSF), такие как макрофагальный CSF (M-CSF); гранулоцитарно-

5 интерлейкины (IL), такие как IL-1, IL-1 α , IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-9, IL-11, IL-12; фактор некроза опухолей, такой как TNF- α или TNF- β ; и другие полипептидные факторы, в том числе LIF и kit-лиганд (KL). Как используют в рамках настоящей заявки, термин цитокин включает в себя белки из природных
10 источников или из рекомбинантных клеточных культур и биологически активные эквиваленты цитокинов с нативной последовательностью.

Термин "вкладыш в упаковку" используют для обозначения инструкций, обычно включаемых в коммерческие упаковки терапевтических продуктов, которые
15 содержат информацию о показаниях, применении, дозировке, введении, противопоказаниях и/или предупреждения, касающиеся применения таких терапевтических продуктов.

"Эпителиальная ткань," "эпителиальный" и "эпителий" относятся к клеточному покрытию внутренних и наружных поверхностей тела (кожному, слизистому и
20 серозному), включая железы и другие структуры, образованные из них, например эпителиальные клетки роговицы, пищевода, эпидермы и волосяного фолликула. Другая иллюстративная эпителиальная ткань включает: обонятельный эпителий - псевдомногослойный эпителий, выстилающий обонятельную область полости носа и содержащий рецепторы для ощущения запаха; железистый эпителий - эпителий,
25 состоящий из секретирующих клеток; плоский эпителий - эпителий, содержащий один или несколько клеточных слоев, наиболее поверхностный из которых состоит из плоских, чешуйчатых или пластинчатых клеток. Также эпителий может относиться к переходному эпителию, такому как эпителий, который обычно
30 выстилает полые органы, которые подвергаются значительному механическому изменению вследствие сокращения и растяжения, например ткань, которая представляет собой переходную ткань между многослойным плоским и столбчатым эпителием.

"Состояние роста" клетки относится к скорости пролиферации клетки и/или
35 состоянию дифференцировки клетки. "Состояние измененного роста" представляет собой состояние роста, характеризующееся аномальной скоростью пролиферации, например клетка, проявляющая повышенную или сниженную скорость пролиферации относительно нормальной клетки.

40 Термин "LY6" или "полипептид LY6" используют в настоящем документе для общего обозначения любого из гомологов млекопитающих из семейства генов LY6 млекопитающих. Термин "LY6" может быть использован для описания белка или нуклеиновой кислоты.

Термин "сверхэкспрессия", как используют в настоящем документе, относится к
45 клеточным уровням экспрессии генов в ткани, которые превышают нормальные уровни экспрессии для этой ткани. Термин "сниженная экспрессия", как используют в настоящем документе, относится к клеточным уровням экспрессии генов, которые являются более низкими, чем нормальные уровни экспрессии для этой ткани. В
50 любом случае, более высокая или более низкая экспрессия значимо отличается от нормальной экспрессии в контролируемых условиях исследования.

"Контроль" включает образец, полученный для применения в целях определения базовой или нормальной экспрессии или активности у млекопитающего, которое не

страдает IBD. Таким образом, контрольный образец можно получать множеством способов, включая получение из ткани или клеток, не пораженных воспалением и/или IBD, UC или CD (как определяют стандартными способами); из клеток или ткани не IBD, например из клеток субъекта, не страдающего IBD; у субъектов, не имеющих IBD, болезни Крона или язвенного колита; у субъектов, предположительно не имеющих риска IBD, CD или UC; или из клеток или клеточных линий, полученных у таких субъектов. Также контроль включает ранее установленный стандарт. Для анализов, таких как анализы мРНК, включающих анализы на микрочипах, контроль может представлять собой универсальный контроль. Такой универсальный контроль относится к информации об экспрессии РНК конкретного гена LY6, полученного из РНК, выделенной из смеси здоровых тканей или смеси клеточных линий, полученных из различных тканей, таких как, но не ограничиваясь ими, универсальные стандартные РНК, описанные в настоящем документе. Таким образом, любой тест или анализ, проведенный согласно изобретению, можно сравнивать с установленным стандартом, и может быть необязательным получение контрольного образца для сравнения каждый раз.

Таблица 1

20

25

30

35

40

45

50

```

/*
 *
 * C-C increased from 12 to 15
 * Z is average of EQ
 * B is average of ND
 * match with stop is _M; stop-stop = 0; J (joker) match = 0
 */
#define _M      -8      /* value of a match with a stop */

int    _day[26][26] = {
10  /* A B C D E F G H I J K L M N O P Q R S T U V W X Y Z */
/* A */ { 2, 0, -2, 0, 0, -4, 1, -1, -1, 0, -1, -2, -1, 0, _M, 1, 0, -2, 1, 1, 0, 0, -6, 0, -3, 0},
/* B */ { 0, 3, -4, 3, 2, -5, 0, 1, -2, 0, 0, -3, -2, 2, _M, -1, 1, 0, 0, 0, 0, -2, -5, 0, -3, 1},
/* C */ {-2, -4, 15, -5, -5, -4, -3, -3, -2, 0, -5, -6, -5, -4, _M, -3, -5, -4, 0, -2, 0, -2, -8, 0, 0, -5},
/* D */ { 0, 3, -5, 4, 3, -6, 1, 1, -2, 0, 0, -4, -3, 2, _M, -1, 2, -1, 0, 0, 0, -2, -7, 0, -4, 2},
/* E */ { 0, 2, -5, 3, 4, -5, 0, 1, -2, 0, 0, -3, -2, 1, _M, -1, 2, -1, 0, 0, 0, -2, -7, 0, -4, 3},
/* F */ {-4, -5, -4, -6, -5, 9, -5, -2, 1, 0, -5, 2, 0, -4, _M, -5, -5, -4, -3, -3, 0, -1, 0, 0, 7, -5},
15 /* G */ { 1, 0, -3, 1, 0, -5, 5, -2, -3, 0, -2, -4, -3, 0, _M, -1, -1, -3, 1, 0, 0, -1, -7, 0, -5, 0},
/* H */ {-1, 1, -3, 1, 1, -2, -2, 6, -2, 0, 0, -2, -2, 2, _M, 0, 3, 2, -1, -1, 0, -2, -3, 0, 0, 2},
/* I */ {-1, -2, -2, -2, -2, 1, -3, -2, 5, 0, -2, 2, 2, -2, _M, -2, -2, -2, -1, 0, 0, 4, -5, 0, -1, -2},
/* J */ { 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, _M, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0},
/* K */ {-1, 0, -5, 0, 0, -5, -2, 0, -2, 0, 5, -3, 0, 1, _M, -1, 1, 3, 0, 0, 0, -2, -3, 0, -4, 0},
/* L */ {-2, -3, -6, -4, -3, 2, -4, -2, 2, 0, -3, 6, 4, -3, _M, -3, -2, -3, -3, -1, 0, 2, -2, 0, -1, -2},
20 /* M */ {-1, -2, -5, -3, -2, 0, -3, -2, 2, 0, 0, 4, 6, -2, _M, -2, -1, 0, -2, -1, 0, 2, -4, 0, -2, -1},
/* N */ { 0, 2, -4, 2, 1, -4, 0, 2, -2, 0, 1, -3, -2, 2, _M, -1, 1, 0, 1, 0, 0, -2, -4, 0, -2, 1},
/* O */ { _M, _M,
0, _M, _M},
/* P */ { 1, -1, -3, -1, -1, -5, -1, 0, -2, 0, -1, -3, -2, -1, _M, 6, 0, 0, 1, 0, 0, -1, -6, 0, -5, 0},
/* Q */ { 0, 1, -5, 2, 2, -5, -1, 3, -2, 0, 1, -2, -1, 1, _M, 0, 4, 1, -1, -1, 0, -2, -5, 0, -4, 3},
/* R */ {-2, 0, -4, -1, -1, -4, -3, 2, -2, 0, 3, -3, 0, 0, _M, 0, 1, 6, 0, -1, 0, -2, 2, 0, -4, 0},
25 /* S */ { 1, 0, 0, 0, 0, -3, 1, -1, -1, 0, 0, -3, -2, 1, _M, 1, -1, 0, 2, 1, 0, -1, -2, 0, -3, 0},
/* T */ { 1, 0, -2, 0, 0, -3, 0, -1, 0, 0, 0, -1, -1, 0, _M, 0, -1, -1, 1, 3, 0, 0, -5, 0, -3, 0},
/* U */ { 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, _M, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0},
/* V */ { 0, -2, -2, -2, -2, -1, -1, -2, 4, 0, -2, 2, 2, -2, _M, -1, -2, -2, -1, 0, 0, 4, -6, 0, -2, -2},
/* W */ {-6, -5, -8, -7, -7, 0, -7, -3, -5, 0, -3, -2, -4, -4, _M, -6, -5, 2, -2, -5, 0, -6, 17, 0, 0, -6},
/* X */ { 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, _M, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0},
/* Y */ {-3, -3, 0, -4, -4, 7, -5, 0, -1, 0, -4, -1, -2, -2, _M, -5, -4, -4, -3, -3, 0, -2, 0, 0, 10, -4},
30 /* Z */ { 0, 1, -5, 2, 3, -5, 0, 2, -2, 0, 0, -2, -1, 1, _M, 0, 3, 0, 0, 0, 0, -2, -6, 0, -4, 4}
};

```

35

40

45

Page 1 of day.h

Таблица 1 (продолжение 1)

50

```

/*
*/
#include <stdio.h>
#include <ctype.h>

5
#define MAXJMP      16      /* max jumps in a diag */
#define MAXGAP      24      /* don't continue to penalize gaps larger than this */
#define JMPS        1024    /* max jmps in an path */
#define MX          4       /* save if there's at least MX-1 bases since last jmp */

#define DMAT        3       /* value of matching bases */
10
#define DMIS        0       /* penalty for mismatched bases */
#define DINS0       8       /* penalty for a gap */
#define DINS1       1       /* penalty per base */
#define PINS0       8       /* penalty for a gap */
#define PINS1       4       /* penalty per residue */

struct jmp {
15
    short           n[MAXJMP]; /* size of jmp (neg for dely) */
    unsigned short x[MAXJMP]; /* base no. of jmp in seq x */
};
/* limits seq to 2^16 - 1 */

struct diag {
20
    int             score;      /* score at last jmp */
    long            offset;     /* offset of prev block */
    short           jmp;       /* current jmp index */
    struct jmp      jp;        /* list of jmps */
};

struct path {
25
    int             spc;        /* number of leading spaces */
    short           n[JMPS];    /* size of jmp (gap) */
    int             x[JMPS];    /* loc of jmp (last elem before gap) */
};

char              *ofile;      /* output file name */
char              *namex[2];   /* seq names: getseqs( ) */
char              *prog;       /* prog name for err msgs */
30
char              *seqx[2];     /* seqs: getseqs( ) */
int               dmax;        /* best diag: nw( ) */
int               dmax0;       /* final diag */
int               dna;         /* set if dna: main( ) */
int               endgaps;     /* set if penalizing end gaps */
int               gapx, gapy;   /* total gaps in seqs */
int               len0, len1;  /* seq lens */
35
int               ngapx, ngapy; /* total size of gaps */
int               smax;        /* max score: nw( ) */
int               *xbm;        /* bitmap for matching */
long              offset;     /* current offset in jmp file */
struct diag       *dx;        /* holds diagonals */
struct path       pp[2];      /* holds path for seqs */

40
char              *calloc(), *malloc( ), *index( ), *strep( );
char              *getseq( ), *g_calloc( );

```

45 Page 1 of nw.h

Таблица 1 (продолжение 2)

50

```

/* Needleman-Wunsch alignment program
*
* usage: progs file1 file2
* where file1 and file2 are two dna or two protein sequences.
5 * The sequences can be in upper- or lower-case and may contain ambiguity
* Any lines beginning with ';', '>' or '<' are ignored
* Max file length is 65535 (limited by unsigned short x in the jmp struct)
* A sequence with 1/3 or more of its elements ACGTU is assumed to be DNA
* Output is in the file "align.out"
*
* The program may create a tmp file in /tmp to hold info about traceback.
10 * Original version developed under BSD 4.3 on a vax 8650
*/
#include "nw.h"
#include "day.h"

static _dbval[26] = {
15 1,14,2,13,0,0,4,11,0,0,12,0,3,15,0,0,0,5,6,8,8,7,9,0,10,0
};

static _pbval[26] = {
20 1, 2|(1<<('D'-'A'))|(1<<('N'-'A')), 4, 8, 16, 32, 64,
128, 256, 0xFFFFFFFF, 1<<10, 1<<11, 1<<12, 1<<13, 1<<14,
1<<15, 1<<16, 1<<17, 1<<18, 1<<19, 1<<20, 1<<21, 1<<22,
1<<23, 1<<24, 1<<25|(1<<('E'-'A'))|(1<<('Q'-'A'))
};

main(ac, av) main
{
25 int ac;
char *av[];

prog = av[0];
if (ac != 3) {
fprintf(stderr, "usage: %s file1 file2\n", prog);
fprintf(stderr, "where file1 and file2 are two dna or two protein sequences.\n");
fprintf(stderr, "The sequences can be in upper- or lower-case\n");
fprintf(stderr, "Any lines beginning with ';' or '<' are ignored\n");
fprintf(stderr, "Output is in the file \"align.out\"\n");
exit(1);
30 }
namex[0] = av[1];
namex[1] = av[2];
seqx[0] = getseq(namex[0], &len0);
seqx[1] = getseq(namex[1], &len1);
xbm = (dna)? _dbval : _pbval;

endgaps = 0; /* 1 to penalize endgaps */
35 ofile = "align.out"; /* output file */

nw( ); /* fill in the matrix, get the possible jmps */
readjmps( ); /* get the actual jmps */
print( ); /* print stats, alignment */

40 cleanup(0); /* unlink any tmp files */
}

```

Page 1 of nw.c

45

Таблица 1 (продолжение 3)

50

```

/* do the alignment, return best score: main( )
* dna: values in Fitch and Smith, PNAS, 80, 1382-1386, 1983
* pro: PAM 250 values
5  * When scores are equal, we prefer mismatches to any gap, prefer
* a new gap to extending an ongoing gap, and prefer a gap in seqx
* to a gap in seq y.
*/
nw( )                                     nw
{
    char      *px, *py;          /* seqs and ptrs */
    int       *ndely, *dely;     /* keep track of dely */
10  int       ndelx, delx;      /* keep track of delx */
    int       *tmp;             /* for swapping row0, row1 */
    int       mis;              /* score for each type */
    int       ins0, ins1;       /* insertion penalties */
    register  id;                /* diagonal index */
    register  ij;                /* jmp index */
    register  *col0, *col1;     /* score for curr, last row */
15  register  xx, yy;           /* index into seqs */

    dx = (struct diag *)g_calloc("to get diags", len0+len1+1, sizeof(struct diag));

    ndely = (int *)g_calloc("to get ndely", len1+1, sizeof(int));
    dely = (int *)g_calloc("to get dely", len1+1, sizeof(int));
    col0 = (int *)g_calloc("to get col0", len1+1, sizeof(int));
    col1 = (int *)g_calloc("to get col1", len1+1, sizeof(int));
20  ins0 = (dna)? DINS0 : PINS0;
    ins1 = (dna)? DINS1 : PINS1;

    smax = -10000;
    if (endgaps) {
25         for (col0[0] = dely[0] = -ins0, yy = 1; yy <= len1; yy++) {
            col0[yy] = dely[yy] = col0[yy-1] - ins1;
            ndely[yy] = yy;
        }
        col0[0] = 0;          /* Waterman Bull Math Biol 84 */
    }
    else
30         for (yy = 1; yy <= len1; yy++)
            dely[yy] = -ins0;

    /* fill in match matrix
    */
    for (px = seqx[0], xx = 1; xx <= len0; px++, xx++) {
        /* initialize first entry in col
        */
35         if (endgaps) {
            if (xx == 1)
                col1[0] = delx = -(ins0+ins1);
            else
                col1[0] = delx = col0[0] - ins1;
            ndelx = xx;
        }
        else {
40             col1[0] = 0;
            delx = -ins0;
            ndelx = 0;
        }
    }
}

```

page 2 of nw.c

45

Таблица 1 (продолжение 4)

50

```

for (py = seqx[1], yy = 1; yy <= len1; py++, yy++) {
    mis = col0[yy-1];
    if (dna)
        mis += (xbm[*px-'A']&xbm[*py-'A'])? DMAT : DMIS;
    else
        mis += _day[*px-'A'][*py-'A'];

    /* update penalty for del in x seq;
     * favor new del over ongong del
     * ignore MAXGAP if weighting endgaps
     */
    if (endgaps || ndely[yy] < MAXGAP) {
        if (col0[yy] - ins0 >= dely[yy]) {
            dely[yy] = col0[yy] - (ins0+ins1);
            ndely[yy] = 1;
        } else {
            dely[yy] -= ins1;
            ndely[yy]++;
        }
    } else {
        if (col0[yy] - (ins0+ins1) >= dely[yy]) {
            dely[yy] = col0[yy] - (ins0+ins1);
            ndely[yy] = 1;
        } else
            ndely[yy]++;
    }

    /* update penalty for del in y seq;
     * favor new del over ongong del
     */
    if (endgaps || ndelx < MAXGAP) {
        if (col1[yy-1] - ins0 >= delx) {
            delx = col1[yy-1] - (ins0+ins1);
            ndelx = 1;
        } else {
            delx -= ins1;
            ndelx++;
        }
    } else {
        if (col1[yy-1] - (ins0+ins1) >= delx) {
            delx = col1[yy-1] - (ins0+ins1);
            ndelx = 1;
        } else
            ndelx++;
    }

    /* pick the maximum score; we're favoring
     * mis over any del and delx over dely
     */

```

```

id = xx - yy + len1 - 1;
if (mis >= delx && mis >= dely[yy])
    coll[yy] = mis;
else if (delx >= dely[yy]) {
5     coll[yy] = delx;
      ij = dx[id].ijmp;
      if (dx[id].jp.n[0] && (!dna || (ndelx >= MAXJMP
&& xx > dx[id].jp.x[ij]+MX) || mis > dx[id].score+DINS0)) {
          dx[id].ijmp++;
          if (++ij >= MAXJMP) {
10              writejmps(id);
                ij = dx[id].ijmp = 0;
                dx[id].offset = offset;
                offset += sizeof(struct jmp) + sizeof(offset);
            }
        }
        dx[id].jp.n[ij] = ndelx;
        dx[id].jp.x[ij] = xx;
        dx[id].score = delx;
15     }
      else {
          coll[yy] = dely[yy];
          ij = dx[id].ijmp;
          if (dx[id].jp.n[0] && (!dna || (ndely[yy] >= MAXJMP
20          && xx > dx[id].jp.x[ij]+MX) || mis > dx[id].score+DINS0)) {
              dx[id].ijmp++;
              if (++ij >= MAXJMP) {
                  writejmps(id);
                  ij = dx[id].ijmp = 0;
                  dx[id].offset = offset;
                  offset += sizeof(struct jmp) + sizeof(offset);
              }
          }
          dx[id].jp.n[ij] = -ndely[yy];
          dx[id].jp.x[ij] = xx;
          dx[id].score = dely[yy];
25     }
      if (xx == len0 && yy < len1) {
          /* last col
          */
          if (endgaps)
30             coll[yy] -= ins0+ins1*(len1-yy);
          if (coll[yy] > smax) {
              smax = coll[yy];
              dmax = id;
          }
      }
    }
    if (endgaps && xx < len0)
        coll[yy-1] -= ins0+ins1*(len0-xx);
    if (coll[yy-1] > smax) {
        smax = coll[yy-1];
        dmax = id;
    }
40     tmp = col0; col0 = coll; coll = tmp;
}
(void) free((char *)ndely);
(void) free((char *)dely);
(void) free((char *)col0);
(void) free((char *)coll);
}
45

```

Page 4 of nw.c

Таблица 1 (продолжение 6)

50

```

/*
 *
 * print() -- only routine visible outside this module
 *
 * static:
5  * getmat() -- trace back best path, count matches: print()
 * pr_align() -- print alignment of described in array p[]: print()
 * dumpblock() -- dump a block of lines with numbers, stars: pr_align()
 * nums() -- put out a number line: dumpblock()
 * putline() -- put out a line (name, [num], seq, [num]): dumpblock()
 * stars() -- put a line of stars: dumpblock()
 * stripname() -- strip any path and prefix from a seqname
 */
10
#include "nw.h"

#define SPC 3
#define P_LINE 256 /* maximum output line */
#define P_SPC 3 /* space between name or num and seq */

15 extern _day[26][26];
int olen; /* set output line length */
FILE *fx; /* output file */

print() print
{
20     int lx, ly, firstgap, lastgap; /* overlap */

    if ((fx = fopen(ofile, "w")) == 0) {
        fprintf(stderr, "%s: can't write %s\n", prog, ofile);
        cleanup(1);
    }
    fprintf(fx, "<first sequence: %s (length = %d)\n", namex[0], len0);
    fprintf(fx, "<second sequence: %s (length = %d)\n", namex[1], len1);
25     olen = 60;
    lx = len0;
    ly = len1;
    firstgap = lastgap = 0;
    if (dmax < len1 - 1) { /* leading gap in x */
        pp[0].spc = firstgap = len1 - dmax - 1;
        ly -= pp[0].spc;
30     }
    else if (dmax > len1 - 1) { /* leading gap in y */
        pp[1].spc = firstgap = dmax - (len1 - 1);
        lx -= pp[1].spc;
    }
    if (dmax0 < len0 - 1) { /* trailing gap in x */
        lastgap = len0 - dmax0 - 1;
        lx -= lastgap;
35     }
    else if (dmax0 > len0 - 1) { /* trailing gap in y */
        lastgap = dmax0 - (len0 - 1);
        ly -= lastgap;
    }
    getmat(lx, ly, firstgap, lastgap);
    pr_align( );
40 }

```

Page 1 of nwprint.c

45

Таблица 1 (продолжение 7)

50

```

/*
 * trace back the best path, count matches
 */
static
getmat(lx, ly, firstgap, lastgap)                                getmat
5      int      lx, ly;          /* "core" (minus endgaps) */
      int      firstgap, lastgap;  /* leading trailing overlap */
{
      int      nm, i0, i1, siz0, siz1;
      char     outx[32];
      double   pct;
      register n0, n1;
      register char *p0, *p1;
10
      /* get total matches, score
      */
      i0 = i1 = siz0 = siz1 = 0;
      p0 = seqx[0] + pp[1].spc;
      p1 = seqx[1] + pp[0].spc;
15      n0 = pp[1].spc + 1;
      n1 = pp[0].spc + 1;

      nm = 0;
      while ( *p0 && *p1 ) {
          if (siz0) {
20              p1++;
              n1++;
              siz0--;
          }
          else if (siz1) {
              p0++;
              n0++;
              siz1--;
          }
25          else {
              if (xbm[*p0-'A']&xbm[*p1-'A'])
                  nm++;
              if (n0++ == pp[0].x[i0])
                  siz0 = pp[0].n[i0++];
              if (n1++ == pp[1].x[i1])
                  siz1 = pp[1].n[i1++];
30              p0++;
              p1++;
          }
      }

      /* pct homology:
      * if penalizing endgaps, base is the shorter seq
      * else, knock off overhangs and take shorter core
      */
35      if (endgaps)
          lx = (len0 < len1)? len0 : len1;
      else
          lx = (lx < ly)? lx : ly;
      pct = 100.*((double)nm)/((double)lx);
      fprintf(fx, "\n");
40      fprintf(fx, "<%=d match%s in an overlap of %d: %.2f percent similarity\n",
          nm, (nm == 1)? "" : "es", lx, pct);

```

Page 2 of nwprint.c

45

Таблица 1 (продолжение 8)

50

```

fprintf(fx, "<gaps in first sequence: %d", gapx);
if (gapx) {
    (void) sprintf(outx, "(%d %s%s)",
        ngapx, (dna)? "base":"residue", (ngapx == 1)? "" : "s");
    fprintf(fx, "%s", outx);
5
fprintf(fx, ", gaps in second sequence: %d", gapy);
if (gapy) {
    (void) sprintf(outx, "(%d %s%s)",
        ngapy, (dna)? "base":"residue", (ngapy == 1)? "" : "s");
    fprintf(fx, "%s", outx);
}
10
if (dna)
    fprintf(fx,
        "\n<score: %d (match = %d, mismatch = %d, gap penalty = %d + %d per base)\n",
        smax, DMAT, DMIS, DINS0, DINS1);
else
    fprintf(fx,
        "\n<score: %d (Dayhoff PAM 250 matrix, gap penalty = %d + %d per residue)\n",
        smax, PINS0, PINS1);
15
if (endgaps)
    fprintf(fx,
        "<endgaps penalized. left endgap: %d %s%s, right endgap: %d %s%s\n",
        firstgap, (dna)? "base" : "residue", (firstgap == 1)? "" : "s",
        lastgap, (dna)? "base" : "residue", (lastgap == 1)? "" : "s");
else
    fprintf(fx, "<endgaps not penalized\n");
20
}

static      nm;          /* matches in core -- for checking */
static      lmax;        /* lengths of stripped file names */
static      ij[2];       /* jmp index for a path */
static      nc[2];       /* number at start of current line */
static      ni[2];       /* current elem number -- for gapping */
25
static      siz[2];
static char *ps[2];      /* ptr to current element */
static char *po[2];      /* ptr to next output char slot */
static char out[2][P_LINE]; /* output line */
static char star[P_LINE]; /* set by stars() */
/*
* print alignment of described in struct path pp[]
*/
30
static
pr_align()
{
    int      nn;          /* char count */
    int      more;
    register i;
35
    for (i = 0, lmax = 0; i < 2; i++) {
        nn = stripname(namex[i]);
        if (nn > lmax)
            lmax = nn;

        nc[i] = 1;
        ni[i] = 1;
        siz[i] = ij[i] = 0;
        ps[i] = seqx[i];
        po[i] = out[i];
40
    }

}

```

pr_align

Page 3 of nwprint.c

45

Таблица 1 (продолжение 9)

50

```

for (nn = nm = 0, more = 1; more; ) {
    for (i = more = 0; i < 2; i++) {
        /*
         * do we have more of this sequence?
         */
5         if (!*ps[i])
            continue;

        more++;

        if (pp[i].spc) { /* leading space */
            *po[i]++ = ' ';
            pp[i].spc--;
10         }
        else if (siz[i]) { /* in a gap */
            *po[i]++ = '-';
            siz[i]--;
        }
        else { /* we're putting a seq element
              */
15         *po[i] = *ps[i];
            if (islower(*ps[i]))
                *ps[i] = toupper(*ps[i]);
            po[i]++;
            ps[i]++;

            /*
             * are we at next gap for this seq?
             */
            if (ni[i] == pp[i].x[ij[i]]) {
                /*
                 * we need to merge all gaps
                 * at this location
                 */
25         siz[i] = pp[i].n[ij[i]++];
                while (ni[i] == pp[i].x[ij[i]])
                    siz[i] += pp[i].n[ij[i]++];
            }
            ni[i]++;
        }
    }
30     if (++nn == olen || !more && nn) {
        dumpblock();
        for (i = 0; i < 2; i++)
            po[i] = out[i];
        nn = 0;
    }
}
35 }

/*
 * dump a block of lines, including numbers, stars: pr_align ( )
 */
static
dumpblock ( )
40 {
    register i;
    for (i = 0; i < 2; i++)
        *po[i]-- = '\0';
}
Page 4 of nwprint.c

```

dumpblock

Таблица 1 (продолжение 10)

50

```

(void) putc('\n', fx);
for (i = 0; i < 2; i++) {
    if (*out[i] && (*out[i] != ' ' || *(po[i]) != ' ')) {
        if (i == 0)
            nums(i);
5         if (i == 0 && *out[1])
            stars( );
        putline(i);
        if (i == 0 && *out[1])
            fprintf(fx, star);
        if (i == 1)
            nums(i);
10     }
}

/*
 * put out a number line: dumpblock()
 */
15 static
nums(ix)                                nums
{
    int    ix;        /* index in out[] holding seq line */
    char    nline[P_LINE];
    register i, j;
    register char *pn, *px, *py;

20     for (pn = nline, i = 0; i < lmax+P_SPC; i++, pn++)
        *pn = ' ';
    for (i = nc[ix], py = out[ix]; *py; py++, pn++) {
        if (*py == ' ' || *py == '-')
            *pn = ' ';
        else {
25             if (i%10 == 0 || (i == 1 && nc[ix] != 1)) {
                j = (i < 0)? -i : i;
                for (px = pn; j; j /= 10, px--)
                    *px = j%10 + '0';
                if (i < 0)
                    *px = '-';
            }
            else
30                 *pn = ' ';
            i++;
        }
    }
    *pn = '\0';
    nc[ix] = i;
    for (pn = nline; *pn; pn++)
        (void) putc(*pn, fx);
35     (void) putc('\n', fx);
}

/*
 * put out a line (name, [num], seq, [num]): dumpblock()
 */
40 static
putline(ix)                                putline
{
    int    ix;

```

45

50

...putline

```

int          i;
register char *px;

for (px = nameX[ix], i = 0; *px && *px != '!'; px++, i++)
5   (void) putc(*px, fx);
for (; i < lmax+P_SPC; i++)
   (void) putc(' ', fx);

/* these count from 1:
 * ni[] is current element (from 1)
 * nc[] is number at start of current line
 */
10  for (px = out[ix]; *px; px++)
   (void) putc(*px&0x7F, fx);
(void) putc('\n', fx);
}

15  /*
 * put a line of stars (seqs always in out[0], out[1]): dumpblock( )
 */
static
stars( )
{
int          i;
register char *p0, *p1, cx, *px;

20  if (!*out[0] || (*out[0] == ' ' && *(po[0]) == ' ') ||
   !*out[1] || (*out[1] == ' ' && *(po[1]) == ' '))
   return;
px = star;
for (i = lmax+P_SPC; i; i--)
   *px++ = ' ';

25  for (p0 = out[0], p1 = out[1]; *p0 && *p1; p0++, p1++) {
   if (isalpha(*p0) && isalpha(*p1)) {

       if (xbm[*p0-'A']&xbm[*p1-'A']) {
           cx = '*';
           nm++;
       }
30  else if (!dna && _day[*p0-'A'][*p1-'A'] > 0)
           cx = '!';
       else
           cx = ' ';
   }
   else
       cx = ' ';
35  *px++ = cx;
}
*px++ = '\n';
*px = '\0';
}

```

stars

Page 6 of nwprint.c

Таблица 1 (продолжение 12)

```

/*
 * strip path or prefix from pn, return len: pr_align( )
 */
static
stripname(pn)                                stripname
5   char    *pn;    /* file name (may be path) */
   {
       register char    *px, *py;

       py = 0;
       for (px = pn; *px; px++)
           if (*px == '/')
10          py = px + 1;
       if (py)
           (void) strcpy(pn, py);
       return(strlen(pn));
   }

```

15

20

25

30

35

40 Page 7 of nwprint.c

45

Таблица 1 (продолжение 13)

50

```

/*
 * cleanup() -- cleanup any tmp file
 * getseq() -- read in seq, set dna, len, maxlen
 * g_alloc() -- calloc() with error checkin
 * readjmps() -- get the good jmps, from tmp file if necessary
 * writejumps() -- write a filled array of jmps to a tmp file: nw()
5  */
#include "nw.h"
#include <sys/file.h>

char *jname = "/tmp/homgXXXXXXX"; /* tmp file for jmps */
FILE *fj;

10 int cleanup(); /* cleanup tmp file */
long lseek();

/*
 * remove any tmp file if we blow
 */
15 cleanup(i) cleanup
{
    int i;
    if (fj) (void) unlink(jname);
    exit(i);
}

20 /*
 * read, return ptr to seq, set dna, len, maxlen
 * skip lines starting with ';', '<', or '>'
 * seq in upper or lower case
 */
char *
25 getseq(file, len) getseq
char *file; /* file name */
int *len; /* seq len */
{
    char line[1024], *pseq;
    register char *px, *py;
    int natgc, tlen;
    FILE *fp;

30 if ((fp = fopen(file, "r")) == 0) {
    fprintf(stderr, "%s: can't read %s\n", prog, file);
    exit(1);
}
tlen = natgc = 0;
while (fgets(line, 1024, fp)) {
35 if (*line == ';' || *line == '<' || *line == '>')
    continue;
for (px = line; *px != '\n'; px++)
    if (isupper(*px) || islower(*px))
        tlen++;
}
if ((pseq = malloc((unsigned)(tlen+6))) == 0) {
40 fprintf(stderr, "%s: malloc( ) failed to get %d bytes for %s\n", prog, tlen+6, file);
    exit(1);
}
pseq[0] = pseq[1] = pseq[2] = pseq[3] = '\0';
Page 1 of nwsubr.c

```

45

Таблица 1 (продолжение 14)

50

...getseq

```

py = pseq + 4;
*len = tlen;
rewind(fp);

5   while (fgets(line, 1024, fp)) {
        if (*line == ';' || *line == '<' || *line == '>')
            continue;
        for (px = line; *px != '\n'; px++) {
            if (isupper(*px))
                *py++ = *px;
            else if (islower(*px))
                *py++ = toupper(*px);
10          if (index("ATGCU", *(py-1)))
                natgc++;
        }
        *py++ = '\0';
        *py = '\0';
15   (void) fclose(fp);
        dna = natgc > (tlen/3);
        return(pseq+4);
    }

char *
g_alloc(msg, nx, sz)                                g_alloc
20   char *msg; /* program, calling routine */
    int nx, sz; /* number and size of elements */
{
    char *px, *calloc( );

    if ((px = calloc((unsigned)nx, (unsigned)sz)) == 0) {
        if (*msg) {
25          fprintf(stderr, "%s: g_alloc( ) failed %s (n=%d, sz=%d)\n", prog, msg, nx, sz);
            exit(1);
        }
    }
    return(px);
}

/*
30 * get final jmps from dx[] or tmp file, set pp[], reset dmax: main( )
*/
readjmps()                                          readjmps
{
    int fd = -1;
    int siz, i0, i1;
    register i, j, xx;
35   if (fj) {
        (void) fclose(fj);
        if ((fd = open(jname, O_RDONLY, 0)) < 0) {
            fprintf(stderr, "%s: can't open( ) %s\n", prog, jname);
            cleanup(1);
        }
40   }
    for (i = i0 = i1 = 0, dmax0 = dmax, xx = len0; ; i++) {
        while (1) {
            for (j = dx[dmax].ijmp; j >= 0 && dx[dmax].jp.x[j] >= xx; j--)
                ;

```

Page 2 of nwsubr.c

45

Таблица 1 (продолжение 15)

50

```

5         if (j < 0 && dx[dmax].offset && fj) {
            (void) lseek(fd, dx[dmax].offset, 0);
            (void) read(fd, (char *)&dx[dmax].jp, sizeof(struct jmp));
            (void) read(fd, (char *)&dx[dmax].offset, sizeof(dx[dmax].offset));
            dx[dmax].ijmp = MAXJMP-1;
        }
        else
            break;
    }
    if (i >= JMPS) {
10         fprintf(stderr, "%s: too many gaps in alignment\n", prog);
        cleanup(1);
    }
    if (j >= 0) {
        siz = dx[dmax].jp.n[j];
        xx = dx[dmax].jp.x[j];
        dmax += siz;
        if (siz < 0) { /* gap in second seq */
15             pp[1].n[i1] = -siz;
            xx += siz;
            /* id = xx - yy + len1 - 1
             */
            pp[1].x[i1] = xx - dmax + len1 - 1;
            gapy++;
            ngapy -= siz;
20         /* ignore MAXGAP when doing endgaps */
            siz = (-siz < MAXGAP || endgaps)? -siz : MAXGAP;
            i1++;
        }
        else if (siz > 0) { /* gap in first seq */
            pp[0].n[i0] = siz;
            pp[0].x[i0] = xx;
            gapx++;
            ngapx += siz;
25         /* ignore MAXGAP when doing endgaps */
            siz = (siz < MAXGAP || endgaps)? siz : MAXGAP;
            i0++;
        }
    }
    else
30         break;
}

/* reverse the order of jumps
*/
for (j = 0, i0--; j < i0; j++, i0--) {
35     i = pp[0].n[j]; pp[0].n[j] = pp[0].n[i0]; pp[0].n[i0] = i;
    i = pp[0].x[j]; pp[0].x[j] = pp[0].x[i0]; pp[0].x[i0] = i;
}
for (j = 0, i1--; j < i1; j++, i1--) {
    i = pp[1].n[j]; pp[1].n[j] = pp[1].n[i1]; pp[1].n[i1] = i;
    i = pp[1].x[j]; pp[1].x[j] = pp[1].x[i1]; pp[1].x[i1] = i;
}
40 if (fd >= 0)
    (void) close(fd);
if (fj) {
    (void) unlink(jname);
    fj = 0;
    offset = 0;
}
}
nwsubr.c
45

```

```

/*
 * write a filled jmp struct offset of the prev one (if any): nw( )
 */
writejumps(ix)                                writejumps
5   {
      int    ix;
      char   *mktemp( );

      if (!fj) {
          if (mktemp(jname) < 0) {
              fprintf(stderr, "%s: can't mktemp( ) %s\n", prog, jname);
              cleanup(1);
          }
10      if ((fj = fopen(jname, "w")) == 0) {
              fprintf(stderr, "%s: can't write %s\n", prog, jname);
              exit(1);
          }
      }
      (void) fwrite((char *)&dx[ix].jp, sizeof(struct jmp), 1, fj);
      (void) fwrite((char *)&dx[ix].offset, sizeof(dx[ix].offset), 1, fj);
15  }

```

20

25

30

35

40 Page 4 of nwsubr.c

45

Эталон	XXXXXXXXXXXXXXXXXX	(длина= 15 аминокислот)
Белок для сравнения	XXXXXXXXYYYYYYY	(длина= 12 аминокислот)

% идентичность аминокислотных последовательностей =
(число идентично совпавших аминокислотных остатков между двумя полипептидными последовательностями, при определении посредством ALIGN-2), деленное на (общее количество аминокислотных остатков эталонного полипептида)
= 5, деленное на 15 = 33,3%

50

Таблица 2

Эталон	XXXXXXXXXX	(длина= 10 аминокислот)
--------	------------	-------------------------

Таблица 3

Белок для сравнения XXXXXYYYYYYZZYZ (длина= 15 аминокислот)

% идентичность аминокислотных последовательностей =
 (число идентично совпавших аминокислотных остатков между двумя полипептидными последовательностями, при определении посредством ALIGN-2), деленное на (общее количество аминокислотных остатков эталонного полипептида)
 = 5, деленное на 10 = 50%

5

Таблица 4

Эталонная ДНК NNNNNNNNNNNNNN (длина= 14 нуклеотидов)

ДНК для сравнения NNNNNLLLLLLLLL (длина= 16 нуклеотидов)

% идентичность аминокислотных последовательностей =
 (число идентично совпавших нуклеотидов между двумя последовательностями нуклеиновых кислот, при определении посредством ALIGN-2), деленное на (общее количество нуклеотидов последовательности нуклеиновой кислоты эталонной ДНК)
 = 6, деленное на 14 = 42,9%

10

Таблица 5

Эталонная ДНК NNNNNNNNNNNN (длина= 12 нуклеотидов)

ДНК для сравнения NNNLLLVV (длина= 9 нуклеотидов)

% идентичность аминокислотных последовательностей =
 (число идентично совпавших нуклеотидов между двумя последовательностями нуклеиновых кислот, при определении посредством ALIGN-2), деленное на (общее количество нуклеотидов последовательности нуклеиновой кислоты эталонной ДНК)
 = 4, деленное на 12 = 33,3%

20

Диагностические способы по изобретению

Кроме того, предусматривается, что применение лекарственных средств от IBD может быть специфически нацелено на расстройства, где пораженная ткань и/или клетки проявляют повышенную экспрессию LY6 по сравнению с контролем. Таким образом, предусматривается, что выявление повышенной экспрессии LY6 можно использовать для детекции IBD, такой как CD или UC, в желудочно-кишечной ткани млекопитающего и/или для идентификации тканей и расстройств, для которых будет особенно полезным лечение лекарственным средством от IBD, включая химиотерапевтическое средство, пригодное для смягчения IBD, UC и/или CD у пациента-человека.

25

30

В предпочтительных вариантах осуществления уровни экспрессии LY6 выявляют либо посредством прямого выявления транскрипта гена, либо посредством выявления уровней или активности белка. Транскрипты можно выявлять с использованием любого из широкого диапазона способов, которые, главным образом, основаны на гибридизации или зондах для транскриптов мРНК LY6, для кДНК, синтезированных с них, или для ДНК, где присутствует амплификация гена LY6. Хорошо известные способы включают нозерн-блоттинг, PCR с обратной транскриптазой и анализ уровней транскрипта на микрочипах. Способы детекции уровней белка LY6 включают вестерн-блоттинг, иммунопреципитацию, двумерный полиакриламидный гель-электрофорез (2D SDS-PAGE - предпочтительно по сравнению со стандартом, где положение белков LY6 определено) и масс-спектроскопию. Масс-спектроскопия может быть сопряжена с серией стадий очистки для обеспечения высокопроизводительной идентификации уровней множества различных белков в конкретном образце. Масс-спектроскопию и 2D SDS-PAGE также можно использовать для идентификации посттранскрипционных модификаций белков, включая протеолитические процессы, убиквитинилирование, фосфорилирование, модификацию липидами и т.д. Активность LY6 также можно оценивать посредством анализа связывания с ДНК-субстратом или транскрипционной активации промоторов-мишеней *in vitro*. Способами, которые можно использовать для оценки наличия белка, способного связываться с участками

35

40

45

50

связывания Gli на ДНК, являются анализ задержки в геле, анализы ДНК-дактилоскопии и анализы перекрестного связывания ДНК-белок. См. J Mol. Med 77(6):459-68 (1999); Cell 100(4): 423-34 (2000); Development 127(19): 4923-4301 (2000).

В определенных вариантах осуществления измеряют уровни транскрипта LY6, и подвергшиеся заболеванию или расстройству ткани, демонстрирующие значительно повышенные уровни LY6 по сравнению с контролем, обрабатывают терапевтическим соединением против IBD. Таким образом, уровни экспрессии LY6 являются мощным диагностическим показателем для определения того, страдает ли пациент IBD и должен ли пациент получать лекарственное средство от IBD.

Композиции антител для применения в способах по изобретению

А. Антитела против LY6

В одном варианте осуществления настоящее изобретение относится к применению антител против LY6, которые при этом можно применять в качестве терапевтических, диагностических и/или прогностических средств при определении наличия, тяжести и/или прогноза течения воспалительного заболевания кишечника, такого как UC. Иллюстративные антитела, которые можно использовать для таких целей, включают поликлональные, моноклональные, гуманизированные, биспецифичные антитела и гетероконъюгаты антител. Термин "антитела" также иногда включает антигенсвязывающие фрагменты. Антитела против LY6 являются коммерчески доступными, например, такие как от R&D Systems, Minneapolis, MN. Для применения в способе по изобретению антитела, которые специфично связываются с LY6 в качестве антигена, можно приобретать коммерчески или получать стандартными способами химии антител и белков, известными в данной области. Антитела к LY6D1 описаны, например, в US 7144990, описание этого патента включено в настоящий документ в качестве ссылки в полном объеме.

1. Поликлональные антитела

Поликлональные антитела предпочтительно индуцируют у животных многократными подкожными (sc) или внутрибрюшинными (ip) инъекциями соответствующего антигена и адьюванта. Может быть пригодной конъюгация соответствующего антигена (особенно когда используют синтетические пептиды) с белком, который является иммуногенным у видов, подлежащих иммунизации. Например, антиген можно конъюгировать с гемоцианином лимфы улитки (KLH), сывороточным альбумином, бычьим тиреоглобулином или ингибитором трипсина сои, с использованием бифункционального или образующего производное средства, например сложного эфира малеимидобензоилсульфосукцинимиды (конъюгация через остатки цистеина), N-гидроксисукцинимиды (через остатки лизина), глутаральдегида, янтарного ангидрида, SOCl₂ или R¹N=C=NR, где R и R¹ являются отличающимися алкильными группами.

Животных иммунизируют против антигена, иммуногенных конъюгатов или производных комбинированием, например, 100 мкг или 5 мкг белка или конъюгата (для кроликов или мышей соответственно) с 3 объемами полного адьюванта Фрейнда и инъекцией раствора внутривенно в несколько областей. Через один месяц животным проводят повторную иммунизацию от 1/5 до 1/10 от исходного количества пептида или конъюгата в полном адьюванте Фрейнда посредством подкожной инъекции в несколько областей. Через от семи до 14 суток у животных отбирают кровь и сыворотку анализируют в отношении титра антител. Животным проводят повторные иммунизации до достижения титрами плато. Конъюгаты также можно получать в рекомбинантной клеточной культуре в качестве белковых слитых

молекул. Также для усиления иммунного ответа пригодным образом используют вызывающие агрегацию средства, такие как квасцы.

2. Моноклональные антитела

Моноклональные антитела можно получать с использованием способа гибридом, впервые описанного Kohler et al, Nature, 256:495 (1975), или их можно получать способами рекомбинантных ДНК (патент США No. 4816567).

В способе гибридом мышь или другого пригодного животного-хозяина, такого как хомяк, иммунизируют, как описано выше, для получения лимфоцитов, которые продуцируют или способны продуцировать антитела, которые специфично связываются с белком, используемым для иммунизации. Альтернативно лимфоциты можно иммунизировать *in vitro*. После иммунизации лимфоциты выделяют, а затем подвергают слиянию с миеломной клеточной линией с использованием пригодного средства, вызывающего слияние клеток, такого как полиэтиленгликоль, с получением гибридомных клеток (Goding, Monoclonal Antibodies: Principles and Practice, pp.59-103 (Academic Press, 1986)).

Полученные таким образом гибридомные клетки высевают и выращивают в пригодной культуральной среде, которая предпочтительно содержит одно или несколько веществ, которые ингибируют рост или выживание неслитых исходных клеток миеломы (также называемых партнерами по слиянию). Например, если исходные клетки миеломы лишены фермента гипоксантин-гуанин-фосфорибозил-трансферазы (HGPRT или HPRT), селективная культуральная среда для гибридом, как правило, включает вещества гипоксантин, аминоптерин и тимидин (среда HAT), которые препятствуют росту клеток, дефицитных по HGPRT.

Предпочтительные миеломные клетки-партнеры представляют собой клетки, которые эффективно подвергаются слиянию, которые поддерживают стабильно высокий уровень продукции антител отобранными антителпродуцирующими клетками и являются чувствительными к селективной среде, которая осуществляет селекцию против неслитых исходных клеток. Предпочтительными миеломными клеточными линиями являются линии миеломы мышей, такие как линии, полученные из опухолей мышей MOPC-21 и MPC-11, доступные в Salk Institute Cell Distribution Center, San Diego, California USA, и клетки SP-2 или X63-Ag8-653, доступные в American Type Culture Collection, Manassas, Virginia USA. Также для продукции моноклональных антител человека описаны миеломные клеточные линии и линии гетеромиеломы мышцы-человека (Kozbor, J. Immunol, 133:3001 (1984); и Brodeur et al., Monoclonal Antibody Production Techniques and Applications, pp. 51-63 (Marcel Dekker, Inc., New York, 1987)).

Культуральную среду, в которой выращивают гибридомные клетки, оценивают на продукцию моноклональных антител, направленных против антигена.

Предпочтительно специфичность связывания моноклональных антител, продуцируемых гибридомными клетками, определяют посредством иммунопреципитации или анализа связывания *in vitro*, такого как радиоиммунный анализ (RIA) или твердофазный иммуноферментный анализ (ELISA).

Аффинность связывания моноклонального антитела можно определять, например, посредством анализа Скэтчарда, описанного в Munson et al, Anal. Biochem., 107:220 (1980).

После идентификации гибридомных клеток, которые продуцируют антитела с требуемой специфичностью, аффинностью и/или активностью, клоны можно субклонировать способами лимитирующих разведений и выращивать стандартными

способами (Goding, Monoclonal antibodies: Principles and Practice, pp.59-103 (Academic Press, 1986)). Пригодные для этой цели культуральные среды включают, например, среду D-MEM или RPMI-1640. Кроме того, гибридные клетки можно выращивать *in vivo* у животных в качестве асцитных опухолей, например, посредством инъекции клеток мышам.

Моноклональные антитела, секретируемые субклонами, пригодным способом выделяют из культуральной среды, асцитной жидкости или сыворотки общепринятыми способами очистки антител, например, такими как аффинная хроматография (например, хроматография с использованием системы белок А или белок G-сефароза) или ионообменная хроматография, хроматография с гидроксиллапатитом, гель-электрофорез, диализ и т.д.

ДНК, кодирующую моноклональные антитела, легко выделяют и секвенируют использованием общепринятых способов (например, с использованием олигонуклеотидных зондов, которые способны специфично связываться с генами, кодирующими тяжелые и легкие цепи антител мыши). Гибридные клетки служат в качестве предпочтительного источника такой ДНК. Для обеспечения синтеза моноклональных антител в рекомбинантных клетках-хозяевах, после выделения ДНК можно встраивать в экспрессирующие векторы, которые затем трансфицируют в клетки-хозяева, такие как клетки *E. coli*, клетки COS обезьяны, клетки яичника китайского хомячка (СНО) или клетки миеломы, которые в ином случае не продуцируют белок антитела. Обзорные статьи по рекомбинантной экспрессии в бактериях ДНК, кодирующей антитело, включают Skerra et al, Curr. Opinion in Immunol, 5:256-262 (1993), и Pluckthun, Immunol. Revs., 130:151-188 (1992).

В следующем варианте осуществления моноклональные антитела или фрагменты антител можно выделять из фаговых библиотек антител, созданных с использованием способов, описанных в McCafferty et al., Nature, 348:552-554 (1990). В Clackson et al, Nature, 352:624-628 (1991), и Marks et al, J. Mol Biol, 222:581-597 (1991), описано выделение антител мыши и человека соответственно с использованием фаговых библиотек. В более поздних публикациях описана продукция высокоаффинных (нМ-порядок) антител человека посредством перестановки цепей (Marks et al, Bio/Technology, 10:779-783 (1992)), а также комбинаторной инфекции и рекомбинации *in vivo* в качестве стратегии для конструирования очень крупных фаговых библиотек (Waterhouse et al, Nuc. Acids. Res., 21:2265-2266 (1993)). Таким образом, эти способы представляют собой приемлемые альтернативы традиционным способам гибридных моноклональных антител для выделения моноклональных антител.

Также ДНК, которая кодирует антитело, можно модифицировать для получения химерных или слитых полипептидов антител, например, посредством замены последовательностями константного домена тяжелой и легкой цепи (C_H и C_L) человека гомологичными последовательностями мыши (патент США No. 4816567; и Morrison, et al, Proc. Natl Acad. Sci USA, 81:6851 (1984)) или слияния кодирующей иммуноглобулин последовательности со всей кодирующей последовательностью для полипептида, не являющегося иммуноглобулином (гетерологичным полипептидом), или ее частью. Последовательностями полипептидов, не являющихся иммуноглобулинами, заменяют константные домены антитела или ими заменяют переменные домены одного антигенсвязывающего центра антитела с получением химерного двухвалентного антитела, содержащего один антигенсвязывающий центр со специфичностью к одному антигену и другой антигенсвязывающий центр со

специфичностью к другому антигену.

3. Антитела человека и гуманизированные антитела

Антитела против LY6, пригодные для применения изобретения на практике, кроме того, могут включать гуманизированные антитела или антитела человека.

"Гуманизированные" формы антител не человека (например, грызуна) представляют собой химерные иммуноглобулины, цепи иммуноглобулинов или их фрагменты (такие как Fv, Fab, Fab', F(ab')₂ или другие антигенсвязывающие подпоследовательности антител), которые содержат минимальную последовательность, образованную из иммуноглобулина не человека.

Гуманизированные антитела представляют собой иммуноглобулины человека (реципиентное антитело), в которых остатки из определяющей комплементарности области (CDR) реципиента заменены остатками CDR не относящегося к человеку вида (донорное антитело), такого как мышь, крыса или кролик, имеющими требуемую специфичность, аффинность и емкость. В некоторых случаях остатки каркасной области Fv иммуноглобулина человека заменяют соответствующими остатками не человека. Гуманизированные антитела также могут содержать остатки, которые не встречаются ни в реципиентном антителе, ни в импортных последовательностях CDR или каркасной области. Как правило, гуманизированное антитело будет содержать по существу все по меньшей мере из одного и, как правило, двух переменных доменов, в которых все или по существу все из областей CDR соответствуют CDR иммуноглобулина не человека, и все или по существу все из областей FR представляют собой области FR консенсусной последовательности иммуноглобулина человека. Гуманизированное антитело также в оптимальном случае будет содержать по меньшей мере часть константного участка (Fc) иммуноглобулина, как правило, константного участка иммуноглобулина человека. Для более подробного описания см. Jones et al., Nature 321:522-525 (1986); Riechmann et al, Nature 332:323-329 (1988); и Presta, Curr. Op. Struct. Biol. 2:593-596 (1992).

Способы гуманизации антител, не являющихся человеческими, описаны в данной области. Как правило, гуманизированное антитело обладает одним или несколькими встроенными в него аминокислотными остатками из источника, который не является человеческим. Такие не являющиеся человеческими аминокислотные остатки часто называют "импортными" остатками, которые, как правило, взяты из "импортной" переменной области. Гуманизацию, главным образом, можно проводить в соответствии со способом Winter и коллег (Jones et al., Nature, 321:522-525 (1986); Riechmann et al., Nature, 332:323-327 (1988); Verhoeyen et al., Science, 239:1534-1536 (1988)), посредством замены CDR или последовательностями CDR крысы соответствующих последовательностей антитела человека. Таким образом, такие "гуманизированные" антитела представляют собой химерные антитела (патент США No. 4816567), где по существу менее целой переменной области человека замещено соответствующей последовательностью вида, не относящегося к человеку. На практике гуманизированные антитела, как правило, представляют собой антитела человека, в которых некоторые остатки CDR и, возможно, некоторые остатки FR заменены остатками из аналогичных участков антител грызунов.

Выбор переменных доменов человека, как легких, так и тяжелых цепей, для использования при получении гуманизированных антител является очень важным для снижения антигенности и ответа НАМА (антитела человека против антител мыши), когда антитело предназначено для терапевтического применения у человека.

В соответствии с так называемым способом "наилучшего соответствия" последовательность вариабельного домена антитела грызуна анализируют относительно целой библиотеки известных последовательностей вариабельных доменов человека. Идентифицируют последовательность V-домена человека, которая является наиболее сходной с последовательностью грызуна, и каркасную область (FR) человека в ней принимают для гуманизованного антитела (Sims et al., J. Immunol, 151:2296 (1993); Chothia et al, J. Mol. Biol, 196:901 (1987)). В другом способе используют конкретную каркасную область, полученную из консенсусной последовательности всех антител человека из конкретной подгруппы легких или тяжелых цепей. Один и тот же каркас можно использовать для нескольких различных гуманизованных антител (Carter et al, Proc. Natl. Acad. Sci USA, 89:4285 (1992); Presta et al, J. Immunol, 151:2623 (1993)).

Кроме того, важно, чтобы антитела были гуманизованы с сохранением высокой аффинности связывания к антигену и других положительных биологических свойств. Для достижения этой цели в соответствии с предпочтительным способом гуманизованные антитела получают с помощью процесса анализа исходных последовательностей и различных предполагаемых гуманизованных продуктов с использованием трехмерных моделей исходных и гуманизованных последовательностей. Трехмерные модели иммуноглобулинов являются широко доступными и известны специалистам в данной области. Доступными являются компьютерные программы, которые иллюстрируют и выводят на экран возможные трехмерные конформационные структуры выбранных последовательностей иммуноглобулинов-кандидатов. Исследование этих выведенных на экран данных позволяет проводить анализ возможной роли остатков в функционировании предполагаемых последовательностей иммуноглобулинов, т.е. анализ остатков, которые влияют на способность иммуноглобулина-кандидата связывать свой антиген. Таким образом, можно отобрать остатки FR и комбинировать их из реципиентной и импортной последовательностей таким образом, чтобы были достигнуты требуемые свойства антител, такие как повышенная аффинность к антигену(ам)-мишени. Как правило, непосредственное и наиболее значительное влияние на связывание антигена оказывают остатки гипервариабельной области.

Предусмотрены различные формы гуманизованных антител против LY6. Например, гуманизованное антитело может представлять собой фрагмент антитела, такой как Fab, который необязательно конъюгирован с одним или несколькими цитотоксическим средством(ами) для получения иммуноконъюгата. Альтернативно гуманизованное антитело может представлять собой интактное антитело, такое как интактное антитело IgG1.

В качестве альтернативы гуманизации, можно получать антитела человека. Например, в настоящее время возможным является получение трансгенных животных (например, мышей), которые способны, при иммунизации, продуцировать полный набор антител человека в отсутствие продукции эндогенных иммуноглобулинов. Например, было описано, что гомозиготная делеция гена участка соединения тяжелых цепей антител (J_H) у химерных мышей и мутантных мышей зародышевой линии приводит к полному ингибированию продукции эндогенных антител. Перенос системы генов иммуноглобулинов зародышевой линии человека в таких мутантных мишенях зародышевой линии приводит к продукции антител человека при антигенной стимуляции. См., например, Jakobovits et al, Proc. Natl. Acad. Sci USA, 90:2551 (1993); Jakobovits et al, Nature, 362:255-258 (1993);

Bruggemann et al, Year in Immuno., 7:33 (1993); и патенты США No. 5545806, 5569825, 5591669 (все GenPharm), 5545807; и WO 97/17852.

