

[19]中华人民共和国国家知识产权局

[51]Int. Cl⁷

C12N 15/12

[12] 发明专利申请公开说明书

C07K 14/705 C07K 16/28

A61K 38/17 G01N 33/50

[21] 申请号 00810289.9

[43]公开日 2002年10月2日

[11]公开号 CN 1372594A

[22]申请日 2000.5.11 [21]申请号 00810289.9

[30]优先权

[32]1999.5.13 [33]GB [31]9911123.9

[32]1999.11.3 [33]GB [31]9925989.7

[86]国际申请 PCT/US00/12998 2000.5.11

[87]国际公布 WO00/70045 英 2000.11.23

[85]进入国家阶段日期 2002.1.14

[71]申请人 医疗研究局

地址 英国伦敦

共同申请人 先灵公司

[72]发明人 A·N·巴克莱 M·H·布朗

D·M·戈尔曼 L·L·拉尼尔

G·J·赖特 H·切尔温斯基

J·H·菲利普斯 R·M·赫克

J·D·塞德维克

[74]专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司

代理人 罗宏 姜建成

权利要求书4页 说明书112页 附图页数0页

[54]发明名称 OX2受体的同系物

[57]摘要

编码哺乳动物,例如灵长类动物OX2的受体的核酸,纯化蛋白及其片段。还提供多克隆和单克隆抗体。描述了使用组合物用于诊断和治疗用途的方法。

I S S N 1 0 0 8 - 4 2 7 4

权 利 要 求 书

1. 一种组合物，其物质选自：

a1) 一种基本纯的或重组的多肽，包含与 SEQ ID NO:2 区段相同的至少四个氨基酸的至少三个分离的非重叠区段；

5 a2) 一种基本纯的或重组的多肽，包含与 SEQ ID NO:2 区段相同的至少五个氨基酸的至少两个分离的非重叠区段；

a3) 一种天然序列的啮齿类动物 OX2RH1 多肽，包含成熟的 SEQ ID NO:2；

a4) 一种包含大鼠 OX2RH1 序列的融合多肽；

10 b1) 一种基本纯的或重组的多肽，包含与 SEQ ID NO:4 区段相同的至少四个氨基酸的至少三个分离的非重叠区段；

b2) 一种基本纯的或重组的多肽，包含与 SEQ ID NO:4 区段相同的至少五个氨基酸的至少两个分离的非重叠区段；

15 b3) 一种天然序列的啮齿类动物 OX2RH1 多肽，包含成熟的 SEQ ID NO:4；

b4) 一种包含人 OX2RH1 序列的融合多肽；

c1) 一种基本纯的或重组的多肽，包含与 SEQ ID NO:6 区段相同的至少四个氨基酸的至少三个分离的非重叠区段；

20 c2) 一种基本纯的或重组的多肽，包含与 SEQ ID NO:6 区段相同的至少五个氨基酸的至少两个分离的非重叠区段；

c3) 一种天然序列的啮齿类动物 OX2RH1 多肽，包含成熟的 SEQ ID NO:6；

c4) 一种包含小鼠 OX2RH1 序列的融合多肽；

25 d1) 一种基本纯的或重组的多肽，包含与 SEQ ID NO:8 区段相同的至少四个氨基酸的至少三个分离的非重叠区段；

d2) 一种基本纯的或重组的多肽，包含与 SEQ ID NO:8 区段相同的至少五个氨基酸的至少两个分离的非重叠区段；

d3) 一种天然序列的啮齿类动物 OX2RH1 多肽，包含成熟的 SEQ ID NO:8；

30 d4) 一种包含人 OX2RH2 序列的融合多肽；

e1) 一种基本纯的或重组的多肽，包含与 SEQ ID NO:10 区段相同的至少四个氨基酸的至少三个分离的非重叠区段；

e2) 一种基本纯的或重组的多肽, 包含与 SEQ ID NO:10 区段相同的至少五个氨基酸的至少两个分离的非重叠区段;

e3) 一种天然序列的啮齿类动物 OX2RH2 多肽, 包含成熟的 SEQ ID NO:10;

5 e4) 一种包含小鼠 OX2RH2 序列的融合多肽;

f1) 一种基本纯的或重组的多肽, 包含与 SEQ ID NO:12 区段相同的至少四个氨基酸的至少三个分离的非重叠区段;

f2) 一种基本纯的或重组的多肽, 包含与 SEQ ID NO:12 区段相同的至少五个氨基酸的至少两个分离的非重叠区段;

10 f3) 一种天然序列的啮齿类动物 OX2RH3 多肽, 包含成熟的 SEQ ID NO:12;

f4) 一种包含小鼠 OX2RH3 序列的融合多肽;

g1) 一种基本纯的或重组的多肽, 包含与 SEQ ID NO:20 区段相同的至少四个氨基酸的至少三个分离的非重叠区段;

15 g2) 一种基本纯的或重组的多肽, 包含与 SEQ ID NO:20 区段相同的至少五个氨基酸的至少两个分离的非重叠区段;

g3) 一种天然序列的灵长类动物 OX2RH1.2 多肽, 包含成熟的 SEQ ID NO:20;

g4) 一种包含灵长类动物 OX2RH1.2 序列的融合多肽;

20 h1) 一种基本纯的或重组的多肽, 包含与 SEQ ID NO:23 区段相同的至少四个氨基酸的至少三个分离的非重叠区段;

h2) 一种基本纯的或重组的多肽, 包含与 SEQ ID NO:23 区段相同的至少五个氨基酸的至少两个分离的非重叠区段;

25 h3) 一种天然序列的啮齿类动物 OX2RH4 多肽, 包含成熟的 SEQ ID NO:23;

h4) 一种包含小鼠 OX2RH4 序列的融合多肽。

2. 一种结合化合物, 包含来源于抗体的抗原结合位点, 其特异性地结合权利要求 1 的天然 OX2RH 多肽, 其中:

a) 所述结合化合物位于容器中;

30 b) 所述 OX2RH 多肽来源于啮齿类动物或灵长类动物;

c) 所述结合化合物是 Fv, Fab, 或 Fab2 片段;

d) 所述结合化合物被接合到其它的化学部分上; 或

e) 所述抗体:

i) 是相对于表 1-3 成熟多肽的肽序列培养的;

ii) 相对于成熟的 OX2RH 培养的;

iii) 被培养成纯化的哺乳动物 OX2RH;

5 iv) 是免疫选择的;

v) 是多克隆抗体;

vi) 结合变性的 OX2RH;

vii) 对抗原显示至少 30 μ M 的 Kd;

viii) 附着在固体基质上, 包括颗粒或塑料膜;

10 ix) 存在于无菌的组合中; 或

x) 是可检测标记的, 包括荧光标记物。

3. 一种分离的或重组的核酸, 其编码权利要求 1 所述的 OX2RH 多肽, 其中所述:

a) OX2RH 来源于哺乳动物; 或

15 b) 所述核酸:

i) 编码表 1-3 的抗原肽序列;

ii) 编码表 1-3 的大多数抗原肽序列;

iii) 显示与编码所述区段的天然 cDNA 有至少十三个核苷酸

20 iv) 是一种表达载体;

v) 进一步包含复制起点;

vi) 来源于天然的源;

vii) 包含可检测的标记物;

viii) 包含合成的核苷酸序列;

25 ix) 少于 6kb, 优选少于 3kb;

x) 来源于灵长类动物或啮齿类动物;

xi) 包含天然的全长编码序列;

xii) 是一种用于编码所述 OX2RH 的基因的杂交探针;

xiii) 进一步编码 DAP12 或 DAP10; 或

30 xiv) 是 PCR 引物, PCR 产物, 或诱变引物。

4. 一种核酸, 其中:

a) 在 40 $^{\circ}$ C 30 分钟, 小于 2M 盐的洗涤条件下, 与 SEQ ID NO:1,

3, 5, 7, 9, 11, 19, 或 22 的编码部分杂交; 或

b) 在至少约 30 个核苷酸的一段序列的水平上显示与灵长类动物或啮齿类动物的 OX2RH cDNA 的同一性。

5 5. 一种调节细胞或组织培养物细胞生理学或发育的方法, 包含使所述细胞与哺乳动物 OX2RH 的激动剂或拮抗剂相接触。

6. 权利要求 5 的方法, 其中所述:

a) 调节生理学是:

i) 提高 meloid 功能; 或

ii) 提高免疫性;

10 b) 激动剂或拮抗剂减弱 OX2 介导的信号产生至所述细胞, 或

c) 所述拮抗剂是:

i) 所述 OX2RH 的抗体;

ii) 一种可溶性的 OX2RH 结构;

iii) 一种可溶性的 OX2RH-Ig 融合体; 或

15 iv) 一种 OX2R 反义核酸。

7. 权利要求 6 的方法, 其中:

a) 所述生理学的调节是体外 meloid 细胞功能的提高, 且所述拮抗剂是 OX2 突变蛋白; 或

20 b) 所述生理学的调节是用所述拮抗剂系统治疗的动物的免疫性提高。

8. 一种鉴定 OX2R 的非-OX2 配位体的方法, 所述方法包含自 OX2 剔除小鼠筛选基因文库, 用于结合 OX2R-Ig 融合蛋白, 并鉴定结合所述融合蛋白的基因。

说明书

OX2 受体的同系物

发明领域

5 本发明涉及影响哺乳动物生理学，包括免疫系统功能的组合物和方法。特别是，它提供可以调节发育和/或免疫系统的试剂或方法。还描述了这些材料的诊断和治疗用途。

发明背景

OX2 抗原 (OX2) 是一种在各种细胞，包括胸腺细胞，B 淋巴细胞，
10 活化的 T 淋巴细胞，神经元，内皮细胞，和滤泡树突细胞上鉴定的细胞表面蛋白。Barclay (1981) Immunology 44:727-736。序列分析表明，它是一种包含两种胞外免疫球蛋白-样 (Ig-样) 区和短胞质区的跨膜蛋白。Clark 等，(1985) EMBO J. 4:113-118。此区的构成较普通且可以在多种不同的白细胞表面蛋白中找到。Barclay 等，
15 (1997) Leucocyte Antigens Factsbook (2d. ed.) Academic Press, 伦敦。这些类型的蛋白常常与其它也具有 Ig-样区的细胞表面上的其它蛋白相互作用。

OX2 抗原的分布与一种假说相一致，即 OX2 通过结合配偶体，例如 OX2 受体 (OX2R)，交换信号至白细胞谱系内的细胞内，其中该白
20 细胞谱系包括巨嗜细胞，其表达受体 (Preston 等，(1997) Eur. J. Immunol. 27:1911-1918)，和单核细胞-巨嗜细胞谱系的其它细胞。且，OX2 还可能参与在巨嗜细胞各种功能的调节。在此情况中，例如，OX2 在神经元上的表达可以建立了一种可以表达 OX2R 的，被称作小胶质细胞的脑停留巨嗜细胞的直接通讯方法，因为它们来源
25 于单核细胞-巨嗜细胞谱系。Perry 和 Gordon (1988) Trends Neurosci. 11:273-277。

通常，巨嗜细胞的缺损或过度活化造成免疫疾病和其它疾病的广
范围发病。见，例如，McGee 等，(eds. 1992) Oxford Textbook of Pathology Oxford University Press, Oxford; Lewis 和
30 McGee (eds. 1992) The Macrophage IRL Press, Oxford; 和 Bock 和 Goode (eds. 1997) The Molecular Basis of Cellular Defence Mechanisms Wiley & Sons。

且, OX2 的相互作用蛋白, 例如, OX2 抗原的 OX2R 的鉴定较困难, 这是因为相互作用的亲和力通常非常低。这意味着细胞表面蛋白的重组形式, 例如, OX2, 与其结合配偶体, 相互作用的蛋白, 例如, OX2R 的结合不够稳定, 以致不能用普通方法检测。因而, CD48 和 CD2 间的相互作用, 它们的配偶体在其胞外区均含两个 Ig-样区, 具有第二部分的半衰期。见, Van der Merwe 等, (1993) Biochem. Soc. Trans. 21:340S; 和 Van der Merwe 和 Barclay (1994) Trends Biochem. Sci. 19:354-358.

细胞表面蛋白, 如 OX2 的重组形式可以通过很多方法制成多价体, 并用于检测新的蛋白。已经用基因工程方法改造了 OX2, 以包括来源于 CD4 的两个 Ig-样区的标记物。重组可溶性蛋白是通过常规表达方法在真核细胞中表达的。在早期的研究中, 相互作用是在荧光颗粒和小鼠巨嗜细胞上的多价重组 OX2 蛋白间观察的。Preston 等, (1997) Eur. J. Immunol. 27:1911-1918.

尽管如此, 通过阻断抗体 OX89, 在小鼠巨嗜细胞上鉴定 OX2R 还未成功。Preston 等, (1997) Eur. J. Immunol. 27:1911-1918.

如前所述, 新的 OX2-样分子受体的发现, 鉴定, 和理解是非常有利的。本发明提供 OX2 配位体新的受体同系物, 和相关的化合物, 及它们的使用方法。

20 发明概述

本发明涉及被称作 OX2 的配位体的新受体同系物, 例如, 啮齿类动物和灵长类动物的实施方案。这些通常被称作 OX2 的受体同系物 (OX2RH), 有来源于各种啮齿类动物和灵长类动物物种的实施方案。已经建立了两种确实结合各物种 OX2 的受体同系物。特别是, 提供被称作 OX2RH1, OX2RH2, OX2RH3, 和 OX2RH4 的同系物的描述。它包括编码多肽自身的核酸, 和它们的生产和使用方法。本发明核酸的特征部分在于, 它与本发明所包括的克隆互补 DNA (cDNA) 序列的同源性。

本发明人已经生产出了一种新的, 大鼠巨嗜细胞上 OX2R 的单克隆抗体 (mAb), 称作 OX102, 其阻断 OX2 和 OX2R 之间的相互作用。它们已经被分离并表征大鼠 OX2R 的基因和多肽。其中提供大鼠 OX2R 的核酸分子和多肽 (预测的氨基酸序列) 的序列。从相似蛋白类推, 本发明人教导人类 OX2R 的核苷酸和氨基酸序列与相应大鼠的 OX2R 序

列至少 50%同源。大鼠 OX2R cDNA 和预测的 OX2R 多肽序列的有效性能够鉴定等价的人类 OX2R 序列，或者通过筛选已知的人类序列，或通过细胞杂交或 PCR 技术分离人类的核酸。

5 大的胞质序列在 OX2R 多肽中的存在表明 OX2R 在巨嗜细胞功能中具有某些作用，信号产生或与胞质成分相互作用。因而，本发明提供基于 OX2R 的试剂，其模拟或识别 OX2R 的多肽或核酸序列，例如被设计与 OX2R 结合位点反应的分子实体，相对于 OX2R 或反义序列培养的 mAbs，该试剂构成治疗上有效的化合物，用于修饰携带 OX2 和/或 OX2R 细胞表面蛋白的细胞（例如，巨嗜细胞，活化的淋巴细胞，神经元，
10 内皮细胞，树突细胞，胸腺细胞，和 B 淋巴细胞）的功能，提高或抑制细胞的活性。因而，基于 OX2R 的试剂，其模拟或者识别 OX2R 的多肽或核酸序列，具有潜在的，控制巨嗜细胞较宽范围的功能，包括对细菌感染，自身免疫疾病等应答的作用。

因为 OX2R 的胞外区与 OX2 相互作用，因而本发明人提供一种筛选影响（积极地或消极地）OX2 和 OX2R 间结合的候选化合物的方法。
15 因此，本发明提供的 OX2R 可用于检测抑制 OX2 和 OX2R 间相互作用的化合物，并因此可能影响巨嗜细胞和免疫系统其它细胞，如淋巴细胞或滤泡树突细胞间的相互作用。

大鼠 OX2R 的核酸和氨基酸序列在表 1 中列出。下面陈述本发明的各个方面。根据详细的描述，其它方面是很清楚的。
20

因此，在第一方面中，本发明提供一种含多肽的物质，该多肽具有表 1 中列出的氨基酸序列。

在另一方面中，本发明提供一种含多肽的物质，该多肽至少 50% 的氨基酸序列与表 1 中列出的氨基酸序列相同。

25 在另一方面中，本发明提供一种多肽，其是上述多肽的突变体，变体，衍生物或等位基因，且其具有全长 OX2R 的特性，例如，与 OX2 或全长 OX2R 抗体的结合能力。

在另一方面中，本发明提供一种物质，其是上述多肽的片段（例如，具有表 1 中列出的氨基酸序列的多肽片段），该片段显示全长 OX2R 蛋白的特性。例如，该片段可以与 OX2 蛋白或全长 OX2R 蛋白的抗体结合。在其中一个实施方案中，该片段包括部分或全部的 OX2R 胞质区或该区的活性部分。在另一个实施方案中，该片段包括部分或全部
30

的 OX2R 胞外区或该区的活性部分。因为胞外区被认为决定与 OX2 相互作用，本发明包括部分或全部胞外区的这种片段可用于筛选干预 OX2 和 OX2R 间结合的候选化合物。

因此，本发明提供筛选候选化合物的材料和方法，该候选化合物可能具有干预巨嗜细胞和其它细胞，包括胸腺细胞，B 淋巴细胞，活化的 T 淋巴细胞，神经元，内皮细胞和滤泡树突细胞间 OX2/OX2R 相互作用的能力。

上述多肽和片段可以是重组的和/或分离的多肽。

在另一方面中，本发明提供一种物质，该物质包含具有表 1 核苷酸序列的核酸。本发明还提供一种物质，其包含编码上述多肽或片段的核酸分子。因而，表 1 列出编码 OX2R 多肽的示例性核酸分子的 cDNA 序列。该核酸分子至少 50% 的序列与表 1 核酸序列同源。

本发明还提供一种含核酸分子的物质，该核酸分子具有部分表 1 的编码核苷酸序列。该物质包含部分表 1 的编码核苷酸序列，它是 OX2R 基因特征的一部分。因而，该部分可以编码上述多肽片段，其与 OX2 或全长 OX2R 的抗体结合。选择性地，该部分可以包含至少 4-7 个表 1 核苷酸序列的连续密码子，常常是至少 7-9 个连续密码子，典型地至少 9-13 个连续密码子，最优选地，至少 20-30 个连续密码子。选择性地，该部分可以编码至少 4-7 个表 1 核苷酸序列的连续氨基酸，常常是至少 7-9 个连续氨基酸，典型地至少约 9-13 个连续氨基酸，最优选地，至少约 20-30 个连续氨基酸。

上述核酸分子可以是重组的和/或分离的。

在另一方面中，本发明提供含此处提供的 OX2R 核酸的载体，例如，表达载体，其中 OX2R 核酸序列是可操作连接到控制序列上的，以指导其表达。还提供用这种载体转化的宿主细胞。本发明还提供一种生产 OX2R 多肽的方法，包括培养这种宿主细胞并分离所生产的 OX2R 多肽。

在另一方面中，本发明提供一种表达宿主细胞中 OX2R 的方法，该方法包括将上述核酸分子插入宿主细胞的步骤，并提供所述核酸分子在宿主细胞中表达的条件。该方法可以使用表达载体。

在另一方面中，本发明提供一种组合物，其包含上述 OX2R 多肽或片段的可溶性形式，该组合物还可以任选地包括辅剂，药物载体，

或赋形剂。该组合物可用于，例如，生产应答 OX2R 多肽的抗体。

在另一方面中，本发明提供上述 OX2R 多肽和核酸分子，以用于筛选候选化合物，该候选化合物有可能被用作治疗剂。本发明提供上述 OX2R 多肽或片段在筛选物质中的用途，该物质对于治疗细菌感染，自身免疫疾病等的治疗可能是有效的。

本发明还提供 OX2R 多肽，多肽片段，和核酸鉴定 OX2R 而非 OX2 配位体的用途。本发明还提供 OX2R 多肽，多肽片段，和核酸用于设计 OX2 模拟 (mimics) 的用途。

在另一方面中，本发明提供能够特异性结合上述 OX2R 多肽，多肽片段，和核酸的抗体，和包含这种抗体的组合物。这些抗体可用于检测和量化 OX2R 存在的测定方法中，和纯化 OX2R 的方法中。该抗体可以是多克隆的。优选地，该抗体是 IgG 抗体，更优选单克隆 IgG 抗体。

在另一方面中，本发明提供此处提供的 OX2R 多肽，多肽片段，和核酸分子生产结合分子的用途，如具有一个或多个抗体区的物质，其可阻断 OX2 和 OX2R 间的相互作用。这些分子可被包括在一种组合物中，该组合物在制备治疗细菌感染，自身免疫疾病等的药物中可能是有用的。结合分子是抗体，它们可以是 IgG 抗体，优选单克隆 IgG 抗体。

在另一方面中，本发明提供上述 OX2R 核酸在设计反义寡核苷酸中的用途，以限制 OX2R 在巨嗜细胞中的表达，例如硫代磷酸寡核苷酸或胆固醇-连接的寡核苷酸，其可以促进寡核苷酸的内在化和稳定化。

在另一方面中，本发明提供一种扩增核酸试验样品的方法，其包含用自此处提供的序列信息所得到的引物寡核苷酸引发核酸聚合酶反应。该核酸试验样品可以是人的，以便使用这种方法扩增编码人 OX2R 的核酸。

在另一方面中，本发明提供一种从除大鼠外的物种的 OX2R，例如，人 OX2R 得到编码部分或全部 OX2R 的核酸分子的方法，其包含用一种核酸探针探测感兴趣的物种的核酸试验样品，该核酸探针是从此处提供的序列信息得到的。

在另一方面中，本发明提供一种从除大鼠外的物种得到 OX2R 多

肽序列的方法，例如人 OX2R，其包含检索数据库，寻找与此处（表 1）提供的 OX2R 氨基酸序列至少 50%同源的多肽序列而获得。同样地，来源于除大鼠外的物种，例如，人 OX2R 的 OX2R 核酸序列可以通过检索数据库寻找与此处提供的 OX2R 核苷酸序列至少 50%同源的核苷酸序列而得到。

5 本发明还提供此处提供的核酸序列信息在搜索 OX2R 基因中的突变的用途，例如，使用单链构象多态性（SSCP）技术。

10 本发明提供一种组合物，其中的物质选自：一种基本上纯的或重组的多肽，该多肽包含至少具有四个与 SEQ ID NO:2 区段相同的氨基酸的至少三个分离的非重叠区段；一种基本上纯的或重组的多肽，该多肽包含至少具有五个与 SEQ ID NO:2 区段相同的氨基酸的至少两个分离的非重叠区段；一种天然序列的啮齿类动物多肽，包含成熟的 SEQ ID NO:2；一种包含大鼠 OX2RH1 序列的融合多肽；一种基本上纯的或重组的多肽，该多肽包含至少具有四个与 SEQ ID NO:4 区段相同的氨基酸的至少三个分离的非重叠区段；一种基本上纯的或重组的多肽，该多肽包含至少具有五个与 SEQ ID NO:4 区段相同的氨基酸的至少两个分离的非重叠区段；一种天然序列的啮齿类动物 OX2RH1 多肽，包含成熟的 SEQ ID NO:4；一种包含人 OX2RH1 序列的融合多肽；一种基本上纯的或重组的多肽，该多肽包含至少具有四个与 SEQ ID NO:6 区段相同的氨基酸的至少三个分离的非重叠区段；一种基本上纯的或重组的多肽，该多肽包含至少具有五个与 SEQ ID NO:6 区段相同的氨基酸的至少两个分离的非重叠区段；一种天然序列的啮齿类动物 OX2RH1 多肽，包含成熟的 SEQ ID NO:6；一种包含小鼠 OX2RH1 序列的融合多肽；一种基本上纯的或重组的多肽，该多肽包含至少具有四个与 SEQ ID NO:8 区段相同的氨基酸的至少 3 个分离的非重叠区段；一种基本上纯的或重组的多肽，该多肽包含至少具有五个与 SEQ ID NO:8 区段相同的氨基酸的至少两个分离的非重叠区段；一种天然序列啮齿类动物 OX2RH1 多肽，该多肽包含成熟的 SEQ ID NO:8；一种包含人 OX2RH2 序列的融合多肽；一种基本上纯的或重组的多肽，该多肽包含至少具有四个与 SEQ ID NO:10 区段相同的氨基酸的至少三个分离的非重叠区段；一种基本上纯的或重组的多肽，该多肽包含至少具有五个与 SEQ ID NO:10 区段相同的氨基酸的至少两个分离的非重

叠区段；一种天然序列的啮齿类动物 OX2RH2 多肽，该多肽包含成熟的 SEQ ID NO:10；一种包含小鼠 OX2RH2 序列的融合多肽；一种基本上纯的或重组的多肽，该多肽包含至少具有四个与 SEQ ID NO:12 区段相同的氨基酸的至少三个分离的非重叠区段；一种基本上纯的或重组的多肽，该多肽包含至少具有五个与 SEQ ID NO:12 区段相同的氨基酸的至少两个分离的非重叠区段；一种天然序列啮齿类动物 OX2RH3 多肽，该多肽包含成熟的 SEQ ID NO:12；一种包含小鼠 OX2RH3 序列的融合多肽；一种基本上纯的或重组的多肽，该多肽包含至少具有四个与 SEQ ID NO:20 区段相同的氨基酸的至少三个分离的非重叠区段；
10 一种基本上纯的或重组的多肽，该多肽包含至少具有五个与 SEQ ID NO:20 区段相同的氨基酸的至少两个分离的非重叠区段；一种天然序列灵长类动物 OX2RH1.2 多肽，该多肽包含成熟的 SEQ ID NO:20；一种包含灵长类动物 OX2RH1.2 序列的融合多肽；一种基本上纯的或重组的多肽，该多肽包含至少具有四个与 SEQ ID NO:23 区段相同的氨基酸的至少三个分离的非重叠区段；一种基本上纯的或重组的多肽，
15 该多肽包含至少具有五个与 SEQ ID NO:23 区段相同的氨基酸的至少两个分离的非重叠区段；一种天然序列啮齿类动物 OX2RH4 多肽，该多肽包含成熟的 SEQ ID NO:23；一种包含小鼠 OX2RH4 序列的融合多肽。某些优选的实施方案包括，其中分离的非重叠区段的同一性：包括至少八个氨基酸中的一个；包括至少四个氨基酸中的一个和至少五个氨基酸中的第二个，包括四，五，和六个氨基酸中的至少三个区段，或包括至少十二个氨基酸中的一个。其它优选的实施方案包括那些其中：
20 a) OX2RH1 多肽：包含表 1 或 2 的成熟序列；一种 OX2RH 多肽的非糖基化形式；来源于灵长类动物，如人；来源于啮齿类动物，如大鼠或小鼠；包含 SEQ ID NO:2, 4, 6, 或 20 的至少十七个氨基酸；显示 SEQ ID NO:2, 4, 6, 或 20 的至少七个氨基酸的至少四个非重叠区段；OX2RH1 的天然等位变体；具有至少约 30 个氨基酸的长度；显示至少两个非重叠的抗原决定部位，其对于灵长类动物或啮齿类动物的 OX2RH1 是特异性的；糖基化的；具有至少 30kD 的分子量且天然糖基化；
25 一种合成的多肽；附着在固体基质上；接合到其它化学部分上；是自天然序列 5-折或更少的置换；或是来源于天然序列的缺失或插入变体；
30 b) OX2RH2 多肽：包括表 2 的成熟序列；是 OX2RH2 多肽的一种

非糖基化形式；来源于灵长类动物，如人；来源于啮齿类动物，如小鼠；包含至少十七个 SEQ ID NO:8 或 10 的氨基酸；显示 SEQ ID NO:8 或 10 的至少七个氨基酸的至少四个非重叠区段；是 OX2RH2 的天然等位变体；具有至少大约 30 个氨基酸的长度；显示至少两个非重叠的抗原决定部位，其对于灵长类动物或啮齿类动物的 OX2RH2 是特异性的；是糖基化的；具有至少 30kD 的分子量且天然糖基化；是一种合成的多肽；附着在固体基质上；接合到其它化学部分上；是自天然序列的 5-折或更少的置换；或是来源于天然序列的缺失或插入变体；

5 c) OX2RH3 多肽：包含表 3 的成熟序列；是 OX2RH3 的非糖基化形式；来源于啮齿类动物，如小鼠；包含至少十七个 SEQ ID NO:12 的氨基酸；显示 SEQ ID NO:12 的至少七个氨基酸的至少四个非重叠区段；是 OX2RH3 的天然等位变体；具有至少约 30 个氨基酸的长度；显示至少两个非重叠的抗原决定部位，其对于啮齿类动物的 OX2RH3 是特异性的；是糖基化的；具有至少 30kD 的分子量且天然糖基化；是一种合成的多肽；附着在固体基质上；接合到其它的化学部分上；是一种自天然序列的 5-折或更少的置换；或是来源于天然序列的缺失或插入变体；

10 或 d) OX2RH4 多肽：包含表 2 的成熟序列；是 OX2RH4 的非糖基化形式；来源于啮齿类动物，如小鼠；包含至少十七个 SEQ ID NO:23 的氨基酸；显示 SEQ ID NO:23 的至少七个氨基酸的至少四个非重叠区段；是 OX2RH4 的天然等位变体；具有至少约 30 个氨基酸的长度；显示至少两个非重叠的抗原决定部位，其对于啮齿类动物的 OX2RH4 是特异性的；是糖基化的；具有至少 30kD 的分子量且天然糖基化；是一种合成的多肽；附着在固体基质上；接合到其它的化学部分上；是一种自天然序列的 5-折或更少的置换；或是来源于天然序列的缺失或插入变体。

15 在其它的实施方案中，本发明提供一种组合物，其包含：a1)基本上纯的 OX2RH1 和它的 Ig 超家族成员；a2)一种基本上纯的 OX2RH2 和：其它的 Ig 超家族成员，DAP12, 或 DAP10；a3)一种基本上纯的 OX2RH3 和：其它的 Ig 超家族成员，DAP12, 或 DAP10；a4)一种基本上纯的 OX2RH4 和：其它的 Ig 超家族成员，DAP12, 或 DAP10；或

20 一种无菌的 OX2RH1 多肽；一种无菌的 OX2RH2 多肽；一种无菌的 OX2RH3 多肽；一种无菌的 OX2RH4 多肽；OX2RH1, OX2RH2, OX2RH3, 或 OX2RH4 多肽和载体，其中的载体是含水的混合物，包括水，盐水，和/或缓

25

30

冲液；和/或为口服，直肠，鼻，局部，或非肠道给药而配制的制剂。

还提供融合多肽，例如，包含：表 1-3 的成熟蛋白序列；一种检测或纯化标记物，包括 FLAG, His6, 或 Ig 序列；或其它 Ig 超家族蛋白的序列。还提供试剂盒，例如，包含 OX2RH 多肽和：包含蛋白或多肽的区室；或使用或处理试剂盒中试剂的说明书。

本发明还包含各种抗体样试剂，包括来源于不同物种的抗体。它提供，例如，包含来源于抗体的抗原结合位点的结合化合物，其特异性地结合天然 OX2RH 多肽，例如，OX2RH1, OX2RH2, OX2RH3, 和/或 OX2RH4, 其中：该结合化合物位于容器中；OX2RH 多肽来源于啮齿类动物或灵长类动物；该结合化合物是 Fv, Fab, 或 Fab2 片段；该结合化合物接合到其它的化学部分上；或抗体：是抗表 1-3 中成熟多肽的肽序列的；是抗成熟的 OX2RH 的；被抗纯的哺乳动物 OX2RH；是免疫选择的；是多克隆抗体；结合变性的 OX2RH；显示至少 30 μ M 对抗原的 Kd；附着在固体培养基上，包括颗粒或塑料膜，是无菌组合物的形式；或是可检测地标记的，包括放射性或荧光标记物。由此提供试剂盒，例如，包含这种结合化合物和：含结合化合物的隔室 (compartment)；或使用或处理试剂盒中试剂的说明书。还提供方法，例如，生产抗原：结合化合物或抗原：抗体复合物，包含在适宜的条件下，使哺乳动物 OX2RH 多肽与抗体接触，由此使复合物形成。

20 优选地，在此方法中：该复合物是自其它细胞因子或 Ig 超家族受体纯化的；该复合物是自其它的抗体纯化的；是与含哺乳动物 OX2 的样品接触；该接触可以定量检测抗原；是与包含抗体的样品接触；或该接触可以定量检测抗体。可有效地生产相关组合物，例如，包含：无菌的结合化合物，或结合化合物与载体，其中载体是：含水混合物，包括水，盐水，和/或缓冲液；和/或用于口服，直肠，鼻，局部，或非肠道给药而配制的制剂。

本发明还提供核酸，例如，编码 OX2RH 多肽的分离或重组核酸，其中：OX2RH 来源于哺乳动物；或该核酸：编码表 1-3 的抗原性肽序列；编码表 1-3 的多个抗原性肽序列；显示与编码区段的天然 cDNA 相同的至少十三个核苷酸；是一种表达载体；进一步包含复制起点；来源于天然源；包含可检测的标记物；包含合成的核苷酸序列；小于 6kb，优选小于 3 kb；来源于灵长类动物或啮齿类动物；包含天然的

全长编码序列；是编码 OX2RH 的基因的杂交探针；进一步编码 DAP12 或 DAP10；或是 PCR 引物，PCR 产物或诱变引物。还提供含重组核酸的细胞，例如，其中的细胞是：原核细胞；真核细胞；细菌细胞；酵母细胞；昆虫细胞；哺乳动物细胞；小鼠细胞；灵长类动物细胞；或人细胞。还提供含核酸的试剂盒，例如，具有含核酸的区室；具有进一步含哺乳动物 OX2RH 多肽的区室；或具有使用或处理试剂盒中试剂的说明书。

选择性地，本发明提供一种核酸，其中：在 40℃ 30 分钟，和小于 2M 盐的洗涤条件下，能与 SEQ ID NO:1, 3, 5, 7, 9, 11, 19 或 22 的编码部分杂交；或显示与灵长类动物或啮齿类动物的 OX2RH cDNA 相同的至少约 30 个核苷酸的一段序列。优选地，该洗涤条件是：50℃ 和/或 500mM 的盐；或 60℃ 和/或 150mM 的盐；该一段序列是至少 55 个核苷酸或 75 个核苷酸；或该核酸进一步编码 DAP12 或 DAP10 肽。

还包括其它的方法，例如，调节生理学或细胞或组织培养物细胞发育的方法，包含使该细胞与哺乳动物 OX2RH 的激动剂或拮抗剂相接触。通常，该细胞是用编码 OX2RH 的核酸转化的。

优选实施方案的详述

概述

I. 总则

20 II. 活性

III. 核酸

A. 编码片段，序列，探针

B. 突变，嵌合体，融合

C. 生产核酸

25 D. 载体，细胞包含

IV. 蛋白，肽

A. 片段，序列，免疫原，抗原

B. 突变蛋白

C. 激动剂/拮抗剂，功能等价体

30 D. 生产蛋白

V. 生产核酸，蛋白

A. 合成的

B. 重组的

C. 天然源

VI. 抗体

A. 多克隆

5 B. 单克隆

C. 片段; Kd

D. 抗-独特型抗体

E. 杂交瘤细胞系

VII. 量化 OX2RH 的试剂盒和方法

10 A. ELISA

B. 测定 mRNA 编码

C. 定性/定量

D. 试剂盒

VIII. 治疗组合物, 方法

15 A. 结合组合物

B. 单位剂量

C. 给药

IX. 筛选

X. 配位体

20

I. 总则

本发明提供哺乳动物的氨基酸序列和 DNA 序列, 在这里指灵长类动物和啮齿类动物, 受体-样亚单位分子, 这些被称作 OX2 受体同系物 (OX2RH)。这些基因具有特别限定的特性, 或者或全部是结构性的和生物学的。各种编码这些分子的 cDNA 是从哺乳动物, 例如, 人和啮齿类动物的 cDNA 序列文库获得的。其它的哺乳动物, 例如, 灵长类动物, 啮齿类动物, 或其它, 对应物也是想要的。

OX2 抗原首先是在大鼠中鉴定的, 使用单克隆抗体 (mAb) MRC OX2。见, 例如, McMaster 和 Williams(1979)Eur. J. Immunol. 9:426-433; Barclay(1981)Immunology 44:727-736; Barclay(1981)Immunology 42:593-600; Bukovsky 等, (1984)Immunology 52:631-640; 和 Webb 和 Barclay(1984)J. Neurochem. 43:1061-1067。在用于流式细胞计

