

(19)日本国特許庁 (J P)

(12) 公表特許公報 (A)

(11)特許出願公表番号

特表2003 - 504020

(P2003 - 504020A)

(43)公表日 平成15年2月4日(2003.2.4)

(51) Int.Cl ⁷	識別記号	F I	テ-マコード (参考)
C 1 2 N 15/09	ZNA	A 6 1 K 31/7088	2 G 0 4 5
A 6 1 K 31/7088		45/00	4 B 0 2 4
45/00		48/00	4 B 0 6 3
48/00		A 6 1 P 9/04	4 B 0 6 4
A 6 1 P 9/04		9/06	4 B 0 6 5

審査請求 未請求 予備審査請求 (全116数) 最終頁に続く

(21)出願番号 特願2001 - 508334(P2001 - 508334)

(86)(22)出願日 平成12年7月4日(2000.7.4)

(85)翻訳文提出日 平成13年12月21日(2001.12.21)

(86)国際出願番号 PCT/CA00/00794

(87)国際公開番号 W001/002561

(87)国際公開日 平成13年1月11日(2001.1.11)

(31)優先権主張番号 09/346,794

(32)優先日 平成11年7月2日(1999.7.2)

(33)優先権主張国 米国(US)

(71)出願人 ニューロメド テクノロジーズ, インコーポレイテッド
カナダ国 ブイ6ティー 1ダブリュー5 プリティッシュ コロンビア, バンクーバー, イースト モール 3250

(72)発明者 スナッチ, テランス ピー.
カナダ国 ブイ6エス 1エム1 プリティッシュ コロンビア, バンクーバー, ウェスト 24ティーエイチ アベニュー 3963

(74)代理人 弁理士 山本 秀策

最終頁に続く

(54)【発明の名称】 新規な哺乳動物カルシウムチャンネルならびに関連するプローブ、細胞株および方法

(57)【要約】

本発明者らが^{1G、1H} および^{1I} サブユニットとして分類している3タイプの哺乳動物(同定されたヒトおよびラット配列) T型カルシウムチャンネルサブユニットの配列および部分配列を提供する。これらのカルシウムチャンネル配列を知ることにより、ヒト細胞からの完全な配列の局在化および回収、ならびに本発明の新規カルシウムチャンネルを発現する細胞株の開発が可能になる。これらの細胞は、アゴニストまたはアンタゴニストとしてカルシウムチャンネルに対して作用し得る化合物を同定するために使用され得る。

【特許請求の範囲】

【請求項1】 発現カセットを含むDNA分子であって、ここで該発現カセットは、T型カルシウムチャンネル₁サブユニットをコードするヌクレオチド配列を含み、該サブユニットは図6に示されるアミノ酸配列を有し、該コード配列は、制御配列に作動可能に連結されてその発現をもたらす、DNA分子。

【請求項2】 請求項1に記載のDNA分子を含むように改変された、組換え宿主細胞。

【請求項3】 哺乳動物細胞である、請求項2に記載の細胞。

【請求項4】 機能的カルシウムチャンネルの産生をもたらす方法であって、該方法は、該機能的カルシウムチャンネルが産生される条件下で、請求項2または3に記載の細胞を培養する工程を包含する、方法。

【請求項5】 T型哺乳動物カルシウムチャンネルのための調節因子である化合物を同定するための方法であって、該方法は、請求項4に記載の方法において使用される細胞を該化合物と接触させる工程、および該化合物の該細胞に対する効果を評価する工程を包含する、方法。

【請求項6】 請求項5に記載の方法によって同定される、T型カルシウムチャンネル調節因子。

【請求項7】 T型カルシウムチャンネル活性の望ましくないレベルによって特徴付けられる状態を処置するための薬学的組成物であって、該組成物は、有効量の請求項6に記載の調節因子を含む、組成物。

【請求項8】 前記状態が、心肥大、心不整脈、高血圧、睡眠障害、またはてんかんである、請求項7に記載の組成物。

【請求項9】 ヌクレオチド配列に対する発現系を含むDNA分子であって、該ヌクレオチド配列は、T型カルシウムチャンネル₁サブユニットをコードするヌクレオチド配列に相補的であるか、または該コード配列を含むDNAと三重らせんを形成する、DNA分子。

【請求項10】 T型カルシウムチャンネル活性の望ましくないレベルによって特徴付けられる状態を処置するための薬学的組成物であって、該組成物は、有効量の請求項9に記載のDNA分子を含む、組成物。

【請求項11】 前記状態が、心肥大、心不整脈、高血圧、睡眠障害、またはてんかんである、請求項10に記載の組成物。

【請求項12】 本質的にT型カルシウムチャンネル₁サブユニットの特徴的なヌクレオチド配列をからなるオリゴヌクレオチドであって、該オリゴヌクレオチドは、検出可能な標識に結合するかまたは該検出可能な標識を含む、オリゴヌクレオチド。

【請求項13】 組織におけるT型カルシウムチャンネルの分布をマッピングするための方法であって、該方法は、該組織を請求項12に記載のオリゴヌクレオチドと接触させる工程を包含する、方法。

【請求項14】 T型カルシウムチャンネルの細胞外部分と特異的に免疫反応性である、抗体。

【請求項15】 組織におけるT型カルシウムチャンネルの分布をマッピングするための方法であって、該方法は、該組織を請求項14に記載の抗体と接触させる工程を包含する、方法。

【発明の詳細な説明】**【0001】****(技術分野)**

本発明は、T型カルシウムチャネルをコードする配列、これらの配列の発現、およびカルシウムチャネル活性をアンタゴナイズする化合物のスクリーニング方法に関する。本発明は、また、T型カルシウムチャネル分子構造の知識に由来する分子ツールにも関する。

【0002】**(発明の背景)**

細胞へのカルシウムの急激な流入は、電位開口型カルシウムチャネルと呼ばれるタンパク質クラスを介して起こる。カルシウムチャネルは、原形質膜を通してカルシウム選択的ポアが開くことにより脱分極に反応する分子の異種クラスである。細胞へのカルシウムの流入を介して、興奮収縮連関、ホルモン分泌および遺伝子発現を含む広く様々な細胞および生理学的反応が起こる。神経において、カルシウム流入は直接的に膜電位に対して影響を及ぼし、興奮、反復発火パターンおよびペースメーカー活性などの、電気的性質に寄与する。Miller, R. J. (1987) “多様なカルシウムチャネルおよびニューロン機能” *Science* 235: 46-52. さらに、カルシウム流入は、カルシウム依存性イオンチャネルを直接制御し、プロテインキナーゼCおよびカルモジュリン依存性プロテインキナーゼIIのような、カルシウム依存性酵素活性を変化させることによってニューロン機能に影響を及ぼす。シナプス前神経末端におけるカルシウム濃度の上昇により、神経伝達物質の放出が引き起こされる。カルシウム流入はまた、ニューロン発達における軸索伸長および錐体の成長においても作用し、ニューロン活動の長期的変化と関係している。

【0003】

カルシウムチャネルを介して起こる様々な正常生理的機能に加えて、それらはまた、多くのヒトの疾患に関連している。最近、ヒトおよびマウスカルシウムチャネル遺伝子において同定された突然変異は、家族性片麻痺性偏頭痛、2型挿間(運動)失調、小脳性運動失調症、欠神発作てんかん、および発作を含むいくつ

かの疾患を説明するということが分かっている。Fletcherら、(1996) “欠突然変異マウスにおける欠神発作てんかんは、カルシウムチャネル障害に関連している。” *Cell* 87:607-617; Burgessら、(1997) “Ca²⁺チャネルサブユニット遺伝子 Cchb4の突然変異は、嗜眠性マウスの運動失調および発作と関連している。” *Cell* 88:385-392; Ophoffら(1996)、“家族性片麻痺性偏頭痛および2型挿間失調は、Ca²⁺チャネル遺伝子 CACNL1A4の突然変異に起因する。” *Cell* 87:543-552; Zhuchenko, O.ら、(1997) “_{1A}-電位依存性カルシウムチャネルにおける小ポリグルタミン伸長に関連する常染色体優性小脳性運動失調症(SCA6)” *Nature Genetics* 15:62-69。

【0004】

疾患の中には、その臨床治療が、治療的カルシウムチャネルアンタゴニストの発展により促進されたものがある。Janis,ら、(1991) *Calcium Channels: Their Properties, Functions, Regulation and Clinical Relevance*. CRC Press, London。

【0005】

天然のカルシウムチャネルは、その電気生理学および薬理的性質によって、T、L、N、PおよびQ型に分類されている(総論として、McCleskey,ら、(1991) “電位依存性カルシウムチャネルの機能的性質” *Curr. Topics Membr.* 39:295-326、およびDunlapら、(1995) “哺乳動物中枢ニューロンにおける開口分泌Ca²⁺チャネル” *Trends Neurosci.* 18:89-98を参照)。T型(または低電位活性)チャネルは、負電位において活性化し、静止電位における変化に対して高感度である分子の広範囲のクラスを表すものである。L、N、PおよびQ型チャネルは、より正の電位において活性化し、多様なカイネティクスおよび電位依存性性質を示す。高電位活性化チャネルの生物物理的性質はいくつかの重複があるので、薬理的プロファイルはさらにそれらを分類する際に有用である。L型チ

チャンネルはジヒドロピリジン (DHP) アゴニストおよびアンタゴニストに対して感受性があり、N型チャンネルは、*Conus geographus* ペプチド毒、 ω -コノトキシン GVIAにより阻害され、P型チャンネルは、ジョウゴグモ、*Agelenopsis aperta*の毒由来のペプチド ω -アガトキシン IVAにより阻害される。QおよびP型チャンネルが別の分子因子であるかどうかについては疑問があるにもかかわらず、4番目の型の高電位活性化カルシウムチャンネル(Q型)が、記述されている(Satherら、(1993)“クラスA(B1)カルシウムチャンネル₁サブユニットの異なる生物物理学的および薬理的性質”*Neuron* 11:291-303; Stearら、(1994)“ラット脳_{1A}カルシウムチャンネル局在および機能的性質は、神経細胞QおよびP型チャンネルの類似性を反映する。”*Proc Natl Acad Sci (USA)* 91:10576-10580; Bourinet, E.ら、(1999)*Nature Neuroscience* 2:407-415)。いくつかの型のカルシウム伝導率は、上記カテゴリーのどれにも適切にあてはまらず、今後分類されるべきと考えられているさらなるカルシウムチャンネルサブタイプの範疇内にも既知のものとは異なる性質を持つものがある。