Альтернативно для получения антител человека и фрагментов антител *in vitro* можно использовать технологию фагового дисплея (McCafferty et al, Nature 348:552-553 (1990)), из наборов генов переменных (V) доменов иммуноглобулинов неиммунизированных доноров. В соответствии с этим способом гены V домена антител клонируют в рамке считывания либо главного, либо второстепенного гена оболочки нитевидного бактериофага, такого как M13 или fd, и они экспонируются в качестве функциональных фрагментов антител на поверхности частицы фага. Вследствие того, что нитевидная частица содержит одноцепочечную копию ДНК генома фага, селекция на основе функциональных свойств антитела также приведет к селекции гена, кодирующего антитело, проявляющее такие свойства. Таким образом, фаг имитирует некоторые из свойств В-клетки. Фаговый дисплей можно проводить в различных формах, рассмотренных, например, в Johnson, Kevin S. and Chiswell, David J., Current Opinion in Structural Biology 3:564-571 (1993). Для фагового дисплея можно использовать несколько источников сегментов V-генов. Clackson et al., Nature, 352: 624-628 (1991), выделили набор разнообразных антител против оксазолонна из небольшой случайной комбинаторной библиотеки V-генов, полученной из селезенок иммунизированных мышей. Можно сконструировать набор V-генов из неиммунизированных доноров-людей и можно выделять антитела против широкого набора антигенов (в том числе против собственных антигенов), главным образом, в соответствии со способами, описанными Marks et al., J. Mol Biol. 222:581-597 (1991), или Griffith et al, EMBO J. 12:725-734 (1993). См. также патенты США No. 5565332 и 5573905.

Как рассмотрено выше, антитела человека также можно получать посредством активированных В-клеток *in vitro* (см. патенты США 5567610 и 5229275).

4. Фрагменты антител

В некоторых случаях преимущественным является использование фрагментов антител, вместо целых антител. Меньший размер фрагментов позволяет быстрое выведение при сохранении специфичности связывания антигена, сходной с соответствующей полноразмерной молекулой, и может обеспечить улучшенный доступ к солидным опухолям.

Для получения фрагментов антител были разработаны различные способы. Традиционно эти фрагменты получали посредством протеолитического расщепления полноразмерных антител (см., например, Morimoto et al., Journal of Biochemical and Biophysical Methods 24:107-117 (1992); и Brennan et al, Science, 229:81 (1985)). Однако эти фрагменты в настоящее время можно получать непосредственно с помощью рекомбинантных клеток-хозяев. Fab-, Fv- и scFv-фрагменты антител могут быть экспрессированы и секретированы в *E. coli*, таким образом, позволяя простой способ получения больших количеств этих фрагментов. Фрагменты антител можно выделять из фаговых библиотек антител, описанных выше. Альтернативно фрагменты Fab'-SH можно выделять непосредственно из *E. coli* и химически связывать с получением фрагментов F(ab')₂ (Carter et al, Bio/Technology 10:163-167 (1992)). В соответствии с другим подходом фрагменты F(ab')₂ можно выделять непосредственно из рекомбинантной культуры клеток-хозяев. Fab- и F(ab')₂-фрагмент с повышенным временем полужизни *in vivo*, содержащий остатки связывающего рецептор спасения эпитопа, описан в патенте США No. 5869046. Другие способы получения фрагментов антител будут очевидны квалифицированному специалисту. В

других вариантах осуществления предпочтительное для выбора антитело представляет собой одноцепочечный Fv-фрагмент (scFv). См. WO 93/16185; патент США No. 5571894; и патент США No. 5587458. Fv и sFv являются единственными типами с интактными антигенсвязывающими участками, которые лишены константных участков; таким образом, они пригодны для снижения неспецифического связывания в ходе применения *in vivo*. Можно конструировать слитые с sFv белки с получением эффекторного белка либо на amino-, либо на C-конце sFv. См. Antibody Engineering, ed. Borrebaeck, выше. Фрагмент антитела также может представлять собой "линейное антитело", например, как описано в патенте США 5641870. Такие линейные фрагменты антител могут быть моноспецифичными или биспецифичными.

5. Биспецифичные антитела

Биспецифичные антитела представляют собой антитела, которые обладают специфичностью связывания по меньшей мере двух различных эпитопов.

Иллюстративные биспецифичные антитела могут связывать различные антигены или могут связываться с двумя различными эпитопами конкретного полипептида LY6, описанного в настоящем документе. Другие такие антитела могут сочетать в себе указанный выше участок связывания LY6 и участок(ки) связывания других белков. В случае когда биспецифичное антитело пригодно в диагностическом способе по изобретению, второе плечо антитела может связывать детектируемый полипептид. Биспецифичные антитела можно получать в качестве полноразмерных антител или фрагментов антител (например, F(ab')₂-биспецифичные антитела).

Способы получения биспецифичных антител известны в данной области.

Общепринятый способ получения полноразмерных биспецифичных антител основан на совместной экспрессии двух пар тяжелая цепь-легкая цепь иммуноглобулинов, где две цепи обладают различной специфичностью (Millstein et al, Nature, 305:537-539 (1983)). Вследствие случайной сборки тяжелых и легких цепей иммуноглобулинов такие гибридомы (квадромы) потенциально продуцируют смесь из 10 различных молекул антител, из которых только одна обладает правильной биспецифичной структурой. Очистка правильных молекул, которую обычно проводят посредством стадий аффинной хроматографии, является довольно трудоемкой и выход продукта является низким. Аналогичные способы описаны в WO 93/08829 и в Traunecker et al, EMBO J., 10:3655-3659 (1991).

В соответствии с другим подходом проводят слияние переменных доменов антитела с требуемой специфичностью связывания (участками связывания антитело-антиген) с последовательностями константных доменов иммуноглобулинов.

Предпочтительно проводят слияние с константным доменом тяжелой цепи Ig, содержащим по меньшей мере часть шарнирной области, C_H2 и C_H3.

Предпочтительно, чтобы по меньшей мере один из компонентов, предназначенных для слияния, обладал первым константным доменом тяжелой цепи (C_H1), содержащим участок, необходимый для связывания легкой цепи. ДНК, кодирующую предназначенные для слияния компоненты тяжелых цепей иммуноглобулинов и, если желательно, легкой цепи иммуноглобулина, встраивают в отдельные экспрессирующие векторы и котрансфицируют в пригодный организм-хозяин. Это обеспечивает значительную гибкость при регулировании соотношений трех полипептидных фрагментов друг с другом в вариантах осуществления, где неравные соотношения трех полипептидных цепей в конструкции обеспечивают оптимальный выход требуемого биспецифичного антитела. Однако возможным является

встраивание двух или всех трех полипептидных цепей в один экспрессирующий вектор, если экспрессия по меньшей мере двух полипептидных цепей в равных соотношениях приводит к высокому выходу продукта или если соотношения не имеют существенного влияния на требуемое сочетание цепей.

5 В предпочтительном варианте осуществления этого подхода биспецифичные антитела состоят из тяжелой цепи гибридного иммуноглобулина с одной специфичностью связывания на одном плече и пары тяжелая цепь-легкая цепь гибридного иммуноглобулина (обладающей другой специфичностью связывания) на
10 другом плече. Было обнаружено, что такая ассиметричная структура облегчает разделение требуемого биспецифичного соединения и нежелательных сочетаний цепей иммуноглобулинов, поскольку наличие легкой цепи иммуноглобулина только в одной половине биспецифичной молекулы обеспечивает легкий способ разделения. Этот подход описан в WO 94/04690. Для более подробного описания получения
15 биспецифичных антител см., например, Suresh et al., *Methods in Enzymology*, 121:210 (1986).

В соответствии с другим подходом, описанным в патенте США No. 5731168, для максимального увеличения процентного количества гетеродимеров, которые
20 выделяют из рекомбинантных клеточных культур, можно сконструировать область контакта между парой молекул антител. Предпочтительная область контакта содержит по меньшей мере часть C_H3-домена константного домена антитела. В этом способе одну или несколько небольших боковых цепей аминокислот из области
25 контакта первой молекулы антитела заменяют на более крупные боковые цепи (например, тирозин или триптофан). В области контакта второй молекулы антитела создают компенсирующие "полости" идентичного или сходного с крупной боковой цепью(ями) размера посредством замены крупных боковых цепей аминокислот на цепи меньших размеров (например, аланин или треонин). Это обеспечивает механизм
30 для повышения выхода гетеродимера по сравнению с другими нежелательными конечными продуктами, такими как гомодимеры.

Биспецифичные антитела включают поперечно-сшитые антитела или "гетероконъюгаты" антител. Например, одно из антител в гетероконъюгате может
35 быть связано с авидином, а другое с биотином. Такие антитела, например, были предложены для нацеливания клеток иммунной системы против нежелательных клеток (патент США No. 4676980) и для лечения ВИЧ-инфекции (WO 91/00360, WO 92/200373 и EP 03089). Гетероконъюгаты антител также можно применять в способе по настоящему изобретению посредством предоставления множества (либо
40 различных, либо одинаковых) детектируемых маркеров на каждом антителе для усиления детекции в анализе. Гетероконъюгаты антител можно получать с использованием любого пригодного способа поперечного сшивания. Пригодные средства для поперечного сшивания хорошо известны в данной области и описаны в патенте США No. 4676980, совместно с рядом способов поперечного сшивания.

45 Способы получения биспецифичных антител из фрагментов антител также описаны в литературе. Например, биспецифичные антитела можно получать с использованием образования химических связей. В Brennan et al., *Science*, 229: 81 (1985), описан способ, где полноразмерные антитела протеолитически расщепляют с
50 получением F(ab')₂-фрагментов. Эти фрагменты восстанавливают в присутствии вещества, образующего комплексы с дитиолами, арсенита натрия, для стабилизации соседних дитиолов и предотвращения образования межмолекулярного дисульфида. Затем полученные Fab'-фрагменты превращают в производные с

тионитробензоатом (TNB). Одно из производных Fab'-TNB затем повторно превращают в Fab'-тиол восстановлением меркаптоэтиламинам и смешивают с эквимольным количеством другого производного Fab'-TNB с получением биспецифичного антитела. Полученные биспецифичные антитела можно использовать в качестве средств для селективной иммобилизации ферментов.

Последние достижения упростили прямое выделение из *E. coli* фрагментов Fab'-SH, которые можно химически связывать с получением биспецифичных антител. В Shalaby et al, J. Exp. Med., 175: 217-225 (1992), описано получение полностью гуманизированной молекулы F(ab')₂ биспецифичного антитела. Осуществляли секрецию из *E. coli* каждого Fab'-фрагмента по отдельности и их подвергали прямому химическому соединению *in vitro* с образованием биспецифичного антитела. Биспецифичное антитело, полученное таким образом, обладало способностью связываться с клетками, сверхэкспрессирующими рецептор ErbB2, и нормальными T-клетками человека, а также запускать литическую активность цитотоксических лимфоцитов человека против мишеней, представляющих собой рак молочной железы человека.

Также были описаны различные способы получения и выделения фрагментов биспецифичных антител непосредственно из рекомбинантной клеточной культуры. Например, были получены биспецифичные антитела с использованием лейциновых молний. См. Kositelny et al., J. Immunol., 148(5):1547-1553 (1992). Пептиды лейциновой молнии белков Fos и Jun связывали с Fab'-участками двух различных антител посредством слияния генов. Гомодимеры антител восстанавливали в шарнирной области с получением мономеров, а затем повторно окисляли с получением гетеродимеров антител. Этот способ также можно использовать для получения гомодимеров антител. Способ получения "димеров антител", описанный Hollinger et al., Proc. Natl. Acad. Sci USA, 90:6444-6448 (1993), обеспечивает альтернативный механизм получения биспецифичных фрагментов антител. Фрагменты содержат V_H, связанный с V_L посредством линкера, который является слишком коротким для возможности образования пары между двумя доменами на одной и той же цепи. Таким образом, домены V_H и V_L одного фрагмента вынуждены образовывать пару с комплементарными доменами V_L и V_H другого фрагмента, таким образом, формируя два антигенсвязывающих центра. Также описана другая стратегия для получения фрагментов биспецифичных антител с использованием димеров одноцепочечных Fv (sFv). См. Gruber et al, J. Immunol, 152:5368 (1994).

Также предусмотрены антитела более чем с двумя валентностями. Например, можно получать триспецифичные антитела. См. Tutt et al. J. Immunol. 147: 60 (1991).

6. Поливалентные антитела

Поливалентное антитело может интернализываться (и/или катаболизироваться) быстрее, чем двухвалентное антитело, клеткой, экспрессирующей антиген, с которым антитела связываются. Антитела по настоящему изобретению могут представлять собой поливалентные антитела (которые могут относиться к классу, отличному от класса IgM) с тремя или более антигенсвязывающими участками (например, четырехвалентные антитела), которые можно легко получать посредством рекомбинантной экспрессии нуклеиновой кислоты, кодирующей полипептидные цепи антитела. Поливалентное антитело может содержать домен димеризации и три или более антигенсвязывающих участков. Предпочтительный домен димеризации содержит (или состоит из них) Fc-участок или шарнирную область. В этом случае антитело будет содержать Fc-область и три или более

антигенсвязывающих участка со стороны N-конца Fc-участка. Предпочтительное поливалентное антитело, представленное в настоящем документе, содержит (или состоит из них) от трех до приблизительно восьми, однако предпочтительно четыре, антигенсвязывающих участков. Поливалентное антитело содержит по меньшей мере одну полипептидную цепь (и предпочтительно две полипептидные цепи), где полипептидная цепь(и) содержит два или более переменных доменов. Например, полипептидная цепь(и) может содержать VD1-(X1)_n-VD2-(X2)_n-Fc, где VD1 представляет собой первый переменный домен, VD2 представляет собой второй переменный домен, Fc представляет собой одну полипептидную цепь Fc-участка, X1 и X2 представляют собой аминокислоту или полипептид и n равно 0 или 1. Например, полипептидная цепь(и) может содержать: цепь VH-CH1-подвижный линкер-VH-CH1-Fc-участок; или цепь VH-CH1-VH-CH1-Fc-участок. Поливалентное антитело, представленное в настоящем документе, предпочтительно дополнительно содержит по меньшей мере два (и предпочтительно четыре) полипептида переменного домена легкой цепи. Поливалентное антитело, представленное в настоящем документе, например, может содержать от приблизительно двух до приблизительно восьми полипептидов переменного домена легкой цепи. Полипептиды переменного домена легкой цепи, рассматриваемые в настоящем документе, содержат переменный домен легкой цепи и, необязательно, дополнительно содержат CL-домен.

7. Инженерия эффекторных функций

Может быть желательной модификация антитела по изобретению в отношении эффекторной функции, например, чтобы усилить антигензависимую клеточноопосредуемую цитотоксичность (ADCC) и/или комплементзависимую цитотоксичность (CDC) антитела. Этого можно достигать внесением одной или нескольких аминокислотных замен в Fc-участок антитела. Альтернативно или дополнительно, в Fc-участок можно вносить остаток(и) цистеина, обеспечивая, таким образом, формирование дисульфидной связи между цепями в этом участке. Полученное таким образом гомодимерное антитело может обладать улучшенной способностью к интернализации и/или усиленным комплементзависимым уничтожением клеток и повышенной антителозависимой клеточной цитотоксичностью (ADCC). См. Caron et al, J. Exp Med. 176:1191-1195 (1992), и Shopes, B. J. Immunol. 148:2918-2922 (1992). Гомодимерные антитела с повышенной противоопухолевой активностью также можно получать с использованием гетеробифункциональных поперечных линкеров, как описано в Wolff et al. Cancer Research 53:2560-2565 (1993). Альтернативно можно сконструировать антитело, которое обладает дублированными Fc-участками и, таким образом, может обладать повышенной способностью в отношении лизиса комплементом и ADCC. См. Stevenson et al. Anti-Cancer Drug Design 3:219-230 (1989). Для увеличения времени полужизни антитела в сыворотке можно встраивать в антитело (особенно в фрагмент антитела) связывающий рецептор спасения эпитоп, как описано, например, в патенте США 5739277. Как используют в рамках настоящей заявки, термин "связывающий рецептор спасения эпитоп" относится к эпитопу Fc-участка молекулы IgG (например, IgG₁, IgG₂, IgG₃ или IgG₄), который отвечает за повышение периода полураспада в сыворотке молекулы IgG *in vivo*.

8. Иммуноконъюгаты

Это изобретение также относится к иммуноконъюгатам, содержащим антитело, конъюгированное с цитотоксическим средством, таким как химиотерапевтическое

средство, ингибирующее рост средство, токсин (например, ферментативно активный токсин бактерий, грибов, растений или животных, в том числе его фрагменты и/или варианты), или с радиоактивным изотопом (т.е. радиоконъюгатом) и/или детектируемой меткой.

5 а. Химиотерапевтические средства

Химиотерапевтические средства, пригодные для получения таких иммуноконъюгатов, описаны выше. Ферментативно активные токсины и их фрагменты, которые можно использовать, включают в себя А-цепь дифтерийного токсина, несвязывающие активные фрагменты дифтерийного токсина, А-цепь экзотоксина (из *Pseudomonas aeruginosa*), А-цепь рицина, А-цепь абрина, А-цепь модецина, альфа-сарцин, белки *Aleurites fordii*, белки-диантаны, белки *Phytolaca americana* (РАPI, РАPII и РАР-S), ингибитор *momordica charantia*, курцин, кротин, ингибитор *sapaonaria officinalis*, гелонин, митогеллин, рестриктоцин, феномицин, энномицин и трихотецены. Для получения радиоконъюгированных антител доступны различные радионуклиды. Их примеры включают ^{212}Bi , ^{131}I , ^{131}In , ^{90}Y и ^{186}Re . Конъюгаты антитела и цитотоксического средства можно получать с использованием множества бифункциональных связывающих белки веществ, таких как N-сукцинимидил-3-(2-пиридилдитиол)пропионат (SPDP), иминотиолан (IT), бифункциональные производные имидоэфиров (такие как диметиладипимидат HCL), активные сложные эфиры (такие как дисукцинимидилсуберат), альдегиды (такие как глутаральдегид), бис-азидосоединения (такие как бис(п-азидобензоил)гександиамин), производные бис-диазония (такие как бис-(п-диазонийбензоил)этилендиамин), диизоцианаты (такие как 2,6-диизоцианат толуола) и вторичные активные соединения фтора (такие как 1,5-дифтор-2,4-динитробензол). Например, иммунотоксин на основе рицина можно получать, как описано в Vitetta et al. Science 238: 1098 (1987). Меченная углеродом 14 1-изотиоцианатбензил-3-метилдиэтилентриаминпентауксусная кислота (МХ-ДТРА) представляет собой иллюстративный хелатирующий агент для конъюгации радионуклеотида с антителом. См. WO 94/11026.

Конъюгаты антитела и одного или нескольких низкомолекулярных токсинов, таких как калихеамицин, майтанзиноиды, трихотецен и СС1065, и производные этих токсинов, которые обладают активностью токсинов, также предусмотрены в настоящем документе.

35 В. Связывающие LY6 олигопептиды

Связывающие LY6 олигопептиды по настоящему изобретению представляют собой олигопептиды, которые связываются, предпочтительно специфично, с полипептидом LY6, как описано в настоящем документе. Связывающие LY6 олигопептиды можно химически синтезировать с использованием известных способов синтеза олигопептидов или их можно получать и очищать с использованием рекомбинантной технологии. Связывающие LY6 олигопептиды обычно имеют длину приблизительно 5 аминокислот, альтернативно, они имеют длину по меньшей мере приблизительно 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, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99 или 100 аминокислот или более, где такие олигопептиды способны связываться, предпочтительно специфично, с полипептидом LY6, как описано в настоящем документе. Связывающие LY6 олигопептиды можно идентифицировать без излишнего экспериментирования с

использованием хорошо известных способов. В этом отношении следует отметить, что способы скрининга олигопептидных библиотек на олигопептиды, которые способны специфично связываться с полипептидом-мишенью, хорошо известны в данной области (см., например, патенты США No. 5556762, 5750373, 4708871, 4833092, 5223409, 5403484, 5571689, 5663143; публикации PCT No. WO 84/03506 и WO 84/03564; Geysen et al., Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 81:3998-4002 (1984); Geysen et al., Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 82:178-182 (1985); Geysen et al., in Synthetic Peptides as Antigens, 130-149 (1986); Geysen et al., J. Immunol. Meth., 102:259-274 (1987); Schoofs et al., J. Immunol., 140:611-616 (1988), Cwirla, S. E. et al. (1990) Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 87:6378; Lowman, H.V. et al. (1991) Biochemistry, 30:10832; Clackson, T. et al. (1991) Nature, 352: 624; Marks, J. D. et al. (1991), J. Mol. Biol., 222:581; Kang, A.S. et al. (1991) Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 88:8363, и Smith, G. P. (1991) Current Opin. Biotechnol., 2:668).

В этом отношении бактериофаговый (фаговый) дисплей является одним из хорошо известных способов, который позволяет проводить скрининг больших олигопептидных библиотек с целью идентификации члена(ов) этих библиотек, который способен специфично связываться с полипептидом-мишенью. Фаговый дисплей представляет собой способ, посредством которого варианты полипептидов экспонируют в качестве белков, слитых с белком оболочки, на поверхности частиц бактериофага (Scott, J.K. and Smith, G. P. (1990) Science 249: 386). Применимость фагового дисплея основана на том факте, что большие библиотеки селективно рандомизированных вариантов белков (или случайным образом клонированных кДНК) можно быстро и эффективно сортировать по тем последовательностям, которые связываются с молекулой-мишенью с высокой аффинностью.

Экспонирование пептидных (Cwirla, S. E. et al. (1990) Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 87: 6378) или белковых (Lowman, H.V. et al. (1991) Biochemistry, 30:10832; Clackson, T. et al. (1991) Nature, 352: 624; Marks, J. D. et al. (1991), J. Mol. Biol., 222:581; Kang, A.S. et al. (1991) Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 88:8363) библиотек на фаге использовали для скрининга миллионов полипептидов или олигопептидов на полипептиды и олигопептиды со свойствами специфичного связывания (Smith, G. P. (1991) Current Opin. Biotechnol., 2:668). Сортировка фаговых библиотек случайных мутантов требует стратегии для конструирования и воспроизведения большого количества вариантов, процесса аффинной очистки с использованием рецептора-мишени и способов оценки результатов усиления связывания. Патенты США No. 5223409, 5403484, 5571689 и 5663143.

Несмотря на то что в большинстве способов фагового дисплея использовали нитевидные фаги, также известны системы дисплея лямбдоидных фагов (WO 95/34683; U.S. 5627024), системы дисплея фага T4 (Ren et al., Gene, 215: 439 (1998); Zhu et al., Cancer Research, 58(15): 3209-3214 (1998); Jiang et al., Infection & Immunity, 65(11): 4770-4777 (1997); Ren et al., Gene, 195(2):303-311 (1997); Ren, Белок Sci., 5: 1833 (1996); Efimov et al., Virus Genes, 10: 173 (1995)) и системы дисплея фага T7 (Smith and Scott, Methods in Enzymology, 217: 228-257 (1993); U.S. 5766905).

В настоящее время разработано множество других усовершенствований и вариантов основной концепции фагового дисплея. Эти усовершенствования повышают способность систем дисплея к скринингу пептидных библиотек в отношении связывания с отдельными молекулами-мишенями и к экспонированию функциональных белков с возможностью скрининга этих белков в отношении требуемых свойств. Разработаны комбинаторные реакционные устройства для реакций фагового дисплея (WO 98/14277) и библиотеки фагового дисплея

использовали для анализа и контроля бимолекулярных взаимодействий (WO 98/20169; WO 98/20159) и свойств ограниченных спиральных пептидов (WO 98/20036). В WO 97/35196 описан способ выделения аффинного лиганда, в котором библиотеку фагового дисплея контактируют с одним раствором, в котором лиганд будет связываться с молекулой-мишенью, и вторым раствором, в котором аффинный лиганд не будет связываться с молекулой-мишенью, для селективного выделения связывающихся лигандов. В WO 97/46251 описан способ биопэннинга случайной библиотеки фагового дисплея с очищенным аффинным способом антителом, а затем выделения связывающегося фага, с последующим процессом микропэннинга с использованием лунок микропланшета для выделения связывающегося фага с высокой аффинностью. Также описано применение белка *A Staphylococcus aureus* в качестве аффинной метки (Li et al. (1998) Mol Biotech., 9:187). В WO 97/47314 описано применение библиотек с удалением субстрата для выявления отличия специфичностей ферментов с использованием комбинаторной библиотеки, которая может представлять собой библиотеку фагового дисплея. Способ селекции ферментов, пригодных для применения в детергентах с использованием фагового дисплея, описан в WO 97/09446. Дополнительные способы селекции специфичных связывающихся белков описаны в патентах США No. 5498538, 5432018 и WO 98/15833.

Способы получения пептидных библиотек и скрининга этих библиотек также описаны в патентах США No. 5723286, 5432018, 5580717, 5427908, 5498530, 5770434, 5734018, 5698426, 5763192 и 5723323.

В одном аспекте настоящее изобретение относится к лигандам для полипептида LYPD5. На фигуре 32 это продемонстрировано, где показаны нетрансфицированные клетки COS (A) и клетки COS, трансфицированные GLG-1 и окрашенные с помощью белка LYPD5-Fc. В одном варианте осуществления лиганд для LYPD5 представляет собой полипептид локализованного в комплексе Гольджи гликопротеина 1 (GLG-1) или E-селектина 1 (ESL-1), как показано в SEQ ID NO:18, 20, 22 или 24, кодируемый нуклеиновой кислотой, представленной в качестве SEQ ID NO: 17, 19, 21 или 23 соответственно. В другом варианте осуществления полинуклеотид, кодирующий полипептид GLG-1, содержит по меньшей мере 15, по меньшей мере 25, по меньшей мере 50, по меньшей мере 100, по меньшей мере 250, по меньшей мере 500, по меньшей мере 750, по меньшей мере 1000, по меньшей мере 1250, по меньшей мере 1500, по меньшей мере 1750, по меньшей мере 2000, по меньшей мере 2040, по меньшей мере 2090, по меньшей мере 2150, по меньшей мере 2200, по меньшей мере 2300, по меньшей мере 2400, по меньшей мере 2500, по меньшей мере 2600, по меньшей мере 2700, по меньшей мере 2800, по меньшей мере 2900, по меньшей мере 3000, по меньшей мере 3100, по меньшей мере 3200, по меньшей мере 3300, по меньшей мере 3400, по меньшей мере 3500, по меньшей мере 3600, по меньшей мере 3700 или по меньшей мере 3720 последовательных нуклеотидов SEQ ID NO 17, 19, 21 или 23, или полинуклеотид, кодирующий GLG-1, содержит SEQ ID NO 17, 19, 21 или 23. В одном варианте осуществления полинуклеотид, который связывает полинуклеотид, кодирующий GLG-1 (SEQ ID NO: 17, 19, 21 или 23), или его фрагмент обладает по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 99% или 100% идентичностью последовательности с полипептидом GLG-1 или его фрагментом. В одном варианте осуществления полипептид GLG-1 содержит по меньшей мере 10, по меньшей мере 25, по меньшей мере 50, по меньшей мере 75, по меньшей мере 100, по меньшей мере

мере 125, по меньшей мере 150, по меньшей мере 175, по меньшей мере 200, по
меньшей мере 225, по меньшей мере 250, по меньшей мере 275, по меньшей мере 300,
по меньшей мере 325, по меньшей мере 350, по меньшей мере 400, по меньшей
мере 450, по меньшей мере 500, по меньшей мере 550, по меньшей мере 600, по
5 меньшей мере 650, по меньшей мере 700, по меньшей мере 750, по меньшей мере 800,
по меньшей мере 850, по меньшей мере 900, по меньшей мере 950, по меньшей
мере 1000, по меньшей мере 1050, по меньшей мере 1100, по меньшей мере 1150 или
по меньшей мере 1200 последовательных аминокислот SEQ ID NO:18, 20, 22 или 24,
10 или полипептид GLG-1 содержит SEQ ID NO:18, 20, 22 или 24. GLG-1 или ESL-1
экспрессируются на нейтрофилах, предположительно они вовлечены в
экстравазацию нейтрофилов в ткани, и считают, что они играют важную роль в
воспалении (см. Hidalgo et al. (2007) Immunity, 26(4): 477-489, включенную в
настоящий документ в качестве ссылки в полном объеме). GLG-1 или ESL-1 имеют 14
15 цистеин-богатых доменов GLG1. Внеклеточный домен (ECD) является длинным, и,
как описано ниже, было выявлено, что варианты или фрагменты GLG-1 ECD
обладают способностью связывать LYPD5.

В другом варианте осуществления лиганд LYPD5 представляет собой вариант или
20 фрагмент молекулы GLG-1 или ESL-1, описанной в настоящем документе. Как
представлено на фигурах 33A-B, GLG-1 или ESL-1 можно рассматривать как
фрагменты 1, 2, 3 и 4, и, как описано в примере 11, любой из 4 фрагментов является
достаточным для связывания LYPD5.

В другом варианте осуществления лиганд LYPD5 представляет собой вариант или
25 фрагмент GLG-1 или ESL-1, который представляет собой единичный домен GLG-1.
Как представлено на фигурах 34A-B, GLG-1 состоит из множества доменов GLG-1, и,
как описано в примере 11, единичных доменов GLG-1 достаточно для
связывания LYPD5.

В другом варианте осуществления лиганд LYPD5 представляет собой вариант или
30 фрагмент GLG-1 или ESL-1, который является специфичным для LYPD5. Как
показано на фигурах 35A-B, GLG-1 включает домены 26-114, домен 115 и домен 150,
и, как описано в примере 11, домен 115 связывает LYPD5, однако домены 26-114 не
связывают LYPD5.

35 Настоящее изобретение предусматривает варианты GLG-1, также оно
предусматривает варианты членов семейства LY6.

С. Варианты полипептидов

В дополнение к полипептидам, антителам и связывающим LY6 полипептидам,
40 описанным в настоящем документе, предусматривается, что можно получать
варианты таких молекул для применения с представленным в настоящем документе
изобретением. Такие варианты можно получать посредством внесения
соответствующих нуклеотидных изменений в кодирующую ДНК и/или посредством
синтеза требуемого антитела или полипептида. Специалисты в данной области
45 поймут, что аминокислотные изменения могут изменять посттрансляционные
процессы этих молекул, например они могут изменять количество или положение
участков гликозилирования или изменять характеристики заякоривания на мембране.

Изменения аминокислотной последовательности можно проводить, например, с
50 использованием любого из способов и руководств для консервативных и
неконсервативных мутаций, указанных, например, в патенте США No. 5364934.
Изменение может представлять собой замену, делецию или вставку одного или
нескольких кодонов, кодирующих аминокислотную последовательность, которые

приводят к изменению аминокислотной последовательности по сравнению с нативной последовательностью. Необязательно изменение представляет собой замену по меньшей мере одной аминокислоты другой аминокислотой в одном или нескольких доменах представляющей интерес аминокислотной последовательности.

5 Информацию о том, какой аминокислотный остаток может быть вставлен, замещен или удален без неблагоприятного влияния на требуемую активность, можно найти посредством сравнения последовательности представляющей интерес аминокислотной последовательности с последовательностью гомологичной известной белковой молекулы и минимизации количества замен аминокислотной последовательности в участках высокой гомологии. Аминокислотные замены могут быть результатом замены одной аминокислоты другой аминокислотой, имеющей сходные структурные и/или химические свойства, такой как замена лейцина серином, т.е. они могут представлять собой консервативные аминокислотные замены. Размер вставок, делеций или замен необязательно может находиться в диапазоне приблизительно от 1 до 5 аминокислот. Допустимое изменение можно определять систематическим проведением вставок, делеций или замен аминокислот в последовательности и тестированием полученных вариантов в отношении активности, проявляемой полноразмерной или зрелой нативной последовательностью.

В настоящем документе предусмотрены фрагменты различных полипептидов. Такие фрагменты могут быть укорочены с N-конца или C-конца, или они могут быть лишены внутренних остатков, например, по сравнению с полноразмерным нативным антителом или белком. Такие фрагменты, которые лишены аминокислотных остатков, которые не являются необходимыми для требуемой биологической активности, также пригодны для описанных способов.

Указанные выше полипептидные фрагменты можно получать любым из множества общепринятых способов. Требуемые пептидные фрагменты можно химически синтезировать. Альтернативный подход включает получение антитела или полипептидных фрагментов ферментативным расщеплением, например, посредством обработки белка ферментом, о котором известно, что он расщепляет белки в областях, определяемых конкретными аминокислотными остатками, или посредством расщепления ДНК пригодными ферментами рестрикции и выделения требуемого фрагмента. Другой пригодный способ включает выделение и амплификацию фрагмента ДНК, кодирующего требуемое антитело или полипептидный фрагмент, посредством полимеразной цепной реакции (PCR). В качестве 5' и 3'-праймеров в PCR используют олигонуклеотиды, которые определяют концы фрагмента ДНК. Предпочтительно такие фрагменты имеют по меньшей мере один вид биологической и/или иммунологической активности, совпадающий с видами активности полноразмерной молекулы.

В конкретных вариантах осуществления представляющие интерес консервативные замены представлены в таблице 6 под заголовком "предпочтительные замены". Если такие замены приводят к изменению биологической активности, тогда вносят более существенные изменения, обозначаемые в таблице 6 "иллюстративными заменами", или как описано ниже в отношении классов аминокислот, и проводят скрининг продуктов для идентификации требуемого варианта.

Таблица 6		
Исходный остаток	Иллюстративные замены	Предпочтительные замены
Ala(A)	Val; Leu; Ile	Val

	Arg(R)	Lys; Gln; Asn	Lys
	Asn(N)	Gln; His; Asp; Lys; Arg	Gln
	Asp(D)	Glu; Asn	Glu
5	Cys(C)	Ser, Ala	Ser
	Gln(Q)	Asn; Glu	Asn
	Glu(E)	Asp; Gln	Asp
	Gly(G)	Pro; Ala	Ala
	His(H)	Asn; Gln; Lys; Arg	Arg
	Ile(I)	Leu; Val; Met; Ala; Phe; норлейцин	Leu
10	Leu(L)	норлейцин; Ile; Val; Met; Ala; Phe	Ile
	Lys(K)	Arg; Gln; Asn	Arg
	Met(M)	Leu; Phe; Ile	Leu
	Phe(F)	Trp; Leu; Val; Ile; Ala; Tyr	Leu
15	Pro(P)	Ala	Ala
	Ser(S)	Thr	Thr
	Thr(T)	Val; Ser	Ser
	Trp(W)	Tyr; Phe	Tyr
	Tyr(Y)	Trp; Phe; Thr; Ser	Phe
20	Val(V)	Ile; Leu; Met; Phe; Ala; норлейцин	Leu

Существенные модификации функции или иммунологических свойств антагониста полипептида LY6 проводят, выбирая замены, которые значительно отличаются по их эффекту на поддержание (а) структуры полипептидного остова в области замены, например, такой как конформация в виде слоя или спирали, (b) заряда или гидрофобности молекулы в участке-мишени, или (с) объема боковой цепи. Природные остатки можно разделить на группы на основе общих свойств их боковых цепей:

- (1) гидрофобные: норлейцин, Met, Ala, Val, Leu, Ile;
- (2) нейтральные гидрофильные: Cys, Ser, Thr, Asn, Gln;
- (3) кислые: Asp, Glu;
- (4) основные: His, Lys, Arg;
- (5) остатки, влияют на ориентацию цепи: Gly, Pro; и
- (6) ароматические: Trp, Tyr, Phe.

Неконсервативные замены вызывают замену члена одного из этих классов членом из другого класса. Такие замещенные остатки также можно вносить в участки консервативных замен или более предпочтительно в остальные (неконсервативные) участки.

Изменения можно проводить с использованием способов, известных в данной области, таких как опосредуемый олигонуклеотидом (сайт-направленный) мутагенез, сканирование аланином и мутагенез посредством PCR. Сайт-направленный мутагенез (Carter et al, Nucl. Acids Res., L3:4331 (1986); Zoller et al, Nucl. Acids Res., 10:6487 (1987)), кассетный мутагенез (Wells et al, Gene. 34:315 (1985)), мутагенез с рестрикцией-селекцией (Wells et al, Philos. Trans. R. Soc. London SerA, 317: 415 (1986)) или другие известные способы можно осуществлять на клонированной ДНК с получением молекулы против LY6.

Для идентификации одной или нескольких аминокислот вдоль непрерывной последовательности можно использовать анализ сканирования аминокислотами. К предпочтительным сканирующим аминокислотам относятся относительно небольшие нейтральные аминокислоты. Такие аминокислоты включают аланин,

глицин, серин и цистеин. Аланин, как правило, является предпочтительной сканирующей аминокислотой в этой группе, поскольку она устраняет боковую цепь кроме бета-углерода и с меньшей вероятностью изменит конформацию основной цепи варианта (Cunningham и Wells, Science. 244: 1081-1085 (1989)). Также аланин
5 обычно является предпочтительным, поскольку он представляет собой наиболее распространенную аминокислоту. Кроме того, он часто встречается как в углубленных, так и в экспонированных положениях (Creighton, The Proteins (W.H. Freeman & Co., N.Y.); Chothia, J. Mol. Biol. 150:1 (1976)). Если замена аланином не
10 приводит к достаточным количествам варианта, можно использовать изостерную аминокислоту.

Любой остаток цистеина, не вовлеченный в поддержание надлежащей конформации полипептида LY6, также можно заменять, главным образом, серином, повышая стабильность молекулы к окислению и препятствуя аберрантному
15 поперечному сшиванию. Напротив, для повышения стабильности в такую молекулу можно вносить цистеиновую связь(и) (в частности, где антитело представляет собой фрагмент антитела, такой как Fv-фрагмент).

Особенно предпочтительный тип варианта с заменами включает замену одного или нескольких остатков гипервариабельного участка исходного антитела
20 (например, гуманизированного антитела или антитела человека). Как правило, полученный вариант(ы), выбранный для дальнейшей разработки, будет обладать улучшенными биологическими свойствами относительно исходного антитела, из которого они получены. Удобный способ получения таких вариантов с заменами
25 включает созревание аффинности с использованием фагового дисплея. В кратком изложении несколько областей гипервариабельного участка (например, 6-7 областей) подвергаются мутации с получением всех возможных аминокислотных замен в каждом участке. Полученные таким образом варианты антитела экспонируют в
30 качестве одновалентных антител из частиц нитевидных фагов в качестве молекул, слитых с продуктом гена III M13 и упакованных в каждую частицу. Затем экспонированные на фаге варианты подвергаются скринингу в отношении их биологической активности (например, аффинности связывания), как описано в
35 настоящем документе. В целях идентификации областей гипервариабельного участка-кандидата для модификации, можно проводить сканирующий аланином мутагенез, идентифицируя остатки гипервариабельного участка, участвующие в значительной степени в связывании антигена. Альтернативно или дополнительно, может быть целесообразным анализ кристаллической структуры комплекса антиген-антитело в
40 целях идентификации точек контакта между антителом и белком-мишенью. Такие контактные остатки и соседние остатки являются кандидатами для замены в соответствии со способами, описанными в настоящем документе. После получения таких вариантов панель вариантов подвергают скринингу, как описано в настоящем документе, и антитела с наилучшими свойствами в одном или нескольких
45 соответствующих анализах можно отбирать для дальнейшей разработки.

Молекулы нуклеиновых кислот, кодирующие варианты аминокислотной последовательности полипептидов LY6, получают различными способами, известными в данной области. Эти способы включают, но не ограничиваются ими,
50 выделение из природного источника (в случае природных вариантов аминокислотной последовательности) или получение олигонуклеотид-опосредуемым (или сайт-направленным) мутагенезом, мутагенезом посредством PCR и кассетным мутагенезом нативной последовательности или ранее полученного

варианта.

D. Модификации полипептидов

В объеме этого изобретения также могут быть пригодны ковалентно модифицированные полипептиды и/или антитела. Один тип ковалентной модификации включает проведение реакции заданных аминокислотных остатков таких антител и полипептидов с органическим образующим производное веществом, которое способно реагировать с определенными боковыми цепями или N- или C-концевыми остатками таких антител и полипептидов. Пригодным является преобразование бифункциональными веществами, например, для поперечного сшивания указанных выше молекул с нерастворимой в воде матрицей подложки или поверхностью для применения в очистке. Обычно используемые поперечно-сшивающие вещества включают, например, 1,1-бис(диазоацетил)-2-фенилэтан, глутаральдегид, сложные эфиры N-гидроксисукцинимиды, например сложные эфиры с 4-азидосалициловой кислотой, гомобифункциональные сложные имидоэфиры, включая дисукцинимидиловые сложные эфиры, такие как 3,3'-дителиобис(сукцинимидилпропионат), бифункциональные малеинимиды, такие как бис-N-малеимида-1,8-октан, и такие вещества, как метил-3-[(п-азидофенил)дителио]пропиоимидат.

Другие модификации включают дезамидацию глутаминильных и аспарагинильных остатков до соответствующих глутамильных и аспартильных остатков соответственно, гидроксирование пролина и лизина, фосфорилирование гидроксильных групп серинильных и треонинильных остатков, метилирование α -аминогрупп боковых цепей лизина, аргинина и гистидина (T.E. Creighton, Proteins: Structure and Molecular Properties, W.H. Freeman & Co., San Francisco, pp. 79-86 (1983)), ацетилирование N-концевого амина и амидацию любой C-концевой карбоксильной группы.

Другой тип ковалентной модификации полипептидов или антител включает изменение нативного паттерна гликозилирования антитела или полипептида. "Изменение нативного паттерна гликозилирования" определяют как удаление одной или нескольких углеводных групп, встречающихся в нативной последовательности (либо посредством удаления основного участка гликозилирования, либо посредством устранения гликозилирования химическими и/или ферментативными способами), и/или добавление одного или нескольких участков гликозилирования, которые не присутствуют в нативной последовательности. Кроме того, это выражение включает количественные изменения гликозилирования нативных белков, включающие изменение структуры и соотношений различных присутствующих углеводных групп.

Гликозилирование антител и других полипептидов, как правило, является либо N-связанным, либо O-связанным. N-связанное гликозилирование относится к присоединению углеводной группы к боковой цепи остатка аспарагина. Трипептидные последовательности аспарагин-X-серин и аспарагин-X-треонин, где X представляет собой любую аминокислоту, за исключением пролина, представляют собой последовательности, распознаваемые для ферментативного присоединения углеводной группы к боковой цепи аспарагина. Таким образом, наличие любой из этих трипептидных последовательностей в полипептиде создает потенциальный участок гликозилирования. O-связанное гликозилирование относится к присоединению одного из сахаров, представляющих собой N-ацетилгалактозамин, галактозу или ксилозу, к гидроксикаминокислоте, обычно к серину или треонину,

хотя также можно использовать 5-гидроксипролин или 5-гидроксилizin.

Добавление участков гликозилирования можно проводить, изменяя аминокислотную последовательность, чтобы она содержала одну или несколько из описанных выше трипептидных последовательностей (для участков N-связанного гликозилирования). Также изменение можно проводить посредством добавления к последовательности или замены посредством одного или нескольких остатков серина или треонина в последовательности исходного такого антитела или полипептида. Такую последовательность антитела или полипептида необязательно можно изменять посредством изменений на уровне ДНК, в частности посредством мутации ДНК, кодирующей последовательность, в предварительно выбранных основаниях, чтобы получить кодоны, которые будут транслировать требуемые аминокислоты.

Другим способом увеличения количества углеводных групп является химическое или ферментативное присоединение гликозидов к полипептиду. Такие способы описаны в данной области, например, в WO 87/05330, опубликованной 11 сентября 1987 года, и в Aplin and Wriston, CRC Crit. Rev. Biochem. pp. 259-306 (1981).

Удаление углеводных групп можно проводить химически или ферментативно или посредством мутационного замещения кодонов, кодирующих аминокислотные остатки, которые служат в качестве мишеней для гликозилирования. Химические способы дегликозилирования известны в данной области и описаны, например, Nakimuddin, et al., Arch. Biochem. Biophys. 259:52 (1987), и Edge et al, Anal. Biochem. 118: 131 (1981). Ферментативное отщепление углеводных групп на полипептидах можно проводить с использованием множества эндо- и экзогликозидаз, как описано Thotakura et al., Meth. Enzymol., 138:350 (1987).

Другой тип ковалентной модификации включает связывание последовательности с одним из множества небелковых полимеров, например полиэтиленгликолем (PEG), полипропиленгликолем или полиоксиалкиленами, способом, указанным в патентах США No. 4640835; 4496689; 4301144; 4670417; 4791192 или 4179337. Полипептид LY6 также можно заключать в микрокапсулы, полученные, например, способами коацервации или межфазной полимеризации (например, микрокапсулы на основе гидроксиметилцеллюлозы или желатина и микрокапсулы на основе поли-(метилметакрилата) соответственно), в коллоидные системы для доставки лекарственного средства (например, липосомы, микросферы на основе альбумина, микроэмульсии, наночастицы и микрокапсулы) или в микроэмульсии. Такие способы описаны в Remington's Pharmaceutical Science 16th edition, Oslo, A., Ed. (1980).

Для применения в способах по настоящему изобретению предусмотрены модификации, приводящие к образованию химерных молекул, являющихся результатом слияния одного полипептида с другим гетерологичным пептидом или аминокислотной последовательностью.

В одном варианте осуществления такая химерная молекула содержит молекулу полипептида, слитую с полипептидом-меткой, который обеспечивает эпитоп, с которым может селективно связываться антитело против метки. Эпитоп-метку, как правило, помещают на N- или C-конец такого антитела или полипептида. Детекцию присутствия таких меченных эпитопом форм таких антител или полипептидов можно проводить с использованием антитела против полипептида-метки. Также предоставление эпитопа-метки обеспечивает простоту очистки таких антител или полипептидов способами аффинной очистки с использованием антитела против метки или другого типа аффинной матрицы, которая связывается с эпитопом-меткой.

Различные полипептиды-метки и соответствующие антитела к ним хорошо известны в данной области. Их примеры включают метки полигистидина (poly-his) или полигистидин-глицина (poly-his-gly); полипептид-метку flu HA и антитело к нему 12CA5 [Field et al, Mol. Cell. Biol. 8:2159-2165 (1988)]; метку с-мус и антитела к ней 8F9, 3C7, 6E10, G4, B7 и 9E10 [Evan et al, Molecular and Cellular Biology, 5:3610-3616 (1985)]; и метку в виде гликопротеина D (gD) вируса простого герпеса и антитело к ней [Raborsky et al, Protein Engineering, 3(6):547-553 (1990)]. Другие полипептиды-метки включают Flag-пептид [Hopp et al, BioTechnology, 6:1204-1210 (1988)]; пептид-эпитоп КТ3 [Martin et al, Science, 255:192-194 (1992)]; пептид-эпитоп α -тубулина [Skinner et al, J. Biol. Chem. 266:15163-15166 (1991)]; и пептидную метку белка гена 10 T7 [Lutz-Freyermuth et al, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 87:6393-6397 (1990)].

В альтернативном варианте осуществления химерная молекула может содержать молекулу полипептида, слитую с иммуноглобулином или конкретной областью иммуноглобулина. Для двухвалентной формы химерной молекулы (также обозначаемой как "иммуноадгезин") такое слияние может быть с Fc-областью молекулы IgG. Слияние молекул Ig предпочтительно включает замену растворимой (удаленный или инактивированный трансмембранный домен) формой указанного антитела или полипептида по меньшей мере одного варибельного участка в молекуле Ig. В особенно предпочтительном варианте осуществления слитая молекула иммуноглобулина включает шарнирную область CH₂ и CH₃ или шарнирную область CH₁-, CH₂- и CH₃-участки молекулы IgG1. Для получения слитых молекул иммуноглобулином также см. патент США No. 5428130, выданный 27 июня 1995 года.

Е. Получение полипептидов

Представленное ниже описание относится, главным образом, к получению полипептидов посредством культивирования клеток, трансформированных или трансфицированных вектором, содержащим кодирующую нуклеиновую кислоту, кодирующую такие антитела, полипептиды и олигопептиды. Термин "полипептиды" может включать антитела, полипептиды и олигопептиды. Безусловно, предусмотрено, что для получения таких антител, полипептидов и олигопептидов можно использовать альтернативные способы, которые хорошо известны в данной области. Например, соответствующую аминокислотную последовательность или ее части можно получать прямым пептидным синтезом с использованием твердофазных способов [см., например, Stewart et al, Solid-Phase Peptide Synthesis, W.H. Freeman Co., San Francisco, CA (1969); Merrifield, J. Am. Chem. Soc, 85:2149-2154 (1963)]. Синтез белков *in vitro* можно проводить с использованием ручных способов или с помощью автоматов. Автоматизированный синтез можно проводить, например, с использованием Applied Biosystems Peptide Synthesizer (Foster City, CA) с применением инструкций изготовителя. Различные части таких антител, полипептидов или олигопептидов можно химически синтезировать по отдельности и комбинировать с использованием химических или ферментативных способов с получением требуемого продукта.

1. Выделение ДНК, кодирующей полипептид

ДНК, кодирующую полипептид, можно получать из библиотеки кДНК, полученной из ткани, предположительно обладающей мРНК такого антитела, полипептида или олигопептида, и экспрессирующей ее на детектируемом уровне. Таким образом, ДНК, кодирующую такие полипептиды, можно удобным образом получать из библиотеки кДНК, полученной из ткани человека, геномной библиотеки

или известными способами синтеза (например, автоматизированным синтезом нуклеиновой кислоты).

Библиотеки можно подвергать скринингу с помощью зондов (таких как олигонуклеотиды по меньшей мере приблизительно из 20-80 оснований), предназначенных для идентификации представляющего интерес гена или кодируемого им белка. Скрининг кДНК или геномной библиотеки определенным зондом можно проводить с использованием стандартных способов, как описано в Sambrook et al., *Molecular Cloning: A Laboratory Manual* (New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989). Альтернативно, можно использовать технологию PCR [Sambrook et al., выше; Dieffenbach et al., *PCR Primer: A Laboratory Manual* (Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1995)].

Способы скрининга библиотеки кДНК хорошо известны в данной области. Последовательности олигонуклеотидов, отобранные в качестве зондов, должны обладать достаточной длиной и должны быть достаточно уникальными, чтобы минимизировать ложноположительные результаты. Предпочтительно олигонуклеотид является меченым, чтобы его можно было выявить при гибридизации с ДНК в библиотеке, подвергаемой скринингу. Способы мечения хорошо известны в данной области и включают применение радиоактивных меток, таких как меченый ^{32}P АТФ, биотинилирование или мечение ферментом. Условия гибридизации, включая условия умеренной строгости и высокой строгости, представлены в Sambrook et al., выше.

Последовательности, идентифицированные в таких способах скрининга библиотек, можно сравнивать и выравнивать с другими известными последовательностями, депонированными и доступными в общедоступных базах данных, таких как GenBank или другие частные базы данных последовательностей. Идентичность последовательностей (на уровне либо аминокислот, либо нуклеотидов) в определенных участках молекулы или на протяжении полноразмерной последовательности можно определять с использованием способов, известных в данной области и как описано в настоящем документе.

Нуклеиновую кислоту, имеющую кодирующую белок последовательность, можно получать скринингом определенных библиотек кДНК или геномных библиотек с использованием установленной аминокислотной последовательности, описанной в настоящем документе впервые, и, если необходимо, с использованием общепринятых способов удлинения праймеров, как описано в Sambrook et al, выше, для детекции предшественников и промежуточных форм при процессинге мРНК, которые могут не подвергаться обратной транскрипции в кДНК.

2. Выбор и трансформация клеток-хозяев

Клетки-хозяева трансфицируют или трансформируют экспрессирующими или клонирующими векторами, описанными в настоящем документе, для продукции полипептида LY6 и культивируют в общепринятых питательных средах, модифицированных соответствующим образом для индукции промоторов, селекции трансформантов или амплификации генов, кодирующих требуемые последовательности. Условия культивирования, такие как среды, температура, pH и т.п., квалифицированный специалист может выбрать без излишнего экспериментирования. Как правило, принципы, протоколы и практические способы для максимизации продуктивности клеточных культур можно найти в *Mammalian Cell Biotechnology: A Practical Approach*, M. Butler, ed. (IRL Press, 1991), и Sambrook et al, выше.

Способы трансфекции эукариотических клеток и трансформации прокариотических клеток известны специалистам в данной области, например опосредуемый CaCl_2 , CaPO_4 , липосомами способ и электропорация. В зависимости от используемой клетки-хозяина, трансформацию проводят с использованием стандартных способов, пригодных для таких клеток. Обработку кальцием с использованием хлорида кальция, как описано в Sambrook et al, выше, или электропорацию, как правило, используют для прокариот. Для трансформации определенных клеток растений используют инфицирование посредством *Agrobacterium tumefaciens*, как описано в Shaw et al, Gene. 23:315 (1983), и WO 89/05859, опубликованной 29 июня 1989 года. Для клеток млекопитающих без таких клеточных стенок можно использовать способ осаждения фосфатом кальция по Graham and van der Eb, Virology, 52:456-457 (1978). Основные аспекты трансфекций систем клеток-хозяев млекопитающих описаны в патенте США No. 4399216. Трансформации дрожжей, как правило, проводят в соответствии со способом Van Solingen et al, J. Bact, 130:946 (1977), и Hsiao et al, Proc. Natl. Acad. Sci. (USA), 76:3829 (1979). Однако также можно использовать другие способы введения ДНК в клетки, например посредством микроинъекции в ядро, электропорации, слияния протопласта бактерий с интактными клетками, или поликатионов, например полибрена, полиорнитина. Для различных способов трансформации клеток млекопитающих см. Keown et al, Methods in Enzymology, 185:527-537 (1990), и Mansour et al, Nature. 336:348-352 (1988).

Пригодные клетки-хозяева для клонирования или экспрессии ДНК в векторы, представленные в настоящем документе, включают клетки прокариот, дрожжей или высших эукариот. Пригодные прокариоты включают, но не ограничиваются ими, эубактерии, такие как грамотрицательные или грамположительные организмы, например Enterobacteriaceae, такие как *E. coli*. Различные штаммы *E. coli* являются общедоступными, такие как *E. coli* K12 штамм MM294 (ATCC 31446); *E. coli* X1776 (ATCC 31537); *E. coli* штамм W3110 (ATCC 27325) и K5 772 (ATCC 53635). Другие пригодные прокариотические клетки-хозяева включают Enterobacteriaceae, такие как *Escherichia*, например *E. coli*, *Enterobacter*, *Erwinia*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Salmonella*, например *Salmonellatyphimurium*, *Serratia*, например *Serratia marcescans*, и *Shigella*, а также *Bacilli*, такие как *B. subtilis* и *B. licheniformis* (например, *B. licheniformis* 41P, описанная в DD 266710, опубликованной 12 апреля 1989 года), *Pseudomonas*, такие как *P. aeruginosa* и *Streptomyces*. Эти примеры являются иллюстративными, но не ограничивающими. Штамм W3110 является одним особенно предпочтительным хозяином или родителем, поскольку он представляет собой распространенный штамм-хозяин для ферментации продукта рекомбинантной ДНК. Предпочтительно клетка-хозяин секретирует минимальные количества протеолитических ферментов. Например, штамм W3110 можно модифицировать для достижения генетической мутации в генах, кодирующих белки, эндогенные для хозяина, примеры таких хозяев включают *E. coli* W3110 штамм 1A2, который имеет полный генотип tonA; *E. coli* W3110 штамм 9E4, который имеет полный генотип tonA ptr3; *E. coli* W3110 штамм 27C7 (ATCC 55244), который имеет полный генотип tonA ptr3 phoA E15 (argF-lac)169 degP amp^r kan^r; *E. coli* W3110 штамм 37D6, который имеет полный генотип tonA ptr3 phoA E15 (argF-lac)169 degP amp^r rbs7 ilvG kan^r; *E. coli* W3110 штамм 40B4, который представляет собой штамм 37D6 с делеционной мутацией degP без устойчивости к канамицину; и штамм *E. coli*, имеющий мутантную периплазматическую протеазу, описанную в патенте США No. 4946783, выданном 7

августа 1990 года. Альтернативно пригодны способы клонирования *in vitro*, например PCR или другие полимеразные реакции нуклеиновых кислот.

Полноразмерное антитело, фрагменты антитела и слитые белки антитела можно продуцировать в бактериях, в частности, когда гликозилирование и эффекторная функция Fc не требуются, например когда терапевтическое антитело конъюгировано с цитотоксическим средством (например, токсином) и сам иммуноконъюгат демонстрирует эффективность в отношении разрушения опухолевых клеток. Полноразмерные антитела обладают более длительным временем полужизни в кровотоке. Продукция в *E. coli* является более быстрой и более экономичной. Для экспрессии фрагментов антитела и полипептидов в бактериях см., например, U.S. 5648237 (Carter et. al), U.S. 5789199 (Joly et al) и U.S. 5840523 (Simmons et al.), в которых описаны участок инициации трансляции (TIR) и сигнальные последовательности для оптимизации экспрессии и секреции, эти патенты включены в настоящий документ в качестве ссылок. После экспрессии антитело выделяют из клеточной массы *E. coli* в растворимой фракции, и его можно очищать, например, посредством колонки с белком А или G, в зависимости от изотипа. Конечную очистку можно проводить аналогично процессу очистки антитела, экспрессируемого в пригодных клетках (например, в клетках CHO).

В дополнение к прокариотам, пригодными хозяевами для клонирования и экспрессии векторов, кодирующих требуемые полипептиды, являются эукариотические микроорганизмы, такие как нитчатые грибы или дрожжи. Часто используют низший эукариотический микроорганизм-хозяин *Saccharomyces cerevisiae*. Другие хозяева включают *Schizosaccharomyces pombe* (Beach and Nurse, Nature, 290: 140 [1981]; EP 139383, опубликованный 2 мая 1985 года); хозяева *Kluyveromyces* (патент США No. 4943529; Fler et al, Bio/Technology. 9:968-975 (1991)), например, такие как *K. lactis* (MW98-8C, CBS683, CBS4574; Louvencourt et al, J. Bacteriol. 154(2):737-742 [1983]), *K. fragilis* (ATCC 12424), *K. bulgaricus* (ATCC 16045), *K. wickeramii* (ATCC 24178), *K. waltii* (ATCC 56500), *K. drosophilaram* (ATCC 36906; Van den Berg et al, Bio/Technology. 8: 135 (1990)), *K. thermotolerans* и *K. marxianus*; *yarrowia* (EP 402226); *Pichia pastoris* (EP 183070; Sreekrishna et al, J. Basic Microbiol. 28:265-278 [1988]); *Candida*; *Trichoderma reesia* (EP 244234); *Neurospora crassa* (Case et al, Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 76:5259-5263 [1979]); *Schwanniomyces*, такие как *Schwanniomyces occidentalis* (EP 394538, опубликованный 31 октября 1990 года); и нитчатые грибы, например, такие как *Neurospora*, *Penicillium*, *Tolypocladium* (WO 91/00357, опубликованная 10 января 1991 года), и хозяева *Aspergillus*, такие как *A. nidulans* (Ballance et al, Biochem. Biophys. Res. Commun., 112:284-289 [1983]; Tilburn et al, Gene. 26:205-221 [1983]; Yelton et al, Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 81: 1470-1474 [1984]) и *A. niger* (Kelly and Hynes, EMBO J. 4:475-479 [1985]). Метилотрофные дрожжи пригодны здесь и включают, но не ограничиваются ими, дрожжи, способные расти на метаноле, выбранные из родов, состоящих из *Hansenula*, *Candida*, *Kloeckera*, *Pichia*, *Saccharomyces*, *Torulopsis* и *Rhodotorula*. Перечень конкретных видов, которые являются примерами этого класса дрожжей, можно найти в С. Anthony, The Biochemistry of Methylotrophs, 269 (1982).