的细胞悬浮液或组织切片的免疫组织化学 (IHC) 染色中使用这种抗体, 显示了 OX2 抗原是通过大范围的细胞, 例如神经元, 血管内皮细胞, B 细胞, 活化的 T 细胞, 滤泡树突细胞, 平滑肌细胞和滋养母细胞表达的。此外, 已知人 OX2 在正常的脑中是通过 B 细胞表达的。

- 5 McCaughan 等, (1987) Immunogenetics 25:329-335. 通过 MRC OX2 识别的大鼠蛋白的特性记述 (Clark 等, (1985) EMBO J. 4:113-118) 显示由大约 248 个含两个胞外免疫球蛋白 (Ig) 区, 一个跨膜结构域和短的 C-端胞质尾区的氨基酸组成。该分子是通过 6N-连接的糖基化位点糖基化的, 其中的三个位于 N-端 V-样的 Ig 区, 其它的位于膜近
- 10 端的 C2-样 Ig 区。其将 OX2 放置在 Ig 超家族 (IgSF) 中, 形成具有象 CD2, CD48, CD58, CD80, CD86, CD90 和 CD147 分子的小 IgSF 分子的亚-基, 其被结构性地表征, 例如, 通过免疫球蛋白样区的存在, 该免疫球蛋白样区与 Ig 可变区和不变区, 跨膜区段, 胞内区, 和特性半胱氨酸和色氨酸残基的间隔相对应。见, 例如, Campbell 等, (1979)
- 15 Nature 282:341-342. 令人感兴趣的是, CD90 也是由神经元高度表达的。Williams 等, (1997) Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol. 41Pt 1:51-61. 此外, 还显示 OX2 是 CD80 和 CD86 的结构同系物 (Borriello 等, (1997) J. Immunol. 158:4548-4554), 且 OX2 基因紧密连接到小鼠染色体 16 上编码 CD80 和 CD86 的基因上。
- 20 Borriello 等, (1998) Mamm. Genome 9:114-118. CD80 和 CD86 均在被称为共同刺激的过程中起配位体的作用, 因此, 可能 OX2 也可以起配位体的作用。以后称 OX2 抗原为 OX2 蛋白或配位体 OX2。结合配偶体可被称作 OX2 受体。

25 为了鉴定 OX2 的受体 (OX2R), 使用与荧光颗粒结合的大鼠 OX2-大鼠 CD4 融合蛋白制备多价试剂。此试剂结合小鼠和大鼠的腹膜巨嗜细胞, 且此结合可被 mAb MRC OX88 阻断。Preston 等, (1997) Eur. J. Immunol. 27:1911-1918. 此 mAb 结合自腹膜和脾脏分离的巨嗜细胞, 且在脾脏切片上的 IHC 染色中, 发现其位于含高比例巨嗜细胞的区域中。

30 由 Barclay 组培养的, 称作 OX102 的第二单克隆抗体结合大鼠物种的巨嗜细胞, 且特异性地防止 OX2 分子与大鼠腹膜巨嗜细胞的结合。与 OX102 分子相结合的材料分离和 N-端测序表明, 推定的 OX2

受体 (OX2R) 是一种新的分子。其如所述方法克隆的。由 OX102 抗体识别的蛋白确实是受体, 这是通过相对于 OX2 分子自身 (配位体), 此分子较长的胞质尾部的论证来支持的。Clark 等, (1985) EMBO J. 4:113-118。OX2R 的初步分析未能揭示与已知信号分子一致的明显基序, 虽然其不排除此分子在介导 OX2-传递的信号中的潜在作用。

然后, 鉴定小鼠同系物, 称为 OX2RH1。因为应保留术语 OX2R 用于那些已经被证实确实结合 OX2 的蛋白, 所用的原始名称是组 1 的受体同系物。此分子的核苷酸序列和氨基酸序列在此处描述。

有效序列数据库的进一步分析揭示了 OX2RH 其它独特形式的存在, 即一种分子, 其在推定的胞外 Ig-区结构中, 显示了与 OX2RH1, 而不是不同的跨膜和胞质序列的显著同源性。这些形式在此处被称为 OX2RH2, 且已经鉴定了人和小鼠的实施方案。特别注意的是 224 位 (人) 和 170 位 (小鼠) 上赖氨酸的存在, 其位于分子的跨膜部分之内。这种残基间接表明, 此分子与分子配偶体, 如 DAP12 有关, 已知其表达能够为细胞活化信号产生的基序。见, 例如, Lanier 等, (1998) Nature 391:703-707; Colonna (1998) Nature 391: 642-3; Campbell 等, (1999) Int. J. Biochem. Cell. Biol. 31:631-636; 和 Lopez-Botet 等, (1999) Curr. Opin. Immunol. 11:301-307。此外, 其间接表明了各种信号产生途径和相关的生物化学。见, 例如, Lanier 等, (1998) Immunity 8:693-701; Smith 等, (1998) J. Immunol. 161:7-10; Gosselin 等, (1999) J. Leukoc. Biol. 66:165-171; Tomasello 等, (1998) J. Biol. Chem. 273:34115-34119; 和 McVicar 等, (1998) J. Biol. Chem. 273:32934-32942。但是, 仍然有待于分离全长的小鼠或人 OX2RH2 形式。

在小鼠和大鼠 OX2RH1 分子的胞外区之间有很高的同源性, 其已经被证实结合它们各自物种的 OX2。因而, 大鼠和小鼠 OX2RH1 的实施方案在功能上被适当地称为 OX2R。均包含特有的胞外, 跨膜, 和胞内区结构。人们已经发现了人 OX2RH1 的实施方案。附带地, 大鼠和小鼠 OX2RH1 的可溶性形式也可以存在。

相关的同系物, 称为 OX2RH2 和 OX2RH4, 已经被描述, 各种起源于小鼠和人的实施方案。OX2RH2, H3 和 H4 的实施方案在跨膜区段中显示了带电荷的赖氨酸残基。人 OX2RH2 的实施方案缺少信号序列,

且显示某些基因组的序列标记，间接表明天然的人 OX2RH2 的功能形式应是紧密相关的，但与所提供的序列稍不同。小鼠和人的同系物 2 和 4 的功能关系有待证实。

还在小鼠中发现了另外的 OX2R 同系物。虽然它的同源性是更加趋异的，但是它显示了某些序列相似性。特别是，它在跨膜区中具有赖氨酸残基。因而，像显示此特征的其它 OX2RH2, H3, 和 H4 分子，期望它经由相关的分子，如 DAP12 信号产生。称作 OX2RH3 的实施方案来源于啮齿类动物，例如，小鼠。

正在进行的 OX2RH1 表达模式的分析表明，在大鼠，小鼠，和人的白细胞中，OX2RH1 (是通过用 OX102 抗体的流式细胞染色和/或用 PCR 技术分析 mRNA 表达来确定的) 是由单核细胞，粒细胞，和肥大细胞最强烈表达的，由 B 细胞勉强表达的，由 T 细胞弱表达的。这与早期研究中，配位体 OX2 与巨嗜细胞的优先结合相一致。在正常大鼠的中枢神经系统中，一部分停留巨嗜细胞 (或小胶质细胞) 也表达 OX2R，但水平较低。

描述并参考一些可用的标准方法，例如，Maniatis 等，(1982) Molecular Cloning, A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor Press; Sambrook 等，(1989) Molecular Cloning: A Laboratory Manual, (2d ed.), vols. 1-3, CSH Press, NY; Ausubel 等，Biology, Greene Publishing Associates, Brooklyn, NY; 或 Ausubel 等(1987 和定期增刊) Current Protocols in Molecular Biology, Greene/Wiley, New York; 每篇文献均引入此处作为参考。

啮齿类动物，例如，大鼠的核苷酸 (SEQ ID NO:1) 和相应的氨基酸序列 (SEQ ID NO:2)，编码区段的 OX2 受体同系物 1 在表 1 中列出。同样地，还描述了进一步的实施方案，灵长类动物，例如，人，和啮齿类动物，例如，小鼠，称作 OX2RH1, 1.2, 2 和 4。核酸序列是 SEQ ID NO:3, 19, 5, 7, 9, 和 22; 相应的氨基酸序列是 SEQ ID NO:4, 20, 6, 8, 10 和 23, 其在表 2 中列出。表 3 提供其它啮齿类动物，例如，小鼠的序列，OX2RH3 (SEQ ID NO:11 和 12)。

在表 4 中提供反向翻译的核酸序列 (SEQ ID NO:13-14, 21, 15-17, 24, 和 18)。表 5 提供多肽序列的数字对比和序列对比。

	tgc cac tgg gag cag agc cac gtg tct gtc gtg ttc tgt gtt gtc tct	738
	Cys His Trp Glu Gln Ser His Val Ser Val Val Phe Cys Val Val Ser	
	180 185 190	
5	cac ttg aca act ggt aac cag tct ctg tct ata gaa ctg ggt aga ggg	786
	His Leu Thr Thr Gly Asn Gln Ser Leu Ser Ile Glu Leu Gly Arg Gly	
	195 200 205	
10	ggt gac caa tta tta gga tca tac att caa tac atc atc cca tct att	834
	Gly Asp Gln Leu Leu Gly Ser Tyr Ile Gln Tyr Ile Ile Pro Ser Ile	
	210 215 220	
15	att att ttg atc atc ata gga tgc att tgt ctt ttg aaa atc agt ggc	882
	Ile Ile Leu Ile Ile Ile Gly Cys Ile Cys Leu Leu Lys Ile Ser Gly	
	225 230 235 240	
20	tgc aga aaa tgt aaa ttg cca aaa tcg gga gct act cca gat att gag	930
	Cys Arg Lys Cys Lys Leu Pro Lys Ser Gly Ala Thr Pro Asp Ile Glu	
	245 250 255	
25	gag gat gaa atg cag ccg tat gct agc tac aca gag aag agc aat cca	978
	Glu Asp Glu Met Gln Pro Tyr Ala Ser Tyr Thr Glu Lys Ser Asn Pro	
	260 265 270	
30	ctc tat gat act gtg acc acg acg gag gca cac cca gcg tca caa ggc	1026
	Leu Tyr Asp Thr Val Thr Thr Thr Glu Ala His Pro Ala Ser Gln Gly	
	275 280 285	
35	aaa gtc aat ggc aca gac tgt ctt act ttg tca gcc atg gga atc	1071
	Lys Val Asn Gly Thr Asp Cys Leu Thr Leu Ser Ala Met Gly Ile	
	290 295 300	
40	tagaaccaag gaaaagaagt caagagacat cataattact gcttttcttt ctttaaactt	1131
45	ctccaatgga gggaaattag ctcttctgaa gttcttagaa agcacaaatg ttctaattgga	1191
	tttgecttta agttotttcta tcattggaag tttggaatct ttgctgctac ctgттаатtc	1251
50	taggaagaac tgatttaatt attacaaaga aagcacattg ttatggtaaa atatcaaatt	1311
	gtgcaataca atgatgaaaa ctgagtttcc tcaagaaata actgcagaag gaacaatcat	1371
	tactaaagca tttcatgtga gttcttccaa aaaagaaaat ccctgtgtat acgacatgat	1431
55	tatggatgt gtgtgccttt atatgtttgt ttacaaatgt gtatatatgc acacatctga	1491
	ttatcaagac atctctgtca aaaactcact ggcgttccag atttatgaaa gctaataaag	1551
	tgagtattgg agatgttttt ata	1574
60	MLCFWRTSHVAVLLIWGVFAAESSCPDKNQTMQNNSSMTTEVNTTVFVQMGKKALLCCPSISLTKVILITWTITLR	
	GQPSCIIISYKADTRETHERSNCSDRSITWASTPDLAPDLQISAVALQHEGRYSCDIAVPDGNFQNIYDLQVLVPEV	
	THFFGENRTAVCEAIAGKPAAQISWTPDGDVAKNESHNGTIVTVRSTCHWEQSHVSVVFCVVSHLTGNQSLSIE	
	LGRGGDQLLGSYIQYIIPSIILIIIGICILLKISGCRKCKLPKSGATPDIEEDEMOPYASYTEKSNPLYDTVTTT	
	EAHPASQGVNGTDCLTLSAMGI	

表2: 附加的OX2R同系物的核苷酸和多肽序列

灵长类动物, 例如, 人, OX2RH1 (SEQ ID NO: 3 和 4):

5	cagagaaaag cttctgttcg tccaagttac taaccaggct aaaccacata gacgtgaagg	60
	aaggggctag aaggaaggga gtgccccact gttgatgggg taagaggatc ctgtactgag	120
10	aagttgacca gagaggtct caccatgccc acagttcctt ctgtaccagt gtggaggaaa	180
	agtactgagt gaagggcaga aaaagagaaa acagaa atg ctc tgc cct tgg aga	234
	Met Leu Cys Pro Trp Arg	
	-25	
15	act gct aac cta ggg cta ctg ttg att ttg act atc ttc tta gtg gcc	282
	Thr Ala Asn Leu Gly Leu Leu Leu Ile Leu Thr Ile Phe Leu Val Ala	
	-20 -15 -10 -5	
20	gaa gcg gag ggt gct gct caa cca aac aac tca tta atg ctg caa act	330
	Glu Ala Glu Gly Ala Ala Gln Pro Asn Asn Ser Leu Met Leu Gln Thr	
	-1 1 5 10	
25	agc aag gag aat cat gct tta gct tca agc agt tta tgt atg gat gaa	378
	Ser Lys Glu Asn His Ala Leu Ala Ser Ser Ser Leu Cys Met Asp Glu	
	15 20 25	
30	aaa cag att aca cag aac tac tcg aaa gta ctc gca gaa gtt aac act	426
	Lys Gln Ile Thr Gln Asn Tyr Ser Lys Val Leu Ala Glu Val Asn Thr	
	30 35 40	
35	tca tgg cct gta aag atg gct aca aat gct gtg ctt tgt tgc cct cct	474
	Ser Trp Pro Val Lys Met Ala Thr Asn Ala Val Leu Cys Cys Pro Pro	
	45 50 55 60	
40	atc gca tta aga aat ttg atc ata ata aca tgg gaa ata atc ctg aga	522
	Ile Ala Leu Arg Asn Leu Ile Ile Ile Thr Trp Glu Ile Ile Leu Arg	
	65 70 75	
45	ggc cag cct tcc tgc aca aaa gcc tac aag aaa gaa aca aat gag acc	570
	Gly Gln Pro Ser Cys Thr Lys Ala Tyr Lys Lys Glu Thr Asn Glu Thr	
	80 85 90	
50	aag gaa acc aac tgt act gat gag aga ata acc tgg gtc tcc aga cct	618
	Lys Glu Thr Asn Cys Thr Asp Glu Arg Ile Thr Trp Val Ser Arg Pro	
	95 100 105	
55	gat cag aat tcg gac ctt cag att cgt acc gtg gcc atc act cat gac	666
	Asp Gln Asn Ser Asp Leu Gln Ile Arg Thr Val Ala Ile Thr His Asp	
	110 115 120	
60	ggg tat tac aga tgc ata atg gta aca cct gat ggg aat ttc cat cgt	714
	Gly Tyr Tyr Arg Cys Ile Met Val Thr Pro Asp Gly Asn Phe His Arg	
	125 130 135 140	
65	gga tat cac ctc caa gtg tta gtt aca cct gaa gtg acc ctg ttt caa	762
	Gly Tyr His Leu Gln Val Leu Val Thr Pro Glu Val Thr Leu Phe Gln	
	145 150 155	

	aac agg aat aga act gca gta tgc aag gca gtt gca ggg aag cca gct	810
	Asn Arg Asn Arg Thr Ala Val Cys Lys Ala Val Ala Gly Lys Pro Ala	
	160 165 170	
5	gcg cat atc tcc tgg atc cca gag ggc gat tgt gcc act aag caa gaa	858
	Ala His Ile Ser Trp Ile Pro Glu Gly Asp Cys Ala Thr Lys Gln Glu	
	175 180 185	
10	tac tgg agc aat ggc aca gtg act gtt aag agt aca tgc cac tgg gag	906
	Tyr Trp Ser Asn Gly Thr Val Thr Val Lys Ser Thr Cys His Trp Glu	
	190 195 200	
15	gtc cac aat gtg tct acc gtg acc tgc cac gtc tcc cat ttg act ggc	954
	Val His Asn Val Ser Thr Val Thr Cys His Val Ser His Leu Thr Gly	
	205 210 215 220	
20	aac aag agt ctg tac ata gag cta ctt cct gtt cca ggt gcc aaa aaa	1002
	Asn Lys Ser Leu Tyr Ile Glu Leu Leu Pro Val Pro Gly Ala Lys Lys	
	225 230 235	
25	atc agc aaa att ata tat tcc ata tat cat cct tac tat tat tta	1050
	Ile Ser Lys Ile Ile Tyr Ser Ile Tyr His Pro Tyr Tyr Tyr Tyr Leu	
	240 245 250	
30	gac cat cgt ggg att cat ttg gtt gtt gaa agt caa tgg ctg cag aaa	1098
	Asp His Arg Gly Ile His Leu Val Val Glu Ser Gln Trp Leu Gln Lys	
	255 260 265	
35	ata taaattgaat aaaacagaat ctactccagt tgttgaggag gatgaaatgc	1151
	Ile	
40	agccctatgc cagctacaca gagaagaaca atcctctcta tgatactaca aacaaggtga	1211
45	aggcatctga ggcattacaa agtgaagttg acacagacct ccatacttta taagttgttg	1271
50	gactctagta ccaagaaaca acaacaaacg agatacatta taattactgt ctgattttct	1331
	tacagttcta gaatgaagac ttatattgaa attaggtttt ccaaggttct tagaagacat	1391
	tttaatggat tctcattcat acccttgtat aattggaatt tttgattctt agctgctacc	1451
	agctagttct ctgaagaact gatgttatta caaagaaaat acatgcccac gaccaaata	1511
	tcaaattgtg caggacagta aataatgaaa accaaatttc ctcaagaaat aactgaagaa	1571
	ggagcaagtg tgaacagttt cttgtgtatc ctt	1604
50	MLCPWRTANLGLLLILTIFLVAEAEAGAAQPNNSLMLQTSKENHALASSSLCMDEKQITQNYSKVLAEVNTSWPVKM	
	ATNAVLCCPPIALRNLIITWEIILRGQPSCTKAYRKETNETKETNCTDERITWVSRPDQNSDLQIRTVAI THDGY	
	YRCIMVTPDGNFHRGYHLQVLVTPEVTLFQNRNRRTAVCKAVAGKPAAHISWIPEGDCATKQEYWSNGT VTVKSTCH	
	WEVHNVSTVTVCHVSHLTGNKSLYIELLPVPGAKKISKIISYIYHPYYYYLDHRGIHLVVESQWLQKI	

灵长类动物, 例如, 人, OX2RH1.2 (SEQ ID NO: 19 和 20):

```

5   atg ctc tgc cct tgg aga act gct aac cta ggg cta ctg ttg att ttg   48
    Met Leu Cys Pro Trp Arg Thr Ala Asn Leu Gly Leu Leu Leu Ile Leu
      -25                    -20                    -15

10  act atc ttc tta gtg gcc gaa gcg gag ggt gct gct caa cca aac aac   96
    Thr Ile Phe Leu Val Ala Glu Ala Glu Gly Ala Ala Gln Pro Asn Asn
      -10                    -5                    -1    1                    5

15  tca tta atg ctg caa act agc aag gag aat cat gct tta gct tca agc   144
    Ser Leu Met Leu Gln Thr Ser Lys Glu Asn His Ala Leu Ala Ser Ser
              10                    15                    20

20  agt tta tgt atg gat gaa aaa cag att aca cag aac tac tcg aaa gta   192
    Ser Leu Cys Met Asp Glu Lys Gln Ile Thr Gln Asn Tyr Ser Lys Val
              25                    30                    35

25  ctc gca gaa gtt aac act tca tgg cct gta aag atg gct aca aat gct   240
    Leu Ala Glu Val Asn Thr Ser Trp Pro Val Lys Met Ala Thr Asn Ala
              40                    45                    50

30  gtg ctt tgt tgc cct cct atc gca tta aga aat ttg atc ata ata aca   288
    Val Leu Cys Cys Pro Pro Ile Ala Leu Arg Asn Leu Ile Ile Ile Thr
      55                    60                    65                    70

35  tgg gaa ata atc ctg aga ggc cag cct tcc tgc aca aaa gcc tac agg   336
    Trp Glu Ile Ile Leu Arg Gly Gln Pro Ser Cys Thr Lys Ala Tyr Arg
              75                    80                    85

40  aaa gaa aca aat gag acc aag gaa acc aac tgt act gat gag aga ata   384
    Lys Glu Thr Asn Glu Thr Lys Glu Thr Asn Cys Thr Asp Glu Arg Ile
              90                    95                    100

45  acc tgg gtc tcc aga cct gat cag aat tcg gac ctt cag att cgt cca   432
    Thr Trp Val Ser Arg Pro Asp Gln Asn Ser Asp Leu Gln Ile Arg Pro
              105                    110                    115

50  gtg gcc atc act cat gac ggg tat tac aga tgc ata atg gta aca cct   480
    Val Ala Ile Thr His Asp Gly Tyr Tyr Arg Cys Ile Met Val Thr Pro
              120                    125                    130

55  gat ggg aat ttc cat cgt gga tat cac ctc caa gtg tta gtt aca cct   528
    Asp Gly Asn Phe His Arg Gly Tyr His Leu Gln Val Leu Val Thr Pro
      135                    140                    145                    150

60  gaa gtg acc ctg ttt caa aac agg aat aga act gca gta tgc aag gca   576
    Glu Val Thr Leu Phe Gln Asn Arg Asn Arg Thr Ala Val Cys Lys Ala
              155                    160                    165

65  gtt gca ggg aag cca gct gcg cag atc tcc tgg atc cca gag ggc gat   624
    Val Ala Gly Lys Pro Ala Ala Gln Ile Ser Trp Ile Pro Glu Gly Asp
              170                    175                    180

70  tgt gcc act aag caa gaa tac tgg agc aat ggc aca gtg act gtt aag   672
    Cys Ala Thr Lys Gln Glu Tyr Trp Ser Asn Gly Thr Val Thr Val Lys
              185                    190                    195

```

	agc aca tgc cac tgg gag gtc cac aat gtg tct acc gtg acc tgc cac	720
	Ser Thr Cys His Trp Glu Val His Asn Val Ser Thr Val Thr Cys His	
	200 205 210	
5	gtc tcc cat ttg act ggc aac aag agt ctg tac ata gag cta ctt cct	768
	Val Ser His Leu Thr Gly Asn Lys Ser Leu Tyr Ile Glu Leu Leu Pro	
	215 220 225 230	
10	ggt cca ggt gcc aaa aaa tca gca aaa tta tat att cca tat atc atc	816
	Val Pro Gly Ala Lys Lys Ser Ala Lys Leu Tyr Ile Pro Tyr Ile Ile	
	235 240 245	
15	ctt act att att att ttg acc atc gtg gga ttc att tgg ttg ttg aaa	864
	Leu Thr Ile Ile Ile Leu Thr Ile Val Gly Phe Ile Trp Leu Leu Lys	
	250 255 260	
20	gtc aat ggc tgc aga aaa tat aaa ttg aat aaa aca gaa tct act cca	912
	Val Asn Gly Cys Arg Lys Tyr Lys Leu Asn Lys Thr Glu Ser Thr Pro	
	265 270 275	
25	ggt gtt gag gag gat gaa atg cag ccc tat gcc agc tac aca gag aag	960
	Val Val Glu Glu Asp Glu Met Gln Pro Tyr Ala Ser Tyr Thr Glu Lys	
	280 285 290	
30	aac aat cct ctc tat gat act aca aac aag gtg aag gca tct cag gca	1008
	Asn Asn Pro Leu Tyr Asp Thr Thr Asn Lys Val Lys Ala Ser Gln Ala	
	295 300 305 310	
35	tta caa agt gaa gtt gac aca gac ctc cat act tta taa	1047
	Leu Gln Ser Glu Val Asp Thr Asp Leu His Thr Leu	
	315 320	

MLCPWRTANLGLLLILTI FLVAEAEAGAAQPNNLSMLQTSKENHALASSSLCMDEKQITQNYSKVLAENVTSWPVKM
 35 ATNAVLCCPPIALRNLI IITWEIILRGQPSCTKAYRKETNETKTNCTDERITWVSRPDQNSDLQIRPVAITHDGY
 YRCIMVTPDGNFHRGYHLQVLVTPVTLFQNRNRTAVCKAVAGKPAAQISWIPEGDCATKQEYWSNGTFTVKSTCH
 WEVHNVSTVTCHVSHLTGNKSLYIELLPVPGAKSAKLYIPYIILTI IILTIVGFIWLLKVNGCRKYKLNKTESTP
 VVEEDEMOPYASYTEKNNPLYDTTNKVKASQALQSEVDTLHTLZ

啮齿类动物, 例如, 小鼠, OX2RH1 (SEQ ID NO: 5 和 6):

```

5   aaaaccgaa atg ttt tgc ttt tgg aga act tct gcc cta gca gtg ctc tta 51
    Met Phe Cys Phe Trp Arg Thr Ser Ala Leu Ala Val Leu Leu
    1           5           10

10  ata tgg ggg gtc ttt gtg gct ggg tca agt tgt act gat aag aat caa 99
    Ile Trp Gly Val Phe Val Ala Gly Ser Ser Cys Thr Asp Lys Asn Gln
    15           20           25           30

15  aca aca cag aac aac agt tca tct cct ctg aca caa gtg aac act aca 147
    Thr Thr Gln Asn Asn Ser Ser Ser Pro Leu Thr Gln Val Asn Thr Thr
    35           40           45

15  gtg tct gta cag ata ggt aca aag gct ctg ctc tgc tgc ttt tct att 195
    Val Ser Val Gln Ile Gly Thr Lys Ala Leu Leu Cys Cys Phe Ser Ile
    50           55           60

20  cca ctg aca aaa gca gta tta atc aca tgg ata ata aag ctc aga ggc 243
    Pro Leu Thr Lys Ala Val Leu Ile Thr Trp Ile Ile Lys Leu Arg Gly
    65           70           75

25  ctg cca tcc tgc aca ata gca tac aaa gta gat aca aag acc aat gaa 291
    Leu Pro Ser Cys Thr Ile Ala Tyr Lys Val Asp Thr Lys Thr Asn Glu
    80           85           90

30  acc agc tgc ttg ggc agg aac atc acc tgg gcc tcc aca cct gac cac 339
    Thr Ser Cys Leu Gly Arg Asn Ile Thr Trp Ala Ser Thr Pro Asp His
    95           100          105          110

30  agt cct gaa ctt cag atc agt gca gtg acc ctc cag cat gag ggg act 387
    Ser Pro Glu Leu Gln Ile Ser Ala Val Thr Leu Gln His Glu Gly Thr
    115          120          125

35  tac aca tgt gag aca gta aca cct gaa ggg aat ttt gaa aaa aac tat 435
    Tyr Thr Cys Glu Thr Val Thr Pro Glu Gly Asn Phe Glu Lys Asn Tyr
    130          135          140

40  gac ctc caa gtg ctg gtg ccc cct gaa gta acc tac ttt cca gag aaa 483
    Asp Leu Gln Val Leu Val Pro Pro Glu Val Thr Tyr Phe Pro Glu Lys
    145          150          155

45  aac aga tct gca gtc tgt gag gca atg gca ggc aag cct gct gca cag 531
    Asn Arg Ser Ala Val Cys Glu Ala Met Ala Gly Lys Pro Ala Ala Gln
    160          165          170

50  atc tct tgg tct cca gat ggg gac tgt gtc act acg agt gaa tca cac 579
    Ile Ser Trp Ser Pro Asp Gly Asp Cys Val Thr Thr Ser Glu Ser His
    175          180          185          190

50  agc aat ggc act gtg act gtc agg agc aca tgc cac tgg gag cag aac 627
    Ser Asn Gly Thr Val Thr Val Arg Ser Thr Cys His Trp Glu Gln Asn
    195          200          205

55  aat gtg tct gat gtg tcc tgc att gtc tot cat ttg act ggt aac caa 675
    Asn Val Ser Asp Val Ser Cys Ile Val Ser His Leu Thr Gly Asn Gln
    210          215          220

```

tct ctg tcc ata gaa ctg agt aga ggt ggt aac caa tca tta cga cca 723
Ser Leu Ser Ile Glu Leu Ser Arg Gly Gly Asn Gln Ser Leu Arg Pro
225 230 235

5 tat att cca tac atc ata cca tca att atc att ttg atc atc ata gga 771
Tyr Ile Pro Tyr Ile Ile Pro Ser Ile Ile Ile Leu Ile Ile Ile Gly
240 245 250

10 tgc att tgt ctt ttg aaa atc agt ggc ttc aga aaa tgc aaa ttg cca 819
Cys Ile Cys Leu Leu Lys Ile Ser Gly Phe Arg Lys Cys Lys Leu Pro
255 260 265 270

15 aaa tta gaa gct act tca gct att gag gag gat gaa atg cag cct tat 867
Lys Leu Glu Ala Thr Ser Ala Ile Glu Glu Asp Glu Met Gln Pro Tyr
275 280 285

20 gct agc tat aca gag aag agc aat cca ctc tat gat act gtg act aag 915
Ala Ser Tyr Thr Glu Lys Ser Asn Pro Leu Tyr Asp Thr Val Thr Lys
290 295 300

25 gtg gag gca ttt cca gta tca caa ggc gaa gtc aat ggc aca gac tgc 963
Val Glu Ala Phe Pro Val Ser Gln Gly Glu Val Asn Gly Thr Asp Cys
305 310 315

30 ctt act ttg tcg gcc att gga atc tagaaccaag aaaaaagaag tcaagagaca 1017
Leu Thr Leu Ser Ala Ile Gly Ile
320 325

35 tcataattac tgctttgctt tctttaaaat tcgacaatgg aaggactact tggaaattag 1077
ctcttccaaa gctattaaaa agcacaaatg ttctaataaa attgcattta aattctatca 1137
ttggaagttt ggaatctctg ctgctacctg ttaattttag gaagaactga ttaattatt 1197

40 acaagaagaag cacatggtta tgggtgaata tcaagttgtg caataaagta tgatgaaaac 1257
tgagtttctt caagaataa ctgcaggagg aacaatcctc actaaagaat ttcattgtgag 1317
ttcttataaaa aaaattccta tgtatacatg actatggtat gtgtgtccaa ttacatgttt 1377
atttacaat gtgtatatat gcacacattt gcttttcagg acatctcctt gtaaaaaaca 1437
cactggagtt ttggatttat aaaagcttat aaagtgagca ttggagatat ttt 1490

45 MFCFWRTSALAVLLIWGVEVAGSSCTDKNQTTQNNSSSPLTQVNTTVSVQIGTKALLCCFSIPLTKAVLITWI
RGLPSCTIAYKVDTKNETSCLGRNITWASTPDHSPQLISAVTLQHEGTYTCETVTPEGNFEKNYDLQVLPPEV
TYFPEKNRSVCEAMAGKPAAQISWSPDGDVTTSESHSNGTVTVRSTCHWEQNNVSDVSCIVSHLTGNQSL
SRGGNQSLRPYIPYIIPSIILIIIGCICLLKISGFRKCKLPKLEATSAIEEDEMOPYASYTEKSNPLYDTVTKVE
50 AFPVSQGEVNGTDCLTSLAIGI

灵长类动物, 例如, 人, OX2RH2 (SEQ ID NO: 7 和 8):

```

5   atg ggt gga aag cag atg aca cag aac tat tca aca att ttt gca gaa   48
    Met Gly Gly Lys Gln Met Thr Gln Asn Tyr Ser Thr Ile Phe Ala Glu
      1           5           10           15

10  ggt aac att tca cag cct gta ctg atg gat ata aat gct gtg ctt tgt   96
    Gly Asn Ile Ser Gln Pro Val Leu Met Asp Ile Asn Ala Val Leu Cys
          20           25           30

15  tgc cct cct att gca tta aga aat ttg atc ata ata aca tgg gaa ata   144
    Cys Pro Pro Ile Ala Leu Arg Asn Leu Ile Ile Ile Thr Trp Glu Ile
          35           40           45

20  atc ctg aga ggc cag cct tcc tgc aca aaa gcc tac aag aaa gaa aca   192
    Ile Leu Arg Gly Gln Pro Ser Cys Thr Lys Ala Tyr Lys Lys Glu Thr
          50           55           60

25  aat gag acc aag gaa acc aac tgt act gtt gag aga ata acc tgg gtc   240
    Asn Glu Thr Lys Glu Thr Asn Cys Thr Val Glu Arg Ile Thr Trp Val
          65           70           75           80

30  tct aga cct gat cag aat tcg gac ctt cag att cgt ccg gtg gac acc   288
    Ser Arg Pro Asp Gln Asn Ser Asp Leu Gln Ile Arg Pro Val Asp Thr
          85           90           95

35  act cat gac ggg tat tac aga ggc ata gtg gta aca cct gat ggg aat   336
    Thr His Asp Gly Tyr Tyr Arg Gly Ile Val Val Thr Pro Asp Gly Asn
          100          105          110

40  ttc cat cgt gga tat cac ctc caa gtg tta gtt aca ccc gaa gtg aac   384
    Phe His Arg Gly Tyr His Leu Gln Val Leu Val Thr Pro Glu Val Asn
          115          120          125

45  cta ttt caa agc agg aat ata act gca gta tgc aag gca gtt aca ggg   432
    Leu Phe Gln Ser Arg Asn Ile Thr Ala Val Cys Lys Ala Val Thr Gly
          130          135          140

50  aag cca gct gcc cag atc tcc tgg atc cca gag gga tct att ctt gcc   480
    Lys Pro Ala Ala Gln Ile Ser Trp Ile Pro Glu Gly Ser Ile Leu Ala
          145          150          155          160

55  act aag caa gaa tac tgg ggc aat ggc aca gtg acg gtt aag agt aca   528
    Thr Lys Gln Glu Tyr Trp Gly Asn Gly Thr Val Thr Val Lys Ser Thr
          165          170          175

60  tgc ccc tgg gag ggc cac aag tct act gtg acc tgc cat gtc tcc cat   576
    Cys Pro Trp Glu Gly His Lys Ser Thr Val Thr Cys His Val Ser His
          180          185          190

65  ttg act ggc aac aag agt ctg tcc gta aag ttg aat tca ggt ctc aga   624
    Leu Thr Gly Asn Lys Ser Leu Ser Val Lys Leu Asn Ser Gly Leu Arg
          195          200          205

70  acc tca gga tct cca gcg ttg tcc tta ctg atc att ctt tat gtg aaa   672
    Thr Ser Gly Ser Pro Ala Leu Ser Leu Leu Ile Ile Leu Tyr Val Lys
          210          215          220

```

```

ctc tct ctt ttt gtg gtc att ctg gtc acc aca gga ttt gtt ttc ttc 720
Leu Ser Leu Phe Val Val Ile Leu Val Thr Thr Gly Phe Val Phe Phe
225                230                235                240

5  cag agg ata aat cat gtc aga aaa gtt ctt taaagaagaa ggaagggctc 770
   Gln Arg Ile Asn His Val Arg Lys Val Leu
                   245                250

10 tcttttgctt ctctccttg tctctggact gcaacattgg tgagatgagt gatgggtccag 830
    cagtgaactt gggccatgga tgatgttaag gatagaagcc actcagtagg atagaagaaa 890
    agaaagatgg aagaaggatc ctgggcttga tgaccatgaa gtttccctat aaaccctcaa 950

15 ccacctattc attgacttct tttgtgttag agtgaataaa attttgttca tgccagtgtt 1010

MGGKQMTQNYSTIFAEGNISQPVLMDINAVLCCPPIALRNLIITWEIILRGQPSCTKAYKKETNETKETNCTVER
ITWVSRPDQNSDLQIRPVDTTHDGYIRGIVVTPDGNFHRGYHLQVLVTPENVLNFQSRNITAVCKAVTGKPAAQISW
IPEGSILATKQEYWGNGTIVTKSTCPWEGHKSTVTCHVSHLTGNKLSVKLNSGLRTSGSPALSLLIILYVKLSLF
20 VVILVTTGFVFFQRINHVRKVL