【0006】

生化学的解析により、ニューロンの高閾値カルシウムチャンネルが、3つの異なるサブユニット(α_1 、 α_2 および β)から成るヘテロ多量体複合体であることが示される(De Waardら、(1997)*Ion Channels*, 4巻, Narahashi, T. 編、Plenum Press, New Yorkにより総説されている)。 α_1 サブユニットは、主要なポア形成サブユニットで、電位センサーおよびカルシウムチャンネルアンタゴニスト結合部位を含む。主要な細胞外 α_2 サブユニットは、膜貫通サブユニットとジスルフィド結合しており、両方とも同じ遺伝子由来で、インビボにおいて、タンパク質分解的に切断される。 β サブユニットは、 α_1 サブユニットの細胞質領域と結合の高いアフィニティーを持つ非-糖転移、親水性タンパク質である。4番目のサブユニット、 α_3 は、骨格筋T-筋管で発現されているL型カルシウムチャンネルに特有である。

サブユニットコードcDNAの分離および特徴については、本明細書中で参

考として援用されている米国特許番号第5,386,025号で記述されている

。

【0007】

分子クローニングにより、6個の異なる型の₁サブユニット(_{1A}、_{1B}、_{1C}、_{1D}、_{1E}および_{1S})および4個の型の₂サブユニット(₂、₃および₄)のcDNAおよび対応するアミノ酸配列が明らかになっている(Stea, A., Soong, T.W. および Snutch, T.P. (1994) "Voltage-gated calcium channels" Handbook of Receptors and Channels. R. A. North編、CRC Pressにて総説されている)。これらの₁サブユニットのアミノ酸配列比較については、本明細書中で参考として援用されているこの出版物中に含まれる。本明細書中で参考として援用されているPCT特許公開WO 95/04144により、_{1E}カルシウムチャンネルサブユニットの配列および発現が開示される。

【0008】

Stea, A.ら、(1994)(前記)で記述されているように、₁サブユニットは、一般的に、2000アミノ酸オーダーの長さがあり、ウサギ由来の_{1S}の1873アミノ酸長から、ウサギ由来_{1A}の2424アミノ酸長の範囲に及ぶ。一般的にこれらのサブユニットには、3個または4個のアミノ酸ごとに正に荷電した残基を持つ一つのセグメント(S4)とともにそれぞれが6個の推定のアルファヘリックス膜貫通セグメント(S1-S6)を持つ4個の内部相同的繰り返し(I-IV)を含む。スプライシングの相違による例外が少数存在する。ドメインIIとドメインIIIとの間に、_{1S}において興奮収縮連関を仲介し、また、サブタイプの間で、100~400アミノ酸残基の範囲であると考えられている細胞質ドメインがある。ドメインI-IVは、分子の大体2/3を占め、ドメインIVのS6領域に隣接するそのカルボキシル末端は、カルシウムチャンネルの細胞内側にあると考えられている。Stea, A.ら(前記)によりクローニングされ記述されている、₁サブユニット結合部位であるドメインI-S6膜貫通セグメントの下流の全てのサブユニットにおいて共通モチーフ(QQ-E

- L - G Y - W I - E) がある。

【0009】

本明細書中の本発明者らの研究について記述しており、本明細書中で参考として援用されているPCT公開 WO98/38301により、T型カルシウムチャンネル₁サブユニットの分子組成についての最初の記述が報告されている。本出願において、T型カルシウムチャンネルと関連する3個の哺乳動物サブタイプ、_{1G}、_{1H}、_{1I}に対する全長遺伝子を記述する。

【0010】

いくつかの発現系において、高閾値₁サブユニットの電気生理学的および薬理的性質が、4個のサブユニットのどれかとの共発現によって異なるように変化させられているにもかかわらず、高閾値₁サブユニットのみが、機能的なカルシウムチャンネルを形成し得る。最近まで、サブユニットとの共発現により変化が及ぼされたことによる影響について報告されているものは、主に、カイネティックおよび電位依存性の性質を変化させることについてであった。さらに最近、サブユニットもまた、プロテインキナーゼA、プロテインキナーゼCおよび直接的なG-タンパク質相互作用によって、チャンネル活性を調節するという点において決定的な役割を持つことが示されている(Bourinetら、(1994)“ニューロン_{1C}L型カルシウムチャンネルの電位依存的促進”EMBO J. 13:5032-5039; Steaら、(1995)“ニューロンカルシウムチャンネルファミリーのPKC依存的調節決定因子”Neuron 15:929-940; Bourinetら、(1996)“ニューロンカルシウムチャンネルのG-タンパク質依存的オピオイド調節決定因子”Proc. Natl. Acad. Sci. (USA) 93:1486-1491)。

【0011】

細胞内代謝およびヒト疾患においてカルシウムチャンネルが重要であるので、他のクラスの₁サブユニットを同定することおよびこれらのサブユニットに対する発現系を開発することが必要とされるだろう。それによって、カルシウムチャンネル機能に対する薬理的制御因子の研究を含めて、これらのカルシウムチャンネルの研究および性質を同定することが可能となる。

【0012】

(発明の開示)

本発明により、T型カルシウムチャネルの新規哺乳動物カルシウムチャネルサブユニットの配列が提供される。本発明者らは、それらを、_{1G}、_{1H}および_{1I}サブユニットと呼んでいる。これらカルシウムチャネルサブユニットの配列に対する知識を、標的組織におけるサブユニットの分布および発現マッピングを行なうためのプローブの開発に使用し得る。さらに、これらT型カルシウムチャネルの_{1I}サブユニットの分子構造が、解明されており、細胞外に残るそれらの部分を同定することが可能であり、従って、T型カルシウムチャネルの発現位置およびレベルを調べるために必要な抗体を得るために、ペプチドを設計することが可能である。さらに、単独または他のタンパク質と組み合わせて、これらのサブユニットは、機能的なカルシウムチャネルを産生し得る。そのカルシウムチャネルは、モデル細胞株において、本発明のサブユニットを含むチャネルの性質を決定するために評価され得る。_{1G}、_{1H}および_{1I}サブユニットを取り入れているカルシウムチャネルに対する薬学的物質および(または)毒性物質の影響を評価するために、これらの細胞株を使用し得る。得られた同定化合物は、望ましくないT型カルシウムチャネル活性が存在する疾患状態の治療において有用である。これらの状態には、とりわけ、てんかん、睡眠障害、気分障害、心肥大および不整脈および高血圧、などが含まれる。さらに、T型カルシウムチャネル産生を抑制するためにアンチセンスおよび三重鎖ヌクレオチド配列を設計し得る。

【0013】

本方法のある実施形態およびこの発明の産物において、_{1I}サブユニットは、配列番号17でコードされるもの以外のもので、あるいは、配列番号17、ならびに配列番号19および配列番号21が一部である全長配列でコードされるもの以外のものである。本発明の他の実施形態およびこの発明産物から、配列番号13-21の一部または全体を表すプローブ、あるいは、配列番号1-22の一部または全体を表すプローブは除外される。

【0014】

(発明の実施様式)

本発明には、保護が求められる次の局面が含まれる。

【0015】

(a) 新規哺乳動物(ヒトを含む)カルシウムチャンネルサブユニットおよびそのようなサブユニットをコードするDNA配列。特に、本発明は、少なくとも部分的に精製された、T型カルシウムチャンネル₁サブユニットをコードするヌクレオチド配列を含むDNA分子、およびこのような₁サブユニットそのものを包含する。カルシウムチャンネルの機能における重要な変化を全く示さない個体のDNAまたはアミノ酸配列と比べて、DNAまたはアミノ酸配列に小さなずれが起こっているいくつかの個体のDNAにおいて、多型の変形が作製され得るかまたは存在し得ることが認識される。類似した性質を持つアミノ酸置換を引き起こす変形を含むそのような変形は、本発明の範囲内であると考えられる。従って、ある実施形態において、本出願は、哺乳動物T型カルシウムチャンネル₁サブユニットをコードするDNA分子、および中程度(または高度の)ハイブリダイゼーションストリンジェンシー条件下で、この出願で開示される一つまたはその他の特異的な配列とハイブリダイズするDNA分子を特許請求する。このレベルのハイブリダイゼーションストリンジェンシーにより、一般的に哺乳動物DNAライブラリから、本発明の範囲内においてサブユニットの回収を可能にするために必要とされる長さの配列を十分に得うる。

【0016】

あるいは、本発明のT型カルシウムチャンネルは、₁カルシウムチャンネルサブユニットとして分類される定義された構造的性質に加えて低電位ゲーティングというその機能的性質により認識され、T型の₁カルシウムチャンネルサブユニットとしても特徴付けられる。本発明の長所によって、これらの性質は、次のように説明されている。

【0017】

他の型のカルシウムチャンネルおよびナトリウムチャンネルと比較して区別される、_{1G}、_{1H}および_{1I}T型チャンネルの性質の一つは、それぞれの4個の構造的ドメインにおけるポア領域(P-領域)に、チャンネル透過性が関与する診断アミノ酸配列が含まれるということである。図8において、T型チャンネルが、その

P - 領域 (ドメイン I - IV) にグルタミン酸 / グルタミン酸 / アスパラギン酸 / アスパラギン酸 (一文字アミノ酸表記: E E D D) 残基を含むことが示される。L型チャンネルのような高閾値カルシウムチャンネルには、グルタミン酸 / グルタミン酸 / グルタミン酸 (一文字アミノ酸表記で E E E E) 残基が含まれる一方、対照的に、図8において、ナトリウム (Na) チャンネルにおいて4個のドメインのP - 領域にはアスパラギン酸 / グルタミン酸 / リジン / アラニン (一文字アミノ酸表記で、D E K A) 残基が含まれることが示される。<sup>1G、
1H</sup> および ^{1I} T型カルシウムチャンネルはまた、*C. elegans* C11D2.6 および C27F2.3 およびラットNICチャンネルを含む他の型のイオンチャンネルと比較してこの領域において異なる (図8)。