Источником пригодных клеток-хозяев для экспрессии гликозилированного полипептида являются многоклеточные организмы. Примеры клеток беспозвоночных включают клетки насекомых, такие как *Drosophila S2* и *Spodoptera Sf9*, а также клетки растений, такие как клеточные культуры хлопка, кукурузы, картофеля, сои, петунии, томата и табака. Было идентифицировано множество штаммов и вариантов бакуловирусов и соответствующие пермиссивные клетки-

хозяева насекомых из хозяев, таких как *Spodoptera frugiperda* (гусеница), *Aedes aegypti* (москит), *Aedes albopictus* (москит), *Drosophila melanogaster* (плодовая мушка) и *Bombyx mori*. Общедоступным для трансфекции является множество штаммов вирусов, например вариант L-1 *Autographa californica* NPV и штамм Bm-5 *Bombyx mori* NPV, и такие вирусы могут быть использованы здесь в качестве вируса в соответствии с

настоящим изобретением, в частности для трансфекции клеток *Spodoptera frugiperda*.

Однако наибольший интерес представляют клетки позвоночных, и размножение клеток позвоночных в культуре (культура тканей) стало общепринятым способом.

Примерами пригодных клеточных линий млекопитающих являются линия почки обезьяны CV1, трансформированная SV40 (COS-7, ATCC CRL 1651); линия почки эмбриона человека (клетки 293 или клетки 293, субклонированные для роста в суспензионной культуре, Graham et al., J. Gen Virol. 36:59 (1977)); клетки почки детенышей хомячка (ВНК, ATCC CCL 10); клетки яичника китайского хомячка/-DHFR (СНО, Urlaub et al, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 77:4216 (1980)); клетки Сертоли мышцы (ТМ4, Mather, Biol. Reprod. 23:243-251 (1980)); клетки почки обезьяны (CV1 ATCC CCL 70); клетки почки африканской зеленой марьшкы (VERO-76, ATCC CRL-1587); клетки карциномы шейки матки человека (HELA, ATCC CCL 2); клетки почки собаки (MDCK, ATCC CCL 34); клетки печени крысы буйвола (BRL 3А, ATCC CRL 1442); клетки легкого человека (W138, ATCC CCL 75); клетки печени человека (Нер G2, HB 8065); опухоль молочной железы мыши (ММТ 060562, ATCC CCL51); клетки TRI (Mather et al, Annals N.Y. Acad. Sci. 383:44-68 (1982)); клетки MRC 5; клетки FS4; и линия гепатомы человека (Нер G2).

Клетки-хозяева трансформируют описанными выше экспрессирующими или клонирующими векторами для продукции требуемого полипептида и культивируют в общепринятых питательных средах, модифицированных пригодным образом для индукции промоторов, селекции трансформантов или амплификации генов, кодирующих требуемые последовательности.

3. Выбор и применение реплицируемого вектора

Нуклеиновую кислоту (например, кДНК или геномной ДНК), кодирующую соответствующий полипептид LY6, можно встраивать в реплицируемый вектор для клонирования (амплификации ДНК) или для экспрессии. Различные векторы являются общедоступными. Например, вектор может быть представлен в форме плазмиды, космиды, вирусной частицы или фага. Соответствующую последовательность нуклеиновой кислоты можно встраивать в вектор множеством способов. Как правило, ДНК встраивают в соответствующий участок(ки) для эндонуклеазы рестрикции с использованием способов, известных в данной области. Компоненты вектора, как правило, включают, но не ограничиваются ими, одну или несколько сигнальных последовательностей, ориджин репликации, один или несколько маркерных генов, энхансерный элемент, промотор и последовательность терминации транскрипции. При конструировании пригодных векторов, содержащих один или несколько из этих компонентов, используют стандартные способы лигирования, которые известны квалифицированному специалисту.

Требуемый полипептид можно продуцировать рекомбинантными способами не только прямо, но также в качестве полипептида, слитого с гетерологичным полипептидом, который может представлять собой сигнальную последовательность, или другим полипептидом, имеющим определенный участок расщепления на N-конце зрелого белка или полипептида. Как правило, сигнальная последовательность может быть компонентом вектора, или она может быть частью ДНК, кодирующей

зрелую последовательность, которую встраивают в вектор. Сигнальная последовательность может представлять собой прокариотическую сигнальную последовательность, выбранную, например, из группы, состоящей из лидерных последовательностей щелочной фосфатазы, пенициллиназы, Ipp или термостабильного энтеротоксина II. В случае секреции в дрожжах, сигнальная последовательность может представлять собой, например, лидерную последовательность инвертазы дрожжей, лидерную последовательность альфа-фактора (включая лидерные последовательности α -фактора *Saccharomyces* и *Kluyveromyces*, последняя из которых описана в патенте США No. 5010182) или лидерную последовательность кислой фосфатазы, лидерную последовательность глюкоамилазы *C. albicans* (EP 362179, опубликованный 4 апреля 1990 года) или сигнальную последовательность, описанную в WO 90/13646, опубликованной 15 ноября 1990 года. При экспрессии в клетках млекопитающих для направления секреции белка можно использовать сигнальные последовательности млекопитающих, такие как сигнальные последовательности из секретируемых полипептидов того же или родственного вида, а также вирусные секреторные лидерные последовательности.

Векторы, как для экспрессии, так и для клонирования, содержат последовательность нуклеиновой кислоты, которая обеспечивает репликацию вектора в одной или нескольких выбранных клетках-хозяевах. Такие последовательности хорошо известны для множества бактерий, дрожжей и вирусов. Ориджин репликации из плазмиды pBR322 является пригодным для большинства грамотрицательных бактерий, плазмидный ориджин 2 μ пригоден для дрожжей, и различные вирусные ориджины (SV40, полиомы, аденовируса, VSV или BPV) пригодны для клонирования векторов в клетках млекопитающих.

Векторы для экспрессии и клонирования, как правило, содержат ген для селекции, также называемый селектируемым маркером. Типичные гены для селекции кодируют белки, которые (a) придают устойчивость к антибиотикам или другим токсинам, например ампициллину, неомицину, метотрексату или тетрациклину, (b) комплементируют дефициты ауксотрофов или (c) обеспечивают основные питательные вещества, которые не доступны из комплексных сред, например ген, кодирующий D-аланинацетамид для *Bacilli*.

Примером пригодных селектируемых маркеров для клеток млекопитающих являются маркеры, которые позволяют идентификацию клеток, способных захватывать нуклеиновую кислоту, кодирующую требуемый белок, такие как гены DHFR или тимидинкиназы. Пригодной клеткой-хозяином при применении DHFR дикого типа является клеточная линия CHO с дефектом активности DHFR, получаемая и размножаемая, как описано Urlaub et al, Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 77: 4216 (1980). Пригодным геном для селекции для применения в дрожжах является ген *trp1*, присутствующий в плазмиде дрожжей YRp7 [Stinchcomb et al., Nature. 282:39 (1979); Kingsman et al, Gene. 7:141 (1979); Tschemper et al, Gene. 10: 157 (1980)]. Ген *trp1* обеспечивает селектируемый маркер для мутантного штамма дрожжей, лишенного способности расти на триптофане, например ATCC No. 44076 или PEP4-1 [Jones, Genetics, 85: 12 (1977)].

Экспрессирующие и клонирующие векторы, как правило, содержат промотор, функционально связанный с последовательностью нуклеиновой кислоты, кодирующей требуемую аминокислотную последовательность, для регуляции синтеза мРНК. Хорошо известны промоторы, распознаваемые во множестве

потенциальных клеток-хозяев. Промоторы, пригодные для применения в прокариотических хозяевах, включают промоторные системы β -лактамазы и промоторную систему лактозы [Chang et al., *Nature*. 275:615 (1978); Goeddel et al., *Nature*. 281 :544 (1979)], промотор щелочной фосфатазы, промоторную систему триптофана (*trp*) [Goeddel, *Nucleic Acids Res.* 8:4057 (1980); EP 36776] и гибридные промоторы, такие как промотор *tac* [deBoer et al, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 80:21-25 (1983)]. Промоторы для применения в бактериальных системах также содержат последовательность Шайна-Дальгарно (*S.D.*), функционально связанную с ДНК, кодирующей последовательность требуемого белка.

Примеры пригодных промоторных последовательностей для применения в дрожжевых хозяевах включают промоторы 3-фосфоглицераткиназы [Hitzeman et al., *J. Biol. Chem.*, 255:2073 (1980)] или других гликолитических ферментов [Hess et al., *J. Adv. Enzyme Reg.*, 7:149 (1968); Holland, *Biochemistry*, 17:4900 (1978)], таких как енолаза, глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназа, гексокиназа, пируватдекарбоксилаза, фосфофруктокиназа, глюкоза-6-фосфатизомераза, 3-фосфоглицеромутаза, пируваткиназа, триозофосфатизомераза, фосфоглюкоизомераза и глюкокиназа.

Другие дрожжевые промоторы, которые представляют собой индуцибельные промоторы, обладающие дополнительным преимуществом контролируемой условиями выращивания транскрипции, представляют собой промоторные участки алкогольдегидрогеназы 2, изоцитохрома C, кислой фосфатазы, ферментов деградации, связанных с метаболизмом азота, металлотеонеина, глицеральдегид-3-фосфат дегидрогеназы и ферментов, ответственных за употребление мальтозы и галактозы. Пригодные векторы и промоторы для применения для экспрессии в дрожжах описаны в EP 73657.

Транскрипция ДНК в клетках-хозяевах млекопитающих контролируется, например, промоторами, получаемыми из геномов вирусов, таких как вирус полиомы, вирус оспы птиц (UK 2211504, опубликованный 5 июля 1989 года), аденовирус (такой как аденовирус 2), вирус папилломы крупного рогатого скота, вирус саркомы птиц, цитомегаловирус, ретровирус, вирус гепатита В и вирус обезьяны 40 (SV40), гетерологичными промоторами млекопитающих, например промотором актина или промотором иммуноглобулина, и промоторами теплового шока, при условии, что такие промоторы являются совместимыми с системами клеток-хозяев.

Транскрипцию ДНК, кодирующей требуемый полипептид, можно повышать встраиванием в вектор энхансерной последовательности. Энхансеры представляют собой *cis*-регуляторные элементы ДНК, как правило, приблизительно из от 10 до 300 п.о., которые действуют на промотор, повышая его транскрипцию. В настоящее время известно множество энхансерных последовательностей из генов млекопитающих (глобина, эластазы, альбумина, α -фетопротеина и инсулина). Однако, как правило, используют энхансер из вируса эукариотической клетки. Их примеры включают энхансер SV40 на поздней стороне ориджина репликации (п.о. 100-270), энхансер раннего промотора цитомегаловируса, энхансер полиомы на поздней стороне ориджина репликации и энхансеры аденовируса. Энхансер может быть присоединен к вектору в 5'- или 3'-положении относительно последовательности, кодирующей указанные аминокислотные последовательности, однако предпочтительно он расположен в участке, расположенном в 5'-направлении от промотора.

Экспрессирующие векторы, используемые в эукариотических клетках-хозяевах (в клетках дрожжей, грибов, насекомых, растений, животных, человека или содержащих ядро клетках из других многоклеточных организмов), также содержат последовательности, необходимые для терминации транскрипции и для стабилизации мРНК. Такие последовательности обычно доступны на 5'- и иногда на 3'-нетранслируемых участках эукариотических или вирусных ДНК или кДНК. Эти участки содержат нуклеотидные фрагменты, транскрибируемые в качестве полиадинилированных фрагментов в нетранслируемом участке мРНК, кодирующей соответствующее антитело, полипептид или олигопептид, описанные в этом разделе.

Другие способы, векторы и клетки-хозяева, пригодные для адаптации для синтеза соответствующего антитела, полипептида или олигопептида в культуре рекомбинантных клеток позвоночных, описаны в Gething et al, Nature. 293:620-625 (1981); Mantei et al, Nature. 281:40-46 (1979); EP 117060 и EP 117058.

4. Культивирование клеток-хозяев

Клетки-хозяева, используемые для продукции полипептида LY6, можно культивировать в различных средах. Для культивирования клеток-хозяев пригодными являются коммерчески доступные среды, такие как среда Хэма F10 (Sigma), минимальная поддерживающая среда ((MEM), (Sigma)), RPMI-1640 (Sigma), и среда Игла, модифицированная способом Дульбекко ((DMEM), Sigma). Кроме того, для клеток-хозяев в качестве культуральной среды можно использовать любую из сред, описанных в Ham et al., Meth. Enz. 58:44 (1979), Barnes et al., Anal Biochem. 102:255 (1980), патентах США No. 4767704; 4657866; 4927762; 4560655 или 5122469; WO 9003430; WO 87/00195; или патенте США Re. 30985. Любые из этих сред можно дополнять при необходимости гормонами и/или другими факторами роста (такими как инсулин, трансферрин или эпидермальный фактор роста), солями (такими как хлорид натрия, кальция, магния и фосфат), буферами (такими как HEPES), нуклеотидами (такими как аденозин и тимидин), антибиотиками (такими как лекарственное средство GENTAMYCIN™), микроэлементами (определяемыми как неорганические соединения, обычно представленные в конечных концентрациях микромолярного диапазона), и глюкозой или эквивалентными источниками энергии. Также можно добавлять любые другие необходимые дополнительные вещества в соответствующих концентрациях, которые известны специалистам в данной области. Условия культивирования, такие как температура, pH и т.п., представляют собой условия, которые ранее использовали для выбранных для экспрессии клеток-хозяев, и они будут понятны специалисту в данной области.

5. Детекция амплификации/экспрессии гена

Амплификацию и/или экспрессию гена можно определять непосредственно в образце, например, посредством общепринятого саузерн-блоттинга, нозарен-блоттинга для количественного определения транскрипции мРНК [Thomas, Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 77:5201-5205 (1980)], дот-блоттинга (анализ ДНК) или гибридизации *in situ*, с использованием соответствующим образом меченого зонда на основе последовательностей, представленных в настоящем документе. Альтернативно можно использовать антитела, которые могут распознавать определенные дуплексы, включая дуплексы ДНК, дуплексы РНК и гибридные дуплексы ДНК-РНК или дуплексы ДНК-белок. Антитела в свою очередь можно метить и можно проводить анализ, где дуплекс связан с поверхностью, так чтобы при образовании дуплекса на поверхности можно было выявить присутствие антитела, связанного с дуплексом.

Альтернативно экспрессию гена можно определять иммунологическими способами, такими как иммуногистохимическое окрашивание клеток или срезов тканей и анализ клеточной культуры или жидкостей организма, для количественного определения непосредственно экспрессии продукта гена. Антитела, пригодные для иммуногистохимического окрашивания и/или анализа образцов жидкостей, могут быть либо моноклональными или поликлональными, и их можно получать у любого млекопитающего. Удобно, чтобы антитела, пригодные для способа по настоящему изобретению, можно было получать против полипептида или олигопептида с нативной последовательностью или против экзогенной последовательности, слитой с ДНК и кодирующей специфичный для антитела эпитоп такого полипептида или олигопептида.

б. Очистка белка

Полипептиды можно выделять из культуральной среды или из лизатов клеток-хозяев. В случае связанной с мембраной формы, его можно высвободить из мембраны с использованием пригодного раствора детергента (например, Triton-X 100) или посредством ферментативного расщепления. Клетки, используемые для экспрессии указанного полипептида, можно разрушать различными физическими или химическими способами, такими как циклы замораживания и оттаивания, обрабатывания ультразвуком, механическое разрушение или средства для лизиса клеток.

Может быть желательной очистка указанного полипептида из рекомбинантных белков или полипептидов клеток. Следующие способы иллюстрируют пригодные способы очистки: фракционирование на ионообменной колонке; осаждение этанолом; обращенно-фазовая ВЭЖХ; хроматография на диоксиде кремния или на катионообменной смоле, такой как DEAE; хроматофокусирование; SDS-PAGE; осаждение сульфатом аммония; гель-фильтрация с использованием, например, Sephadex G-75; колонки с белком А-сефарозой для удаления примесей, таких как IgG; и хелатирующие металлы колонки для связывания меченных эпитопом форм требуемых молекул. Можно использовать различные способы очистки белков, и такие способы известны в данной области и описаны, например, Deutscher, *Methods in Enzymology*, 182 (1990); Scopes, *Protein Purification: Principles and Practice*, Springer-Verlag, New York (1982). Выбранная стадия(и) очистки будет зависеть, например, от характера используемого процесса получения и конкретного антитела, полипептида или олигопептида, получаемого для заявленных способов.

При использовании рекомбинантных способов полипептид LY6 может продуцироваться внутриклеточно, в периплазматическом пространстве, или непосредственно секретироваться в среду. Если такие молекулы продуцируются внутриклеточно, на первой стадии, дебрис в виде частиц либо клеток-хозяев, либо лизированных фрагментов удаляют, например, посредством центрифугирования или ультрафильтрации. В Carter et al, *Bio/Technology* 10:163-167 (1992), описан способ выделения антител, которые секретировались в периплазматическое пространство *E. coli*. В кратком изложении, клеточную массу размораживают в присутствии ацетата натрия (pH 3,5), EDTA и фенилметилсульфонилфторида (PMSF) в течение приблизительно 30 мин. Клеточный дебрис можно удалять центрифугированием. Когда антитело секретировалось в среду, супернатанты из таких экспрессирующих систем, как правило, сначала концентрируют с использованием коммерчески доступного фильтра для концентрирования белка, например элемента для ультрафильтрации Amicon или Millipore Pellicon. На любой из предшествующих

стадий можно включать ингибитор протеаз, такой как PMSF, для ингибирования протеолиза и для предотвращения роста ненужных контаминирующих организмов можно добавлять антибиотики.

5 Очистку можно проводить с использованием, например, хроматографии с гидроксилпатитом, гель-электрофореза, диализа и аффинной хроматографии, причем аффинная хроматография является предпочтительным способом очистки. Пригодность белка А в качестве аффинного лиганда зависит от вида и изоформа любого Fc-домена иммуноглобулина, который присутствует в антителе. Белок А
10 можно использовать для очистки антител, которые основаны на тяжелых цепях $\gamma 1$, $\gamma 2$ или $\gamma 4$ человека (Lindmark et al, J. Immunol. Meth. 62:1-13 (1983)). Белок G рекомендован для всех изоформ мыши и для $\gamma 3$ человека (Guss et al, EMBO J. 5: 15671575 (1986)). Матрицей, к которой присоединяют аффинный лиганд, наиболее часто является агароза, однако доступны другие матрицы. Механически стабильные
15 матрицы, такие как стекло с контролируемым размером пор или поли(стиролдвинил)бензол, позволяют более быстрые скорости потока и более короткое время обработки, чем скорости потока и время обработки, которые можно достигать посредством агарозы. Когда антитело содержит C_{H3}-домен, для очистки
20 пригодна смола Bakerbond ABX™ (J. T. Baker, Phillipsburg, NJ). Также доступны другие способы очистки белка, такие как фракционирование на ионообменной колонке, осаждение этанолом, обращенно-фазовая ВЭЖХ, хроматография на диоксиде кремния, хроматография на heparin-SEPHAROSE™, хроматография на анионо- или катионообменной смоле (такая как колонка с полиаспарагиновой кислотой), хроматофокусирование, SDS-PAGE и осаждение сульфатом аммония, в зависимости от подлежащего выделению антитела.

После предварительной стадии(ий) очистки смесь, содержащую представляющее
30 интерес антитело и примеси, можно подвергать хроматографии гидрофобного взаимодействия с низким значением pH с использованием буфера для элюирования при pH между приблизительно 2,5-4,5, предпочтительно проводимой при низких концентрациях соли (например, от приблизительно 0-0,25 М соли).

Н. Фармацевтические составы

35 Терапевтические составы ("терапевтическое средство"), используемые в соответствии с настоящим изобретением, можно получать для хранения смешиванием терапевтического средства(средств), имеющего требуемую степень чистоты, с необязательными фармацевтически приемлемыми носителями, эксципиентами или стабилизаторами (Remington: The Science of Practice of Pharmacy, 40 20th edition, Gennaro, A. et al., Ed., Philadelphia College of Pharmacy и Science (2000)) в форме лиофилизированных составов или водных растворов. Приемлемые носители, эксципиенты или стабилизаторы являются нетоксичными для реципиентов в используемых дозировках и концентрациях и включают буферы, такие как ацетат, Tris, фосфат, цитрат и другие органические кислоты; антиоксиданты, включая
45 аскорбиновую кислоту и метионин; консерванты (такие как хлорид октадецилдиметилбензиламмония; хлорид гексаметония; хлорид бензалкония, хлорид бензэтония; фенол, бутил или бензиловый спирт; алкилпарабены, такие как метил- или пропилпарабен; катехол; резорцинол; циклогексанол; 3-пентанол; и м-крезол); низкомолекулярные (менее 10 остатков) полипептиды; белки, такие как сывороточный альбумин, желатин или иммуноглобулины; гидрофильные полимеры, такие как поливинилпирролидон; аминокислоты, такие как глицин, глутамин, аспарагин, гистидин, аргинин или лизин; моносахариды, дисахариды и другие
50

углеводы, включая глюкозу, маннозу или декстрины; хелатирующие агенты, такие как EDTA; изменяющие тоничность вещества, такие как трегалоза и хлорид натрия; сахара, такие как сахароза, маннит, трегалоза или сорбит; поверхностно-активное вещество, такое как полисорбат; солеобразующие противоионы, такие как натрий; 5 комплексы металлов (например, комплексы Zn-белок); и/или неионные поверхностно-активные вещества, такие как TWEEN[®], PLURONICS[®] или полиэтиленгликоль (PEG). Антитело предпочтительно содержится в концентрации между 5-200 мг/мл, предпочтительно между 10-100 мг/мл.

10 Составы, представленные в настоящем документе, также могут содержать более одного активного соединения, если необходимо для конкретного показания, подлежащего лечению, предпочтительно соединения с дополняющими видами активности, которые не оказывают неблагоприятного эффекта друг на друга. Например, в дополнение к указанному терапевтическому средству(ам), может быть 15 желательным включение в один состав дополнительного антитела, например второго такого терапевтического средства, или антитела к какой-либо другой мишени, такой как фактор роста, который влияет на рост глиомы. Альтернативно или дополнительно, композиция может далее содержать химиотерапевтическое 20 средство, цитотоксическое средство, цитокин, ингибирующее рост средство, антигормональное средство и/или кардиопротектор. Такие молекулы соответственно присутствуют в сочетании в количествах, которые эффективны для поставленной цели.

25 Активные ингредиенты также могут быть заключены в микрокапсулы, полученные, например, способами коацервации или межфазной полимеризации, например микрокапсулы на основе гидроксиметилцеллюлозы или желатина, микрокапсулы на основе поли-(метилметакрилата), соответственно, в коллоидные системы для доставки лекарственного средства (например, липосомы, микросферы 30 на основе альбумина, микроэмульсии, наночастицы и микрокапсулы) или в микроэмульсии. Такие способы описаны в Remington: The Science and Practice of Pharmacy, выше.

35 Можно получать препараты с замедленным высвобождением. Пригодные примеры препаратов с замедленным высвобождением включают полупроницаемые матрицы твердых гидрофобных полимеров, содержащие антитело, которые представлены в виде имеющих форму изделий, например пленок или микрокапсул. Примеры матриц с замедленным высвобождением включают полиэферы, гидрогели (например, поли(2-гидроксиэтилметакрилат) или поли(виниловый спирт)), 40 полилактиды (патент США No. 3773919), сополимеры L-глутаминовой кислоты и γ -этил-L-глутамата, недеградируемый этиленвинилацетат, деградируемые сополимеры молочная кислота-гликолевая кислота, такие как LUPRON DEPOT[®] (инъекционные микросферы, состоящие из сополимера молочной кислоты и гликолевой кислоты и ацетата леупролида), и поли-D-(-)-3-гидроксимасляную кислоту.

45 Составы, подлежащие применению для введения *in vivo*, должны быть стерильными. Этого легко достигают фильтрацией через стерильные фильтрационные мембраны.

Способы диагностики и/или лечения воспалительного заболевания кишечника

50 Для определения экспрессии LY6 в желудочно-кишечной ткани или клетках млекопитающих, таких как млекопитающее, страдающее IBD, доступны различные диагностически анализы. В одном варианте осуществления сверхэкспрессию полипептида LY6 можно анализировать посредством RT-PCR, гибридизации *in-situ*,

анализа на микрочипах и/или иммуногистохимии (ИНС). Свежие, замороженные и/или погруженные в парафин срезы тканей из желудочно-кишечного биоптата (такого как биоптат толстого кишечника или, более конкретно, сигмовидной кишки) у млекопитающего (такого как, но не ограничиваясь этим, человек) можно

5 подвергать RT-PCR, гибридизации *in situ*, анализу на микрочипах и/или анализу ИНС.

Альтернативно или дополнительно, можно проводить анализы FISH, такие как INFORM® (продаваемый Ventana, Arizona) или PATHVISION® (Vysis, Illinois) на фиксированной формалином погруженной в парафин ткани для определения

10 степени (при наличии) экспрессии и/или активации LY6 в образце ткани или биоптате.

Экспрессию LY6 можно оценивать с использованием диагностического анализа *in vivo*, например, посредством введения молекулы (такой как антитело, олигопептид или органическая молекула), которая связывает молекулу, подлежащую детекции, и является детектируемо меченной (например, радиоактивным изотопом или

15 флуоресцентной меткой), и внешнего сканирования пациента в отношении локализации метки.

В настоящее время, в зависимости от стадии IBD, лечение включает один или сочетание из следующих способов лечения: хирургическая операция для удаления

20 пораженной ткани кишечника, введение лекарственных средств, включая, но не ограничиваясь этим, химиотерапию; изменение режима питания и контроль образа жизни. Лекарственные средства или химиотерапевтические средства, пригодные для лечения IBD, известны в данной области, и репрезентативные терапевтические и химиотерапевтические средства описаны в настоящем документе.

В частности, предусматривается комбинированная терапия паклитакселом и его модифицированными производными (см., например, EP 0600517). Указанное антитело, полипептид, олигопептид или органическую молекулу будут вводить с

30 терапевтически эффективной дозой химиотерапевтического средства. В другом варианте осуществления такое антитело, полипептид, олигопептид или органическую молекулу вводят вместе с химиотерапией для усиления активности и эффективности химиотерапевтического средства, например паклитаксела. В Physician's Desk Reference (PDR) описаны дозировки этих средств, которые применяют для лечения различных злокачественных опухолей. Режим дозирования и

35 дозировки этих указанных выше химиотерапевтических лекарственных средств, которые являются терапевтически эффективными, будут зависеть от конкретной подлежащей лечению злокачественной опухоли, области заболевания и других факторов, известных врачу, и они могут быть определены врачом.

Лекарственные средства или химиотерапевтические средства вводят пациенту-человеку известными способами, такими как внутривенное введение, например, в

40 качестве болюсной инъекции или посредством непрерывной инфузии в течение периода времени, посредством внутричерепного, интрацереброспинального, внутрисуставного, интратекального, внутривенного, внутриартериального, подкожного, перорального, местного или ингаляционного способов.

Настоящее изобретение относится к способам, которые включают стадию диагностики и стадию терапевтического лечения. В одном варианте осуществления настоящее изобретение относится к способам детекции воспалительного

50 заболевания кишечника (IBD) у млекопитающего, которые включают стадии (1) детекции уровня экспрессии нуклеиновой кислоты или гена, кодирующего полипептид LY6 (а) в тестируемом образце ткани или клеток, полученном у субъекта, и (b) в контрольном образце, где более высокий уровень экспрессии

нуклеиновой кислоты LY6 или гена в тестируемом образце, по сравнению с контрольным образцом, указывает на наличие IBD у субъекта, у которого был получен тестируемый образец; и (2) введения субъекту эффективного количества лекарственного средства от IBD. В одном варианте осуществления лекарственное средство от IBD представляет собой антагонист другой ассоциированной с IBD молекулы. Настоящее изобретение предусматривает различные ассоциированные с IBD молекулы, которые обладают отличающейся экспрессией при IBD. В одном варианте осуществления ассоциированная с IBD молекула представляет собой молекулу, которая обладает отличающейся экспрессией при IBD. В другом варианте осуществления ассоциированная с IBD молекула сверхэкспрессируется при IBD. В другом варианте осуществления сверхэкспрессированная ассоциированная с IBD молекула представляет собой интегрин. В одном варианте осуществления ассоциированная с IBD молекула представляет собой интегрин бета 7 (ITGB2) (см. WO 2006/026759, которая включена в настоящий документ в качестве ссылки в полном объеме). Термин "лекарственное средство от IBD", как используют в настоящем документе, относится к антагонисту ассоциированной с IBD молекулы. В одном варианте осуществления лекарственное средство от IBD представляет собой антагонист интегрина. В другом варианте осуществления лекарственное средство от IBD представляет собой антагонист ITGB7. В другом варианте осуществления лекарственное средство от IBD представляет собой антагонист полипептида, представленного как SEQ ID NO:69, кодируемого последовательностью нуклеиновой кислоты, представленной как SEQ ID NO:68.

25 J. Изделия и наборы

Для диагностического применения изделие содержит контейнер и ярлык или вкладыш в упаковку на контейнере или прилагаемые к контейнеру, на которых указано применение для детекции экспрессии LY6 (такого как, но не ограничиваясь ими, LY6, LYPD1, LYPD3 и/или LYPD5) в желудочно-кишечной ткани или клетке млекопитающего. В одном варианте осуществления млекопитающим является человек. В одном варианте осуществления ткань или клетка представляет собой желудочно-кишечную ткань или клетку. В одном варианте осуществления детекция включает количественное определение по сравнению с контрольным образцом. В одном варианте осуществления на контейнере, ярлыке или вкладыше в упаковку указано, что источником желудочно-кишечной ткани или клеток является толстый кишечник млекопитающего. В одном варианте осуществления на контейнере, ярлыке или вкладыше в упаковку указано, что повышенная экспрессия LY6 по сравнению с контрольным образцом указывает на IBD, включая, но не ограничиваясь ими, CD и/или UC, у млекопитающего. Пригодные контейнеры включают, например, бутылки, флаконы, шприцы и т.д. Контейнеры могут быть образованы из различных материалов, таких как стекло или пластмасса. Кроме того, изделие может дополнительно содержать второй контейнер, содержащий буфер или другой реагент (такой как детектируемая метка), пригодные для проведения детекции. Кроме того, оно может включать другие материалы, желательные с коммерческой и пользовательской точки зрения, включая другие буферы, разбавители, фильтры и красители.

50 Для выделения и очистки полипептида LY6 набор может содержать связывающий LY6 реагент, связанный с гранулами (например, гранулами сефарозы). Может быть предоставлен набор, который содержит такие молекулы для выявления и количественного определения полипептида LY6 *in vitro*, например, в ELISA или

вестерн-блоте. Как и в случае изделия, набор содержит контейнер и ярлык или вкладыш в упаковку на контейнере или прилагаемые к контейнеру. В контейнере содержится композиция, содержащая по меньшей мере одно такое связывающее LY6 антитело, олигопептид или органическую молекулу, пригодные для изобретения. Могут быть включены дополнительные контейнеры, которые содержат, например, разбавители, буферы и контрольные антитела. На ярлыке или вкладыше в упаковку может быть предоставлено описание композиции, а также инструкции для предполагаемого *in vitro* или диагностического применения.

К. Смысловые и антисмысловые кодирующие LY6 нуклеиновые кислоты

Молекулы, которые предположительно могут связываться с нуклеиновыми кислотами, кодирующими ген LY6, включают смысловые и антисмысловые олигонуклеотиды, которые содержат одноцепочечную последовательность нуклеиновой кислоты (либо РНК, либо ДНК), способную связываться с последовательностями-мишенями мРНК или ДНК LY6. Антисмысловые или смысловые олигонуклеотиды в соответствии с настоящим изобретением содержат фрагмент кодирующей области ДНК LY6 или комплементарный ему фрагмент. Возможность получения антисмыслового или смыслового олигонуклеотида на основе последовательности кДНК, кодирующей данный белок, описана, например, в Stein and Cohen (Cancer Res. 48:2659, 1988) и van der Krol et al. (BioTechniques 6:958, 1988).

Смысловые и/или антисмысловые олигонуклеотиды, гибридизующиеся с геном LY6, пригодны, например, для детекции наличия ДНК или мРНК LY6 в ткани или клеточном образце желудочно-кишечной ткани или клетках млекопитающего согласно изобретению. Смысловые и/или антисмысловые соединения, применяемые согласно этому изобретению, можно получать удобным и общепринятым хорошо известным способом твердофазного синтеза. Оборудование для такого синтеза продается несколькими поставщиками, включая, например, Applied Biosystems (Foster City, Calif.). Дополнительно или альтернативно можно использовать любые другие способы такого синтеза, известные в данной области. Хорошо известно применение сходных способов для получения олигонуклеотидов, таких как фосфоротиоаты и алкилированные производные. Соединения по изобретению также можно смешивать, инкапсулировать, конъюгировать или иным образом связывать с другими молекулами, структурами молекул или смесями соединений, например, как липосомы, нацеленные на рецептор молекулы, пероральные, ректальные, местные или другие составы, для способствования захвату, распределению и/или всасыванию. Патенты, в которых указано получение таких способствующих захвату, распределению и/или всасыванию составов, включают, но не ограничиваются ими, патенты США №. 5108921; 5354844; 5416016; 5459127; 5521291; 5543158; 5547932; 5583020; 5591721; 4426330; 4534899; 5013556; 5108921; 5213804; 5227170; 5264221; 5356633; 5395619; 5416016; 5417978; 5462854; 5469854; 5512295; 5527528; 5534259; 5543152; 5556948; 5580575 и 5595756, каждый из которых включен в настоящий документ в качестве ссылки.

Смысловые и антисмысловые олигонуклеотиды включают, но не ограничиваются ими, праймеры и зонды, пригодные для способов PCR, RT-PCR, гибридизации, гибридизации *in-situ* и т. п.

Другие примеры смысловых или антисмысловых олигонуклеотидов включают олигонуклеотиды, которые ковалентно связаны с органическими группами, такими как группы, описанные в WO 90/10048, и другие группы, которые повышают

аффинность олигонуклеотида к последовательности нуклеиновой кислоты-мишени, такие как поли-(L-лизин). Кроме того, со смысловыми или антисмысловыми олигонуклеотидами могут быть связаны интеркалирующие средства, такие как эллиптицин, и алкилирующие средства или комплексы металлов, для модификации специфичности связывания антисмыслового или смыслового олигонуклеотида с нуклеотидной последовательностью-мишенью.

Антисмысловые или смысловые молекулы РНК или ДНК, как правило, имеют длину по меньшей мере приблизительно 5 нуклеотидов, альтернативно по меньшей мере приблизительно 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, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 100, 105, 110, 115, 120, 125, 130, 135, 140, 145, 150, 155, 160, 165, 170, 175, 180, 185, 190, 195, 200, 210, 220, 230, 240, 250, 260, 270, 280, 290, 300, 310, 320, 330, 340, 350, 360, 370, 380, 390, 400, 410, 420, 430, 440, 450, 460, 470, 480, 490, 500, 510, 520, 530, 540, 550, 560, 570, 580, 590, 600, 610, 620, 630, 640, 650, 660, 670, 680, 690, 700, 710, 720, 730, 740, 750, 760, 770, 780, 790, 800, 810, 820, 830, 840, 850, 860, 870, 880, 890, 900, 910, 920, 930, 940, 950, 960, 970, 980, 990 или 1000 нуклеотидов, где в этом контексте термин “приблизительно” означает указанную длину нуклеотидной последовательности плюс или минус 10% от этой указной длины.

ПРИМЕРЫ

Следующие неограничивающие примеры предоставлены для иллюстративных целей и не предназначены для ограничения объема изобретения. Коммерчески доступные реагенты, указанные в примерах, использовали согласно инструкциям изготовителя, если нет иных указаний. Источником клеточных линий, указанных в следующих примерах и/или в описании, под регистрационными номерами АТСС является American Type Culture Collection, Manassas, VA.

Пример 1: Материалы и способы

Реагенты, клетки и мыши: IFN γ , TNF α и IL1 β получали от PeprotechTM (Rocky Hill, NJ). IFN α получали от Nycult BiotechnologyTM (The Netherlands). Для экспериментов по поперечному связыванию контрольное антитело против KLH, антитело против LY6A (клон E13-161.7 или D7) получали от PharmingenTM (San Diego, CA). Антитело против LY6C (клон HK1.4) получали от Southern BiotechTM (Birmingham, AL).

Хронический перенесенный колит CD45RB^{high} индуцировали, как описано ранее, у мышей SCID на фоне Balb/c (Powrie, F. et al. (1994) *Immunity* 1:553-562). Мышей IL10^{-/-} (Kuhn, R. et al. (1993) *Cell* 75:263-274) на фоне 129, у которых развивался спонтанный колит, умерщвляли в возрасте между 11 и 13 неделями. Толстые кишечники подвергали быстрому замораживанию в ОСТ до применения в экспериментах, как описано. Проксимальный толстый кишечник, средний толстый кишечник, дистальный толстый кишечник и прямую кишку оценивали с использованием шкалы 0-5 (0 = нормальный кишечник, 5 = тяжелое заболевание). Баллы суммировали для определения общей тяжести колита у каждого животного.

Клеточную линию колоноцитов молодой мыши (YAMC) (полученную Robert Whitehead, Vanderbilt University Medical Center, Nashville, TN) получали из трансгенного животного ImmortomouseTM, содержащего термочувствительный Т-антиген (tsTag) под контролем зависимого от интерферона- γ промотора, как описано ранее (Whitehead, R.H. et al. (1993) *Proc Natl Acad Sci USA* 90:587-591). Клетки YAMC пролиферируют в перmissive условиях, состоящих в 32°C в присутствии 5 единиц/мл IFN- γ (PeprotechTM, New Jersey), но далее не пролиферируют при удалении IFN- γ при 37°C (неpermissive условия).

Клетки YAMC культивировали в RPMI, содержащей 5% FBS, 2 mM L-глутамин, пенициллин/стрептомицин, 5 ед./мл IFN γ и добавку N-2 (Invitrogen™, Carlsbad, CA). Клетки культивировали в непермиссивных условиях в течение 24 часов перед экспериментами и в продолжение экспериментирования.

5 Клетки СМТ93 получали от ATCC (ATCC Number® CCL-223™, ATCC, Manassas, VA) и культивировали в DMEM, содержащей 10% FBS, 2 mM L-глутамин и пенициллин/стрептомицин.

10 *Микроскопия с лазерным захватом и очистка РНК:* 10-12-мкм срезы наносили на покровные стекла LCM (Molecular Machines™, Glattbrugg, Switzerland). Стекла подвергали укороченному окрашиванию H&E (общее время составляло приблизительно пять минут), а затем эпителиальные клетки крипт гистологически идентифицировали и разрезали с использованием микроскопа MMI Cellcut™ (Molecular Machines, Glattbrugg, Switzerland). Из нарезанных клеток очищали РНК с использованием набора для очистки РНК Arcturus™ Picopure™ и протоколов изготовителя (Arcturus™, Sunnyvale, CA) и количественно определяли с использованием спектрофотометра NanoDrop ND-1000™ (NanoDrop Technologies™, Wilmington, DE).

20 *Гибридизация на микрочипах и анализ данных:* Количество и качество исходных образцов тотальной РНК определяли с использованием спектрофотометра ND-1000 (NanoDrop™ Technologies, Montchanin, DE) и Bioanalyzer 2100™ (Agilent™ Technologies, Palo Alto, CA) соответственно. Способ получения меченой Су-красителем кРНК и гибридации на матрицы был предоставлен Agilent™ Technologies (Palo Alto, CA). В кратком изложении, образец тотальной РНК превращали в двухцепочечную кДНК, а затем в меченую кРНК с использованием набора Low RNA Input Fluorescent Linear Amplification™ kit (Agilent™, # продукта 5184-3523). Меченую кРНК очищали с использованием набора RNeasy™ mini kit (Qiagen™, San Diego, CA), а затем количественно определяли с использованием спектрофотометра ND-1000™ (Nanodrop™ Technologies). Включение Су-красителя определяли по разделению меченой кРНК на геле Novex™ с ТВЕ-мочевинной (Invitrogen™, Carlsbad, CA), а затем гель сканировали на сканере Typhoon™ (GE Healthcare™, Piscataway, NJ). Для определения флуоресцентных импульсов Су-красителя изображения гелей анализировали с использованием программного обеспечения ImageQuant™ (GE Healthcare™). Приблизительно 500000 импульсов меченой Су-красителем кРНК фрагментировали и гибридизовывали с полногеномным чипом мыши Agilent, как описано в наборе *In situ* Hybridization kit-plus от Agilent (Agilent™, # продукта 5184-3568). Образцы LCM метили красителем Су5 и гибридизовывали против меченого красителем Су3 универсального стандарта мыши (Stratagene™, La Jolla, CA). После гибридизации чипы промывали, сушили ацетонитрилом и сканировали на сканере для микрочипов ДНК Agilent™. Файлы с изображением чипов анализировали с использованием программного обеспечения Feature Extraction™ 7.5 от Agilent™ и дальнейший анализ данных проводили с использованием Resolver™ (Merck™, Seattle, WA).

50 Данные анализировали с использованием программного обеспечения Rosetta Resolver™ (Rosetta Biosoftware™, Seattle, WA). В кратком изложении нормальные и колитические образцы группировали по отдельности и отбирали зонды, которые проходили двухсторонний апона ($p < 0,05$). Эти зонды далее анализировали в отношении зондов, которые демонстрировали двукратное или более изменение в колитических образцах против нормальных образцов.

Количественная RT-PCR с детекцией в реальном времени: RT-PCR проводили на экстрагированной РНК с использованием набора и реагентов для RT-PCR Taqman™ Gold™ (Applied Biosystems™, Foster City, CA). Все образцы анализировали с праймерами, специфичными к гену, с использованием меченных 5'-FAM и 3'-TAMRA зондов. Анализ проводили по сравнению с праймерами, специфичными к гену домашнего хозяйства, SPF31, способом $2^{-\Delta\Delta Ct}$, как описано (Livak, K.J., and T.D. Schmittgen (2001) *Methods* 25:402-408). Праймеры и зонды либо конструировали с использованием программного обеспечения Primer3™ (Rozen, S., and H. Skaletsky (2000) *Methods Mol Biol* 132:365-386) либо получали коммерчески (Applied Biosystems™). Праймеры и зонды, используемые для этих анализов, были следующими, и они представлены в 5'-3'-направлении:

LY6A:

Смысловой: CTT ACC CAT CTG CCC TCC TA (SEQ ID NO:39)

Антисмысловой: CCT CCA TTG GGA ACT GCT AC (SEQ ID NO:40)

Зонд: TCC TGT TGC CAG GAA GAC CTC TGC (SEQ ID NO:41)

LY6C:

Смысловой: ACT TCC TGC CCA GCA GTT AC (SEQ ID NO:42)

Антисмысловой: GGC ACT GAC GGG TCT TTA GT (SEQ ID NO:43)

Зонд: CTG CCG CGC CTC TGA TGG AT (SEQ ID NO:44)

Иммунофлуоресцентное окрашивание: Замороженные ткани нарезали на 5-мкм срезы и окрашивали биотинилированным антителом против LY6C (Southern Biotech™, Birmingham, AL) или антителом против SCA-1 в количестве 2,5 нг/мл (R&D Systems™, Minneapolis, MN). Стекла промывали и метили Alexa Fluor™ 488, конъюгированным со стрептавидином, закрепляли с использованием Prolong Gold™ с DAPI (Invitrogen™, Carlsbad, CA) и визуализировали посредством конфокальной микроскопии.

Поперечное связывание молекул LY6: Способность поперечно-связанного полипептида LY6 вызывать продукцию хемокинов тестировали посредством инкубации клеток YAMC со связанными с планшетом антителами против LY6C или против KLN (контроль) и измеряли продукцию хемокинов CXCL2, CXCL5 и CCL7. Поскольку для поперечного связывания требуется образование липидных рафтов в клеточной мембране, продукцию хемокинов тестировали в условиях нормального образования рафтов (без истощения холестерина) и в условиях истощения холестерина.

Для поперечного связывания с использованием связанного с планшетом антитела, 100 мкл антитела против LY6C или антитела против KLN (контроль) в концентрации 5 мкг/мл добавляли в 96-луночный планшет или добавляли 2 мл в 60-мм² чашку и позволяли связываться с планшетом в течение 15 часов при 4°C. Клетки YAMC, выращенные в условиях истощения холестерина или без истощения холестерина (как представлено в примере 5 настоящего документа), инкубировали со связанными с планшетом антителами в течение 15 часов при 32°C в условиях с истощением холестерина, РНК собирали и определяли уровни экспрессии CXCL2, CXCL5 и CCL7. Анализ дополнительно описан и результаты представлены в примере 5 настоящего документа.

Ингибирование siРНК: Отдельные siРНК, направленные против LY6C мыши, получали от Dharmacon (Lafayette, CO). siRNA трансфицировали в клетки YAMC с использованием липофектамина 2000 (Invitrogen) и стандартных протоколов. Через 72 часа после трансфекции клетки собирали для определения эффективности

нокдауна. Для экспериментов по поперечному связыванию выбрали одну siРНК, исходя из наивысшей эффективности нокдауна (95% ингибирование посредством количественной RT-PCR).

5 *Секреция CXCL5:* Супернатанты стимулированных клеток собирали в указанный момент времени и определяли концентрации цитокина CXCL5 посредством ELISA с использованием коммерчески доступного набора от R&D Systems™ и протоколов изготовителя. Уровень детекции составил 15 пг/мл CXCL5.

10 *Истощение холестерина:* Клетки YAMC культивировали в течение 72 часов в бессывороточной среде при 37°C в присутствии 4 мкМ ловастатина и 250 мкМ мевалоната (Sigma). Клетки высевали и поддерживали в ловастатине и мевалонате на протяжении эксперимента.

Статистика: Для сравнения групп использовали t-критерий Стьюдента (* указывает на $p < 0,05$).

15 Пример 2: Паттерны экспрессии генов IEC изменяются в ходе колита

В исследованиях было показано, что паттерны экспрессии генов IEC значительно изменяются в моделях колита на мышах, а также при IBD человека (Fahlgren, A., et al. (2004) Clin Exp Immunol 137:379-385; Brand, S. et al. (2006) Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol 290:G827-838; Ruiz, P.A. et al. (2005) J Immunol 174:2990-2999). В этом примере оцененные паттерны экспрессии генов в IEC здоровых мышей и мышей с колитом исследовали для выявления новых генов и каскадов, измененных при IBD.

25 Идентификацию генов, вовлеченных в иммунопатологию IBD, проводили посредством оценки эпителиальных клеток кишечника (IEC) в модели перенесенного колита Т-клеток CD45RB^{Hi} на мышах, а также в модели колита на мышах IL10^{-/-}, обе из которых являются следствием нарушения регуляции Th1 и имеют много общих признаков с болезнью Крона человека (Elson, C.O. et al. (2005) Immunol Rev 206:260-276; Voima, G., and W. Strober (2003) Nat Rev Immunol 3:521-533). Микродиссекцию с лазерным захватом (LCM) использовали для выделения IEC крипт из толстого кишечника здоровых мышей и мышей с колитом в двух моделях IBD мыши. Из этих образцов экстрагировали РНК и анализировали посредством технологии микрочипов, как описано в настоящем документе в примере 1. Профиль экспрессии генов IEC мышей с колитом в модели перенесенного колита привел к 35 идентификации 1770 зондов > 2-кратным изменением экспрессии по сравнению с контрольными мышами, в то время как для модели IL10^{-/-} было идентифицировано 1140 зондов. В обоих моделях перекрывались 540 зондов с >2-кратным изменением экспрессии, соответствующие приблизительно 400 различным генам (данные не представлены).

40 Пример 3: Каскады и гены, измененные в IEC ходе колита

Среди приблизительно 400 генов, измененных в обеих моделях, в наибольшей степени были представлены гены, вовлеченные в представление антигена, передачу сигнала TLR и миграцию клеток (таблица 7). В таблице 7 числа соответствуют 45 среднему значению изменения в кратности со стандартным отклонением по сравнению с универсальной стандартной РНК для мышей с колитом относительно здоровых мышей либо в модели колита IL10^{-/-}, либо в модели колита CD45RB^{Hi}, как указано. Результаты указывают на то, что некоторые экспрессированные в IEC гены 50 демонстрировали измененные паттерны в моделях IBD на мышах. Многие из этих генов, включая TLR2, CCL7, CXCL5 и ICAM-1, были описаны ранее как обладающие повышенной экспрессией в эпителии в ходе колита (Breider, M.A. et al. (1997) Vet Pathol 34:598-604; Ugucioni, M. et al. (1999) Am J Pathol 155:331-336; Z'Graggen, K. et al.

(1997) Gastroenterology 113:808-816; Singh, J.C. et al. (2005) Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol 288:G514-524), позволяя предположить, что паттерн экспрессии генов, полученный в этих микрочипах, точно отражает биологию ИЕС при колите.

5

Таблица 7

Изменение в кратности (значение p)

Миграция клеток		модель IL10 -/-	модель CD45RBhi
	CXCL1	+3,89 (<0,0001)	+2,09 (0,00066)
	CXCL5	+21,82 (<0,0001)	+23,34 (<0,0001)
10	CXCL13	+3,01 (<0,0001)	+2,85 (<0,0001)
	CCL6	-3,47 (<0,0001)	-2,5 (<0,0001)
	CCL7	+4,2 (<0,0001)	+5,54 (0,00026)
	CCL11	-3,43 (<0,0001)	-3,6 (0,00607)
Передача сигнала TLR			
	TLR2	+2,15 (<0,0001)	+2,68 (<0,0001)
15	Fos	+3,64 (<0,0001)	+2,03 (<0,0001)
	LBP	+2,34 (<0,0001)	+2,57 (<0,0001)
	NFKBIA	+2,37 (<0,0001)	+2,15 (<0,0001)
Представление антигена			
	H2-D1	+2,77 (<0,0001)	+2,23 (<0,0001)
20	HLA-A	+2,83 (<0,0001)	+2,40 (<0,0001)
	HLA-B	+2,71 (<0,0001)	+2,44 (<0,0001)
	HLA-E	+2,31 (<0,0001)	+2,34 (<0,0001)
	ICAM-1	+2,51 (<0,0001)	+2,587 (<0,0001)
	PSMB8	+8,10 (<0,0001)	+3,09 (<0,0001)
25	PSMB9	+6,61 (<0,0001)	+2,72 (<0,0001)
	TAP1	+4,05 (<0,0001)	+4,10 (<0,0001)
	TAP2	+2,08 (<0,0001)	+2,18 (<0,0001)

ИЕС могут функционировать в качестве непрофессиональных APC (Snoeck, V. et al. (2005) Microbes Infect 7:997-1004; и Shao, L et al. (2005) Immunol Rev 206:160-176), и паттерн экспрессии генов, полученный на этих микрочипах, указывает на то, что эти функции усиливаются в ходе колита посредством активации генов, ассоциированных с процессингом антигенов, таких как LMP7 и TAP1, а также генов МНС класса I и II, которые могут служить для усиления представления антигенов на поверхности ИЕС.

Данные микрочипов подтверждают концепцию о том, что ИЕС при колите привлекают иммунные клетки к толстому кишечнику посредством измененной экспрессии хемокинов, и могут представлять антиген инфильтрирующим Т-клеткам посредством повышения экспрессии генов, ассоциированных с представлением антигенов.

Пример 4: Экспрессия членов семейства LY6 строго повышается на поверхности ИЕС при колите

Члены семейства молекул LY6 мыши избыточно представлены по количеству и степени активации как в модели перенесенного колита на мышах, так и в модели IL10-/- на мышах (фигуры 23А и 23В). Эти результаты были подтверждены количественной RT-PCR в реальном времени объединенной и амплифицированной РНК ИЕС в модели перенесенного колита (данные не представлены). Экспрессия членов семейства LY6 была уникальной для болезненного состояния, так что у здоровых мышей не экспрессировались поддающиеся оценке уровни любого из этих членов семейства LY6.

Несмотря на то что известна экспрессия молекул LY6 мыши на поверхности клеток гемопоэтического происхождения, экспрессия на ИЕС ранее не была описана (Bamezai, A. (2004) Arch Immunol Ther Exp (Warsz) 52:255-266; и Rock, K.L. et

al. (1989) Immunol Rev 111:195-224). Экспрессия LY6A и LY6C мышши является детектируемой на множестве неэпителиальных клеток, имеющих в толстом кишечнике, таких как Т-клетки и гранулоциты. Иммунофлуоресцентное окрашивание проводили как для LY6A, так и для LY6C мышши, на здоровом и пораженном колитом толстом кишечнике. Уровни LY6A и LY6C мышши были минимальными или отсутствовали на поверхности здорового ИЕС (фигуры 24А и 24С соответственно). Экспрессия как LY6A, так и LY6C мышши была детектируемой на поверхности ИЕС на протяжении толстого кишечника мышшей с колитом (фигуры 24В и 24Д соответственно). Не было доказательств поляризации либо LY6A, либо LY6C, и окрашивание присутствовало как на апикальной, так и на базолатеральной мембранах, что делает молекулы LY6 потенциально доступными для лигандов на любой поверхности. Эти данные указывают на то, что результаты анализа на микрочипах, демонстрирующие активацию LY6A и LY6C мышши в моделях колита на мышшах, не были следствием влияния контаминирующих иммунных клеток.

Пример 4: Транскрипция генов LY6 стимулируется воспалительными цитокинами

Экспрессия LY6 на Т-клетках индуцируется и усиливается IFN как I, так и типа II (Khodadoust, M.M., K.D. Khan, and A.L. Bothwell. 1999. Complex regulation of Ly-6E gene transcription in T cells by IFNs. J Immunol 163:811-819). Более того, экспрессия ряда цитокинов повышается в толстом кишечнике при активном колите (Niessner, M., and B.A. Volk. 1995. Altered Th1/Th2 cytokine profiles in the intestinal mucosa of patients with inflammatory bowel disease as assessed by quantitative reversed transcribed polymerase chain reaction (RT-PCR). Clin Exp Immunol 101:428-435).

Для определения влияния присутствующих в ходе колита цитокинов на транскрипцию членов семейства LY6 в ИЕС, авторы настоящего изобретения обработали клетки YAMC, условно иммортализованную линию ИЕС мышшей, посредством IL-1 β , IFN α , TNF α , IFN γ или сочетанием TNF α и IFN γ и анализировали транскрипцию всех идентифицированных генов LY6 мышши количественной RT-PCR с детекцией в реальном времени (таблица 8). В кратком изложении, уровни мРНК указанного члена семейства LY6 в ИЕС определяли количественной RT-PCR с детекцией в реальном времени через 15 часов после обработки указанным цитокином. Числовые значения соответствуют изменению в кратности (определенному способом $2^{-\Delta\Delta Ct}$) по сравнению с контролем с необработанной средой. *, P<0,05 против контрольной среды. †, p<0,05 против обработанных IFN γ клеток. Следующие члены семейства LY6 были протестированы, но не были выявлены в образцах, независимо от обработки: LY6K, Lypd3, Lypd4, Lypd5, LY6g5b, LY6g6d, LY6g6e, Slurp1. Результаты указывают, что в ответ на воспалительные цитокины в ИЕС активируются члены семейства LY6.

Таблица 8

	Среда	IL1 β	TNF α	IFN α	IFN γ	IFN γ & TNF α	
45	Ly6A	1,0	1,8*	2,2*	2,8*	33,1*	65,4*†
	Ly6C	1,0	1,6*	1,2*	2,4*	65,6*	63,6*
	Ly6D	1,0	2,7*	2,1*	1,5*	1,0	0,9
	Ly6E	1,0	1,4*	1,5*	2,1*	1,9*	2,9*†
	Ly6F	1,0	2,5*	0,6*	7,1*	108,2*	169,7*†
	Ly6H	1,0	1,0	1,1	1,2	3,7*	1,4†
50	Lypd1	1,0	1,5*	2,1*	1,3*	1,3*	2,9*†
	Lypd2	1,0	0,1*	ND	0,4*	0,1*	ND
	Ly6g5c	1,1	1,3	0,8	0,9	1,3	1,1
	Ly6g6c	1,0	0,7	0,7	0,6	0,6*	0,3*†

Slurp2/Lynx1	1,1	0,7	0,4	0,7	1,5	0,4*
--------------	-----	-----	-----	-----	-----	------

Несмотря на то что многие из членов семейства LY6 не выявлялись либо в присутствии, либо в отсутствие воспалительных цитокинов, авторы настоящего изобретения выявили выраженную активацию транскрипции LY6A, LY6C и LY6F 5
мышцы в ответ на большинство тестируемых цитокинов, а также более умеренную активацию LY6E, LY6H и LYPD1 мышцы в ответ на некоторые тестируемые цитокины. Однако IFN γ несомненно был наиболее эффективным цитокином в отношении индукции активации LY6. Более того, TNF α усиливал эффекты IFN γ на 10
экспрессию LY6A, LY6F, LY6E и LYPD1. Сходную активацию членов семейства LY6 наблюдали в другой линии ИЕС мышцы, СМТ93 (данные не представлены).