```

啮齿类动物，例如，小鼠， OX2RH2 (SEQ ID NO: 9 和 10):

```

25  aga ggc cag cct tcc tgc ata atg gcc tac aaa gta gaa aca aag gag 48
    Arg Gly Gln Pro Ser Cys Ile Met Ala Tyr Lys Val Glu Thr Lys Glu
        1                    5                10                15

30  acc aat gaa acc tgc ttg ggc agg aac atc acc tgg gcc tcc aca cct 96
    Thr Asn Glu Thr Cys Leu Gly Arg Asn Ile Thr Trp Ala Ser Thr Pro
                20                25                30

35  gac cac att cct gac ctt cag atc agt gcg gtg gcc ctc cag cat gag 144
    Asp His Ile Pro Asp Leu Gln Ile Ser Ala Val Ala Leu Gln His Glu
                35                40                45

40  ggg aat tac tta tgt gag ata aca aca cct gaa ggg aat ttc cat aaa 192
    Gly Asn Tyr Leu Cys Glu Ile Thr Thr Pro Glu Gly Asn Phe His Lys
        50                55                60

45  gtc tat gac ctc caa gtg ctg gtg ccc cct gaa gta acc tac ttt ctc 240
    Val Tyr Asp Leu Gln Val Leu Val Pro Pro Glu Val Thr Tyr Phe Leu
        65                70                75                80

50  ggg gaa aat aga act gca gtt tgt gag gca atg gca ggc aag cct gct 288
    Gly Glu Asn Arg Thr Ala Val Cys Glu Ala Met Ala Gly Lys Pro Ala
                85                90                95

55  gca cag atc tct tgg act cca gat ggg gac tgt gtc act aag agt gag 336
    Ala Gln Ile Ser Trp Thr Pro Asp Gly Asp Cys Val Thr Lys Ser Glu
                100                105                110

    tca cac agc aat ggc act gtg act gtc agg agc act tgc cac tgg gag 384
    Ser His Ser Asn Gly Thr Val Thr Val Arg Ser Thr Cys His Trp Glu
                115                120                125

    cag aac aat gtg tct gct gtg tcc tgc att gtc tct cat tcg act ggt 432
    Gln Asn Asn Val Ser Ala Val Ser Cys Ile Val Ser His Ser Thr Gly
                130                135                140

```

```

    aat cag tct ctg tcc ata gaa ctg agt aga ggt acc acc agc acc acc 480
    Asn Gln Ser Leu Ser Ile Glu Leu Ser Arg Gly Thr Thr Ser Thr Thr
    145                150                155                160
5   cct tcc ttg ctg acc att ctc tac gtg aaa atg gtc ctt ttg ggg att 528
    Pro Ser Leu Leu Thr Ile Leu Tyr Val Lys Met Val Leu Leu Gly Ile
                165                170                175
10  att ctt ctt aaa gtg gga ttt gct ttc ttc cag aag aga aat gtt acc 576
    Ile Leu Leu Lys Val Gly Phe Ala Phe Phe Gln Lys Arg Asn Val Thr
                180                185                190
15  aga aca tgaatatcca gatttctgga agctcattag tctgatgaca cataccagaa 632
    Arg Thr
20  aacagcattt gtaatcaact ttctcattgg aatccagctt accogtccct gctgtcttca 692
    tgtttgtag aactcacct ccaaattctt aactgagaag ggctcctgtc taaaggaaat 752
    atggggacaa attgtggagc atagaccaa agaaaggcca tccagagact gccccaccta 812
    aggacccatc ccatatacag acaccaaacc cagacactac tgaagatgct gcgaagcgtt 872
25  tgctgacagg agcctggtat agctgtctcc tgagaggctc agccagagcc tgacaaatac 932
    ataggtagat gcttgcagcc aacaactgga ctgagcaaaa aatctccatt ggaggagtta 992
    gagaaaggac tgaagagggt gaaagggtt gcagcccat aggaagaaca acaatatcaa 1052
30  ccaaccagat ctcccagagc tcccaggac taa 1085

    RGQPSCIMAYKVETKETNETCLGRNITWASTPDHIPDLQISAVALQHEGNYLCEITTPEGNFHKVYDLQVLVPEV
35  TYFLGENRTAVCEAMAGKPAAQISWTPDGDVCVKSEHSNGTVTVRSTCHWEQNNVSAVSCIVSHSTGNQSLSIEL
    SRGTTSTPSSLTILYVKMVLGIIILLKVGFAFFQKRNVRT

```

啮齿类动物, 例如, 小鼠, OX2RH4 (SEQ ID NO: 22 和 23):

```

40  atg cat gct ctg ggg agg att ccg act ttg act ttg ctg atc ttc atc 48
    Met His Ala Leu Gly Arg Ile Pro Thr Leu Thr Leu Leu Ile Phe Ile
    -25                -20                -15                -10
45  aat att ttt gtg tct ggg tca agt tgt act gat gag aat caa aca ata 96
    Asn Ile Phe Val Ser Gly Ser Ser Cys Thr Asp Glu Asn Gln Thr Ile
                -5                -1 1                5
50  cag aat gac agt tca tct tct ctg aca caa gtt aac act aca atg tct 144
    Gln Asn Asp Ser Ser Ser Ser Leu Thr Gln Val Asn Thr Thr Met Ser
                10                15                20
55  gta cag atg gat aaa aag gct ctg ctc tgc tgc ttt tct agt cca ctg 192
    Val Gln Met Asp Lys Lys Ala Leu Leu Cys Cys Phe Ser Ser Pro Leu
                25                30                35
    ata aat gca gta tta atc aca tgg ata ata aaa cac aga cac ctg cct 240
    Ile Asn Ala Val Leu Ile Thr Trp Ile Ile Lys His Arg His Leu Pro
    40                45                50                55

```

	tcc tgc aca ata gca tac aac cta gat aaa aag acc aat gaa acc agc	288
	Ser Cys Thr Ile Ala Tyr Asn Leu Asp Lys Lys Thr Asn Glu Thr Ser	
	60 65 70	
5	tgc ttg ggc agg aac atc acc tgg gcc tcc aca cct gac cac agt cct	336
	Cys Leu Gly Arg Asn Ile Thr Trp Ala Ser Thr Pro Asp His Ser Pro	
	75 80 85	
10	gaa ctt cag atc agt gca gtg gcc ctc cag cat gag ggg act tac aca	384
	Glu Leu Gln Ile Ser Ala Val Ala Leu Gln His Glu Gly Thr Tyr Thr	
	90 95 100	
15	tgt gag ata gta aca cct gaa ggg aat tta gaa aaa gtc tat gac ctc	432
	Cys Glu Ile Val Thr Pro Glu Gly Asn Leu Glu Lys Val Tyr Asp Leu	
	105 110 115	
20	caa gtg ctg gtg ccc cct gag gta acc tac ttt cca ggg aaa aac aga	480
	Gln Val Leu Val Pro Pro Glu Val Thr Tyr Phe Pro Gly Lys Asn Arg	
	120 125 130 135	
25	act gca gtc tgt gag gca atg gca ggc aag cct gct gca cag atc tct	528
	Thr Ala Val Cys Glu Ala Met Ala Gly Lys Pro Ala Ala Gln Ile Ser	
	140 145 150	
30	tgg act cca gat ggg gac tgt gtc act aag agt gag tca cac agc aat	576
	Trp Thr Pro Asp Gly Asp Cys Val Thr Lys Ser Glu Ser His Ser Asn	
	155 160 165	
35	ggc act gtg act gtc agg agc acg tgc cac tgg gag cag aac aat gtg	624
	Gly Thr Val Thr Val Arg Ser Thr Cys His Trp Glu Gln Asn Asn Val	
	170 175 180	
40	tct gtt gtg tcc tgc tta gtc tct cat tcc act ggt aat cag tct ctg	672
	Ser Val Val Ser Cys Leu Val Ser His Ser Thr Gly Asn Gln Ser Leu	
	185 190 195	
45	tcc ata gaa ctg agt caa ggt aca atg acc acc ccc cgt tcc ttg ctg	720
	Ser Ile Glu Leu Ser Gln Gly Thr Met Thr Thr Pro Arg Ser Leu Leu	
	200 205 210 215	
50	acc att ctc tat gtg aaa atg gcc ctt ttg gtg att att ctt ctt aac	768
	Thr Ile Leu Tyr Val Lys Met Ala Leu Leu Val Ile Ile Leu Leu Asn	
	220 225 230	
55	gta gga ttt gct ttc ttc cag aag aga aat ttt gcc aga aca tga	813
	Val Gly Phe Ala Phe Phe Gln Lys Arg Asn Phe Ala Arg Thr	
	235 240 245	
60	MHALGRIPTLTLIFINIFVSGSSCTDENQTIQNDSSSSLTQVNTTMSVQMDKKALLCCFSSPLINAVLIT	
	WIIKHRHLPSCTIAYNLDKKTNETSCLGRNITWASTPDHSPQLQISAVALQHEGTYTCEIVTPEGNLEKVV	
	DLQVLVPEVTFYFPGKVRTAVCEAMAGKPAAQISWTFDGDVTKSEHSNGTVTVRSTCHWEQNNVSVVSC	
	LVSHSTGNQSLSIELSQGTMTTPRSLLTILYVKMALLVIIILLNVGFAFFQKRNFA	

表3: 啮齿类动物, 例如, 小鼠, OX2RH3 (SEQ ID NO: 11 和 12):

	ggcacgagtt acgatttgtg cttaacctga ctccactcca g atg cat gct ttg ggg 56	
		Met His Ala Leu Gly
5		-25
	agg act ctg gct ttg atg tta ctc atc ttc atc act att ttg gtg cct 104	
	Arg Thr Leu Ala Leu Met Leu Leu Ile Phe Ile Thr Ile Leu Val Pro	
	-20	-15 -10 -5
10		
	gag tca agt tgt tca gtg aaa gga cgg gag gag atc cca ccg gat gat 152	
	Glu Ser Ser Cys Ser Val Lys Gly Arg Glu Glu Ile Pro Pro Asp Asp	
	-1 1	5 10
15		
	tca ttt cct ttt tca gat gat aat atc ttc cct gat gga gtg ggc gtc 200	
	Ser Phe Pro Phe Ser Asp Asp Asn Ile Phe Pro Asp Gly Val Gly Val	
	15	20 25
20		
	acc atg gag att gag att atc act cca gtg tct gta cag ata ggt atc 248	
	Thr Met Glu Ile Glu Ile Ile Thr Pro Val Ser Val Gln Ile Gly Ile	
	30	35 40
25		
	aag gct cag ctt ttc tgt cat cct agt cca tca aaa gaa gca aca ctt 296	
	Lys Ala Gln Leu Phe Cys His Pro Ser Pro Ser Lys Glu Ala Thr Leu	
	45	50 55 60
30		
	aga ata tgg gaa ata act ccc aga gac tgg cct tcc tgc aga cta ccc 344	
	Arg Ile Trp Glu Ile Thr Pro Arg Asp Trp Pro Ser Cys Arg Leu Pro	
	65	70 75
35		
	tac aga gca gag ttg cag cag atc agt aaa aaa atc tgt act gag aga 392	
	Tyr Arg Ala Glu Leu Gln Gln Ile Ser Lys Lys Ile Cys Thr Glu Arg	
	80	85 90
40		
	gga acc act agg gtc cct gca cat cac cag agt tct gac ctt ccc atc 440	
	Gly Thr Thr Arg Val Pro Ala His His Gln Ser Ser Asp Leu Pro Ile	
	95	100 105
45		
	aaa tca atg gcc ctc aag cat gat ggg cat tac tca tgt cgg ata gaa 488	
	Lys Ser Met Ala Leu Lys His Asp Gly His Tyr Ser Cys Arg Ile Glu	
	110	115 120
50		
	aca aca gat ggg att ttc caa gag aga cat agc atc caa gtg cca ggg 536	
	Thr Thr Asp Gly Ile Phe Gln Glu Arg His Ser Ile Gln Val Pro Gly	
	125	130 135 140
55		
	gaa aat aga act gta gtt tgt gag gca att gca agc aag cct gct atg 584	
	Glu Asn Arg Thr Val Val Cys Glu Ala Ile Ala Ser Lys Pro Ala Met	
	145	150 155
60		
	cag atc ttg tgg act cca gat gag gac tgt gtc act aag agt aaa tca 632	
	Gln Ile Leu Trp Thr Pro Asp Glu Asp Cys Val Thr Lys Ser Lys Ser	
	160	165 170
65		
	cac aat gac acc atg att gtc agg agc aag tgc cac agg gag aaa aac 680	
	His Asn Asp Thr Met Ile Val Arg Ser Lys Cys His Arg Glu Lys Asn	
	175	180 185

	aat ggc cac agt gtg ttc tgc ttt atc tcc cat ttg act gat aac tgg	728
	Asn Gly His Ser Val Phe Cys Phe Ile Ser His Leu Thr Asp Asn Trp	
	190 195 200	
5	att ctc tcc atg gaa cag aat cga ggt aca acc agc atc ctg cct tcc	776
	Ile Leu Ser Met Glu Gln Asn Arg Gly Thr Thr Ser Ile Leu Pro Ser	
	205 210 215 220	
10	ttg ctg agc att ctc tat gtg aaa ctg gct gta act gtt ctc atc gta	824
	Leu Leu Ser Ile Leu Tyr Val Lys Leu Ala Val Thr Val Leu Ile Val	
	225 230 235	
15	gga ttt gct ttt ttc cag aag aga aat tat ttc aga gtg cca gaa ggc	872
	Gly Phe Ala Phe Phe Gln Lys Arg Asn Tyr Phe Arg Val Pro Glu Gly	
	240 245 250	
	tcc tgaggagagt ggtctgtggt taagatgaga tttaccacca tctgaaagac	925
	Ser	
20	atcttgtcta ccgcgagcagc tgctgagatt ccgagaagca gccacagaac ctactaggaa	985
	gacaaatctg atgtggttgt caatectttc aatggacctg agtacttcta taaacccgag	1045
25	tgaggttgtg ctggaccag gagccaggct aggtcatata tgttgatttt tgctgcaaga	1105
	cctcatggtt tatctacaaa tectaaattc tttcacttcc agttttaaaa cttttggccc	1165
	aagcatttta tccacagcat aacacctta aagaaactct cccacggaaa ctgctggttc	1225
30	catggaatgg aaaattgcaa catgggtttac aagacagtgc aaaccaagca gcattccaag	1285
	atatgagctt cagaaagtta caggaactgt cttgggacga gaaagaagga ttaaatagtt	1345
	cccagtccc	1354
35	MHALGRTLALMLLIFITILVPESSCSVKGREEIPDL SFFFSDDNIFPDGVTMEIEIITPVSVQIGIKAQLFCH	
	PSPSKEATLRIWEITPRDWPSCLPYRAELQQISKKICTERGTTRVPAHHQSSDLPIKSMALKHDGHYSCRIETD	
	GIFQERHSIQVPGENRTVVCEAIASKPAMQILWTPDEDCVTKSKSHNDTMIVRSKCHREKNNHGSVFCFISHLTDN	
40	WILSMEQNRGTTSSILPSLLSILYVKLAVTVLIVGFAFFQKRNYFRVPEGS	

表4: OX2R同系物的反向翻译:

啮齿类动物, 例如, 小鼠, OX2RH1 (SEQ ID NO: 13):

```

5  atgytntgyt tytggmgnac nwsncaygtn gcngthytny tnathtgggg ngtnntygcn 60
   gcngarwsnw sntgyccnga yaaraaycar acnatgcara ayaaywsnws nacnatgacn 120
   gargtnaaya cnacngtntt ygtncaratg ggnaaraarg cnytnytntg ytgyccnwsn 180
   athwsnytna cnaargtnat hytnathacn tggacnatha cnytnmgngg ncarccnwsn 240
   tgyathathw sntayaargc ngayacnmgn garacncayg arwsnaaytg ywsngaymgn 300
10 wsnathacnt gggcnwsnac nccngayytn gcncngayy tncarathws ngcngtngcn 360
   ytnarcayg arggnmgnta ywsntgygay athgcngtnc cngayggnaa yttycaraay 420
   athtaygayy tncargtnyt ngtnccnccn gargtnacnc ayttyccngg ngaraaymgn 480
   acngcngtnt gygargcnat hgcnggnaar ccngcngcnc arathwsntg gacnccngay 540
   gngaytgyg tngcnaaraa ygarwsncay wsnaayggna cngtnacngt nmgnwsnacn 600
15 tgycaytggg arcarwsnca ygtnwsngtn gtnttytgyg tngtnwsnca yytnacnacn 660
   gtnaaycarw shytnwsnat hgarytnmgn mgnggngngg aycarytnyt nggnwsntay 720
   athcartaya thathccnws nathathath ytnathatha thggntgyat htgyytnytn 780
   aarathwsng gntgymgnaa rtgyaarytn ccnaarwsng gngcnacncc ngayathgar 840
   gargaygara tgcarcnta ygenwsntay acngaraarw snaayccnyt ntaygayacn 900
20 gtnacnacna cngargcna yccngcnwsn carggnaarg tnaayggnac ngaytgyytn 960
   acnytnwsng cnatgggnat h 981

```

灵长类动物, 例如, 人, OX2RH1 (SEQ ID NO: 14):

```

25  atgytntgyt cntggmgnac ngcnaayytn ggnytnytny tnathytnac nathttyytn 60
   gtngcngarg cngarggngc ngcncarccn aayaaywsny tnatgytnca racnwsnaar 120
   garaaycayg cnytngcnws nwsnwsnytn tgyatggayg araarcarat hacncaraay 180
   taywsnaarg tnytngcnga rgtnaayacn wsntggccng tnaaratggc nacnaaygcn 240
30  gtnytntgyt gyccnccnat hgcnymgn aayytnatha thathacntg ggarathath 300
   ytnmgnggnc arccnwsntg yacnaargcn tayaaraarg aracnaayga racnaargar 360
   acnaaytgya cngaygarmg nathacntgg gtnwsnmgnc cngaycaraa ywsngayytn 420
   carathmgna cngtngcnat hacncaygay ggntaytaym gntgyathat ggtnacnccn 480
   gayggnaayt tycaymgngg ntaycayytn cargtnytng tnacnccnga rgtnacnytn 540
35  ttycaraaym gnaaymgnac ngcngtntgy aargcngtng cnggnaarcc ngcngcncay 600
   athwsntgga thccngargg ngaytgygcn acnaarcarg artaytggws naayggnacn 660
   gtnacngtna arwsnacntg ycaytgggar gtncayaayg tnwsnacngt nacntgygay 720
   gtnwsncayy tnaenggnaa yaarwsnytn tayathgary tnytnccngt nccnggngcn 780
   aaraarathw snaarathat htaywsnath taycaycct aytaytayta yytngaycay 840
40  mgnggnathc ayytngtngt ngarwsncar tgyytncara arath 885

```

灵长类动物, 例如, 人, OX2RH1.2 (SEQ ID NO: 21):

	atgytntgyc	cntggmgnac	ngcnaayytn	ggnytnytny	tnathytnac	nathttyytn	60
	gtngcngarg	cngarggngc	ngcncarcen	aayaaywsny	tnatgytnca	racnwsnaar	120
5	garaaycayg	cnytnngcnws	nwsnwsnytn	tgyatggayg	araarcarat	hacncaraay	180
	taywsnaarg	tnytngcnga	rgtnaayacn	wsntggccng	tnaaratggc	nacnaaygcn	240
	gtnytntgyt	gyccnccnat	hgcnymnmg	aayytnatha	thathacntg	ggarathath	300
	ytnmngggnc	arccnwsntg	yacnaargcn	taymgnarg	aracnaayga	racnaargar	360
	acnaaytgya	cngaygarmg	nathacntgg	gtnwsnmgnc	cngaycaraa	ywsngayytn	420
10	carathmgnc	cngtngcnat	hacncaygay	ggntaytaym	gntgyathat	ggtnacnccn	480
	gayggnaayt	tycaymngg	ntaycayytn	cargtntyng	tnacnccnga	rgtnacnytn	540
	ttycaraaym	gnaaymgnac	ngcngtntgy	aargcngtng	cnggnaarcc	ngcngcncar	600
	athwsntgga	thccngargg	ngaytgygen	acnaarcarg	artaytggws	naayggnacn	660
	gtnacngtna	arwsnacntg	ycaytgggar	gtncayaayg	tnwsnacntg	nacntgycay	720
15	gtnwsncayy	tnacnggnaa	yaarwsnytn	tayathgary	tnytncngt	nccnggngcn	780
	aaraarwsng	cnaarytna	yathccntay	athathytna	cnathathat	hytnacnath	840
	gtnggnttya	thtggtynt	naargtnaay	ggntgymgna	artayaaryt	naayaaracn	900
	garwsnacnc	cngtngtnga	rgargaygar	atgcarcnt	aygcnwsnta	yacngaraar	960
	aayaayccny	tntaygayac	nacnaayaar	gtnaargcnw	sncargcnyt	ncarwsngar	1020
20	gtngayacng	ayytncaayc	nytn				1044

啮齿类动物, 例如, 小鼠, OX2RH1 (SEQ ID NO: 15):

25	atgttytgyt	tytggmgnac	nwsngcnytn	gngtntytny	tnathtgggg	ngtnttygtn	60
	gcnggnwsnw	sntgyacnga	yaaraaycar	acnacncara	ayaaywsnws	nwsnccnytn	120
	acncargtna	ayacnacntg	nwsngtncar	athggnacna	argcnytnyt	ntgytgytty	180
	wsnathccny	tnacnaargc	ngtynytnath	acntggatha	thaarytnmg	nggnytnccn	240
	wsntgyacna	thgcntayaa	rgtngayacn	aaaracnaayg	aracnwsntg	yytnggnmgn	300
30	aayathacnt	ggcnwswnac	nccngaycay	wsnccngary	tncarathws	ngcngtnacn	360
	ytnrcarcayg	arggnacnta	ycntgygar	acngtnacnc	cngarggnaa	ytyygarar	420
	aaytaygayy	tnrcargtnt	ngtncnccn	cargtnacnt	ayttyccnga	raaraaymgn	480
	wsgcngtnt	gygargcnat	ggcnggnaar	ccngcngcnc	arathwsntg	gwsnccngay	540
	ggngaytgyg	tnacnacnws	ngarwsncay	wsnaayggna	cngtnacngt	nmgnwsnacn	600
35	tgycaytggg	arcarayaa	ygtnwsngay	gtnwsntgya	thgtnwsnca	yytnacnggn	660
	aaycarwsny	tnwsnathga	rytnwsnmgn	ggnggnaayc	arwsnytnmg	nccntayath	720
	ccntayatha	thccnwsnat	hathathytn	athathathg	gntgyathtg	yytnytnaar	780
	athwsnggnt	tymgnaartg	yaarytnccn	aarytngarg	cnacnwsngc	nathgargar	840
	gaytagargc	arccttaygc	nwsntayacn	garaarwsna	ayccnytna	ygayacngtn	900
40	acnaargtng	argcnttycc	ngtwnsncar	ggngargtng	ayggnacnga	ytgyytnacn	960
	ytnwsngcna	thgggnath					978

灵长类动物, 例如, 人, OX2RH2 (SEQ ID NO: 16):

45	atgggnggna	arcaratgac	ncaraaytay	wsnacnatht	tygcngargg	naayathwsn	60
	carccngtny	tnatggayt	haaycngtn	ytntgytgyc	cncnathgc	nytnmgnay	120
	ytnathatha	thacntggga	rathathytn	mgnggncarc	cnwsntgyac	naargcntay	180
	aaraargara	cnaaygarac	naargaracn	aaytgyacng	tngarmgnat	hacntgggtn	240
50	wsmngccng	aycaraayws	ngayytnar	athmgccng	tngayacnac	ncaygayggn	300
	taytaymngg	gnathgtngt	nacnccngay	ggnaayttyc	aymngggnta	ycayytnar	360
	gtnytngtna	cncngargt	naayytnnty	carwsnmgna	ayathacngc	ngtntgyaar	420
	gcngtnacng	gnaarccngc	ngcncarath	wsntggathe	cngarggnws	nathytngcn	480
	acnaarcarg	artaytgggg	naayggnacn	gtnacngtna	arwsnacntg	yccntgggar	540
55	ggncayaarw	snacngtnac	ntgycaygtn	wsncayytna	cnggnaayaa	rwsnytnwsn	600
	gtnaarytna	aywsnggnyt	nmgnacnwsn	ggngsnccng	cnytnwsnyt	nytnathath	660
	ytnaygtna	arytnwsnyt	nttygtngtn	athytngtna	cnacnggntt	ygtnttytty	720
	carmgnatha	aycaygtnmg	naargtnytn				750

啮齿类动物, 例如, 小鼠, OX2RH2 (SEQ ID NO: 17):

5 mgnggncarc cnwsntgyat hatggcntay aargtngara cnaargarac naaygaracn 60
tgyytnggnm gnaayathac ntgggcnwsn acncengayc ayathccnga yytncarath 120
wsngcngtng cnytnarca ygaragnaay tayytnygyg arathacnac nccngarggn 180
aayttycaya argtntayga yytnargtn ytngtncnc cngargtnac ntayttyytn 240
ggngaraaym gnacngcngt ntgygargcn atggcnggna arcengcngc ncarathwsn 300
tggacncng ayggngaytg ygtnacnaar wsnarwsnc aywsnaaygg nacngtnacn 360
10 gtnmgnwsna cntgycaytg ggarcaraay aaygtnwsng cngtnwsntg yathgtwnsn 420
caywsnacng gnaaycarws nytnwsnath garytnwsnm gnggnacnac nwsnacnacn 480
ccnwsnytny tnaenathyt ntaygtnaar atggtnytny tnggnathat hytnytnaar 540
gtnggnttyg cnttyttyca raarmgnaay gtnacnmgna cn 582

15

啮齿类动物, 例如, 小鼠, OX2RH4 (SEQ ID NO: 24):

atgcaygcny tnggnmgnt hccnacnytn acnytnytna thttyathaa yathttygtn 60
wsnggnwsnw sntgyacnga ygaraaycar acnathcara aygaywsnws nwsnwsnytn 120
20 acncargtna ayacnacnat gwsngtnar atggayaara argcnytnyt ntgytgytty 180
wsnwsncny tnathaaygc ngtnytnath acntggatha thaarcaymg ncayytnccn 240
wsntgyacna thgcntayaa yytngayaar aaracnaayg aracnwsntg yytnggnmgn 300
aayathacnt gggcnwsnac nccngaycay wsnccngary tncarathws ngcngtngcn 360
ytncarcayg arggnaenta yacntgygar athgtnacnc cngarggnaa yytngaraar 420
25 gntaygayy tncargtnyt ngtnccncn gargtnacnt ayttyccngg naaraaymgn 480
acngcngtnt gygargcnat ggcnggnaar ccngcngcnc arathwsntg gacccngay 540
ggngaytgyg tnacnaarws ngarwsncay wsnaaygna cngtnacngt nmgnwsnacn 600
tgycaytggg arcaraayaa ygtnwsngtn gtnwsntgyy tngtnwsnca ywsnacnggn 660
aaycarwsny tnwsnathga rytnwsncar ggnacnatga cnacncncmg nwsnytnytn 720
30 acnathytnt aygtnaarat ggcnytnytn gtnathathy tnytnaaygt nggnttygcn 780
ttytycara armgnaaytt ygcnmgnacn 810

35

啮齿类动物, 例如, 小鼠, OX2RH3 (SEQ ID NO: 18):

atgcaygcny tnggnmgnc nytnngcnytn atgytnytna thttyathac nathyngtn 60
ccngarwsnw sntgywsngt naarggnmgn gargarathc cncengayga ywsnttyccn 120
ttywsngayg ayaayathtt yccngayggn gtnggngtna cnatggarat hgarathath 180
acncngtnw sngtncarat hggnaathar gcncarytn tytgycaycc nwsnccnwsn 240
40 aargargcna cnytnmgnt htgggarath acncnmng aytgccnws ntgymgnytn 300
ccntaymgng cngarytnca rcarathwsn aaraaratht gyacngarmg nggnacnacn 360
mgngtncng cncaycayca rwsnwsngay ytnccnatha arwsnatggc nytnaarcaay 420
gayggncayt aywsntgymg nathgaracn acngaygna thttycarga rmgncaaywsn 480
athcargtnc cngngarara ymgnaengtn gtntgygarg cnathgcnws naarcngcn 540
45 atgcarathy tntggacnc ngaygargay tgygtnacna arwsnaarws ncayaaygay 600
acnatgathg tnmgnwsnaa rtgycaymgn garaaraaya ayggncayws ngnttytygy 660
ttyathwsnc ayytnacnga yaaytgath ytnwsnatgg arcaraaymg nggnacnacn 720
wsnathytn cwnsnytnyt nwsnathytn taygtnaary tngcngtnac ngtnytnath 780
gtnggnttyg cnttyttyca raarmgnaay taytymgng tncngargg nwsn 834
50

灵长类动物和啮齿类动物H2与啮齿类动物H4多肽的对比;
记录啮齿类动物H2和H4之间的相似性:

5	pOX2RH2	1	MGGK-----QMTQN-YSTIFAEGNISQPVL	24
	rOX2RH2	1		0
	rOX2RH4	1	MHALGRIPTLTLIFINIFVSGSSCTDENQTIQNDSSSSLTQVNTTMSVQ	50
10	pOX2RH2	25	MDINAVLCCPPIALRNLIITWEIILRGQPSC TKAYKKETNETKETNCTV	74
	rOX2RH2	1	RGQPSCIMAYKVETKETNET-CLG	23
	rOX2RH4	51	MDKKALLCCFSSPLINAVLITWIIKHRHLP SCTIAYN-LDKKTNETSCLG	99
			* * * * *	
15	pOX2RH2	75	ERITWVSRPDQNSDLQIRPVDTTTHDGYRGI VVTPDGNFHRGYHLQVLVT	124
	rOX2RH2	24	RNITWASTPDHIPDLQISAVALQHEGNYLCEIT TPEGNFHKVYDLQVLVP	73
	rOX2RH4	100	RNITWASTPDHSP ELQISAVALQHEGTYTCEIV TPEGNLEKVYDLQVLVP	149
			*** * *. .*** * * . * * . ***.*** . * *****	
20	pOX2RH2	125	PEVNL FQSRNITAVCKAVTGKPAAQISWIPEGS ILATKQEYWGNGT VTVK	174
	rOX2RH2	74	PEVTYFLGENRTAVCEAMAGKPAAQISWTPDG -DCVTKSESHSNGT VTVR	122
	rOX2RH4	150	PEVTYFPGKNRTAVCEAMAGKPAAQISWTPDG -DCVTKSESHSNGT VTVR	198
			. * * * ** *.***** *.* ** * *****.	
25	pOX2RH2	175	STCPWEG-HKSTVTCHVSHLTGNKSLSVKLN SGLRTSGSPALSLLIILYV	223
	rOX2RH2	123	STCHWEQNNVSAVSCIVSHSTGNQSLSIELSR GTTST-TP--SLLTILYV	169
	rOX2RH4	199	STCHWEQNNVSVV SCLVSHSTGNQSLSIELS QGTM TT--PR-SLLTILYV	245
			*** ** . * *. * * * * .***.***. * * .. * *** *****	
30	pOX2RH2	224	KLSLFVVILVTTGFVFFQRINHVRKVL	250
	rOX2RH2	170	KMVL LGIILLKVGFAFFQKRNVTRT	194
	rOX2RH4	246	KMALLVIILLNVGFAFFQKRNFART	270
			*. * .***. ** ***** * *	
35				

OX2RH1 和 2 的实施方案显示了彼此特殊的相似性, 见, 例如, 表 5。大鼠 H1 的特殊区或位置是: 与cys2, leu33, cys35, ile46, trp48, arg53, pro56, cys58, tyr62, cys74, thr80, trp81, leu91, ile93, his100, gly102, tyr104, gly113, phe115, leu122, val123, pro127, asn136, ala139, val140, cys141, ala143, lys147, pro148, ala149, ile152, trp154, pro156, asn169, thr171, val174, ser176, cys178, glu181, ser186, val188, cys190, ser193, his194, thr196, asn198, leu202, gly215, tyr217, leu237, lys238, 和 ile304。相邻 (之前, 之上, 或之后) 的边界。许多上述残基是在 H1 和 H2 之间是保守的。H2 和 H4 也如此。见表 5。大鼠 OX2RH1 的特殊区是来源于约 cys2-pro127 的 C2 区, 来源于约 glu128-gly215 的 C2 区, 来源于约 tyr217-leu237 的 TM 区段, 和来源于约 lys238—ile304 的胞内区。小鼠 H1 的相应区段是约 ser24-pro150, glu151-gly231, tyr239-leu259, 和 lys260-ile326。在小鼠 H2 中, 该区段相应的, 在有效的序列中, 来源于约 arg1-pro74, glu75-gly155, pro161-gly182, 和 phe183-thr194。对于人的 H2, 该跨膜区段是约 ala214-val233, 和 thr234-leu250, 在小鼠 H3 中, 约 pro119-gly237, 具有膜内 lys228, 和 phe238-gly252。表 5 也表示 H2 和 H4 实施方案的序列对比。作为片段的边界, 其它感兴趣的位置是在具有大鼠 OX2RH1 或家族成员各种亚型的同系物之间保守的那些。

在功能上, 大鼠和小鼠 H1 结合 OX2。对于人的 H1, 这还未被证实, 但是可以很容易的试验。下面描述与 H2, H4, 和 H3 组匹配的配位体。

如所预测的那样, 啮齿类动物的 H3 与 DAP12 有关。在没有陪伴配偶体共表达的情况下, 重组表达的标记 DAP12 的抗原决定部位不是膜结合的。见, 例如, Bakker 等, (1999) Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 96:9792-9796。小鼠的 H3 可以起陪伴配偶体的作用。然而, 通过 DAP12 的信号途径需要结合 H3 配位体, 其还未被鉴定, 但是可以使用适当的筛选策略, 例如, 生物化学或物理方法找到。啮齿类动物 H4 和 H2 的序列相似性显示了与 DAP12, 或可能是 DAP10 的相似性。

小鼠的 H2 和 H4 和人的 H2 可能具有这种特性, 例如, 与 DAP12 (活化) 或 DAP10 有关。已经用一些有关的 NK 细胞上的受体确定了信号产

生的途径。见，例如，Lanier 等，(1998) Immunity 8:693-701; Smith 等，(1998) J. Immunol. 161:7-10; Gosselin 等(1999) J. Leukoc. Biol. 66:165-171; Tomasello 等，(1998) J. Biol. Chem. 273:34115-34119; 和 McVicar 等，(1998) J. Biol. Chem. 273:32934-32942.