【0018】

他の型のカルシウムチャンネルと比較して区別される、<sup>1G、
1H</sup> および ^{1I} T型チャンネルの第二の性質は、それらが、ドメインIとIIとの間の細胞質リンカーにおいて サブユニット結合コンセンサス配列を含まないということである。対照的に、全ての高閾値カルシウムチャンネルには、カルシウムチャンネル サブユニットと生理的に相互作用することが示されるコンセンサス配列 (一文字アミノ酸表記で、Q Q - E - - L - G Y - - W I - - - E が含まれる (Pragnell, M., De Waard, M., Mori, Y., Tanabe, T., Snutch, T. P. および Campbell, K. P., 1994, *Nature* 368: 67 - 70)。従って、サブユニットの存在により活性が変化することはなく、サブユニットの存在は必要とされないようである。

【0019】

他と区別される、<sup>1G、
1H</sup> および ^{1I} T型チャンネルの第三の性質は、それらがカルボキシルからIV S6ドメインの領域でEF - ハンドカルシウム結合モチーフを保持しないということである。対照的に、全ての高閾値カルシウムチャンネルには、ある一定のカルシウム結合タンパク質で見出されるEF - ハンドドメインと密接に関連したコンセンサス配列が含まれる (de Leon, M., Wang, Y., Jones, L., Perez-Reyes, E., Wei, X., Soong, T. W., Snutch, T. P. & Yue, D. T.,

1995, Science 270:1502-1506)。

【0020】

従って、本明細書中での定義として、“T型カルシウムチャンネル₁サブユニット”とは、これらの構造的特徴を含むサブユニットを意味する。

【0021】

あるいは、本明細書中で記述されるヒトおよびラットヌクレオチドおよびアミノ酸配列に対するホモロジーによってT型₁サブユニット分子を定義し得る。従って、本明細書中配列番号23-28または図6で示される配列で明らかにされる配列に対するアミノ酸配列またはコードヌクレオチド配列なる語において、T型₁サブユニットは、典型的に、少なくとも50%、好適には70%のホモロジーを持つであろう。好適には、ホモロジーは、少なくとも80%、より好適には90%、最も好適には、95%、97%、98%または99%である。

【0022】

相対的ホモロジーも、特異的領域なる語においてまた定義し得る。上記で示すように、T型チャンネル₁サブユニットのある一定の領域は、非常に高いホモロジーを示すが、その一方で、ドメインIIとIIIとの間の細胞質領域など、他の領域では、それ程ホモロジーがない。従って、配列番号23-28または図6の配列に対して、T型₁サブユニットはドメインI-IVにおいて、75%以上のホモロジーを持つだろう。また、好適には、85%以上、または95%以上のホモロジー、より好適には、98%以上のホモロジーを持つ。ドメインIIとIIIとの間の細胞質領域におけるホモロジーの程度は、かなり低い。例えば、25%のホモロジーのみ、好適には、50%のホモロジー、またはより好適には60%のホモロジーである。同様に、ドメインIVの、細胞内領域下流は、ドメインI-IVより低いホモロジーしか持ち得ない。

(b) これらの新規カルシウムチャンネルサブユニットをコードする遺伝子に対する、ヒトcDNAライブラリのスクリーニングにおいてプローブとして有用なポリヌクレオチド配列。これらのプローブは、また、新規カルシウムチャンネルサブユニットの組織分布を調べるための組織学的解析でも使用し得る。

【0023】

上記で示したように、本明細書中でのT型サブユニットの構造的性質の解明により、この型を特に特徴付けるコードヌクレオチド配列の一部を選択することによって適切なプローブの選択が可能となる。上記で示したように、例えば、T型サブユニットは、図8で示したポア形成ユニットにおいて特有のアミノ酸パターンを持つ。あるいは、他のサブユニットを識別するために多様なプローブを使用し得る。例えば、一般的にカルシウムチャンネルサブユニットに対してコンセンサス配列を表すプローブと結合されたT型₁サブユニットから欠失している結合ドメインを表すプローブのようなものである。

(c) 少なくとも部分的に精製された哺乳動物T型カルシウムチャンネルの₁サブユニットおよび関連ペプチド。これらのタンパク質およびペプチドは、T型カルシウムチャンネルサブユニットの細胞および細胞下の分布を調べるためにポリクローナルまたはモノクローナル抗体を産生するために使用し得る。

【0024】

さらに、T型₁サブユニットのアミノ酸配列が明確にされたことにより、どのチャンネルの領域が細胞外に現れているか調べること、および抗体を産生するためにこれらの領域を選択することは、十分に当業者の範囲内である。

(d) 新規カルシウムチャンネルサブユニットを発現する真核細胞株。これらの細胞株は、新規カルシウムチャンネルサブユニット機能に対する薬理的調節剤として化合物を評価するために使用し得る。

(e) それらのサブユニットを単独で、または他のカルシウムチャンネルサブユニットと組み合わせて発現する細胞株を用いた新規カルシウムチャンネルサブユニット機能に対する薬理的調節剤としての化合物の評価方法。

(f) 望ましくないカルシウムチャンネル活性と関連する疾患状態の治療に対する、上記で示されたように同定された化合物の使用。

【0025】

これらの疾患には、てんかん、偏頭痛、運動失調、精神分裂病、高血圧、不整脈、狭心症、うつ病、パーキンソン病が含まれるが、これらに制限されない。このような関連の特徴づけおよび、究極的には、関連疾患の診断は、野生型または欠損型の新規カルシウムチャンネルに結合するプローブを用いて行なわれ得る。

【0026】

特定のT型チャネルは、中枢ニューロンの反発性突発的ニューロン発火の原因であり、徐波睡眠などの正常な脳機能や、てんかんおよび気分障害などの神経性疾患に関係があるとされる。それらは、また心臓のペースメーカー活性、ホルモン分泌および受精においても重要であり、心肥大および高血圧などの疾患状態に関連する。

【0027】

この出願の明細書および特許請求の範囲において使用されるように、“T型カルシウムチャネル”なる語は、通常、 -50 mV 以下の、最も多くは -60 mV 以下の低活性化電位を持つ電圧作動性カルシウムチャネルを意味する。T型カルシウムチャネルはまた、比較的負の定常状態での不活性化の性質を表し、脱活性化カインेटィクスを遅らせる。“ γ_1 サブユニット”または“ γ_1 カルシウムチャネル”なる語は、ポア形成の素因となり、電圧センサーおよびカルシウムチャネルアゴニストおよびアンタゴニスト結合部位を含むカルシウムチャネルのタンパク質サブユニットを意味する。そのようなサブユニットは、カルシウムチャネルとして独立して機能を持ち得るか、または、完全に機能を果たすために他のサブユニット型の存在を要求し得る。

【0028】

この出願の明細書および特許請求の範囲において使用されるように、“少なくとも（最低でも）部分的に精製された”とは、物理的分離プロセスを行うことによって、あるいは最初に非天然の環境においてDNAまたはタンパク質分子を作製することによって、特定の分子が、天然の状態においてともに生じている近接する細胞成分および分子から分離されるということにおける、DNAまたはタンパク質調製物を意味する。この語には、cDNA分子および発現ベクターが含まれる。

【0029】

本発明に従って、本発明者らは、新規T型カルシウムチャネル γ_1 サブユニットをコードする哺乳動物DNA配列を同定している。これらのサブユニットは、 $\gamma_1\text{G}$ 、 $\gamma_1\text{H}$ および $\gamma_1\text{I}$ 型と呼ばれている哺乳動物電位依存性カルシウムチャネル

の新しい型の₁サブユニットを示すと考えられている。

【0030】

Sanger Genome Sequencing Center (Cambridge, U.K.) および the Washington University Genome Sequencing Center (St. Louis, MO) において、ヒトT型カルシウムチャンネル₁サブユニットをコードする核酸配列を含む配列から、細菌性人工染色体(BAC)配列(bK206c7)を同定した。この同定の理論的根拠は、本明細書中で参考として援用されている、WO 98/38301にて明らかにされている。適切な関連のあるヌクレオチド配列および1854個のアミノ酸を含む翻訳アミノ酸配列は、配列番号17および18にて明らかにされている。

【0031】

WO 98/38301で記述されているように、ヒト脳全RNA調製物中から関連する配列を同定するためにPCRクローニング技術を使用して、本発明者らは、ヒト脳に存在する新規₁カルシウムチャンネルサブユニットを確認した。567 nt PCR産物(配列番号19、アミノ酸配列番号20)のサブクローニングおよびそれに続く配列決定により、この産物が、bK206c7 BACゲノム配列から由来する配列(配列番号17(アミノ酸配列配列番号18)として与えられるヌクレオチド配列)に対応するものであることが示された。ラット脳RNA調製物を用いて同様の実験を行い、その結果、実質的に同定されるPCR産物(配列番号21)を回収した。ラットPCR産物(配列番号22)にコードされるタンパク質は、ヒトPCR産物(配列番号20と96%同一である)。

【0032】

全長ヒトまたはラットクローンを構築するための基礎として、部分サブユニットをコードするこれらの配列を使用した。簡潔に説明すると、サブクローニングされた₁PCR産物を、標準的方法に従ってランダムヘキサマープライマー法により放射性標識し(Sambrook, J., Fritsch, E.F. およびManiatis, T. (1989) Molecular Cloning,

A Laboratory Manual. Cold Spring Harbor or Press参照。)、市販のヒト脳cDNAライブラリ(Stratagene, La Jolla, CA)のスクリーニングに使用した。cDNAライブラリのスクリーニングは、標準的方法に従って行なった。また、このスクリーニングには、組み換えランダムファージを細菌に感染させるようなプロトコール、ニトロセルロースフィルターへのラムダDNAの固定化、および中程度のハイブリダイゼーションストリンジェンシー条件下での、放射性標識プローブを用いたスクリーニングが含まれている。オートラジオグラフィーを用いてプローブに対するcDNAクローン相同性を同定する。それに引き続くスクリーニングの繰り返しによって陽性クローンを精製する。

【0033】

このプロトコールに続いて、殆ど精製されたcDNA調製物は、cDNAライブラリ合成が持つ性質上、部分配列クローンになるようである。DNA配列において重複するcDNA調製物から全長クローンを構築する。全長cDNAを作製することを目的として個々のcDNAに対してライゲーションを行なうために、cDNAの間で重複する制限酵素部位を用いる。引き続いて起こる異種発現を行なうために、全長cDNAを、cDNA発現がCMV主要中間体の初期プロモーター/エンハンサーのようなプロモーター制御下にある、pcDNA-3(Invitrogen, San Diego, CA)のような、適切な脊椎動物発現ベクターに直接サブクローニングする。他の適切な発現ベクターには、例えば、pMT2、pRC/CMV、pcDNA3.1およびpCEP4が含まれる。