Для исследования поверхностной экспрессии членов семейства LY6 в ответ на цитокины, клетки YAMC подвергали воздействию указанных выше цитокинов и 15
анализировали проточной цитометрией в отношении экспрессии LY6A и LY6C мышцы, для которых доступны коммерческие антитела, как описано в настоящем документе в примере 1. Высокие уровни LY6A мышцы экспрессировались на клетках YAMC даже в отсутствие добавленных цитокинов (фигура 25B, среда). 20
Экспрессия LY6C мышцы (фигура 25A, среда) была значительно ниже, чем экспрессия LY6A.

IL-1 β и TNF α индуцировали небольшое повышение поверхностной экспрессии как LY6A, так и LY6C мышцы, что согласуется с экспрессией РНК (фигуры 25A и 25B). 25
Более умеренное повышение экспрессии было отмечено, когда к клеткам добавляли IFN α , в то время как IFN γ индуцировал резкое повышение поверхностной экспрессии как LY6A, так и LY6C (фигура 25A и 25B). Поверхностная экспрессия белка точно отражала экспрессию РНК. Th2-цитокины, такие как IL4, IL10 или IL13, не оказывали эффекта на поверхностную экспрессию либо LY6A, либо LY6C (данные не представлены).

Индукция как LY6A (фигура 25D), так и LY6C (фигура 25C) посредством IFN γ была дозозависимой. Уже дозы 6,25 единиц/мл IFN γ приводили к детектируемому 30
повышению уровня обеих молекул LY6 посредством проточной цитометрии. Более того, повышение поверхностной экспрессии как LY6A (фигура 25F), так и LY6C (фигура 25E) стало очевидным между 2 и 4 часами после обработки IFN γ , и экспрессия постоянно возрастала в течение по меньшей мере 24 часов после 35
обработки IFN γ . Эти данные указывают на то, что относительно низкие концентрации IFN γ являются достаточными для повышения поверхностной экспрессии молекулы LY6 в пределах часов.

Существуют данные, что IL-22, который секретируется, главным образом, из активированных Т-клеток, функционирует через комплекс IL-22R, представленный на ИЕС, обеспечивая продукцию цитокинов и воспалительный фенотип (Brand, S.F. et al. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol 290:G827-838 (2006)). Более того, IL-22 45
вовлечен в иммунопатогенез болезни Крона. Для исследования того, влияет ли IL-22 на экспрессию молекулы LY6 на ИЕС мышцы, клетки YAMC культивировали в присутствии IL-22 и анализировали в отношении экспрессии LY6C (фигура 25G) и LY6A (фигура 25H). Уровни обеих молекул LY6 значительно возрастали в присутствии IL-22, что сравнимо с уровнями при индукции, наблюдаемой после 50
обработки IFN γ .

Чтобы убедиться, что активация молекул LY6 не была специфичной для клеточной линии YAMC, исследовали уровни РНК LY6A и LY6C мышцы в опухолевой клеточной линии эпителия толстого кишечника мышцы СМТ93. Уровни как LY6A

мышь, так и LY6C мышь повышались при обработке IFN γ (фигура 25I). Хотя уровни активации молекул LY6 были более умеренными в клетках СМТ93, анализ проточной цитометрией показал, что уровни были достаточно высокими даже в необработанных клетках (данные не представлены), что, вероятно, является

результатом опухолевого фенотипа клеток СМТ93. Эти данные подтверждают данные, полученные количественной RT-PCR с детекцией в реальном времени, о том, что в ответ на воспалительные цитокины в ИЕС активируются члены семейства LY6.

Пример 5: Стимуляция ИЕС посредством LY6 ассоциирована с образованием липидных рафтов

Как GPI-заякоренные белки, члены семейства LY6 не обладают уникальным внутриклеточным доменом, ассоциированным с традиционной передачей сигнала снаружи внутрь. Вместо этого они находятся в микродоменах липидных рафтов (Bohuslav, J. et al. Eur J Immunol 23:825-831(1993)). Однако было сделано предположение, что поперечное связывание членов семейства LY6 на поверхности клеток приводит к перераспределению других молекул клеточной поверхности, а также к реорганизации структур липидных рафтов, демонстрируя механизм, посредством которого молекулы LY6 могут влиять на передачу сигнала и последующие клеточные функции (Simons, K. et al., Nat Rev Mol Cell Biol 1:31-39 (2000)).

К настоящему времени идентифицировано несколько лигандов для белков LY6, а лиганды для LY6A или LY6C в настоящее время не известны (Paret, C. et al. (2005) Int J Cancer 115:724-733; Apostolopoulos, J. et al. (2000) Immunity 12:223-232; и Classon, B.J. (2001) Trends Immunol. 22:126-127). Для поддержания целостности липидных рафтов требуется холестерин (Simons, K., et al. J Clin Invest 110:597-603 (2002)), и истощение холестерина часто используют для ингибирования биосинтеза липидных рафтов *in vitro* (von Tresckow, B. et al. J Immunol 172:4324-4331 (2004)).

Для анализа того, происходит ли реорганизация липидных рафтов в ИЕС в ответ на поперечное связывание LY6, клетки YAMC выращивали в условиях истощения холестерина (условия, при которых липидные рафты устраняются в клетках) и в условиях без истощения холестерина (условия, позволяющие образование липидных рафтов). Для условий истощения холестерина клетки YAMC выращивали в отсутствие сыворотки и в присутствии 4 мкМ ловастатина и 0,25 мМ мевалоната (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO) в течение 72 часов при 37°C. Те же условия роста использовали для клеток YAMC в условиях без истощения холестерина, за исключением того, что к среде для роста не добавляли ловастатин или мевалонат. Затем клетки поднимали и LY6C подвергали поперечному связыванию, как описано выше в примере 1. РНК собирали и определяли уровни экспрессии CXCL2, CXCL5 и CCL7.

Результаты этих исследований указывают на то, что устранение липидных рафтов приводит к ингибированию опосредуемой LY6C продукции хемокинов. На фигурах 26A-26C показано, что клетки YAMC с истощением холестерина (темные столбцы) продуцировали меньшее количество хемокина, чем клетки без истощения холестерина (незакрашенные столбцы). Истощение холестерина влияло на продукцию хемокинов в контрольных стимулированных антителом против KLN группах, независимо от стимуляции LY6C, однако ответ был минимальным и не имел постоянного направления. Для исследования того, влияет ли истощение холестерина на жизнеспособность клеток в целом, авторы настоящего изобретения определяли гибель клеток, по исключению 7AAD, и выявили, что истощение холестерина не

оказывало значительного влияния на жизнеспособность клеток YAMC (жизнеспособность 92% относительно 86% в клетках с истощением холестерина, данные не представлены). Поверхностная экспрессия как LY6A (фигура 26D), так и LY6C (фигура 26E) была значительно ниже в клетках YAMC с истощением холестерина, позволяя предположить, что уровни холестерина плазматической мембраны и целостность липидных рафтов влияют на уровни экспрессии LY6 на поверхности клеток. Эти данные подтверждают, что целостность липидных рафтов, на которую влияет биосинтез холестерина, делает возможной экспрессию молекул LY6 на поверхности и потенциально вовлечена в опосредуемую LY6C индукцию хемокинов. Таким образом, усиление продукции хемокинов, опосредуемое взаимодействием полипептидов LY6C в клеточной мембране, требует наличия липидных рафтов на клеточной поверхности.

Пример 6: Поперечное связывание LY6C приводит к повышенной поверхностной экспрессии молекул LY6

Было описано, что поперечное связывание LY6C на поверхности Т-клеток приводит к "слушиванию" LY6C (Jaakkola, I. et al. (2003) J Immunol 170:1283-1290). Однако в отличие от Т-клеток, когда LY6C мыши подвергали поперечному связыванию на поверхности ИЕС, не происходило "слушивания" ни LY6A, ни LY6C (фигуры 27A и 27B соответственно). В противоположность этому, в отсутствие IFN γ уровни поверхностной экспрессии как LY6A, так и LY6C возрастали на ИЕС с поперечно-связанным LY6C, но не LY6A. Когда ИЕС предварительно инкубировали с IFN γ , большая часть этого эффекта устранялась (фигура 27C), однако все еще выявлялась небольшая активация LY6A (фигура 27D).

Эти данные указывают на положительную обратную связь, при которой стимуляция через LY6C на ИЕС приводит к повышенной поверхностной экспрессии молекул LY6.

Пример 7: Стимуляция LY6A приводит к повышенной секреции хемокинов

Функции молекулы LY6 полностью не выяснены. Для исследования роли молекул LY6 в иммунопатологии колита исследовали эффекты стимуляции молекул LY6 на транскрипцию и секрецию хемокинов из ИЕС.

Для анализа продукции хемокинов из ИЕС в ответ на поперечное связывание молекул LY6 мыши, клетки YAMC, либо предварительно обработанные IFN γ , либо не обработанные, культивировали на планшетах, покрытых либо контрольным антителом против KLH, либо антителом против LY6A, либо антителом против LY6C. Через двадцать четыре часа получали мРНК из этих клеток и анализировали посредством количественной RT-PCR в отношении экспрессии CCL2, CCL4, CCL5, CCL7, CCL8, CCL25, CXCL1, CXCL2, CXCL5, CXCL10, CXCL12 и CX3CL1, которые являются хемокинами, вовлеченными в колит (таблица 9) (Papadakis, K.A. (2004) Curr Allergy Asthma Rep 4:83-89; Banks, C. et al. (2003) J Pathol 199:28-35; и Papadakis, K.A., and S.R. Targan (2000) Inflamm Bowel Dis 6:303-313). Анализ проводили в непермиссивных условиях роста (37°C в отсутствие IFN γ) для исключения возможности повышенной пролиферации ИЕС в ответ на стимуляцию IFN γ .

Предварительная обработка>	Среда			IFN		
	Антитело против KLH	Антитело против LY6A	Антитело против LY6C	Антитело против KLH	Антитело против LY6A	Антитело против LY6C
CCL2	1,01 (0,14)	-1,38 (0,13)	8,81 (0,72)	3,53 (0,21)	2,83 (0,21)	16,12 (0,56)

	CCL4	1,31 (1,14)	1,83 (0,49)	3,15 (1,17)	5,35 (0,48)	3,65 (0,69)	16,12 (0,56)
	CCL5	1,00 (0,10)	1,09 (0,02)	3,31 (0,15)	2,73 (0,13)	2,76 (0,23)	10,13 (0,27)
5	CCL7	1,00 (0,11)	1,06 (0,08)	3,37 (0,15)	2,82 (0,44)	1,39 (0,33)	5,81 (0,51)
	CCL8	1,03 (0,30)	2,05 (0,37)	12,78 (3,14)	74,22 (8,94)	74,44 (9,81)	110,44 (3,36)
	CCL25	1,01 (0,16)	1,06 (0,11)	1,16 (0,00)	1,38 (0,36)	1,32 (0,15)	1,46 (0,19)
10	CXCL1	1,00 (0,07)	-3,17 (0,11)	11,58 (0,12)	-1,13 (0,10)	-1,64 (0,17)	13,36 (0,35)
	CXCL2	1,33 (1,10)	ND	21,81 (3,13)	14,30 (3,30)	10,95 (3,05)	113,20 (16,23)
	CXCL5	1,08 (0,53)	ND	118,45 (65,14)	1,70 (1,15)	ND	150,99 (55,50)
15	CXCL10	1,00 (0,05)	1,02 (0,06)	5,11 (0,19)	5,68 (0,31)	5,22 (0,22)	12,22 (0,51)
	CXCL12	1,01 (0,14)	1,12 (0,05)	-1,99 (0,14)	-1,11 (0,05)	-1,23 (0,21)	-3,02 (0,06)
	CX3CL1	1,00 (0,08)	-1,18 (0,15)	1,92 (0,07)	2,21 (0,11)	1,87 (0,16)	3,22 (0,42)

20 Клетки, предварительно обработанные IFN γ , продемонстрировали активацию большинства из этих генов хемокинов (см. группу "среда, антитело против KLH", относительно группы "IFN γ , антитело против KLH" таблицы 9). Однако за исключением активации CCL8 и подавления CXCL1, стимулированные антителом против LY6A клетки YAMC продемонстрировали сходные паттерны экспрессии генов с клетками YAMC, стимулированными антителом против KLH. Однако
25 клетки YAMC, стимулированные антителом против LY6C, продемонстрировали повышенную экспрессию всех анализируемых хемокинов за исключением CCL25, который оставался по существу неизменным, и CXCL12, который подавлялся в ответ на стимуляцию LY6C. Несмотря на то что повышенная экспрессия хемокинов, индуцированная поперечным связыванием LY6C, не зависела от IFN γ , клетки, предварительно обработанные IFN γ , продемонстрировали повышенную экспрессию хемокинов относительно клеток, которые не были предварительно обработаны IFN γ .

35 Для анализа кинетики индукции хемокинов стимуляцией LY6C на 96-луночные планшеты наносили антитело против KLH или моноклональное антитело либо против LY6A, либо против LY6C. Добавляли клетки YAMC, либо предварительно обработанные, либо предварительно не обработанные IFN γ , на 24, 48 или 72 часа. В указанный момент времени РНК собирали для анализа посредством
40 количественной RT-PCR и супернатанты собирали для ELISA.

В течение 24 часов был выявлен пик транскрипции как CXCL5, так и CCL7 на клетках с поперечно-связанным LY6C, но не LY6A (фигура 28A). Повышенная экспрессия CXCL5 и CCL7 снижалась с течением времени, но все еще выявлялась
45 через 72 часа в культуре. Несмотря на то что IFN γ не требовался для повышения транскрипции хемокинов, IFN γ действовал синергично со стимуляцией LY6C при индукции транскрипции как CXCL5, так и CCL7 в ранние моменты времени.

Параллельно с экспрессией генов супернатанты клеток с поперечно связанным LY6C, но не LY6A, содержали значительно более высокие
50 концентрации CXCL5 через 48 часов (фигура 28B). Эффект был дозозависимым, и детектировался уже при 1 мкг/мл нанесенного антитела против LY6C. Подобно транскрипции, секреция CXCL5 усиливалась, когда клетки предварительно обрабатывали IFN γ , однако IFN γ не требовался для эффекта. Повышенную

секрецию CXCL5 также отмечали в моменты времени как 24, так и 72 часа.

Для того чтобы убедиться, что LY6C вовлечен в наблюдаемую активацию хемокинов, авторы настоящего изобретения использовали siРНК для нокдауна LY6C.

5 Транскрипт LY6C ингибировался на 95% в отсутствие IFN γ и приблизительно на 90% в присутствии IFN γ при определении количественной RT-PCR, что соответствовало значительно более низким уровням LY6C на поверхности
10 клеток YAMC (данные не представлены). Клетки со сниженными уровнями LY6C на поверхности продемонстрировали сниженный ответ на поперечное связывание LY6C в отношении транскрипции хемокинов (фигура 28C). Секреция CXCL5 также значительно ингибировалась нокдауном LY6C (данные не представлены).

Эти результаты указывают на то, что поперечное связывание LY6C, но не LY6A, на поверхности ИЕС приводит к повышенной секреции хемокинов.

15 Пример 8: ИЕС *in vivo* демонстрируют сходную экспрессию генов хемокинов со стимулированными LY6C клетками

Указанные выше данные определяют модель, посредством которой ИЕС, стимулированные через LY6C мыши, значительно повышают экспрессию генов хемокинов.

20 Анализируя данные микрочипов от ИЕС, подвергнутых лазерной микродиссекции, в моделях колита на мышах, исследовали экспрессию тех же 12 генов хемокинов у здоровых мышей и мышей с колитом в двух моделях колита на мышах для определения того, коррелируют ли хемокины, стимулированные поперечным
25 связыванием LY6C *in vitro*, с хемокинами, секретируемыми ИЕС *in vivo* (фигуры 29A и 29B). Хотя паттерн экспрессии не является идентичным активации хемокинов вследствие стимуляции LY6C, экспрессия CXCL5, который был наиболее высоко активированным геном хемокина в исследованиях *in vitro*, также наиболее активировалась в моделях колита на мышах. Авторы настоящего изобретения
30 наблюдали значительную активацию экспрессии CXCL1, CXCL10, CCL5 и CCL7 в обеих моделях колита. Кроме того, авторы настоящего изобретения наблюдали активацию CCL4 и CCL8 в модели перенесенного колита или в модели IL10 -/- соответственно.

35 Интересно, что единственный хемокин, который подавлялся в результате стимуляции LY6C мыши *in vitro*, CXCL12, также был единственным из этих хемокинов, который подавлялся *in vivo*.

Пример 9: Экспрессия генов LY6 человека в клетках толстого кишечника

40 Исследовали экспрессию LY6H, LYPD1, LYPD3 и LYPD5 человека в клеточной линии толстого кишечника человека, клетках Colo 205 (клеточная линия, полученная из карциномы толстого кишечника человека, регистрационный номер ATCC™ CCL-222™). Клетки Colo 205 человека обрабатывали цитокинами IFN- γ , LPS, TNF α , IFN- γ + TNF α , IFN- γ + LPS или LPS + TNF α (все в концентрации 100 нг/мл, за исключением LPS с концентрацией 1 мкг/мл) в течение 18 часов (LYPD3) или 24
45 часов (LY6H или LYPD5). РНК собирали и очищали и экспрессию указанного члена семейства LY6 определяли посредством количественной RT-PCR с использованием реагентов от Applied Biosystems™ согласно инструкциям изготовителя. Праймеры и зонды, используемые для анализа посредством RT-PCR, были следующими:

50 LYPD1:

Смысловой: CAT GAT CCT CCG AAT CTG GT (SEQ ID NO:59)

Антисмысловой: AGC ACA GAA CAG AGG GGC TA (SEQ ID NO:60)

Зонд: ATA CGG CCA ATG TCA CAA CA (SEQ ID NO:61)

LYPD3:

Смысловой: ACT TCC TGT TCC CAC CAC TG (SEQ ID NO:62)

Антисмысловой: AGA GGA CAA GCG GAG AGA CA (SEQ ID NO:63)

Зонд: TTC TGG CAG GGG TGT TCT AG (SEQ ID NO:64)

LY6H:

Смысловой: AGC AGC AGC AGG AAG GAT (SEQ ID NO:65)

Антисмысловой: AAA AGT GCC GCT TAA CGA AG (SEQ ID NO:66)

Зонд: CAA GAT GTG TGC TTC CTC CTG CGA (SEQ ID NO:67)

Праймеры и зонды для LYPD5 были приобретены от Applied Biosystems™ (каталожный номер HS00289062_m1).

Результаты, нанесенные на график на фигурах 30А-30С, указывают на повышение в кратности экспрессии этих генов LY6 человека по сравнению с контролем в виде В-актина человека. После обработки указанными цитокинами наблюдали значительное повышение экспрессии LY6H, LYPD3 и LYPD5 человека.

Пример 10: Экспрессия генов LY6 человека в биоптате ткани толстого кишечника

Для дальнейшего изучения источника повышенной экспрессии LYPD1 и LYPD5 в толстом кишечнике пациентов с CD и UC проводили анализ в группе биоптатов пациентов с UC, CD и контролей. Анализ на микрочипах экспрессии LYPD1 с использованием РНК, экстрагированной из биоптатов толстого кишечника, показал статистически значимую повышенную экспрессию в воспаленной ткани толстого кишечника пациентов с CD (фигура 31А). В биоптатах UC и CD, взятых из толстого кишечника, наблюдали статистически значимую повышенную экспрессию LYPD5 в воспаленной ткани пациентов с UC и CD (фигура 31В). Это не наблюдалось в невоспаленных контрольных биоптатах.

Экспрессию LY6H человека в биоптатах терминального отдела подвздошной кишки воспаленной ткани IBD анализировали относительно контрольных биоптатов (не-IBD) терминального отдела подвздошной кишки с использованием анализа RT-PCR (Taqman™). Экспрессия LY6H человека в биоптатах с воспалением при IBD по меньшей мере в 1,5 раза превышала его экспрессию в контроле.

Экспрессия LYPD3 человека в биоптатах воспаленной толстой кишки UC активировалась и в биоптатах с воспалением при IBD менее чем в 2 раза превышала его экспрессию в контроле.

Результаты этих примеров демонстрируют экспрессию молекул LY6 на поверхности ИЕС и, кроме того, указывают на то, что экспрессия является уникальной для ИЕС в условиях воспаления. Более того, уровни поверхностной экспрессии LY6А и LY6С были высокими на ИЕС у мышей с колитом и практически одинаковыми на протяжении толстого кишечника. Поскольку молекулы как являются специфичными для болезненного состояния, так и повсеместно экспрессируются при заболевании, выявление экспрессии гена LY6 или полипептида человека, в частности LY6H, LYPD1, LYPD3 и LYPD5, является пригодным способом детекции IBD, включая UC и/или CD у человека. Кроме того, способ детекции экспрессии LY6 человека пригоден для диагностики IBD, UC и/или CD у человека и мониторинга ответа на лекарственные средства от IBD.

В примерах, описанных в настоящем документе, было показано функциональное значение экспрессии LY6 в ИЕС. Клетки YAMC были строго положительными по LY6А и экспрессировали более низкие уровни LY6С. Однако при стимуляции рядом цитокинов, присутствующих в толстом кишечнике при колите, включая IL-1β, TNFα, IFNα, и в частности IL-22 и IFNγ, уровни экспрессии обеих молекул LY6

значительно повышались. Клетки YAMC, предварительно обработанные IFN γ для повышения экспрессии молекул LY6, были пригодной моделью *in vitro* для анализа функционального значения экспрессии LY6.

5 Зависимая от условий иммортализованная природа клеток YAMC является следствием запускаемой промотором MHC II экспрессии большого Т-антигена SV40; для запуска пролиферации в этих клетках используют низкие уровни (2,5-5 ед./мл) IFN γ (Whitehead, R.H. et al. (1993) Proc Natl Acad Sci USA 90:587-591; Whitehead, R.H., and J.L. Joseph. (1994) Epithelial Cell Biol 3:119-125). Клетки YAMC часто используют в
10 качестве модели *in vitro* для обработки цитокинами ИЕС мыши (Mei, J.M. et al. (2000) *Faseb J* 14:1188-1201; Yan, F., and D.B. Polk (2002) J Biol Chem 277:50959-50965). Большой Т-антиген SV40, который содержат эти клетки, является термочувствительным и является нефункциональным при 37°C. Все эксперименты, проведенные в данном исследовании, включали обработку посредством IFN γ в этих
15 непермиссивных условиях. Кроме того, клетки YAMC подвергали бессывороточному голоданию (и голоданию IFN γ) при 37°C в течение 24 часов перед экспериментами. В таких условиях не наблюдались эффекты, указывающие на остаточную экспрессию Т-антигена, такие как пролиферация клеток. В результате
20 эффекты обработки IFN γ были следствием эффектов IFN γ , а не эффектов, обусловленных запуском экспрессии Т-антигена. Более того, активацию членов семейства LY6 наблюдали во второй клеточной линии мыши, СМТ93, подтверждая, что этот эффект является широко применимым для ИЕС.

Более того, IFN γ не был уникален среди цитокинов для индукции молекул LY6,
25 поскольку умеренную активацию экспрессии LY6 наблюдали после обработки посредством TNF α , IL-1 β и IL-22. Активация молекулы LY6 на ИЕС в ответ на IL-22 является интересной ввиду недавних данных, демонстрирующих потенциальную роль IL-22 при болезни Крона (Wolk, K., et al. J Immunol 178:5973-5981 (2007)).
30 Несмотря на то что гомология между молекулами LY6 мыши и человека часто является сложной, существуют данные, позволяющие предположить, что активация молекул LY6 не ограничивается мышами. Предшествующие исследования на крысах показали активацию молекул LY6 в тонком кишечнике в моделях колита, и было предположено, что такая экспрессия вовлечена в воспаление, межклеточные
35 взаимодействия, а также в передачу сигнала в ИЕС крысы (Baksheev, L. et al. J Gastroenterol 41:1041-1052 (2006)).

Данные, описанные выше, указывают на то, что существует вероятность того, что в опосредуемую LY6С передачу сигнала в ИЕС вовлечена целостность липидных
40 рафтов. Это подразумевает, что нарушение липидных рафтов может служить для ослабления последующих эффектов стимуляции LY6С как посредством подавления экспрессии LY6С, так и посредством нарушения структурных компонентов передачи сигнала LY6С. Недавно было определено, что истощение холестерина в ИЕС статинами ингибирует экспрессию провоспалительных генов через
45 модулирование NF- κ B (Lee, J. et al., Int Immunopharmacol 7:241-248 (2007)). Более того, статины были эффективными лекарственными средствами в моделях колита на мышах (Naito, Y., et al. Int J Mol Med 17:997-1004 (2006)). Механизм, связывающий подвижность липидных рафтов и блокаду NF- κ B, остается неопределенным, однако
50 наши данные показывают, что активация через LY6С может быть одной из гипотез для объяснения механизма действия.

В этом исследовании авторы настоящего изобретения идентифицировали молекулы LY6 в качестве потенциального вышерасположенного переключателя

экспрессии генов хемокинов. Поперечное связывание рецептора LY6C моноклональными антителами привело к резкой активации практически всех анализируемых хемокинов, включая CXCL5. Кроме того, авторы настоящего изобретения подтвердили, что секреция CXCL5 значительно усиливается в ИЕС с поперечно-связанным LY6C. Интересно, что даже несмотря на то, что как LY6A, так и LY6C заякорены на клеточной поверхности группой GPI, и несмотря на более высокие уровни экспрессии LY6A, чем LY6C, на поверхности ИЕС, последующие эффекты на секрецию хемокинов наблюдаются при поперечном связывании LY6C и непостоянно при поперечном связывании LY6A.

Пример 11: Идентификация лиганда для LYPD5

В этом исследовании специалисты в данной области клонировали для экспрессии приблизительно 14000 генов человека под промотором CMV в клетках COS. Пулы из 100 генов трансфицировали в клетки COS, выращенные в 140 лунках на 12-луночных планшетах. После трансфекции клетки окрашивали белком LYPD5-Fc (см. фигуру 32). Идентифицировали лунки с положительным окрашиванием и отдельные клоны трансфицировали в клетки COS. Идентифицировали единичную лунку, экспрессирующую единичный белок, GLG-1 (ESL-1) в качестве лиганда для LYPD5. GLG-1 характеризуется длинным внеклеточным доменом (ECD), трансмембранным доменом и цитоплазматическим доменом. Для оценки способности различных участков GLG-1 ECD связываться с LYPD5 проводили серию исследований коиммунопреципитации с использованием способов, известных средним специалистам в данной области. Было выявлено, что варианты или фрагменты GLG-1 ECD (см. фигуры 33-35) были способны служить в качестве лиганда для LYPD5. На фигуре 33В представлены результаты исследований коиммунопреципитации с использованием фрагментов 1, 2, 3 или 4, как изображено на фигуре 33А, и показано, что любой из этих фрагментов является достаточным для связывания LYPD5.

Кроме того, было выявлено, что сам ECD-домен GLG-1 является достаточным для связывания LYPD5. Как представлено на фигуре 33, GLG-1 состоит из множества доменов GLG-1, и единичные домены GLG-1 могут связывать LYPD5. На фигуре 34В представлены результаты коиммунопреципитации, демонстрирующие, что фрагменты 1, 2, 3 и 4, а также единичные домены GLG-1 115, 150, 215, 538, 609, 670, 729 и 858 (как представлено на фигуре 34А) были способны связывать LYPD5.

В другом исследовании коиммунопреципитации было показано, что связывание является специфичным на основе фрагментов LYPD5 (см. фигуру 35А), где было выявлено, что LYPD5 не связывается с отрицательным контролем ВАР, было выявлено, что отрицательный контроль FN14 не связывает фрагмент 2 GLG-1, домен 115 GLG-1 человека связывает LYPD5, домен 115 не всегда экспрессируется на детектируемых уровнях, однако подавляет LYPD5, и фракция фрагмента 1 GLG-1 человека, которая лишена домена 115 (остатки 26-114), не связывает LYPD5 (фигура 35В).

На фигурах 34А и 35А "*" указан потенциальный участок фукозилирования.

Несмотря на то что представленное изобретение довольно подробно описано посредством иллюстрации и примеров для ясности понимания, описание и примеры не следует истолковывать как ограничивающие объем изобретения. Описания всей патентной и научной литературы, цитированной в настоящем документе, включены в настоящий документ в качестве ссылок в полном объеме.

Формула изобретения

1. Способ выявления воспалительного заболевания кишечника (IBD) у млекопитающего, включающий

а) контактирование (i) очищенной РНК из тестируемого образца ткани или клеток, полученного у указанного млекопитающего, и (ii) контрольного образца с детектирующим средством, содержащим смысловой или антисмысловой олигонуклеотид, связанный с детектируемой меткой, который представляет собой одноцепочечную последовательность нуклеиновой кислоты, способную связываться с последовательностями-мишенями мРНК или ДНК LY6; и

б) детекцию уровня экспрессии гена, кодирующего полипептид LY6, в тестируемом образце и контрольном образце, где более высокий уровень экспрессии нуклеиновой кислоты или полипептида LY6 в тестируемом образце по сравнению с контрольным образцом указывает на наличие IBD у млекопитающего, у которого был получен тестируемый образец.

2. Способ по п.1, где тестируемый образец ткани или клеток получен у млекопитающего, предположительно страдающего IBD.

3. Способ по п.1, где тестируемый образец ткани или клеток получен у млекопитающего, предположительно страдающего язвенным колитом (UC).

4. Способ по п.1, где ткани или клетки млекопитающего подвергали контактированию с лекарственным средством и где уровень экспрессии LY6 указывает на наличие или отсутствие ответа на лекарственное средство в ткани или клетках млекопитающего.

5. Способ по п.1, где ткани или клетки млекопитающего подвергали контактированию с лекарственным средством, где детекция является второй или последующей детекцией и где уровень экспрессии LY6 указывает на наличие или отсутствие ответа на лекарственное средство в ткани или клетках млекопитающего.

6. Способ по п.1, где источником ткани или клеток тестируемого образца является желудочно-кишечный тракт млекопитающего.

7. Способ по п.6, где источником ткани или клеток тестируемого образца является толстый кишечник млекопитающего.

8. Способ по п.1, где контрольный образец представляет собой образец нормальной ткани или клеток того же источника или типа ткани без IBD, или множество образцов тканей или клеток того же происхождения или типа ткани без IBD, уровни экспрессии в которых усреднены, или универсальный контроль, соответствующий экспрессии генов во множестве образцов здоровой нормальной ткани того же вида.

9. Способ по п.1, где ткань или клетки тестируемого образца являются воспаленными.

10. Способ по п.1, где ткань или клетки тестируемого образца не являются воспаленными.

11. Способ по п.1, в котором детекция б) включает детекцию образования комплекса между нуклеиновой кислотой и полинуклеотидом тестируемого образца и контрольного образца, где повышенное образование комплекса в тестируемом образце по сравнению с контрольным образцом указывает на упомянутый более высокий уровень экспрессии нуклеиновой кислоты или полипептида LY6 в тестируемом образце по сравнению с контрольным образцом.

12. Способ выявления воспалительного заболевания кишечника (IBD) у млекопитающего, включающий

(а) контактирование (i) очищенной РНК из тестируемого образца ткани или

клеток, полученного у указанного млекопитающего, и (ii) контрольного образца с детектирующим средством, содержащим смысловой или антисмысловой олигонуклеотид, связанный с подложкой, который представляет собой одноцепочечную последовательность нуклеиновой кислоты, способную связываться с последовательностями-мишенями мРНК или ДНК LY6; и

(b) детекцию уровня экспрессии гена, кодирующего полипептид LY6, в тестируемом образце и контрольном образце, где более высокий уровень экспрессии нуклеиновой кислоты или полипептида LY6 в тестируемом образце по сравнению с контрольным образцом указывает на наличие IBD у млекопитающего, у которого был получен тестируемый образец.

13. Способ по п.12, где тестируемый образец ткани или клеток получен у млекопитающего, предположительно страдающего IBD.

14. Способ по п.12, где тестируемый образец ткани или клеток получен у млекопитающего, предположительно страдающего язвенным колитом UC.

15. Способ по п.12, где ткани или клетки млекопитающего подвергали контактированию с лекарственным средством и где уровень экспрессии LY6 указывает на наличие или отсутствие ответа на лекарственное средство в ткани или клетках млекопитающего.

16. Способ по п.12, где ткани или клетки млекопитающего подвергали контактированию с лекарственным средством, где детекция является второй или последующей детекцией и где уровень экспрессии LY6 указывает на наличие или отсутствие ответа на лекарственное средство в ткани или клетках млекопитающего.

17. Способ по п.12, где источником ткани или клеток тестируемого образца является желудочно-кишечный тракт млекопитающего.

18. Способ по п.17, где источником ткани или клеток тестируемого образца является толстый кишечник млекопитающего.

19. Способ по п.12, где контрольный образец представляет собой образец нормальной ткани или клеток того же источника или типа ткани без IBD, или множество образцов тканей или клеток того же происхождения или типа ткани без IBD, уровни экспрессии в которых усреднены, или универсальный контроль, соответствующий экспрессии генов во множестве образцов здоровой нормальной ткани того же вида.

20. Способ по п.12, где ткань или клетки тестируемого образца являются воспаленными.

21. Способ по п.12, где ткань или клетки тестируемого образца не являются воспаленными.

22. Способ по п.12, в котором детекция b) включает детекцию образования комплекса между нуклеиновой кислотой и полинуклеотидом тестируемого образца и контрольного образца, где повышенное образование комплекса в тестируемом образце по сравнению с контрольным образцом указывает на упомянутый более высокий уровень экспрессии нуклеиновой кислоты или полипептида LY6 в тестируемом образце по сравнению с контрольным образцом.

23. Способ по п.22, где полинуклеотид тестируемого образца содержит последовательность нуклеиновой кислоты SEQ ID NO: 8, 9, 1, 3, 4, 6 или ее фрагмент, содержащий по меньшей мере 15 последовательных нуклеотидов SEQ ID NO: 8, 9, 1, 3, 4, 6.

24. Способ по п.22, где источником ткани или клеток тестируемого образца является желудочно-кишечный тракт млекопитающего.

25. Способ по п.24, где источником ткани или клеток тестируемого образца является толстый кишечник млекопитающего.

26. Способ по п.25, где контрольный образец представляет собой образец нормальной ткани или клеток того же источника или типа ткани без IBD, или множество образцов тканей или клеток того же происхождения или типа ткани без IBD, уровни экспрессии в которых усреднены, или универсальный контроль, соответствующий экспрессии генов во множестве образцов здоровой нормальной ткани того же вида.

27. Способ по любому из пунктов 1, 10 и 21, где детектируемая метка является непосредственно детектируемой.

28. Способ по любому из пунктов 1, 10 и 21, где детектируемая метка является опосредованно детектируемой.

29. Способ по любому из пунктов 1, 10 и 21, где детектируемая метка является флуоресцентной меткой.

30. Способ по п.1, где способ представляет собой анализ гибридизации *in situ*.

31. Способ по п.1, где способ содержит анализ полимеразной цепной реакцией (RT-PCR) с детекцией в реальном времени.

32. Способ выявления воспалительного заболевания кишечника (IBD) у млекопитающего, включающий:

(a) контактирование (i) выделенного LY6 полипептида или его фрагмента из тестируемого образца ткани или клеток, полученного у указанного млекопитающего, и (ii) контрольного образца с детектирующим средством, содержащим антитело или его связывающий фрагмент с детектируемой меткой, который специфично связывает полипептид LY6 или его фрагмент; и

(b) детекцию уровня экспрессии полипептида LY6 в тестируемом образце и контрольном образце, где более высокий уровень экспрессии LY6 в тестируемом образце по сравнению с контрольным образцом указывает на наличие IBD у млекопитающего, у которого был получен тестируемый образец.

33. Способ по п.32, в котором детекция b) включает детекцию образования комплекса между детектирующим средством и полипептидом тестируемого образца и контрольного образца, где повышенное образование комплекса в тестируемом образце по сравнению с контрольным образцом указывает на упомянутый более высокий уровень экспрессии полипептида LY6 в тестируемом образце по сравнению с контрольным образцом.

34. Способ по п.32, где полипептид LY6 содержит SEQ ID NO: 10, 2, 5, 7 или его фрагмент, содержащий по меньшей мере 10 последовательных аминокислот SEQ ID NO: 10, 2, 5 или 7.

35. Способ по п.32, где источником ткани или клеток тестируемого образца является желудочно-кишечный тракт млекопитающего.

36. Способ по п.35, где источником ткани или клеток тестируемого образца является толстый кишечник млекопитающего.

37. Способ по п.32, где ткань или клетки тестируемого образца являются воспаленными.

38. Способ по п.32, где ткань или клетки тестируемого образца не являются воспаленными.

39. Способ по п.32, где детектируемая метка является непосредственно детектируемой.

40. Способ по п.32, где детектируемая метка является опосредованно

детектируемой.

41. Способ по п.32, где детектируемая метка представляет собой флуоресцентную метку или радиоактивную метку.

5 42. Способ по п.32, где тестируемый образец ткани или клеток получен у млекопитающего, предположительно страдающего IBD.

43. Способ по п.32, где тестируемый образец ткани или клеток получен у млекопитающего, предположительно страдающего язвенным колитом UC.

10 44. Способ по п.32, где ткани или клетки млекопитающего подвергали контактированию с лекарственным средством и где уровень экспрессии LY6 указывает на наличие или отсутствие ответа на лекарственное средство в ткани или клетках млекопитающего.

15 45. Способ по п.32, где ткани или клетки млекопитающего подвергали контактированию с лекарственным средством, где детекция является второй или последующей детекцией и где уровень экспрессии LY6 указывает на наличие или отсутствие ответа на лекарственное средство в ткани или клетках млекопитающего.

46. Способ по п.1 или 23, где полипептид LY6 кодируется полинуклеотидом, содержащим SEQ ID NO: 8.

20 47. Способ по п.1 или 23, где полипептид LY6 кодируется полинуклеотидом, содержащим SEQ ID NO: 9.

48. Способ по п.1 или 23, где полипептид LY6 кодируется полинуклеотидом, содержащим SEQ ID NO: 1.

25 49. Способ по п.1 или 23, где полипептид LY6 кодируется полинуклеотидом, содержащим SEQ ID NO: 3.

50. Способ по п.1 или 23, где полипептид LY6 кодируется полинуклеотидом, содержащим SEQ ID NO: 4.

30 51. Способ по п.1 или 23, где полипептид LY6 кодируется полинуклеотидом, содержащим SEQ ID NO: 6.

52. Способ по п.1 или 34, где полипептид LY6 содержит SEQ ID NO: 10.

53. Способ по п.1 или 34, где полипептид LY6 содержит SEQ ID NO: 2.

54. Способ по п.1 или 34, где полипептид LY6 содержит SEQ ID NO: 5.

35 55. Способ по п.1 или 34, где полипептид LY6 содержит SEQ ID NO: 7.

40

45

50

СПИСОК ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ

<110> Diehl, Lauri;
 Flanagan, Kenneth;
 Mo, Lian;
 Genentech Inc.,

<120> СПОСОБЫ ВЫЯВЛЕНИЯ ВОСПАЛИТЕЛЬНОГО ЗАБОЛЕВАНИЯ КИШЕЧНИКА

<130> 39766-0296.РСТ

<140> Еще не присвоено
 <141> Herewith

<150> US 60/891,196
 <151> 2007-02-22

<150> US 60/987,752
 <151> 2007-11-13

<150> US 61/024,170
 <151> 2008-01-28

<160> 69

<170> FastSEQ for Windows Version 4.0

<210> 1
 <211> 957
 <212> ДНК
 <213> Homo Sapiens

<400> 1
 cgcgctctgcg gctgcggtcc ccgaaagacg aggctgcgcc cggattocgg tccgcagggg 60
 gaccgaaggg cacagctccc cgcgcgcgcg acgccgcccg agccccggagt gccggacacc 120
 ccgggatgct tgcgccccag aggaaccgcg ccccaagccc ccgcgcgcgc cccaggcccc 180
 cccggagcat gctgcctgca gccatgaagg gcctcggect ggcgctgctg gccgtcctgc 240
 tgtgctcggc gcccgctcat ggctgtggt gccaggactg caccctgacc accaactcca 300
 gccattgcac cccaaagcag tgccagccgt ccgacacggg gtgtgccagt gtccgaatca 360
 ccgatcccag cagcagcagg aaggatcact cgggtaacaa gatgtgtgcc tcctcctgtg 420
 acttcgtaa cgcacacttt ttctcagact atctgatggg gtttattaac tctgggatct 480
 taaaggtcga cgtggactgc tgcgagaagg atttgtgcaa tggggcgcca ggggcagggc 540
 acagcccctg ggccctggcc ggggggctcc tgctcagcct ggggcctgcc ctcctctggg 600
 ctgggcccctg atgtctctc ctteccaegg ggcttctgag cttgctccc tgagcctgtg 660
 gctgcccctc cccagcctg gcgtggctgg ggctgggggc agccttgccc cagctccgtg 720
 gctgtggcct gtggctctca ctctcccc gacgtgaagc ctccctgtct ctccgccagc 780
 tctgagtcac aggcagctgg acatctccag gaaaccaggc catctgggca ggaggcctgg 840
 ggatgagggg ggggggggac ccccaggtcc cggaggggaa gtgaagcaac agcccagctg 900
 gaagggcgtc ttctcggag aaataaagtc acttttgagt cctgagaaaa aaaaaa 957

<210> 2
 <211> 140
 <212> Белок
 <213> Homo Sapiens

<400> 2
 Met Leu Pro Ala Ala Met Lys Gly Leu Gly Leu Ala Leu Leu Ala Val
 1 5 10 15
 Leu Leu Cys Ser Ala Pro Ala His Gly Leu Trp Cys Gln Asp Cys Thr
 20 25 30
 Leu Thr Thr Asn Ser Ser His Cys Thr Pro Lys Gln Cys Gln Pro Ser
 35 40 45
 Asp Thr Val Cys Ala Ser Val Arg Ile Thr Asp Pro Ser Ser Ser Arg

50					55						60				
Lys	Asp	His	Ser	Val	Asn	Lys	Met	Cys	Ala	Ser	Ser	Cys	Asp	Phe	Val
65					70					75					80
Lys	Arg	His	Phe	Phe	Ser	Asp	Tyr	Leu	Met	Gly	Phe	Ile	Asn	Ser	Gly
				85					90					95	
Ile	Leu	Lys	Val	Asp	Val	Asp	Cys	Cys	Glu	Lys	Asp	Leu	Cys	Asn	Gly
			100					105					110		
Ala	Ala	Gly	Ala	Gly	His	Ser	Pro	Trp	Ala	Leu	Ala	Gly	Gly	Leu	Leu
		115					120					125			
Leu	Ser	Leu	Gly	Pro	Ala	Leu	Leu	Trp	Ala	Gly	Pro				
	130					135					140				

<210> 3
 <211> 2683
 <212> ДНК
 <213> Homo Sapiens

<400> 3

```

agggcggtgt caatgcaccc tccagcgggtg cgcgcaggcg ggagaagggga gggcggcccg 60
ggcaagtgag acagttaagg cagtgtcccc accacacccc caccagatt ggccacgccc 120
agctggttct tgacagaagg ccttcgoggga ggaagagggg gcacagctgc acaggacacc 180
ctacggagcc tgcgggctgt gaactttgcc aggcgcacgg gaacgcgcgc ctttctgtc 240
agcctcccgg ggcgccaggc tcccgcggcc cgcagcggga cagcctcagt tgtgtgggct 300
ggaccacagc gctggggtag cgaccagtc tggaaaggcg agaggacgtg gagggggag 360
gctgccttcc tatgtgcgaa gggccagccg ggcacgcagt cctcagaccc tagtccgcac 420
ccggcaggtc cccaaggcac ctgctgcgcc ctctcgcgc ctcccccaac ctccccatct 480
cagaaaacta ccagttctct cccgcccccc ggcgcccctt tcccaggaac gtgcgaggc 540
gggagaagag gaagacagga agggggtggg gatgtgaagc gaccgtccca gcctccccg 600
cccgcacccc ccaccccacc tcggcagccg tcacgtgatg cctggagtgg gagggtggga 660
gaaaaggcga gacttttgtg ggtgtccccg atcggcagta gttccttcag tctcagccc 720
caactccgga ggccggtgct tcggccccgg agcgcgagcg ggaggagcag agaccgcgag 780
ccgggagccc gaggcggggc gatgcaggct cgcgcagcgg cacctgcggc tctctaacg 840
tacgaccgtc gtctccgagg cagcagcgcg ggcccagca gcctcggcag ccacagccc 900
tgcagccggg gcagcctccg ctgctgtcgc ctctctgat gcgcttgccc tctcccggc 960
ccgggactcc gggagaatgt gggtcctagg catcgcggca actttttgcg gattgttctt 1020
gcttccaggc tttgcgctgc aatccagtg ctaccagtg gaagaattcc agctgaacaa 1080
cgactgctcc tccccgagt tcattgtgaa ttgcacggtg aacgttcaag acatgtgtca 1140
gaaagaagt atggagcaaa gtgcccggat catgtaccgc aagtccctgt catcatcagc 1200
ggcctgtctc atcgcctctg cgggtacca gtccttctgc tcccagggga aactgaactc 1260
agtttgcac agctgtgca acaccctct ttgtaaccgg ccaaggcca agaaaaggg 1320
aagttctgcc tcggccctca ggccagggt cgcaccacc atcctgttcc tcaaattagc 1380
cctctctcgc gcacactgct gaagctgaag gagatgccac cccctcctgc attgttcttc 1440
cagccctcgc ccccaacccc ccacctccct gagtgtgatt cttctgggtg tctttttatt 1500
ctgggtaggg agcgggagtc cgtgttctct tttgttctct tgcaataat gaaagagctc 1560
ggtaaagcat tctgaataaa ttcagcctga ctgaattttc agtatgtact tgaaggagg 1620
aggtggagt aaagttcacc cccatgtctg tgaaccgga gtcaaggcca ggctggcaga 1680
gtcagtcctt agaagtoact gaggtgggca tetgcctttt gtaaagcctc cagtgtccat 1740
tccatccctg atgggggcat agtttgagac tgcagagtga gagtgaactt ttcttagggc 1800
tggagggcca gttcccactc aaggctccct cgcttgacat tcaaacttca tgctcctgaa 1860
aaccattctc tgcagcagaa ttggctggtt tcgcgctgca gttgggctct agtgactcga 1920
gactcaatga ctgggactta gactggggct cggcctcgtc ctgaaaagtg ctttaagaaaa 1980
tcttctcagt tctccttgca gaggactggc gcggggagcg gaagagcaac gggcgtgca 2040
caaagcgggc gctgtcgggtg gtggagtgcg catgtacgcg caggcgttc tctgtggttg 2100
cgtgctgcag cgacaggcgg cagcacagca cctgcacgaa caccgcoga aactgctgcg 2160
aggacaccgt gtacaggagc gggttgatga ccgagctgag gttagaaaaac gtctccgaga 2220
aggggaggag gatcatgtac gcccggaagt aggacctcgt ccagtcgtgc ttgggtttgg 2280
ccgcagccat gatcctccga atctggttg gcacccagca tacggccaat gtcacaacaa 2340
tcagccctgg gcagacaaga gcaggaggga gagacagaga aaagaaaaac acagcatgag 2400
aacacagtaa atgaataaaa ccataaaata tttagcccct ctgttctgtg ctactggcc 2460
aggaaatggt accaattttt cagtgttggg cttgacagct tcttttgcca caagcaagag 2520
agaatttaac actgtttcaa acccggggga gttggctgtg ttaaagaaag accattaat 2580
gctttagaca gtgtatttat accagttgat gtctgttaat tttaaaaaaa tgttttcatt 2640
gggtgttgggt tgcgtatoca gaaagcagtt catgttatcc ata 2683
    
```

<210> 4
 <211> 1959
 <212> ДНК
 <213> Homo Sapiens

<400> 4
 gatgcoctgga gtgggaggtg gggagaaaag gcgagacttt tgtgggtgct cccgatcgcc 60
 agtagttcct tcagtcctcag ccgccaactc cggaggcgcg gtgctcggcc cgggagcgcg 120
 agcgggagga gcagagaccc gcagccggga gcccgagcgc gggcgatgca ggctccgca 180
 gcggcaacctg cggctcctct aagctacgac cgtcgtctcc gcggcagcag cggggcccc 240
 agcagcctcg gcagccacag ccgctgcagc cggggcagcc tccgctgctg tcgctcctc 300
 tgatgcgctt gccctctccc ggccccggga ctccgggaga atgtgggtcc taggcatcgc 360
 ggcaactttt tggcgattgt tcttgcttcc aggctttgag ctgcaaacc agtgctacca 420
 gtgtgaagaa ttccagctga acaacgactg ctctccccc gaggtcattg tgaattgcac 480
 ggtgaacggt caagacatgt gtcagaaaga agtgatggag caaagtgccg ggatcatgta 540
 ccgcaagtcc tgtgcatcat cagcggcctg tctcatcgcc tctgcccggg accagtcctt 600
 ctgctcccca gggaaactga actcagtttg catcagctgc tgcaacaccc ctctttgtaa 660
 cgggccaagg cccaagaaaa ggggaagttc tgcoctcggcc ctcaggccag ggctccgcac 720
 caccatcctg ttctcaaat tagccctctt ctccggcacac tgctgaagct gaaggagatg 780
 ccacccccctc ctgcattggt cttccagccc tcgcccccaa cccccacct cctgagtgta 840
 gtttcttctg ggtgtccttt tattctgggt agggagcggg agtccgtgtt ctcttttgtt 900
 cctgtgcaaa taatgaaaga gctcggtaaa gcattctgaa taaattcagc ctgactgaat 960
 tttcagtagt tacttgaagg aaggaggtgg agtgaaagtt cacccccctg tctgtgtaac 1020
 cggagtcaag gccaggctgg cagagtcagt ccttagaagt cactgaggtg ggcattctgc 1080
 ttttgtaaaag cctccagtgt ccattccatc cctgatgggg gcatagtttg agactgcaga 1140
 gtgagagtga cgtttttotta gggctggagg gccagttccc actcaaggct ccctcgcttg 1200
 acattcaaac ttcatgctcc tgaaaaccat tctctgcagc agaattggct ggtttcgcgc 1260
 ctgagttggg ctctagtgcac tcgagactca atgactggga cttagactgg ggctcggcct 1320
 cgctctgaaa agtgcttaag aaaatcttct cagttctcct tgcagaggac tggcgccggg 1380
 acgcaagag caacgggccc tgcaaaaagc gggcgctgtc ggtggtggag tgcgcatgta 1440
 cgcgcaggcg cttctcgtgg ttggcgtgct gcagcgacag gcggcagcac agcacctgca 1500
 cgaacacccg ccgaaactgc tgcgaggaca ccgtgtacag gagcgggttg atgaccgagc 1560
 tgaggtagaa aaacgtctcc gagaaggga ggaggatcat gtacgcccg aagtaggacc 1620
 tcgtccagtc gtgcttgggt ttggccgag ccatgatcct ccgaatctgg ttgggcatcc 1680
 agcatacggc caatgtcaca acaatcagcc ctgggcagac acgagcagga gggagagaca 1740
 gagaaaagaa aaacacagca tgagaacaca gtaaatgaa aaaaccataa aatatttagc 1800
 ccctctgttc tgtgcttact ggccaggaaa tggtaacca ttttcagtgt tggacttgac 1860
 agcttctttt gccacaagca agagagaatt taacactggt tcaaaccggg gggagttggc 1920
 tgtgttaaag aaagaccatt aatgcttta gacagtgta 1959

<210> 5
 <211> 141
 <212> Белок
 <213> Homo Sapiens

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

<210> 6
 <211> 1745
 <212> ДНК
 <213> Homo Sapiens

<400> 6
 aaggctgggg ttgcctgggg cgaggttact catcctgggc tcaggtaaga gggcccgagc 60
 tcggaggcgg cacatccagg ggggacgcca agggagcagg acggagccat ggaccccggc 120
 aggaaagcag gtgcccaggc catgatctgg actgcaggct ggctgctgct gctgctgctt 180
 cgcggaggag cgcaggccct ggagtgctac agctgctgctc agaaagcaga tgacggatgc 240
 tccccgaaca agatgaagac agtgaagtgc ggcgccggcg tggacgtctg caccgaggcc 300
 gtggggggcg tggagaccat ccacggacaa ttctcgctgg cagtgcgggg ttgcggttcg 360
 ggactccccg gcaagaatga ccgcggcctg gatcttcaag ggcttctggc gttcatccag 420
 ctgcagcaat gcgctcagga tcgctgcaac gccaaagtca acctcacctc gcggggcgtc 480
 gacccgagca gtaatgagag tgcatacccg cccaacggcg tggagtgcta cagctgtgtg 540
 ggcttgagcc gggaggcgtg ccagggtaca tcgccgcccg tcgtgagctg ctacaaccgc 600
 agcgatcatg tctacaaggg ctgcttcgac ggcaacgtca ccttgacggc agctaattgt 660
 actgtgtcct tgcoctgtcc ggctgtgtc caggatgaat totgcaactg ggatggagta 720
 acaggcccag ggttcacgct cagtggctcc tgttgccagg ggtcccgtg taactctgac 780
 ctccgcaaca agacctactt ctcccctcga atcccacccc ttgtccggct gcccctcca 840
 gagcccacga ctgtggcctc aaccacatct gtcaccactt ctacctcggc cccagtgaga 900
 cccacatcca ccaccaaaccc catgccagcg ccaaccagtc agactccgag acagggagta 960
 gaacacgagg cctcccggga tgaggagccc aggttgactg gaggcgcgcg tggccaccag 1020
 gaccgcagca attoagggca gtatcctgca aaaggggggc cccagcagcc ccataataaa 1080
 ggctgtgtgg ctcccacagc tggattggca gcccttctgt tggccgtggc tgctgggtgc 1140
 ctactgtgag cttctccacc tggaaatttc cctctcacct acttctctgg ccttgggtac 1200
 cctcttctc atcacttctc gttcccacca ctggactggg ctggcccagc cctgttttt 1260
 ccaacattcc ccagtatccc cagcttctgc tgcgctgggt tgcggctttg gaaataaaaa 1320
 taccgttgta tatattctgc caggggtggt ctagcttttt gaggacagct cctgtatcct 1380
 tctcatcctt gtctctccgc ttgtcctctt gtgatgttag gacagagtga gagaagttag 1440
 ctgtcacggg gaaggtgaga gagaggatgc taagcttctt actcactttc tcctagccag 1500
 cctggacttt ggagcgtggg gtgggtggga caatggctcc ccaactctaag cactgcctcc 1560
 cctactcccc gcatctttgg ggaatcgggt ccccatatgt ctctcttact agactgtgag 1620
 ctccctcagc gcagggaccg tgccttatgt ctgtgtgtga tcagtttctg gcacataaat 1680
 gcctcaataa agatttaatt actttgaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1740
 aaaaa 1745

<210> 7
 <211> 346
 <212> Белок
 <213> Homo Sapiens

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

Gly Leu Ser Arg Glu Ala Cys Gln Gly Thr Ser Pro Pro Val Val Ser
 145 150 155 160
 Cys Tyr Asn Ala Ser Asp His Val Tyr Lys Gly Cys Phe Asp Gly Asn
 165 170 175
 Val Thr Leu Thr Ala Ala Asn Val Thr Val Ser Leu Pro Val Arg Gly
 180 185 190
 Cys Val Gln Asp Glu Phe Cys Thr Arg Asp Gly Val Thr Gly Pro Gly
 195 200 205
 Phe Thr Leu Ser Gly Ser Cys Cys Gln Gly Ser Arg Cys Asn Ser Asp
 210 215 220
 Leu Arg Asn Lys Thr Tyr Phe Ser Pro Arg Ile Pro Pro Leu Val Arg
 225 230 235 240
 Leu Pro Pro Pro Glu Pro Thr Thr Val Ala Ser Thr Thr Ser Val Thr
 245 250 255
 Thr Ser Thr Ser Ala Pro Val Arg Pro Thr Ser Thr Thr Lys Pro Met
 260 265 270
 Pro Ala Pro Thr Ser Gln Thr Pro Arg Gln Gly Val Glu His Glu Ala
 275 280 285
 Ser Arg Asp Glu Glu Pro Arg Leu Thr Gly Gly Ala Ala Gly His Gln
 290 295 300
 Asp Arg Ser Asn Ser Gly Gln Tyr Pro Ala Lys Gly Gly Pro Gln Gln
 305 310 315 320
 Pro His Asn Lys Gly Cys Val Ala Pro Thr Ala Gly Leu Ala Ala Leu
 325 330 335
 Leu Leu Ala Val Ala Ala Gly Val Leu Leu
 340 345