5 由于胞外区与 H1 成员的相似性，OX2-样基因，特别是 OX2，可能是配位体。

此处使用的术语 OX2RH1, OX2RH2, 或 OX2RH4 将用于描述含表 1-2 中列出的氨基酸序列的蛋白。在很多情况中，其基本片段可能是功能或结构等价的，包括，例如，胞外区或胞内区。本发明还包括各 OX2RH
10 等位基因的蛋白变体，其中已经提供了它的序列，例如，突变蛋白或可溶性胞外结构。代表性地，这种激动剂或拮抗剂将显示小于约 10% 的序列差异，因而常常具有 1-11 之间的残基置换，例如 2, 3, 5, 7, 及其它。它还包括等位的和其它的变体，例如，所述蛋白的天然多态。典型地，该受体以高亲和力结合相应的生物配位体，例如，至少约
15 100nM，最好是约 30nM，优选约 10nM，更优选约 3nM。此处也使用该术语表示相关的天然存在的形式，例如，哺乳动物蛋白的，等位基因，多态变体，和代谢变体。受体复合体的优选形式将以适于配位体-受体相互作用的选择性和亲和性结合适当的配位体。

本发明还包括具有与表 1-3 中的氨基酸序列相同的基本氨基酸序
20 列的蛋白或肽。它包括具有相对较少的置换，例如，优选少于约 3-5 的序列变体。

基本的肽“片段”或“区段”，是至少约 8 个氨基酸，通常至少 10 个氨基酸，更通常至少 12 个氨基酸，常常至少 14 个氨基酸，更常常是至少 16 个氨基酸，典型地至少 18 个氨基酸，更典型地至少
25 20 个氨基酸，通常至少 22 个氨基酸，更特别是至少 24 个氨基酸，优选至少 26 个氨基酸，更优选至少 28 个氨基酸，且，在特别优选的实施方案中，至少约 30 个或更多氨基酸的氨基酸残基的一段序列。可互相比拟不同蛋白区段序列的适宜长度的一段序列。在很多情况中，片段可以显示完整亚单位的功能特性，例如，跨膜受体的胞外区可以
30 保留配位体的结合特征，且可用于制备可溶性的受体-样复合物。

氨基酸序列的同源性，或序列的同一性，是通过使残基的匹配最佳化而确定的。在某些对比中，如果需要，可以引入裂隙。见，例如，

Needleham 等, (1970) J. Mol. Biol. 48:443-453; Sankoff 等, (1983) chapter one in Time Warps, String Edits, and Macromolecules: The Theory and Practice of Sequence Comparison, Addison-Wesley, Reading, MA; 和来源于 IntelliGenetics, Mountain View, CA 的软件包; and University of Wisconsin Genetics Computer Group (GCG), Madison, WI; 每篇文献均引入此处作为参考。当认为保守置换匹配时, 其发生变化。保守置换代表性地包括在下列组之内的置换: 甘氨酸, 丙氨酸, 缬氨酸, 异亮氨酸, 亮氨酸; 天冬氨酸, 谷氨酸; 天冬酰胺, 谷氨酰胺; 丝氨酸, 苏氨酸; 赖氨酸, 精氨酸; 和苯丙氨酸, 酪氨酸。同源氨基酸序列在受体同系物序列中包括天然的等位变异和种间变异。典型的同源蛋白或肽具有与表 1-3 的氨基酸序列区段 50-100% (如果可以引入裂隙) 至 60-100% 的同源性 (如果包括保守置换)。同源性的测量值为至少约 70%, 通常至少 76%, 更通常至少 81%, 常常是至少 85%, 更是至少 88%, 代表性地至少 90%, 更典型地至少 92%, 通常至少 94%, 更特别是至少 95%, 优选至少 96%, 更优选 97%, 在特别优选的实施方案中, 至少 98% 或更多。同源性的程度将根据所对比区段的长度而变化。同源蛋白或肽, 如等位变体, 将与表 1-3 中描述的实施方案共有大多数的生物活性。

此处使用术语“生物活性”用于描述, 没有限制, 通过受体样蛋白对炎症应答, 先天免疫, 和/或形态发展的作用。例如, 这些受体可能通过磷酸酶或磷酸化酶的活性介导它们的作用, 其活性可以通过标准方法很容易地测量。见, 例如, Hardie 等, (eds. 1995) The Protein Kinase FactBook vols. I 和 II, Academic Press, San Diego, CA; Hanks 等 (1991) Meth. Enzymol. 200:38-62; Hunter 等, (1992) Cell 70:375-388; Lewin (1990) Cell 61:743-752; Pines 等, (1991) Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. 56:449-463; 和 Parker 等, (1993) Nature 363:736-738。该受体同系物, 或其一部分, 作为磷酸盐标记酶而标记普通或特异性的底物可能是有效的。该亚单位可能是引出识别抗体, 或能够结合抗体的抗原的功能性免疫原。

术语 OX2RH 的配位体, 激动剂, 拮抗剂, 和类似物包括一种分子, 其调节对 OX2 蛋白结合的特征性细胞应答, 和具有配位体-受体相互作用的更标准的结构结合竞争分子, 例如, 该拮抗剂是受体同系物

或抗体的可溶性胞外区。该细胞应答可能是通过受体酪氨酸激酶途径而代表性介导的。

且，受体同系物可能是这样一种分子，其可作为与所述配位体，或其类似物相结合的天然受体而起作用，或可能是这样一种分子，其天然受体的功能性类似物。该功能性类似物可能是具有结构修饰的受体同系物，或可能是一种完全不相关的分子，其具有与适当的配位体结合决定子相互作用的分子形状。该配位体可作为激动剂或拮抗剂而起作用，见，例如，Goodman 等，(eds. 1990) Goodman & Gilman's: The Pharmacological Bases of Therapeutics, Pergamon Press, New York.

合理的药物设计也可以是基于受体同系物，抗体，或其它与实体有关的效应子或受体同系物分子形状的结构研究而进行的。见，例如，Herz 等，(1997) J. Recept. Signal Transduct. Res. 17:671-776; 和 Chaiken 等，(1996) Trends Biotechnol. 14:369-375。效应子可能是在应答配位体结合中介导其它作用的其它蛋白，或是通常与受体同系物相互作用的其它蛋白。确定哪个位点与特异性的其它蛋白相互作用的方法是一种物理的结构测定方法，例如，X-射线晶体学或 2-维 NMR 技术。这些可为氨基酸残基形成分子接触区提供指导。对于蛋白结构确定的详细描述，见，例如 Blundell 和 Johnson (1976) Protein Crystallography, Academic Press, New York, 其在此引入作为参考。

II. 活性

该受体-样蛋白具有多种不同的生物活性，例如，调节细胞增殖，或在磷酸盐代谢中，被加入或自特异性底物，如蛋白上除去。这通常会引起炎症功能，其它先天免疫应答，或形态学作用的调节。如所述的那样，该受体同系物可能具有结合配位体的特异低亲和力。

OX2RH1 具有暗示通过受体酪氨酸激酶途径信号产生的受体的基序。见，例如，Ihle 等，(1997) Stem Cells 15(suppl. 1):105-111; Silvennoinen 等，(1997) APMIS 105:497-509; Levy (1997) Cytokine Growth Factor Review 8:81-90; Winston and Hunter (1996) Current Biol. 6:668-671; Barrett (1996) Baillieres Clin. Gastroenterol. 10:1-15; 和 Briscoe 等，(1996) Philos. Trans. R. Soc. Lond. B.

Biol. Sci. 351:167-171.

OX2R 同系物的生物活性可能与磷酸盐部分至底物的加入或除去有关，代表性地以特异性的方式，但偶然以非特异性的方式。通过标准方法可以鉴定底物，或测定酶活性的条件，例如，Hardie 等，

5 (eds. 1995) The Protein Kinase FactBook vols. I and II, Academic Press, San Diego, CA; Hanks 等，(1991) Meth. Enzymol. 200:38-62; Hunter 等 (1992) Cell 70:375-388; Lewin (1990) Cell 61:743-752; Pines 等 (1991) Cold spring Harbor Symp. Quant. Biol. 56:449-463; 和 Parker 等 (1993) Nature 363:736-738.

10 受体同系物可以与一种或多种其它蛋白结合，形成功能复合体，例如，其对于结合配位体或制备抗体可能是有效的。这些将具有基本的诊断用途，包括检测或量化。

III. 核酸

本发明涉及分离的核酸或片段的用途，例如，其编码这些或紧密相关的蛋白，或其片段，例如，编码相应的多肽，优选其是生物活性的。此外，本发明包括分离或重组的 DNA，其编码具有同系物特征序列的这种蛋白或多肽的组合。代表性地，该核酸能够在适宜的条件下与表 1-3 所列的核酸序列区段杂交，但优选不与其它已知 Ig 超家族受体的相应区段杂交。所述生物活性蛋白或多肽可以是全长蛋白，或片段，且代表性地具有高度同源的氨基酸序列的区段，例如，显示与表 1-3 中所列的相同的一段序列。此外，本发明包括分离或重组核酸，或其片段的用途，其编码具有与 OX2RH 蛋白等价的片段的蛋白。该分离的核酸可以在 5' 和 3' 侧面中具有各自的调节序列，例如，启动子，增强子，聚-A 附加信号，和来源于天然基因的其他序列。

25 “分离”的核酸是一种核酸，例如，RNA, DNA, 或混合聚合物，其基本上是纯的，例如，自其它的组分分离，该组分天然地伴有天然序列，如来源于起源物种的旁侧基因组序列和核糖体，聚合酶。该术语包括已经从其天然存在的环境中除去的核酸序列，且包括重组或克隆的 DNA 分离物，由此其不同于天然存在的组分，和化学合成的类似物或通过异源系统生物合成的类似物。基本纯的分子包括分子的分离形式，完全或基本纯。

分离的核酸通常是分子的均一组分，但是，在某些实施方案中，

包含不均匀性，优选较少的。此不均匀性代表性地地在聚合物末端或对所期望的生物功能或活性不重要的部分发现。

“重组”核酸代表性地是通过其生产方法或其结构而定义的。关于其生产方法，例如，通过这样一种方法制造产品，即使用重组核酸技术，例如，人干预核苷酸序列。代表性地，此干预包括体外操纵，虽然在某些情况下，它可以包含更传统的动物培育技术。选择性地，它可以是通过生产一种序列而制造的核酸，该序列包含两个片段的融合，其互相未天然地连接，但是应排除天然产物，例如，在其天然状态中发现的天然存在的突变体。因而，例如，也包括通过用非天然存在载体转化细胞所生产的产物，是含序列的核酸，该序列是使用任一合成的寡核苷酸方法得到的。经常使用这种方法用编码相同或保守氨基酸的冗余密码子来替换密码子，代表性地引入或除去限制酶序列识别位点。选择性地，该方法是通过把所期望功能的核酸区段连成一体而进行的，以生产单一的遗传实体，该实体包含在普遍使用的天然形式中找不到的所期望功能的组合，例如，编码融合蛋白。限制酶识别位点通常是这种人工操纵的靶，但是其它部位特异性的靶，例如，启动子，DNA 复制位点，调节序列，控制序列，或其它有用的特征均可引入设计中。相似的概念是指重组的，例如，融合，多肽。这包括二聚的重复。特别包括合成的核酸，通过遗传密码密码冗余，编码等价多肽成 OX2 受体同系物的片段和来源于各种不同的相关分子，例如，其它的 Ig 超家族成员的序列融合。

核酸范围中的“片段”是至少大约 17 个核苷酸，通常至少 21 个核苷酸，更通常至少 25 个核苷酸，一般至少 30 个核苷酸，更一般至少 35 个核苷酸，常常至少 39 个核苷酸，更常常至少 45 个核苷酸，代表性地至少 50 个核苷酸，更代表性地至少 55 个核苷酸，通常至少 60 个核苷酸，更通常至少 66 个核苷酸，优选至少 72 个核苷酸，更优选至少 79 个核苷酸，且在特别优选的实施方案中，至少 85 个或更多的核苷酸的连续区段。代表性地，不同遗传序列的片段可以互相比对适宜长度的一段序列，下面描述特别定义的区域，如区。

编码 OX2R 同系物的核酸对于鉴定基因，mRNA，和编码自身或紧密相关蛋白的 cDNA 类，和编码多态的，等位的，或其它遗传的变体的，例如，来源于不同个体或相关物种的 DNA 是特别有效的。这种筛

5 选优选的探针是受体同系物的那些区，该受体同系物在不同的多态变体间保存，或其包含缺少特异性的核苷酸，且优选是全长的或接近全长的。在其他情况中，多态变体的特异性序列更有效。定量或特异性序列分析作为疾病或医学症状的标记，或在选择特殊治疗处理中的标记物可能是有效的。

本发明进一步包括重组的核酸分子和具有与所述分离 DNA 相同或高度同源的核酸序列的片段。特别是，该序列常常被可操作地连接到 DNA 区段上，其控制转录，翻译，和/或 DNA 的复制。这些附加的区段代表性地促进所期望核酸区段的表达。

10 同源的，或高度相同的，核酸序列，当互相比较时，例如，OX2RH 序列，显示显著的相似性。核酸中同源性的标准是通过序列对比而通常用于本领域中的同源性测量值，或基于杂交情况的测量值。下面更详细地描述比较的杂交情况。

核酸序列比较范围中的基本同一性意味着该区段，或它们的互补链，当比较时，是相同的，当进行最佳序列对比时，与适宜核苷酸的插入或缺失，在至少约 60% 的核苷酸中，通常至少 66%，一般至少 71%，常常是至少 76%，更常常是至少 80%，通常至少 84%，更通常至少 88%，代表性的至少 91%，更代表性的至少约 93%，优选至少约 95%，更优选至少约 96-98% 或更多，且在特别的实施方案中，高达 99% 或更多的核苷酸，例如，编码结构区，如下述区段的区段。选择性地，当该区段代表性地使用来源于表 1-3 的序列，在选择性的杂交条件下杂交成链或其补体时，存在基本上的同一性。代表性地，当有至少约 14 个核苷酸的一段序列的至少约 55%，更代表性的至少约 65%，优选至少约 75%，更优选至少约 90% 的同源性时，将发生选择性的杂交。见，
25 Kanehise(1984)Nucl. Acids Res. 12:203-213，其引入此处作为参考。同源性对比的长度，如上所述，可以是较长的一段序列，且在某些实施方案中，可以是至少约 17 个核苷酸，通常至少约 20 个核苷酸，一般至少约 24 个核苷酸，通常至少约 28 个核苷酸，代表性的至少约 32 个核苷酸，更代表性的至少约 40 个核苷酸，优选至少约 50 个核苷酸，更优选至少约 75-100 或更多核苷酸的一段序列。其包括，例如，
30 125, 150, 175, 200, 225, 246, 273, 300, 325, 350, 400, 450, 500, 550, 600, 650, 700, 750, 800, 850, 900, 和其它长度。

关于杂交范围中的同源性的严格条件，是杂交反应中控制的盐，温度，有机溶剂，和其它参数条件的严格组合条件。严格的温度条件通常包括超过约 30℃，更通常超过约 37℃，代表性的超过 45℃，更代表性的超过约 50℃，例如 55℃ 或 60℃，优选超过约 65℃，更优选超过约 70℃ 的温度。严格的盐条件一般小于约 1M，更一般小于约 500mM，通常小于约 400mM，更通常小于约 300mM，代表性的小于约 200mM，优选小于约 100mM，更优选小于约 80mM，例如，小于 50mM，甚至小于约 20mM。然而，参数的组合较之任何单一参数更重要。见，例如，Wetmur 和 Davidson (1968) J. Mol. Biol. 31:349-370，其引入此处作为参考。

分离的 DNA 可以通过核苷酸置换，核苷酸缺失，核苷酸插入，和核苷酸一段序列的翻转来修饰。这些修饰通常产生新的 DNA 序列，其编码此蛋白或其衍生物。这些修饰的序列可用于生产突变蛋白（突变蛋白）或提高变体物种的表达。提高的表达可以包括基因扩增，增加的转录，增加的翻译，及其它机理。这种突变体 OX2R 同系物衍生物包括蛋白或其片段的预先确定的或位点-特异性的突变，包括使用遗传密码简并性的沉默突变。此处使用的“突变体 OX2 的受体同系物”包括一种多肽，另外落在上述 OX2 受体同系物的定义内，但是具有与天然发现的其它 Ig 超家族不同的氨基酸序列，是否经由缺失，置换，或插入。特别是，“位点特异性突变体 OX2 的受体同系物”包括一种蛋白，其具有与表 1-3 的蛋白相同的基本序列，且代表性地，共有某些或大多数生物活性或效果，例如，此处所公开形式的免疫原性。

虽然位点特异性突变位点是预先确定的，突变体不要求必须是位点特异性的。哺乳动物 OX2 受体同系物的诱变可以通过基因中氨基酸的插入或缺失而获得，与表达结合。可以产生置换，缺失，插入，或多种组合，以达到最终的构造。插入包括氨基-或羧基-末端融合。随机诱变可以在靶密码子下进行，且可为了所期望的活性而筛选所表达的哺乳动物 OX2RH 突变体，提供某些结构-活性亲缘关系的某些方面。在具有已知序列的 DNA 中的预定位点进行置换突变的方法是本领域所熟知的，例如，通过 M13 引物诱变。见 Sambrook 等，(1989) 和 Ausubel 等 (1987 和定期增刊)。

DNA 中的突变通常不应该替换读框外的编码序列，且优选的不会

产生互补区，应该杂交以生产次级 mRNA 结构，如环状结构或发夹结构。

5 根据 Beaucage 和 Carruthers(1981)Tetra. Letts. 22:1859-1862 描述的亚磷酰胺方法，可生产适宜的合成 DNA 片段。双链片段通常是通过在适宜的条件下合成互补链并退火该链，或使用具有适宜引物序列通过 DNA 聚合酶加入互补链而得到的。

10 聚合酶链反应 (PCR) 技术通常用于诱变中。选择性的，诱变引物通常用于在预定的位点产生确定突变的方法中。见，例如，Innis 等(eds. 1990)PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications Academic Press, San Diego, CA ; and Diwffenbach 和 Dveksler(1995; eds.)PCR Primer: A Laboratory Manual Cold Spring Harbor Press, CSH, NY.

15 本发明的某些实施方案涉及包含所述配位体序列或受体同系物的结合组合物，在其它的实施方案中，可连接序列的功能性部分以编码融合蛋白。在其它形式中，所述序列的变体可被置换。

IV. 蛋白质，肽

20 如上所述，本发明包括哺乳动物的 OX2RH 多肽，例如，上述在表 1-3 中公开的序列。还涉及等位和其它变体的多肽，包括，例如，融合蛋白，该融合蛋白是将这种序列的一部分与其它，包括，例如，抗原决定部位的标记物，功能域，和 DAP12 或 DAP10 序列相结合。

25 本发明还提供重组蛋白，例如，使用来源于这些灵长类动物或啮齿类动物蛋白的区段的异源融合蛋白。异源融合蛋白是蛋白或区段的融合，其不是以相同的方式天然融合的。因而，两个 OX2RH 的融合产物是连续的蛋白分子，其具有在典型肽键中融合的序列，代表性地作为单一翻译产物而生产，并显示一些特性，例如，来源于各源肽的序列或抗原性。将类似的概念用于异源核酸序列。还提供将各种指定蛋白组合而成的复合体。

30 此外，新结构可以从结合相似的功能或结构区来生产，其来源于其它相关的蛋白，例如，其它含受体，包括物种变体的 ITIM, ITAM, 或 YxxM 基序。例如，配位体-结合或其它区段可在不同的新融合多肽或片段之间被“交换”。见，例如，Cunningham 等，(1989) Science 243:1330-1336; 和 O'Dowd 等，(1988) J. Biol. Chem. 263:15985-

15992, 每篇文献均引入此处作为参考。因而, 显示新的特异性结合的嵌合多肽是由受体-结合特异性的功能键产生的。例如, 来源于其它相关受体同系物分子的配位体结合区可被加入或置换为此蛋白或相关蛋白的其它区。最终得到的蛋白常常具有杂交功能和特性。例如, 5 融合蛋白可以包括导向区, 其可用于提供融合蛋白至特殊的亚细胞器的整合。

候选融合配偶体和序列可以从各种序列数据库中选择, 例如, GenBank, c/o IntelliGenetics, Mountain View, CA; 和 BCG, University of Wisconsin Biotechnology Computing Group, Madison, 10 WI, 其均引入此处作为参考。特别是, 表 1-3 中提供的多肽序列的组合是特别优选的。蛋白的变体形式可以所述组合中的形式被置换。

本发明特别提供结合 OX2-样配位体的突变蛋白, 和/或其在信号转导中受影响的突变蛋白。OX2 受体同系物家族中各成员的结构序列对比显示了保守的特征/残基。见, 例如, 表 5。OX2R 同系物序列的 15 序列对比显示了各种结构上和功能上共有的特征。见, Bazan 等, (1996) Nature 379:591; Lodi 等, (1994) Science 263:1762-1766; Sayle 和 Milner-White (1995) TIBS 20:374-376; 和 Gronenberg 等, (1991) Protein Engineering 4:263-269。

用小鼠序列或者人序列的置换是特别优选的。相反地, 远离配位 20 体结合相互作用区的保守置换可能保存最多的信号活性; 且远离胞内区的保守置换可能保存最多的配位体结合特性。

哺乳动物 OX2RH 的“衍生物”包括氨基酸序列突变体, 糖基化变体, 代谢衍生物和具有其它化学部分的共价或聚集接合物。共价衍生物可以用本领域熟知的方法, 通过功能性基团的连接而制备, 该基 25 团是在 OX2RH 氨基酸侧链或在 N-或 C-端找到的。这些衍生物可包括, 但不限于, 羧基末端的酰胺或脂肪族酯, 或含羧基侧链的残基, 含羧基残基的 O-酰基衍生物, 和氨基末端的氨基酸或含氨基, 例如, 赖氨酸或精氨酸的残基的 N-酰基衍生物。酰基是自烷基一部分, 包括 C3-C18 的普通烷基, 的基团选择的, 由此形成链烷基芳酰基类。

30 特别是, 包括糖基化改变, 例如, 通过在它的合成和加工过程中, 或在进一步的加工步骤中, 修饰多肽的糖基化模式来产生。完成的特别优选方法是使多肽暴露于糖基化酶, 例如, 哺乳动物糖基化酶, 该

酶来源于通常提供这种加工的细胞。还涉及脱糖基化酶。还包括相同的初级氨基酸序列译本，其具有其它微小的修饰，包括磷酸化的氨基酸残基，例如磷酸丙糖，磷酸丝氨酸，或磷酸苏氨酸。

5 衍生物的主要类型是具有其它多肽蛋白的受体同系物或其片段的共价接合物。这些衍生物可在重组培养物，如 N-或 C-端融合的中合成，或通过本领域的已知的，在通过反应侧基交联蛋白中有效的试剂来合成。具有交联剂的优选衍生位点是在游离氨基，碳水化合物部分，和半胱氨酸残基。

10 还提供受体同系物和其它同源或异源蛋白之间的融合多肽。同源多肽可以是在不同的受体之间融合的，产生，例如，显示对多种不同的 OX2 相关配位体，或受体结合特异性的杂交蛋白，或可能已经扩大或减弱了培养基特异性效果的受体。同样，可以构造异源融合体，其显示衍生蛋白活性或特性的结合。典型的实施例是报道多肽的融合，例如，萤光素酶，具有受体的区段或区，例如，配位体-结合区段，
15 以便很容易地测定所期望配位体的位置和存在。见，例如，Dull 等，美国专利第 4,859,609，其引入此处作为参考。其它的基因融合配偶体包括谷胱甘肽-S-转移酶(GST)，细菌性 β -半乳糖苷酶，trpE，蛋白 A， β -内酰胺酶， α -淀粉酶，醇脱氢酶，和酵母 α 交配因子。见，例如，Godowski 等 (1988) Science 241:812-816。标记的蛋白通常
20 是在所述蛋白的组合中置换的。

根据 Beaucage 和 Carruthers(1981)Tetra. Letts. 22:1859-1862 描述的亚磷酸胺方法，可生产出适宜的合成 DNA 片段。双链片段通常是通过在适宜的条件下合成互补链和退火该链而得到的，或使用具有适宜引物序列通过 DNA 聚合酶加入互补链而得到的。

25 这种多肽可能还具有通过磷酸化作用，磺化作用，生物素酰化作用，或加入或除去其它部分，特别是具有与磷酸盐相似分子形状的那些，而化学修饰的氨基酸残基。在某些实施方案中，该修饰可以有效的标记试剂，或作为纯化作用的靶，例如亲和配位体而起作用。

30 代表性地，融合蛋白可以通过重组核酸方法或合成多肽方法而生产。一般性地描述了核酸操作和表达技术，例如，Sambrook 等，(1989) Molecular Cloning: A Laboratory Manual (2d ed.), Vols. 1-3, Cold Spring Harbor Laboratory, 和 Ausubel 等，(eds. 1987 和定期增

刊) Current Protocols in Molecular Biology, Greene/Wiley, New York, 其均引入此处作为参考。还描述了多肽合成技术, 例如, Merrifield(1963) J. Amer. Chem. Soc. 85: 2149-2156; Merrifield (1986) Science 32: 341-347, 和 Atherton 等, (1989) Solid Phase Peptide Synthesis: A Practical Approach, IRL Press, Oxford; 其均引入此处作为参考。并见 Dawson 等, (1994) Science 266:776-779, 生产较大多肽的方法。

本发明还涉及除了在氨基酸序列或糖基化作用中的变异之外, OX2RH1 衍生物用途。这种衍生物可以包含与化学部分的聚集或共价结合。这些衍生物通常分为三类: (1) 盐, (2) 侧链和末端残基的共价修饰, 和 (3) 吸附复合体, 例如, 具有细胞膜。这种共价或聚集的衍生物作为免疫原, 作为免疫测定中的试剂, 或在纯化方法, 如受体或其它结合分子, 例如, 抗体的亲和纯化中是有效的。例如, OX2 配位体可以通过共价键而被固定在固体支持物, 如溴化氰活化的琼脂糖上, 通过本领域熟知的方法, 或吸附在聚链烯表面上, 有或没有戊二醛交联, 用于测定或纯化 OX2RH, 抗体, 或其它类似的分子。该配位体还可以用可检测的基团标记, 例如, 通过氯胺 T 方法放射性碘化的, 共价结合于稀土螯合物上, 或接合到其它荧光部分上, 用于诊断测定。

本发明的一种包括 OX2RH 的组合, 可用作生产抗血清或抗体特异性的免疫原, 例如, 能够辨别其它 OX2 受体同系物间的, 或所期望组合的特异性。OX2RH 可用于筛选单克隆抗体或抗原-结合片段, 其是通过用含蛋白的各种不同形式的不纯制剂而制备的。特别是, 术语“抗体”还包含天然抗体的抗原结合片段, 例如, Fab, Fab2, Fv 等。纯化的 OX2RH 还可用作检测抗体的试剂, 该试剂是在应答高水平表达的存在, 或导致对内源受体同系物产生抗体的免疫疾病中产生的。

附带地, OX2RH 片段还可以作为生产本发明抗体的免疫原起作用, 如下面立即描述的。例如, 本发明涉及对表 1-3 中列出的氨基酸序列具有结合亲和力, 或相对于表 1-3 中列出的氨基酸序列所培养的抗体, 其片段, 或各种同源的肽或亚群。特别是, 本发明还涉及对特异性片段具有结合亲和力, 或相对于特异性片段培养的抗体, 其中该特异性片段被预测, 或确实是, 暴露在天然 OX2RH 的外蛋白表面。蛋

白组合的复合体也是有用的，且可以生产抗体制剂。

对受体配位体生理应答的阻断可能是由配位体与受体结合的抑制所引起的，可能通过竞争性抑制，或可能是由于抗体结合的受体表达减量调节。因而，本发明的体外测定通常使用抗体或结合这些抗体区段的抗原，或附着在固相培养基上的片段。这些测定方法还可评估配位体结合区的突变和修饰，或其它突变和修饰，例如，影响信号产生或酶功能，效果的诊断测定。

本发明还涉及竞争性药物筛选测定方法的使用，例如，中和抗体，使受体复合体或片段与试验化合物竞争结合配位体或其它抗体。在这种方法中，中和抗体或片段可用于检测多肽的存在，其共有一个或多个与受体结合的位点，且可用于占据受体上的结合位点，另外可以结合配位体。

V. 生产核酸和蛋白

编码蛋白或其片段的 DNA 可以通过化学合成，筛选 cDNA 库，或筛选从各种细胞系或组织样品所制备的基因组库而得到。天然序列可以通过使用标准方法和此处，例如表 1-3 中提供的序列来分离。反向翻译序列在表 4 中提供。其它物种的对应物可以通过杂交技术，或通过各种 PCR 技术，结合或通过序列数据库，例如，GenBank 中检索来鉴定。抗体可用于物种对应物上的表达克隆效果中。

这种 DNA 可在各种宿主细胞中表达，用于合成全长受体或片段，其可，例如，用于生产多克隆或单克隆抗体；用于结合研究；用于修饰配位体的结合或激酶/磷酸酶区的表达和构造；用于结构/功能的研究。变体或片段可在宿主细胞中表达，其是用适当的表达载体转化或转染的。这些分子基本上没有蛋白或细胞杂质，除了来源于重组宿主的那些，因此当与药学上可接受的载体和/或稀释剂组合时，在药物组合物中是特别有效的。该蛋白，或其一部分，可被表达为与其它蛋白的融合体。所述蛋白，或编码它们的核酸的组合，是特别感兴趣的。

表达载体是典型的自复制 DNA 或 RNA 结构，其包含所期望的受体同系物基因或其片段，通常可操作地连接到适当的遗传控制因子上，该遗传控制因子可在适当的宿主细胞中识别。这些控制因子能够在适当宿主内的表达。该多基因可被协同地表达，且可位于多顺反子信息上。实现表达所必需的控制因子的特异类型取决于所用的最后的

宿主细胞。通常，遗传控制因子可包括原核启动子系统或真核启动子表达控制系统，且代表性地包括转录启动子，控制转录发生的任选操纵子，升高 mRNA 表达水平的转录增强子，编码适当核糖体结合位点的序列，和终止转录和翻译的序列。表达载体通常还包含复制起点，
5 以使载体独立于宿主细胞复制。

本发明的载体包括含 DNA 的那些，其编码蛋白的组合，如所述的，或生物活性等价的多肽。该 DNA 可以在病毒启动子的控制之下，且可以编码选择标记。本发明还涉及这种表达载体的用途，其能够在原核或真核宿主中表达，编码这种蛋白的真核 cDNA，该载体与宿主相适
10 合，且真核 cDNA 插入到载体中，这样含载体的宿主生长表达所述的 cDNA。通常，为了在它们的宿主细胞中稳定复制，或为了扩增以大大增加每个细胞所期望基因的拷贝总数，而设计表达载体。通常，并非必需要求表达载体在宿主细胞中复制，例如，可以使用载体，该载体不含由宿主细胞识别的复制起点，影响蛋白或其片段在各宿主中的瞬
15 时表达。还可能使用载体，使蛋白编码部分通过重组整合到宿主 DNA 中。

此处使用的载体，包含质粒，病毒，噬菌体，可整合的 DAN 片段，和其它媒介物，其可使 DNA 片段整合到宿主的基因组中。表达载体是一种特化的载体，其包含影响可操作连接基因表达的遗传控制因子。
20 质粒是最普遍使用的载体形式，但是，所有提供等价功能的其它形式载体，其是，或变成，在本领域中已知的均适用于本发明。见，例如，Pouwels 等，（1985 和定期增刊）Cloning Vectors: A Laboratory Manual, Elsevier, N. Y., 和 Rodriguez 等，（eds. 1988）Vectors: A Survey of Molecular Cloning Vectors and Their Uses,
25 Buttersworth, Boston, 其引入此处作为参考。

转化的细胞是已经用载体转化或转染的细胞，该载体是使用重组 DNA 技术构造的，优选哺乳动物的。转化的宿主细胞通常表达所期望的蛋白，但是为了克隆，扩增，和操纵其 DNA，不需要表达目标蛋白。本发明进一步涉及在营养培养基中培养转化细胞，从而使蛋白积聚。
30 该蛋白可自培养物或，在特定的情况中，自培养基中回收。

为了本发明的目的，当他们功能上彼此相关时，核酸序列是可操作连接的。例如，前序列或分泌前导序列的 DNA 是可操作连接到多肽

上的，如果它是作为前蛋白表达的，或参与把多肽导向细胞膜，或参与多肽的分泌。启动子是可操作连接到编码序列上的，如果它控制多肽的转录；核糖体结合位点是可操作连接到编码序列上的，如果将它放置在允许翻译的位置。通常可操作连接意味着是连续的且在读框中，然而，特定的遗传因子，如阻抑基因不是连续连接的，但是仍然结合操纵子序列，由此流控制表达。

适宜的宿主细胞包括，原核生物，低等真核生物和高等真核生物。原核生物包括革兰氏阴性和革兰氏阳性生物，例如，大肠杆菌和枯草芽胞杆菌。低等真核生物包括酵母，例如，酿酒酵母和毕赤酵母属，和盘基网柄菌属的物种。高等真核生物包括从动物细胞，非-哺乳动物源的，例如，昆虫细胞，和鸟，和哺乳动物源的，例如，人，灵长类动物，和啮齿类动物所建立的组织培养细胞系。

原核宿主-载体系统包括许多不同物种的各种载体。下面将描述大肠杆菌及其载体，但是等价载体和宿主通常可被置换。扩增 DNA 的代表性载体是 pBR322 或许多其衍生物。可用于表达受体同系物或其片段的载体包括，但不限于，这种载体，其含 lac 启动子 (pUC-系列)；trp 启动子 (pBR322-trp)；Ipp 启动子 (pIN-系列)；lambda-pP 或 pR 启动子 (pOTS)；或杂交启动子如 ptac (pDR540)。见 Brosius 等 (1988) “Expression Vectors Employing Lambda-, trp-, lac-, 和 Ipp-derived Promoters”，in Vectors: A Survey of Molecular Cloning Vectors and Their Uses, (eds. Rodriguez 和 Denhardt), Butterworth, Boston, Chapter 10, pp. 205-236, 其引入此处作为参考。

低等真核生物，例如，酵母和盘基网柄菌属，可用含 OX2RH 序列的载体转化。最普遍的低等真核宿主是面包酵母，酿酒酵母。它可用于举例说明低等真核生物，虽然许多其它的菌株和物种也是可用的。酵母载体代表性地由复制起点 (除整合类型外)，选择基因，启动子，编码受体同系物或其片段的 DNA，翻译终止、聚腺苷酸化、和转录终止序列所组成。酵母的适宜表达载体包括这样的组成型启动子，如 3-磷酸甘油酸激酶和各种其它的糖酵解酶基因启动子，或这样的诱导型启动子，如醇脱氢酶 2 启动子或金属硫蛋白启动子。适当的载体包括下列类型的衍生物：自复制低拷贝数 (如 Yrp-系列)，整合型 (如

YEp-系列)；自-复制高拷贝数(如 YIp-系列)，或微型-染色体(如 Ycp-系列)。

5 高等真核生物组织培养细胞通常是优选的，用于表达功能活性的 OX2RH 蛋白的宿主细胞。原则上，许多高等真核组织培养细胞系是可使用的，例如，昆虫杆状病毒表达系统，不管来源于无脊椎动物或脊椎动物源。然而，哺乳动物细胞是优选的。这种细胞的繁殖和转染或转化已经变成常规的过程。有用的细胞系的实施例包括 HeLa 细胞，中国仓鼠卵巢(CHO)细胞系，幼龄大鼠肾(BRK)细胞系，昆虫细胞系，鸟细胞系，和猴细胞系(COS)。这种细胞系的表达载体通常包
10 括复制起点，启动子，翻译起始位点，RNA 剪接位点(如果使用基因组 DNA)，聚腺苷酸化位点，和转录终止位点。这些载体通常还包含选择基因或扩增基因。适宜的表达载体可以是质粒，病毒，或携带启动子的逆病毒，该启动子来源于这种源，例如，腺病毒，SV40，细小病毒，痘苗病毒，或巨细胞病毒。适宜表达载体的代表实施例包括
15 pCDNA1;pCD，见，Okayama 等(1985) Mol. Cell Biol. 5:1136-1142;pMClneo PolyA，见 Thomas 等(1987) Cell 51:503-512；和杆状病毒载体如 pAC 373 或 pAC 610。

对于分泌蛋白和某些膜蛋白来说，可读框通常编码多肽，该多肽是由在它 N-末端与信号肽共价连接的成熟或分泌产物组成的。信号肽
20 是先于成熟，或活性多肽的分泌而裂开的。该裂解位点可根据经验规则高度准确地预测，例如，von-Heijne(1986) Nucleic Acids Research 14:4683-4690，和 Nielsen 等(1997) Protein Eng. 10:1-12。信号肽的精确氨基酸构成常常对其功能不重要，例如，Randall 等(1989) Science 243:1156-1159；Kaiser 等(1987) Science
25 235:312-317。使用标准方法可以很容易地测定本发明的成熟蛋白。

期望在提供特异性或确定糖基化模式的系统中表达这些多肽。在这种情况下，普通模式是通过表达系统天然提供的。然而，该模式可以通过暴露多肽，例如，非糖基化形式，于引入异源表达系统中的适宜糖基化蛋白而修饰。例如，OX2RH 基因可能是与一种或多种编码哺乳动物或其它糖基化酶的基因共转化的。使用这种方法，某些哺乳动物
30 的糖基化模式可在原核生物或其它细胞中得到。原核细胞中的表达可代表性地产生非糖基化形式的蛋白。