【0034】

これらのプロトコールに従って、ラット脳cDNAライブラリのスクリーニングを行なうために、567塩基対のヒトフラグメント(配列番号19)を使用して、全長哺乳動物_{1G}、_{1H}および_{1I}カルシウムチャネルサブユニットcDNAを分離した。回収した配列の配列決定によって、本明細書中で_{1G}、_{1H}および_{1I}サブユニットと命名されているカルシウムチャネルサブユニットの3個の別々のクラスと同定した。それぞれのクラスのサブユニットに対して、最も大きいcDNAの完全な配列決定によって、それが予想されたカルシウムチャネルコ

ード領域の部分のみを表すことが確証された。重複セグメントを得るために、cDNAの一部に由来するプローブを用いて、ラット脳cDNAライブラリに対して再びスクリーニングを行なうことによって、3個の新規サブユニットに対する完全配列を得た。これらのセグメントを、制限酵素消化およびライゲーションによって完全な遺伝子を形成するように組み合わせた。それぞれ、配列番号23、25および27により、ラット_{1G}、_{1H}および_{1I}サブユニットの完全cDNA配列を得た。配列番号24、26および28で、対応するアミノ酸配列を得た。ヒトまたは他の哺乳動物ライブラリのスクリーニングによってヒト配列を回収するために、同様の技術を用いた。従って、例えば、同じプローブ(配列番号19)を用いることにより_{1G}および_{1H}T型カルシウムチャネルに対する部分的長さのヒト配列を回収しており、また、ヒト_{1I}T型カルシウムチャネルをコードする部分的長さのDNAを回収するために全長ラット_{1I}cDNA(配列番号27)を使用している。配列番号30-35で、これらの部分的長さのヒトカルシウムチャネルに対するDNAおよびアミノ酸配列を得た。ヒト_{1G}に対する完全コード配列を得た。そして、推定アミノ酸配列とともに、図6で明らかにする。

【0035】

一旦、全長cDNAが発現ベクターにクローニングされたら、次に、発現のための宿主細胞にベクターをトランスフェクションする。適切な宿主細胞には、*Xenopus*卵または、本明細書中で参考として援用されている国際特許公開番号WO 96/39512で記述されているようなヒト胎児腎臓細胞、および本明細書中で参考として援用されている米国特許第5,386,025号に記載されるようなLtk細胞などの哺乳動物細胞が含まれる。マイクロインジェクション、リポフェクション、グリセロールショック、エレクトロポレーション、リン酸カルシウム法または粒子媒介遺伝子トランスファー法により、宿主細胞へのトランスフェクションを行なう。新規₁サブユニットと、₂サブユニットまたは₃サブユニットのような他のサブユニットとの共発現を行なうために、ベクターをまた、宿主細胞にトランスフェクションする。

【0036】

機能的カルシウムチャンネルをコードする3個の全長cDNA（配列番号23、25および27）を確認するために、ヒト胎児腎臓細胞へ、_{1G}および_{1I}cDNAを一時的にトランスフェクションし、電気生理学的記録技術を使用して評価した。結果は、神経、筋肉および内分泌細胞の天然T型カルシウムチャンネルにおけるこれらのサブユニットの役割と一致する。同様に、ヒト_{1G}T型サブユニットをコードする全長クローンを回収し、T型チャンネルの特徴的な性質を持つことを確かめた。

【0037】

本発明の新規₁サブユニットを含む機能的カルシウムチャンネルを発現する細胞株を得て、これらのカルシウムチャンネルと関連する薬理的活性を調べるために、テスト化合物に対して使用し得る。従って、細胞株は、製薬学的用途の面でスクリーニング化合物に対して有用である。もしあるならば、テスト化合物とカルシウムチャンネルとの間の相互作用を評価するために利用し得る方法をいくつか用いてそのようなスクリーニングを行ない得る。そのようなもののうちある方法は、カルシウムチャンネルと相互作用する放射性標識試薬の結合と、それに続く、活性速度（on rate）、不活性速度（off rate）、 K_d 値および他の分子による拮抗的結合を含むがそれに限定されない、平衡結合測定の解析を伴うものである。別のそのような方法は、個々の細胞に微小電極を刺し、関心ある化合物の添加前後でのカルシウムチャンネルを通る電流を記録するような、電気生理学的解析による化合物の効果に対するスクリーニングを伴うものがある。その他の方法である、ハイスループット分光光度測定解析は、細胞内カルシウム濃度に感受性を持つ蛍光色素を細胞株に取り込ませ、続いて、細胞内カルシウムレベルを変化させるために塩化カリウムまたは他の手段を用いて、脱分極能力に対する化合物の影響を試験することを利用するものである。新規_{1I}カルシウムチャンネルサブユニットのアゴニストまたはアンタゴニストとして試験される化合物を、安定的にまたは一時的に本発明の_{1G}、_{1H}および_{1I}カルシウムチャンネルサブユニットをコードするDNA配列をトランスフォームされた細胞に添加し、これらの技術の一つを用いてモニターする。

【0038】

次に、不適切なT型カルシウムチャネル活性と関連する疾患治療のために、薬学的組成物において、カルシウムチャネルの活性を変化させることが示された化合物を使用し得る。一般的に、T型チャネル活性を促進または抑制することによって、不適切なカルシウムチャネル活性を変化させ得るので、そのような条件には、また不適切なカルシウムチャネル活性を持つものも含まれる。そのような治療に当てはまる状態には、上記で明らかにしたような状態が含まれる。同定された化合物を、Remingtonの、“Pharmaceutical Sciences”最新版、Mac Publishing Co., Easton, PA.で示されるような通常的な方法で処方する。投与様式は、治療される条件に適した様式で、臨床医の通常技術の範囲内である。

【0039】

さらに、アンチセンス配列または、本発明のT型カルシウムチャネルをコードするヌクレオチド配列の発現を妨害するために三重鎖結合するように設計された配列をコードする発現系を構築することによってT型カルシウムチャネル発現制御を達成し得る。

【0040】

配列番号13-17および19によって与えられる配列を持つDNAフラグメントまたは、配列番号23、25および27、または図6で与えられた完全コード配列を持つポリヌクレオチド、あるいは、その他の型のカルシウムチャネルサブユニットとのホモロジーの非差別的なレベルを示さない別個の部分、また、組織試料中の、 $_{1G}$ 、 $_{1H}$ および $_{1I}$ カルシウムチャネルサブユニット分布のマッピングのためにも使用し得る。この方法は、核酸プローブを使用する通常組織学的手法に従い、一般的に、選択したDNAフラグメントと結合した、直接または間接的に検出可能な標識を含む試薬、および組織に結合する検出試薬に、組織を曝露する工程を伴う。適切な標識には、蛍光標識、酵素標識、色素団および放射性標識が含まれる。

【0041】

(細胞における哺乳動物T型カルシウムチャネルの異種発現)

(A. 哺乳動物細胞における一時的トランスフェクション)

ヒト胎児腎臓細胞、HEK293(ATCC#CRL1573)などの、宿主細胞を、2mM グルタミンおよび10% ウシ胎児血清を補った標準的DMEM培地で増殖させる。HEK293細胞に対して、脊椎動物発現ベクター(例えば、Current Protocols in Molecular Biologyを参照)において、全長哺乳動物₁T型カルシウムチャンネルcDNA(例えば、配列番号27)を用いて、標準的リン酸カルシウム-DNA共沈殿法によってトランスフェクションを行なう。₁カルシウムチャンネルcDNAを、単独で、または、₂ および または サブユニットなどの、哺乳動物カルシウムチャンネルに対する他のクローンサブユニット、またはクラゲ緑色蛍光タンパク質などのマーカータンパク質のクローンとも組み合わせて、トランスフェクションし得る。

【0042】

(電気生理学的記録：)24から72時間のインキュベーション期間後、培養液を除去し、外部レコーディング液(以下参照)と交換する。pCLAMPソフトウェアを装備したIBM互換パーソナルコンピューターと連結したAxopatch 200B増幅器(Axon Instruments, Burlingame, CA)を用いて、ホールセルパッチクランプ実験を行なう。微小電極に、3M CsClを満たす。微小電極は0.5-2.5M オームの典型的な抵抗を持つ。外部レコーディング液は、2mM BaCl₂、1mM MgCl₂、10mM HEPES、40mM TEACl、10mM グルコース、92mM CsCl、(pH7.2)である。内部ピペット液は、105mM CsCl、25mM TEACl、1mM CaCl₂、11mM EGTA、10mM HEPES(pH7.2)である。電流は、典型的に、-100mVの保持電位から様々なテスト電位で引き出される。データは、1kHzでフィルターされ、パーソナルコンピューターのハードドライブに直接記録される。標準的P/5プロトコルを用いてオンラインで漏洩電流の差し引きを行なう。pCLAMPバージョン5.5および6.0を使用して電流を解析する。巨視的電流-電圧曲線を、式 $I = \{ 1 / (1 + \exp(- (V_m - V_h) / S)) \} \times G - (V_m - E_{rev})$ に当てはめる。ここで、 V_m は、テスト電位、 V_h は、チャンネルの半分

が活性化される電圧、および S は、活性カーブの鋭さを反映し、効果的な電荷移動開始のインディケータである。不活性化カーブを、1にノーマライズし、 $I = (1 / 1 + \exp((V_m - V_h) / S))$ に当てはめる。 V_m は、保持電圧である。以下のピペット液：100 BaCl₂、10 HEPES、pH7.4およびバス液：100 KCl、10 EGTA、2 MgCl₂、10 HEPES、pH7.4（単位は全てmM）を用いてセルアタッチ様式で単一チャンネル記録を行なう。