<210> 8

<211> 2490

<212> ДНК

<213> Homo Sapiens

<400> 8

gatccgcttt gcgcatccca gtgattcttg ggttccgcgt gtagtttcgg aaggagacat 60
 cgaagcaggg cgaggcgcag agggcggtgc ggactcatgc cccagtcggc agtgcggggt 120
 cccaagccct gcagtgctac agctttgagc acacctactt tggccccttt gacctcaggg 180
 ccatgaagct gcccagcacc tcctgtcctc atgagtgett tgaggctatc ctgtctctgg 240
 acaccgggta tcgcgcgcgc gtgacctggg tgcgggaagg ctgctggacc gggcctcctg 300
 cgggccagac gcaatcgaac gccgacgcgc tgcgccaga ctactcggtg gtgcgcggct 360
 gcacaactga caaatgcaac gcccacctca tgactcatga cgcctcccc aacctgacc 420
 aagcaccga cccgcgcagc ctccagcggc ccgagtgcta cgcctgtatc ggggtccacc 480
 aggatgactg cgtatcggc aggtcccagc gaggccagtg tcaccaggac cagaccgct 540
 gcttcagggg caatggcaga atgacagttg gcaatttctc agtccctgtg tacatcagaa 600
 cctgccaccg gccctcctgc accaccgagg gcaaccaccag cccctggaca gccatcgacc 660
 tccagggctc ctgctgtgag gggtaacctc gcaacaggaa atccatgacc cagcccttca 720
 ccagtgtctc agccaccacc cctccccgag cactacaggt cctggccctg ctctctccag 780
 tctctctgct ggtggggctc tcagcataga ccgcccctcc aggatgctgg ggacagggct 840
 cacacacctc attcttgctg cttcagcccc taccacatag ctactggaa aatgatgta 900
 aagtaagaat tgcactcctg tccctctggc cttccatctc tcccgccctt gtgcccaca 960
 acctggccaa cagtactgga agaaactgga cacagtcacc agcatccccg gggagggcaa 1020
 acagccatg tcgtgccccg atgaagagca attctgatca cagctgttac tcaactgagca 1080
 ccagccaggg accaggcacc ccataacacg gcttctgtg ctctccctcc agagcctgtc 1140
 gcagctctag gaggagccta tacaatgatg tctttattag tgcacatcag agaagcccaa 1200
 taagcagtat gccctaacag ttagtaggac aggetctgga gctaagctgc atgggttcaa 1260
 atcccagctc caccattcag cctgcagaga ccatgagcga gttacttaag ccaggctctg 1320
 gagctaagct gcatgggttc aatcccagc tccagcattc agcctacaga gaccatgggt 1380
 gagttactta agccaggctc tggagctaag ctgcatgggt tcaaatccca gctccaccat 1440
 tcagcctgca gagactgtgg gtgagttact tgagctctct gtgccaatat tttctcacct 1500
 ataaggtgga ggtgaaaata aactctataa catgacaaga actacttcac agtagttgca 1560
 gtgaggattc aacgagatga acatttagta cttgggacac agcagtggcc cagtgtaaat 1620
 gggctacttg tcataagccc taagtccacag gtcaacaaac tgagaggcaa aagcacttgg 1680
 ttgagcttgt gtatctagtg agtatggatt cagggaccag attcccagcc ccacgaactg 1740
 ctaagcaacc ccacctccta aacacatgag tgcogattaa cttccacagaa aaacacacaa 1800

```

ggcaaagtgc agcgaggtga aattctccaa gctataaaga tcaggaaga cttcctggag 1860
gaattcaccg ttgagcaaaa tcctaaagga tcaatagtag ctggcaaaaa gaagcaggag 1920
gaagcgcatt ctaggtagag gagacagcct ggacaaaagg ctgagggagg aaggagcaca 1980
aggagtgcag gacactttca tgagtgcagg acactttcat aactgcatga acttcataga 2040
gatgggatcc tttagcatgt tctctgtgca catgcttgac catgttcttt cacatgcttt 2100
ttgccacttg atctttccag caactcagtg agagaagcaa aaaagtaagt tgcctcctgc 2160
tattgtotga atgtttgtgt ctccccaaaa ttcacttttt gaaacctaat taccaaaagtg 2220
atattactgg gaggtggggc ctttgggagg tggtagatc atgaggggtg agcccccatg 2280
aataggatta gtgcccttat aaaagaggcc ctggagagct gccttgcccc tccaccaca 2340
tgagaacaca gccagcaggt gcctataagc aagaaagtgg gttctacca gccatcgaat 2400
ctgctggtgc attgattgca gaactccag actccagagc tatgagacat aaatttctgt 2460
tgtgtataag ccaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 2490

```

<210> 9
 <211> 2118
 <212> ДНК
 <213> Homo Sapiens

```

<400> 9
gattcttggg ttccgcgcgt agtttcggaa ggagacatcg aagcagggcg aggcgcagag 60
ggcgttgcgg actcatgccc cagtcggcag tgcggggctc caagccctgc agtgctacag 120
ctttgagcac acctactttg gccccttga cctcagggcc atgaagctgc ccagcatctc 180
ctgtcctcat gagtgotttg aggetatcct gtctctggac accgggtatc gcgcgcgggt 240
gaccctggtg cggaaaggct gctggaccgg gcctcctgcg ggccagacgc aatcgaacc 300
ggacgcgctg ccgccagact actcggctgt gcgcggctgc acaactgaca aatgcaacgc 360
ccacctcatg actcatgacg cctccccaa cctgagccaa gcacccgacc cgccgacgct 420
cagcggcgcc gagtgetacg cctgtatcgg ggtccaccag gatgactgog ctatcggcag 480
gtcccagcga gtccagtgtc accaggacca gaccgcctgc ttccagggca gtggcagaat 540
gacagttggc aattttctcag tcctctgtga catcagaacc tgccaccggc cctcctgcac 600
caccgagggc accaccagcc cctggacagc catcgacctc cagggctcct gctgtgagg 660
gtacctctgc aacaggaat ccatgacca gcccttcacc agtgcttoag ccaccacccc 720
tccccgagca ctacaggctc tggccctgct cctcccagtc ctctgctgg tggggctctc 780
agcatagacc gccctccag gatgctgggg acagggctca cacacctcat tcttgetgct 840
tcagccccta tcacatagct cactggaaaa tgatgttaa gtaagaattg cactcctgct 900
cctctggcct tccatctctc ctgccctgt gccccacaac ctggccaaca gtactggaag 960
aaactggaca cagtcaccag catcccagg gagggcaaaa cagccatgtc gtgccctgat 1020
gaagagcaat tctgatcaca gctgttact actgagcacc agccaggcac caggcacc 1080
ataacacggc ttctgtgtct ctcttccag agcctgtcgc agctctaggg gggagctata 1140
caatgatgtc tttattagtg tcatcatgag aagcccata agcagtatgc cctaacagtt 1200
agtaggccag gctctggagc taagctgcat gggttcacat cccagctcca ccattcagcc 1260
tgcagagacc atgagcagat tacttaagcc aggcctctgga gctaagctgc atgggttcaa 1320
atcccagctc cagcattcag cctacagaga cctgggtga gttacttaag ccaggctctg 1380
gagctaagct gcatgggttc aaatcccagc tccaccattc agcctgcaga gactgtgggt 1440
gagttacttg agctctctgt gccaatattt tctcacctat aagggtggagg tgaaaataaa 1500
ctctataaca tgacaagaac tacttcacag tagttgcagt gaggattcaa cgagatgaac 1560
atthtagtact tgggacacag cagtggccca gtataaatgg gctacttgtc ataagcceta 1620
agtcacaggt caacaaactg agaggtaaaa gcacttggtt gagcttgtgt atctagttag 1680
tatggattca gggaccagat tcccagcccc acgaactgct aagcaacccc acctcctaaa 1740
cacatgagtg ccgattaact tcacagaaaa acacacaagg caaagttcag cgaggtgaaa 1800
ttctccaagc tataaagatc agggaagact tcctggagga attcaccctt gagcaaatc 1860
ctaaaggatc aatagtagct ggcaaaaaga agcaggagga agcacattht aggtagagga 1920
gacagcctgg acaaaggtct gagggaggaa ggaacacaag gagtgcagga cactttcata 1980
actgcatgaa ctctatagag atgggatcct ttageatgth ctctgtgcac atgcttgacc 2040
atgttctttc acatgctttt tgccacttga tctttccagc aactcagtha gagaagcaaa 2100
aaagtaagth gcatcctg 2118

```

<210> 10
 <211> 208
 <212> Белок
 <213> Homo Sapiens

<400> 10
 Met Lys Leu Pro Ser Ile Ser Cys Pro His Glu Cys Phe Glu Ala Ile
 1 5 10 15

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

<210> 11
 <211> 806
 <212> ДНК
 <213> Homo Sapiens

<400> 11
 gccaccacc gcccagccc tgccataag gccttggcaa tgcaggggcc cgcactgctc 60
 ccagacgaca tcagagatga ggacagcatt gctgctcctt gcagccctgg ctgtggctac 120
 agggccagcc cttaccctgc gctgccacgt gtgcaccagc tccagcaact gcaagcattc 180
 tgtggtctgc cgggccagct ctgcttctg caagaccagc aacacagtgg agcctctgag 240
 ggggaatctg gtgaagaagg actgtgcgga gtcgtgcaca cccagctaca ccctgcaagg 300
 ccaggtcagc agcggcacca gctccacca gtgctgccag gaggacctgt gcaatgagaa 360
 gctgcacaac gctgcacca cccgcaccgc cctgccccac agtgccctca gcctggggct 420
 ggccctgagc ctcttgccg tcatcttagc ccccagcctg tgaccttccc cccaggggag 480
 gccctcatg cctttcttc cctttctctg gggattccac acctctctc cccagccgca 540
 acgggggtgc caggagcccc aggctgaggg cttccccgaa agtctgggac caggtccagg 600
 tgggcatgga atgctgatga cttggagcag gccccacaga cccacagag gatgaagcca 660
 cccacagag gatgcagccc ccagctgcat ggaagtgga ggacagaagc cctgtggatc 720
 cccgatttc aactccttc tgtttgttg ccgtttattt ttgtactcaa atctctacat 780
 ggagataaat gatttaaac agaaaa 806

<210> 12
 <211> 128
 <212> Белок
 <213> Homo Sapiens

<400> 12
 Met Arg Thr Ala Leu Leu Leu Leu Ala Ala Leu Ala Val Ala Thr Gly
 1 5 10 15
 Pro Ala Leu Thr Leu Arg Cys His Val Cys Thr Ser Ser Ser Asn Cys
 20 25 30
 Lys His Ser Val Val Cys Pro Ala Ser Ser Arg Phe Cys Lys Thr Thr
 35 40 45
 Asn Thr Val Glu Pro Leu Arg Gly Asn Leu Val Lys Lys Asp Cys Ala
 50 55 60
 Glu Ser Cys Thr Pro Ser Tyr Thr Leu Gln Gly Gln Val Ser Ser Gly
 65 70 75 80
 Thr Ser Ser Thr Gln Cys Cys Gln Glu Asp Leu Cys Asn Glu Lys Leu

<400> 15
 ccagtctgtc gccacctcac ttggtgtctg ctgtccccgc caggcaagcc tggggtgaga 60
 gcacagagga gtgggcccgg accatgcccgg ggacgcggct ggcgctcctg gcgctgggtc 120
 tggctgcctg cggagagctg gcgcggccc tgcgctgcta cgtctgtccg gagcccacag 180
 gagtgtcggg ctgtgtcacc atcgccacct gcaccaccaa cgaaacccatg tgcaagacca 240
 cactctactc ccgggagata gtgtacccct tccaggggga ctccacggtg accaagtcct 300
 gtgccagcaa gtgtaagccc tccgatgtgg atggcatcgg ccagaccctg cccgtgtcct 360
 gctgcaatac tgagctgtgc aatgtagacg gggcgcccgc tctgaacagc ctccactgcg 420
 gggccctcac gctcctccca ctcttgagcc tccgactgta gactccccgc ccacccccat 480
 ggccctatgc ggcccagccc cgaatgcctt gaagaagtgc ccctgcacc aggaaaaaaaa 540
 aaaaaaaaaa 550

<210> 16
 <211> 125
 <212> Белок
 <213> Homo Sapiens

<400> 16
 Met Arg Gly Thr Arg Leu Ala Leu Leu Ala Leu Val Leu Ala Ala Cys
 1 5 10 15
 Gly Glu Leu Ala Pro Ala Leu Arg Cys Tyr Val Cys Pro Glu Pro Thr
 20 25 30
 Gly Val Ser Asp Cys Val Thr Ile Ala Thr Cys Thr Thr Asn Glu Thr
 35 40 45
 Met Cys Lys Thr Thr Leu Tyr Ser Arg Glu Ile Val Tyr Pro Phe Gln
 50 55 60
 Gly Asp Ser Thr Val Thr Lys Ser Cys Ala Ser Lys Cys Lys Pro Ser
 65 70 75 80
 Asp Val Asp Gly Ile Gly Gln Thr Leu Pro Val Ser Cys Cys Asn Thr
 85 90 95
 Glu Leu Cys Asn Val Asp Gly Ala Pro Ala Leu Asn Ser Leu His Cys
 100 105 110
 Gly Ala Leu Thr Leu Leu Pro Leu Leu Ser Leu Arg Leu
 115 120 125

<210> 17
 <211> 3901
 <212> ДНК
 <213> Homo Sapiens

<400> 17
 aagatggcgg cgtgtggagc tgtacggagg atgttccgct tgtcggcggc gctgcatctg 60
 ctgtgctat tcgcccgggg ggccgagaaa ctccccggcc atggcgcca cagccagggc 120
 cagggtcccg gggccaactt tgtgtccttc gtaggggcagg ccggaggccg cggcccggcg 180
 ggtcagcagc tgccccagct gcttcagtca tcgcagcttc agcagcaaca gcagcagcag 240
 caacagcaac agcagcttca gcgcgccag ccgcctttcc cggcgggttg gcctccggcc 300
 cggcggggag gagcgggggc tgggtggggc tggaaagctgg cggaggaaga gtccctgcagg 360
 gaggaactga cccgcgtgtg ccctaagcac acctggagca acaacctggc ggtgctcgag 420
 tgccctgcagg atgtgaggga gcctgaaaat gaaatttctt cagactgcaa tcatttggtg 480
 tggaaattata agctgaacct aactacagat cccaaaattg aatctgtggc cagagagggt 540
 tgcaaatcta ctataacaga gattaaagaa tgtgctgatg aaccggttg aaaagggttac 600
 atggtttcct gcttagtgga tcaccgaggc aacatcactg agtatcagtg tcaccagtac 660
 attaccaaga tgacggccat catttttagt gattaccgtt taatctgtgg ctccatggat 720
 gactgcaaaa atgacatcaa cattctgaaa tgtggcagta ttccgcttg agaaaaggat 780
 gcacattcac aaggtgaggt ggtatcatgc ttggagaaag gcctggtgaa agaagcagaa 840
 gaaagagaac ccaagattca agttctgaa ctctgcaaga aagccattct ccgggtggct 900
 gagctgtcat cggatgactt tcaacttagac cggcatttat attttgcttg ccgagatgat 960
 cgggagcgtt tttgtgaaaa tacacaagct ggtgagggca gactgtataa gtgcctcttt 1020
 aaccataaat ttgaagaatc catgagtgaa aagtgtcgag aagcacttac aaccocccaa 1080
 aagctgattg cccaggatta taaagtcagt tattcattgg ccaaactctg taaaagtgc 1140
 ttgaagaaat accgggtgcaa tgtggaaaac cttccgcgat cgcgtgaagc caggctctcc 1200
 tacttgtaa tgtgcctgga gtcagctgta cacagagggc gacaagtac cagtgagtgc 1260

```

cagggggaga tgctggatta cgcacgcgat ttgatggaag acttttctct gagccctgag 1320
atcatcctaa gctgtcgggg ggagattgaa caccattgtt cgggattaca tcgaaaaggg 1380
cggaccctac actgtctgat gaaagtagtt cgaggggaga aggggaacct tggaatgaac 1440
tgccagcagg cgcttcaaac actgattcag gagactgacc ctggtgcaga ttaccgcatt 1500
gatcgagctt tgaatgaagc ttgtgaatct gtaatccaga cagcctgcaa acatataaga 1560
tctggagacc caatgatctt gtcgtgcttg atggaacatt tatacacaga gaagatggta 1620
gaagactgtg aacaccgtct cttagagctg cagtatttca tctcccgga ttggaagctg 1680
gacctgtcc tgtaccgcaa gtgccagggg gacgcttctc gtctttgcca caccacgggt 1740
tggaatgaga ccagtgaatt tatgcctcag ggagctgtgt tctcttgttt atacagacac 1800
gectaccgca ctgaggaaca ggaaggagg ctctcacggg agtgccgagc tgaagtcaa 1860
aggatcctac accagcgtgc catggatgtc aagctggatc ctgcccctca ggataagtgc 1920
ctgattgatc tgggaaaatg gtgcagtgag aaaacagaga ctggacagga gctggagtgc 1980
cttcaggacc atctggatga cttggtggtg gagtgtagag atatagttgg caacctcact 2040
gagttagaat cagaggatat tcaaatagaa gccttgctga tgagagcctg tgagcccata 2100
attcagaact tctgccacga tgtggcagat aaccagatag actctgggga cctgatggag 2160
tgtctgatac agaacaaaca ccagaaggac atgaacgaga agtgtgccat cggagttacc 2220
cacttccagc tgggtgcagat gaaggatfff cggttttctt acaagtttaa aatggcctgc 2280
aaggaggacg tgttgaagct ttgcccacac ataaaaaaga aggtggacgt ggtgatctgc 2340
ctgacacaga ccgtgcgcaa tgacactctg caggaagcca aggagcacag ggtgcccctg 2400
aagtccgca ggcagctccg tgtggaggag ctggagatga cggaggacat ccgcttgag 2460
ccagatctat acgaagcctg caagagtgc atcaaaaact tctgttccgc tgtgcaatat 2520
ggcaacgctc agattatcga atgtctgaaa gaaaacaaga agcagctaag caccgctgc 2580
caccaaaaag tatttaagct gcaggagaca gagatgatgg acccagagct agactacacc 2640
ctcatgaggg tctgcaagca gatgataaag aggttctgtc cggagcaga ttctaaaacc 2700
atgttgcaat gcttgaagca aaataaaaac agtgaattga tggatcccaa atgcaaacag 2760
atgataacca agcgcagat caccacagaac acagattacc gcttaaacc catgttaaga 2820
aaagcctgta aagctgacat tccataaatc tgtcacggta tccctgactaa ggccaaggat 2880
gattcagaat tagaaggaca agtcatctct tgcctgaagc tgagatatgc tgaccagcgc 2940
ctgtcttcag actgtgaaga ccagatccga atcattatcc aggagtcgcc cctggactac 3000
cgctggatc ctcagctcca gctgcactgc tcagacgaga tctccagct atgtgtgaa 3060
gaagcagcag cccaagagca gacaggtcag gtggaggagt gcctcaaggt caacctgctc 3120
aagatcaaaa cagaattgtg taaaaaggaa gtgctaaca tgctgaagga aagcaagca 3180
gacatctttg ttgaccgggt acttcatact gcttgtgccc tggacattaa acaccactgc 3240
gcagccatca ccctggcgc cgggogtoaa atgtctctgc tcatggaagc actggaggat 3300
aagcgggtga ggttacagcc cgagtcaaaa aagcgcctca atgaccggat tgagatgtgg 3360
agttacgcag caaaggtggc cccagcagat ggcttctctg atcttgccat gcaagtaatg 3420
acgtctccat ctaagaacta cattctctct gtgatcagtg ggagcatctg tatattgttc 3480
ctgattggcc tgatgtgtgg acggatcacc aagcagatga caccagagct caaggacagg 3540
tagagccacc ttgaccacca aaggaaactac ctatccagtg cccagtttgt acagccctct 3600
tgtatagcat cccactcac ctcgctcttc tcagaagtga caccaacccc gtgttagagc 3660
attagcagat gtccactgcg ttgtcccac cagctccac tctgttccat ggtgtcctcc 3720
tcctcctcac cgtgcagcag cagcagctgg tctgtgggt tactgcctt gtttggcaaa 3780
cttgggttta cctgcctgta gacaagtctc tctcatacca acagaacttc cggtactcc 3840
agaaccaact cacctgacct gcaactcaaa ggctttttta agaaaaccac caaaaaaaaa 3900
a

```

```

<210> 18
<211> 1179
<212> Белок
<213> Homo Sapiens

```

```

<400> 18
Met Ala Ala Cys Gly Arg Val Arg Arg Met Phe Arg Leu Ser Ala Ala
1 5 10 15
Leu His Leu Leu Leu Leu Phe Ala Ala Gly Ala Glu Lys Leu Pro Gly
20 25 30
His Gly Val His Ser Gln Gly Gln Gly Pro Gly Ala Asn Phe Val Ser
35 40 45
Phe Val Gly Gln Ala Gly Gly Gly Gly Pro Ala Gly Gln Gln Leu Pro
50 55 60
Gln Leu Leu Gln Ser Ser Gln Leu Gln Gln Gln Gln Gln Gln Gln
65 70 75 80
Gln Gln Gln Gln Leu Gln Pro Pro Gln Pro Pro Phe Pro Ala Gly Gly
85 90 95

```

Pro Pro Ala Arg Arg Gly Gly Ala Gly Ala Gly Gly Gly Trp Lys Leu
 100 105 110
 Ala Glu Glu Glu Ser Cys Arg Glu Asp Val Thr Arg Val Cys Pro Lys
 115 120 125
 His Thr Trp Ser Asn Asn Leu Ala Val Leu Glu Cys Leu Gln Asp Val
 130 135 140
 Arg Glu Pro Glu Asn Glu Ile Ser Ser Asp Cys Asn His Leu Leu Trp
 145 150 155 160
 Asn Tyr Lys Leu Asn Leu Thr Thr Asp Pro Lys Phe Glu Ser Val Ala
 165 170 175
 Arg Glu Val Cys Lys Ser Thr Ile Thr Glu Ile Lys Glu Cys Ala Asp
 180 185 190
 Glu Pro Val Gly Lys Gly Tyr Met Val Ser Cys Leu Val Asp His Arg
 195 200 205
 Gly Asn Ile Thr Glu Tyr Gln Cys His Gln Tyr Ile Thr Lys Met Thr
 210 215 220
 Ala Ile Ile Phe Ser Asp Tyr Arg Leu Ile Cys Gly Phe Met Asp Asp
 225 230 235 240
 Cys Lys Asn Asp Ile Asn Ile Leu Lys Cys Gly Ser Ile Arg Leu Gly
 245 250 255
 Glu Lys Asp Ala His Ser Gln Gly Glu Val Val Ser Cys Leu Glu Lys
 260 265 270
 Gly Leu Val Lys Glu Ala Glu Glu Arg Glu Pro Lys Ile Gln Val Ser
 275 280 285
 Glu Leu Cys Lys Lys Ala Ile Leu Arg Val Ala Glu Leu Ser Ser Asp
 290 295 300
 Asp Phe His Leu Asp Arg His Leu Tyr Phe Ala Cys Arg Asp Asp Arg
 305 310 315 320
 Glu Arg Phe Cys Glu Asn Thr Gln Ala Gly Glu Gly Arg Val Tyr Lys
 325 330 335
 Cys Leu Phe Asn His Lys Phe Glu Glu Ser Met Ser Glu Lys Cys Arg
 340 345 350
 Glu Ala Leu Thr Thr Arg Gln Lys Leu Ile Ala Gln Asp Tyr Lys Val
 355 360 365
 Ser Tyr Ser Leu Ala Lys Ser Cys Lys Ser Asp Leu Lys Lys Tyr Arg
 370 375 380
 Cys Asn Val Glu Asn Leu Pro Arg Ser Arg Glu Ala Arg Leu Ser Tyr
 385 390 395 400
 Leu Leu Met Cys Leu Glu Ser Ala Val His Arg Gly Arg Gln Val Ser
 405 410 415
 Ser Glu Cys Gln Gly Glu Met Leu Asp Tyr Arg Arg Met Leu Met Glu
 420 425 430
 Asp Phe Ser Leu Ser Pro Glu Ile Ile Leu Ser Cys Arg Gly Glu Ile
 435 440 445
 Glu His His Cys Ser Gly Leu His Arg Lys Gly Arg Thr Leu His Cys
 450 455 460
 Leu Met Lys Val Val Arg Gly Glu Lys Gly Asn Leu Gly Met Asn Cys
 465 470 475 480
 Gln Gln Ala Leu Gln Thr Leu Ile Gln Glu Thr Asp Pro Gly Ala Asp
 485 490 495
 Tyr Arg Ile Asp Arg Ala Leu Asn Glu Ala Cys Glu Ser Val Ile Gln
 500 505 510
 Thr Ala Cys Lys His Ile Arg Ser Gly Asp Pro Met Ile Leu Ser Cys
 515 520 525
 Leu Met Glu His Leu Tyr Thr Glu Lys Met Val Glu Asp Cys Glu His
 530 535 540
 Arg Leu Leu Glu Leu Gln Tyr Phe Ile Ser Arg Asp Trp Lys Leu Asp
 545 550 555 560
 Pro Val Leu Tyr Arg Lys Cys Gln Gly Asp Ala Ser Arg Leu Cys His
 565 570 575
 Thr His Gly Trp Asn Glu Thr Ser Glu Phe Met Pro Gln Gly Ala Val
 580 585 590
 Phe Ser Cys Leu Tyr Arg His Ala Tyr Arg Thr Glu Glu Gln Gly Arg
 595 600 605

Arg Leu Ser Arg Glu Cys Arg Ala Glu Val Gln Arg Ile Leu His Gln
 610 615 620
 Arg Ala Met Asp Val Lys Leu Asp Pro Ala Leu Gln Asp Lys Cys Leu
 625 630 635 640
 Ile Asp Leu Gly Lys Trp Cys Ser Glu Lys Thr Glu Thr Gly Gln Glu
 645 650 655
 Leu Glu Cys Leu Gln Asp His Leu Asp Asp Leu Val Val Glu Cys Arg
 660 665 670
 Asp Ile Val Gly Asn Leu Thr Glu Leu Glu Ser Glu Asp Ile Gln Ile
 675 680 685
 Glu Ala Leu Leu Met Arg Ala Cys Glu Pro Ile Ile Gln Asn Phe Cys
 690 695 700
 His Asp Val Ala Asp Asn Gln Ile Asp Ser Gly Asp Leu Met Glu Cys
 705 710 715 720
 Leu Ile Gln Asn Lys His Gln Lys Asp Met Asn Glu Lys Cys Ala Ile
 725 730 735
 Gly Val Thr His Phe Gln Leu Val Gln Met Lys Asp Phe Arg Phe Ser
 740 745 750
 Tyr Lys Phe Lys Met Ala Cys Lys Glu Asp Val Leu Lys Leu Cys Pro
 755 760 765
 Asn Ile Lys Lys Lys Val Asp Val Val Ile Cys Leu Ser Thr Thr Val
 770 775 780
 Arg Asn Asp Thr Leu Gln Glu Ala Lys Glu His Arg Val Ser Leu Lys
 785 790 795 800
 Cys Arg Arg Gln Leu Arg Val Glu Glu Leu Glu Met Thr Glu Asp Ile
 805 810 815
 Arg Leu Glu Pro Asp Leu Tyr Glu Ala Cys Lys Ser Asp Ile Lys Asn
 820 825 830
 Phe Cys Ser Ala Val Gln Tyr Gly Asn Ala Gln Ile Ile Glu Cys Leu
 835 840 845
 Lys Glu Asn Lys Lys Gln Leu Ser Thr Arg Cys His Gln Lys Val Phe
 850 855 860
 Lys Leu Gln Glu Thr Glu Met Met Asp Pro Glu Leu Asp Tyr Thr Leu
 865 870 875 880
 Met Arg Val Cys Lys Gln Met Ile Lys Arg Phe Cys Pro Glu Ala Asp
 885 890 895
 Ser Lys Thr Met Leu Gln Cys Leu Lys Gln Asn Lys Asn Ser Glu Leu
 900 905 910
 Met Asp Pro Lys Cys Lys Gln Met Ile Thr Lys Arg Gln Ile Thr Gln
 915 920 925
 Asn Thr Asp Tyr Arg Leu Asn Pro Met Leu Arg Lys Ala Cys Lys Ala
 930 935 940
 Asp Ile Pro Lys Phe Cys His Gly Ile Leu Thr Lys Ala Lys Asp Asp
 945 950 955 960
 Ser Glu Leu Glu Gly Gln Val Ile Ser Cys Leu Lys Leu Arg Tyr Ala
 965 970 975
 Asp Gln Arg Leu Ser Ser Asp Cys Glu Asp Gln Ile Arg Ile Ile Ile
 980 985 990
 Gln Glu Ser Ala Leu Asp Tyr Arg Leu Asp Pro Gln Leu Gln Leu His
 995 1000 1005
 Cys Ser Asp Glu Ile Ser Ser Leu Cys Ala Glu Glu Ala Ala Ala Gln
 1010 1015 1020
 Glu Gln Thr Gly Gln Val Glu Glu Cys Leu Lys Val Asn Leu Leu Lys
 1025 1030 1035 1040
 Ile Lys Thr Glu Leu Cys Lys Lys Glu Val Leu Asn Met Leu Lys Glu
 1045 1050 1055
 Ser Lys Ala Asp Ile Phe Val Asp Pro Val Leu His Thr Ala Cys Ala
 1060 1065 1070
 Leu Asp Ile Lys His His Cys Ala Ala Ile Thr Pro Gly Arg Gly Arg
 1075 1080 1085
 Gln Met Ser Cys Leu Met Glu Ala Leu Glu Asp Lys Arg Val Arg Leu
 1090 1095 1100
 Gln Pro Glu Cys Lys Lys Arg Leu Asn Asp Arg Ile Glu Met Trp Ser
 1105 1110 1115 1120

Tyr Ala Ala Lys Val Ala Pro Ala Asp Gly Phe Ser Asp Leu Ala Met
 1125 1130 1135
 Gln Val Met Thr Ser Pro Ser Lys Asn Tyr Ile Leu Ser Val Ile Ser
 1140 1145 1150
 Gly Ser Ile Cys Ile Leu Phe Leu Ile Gly Leu Met Cys Gly Arg Ile
 1155 1160 1165
 Thr Lys Arg Val Thr Arg Glu Leu Lys Asp Arg
 1170 1175

<210> 19
 <211> 3779
 <212> ДНК
 <213> Homo Sapiens

<400> 19
 gcgctcgagct cgccgcggac tcaagatggc ggcgtgtgga cgtgtacgga ggatgttccg 60
 cttgtcggcg gcgctgcac tgctgtgct attcgcggcc gggcccgaga aactccccg 120
 ccaggcgctc cacagccagg gccagggtcc cggggccaac tttgtgtcct tcgtagggca 180
 ggccggaggc ggcggcccgg cgggtcagca gctgccccag ctgcctcagt catcgcagct 240
 tcagcagcaa cagcagcagc agcaacagca acagcagcct cagccgcgcg agccgccttt 300
 cccggcgggt gggcctccgg cccggcgggg aggagcgggg gctgggtggg gctggaagct 360
 ggcggaggaa gagtccctgca gggaggagct gaccgcgctg tgccttaagc acacctggag 420
 caacaacctg gcggtgctcg agtgcctgca ggatgtgagg gagcctgaaa atgaaatttc 480
 ttcagactgc aatcatttgt tgtggaatta taagctgaac ctaactacag atcccaaatt 540
 tgaatctgtg gccagagagg tttgcaaatc tactataaca gagattaaag aatgtgctga 600
 tgaaccggtt ggaaaagggt acatggtttc ctgcttgggt gatcaccgag gcaacatcac 660
 tgagtatcag tgtcaccagt acattaccaa gatgacggcc atcattttta gtgattaccg 720
 tttaatctgt ggcttccatgg atgactgcaa aaatgacatc aacattctga aatgtggcag 780
 tattcggctt ggagaaaagg atgcacatc acaaggtgag gtggtatcat gcttgggaaa 840
 aggcctgggt aaagaagcag aagaagaga acccaagatt caagttctg aactctgcaa 900
 gaaagccatt ctccgggtgg ctgagctgtc atcggatgac tttcacttag accggcattt 960
 atattttgct tgccgagatg atcgggagcg tttttgtgaa aatacacaag ctgggtgagg 1020
 cagagtgtat aagtgcctct ttaaccataa atttgaagaa tccatgagtg aaaagtgtcg 1080
 agaagcactt acaaccgcgc aaaagctgat tgcccaggat tataaagtca gttattcatt 1140
 ggccaaatcc tgtaaaagtg acttgaagaa ataccgggtgc aatgtggaaa accttccgcg 1200
 atcgcgtgaa gccaggctct cctactgtt aatgtgcctg gactcagctg tacacagagg 1260
 gcgacaagtc agcagtgagt gccaggggga gatgctggat taccgacgca tgttgatgga 1320
 agacttttct ctgagccctg agatcatcct aagetgtcgg ggggagattg aacaccattg 1380
 ttccggatta catcgaaaag ggcggaccct aactgtctg atgaaaagtag ttcgagggga 1440
 gaaggggaac cttggaatga actgccagca ggcgcttcaa aactgattc aggagactga 1500
 ccctggtgca gattacogca ttgatcgagc tttgaaatgaa gcttgtgaaat ctgtaatcca 1560
 gcagcctgc aacatataa gatctggaga cccaatgatc ttgtcgtgcc tgatggaaca 1620
 tttatacaca gagaagatgg tagaagactg tgaacaccgt ctcttagagc tgcagtattt 1680
 catctcccgg gattggaagc tggaccctgt cctgtaccgc aagtgccagg gagacgcttc 1740
 tcgtctttgc cacaccacag gttggaatga gaccagtga tttatgcctc agggagctgt 1800
 gttctcttgt ttatacagac acgcctaccg cactgaggaa caggaagga ggctctcacg 1860
 ggagtgccga gctgaagtc aaaggatcct acaccagcgt gccatggatg tcaagctgga 1920
 tctgcccctc caggataagt gcctgattga tctgggaaaa tgggtcagtg agaaaacaga 1980
 gactggacag gagctggagt gccttcagga ccatctggat gacttgggtg tggagtgtag 2040
 agatatagtt ggcaacctca ctgagttaga atcagaggat attcaaatag aagccttgc 2100
 gatgagagcc tgtgagccca taattcagaa cttctgccac gatgtggcag ataaccgat 2160
 agactctggg cacctgatgg agtgtctgat acagaacaaa caccagaagg acatgaacga 2220
 gaagtgtgcc atcggagtta cccacttcca gctgggtgag atgaaaggatt ttcggttttc 2280
 ttacaagttt aaaatggcct gcaaggagga cgtgttgaag ctttgcocaa acataaaaaa 2340
 gaaggtggac gtggtgatct gcctgagcac gaccgtgccc aatgacaactc tgcaggaagc 2400
 caaggagcac aggtgttccc tgaagtgccg caggcagctc cgtgtggagg agctggagat 2460
 gacggaggac atccgcttgg agccagatct atacgaagcc tgcaagagtg acatcaaaaa 2520
 cttctgttcc gctgtgcaat atggcaacgc tcagattatc gaatgtctga aagaaaaaaa 2580
 gaagcagcta agcaccgcct gccaccaaaa agtattttaag ctgcaggaga cagagatgat 2640
 ggaccagag ctgactaca cctcatgag ggtctgcaag cagatgataa agaggttctg 2700
 tccggaagca gattctaaaa ccatgttgca gtgcttgaag caaaataaaa acagtgaatt 2760
 gatggatccc aaatgcaaac agatgataac caagcgcag atcacccaga acacagatta 2820
 ccgcttaaac cccatgttaa gaaaagcctg taaagctgac attcctaaat tctgtcacgg 2880

tatcctgact aaggccaagg atgattcaga attagaagga caagtcact cttgcctgaa 2940
 gctgagatat gctgaccagc gcctgtcttc agactgtgaa gaccagatcc gaatcattat 3000
 ccaggagtcc gccctggact accgcctgga tcctcagctc cagctgcact gctcagaagc 3060
 gatctccagt ctatgtgctg aagaagcagc agcccaagag cagacaggtc aggtggagga 3120
 gtgcctcaag gtcaacctgc tcaagatcaa aacagaattg tgtaaaaagg aagtgtctaa 3180
 catgctgaag gaaagcaaag cagacatctt tgttgacctg gtacttcata ctgcttgtgc 3240
 cctggacatt aaacaccact ggcagacctt caccctggc cggggggctc aaatgtcctg 3300
 tctcatggaa gcaactggag ataagcgggt gaggttacag cccgagtgca aaaagcgctt 3360
 caatgaccgg attgagatgt ggagttacgc agcaaagggt gccccagcag atggcttctc 3420
 tgatcttgcc atgcaagtaa tgacgtctcc atctaagaac tacattctct ctgtgatcag 3480
 tgggagcatt tgtatattgt tcttgattgg cctgatgtgt ggacggatca ccaagcgagt 3540
 gacacgagag ctcaaggaca ggctacaata caggtcagag acaatggctt ataaaggttt 3600
 agtgtggtct caggatgtga caggcagtc agcctgacct ttctgcacac tccagacaaa 3660
 cttcccagac aagctccttt gtgcctctac gtggagaggg tgtggaaagt taccacatta 3720
 aaagatggag gatttaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaagaaaaaa aaaaaaaaaa 3779

<210> 20

<211> 1203

<212> Белок

<213> Homo Sapiens

<400> 20

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

Cys Leu Phe Asn His Lys Phe Glu Glu Ser Met Ser Glu Lys Cys Arg
 340 345 350
 Glu Ala Leu Thr Thr Arg Gln Lys Leu Ile Ala Gln Asp Tyr Lys Val
 355 360 365
 Ser Tyr Ser Leu Ala Lys Ser Cys Lys Ser Asp Leu Lys Lys Tyr Arg
 370 375 380
 Cys Asn Val Glu Asn Leu Pro Arg Ser Arg Glu Ala Arg Leu Ser Tyr
 385 390 395 400
 Leu Leu Met Cys Leu Glu Ser Ala Val His Arg Gly Arg Gln Val Ser
 405 410 415
 Ser Glu Cys Gln Gly Glu Met Leu Asp Tyr Arg Arg Met Leu Met Glu
 420 425 430
 Asp Phe Ser Leu Ser Pro Glu Ile Ile Leu Ser Cys Arg Gly Glu Ile
 435 440 445
 Glu His His Cys Ser Gly Leu His Arg Lys Gly Arg Thr Leu His Cys
 450 455 460
 Leu Met Lys Val Val Arg Gly Glu Lys Gly Asn Leu Gly Met Asn Cys
 465 470 475 480
 Gln Gln Ala Leu Gln Thr Leu Ile Gln Glu Thr Asp Pro Gly Ala Asp
 485 490 495
 Tyr Arg Ile Asp Arg Ala Leu Asn Glu Ala Cys Glu Ser Val Ile Gln
 500 505 510
 Thr Ala Cys Lys His Ile Arg Ser Gly Asp Pro Met Ile Leu Ser Cys
 515 520 525
 Leu Met Glu His Leu Tyr Thr Glu Lys Met Val Glu Asp Cys Glu His
 530 535 540
 Arg Leu Leu Glu Leu Gln Tyr Phe Ile Ser Arg Asp Trp Lys Leu Asp
 545 550 555 560
 Pro Val Leu Tyr Arg Lys Cys Gln Gly Asp Ala Ser Arg Leu Cys His
 565 570 575
 Thr His Gly Trp Asn Glu Thr Ser Glu Phe Met Pro Gln Gly Ala Val
 580 585 590
 Phe Ser Cys Leu Tyr Arg His Ala Tyr Arg Thr Glu Glu Gln Gly Arg
 595 600 605
 Arg Leu Ser Arg Glu Cys Arg Ala Glu Val Gln Arg Ile Leu His Gln
 610 615 620
 Arg Ala Met Asp Val Lys Leu Asp Pro Ala Leu Gln Asp Lys Cys Leu
 625 630 635 640
 Ile Asp Leu Gly Lys Trp Cys Ser Glu Lys Thr Glu Thr Gly Gln Glu
 645 650 655
 Leu Glu Cys Leu Gln Asp His Leu Asp Asp Leu Val Val Glu Cys Arg
 660 665 670
 Asp Ile Val Gly Asn Leu Thr Glu Leu Glu Ser Glu Asp Ile Gln Ile
 675 680 685
 Glu Ala Leu Leu Met Arg Ala Cys Glu Pro Ile Ile Gln Asn Phe Cys
 690 695 700
 His Asp Val Ala Asp Asn Gln Ile Asp Ser Gly Asp Leu Met Glu Cys
 705 710 715 720
 Leu Ile Gln Asn Lys His Gln Lys Asp Met Asn Glu Lys Cys Ala Ile
 725 730 735
 Gly Val Thr His Phe Gln Leu Val Gln Met Lys Asp Phe Arg Phe Ser
 740 745 750
 Tyr Lys Phe Lys Met Ala Cys Lys Glu Asp Val Leu Lys Leu Cys Pro
 755 760 765
 Asn Ile Lys Lys Lys Val Asp Val Val Ile Cys Leu Ser Thr Thr Val
 770 775 780
 Arg Asn Asp Thr Leu Gln Glu Ala Lys Glu His Arg Val Ser Leu Lys
 785 790 795 800
 Cys Arg Arg Gln Leu Arg Val Glu Glu Leu Glu Met Thr Glu Asp Ile
 805 810 815
 Arg Leu Glu Pro Asp Leu Tyr Glu Ala Cys Lys Ser Asp Ile Lys Asn
 820 825 830
 Phe Cys Ser Ala Val Gln Tyr Gly Asn Ala Gln Ile Ile Glu Cys Leu
 835 840 845

Lys Glu Asn Lys Lys Gln Leu Ser Thr Arg Cys His Gln Lys Val Phe
 850 855 860
 Lys Leu Gln Glu Thr Glu Met Met Asp Pro Glu Leu Asp Tyr Thr Leu
 865 870 875 880
 Met Arg Val Cys Lys Gln Met Ile Lys Arg Phe Cys Pro Glu Ala Asp
 885 890 895
 Ser Lys Thr Met Leu Gln Cys Leu Lys Gln Asn Lys Asn Ser Glu Leu
 900 905 910
 Met Asp Pro Lys Cys Lys Gln Met Ile Thr Lys Arg Gln Ile Thr Gln
 915 920 925
 Asn Thr Asp Tyr Arg Leu Asn Pro Met Leu Arg Lys Ala Cys Lys Ala
 930 935 940
 Asp Ile Pro Lys Phe Cys His Gly Ile Leu Thr Lys Ala Lys Asp Asp
 945 950 955 960
 Ser Glu Leu Glu Gly Gln Val Ile Ser Cys Leu Lys Leu Arg Tyr Ala
 965 970 975
 Asp Gln Arg Leu Ser Ser Asp Cys Glu Asp Gln Ile Arg Ile Ile Ile
 980 985 990
 Gln Glu Ser Ala Leu Asp Tyr Arg Leu Asp Pro Gln Leu Gln Leu His
 995 1000 1005
 Cys Ser Asp Glu Ile Ser Ser Leu Cys Ala Glu Glu Ala Ala Ala Gln
 1010 1015 1020
 Glu Gln Thr Gly Gln Val Glu Glu Cys Leu Lys Val Asn Leu Leu Lys
 1025 1030 1035 1040
 Ile Lys Thr Glu Leu Cys Lys Lys Glu Val Leu Asn Met Leu Lys Glu
 1045 1050 1055
 Ser Lys Ala Asp Ile Phe Val Asp Pro Val Leu His Thr Ala Cys Ala
 1060 1065 1070
 Leu Asp Ile Lys His His Cys Ala Ala Ile Thr Pro Gly Arg Gly Arg
 1075 1080 1085
 Gln Met Ser Cys Leu Met Glu Ala Leu Glu Asp Lys Arg Val Arg Leu
 1090 1095 1100
 Gln Pro Glu Cys Lys Lys Arg Leu Asn Asp Arg Ile Glu Met Trp Ser
 1105 1110 1115 1120
 Tyr Ala Ala Lys Val Ala Pro Ala Asp Gly Phe Ser Asp Leu Ala Met
 1125 1130 1135
 Gln Val Met Thr Ser Pro Ser Lys Asn Tyr Ile Leu Ser Val Ile Ser
 1140 1145 1150
 Gly Ser Ile Cys Ile Leu Phe Leu Ile Gly Leu Met Cys Gly Arg Ile
 1155 1160 1165
 Thr Lys Arg Val Thr Arg Glu Leu Lys Asp Arg Leu Gln Tyr Arg Ser
 1170 1175 1180
 Glu Thr Met Ala Tyr Lys Gly Leu Val Trp Ser Gln Asp Val Thr Gly
 1185 1190 1195 1200
 Ser Pro Ala

<210> 21
 <211> 2288
 <212> ДНК
 <213> Homo Sapiens

<400> 21
 caaaaacttc tgttccgctg tgcaatatgg caacgctcag attatcgaat gtctgaaaga 60
 aaacaagaag cagctaagca cccgctgccca caaaaagta ttttaagctgc aggagacaga 120
 gatgatggac ccagagctag actacaccct catgagggtc tgtaagcaga tgataaagag 180
 gttctgtccg gaagcagatt ctaaaacat gttgcagtgc ttgaagcaaa ataaaaacag 240
 tgaattgatg gatcccaaat gcaaacagat gataaccaag cgccagatca ccagaaacac 300
 agattaccgc ttaaaccocca tgtaagaaa agcctgtaaa gctgacattc ctaaattctg 360
 tcacggatc ctgactaagg ccaaggatga ttcagaatta gaaggacaag tcatctcttg 420
 cctgaagctg agatatgctg accagcgcct gtcttcagac tgtgaagacc agatccgaat 480
 cattatccag gagtcgccc tggactaccg cctggatcct cagctccagc tgcactgctc 540
 agacgagatc tccagtctat gtgctgaaga agcagcagcc caagagcaga caggtcaggt 600

```

ggaggagtgc ctcaagggtca acctgctcaa gatcaaaaaca gaattgtgta aaaaggaagt 660
gctaaacatg ctgaagggaaa gcaaagcaga catctttgtt gacccgggtac ttcatactgc 720
ttgtgccctg gacattaaac accaactgagc agccatcacc cctggcogcg ggcgtcaaat 780
gtctctgtctc atggaagcac tggaggataa gcggggtgagg ttacagcccg agtgcaaaaa 840
gcgcctcaat gaccggattg agatgtggag ttacgcagca aagggtggccc cagcagatgg 900
cttctctgat cttgccatgc aagtaatgac gtctccatct aagaactaca ttctctctgt 960
gatcagtggg agcatctgta tattgttccct gattggcctg atgtgtggac ggatcaccaa 1020
gcgagtgaca cgagagctca aggacaggta gagccacctt gaccaccaa ggaactacct 1080
atccagtgcc cagtttgtac agccctcttg tatagcatcc ccaactacct cgctcttctc 1140
agaagtgaca ccaaccccgt gtagagcat tagcagatgt ccaactgogtt gtcccacca 1200
gcctccactc gtgtccatgg tgcctcctc ctctcaccg tgcagcagca gcagctggtc 1260
gctgggggta ctgcctttgt ttggcagact tggtttacct gcctgtagtc aagtctctct 1320
cataccaaca gaacttccgg tacttccaga accaactcac ctgacctgca actcaaaggc 1380
ttttttaaga aaaccaccaa aaaaaaaaaat ttttttaag aaaaaaatgt atatagtaac 1440
gcatctctc caggcttgat ttgggcaatg gggttatgtc tttcatatga ctgtgtaaaa 1500
caaagacagg acttggaggg gaagcacacc acccagtggt ccatgactga ggtgtctcgt 1560
tcactctca gaagcgcctt ggggcctcgc cagggcctg gtcttcaccg aggcgtgggt 1620
ggcagccgt tcccaggct gtgtggggtc ctgcttctt ctgctgagac agtgacgctt 1680
tccagtctcc accctaataca gccactgctg gtcacagccc cacagccatg ggtattctg 1740
tggctctctc gcttcattga agcaaagcat gagccttctt agacaagggc agctggggag 1800
gggaagggac cggaagtttg tgaagttgaa cagtccatcc atctgcaactg agaggctgga 1860
tcttgagtc cggggcagca ggatcccagg aaccttctc ctccagggca gcacaggact 1920
cagccgtgtc tggaccggcc ctgctgaggc tacagtcact ctggaagctc tgcgcttcat 1980
caggaggcag gactgtggcg ggaggggtcc ttgaagatgg gtgtggggag cagtgggtca 2040
ggaagtggga gccagaggtt tgactcactt tgctttattt ttcaggctac aatacaggtc 2100
agagacaatg gcttataaag gtttagtgtg gtctcaggat gtgacaggca gtccagcctg 2160
accttctgc acactccaga caaacttccc agacaagctc ctttgtgctt ctacgtggag 2220
aggggtgga aagttatcac attaaaagat ggaggattaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 2280
aaaaaaaa

```

<210> 22
 <211> 309
 <212> Бeлoк
 <213> Homo Sapiens

```

<400> 22
Met Met Asp Pro Glu Leu Asp Tyr Thr Leu Met Arg Val Cys Lys Gln
 1          5          10
Met Ile Lys Arg Phe Cys Pro Glu Ala Asp Ser Lys Thr Met Leu Gln
 20          25          30
Cys Leu Lys Gln Asn Lys Asn Ser Glu Leu Met Asp Pro Lys Cys Lys
 35          40          45
Gln Met Ile Thr Lys Arg Gln Ile Thr Gln Asn Thr Asp Tyr Arg Leu
 50          55          60
Asn Pro Met Leu Arg Lys Ala Cys Lys Ala Asp Ile Pro Lys Phe Cys
 65          70          75          80
His Gly Ile Leu Thr Lys Ala Lys Asp Asp Ser Glu Leu Glu Gly Gln
 85          90          95
Val Ile Ser Cys Leu Lys Leu Arg Tyr Ala Asp Gln Arg Leu Ser Ser
 100         105         110
Asp Cys Glu Asp Gln Ile Arg Ile Ile Gln Glu Ser Ala Leu Asp
 115         120         125
Tyr Arg Leu Asp Pro Gln Leu Gln Leu His Cys Ser Asp Glu Ile Ser
 130         135         140
Ser Leu Cys Ala Glu Glu Ala Ala Ala Gln Glu Gln Thr Gly Gln Val
 145         150         155         160
Glu Glu Cys Leu Lys Val Asn Leu Leu Lys Ile Lys Thr Glu Leu Cys
 165         170         175
Lys Lys Glu Val Leu Asn Met Leu Lys Glu Ser Lys Ala Asp Ile Phe
 180         185         190
Val Asp Pro Val Leu His Thr Ala Cys Ala Leu Asp Ile Lys His His
 195         200         205
Cys Ala Ala Ile Thr Pro Gly Arg Gly Arg Gln Met Ser Cys Leu Met
 210         215         220

```

Glu Ala Leu Glu Asp Lys Arg Val Arg Leu Gln Pro Glu Cys Lys Lys
 225 230 235 240
 Arg Leu Asn Asp Arg Ile Glu Met Trp Ser Tyr Ala Ala Lys Val Ala
 245 250 255
 Pro Ala Asp Gly Phe Ser Asp Leu Ala Met Gln Val Met Thr Ser Pro
 260 265 270
 Ser Lys Asn Tyr Ile Leu Ser Val Ile Ser Gly Ser Ile Cys Ile Leu
 275 280 285
 Phe Leu Ile Gly Leu Met Cys Gly Arg Ile Thr Lys Arg Val Thr Arg
 290 295 300
 Glu Leu Lys Asp Arg
 305

<210> 23
 <211> 2486
 <212> ДНК
 <213> Homo Sapiens

<400> 23
 aatttagcca gctgtggtgg cacatacctg taatcccagc tacttgagag actgaggcag 60
 gagaatcact tgaaccggga gatggagttt gcagtgagcc gagatgggtc cactgtactc 120
 cagcctgggt gacagagcaa gactctgtct ccaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 180
 catttcaagc tggaagattt ggttccctaa ctttgagcct agctctttca ttaaagtaat 240
 aataaaagta gaactctaca tttatataat ggttttgact ttccaaagtg attttcacat 300
 ctacagagtc ctgtgaagga ctaaaataagg tgtttcaggg tagacttggc attggtgttt 360
 gcaaagaagg tccaaggcca tgcagctatt tgggtacaga attgaaagta aagcctgatt 420
 ctcttgctgc aaggcgactt tgctatctag aagccagggt cactagacaa gatgcagtca 480
 acaaataagt ctccagaaca tatgacatct ccagcctaaa ccaagctcac ctttccatgc 540
 tggctccctc atgcagcgg aggacatcog cttggagcca gatctatacg aagcctgcaa 600
 gagtgcacatc aaaaacttct gtccogctgt gcaatatggc aacgctcaga ttatcgaatg 660
 tctgaaaagaa aacaagaagc agctaagcac ccgctgccac caaaaagtat ttaagctgca 720
 ggagacagag atgatggacc cagagctaga ctacaccctc atgaggggtc gcaagcagat 780
 gataaagagg ttctgtccgg aagcagattc taaaaccatg ttgcagtgct tgaagcaaaa 840
 taaaaacagt gaattgatgg atcccaaatg caaacagatg ataaccaagc gccagatcac 900
 ccagaacaca ggtaagatct tggcttggct ctccctggccc cgtggagtat ctgaaaagga 960
 attcagtggc tgtagagtga cctgctcaaa ctcccagggc tttgttgctt gggaatttta 1020
 agggaggagt ctgagtgtaa gcagggcctt cctcctttga ggagcatcca gaaaaatgga 1080
 gggagagtca ggggagagag gaggccacaa gaaccagaaa actgccctaa aagaacgttc 1140
 agaaggaatc aggcggcgag tcccttgaaa gaaaaatcta gaaattcaat aaaacttcat 1200
 gagtgtgcca ggagaatgta cgggtaatct gattcggaac agaaacattt cacctctgag 1260
 ttgaaagacc tcgtaagtta atggtcacag tgatgtgat attgtatttc ttttccagtg 1320
 ttctcaaaaag tgtctgttat ggggaagggt cctgatgtcc ccttgatttt ttagaggact 1380
 ccttagagta ttggagtctg cacaaaaacc cgcagagtag aaagattcct gaggacctcc 1440
 agaagtactc gttacaagat catattgctg attaaaaaca gtgtagttag agctcagtaa 1500
 atgtttattg aatagataaa tccatggttg tagtcatgat cattgacata atatgctccc 1560
 tttaggaagg tggatatcta aaaatgtgtg aatcaggtgg aatgttttgt cacatgctca 1620
 ctgctttcta ctctagatta ccgcttaaac cccatgttaa gaaaagcctg taaagctgac 1680
 attcctaaat tctgtcacgg tatcctgact aaggccaagg atgattcaga attagaagga 1740
 caagtcatct cttgcctgaa gctgagatat gctgaccagc gcctgtcttc agactgtgaa 1800
 gaccagatcc gaatcattat ccaggagtcc gccctggact accgcctgga tccctcagctc 1860
 cagctgcact gctcagacga ggtgggattt gcgtgcaaaa ctggttacgc acagagctgc 1920
 tcagagaagt ttccactgga gaaaagttgt ttactttctc tcccttcagc cgtgaatgat 1980
 ctggtgaatt gaaggccatc ttctaggctc tccatggtct geattcctgt tctttgtaac 2040
 actgaattca acttggcatt agtccctgaca ctctaaagcg ttgttccata tttctctggt 2100
 gaacaagggg gttctttcat tatagctctc tgtaaatttg ttottccctt cttcttattc 2160
 tggatggtaa acccaagacc tgccagaaag ataaaagtgc tttcagctgg gcacggtggc 2220
 tcacgcctgt aatccaaca ctttgggagg ccaaggaggg tggatcatct gaggtcagga 2280
 gttcaagacc agcctggcta acatggagaa atctgtctct actaaaaata caaaaaatta 2340
 gccaggcgtg gtggcgtgca ccagtaatct cagctactca ggaggctgag gcaggagaat 2400
 cacttgaacc cgggaggcgg tggttgcagt gagctgagat catgccactg caccocagcc 2460
 tgggcgacag aggaagactc tgtctc 2486

<210> 24

<211> 156
 <212> Белок
 <213> Homo Sapiens

<400> 24
 Met Gln Thr Glu Asp Ile Arg Leu Glu Pro Asp Leu Tyr Glu Ala Cys
 1 5 10 15
 Lys Ser Asp Ile Lys Asn Phe Cys Ser Ala Val Gln Tyr Gly Asn Ala
 20 25 30
 Gln Ile Ile Glu Cys Leu Lys Glu Asn Lys Lys Gln Leu Ser Thr Arg
 35 40 45
 Cys His Gln Lys Val Phe Lys Leu Gln Glu Thr Glu Met Met Asp Pro
 50 55 60
 Glu Leu Asp Tyr Thr Leu Met Arg Val Cys Lys Gln Met Ile Lys Arg
 65 70 75 80
 Phe Cys Pro Glu Ala Asp Ser Lys Thr Met Leu Gln Cys Leu Lys Gln
 85 90 95
 Asn Lys Asn Ser Glu Leu Met Asp Pro Lys Cys Lys Gln Met Ile Thr
 100 105 110
 Lys Arg Gln Ile Thr Gln Asn Thr Gly Lys Ile Leu Ala Trp Leu Ser
 115 120 125
 Trp Pro Arg Gly Val Ser Glu Lys Glu Phe Ser Gly Cys Arg Val Thr
 130 135 140
 Cys Ser Asn Ser Gln Gly Phe Val Ala Trp Glu Phe
 145 150 155

<210> 25
 <211> 842
 <212> ДНК
 <213> Mus musculus

<400> 25
 ctgagaggaa gttttatctg tgcagccctt ctctgaggat ggacacttct cacactacaa 60
 agtccctgttt gctgattctt cttgtggccc tactgtgtgc agaaagagct cagggactgg 120
 agtgttacca gtgctatgga gtcccatttg agacttcttg cccatcaatt acctgcccct 180
 acctgatgg agtctgtgtt actcaggagg cagcagttat tgtggattct caaacaagga 240
 aagtaaagaa caatctttgc ttaccocatct gccctcctaa tattgaaagt atggagatcc 300
 tgggtactaa ggtcaacgtg aagacttctt gttgccagga agacctctgc aatgtagcag 360
 ttcccattgg aggcagcacc tggaccatgg caggggtgct tctgttcagc ctgagctcag 420
 tctctctgca gaccttgctc tgatggctct cccaatgacc tccacccttg tctttttatc 480
 ctcatgtgca acaattcttc ctggagccct ctagtgatga attatgagtt atagaagctc 540
 caagggtggga gtagtgtgtg aaataccatg ttttgccttt atagcccctg ctgggtaggt 600
 aggtgctcta atcctctcta gggctttcaa gtctgtactt cctagaatgt cattttgttg 660
 tggattgctg ctcatgacc tggaggcaca cagccagcac agtgaagagg cagaattcca 720
 aggtattatg ctatcaccat ccacacataa gtatctgggg tcttgcaatg ttcccacatg 780
 tatctggaat gtcccctgt tgagtccaat aaaccctttg ttctcccaa aaaaaaaaaa 840
 aa 842

<210> 26
 <211> 134
 <212> Белок
 <213> Mus musculus

<400> 26
 Met Asp Thr Ser His Thr Thr Lys Ser Cys Leu Leu Ile Leu Leu Val
 1 5 10 15
 Ala Leu Leu Cys Ala Glu Arg Ala Gln Gly Leu Glu Cys Tyr Gln Cys
 20 25 30
 Tyr Gly Val Pro Phe Glu Thr Ser Cys Pro Ser Ile Thr Cys Pro Tyr
 35 40 45
 Pro Asp Gly Val Cys Val Thr Gln Glu Ala Ala Val Ile Val Asp Ser
 50 55 60
 Gln Thr Arg Lys Val Lys Asn Asn Leu Cys Leu Pro Ile Cys Pro Pro