如上所述，OX2RH 源可以是表达重组多肽的真核或原核宿主。该源也可以是细胞系，本发明还预期其它哺乳动物的细胞系，和来源于人类物种的优选细胞系。

既然该序列是已知的，灵长类动物的 OX2RH，片段，或其衍生物可以通过合成肽的常规方法来制备。这些包括在 Stewart 和 Young(1984)Solid Phase Peptide synthesis, Pierce Chemical Co., Rockford, IL; Bodanszky 和 Bodanszky (1984)The Practice of Peptide Synthesis, Springer-Verlag, New York; 和 Bodanszky (1984)The Principles of Peptide Synthesis, Springer-Verlag, New York 中所描述的方法；所有均引入此处作为参考。例如，可以使用叠氮化物方法，酰基氯方法，酸酐方法，混合酸酐方法，活化酯方法（例如，对-硝基苯酯，N-羧基琥珀酰亚胺酯，或氰甲基酯），碳二咪唑方法，氧化-还原方法，或二环己基碳二亚胺（DCCD）/附加方法。相似的技术可以与部分 OX2RH 序列一起使用。

OX2RH 蛋白，片段，或衍生物可以根据用于肽合成的上述方法适当地制备，通常通过所谓的分步方法，其包含按顺序逐一将氨基酸缩合到末端氨基酸，或通过将肽片段偶合到末端氨基酸。未在偶联反应中使用的氨基必须被保护，以防止在错误的位置偶合。

如果采用固相合成，C-端氨基酸通过它的羧基被束缚在不可溶的载体或支持物上。不溶性载体应当具有与反应羧基结合的能力，例如，卤甲基树脂，如氯甲基树脂或溴甲基树脂，羟甲基树脂，苯酚树脂，叔-烷氧基羰基 hydrazidated 树脂等。

氨基保护的氨基酸通过其活化羧基及预先形成的肽或链的反应氨基的缩合而束缚在序列中的，以逐步合成肽。在合成完整的序列之后，该肽从不溶性载体上断裂下来，以产生该肽。此固相方法通常是由 Merrifield 等，(1963) in J. Am. Chem. Soc. 85:2149-2156 描述的，其引入此处作为参考。

所制备的蛋白和其片段可以通过肽分离，例如，通过提取，沉淀，电泳，各种形式的色谱等从反应混合物中分离并纯化。本发明的受体同系物可根据所期望的用途，以各种纯度得到。纯化步骤可以通过使用标准蛋白纯化技术，或免疫吸附亲和色谱法中描述的抗体来完成。代表性地，亲和色谱是这样进行的，首先将抗体连接到固体支持物

上, 然后使所连接的抗体与适宜细胞的溶解裂解产物, 其它表达 OX2RH 的细胞的裂解产物, 或通过 DNA 技术生产蛋白的细胞的上清液或裂解产物相接触。

通常, 纯化的蛋白为至少约 40% 的纯度, 一般至少约 50% 纯度, 通常至少约 60% 纯度, 代表性地至少约 70% 纯度, 更典型地至少约 80% 纯度, 优选至少约 90% 纯度, 且更优选至少约 95% 纯度, 且在特殊的实施方案中, 为 97%-99% 或更高。纯度通常是在重量的基础上, 但也可以是摩尔的基础上。可使用不同的测定方法。各蛋白可被纯化, 然后合并。

10 VI. 抗体

可将抗体培养成各种哺乳动物, 例如, 灵长类动物, OX2RH 的蛋白及其片段, 均是天然存在的天然形式或是它们的变性形式。所培养的天然 OX2RH 的抗体可能识别抗原决定部位, 其仅仅存在于天然构象中。变性抗原的检测在 Western 分析中可能是有效的。还涉及抗-独特型抗体, 其可能是有效的, 例如, 诊断试剂。

可相对于预定的蛋白片段培养包括结合片段和单链译本的抗体, 该培养可以通过用具有免疫原蛋白的片段接合物免疫接种动物而进行。单克隆抗体是从分泌所期望抗体的细胞制备的。可筛选这些抗体与正常或缺损蛋白的结合, 或筛选激动或拮抗的活性。这些单克隆抗体通常以至少约 1mM, 更通常至少约 300 μ M, 典型的至少约 100 μ M, 更典型的至少约 30 μ M, 优选至少约 10 μ M, 且更优选至少约 3 μ M 或更好的 kD 结合。

本发明包括抗原结合片段的抗体可能具有重要的诊断或治疗价值。它们可能是有效的拮抗剂, 其结合受体同系物, 并抑制与配位体结合或抑制受体同系物引起生物应答的能力, 例如, 作用于其底物。它们作为非-中和抗体可能也是有效的, 且可被偶联到毒素或放射性核素上, 结合产生细胞的 OX2RH。此外, 这些抗体可通过连接体被直接或间接地接合到药物或其它治疗剂上。

本发明的抗体在诊断应用中也是有效的。作为捕获或非-中和抗体, 它们可以结合 OX2RH 而不会抑制配位体或底物结合。作为中和抗体, 它们在竞争性结合测定法中是有效的。它们在检测和量化配位体中也是有效的。它们可被用作 Western 印迹分析, 或用于相应蛋白

免疫沉淀或免疫纯化的试剂。同样地，核酸和蛋白可固定在固体基质上，用于亲和纯化或检测方法中。该基质可以是，例如，固体树脂颗粒，塑料板，或衍生的玻璃。

5 蛋白片段可连接到其它材料，特别是多肽上，象融合的或共价连接的多肽，用作免疫原。哺乳动物的 OX2RH 多肽和片段可被融合或共价连接到各种免疫原，如匙孔蛾血蓝蛋白，牛血清白蛋白，破伤风类毒素等上。见 Microbiology, Hoeber Medical Division, Harper 和 Row, 1969; Landsteiner(1962)Specificity of Serological Reactions, Dover Publication, New York; 和 Williams 等 (1967) 10 Methods in Immunology and Immunochemistry, Vol. 1, Academic Press, New York; 其均引入此处作为参考。典型的方法包括用抗原超免疫动物。在重复免疫之后，立即采集动物的血，并分离血清和 γ -球蛋白。

在某些实施例中，期望自各种哺乳动物宿主，如小鼠，啮齿类动物，15 灵长类动物，人等制备单克隆抗体。见，例如，Stites 等 (eds.) Basic and Clinical Immunology (4th ed.), Lange Medical Publications, Los Altos, CA, 和其中引用的参考文献; Harlow 和 Lane (1988) Antibodies: A laboratory Manual, CSH Press; Goding (1986) Monoclonal Antibodies: Principles and Practice (2d ed.) 20 Academic Press, New York; 和 Kohler 和 Milstein (1975) Nature 256:495-497, 其均引入此处作为参考。简要地，将免疫原注射到动物中诱发免疫应答。然后杀死该动物，并从其脾脏采集细胞，其与骨髓瘤细胞融合，以产生杂交瘤。然后筛选杂交瘤群体，以分离分泌结合免疫原抗体的单-克隆。

25 其它适当的技术包括淋巴细胞至抗原多肽的体外暴露，或选择性地，选择噬菌体或相似载体中的抗体库。见，Huse 等 (1989) "Generation of a Large Combinatorial Library of the Immunoglobulin Repertoire in Phage Lambda," Science 246:1275-1281; 和 Ward 等 (1989) Nature 341:544-546, 其均引入 30 此处作为参考。可以生产嵌合抗体或人源化抗体，见 Cabilly, 美国专利第 4,816,567; 或在转基因小鼠中生产，见 Mendez 等 (1997) Nature Genetics 15:146-156。这些文献均引入此处作为参

考。

常常标记多肽和抗体。各种标记和接合技术是已知的，且在科学文献和专利文献中广泛地报道。适宜的标记物包括放射性核素，酶，底物，辅因子，抑制因子，荧光素部分，化学发光部分，磁性颗粒等。

5 教导这种标记物的用途的专利包括美国专利第 3, 817, 837; 3, 850, 752; 3, 939, 350; 3, 996, 345; 4, 277, 437; 4, 275, 149; 和 4, 366, 241。

10 本发明的抗体还可用于分离 OX2RH 蛋白或肽的亲色谱。可制备柱子，其中抗体连接到固体支持物，例如，颗粒，如琼脂糖，Sephadex 等上，细胞裂解产物可通过柱子，洗脱柱子，接着增加温和变性剂的浓度，由此释放纯化的蛋白。选择性地，该蛋白可用于纯化抗体。可以使用适宜的交叉吸收或排除。

该抗体可用于筛选特殊表达产物的表达库。通常使用由于抗体结合，可很容易地检测抗原存在的部分标记这种过程中的抗体。

15 相对于 OX2RH 培养的抗体可用于培养抗-独特型抗体。这些在检测或诊断各种免疫疾病中是有效的，该疾病与表达该蛋白的细胞或蛋白的表达有关。它们作为配位体的激动剂或拮抗剂也是有效的，其可能是天然存在的抗体的竞争性抑制因子或置换物。

20 受体同系物蛋白代表性地是在免疫测定法中测定的，该受体同系物蛋白特异性地结合或特异性地与抗体免疫反应，该抗体是相对于所确定的免疫原，如由抗 SEQ ID NO:2 的氨基酸序列所组成的免疫原产生的。该免疫测定法代表性地使用多克隆抗血清，其被培养为，例如，SEQ ID NO:2 的蛋白。选择此抗血清，以使其具有相对于其它 Ig 超家族受体成员，例如，NKG2D 的低交叉反应性，优选来源于相同的物种，且任一这种交叉反应性是在用于免疫测定之前通过免疫吸收除去的。

25 为了生产用于免疫测定的抗血清，SEQ ID NO:2 的蛋白是如所述方法分离的。例如，可以在哺乳动物细胞系中生产重组蛋白。适宜的宿主，例如，小鼠如 Balb/c 的近交品系，是用所选择的蛋白免疫的，代表性地使用标准佐剂，如 Freund's 佐剂，和标准的小鼠免疫方案（见，Harlow 和 Lane, supra）。选择性地，来源于此处公开序列且接合到载体蛋白上的合成肽可用作免疫原。采集多克隆血清，且在免疫

测定法中，相对于免疫原蛋白滴定，例如，具有固定在固体支持物上的免疫原的固相免疫测定法。选择具有 10^4 或更大滴定度的多克隆抗血清并测试它们相对于其他 Ig 超家族受体成员的交叉反应性，其是使用竞争性结合免疫测定法，如 Harlow 和 Lane, *supra*, 570-573 页中描述的方法进行的。优选至少两个受体家族成员用于此测定中。这些受体家族成员可作为重组蛋白而生产，并使用所述的标准分子生物学和蛋白化学技术分离。

竞争性结合形式中的免疫测定法可用于交叉反应性的测定。例如，SEQ ID NO:2 的蛋白可被固定在固体支持物上。加入到试验中的蛋白与抗血清竞争结合固定抗原。将上述蛋白竞争抗血清与固定化蛋白结合的能力与该蛋白进行比较。使用标准计算法计算上述蛋白交叉反应性的百分比。选择并混合上述所列与各种蛋白具有小于 10% 交叉反应性的抗血清。通过用上面列出的蛋白免疫吸收，而从混合抗血清中除去交叉反应的抗体。

免疫吸收和混合的抗血清用于上述竞争性结合免疫测定中，以将次级蛋白比作免疫蛋白（例如，SEQ ID NO:2 的 OX2RH1 样蛋白）。为了进行对比，在较宽浓度范围下，测定这两种蛋白，并确定抑制 50% 抗血清与固定化蛋白结合所需的各蛋白量。如果所需要的次级蛋白的量小于所选择蛋白或所需蛋白量的两倍，则认为该次级蛋白特异性地结合对于免疫原所产生的抗体。

这些 OX2 受体同系物蛋白是同系蛋白家族的成员，其包含至少 6 种迄今鉴定的基因。对于特殊的基因产品来说，如 OX2RH1，该术语不仅指此处公开的氨基酸序列，还指等位的，非-等位的其它蛋白，或物种变体。该术语包括通过预先准备的突变而引入的非天然突变，其是通过使用常规重组技术，如单一位点突变，或通过切除编码各蛋白的 DNA 短片，或通过置换新的氨基酸，或加入新的氨基酸而进行的。这种微小的改变代表性地可基本上维持原始分子的免疫性质和/或其生物活性。因而，这些改变包括这样一种蛋白，其与指定的天然存在的 OX2RH 蛋白特异性免疫反应。改变蛋白的生物特性可以通过在适当的细胞系中表达该蛋白并测量对转染淋巴细胞的适宜效果而确定。微小的特殊蛋白修饰包括具有相似化学特性的氨基酸的保守置换，如上所述对于受体同系物家族整体而言。通过对蛋白，最好是受体同系物

的蛋白进行序列对比，并使用此处描述的常规免疫测定法，可以确定本发明的蛋白组分。

VII. 试剂盒和定量

5 本发明所有天然存在和重组形式的受体样分子在试剂盒和测定法中均是特别有用的。例如，这些方法可用于筛选结合活性，例如，这些蛋白的配位体。近几年已经提出了各种自动测定方法，以便每年筛选成百上千种化合物。见，例如，BIOMEK automated workstation, Beckman Instruments, Palo Alto, California, 和 Fodor 等, (1991) Science 251:767-773, 其引入此处作为参考。后者描述了通过大多数在固体培养基上合成的确定聚合物测试结合的方法。大量活性状态的纯化可溶性受体，如本发明提供的受体，可大大地促进用于筛选配位体或激动剂/拮抗剂同源蛋白的适宜测定法的研究。

10 纯化的 OX2RH 可直接被涂在平板上，以用于上述配位体筛选技术中。然而，这些蛋白的非-中和抗体可作为俘获抗体使用，以将各受体同系物固定在固相上，用于诊断用途。

15 本发明还涉及 OX2RH, 其片段, 肽, 和它们的融合产物在检测蛋白或其配位体存在的各种诊断试剂盒和方法中的用途。选择性地, 或附带地, 可将该分子的抗体加入到试剂盒和方法中, 且可用于量化 OX2RH 或表达它们的细胞。代表性地, 该试剂盒具有区室, 其包含 OX2RH 肽或基因区段或试剂, 其识别一种或另一种。代表性地, 识别试剂, 20 在有肽的情况下, 是一种受体同系物或抗体, 或在基因区段的情况下, 通常是一种杂交探针。

25 确定样品中 OX2RH 浓度的优选试剂盒应代表性地包含标记的化合物, 例如, 配位体或抗体, 具有对 OX2RH 的已知结合亲和力, 作为阳性对照的一种 OX2RH 源 (天然存在的或重组的), 和从游离的标记化合物分开束缚的工具, 例如, 在试验样品中固定 OX2RH 的固相。一般提供含试剂和说明书的区室。还提供含适当核酸或蛋白的试剂盒。

30 抗体, 包括抗原结合片段, 对于哺乳动物的 OX2RH 是特异性的, 或肽片段, 或受体同系物片段, 其在检测同系物和/或其片段升高水平存在的诊断应用中是有用的。诊断测定方法可以是均质的 (在游离试剂和抗体-抗原复合体之间没有分离步骤) 或异质的 (具有分离步骤)。已经有各种商业化的测定方法存在, 如放射性免疫测定法

(RIA), 酶-联免疫吸收测定法 (ELISA), 酶免疫测定法 (EIA), 酶-复合的免疫测定技术 (EMIT), 底物标记荧光免疫测定法 (SLFIA) 等。例如, 未标记的抗体可以通过使用次级抗体而被应用, 该次级抗体是被标记的, 且识别受体同系物或其特殊片段的抗体。这些测定法
5 已经在文献中广泛地公开, 见, 例如, Harlow 和 Lane(1988)Antibodies:A Laboratory Manual, CSH., 和 Coligan(ed.1991 和定期增刊)Current Protocols In Immunology Greene/Wiley, New York.

10 抗-独特型抗体可能具有相似的用途, 以作为受体同系物的激动剂或拮抗剂起作用。在适宜的环境下, 这些作为治疗试剂应当是有效的。

通常, 在试剂盒中提供用于诊断测定法的试剂, 以便使测定法的灵敏性最佳。对于本发明来说, 取决于测定法的特性, 提供方案, 且提供标记物, 标记或未标记的抗体, 或标记的配位体。这通常与其它
15 的附加剂, 如缓冲液, 稳定剂, 信号产生所必需的材料, 如酶的底物等相结合。优选地, 该试剂盒还包括适当使用和使用之后处理内容物的说明书。代表性地, 该试剂盒具有各有用试剂的区室, 且包含适当使用和
20 处理试剂的说明书。期望, 该试剂是以干燥的冻干粉末形式提供的, 其中该试剂可在适宜浓度的含水介质中重新构成, 以完成测定。

诊断测定法的上述组成可以没有改变地使用, 或被改变成各种形式。例如, 标记可以通过共价或非-共价地结合直接或间接地提供可检测的信号的部分来获得。在许多测定法中, 试验化合物, 受体同系物, 或抗体可被直接地或间接地标记。直接标记的可能性包括标记
25 组: 放射性标记物如 ^{125}I , 酶 (美国专利第 3,645,090), 如过氧化物酶和碱性磷酸酶, 和能够监测荧光强度, 波长变换, 或荧光极化变化的荧光标记物 (美国专利第 3,940,475)。所有专利均在此引入作为参考。间接标记的可能性包括一个组分的生物素酰化, 接着结合偶联到上述标记组其中一个上的抗生物素蛋白。

30 还有许多从游离配位体上分开束缚的方法, 或选择性地从游离的试验化合物上分开束缚的方法。该受体同系物可固定在各种基质上, 然后洗涤。适当的基质包括塑料, 如 ELISA 平板, 滤纸, 和颗粒。将

受体同系物固定在基质上的方法包括，但不限于，直接粘合到塑料上，利用俘获抗体，化学偶联，和生物素-抗生物素蛋白。此方法中的最后一步包括通过各种方法中的任一种沉淀抗体/抗原复合体，该方法包括利用，例如，有机溶剂，如聚乙二醇或盐，如硫酸铵的那些。

5 其它适当的分离技术包括，但不限于，荧光素抗体磁性颗粒方法，其在 Rattle 等 (1984) Clin. Chem. 30(9): 1457-1461 中描述，和美国专利第 4,659,678 中描述的双抗体磁性颗粒分离，其均在此引入作为参考。

10 将蛋白或片段连接到各种标记物上的方法已经在文献中广泛地报道了，不需要在此处详细地描述。许多技术包括活化羧基的使用，其是通过碳化二胺或活性酯的使用而活化的，从而形成肽键，通过使巯基与活化的卤素，如氯乙酰基，或活化的石蜡，如马来酰亚胺反应形成硫醚，键，等。融合蛋白也可用于这些应用中。

15 本发明的其它诊断方面包括从受体同系物序列采集的寡核苷酸或多核苷酸序列。这些序列可用作检测怀疑具有免疫疾病的患者中体内相应受体同系物水平的探针。RNA 和 DNA 核苷酸序列的制备，该序列的标记，和该序列的优选大小已经在文献中受到了充分的描述和论述。通常寡核苷酸探针应具有至少约 14 个核苷酸，通常至少约 18 个核苷酸，且多核苷酸探针可达到若干千对碱基。可以使用各种标记物，最通常是放射性核素，特别是 ^{32}P 。然而，也可以使用其它技术，如使用生物素修饰的核苷酸引入多核苷酸中。该生物素作为结合抗生物素蛋白或抗体的位点起作用，其可以用各种标记物，如放射性核素，荧光剂，酶等标记的。选择性地，可以使用抗体，其能够识别特异性双链体，包括 DNA 双链体，RNA 双链体，DNA-RNA 杂交双链体，20 或 DNA-蛋白双链体。还可对该抗体进行标记，并进行测定，其中双链体束缚在表面上，这样根据表面双链体的形成，可以检测束缚在双链体上的抗体的存在。新反义 RNA 探针的使用可以常规的技术来进行，如核酸杂交，加和减筛选，重组探测，杂交分子释放翻译 (HRT)，和杂交扣留翻译 (HART)。其还包括扩增技术如聚合酶链反应 (PCR)。

30 还涉及诊断试剂盒，其测试其它标记物的定性和定量存在。诊断或预后可依赖用作标记物的多指征的组合。因而，试剂盒可测试标记物的组合。见，例如，Viallet 等 (1989) Progress in Growth Factor

Res. 1:89-97.

VIII. 治疗用途

本发明提供具有重要治疗价值的试剂。见，例如，Levitzki (1996) Curr. Opin. Cell Biol. 8:239-244。受体同系物（天然存在的或重组的），其片段，突变蛋白的受体，和抗体，连同被鉴定为与受体同系物或抗体具有结合亲和性的化合物一起，在疾病的治疗中应当是有效的，其中骨髓谱系细胞功能的调节是特别期望的。这种变态代表性地通过免疫疾病来证明，且通过骨髓细胞活性对生理过程，例如，CNS 成熟或发育等产生影响的疾病来证明。附带地，本发明还应当提供在各种疾病或与对配位体应答的变态引发或变态表达相关的疾病中的治疗价值。

白细胞，包括巨嗜细胞/骨髓谱系细胞，表达 OX2R，也包括在病理学中，且有助于疾病的处理，期望抑制这些细胞的功能。这可以通过 OX2R 的适当刺激而获得，这样调动了信号产生受体的细胞-抑制活性。这可以使用，例如，配位体 OX2 的激动剂或 OX2R 抗体来获得，其对于受体具有激动活性。适当的疾病是这样的疾病，其中动物显示炎症，白细胞增生，神经变性，或创伤后疾病的病征和症状。优选的实施方案包括，其中的病征或症状位于神经组织；淋巴组织；骨髓组织；胰脏；胃肠组织；甲状腺组织；肌肉组织；或皮肤或胶原组织中。特定的实施方案包括，其中的动物经受了自身免疫，炎症；组织特异性自身免疫；变性自身免疫；类风湿性关节炎；动脉粥样硬化；多发性硬化症；脉管炎；迟发型过敏反应；植皮术；移植；脊柱损伤；中风；神经变性；或局部缺血的病征或症状。给药药剂可与：抗炎细胞因子激动剂或拮抗剂；解热镇痛剂；抗炎剂或类固醇相组合。

相反，如果白细胞，包括巨嗜细胞/骨髓谱系细胞，表达 OX2R，包括在免疫和接种，修复机理，限制病理学，或控制感染，特别是细菌感染的过程中，期望提高这些细胞的功能。这可以通过 OX2R 的适当刺激而治疗获得，这样可调动信号产生受体的细胞活化活性，或通过完全地阻断 OX2-OX2R 相互作用而获得，其应能够使细胞活化进行。后者出现在配位体 OX2 基因剔除小鼠中，配位体 OX2 的缺少引起骨髓细胞活化。这可以使用，例如，配位体 OX2 的拮抗剂（如配位体 OX2 的抗体），防止 OX2-OX2R 相互作用的 OX2R 的抗体，防止 OX2R 表达的

反义核酸，Ig-OX2R 融合蛋白，例如，其通过竞争性结合，阻断与细胞束缚 OX2R 相互作用的细胞束缚 OX2 的容量，或小分子拮抗剂。此感觉模式具有体内促进骨髓细胞功能的用途，这已经通过试验加以证实了，例如，将产生人 IgG-小鼠 OX2RH1 融合蛋白的腺病毒结构静脉内注射到小鼠中，已知其中的融合蛋白结合小鼠 OX2，其导致这些小鼠中的自身免疫疾病试验性自身免疫脑脊髓炎（EAE）发病的加速，与接收仅仅产生脊柱人 IgG-融合蛋白的腺病毒结构的小鼠对照。疾病加速的程度与在小鼠中所见的是可比较的，其中 OX2R 的配位体，即 OX2，已经通过基因导向而被失活了。

10 选择性地，如果此处描述的各种 OX2R 分子已经使抑制功能活化，那么包括细胞活化的 OX2R 的特异性活化可能是适宜的。这可以通过，例如，具有特定 OX2R 激动活性的特异性抗体的使用来获得。在各种实施方案中，使用该方法，其中动物经受创伤愈合或凝块形成的病征或症状，其中期望可以提高巨噬细胞的活化，或动物经受细菌感染，其中期望通过粒细胞和/或巨噬细胞提高吞噬活性。给药通常与：血管生成因子；生长因子，包括 FGF 或 PDGF；抗生素；或凝血因子组合。

15 可以纯化重组受体，突变蛋白，激动剂或拮抗剂的抗体，或抗体，然后将其给予患者。这些试剂可与附加的活性成分，例如，常规的药学上可接受的载体或稀释剂，连同生理学无害的稳定剂和赋形剂组合，用于治疗用途。这些组合可以是无菌的，例如，滤过的，并将冻干的给药形式分置在小瓶中或在稳定的含水制剂中贮藏。本发明还涉及抗体或其结合片段的用途，其不是补体结合。

20 可使用受体或其片段进行配位体筛选，以鉴定对受体具有结合亲和力的分子。然后可以利用随后的生物测定法确定是否推断的配位体能够提供竞争性结合，其可以阻断内在刺激活性。可将受体片段用作阻断剂或拮抗剂，其中它阻断配位体的活性。同样，具有内在刺激活性的化合物可以激活受体，且是一种刺激配位体活性，例如，包括信号产生的激动剂。本发明还涉及受体的抗体作为拮抗剂的治疗用途。

30 有效治疗所需的试剂量取决于许多不同的因素，包括给药的方法，靶位点，试剂的生理寿命，药理寿命，患者的生理状态，和其它给药的药剂。因而，应当滴定治疗剂量，以使安全性和有效性最优化。代表性地，体外给药可以为对这些试剂原位给药有效的量提供有益的

指导。特殊疾病治疗有效量的动物试验可为人的给药剂量提供进一步的预示。描述了各种因素，例如，Gilman 等 (eds. 1990) Goodman and Gilman's: The Pharmacological Bases of Therapeutics, 8th Ed., Pergamon Press; 和 Reminton's Pharmaceutical Science, 17th ed. (1990), Mack Publishing Co., Easton, Penn., qi 2 均引入此处作为参考。其中讨论了给药方法，例如，口服，静脉内，腹膜内，或肌肉内给药，透皮扩散，及其它。药学上可接受的载体包括水，盐水，缓冲液，和所述的其它化合物，例如，Merck Index, Merck & Co., Rahway, New Jersey。一般期望给药范围低于 100mM 浓度，代表性少于约 1mM 浓度，通常少于约 100 μ M，优选少于 1 μ M，最优选少于约 10nM，与适宜的载体。缓释制剂，或缓释设备通常利用于连续给药。

受体同系物，其片段，和抗体或其片段，拮抗剂，和激动剂，可以直接给予接受治疗的宿主，根据化合物的大小，期望在给药之前使它们与载体蛋白，如卵清蛋白或血清白蛋白接合。治疗制剂可以许多常规的给药制剂给予。尽管可以单独给予活性成分，但优选以药物制剂的形式提供。制剂包含至少一种活性成分，如上所述的，连同一种或多种其可接受的载体。每种载体均必须是药学上和生理学上可接受的，与其成分相配伍，且不伤害患者。制剂包括适于口服，直肠，鼻，或胃肠外（包括皮下，肌肉内，静脉内和透皮）给药的那些。该制剂可以常规的单位剂量形式给出，且可以通过制药领域熟知的方法制备。见，例如，Gilman 等 (eds. 1990) Goodman and Gilman's: The Pharmacological Bases of Therapeutics, 8th Ed., Pergamon Press; 和 Remington's Pharmaceutical Sciences 17 th ed. (1990), Mack Publishing Co., Easton, Penn.; Avis 等 (eds. 1993) Pharmaceutical Dosage Forms: Parenteral Medications Dekker, NY; Lieberman 等 (eds. 1990) Pharmaceutical Dosage Forms: Tablets Dekker, NY; 和 Lieberman 等 (eds. 1990) Pharmaceutical Dosage Forms: Disperse Systems Dekker, NY。本发明的疗法可以与其它治疗剂，特别是其它受体家族成员的激动剂或拮抗剂结合或联合使用。

IX. 筛选

可以使用 OX2RH 或其片段进行药物筛选，以鉴定对受体同系物有

结合亲和力的化合物，包括相关组分的分离。然后可以利用随后的生物测定法来确定该化合物是否具有内在刺激活性，且因此其是一种阻断剂或拮抗剂，其中它阻断配位体的活性。同样，具有内在刺激活性的化合物可以激活受体，且因而其是一种激动剂，其中它刺激配位体，例如 OX2 的活性。本发明还涉及受体的抗体作为激动剂或拮抗剂的治疗用途。

同样，含多种蛋白的复合体可用于筛选能够识别复合体的试剂或配位体。某些受体包含至少两个亚单位，其可以是相同的，或不同的。选择性地，跨膜受体可以结合含配位体的复合体，该配位体与作为次级受体亚单位起作用的其它可溶蛋白相关。

药物筛选的其中一个方法利用真核或原核宿主细胞，其是用表达 OX2RH 的重组 DNA 分子转化的，与其它受体亚单位组合。可以分离细胞，其表达从其它功能受体分离的受体。这种细胞，活动或固定的形式，可用于标准的抗体/抗原或配位体/受体结合测定法。见，Parce 等 (1989) Science 246:243-247; 和 Owicki 等 (1990) Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 87:4007-4011, 其描述了对检测细胞应答敏感的方法。竞争性测定法是特别有用的，其中该细胞 (推断配位体的源) 是用标记的受体或对配位体具有已知结合亲和力的抗体，如 ^{125}I -抗体培养或接触的，且测量对结合组分具有结合亲和力的试验样品。然后分离结合的和游离的标记结合组分，以评估配位体结合的程度。试验化合物结合的量与结合已知源的标记受体的量成反比。许多技术可用于自游离配位体分开结合配体，以评估配位体结合的程度。此分离步骤应代表性地包含一个过程，如与滤纸粘合，接着清洗，与塑料粘合，接着清洗，或离心细胞膜。活动细胞可用于筛选药物对 OX2 介导的功能，例如，次级信使水平，即 Ca^{++} ；细胞增殖；肌醇磷酸盐混合变化；及其它的效果。某些检测方法可以删除分离步骤，例如，接近敏感的检测系统。钙感感染料对于检测 Ca^{++} 水平是有效的，使用荧光计或荧光细胞分选设备。

X. 配位体

OX2RH 的描述提供了鉴定上述配位体的方法。这种配位体应当以相当高亲和性特异性地结合的各受体。可有效的生产各种构造，其标记受体以检测它的配位体。例如，直接标记受体，将它融合在用于次

级标记的标记物上，例如，FLAG 或其它抗原决定部位的标记物，等，以检测受体。这可能是组织学的，作为生物化学纯化的亲和方法，或在表达克隆方法中标记或选择。两-杂交选择系统可用于生产具有有效受体序列的适宜构造。见，例如，Fields 和 Song(1989)Nature 340:245-246。

参考下列实施例更好地理解本发明的较宽范围，该实施例不意味着本发明局限于特殊的实施方案。

实施例

I. 一般方法

描述并参考了一些标准方法，例如，Maniatis等(1982)Molecular Cloning, A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor Press; Sambrook 等(1989) Molecular Cloning:A Laboratory Manual, (2d. ed.), vols. 1-3, CSH Press, NY; 或 Ausubel 等(1987和增刊) Current Protocols in Molecular Biology, Greene/Wiley, New York. 蛋白纯化方法包括硫酸铵沉淀，柱色谱，电泳，离心，结晶，及其它。见，例如，Ausubel 等(1987和定期增刊); Coligan 等(ed. 1996)和定期增刊, Current Protocols In Protein Science Greene/Wiley, New York; Deutscher(1990) “ Guide to Protein Purification ” in Methods in Enzymology, vol. 182, 及此系列中的其它卷; 和利用蛋白纯化产物的生产者文献，例如，Pharmacia, Piscataway, N. J., 或 Bio-Rad, Richmond, CA. 与重组技术结合而融合成适宜的区段，例如，FLAG 序列或可经由蛋白酶-可除去序列融合的一种等价体。见，例如，Hochuli(1990) “ Purification of Recombinant Proteins with Metal Chelate Absorbent ” in Setlow(ed.) Genetic Engineering, Principle and Methods 12:87-98, Plenum Press, N. Y.; 和 Crowe 等(1992) OIAexpress:The High Level Expression & Protein Purification System QUIAGEN, Inc., Chatsworth, CA.