【0043】

(B. Xenopus 卵細胞における一時的トランスフェクション)
 Dascalら(1986)“Xenopus 卵細胞へのRNAインジェクション後の電位依存性カルシウムチャンネルの発現および調節” Science 231:1147-1150記述されているように、ステージVおよびVIのXenopus 卵細胞を調製する。コラゲナーゼを用いて酵素的に解離させた後、Drummond nanoject apparatusを用いて、ヒト α_1 カルシウムチャンネルcDNA発現ベクター構造物(およそ10ng DNA/核)を卵細胞核に微小注入する。 α_1 カルシウムチャンネルを、単独、または、 α_2 、および α_1 および α_2 サブユニットなどの、他の哺乳動物カルシウムチャンネルサブユニットcDNAと組み合わせて注入し得る。48-96時間インキュベーションを行なった後、40 Ba(OH)₂、25 TEA-OH、25 NaOH、2 CsOH、5 HEPES(単位は全てmM)(メタンスルホン酸で、pH7.3に合わせた)含むバス液中で、標準的2本の微小電極ボルテージクランプ(Axoclamp 2A, Axon Instruments, Burlingame, CA)を用いて、巨視的電流を記録する。典型的抵抗範囲が0.5から1.5Mオームの範囲であるピペットに、2.8mM CsCl、0.2M CsOH、10mM HEPES、10mM BAPTA遊離酸を満たす。空気式注入器を連結した第3のピペットを使用して、系統的に10-30nlの、100mM BAPTAP-遊離酸、10mM HEPES(CsOHでpHを7.2にあわせたもの)含む溶液を注入することによって、内在性のCa(およびBa)-活性化Cl電流を抑制する。標準的P/5方法を用いて漏洩電流お

よびキャパシティブー過性電流を差し引く。

(哺乳動物T型カルシウムチャネルを発現する安定的細胞株の構築)

HEK293のような哺乳動物細胞に₁₁カルシウムチャネルcDNAをトランスフェクションし、発現ベクターによってコードされた抗生物質抵抗性を選択することによって、安定的にヒト₁₁カルシウムチャネルを発現する哺乳動物細胞株を構築する。簡潔に説明すると、選択的マーカーとともに、pcDNA3 (InvitroGen, San Diego, CA)のような、脊椎動物発現ベクターにサブクローニングされた全長哺乳動物T型カルシウムチャネル₁サブユニットcDNA (例えば、配列番号27) に対して、リン酸カルシウム共沈殿法またはリポフェクションまたはエレクトロポレーションまたは、周知の手法 (Methods in Enzymology, Volume 185, Gene Expression Technology (1990), Goeddel, D.V. 編) に従った他の方法によってHEK293細胞へのトランスフェクションを行なう。同じ発現ベクターまたは、異なる選択的マーカーを用いた他の型のベクターで、₁₁カルシウムチャネルは、単独または、2 - および1bサブユニットのような、他の哺乳動物カルシウムチャネルサブユニットcDNAと組み合わせてトランスフェクションされ得る。非選択条件下で、2日間インキュベーションを行なった後、培地に、600から800ug/mlの間の濃度のジェネティシン(G418)を補う。この培地中で3 - 4週間インキュベーションを行なった後、G418に対して抵抗性のある細胞が見え、標準的コロニーリングを用いて分離コロニーとしてクローン化し得る。細胞株を確立するためにそれぞれの分離したコロニーを、コンフルエンとなるまで培養した後、ノーザンブロットィング、RNaseプロテクションおよび逆転写PCRなどの標準的遺伝子発現法にて₁₁カルシウムチャネルを調べ得る。

【0044】

安定的にトランスフェクションされた細胞における₁₁カルシウムチャネルの機能的検出を、全体パッチクランプまたは単一チャネル解析(上記参照)のように、電気生理学的に調べ得る。機能的カルシウムチャネルを検出する他の方法には、放射性標識⁴⁵Ca取り込み、FURA-2などのカルシウム感受性色素を用

いた蛍光分光法および、カルシウムチャンネルと相互作用する放射性標識リガンドの結合または置換が含まれる。

【0045】

(実施例1)

(部分的ラットおよびヒトサブユニット)

新規カルシウムチャンネルに対する哺乳動物配列を回収するために、WO98/3801で記述されている567塩基対の部分長のヒト脳₁₁cDNAを、ゲルを用いて精製し、³²P dATPおよびdCTPでランダムプライミング(Feinbergら、1983、Anal. Biochem. 132:6-13)により放射性標識し、ファージベクター、Lambda ZapPII(Snutchら、1990、Proc Natl Acad Sci(USA)87:3391-3395)で構築されたラット脳cDNAライブラリのスクリーニングを行なうために使用した。5XSSPE(1XSSPE=0.18M NaCl; 1mM EDTA; 10mM リン酸ナトリウム、pH7.4、0.3% SDS、0.2mg/ml変性サケ精子DNAを用いて62にてスクリーニングを行なった。62にて、0.2XSSPE/0.1%SDSでフィルターを洗浄した。3回のスクリーニングおよびプラーク精製後、陽性ファージに対して、インビボ切り出しにより、Bluescriptファージミド(Stratagene, La Jolla, CA)への形質転換を行なった。

【0046】

改変ジデオキシヌクレオチドプロトコール(Bigginら、1983、Proc Natl Acad Sci(USA)80:3936-3965)およびSequenase、バージョン2.1(United States Biochemical Corp.)を用いて、組み換えファージミドでの二本鎖DNA配列決定を行なった。DNA配列決定により、3個の異なるクラスのカルシウムチャンネル₁サブユニットを同定し、それぞれ、_{1G}、_{1H}、_{1I}カルシウムチャンネルサブユニットと呼ばれた。

【0047】

それぞれのクラスのカルシウムチャンネル₁サブユニットに対して、最大のc

DNAを完全に配列決定し、予想されたカルシウムチャンネルコード領域の部分のみを表すことを明らかにした。_{1G}および_{1I}カルシウムチャンネルサブユニットの残りの部分を分離するために、_{1G}クローンを、HindIIIおよびSpeIで消化した。得られた540塩基対のフラグメントをゲルで精製し、ランダムプライミングによって³²P dATPおよびdCTPで放射性標識し、上記のようにラット脳cDNAライブラリの再スクリーニングに使用した。使用した540塩基対_{1G}のスクリーニングプローブの配列を、配列番号29で示す。サブユニットに対する配列内の示差性の領域に及んでいる他の配列をも用い得る。

【0048】

精製組み換えファージミドの二本鎖DNA配列決定により、さらなる_{1G}、_{1H}、_{1I}カルシウムチャンネルサブユニットcDNAが、元の部分長cDNAと重複し、そのそれぞれの5'および3'非コード非翻訳領域部分はもちろんのこと、一緒に完全タンパク質コード領域をコードしていることが示された。

【0049】

新規_{1G}および_{1H}カルシウムチャンネルに対して、さらにヒト配列を回収するために、567塩基対の部分長ヒト脳_{1I}cDNA(配列19)を、ランダムプライミングによって³²P dATPおよびdCTPで放射性標識し、市販のヒト視床cDNAライブラリ(Clontech)のスクリーニングに用いた。65℃にて、6XSSPE; 0.3%SDS; 5XDenhardt'sを用いてハイブリダイゼーションを行なった。65℃にて、0.1XSSPE/0.3%SDSを用いてフィルターを洗浄した。スクリーニングとプラーク精製を4回繰り返した後、陽性ファージを選択し、DNAを調製し、EcoRI制限酵素で消化してラムダベクターからインサートcDNAを切り出した。切り出されたcDNAを、プラスミドBluescript KS(Stratagene, La Jolla, CA)にサブクローニングし、改変ジデオキシヌクレオチドプロトコールおよびSequence 2.1を使用してDNA配列を決定した。単離された部分長_{1G}cDNAは、2212塩基対から構成されていた。そのうち、279塩基対は、5'非コード領域、1933塩基対は、644個のアミノ酸を表すコード領域(配列番号30, 31)であった。単離された部分的

$_{1H}$ cDNAは、1608塩基対から構成され、そのうち53塩基対は、5'非コード領域で、1555塩基対は、518個のアミノ酸を表すコード領域であった(配列番号32, 33)。

【0050】

新規 $_{1I}$ カルシウムチャネルに対して、さらにヒト配列を回収するために、全長ラット脳 $_{1I}$ cDNA (配列27; 実施例2参照) を、ランダムプライミングによって ^{32}P dATPおよびdCTPで放射性標識し、市販のヒト海馬cDNAライブラリ(Stratagene)のスクリーニングに用いた。一晩、65℃にて、6XSSPE; 0.3%SDS; 5XDenhardt'sを用いてハイブリダイゼーションを行なった。65℃にて、0.1XSSPE/0.3%SDSを用いてフィルターを洗浄した。スクリーニングとブランク精製を4回繰り返した後、陽性ファージをインビトロ切り出しによって、Bluescriptファージミド(Stratagene, La Jolla, CA)への形質転換を行なった。改変ジデオキシヌクレオチドプロトコールおよびSequence 2.1を使用して切り出されたcDNAのDNA配列を決定した。単離された部分長 $_{1I}$ cDNAは、360個のアミノ酸を表す1080塩基対のコード領域から構成されていた。(配列番号34, 35)。

【0051】

(実施例2)

(全長ラットサブユニット)

ラット脳からの精製組み換えファージミドの二本鎖DNA配列決定により、さらなる $_{1G}$ 、 $_{1I}$ カルシウムチャネルcDNAが、元の部分長cDNAと重複し、そのそれぞれの5'および3'非コード非翻訳領域部分はもちろんのこと、一緒に完全タンパク質コード領域をコードしていることが示された。(それぞれ、配列番号23および27) $_{1G}$ 、 $_{1I}$ カルシウムチャネルクラスに付け加えて、組み換えファージミドのDNA配列決定によっても、カルシウムチャネル $_{1I}$ サブユニットの第3のクラスが同定された。これを、 $_{1H}$ カルシウムチャネルサブユニットと名付けた。部分長 $_{1H}$ カルシウムチャネルcDNAは、重複し、5'および3'非コード非翻訳領域部分はもちろんのこと、一緒に完全 $_{1H}$ コード領