65					70					75				80	
Asn	Ile	Glu	Ser	Met	Glu	Ile	Leu	Gly	Thr	Lys	Val	Asn	Val	Lys	Thr
				85					90					95	
Ser	Cys	Cys	Gln	Glu	Asp	Leu	Cys	Asn	Val	Ala	Val	Pro	Asn	Gly	Gly
			100					105					110		
Ser	Thr	Trp	Thr	Met	Ala	Gly	Val	Leu	Leu	Phe	Ser	Leu	Ser	Ser	Val
		115					120					125			
Leu	Leu	Gln	Thr	Leu	Leu										
	130														

<210> 27
 <211> 862
 <212> ДНК
 <213> Mus musculus

<400> 27

```

atctgacaga acttgccaact gtgcctgcaa ccttgtctga gaggaacct tctctgagga 60
tggacacttc tcacactaca aagtccctgtg tgctcattct tcttgtggcc ctactgtgtg 120
cagaaagagc tcagggactg cagtgtctacg agtgctatgg agtgccaatt gagacttcct 180
gcccagcagt tacctgccgc gcctctgatg gattctgcat tgctcaaaac atagaattga 240
ttgaggactc tcaaagaagg aaactaaaga cccgtcagtg cctttcttcc tggcctgctg 300
gtgtgccaat cagggatcct aacatcaggg agaggacttc ctggtgcagc gaagacctct 360
gcaatgcagc agttcccact gcaggtagca cctggacat ggcaggggtg cttctgttca 420
gcctgagctc agtcgtcctg cagacottgc tctgatggtc cttccaatga cccccacct 480
tttcttttta tcttcatgtg caaccactct ttctggagt cctctagtga caaattatat 540
gttatagaag gtccaatgtg gggatagtgt gtggaacacc ctgtttcacc tttatagccc 600
ctgctgggta agtgcccagc tctctctctag ggctttcaaa tctgtacttc ttgcaatgcc 660
atntagttgt ggatttctat tcttggccct ggaggcatgt ggccagcaca tgcaacaggc 720
agtattccaa ggtattatag tatcaccatc cacacataag tatctgggggt cctgcagggt 780
tcccatgtat gcctgtcaat gaccctgtt gagtccaata aaagctttgt tctcccagcc 840
aaaaaaaaa aaaaaaaaaa aa 862
    
```

<210> 28
 <211> 131
 <212> Белок
 <213> Mus musculus

<400> 28

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

<210> 29
 <211> 806
 <212> ДНК
 <213> Mus musculus

<400> 29
 gccaccccc gccagcccc tgccataaag gccttggcaa tgcaggggcc cgcactgctc 60
 ccagacgaca tcagagatga ggacagcatt gctgctcctt gcagccctgg ctgtggctac 120
 agggccagcc cttaccctgc gctgccacgt gtgcaccagc tccagcaact gcaagcattc 180
 tgtggtctgc ccggccagct ctgcctcttg caagaccacg aacacagtgg agcctctgag 240
 ggggaatctg gtgaagaagg actgtgcgga gtgcgtgcaca cccagctaca cctgcaagg 300
 ccaggtcagc agcggcacca gctccacca ctgctgccag gaggacctgt gcaatgagaa 360
 gctgcacaac gctgcaccca ccgcaccgc cctgcgccac agtgcctca cctggggct 420
 ggccctgagc ctctggcgcg tcctcttagc ccccagcctg tgaccttccc cccagggag 480
 gccctcatg cctttccttc cctttctctg gggattccac acctctcttc cccagccgca 540
 acgggggtgc caggagcccc aggetgaggg cttccccgaa agtctgggac cagggtccagg 600
 tgggcatgga atgctgatga cttggagcag gccccacaga cccacagag gatgaagcca 660
 cccacagag gatgcagccc ccagctgcat ggaaggtgga ggacagaagc cctgtggatc 720
 cccgatttc acactccttc tgtttgttg ccgtttattt ttgtactcaa atctctacat 780
 ggagataaat gatttaaacc agaaaa 806

<210> 30
 <211> 128
 <212> Белок
 <213> Mus musculus

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

<210> 31
 <211> 1145
 <212> ДНК
 <213> Mus musculus

<400> 31
 gctccggcca gccgggtcc agagcgcgcg aggttcgggg agctccgcca ggctgctggt 60
 acctgcgtcc gccgggcgag caggacagge tgetttggtt tgtgacctcc aggcaggagc 120
 gccatcctct ccagaatgaa gatcttcttg ccagtgtctc tggctgccct tctgggtgtg 180
 gagcgagcca gctcgtgat gtgcttctcc tgettgaaacc agaagagcaa tctgtactgc 240
 ctgaagccga caatctgctc cgaccaggac aactactgcg tgactgtgtc tgctagtgcc 300
 ggcatggga atctcgtgac atttggccac agcctgagca agacctgttc cccggcctgc 360
 cccatcccag aaggcgtcaa tgttggtgtg gcttccatgg gcatcagctg ctgccagagc 420
 tttctgtgca atttcagtgc ggccgatggc gggctgcggg caagcgtcac cctgctgggt 480
 gccgggctgc tgetgagcct gctgccggcc ctgctgcggt ttggccctg accgccaga 540
 ccctgtcccc cgatccccca gctcaggaag gaaagcccag cctttctgg atcccacagt 600
 gtatgggagc ccctgactcc tcacgtgcct gatctgtgcc cttgggtccc ggtcaggccc 660
 acccctgca cctccacctg cccagcccc tgccctgccc caagtgggccc agctgcctc 720
 acttctgggg tggatgatgt gaccttcctt gggggactgc ggaagggacg agggttccct 780
 ggagtcttac ggtccaacat cagaccaagt cccatggaca tgetgacagg gtccccaggg 840
 agaccgtgtc agtagggatg tgtgcctggc tgtgtactgt ggtgtgcagt gcactgaga 900
 gcaegtggcg gcttctgggg gcaatgtttg gggagggag tgtgccagca gctggagag 960
 cctcagtcct tgtagcccc tgccctggca cagctgcatg cacttcaagg gcagcctttg 1020
 ggggttgggg tttctgccac ttccgggtct aggcctgcc caaatccagc cagtccctgc 1080

ccagcccacc cccacattgg agccctcctg ctgctttggt gcctcaaata aatacagatg 1140
tcccc 1145

<210> 32
<211> 131
<212> Белок
<213> Mus Musculus

<400> 32
Met Lys Ile Phe Leu Pro Val Leu Leu Ala Ala Leu Leu Gly Val Glu
1 5 10 15
Arg Ala Ser Ser Leu Met Cys Phe Ser Cys Leu Asn Gln Lys Ser Asn
20 25 30
Leu Tyr Cys Leu Lys Pro Thr Ile Cys Ser Asp Gln Asp Asn Tyr Cys
35 40 45
Val Thr Val Ser Ala Ser Ala Gly Ile Gly Asn Leu Val Thr Phe Gly
50 55 60
His Ser Leu Ser Lys Thr Cys Ser Pro Ala Cys Pro Ile Pro Glu Gly
65 70 75 80
Val Asn Val Gly Val Ala Ser Met Gly Ile Ser Cys Cys Gln Ser Phe
85 90 95
Leu Cys Asn Phe Ser Ala Ala Asp Gly Gly Leu Arg Ala Ser Val Thr
100 105 110
Leu Leu Gly Ala Gly Leu Leu Leu Ser Leu Leu Pro Ala Leu Leu Arg
115 120 125
Phe Gly Pro
130

<210> 33
<211> 877
<212> ДНК
<213> Mus musculus

<400> 33
actgtgcctg caacctgggc agagaggaag taaggactgg tgtcaggagg gagctgctag 60
gtttgatctg tgcagccctt ctccaaggat ggacagttgt cacactacaa agtcctgtgt 120
actcatcctt cttgtgggtc tattgtgtgc agaaagagct caggggctgg agtgctataa 180
ctgcctggga gtttcacttg gaattgcctg caaatcaatt acctgcccct accctgatgc 240
agtctgcatt tctcagcagg tagaacttat tgtggactct caaagaagga aagtaaagaa 300
caaactctgc tttcctttct gccctgctaa tcttgaaaaat atggagatcc tgggtactac 360
tgtcaacgtg aataacttct gttgcaagga agacctctgc aatgcacat tttccactgg 420
aggcagcacc tggaccatga caagggtgct tctgttaaat ctgggctcgg tcttctctga 480
gaccttgctg taaaagggtc ttccaaggac ctccaccctt gttgttttat cctcatttgc 540
aactattcct tctcggagcc ctctagtgat gaattatgag atattgaagc tccaagggtg 600
gagtagtgtt tgtggaatac gttgtttcaa ctttatagcc cctgcttggg aaatgcccc 660
ctcctctcta ggaatttcaa atatgtactt cctagaatgc cattttggtg tggcttgcta 720
atcttggccc tggaggcccc tggctagcag agggtagagg cagaattoca aggtattaag 780
ccatcaccat ccacacataa gtgtctgagg ttctgcagga ttctcatgta tgcggcttta 840
tgtccccttg ttgagtccaa taaacccttt gttctcc 877

<210> 34
<211> 134
<212> Белок
<213> Mus musculus

<400> 34
Met Asp Ser Cys His Thr Thr Lys Ser Cys Val Leu Ile Leu Leu Val
1 5 10 15
Val Leu Leu Cys Ala Glu Arg Ala Gln Gly Leu Glu Cys Tyr Asn Cys
20 25 30
Leu Gly Val Ser Leu Gly Ile Ala Cys Lys Ser Ile Thr Cys Pro Tyr
35 40 45
Pro Asp Ala Val Cys Ile Ser Gln Gln Val Glu Leu Ile Val Asp Ser

50						55										60
Gln	Arg	Arg	Lys	Val	Lys	Asn	Lys	Leu	Cys	Phe	Pro	Phe	Cys	Pro	Ala	
65					70					75					80	
Asn	Leu	Glu	Asn	Met	Glu	Ile	Leu	Gly	Thr	Thr	Val	Asn	Val	Asn	Thr	
				85					90					95		
Ser	Cys	Cys	Lys	Glu	Asp	Leu	Cys	Asn	Ala	Pro	Phe	Ser	Thr	Gly	Gly	
			100					105						110		
Ser	Thr	Trp	Thr	Met	Thr	Arg	Val	Leu	Leu	Leu	Asn	Leu	Gly	Ser	Val	
			115				120						125			
Phe	Leu	Gln	Thr	Leu	Leu											
																130

<210> 35
 <211> 710
 <212> ДНК
 <213> Mus musculus

<400> 35
 ctgcagccag gtctgagagg aagtaaggac tgggtgcagg agggagctgc taggtgacaa 60
 aggaagaac cctcaggata gggctgtggt gggagtgaga ttaggaaaga agagctgggt 120
 ggggtggtgga tgagagaagt aggcagacat gtattcctca gggaaagctg ttagaggggt 180
 tggagggagg gaatattgga tggctgagcc gtgtgagagc ccaggggtgt gatcaggggt 240
 ctattaactg gctccaactt ccaaggtttt atctgtgcag cccttctcca aggatggaca 300
 cttctcacga gataaagtcc tgtgtgctga tccttcttgt gaccctactc tgtgcagaaa 360
 gagctcaggg actggagtgt taccagtgtc atggagtccc atttgagact tcttgcccat 420
 catttacctg cccctaccct gatggattct gtgttgctca ggaggaagaa tttattgcaa 480
 actctcaaag aaagagagta aagagccggt cttgccatcc tttctgcctc gatgaaattg 540
 aaaagaagtt tatcctggat cctaacacca agatgaatat ttctgttgc caggaagacc 600
 tctgcaatgc agcagttccc actggaggca gtcctggac cacggcagg gtgcttctgt 660
 tcagcctggg ctcagtcctc ctgcagacc tgatgtgatg gtccccacc 710

<210> 36
 <211> 134
 <212> Белок
 <213> Mus musculus

<400> 36
 Met Asp Thr Ser His Glu Ile Lys Ser Cys Val Leu Ile Leu Leu Val
 1 5 10 15
 Thr Leu Leu Cys Ala Glu Arg Ala Gln Gly Leu Glu Cys Tyr Gln Cys
 20 25 30
 Tyr Gly Val Pro Phe Glu Thr Ser Cys Pro Ser Phe Thr Cys Pro Tyr
 35 40 45
 Pro Asp Gly Phe Cys Val Ala Gln Glu Glu Glu Phe Ile Ala Asn Ser
 50 55 60
 Gln Arg Lys Arg Val Lys Ser Arg Ser Cys His Pro Phe Cys Pro Asp
 65 70 75 80
 Glu Ile Glu Lys Lys Phe Ile Leu Asp Pro Asn Thr Lys Met Asn Ile
 85 90 95
 Ser Cys Cys Gln Glu Asp Leu Cys Asn Ala Ala Val Pro Thr Gly Gly
 100 105 110
 Ser Ser Trp Thr Thr Ala Gly Val Leu Leu Phe Ser Leu Gly Ser Val
 115 120 125
 Leu Leu Gln Thr Leu Met
 130

<210> 37
 <211> 1735
 <212> ДНК
 <213> Mus musculus

<400> 37

ggtatcagag gtgagcccgt gctcttcagc ggagaagatc ccctacctgg ccgccggcca 60
ctttctgtgg gccgtggggg cctcaaggag acggcccttg ggctcagggg ctgcgtttcc 120
acacgcgcct ttcccagggc tcccgcgccc gttcctgcct ggccgccggc cgctccaaca 180
gcagcacaag gcgggactca gaaccggcgt tcagggcgcg cagcggccgc gaggccctga 240
gatgaggctc caaagacccc gacaggcccc ggcgggtggg aggcgcgcgc cccggggcgg 300
gcggggctcc cctaccggc cagaccggg gagagggcgc cggaggctgc gaaggttcca 360
gaagggcggg gagggggcgc cgcgcgtga cectccctgg gcaccgctgg ggacgatggc 420
gctgctcgcc ttgctgctgg tcgtggccct accgcgggtg tggacagacg ccaacctgac 480
tgcgagacaa cgagatccag aggactccca gcgaacggac gagggtgaca atagagtgtg 540
gtgtcatgtt tgtgagagag aaaacacttt cgagtgccag aacccaagga ggtgcaaatg 600
gacagagcca tactgctgta tagcggccgt gaaaatattt ccacgttttt tcatggttgc 660
gaagcagtgc tccgctgggt gtgcagcgat ggagagacc aagccagagg agaagcggtt 720
tctcctggaa gagcccatgc ccttctttta cctcaagtgt tgtaaaattc gctactgcaa 780
tttagagggg ccacctatca actcatcagt gttcaaagaa tatgctggga gcatgggtga 840
gagctgtggt gggctgtggc tggccatcct cctgctgctg gcctccattg cagccggcct 900
cagcctgtct tgagccacgg gactgccaca gactgagcct tccggagcat ggactcgctc 960
cagaccgttg tcacctgttg cattaactt gttttctgtt gattacctct tggtttgact 1020
tcccagggtc ttgggatggg agagtgggga tcaggtgcag ttggtcttta accctcaagg 1080
gttctttaac tcacattcag aggaagtcca gatctcctga gtagtgattt tggtgacaag 1140
ttttctctt tgaaatcaaa ccttgtaact catttattgc tgatggccac tctttcctt 1200
gactccccctc tgcctctgag ggcttcagta ttgatgggga gggaggccta agtaccactc 1260
atggagagta tgtgctgaga tgcttccgac ctttcagggtg acgcaggaac actgggggag 1320
tctgaatgat tgggggtgaag acatccctgg agtgaaggac tcctcagcat ggggggcagt 1380
ggggcacacg ttagggctgc ccccattcca gtggtggagg cgctgtggat ggctgctttt 1440
cctcaaccct tctaccaga ttccaggagg cagaagataa ctaattgtgt tgaagaaact 1500
tagacttcac ccaccagctg gcacaggtgc acagattcat aaattcccac acgtgtgtgt 1560
tcaacatctg aaacttaggc caagtagaga gcatcagggt aaatggcgtt catttctctg 1620
ttaagatgca gccatccatg gggagctgag aaatcagact caaagtcca ccaaaaacaa 1680
atacaagggg acttcaaaag ttcacgaaaa aattgaatta aaagataaaa attaa 1735

<210> 38
<211> 223
<212> Белок
<213> Mus musculus

<400> 38
Met Arg Leu Gln Arg Pro Arg Gln Ala Pro Ala Gly Gly Arg Arg Ala
1 5 10 15
Pro Arg Gly Gly Arg Gly Ser Pro Tyr Arg Pro Asp Pro Gly Arg Gly
20 25 30
Ala Arg Arg Leu Arg Arg Phe Gln Lys Gly Gly Glu Gly Ala Pro Arg
35 40 45
Ala Asp Pro Pro Trp Ala Pro Leu Gly Thr Met Ala Leu Leu Ala Leu
50 55 60
Leu Leu Val Val Ala Leu Pro Arg Val Trp Thr Asp Ala Asn Leu Thr
65 70 75 80
Ala Arg Gln Arg Asp Pro Glu Asp Ser Gln Arg Thr Asp Glu Gly Asp
85 90 95
Asn Arg Val Trp Cys His Val Cys Glu Arg Glu Asn Thr Phe Glu Cys
100 105 110
Gln Asn Pro Arg Arg Cys Lys Trp Thr Glu Pro Tyr Cys Val Ile Ala
115 120 125
Ala Val Lys Ile Phe Pro Arg Phe Phe Met Val Ala Lys Gln Cys Ser
130 135 140
Ala Gly Cys Ala Ala Met Glu Arg Pro Lys Pro Glu Glu Lys Arg Phe
145 150 155 160
Leu Leu Glu Glu Pro Met Pro Phe Phe Tyr Leu Lys Cys Cys Lys Ile
165 170 175
Arg Tyr Cys Asn Leu Glu Gly Pro Pro Ile Asn Ser Ser Val Phe Lys
180 185 190
Glu Tyr Ala Gly Ser Met Gly Glu Ser Cys Gly Gly Leu Trp Leu Ala
195 200 205
Ile Leu Leu Leu Leu Ala Ser Ile Ala Ala Gly Leu Ser Leu Ser
210 215 220

<210> 39
 <211> 20
 <212> ДНК
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Искусственная последовательность

<400> 39
 cttaccscatc tgccctccta 20

<210> 40
 <211> 20
 <212> ДНК
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Искусственная последовательность

<400> 40
 cctccattgg gaactgctac 20

<210> 41
 <211> 24
 <212> ДНК
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Искусственная последовательность

<400> 41
 tcctgttgcc aggaagacst ctgc 24

<210> 42
 <211> 20
 <212> ДНК
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Искусственная последовательность

<400> 42
 acttcctgcc cagcagttac 20

<210> 43
 <211> 20
 <212> ДНК
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Искусственная последовательность

<400> 43
 ggcactgacg ggtcttttagt 20

<210> 44
 <211> 20
 <212> ДНК
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Искусственная последовательность

<400> 44
ctgccgcgcc tctgatggat

20

<210> 45
<211> 1659
<212> ДНК
<213> mus musculus

<400> 45
ggagagagca ggacacagct atggatgccg ccaggagagg agatacacag ccagtgatgt 60
ggaccaccgg atggctgttg ctgctgccgc ttctgctgtg tgaaggagcg caagccctgg 120
agtgctacag ctgctgtcag aaggcggacg atggatgctc tccgcacagg atgaagacag 180
tcaaagtgtg tcccgggggtg gacgtctgta ccgaggccgt gggagcggta gagaccatcc 240
acgggcaatt ctctgtggcg gtgcggggct gcggttccgg aatcccgggc aagaacgacc 300
gcggactgga ccttcacggg ctccctggcct tctttcagct acagcagtgc tccgaggacc 360
gatgcaacgc caaactcaac ctcaactttgc gaggcctcaa ccctgcaggc aatgagagtg 420
catatgagcc taacgggtgca gagtgctaca gctgtgtggg tctgagccgc gagaagtgcc 480
agggctccat gccgcgggtc gtgaaactgt acaacgccag tggccgtgtc tacaagggct 540
gcttcgatgg taacgtcacc ctgacggcag ccaacgtgac cgtgtcctta cctgtccgag 600
gctgctgcca ggacgagacc tgcacccggg atgggggtgac ggggccagga ttcacactca 660
gcggctcttg ctgtcagggc ccccgctgta acgccgacct tcgcaacaag acctatttct 720
cccctcgaat cccaccctta gtccctgtgc cccctccaac caccgcagcc ccatccactc 780
gggcccagaa ctccctccagc acgacctcta cagcagcccc aaccacgacc acctccatca 840
tcaagcccac cacagcccaa gccagccaca cttctcccca tgaatggat ctogaagtca 900
tacaggaaga gggggcgtcg ttgagtggag gtgctgcggg ccatggaggt actgcccccc 960
atggaggtgc tgcgggccac caagaccgca gcaatatgga gaagtatcca ggaaaggggtg 1020
gggcccagat cccagctaaa ggaggctctg gcactctagg gtccctggtg tctgcagttc 1080
tgttgactgt ggttgctggc gcgatgctgt gaatgtctca tctcgaagag tccatctcac 1140
tttgtttccc tggccccgtg gtaccaactc tttccatttc tcaactgact ggactggctc 1200
cgcccccatc cttcagcatt ctcagttccg actgcactgg tttgcagctt cggaaaacag 1260
tcctotggtg taaatattcc gctcgggtgg ccctactttt ttgatgcggc cacagcattc 1320
cccctgatgg tgaccaggac agaggggaaga gacgtctact ggctgagaga ggcccagaga 1380
gtccacggca agcctcctct tcccgttttc ctgaccaggc tggaaatgga ccaggcaggt 1440
agacaatgga tccatcctcc gagcactgtg cttgcctggc acattgtgcg gaaatctggt 1500
cgctctgtct ccttaggaga ctgtgaacaa ctctacaaca ggtctgtgct tctggcctct 1560
ctatgtgttc tgtctggcac aggaaggtgt caataaagat ttagttactt tgtatagtga 1620
gttaactaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1659

<210> 46
<211> 363
<212> Белок
<213> mus musculus

<400> 46
Met Asp Ala Ala Arg Arg Gly Asp Thr Gln Pro Val Met Trp Thr Thr
1 5 10 15
Gly Trp Leu Leu Leu Pro Leu Leu Cys Glu Gly Ala Gln Ala
20 25 30
Leu Glu Cys Tyr Ser Cys Val Gln Lys Ala Asp Asp Gly Cys Ser Pro
35 40 45
His Arg Met Lys Thr Val Lys Cys Gly Pro Gly Val Asp Val Cys Thr
50 55 60
Glu Ala Val Gly Ala Val Glu Thr Ile His Gly Gln Phe Ser Val Ala
65 70 75 80
Val Arg Gly Cys Gly Ser Gly Ile Pro Gly Lys Asn Asp Arg Gly Leu
85 90 95
Asp Leu His Gly Leu Leu Ala Phe Phe Gln Leu Gln Gln Cys Ser Glu
100 105 110
Asp Arg Cys Asn Ala Lys Leu Asn Leu Thr Leu Arg Gly Leu Asn Pro
115 120 125
Ala Gly Asn Glu Ser Ala Tyr Glu Pro Asn Gly Ala Glu Cys Tyr Ser
130 135 140
Cys Val Gly Leu Ser Arg Glu Lys Cys Gln Gly Ser Met Pro Pro Val

```

145              150              155              160
Val Asn Cys Tyr Asn Ala Ser Gly Arg Val Tyr Lys Gly Cys Phe Asp
              165              170              175
Gly Asn Val Thr Leu Thr Ala Ala Asn Val Thr Val Ser Leu Pro Val
              180              185              190
Arg Gly Cys Val Gln Asp Glu Thr Cys Thr Arg Asp Gly Val Thr Gly
              195              200              205
Pro Gly Phe Thr Leu Ser Gly Ser Cys Cys Gln Gly Pro Arg Cys Asn
              210              215              220
Ala Asp Leu Arg Asn Lys Thr Tyr Phe Ser Pro Arg Ile Pro Pro Leu
225              230              235              240
Val Leu Leu Pro Pro Pro Thr Thr Ala Ala Pro Ser Thr Arg Ala Gln
              245              250              255
Asn Ser Ser Ser Thr Thr Ser Thr Ala Ala Pro Thr Thr Thr Thr Ser
              260              265              270
Ile Ile Lys Pro Thr Thr Ala Gln Ala Ser His Thr Ser Pro His Glu
              275              280              285
Met Asp Leu Glu Val Ile Gln Glu Glu Gly Ala Ser Leu Ser Gly Gly
290              295              300
Ala Ala Gly His Gly Gly Thr Ala Gly His Gly Gly Ala Ala Gly His
305              310              315              320
Gln Asp Arg Ser Asn Met Glu Lys Tyr Pro Gly Lys Gly Gly Ala Gln
              325              330              335
Ile Pro Ala Lys Gly Gly Ser Gly Thr Leu Gly Ser Trp Leu Ser Ala
              340              345              350
Val Leu Leu Thr Val Val Ala Gly Ala Met Leu
              355              360

```

<210> 47
 <211> 934
 <212> ДНК
 <213> mus musculus

<400> 47

```

tcgctccccg cgccgtgccc gccgctgagc cggagtgcg gacaccccag ggatgcoctgc 60
gccccagagg acccccgcct gcageccccg cgcctctttc aggccctatc ggagcatgct 120
gcoctgcagcc atgaagagcc tcgggtctggc gctgctggcc ttgcttctct gccctcggcc 180
ggcccatggc ctgtggtgcc aggactgcac cctggccaat tccagccatt gcgctocgaa 240
gcagtgccag cccaccgata cggtttgtgc cagcgtgagg atcaccgacc ccagcagcag 300
caggaaggat cattctgtga acaagatgtg tgcttctctc tgcgacttcg ttaagcggca 360
ctttttctca gactatctga tggggttcat taactctggg atcttaaaag tcgacgtgga 420
ctgctgcgag aaagatttgt gcaacggggc atcggtcgca ggacgcagcc cctgggacct 480
ggctgggggg ctctgctca gcctggggcc tgctctctc tgggctgggc cctaagacct 540
ctccctccct cctgctgggc tttggagctt gtcccctaag cctgctgctg cccctcccca 600
gcctggcctg gctggggctg ggacagcaag ggtttggcat caaggtctga ggctctcaac 660
ctccctagat gtgagtgagc cttctccggt tctccaccag ctccatatec caagcagctg 720
aatatctcca ggagtccaga catcctggca ggaagctggg gtagggggga gggggagggc 780
aagggactga gaccctccag gtctccaagg ggaggagggt caagccaggg acagcccaac 840
agcctggcct gaggggcatt aactacagag aaataaagtc acttctgagt cttgtgaaaa 900
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaa 934

```

<210> 48
 <211> 160
 <212> Белок
 <213> mus musculus

<400> 48

```

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

```

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

<210> 49
 <211> 2047
 <212> ДНК
 <213> mus musculus

<400> 49
 agaagaggcg agactttttt ggggtgctccg gatcgccagt agttcttcaa gcctcagcag 60
 ccaactcctc cggaggcgct gcgctccgcc ccagggagcg cgaatcoaag gagcctggga 120
 ccagcctctg ggagcccccg gcgcgggcga tgcggggcgc gcgggcgaca cctgcggtct 180
 ctctcgggtg cagcgcgtcg ttgggcggca gcagcgcgag cctcggcagc ctcggcagct 240
 actgtcgcgg cggccagaac agcctccgct gcggtcgtgg tctctgatgc tcttgcccgc 300
 tcccggccct gcogatccgg gaggatgtgg gttctcggca tgcagcaac tttttgcgga 360
 ttgttctggc ttccagggct ggcgctgcaa attcagtgt accagtgtga agaattccag 420
 ctgaacaacg attgctcacc cctgagttc atcgtaaatt gcaccgtgaa cgttcaagac 480
 atgtgtcaga aagaagtgat ggagcaaagt gctgggatca tgtaccggaa gtcgtgtgca 540
 tcgtcagcag cctgtctcat tgcttcagct gggtagcagt ccttctgttc cctgggaaa 600
 ctgaactccg tgtgcatcag ctgctgcaac acccctcttt gcaatgggccc gaggcccaag 660
 aagagaggca gctctgcctc ggccatcagg ccagggcttc tcaccactct cctgttcttc 720
 cacttagccc tctgcttggc aactgctga agctaaagga gatgccaacc cctgctgctc 780
 cacctgtctg gcccttcgtc tctcaccttc ccgagtctct totgggtgtc cttttattct 840
 gggtagacaa gggagtcttt ttgtccctc ctttcaagta acgcaagatt gccgtgcaca 900
 aatacttttg taagctctga accaattcat tctgaatttc tgtgtgtagt tgaagaaaa 960
 agcatggagc agaaagtcca gaccctccca tcccattctg gttaaccacc gccaaaggta 1020
 gcctggaaga accagccctt agaagtcatt gagatacgca totgcctttc ccaaagcctt 1080
 gagcttccat totgtcccag taggagtcac agtctattca gagactgctg ctgctggaag 1140
 gtaactttgc ttttgcggga ggggagagcc agtttcggct caaggcttct gaacttgcca 1200
 ttcatacttc ctgctcctgt aaactatttt ctgggggtgga cccagctggt ttggtctctg 1260
 agccagtctg tggtgactca ggactcaagg gctggggctt agcctctcca ggcctggcct 1320
 cagtctgaaa agtgcettaag aaaaccttgt tagttctcct ggaggaagag ttactgccc 1380
 gggaggctag gaagatgagg gggctgcggg ctgagctggt gctgtccttg gtggagatga 1440
 agcgggcaag ctggcgtttc tcttggttgg catgctgcag agtcaggcgg cagcagagca 1500
 cctgccagaa caccttccgg aactgctgag aggacacggt gtagaggaga gggttgacca 1560
 cagagctgag gtagaagaag gtatcagaga agggcaggag gatcatgtat gcctgaagt 1620
 acgttctggt ccagtcattg ttgggttttg ctgcagccat gatccgtcgg atctgattgg 1680
 gcatccaaca cacggccaac gtcaccacaa tcagtcctgg caggcaagaa caggagagaa 1740
 aaggagacgg ggagagaaac agcatgagaa caaaaataaa taaataaaaa cccataaaat 1800
 attaaagccc ttggttctgt tgcttactgg ccgagaaacg gtaccaatct ttcagctctg 1860
 tgcttgtcgg cttctttttg ccaactggcaa aggagaattt aatgctgctt caagctcagg 1920
 ggacttggtg atgttaaaaa gcgttaaatg ctttcgacag tgtatttata cttacggctg 1980
 cctgttaatt ttcaaatgt tttcattggt gctcgtgtat ccagaaaata tctcacggtg 2040
 gccaaaa 2047

<210> 50
 <211> 141
 <212> Белок
 <213> mus musculus

<400> 50

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

<210> 51
 <211> 516
 <212> ДНК
 <213> mus musculus

<400> 51
 ggcaggcctg agtgaggacc tcgaccatgc aggggacctg gatggtgctg ttggcactga 60
 tattgggcac cttcggggag cttgctatgg ccttacagtg ctacacctgt gogaatcctg 120
 tgagtgcac caactgtgtc accaccacc actgccacat caatgaaacc atgtgcaaga 180
 ctacgctcta ctccctggag attgttttcc ctttctggg ggactccacg gtgaccaagt 240
 cctgcgccag caagtgtgag ccttcggatg tggatggcat tgggcaaacc cggccagtgt 300
 cctgctgcaa ttctgacctg tgcaacgtgg atggggcacc cagcctgggc agtccctggtg 360
 gctgctcctc tgccctggca cttttcttgc tcttgggtgt cctgctgtaa agccatggcc 420
 atctagctcc actcccttgt ccctgacatc ccagttccct aatgcctaga agaaatacaa 480
 tggccatctg caaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaa 516

<210> 52
 <211> 127
 <212> Белок
 <213> mus musculus

<400> 52
 Met Gln Gly Thr Trp Met Val Leu Leu Ala Leu Ile Leu Gly Thr Phe
 1 5 10 15
 Gly Glu Leu Ala Met Ala Leu Gln Cys Tyr Thr Cys Ala Asn Pro Val
 20 25 30
 Ser Ala Ser Asn Cys Val Thr Thr Thr His Cys His Ile Asn Glu Thr
 35 40 45
 Met Cys Lys Thr Thr Leu Tyr Ser Leu Glu Ile Val Phe Pro Phe Leu
 50 55 60
 Gly Asp Ser Thr Val Thr Lys Ser Cys Ala Ser Lys Cys Glu Pro Ser
 65 70 75 80
 Asp Val Asp Gly Ile Gly Gln Thr Arg Pro Val Ser Cys Cys Asn Ser
 85 90 95
 Asp Leu Cys Asn Val Asp Gly Ala Pro Ser Leu Gly Ser Pro Gly Gly
 100 105 110
 Leu Leu Leu Ala Leu Ala Leu Phe Leu Leu Leu Gly Val Leu Leu
 115 120 125

<210> 53
 <211> 450
 <212> ДНК
 <213> mus musculus

<400> 53
atgcttttta tggcaggccc tgcagccagc tggtcctga ggcccctggg actccatggc 60
gtcccccaag ccttgtgtgc tgtcctctta acagtgtctg tcatgaagac cttggttctc 120
ggtgatacca agctcgagga ccttcaccct cagtccctcc cactaaacaa gtacctgaat 180
tgctaccgat gtctgtctgga gaccgaagag ctgggggtgc tcttgggggc tgacacctgc 240
ctgacacctc tgggcagcag ctgtgtcacc ctgacacata agaacagcag cggttttaat 300
gtcatggtga gcgactgcta cagcaaggag cagatggtcc attgttcata taccctgct 360
tccccggtgt ttggcttttg gatattctat cagtgttctg tcttggattt ctgcaacaat 420
ccggacaaca gaaagaatag catgcactag 450

<210> 54
<211> 149
<212> Белок
<213> mus musculus

<400> 54
Met Leu Phe Met Ala Gly Pro Ala Ala Ser Trp Ser Leu Arg Pro Leu
1 5 10 15
Gly Leu His Gly Val Pro Gln Ala Leu Cys Ala Val Leu Leu Thr Val
20 25 30
Leu Val Met Lys Thr Leu Val Leu Gly Asp Thr Lys Leu Glu Asp Leu
35 40 45
His Pro Gln Ser Leu Pro Leu Asn Lys Tyr Leu Asn Cys Tyr Arg Cys
50 55 60
Leu Leu Glu Thr Glu Glu Leu Gly Cys Leu Leu Gly Ser Asp Thr Cys
65 70 75 80
Leu Thr Pro Leu Gly Ser Ser Cys Val Thr Leu His Ile Lys Asn Ser
85 90 95
Ser Gly Phe Asn Val Met Val Ser Asp Cys Tyr Ser Lys Glu Gln Met
100 105 110
Val His Cys Ser Tyr Thr Arg Ala Ser Pro Val Phe Gly Phe Trp Ile
115 120 125
Phe Tyr Gln Cys Cys Phe Leu Asp Phe Cys Asn Asn Pro Asp Asn Arg
130 135 140
Lys Asn Ser Met His
145

<210> 55
<211> 960
<212> ДНК
<213> mus musculus

<400> 55
agagctggag acctgggaat ctgctgtcaa ctgctggggc tgtggacatt ctcaggacc 60
tcaccatgaa acacctcctg ttgctcacc cgtctgcct actctactgc tgggtctcag 120
ctgatactcg atgtaectcc tgetacaaag tccctgtgct gggctgtgtg gatcgccagt 180
cctgccgcct ggagccgggc cacaatgcc tgacaacaaa cgtgtacctt ggaagatgt 240
gggttttctc taacctgccc tgcggcacac cagaagagcc ttgtcgggag gtcttcaacg 300
aaaccaacca taagctgggc ctgaactaca acaccacctg ctgtgacaag gataactgta 360
acagcccggc tccacggccc acaccgcac tggcctcat ctcctcacc tccctggctg 420
gcctcggcct ctggttattg cattgagact agctccatgg ctacaatctt accactgct 480
atagcctgag cttttctccc tgtgtcctca gagctccagc tttccagaat cttctctcct 540
cccaccccct tcttctgaag atcatgtccc tagtctata ccatttattt catgggactg 600
tacctggagt ggcctttcta gccaccgctc ctctccctca cttgtcacct tccactccat 660
tccaccaca cacagacaca cagacacaca gacacaaaga cacacacaca cacacacaca 720
cacacacaca cccagtcctt tcccatttcc ttctagaaca ctctacctcc tccactggcc 780
actgaaaggc tcccctcctt ggacgcacac tgotgtgct ctgggatcta agtctggaag 840
aactcctgtc ttgtctccag ggagtgattc caaaaggcgc tggcctcatt gcatgggcct 900
ggcttaaccag acctctgct tgtcccctc tatcttgaga aataaacatc agtgtcta 960

<210> 56

<211> 126
 <212> Белок
 <213> mus musculus

<400> 56

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

<210> 57
 <211> 3952
 <212> ДНК
 <213> mus musculus

<400> 57

```

gctacttggt cctgcctgog atgocgtacc aacaccgcac gaagtgtgta cagattccca 60
gttagacagc aggagggacc tgggagcggc cagggggatg tttatctct aagagaccaa 120
gagctcaggc agggtttctg tgcctgctt cctccctggc ttgagctgga tectggacca 180
gctgctgacc tctgtttcac tctggcactg ccctcactgc tccgtcatga cccatctgct 240
cacagtgttc ctggtggccc tgatgggccc gctgtggccc caggctctgg agtgccactg 300
gtgtgcctac aatggagaca actgcttcaa acccatgccc tgcccagcca tggccaccta 360
ctgtatgacc acacgaactt acttcacccc ataccggatg aagtgagga agtcctgtgt 420
ccccagctgc tttgaaaccg tgtacgatgg ctattccaag catgcatctg ccacctcctg 480
ttgccagtac tacctctgca acggtgctgg ctttgcctacc cegtgacct tggccctggt 540
ccagcactc ctagctacct tctggagctt gctgtaaagc tcggttcccc aagccagatc 600
cactcaaac caaacctctc aaaaaacaca gtttccctct ctctcccaat tcactccacc 660
caacgctctt cctctgaca ctcctcaact accacgaggt cccatggcta cctacgaaag 720
aactgatggc atccagatac ctcaactcaa ggtcattttc agaaggctga catgtggacc 780
tgtaatgtgc ccacccatgg gtggggcagg ctgggcttct cctctaccca agatcagggg 840
catctgggag aatgtttatg gaggaggggt catcactcaa gtcaaggagc actgatttga 900
tagaattagt agccaaactc caccttcaga accctgcctc agtctaccca gtagaggatg 960
ggctctgctag aggtgagggg aggagagcgg oggagaataa cgagctggct agaagcagag 1020
aaagactcag cagggctgtc tccgaagatc agcgcggctt gccagagcaa atgtgatgtg 1080
gaagccatgt gaggaagccc tttgtcattt ccacttatct gaggaactct gccagacctg 1140
atgttgggat agccattggc caagggttcc tagcaacggc gtcatttcca taggccactg 1200
aaatccctcc agccccagct cagcaggccc cttgacctcc actacagtc ttcattcaca 1260
caccagctgc tgggccttga agttggcagg gacttgggag caggtgacct atgctatttt 1320
ttgtctggcc tgttattctg ggcatggcaa gaagggatca gacgcaggtc agagcagggc 1380
agtaggcga ctgagacagg gaaacagact tcagccagtg gcttcccagg tcccgtaggc 1440
agctcctaca tccttcagtc tcttgttaca ttcccgggag acaaataac agggagccaa 1500
gccgagtgtc aggtgatgac tgctgtgaa gtctattgtg gccacagact gctgggtacc 1560
aagtctcagg agaaccagc ctgatttag gagacacaga tctgcctttc atgcagtgtg 1620
gctgtccttg ggagccttac catgtctct aactagtacc tcaactcaca tgtcactgag 1680
gaacccctca acactggccc agcccagggg tgggatgct ggccaatgtc catggagtgg 1740
gactaccat ggagagtct tgggtcatca catcacaat gttttattcc aacctcccag 1800
tggtgagagc tcgggacaca aaggtccatc ctggggacct tcttctggt tctaggcaga 1860
cctgaactct gtctgctgct agagctgat tggttttccg cctcagtttc ctctccggg 1920
gataggccac cggaggattt gggaggggtg ggagggcac ctgctgatgg gctgocagag 1980
gttctcagga acaggaacgg gcggggcttt agtacacagg tgagttgggt gggaaactggc 2040
ccggagctga ggagacactg actgggcaga ggggaagatga gtctcaaggg agggcagga 2100
    
```

```

aagggagggg gagcgcgcat gcacatgtgc actcagtgca ggctacagag cccaaaagggc 2160
agcactggct gtgggtgtccc ctgaggccca ggcaagatgc taggaggaag ccaatgctgc 2220
ccccacctga gctcacatgg aacatgcaca ccaccagcag cagcagcaag cattgagact 2280
gacctgtgga cgccataggg cactggcaag gagggtcaga ggcggtccc tgactcagtg 2340
ggtgaggccc gggaaacatt atcctgttac cctgogtgtg caagatcatt gtccccagct 2400
agatggcgtc ctcaacccaaa actgagagga gccccagttc aggtcctccc tcctaccaca 2460
agggggtggt gtggaggagg cttgattgcc cttggagaag caccogtact gcagagctgg 2520
gggccagctt ctttcatctg tgtctagaca ccgaccagat agggcccaaa gtggcaaacac 2580
tgccacacag ccctacaaga agccctgtgc ctgactagca cagagcccca aaaggtgctc 2640
aattaatata gggccaagcc tgccagtggg ggggatgcag attaggggaa cagaccaga 2700
tggcctgtcc tgaaccctgt ctggggtggt gtgatgagca tctgtctagc ccaactgcagg 2760
tggctctaca cactccacaa cagttctgca aaagtgtatg aggtggctcat tactgcgcc 2820
ctctcacagg taaaggcact gaggcacgga ggagtgaggg acttcatttt cctgggccat 2880
tcaactttcc aggaccaaca cattcaacta tgggtactac tccaatagct ggggttcttt 2940
gaggctgggc cccctgaaga tgatagtggc ttcatacaacc agagaatttc agagtgcagt 3000
gttgtaggag cctatgaacc tgaatgtca gaactggagg tttgaggggc tgaggggtag 3060
gccaggggtg tctggcccct tgtgtggaga cagagagaga gggaaactgg gatgggtag 3120
tagagagaag tgcaaaggag cgtcagcctt totcagggct aatgctgtca gggacgaggg 3180
ctcaagcctg tgagtgttct cacactgtga taaacagtgg cccctcaaca cagacggtgt 3240
ccagagtggc cggcagtggt tatctagagt tgcaatctgg aagcctcttg gtagtcaactg 3300
gagagaggcc gcttgatggg acagaccaa atgtgtgtgc ttctgtgga tgtgaggaag 3360
ctgggtcagc gcatgaagcc aaagcgtcct tcagagcaga ggggtggctg gtctagtcca 3420
ccagagacaa gctatccagt gagagtcata ctctgccacc gtctctgtga ttaccttacc 3480
ccaaagcaga cggggacggg atgcagagca cccgtgtctt catcttctgc ggcaagcacg 3540
tgagttcaca ttctgaaact ctagaaagat ttccaggagt ggggtgtgcc tttgctttgg 3600
tgcatggtta cttcctggca agcaccgtgg catcccgcag cactgagtga cctgggctcc 3660
tcaagccatc tcattggtga aatgacagtg ccagtaccct ctgagctggc tottgagggc 3720
ctgtgcatgg ggtctgcaca gaggaggccc ccaaactatg catggacgga caogtgatgc 3780
ctagcacttc ctttggttgt gtctctgcca accccaggct ctaccccagc aaggaaatga 3840
aatccacttt tatgacacat ctccctcccc cagccagctc cattcaccta tatgccaggg 3900
tggtcccttt caatgtctgt cccccattgg atgaataaac aagcgaagga ca 3952

```

<210> 58
 <211> 116
 <212> Белок
 <213> mus musculus

<400> 58

```

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

```

<210> 59
 <211> 20
 <212> ДНК
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Искусственная последовательность

<400> 59
 catgacctc cgaatctggt 20

<210> 60
 <211> 20
 <212> ДНК
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Искусственная последовательность

<400> 60
 agcacagaac agaggggcta 20

<210> 61
 <211> 20
 <212> ДНК
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Искусственная последовательность

<400> 61
 atacggssaа tgtcacaasa 20

<210> 62
 <211> 20
 <212> ДНК
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Искусственная последовательность

<400> 62
 acttcctggt cccaccactg 20

<210> 63
 <211> 20
 <212> ДНК
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Искусственная последовательность

<400> 63
 agaggасааг сggagagаса 20

<210> 64
 <211> 20
 <212> ДНК
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Искусственная последовательность

<400> 64
 ttctggcagg ggtgttctag 20

<210> 65
 <211> 18
 <212> ДНК
 <213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Искусственная последовательность

<400> 65
 agcagcagca ggaaggat 18

<210> 66
 <211> 20
 <212> ДНК
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Искусственная последовательность

<400> 66
 aaaagtgcgg cttaacgaag 20

<210> 67
 <211> 24
 <212> ДНК
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Искусственная последовательность

<400> 67
 caagatgtgt gcttcctcct gcga 24

<210> 68
 <211> 2798
 <212> ДНК
 <213> Homo Sapiens

<400> 68
 cgttgctgtc gctctgcacg cacctatgtg gaaactaaag cccagagaga aagtctgact 60
 tgccccacag ccagtgagtg actgcagcag caccagaatc tggctctgtt cctgtttggc 120
 tcttctacca ctacggcttg ggatctcggg catggtggct ttgccaatgg tcttctgttt 180
 gctgctggtc ctgagcagag gtgagagtga attggacgcc aagatcccat ccacagggga 240
 tgccacagaa tggcgggaatc ctacacctgc catgctgggg tcttgccagc cagccccctc 300
 ctgccagaag tgcatcctct cacaccccag ctgtgcatgg tgcaagcaac tgaacttcac 360
 cgcgtcggga gaggcggagg cgcggcgcctg cccccgacga gaggagctgc tggctcgagg 420
 gctcccgctg gaggagctgg aggagccccg cggccagcag gagggtgctgc aggaccagcc 480
 gctcagccag ggcgcccgcg gagaggggtgc caccagctg gcgcccagc gggtcgggtg 540
 cacgctgcgg cctggggagc cccagcagct ccaggctccg ttccttcgtg ctgagggata 600
 cccggtggac ctgtaactacc ttatggacct gagctactcc atgaaggacg acctggaacg 660
 cgtgcgccag ctcgggcacg ctctgctggt cgggctgcag gaagtcaccc attctgtgcg 720
 cattggtttt ggttcctttg tggacaaaac ggtgctgcc tttgtgagca cagtaccctc 780
 caaactgcgc caccctgccc ccaccggct ggagcgcctgc cagtcaccat tcagcttca 840
 ccattgtgctg tccctgacgg gggacgcaca agccttcgag cgggaggtgg ggcgccagag 900
 tgtgtccggc aatctggact cgcctgaagg tggettcgat gccattctgc aggctgcact 960
 ctgccaggag cagattggct ggagaaatgt gtcccggctg ctggtgttca cttcagacga 1020
 cacattccat acagctgggg acgggaagt gggcggcatt ttcattgcca gtgatggga 1080
 ctgccacttg gacagcaatg gcctctacag tcgcagcaca gattttgact accttctgt 1140
 gggtcaggta gccagggccc tctctgcagc aaatatccag cccatctttg ctgtcaccag 1200
 tgccgactg cctgtctacc aggagctgag taaactgatt cctaagtctg cagttgggga 1260
 gctgagtgag gactccagca acgtggtaca gctcatcatg gatgcttata atagcctgtc 1320
 ttccaccgtg acccttgaac actcttcaact cctcctggg gtccacattt cttacgaatc 1380
 ccagtgtag ggtcctgaga agagggagg taaggctgag gatcgaggac agtgcaacca 1440
 cgtccgaatc aaccagacgg tgactttctg ggtttctctc caagccacc actgcctccc 1500
 agagccccat ctctgagge tccgggccct tggcttctca gaggagctga ttgtggagt 1560
 gcacacgctg tgtgactgta attgcagtga caccagccc caggctccc actgcagtga 1620
 tggccaggga cacctacaat gtggtgtatg cagctgtgcc cctggccgce taggtcggct 1680
 ctgtgagtgc tctgtggcag agctgtcctc cccagacctg gaatctgggt gccgggctcc 1740
 caatggcaca gggcccctgt gcagtggaaa gggctcactgt caatgtggac gctgcagctg 1800
 cagtggacag agctctgggc atctgtgcga gtgtgacgat gccagctgtg agcgacatga 1860

```

gggcatacctc tgcggaggct ttggtcgctg ccaatgtgga gtatgtcact gtcatgcca 1920
ccgcacgggc agagcatgcg aatgcagtgg ggacatggac agttgcatca gtcccagggg 1980
agggctctgc agtgggcatg gacgctgcaa atgcaaccgc tgccagtgtt tggacgggta 2040
ctatggtgct ctatgogacc aatgccccagg ctgcaagaca ccatgogaga gacaccggga 2100
ctgtgcagag tgtggggcct tcaggactgg cccactggcc accaactgca gtacagcttg 2160
tgccataacc aatgtgaccc tggccttggc ccoctatcttg gatgatggct ggtgcaaaga 2220
gcgaccctg gacaaccagc tgttcttctt cttggtggag gatgacgcca gaggcacggt 2280
cgtgctcaga gtgagacccc aagaaaaggg agcagaccac acgcaggcca ttgtgctggg 2340
ctgctgtagg ggcattgtgg cagtggggct ggggctggtc ctggcttacc ggctctcggt 2400
ggaaatctat gaccgcccgg aatacagtcg ctttgagaag gagcagcaac aactcaactg 2460
gaagcaggac agtaatcctc tctacaaaag tgccatcacg accaccatca atcctcgctt 2520
tcaagaggca gacagtccca ctctctgaag gagggaggga cacttaccoc aggctcttct 2580
ccttgaggga cagtgggaac tggagggtga gaggaagggt ggtctgtaa gaccttggt 2640
ggggactaat tcactggcga ggtgcccga ccaccctact tcattttcag agtgacaccc 2700
aagagggtcg cttcccatgc ctgcaacctt gcattccatct gggctacccc acccaagtat 2760
acaataaagt cttacctcag aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 2798

```

<210> 69

<211> 798

<212> Белок

<213> Homo Sapiens

<400> 69

```

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

```

				325					330				335		
Leu	Ser	Ala	Ala	Asn	Ile	Gln	Pro	Ile	Phe	Ala	Val	Thr	Ser	Ala	Ala
			340					345					350		
Leu	Pro	Val	Tyr	Gln	Glu	Leu	Ser	Lys	Leu	Ile	Pro	Lys	Ser	Ala	Val
		355					360					365			
Gly	Glu	Leu	Ser	Glu	Asp	Ser	Ser	Asn	Val	Val	Gln	Leu	Ile	Met	Asp
		370				375					380				
Ala	Tyr	Asn	Ser	Leu	Ser	Ser	Thr	Val	Thr	Leu	Glu	His	Ser	Ser	Leu
385					390						395				400
Pro	Pro	Gly	Val	His	Ile	Ser	Tyr	Glu	Ser	Gln	Cys	Glu	Gly	Pro	Glu
				405					410					415	
Lys	Arg	Glu	Gly	Lys	Ala	Glu	Asp	Arg	Gly	Gln	Cys	Asn	His	Val	Arg
			420					425					430		
Ile	Asn	Gln	Thr	Val	Thr	Phe	Trp	Val	Ser	Leu	Gln	Ala	Thr	His	Cys
		435					440					445			
Leu	Pro	Glu	Pro	His	Leu	Leu	Arg	Leu	Arg	Ala	Leu	Gly	Phe	Ser	Glu
		450				455					460				
Glu	Leu	Ile	Val	Glu	Leu	His	Thr	Leu	Cys	Asp	Cys	Asn	Cys	Ser	Asp
465					470					475					480
Thr	Gln	Pro	Gln	Ala	Pro	His	Cys	Ser	Asp	Gly	Gln	Gly	His	Leu	Gln
				485					490					495	
Cys	Gly	Val	Cys	Ser	Cys	Ala	Pro	Gly	Arg	Leu	Gly	Arg	Leu	Cys	Glu
			500					505					510		
Cys	Ser	Val	Ala	Glu	Leu	Ser	Ser	Pro	Asp	Leu	Glu	Ser	Gly	Cys	Arg
		515					520					525			
Ala	Pro	Asn	Gly	Thr	Gly	Pro	Leu	Cys	Ser	Gly	Lys	Gly	His	Cys	Gln
	530					535					540				
Cys	Gly	Arg	Cys	Ser	Cys	Ser	Gly	Gln	Ser	Ser	Gly	His	Leu	Cys	Glu
545					550					555					560
Cys	Asp	Asp	Ala	Ser	Cys	Glu	Arg	His	Glu	Gly	Ile	Leu	Cys	Gly	Gly
			565						570					575	
Phe	Gly	Arg	Cys	Gln	Cys	Gly	Val	Cys	His	Cys	His	Ala	Asn	Arg	Thr
			580					585					590		
Gly	Arg	Ala	Cys	Glu	Cys	Ser	Gly	Asp	Met	Asp	Ser	Cys	Ile	Ser	Pro
		595					600					605			
Glu	Gly	Gly	Leu	Cys	Ser	Gly	His	Gly	Arg	Cys	Lys	Cys	Asn	Arg	Cys
		610				615						620			
Gln	Cys	Leu	Asp	Gly	Tyr	Tyr	Gly	Ala	Leu	Cys	Asp	Gln	Cys	Pro	Gly
625					630						635				640
Cys	Lys	Thr	Pro	Cys	Glu	Arg	His	Arg	Asp	Cys	Ala	Glu	Cys	Gly	Ala
				645					650					655	
Phe	Arg	Thr	Gly	Pro	Leu	Ala	Thr	Asn	Cys	Ser	Thr	Ala	Cys	Ala	His
			660					665					670		
Thr	Asn	Val	Thr	Leu	Ala	Leu	Ala	Pro	Ile	Leu	Asp	Asp	Gly	Trp	Cys
		675					680						685		
Lys	Glu	Arg	Thr	Leu	Asp	Asn	Gln	Leu	Phe	Phe	Phe	Leu	Val	Glu	Asp
	690					695					700				
Asp	Ala	Arg	Gly	Thr	Val	Val	Leu	Arg	Val	Arg	Pro	Gln	Glu	Lys	Gly
705					710					715					720
Ala	Asp	His	Thr	Gln	Ala	Ile	Val	Leu	Gly	Cys	Val	Gly	Gly	Ile	Val
				725					730					735	
Ala	Val	Gly	Leu	Gly	Leu	Val	Leu	Ala	Tyr	Arg	Leu	Ser	Val	Glu	Ile
			740					745					750		
Tyr	Asp	Arg	Arg	Glu	Tyr	Ser	Arg	Phe	Glu	Lys	Glu	Gln	Gln	Gln	Leu
		755					760						765		
Asn	Trp	Lys	Gln	Asp	Ser	Asn	Pro	Leu	Tyr	Lys	Ser	Ala	Ile	Thr	Thr
	770					775						780			
Thr	Ile	Asn	Pro	Arg	Phe	Gln	Glu	Ala	Asp	Ser	Pro	Thr	Leu		
785					790								795		

cgcgctgcggctgcgttccccgaaagacgaggctgcgccggattccggctccgagggagaccgaaggggcacagctccccgcgccg
 cgcacgcccccagcccggagtgctggacacccccgggatgcttgcgccccagaggaccgcgcccaagccccgcgcccccc
 aggccaccggagcatgctgcctgcagccatgaaggccctggcctggcgtgctggccctctgctgtgctcggcccccgtcatgg
 cctgtggtgccaggactgcacctgaccaccaactccagccattgcaccccaagcagtgccagccgtccgacacgggtgtgtccaggtg
 ccgaatcaccgalcccagcagcagcaggaagatcactcggatgaacaagatgtgtccctcctctgacttccgtaagcagacattttc
 agactatctgatggggtttattaactctggatcttaaggtcagcgtggactgctgcgagaaaggatttgcgaatggggcggcagggggag
 ggacagccccctggccctggccggggggctcctgctcagcctggggcctgccctcctctgggctggccctgatgtctcctctccca
 cggggcttctgagcttgcctccctgagcctgtggcctcctcccccagcctggcgtggctggggctggggggcagccttggccccagctc
 gtggctgtgctgtggctcactcctccccgacgtgaagcctcctgtctcctccagctctgagtcaccagcagctggacatctcca
 ggaaccaggccatctgggagggagcctggggatgaggggtgggggggacccccaggctccgggaggggaagtgaagcaacagcc
 cagctggaaggcgtctctcggag aaataaagtcactttgagctctgagaaaaaaaaa

Фиг. 1А

MLPAAMKGLGLALLAVLLCSAPAHGLWCQDCTLTNSSHCTPKQCQPSDTCASVRIT
 DPSSSRKDHVNKMCASSCDFVKRHFFSDYLMGFINSGLKVDVDCCEKDLNNGAAGA
 GHSPWALAGLLLSLGPALLWAGP