进行计算机序列分析，例如，使用可用的软件程序，包括来源于 GCG(U. Wisconsin)和 GenBank 源的那些。还使用公共序列数据库，例如，来源于 GenBank 及其它。

许多可应用于 IL-10 受体的技术也可用于 OX2RH，如所述的，例

如, in USSN 08/110, 683(IL-10 受体), 其引入此处作为参考。

II. 阻断巨嗜细胞上的大鼠 OX2/OX2RH 相互作用的单克隆抗体

使用重组 OX2-CD4 蛋白和大鼠腹膜巨嗜细胞建立颗粒测定法。

见, Preston 等 (1997) Eur. J. Immunol. 27:1911-1918. 巨嗜细胞结
5 合于用重组 OX2-CD4 蛋白涂覆的荧光颗粒。用 0.1-0.25mg 的粗膜部
分, 或停留大鼠腹膜溢泌物细胞 (5 百万) 免疫接种 6 周大的 BALB/c
小鼠 (Williams and Barclay(1986) in Handbook of Experimental
Immunology vol. 1, 22.1-22.24, Blackwell Scientific Publications).
通过测试标记巨嗜细胞的各种稀释度的血清, 其中是通过间接免疫荧光
10 和流式细胞计而标记的, 筛选小鼠识别巨嗜细胞的高滴度抗体。对大
鼠巨嗜细胞产生良好免疫应答的小鼠通过腹膜溢泌物细胞的注射而
最终被激发。四天之后, 摘除脾脏, 并将其融合于 NS-1 骨髓瘤细胞
上, 而产生杂交瘤。筛选前的最终注射是脾脏内的。筛选杂交瘤上清
液标记大鼠巨嗜细胞的能力和阻断大鼠 OX2 与巨嗜细胞相互作用的能力。
15 得到并克隆一种被称作 OX102 的抗体。此抗体提供清楚的阻断。
此杂交瘤是大批生长的, 且该抗体是用标准方法纯化的。

III. OX102 mAb 抗原的纯化

纯化的 OX102 是共价偶联到生产者建议的 CNBr 活化的琼脂糖-4B
(Pharmacia) 上的。膜蛋白是使用吐温 40 和脱氧胆酸钠溶解的, 并
20 用偶联到 OX102 mAb 上的琼脂糖颗粒培养 70 小时。Williams and
Barclay(1986) in Handbook of Experimental Immunology vol. 1,
22.1-22.24, Blackwell Scientific Publications. OX102 mAb-
偶联的琼脂糖颗粒是通过离心成粒的, 并在 0.1% 十二烷基硫酸钠
(SDS) 中洗涤, 且最终在 0.5% SDS 中, 55℃, 洗脱 15 分钟。通过
25 SDS 聚丙烯酰胺凝胶电泳 (SDS-PAGE) 分析洗脱的部分。

IV. OX102 mAb 抗原的 N-端序列

氨基酸末端的测序是使用自动的 Edman 降解, 在 Applied
Biosystems Procise 494A 蛋白测序仪 (Perkin-Elmer Ltd. UK) 中
进行的。证实了表 1 中所示的 N-端序列。由于通过 N-连接的糖基化
30 作用修饰的天冬酰胺的存在, 假设黑色的环是天冬酰胺。通过筛选已
知的蛋白数据库, 其具有 OX102 mAb 抗原的 N-端 20 个氨基酸, 鉴定
该纯化的多肽是新的。此蛋白是大鼠的 OX2RH1。

V. 编码 OX102 mAb 抗原的 cDNA 克隆的分离

使用 RNAzol B(生物起源)从大鼠腹膜溢泌物细胞提取总的 RNA, 然后使用生产者推荐的 Oligo dT 颗粒 (Oligotex, QIAGEN) 纯化聚-A 部分。在有 $1\ \mu\text{M}$ 选择的有义和反义寡核苷酸, 1mM dNTPs, 2mM DTT, 50mM Tris-HCl pH8.3, 75mM KCl, 3mM MgCl_2 存在的情况下, 用 200U 的上标 II 反向转录酶 (GIBCO BRL) 处理约 50ng 聚 A+纯化的 mRNA, 并在 42°C 培养 1 小时。

然后将此 cDNA 用作 PCR 反应中的模板, 例如, $40\ \mu\text{l}$ 所提供的 10x Advantage Taq 嗜热 PCR 缓冲液 (由 Clontech 提供); $8\ \mu\text{l}$ 10mM 的 dNTP; $8\ \mu\text{l}$ Advantage Taq (Clontech); $2\ \mu\text{l}$ 上述制备的 cDNA; $318\ \mu\text{l}$ 蒸馏水; $16\ \mu\text{l}$ 反义, $10\ \mu\text{M}$ 降解的寡核苷酸, 其与的 N-端肽相对应; $8\ \mu\text{l}$ $10\ \mu\text{M}$ 有意义的寡核苷酸。所有的寡核苷酸引物均是用 5'端磷酸盐合成的 (Genosys), 以帮助克隆。

将 PCR 混合物等分成 $8 \times 50\ \mu\text{l}$ 的样品, 并经过 Robocycler PCR 机器中的 PCR 条件 (Stratagene), 其使操纵子同时改变分离样品中的退火温度。实施例参数是: 93°C 30 秒; 接着是 35 个周期: 93°C 30 秒; $42\text{--}56^\circ\text{C}$ 1 分钟; 72°C 30 秒; 和最终的 72°C 8 分钟周期。

$10\ \mu\text{l}$ 的 PCR 产物是用标准方法, 通过琼脂糖凝胶电泳分析的。具有 42°C , 44°C 和 46°C 退火温度的 3 个样品中, 长度在 100-300 个碱基对之间的 PCR 产物是从凝胶上切割的, 并使用 QIAquick (QIAGEN) 纯化核酸。这些纯化的产物是使用标准方法, 约 16°C , 48 小时, 连接到 PCRScript 载体 (Stratagene) 中的, 该载体已经被 SmaI 消化并磷酸酶处理了。

转化体最初是通过群落 PCR 筛选的, 且含适宜大小插入片段的 20 个菌落, 其是在 LB 肉汤中, 在有 $50\ \mu\text{g}/\text{ml}$ 氨苄青霉素情况下生长的和通过 QIAGEN 自动机纯化质粒。插入片段使用 BIGDYE 荧光双脱氧-终止子技术和 ABI-PRISM 型 377 (Perkin-Elmer Ltd., UK) 测序的。含核苷酸序列的插入片段, 该核苷酸序列编码 OX102 mAb 抗原的 N-端序列, 用于设计 3'RACE 反应的寡核苷酸。

OX102 抗原的完整 cDNA 序列是通过 3'RACE PCR (使用与上面相同的方案) 得到的, 但是通过使用适当的寡核苷酸在 $0.2\ \mu\text{M}$ 的最终浓度修饰的。PCR 条件, 例如, 是: 93°C 30 秒; 接着是 30 个周期: 93°C

30 秒; 51-65℃ 1 分钟; 72℃ 3.5 分钟; 和 72℃ 12 分钟的最终周期。

大约 2.3Kb 的带是自 65℃ 的 PCR 反应割除的, 凝胶纯化的, 用 NotI 和 XhoI 消化的, 使用标准方法连接到 NotI/XhoI 消化的载体 (PCRScript, Stratagene) 中。按上述方法对插入物测序。

OX102 蛋白的 cDNA 序列, 也称作大鼠的 OX2RH1, 在表 1 中列出。其它同系物实施方案的全长分离物被相似地克隆, 且证实了序列。可以很容易地应用标准方法。

VI. 获得其它的 OX2RH cDNA

10 对大鼠的 OX2RH1 核苷酸和预测的氨基酸序列的了解可使人们从其它物种获得同源功能的等价物, 包括小鼠或人的 OX2RH1, 根据序列相似性, 且因为大鼠的 OX2RH1 提供分离这种等价物的工具。

因而, 为了鉴定人的 OX2RH1, 可以检索现有的核苷酸和氨基酸序列的数据库, 对于未知同一性多肽 (例如, 存储从 Human Genome Project 得到的序列的数据库), 对于具有与此处提供的大鼠 OX2RH1 的核酸和氨基酸序列同源性的序列。该数据库, 其在许多地方存储和更新, 包括 European Bioinformatics Centre (<http://www.ebi.ac.uk/>) 和 National Center for Biotechnology Information (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>), 可通过广泛使用的程序, 如 FASTA 或 BLAST 来评估。这些数据库包括表达序列标记物 (ESTs) 的序列, 其是来自随机 cDNA 克隆测序的核苷酸序列短区。这使得小鼠或人 OX2RH 的部分 cDNA 克隆通过与此处提供的大鼠 OX2RH 序列信息进行对比而分离。然后可通过筛选巨嗜细胞 cDNA 或基因组库, 或通过引物延伸技术, 如此处所述得到全长大鼠 OX2RH1 克隆的那些来分离。

25 与大鼠 OX2RH1 相关的小鼠和人序列是从遗传序列数据库鉴定的, 其使用, 例如, BLAST 服务器 (Altschul 等 (1994) Nature Genet. 6:119-129)。标准分析程序可用于评估结构, 例如, PHD (Rost 和 Sander (1994) Proteins 19:55-72) 和 DSC (King 和 Sternberg (1996) Protein Sci. 5:2298-2310)。标准对比软件包括, 例如, Altschul 等 (1990) J. Mol. Biol. 215:403-10; Waterman (1995) Introduction to Computational Biology: Maps, Sequences,

and Genomes Chapman & Hall; Lander 和 Waterman(eds.1995)
Calculating the Secrets of Life; Applications of the
Mathematical Sciences in Molecular Biology National Academy
Press; 和 Speed 和 Waterman(eds.1996)Genetic Mapping and DNA
5 Sequencing(IMA Volumes in Mathematics and Its Applications,
Vol 81)Springer Verlag.

大鼠和人的 OX2RH1 核酸序列具有 50-98%的同源性, 例如, 可在
表 5 中观察到。对于其它的同系物, 相似性可能较少, 特别是与同系
物 3。

10 作为数据库筛选的一个选择, 此处提供的大鼠 OX2RH1 核酸序列
可用于筛选巨嗜细胞 cDNA 或基因组库, 以鉴定能在适宜的严格条件
下杂交的充分同源的人的序列。此方法用来分离人的 OX2 基因, 其是
使用大鼠 OX2 核酸作为探针进行的。McCaughan 等 (1987)
Immunogenetics25:329-335)。可广泛地使用 PCR, 其是基于使用
15 cDNA, 基因组 DNA, cDNA 克隆, 或基因组克隆的模板作为模板的方法,
一般方法可通过从 cDNA 分离小鼠的 OX2 来举例说明。见 Preston 等
(1997) Eur. J. Immunol. 27:1911-1918。

来源于所提供 OX2RH 序列的 PCR 引物用于探测人, 或其它物种或
组织, cDNA 库。序列可能来源于, 例如, 表 1-4, 优选邻近序列末端
20 的那些。通过 λ gt10 噬菌体的 DNA 杂交筛选克隆灵长类动物, 啮齿类
动物, 或其它物种 OX2RH 的全长 cDNA。PCR 反应是在适宜的条件下使
用 *T. aquaticus* Taqplus DNA 聚合酶 (Stratagene) 进行的。

此外, 大鼠的 OX2RH1 序列可用于分离相应的小鼠 OX2RH1 序列,
并鉴定在它们之间保守的区。特别是随着同系物组的发现, 可以鉴定
25 区域的相似性。保守-区域序列提供在物种范围内鉴定给定基因的有效
试剂。例如, 与相同的人和大鼠区之间的 77%同一性相比, 小鼠和
大鼠 OX2 的区 1 的氨基酸水平是 90%同一的。Preston 等, (1997)
Eur. J. Immunol. 27:1911-1918。

其它的方法是使用抗体试剂表达克隆, 或鉴定在 cDNA 库中表达
30 的交叉反应蛋白, 该库来源于适当的细胞类型, 例如, 巨嗜细胞, 或
来源于其它物种。

VI. 染色体定位

将该基因绘制成图谱。例如，制备染色体分布。原位杂交是在染色体试剂上进行的，该染色体试剂是从植物凝集素-激发的淋巴细胞，例如，从人，培养 72 小时得到的。将 5-溴脱氧尿苷加入到最后七小时的培养物中（60 μ g/ml 的培养基），以确保杂交后染色体带的良好质量。

PCR 片段，靠引物的帮助而被扩增，被克隆成适当的载体。该载体是通过用 ^3H 切口转译而标记的。使放射性标记的探针杂交，以在杂交溶液 200ng/ml 的最终浓度下中期涂布，如 Mattei 等 (1985) Hum. Genet. 69:327-331 所述的。

在用核示踪乳剂 (KODAK NTB) 涂覆之后，让载玻片曝光。为了避免显带过程中银光纹理的任意滑动，染色体涂布首先是用缓冲的吉姆萨溶液染色，并中期照相。然后通过荧光染料-光解-吉姆萨带 (FPG) 方法完成 R-带，并在分析之前中期重照相。

类似的适当方法被用于其它物种。

VIII. 各种 OX2RH mRNA 的定位

当 OX2RH1 所期望的表达模式主要位于巨嗜细胞，粒细胞，和肥大细胞上时，同系物 H2, H3, 和/或 H4 在功能上可能不是紧密相关的。因而，那些的分布是特别有趣的。分布可以在核酸水平评估，例如，通过杂交或 PCR 方法，或在蛋白水平评估，例如，通过组织学或免疫化学方法。

每个泳道含大约 2 μ g 的聚(A)⁺RNA 的人多种组织 (Cat #1, 2) 和癌细胞系印迹，是从 Clontech (Palo Alto, CA) 购买的。探针是用 [α - ^{32}P] dATP 放射性标记的，例如，使用 Amersham Rediprime 随机引物标记试剂盒 (RPN1633)。在 65 $^{\circ}\text{C}$ ，0.5M Na_2HPO_4 ，7%SDS，0.5M EDTA (PH8.0) 的条件下，进行杂交和预杂交。进行高度严格的洗涤，例如，在 65 $^{\circ}\text{C}$ ，在 2xSSC 中进行两次初始清洗，0.1%SDS 40 分钟，接着是在 0.1xSSC 中的随后清洗，0.1%SDS 20 分钟。在有增感屏存在的情况下，于 -70 $^{\circ}\text{C}$ 让膜对 X-光胶片 (Kodak) 曝光。依据 cDNA 库 DNA 的更详细研究是用所选择的适宜哺乳动物的 OX2RH 克隆进行的，以检查它们在造血或其它细胞亚群中的表达。

选择性地，从表-4 选择两种适当的引物。RT-PCR 是在适当的 mRNA

样品上使用的，该样品是对于信息的存在而选择的，以生产 cDNA，例如，表达基因的样品。

全长克隆可通过来源于适当组织的 cDNA 库的杂交而分离，该组织通过 PCR-信号预-选择的。可以进行 RNA 印迹。

- 5 编码 OX2RH 的基因的信息可以通过适当技术测定，例如，PCR，免疫测定，杂交，或其它。组织和器官的 cDNA 制剂是有效的，例如，来源于 Clontech, Mountain View, CA。所述天然表达源的鉴定是有用的。

10 对于小鼠分布，例如，可以进行 Southern 分析：来源于原始扩增 cDNA 库的 DNA (5 μ g) 是用适当的限制酶消化的，以释放插入片段，在 1% 琼脂糖凝胶上通过并转移到尼龙膜上 (Schleicher and Schuell, Keene, NH)。

小鼠 mRNA 的分离培养样品可包括：静止的小鼠成纤维 L 细胞系 (C200)；Braf:ER (Braf 与雌激素受体融合) 转染的细胞，对照 (C201)；T 细胞，TH1 极化的 (Mel14 bright, 来源于脾脏的 CD4+ 细胞，用 IFN- γ 和抗 IL-4 极化 7 天；T200)；T 细胞，TH2 极化的 (Mel14 bright, 来源于脾脏的 CD4+ 细胞，用 IL-4 和抗-IFN- γ 极化 7 天；T201)；T 细胞，高度 TH1 极化的 (见 Openshaw 等 (1995) J. Exp. Med. 182:1357-1367；用抗-CD3 活化的，2, 6, 16 小时混合的；T202)；T 细胞，高度 TH2 极化的 (见 Openshaw 等 (1995) J. Exp. Med. 182:1357-1367；用抗-CD3 活化的，2, 6, 16 小时混合的；T203)；CD44-CD25+ 前 T 细胞，自胸腺分选的 (T204)；TH1 T 细胞克隆 D1.1，在用抗原持续刺激之后静止 3 周 (T205)；TH1 T 细胞克隆 D1.1，10 μ g/ml ConA 激发 15 小时 (T206)；TH2 T 细胞克隆 CDC35，用抗原持续刺激之后静止 3 周 (T207)；TH2 T 细胞克隆 CDC35，10 μ g/ml ConA 刺激 15 小时 (T208)；来源于脾脏的 Mel14+ 天然 T 细胞，静止 (T209)；Mel14+ T 细胞，用 IFN- γ /IL-12/抗-IL-4 极化成 Th1，混合 6, 12, 24 小时 (T210)；Mel14+ T 细胞，用 IL-4/抗-IFN- γ 极化成 Th2，混合 6, 13, 24 小时 (T211)；未激发的成熟 B 细胞白血病细胞系 A20 (B200)；未激发的 B 细胞系 CH12 (B201)；来源于脾脏的未激发的大型 B 细胞 (B202)；来源于整个脾脏的 B 细胞，LPS 活化的 (B203)；来源于脾脏的三碘苯甲酰氨基丰富的树突细胞，静止

25

30

(D200); 来源于骨髓的树突细胞, 静止 (D201); 用 LPS 活化 4 小时的单核细胞系 RAW 264.7 (M200); 用 GM 和 M-CSF 衍生的骨髓巨噬巨细胞 (M201); 巨嗜细胞系 J774, 静止 (M202); 巨嗜细胞系 J774+LPS+抗-IL-10, 在 0.5, 1, 3, 6, 12 小时混合的 (M203); 巨嗜细胞系 J774+LPS+IL-10, 在 0.5, 1, 3, 5, 12 小时混合的 (M204); 气溶胶攻击的小鼠肺组织, Th2 引物, 气溶胶 OVA 攻击, 7, 14, 23 小时混合的 (见 Garlisi 等 (1995) Clinical Immunology and Immunopathology 75:75-83;X206); Nippostrongylus-转染的肺组织 (见 Coffman 等 (1989) Science 245:308-310;X200); 整个成人肺脏, 正常 (O200); 整个肺脏, rag-1 (见 Schwarz 等 (1993) Immunodeficiency 4:249-252;O205); IL-10 K.O. 脾脏 (见 Kuhn 等 (1991) Cell 75:263-274; X201); 整个成人脾脏, 正常 (O201); 整个脾脏, rag-1 (O207); IL-10 K.O. 派尔斑 (O202); 整个派尔斑, 正常 (O210); IL-10 K.O. 肠系膜淋巴结 (X203); 整个肠系膜淋巴结, 正常 (O211); IL-10 K.O. 结肠 (X203); 整个结肠, 正常 (O212); NOD 小鼠胰脏 (见 Makino 等 (1980) Jikken Dobutsu 29:1-13;X205); 整个胸腺, rag-1 (O208); 整个肾, rag-1 (O209); 整个心脏, rag-1 (O202); 整个脑, rag-1 (O203); 整个睾丸, rag-1 (O204); 整个肝, rag-1 (O206); 大鼠正常关节组织 (O300); 和大鼠关节炎的关节组织 (X300)。

人 mRNA 的分离样品可包括: 外周血液单核细胞 (单核细胞, T 细胞, NK 细胞, 粒细胞, B 细胞), 静止 (T100); 外周血液单核细胞, 用抗-CD3 活化的, 2, 6, 12 小时混合的 (T101); T 细胞, TH0 克隆 Mot 72, 静止 (T102); T 细胞, TH0 克隆 Mot 72, 用抗-CD28 和抗-CD3 活化的, 3, 6, 12 小时混合的 (T103); T 细胞, TH0 克隆 Mot72, 用特异性肽无变应性处理的, 2, 7, 12 小时混合的 (T104); T 细胞, TH1 克隆 HY06, 静止 (T107); T-细胞, TH1 克隆 HY06, 用抗-CD28 和抗 CD-3 活化的, 3, 6, 12 小时混合的 (T108); T 细胞, TH1 克隆 HY06, 用特异性肽无变应性处理的, 2, 6, 12 小时混合的 (T109); T 细胞, TH2 克隆 HY935, 静止 (T110); T 细胞, TH2 克隆 HY935, 用抗-CD28 和抗-CD3 活化的, 2, 7, 12 小时混合的 (T111); 在抗-CD28, IL-4, 和抗 IFN- γ 中, T-细胞 CD4+CD45RO-T 细胞极化 27 天, TH2 极化的,

用抗-CD3和抗-CD28活化4小时(T116); T细胞瘤系 Jurkat 和 Hut78, 静止 (T117); T细胞克隆, 混合 AD130.2, Tc783.12, Tc783.13, Tc783.58, Tc782.69, 静止 (T118); T细胞随机 γ δ T细胞克隆, 静止 (T119); 脾细胞, 静止 (B100); 脾细胞, 用抗-CD40和IL-4活化的(B101); B细胞EBV系混合WT49, RSB, JY, CVIR, 721.221, RM3, HSY, 静止(B102); B细胞系JY, 用PMA和离子霉素活化的, 1, 6小时混合的(B103); NK20克隆混合的, 静止(K100); NK20克隆混合的, 用PMA和离子霉素活化6小时(K101); NKL克隆, 来源于LGL白血病患者的外周血, IL-2处理的(K106); NK细胞毒素克隆640-A30-1, 静止(K107); 造血前体系TF1, 用PMA和离子霉素活化的, 1, 6小时混合的(C100); U937前单核系, 静止(M100); U937前单核系, 用PMA和离子霉素活化的, 1, 6小时混合的(M101); 淘选的单核细胞, 用LPS, IFN γ , 抗-IL-10活化的, 1, 2, 6, 12, 24小时混合的(M102); 淘选的单核细胞, 用LPS, IFN γ , IL-10活化的, 1, 2, 6, 12, 24小时混合的(M103); 淘选的单核细胞, 用LPS, IFN γ , 抗-IL-10活化的, 4, 16小时混合的(M106); 淘选的单核细胞, 用LPS, IFN γ , IL-10活化的, 4, 16小时混合的(M107); 淘选的单核细胞, 活化LPS1小时(M108); 淘选的单核细胞, 活化LPS6小时(M109); DC70%CD1a+, 来源于CD34+GM-CSF, TNF α 12天, 静止(D101); DC70%CD1a+, 来源于CD34+GM-CSF, TNF α 12天, 用PMA和离子霉素活化1小时(D102); DC70%CD1a+, 来源于CD34+GM-CSF, TNF α 12天, 用PMA和离子霉素活化6小时(D103); DC95%CD1a+, 来源于CD34+GM-CSF, TNF α 12天FACS分选的, 用PMA和离子霉素活化, 1, 6小时混合的(D104); DC95%CD14+, ex CD34+GM-CSF, TNF α 12天FACS分选的, 用PMA和离子霉素活化的, 1, 6小时混合的(D105); DC CD1a+, CD86+, 来源于CD34+GM-CSF, TNF α 12天FACS分选的, 用PMA和离子霉素活化的, 1, 6小时混合的(D106); DC, 来源于单核细胞GM-CSF, IL-45天, 静止(D107); DC, 来源于单核细胞GM-CSF, IL-45天, 静止(D108); DC, 来源于单核细胞GM-CSF, IL-45天, TNF α 活化, 单核细胞 supe, 4, 16小时混合的(D110); 平滑肌瘤L11良性肿瘤(X101); 正常子宫肌膜M5(O115); 恶性平滑肌肉瘤GS1(X103); 肺成纤维样细胞肉瘤系MRC5, 用PMA和离子霉素活化的,

1, 6 小时混合的 (C101); 肾上皮癌瘤细胞系 CHA, 用 PMA 和离子霉素活化的, 1, 6 小时混合的 (C102); 胎肾 28 周雄性 (O100); 胎肺 28 周雄性 (O101); 胎肝 28 周雄性 (O102); 胎心 28 周雄性 (O103); 胎脑 28 周雄性 (O104); 胎胆囊 28 周雄性 (O106); 胎小肠 28 周雄性 (O107); 胎脂肪组织 28 周雄性 (O108); 胎卵巢 25 周雌性 (O109); 胎子宫 25 周雌性 (O110); 胎睾丸 28 周雄性 (O111); 胎脾脏 28 周雄性 (O112); 成人胎盘 28 周雄性 (O113); 和扁桃腺发炎的, 来源于 12 岁 (X100)。

可以在其它物种中分离相似的样品用于评估。也可以进行组织学。

IX. 哺乳动物 OX2RH 蛋白的生产

一种适宜的, 例如, GST, 融合结构被设计在大肠杆菌中表达。例如, 构造小鼠 OX2RH pGex 质粒, 并使其转入大肠杆菌。新转化细胞是在含 $50 \mu\text{g/ml}$ 氨苄青霉素的 LB 介质中生长的, 并用 IPTG 诱导 (Sigma, St. Louis, MO)。诱导过夜之后, 采集细菌并分离含 OX2RH 蛋白的小粒。该小粒在 2 升的 TE 缓冲液 (50mM Tris-base pH8.0, 10mM EDTA 和 2mM pefabloc) 中均质化。此材料穿过微型流化床 (Microfluidics, Newton, MA) 三次。流化的上清液以 $13,000\text{rpm}$ 在 Sorvall GS-3 转子上旋转 1 小时离心。过滤含 OX2RH 蛋白的最终上清液, 并穿过在 50mM Tris-碱 pH8.0 中平衡的谷胱甘肽-琼脂糖柱。混合并用凝血酶分裂含 OX2RH-GST 融合蛋白的部分 (Enzyme Research Laboratories, Inc., South Bend, IN)。然后使分裂的集合体穿过在 50mM Tris-碱中平衡的 Q-琼脂糖柱。混合含 OX2RH 的部分, 并在冷的蒸馏水中稀释, 以降低传导性, 并穿过新的 Q-琼脂糖柱, 单独或与免疫亲和性抗体柱连接。混合含 OX2RH 蛋白的部分, 等分, 并在 -70°C 的冷却器中贮存,

各种融合结构是用 OX2RH 制造的。因而, 例如, OX2RH2, H3, 或 H4 胞外部分的融合可以与 DAP 的胞内部分, 或 IgG 区或其它标记或功能区融合。适宜基因的一部分与抗原决定部位的标记物, 例如, FLAG 标记物融合, 或与成两种杂交系统结构融合。见, 例如, Fields and Song (1989) Nature 340:245-246。

抗原决定部位标记物可用于表达克隆方法中, 用抗-FLAG 抗体检

测结合配偶体，例如，各受体同系物的配位体。该两种杂交系统也可用于分离特异性结合 OX2RH 的蛋白。

CD 谱与相似 Ig 超家族受体蛋白的对比可表明该蛋白是恰当折叠的。见 Hazuda 等 (1969) J. Biol. Chem. 264:1689-1693; 和 Campbell 5 等 (1979) Nature 282:341-342。

可研究 OX2/OX2R 的结合反应活性，例如，动力和功能效果。OX2R 胞质区的相互作用可使用所建立的免疫沉淀法或遗传法，如酵母两-杂交系统来测定。将 OX2RH 转染到正常情况下不表达该蛋白的细胞中，在生理和信号产生的研究中是有益的。

10 X. 对 OX2RH 特异的抗体的制备

适宜的物种或菌株，例如，近交 Balb/c 小鼠，是用蛋白的重组形式腹膜内免疫的，例如，纯化的 OX2RH 或稳定的转染 NIH-3T3 细胞。用蛋白在适宜的时间点对该动物进行强化免疫，有或没有附加的辅剂，以进一步激发抗体蛋白。采集血清，或用采集的脾脏生产杂交瘤。

15 选择性地，该动物，例如，Balb/c 小鼠，是用细胞免疫的，该细胞是用基因或其片段转化的，内源或外源细胞，或用分离膜，其丰富抗原的表达。在适宜的时间点采集血清，代表性在多次进一步的给药之后。各种基因治疗技术在原位生产蛋白，以产生免疫反应中可能是有效的。血清或抗体制剂可以是交叉-吸收或免疫选择的，以制备具有确定特异性和高亲和性的基本纯的抗体。因而，可以制备抗体，其识别各物种的对应物，或识别特异性物种或亚群，例如，啮齿类动物，20 实施方案。

可以制造单克隆抗体。例如，用适当的融合配偶体融合脾细胞，并通过标准方法在生长培养基中选择杂交瘤。为抗体的存在而筛选杂交瘤上清液，其中该抗体结合大鼠的 OX2RH1，例如，通过 ELISA 或其它测定法。也可以选择或制备特异性识别特异性 OX2RH 实施方案的抗体。25

在其它方法中，将合成肽或纯化蛋白给予免疫系统，以产生单克隆或多克隆抗体。见，例如，Coligan(ed.1991)Current Protocols in Immunology Wiley/Greene; 和 Harlow and Lane(1989) 30 Antibodies:A Laboratory Manual Cold Spring Harbor Press。在适当场合下，如上所述标记结合试剂，例如，荧光或其它，或固定

在底物上，用于淘选方法。核酸也可被引入到动物细胞中以产生抗原，其引起免疫应答。见，例如，Wang 等（1993）*Proc. Nat'l Acad. Sci.* 90:4156-4160；Barry 等（1994）*BioTechniques* 16:616-619；和 Xiang 等（1995）*Immunity* 2:129-135。

5 XI. 配位体结合和配偶体特异性

测试结合选择性和亲和力的方法可很容易地得到。表面胞质基因组共振（见，*manufacturer's protocol*；*BIAcore manual*, Pharmacia Biosensor）或其它方法可用于测定 OX2RH 的配位体。大鼠和小鼠的 H1 结合它们物种对应物的配位体 OX2；人的 H1 也可类似地测试。H2 可相对于类似的有效配位体而相似地测试，虽然 H2 胞外区与已知受体（大鼠和小鼠的 H1）的相似性间接表明相同或密切相关的配位体。

受体可用作特异性结合试剂以鉴定其结合配偶体，通过利用它的结合特异性，可以使用抗体。结合受体可以是 OX2RH，或可以包含，例如，具有其它亚单位的 OX2RH 复合体。如上所述标记结合试剂，例如，荧光或其它，或固定在底物上，用于淘选法。

结合组分用于筛选从细胞系获得的表达库，该细胞系表达结合配偶体，即，配位体，优选膜相关的。标准染色技术用于检测或分选表面表达的配位体，或通过淘选筛选表达转化细胞的表面。胞内表达的筛选是通过各种染色或免疫荧光方法进行的。见，McMahan 等，（1991）*EMBO J.* 10:2821-2832。

选择性地，受体试剂用于亲和纯化或分选表达推断配位体的细胞。见，例如，Sambrook 等，或 Ausubel 等。

其它的策略是通过淘选筛选膜结合配位体。如上所述构造受体 cDNA。可以利用适宜的抗体来获得固定，该抗体识别，例如，OX2RH 融合构造上的 FLAG 序列，或利用相对于第一抗体培养的抗体来获得。扩增和选择的递归循环导致适宜克隆的富集和表达克隆的受体的最后分离。

噬菌体表达库可以通过哺乳动物 OX2RH，例如，标记形式来筛选。适当的标记技术，例如，抗-FLAG 抗体，可特异性标记适当的噬菌体克隆。

证实 OX2-OX2RH 结合象，或其它同系物的配位体的鉴定，可以测试信号产生途径。见，例如，Preston 等（1997）*Eur. J. Immunol.*

27:1911-1918. DAP12 包含的含义是清楚的。见, 例如, Bakker 等 (2000) Human Immunology 61:18-27; Lanier 等 (1998) Immunity 8:693-701; Smith 等 (1998) J. Immunol. 161:7-10; Gosselin 等 (1999) J. Leukoc. Biol. 66:165-171; Tomasello 等 (1998) J. Biol. Chem. 273:34115-34119; 和 McVicar 等 (1998) J. Biol. Chem. 273:32934-32942. 相似地, 或选择性地, 可以包括 DAP10. 见, 例如, Wu J 等 (1999) Science 285:730-732; 和 Bauer 等 (1999) Science 285:727-729.

特别是, DAP12 共同受体配偶体与 T 细胞受体亚单位 ζ 和 $Fc\epsilon R\gamma$ 位于相同的家族中, 其具有 ITIM 基序, 并通过包含 syk/zap70 蛋白酪氨酸激酶的途径信号产生。DAP10 具有 YxxM 基序, 其通过或与类似地对 PI3 激酶途径信号产生。

NK 细胞上的 MHC 类 I 受体的某些同种型在它们的胞质区中缺少 ITIM 序列, 且这些同种型活化, 而不是抑制, NK 细胞。这些活化受体具有非常短的胞内区, 其缺少任一信号产生的基序, 且它们在其跨膜区中全部共有一正电荷的残基, 其间接表明与能够信号产生的接合器分子有关。DAP12, 含 ITAM 的 I 型二硫化物连接的均二聚物与人 KIR2DS 受体非共价地组合。DAP12 在它的跨膜区中具有负电荷的天冬氨酸残基, 与所报道的 12-13 kD 磷蛋白相对应, 发现其与 KIR2DS 共同免疫沉淀。

当受体接合时, 使得 DAP12 磷酸化, 并恢复 Syk 激酶, 因而诱发与 T 细胞受体相似的信号级联。除了与 KIR2DS, HLA-C 受体有关, DAP12 也在 NK 细胞的细胞表面表达, 其与活化小鼠 Ly49D 和识别 H-2 的 Ly49H 受体有关, 并与识别 HLA-E 的人 CD94/NKG2C 异二聚物受体复合体有关。

近来通过检索 EST 数据库而鉴定潜在膜信号蛋白的努力引起 DAP10 的鉴定, 一种主要在造血细胞中表达的新的 10-kD 表面接合器。虽然 DAP10 仅限制与 DAP12 的同源性, 它的跨膜区包含一种负电荷的残基, 其保存在 DAP12 的跨膜区和所有 TCR 的 CD3 亚单位中。此外, DAP12 胞外区内的保守半胱氨酸残基和 CD3 链也存在于 DAP10 中。有趣的是, 人 DAP10 和 DAP12 基因位于邻近的染色体 19q13.1 上, 在相反的反转录方向, 并仅通过约 130 个碱基对分离, 大概是由于基因复

制。DAP10 的一个唯一特征是它的短，但保守的，胞质尾部，其包含 YxxM 信号基序，用于磷脂酰肌醇 3-激酶（PI 3-激酶）的 p85 调节亚单位的有效 src-同源性 2（SH2）区-结合位点。可以确定各种 OX2RH 与 DAP12 或 DAP10 的物理和功能的关联。

5 XII. 遗传分析，动物研究

序列使用于确定染色体图谱，疾病标记物相关性，和各基因遗传结构的分离和确定的试剂和信息有用。确定内含子/外显子结构，并制备转基因的和缺失的动物。见，例如，Goodnow(1992)“Transgenic Animals” in Roitt(ed.)Encyclopedia of Immunology, Academic Press, San Diego, pp.1502-1504; Travis(1992)Science 256:1392-1394; Kuhn 等 (1991) Science 254:707-710; Capecchi (1989)Science 244:1288; Robertson(ed.1987)Teratocarcinomas and Embryonic Stem Cells: A Practical Approach, IRL Press, Oxford; Rosenberg(1992)J.Clinical Oncology 10:180-199; 和
10
15 Cournoyer and Caskey(1993)Ann.Rev.Immunol. 11:297-329.

为了确定体外和体内 OX2-OX2R 相互作用的功能，制备腺病毒结构，其是以可溶性形式生产的，将 OX2RH1 的胞外区与人 IgG 融合。制备对照结构，其是以可溶性形式生产的，仅仅是人的 IgG 主链。在第一个例子中，含这些融合蛋白的上清液是通过体外细胞感染而产生的，以根据结合普通表达小鼠的 OX2 测试是否 OX2R 融合蛋白具有生物功能。在研究的第一系列中，制备正常和 OX2-基因剔除 (KO) 小鼠的小鼠脾脏组织切片，加入 OX2R，或对照融合蛋白，通过结合融合蛋白人 Fc 部分的抗体的加入而检测这些试剂，随后进行免疫过氧化物酶染色过程以显示结合。OX2 融合蛋白的微弱结合仅存在于正常小鼠
20
25 中，而不存在于在 OX2 KO 小鼠中，其是在卵泡树突细胞和内皮细胞上检测的。所有的细胞类型均表达非常高水平的配位体 OX2。因而，该试剂结合于 OX2 的生理形式，且在脾脏中没有观察到结合，其中由于基因导向，缺少配位体 OX2。

已知 B 细胞表达配位体 OX2，但比在卵泡树突细胞和内皮细胞中的水平要低。免疫组织化学不是特别敏感的技术。因而在第二个研究中，将相同的融合蛋白用于来源于正常小鼠和 OX2 KO 小鼠的分离脾白细胞，并在 B 细胞上使用对 B220 分子特异的 mAb，通过流式血细胞

技术分析来测定与 B 细胞的结合，并通过偶联到藻红蛋白的人 IgG 次级抗体更敏感地检测融合蛋白。在这种情况下，正常小鼠中的所有 B 细胞均是由 OX2R 融合蛋白标记的，而不是通过对照融合蛋白标记的。OX2R 融合蛋白与 B 细胞的相互作用是通过称作 OX90 的 mAb 的加入而
5 5 阻断的，已知其结合与 OX2R 相互作用的小鼠 OX2 分子的一部分。此外，当 OX2R 融合蛋白加入到来源于 OX2 KO 小鼠的 B 细胞时，用对照融合蛋白没有见到上述背景水平的结合。

这些研究的结论是：(1) OX2R 融合蛋白是生物活性的，并结合于造血和非-造血细胞上的 OX2；和 (2) 由于 OX2R 的主要配位体结合确实是所鉴定的配位体 OX2，以抗-OX2 (OX90) 结合抑制为基础，且缺少
10 10 可检测的，与来源于 OX2 KO 小鼠的结合。这些数据不能排除这种可能性，即除了已知的配位体 OX2 之外，还有通过 OX2R 的其它配位体束缚，甚至流式血细胞计数器没有检测在非常低水平表达的细胞表面分子。

可以使用标准方法生产转基因小鼠。这种动物对于确定基因缺失效果是有效的，在特异性组织中，或完全贯穿生物体。这可以提供对动物的研究和各区段特殊组织的观察。此外，可以评估对各种生物应激应答的效果。见，例如，Hogan 等 (1995) Manipulating the Mouse Embryo: A Laboratory Manual (2d ed.) Cold Spring Harbor
15 15 Laboratory Press. 同样，可以生产缺失小鼠，例如，剔除小鼠。

这些动物将经历动物模型以研究基因在体内的功能。见，例如，Gorczynski 等 (1999) J. Immunol. 163:1654-1660; Mankoo 等 (1999) Nature 400:69-73; Gorczynski 等 (1999) Transplant. Proc. 31:577-578; 和 Gorczynski L 等 (1999) J. Immunol. 162:774-781.