域をコードする(配列番号25)。

【0052】

上記の一般的プロトコールを用いて調製した、一時的にトランスフェクションが起こっているヒト胎児腎臓細胞(HEK-tsa201)に対して、電気生理学的研究を行なった。標準的リン酸カルシウム沈殿法によりトランスフェクションを行なった(Okayamaら、1991、Methods in Molec. Biol., Vol. 7、Murray, E. J. 編)。細胞を維持するために、HEK-tsa201細胞をおよそ70%コンフルントに達するまで培養し、培地を除去し、細胞を、トリプシンを用いて、穏やかに擦り取って培養容器から剥離した。次に、37℃に暖めた培地(10% FBS, DMEMに、L-グルタミン添加)で、1:10に細胞を希釈し、組織培養ディッシュに播種した。一時的トランスフェクションを行なうために、0.5mM CaCl_2 を、トータル20 μg のDNA(3 μg の、ラット脳₁₆または₁₁カルシウムチャンネルcDNAのどちらかと、2 μg のCD8プラスミドマーカ-および15 μg のBluescriptプラスミドキャリアDNAが含まれている。)と混合した。DNA混合物を十分に混合し、次に、0.5mlの2倍HeBS(274mM NaCl, 20mM D-グルコース、10mM KCl、1.4mM Na_2HPO_4 、40mM HEPES(pH=7.05)にゆっくりと一滴ずつ添加した。室温にて20分間インキュベーションを行なった後、100 μl のDNA混合物を、HEK-tsa201細胞のそれぞれのディッシュにゆっくりと添加し、次に、37℃にて24時間から48時間、組織培養インキュベーター(5% CO_2)中で、インキュベーションを行なった。

【0053】

1 μl のマウスCD8(Lyt2)Dynabeadsを直接レコーディング液に添加して穏やかに攪拌して混合し、陽性トランスフェクション細胞を視覚的に同定した。前に記述したように、Axopatch 200A増幅器(Axon Instruments)を用いてホールセルパッチクランプ読み取りを行なった(Zamponiら、1997、Nature 385:442-446)。外部レコーディング液は、2mM CaCl_2 、1mM MgCl_2 、10m

M HEPES、40mM TEA-Cl、10mM グルコース、92mM CsCl、TEA-ヒドロキシドでpH=7.2に調整、であった。内部ピペット液は、105mM CsCl、25mM TEA-Cl、1mM CaCl₂、11mM EGTA、10mM HEPES、NaOHでpH7.2に調整、であった。

【0054】

電流 - 電圧 (I - V) 関係を調べるために、細胞を、-100mVの静止電位に維持し、様々な脱分極試験電圧に上げていった。定常状態不活性化に対して、細胞を様々な電位で20秒間維持し、それに続く、I - Vのピーク電位に対する試験パルス間の電流を記録した。漏洩電流およびキャパシティブトランジエントを、P/5法を用いて差し引いた。

【0055】

図1-4にて、_{1G}および_{1I}と名付けられたサブユニットに対応する配列番号23および27のcDNAをトランスフェクションされこれを発現したHEK細胞から得られた結果を示す。図1AおよびBならびに2AおよびBにて、二つのチャンネルサブユニット型に対する波形および電流 - 電圧関係の比較を示す。2mM Ca²⁺を含むレコーディング液の存在下で、_{1G}および_{1I}チャンネルサブユニットの両方が、ネイティブT型カルシウム電流と一致した活性化性質を示す。図1Aおよび図2Aにて、-120mVに維持され、一連の試験電圧で脱分極された細胞からのサブユニットカルシウム電流を示す。図1Bおよび図2Bにて、カルシウム電流の大きさを示す。-110mVの維持電位から、およそ-70mVで最初に活性化されたチャンネルおよびピーク電流の両方を、-40と-50mVとの間で得た。様々な試験電位に対する脱分極において、_{1G}および_{1I}カルシウムチャンネル電流波形は、神経、筋肉および内分泌細胞におけるネイティブT型チャンネルを特徴付ける重複パターンを示す。

【0056】

図3にて、_{1G}または_{1I}サブユニットに対する全長cDNA (配列番号23または27)を一時的に形質転換されたHEK293細胞における_{1G}および_{1I}カルシウムチャンネルに対する定常状態不活性プロファイルを示す。-30mV

の試験電位の前に、15秒間、電位を-120mVと-50mVとの間に維持しながら-120mVからプレパルスに上げることによって、定常状態不活性性質を調べた。正常化ホールセル電流対電位を維持するプレパルスとしてデータをプロットし、 α_{1G} が、およそ-85mVの V_{50} を表し、 α_{11} がおよそ-93mVの V_{50} を表すことを示す。従って、ネイティブT型カルシウムチャンネルと一致して、 α_{1G} および α_{11} カルシウムチャンネルの両方が、負電位において、著しい定常状態不活性を表す。

【0057】

図4A-Cにて、 α_{1G} および α_{11} カルシウムチャンネルの電位依存性脱活性化プロファイルの比較を示す。HEK293細胞に対して、 α_{1G} または α_{11} サブユニットcDNA(配列番号23または27)のどちらかを一時的にトランスフェクションした。-100mVの維持電位から-40mVに9ミリ秒間、次いで-120mVと-45mVとの間の電位まで上げていくことによって、 α_{1G} の脱活性化性質を調べた。-100mVの維持電位から-40mVに20ミリ秒間、次いで-120mVと-45mVとの間の電位まで上げていくことによって、 α_{11} の脱活性化性質を調べた。両チャンネルともに、典型的な高閾値チャンネルと比較してゆっくりとした脱活性化カインेटクスを示し、T型カルシウムチャンネルに対するサブユニットである α_{1G} および α_{11} サブユニットと一致する。

【0058】

(実施例3)

(ヒト α_{1G} T型カルシウムチャンネルサブユニットに対する全長cDNAのクローニング)

(材料と方法)

gt11ベクター(Clontech, Cat#HL5009b)で構築されたヒト視床cDNAライブラリから単離された5個の重複クローン(図1B)から、ヒト α_{1G} サブユニットをコードする全長cDNAを構築した。

【0059】

従来のフィルターハイブリダイゼーションにより3個のgt11cDNAクローンを単離した。

【0060】

以前にクローニングしたヒトニューロン₁₁T型カルシウムチャネルサブユニットのドメインIのS4からS6の膜貫通領域を含む567bpのcDNAプローブ(配列番号19)へのハイブリダイゼーションにより、クローン1を同定した。ドメインIIおよびII-III細胞内ループの一部に広がるラット_{1H}T型カルシウムチャネルサブユニットの1265bpのcDNAプローブに対するハイブリダイゼーションによって、HG10-1112およびHG5-1211クローンを同定した。Multiprime DNA labelling system (Amersham Pharmacia)を用いてランダムプライミングによって、cDNAプローブを³²P-dCTPで標識した。H結合ナイロン膜を用いてのブランクリフトを、二重試験で、製造者(Amersham Pharmacia)により供給された標準的プロトコールに従って行なった。クローン1に対して65℃にて最低16時間、クローンHG10-1112およびHG5-1211に対して、58℃にて最低16時間、ハイブリダイゼーションを行なった。クローン1に対して62℃の0.1XSSC/0.3% SDSで、クローンHG10-1112およびHG5-1211に対して、58℃の0.2XSSC/0.1% SDSで膜を洗浄した。Kodak HE intensifying screenを用いて、BioMax MS Kodac filmに対してプロットを、最低48時間、-80℃で曝露した。上記の手法に従って、二重に陽性だったブランクを単離し、単一クローンを単離するために再びスクリーニングを行なった。次に、gt1ライブラリユーザーマニュアル(Clontech)に従ってバクテリアファージDNAを単離した。クローン1 cDNAインサートを、EcoR(NEB)を用いて切り出し、pBluescriptKS(Stratagene)にサブクローニングした。クローンHG10-1112およびHG5-1211 cDNAインサートを、NotI(NEB)を用いてDNAから切り出し、pBluescriptKSのNotI部位にサブクローニングを行なった。エレクトロポレーションにより、XL-1 E. coli宿主系統のバクテリアに、cDNAインサートを持つプラスミドを形質転換し、ユニバーサルリバーズおよびフォワードプライマーを用いて、自

動シーケンサーABI 100PRISM model 377 バージョン3.3 (PE Biosystems) 組み合わせ、Sanger二本鎖DNA配列決定法により、配列決定を行なった。

【0061】

クローン1を、細胞内I - IIループの部分を含む、5' UTRおよび1933 bpのインフレームコード領域を含むヒト_{1G}サブユニットとして同定した。ドメインI (IS5 - IS6) からIII - IVループに広がる3915 bpのヒト_{1G}サブユニットとして、クローンHG10 - 1112を同定した。I - IIリンカーおよびC末端を含む3984 bpのヒト_{1G}サブユニットとしてクローンHG5 - 1211を同定した。

【0062】

HEK細胞での発現に対して、クローン1からの5' UTR除去が、5' 末端291 bp cDNAフラグメントと、HindIII/SacII制限部位に隣接する5' UTR DNAフラグメントを置き換えることにより達成される。この5' 末端291 bp cDNAフラグメントには、翻訳開始部位およびそれに続く、pcDNA3.1 (Invitrogen) へのクローニングのために取り入れられたHindIII部位が含まれる。次に示すPCR条件を用いた。すなわち、94 °Cにて30秒、45 °Cにて30秒、72 °Cにて30秒を5サイクル繰り返し、さらに、94 °Cにて30秒、48 °Cにて30秒、72 °Cにて30秒を20サイクル繰り返した (Bio-Rad Gene Cycler)。p-Gem-T-Easyプラスミドベクター (Promega) にcDNAフラグメントをサブクローニングし、DNA配列決定を行なった。

【0063】

ヒト視床cDNAライブラリにおいて、MD-19-センスプライマー (5' GCGTGGAGCTCTTTGGAG3' および、G-26アンチセンスプライマー (5' GCACCCAGTGGAGAAAGGTG3') を用いてPCR法により、3' _{1G}サブユニットcDNAの残りの領域を得た。用いたPCRプロトコールは、94 °Cにて30秒、58 °Cにて30秒、72 °Cにて30秒を25サイクル繰り返す、というものであった (Bio-Rad Gene Cycl

er)。pGem-T-Easyプラスミドベクター(Promega)に、1617bpのcDNAフラグメントをサブクローニングし、配列決定した。3' PCR cDNAを、停止コドンを含む、ドメインIV-S5からカルボキシル末端に広がるヒト_{1G}サブユニットとして同定した。

【0064】

p cDNA3.1 Zeo(+)(Invitrogen)哺乳動物発現ベクターにおいて全長ヒト_{1G}T型カルシウムチャネルを構築するために、部分的cDNAクローンの特有の制限部位(図5AおよびB)を使用した。