Фиг. 1В

agggcgggtgt caatgacccc tccagcgggt gcgcagggcg ggagaaggga gggcggcccc ggcaagtgag acagttaagg
 cagtgtcccc accacacccc caccagatt ggccacggcg agctggttct tgacagaagg ccttcgcgga ggaagagggg
 gcacagctgc acaggacacc ctacggagcc tgcgggctg gaactttgcc aggcgcacgg gaacgcgcgc cctcctgtc
 agcctcccgg ggcgccaggc tcccggggc cgcagcggga cagcctcagt tgtgtgggct ggaccagtc gctggggfac
 cgaccagtc tggagggcgc agagggcgtg gagtggggag gctgcctcc tatgtcgaa gggccagccg ggcacgcagt
 cctcagacc tagtccgac ccggcaggtc cccacggcac ctgctgcgc cctcgcgcg ccccccaac cccccatct
 cagaaaacta ccagttctt cccgcccc ggcgcccc tcccaggaac gtgcggagggc gggagaagag gaagacagga
 aggggggtgg gatgtgaagc gaccgtccca gcctcccc cccgcccc ccacccaac tcggcagccg tcacgtgatg
 cctggagtgg gagggtggga gaaaaggcga gactttgtg ggtgctccc atgccagta gttcctcag tctcagccgc
 caactccgga ggcgcggctc tggccccgg agcgcgagcg ggaggagcag agaccgcag cggggagccc gaggcggggc
 gatgcaggct ccgcgagcgg cacctggggc tctctaagc tacgaccgtc gtcctccggc cagcagcgcg gggccccagca
 gcctcggcag ccacagccgc tgcagccggg gcagcctccg ctgctgtgc cctctgat gccttgccc tctccccggc
 ccgggactcc gggagaatgt gggctcctagg catcgggca actttttgg gattgtctt gcttcagge tttgcgtgc
 aatccagtg ctaccagtg gaagaatcc agctgaaca cgaactgtcc tccccgagt lcatgtgaa itgcacggtg
 aacgttcaag acatgtgtca gaaagaagt atggagcaaa gtccgggat catgtaccg aagtcctgt catcatcagc
 ggcctgtct atgcctctg ccgggtacca gtctctgc tcccagga aactgaact agtttgcac agctgtgca
 acaccctct ttgaacggg ccaaggcccc agaaaagggg aagttctgc tcggccctca ggccagggct ccgaccacc
 atcctgtcc taaaatgac cctctctc gacactgt gaagetgaag gagatgcc ccctcctgc attgtctc cagcctcgc
 cccaacccc ccactcctc gactgagtt cttctgggt tcttttatt ctggtaggg agcgggagtc cgtgtctct tttgtcctg
 tgcaataat gaaagagtc ggtaaagcat tctgaataa ttcagcctga ctgaatttc agtatgtact tgaaggaagg
 aggtggagtg aaagttacc ccatgtctg tgaaccgga gtcaaggcca ggctggcaga gtcagtcct agaagtcact
 gagggtggca tctgccttt gtaaagcctc cagtgtccat tccatccct atgggggcat agtttgagac tgcagagtga
 gactgacgt tcttagggc tggagggcca gttcccact aaggctcct cgttgacat tcaacttca tctcctgaa aaccattct
 tgcagcagaa ttggctggt tgcgcctga gttgggctc agtgactga gactcaatga ctgggactta gactggggct
 cggcctcgt ctgaaaagt citaagaaa tctctcagt tctcctgca gaggactggc gccgggagc gaagagcaac
 gggcgtgca caaagcgggc gctgtcggg gtggagtgc catgtacgc caggcctc tegtgttg cgtgtcag
 cgacagcgg cagcacagca cctgcagaa caccgcca aactgtgc aggacaccgt gtacaggagc ggttgatga
 ccgagctgag gtagaaaa gctccgaga aggggaggag gatcatgtac gcccggaagt aggacctgt ccagctgtc
 ttgggttg ccgagccat gatcctcga atctggttg gcatccagca tacggcaat gtcacaaca tcagccctgg
 gcagacagca gcaggaggga gagacagaga aaagaaaa acagcatgag aacacagtaa atgaataaa ctaaaaaa
 tttagccct ctgtctgt ctactggc aggaatgt accaatttt cagtgttga ctgacagct tctttgca caagcaagag
 agaattaac actgttca acccggggg gttggctgt taaagaaa accattaat gcttagaca gttattat accagttgat
 gctgttaat ttaaaaaa tgtttcatt ggtgttgt tgcgtatcca gaaagcagt catgitatc ata

Фиг. 2А

gatgcctgga gtgggaggtg gggagaaaag gcgagacttt tgtgggtgct cccgatcgcc agtagttcct tcagttcag
 ccgccaacte cggaggcgcg gtgctcggcc cgggagcgcg agcgggagga gcagagacc gcagccggga gcccgagcgc
 gggcgatgca ggctccgcga gcggcacctg cggctcctct aagctacgac cgtcgtctcc gcggcagcag cgcgggcccc
 agcagcctcg gcagccacag ccgctgcagc cggggcagcc tccgtgctg tcgctcctc tgatgectt gccctctccc
 ggccccggga ctccgggaga atgtgggtcc taggcatcgc ggcaacttt tgcggattgt icttgcctcc aggtttgcg
 ctgcaaatcc agtgetacca gtgtgaagaa ttccagctga acaacactg ctctcccc gagttcattg tgaattgcac
 ggtgaacgtt caagacatgt gtcagaaaga agtgatggag caaagtccc ggatcatgta ccgcaagtcc tgtgatcat
 cagcggcctg tctatcgcc tctccgggt accagtctt ctgctccca gggaaactga actcagttg catcagctgc
 tgaacaccc ctctttaa cgggccaagg ccaagaaaa ggggaagttc tgcctcggcc ctcaaggcag ggtcccgcac
 caccatctg ttctcaaat tagcctctt ctccgcacac tctgaagct gaaggagatg ccacccctc ctgactgtt ctccagccc
 tcgccccaa cccccacct cctgagtgta gttctctg ggtgtcctt tattctgggt agggagcggg agtccgtgt ctctttgtt
 cctgtgcaaa laatgaaaga gctcggtaaa gcattctgaa taaatcagc ctgactgaat tticagtatg tacttgaagg
 aaygaggtgg agtgaaggt caccacctg tctgtaac cggagtcaag gccaggctgg cagagtcatg ccttagaagt
 cactgaggtg ggcatctgcc ttigttaaag cctccagtgt ccattccac cctgatgggg gcatagttg agactgcaga
 gtgagagtga cgtttctta gggctggagg gccagtccc actcaaggct cctcgcctg acattcaaac ttcatgctcc
 tgaaaacct tcttgcagc agaattggct ggttcgcgc ctgagttgg ctctagtac tcgagactca atgactggga
 cttagactgg ggctcggcct cgtctgaaa agtcttaag aaaactctt cagtctctt tgcagaggac tggcgcggg
 acgogaagag caacgggccc tgcacaaagc gggcgcgtgc ggtgggtggag tgcgatgta cgcgcaggcg ctctcgtgg
 ttggcgtgct gcagcgacag gcggcagcac agcactgca cgaacaccg ccgaaactgc tgcgaggaca ccgtgtacag
 gagcgggtg atgaccgagc tgaggtagaa aaactctcc gagaagggga ggaggatcat gtacgcccg aagtaggacc
 tctccagtc gtcttgggt ttggccgag ccatgatct ccgaatctgg ttgggatcc agcatcggc caatgcaca
 acaatcagcc ctggcgagc acgagcagga gggagagaca gaaaaagaa aaacacagca tgagaacaca gtaaatgaat
 aaaaccataa aalattagc cctctgttc tgtcttact ggccaggaaa tggaccaat tticagtgt tggactgac agctctttt
 gccacaagca agagagaatt taactgtt tcaaacccgg gggagttgg tgtgtaag aaagaccatt aatgctta gacagtg

Фиг. 2B

MWVLGIAATFCGLFLLPGFALQIQCYQCEEFQLNNDCSSPEFIVNCTVNVQDMCQKEV
 MEQSAGIMYRKSCASSAACLIASAGYQSFCSPGKLNVCISCCNTPLCNGPRPKKRGSSA
 SALRPLRRTTILFLKLALFSAHC

Фиг. 2C

aaggctgggg ttgctgggg cgaggttact catcctgggc tcaggtaaaga gggcccagc tcggaggcgg cacatccagg
 ggggagcca agggagcagg acggagccat ggacccgccc aggaaagcag gtgccaggc catgatctgg actgcaggct
 ggtcgtgct gctcgtctt cgcggaggag cgcaggccct ggagtgtac agctgcgtg agaagcaga tgacggatgc
 tccccgaca agatgaagac agtgaagtgc gcgcccggcg tggactctg caccgaggcc gtggggcgg ttgagaccat
 ccacggaca ttctcgtgg cagtgcgggg ttgctgctg ggactcccc gcaagaatga ccgcccctg gatctcacg
 ggcttctggc gttcatccag ctgcagcaat gcgtcagga tgcctgcaac gccaagctca acctcacct gcggcgctc
 gacccggcag gtaatgagag tgcataccc cccaacggcg tggagtcta cagctgtgtg ggctgagcc gggaggcgtg
 ccagggtaca tcgcccggc tctgagctg ctacaagcc agcgtatct tctacaaggg ctgctcagc ggcaacgtca
 ccttgcaggc agtaaatgt actgtctct tgcctgccc gggctgtgt caggatgaat tctgcactg ggatggagta
 acaggcccag gttcagct cagtggctcc tgtgcccagg ggtcccgtg taactctgac ctccgcaaca agacctact
 ctccccga atccccccc ttgtccgct gcccctcca gagcccaga ctgtggcctc aaccatct gtaccact
 ctacctggc ccagtgaga cccatcca ccacaaacc catgccagc ccaaccagtc agactccgag acaggagta
 gaacacgagg cctcccggga tgaggagccc aggttactg gaggcggcgc tggccaccag gaccgagca atcagggca
 gtafctgca aaaggggggc cccagcagcc ccataataa ggctgtgtg ctcccacagc tgattggca gccctctgt
 tggcgtggc tctggtgtc ctactgtgag ctctccacc tggaaattc cctccacct actctctgg cctgggtac cctctctc
 atacttct gtcccacca ctggactgg ctggcccagc cctgtttt ccaacatcc ccagatccc cagctctgc tgcctggtt
 tggcgtttg gaaataaaa taccgttga tatattctg cagggtgtt ctactttt gaggacagct cctgtact tctatctt
 gtctctcgc ttgctctt gtatgttag gacagagtga gagaagtcag ctgtcacggg gaaggtgaga gagaggatgc
 taagcttct actcattt tctagccag cctggactt ggagcgtggg gtgggtggga caatggctc cactctaag
 cactgctcc ctactcccc gcatcttgg ggaatcgtt cccatagt ctcttact agactgtgag ctctcaggg
 gcagggacc tgcctatgt ctgtgtga tcaattctg gcacataat gcccaataa agattaat actttgaaaa aaaaaaaaa
 aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaa

Фиг. 3A

MDPARKAGAQAMIWTAGWLLLLLLRGGQAQALECYSCVQKADDGCSPNKMKTVKCAP
 GVDVCTEAVGAVETIHGQFSLAVRGCGLPGKNDRLDLHGLLAFIQLQOQAQDRCN
 AKLNLTSRALDPAGNESA YPPNGVECYSCVGLSREACQGTSPVVCYNASDHVYKGC
 FDGNVTLTAAVTVSLPVRGCVQDEFCTRDGVTGPGFTLSGCCQGSRCNSDLRNKTYF
 SPRIPPLVRLPPPEPTTVASTTSVTTSTSAVVRPTSTTKPMPAPTSQTFRQGVHEASRDEE
 PRLTGGAAAGHQDRSNSGQYPAKGGPQQPHNKGCVAPTAGLAALLVAAGVLL

Фиг. 3В

gatccgcttt ggcgatccca gtgattcttg ggtccgctg gtagtccgg aaggagacat cgaagcaggg cgaggcgcag
 agggcgctgc ggactcatgc cccagtcggc agtgcggggg cccaagccct gcagtgctac agctttgagc acacctactt
 tggccccttt gacctcaggg ccatgaagct gccagcacc tcctgtcctc atgagtgctt tgaggctatc ctgtctctgg
 acaccgggta tcgcgccgg gtgacctgg tgcggaaggg ctgctggacc gggcctcctg cgggccagac gcaatcgaac
 gcggagcggc tgcggccaga ctactcgggt gtgcgcggt gcacaactga caaatgcaac gccacctca tgactcatga
 cgccctccc aacctgagcc aagcaccga cccgccgacg ctgagcggcg cggagtgcta cgctgtatc ggggtccacc
 aggatgactg cgctatggc aggtcccgac gagtccagtg tcaccaggac cagaccgctt gcttccaggg caatggcaga
 atgacagtg gcaattctc agtccctgtg tacatcagaa ctgccaccg gccctcctgc accaccgagg gcaccaccag
 cccctggaca gccatgacc tccagggctc ctgctgtgag gggtaacct gcaacaggaa atccatgacc cagccctca
 ccagtcttc agccaccacc cctcccagag cactacaggt cctggccctg ctctcccag tcctctgtct ggtggggctc
 tcagcataga ccgcccctcc aggatgctgg ggacagggt cacacacctc atctgtctg ctccagcccc tatcatatg
 ctactggaa aatgatgta aagtaagaat tgcactctg tcctctggtc ctccatctc tcccgcctt gtgcccaca acctggccaa
 cagtactgga agaactgga cacagtcacc agcatcccc gggaggggcaa aacagccatg tctgccccg atgaagagca
 attctgatca cagctgttac tactgagca ccagccaggc accaggcacc ccataacacg gcttctgtg ctctccctcc
 agagcctgtc gcagctctag gaggggagcta tacaatgatg tctttatag tgcacatg agaagccaa taagcagtat
 gccctaacug ttgttggcc aggtcttggg gctaaagctc atgggtcaa atcccagctc caccatcag cctgcagaga
 ccatgagcga gttacttaag ccaggctctg gagctaagct gcatgggttc aaatcccagc tccagcttc agcctacaga
 gaccatgggt gattactta agccaggctc tggagctaa ctgcatgggt tcaaatccca gctccaccat tcagcctgca
 gagactgtgg gtgagttact tgagctctct gtgccaatat ttctcactc ataaggtgga ggtgaaaata aactctataa catgacaaga
 actactcac agtagttgca gtgaggatc aacgagatga acatttagta ctggggacac agcagtgccc cagtgtaaat
 gggctacttg tcataagccc taagtcacag gtaacaaac tgagaggcaa aagcacttgg ttgagcttgt gtatctagt
 agtatggatt cagggaccag attcccagcc ccacgaactg ctaagcaacc ccacctcta aacacatgag tggcgattaa
 ctccacagaa aaacacacaa ggcaaaagtc agcgagggtga aattctcaa gctataaaga tcagggaaga ctctctggag
 gaattcacc ttgagcaaaa tctaaagga tcaatagtag ctggcaaaaa gaagcaggag gaagcgcat ctaggtagag
 gagacagctt ggcaaaaggt ctgaggagg aaggagcaca aggagtgcag gacacttca tgagtgcagg acacttcat
 aactgcatga actcataga gatggatcc tttagcatgt tctctgtgca catgctgac catgtcttt cacatgcttt ttgccactg
 atcttccag caactcagtg agagaagcaa aaaagtaagt tgcactctgc tattgtctga atgtttgtg ctccccaaa tcatcttt
 gaaacctaat taccaaagt atattactgg gaggtggggc ctttggagg tggtagatc atgagggtg agccccatg
 aataggatta gtgccctat aaaagaggcc ctggagagct gccttcccc ttccaccaca tgagaacaca gccagcaggt
 gctataagc aagaaagtgg gttctacca gccatcgaat ctgctggtgc attgattgca gacttccag actccagagc
 tatgagacat aaattctgt tgtgtataag ccaaaaaaaaaaaaaaaaaa

Фиг. 4А

gattcttggg tccgcgct agtttcggaa ggagacatcg aagcagggcg aggcgcagag ggcgttgcgg actcatgcc
cagtcggcag tccggggtcc caagccctgc agtgcctacag CttgagCaC acctactttg gccctttga cctcagggcc
atgaagctgc ccagcatctc ctgtcctcat gattgctttg aggcctatct gtctctggac accgggtatc gcgcgcccgt
gaccttggg cggagggtct gctggaccgg gcctctcog ggcagacgc aatcgaacc ggacgcgctg ccgccagact
actcgggtg gcgcggctgc acaactgaca aatgaacgc ccacctatg actcatgac ccctcccaa cctgagccaa
gcaccgacc cgcgcagct cagcggcgcc gattgctacg cctgtatcg ggtccaccag gatgactgcg ctatggcag
gtcccagca gtccagtgc accaggacca gaccgcctgc tccagggca gtggcagaat gacagtggc aatttctag
tccctgtgta catcagaacc tgcaccggc cctctgcac caccagggc accaccagcc cctggacagc catgacctc
cagggctct gctgtgagg gtacctgc aacaggaaat ccatgacca gccctcacc agtgcctcag ccaccaccc
tcccagca ctacaggtcc tggcctgct cctcccagtc ctctctgg tgggctctc agcatagacc gccctccag
gatgctggg acagggtca cacaccicat tcttctgct tcagcccata tcacatagct cactggaaaa tgatgtaaa
gtaagaattg cactctgct cctctggcct tccatctc ctgcccctgt gccccacaac ctggccaaca gtactggaag
aaactggaca cagtcaccag calcccagg gaggcaaaa cagccatgc gtgccctgat gaagagcaat tctgacaca
gctgttact actgagcacc agccaggcag caggcaccataaacaggtc tctctgtct ctcttccag agcctgtcgc
agctctagg gggagclata caatgatgc tttatagtg tcatcatgag aagcccaata agcagtatgc cctaacagt
agtaggccag gctctggagc taagctgat gggttccat cccagctca ccattcagc tgcagagacc atgagcagt
tacttaagc agctctgga gctaagctc atgggtcaa atcccagtc cagcattcag cctacagaga ccatgggtga
gttacttaag ccaggctctg gagtaagct gcatgggtc aaatcccagc tccaccatc agcctgcaga gactgtgggt
gagttactg agctctctg gccaatatt tctacat aaggtggagg tgaataaa ctctataaca tgacaagaac tacttccag
tagtgcagt gaggattca cgagatgaac atttagtact tgggacacag cagtgccca gtataaatgg gctactgtc
ataagcccta agtcacaggt caacaaactg agaggtaaaa gcaactggtt gagcttgtgt atctagtgag tatgattca
gggaccagat tcccagccc acgaactgct aagcaacccc acctcctaaa cacatgagtg ccgattaact tcacagaaaa
acacacaagg caaagttag cagagtgaaa tctccaagc tataaagatc aggggaagact tctggagga atccacct
gagcaaaatc ctaaagatc aatagtagct ggcaaaaaga agcaggagga agcacattt aggtagagga gacagcctgg
acaaggtct gaggaggaa ggaacacaag gattgcagga cacttccata actgcatgaa ctcatagag atgggatct
ttagcatgt ctctgtgc atgctgacc atgtcttct acatgcttt tgcacttga tcttccagc aactcagtga gagaagcaaa
aaagtaagt gcatcctg

Фиг. 4B

MKLPSISCPHECFEAILS LDTGYRAPVTLVRKGCWTGPPAGQTQSNADALPPDYSVVRG
CTTDKCN A HLMTHDALPNLSQAPDPPTLSGAECYACIGVHQDDCAIGRSRRVQCHQDQ
TACFQGNRMTVGNFVSVYIRTCRPSCTTEGTTSPWTAIDLQGSCEGYLCNRKSM T
QPFTSASATPPRALQVLALLLPVLLLVLGSA

Фиг. 4C

ctgagaggaa gtttatctg tgcagccct ctctgaggat ggacactct cacaactaca agtctgttt gctgattct ctgtggccc
tactgtgtc agaagagct caggactgg agtgtacca gtgctatgga gtcccattg agactcttg cccatcaatt
acctgcccct acctgatgg agtctgtgt actcaggagg cagcagttat tgtgattct caacaagga aagtaagaa
caatctttg ttaccatct gcctcctaa tattgaaagt atggagatcc tgggtactaa ggtcaactg aagacttct gttgccagga
agactctgc aatgtagcag tccaatgg aggcagcacc tggaccatgg caggggtct tctgtcagc ctgagctcag
tctctgca gacctgtc ttaggtct ccaatgacc tccacctg tctttatc ctatgtgca acaattctc ctggagccct
ctagtatga attatgatt atagaagct caagggtgga gtagtgtg aaatacatg tttgcttt atagcccctg ctggtaggt
aggtctctc atctctc gggcttcaa gctgtact cctagaatgt catttgtt tggattct ctatgacc tggaggaca
cagccagc agtgaagagg cagaatcca aggtattat ctatccat ccaacataa gtagtggg tctgcaat
tcccacatg tatectaat gtcccctgt ttagtccaat aaaccttt tctccaaa aaaaaaaaaa aa

Фиг. 5A

MDTSHTTKSCLLILLV ALLCAERAQGLECYQCYGVPFETSCPSITCPYPDGVCVTQEAAY
IVDSQTRKVKNNLCLPICPPNIESMEILGTKVNVKTSCCQEDLCNVA VPNGGSTWTMAG
VLLFSLSSVLLQTL

Фиг. 5B

gctccggcca gccgcggfcc agagcgcgcg aggttcgggg agctccgcca ggctgctggt acctgctcc gccggcgag
 caggacagge tgccttggti lgtgacctcc aggcaggacg gccatcctct ccagaatgaa gatctcttg ccagtctgc
 tggctgccct tctgggtgtg gagcgagcca gctcgctgat gtgcttctcc tgcctgaacc agaagagcaa tctgtactgc
 ctgaagccga ccalctgctc cgaccaggac aactactgcg tgaactgtgc tgcctagacc ggcattggga atctctgac
 atttggccac agcctgagca agacctgttc cccggcctgc cccatcccag aaggcgtcaa tgttggtgtg gcttccatgg
 gcatcagctg ctgccagagc ttctgtgca attcagctgc ggcgcatggc gggctgcggg caagcgtcac cctgctgggt
 gccgggctgc tctgagcct gctgccggcc ctgctcggt tggccctg accgccaga ccctgtccc cgalcccca
 gctcaggaag gaaagcccag cctttctgg atcccacagt gctatgggagc cctgactcc tcactgctc gatctgtcc
 ctgggtcca ggtcaggccc acccctgca cctccactg cccagcccc tgcctctgcc caagtgggccc agctgccctc
 acttctgggg tggatgatgt gaccttctt gggggactgc ggaaggagc agggctcct ggagtctac ggtccaacat
 cagaccaagt cccatggaca tctgacagg gtccccagg agacctgtc agtagggatg tctgctggc lgtgtactg
 ggtgtcagt gcactgaga gcactggcg ccttctggg gccatgttg gggagggagg tctgccagca gcctggagag
 cctcagctcc ttagcccc igcctggca cagctcagt cactcaagg gcagccttg ggggttgggg ttctgccac
 ttccgggtct agccctgcc caatccagc cagtctgcc ccagcccacc cccacattg agcctctg ctgcttgg
 gcctcaata aatacagatg tccc

Фиг. 6А

MKIFLPVLLAALLGVERASSLMCFSLNQKSNLYCLKPTICSDQDNYCVTVSASAGIGNL
 VTFGHSLSKTCSPACPIPEGVNVGVASMGISCCQSFLCNFSAADGGLRASVTLLGAGLL
 SLLPALLRFGP

Фиг. 6В

ccagtctgc gccacctcac ttggtgtctg ctgtccccgc caggcaagcc tggggtgaga gcacagagga gtgggcccggg
 accatgcggg ggaacggct ggcgctctg gcgctggctg tggctgctg cggagagctg gccccggccc tgcgctgcta
 cgtctgtccg gagccacag gactgtgga ctgtgtcacc atgccacct gcaccacaa cgaaacatg tgaagacca
 cactctactc ccgggagata gtgtaccct tccaggggga ctccacggtg accaagtctt gtgccagcaa gtgtaagccc
 tggatgtgg atggatcgg ccagacctg cccgtgtct gctgcaatac tgactgtgc aatgtagacg gggcgcccgc
 tctgaacagc ctccactgc gggccctcac gctctccca ctctgagcc tccactgta gactccccgc ccacccccat
 ggcctatgc gggccagccc cgaatgcctt gaagaagtgc cccctgacc agggaaaaaa aaaaaaaaa

Фиг. 7А

MRGTRLALLALVLAACGELAPALRCYVCPEPTGVSDCVTIATCTTNETMCKTTLYSREI
 VYFQGDSTVTKSCASKCKPSDVDGIGQTLVSCCNTELCNVDGAPALNSLHCALTL
 PLLSLRL

Фиг. 7В

aagatggcgg cgtgtggacg tgtacggagg atgtccgct tctcggcggc gctgcatctg ctgctgctat tcgcccggcg
 ggccgagaaa cccccggcc atggcgcca cagccaggcc cagggtccc gggccaactt tgtgtcctc gtagggcagg
 ccggaggcgg cggccggcg ggtcagcagc tccccagct gcttcagta tgcagctc agcagcaaca gcagcagcag
 caacagcaac agcagctca gccgcccag ccgccttc cggcgggtgg gcctccggcc cggcggggag gagcgggggc
 tgggggggc tggagctgg cggaggaaga gtcccgagg gaggacgtga cccgctgctg ccctaagcac acctggagca
 acaacctggc ggtgtcagc tgcctcagg atgtgaggga gcctgaaaat gaaattctt cagactgcaa tcattgttg
 tggattata agctgaacct aactacagat ccaaaattg aatctgtggc cagagaggtt tgcaaatcta ctataacaga
 gattaaagaa tgtgtgatg aaccggtgg aaaaggttac atggttctt gcttagtga tcaccgaggc aacatcactg
 agtatcagtg tcaccagtac attaccaaga tgacggccat cattttagt gattaccgtt taatctgtgg ctcatggat gactgcaaaa
 atgacatcaa cattctgaaa tgtggcagta ttcggcttg agaaaaggat gcacattcac aagtgagggt ggtatcatgc
 ttggagaaag gcctgggtgaa agaagcagaa gaaagagaac ccaagattca agtttctgaa ctctgcaaga aagccattct
 ccgggtggct gagctgtcat cggatgactt tcacttagac cggcattat atttgtctg ccgagatgat cgggagcgtt ttgtgaaaa
 tacacaagct ggtgagggca gagtgtataa tgcctcttt aaccataaat tgaagaatc catgagtga aagtgtcag
 aagcacttac aaccgcca aagctgattg cccaggatta taaagcagt tattcattgg ccaaatcctg taaaagtac
 ttgaagaaat accggtgcaa tgtggaaaac ctcccgat cgcgtgaagc caggctctc tactgttaa tgtcctgga
 gtcagctgta cacagaggc gacaagtcag cagttagtgc cagggggaga tctggatta ccgacgcatg ttgatggaag
 acttttctt gagccctgag atcatcctaa gctgtcgggg ggagattgaa caccattgtt ccggattaca tcgaaaaggg
 cggaccctac actgtctgat gaaagtagt cgaggggaga aggggaacct tggatgaac tgccagcagg cgttcaaac
 actgattcag gagactgacc ctggtgcaga ttaccgatt gatcagct tgaatgaagc ttgtaatct gtaatccaga
 cagcctgcaa acatataaga tctggagacc caatgatct gtcgtgcctg atggaacatt tacaacaga gaagatgga
 gaagactgtg aacacctct cttagagctg cagtattca tctccggga ttggaagctg gaccctgtcc tgtaccgcaa
 gtccaggga gacgctctc gctttgcca caccacggt tggaaatgaga ccagtgaatt tatgcctcag ggagctgtg tctctgtt
 atacagacac gcctaccgca ctgaggaaca gggaggagg ctctcacggg agtgccgagc tgaagtcaa aggatctac
 accagcgtgc catggatgac aagctggatc ctgccctca ggataagtc ctgattgatc tgggaaaatg gtcagtgag
 aaaacagaga ctggacagga gctggagtgc ctccaggacc atctggatga ctgtgtgtg gagtgtagag atatagttg
 caacctact gattagaat cagaggatat tcaatagaa gcctgtgta tgagagcctg tgagccata atfcagaact
 tctgccagca tgggagat aaccagatag actctgggga cctgatggag tgtctgatac agaacaaca ccagaaggac
 atgaacgaga agtgtccat cggagtacc cactccagc tgggtcagat gaaggattt cggtttctt acaagttaa aatggcctgc
 aaggaggacg tgtgaagct ttgccaaac ataaaaaga aggtggacgt ggtgatctc ctgagcacga ccgtgcgcaa
 tgactctg caggaagcca aggagcacag ggtgtccctg aagtccgca ggagctccg tgtggaggag ctggagatga
 cggaggacat ccgctggag

Фиг. 8А

ccagatctat acgaagcctg caagagtac atcaaaaact tctgtccgc tgtgcaat ggcaacgctc agattatga
 atgtctgaaa gaaaacaaga agcagctaag caccgctgc caccaaaag tatttaagct gcaggagaca gagatgatgg
 acccagagct agactacacc ctcatgagg tctgcaagca gatgataag aggttctgc cggagcaga ttctaaaacc
 atgttcagt gcttgaagca aaataaaac agtgaattga tggatccca atgcaacag atgataacca agcggcagat
 caccagAAC acagattacc gcttaaacc catgtaaga aaagcctgta aagctgacat tctaaattc tgtcacggtg
 tctgactaa ggccaaggat gattcagaat tagaaggaca agtcatctt tgcctgaagc tgagatagc tgaccagcgc
 ctgtctcag actgtgaaga ccagatccga atcattacc aggagctccg cctggactac cgcctggatc ctgactcca
 gctgactgc tcagacgaga tctcagct atgtctgaa gaagcagcag ccaagagca gacaggtcag gttgaggagt
 gcctcaaggt caacctgctc aagatcaaaa cagaattgtg taaaaggaa gtgctaaaca tctgaaaga aagcaagca
 gacatcttg ttgaccggt acttact gctgtgccc tggacataa acaccactgc gcagccatca cccctggccg
 cggcgtcaa atgtctgtc tcatggaagc actggaggat aagcgggtga ggttacagcc cagtgcaaa aagcctca
 atgaccgat tgagatgtg agttacgag caaaggtggc cccagcagat ggcttctg atctgcat gcaagtaag
 acgttccat ctaagaacta cattctct gtgatcagtg ggagcatctg tatattgtc ctgattggcc tgatgtgtg acggatcacc
 aagcagtgta cacgagagct caaggacagg tagagccacc tgaccacca aaggaactac ctatccagtg cccagttgt
 acagccctct tgtatagcat cccactcac ctgctctc tcagaagtga cccaacccc gtgttagagc attagcagat
 gtcactgcg ttgccatc cagctccac tegtccat ggtgtctc tctcctcac cgtcagcag cagcagctgg
 tctgtgggt tactgcttt gttggcaaa ctgggtta cctgctgta gacaagtct tctatacca acagaactc cgtactcc
 agaaccaact cacctgacct gcaactcaaa gcttttta agaaaacc caaaaaaaaa a

Фиг. 8А (продолжение)

MAACGRVRRMFRLS AALHLLLFAAGAEKLPGHGVHSQQGPGANFVSFVGQAGGGG
 PAGQQLPQLLQSSQLQQQQQQQQQQQLQPPQPPFAGGPPARRGGAGAGGGWKLAE
 EESCREDVTRVCPKHTWSNNLAVLECLQD VREPENEISSDCNHLLWNYKLNLTDPKFE
 SVAREVCKSTITEIKECADEPVGKGYMVSCLVDHRGNITEYQCHQYITKMTAIFSDYRLI
 CGFMDDCKNDINILKCGSIRLGEKDAHSQGEVVSCLKGLVKEAEEREPKIQVSELCKK
 AILRVAELSSDDFHLDRHLYFACRDDRERFCENTQAGEGRVYKCLFNHKKFEESMSEKCR
 EALTTRQKLIAQDYKVSYS LAKSCKSDLKKYRCNVENLPRSREARLSYLLMCLES AVHR
 GRQVSSECQGEMLDYRRMLMEDFSLSP EILSCRGEIEHHC SGLHRKGRTLHCLMKVVR
 GEKGNLGMNCQQALQTLIQETDPGADYRIDRALNEACESVIQTACKHIRSGDPMILSCL
 MEHLYTEKMVEDCEHRLLELQYFISR DWKLDPVLYRKCCQGDASRLCHTHGWNETSEF
 MPQGA VFSCLYRHA YRTEEQRRLSRECRAEVQRILHQRAMDVKLDPALQDKCLIDLG
 KWCSEKTETGQELECLQDHLDDL VVECRDIVGNL TELESEDIQIEALLMRACEPIIQNFC
 HDVADNQIDSGDLMECLIQNKHQKDMNEKCAIGVTHFQLVQMKDFRFSYKFKMACKE
 DVLKLCPNIKKKVDVVICLSTTVRNDTLQEAK EHRVSLKRRQLRVEELEMTEDIRLEP
 DLYEACKSDIKNFCSAVQYGN AQII ECLKENKKQLSTRCHQKVFKLQETEMMDPELDYT
 LMRVCKQMIKRFCEADSKTMLQCLKQNKNS ELMDPKCKQMITKRQITQNTDYRLNP
 MLRKACKADIPKFCHGILTKAKD DSELEGQVISCLK LRYADQRLSSDCEDQIRIIQESAL
 DYRLDPQLQLHCSDEISSLCAE EAAAQEQTGQVEECLKVNLKIKTELCKKEVLNMLKE
 SKADIFVDPVLHTACALDIKHHCAAITPGRGRQMSCLMEALEDKRVRLQPECKKRLND
 RIEMWSYAAKVAPADGFSDLAMQVMTSPSKNYILSVISGSICILFLIGLMCGRITKRVTRE
 LKDR

Фиг. 8В

gcgtcgagct cggcgaggac tcaagatggc ggcgtgtgga cgtgtacgga ggatgtccg cttgtcggcg gcgctgcatc
 tgctgctgct attcgcgcc ggggcccgaga aactccccgg ccaggcgcgc cacagccagg gccagggtcc cggggccaac
 ttigtctct tegtaggca ggccggagge ggcggcccgg cgggtcagca gctgcccag ctgctcagt catcgagct
 tcagcagca cagcagcage agcaacagca acagcagcct cagccgccgc agccgccctt cccggcgggt gggcctccgg
 cccggcgggg aggagcgggg gctggtgggg gctggaagct ggcggaggaa gagtccctga gggaggagct gaccgcgtg
 tgccctaagc acacctggag caacaacctg gcggtgctcg agtgccctga ggatgtgagg gagcctgaaa atgaaattc
 ttcagactgc aatcattgt tgtggaatta taagctgaac ctaactacag atcccaaatt tgaatctgtg gccagagagg ttgcaaatc
 tactataaca gagattaaag aatgtgctga tgaaccggtt ggaaaaggtt acatggttc ctgcttggtg gatcaccgag
 gcaacatcac tgatgatcag tgtcaccagt acattacca gatgacggcc atcatttta gtgattaccg ttaatctgt ggcttcattg
 atgactgcaa aatgacatc aacattctga aatgtggcag taticggctt ggagaaaagg atgcacatc acaagtgtag
 gtggtatcat gcttgagaa aggcctggtg aaagaagcag aagaaagaga acccaagatt caagttctg aactctgcaa
 gaaagccatt ctccgggtgg ctgagctgac atcggatgac tticacttag accggcatt atattttgt tccgagatg
 atcgggagcg ttttgtgaa aatacacaag ctggtgaggg cagagtgtat aagtgcctct ttaaccataa aittgaagaa
 tccatgagtg aaaagtgtcg agaagcacti acaaccgcc aaaagctgat tgcccaggat tataaagtca gtattcatt
 ggccaatcc tgaaaagtg actgaaagaa ataccgggtc aatgtggaaa acctccgcg atcgcgtgaa gccaggctct
 cctactgtt aatgtccctg gactcagctg tacacagagg gcgacaagtc agcagtgagt gccaggggga gatgctggat
 taccgacgca tttgatgga agactttct ctgagccctg agatcatct aagctgtcgg ggggagattg aacaccattg
 ttccggatta catgaaaag ggcggaccct acactgtctg atgaaagtag ttcgagggga gaaggggaac ctggaatga
 actgccagca ggcgctcaa acactgatc aggagactga cctggtgca gattaccgca ttgatcagc ttgaaatgaa
 gcttgtgaa ctgtaacca gacagcctgc aaacataaa gatctggaga ccaatgatc ttgtgtgcc tgatggaaca ttatacaca
 gagaagatgg tagaagactg tgaacaccgt ctcttagagc tgcagtatt catctcccgg gattggaagc tggaccctgt
 cctgtaccgc aagtccagg gagcgcctc tctctttgc cacaccacg gttggaatga gaccagtga tttatgcctc
 agggagctgt gttctttgt ttatacagac acgcctaccg cactgaggaa cagggaagga ggcctcacg ggagtccga
 gctgaagtc aaaggatct acaccagct gccatggat tcaagctgga tctgcccctc caggataagt gctgattga
 tctgggaaaa tgggacagtg agaaaacaga gactggacag gagctggagt gccttcagga ccatctggat gacttggtg
 tggagttag agatatagt ggcaacctca ctgagttaga atcagaggat attcaaatag aagccttct gatgagagcc
 tgtgagcca taattcagaa ctctgccac gatgtggcag ataaccagat agactctggg gacctgatg agtgtctgat
 acagaacaaa caccagaagg acatgaacga gaagtgtgcc atcggagtta cccactcca gctggtgcag atgaaggatt
 ttcggtttc

Фиг. 8С

ttacaagttt aaaatggcct gcaaggagga cgtgtgaag cttgcccac acataaaaa gaaggtggac gtggtgatc
 gcctgagcac gacctgccc aatgacactc tgcaggaagc caaggagcac aggggtgcc tgaagtgcc caggcagtc
 cgtgtggagg agctggagat gacggaggac atccgcttg agccagatc atacgaagcc tgcaagagt acatcaaaa
 cttctgtcc gctgtgcaat atggcaagc tcagattatc gaatgtctga aagaaaaca gaagcagcta agcaccgct
 gccacaaaa agtatttaag ctgcaggaga cagagatgat ggaccagag ctgactaca ccctcatgag ggtctgcaag
 cagatgataa agaggtctg tccggaagca gattctaaaa coattgtgca gtgctgaag caaaataaaa acagtgaat
 gatggatccc aatgcaaac agatgataac caagcggcag atcaccaga acacagatta ccgcttaaac cccatgtaa
 gaaaagcctg taaagctgac attcctaat tctgtcagg taccctgact aaggccaagg atgattcaga attagaagga
 caagtcact cttgcctgaa gctgagatat gctgaccagc gcctgtctc agacttgaa gaccagatcc gaatcattat
 ccaggagtc gcctggact accgcctgga tctcagctc cagctgact gctcagacga gatctccagt ctatgtgctg
 aagaagcagc agccaagag cagacagtc aggtggagga gtgcctcaag gtcaacctgc tcaagatcaa aacagaattg
 tgaataaagg aagtctaaa catgctgaa gaaagcaag cagacatct tgtgaccg gfactcata ctgctgtgc
 cctggacat aaacaccact gcgcagccat caccctggc cgcggcgc aaatgtctg tctcatgaa gactggagg
 ataaggggt gaggttacag cccgagtga aaaagcct caatgaccg atgagatgt ggagtacgc agcaaggtg
 gcccagcag atgctctc tgatctgcc atgcaagta tgactctcc atctaagaac tacattctc ctgctgacg tgggagc
 tctatattgt tctgattg cctgatgtg ggacggatca ccaagcagat gacacgag ctcaaggaca ggctacaata
 caggtcagag acaatggct ataaaggtt agtggctc caggatgta caggcagtc agcctgacct tctgacac
 tccagacaaa ctccagac aagctcctt gtgcctctac gtggagagg tgggaaagt taccacata aaagatggag
 gatttaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa aagaaaaa aaaaaaaaa

Фиг. 8С (продолжение)

MAACGRVRRMFRLS AALHLLLFAAGAEKLPQQGVHSQQGPGANFVSFVGGAGGGG
 PAGQLPQLPQSSQLQQQQQQQQQPQPFPAGGPPARRGGAGAGGGWKLAE
 EESCREDVTRVCPKHTWSNNLAVLECLQDVREPENISSDCNHLWNYKLNLTDPKFE
 SVAREVCKSTITEIKECADEPVGKGYMVSCLVDHRGNITEYQCHQYITKMTAIFSDYRLI
 CGFMDDCKNDINILKCGSIRLGEKDAHSQGEVVSCLKGLVKEAEREPIQVSELCKK
 AILRVAELSSDDFHLDRHLYFACRDDRFCENTQAGEGRVYKCLFNHCFEESMSEKCR
 EALTTRQKLI AQDYKVSYS LAKSCKSDLKKYRCNVENLPRSREARLSYLLMCLES AVHR
 GRQVSSECQGEMLDYRRMLMEDFSL SPEIILSCRGEIEHHC SGLHRKGRTLHCLMKVVR
 GEKGNLGMNCQQALQTLIQUETDPGADYRIDRALNEACESVIQTACKHIRSGDPMILSCL
 MEHLYTEKMVEDCEHRLLELQYFISRDKLDPVLYRKCQGDASRLCHTHGWNETSEF
 MPQGA VFSLYRHA YRTEEQGRRLSRECAEVQRILHQRAMDVKLDPALQDKCLIDLG
 KWSEKTETGQELECLQDHLDDLVECRDIVGNL TELESEDIQIEALLMRACEPIIQNFC
 HDVADNQIDSGDLMECLIQNKHQKDMNEKCAIGVTHFQLVQMKDFRFSYKFKMACKE
 DVLKLCPNIKKKVDVVICLSTTVRNDTLQEAKEHRVSLKCRRLRVEELEMTEDIRLEP
 DLYEACKSDIKNFCSAVQY GNAQIIECLKENKKQLSTRCHQKVFKLQETEMMDPELDYT
 LMRVCKQMIKRFCEADSKTMLQCLKQNKNSLMDPKCKQMITKRQITQNTDYRLNP
 MLRKACKADIPKFCHGILTKAKDDSELEGQVISCLKLRYADQRLSSDCEDQIRIIIQESAL
 DYRLDPQLQLHCSDEISSLCAEAAAQEQTGQVEECLKVNLLKIKTELCKKEVLNMLKE
 SKADIFVDPVLHTACALDIKHCAAITPGRGRQMSCLMEALDKRVRLQPECKKRLND
 RIEMWSYAAKVAPADGFSDLAMQVMTSPSKNYILSVISGSICILFLIGLMCGRITKRVTRE
 LKDRQLYRSETMAYKGLVWSQDVTGSPA

Фиг. 8D

caaaaacttc tgtccgctg tgcaatatgg caacgctcag attatcgaat gtctgaaaga aaacaagaag cagctaagca
 cccgctgcca ccaaaaagta ttaagctgc aggagacaga gatgatggac ccagagctag actacacct catgagggtc
 tgtaagcaga tgataagag gttctgtccg gaagcagatt ctaaaacct gttgcagtgc ttgaagcaaa ataaaaacag
 tgaattgatg gatcccaat gcaaacagat gataaccaag cgcagatca ccagaacac agattaccgc taaaccca
 tgtaagaaa agcctgtaaa gctgacattc ctaaattctg tcacggatc ctgactaagg ccaaggatga tcagaatta
 gaaggacaag tcactcttg cctgaagctg agatatgctg accagcgcct gtctcagac tftgaagacc agatccgaat
 cattatccag gaggccgcc tggactaccg cctggatcct cagctccagc tgcactgctc agacgagatc tccagtctat
 gtgctgaaga agcagcagcc caagagcaga caggctcagg ggaggagtgc ctcaaggica acctgtcaa gatcaaaaca
 gaattgtgta aaaaggaagt gctaaacatg ctgaagaaa gcaaagcaga catctttgtt gaccgggtac ttcactgctc
 ttgtccctg gacattaac accactgcgc agccatcacc cctggccgcg ggcgtcaaat gtctgtctc atggaagcac
 tggaggataa gggggtgagg ttacagcccg agtcaaaaa ggcctcaat gaccggattg agatgtggag ttacgcagca
 aagggtgccc cagcagatgg cttctctgat cttgccatgc aagtaatgac gtctccatct aagaactaca ttctctctgt gatcagtggg
 agcatctgla taltgttcci gattggcctg atgtgtggac ggatcacca gcgagtgaca cgagagctca aggacaggtg
 gagccacct gaccacaaa ggaactacct atccagtgc cagttgtac agccctctg tatagatcc cactcacct
 cgtctctc agaagtgaca ccaaccccg gttagagcat tagcagatgt cactgcgtt gtccatcca gcctccactc
 gtgtccatgg tctctctc cctctaccg tgcagcagca gcagctggtc gctggggta ctgcctttgt ttggcagact tggttacct
 gctgtagtc aagtctct cataccaaca gaactccgg tacttccaga accaactcag ctgacctgca actcaaagc tttttaaga
 aaaccacaa aaaaaaaaaa tttttaag aaaaaatgt atatagtaac gcatctctc caggttgat ttgggcaatg gggttatgtc
 tttcatatga ctgtgtaaaa caaagacagg acttgagggg gaagcacacc acccagtgtg ccatgactga ggtgtctctg
 tcatctca gaagcgcctt ggggcctcgc caggccgtg gtctcaccg aggcgtgggt gggcagccgt tcccaggct
 gtgtggggtc ctgcttctt ctgctgagac agtgacgctt tccagttcc accctaatca gccactgctg gtcacagccc
 cacagccatg ggtattctg tggctctc gcttcaatga agcaagcat gaccttct agacaagggc agctgggggag
 gggaaggagc cggaagtgtg tgaagtga cagtccatcc atctgactg agaggctgga tctgagtc cggggcagca
 ggatcccagg aacctctc ctccagggca gcacaggact cagccgtgct tggaccggcc ctgctgaggc tacagtact
 ctggaagctc tgccttcat caggaggcag gactgtggcg ggagggtcc ttgaagatgg gttgggggag cagtgggtca
 ggaagtggga gccagaggtt tgactactt tgcittatt ttcaggctac aatacaggtc agagacaatg gcttataag gtttagtgtg
 gtctcaggat gtgacagca gtcagcctg acctctgc acactccaga caaactccc agacaagctc cttgtgcct
 ctactggag aggggtgga aagttatcac attaaaagat ggaggattaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaa

Фиг. 8Е

MMDPELDYTLMRVCKQMIKRFCEADSKTMLQCLKQNKNSLMDPKCKQMITKRQIT
 QNTDYRLNPMRLKACKADIPKFCHGILTKAKDDSELEGQVISCLKLRYADQRLSSDCED
 QIRIIQESALDYRLDPQLQLHCSDEISSLCAEAAAQEQTQVVECLKVNLKIKTELCK
 KEVLNMLKESKADIFVDPVLHTACALDIKHCAAITPGRGRQMSCLMEALDKRVRLQ
 PECKKRLNDRIEMWSYAAKVAPADGFSDLAMQVMTSPSKNYILSVISGSICILFLIGLMC
 GRITKRVRELKDR

Фиг. 8F

aatitagcca gctgtggtgg cacatacctg taatcccagc tacttgagag actgaggcag gagaatcact tgaaccggga
gatggagttt gcagtgagcc gagatgggct cactgtactic cagcctgggt gacagagcaa gactctgtct ccaaaaaaaaa
aaaaaaaaa aaaaaaaaaaga cattcaagc tggaaagatt ggctccctaa ctttgagcct agctcttca ttaaagtaat aataaaagta
gaactctaca ttatataat ggttttgact ttcaaaagtg atttccat ctcagcagtc ctgtgaagga ctaaataagg tgttcaggg
tagacttggc atgtgtttt gcaaagaagg tccaaggcca tgcagctatt tggtagacaga atgaaagta aagcctgatt ctctgtctg
aaggcgactt tgctatctag aagccagggt cactagacaa gatgcagtc acaataagt ctccagaaca tatgacatct
ccagcctaaa ccaagctcac cttccatgc tggctccctc atgcagacgg aggacatccg ctggagcca gatctatacg
aagcctgcaa gactgacatc aaaaacttct gtccgctgt gcaatattggc aacgctcaga ttatcgaatg tctgaaagaa
aacaagaagc agctaagcac ccgctgccac caaaaagtat taaagctgca ggagacagag atgatggacc cagagctaga
ctacaccctc atgagggtct gcaagcagat gataaagagg ttctgtccgg aagcagattc taaacctatg ttgagtgct
tgaagcaaaa taaaaacagt gaattgatgg atcccaatg caaacagatg ataaccaagc gccagatcac ccagaacaca
ggtaagatct tggcttggct ctctggccc cgtggagtat ctgaaaagga atcagtgcc tggtagtgga cctgctcaaa
ctcccagggc ttgttgcct gggaattita agggaggagt ctgagttaa gcaggccctt cctccttga ggagcatcca
gaaaaatgga gggagagtca ggggagagag gaggccaca gaaccagaaa actgccctaa aagaacgtc agaaggaatc
aggccggcag tccttggaaa gaaaaatca gaaattcaat aaaactcat gactgtgcca ggagaatgta cgggtaatct
gattcgaac agaacattt cacctctgag ttggaagacc tctgaagta atggtcacag tgagttggat atgtatttct ttttcagt
ttctcaaaag tctctgtat ggggaagggt gctgatgtcc ccttgattt tctgaggact ccttagagta ttggagctg cacaiaacc
cgcagagtag aaagattctt gaggacctc agaagtact gtaacaagt catattctg attaaaaaa gtgtagttag
agctcagtaa atgtttatg aatagataaa tccatggtg tagtcatgat cattgacata atatgctccc tttaggaagg tggatata
aaaatgtgt aatcaggttg aatgtttgt cacatgctca ctgcttcta ctctagatta ccgcttaaac cccatgtaa gaaaagcctg
taaagctgac atctcaaat tctgtcacgg taccctgact aaggccaagg atgattcaga atfagaagga caagctatct ctgacctgaa
gctgagatal gctgaccagc gcctgtctc agactgtgaa gaccagatcc gaacattat ccaggagtcc gccctggact
accgctgga tctcagctc cagctgact gctcagacga ggtgggatt gcgtgcaaaa ctggttacgc acagagctgc
tcagagaagt ttccactgga gaaaagtgt ttacttctc tccctcagc cgtgaatgat ctggtgaatt gaaggccatc ttctaggctc
tccatggtct gactctctg tctttgtaac actgaattca acttggcatt agtctgaca ctctaaagcg ttgtccata ttctctgt
gaacaagggt gttcttcat tatagctctc tgaatattg ttcttccct ctcttattc tggatgtaa acccaagacc tgcagaag
ataaaagtgc ttccagctgg gcacgggtggc tcacgcctgt aatcccaaca cttggggagg ccaaggaggg tggatcatct
gaggctcagga gtcaagacc agcctggcta acatggagaa atctgtctct actaaaaata caaaaaatta gccaggcgtg
gtggcgtgca ccagtaatct cagctactca ggaggctgag gcaggagaat cacttgaacc cgggaggcgg tgggtgcat
gactgagat catgccactg caccagcc tggcgacag aggaagactc tctc

Фиг. 8G

MQTEDIRLEPDLYEACKSDIKNFCSAVQYGNAQIIECLKENKKQLSTRCHQKVFKLQETE
MMDPELDYTLMRVCKQMIKRFCEADSKTMLQCLKQNKNSLMDPKCKQMITKRQIT
QNTGKILAWLSWPRGVSEKEFSGCRVTCNSQGFVAWEF

Фиг. 8H

ctgagaggaa gttttatctg tgcagccctt ctctgaggat ggacactct cacactacaa agtctgttt gctgattctt ctgtggccc
tactgtgtgc agaagagct caggactgg agtgtacca gtctatgga gtccattt agactcttg cccatcaat
acctgcccct accctgatgg agtctgtgt actcaggagg cagcagttat tgggattct caaacaagga aagtaaagaa
caatctttgc ttaccatct gccctcctaa tattgaaagt atggagatcc tgggtactaa ggtcaacgtg aagacttctt gttccagga
agacctctgc aatgtagcag ttccaatgg aggcagacc tggaccatgg cagggtgtct tctgtcagc ctgagctcag
tctctctgca gacctgtc tgatgtctt cccaatgacc tccaccttg tcttttct ctcagtgtca acaattctc ctggagccct
ctagtatga attatgagt atagaagctc caaggtggga gtagtgtgt aaataccatg ttttgcctt atagcccctg ctgggtaggt
agggtctcta atctctcta gggttcaaa gctgtactt cctagaatgt cattttgtg tggattgtct ccatgacc tggaggcaca
cagccagcac agtgaagagg cagaattca aggtattatg ctatccat ccacataa gtatctgggg tctgcaatg
ttccacatg tatctgaat gtcccctgt tgaatcaat aaacctttg ttctccaaa aaaaaaaaa aa

Фиг. 9A

MDTSHHTKSCLLILLVALLCAERAQGLECYQCYGVPFETSCPSITCPYPDGVCVTQEA AV
IVDSQTRKVKNNLCLPICPPNIESMEILGTKVNVKTSCCQEDLCNVA VPNGGSTWTMAG
VLLFSLSSVLLQTL

Фиг. 9B

atctgacaga acttgccact gtgcctgcaa ccttctctga gaggaacct tctctgagga tggacacttc tcacactaca
 aagtctctgtg tgcctattct tcttctggcc ctactgtgtg cagaaagagc tcagggactg cagtgtctac agtgctatgg
 agtgccaatt gagacttct gcccagcagt lacctgccgc gccctctgat gattctgcat tgcctaaaac atagaattga
 ttgaggactc tcaaagaagg aactaaaga cccgtcagtg ccttcttctc tgcctctctg gtgtgccaat caggatcct
 aacatcaggg agaggacttc ctgttgagc gaagacctct gcaatgcagc agtcccact gcaggtagca cctggaccat
 ggcaggggtg ctctgttca gctgagctc agtcgtctg cagaccttc tctgatggc ctccaatga cccccacct tttcttlla
 tctctatgtg caaccactct tctctggagt cctctagtga caaatatata gttatagaag gtccaatgtg gggataggtg gtggaacacc
 ctgtttcacc ttatagccc ctgctgggta agtgcggcgc tctctctag gctttcaaa tctgtacttc ttgcaatgcc atttagttg
 ggattctat tcttggccct ggaggcatgt ggccagcaca tgaacaggc agtattcaa ggtattatag taccaccatc
 cacacataag tatctgggt cctgcaggg tccatgtat gctgtcaat gacctgtt gatccaata aaagcttctg tctccagcc
 aaaaaaaaa aaaaaaaaa aa

Фиг. 10А

MDTSHTTKSCVLLILLVALLCAERAQGLQCYECYGVPIETSCPAVTCRASDGFCAQNIELI
 EDSQRRLKTRQCLSFPAQVPIRDPNIRERTSCSEDLCNAAVPTAGSTWTMAGVLLFS
 LSSVVLQTL

Фиг. 10В

gcccacccc gccagcccg tgcctataag gccctggcaa tgcaggggccc cgcactgctc ccagacgaca tcagagatga
 ggacagcatt gctgtctctt gcagccctgg ctgtggctac agggccagcc ctaccctgc gctgccactg gtgaccagc
 tccagcaact gcaagcattc tgtgtctctc ccggccagct ctgcctctg caagaccacg aacacagtgg agcctctgag
 ggggaactg gtgaagaagg actgtgcgga gctgtgaca cccagctaca cctgcaagg ccaggtcagc agcggcaca
 gctccacca gtgtgccag gaggacctgt gcaatgagaa gctgcacaac gctgcacca ccgacccgc cctcggccac
 agtgcctca gccctgggct ggccctgagc ctctggccg tcatctttag cccagcctg tgacctccc cccagggaaag
 gccctcatg ccttctctc ccttctctg gggattccac acctctctc cccagccga accgggggtg caggagcccc
 aggtgaggg ctccccgaa agtctgggac caggctcagg tggcatgga atgtgatga ctggagcag gccccacaga
 cccacagag gatgaagcca cccacagag gatgcagccc ccagctgcat ggaaggtgga ggacagaagc cctgtggatc
 cccgatttc acactcttc tgtttgtg cgtttatt tigtactca atctctacat ggagataat gattaaacc aaaaa

Фиг. 11А

MRTALLLAALAVATGPALTLRCHVCTSSSNCKHSVVCPASSRFCKTTNTVEPLRGNLV
 KKDCAESCTPSYTLQGQVSSGTSSTQCCQEDLCNEKLHNAAPTRTALAHSALSGLALS
 LLAVILAPSL

Фиг. 11В

gctccggcca gccgctgctc agagcgcgag aggtctgggg agctccgcca ggctgtgtgt acctgctcc gcccgccgag
 caggacagcc tctttgggt tctgacctc aggcaggagc gccatctct ccagaatgaa gatctcttg ccagtgtctc
 tggctccct tctgggtgtg gagegagcca gctgctgat gtctctcc tcttgaacc agaagagcaa tctgtactgc
 ctgaagcca ccatctgctc cgaccaggac aactactgct tgaactgtc tctagtgc gccattggga atctgtgac
 atttggccc agcctgagca agacctgtc cccggcctgc cccatcccag aaggcgtcaa tgttgggtgt gcttccatgg
 gcatcagctg ctgccagagc tttctgtgca attcagtc gccgatggc gggctgctgg caagctcac cctgtgggt
 gccgggctgc tctgagcct gctgccggcc ctgctgggt ttggccctg accgccaga cctgtccc cgatcccca
 gctcaggaag gaaagcccag cctttctgg atcccacgt gtatgggagc cctgactcc tcaactgct gatctgtcc
 ctgttccc ggtcaggccc accccctgca cctccactg cccagccc tgcctctgc caagtggcc agctccctc
 acttctgggg tggatgatg gacctctt ggggactgc ggaagggagc agggttcct ggagtctac ggtccaacat
 cagaccaagt cccatggaca tctgacagg gtcccagg agaccgtgc agtagggat tctgctggc tctgtactgt
 ggtgtcagt gcactgaga gcactggcg gcttctgggg gccatgttg gggagggagg tctgccagca gcctggagag
 cctcagtcct ttagcccc tgcctggca cagctgatg cactcaagg gcagccttg ggggtgggg tttctggcc
 ttccgggtc agcccctgc caaatccagc cagtctgccc ccagcccacc cccacattg agccctctg ctgcttgg
 gcctaaaata aatacagatg tccc

Фиг. 12А

MKIFLPVLLAALLGVERASSLMCFSLNQKSNLYCLKPTICSDQDNYCVTVSASAGIGNL
 VTFGHSLSKTCSPAPIPEGVNVGVASMGISCCQSFLCNFSAADGGLRASVTLLGAGLLL
 SLLPALLRFGP