25 25 特别感兴趣的是巨嗜细胞或其它骨髓细胞的作用，例如，在血液，淋巴组织，或实体器官，包括神经系统中的小胶质细胞中。说明了对神经变性，自身免疫炎症，感染的易感性试验。所有拮抗剂和激动剂在体外或体内模型中均是有效的制剂。

XIII. 筛选可能具有治疗价值的物质

30 30 OX2R/OX2 相互作用的生物效果可以通过使用与 OX2R 反应的抗体来研究，以在巨嗜细胞表面膜中交联 OX2R 分子，并寻找变化，例如，在含氮的氧化物生产中和信号蛋白的磷酸化中。

干扰 OX2R/OX2 相互作用的效果可以使用携带 OX2R 的巨嗜细胞来测试，通过将它们暴露于交联结合配偶体，如 OX2R 的 mAb（例如，OX102）或在有或没有候选物质的情况下的 OX2 重组多价译本上。在有或没有候选化合物情况下的巨嗜细胞活性的对比（例如，含氮氧化物的生产或信号蛋白的磷酸化作用）可说明候选物质是否具有调节效果（例如，抑制或提高）。

候选物质也可以在很好建立的疾病模型中测试，其中巨嗜细胞包含在疾病，如自身免疫的病理学中。例如，可以使用所建立的模型，如试验变应性脑脊髓炎举例说明，例如，用显示促进自身免疫疾病试验性自身免疫脑脊髓炎的小鼠模型。OX2 拟态在慢性病如慢性肉芽肿病中可能是有效的。OX2/OX2R 信号的激动剂或拮抗剂的组合可以是与现有的，这种疾病的治疗剂组合。见 Physician's Desk Reference Medical Economics Co, Montvale, NJ。

上述这种分析说明了 OX2R/OX2 相互作用的干扰方法可能是治疗有效性的。例如，本发明提供生产 OX2RH 重组译本的方法，其可用于与有效的 OX2 蛋白接合以筛选可能的，阻断相互作用的药物试剂。相互作用蛋白的有效性提供高生产大量小分子筛选程序的方法，用于制药工业中。见，例如，meetings on High Throughput Screening, International Business Communications, Southborough, MA 01772-1749。穿过 OX2RH 胞质区的相互作用可能是治疗的靶，且序列和其相互作用的知识提供通过相似的筛选方法研制药物试剂的方法。

XIV. 结构活性关系

特殊残基重要性的信息是使用标准方法和分析确定的。标准诱变分析是通过在确定的位置产生许多不同的变体而进行的，例如，在上述鉴定的位置，并评估变体的生物活性。这可以进行至确定位置的程
度，其修饰活性，或至特异位置的病灶，以确定残基，其可被置换以保留，阻断，或调节生物活性。

选择性地，天然变体的分析可以表明什么位置耐受天然突变。这可能是由于个体中变化的群体分析，或穿过菌株或物种。分析来源于所选个体的样品，例如，通过 PCR 分析和测序。这可评估群体多态现象。

其中所有的引证文献均相同程度地在此引入作为参考，好象各个出版物或专利申请是特定地和单独地引入作为参考的。

在不背离其精神和范围的情况下，可以对本发明进行多种改变和变化，这对于本领域的那些技术人员来说是显而易见的。其中描述的特殊实施方案仅仅通过实施例来提出，本发明是通过权利要求来限定的，连同与权利要求等价的整个范围一起被授权；本发明不受以举例形式提供的特殊实施方案的限定。

序列表

SEQ ID NO:1 是啮齿类动物 OX2R 的核苷酸序列。
SEQ ID NO:2 是啮齿类动物 OX2R 的多肽序列。
SEQ ID NO:3 是灵长类动物 OX2R 的同系物 1 的核苷酸序列。
SEQ ID NO:4 是灵长类动物 OX2R 的同系物 1 的多肽序列。
SEQ ID NO:5 是啮齿类动物 OX2R 的同系物 1 的核苷酸序列。
SEQ ID NO:6 是啮齿类动物 OX2R 的同系物 1 的多肽序列。
SEQ ID NO:7 是灵长类动物 OX2R 的同系物 2 的核苷酸序列。
SEQ ID NO:8 是灵长类动物 OX2R 的同系物 2 的多肽序列。
SEQ ID NO:9 是啮齿类动物 OX2R 的同系物 2 的核苷酸序列。
SEQ ID NO:10 是啮齿类动物 OX2R 的同系物 2 的多肽序列。
SEQ ID NO:11 是啮齿类动物 OX2R 的同系物 3 的核苷酸序列。
SEQ ID NO:12 是啮齿类动物 OX2R 的同系物 3 的多肽序列。
SEQ ID NO:13 是啮齿类动物 OX2R 的多肽编码序列。
SEQ ID NO:14 是灵长类动物 OX2R 的同系物 1 的多肽编码序列。
SEQ ID NO:15 是啮齿类动物 OX2R 的同系物 1 的多肽编码序列。
SEQ ID NO:16 是灵长类动物 OX2R 的同系物 2 的多肽编码序列。
SEQ ID NO:17 是啮齿类动物 OX2R 的同系物 2 的多肽编码序列。
SEQ ID NO:18 是啮齿类动物 OX2R 的同系物 3 的多肽编码序列。
SEQ ID NO:19 是灵长类动物 OX2R 同系物 1.2 的核苷酸序列。
SEQ ID NO:20 是灵长类动物 OX2R 同系物 1.2 的多肽序列。
SEQ ID NO:21 是灵长类动物 OX2R 的同系物 1.2 的多肽编码序列。
SEQ ID NO:22 是啮齿类动物 OX2R 的同系物 4 的核苷酸序列。
SEQ ID NO:23 是啮齿类动物 OX2R 的同系物 4 的多肽序列。
SEQ ID NO:24 是啮齿类动物 OX2R 的同系物 4 的多肽编码序列。

<110> Medical Research Council
Schering Corporation

<120> 哺乳动物蛋白; 有关的试剂和方法

<130> DX01052K1 PCT

<140> PCT/US 00/12998

<141> 2000-05-11

<150> GB 9911123.9

<151> 1999-05-13

<150> GB 9925989.7

<151> 1999-11-03

<160> 24

<170> PatentIn Ver. 2.0

<210> 1

<211> 1574

<212> DNA

<213> 未知

<220>

<223> 未知生物的描述: 啮齿类动物; 推测的

rattus rattus

<220>

<221> CDS

<222> (91)..(1071)

<220>

<221> mat_肽

<222> (162)..(1071)

<400> 1

```
agcggaggga tcttggtcat ggtcaccgct gctcccctac ctgtgaagag aaagagcacc 60
gagtgagccg ctgaaaacca gaaaaccgaa atg ctc tgc ttt tgg aga act tct 114
Met Leu Cys Phe Trp Arg Thr Ser
-20
cac gta gca gta ctc ttg atc tgg ggg gtc ttc gcg gct gag tca agt 162
His Val Ala Val Leu Leu Ile Trp Gly Val Phe Ala Ala Glu Ser Ser
-15 -10 -5 -1
tgt cct gat aag aat caa aca atg cag aac aat tca tca act atg aca 210
Cys Pro Asp Lys Asn Gln Thr Met Gln Asn Asn Ser Ser Thr Met Thr
1 5 10 15
gaa gtt aac act aca gtg ttt gta cag atg ggt aaa aag gct ctg ctc 258
Glu Val Asn Thr Thr Val Phe Val Gln Met Gly Lys Lys Ala Leu Leu
20 25 30
tgc tgc cct tct att tca ctg aca aaa gta ata tta ata aca tgg aca 306
Cys Cys Pro Ser Ile Ser Leu Thr Lys Val Ile Leu Ile Thr Trp Thr
35 40 45
ata acc ctc aga gga cag cct tcc tgc ata ata tcc tac aaa gca gac 354
Ile Thr Leu Arg Gly Gln Pro Ser Cys Ile Ile Ser Tyr Lys Ala Asp
50 55 60
aca agg gag acc cat gaa agc aac tgc tgg gac aga agc atc acc tgg 402
Thr Arg Glu Thr His Glu Ser Asn Cys Ser Asp Arg Ser Ile Thr Trp
65 70 75 80
gcc tcc aca cct gac ctc gct cct gac ctt cag atc agt gca gtg gcc 450
Ala Ser Thr Pro Asp Leu Ala Pro Asp Leu Gln Ile Ser Ala Val Ala
85 90 95
ctc cag cat gaa ggg ogt tac tca tgt gat ata gca gta cct gac ggg 498
```

Leu Gln His Glu Gly Arg Tyr Ser Cys Asp Ile Ala Val Pro Asp Gly
 100 105 110

aat ttc caa aac atc tat gac ctc caa gtg ctg gtg ccc cct gaa gta 546
 Asn Phe Gln Asn Ile Tyr Asp Leu Gln Val Leu Val Pro Pro Glu Val
 115 120 125

acc cac ttt cca ggg gaa aat aga act gca gtt tgt gag gcg att gca 594
 Thr His Phe Pro Gly Glu Asn Arg Thr Ala Val Cys Glu Ala Ile Ala
 130 135 140

ggc aaa cct gct gcg cag atc tct tgg acg cca gat ggg gat tgt gtc 642
 Gly Lys Pro Ala Ala Gln Ile Ser Trp Thr Pro Asp Gly Asp Cys Val
 145 150 155 160

gct aag aat gaa tca cac agc aat ggc acc gtg act gtc cgg agc aca 690
 Ala Lys Asn Glu Ser His Ser Asn Gly Thr Val Thr Val Arg Ser Thr
 165 170 175

tgc cac tgg gag cag agc cac gtg tct gtc gtg ttc tgt gtt gtc tct 738
 Cys His Trp Glu Gln Ser His Val Ser Val Val Phe Cys Val Val Ser
 180 185 190

cac ttg aca act ggt aac cag tct ctg tct ata gaa ctg ggt aga ggg 786
 His Leu Thr Thr Gly Asn Gln Ser Leu Ser Ile Glu Leu Gly Arg Gly
 195 200 205

ggt gac caa tta tta gga tca tac att caa tac atc atc cca tct att 834
 Gly Asp Gln Leu Leu Gly Ser Tyr Ile Gln Tyr Ile Ile Pro Ser Ile
 210 215 220

att att ttg atc atc ata gga tgc att tgt ctt ttg aaa atc agt ggc 882
 Ile Ile Leu Ile Ile Ile Gly Cys Ile Cys Leu Leu Lys Ile Ser Gly
 225 230 235 240

tgc aga aaa tgt aaa ttg cca aaa tcg gga gct act cca gat att gag 930
 Cys Arg Lys Cys Lys Leu Pro Lys Ser Gly Ala Thr Pro Asp Ile Glu
 245 250 255

gag gat gaa atg cag ccg tat gct agc tac aca gag aag agc aat cca 978
 Glu Asp Glu Met Gln Pro Tyr Ala Ser Tyr Thr Glu Lys Ser Asn Pro
 260 265 270

ctc tat gat act gtg acc acg acg gag gca cac cca gcg tca caa ggc 1026
 Leu Tyr Asp Thr Val Thr Thr Thr Glu Ala His Pro Ala Ser Gln Gly
 275 280 285

aaa gtc aat ggc aca gac tgt ctt act ttg tca gcc atg gga atc 1071
 Lys Val Asn Gly Thr Asp Cys Leu Thr Leu Ser Ala Met Gly Ile
 290 295 300

tagaaccaag gaaaagaagt caagagacat cataattaact gcttttcttt ctttaaactt 1131
ctccaatgga gggaaattag ctcttctgaa gttcttagaa agcacaaatg ttctaagga 1191
tttgccttta agttcttcta tcattggaag tttggaatct ttgctgetac ctgttaatte 1251
taggaagaac tgatttaatt attacaaaga aagcacattg ttatggtaaa atatcaaatt 1311
gtgcaataca atgatgaaaa ctgagtttcc tcaagaaata actgcagaag gaacaatcat 1371
tactaaagca tttcatgtga gttcttccaa aaaagaaaat cctgtgtat acgacatgat 1431
tatggtatgt ggtgccttt atatgtttgt ttacaaatgt gtatatatgc acacatctga 1491
ttatcaagac atctctgtca aaaactcact ggcgttccag atttatgaaa gctaataaag 1551
tgagtattgg agatgttttt ata 1574

<210> 2
<211> 327
<212> PRT
<213> 未知

<400> 2
Met Leu Cys Phe Trp Arg Thr Ser His Val Ala Val Leu Leu Ile Trp
 -20 -15 -10
Gly Val Phe Ala Ala Glu Ser Ser Cys Pro Asp Lys Asn Gln Thr Met
 -5 -1 1 5
Gln Asn Asn Ser Ser Thr Met Thr Glu Val Asn Thr Thr Val Phe Val
 10 15 20
Gln Met Gly Lys Lys Ala Leu Leu Cys Cys Pro Ser Ile Ser Leu Thr
 25 30 35 40
Lys Val Ile Leu Ile Thr Trp Thr Ile Thr Leu Arg Gly Gln Pro Ser
 45 50 55
Cys Ile Ile Ser Tyr Lys Ala Asp Thr Arg Glu Thr His Glu Ser Asn
 60 65 70
Cys Ser Asp Arg Ser Ile Thr Trp Ala Ser Thr Pro Asp Leu Ala Pro
 75 80 85
Asp Leu Gln Ile Ser Ala Val Ala Leu Gln His Glu Gly Arg Tyr Ser
 90 95 100

<222> (217).. (1101)

<220>

<221> mat_肽

<222> (295).. (1101)

<400> 3

```
cagagaaaag cttctgttgc tccaagttac taaccagget aaaccacata gacgtgaagg 60
aaggggctag aaggaaggga gtgccccact gttgatgggg taagaggatc ctgtactgag 120
aagttgacca gagagggctc caccatgcgc acagttcett ctgtaccagt gtggaggaaa 180
agtactgagt gaagggcaga aaaagagaaa acagaa atg ctc tgc cct tgg aga 234
                                         Met Leu Cys Pro Trp Arg
                                         -25
act gct aac cta ggg cta ctg ttg att ttg act atc ttc tta gtg gcc 282
Thr Ala Asn Leu Gly Leu Leu Leu Ile Leu Thr Ile Phe Leu Val Ala
-20          -15          -10          -5
gaa ggc gag ggt gct gct caa cca aac aac tca tta atg ctg caa act 330
Glu Ala Glu Gly Ala Ala Gln Pro Asn Asn Ser Leu Met Leu Gln Thr
          -1  1          5          10
agc aag gag aat cat gct tta gct tca agc agt tta tgt atg gat gaa 378
Ser Lys Glu Asn His Ala Leu Ala Ser Ser Ser Leu Cys Met Asp Glu
          15          20          25
aaa cag att aca cag aac tac tcg aaa gta ctc gca gaa gtt aac act 426
Lys Gln Ile Thr Gln Asn Tyr Ser Lys Val Leu Ala Glu Val Asn Thr
          30          35          40
tca tgg cct gta aag atg gct aca aat gct gtg ctt tgt tgc cct cct 474
Ser Trp Pro Val Lys Met Ala Thr Asn Ala Val Leu Cys Cys Pro Pro
          45          50          55          60
atc gca tta aga aat ttg atc ata ata aca tgg gaa ata atc ctg aga 522
Ile Ala Leu Arg Asn Leu Ile Ile Ile Thr Trp Glu Ile Ile Leu Arg
          65          70          75
ggc cag cct tcc tgc aca aaa gcc tac aag aaa gaa aca aat gag acc 570
Gly Gln Pro Ser Cys Thr Lys Ala Tyr Lys Lys Glu Thr Asn Glu Thr
          80          85          90
aag gaa acc aac tgt act gat gag aga ata acc tgg gtc tcc aga cct 618
Lys Glu Thr Asn Cys Thr Asp Glu Arg Ile Thr Trp Val Ser Arg Pro
          95          100          105
gat cag aat tcg gac ctt cag att cgt acc gtg gcc atc act cat gac 666
```

Asp Gln Asn Ser Asp Leu Gln Ile Arg Thr Val Ala Ile Thr His Asp
 110 115 120

ggg tat tac aga tgc ata atg gta aca cct gat ggg aat ttc cat cgt 714
 Gly Tyr Tyr Arg Cys Ile Met Val Thr Pro Asp Gly Asn Phe His Arg
 125 130 135 140

gga tat cac ctc caa gtg tta gtt aca cct gaa gtg acc ctg ttt caa 762
 Gly Tyr His Leu Gln Val Leu Val Thr Pro Glu Val Thr Leu Phe Gln
 145 150 155

aac agg aat aga act gca gta tgc aag gca gtt gca ggg aag cca gct 810
 Asn Arg Asn Arg Thr Ala Val Cys Lys Ala Val Ala Gly Lys Pro Ala
 160 165 170

gcg cat atc tcc tgg atc cca gag ggc gat tgt gcc act aag caa gaa 858
 Ala His Ile Ser Trp Ile Pro Glu Gly Asp Cys Ala Thr Lys Gln Glu
 175 180 185

tac tgg agc aat ggc aca gtg act gtt aag agt aca tgc cac tgg gag 906
 Tyr Trp Ser Asn Gly Thr Val Thr Val Lys Ser Thr Cys His Trp Glu
 190 195 200

gtc cac aat gtg tct acc gtg acc tgc cac gtc tcc cat ttg act ggc 954
 Val His Asn Val Ser Thr Val Thr Cys His Val Ser His Leu Thr Gly
 205 210 215 220

aac aag agt ctg tac ata gag cta ctt cct gtt cca ggt gcc aaa aaa 1002
 Asn Lys Ser Leu Tyr Ile Glu Leu Leu Pro Val Pro Gly Ala Lys Lys
 225 230 235

atc agc aaa att ata tat tcc ata tat cat cct tac tat tat tat tta 1050
 Ile Ser Lys Ile Ile Tyr Ser Ile Tyr His Pro Tyr Tyr Tyr Tyr Leu
 240 245 250

gac cat cgt ggg att cat ttg gtt gtt gaa agt caa tgg ctg cag aaa 1098
 Asp His Arg Gly Ile His Leu Val Val Glu Ser Gln Trp Leu Gln Lys
 255 260 265

ata taaattgaat aaaacagaat ctactccagt tgttgaggag gatgaaatgc 1151
 Ile

agccctatgc cagctacaca gagaagaaca atcctcteta tgatactaca aacaaggtga 1211

aggcatctga ggcattacaa agtgaagttg acacagacct ccatacttta taagttgttg 1271

gactctagta ccaagaaaca acaacaaacg agatacatta taattactgt ctgattttct 1331

tacagttcta gaatgaagac ttatattgaa attaggtttt ccaaggttct tagaagacat 1391

tttaatggat tctcattcat acccttgat aattggaatt ttgattett agctgctacc 1451
 agctagttct ctgaagaact gatgttatta caaagaaaat acatgcccat gaccaaatat 1511
 tcaaattgtg caggacagta aataatgaaa accaaatttc ctcaagaaat aactgaagaa 1571
 ggagcaagtg tgaacagttt cttgtgtate ctt 1604

<210> 4
 <211> 295
 <212> PRT
 <213> 未知

<400> 4
 Met Leu Cys Pro Trp Arg Thr Ala Asn Leu Gly Leu Leu Leu Ile Leu
 -25 -20 -15

Thr Ile Phe Leu Val Ala Glu Ala Glu Gly Ala Ala Gln Pro Asn Asn
 -10 -5 -1 1 5

Ser Leu Met Leu Gln Thr Ser Lys Glu Asn His Ala Leu Ala Ser Ser
 10 15 20

Ser Leu Cys Met Asp Glu Lys Gln Ile Thr Gln Asn Tyr Ser Lys Val
 25 30 35

Leu Ala Glu Val Asn Thr Ser Trp Pro Val Lys Met Ala Thr Asn Ala
 40 45 50

Val Leu Cys Cys Pro Pro Ile Ala Leu Arg Asn Leu Ile Ile Ile Thr
 55 60 65 70

Trp Glu Ile Ile Leu Arg Gly Gln Pro Ser Cys Thr Lys Ala Tyr Lys
 75 80 85

Lys Glu Thr Asn Glu Thr Lys Glu Thr Asn Cys Thr Asp Glu Arg Ile
 90 95 100

Thr Trp Val Ser Arg Pro Asp Gln Asn Ser Asp Leu Gln Ile Arg Thr
 105 110 115

Val Ala Ile Thr His Asp Gly Tyr Tyr Arg Cys Ile Met Val Thr Pro
 120 125 130

Asp Gly Asn Phe His Arg Gly Tyr His Leu Gln Val Leu Val Thr Pro
 135 140 145 150

Glu Val Thr Leu Phe Gln Asn Arg Asn Arg Thr Ala Val Cys Lys Ala
 155 160 165

Val Ala Gly Lys Pro Ala Ala His Ile Ser Trp Ile Pro Glu Gly Asp
170 175 180

Cys Ala Thr Lys Gln Glu Tyr Trp Ser Asn Gly Thr Val Thr Val Lys
185 190 195

Ser Thr Cys His Trp Glu Val His Asn Val Ser Thr Val Thr Cys His
200 205 210

Val Ser His Leu Thr Gly Asn Lys Ser Leu Tyr Ile Glu Leu Leu Pro
215 220 225 230

Val Pro Gly Ala Lys Lys Ile Ser Lys Ile Ile Tyr Ser Ile Tyr His
235 240 245

Pro Tyr Tyr Tyr Tyr Leu Asp His Arg Gly Ile His Leu Val Val Glu
250 255 260

Ser Gln Trp Leu Gln Lys Ile
265

<210> 5

<211> 1490

<212> DNA

<213> 未知

<220>

<223> 未知生物的描述: 啮齿类动物; 推测的肌肉

<220>

<221> CDS

<222> (10).. (987)

<220>

<221> mat_肽

<222> (85).. (987)

<400> 5

aaaaccgaa atg ttt tgc ttt tgg aga act tct gcc cta gca gtg ctc tta 51
Met Phe Cys Phe Trp Arg Thr Ser Ala Leu Ala Val Leu Leu
-25 -20 -15

ata tgg ggg gtc ttt gtg gct ggg tca agt tgt act gat aag aat caa 99
Ile Trp Gly Val Phe Val Ala Gly Ser Ser Cys Thr Asp Lys Asn Gln
-10 -5 -1 1 5

aca aca cag aac aac agt tca tet cct ctg aca caa gtg aac act aca 147
Thr Thr Gln Asn Asn Ser Ser Ser Pro Leu Thr Gln Val Asn Thr Thr

	10	15	20	
gtg tct gta cag ata ggt aca aag gct ctg ctc tgc tgc ttt tct att				195
Val Ser Val Gln Ile Gly Thr Lys Ala Leu Leu Cys Cys Phe Ser Ile				
	25	30	35	
cca ctg aca aaa gca gta tta atc aca tgg ata ata aag ctc aga ggc				243
Pro Leu Thr Lys Ala Val Leu Ile Thr Trp Ile Ile Lys Leu Arg Gly				
	40	45	50	
ctg cca tcc tgc aca ata gca tac aaa gta gat aca aag acc aat gaa				291
Leu Pro Ser Cys Thr Ile Ala Tyr Lys Val Asp Thr Lys Thr Asn Glu				
	55	60	65	
acc agc tgc ttg ggc agg aac atc acc tgg gcc tcc aca cct gac cac				339
Thr Ser Cys Leu Gly Arg Asn Ile Thr Trp Ala Ser Thr Pro Asp His				
	70	75	80	85
agt cct gaa ctt cag atc agt gca gtg acc ctc cag cat gag ggg act				387
Ser Pro Glu Leu Gln Ile Ser Ala Val Thr Leu Gln His Glu Gly Thr				
	90	95	100	
tac aca tgt gag aca gta aca cct gaa ggg aat ttt gaa aaa aac tat				435
Tyr Thr Cys Glu Thr Val Thr Pro Glu Gly Asn Phe Glu Lys Asn Tyr				
	105	110	115	
gac ctc caa gtg ctg gtg ccc cct gaa gta acc tac ttt cca gag aaa				483
Asp Leu Gln Val Leu Val Pro Pro Glu Val Thr Tyr Phe Pro Glu Lys				
	120	125	130	
aac aga tct gca gtc tgt gag gca atg gca ggc aag cct gct gca cag				531
Asn Arg Ser Ala Val Cys Glu Ala Met Ala Gly Lys Pro Ala Ala Gln				
	135	140	145	
atc tct tgg tct cca gat ggg gac tgt gtc act acg agt gaa tca cac				579
Ile Ser Trp Ser Pro Asp Gly Asp Cys Val Thr Thr Ser Glu Ser His				
	150	155	160	165
agc aat ggc act gtg act gtc agg age aca tgc cac tgg gag cag aac				627
Ser Asn Gly Thr Val Thr Val Arg Ser Thr Cys His Trp Glu Gln Asn				
	170	175	180	
aat gtg tct gat gtg tcc tgc att gtc tet cat ttg act ggt aac caa				675
Asn Val Ser Asp Val Ser Cys Ile Val Ser His Leu Thr Gly Asn Gln				
	185	190	195	
tct ctg tcc ata gaa ctg agt aga ggt ggt aac caa tca tta cga cca				723
Ser Leu Ser Ile Glu Leu Ser Arg Gly Gly Asn Gln Ser Leu Arg Pro				
	200	205	210	

tat att cca tac atc ata cca tca att atc att ttg atc atc ata gga 771
Tyr Ile Pro Tyr Ile Ile Pro Ser Ile Ile Ile Leu Ile Ile Ile Gly
215 220 225

tgc att tgt ctt ttg aaa atc agt ggc ttc aga aaa tgc aaa ttg cca 819
Cys Ile Cys Leu Leu Lys Ile Ser Gly Phe Arg Lys Cys Lys Leu Pro
230 235 240 245

aaa tta gaa gct act tca gct att gag gag gat gaa atg cag cct tat 867
Lys Leu Glu Ala Thr Ser Ala Ile Glu Glu Asp Glu Met Gln Pro Tyr
250 255 260

gct agc tat aca gag aag agc aat cca ctc tat gat act gtg act aag 915
Ala Ser Tyr Thr Glu Lys Ser Asn Pro Leu Tyr Asp Thr Val Thr Lys
265 270 275

gtg gag gca ttt cca gta tca caa ggc gaa gtc aat ggc aca gac tgc 963
Val Glu Ala Phe Pro Val Ser Gln Gly Glu Val Asn Gly Thr Asp Cys
280 285 290

ctt act ttg tcg gcc att gga atc tagaaccaag aaaaaagaag tcaagagaca 1017
Leu Thr Leu Ser Ala Ile Gly Ile
295 300

tcataattac tgctttgctt tctttaaaat tcgacaatgg aaggactact tggaaattag 1077

ctcttccaaa gtatttaaaa agcacaatg ttctaataaa attgcattta aattctatca 1137

ttggaagttt ggaatctctg ctgctacctg ttaattttag gaagaactga tttaattatt 1197

acaaagaaag cacatgggta tgggtgaaata tcaagttgtg caataaagta tgatgaaaac 1257

tgagtttctt caagaaataa ctgcaggagg aacaatcacc actaaagaat ttcatgtgag 1317

ttcttcaaaa aaaattccta tgtatacatg actatggtat gtgtgtccaa ttacatgttt 1377

atttacaat gtgtatatat gcacacattt gcttttcagg acatctcett gtaaaaaaca 1437

cactggagtt ttggatttat aaaagcttat aaagtgagca ttggagatat ttt 1490

<210> 6

<211> 326

<212> PRT

<213> 未知

<400> 6

Met Phe Cys Phe Trp Arg Thr Ser Ala Leu Ala Val Leu Leu Ile Trp
-25 -20 -15 -10

Tyr Thr Glu Lys Ser Asn Pro Leu Tyr Asp Thr Val Thr Lys Val Glu
 265 270 275

Ala Phe Pro Val Ser Gln Gly Glu Val Asn Gly Thr Asp Cys Leu Thr
 280 285 290 295

Leu Ser Ala Ile Gly Ile
 300

<210> 7

<211> 1010

<212> DNA

<213> 未知

<220>

<223> 未知生物的描述: 灵长类动物; 推测的人类

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(750)

<400> 7

atg ggt gga aag cag atg aca cag aac tat tca aca att ttt gca gaa	48
Met Gly Gly Lys Gln Met Thr Gln Asn Tyr Ser Thr Ile Phe Ala Glu	
1 5 10 15	
ggt aac att tca cag cct gta ctg atg gat ata aat gct gtg ctt tgt	96
Gly Asn Ile Ser Gln Pro Val Leu Met Asp Ile Asn Ala Val Leu Cys	
20 25 30	
tgc cct cct att gca tta aga aat ttg atc ata ata aca tgg gaa ata	144
Cys Pro Pro Ile Ala Leu Arg Asn Leu Ile Ile Ile Thr Trp Glu Ile	
35 40 45	
atc ctg aga ggc cag cct tcc tgc aca aaa gcc tac aag aaa gaa aca	192
Ile Leu Arg Gly Gln Pro Ser Cys Thr Lys Ala Tyr Lys Lys Glu Thr	
50 55 60	
aat gag acc aag gaa acc aac tgt act gtt gag aga ata acc tgg gtc	240
Asn Glu Thr Lys Glu Thr Asn Cys Thr Val Glu Arg Ile Thr Trp Val	
65 70 75 80	
tct aga cct gat cag aat tgg gac ctt cag att cgt ccg gtg gac acc	288
Ser Arg Pro Asp Gln Asn Ser Asp Leu Gln Ile Arg Pro Val Asp Thr	
85 90 95	
act cat gac ggg tat tac aga ggc ata gtg gta aca cct gat ggg aat	336
Thr His Asp Gly Tyr Tyr Arg Gly Ile Val Val Thr Pro Asp Gly Asn	

100	105	110	
ttc cat cgt gga tat cac ctc caa gtg tta gtt aca ccc gaa gtg aac			384
Phe His Arg Gly Tyr His Leu Gln Val Leu Val Thr Pro Glu Val Asn			
115	120	125	
cta ttt caa agc agg aat ata act gca gta tgc aag gca gtt aca ggg			432
Leu Phe Gln Ser Arg Asn Ile Thr Ala Val Cys Lys Ala Val Thr Gly			
130	135	140	
aag cca gct gcc cag atc tcc tgg atc cca gag gga tct att ctt gcc			480
Lys Pro Ala Ala Gln Ile Ser Trp Ile Pro Glu Gly Ser Ile Leu Ala			
145	150	155	160
act aag caa gaa tac tgg ggc aat ggc aca gtg acg gtt aag agt aca			528
Thr Lys Gln Glu Tyr Trp Gly Asn Gly Thr Val Thr Val Lys Ser Thr			
165	170	175	
tgc ccc tgg gag ggc cac aag tct act gtg acc tgc cat gtc tcc cat			576
Cys Pro Trp Glu Gly His Lys Ser Thr Val Thr Cys His Val Ser His			
180	185	190	
ttg act ggc aac aag agt ctg tcc gta aag ttg aat tca ggt ctc aga			624
Leu Thr Gly Asn Lys Ser Leu Ser Val Lys Leu Asn Ser Gly Leu Arg			
195	200	205	
acc tea gga tct cca gcg ttg tcc tta ctg atc att ctt tat gtg aaa			672
Thr Ser Gly Ser Pro Ala Leu Ser Leu Leu Ile Ile Leu Tyr Val Lys			
210	215	220	
ctc tet ctt ttt gtg gtc att ctg gtc acc aca gga ttt gtt ttc ttc			720
Leu Ser Leu Phe Val Val Ile Leu Val Thr Thr Gly Phe Val Phe Phe			
225	230	235	240
cag agg ata aat cat gtc aga aaa gtt ctt taaagaagaa ggaagggtct			770
Gln Arg Ile Asn His Val Arg Lys Val Leu			
245	250		
tcttttgctt ctctccttg tctctggaet gcaacattgg tgagatgagt gatggtccag			830
cagtgaactt gggccatgga tgatgttaag gatagaagcc actcagtagg atagaagaaa			890
agaaagatgg aagaaggatc ctgggcttga tgaccatgaa gtttcctat aaaccctcaa			950
ccacctattc attgacttct tttgtgtag agtgaataaa attttgttca tgccagtgtt			1010

<210> 8
 <211> 250
 <212> PRT

<213> 未知

<400> 8

Met Gly Gly Lys Gln Met Thr Gln Asn Tyr Ser Thr Ile Phe Ala Glu
1 5 10 15

Gly Asn Ile Ser Gln Pro Val Leu Met Asp Ile Asn Ala Val Leu Cys
20 25 30

Cys Pro Pro Ile Ala Leu Arg Asn Leu Ile Ile Ile Thr Trp Glu Ile
35 40 45

Ile Leu Arg Gly Gln Pro Ser Cys Thr Lys Ala Tyr Lys Lys Glu Thr
50 55 60

Asn Glu Thr Lys Glu Thr Asn Cys Thr Val Glu Arg Ile Thr Trp Val
65 70 75 80

Ser Arg Pro Asp Gln Asn Ser Asp Leu Gln Ile Arg Pro Val Asp Thr
85 90 95

Thr His Asp Gly Tyr Tyr Arg Gly Ile Val Val Thr Pro Asp Gly Asn
100 105 110

Phe His Arg Gly Tyr His Leu Gln Val Leu Val Thr Pro Glu Val Asn
115 120 125

Leu Phe Gln Ser Arg Asn Ile Thr Ala Val Cys Lys Ala Val Thr Gly
130 135 140

Lys Pro Ala Ala Gln Ile Ser Trp Ile Pro Glu Gly Ser Ile Leu Ala
145 150 155 160

Thr Lys Gln Glu Tyr Trp Gly Asn Gly Thr Val Thr Val Lys Ser Thr
165 170 175

Cys Pro Trp Glu Gly His Lys Ser Thr Val Thr Cys His Val Ser His
180 185 190

Leu Thr Gly Asn Lys Ser Leu Ser Val Lys Leu Asn Ser Gly Leu Arg
195 200 205

Thr Ser Gly Ser Pro Ala Leu Ser Leu Leu Ile Ile Leu Tyr Val Lys
210 215 220

Leu Ser Leu Phe Val Val Ile Leu Val Thr Thr Gly Phe Val Phe Phe
225 230 235 240

Gln Arg Ile Asn His Val Arg Lys Val Leu
245 250

<210> 9
 <211> 1085
 <212> DNA
 <213> 未知

<220>
 <223> 未知生物的描述: 啮齿类动物; 推测的肌肉

<220>
 <221> CDS
 <222> (1).. (582)

<400> 9

aga ggc cag cct tcc tgc ata atg gcc tac aaa gta gaa aca aag gag	48
Arg Gly Gln Pro Ser Cys Ile Met Ala Tyr Lys Val Glu Thr Lys Glu	
1 5 10 15	
acc aat gaa acc tgc ttg ggc agg aac atc acc tgg gcc tcc aca cct	96
Thr Asn Glu Thr Cys Leu Gly Arg Asn Ile Thr Trp Ala Ser Thr Pro	
20 25 30	
gac cac att cct gac ctt cag atc agt gcg gtg gcc ctc cag cat gag	144
Asp His Ile Pro Asp Leu Gln Ile Ser Ala Val Ala Leu Gln His Glu	
35 40 45	
ggg aat tac tta tgt gag ata aca aca cct gaa ggg aat ttc cat aaa	192
Gly Asn Tyr Leu Cys Glu Ile Thr Thr Pro Glu Gly Asn Phe His Lys	
50 55 60	
gtc tat gac ctc caa gtg ctg gtg ccc cct gaa gta acc tac ttt ctc	240
Val Tyr Asp Leu Gln Val Leu Val Pro Pro Glu Val Thr Tyr Phe Leu	
65 70 75 80	
ggg gaa aat aga act gca gtt tgt gag gca atg gca ggc aag cct gct	288
Gly Glu Asn Arg Thr Ala Val Cys Glu Ala Met Ala Gly Lys Pro Ala	
85 90 95	
gca cag atc tct tgg act cca gat ggg gac tgt gtc act aag agt gag	336
Ala Gln Ile Ser Trp Thr Pro Asp Gly Asp Cys Val Thr Lys Ser Glu	
100 105 110	
tca cac agc aat ggc act gtg act gtc agg agc act tgc cac tgg gag	384
Ser His Ser Asn Gly Thr Val Thr Val Arg Ser Thr Cys His Trp Glu	
115 120 125	
cag aac aat gtg tct gct gtg tcc tgc att gtc tct cat teg act ggt	432
Gln Asn Asn Val Ser Ala Val Ser Cys Ile Val Ser His Ser Thr Gly	
130 135 140	

aat cag tct ctg tcc ata gaa ctg agt aga ggt acc acc agc acc acc 480
 Asn Gln Ser Leu Ser Ile Glu Leu Ser Arg Gly Thr Thr Ser Thr Thr
 145 150 155 160

cct tcc ttg ctg acc att ctc tac gtg aaa atg gtc ctt ttg ggg att 528
 Pro Ser Leu Leu Thr Ile Leu Tyr Val Lys Met Val Leu Leu Gly Ile
 165 170 175

att ctt ctt aaa gtg gga ttt gct ttc ttc cag aag aga aat gtt acc 576
 Ile Leu Leu Lys Val Gly Phe Ala Phe Phe Gln Lys Arg Asn Val Thr
 180 185 190

aga aca tgaatatcca gatttctgga agctcattag tctgatgaca cataccagaa 632
 Arg Thr

aacagcattt gtaatcaact ttctcattgg aatccagctt acccgtccct gctgtcttca 692

tgtttgtag acactcacct ccaaattctt aactgagaag ggctcctgtc taaaggaaat 752

atggggacaaa attgtggagc atagacccaaa agaaaggcca tccagagact gccccaccta 812

aggaccate ccatatacag acaccaaace cagacactac tgaagatgct gegaagcgtt 872

tgetgacagg agcctgttat agctgtctec tgagaggetc agccagagcc tgacaaatac 932

ataggtagat gcttgcagcc aacaactgga ctgagcaaaa aatctccatt ggaggagtta 992

gagaaaggac tgaagagggt gaaagggttt gcagccccat aggaagaaca acaatatcaa 1052

ccaaccagat ctcccagagc tcccaggac taa 1085

<210> 10

<211> 194

<212> PRT

<213> 未知

<400> 10

Arg Gly Gln Pro Ser Cys Ile Met Ala Tyr Lys Val Glu Thr Lys Glu
 1 5 10 15

Thr Asn Glu Thr Cys Leu Gly Arg Asn Ile Thr Trp Ala Ser Thr Pro
 20 25 30

Asp His Ile Pro Asp Leu Gln Ile Ser Ala Val Ala Leu Gln His Glu
 35 40 45

Gly Asn Tyr Leu Cys Glu Ile Thr Thr Pro Glu Gly Asn Phe His Lys
 50 55 60

Val Tyr Asp Leu Gln Val Leu Val Pro Pro Glu Val Thr Tyr Phe Leu
 65 70 75 80
 Gly Glu Asn Arg Thr Ala Val Cys Glu Ala Met Ala Gly Lys Pro Ala
 85 90 95
 Ala Gln Ile Ser Trp Thr Pro Asp Gly Asp Cys Val Thr Lys Ser Glu
 100 105 110
 Ser His Ser Asn Gly Thr Val Thr Val Arg Ser Thr Cys His Trp Glu
 115 120 125
 Gln Asn Asn Val Ser Ala Val Ser Cys Ile Val Ser His Ser Thr Gly
 130 135 140
 Asn Gln Ser Leu Ser Ile Glu Leu Ser Arg Gly Thr Thr Ser Thr Thr
 145 150 155 160
 Pro Ser Leu Leu Thr Ile Leu Tyr Val Lys Met Val Leu Leu Gly Ile
 165 170 175
 Ile Leu Leu Lys Val Gly Phe Ala Phe Phe Gln Lys Arg Asn Val Thr
 180 185 190