【0065】

図6にて、完全核酸およびアミノ酸配列を示す。

【0066】

ヒト_{1G}チャネルの機能的性質を決定するために、HEK ts201細胞においてチャネルを一時的に発現するように標準的リン酸カルシウムトランスフェクションを使用した。10%ウシ胎児血清、200U/mlペニシリンおよび0.2mg/mlストレプトマイシンを添加したDulbecco's modified eagle medium(DMEM)を用いて、37℃、5%CO₂にて細胞を培養した。85%コンフルエントになったところで、0.25%トリプシン/1mM EDTAで細胞を剥離し、10%コンフルエントで、ガラスカバースリップ上に細胞を添加した。12時間経過後、培地を交換し、標準的リン酸カルシウムプロトコールを用いて、_{1G}カルシウムチャネルcDNAを細胞に対して一時的にトランスフェクションした。新鮮なDMEMを添加し、細胞を28℃/5%CO₂環境下に移した。ホールセルレコーディングを行なう前に1日から2日間、細胞をインキュベーションした。pCLAMPバージョン7.0ソフトウェアを装備したIBMコンパティブルパーソナルコンピューターに接続したAxopatch 200B増幅器(Axon Instruments)を使用して、ホールセルパッチレコーディングを行なった。ピペット内部液には、次のものが含まれていた。105 CsCl, 25 CsCl, 1 CaCl₂、11 EGTA、10 HEPES、pH7.2(単位は全てmM)。細胞外部液には、次のものが含まれていた。40 TEA-Cl、2 CaC

1₂、1 MgCl₂、92 CsCl、10 グルコース、10 HEPES、
pH 7.2 (単位は全てmM)。

【0067】

図7において、ヒト_{1G}cDNAが、典型的なT型電流の性質を持つカルシウムチャンネルをコードすることを示す。左のパネルは、-100mVの維持電位から、-90mVから+20mVの試験パルス電位で得られた代表的な電流軌跡を説明するものである。その軌跡により、典型的な交叉パターンおよび、試験パルス中の著しい不活性が示される。この両方が、ネイティブT型チャンネルと一致する。右のパネルにより、様々な試験電位におけるピーク全体電流のプロットが示され、ヒト_{1G}cDNAが、-60mV付近で最初に活性化し、-40mV付近で最大電流を示すことが導かれる。これもまた、ネイティブ低閾値T型カルシウムチャンネルと一致する。

【配列表】

SEQUENCE LISTING

<110> Snutch, Terry P.
Baillie, David L.

<120> NOVEL HUMAN CALCIUM CHANNELS AND RELATED PROBES, CELL
LINES AND METHODS

<130> NMED.P-001-2 (CIP)

<140>
<141>

<150> 09/030,482
<151> 1998-02-25

<150> 60/039,204
<151> 1997-02-28

<160> 35

<170> PatentIn Ver. 2.0

<210> 1
<211> 24
<212> DNA
<213> rat

<220>
<223> oligonucleotide probe for locating calcium channel
genes

<400> 1
gtcaaaaactc aggccttcta ctgg 24

<210> 2
<211> 24
<212> DNA
<213> rat

<220>
<223> oligonucleotide probe for locating calcium channel
genes

<400> 2
aacgtgttct tggctatcgc ggtg 24

<210> 3

<211> 24
 <212> DNA
 <213> rat

 <220>
 <223> oligonucleotide probe for locating calcium channel genes

 <400> 3
 gtgaaagcac agagcttcta ctgg 24

 <210> 4
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> rat

 <220>
 <223> oligonucleotide probe for locating calcium channel genes

 <400> 4
 aacgttttct tggccattgc tgtg 24

 <210> 5
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> rat

 <220>
 <223> oligonucleotide probe for locating calcium channel genes

 <400> 5
 gttaaatcca acgtcttcta ctgg 24

 <210> 6
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> rat

 <220>
 <223> oligonucleotide probe for locating calcium channel genes

 <400> 6
 aatgtgttct tggccattgc ggtg 24

 <210> 7

<211> 24
 <212> DNA
 <213> rat

<220>
 <223> oligonucleotide probe for locating calcium channel genes

<400> 7
 gtgaagtctg tcacgtttta ctgg 24

<210> 8
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> rat

<220>
 <223> oligonucleotide probe for locating calcium channel genes

<400> 8
 aagctcttct tggccattgc tgta 24

<210> 9
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> rat

<220>
 <223> oligonucleotide probe for locating calcium channel genes

<400> 9
 gtcaagtcgc aagtgttcta ctgg 24

<210> 10
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> rat

<220>
 <223> oligonucleotide probe for locating calcium channel genes

<400> 10
 aatgtattct tggctatcgc tgtg 24

<210> 11

```

<211> 21
<212> DNA
<213> rat

<220>
<223> oligonucleotide probe for locating calcium channel
genes

<400> 11
atctaygcyr tsatygsat g 21

<210> 12
<211> 20
<212> DNA
<213> rat

<220>
<223> oligonucleotide probe for locating calcium channel
genes

<400> 12
atggacaayt tygastaytc 20

<210> 13
<211> 168
<212> DNA
<213> HUMAN

<220>
<223> expressed sequence tag H55225

<400> 13
gtgatcactc tggaggctg ggtggagatc atgtactacg tgatggatgc tcaactcctc 60
tacaacttca tctacttcat cctgcttate ataccctctc tgccttgac cccatatggt 120
cttcccagag tgagctcacc cacctcgtca tgcctgactc gacgttca 168

<210> 14
<211> 98
<212> DNA
<213> HUMAN

<220>
<223> expressed sequence tag H55617

<400> 14
gatggtcgag tactcctgg accttcagaa catcaacctg tcagccatcc gcaccgtgcg 60
cgtcctgagg cccctcaaag ccatcaaccg cgtgccca 98

```

<210> 15
 <211> 94
 <212> DNA
 <213> HUMAN

<220>
 <223> expressed sequence tag H55223

<400> 15
 catgctgggtg atcctgctga actgctgac acttggcatg taccagccgt gcgacgacat 60
 ggactgacctg tccgaccgct gcaagatcct gcag 94

<210> 16
 <211> 123
 <212> DNA
 <213> HUMAN

<220>
 <223> expressed sequence tag H55544

<400> 16
 gtatctctgg ttacttttagt agccaacact cttggctact cagaccttgg tcccattaaa 60
 tccctgcgaa ccttgagagc actaagacct ctaagagctt tgtctagatt tgaaggaatg 120
 agg 123

<210> 17
 <211> 5562
 <212> DNA
 <213> HUMAN

<220>
 <223> human alpha-I partial sequence from BAC bK206c7

<400> 17
 atgtttttcg tctcagccaa tccctgggtg agtttcacca gttttgattt aaacgtggcc 60
 aatatggaca acttcttcgc ccccgtttc accatgggca aatattatac gcaaggcgac 120
 aagggtgctga tgccgctggc gattcaggct ctgaaacagc tgatgttcaa attggtggcc 180
 actgttgctc gaacacatgc tacaccgtca cacatcacgg gtggctcctgg aacagggatg 240
 cacacgggca ccttccagga aggagctgag cctgggtccat ctCagcacc tgagggcacag 300
 gccacgtata cagcaggggtg caccocagcc cccacggggc atcccacctg ctgctttgtc 360
 cttgacttgg tgtgcacgtg gtttgaatgt gtcagcatgc tggatgatcct gatgaaactgc 420
 gtgacacttg gcatgtacca gccgtgagac gacatggact gccctgtccga ccgctgcaag 480
 atcctgacag tctttgatga cttcatcttt atcttctttg ccatggagat ggtgctcaag 540
 atggtggccc tggggatttt tggcaagaag tgctacctcg gggacacatg gaaccgcctg 600
 gatttcttca tcgtcatggc aggcaacatc aacctgtcag ccatccgcac cgtgcccgtc 660
 ctgaggcccc tcaaagccat caaccgcgtg cccagtatgc ggatcctggg gaacctgctc 720
 ctggacacac tgcccatgct ggggaatgtc ctgctgctct gcttcttgt ctctctcacc 780
 tttggcatca taggtgtgca gctctggggc ggctgctgc gtaaccgctg ctctctggag 840