Фиг. 12В

actgtgctg caacctggc agagaggaag taaggactgg tgcaggagg gagctgctag gttgatctg tgcagccct
 ctccaaggat ggacagttgt cacactaaa agtccigtgt actcatcct ctgtgtgccc tattgtgtgc agaaagagct
 caggggctgg agtgataaa ctgcctggga gttcacttg gaattgctg caaataatt acctgcccct accctgatg
 agtctgcatt tctcagcagg tagaacttat tgtggactct caaagaagga aagtaaagaa caaactctgc tttctttct gcctgctaa
 tctlgaanaa atggagatcc tgggtactac tgcacagtg aatacttct gttgcaagga agacctctgc aatgcacat tttcactgg
 aggcagacc tggaccatga caagggtgct tctgttaaat ctgggctcgg tcttctgca gacctgctg taaaaggctc
 ttccaaggac ctccacctt gttgtttat cctcattgc aactattct tcttggagcc ctctagtat gaattatgag atattgaagc
 tccaaggigg gagtagtgt tgggaatac gttgttcaa cttalagcc ctgtctggt aatgcccc ctcctctca ggaattcaa
 atatgtact cctagaatgc cattttgtg tggctgcta atctggccc tggaggccc tggctagcag agggtagagg
 cagaattcca aggtattaag ccatcaccat ccacacataa gtgtctgagg tctgcagga tctcatgta tgcggctta tgcctctg
 ttgagctcaa taaacctt gtctcc

Фиг. 13А

MDSCHTTKSCVLILLVLLCAERAQGLECYNCLGVSLGIACKSITCPYPDAVCISQQVELI
 VDSQRKRVKNKLCFFPCANLENMEILGTTVNVNTSCCKEDLCNAPFSTGGSTWTMTR
 VLLLNLGSLVFLQTL

Фиг. 13В

ctgcagccag gtctgagagg aagtaaggac tgggtcagg agggagctgc taggtgaca agggaagaac cctcaggata
 gggctgtgt gggagtgaga ttaggaaga agagctgggt ggggtgtgga tgagagaagt aggcagacat gttctcca
 gggaaagctg ttagaggggt tggagggagg gaatttga tggctgagcc gtgtgagagc ccaggggtgt gctcaggggt
 ctattaactg gctcaactt ccaaggttt atctgtcag ccttctcca aggatggaca ctctcacga gataaagtc tgtgtctga
 tcttctgt gacctactc tgtcagaaa gagctcagg actggagtgt taccagtgt atggagctcc atttgagact tctgccc
 cattacctg cctcactct gatggattct gtgtctca ggaggaaga ttattgcaa actctcaaag aaagagagta
 aagagcgtt ctgcatcc tttctgccc gatgaaattg aaaagaatt tctctggat cctaacca agatgaat tctctgtgc
 caggaagacc tctgcaatgc agcagttccc actggaggca gctcctggac cagggcagg gtgctctgt tgcctggg
 ctgactctc ctgcagacc tgatgtatg gtcccc

Фиг. 14А

MDTSHEIKSCVLILLVTLCAERAQGLECYQCYGVPFETSCPSFTCPYPDGFCVAQEEEF
 ANSQRKRVKRSCHPFCPEIEKKFILDPNTKMNISCCQEDLCNAAVPTGGSSWTTAGV
 LLFSLGSLVLLQTL

Фиг. 14В

gttatcagag gtgagccct gctctcagc ggagaagat cctactctgg ccgcccgcca ctctctgtgg gccgtgggt
 cctcaaggag acggccctg ggctcaggg ctgcttcc acacgcct tcccagggc lcccgccc gttctgct
 ggccggcgc cgtccaaca gcagacaag gcgggactca gaaccggct ttagggccc cagcggccc gagccctga
 gatgagctc caaagacccc gacagcccc ggcgggtgg aggcgcgcg cccggggcgg gcggggctcc cctaccggc
 cagaccggg gagagggcgc cggagctgc gaaggtcca gaaggcggg gagggggcgc cgcgcctga cctccctg
 gcaccctgg ggacgatgg gctgctgcc ttgtctgg tctggcct acccgggtg tggacagacg ccaacctgac
 tgcgagaaa cgagatccag aggactcca gcgaacggac gagggtgaca atagagtgt gtgtatgt tgtgagagag
 aaaaacttt cgagtccag aaccaagga ggtgcaatg gacagagcca tactcgta tagcggcct gaaaatatt
 ccactttt tcatgttgc gaagcagtc tccgtggt gtgcagcgt ggagagacc aagccagagg agaagcgtt
 tctctggaa gagccatgc cctcttta cctcaagtgt tgaataatc gctactgca tttagaggg ccacctca actcatcgt
 gttcaagaa tatgtgga gcatgggtga gagctgtgt gggctgtgg tggccatct cctgctgtg gctccattg
 cagccggct cagcctgtct tgagccacgg gactgccaca gactgacct tccggagcat ggactgctc cagaccgtg
 taccctgt cattaactt gtttctgt gattacct tggttgact tccagggtc ttggatggg agagtgggga ttagtgcag
 ttgctctta acctcaagg gttctaac tcatcag aggaagcca gatctctga ttagtatt ttgtgacaag tttctct
 tgaatcaa cctgtact cattattgc ttagggcac tcttctt gactcccct tgcctgtgag ggctcagta ttgatggga
 gggaggcta agtaccatc atggagagta tgtctgaga tctccgac cttcaggtg acgcaggaac actgggggag
 tctaatgat tgggtgaa acatccctg agtgaaggac tctcagcat gggggcagt ggggcacacg ttaggctgc
 cccattcca gtggggagg cgtgtggt ggtcttct cctcaact tctaccaga ttccaggagg cagaagata
 ctaattgtg tgaagaaact tagactcac ccaccagct gcacaggtgc acagattat aattcccac acgtgtgt tcaactctg
 aacttaggc caagtagaga gcatcagggt aatggcgt cattctctg ttagatgca gcatcctat gggagctgag
 aatcagact caaagtcca caaaaacaa atacaaggg acttcaaaag tcaagaaa aattgaata aaagataaaa ataa

Фиг. 15А

MRLQRPRQAPAGRRAPRGGRGSPYRDPGRGARRLRRFQKGGEGAPRADPPWAPLGT
 MALLALLLVVALPRVWTDANLTARQRDPEDSQRTEGDNRVWCHVCERENTFECQNP
 RRCKWTEPYCVIAAVKIFPRFFMVAKQCSAGCAAMERPKPEEKRFLLLEEMPPFFYLKCC
 KIRYCNLEGPPISSVFKEYAGSMGESCGGLWLAIIILLASIAAGLSLS

Фиг. 15B

ggagagagca ggacacagct atggatgccg ccaggagagg agatacacag ccagtgatgt ggaccaccgg atggctgtg
 ctgctgccgc ttctgtgtg tgaaggagcg caagccctggagtctacag ctgctgagc aaggcggagc atggatgctc
 tccgcacagg atgaagacagtcaaatgtgg tccgggggtg gacgtctgta ccgaggccgt gggagcggta
 gagaccatccacgggcaatt ctctgtggcg gtgcggggct gcggttccgg aatcccgggc aagaacgaccgagcactgga
 cttcaccggg ctctggcct tcttcagct acagcagtgc tccgaggaccgatcaacgc caaacccaac ctactttgc
 gaggcctcaa cctgcaggc aatgagagtgcataatgagc taacgggtgca gagtgctaca gctgtgtggg tctgagccgc
 gagaagtccagggtccat gccgcccgtc gtgaactgct acaacgccag tggccgtgtc tacaagggtgcttcgatgg
 laacgtacc ctgacggcag ccaactgac cgtgtcctta cctgtccgagctgcgtcca ggacgagacc tgcaccggg
 atgggtgac gggccagga ttcacactcagcggctctg ctgacgggc ccccgctgta acggcact tgcacaag
 acctatttccccctcaat cccacccta gtctgtgtc cccctcaac caccgagcc ccatccactcgggcccagaa
 ctctccagc acgacctta cagcagccc aaccagacc acctccatcatcaagcccac cacagccaa gccagccaca
 ctctccca tgaatggat ctgaagtcatacaggaaga gggggcgtc tgagtggag gtgtcggg ccatggaggt
 actggggccatggaggtgc tgcggccac caagaccgca gcaatatga gaagtatcca gaaagggtg gggcccagat
 cccagctaaa ggaggctctg gcaactaggt gtctgtgtg tctgagttc tgtgactgt ggtgtgtgc gcgatgctg
 gaatgtctca tctgaaaag tccatctac ttgttccc tggcccgtg gtaccaactc ttccattc tcaactgact ggactgctc
 cgccccatc ctacagatt ctgactcc actgactgg ttgagctt cggaaaacag tctctgtt taaatattc gctcgggtg
 cctacttt ttgatcggc cacagctc cccctgatg taccaggac agagggaaga gacgtctact ggctgagaga
 ggcccagaga gtccagggca agcctctct tccgcttct ctgaccaggc tggaaatga ccaggcaggt agacaatgga
 tccatctcc gagcactgt ctgctgtgc acattgtgc gaaatctgt gcctgtct ccttaggaga ctgtgaaca
 ctctacaaca ggtctgtc tctgacct ctatgtgtc tctgtgac aggaaggtgt caataaagat ttacttact tgalatgta
 gtaactaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaa

Фиг. 16A

MDAARRGDTQPVMWTTGWLLLLPLLLCEGAQALECYSCVQKADDGCSPHRMKTVKC
 GPGVDVCTEAVGAVETIHGQFSVAVRGCSSGIPGKNDRGLDLHGLLAFFQLQCSedr
 CNAKLNLTLRGLNPAGNESAYEPNGAECYSCVGLSREKCOGSMPPVVNCYNASGRVY
 KGCDFGNVTLTAAANVTVSLPVRGCVQDETCTRDGVTGPGFTLSGCCQGPCNADLRN
 KTYFSPRIPLVLLPPTTAAPSTRAQNSSSTTSTAAPTTTTSIKPTTAQASHTSPHEMDLE
 VIQEEGASLSGGAAGHGGAAGHQAAGHQRDRSNMEKYPGKGAQIPAKGGSGLGSW
 LSAVLLTVVAGAML

Фиг. 16B

tcgtccccg cgcctgtccc gccgctgagc ccggagtgcg gacaccccag ggatgctgc gcccagagg acccccgct
 gcagccccg cgcctcttc aggcctatc ggagatgctgctgcagcc atgaagagcc tgggtctggc gctgtggcc
 ttcttctct gccctcggcggccatggc ctgtgtgccc aggactgcac cctggccaat tccagccatt
 gcctcgaagcagtgccag cccaccgata ccgittgtc cagcgtgcgg atcaccgacc ccagcagcagcaggaaggt
 caictgtga acaagatgt tcttctcc tgcactctc ttaagcggcacttttctca gactatctga tgggttcat taacttggg
 atctaaaag tgcagtgactgctgcgag aaagattgt gcaacggggc atcggctgca ggacgcagcc
 cctggccctggctggggg ctctgtca gcctggggc tctctctc tggctgggc ctaagaccctccctcc
 cctgtgggc ttggagct gtcccctaa cctgtgtc cccctcccagcctggcctg gctggggctg ggacagcaag
 ggltggcat caaggtctga gctctcaaccctcctagat gtgagtgagc ctctccgt tctccaccg ctccatctc
 caagcagctgaatctcca ggagtcaga cctctggca ggaagctggg gtggggggga gggggagggaagggactga
 gaccctccag gctccaag ggaggagggt caagccagg acagcccaacagcctggcct gaggggcatt aactacagag
 aaataaagtc actctgagt cttgtgaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaa

Фиг. 17A

MPAPQRTFACSPRASFRPYRSMPLPAAMKSLGLALLLCPSPAHGLWCQDCTLANSSH
 CAPKQCQPTDTCASVRITDPSSSRKDHSVNKMCASSCDFVKRHHFSDYLMGFINSGLK
 SRRGLLRERFVQRGIGRRTQPLGPGWGAPVQLGAWLFFGLGPKTPPSLLVGFACPLSL
 LVPLPSLAWLGLGQGFQGIK

Фиг. 17B

agaagaggcg agacttttt ggggtgctccg gatcgccagt agttcttcaa gcctcagcag ccaactcctc cggaggcgct
 gcgctccgcc ccagggagcg cgaatccaag gagcctgggaccagcctctg ggagcccccg gcgcgggcga tgcggggcgc
 gcggggcaca cctgcggctcctctcggtgg cagccctcgc ttggcgcgca gcagcgcgag cctcggcagc
 ctcggcagctactgtcgccg cggccagaac agcctcogct gcggctgctg tctctgatgc tctgcccgtcccggcct
 gccgatccgg gaggatgtgg gttctggca tgcagaac ttttgcggattgttctggc ttccagggtt ggcgctgcaa
 attcagtgct accagtgta agaattccagctgaacaacg attgctcctc cctgagttc atcgtaaatt gcaccgtgaa
 cgttcaagacatgtgtcaga aagaagtgat ggagcaagt gctgggatca tgtaccgaa gtcgtgtcatcgtcagcag
 cctgtctcat tgcctcagct ggggtaccagt ccttctgtc cctgggaaactgaactccg tgtgcatcag ctgctgcaac acccctctt
 gcaatggggc gaggcccaagaagagaggca gctctgctc ggccatcagg ccagggttc tcaccactt
 cctgttctcacttagccc totgctggc aactgtgta agctaaagga gatgccaacc cctgtgcctcacctgtctg gccctctgc
 tctcacttc ccgagtctct tctgggtgct ctttattctggtagacaa gggagtctt ttgtccctc cttcaagta acgcaagatt
 gccgtgcacaacttttg taagctctga accaattcat tctgaattc tgtgtgtagt tgaagaaaaagcatggagc agaagtcca
 gaccctcca tccaactct gtaaccacc gccaggcta gcctggaaga accagccctt agaagtcatt gagatacga
 tctgcttcc caaaagcctt gagcttccat tctgtcccag taggagtcac agtctattca gagactgctg ctgctggaag gtaacttgc
 ttttgcggga ggggagagcc agttcggct caaggctct gaacttgcca ttcatactc ctgctcctgt aaactattt ctgggggtgga
 cccagctggt ttggtctctg agccagctctg tgggtactca ggactcaagg gctggggctt agccttcca ggcttggcct
 cagtctgaaa agtgccttaag aaaacctgt tagttctct ggaggaagag tfactgccc gggaggctag gaagatgagg
 gggctgcggg ctgagctggt gctgtcctg gtagagatga agcgggcacg ctggcgctc tctggttgg catgctcag
 agtcaggcgg cagcagagca cctgccagaa cactctccg aactgctgag aggcacggt gtagaggaga ggggtgacca
 cagagctgag gtagaagaag gtagcagaga agggcaggag gatcatgtat gccctgaagt acgtctggt ccagctatgt
 ttgggtttg ctgcagccat gatccgtcgg atctgattg gcatcaaca cacggccaac gtcaccaca tcagctctgg
 caggcaagaa caggagagaa aaggagacgg ggagagaaac agcatgagaa caaaaataaa taaataaaaa ccataaaat
 attaagccc ttggttctgt tgcctactgg ccgagaaac gtaaccaatct ticagctctg tctgtctgg cttcttttg ccaactggca
 aggagaattt aatgctgct caagtcagg ggacttggct atgttaaaaa gcgttaaatg ctttcgacag tgtattala cttacggctg
 cctgttaatt tcaaaatgt tttcattgt gctcgtgtat ccagaaaata tctcagttg gccaaaa

Фиг. 18А

MWVVGIAATFCGLFWLPLGLALQIQCYQCEEFQLNNDCSSPEFVFNCTVNVQDMCQKEV
 MEQSAGIMYRKSCASSAACLIASAGYQSFCSPGKLNVCISCCNTPLCNGPRPKKRGS
 SAIRPGLLTLLFFHLALCLAHC

Фиг. 18В

ggcaggcctg agtggagacc tgcaccatgc aggggacctg gatgggtgct ttggcactga tattgggac cttcggggag
 cttgctatgg ccttacagt ctacacctgt gcgaactctgtgagtgcac caactgtgtc accaccacc actgccacat
 caatgaaacc atlgcaagactacgctcta ctccctggag atgttttcc ctttctggg ggactccacg gtagcaagctctgcgacg
 caagtgtgag cctcggatg tggatggcat tgggcaaac cggccagtgtctgctgcaa tctgaccta tgcaactgtg
 atggggcacc cagcctgggc agtccgtggcctgctcct tgcctggca ctttctgct tcttgggtgt cctgtgtaa
 agccatggccatctagctcc actccctgt cctgacac ccagttccct aatgcctaga agaaataaatggccatctg
 caaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaa

Фиг. 19А

MQGTWMVLLALILGTFGELAMALQCYTCANPVASNCVTTTHCHINETMCKTTLYSLEI
 VFPFLGDSTVTKSCASKCEPSVDVGIGQTRPVSCCNSDLNVDGAPSLGSPGGLLALAL
 FLLLVLL

Фиг. 19В

atgctttta tggcaggccc tgcagccagc tggctcctga gcccctggg actccatgac gtcaccaag cctgtgtgc
 tgtccttca acagtgctgg tcatgaagac cttggtctcgggtgatacca agctcgagga cctcaccct cagtcctcc cactaaaca
 gtaacctgaatgctaccgat gctgctgga gaccgaagag ctgggggtgc tctggggtc tgaccctgctgacacctc
 tggcagcag ctgtgtcacc ctgcacataa agaacagcag cggtttaatgcatggtga gcgactgca cagcaaggag
 cagatggtcc attgtcata taccgtgctccccgggtg ttgcttttg gatactat cagtgtgtct tctggattt
 ctgcaacaatccggacaaca gaaagaatag catgcaatg

Фиг. 20А

MLFMAGPAASWSLRPLGLHGVPQALCAVLLTVLVMKTLVLGDTKLEDLHPQSLPLNKY
 LNCYRCLLETEELGCLLGSDTCLTPLGSSCVTLHIKNSGFNVMVSDCYSKEQMVHCSY
 TRASPVFGFWIFYQCCFLDFCNPNDRKNSMH

Фиг. 20В

agagctggag accigggaaat ctgctgtcaa ctgctggggc tgggacatt ctcaggacc tcacatgaa acacctcctg
 ttgctcacc tgtctgccct actctactgc tgggtctcagctgatactg atgtactcc tgltaaaag tccctgtgtg
 gatcgccagtcctgccct ggagccgggc cacaatgcc tgacaacaaa cgtgtacct gggaagatgtgggttttc
 taacctgccc tgcggcacac cagaagagcc ttgctgggag gtctcaacgaaacca taagctgggc ctgaactaca
 acaccactg ctgtgacaag gataactgtaacagccggc tccacggccc acaccgcaac tggccctcat ctccctcacc
 tcttggctggcctggcct ctggttatg cattgagact agctccatgg ctacaatct accacctgctatagcctgag cctttccc
 tgttctca gagctcagc ttccagaat ctctctctcccacccct tctctgaag atcatgtccc tagtctata ccaittat
 catgggactgtactggagl ggcctttca gccaccgctc ctctccctca ctgtaccct tccactccattccaccaca cacagacaca
 cagacacaca gacacaaaga cacacacaca cacacacacacacacaca cccagtcct tccatttcc ttctagaaca
 ctctactcc tccactggccactgaaaggc tcccctctt ggacgcaac tgcctgtgct ctgggatcta agtctggaagaactcctg
 ttgtctcag ggagtgatc caaaaggcgc tggcctcatt gcatgggctggcttaccag acctctgtc tgtcccctc tatctgaga
 aataaacatc agtgtctaat

Фиг. 21А

MKHL LLLLSALLYCWVSADTRCHSCKVPVLGCVDRQSCRLEPGHKCLTTNVYLGK
 MWVFSNLRCGTPEPCREVFNETNHLGLNYNTTCCDKDNCNSPAPRPTPALALISLTS
 LAGLGLWLLH

Фиг. 21В

gcctacttgg cctgcctgag atgcggtacc aacaccgcaac gaagtgtgta cagattccca gttagacagc aggaggggacc
 tgggagcggc cagggggatg ttatctct aagagaccaagagctcaggc agggcttctg tcccctgctt cctccctggc
 ttgagctgga tcttgaccagctgtgacc tctgttcaac tctggcactg cctcactgc tccgtatga cccatctgtcacagtgtc
 ctgggtggcc tgatgggctt gctgtggcc caggctctgg agtgcacgtgtgtgctac aatggagaca atgtctcaa
 acctatgccc tgcacagcca tggccactactgtatgacc acacgaact atctcacc ataccggatg aaggtagga
 agtctgtgtcccagctgc ttgaaaccg tctacgatgg ctatccaag catgcatctg ccacctctgttcccagtae tacctctgca
 acgggtctgg ctgtgctacc ccggtgacct tggccctggctccagcactc ctactacct tctggagctt gctgtaaacg
 tgggtcccc aagccagatccactcaaacg caacactctc aaaaaacaca gttccctct ctctcccaat tccctccaccaacgctctt
 cctttgaca ctctcaact accacaggt cccatggcta cctacgaaagaactgatggc atccagatac ctactccaa ggtcatitc
 agaaggtgta catgtggacctgtaatgtgc ccaccatgg gtggggcagg ctgggctct cctctacca
 agatcaggggcatctgggag aatgtttatg gaggaggggt cactactca gtaaggagc actgattgatagaattatg
 agccaaactc cacctcaga acctgcctc agtctacca gtagagatgggtctgtag aggtgagggg aggagagcgg
 cggagaataa cgagctggct agaagcagag aaagactcag cagggctgtc tccgaagatc agcgcggctt gccagagcaa
 atgtgatgtg gaagccatgt gaggaagccc ttgtcatt cactatct gaggaactct gccagacctg atgttgggat
 agccattggc caagggttcc tagcaacggc gtcatttcca taggcccactg aaatccctcc agccccagct cagcaggccc
 ctgacctcc actacagtcc tcaatcaca caccagctgc tgggcttga agttggcagg gacttgggag caggtgacc
 atgctattt ttgtctggcc tgttattctg ggcattggca gaagggatca gacgcaggtc agagcagggc agtagggcga
 ctgagacagg gaaacagact tcagccagtg gcttcccagg tcccgtaggc agctctaca tcttctagc tctgttaca
 tcccgggag acaaatatac agggagccaa gccgagtgt aggtgatgac tgcctgtgaa gtctattgtg gccacagact
 gctgggtacc aagtctcagg agaaccagc ctgatttag gagacacaga tctgccttc atgcagtga gctgtcttg
 ggagccitac catgctctt aactagtacc tcaatcaca tctactgag gaaccccta acactggccc agcccagggg
 tgggatgtc ggccaatgtc catggagtgg gactaccat ggagagtct tgggtcatca cactcaaat gtttatcc
 aacctcccag tggtagagc tgggacaca aaggtccatc ctggggacct tctctctgt tctaggcaga cctgaactct
 gtctgtgtc agagctgatg tggtttccg cctcagttc ctctccggg gataggccac cggaggattt gggagggtgg
 ggagggcatc ctgctgatgg gctcggcag gttctcagga acaggaacgg gcggggctt agtacacagg tgagttgggt
 gggaactggc ccggagctga ggagacactg actgggcaga gggaagatga gctcaaggg agggcaggaa aaggagggg
 gagcgcgcat gcacatgtc actcagtga ggctacagag cccaaaaggc agcactggct tgggtgtccc ctgaggcca
 ggcaagatgc taggaggaag ccaatgtgc cccacctga gctcactgg aacatgaca ccaccagcag cagcagcaag
 catgagact gaactgtgga cgccataggg cactggcaag gagggcaga ggccgggtccc tactcagtg ggtgagggcc
 ggaaacatt atctgttac cctgcgtgtg caagatcatt gctcccagct

Фиг. 22А

agatggcgtc ctcaacaaa actgagagga gccccagtc aggtcctccc tctaccaca agggggtggt gtggaggagg
 cttgaltgcc cttggagaag caccggtact gcagagctgg gggccagctt ctttcatctg tgtctagaca ccgaccagat
 agggcccaca gtggcaacac tgccacacag ccctacaaga agccctgtgc ctactagca cagagcccca aaaggtgctc
 aattaataca gggccaagcc tgccagtggg ggggatgcag attaggggaa cagaccaga tggcctgtcc tgaacctgt
 ctgggggtgt gtgatgagca tctgtctagc ccactgcagg tggctctaca cactccaca cagtctgca aaagtgtatg
 aggtggatcat tactgcgcc ctcacacagg taaaggcact gaggcacgga ggagtgaggc acttcattt cctgggcat
 tcaacttcc aggaccaaca catcaacta tgggtactac lccaatagct ggggttctt gaggtgggc ccctgaaga
 tgatagtggc ttcataacc agagaattc agagtgcagt gttgtaggag cctatgaacc tgaatgtca gaactggagg
 ttgaggggc tgaggggtag gccaggggtg tctggccct tigtggaga cagagagaga gggaacatgg gatgggtag
 tagagagaag tgcaaggag cgtcagcctt tctcagggt aatgctgtca gggacgagg ctcaagcctg tgagtgtct
 cacactgtga taacagtgg ccctcaaca cagacggtgt ccagagtggc cggcagtgt tatctagagt tgcaatctg
 aagcctctg gtagtactg gagagaggcc gcttgatgg acagacca atgtgtgtc tctgtggga tgtgaggaag
 ctgggtcagc gcatgaagcc aaagcgtct tcagagcaga ggggtggctg gtctagtcca ccagagacaa gctatccagt
 gagagtata cctgccacc gtctctgga ttacctacc ccaaagcaga cggggacggg atgcagagca cccgtgtct
 catctctgc ggcaagcag tgagtcaca ttctgaaact ctgaaagat ttccaggagt ggggtgtgcc ttgctttg tgcatggtta
 ctctctgga agcaccgtg catcccag cactgagtga cctgggctc tcaagccatc tcatgtgga aatgacagt
 ccagtaccct ctacgtggc tctggaggc ctgtgatgg ggtctgaca gaggaggccc ccaactatg catggacgga
 cagtgatgc ctgacctc ccttggtgt gtctgtcca acccaggct ctcaccagc aaggaaatga aatccactt
 tatgacacat ctcctccc cagccagctc catcaccta tatgccagg tggccctt caatgtctgt ccccatgg atgaataaac
 aagcgaagga ca

Фиг. 22А (продолжение)

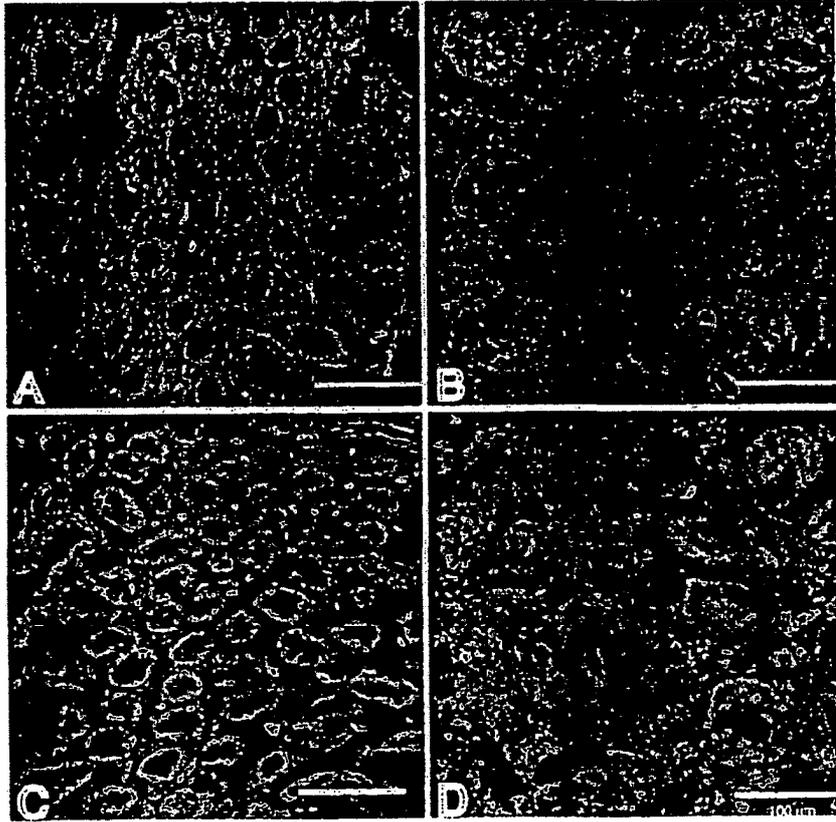
MTHLLTVFLVALMGLPVAQALECHVCA YNGDNCFKPMRCPAMATYCMTRTYFTPYR
 MKVRKSCVPSCFETVYDGYSKHASATSCCQYYLCNGAGFATPVTLALVPALLATFWSL
 L

Фиг. 22В

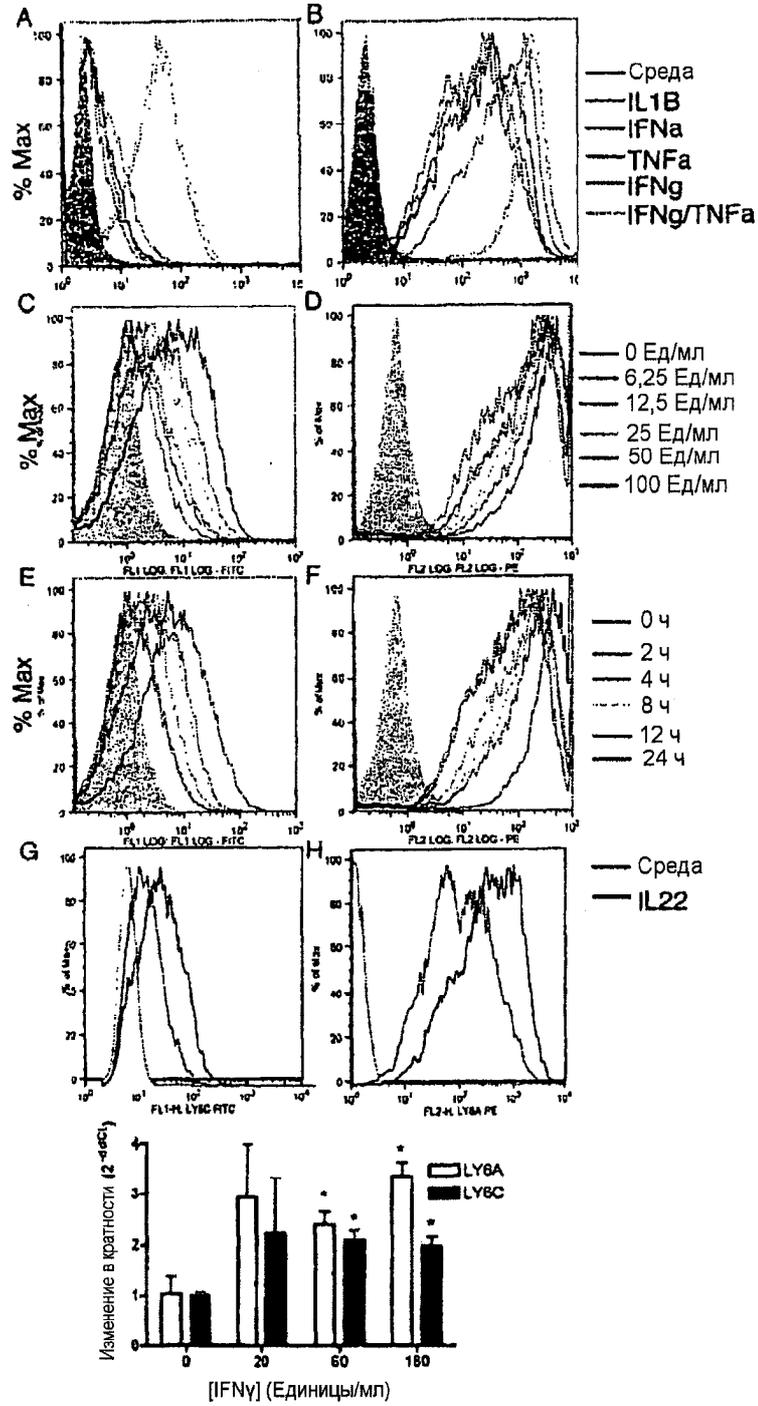


Фиг. 23А

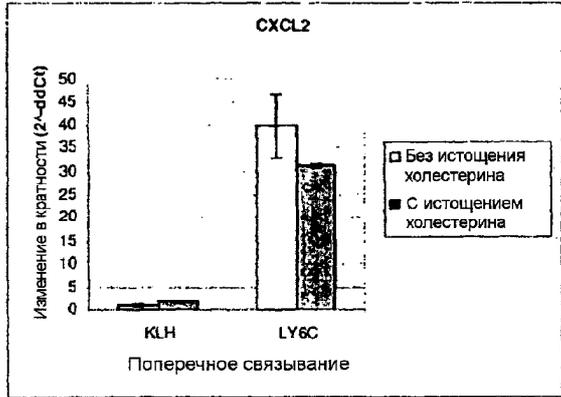
Фиг. 23В



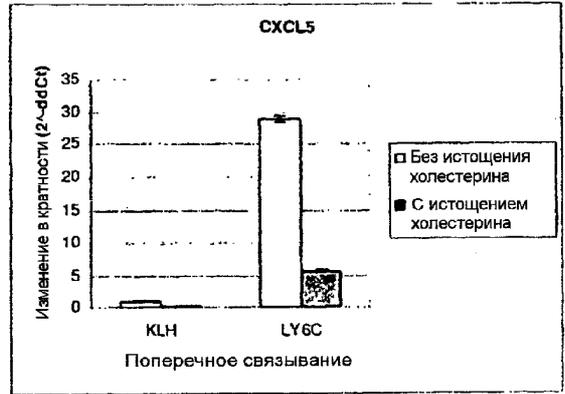
ФИГ. 24



Фиг. 25



A

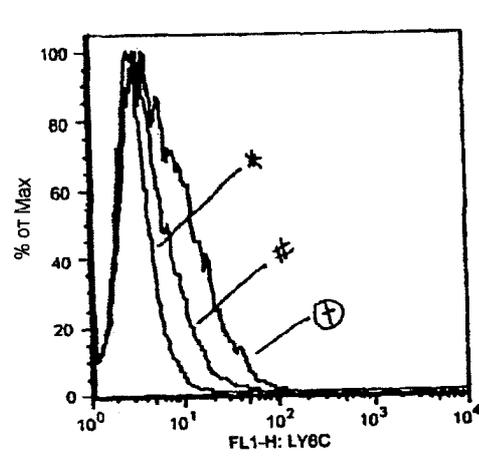
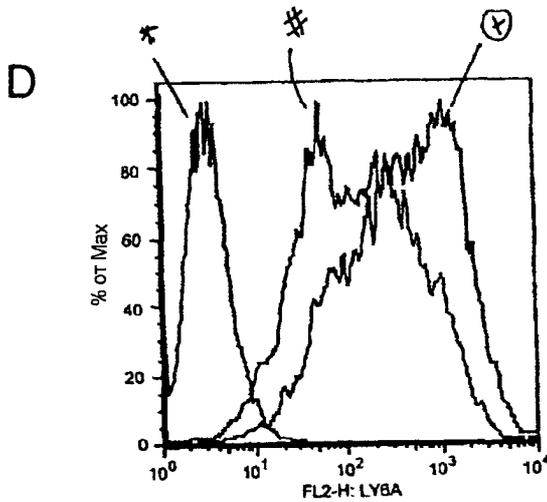


B



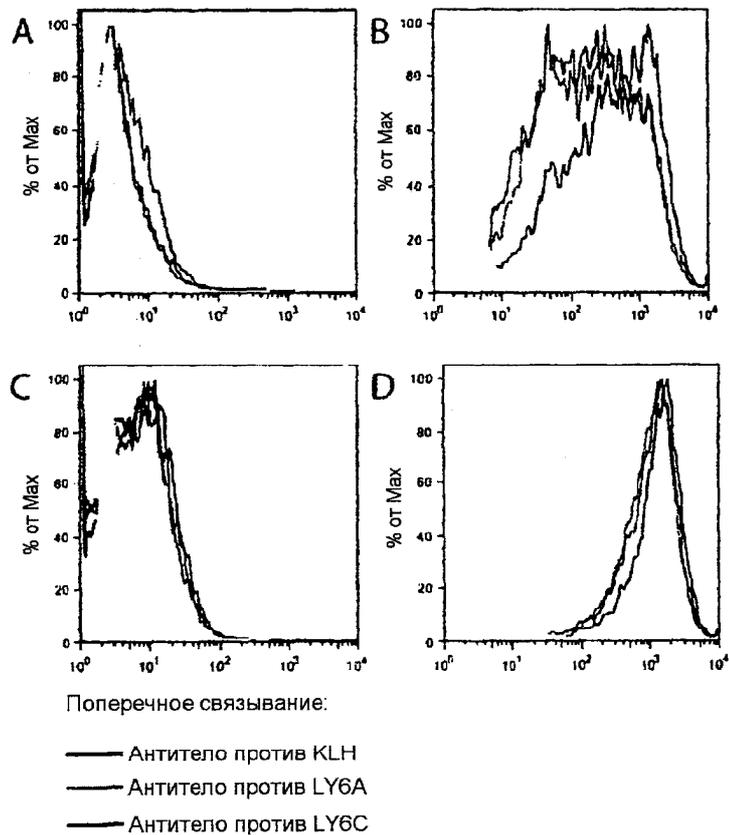
C

Фиг. 26

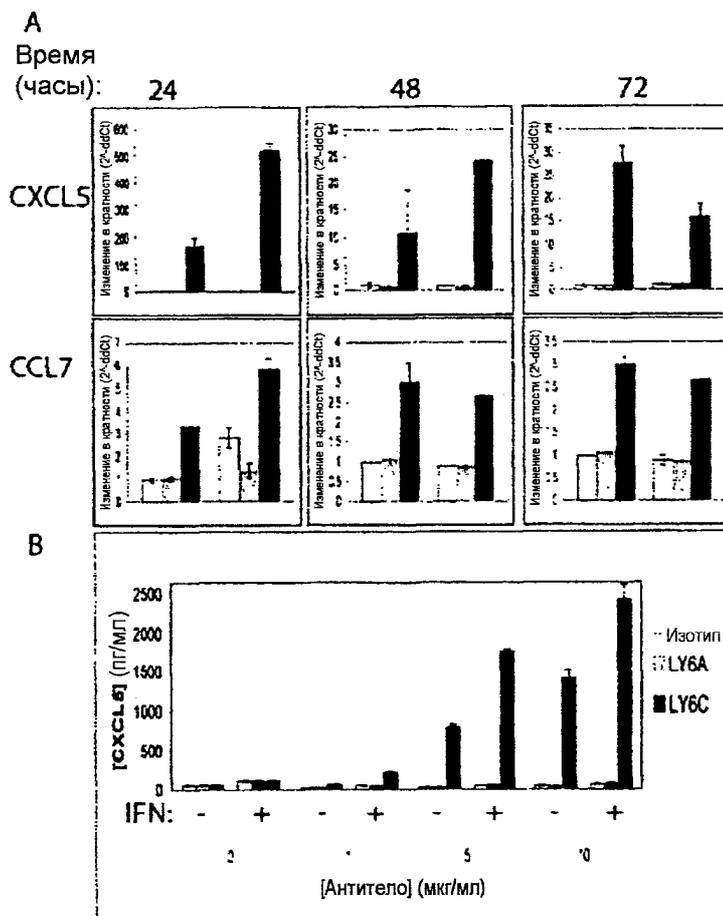


* — Изотип ⊕ — Необработанные # — С истощением холестерина

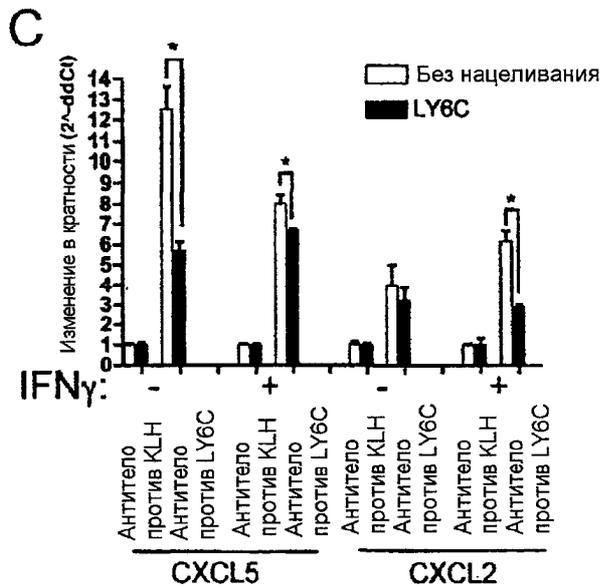
Фиг. 26 (продолжение)



ФИГ. 27



ФИГ. 28



Фиг. 28 (продолжение)

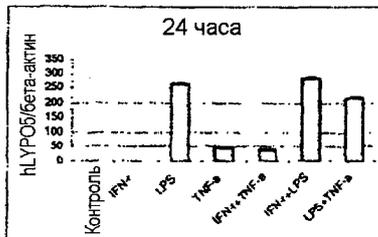


Фиг. 29А

Фиг. 29В

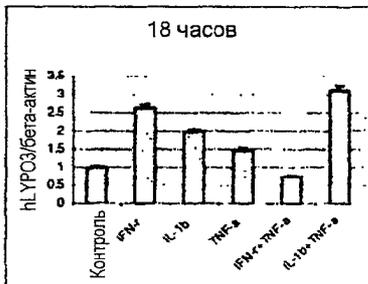
LY6H

A



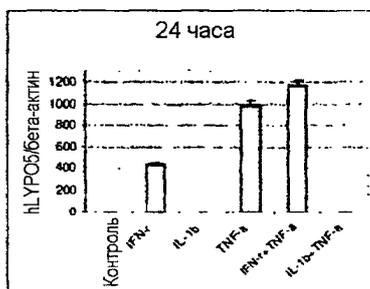
LYPD3

B



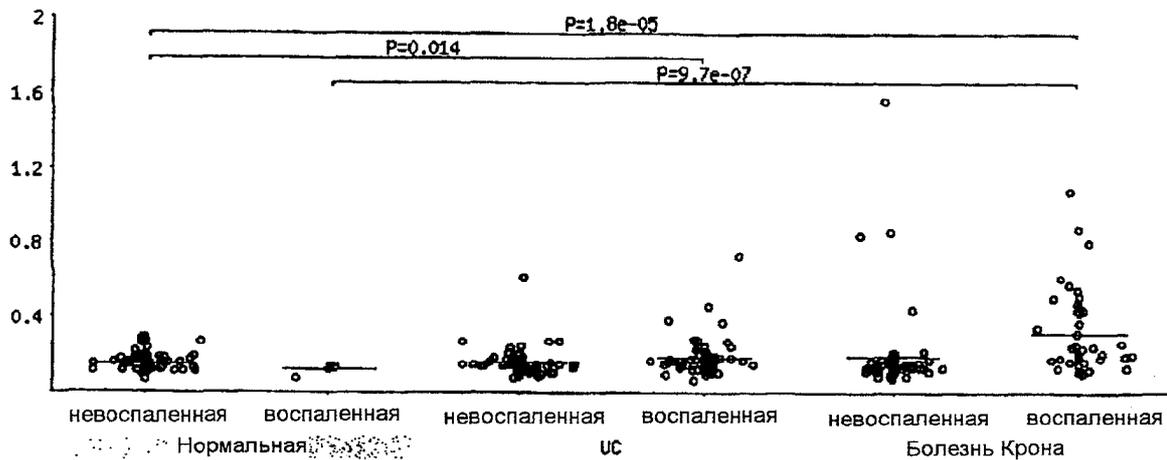
LYPD5

C



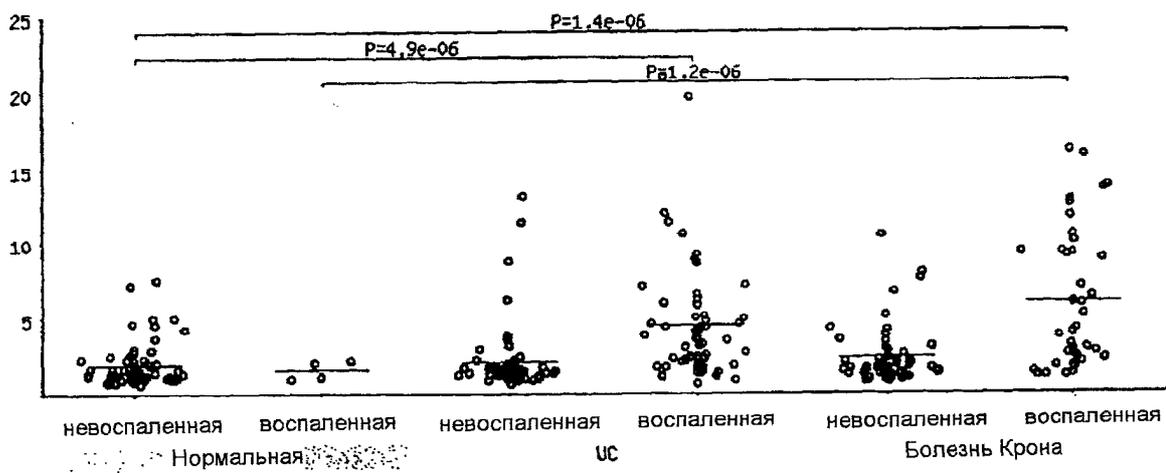
Фиг. 30

LYPD1



Фиг. 31А

LYPD5



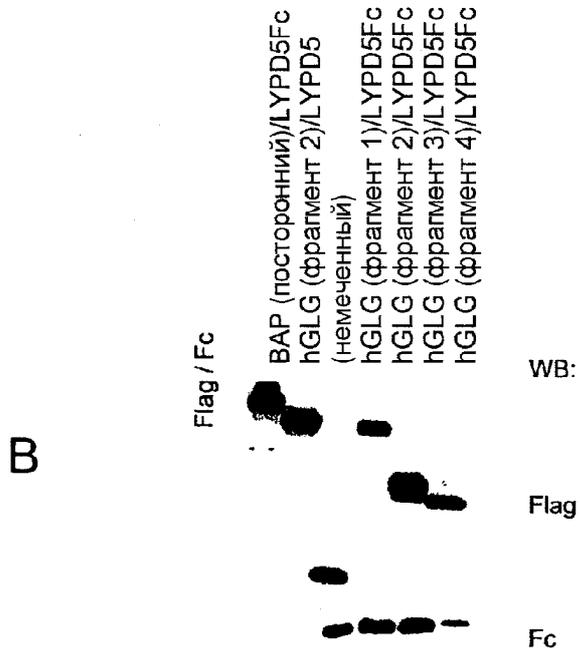
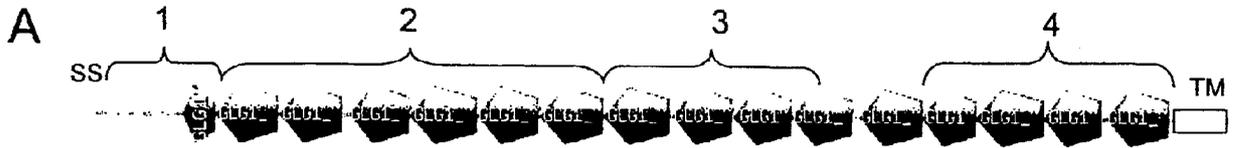
Фиг. 31В



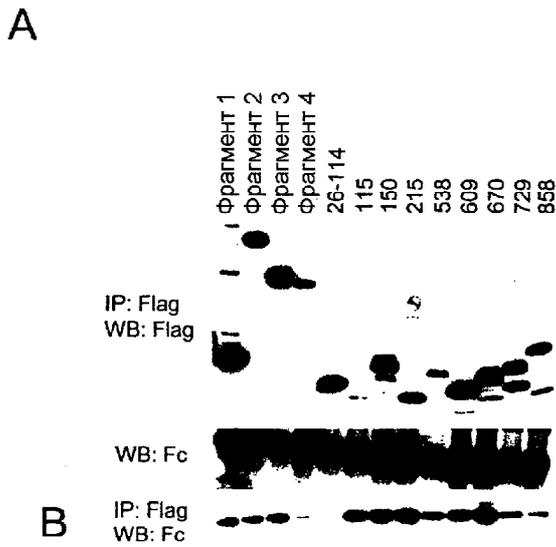
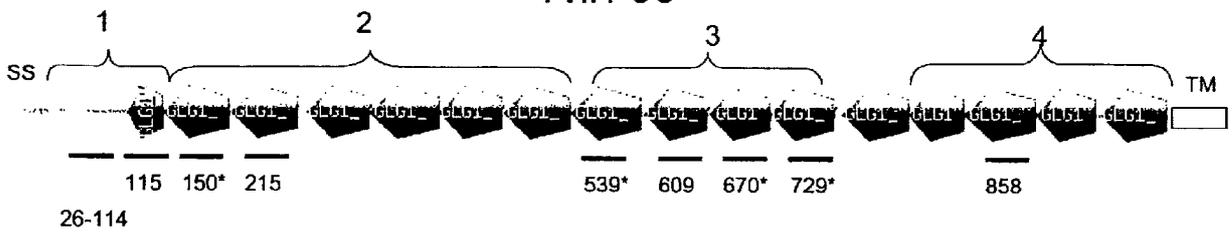
Фиг. 32А



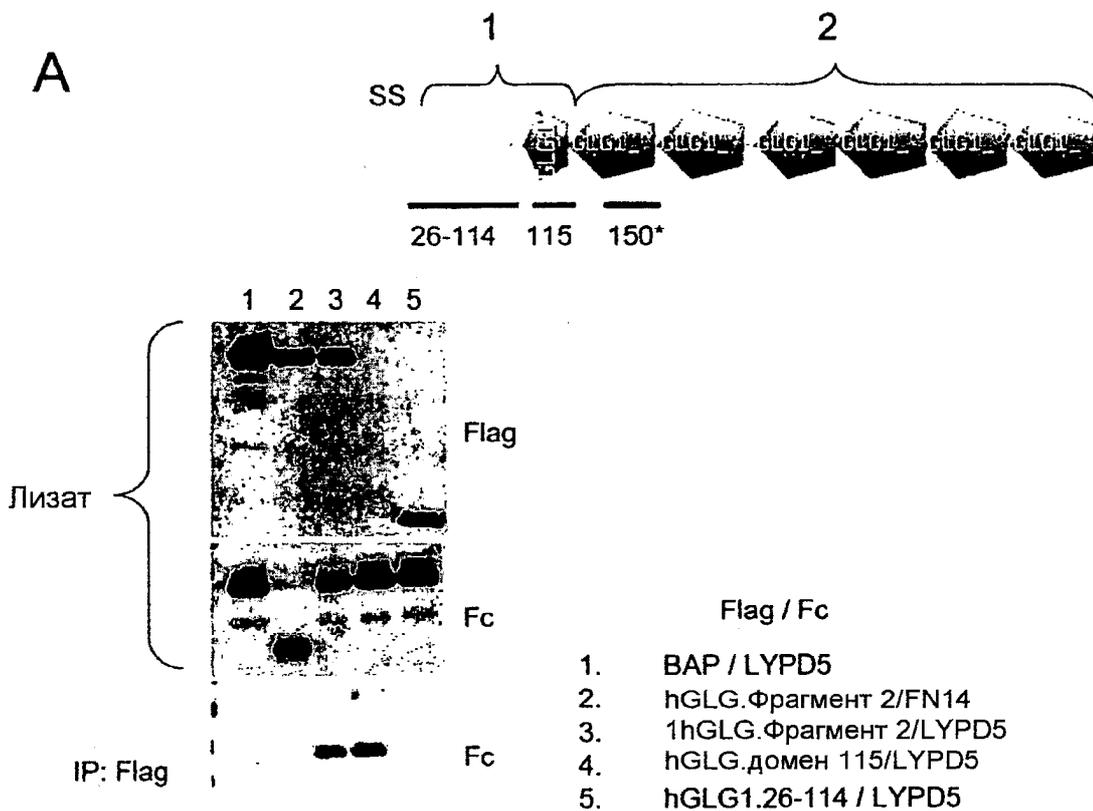
Фиг. 32В



ФИГ. 33



ФИГ. 34



B

ФИГ. 35

cgttgctgct gctctgcacg cacctatgtg gaaactaaag cccagagaga aagtctgact
 tggcccacag ccagtgagt actgcagcag caccagaatc tggctgttt cctgtttggc
 tctctacca ctacggcttg ggaatcggg catggtggct ttccaatgg tcttgttt
 gctgctgct ctgagcagag gtgagagtga attggacgcc aagatccat ccacagggga
 tggccacaga tggcggaaatc ctacactgtc catgctgggg tctgcccagc cagccccctc
 ctgccagaag tgcactctct cacaccccag ctgtgcatgg tgaagcaac tgaactcac
 cgcgtcggga gaggcggagg cgcggcgtc cggccgacga gaggagctgc tggctcagg
 ctgccctcgt gaggagctgg aggagcccc cggccagcag gaggtgctgc aggaccagcc
 gctcagccag ggcgcccg gagggggtgc caccagctg gcgccgacg ggtccgggt
 cacgtgcgg cctggggagc cccagcagct ccaggtccgc ttcctctgt ctgagggata
 cccggtggac ctgtactacc ttatggacct gagclactcc atgaaggacg acctggaacg
 ctgctgcccag ctgggacag ctctgctggt ccggctcag gaagtaccc attctgtcgc
 cattggttt ggttctttg tggacaaaac ggtgctgcc ttgtgagca cagtaccctc
 caaactgcgc caccctgcc ccacccggct ggagcgtgc cagtacatc tcaacttca
 ccatgtctg tccctgacgg gggacgcaca agccttcag cgggaggtgg ggcgccagag
 tgttcccgc aactggact cgcctgaagg tggctcag gcaatctgc aggtcact
 ctgccaggag cagattgct ggagaaatgt gtcccggctg ctggtgtca ctccagacga
 cacattccat acagctgggg acgggaagt ggccggcatt tcatgcca gtgatggga
 ctgccactg gacagcaat gcctctacag tgcagcaca gatttgact acctctgt
 gggctcagga gccagggcc tctctcagc aaatatccag cccatctt ctgtaccag
 tggcactg cctgtctacc aggagctgag taaactgatt ctaagtctg cagtgggga
 gctgagtgag gactccagca acgtgttaca gctcatcat gatgctata atagctgtc
 ttcaccgtg accttgaac actcttact cctcctggg gtccacatt ctacgaatc
 ccagtgtgag ggtctgaga agaggagggg taaggctgag gatcaggac agtgaacca
 ctgccaatc aaccagacgg tgaactctg ggttctct caagccacc actgcctcc
 agagccccat ctctgaggc tccggggcct tggcttca gaggagctga ttgtggagt
 gcacacgtg tgtactgta attgactga caccagccc caggctccc actgcagtga
 tggccagga cacctacaat gtggtgatg cagctgtcc cctggccc taggtcggct
 ctgtgagtgc tctgtgag agctgtctc ccagacctg gaatcgggt gccgggctc
 caatggcaca gggccccgt gcagtggaaa ggtcactgt caatgggac gctcagctg
 cagtggacag agctctgggc atctgtcga gtgtgacgat gccagctgt agcgacatga
 gggcatctc tgcggaggct ttgtcgtc ccaatgtgga gtatgact gcatgcca
 ccgcacggg agagcatcg aatgcagtgg ggacatggac agtgcata gtcggaggg
 agggctctg agtgggcatg gacgtgcaa atgcaaccg tgcagtgct tggacggcta
 ctatggtct ctatcgacc aatgccagg ctgcaagaca ccatgagga gacaccggga
 ctgtcagag tggggccct tcaaggactgg cccactggcc accaactgca gtacagctg
 tggccatacc aatgtgacc tggcctggc cctatctg gatgatggt ggtgcaaga
 gggaccctg gacaaccagc tgttctct ctgtgtggag gatgacgcca gaggcaggt
 cgtgctcaga gtgagcccc aagaaaagg agcagaccac acgcaggcca ttgtctggg
 ctgctgagg ggcactgtg cagtggggt ggggctgtc ctggctacc gctctcgt
 ggaaatctat gaccgccgg aatacagtc ctftgagaag gagcagcaac aactcaactg
 gaagcaggac agtaatctc tctacaaaag tgcateacg accacatca atctcgtt

Фиг. 36А

tcaagaggca gacagtcca ctctgaag gagggaggga cacttacca aggtctct
 ccttgaggga cagtgggaac tggagggtga gaggaagggt ggtctgta gacttgta
 ggggactaat tcactggcga ggtcggcca ccacctact tcaattcag agtgacacc
 aagagggtg ctcccatgc ctgcaactt gcatcatct gggctaccc acccaagtat
 acaataaagt ctacctcag aaaaaaaaa aaaaaaa

Фиг. 36А (продолжение)

MVALPMVLVLLLVL SRGESELD AKIPSTGDATEWRNPHLSMLGSCQPAPSCQKCILSHP
SCAWCKQLNFTASGEAEARRCARREELLARGCPLEEELEPRGQQEVLQDQPLSQGARG
EGATQLAPQVRVTLRPGEPQQLQVRFLRAEGYPVDLYYLMDSL SYSMKDDL ERVRQL
GHALLVRLQEVTHSVRIGFGSFVDKTVLPFVSTVPSKLRHPCPTRLERCQSPFSFHHVLSL
TGDAQAFEREVGRQSVSGNLDSPGGFDAILQAALCQEQIGWRNVSRLLVFTSDDTFHT
AGDGKLG GIFMPSDGHCHLDSNGLYSRSTEFDYPVSGQVAQALSAANIQPIFAV TSAAL
PVYQELSKLIPKSAVGELSEDSSNVVQLIMDAYNSLSSTVTLEHSSLPPGVHISYESQCEG
PEKREGKAEDRGQCNHVRINQTVTFWVSLQATHCLPEPHLLRLRALGFSEELIVELHTLC
DCNCSDTQPQAPHCS DGQGHLCGVCSCAPGRLGRLCECSVAELSSPDLESGCRAPNGT
GPLCSGKGHCQCGRCSGQSSGHLCECDDASCERHEGILCGGFGRQCQGVCHCHANR
TGRACECSGDM DSCISPEGGLCSGHGRCKCNRCQCLDGYYGALCDQCPGCKTPCERHR
DCAECGAFRTGPLATNCSTACAHTNVTLALAPILDDGWCKERTLDNQLFFFLVEDDAR
GTVVLRVRPQEKGADHTQAIVLGCVGGIVAVGLGLVLAYRLSVEIYDRREYSRFEKEQQ
QLNWKQDSNPLYKSAITTTINPRFQEADSPTL

Фиг. 36В