Arg Thr

<210> 11
 <211> 1354
 <212> DNA
 <213> 未知

<220>
 <223> 未知生物的描述: 啮齿类动物; 推测的肌肉

<220>
 <221> CDS
 <222> (42).. (875)

<220>
 <221> mat_肽
 <222> (117).. (875)

<400> 11
 ggcacgagtt acgatttgtg cttaacctga ctccactcca g atg cat gct ttg ggg 56
 Met His Ala Leu Gly
 -25

agg act ctg gct ttg atg tta ctc atc ttc atc act att ttg gtg cct 104

Arg Thr Leu Ala Leu Met Leu Leu Ile Phe Ile Thr Ile Leu Val Pro
 -20 -15 -10 -5

 gag tca agt tgt tca gtg aaa gga cgg gag gag atc cca ccg gat gat 152
 Glu Ser Ser Cys Ser Val Lys Gly Arg Glu Glu Ile Pro Pro Asp Asp
 -1 1 5 10

 tca ttt cct ttt tca gat gat aat atc ttc cct gat gga gtg ggc gtc 200
 Ser Phe Pro Phe Ser Asp Asp Asn Ile Phe Pro Asp Gly Val Gly Val
 15 20 25

 acc atg gag att gag att atc act cca gtg tct gta cag ata ggt atc 248
 Thr Met Glu Ile Glu Ile Ile Thr Pro Val Ser Val Gln Ile Gly Ile
 30 35 40

 aag gct cag ctt ttc tgt cat cct agt cca tca aaa gaa gca aca ctt 296
 Lys Ala Gln Leu Phe Cys His Pro Ser Pro Ser Lys Glu Ala Thr Leu
 45 50 55 60

 aga ata tgg gaa ata act ccc aga gac tgg cct tcc tgc aga cta ccc 344
 Arg Ile Trp Glu Ile Thr Pro Arg Asp Trp Pro Ser Cys Arg Leu Pro
 65 70 75

 tac aga gca gag ttg cag cag atc agt aaa aaa atc tgt act gag aga 392
 Tyr Arg Ala Glu Leu Gln Gln Ile Ser Lys Lys Ile Cys Thr Glu Arg
 80 85 90

 gga acc act agg gtc cct gca cat cac cag agt tct gac ctt ccc atc 440
 Gly Thr Thr Arg Val Pro Ala His His Gln Ser Ser Asp Leu Pro Ile
 95 100 105

 aaa tca atg gcc ctc aag cat gat ggg cat tac tca tgt cgg ata gaa 488
 Lys Ser Met Ala Leu Lys His Asp Gly His Tyr Ser Cys Arg Ile Glu
 110 115 120

 aca aca gat ggg att ttc caa gag aga cat agc atc caa gtg cca ggg 536
 Thr Thr Asp Gly Ile Phe Gln Glu Arg His Ser Ile Gln Val Pro Gly
 125 130 135 140

 gaa aat aga act gta gtt tgt gag gca att gca agc aag cct gct atg 584
 Glu Asn Arg Thr Val Val Cys Glu Ala Ile Ala Ser Lys Pro Ala Met
 145 150 155

 cag atc ttg tgg act cca gat gag gac tgt gtc act aag agt aaa tca 632
 Gln Ile Leu Trp Thr Pro Asp Glu Asp Cys Val Thr Lys Ser Lys Ser
 160 165 170

 cac aat gac acc atg att gtc agg agc aag tgc cac agg gag aaa aac 680
 His Asn Asp Thr Met Ile Val Arg Ser Lys Cys His Arg Glu Lys Asn
 175 180 185

aat ggc cac agt gtg ttc tgc ttt atc tcc cat ttg act gat aac tgg 728
 Asn Gly His Ser Val Phe Cys Phe Ile Ser His Leu Thr Asp Asn Trp
 190 195 200

att ctc tcc atg gaa cag aat cga ggt aca acc agc atc ctg cct tcc 776
 Ile Leu Ser Met Glu Gln Asn Arg Gly Thr Thr Ser Ile Leu Pro Ser
 205 210 215 220

ttg ctg agc att ctc tat gtg aaa ctg gct gta act gtt ctc atc gta 824
 Leu Leu Ser Ile Leu Tyr Val Lys Leu Ala Val Thr Val Leu Ile Val
 225 230 235

gga ttt gct ttt ttc cag aag aga aat tat ttc aga gtg cca gaa ggc 872
 Gly Phe Ala Phe Phe Gln Lys Arg Asn Tyr Phe Arg Val Pro Glu Gly
 240 245 250

tcc tgaggagagt ggtctgtggt taagatgaga ttaccacca tctgaaagac 925
 Ser

atcttgtcta ccgcgcagcg tgetgagatt ccgagaagca gccacagaac ctactaggaa 985

gacaaatctg atgtggtgt caatccttcc aatggacctg agtacttcta taaaccggag 1045

tgaggtgtg ctggaccag gagccagct aggtcatata tgttgatttt tgetgcaaga 1105

cctcatgggt tatctacaaa tctaaatc tttcacttcc agtttttaaaa cttttggccc 1165

aagcatttta tccacagcat aacacctta aagaaactct cccaaggaaa ctgctggttc 1225

catggaatgg aaaattgcaa catggtttac aagacagtgc aaaccaagca gcattccaag 1285

atatgagctt cagaaagta caggaactgt cttgggacga gaaagaagga ttaaatagtt 1345

cccagtccc 1354

<210> 12

<211> 278

<212> PRT

<213> 未知

<400> 12

Met His Ala Leu Gly Arg Thr Leu Ala Leu Met Leu Leu Ile Phe Ile
 -25 -20 -15 -10

Thr Ile Leu Val Pro Glu Ser Ser Cys Ser Val Lys Gly Arg Glu Glu
 -5 -1 1 5

Ile Pro Pro Asp Asp Ser Phe Pro Phe Ser Asp Asp Asn Ile Phe Pro

<212> DNA
<213> 反向翻译

<220>
<221> misc_特征
<222> (1)..(981)
<223> n 可以是 a, c, g, 或 t

<400> 13
atgytntgyt tytggmgnac nwsncaygtn gengtynytny tnathtgggg ngtnntygen 60
gengarwsnw sntgyccnga yaaraaycar acnatgara ayaaywsnws nacnatgacn 120
gargtnaaya cnacngtntt ygtncaratg ggnaaraarg cnytnytntg ytgyccnwsn 180
athwsnytna cnaargtnat hytnathaen tggacnatha cnytnmgngg ncarccnwsn 240
tgyathathw sntayaargc ngayacnmgn garacncayg arwsnaaytg ywsngaymgn 300
wsnathaent gggcnwsnac ncengaytn gcnccngayy tncarathws ngcngtngen 360
ytncarcayg arggngmgnata ywsntgygay athgengtnc engayggnaa yttycaraay 420
athtaygayy tncargtnyt ngtnccncn gargtnacnc ayttycngg ngaraaymgn 480
acngcngtnt gygargcnat hgcnngnaar ccngcngcnc arathwsntg gacncngay 540
ggngaytgyg tngcnaaraa ygarwsncay wsnaaygna cngtnacngt nmgnwsnacn 600
tgycaytggg arcarwsnca ygtnwsngtn gtnttytgyg tngtnwsnca yytnacnacn 660
ggnaaycarw snytnwsnat hgarytnggn mgnggngngng aycarytnyt nggnwsntay 720
athcartaya thatccnws nathathath ytnathatha thggntgyat htgyytnytn 780
aarathwsng gntgymgnaa rtgyaarytn ccnaarwsng gngcnacncc ngayathgar 840
gargaygara tgcarcnta ygenwsntay acngaraarw snaayccnyt ntaygayacn 900
gtnacnacna cngargcnca yccngenwsn carggnaarg tnaaygnac ngaytgyytn 960
acnytnwsng cnatgggnat h 981

<210> 14
<211> 885
<212> DNA
<213> 反向翻译

<220>

<221> misc_特征
<222> (1)..(885)
<223> n 可以是 a, c, g, 或 t

<400> 14

atgytntgyc cntggmgnac ngcnaaytn ggnytnytny tnathytnac nathttyytn 60
gtngengarg cngarggngc ngencarcon aayaaywsny tnatgytnca racnwsnaar 120
garaaycayg cnytnngenws nwsnwsnytn tgyatggayg araarcarat hacncaraay 180
taywsnaarg tnytnngnga rgtnaayaen wsntggceng tnaaratggc nacnaaygn 240
gtnytntyt gycncnecat hgcnymnmg aayytnatha thathacntg ggarathath 300
ytnmgnggnc arccnwsntg yacnaargen tayaaraarg aracnaayga racnaargar 360
acnaaytgya cngaygarmg nathacntgg gtnwsnmngc cngaycaraa ywsngayytn 420
carathmgna cngtnngenat hacncaygay ggntaytaym gntgyathat ggtnacnccn 480
gaygnaayt tycaymgng ntaycayytn cargtnytn tncncnga rgtnacnytn 540
tтысaraaym gnaaymgnac ngcngtntgy aargcngtng cnggnaarcc ngcngncay 600
athwsntgga thcengargg ngaytgygn acnaarcarg artaytgows naayggnacn 660
gtnacngtna arwsnacntg ycaytgggar gtncayaayg tnwsnacntg nacntgyay 720
gtnwsncayy tncnggnaa yaarwsnytn tayathgary tnytnccngt nccngngcn 780
aaraarathw snaarathat htaywsnath taycaycent aytaytayta yytngaycay 840
mgnggnathe ayytngtngt ngarwsnear tgytncara arath 885

<210> 15
<211> 978
<212> DNA
<213> 反向翻译

<220>
<221> misc_特征
<222> (1)..(978)
<223> n 可以是 a, c, g, 或 t

<400> 15

atgttytyt tytggmgnac nwsngcnytn gcngtnytny tnathtgggg ngtnnttygtn 60
gonggnwsnw sntgyacnga yaaraaycar acnacncara ayaaywsnws nwsncnytn 120

acncargtna ayacnaengt nwsngtnear athggnacna argenytnyt ntgytgytty 180

wsnathecny tnacnaargc ngtnytnath acntggatha thaarytnmg nggnytnecn 240

wsntgyacna thgentayaa rgtngayacn aaracnaayg aracnwsntg yytnngnmgn 300

aayathacnt gggenwsnac nccngaycay wsnccngary tncarathws ngcngtnacn 360

ytnarcayg arggnacnta yacntgygar acngtnacnc engarggnaa yttygaraar 420

aaytaygayy tncargtnyt ngtnccnecn gargtnacnt ayttycnga raaraaymgn 480

wsngcngtnt gygargenat ggenggnaar ccngcngcnc arathwsntg gwsnccngay 540

ggngaytgyg tnacnacnws ngarwsncay wsnaaygna cngtnacngt nmgnwsnacn 600

tgycaytggg arcaraayaa ygtnwsngay gtnwsntgya thgtnwsnca yytnacnggn 660

aaycarwsny tnwsnathga rytnwsnmgn ggnggnaayc arwsnytnmg nccntayath 720

centayatha thecnwsnat hathathytn athathathg gntgyathtg yytnytnaar 780

athwsnggnt tymgnaartg yaarytnecn aarytngarg enacnwsngc nathgargar 840

gaygaratgc arccntaygc nwsntayaen garaarwsna aycnytnnta ygayacngtn 900

acnaargtng argcnttycc ngtnwsncar ggngargtna ayggnaacnga ytgyytnacn 960

ytnwsngcna thggnath 978

<210> 16

<211> 750

<212> DNA

<213> 反向翻译

<220>

<221> misc_特征

<222> (1).. (750)

<223> n 可以是 a, c, g, 或 t

<400> 16

atgggnggna arcaratgac ncaraaytay wsnacnatht tygcngargg naayathwsn 60

carcngtny tnatggayat haaycngtn ytntgytgyc encnathgc nytnmgnaay 120

ytnathatha thacntggga rathathytn mgnggncarc cnwsntgyac naargcntay 180

aaraargara cnaaygarac naargaracn aaytgyacng tngarmgnat hacntgggtn 240

wsmgnceng aycaraayws ngaytncar athmgnceng tngayacnac ncaygaygn 300
 taytaymgng gnathgtngt nacncengay ggnaayttyc aymngngnta ycaytncar 360
 gtnytngtna encngargt naaytntty carwsnmgna ayathacngc ngntngyaar 420
 gcngtnacng gnaarcngc ngencarath wsntggathc engarggnws nathytngcn 480
 acnaarcarg artaytgggg naayggnaen gtnacngtna arwsnacntg ycentgggar 540
 ggncayaarw snacngtnac ntgycaigt nwcayytna cnggnaayaa rwsnytnwsn 600
 gtnaarytna aywsnggnyt nmgnacnwsn ggnwsncng cnytnwsnyt nytnathath 660
 ytnaygtna arytnwsnyt nttygtngtn athytngtna cnacnggntt ygtnttytty 720
 carmgnaatha aycaygtnmg naargtnyt 750

<210> 17

<211> 582

<212> DNA

<213> 反向翻译

<220>

<221> misc_特征

<222> (1)..(582)

<223> n 可以是 a, c, g, 或 t

<400> 17

mgngncarc cnwsntgyat hatggentay aargtngara cnaargarac naaygaraen 60
 tgyytnggm gnaayathac ntgggenwsn acncengayc ayathcenga yytncarath 120
 wsgcngtng cnytnearca ygarggnaay tayytntgyg arathacnac ncncngarggn 180
 aayttycaya argntayga yytncargtn ytngtncnc engargtnac ntayttyytn 240
 ggngaraaym gnaocngnt ntgygargen atggcnggna arccngcngc ncarathwsn 300
 tggacncng ayggngaytg ygtnacnaar wsgarwsnc aywsnaaygg nacngtnacn 360
 gtnmgwsna cntgycaigt ggarcaraay aaygtnwsng cngtnwsntg yathgtnwsn 420
 caywsnacng gnaaycarws nytnwsnath garytnwsnm gnggnacnac nwsnacnacn 480
 ccnwsnytny tnacnathyt ntaygtnaar atggtnytny tnggnathat hytnytnaar 540
 gtnggnttyg cnttyttyca raarmgnaay gtnacnmgna cn 582

<210> 18
<211> 834
<212> DNA
<213> 反向翻译

<220>
<221> misc_特征
<222> (1).. (834)
<223> n 可以是 a, c, g, 或 t

<400> 18
atgcaygeny tnggnmgnae nytngcnytn atgytnytna thttyathac nathyngtn 60
cngarwsnw sntgywsngt naarggnmgn gargarathc encngayga ywsnttyccn 120
ttywsngayg ayaayathht yccngaygn gtngngtna cnatggarat hgarathath 180
acncngtnw sngtncarat hgnnathaar gencarytnt tytgycaycc nwsncnwsn 240
aargargena cnytnmgnae htgggarath acncnmgng aytggccnws ntgymgnytn 300
centaymgng engarytnca rcarathwsn aaraaratht gyaengarmg nggnacnaen 360
mgngtncng encaycayca rwsnwsngay ytncnatha arwsnatgce nytnaarcay 420
gaygncayt aywsntgyng nathgaraen acngaygna thttycarga rmgnaywsn 480
athcargtnc cngngaraa ymgnaengtn gtntgygarg cnathgenws naarcngcn 540
atgearathy tntggacnce ngaygargay tgygtnacna arwsnaarws ncayaaygay 600
acnatgathg tnmgnwsnaa rtgycaymgn garaaraaya aygncayws ngtnttytgy 660
ttyathwsnc ayytnacnga yaaytgath ytnwsnatgg arcaraaymg nggnacnaen 720
wsnathytn cwnsnytnyt nwsnathytn taygtnaary tngcngtnac ngtnytnath 780
gtngnttyg enttytca raarmgnaay taytymgng tncngargg nwsn 834

<210> 19
<211> 1047
<212> DNA
<213> 未知

<220>
<223> 未知生物的描述: 灵长类动物, 推测的人类

<220>
<221> CDS

<222> (1)..(1044)

<220>

<221> mat_肽

<222> (79)..(1044)

<400> 19

atg ctc tgc cct tgg aga act gct aac cta ggg cta ctg ttg att ttg 48
Met Leu Cys Pro Trp Arg Thr Ala Asn Leu Gly Leu Leu Leu Ile Leu
-25 -20 -15

act atc ttc tta gtg gcc gaa gcg gag ggt gct gct caa cca aac aac 96
Thr Ile Phe Leu Val Ala Glu Ala Glu Gly Ala Ala Gln Pro Asn Asn
-10 -5 -1 1 5

tca tta atg ctg caa act agc aag gag aat cat gct tta gct tca agc 144
Ser Leu Met Leu Gln Thr Ser Lys Glu Asn His Ala Leu Ala Ser Ser
10 15 20

agt tta tgt atg gat gaa aaa cag att aca cag aac tac tcg aaa gta 192
Ser Leu Cys Met Asp Glu Lys Gln Ile Thr Gln Asn Tyr Ser Lys Val
25 30 35

ctc gca gaa gtt aac act tca tgg cct gta aag atg gct aca aat gct 240
Leu Ala Glu Val Asn Thr Ser Trp Pro Val Lys Met Ala Thr Asn Ala
40 45 50

gtg ctt tgt tgc cct cct atc gca tta aga aat ttg atc ata ata aca 288
Val Leu Cys Cys Pro Pro Ile Ala Leu Arg Asn Leu Ile Ile Ile Thr
55 60 65 70

tgg gaa ata atc ctg aga ggc cag cct tcc tgc aca aaa gcc tac agg 336
Trp Glu Ile Ile Leu Arg Gly Gln Pro Ser Cys Thr Lys Ala Tyr Arg
75 80 85

aaa gaa aca aat gag acc aag gaa acc aac tgt act gat gag aga ata 384
Lys Glu Thr Asn Glu Thr Lys Glu Thr Asn Cys Thr Asp Glu Arg Ile
90 95 100

acc tgg gtc tcc aga cct gat cag aat tcg gac ctt cag att cgt cca 432
Thr Trp Val Ser Arg Pro Asp Gln Asn Ser Asp Leu Gln Ile Arg Pro
105 110 115

gtg gcc atc act cat gac ggg tat tac aga tgc ata atg gta aca cct 480
Val Ala Ile Thr His Asp Gly Tyr Tyr Arg Cys Ile Met Val Thr Pro
120 125 130

gat ggg aat ttc cat cgt gga tat cac ctc caa gtg tta gtt aca cct 528
Asp Gly Asn Phe His Arg Gly Tyr His Leu Gln Val Leu Val Thr Pro
135 140 145 150

gaa gtg acc ctg ttt caa aac agg aat aga act gca gta tgc aag gca 576
 Glu Val Thr Leu Phe Gln Asn Arg Asn Arg Thr Ala Val Cys Lys Ala
 155 160 165

gtt gca ggg aag cca gct gcg cag atc tcc tgg atc cca gag ggc gat 624
 Val Ala Gly Lys Pro Ala Ala Gln Ile Ser Trp Ile Pro Glu Gly Asp
 170 175 180

tgt gcc act aag caa gaa tac tgg agc aat ggc aca gtg act gtt aag 672
 Cys Ala Thr Lys Gln Glu Tyr Trp Ser Asn Gly Thr Val Thr Val Lys
 185 190 195

agt aca tgc cac tgg gag gtc cac aat gtg tet acc gtg acc tgc cac 720
 Ser Thr Cys His Trp Glu Val His Asn Val Ser Thr Val Thr Cys His
 200 205 210

gtc tcc cat ttg act ggc aac aag agt ctg tac ata gag cta ctt cct 768
 Val Ser His Leu Thr Gly Asn Lys Ser Leu Tyr Ile Glu Leu Leu Pro
 215 220 225 230

gtt cca ggt gcc aaa aaa tca gca aaa tta tat att cca tat atc atc 816
 Val Pro Gly Ala Lys Lys Ser Ala Lys Leu Tyr Ile Pro Tyr Ile Ile
 235 240 245

ctt act att att att ttg acc atc gtg gga ttc att tgg ttg ttg aaa 864
 Leu Thr Ile Ile Ile Leu Thr Ile Val Gly Phe Ile Trp Leu Leu Lys
 250 255 260

gtc aat ggc tgc aga aaa tat aaa ttg aat aaa aca gaa tct act cca 912
 Val Asn Gly Cys Arg Lys Tyr Lys Leu Asn Lys Thr Glu Ser Thr Pro
 265 270 275

gtt gtt gag gag gat gaa atg cag ccc tat gcc agc tac aca gag aag 960
 Val Val Glu Glu Asp Glu Met Gln Pro Tyr Ala Ser Tyr Thr Glu Lys
 280 285 290

aac aat cct ctc tat gat act aca aac aag gtg aag gca tct cag gca 1008
 Asn Asn Pro Leu Tyr Asp Thr Thr Asn Lys Val Lys Ala Ser Gln Ala
 295 300 305 310

tta caa agt gaa gtt gac aca gac ctc cat act tta taa 1047
 Leu Gln Ser Glu Val Asp Thr Asp Leu His Thr Leu
 315 320

<210> 20

<211> 348

<212> PRT

<213> 未知

<400> 20

Met Leu Cys Pro Trp Arg Thr Ala Asn Leu Gly Leu Leu Leu Ile Leu
-25 -20 -15

Thr Ile Phe Leu Val Ala Glu Ala Glu Gly Ala Ala Gln Pro Asn Asn
-10 -5 -1 1 5

Ser Leu Met Leu Gln Thr Ser Lys Glu Asn His Ala Leu Ala Ser Ser
10 15 20

Ser Leu Cys Met Asp Glu Lys Gln Ile Thr Gln Asn Tyr Ser Lys Val
25 30 35

Leu Ala Glu Val Asn Thr Ser Trp Pro Val Lys Met Ala Thr Asn Ala
40 45 50

Val Leu Cys Cys Pro Pro Ile Ala Leu Arg Asn Leu Ile Ile Ile Thr
55 60 65 70

Trp Glu Ile Ile Leu Arg Gly Gln Pro Ser Cys Thr Lys Ala Tyr Arg
75 80 85

Lys Glu Thr Asn Glu Thr Lys Glu Thr Asn Cys Thr Asp Glu Arg Ile
90 95 100

Thr Trp Val Ser Arg Pro Asp Gln Asn Ser Asp Leu Gln Ile Arg Pro
105 110 115

Val Ala Ile Thr His Asp Gly Tyr Tyr Arg Cys Ile Met Val Thr Pro
120 125 130

Asp Gly Asn Phe His Arg Gly Tyr His Leu Gln Val Leu Val Thr Pro
135 140 145 150

Glu Val Thr Leu Phe Gln Asn Arg Asn Arg Thr Ala Val Cys Lys Ala
155 160 165

Val Ala Gly Lys Pro Ala Ala Gln Ile Ser Trp Ile Pro Glu Gly Asp
170 175 180

Cys Ala Thr Lys Gln Glu Tyr Trp Ser Asn Gly Thr Val Thr Val Lys
185 190 195

Ser Thr Cys His Trp Glu Val His Asn Val Ser Thr Val Thr Cys His
200 205 210

Val Ser His Leu Thr Gly Asn Lys Ser Leu Tyr Ile Glu Leu Leu Pro
215 220 225 230

Val Pro Gly Ala Lys Lys Ser Ala Lys Leu Tyr Ile Pro Tyr Ile Ile
235 240 245

Leu Thr Ile Ile Ile Leu Thr Ile Val Gly Phe Ile Trp Leu Leu Lys
250 255 260

Val Asn Gly Cys Arg Lys Tyr Lys Leu Asn Lys Thr Glu Ser Thr Pro
265 270 275

Val Val Glu Glu Asp Glu Met Gln Pro Tyr Ala Ser Tyr Thr Glu Lys
280 285 290

Asn Asn Pro Leu Tyr Asp Thr Thr Asn Lys Val Lys Ala Ser Gln Ala
295 300 305 310

Leu Gln Ser Glu Val Asp Thr Asp Leu His Thr Leu
315 320

<210> 21

<211> 1044

<212> DNA

<213> 反向翻译

<220>

<221> misc_特征

<222> (1)..(1044)

<223> n 可以是 a, c, g, 或 t

<400> 21

atgytntgyc cntggmgnac ngcnaaytn ggnytnytny tnathytnac nathttyytn 60
gtngengarg cngargngc ngcncarcn aayaaywsny tnatgytnca racnwsnaar 120
garaaycayg cnytnngenws nwsnwsnytn tgyatggayg araarcarat hacncaraay 180
taywsnaarg tnytngega rgtnaayaen wsntggceng tnaaratggc nacnaaygen 240
gtnytntyt gycencenat hgcnymgn aayytnatha thathacntg ggarathath 300
ytnmnggnc arcnwsntg yacnaargen taymnaarg aracnaayga racnaargar 360
acnaaytgya cngaygarmg nathacntgg gtnwsnmgc cngaycaraa ywsngayytn 420
carathmgnc cngtngenat hacncaygay ggntaytaym gntgyathat ggtnacncn 480
gaygnaayt tycaymngg ntaycayytn cargtnytn tncncenga rgtnacnytn 540
ttycaraaym gnaaymgnac ngengtntgy aargengtng enggnaarce ngengcnear 600

athwsntgga thcngargg ngaytgygcn acnaarcarg artaytggws naayggnacn 660
 gtnacngtna arwsnacntg ycaytgggar gtncaayaayg tnwsnacngt nachtgy cay 720
 gtnwsncayy tnacnggnaa yaarwsnytn tayathgary tnytnccngt necngngcn 780
 aaraarwsng enaarytnta yathccntay athathytna cnathathat hytnacnath 840
 gtnggnttya thtgytnyt naargtnaay ggntgymgna artayaaryt naayaaracn 900
 garwsnacnc cngtngtnga rgargaygar atgcarcnt aygnwsnta yacngaraar 960
 aayaayccny tntaygayac nacnaayaar gtnaargcnw sncargenynt ncarwsngar 1020
 gtngayaeng ayytncaayac nytn 1044

<210> 22
 <211> 813
 <212> DNA
 <213> 未知

<220>
 <223> 未知动物的描述: 啮齿类动物; 推测的肌肉

<220>
 <221> CDS
 <222> (1)..(810)

<220>
 <221> mat_肽
 <222> (76)..(810)

<400> 22
 atg cat gct ctg ggg agg att ccg act ttg act ttg ctg atc ttc atc 48
 Met His Ala Leu Gly Arg Ile Pro Thr Leu Thr Leu Leu Ile Phe Ile
 -25 -20 -15 -10

 aat att ttt gtg tct ggg tca agt tgt act gat gag aat caa aca ata 96
 Asn Ile Phe Val Ser Gly Ser Ser Cys Thr Asp Glu Asn Gln Thr Ile
 -5 -1 1 5

 cag aat gac agt tca tct tct ctg aca caa gtt aac act aca atg tct 144
 Gln Asn Asp Ser Ser Ser Ser Leu Thr Gln Val Asn Thr Thr Met Ser
 10 15 20

 gta cag atg gat aaa aag gct ctg ctc tgc tgc ttt tct agt cca ctg 192
 Val Gln Met Asp Lys Lys Ala Leu Leu Cys Cys Phe Ser Ser Pro Leu
 25 30 35

ata aat gca gta tta atc aca tgg ata ata aaa cac aga cac ctg cct 240
 Ile Asn Ala Val Leu Ile Thr Trp Ile Ile Lys His Arg His Leu Pro
 40 45 50 55

tcc tgc aca ata gca tac aac cta gat aaa aag acc aat gaa acc agc 288
 Ser Cys Thr Ile Ala Tyr Asn Leu Asp Lys Lys Thr Asn Glu Thr Ser
 60 65 70

tgc ttg ggc agg aac atc acc tgg gcc tcc aca cct gac cac agt cct 336
 Cys Leu Gly Arg Asn Ile Thr Trp Ala Ser Thr Pro Asp His Ser Pro
 75 80 85

gaa ctt cag atc agt gca gtg gcc ctc cag cat gag ggg act tac aca 384
 Glu Leu Gln Ile Ser Ala Val Ala Leu Gln His Glu Gly Thr Tyr Thr
 90 95 100

tgt gag ata gta aca cct gaa ggg aat tta gaa aaa gtc tat gac ctc 432
 Cys Glu Ile Val Thr Pro Glu Gly Asn Leu Glu Lys Val Tyr Asp Leu
 105 110 115

caa gtg ctg gtg ccc cct gag gta acc tac ttt cca ggg aaa aac aga 480
 Gln Val Leu Val Pro Pro Glu Val Thr Tyr Phe Pro Gly Lys Asn Arg
 120 125 130 135

act gca gtc tgt gag gca atg gca ggc aag cct gct gca cag atc tct 528
 Thr Ala Val Cys Glu Ala Met Ala Gly Lys Pro Ala Ala Gln Ile Ser
 140 145 150

tgg act cca gat ggg gac tgt gtc act aag agt gag tca cac age aat 576
 Trp Thr Pro Asp Gly Asp Cys Val Thr Lys Ser Glu Ser His Ser Asn
 155 160 165

ggc act gtg act gtc agg agc acg tgc cac tgg gag cag aac aat gtg 624
 Gly Thr Val Thr Val Arg Ser Thr Cys His Trp Glu Gln Asn Asn Val
 170 175 180

tct gtt gtg tcc tgc tta gtc tet cat tgg act ggt aat cag tet ctg 672
 Ser Val Val Ser Cys Leu Val Ser His Ser Thr Gly Asn Gln Ser Leu
 185 190 195

tcc ata gaa ctg agt caa ggt aca atg acc acc ccc cgt tcc ttg ctg 720
 Ser Ile Glu Leu Ser Gln Gly Thr Met Thr Thr Pro Arg Ser Leu Leu
 200 205 210 215

acc att ctc tat gtg aaa atg gcc ctt ttg gtg att att ctt ctt aac 768
 Thr Ile Leu Tyr Val Lys Met Ala Leu Leu Val Ile Ile Leu Leu Asn
 220 225 230

gta gga ttt gct ttc ttc cag aag aga aat ttt gcc aga aca tga 813
 Val Gly Phe Ala Phe Phe Gln Lys Arg Asn Phe Ala Arg Thr

Ser Ile Glu Leu Ser Gln Gly Thr Met Thr Thr Pro Arg Ser Leu Leu
200 205 210 215

Thr Ile Leu Tyr Val Lys Met Ala Leu Leu Val Ile Ile Leu Leu Asn
220 225 230

Val Gly Phe Ala Phe Phe Gln Lys Arg Asn Phe Ala Arg Thr
235 240 245

<210> 24

<211> 810

<212> DNA

<213> 反向翻译

<220>

<221> misc_特征

<222> (1)..(810)

<223> n 可以是 a, c, g, 或 t

<400> 24

atgcaygchy tnggnmgntat hccnacnytn acnytnytna thttyatha yathttygt 60
wsnggnwnw sntgyacnga ygaraaycar acnathcara aygaywsnws nwswnsnytn 120
acncargtna ayacnacnat gwsngtnear atggayaara argenytnyt ntgytgytty 180
wsnwsnceny tnathaaygc ngtnytnath acntggatha thaarcaymg ncayytneen 240
wsntgyacna thgentayaa yytngayaar aaracnaayg aracnwsntg yytnggnmgn 300
aayathacnt ggcnwnsnac ncengaycay wsncengary tncarathws ngcngtngcn 360
ytncarcayg arggnacnta yacntgygar athgtnacnc engarggnaa yytngaraar 420
gtntaygayy tncargtnyt ngtnccncn gargtnacnt ayttycengg naaraaymgn 480
acngngtnt gygargcnat ggngngnaar ccngcngcnc arathwsntg gaencengay 540
ggngaytgyg tnacnaarws ngarwsncay wsnaaygna cngtnacngt nmgnwnsnacn 600
tgycaytggg arcaraayaa ygtnwsngtn gtnwsntgyy tngtnwnsca ywsnacnggn 660
aaycarwsny tnwsnathga rytnwsncar ggnacnatga cnacncnmg nwsnytnytn 720
acnathytnt aygtnaarat ggcnynytn gtnathathy tnytnaaygt nggnttygen 780
tlyttycara armgnaaytt ygenmgnaen 810

专利名称(译)	OX2受体的同系物		
公开(公告)号	CN1372594A	公开(公告)日	2002-10-02
申请号	CN00810289.9	申请日	2000-05-11
[标]申请(专利权)人(译)	医药研究委员会 先灵公司		
申请(专利权)人(译)	医疗研究局 先灵公司		
当前申请(专利权)人(译)	医疗研究局 先灵公司		
[标]发明人	AN巴克莱 MH布朗 DM戈尔曼 LL拉尼尔 GJ赖特 H切尔温斯基 JH菲利普斯 RM赫克 JD塞德维克		
发明人	A·N·巴克莱 M·H·布朗 D·M·戈尔曼 L·L·拉尼尔 G·J·赖特 H·切尔温斯基 J·H·菲利普斯 R·M·赫克 J·D·塞德维克		
IPC分类号	G01N33/50 A61K31/711 A61K38/00 A61K39/395 A61K45/00 A61K48/00 A61P9/10 A61P17/00 A61P19/02 A61P25/00 A61P29/00 A61P37/02 C07K14/705 C07K16/28 C12N15/09 C12N15/12 G01N33/15 G01N33/53 G01N33/566 A61K38/17		
CPC分类号	A61K38/00 A61P9/10 A61P17/00 A61P19/02 A61P25/00 A61P29/00 A61P37/02 A61P37/06 A61P37/08 C07K14/705		
代理人(译)	罗宏 姜建成		
优先权	1999011123 1999-05-13 GB 1999025989 1999-11-03 GB		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

编码哺乳动物,例如灵长类动物OX2的受体的核酸,纯化蛋白及其片段。还提供多克隆和单克隆抗体。描述了使用组合物用于诊断和治疗用途的方法。