gagaacttca	coatacaagg	ggatgtggcc	ttgccccat	actaccagcc	ggaggaggat	900
gatgagatgc	ccttcabctg	ctccctgtcg	ggcgacaatg	ggataatggg	ctgccatgag	960
atccccccgc	tcaaggagca	gggcccgtgag	tgctgcctgt	ccaaggacga	cgtctacgac	1020
tttggggcgg	ggcgcagga	cctcaatgcc	agcggcctct	gtgtcaactg	gaaccggttac	1080
tacaatgtgt	gocgcacggg	cagcgcacaac	ccccacaagg	gtgccatcaa	ctttgacaac	1140
atcggttatg	cttggattgt	catcttccag	gtgatcactc	tggaaaggctg	ggtggagatc	1200
atgtactacg	tgatggatgc	tcaactcctc	tacaacttca	tctacttcat	cctgcttatc	1260
ataagtgagc	tcattccact	cgctcatgct	gactgcagct	tcagcacagc	acagtcccca	1320
aaatgtcaag	gtgattcact	cccaggagtc	gctgctgaat	ccctgctgct	gcgagactct	1380
agctcctcag	tcattcactga	tgaggctgca	gccatggaga	acctcctggc	gggcacctcc	1440
aaaggggatg	aaagctatct	gctcaggctg	gccggcagcc	aagttcactc	ccaggctcag	1500
caaatgctgg	ggagggggct	gggcccgtga	agcctggaaa	ctggagagga	gccccactcg	1560
tggagccctc	gggcccacaag	gagatgggat	ccccaatgcc	aaccagggca	gcctctcccc	1620
cttcatttca	tgcaagcaca	ggtgggctcc	ttcttcatga	tcaacctgtg	cctcgttgtc	1680
atagcgagcc	agtctctcga	gaccaagcaa	cgggagcacc	ggctgatgct	ggagcagctg	1740
cagcgcctacc	tgctctccag	cacgggtggc	agctacgccc	agcctggcga	ctgctacgag	1800
gagatcttcc	agtatgtctg	ccacatcctg	cgcaaggcca	agcgcgcgcg	cctgggctctc	1860
taccaggccc	tgcaagcagc	gcgcccaggc	ctgggcccgg	aggcccggc	ccccgccaaa	1920
cctcggggatg	aaagctatct	gctcaggctg	taccctctca	cagctcggga	atcgattctt	1980
gggaggcaag	cagaagaatg	cacgctcaga	gctgcccgcc	accctgctctc	gggtgccagc	2040
catccaggcg	tgggctcggg	ggaggcccga	gagctgtgct	cgcaacatag	ccccctggat	2100
gcgagccccc	acacctggt	gcagccatc	cccgcaccgc	tggtctccga	tcccgccagc	2160
tgcccttgct	gocagcatga	ggacggccgg	cgccctcgg	gcctgggcag	caccgactcg	2220
ggccaggagg	gctcgggctc	cgggagctcc	gctgggtggc	aggacgaggg	ggatggggac	2280
ggggcccggg	gcagcagagg	cggagcctcc	tcagaactgg	ggaaggagga	ggagggggag	2340
gagcagggcg	atggggcggt	ctggctgtgc	ggggatgtgt	ggcgggagac	gcgagccaa	2400
ctgcgcggca	tcgtggacag	caagtaactc	aaccggggca	tcattgatgg	catcctggtc	2460
aacacgctca	gcatgggcat	cgagcaccac	gagcaggcca	gtgcagcgca	gcccggccgg	2520
gctcgcggga	gaggacaaaa	tccagacctt	tgcatgacct	tcaaggcccc	ttgtctctgt	2580
cacaacgtcc	cttcaccagg	ccagggtgtc	ctgtcccact	cagtgactcc	accccataca	2640
gccccatggc	gcatggagac	aggaaaagcag	ggacaaggat	gtgaaagaag	accaggacaa	2700
cgaagcagtg	acatggttgc	cctggagatg	atcctgaagc	tggctgcatt	tgggtctctc	2760
gactacctgc	gtaaccctca	caacatcttc	gacagcatca	ttgtcatcat	cagcatctgg	2820
gagatcgtgg	ggcaggcggg	cggtgggctg	tcggtgctgc	ggaccttccg	gctgctgctc	2880
gtgctgaaac	tggtgcgctt	catgctgccc	ctgcccggcc	agctcgtggt	gctcatgaa	2940
accatggaca	acgtggccac	cttctgcatg	ctgctcatgc	tcttcatctt	catcttcagc	3000
atccttggga	tgcatatatt	tggctgcaag	ttcagcctcc	gcacggacac	tggagacacg	3060
gtgcccagca	ggaagaactt	cgactccctg	ctgtggggca	tcgtcactgt	gttccagatc	3120
ctcaccaggg	aggactggaa	cgctcgttctc	tacaatggca	tggcctccac	ttctccctgg	3180
gectccctct	actttgtcgc	cctcatgacc	ttcggcaact	atgtgctctt	caacctgctg	3240
gtggccatcc	tggtggaggg	cttccaggcg	gaggtgactg	tggtcttggc	agaggaagca	3300
cccccacagg	gcctgcaaaa	gactggggca	gggagagggt	gcctggatgg	gggagggctg	3360
caattcaaac	ttctagcagg	caacctatcc	ctaaaaggag	gggttgcctga	tgaggtgggt	3420
gacgccaatc	gctcctactc	ggacgaggac	cagagctcat	ccaacataga	agagtcttga	3480
aagctccagg	aaagcctgga	cagcagcggg	gatcccgaag	tctgccaat	ccccatgacc	3540
cccaatgggc	acctggaccc	cagtctccca	ctgggtgggc	acctaggctc	tgctggggct	3600
gogggacctg	ccccccgact	ctcaactgcag	ccggacccca	tgetgggtgg	cctgggctcc	3660
cgaagagca	gogtcatgtc	tctaggggag	atgagctatg	accagcctc	cctgggtgggt	3720

```

ggctcttagag ccacagcggg ggtgcaggct gcctttgggc acctggtgcc ccagccgtgg 3780
gtgtgcctgt ggggcgctga cccgaacggg aactccttcc agtccagctc ccggagctcc 3840
tactacgggc catggggcog cagcgcggcc tgggccaagc gtcgctccag ctggaacagc 3900
ctcaagcaca agccgccgtc ggcggagcat gagtccctgc tctctgcgga gcgcgggcgg 3960
ggcgccccggg tctgcgaggt tgccgcggac gagggggccc cgcggggccc acccctgcac 4020
accccacacg cccaccacgt tcatcacggg ccccatctgg cgcaccgcca ccgccaccac 4080
cgccggacgc tgtccctcga caacagggac tcgggtggacc tggccgagct ggtgccccgg 4140
gtggggcggc acccccgggc cgccctggagg ggggcaggcc cggccccggg gcatgaggac 4200
tgcaatggca ggatgccag catcgccaaa gacgtcttca ccaagatggg cgaccgcggg 4260
gatcgccggg aggatgagga ggaaatcgac tacgtgagtg ggggcggggc cgaaggggac 4320
ctgaccctgt gcttccgct cgcgaagatg atcgacgtct ataagcccga ctggtgcgag 4380
gtccgcgaag actggtctgt ctacctcttc tctcccgaga acaggctcag ggatctgggc 4440
tgggtaagcc tcgagtgcca gggaaagggt ggtgacctcg tgggtgsggt gstatggtcag 4500
aggaggcagc gccagaccat tattgcccac aaactcctcg actacgtcgt cctggccttc 4560
atctttctca actgcatcac catcgccctg gagcggcctc agatcgaggc cggcagacc 4620
gaacgcatct ttctcacggt gtccaactac atcttcaagg ccatcttcgt gggcgagatg 4680
acattgaagg tagtctcgct gggcctgtac ttccgcgagc aggcgtacct acgcagcagc 4740
tggaacgtgc tggatggctt tcttgtcttc gtgtccatca tcgacatcgt ggtgtccctg 4800
gcctcagcca ggggagccaa gatcttgggg gtccctccgag tcttgcggct cctgcgcacc 4860
ctacgccccc tgcgtgtcat cagccggggc cggggcctga agctggtggt ggagacactc 4920
atctcctccc tcaagcccat cggcaacatc gtgctcatct gctgtgcctt cttcatcatc 4980
tttggcatcc tgggagtgca gctcttcaag ggcaagtctc accactgtct gggcgtggac 5040
accgcaaca tcaccaaccg ctcgactgac atggccgcca actaccgctg ggtccatcac 5100
aaatacaact tcgacaacct gggccaggct ctgatgtccc tctttgtcct ggcattccaag 5160
gatggttggg tgaacatcat gtacaatgga ctggatgctg ttgctgtgga ccagcagcct 5220
gtgaccaacc acaaccctg gatgctgctg tacttcatct ccttccctgt catcgtcagc 5280
ttctttgtgc tcaacatggt tgtgggtgtc gtgggtggaga acttccacaa gtgcccggac 5340
caccaggagg ctgaagagge acggcggcgt gaggagaagc ggctgcggcg cctggagaag 5400
aagcgcggga aggcccagcg gctgccttac tatgccacct attgtcacac ccggctgctc 5460
atccactcca tgtgcaccag ccaactactg gacatcttca tcaccttcat catctgcctc 5520
aacgtggta ccattgctcc ggagcactac aatcacccca cg 5562

```

```

<210> 18
<211> 1854
<212> PRT
<213> HUMAN

```

```

<220>
<223> human alpha-I partial sequence from BAC bK206c7

```

```

<400> 18
Met Phe Phe Val Ser Ala Asn Pro Trp Val Ser Phe Thr Ser Phe Asp
  1                               5                               10                               15

Leu Asn Val Ala Asn Met Asp Asn Phe Phe Ala Pro Val Phe Thr Met
  20                               25                               30

Gly Lys Tyr Tyr Thr Gln Gly Asp Lys Val Leu Met Pro Leu Ala Ile

```

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

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

545		550		555		560
Ile Ala Thr Gln Phe Ser Glu Thr Lys Gln Arg Glu His Arg Leu Met						
		565		570		575
Leu Glu Gln Arg Gln Arg Tyr Leu Ser Ser Ser Thr Val Ala Ser Tyr		580		585		590
Ala Glu Pro Gly Asp Cys Tyr Glu Glu Ile Phe Gln Tyr Val Cys His		595		600		605
Ile Leu Arg Lys Ala Lys Arg Arg Ala Leu Gly Leu Tyr Gln Ala Leu		610		615		620
Gln Ser Arg Arg Gln Ala Leu Gly Pro Glu Ala Pro Ala Pro Ala Lys		625		630		635
Pro Gly Pro His Ala Lys Glu Pro Arg His Tyr Pro Leu Thr Val Trp		645		650		655
Glu Ser Ile Leu Gly Arg Gln Ala Glu Glu Cys Thr Leu Arg Ala Ala		660		665		670
Ala His Pro Ser Ser Gly Ala Ser His Pro Gly Val Gly Ser Glu Glu		675		680		685
Ala Pro Glu Leu Cys Pro Gln His Ser Pro Leu Asp Ala Thr Pro His		690		695		700
Thr Leu Val Gln Pro Ile Pro Ala Thr Leu Ala Ser Asp Pro Ala Ser		705		710		715
Cys Pro Cys Cys Gln His Glu Asp Gly Arg Arg Pro Ser Gly Leu Gly		725		730		735
Ser Thr Asp Ser Gly Gln Glu Gly Ser Gly Ser Gly Ser Ser Ala Gly		740		745		750
Gly Glu Asp Glu Ala Asp Gly Asp Gly Ala Arg Ser Ser Glu Asp Gly		755		760		765
Ala Ser Ser Glu Leu Gly Lys Glu Glu Glu Glu Glu Gln Ala Asp		770		775		780
Gly Ala Val Trp Leu Cys Gly Asp Val Trp Arg Glu Thr Arg Ala Lys		785		790		795
Leu Arg Gly Ile Val Asp Ser Lys Tyr Phe Asn Arg Gly Ile Met Met						800

805					810					815					
Ala	Ile	Leu	Val	Asn	Thr	Val	Ser	Met	Gly	Ile	Glu	His	His	Glu	Gln
			820					825					830		
Ala	Ser	Ala	Ala	Gln	Pro	Gly	Arg	Ala	Cys	Gly	Arg	Gly	Gln	Asn	Pro
			835				840					845			
Asp	Leu	Cys	Met	Thr	Leu	Lys	Ala	Pro	Cys	Leu	Cys	His	Asn	Val	Pro
	850					855					860				
Ser	Pro	Gly	Gln	Gly	Val	Leu	Ser	His	Pro	Val	Thr	Pro	Pro	His	Thr
865					870					875					880
Ala	Pro	Trp	Arg	Met	Glu	Thr	Gly	Lys	Gln	Gly	His	Gly	Cys	Glu	Glu
				885					890					895	
Gly	Pro	Gly	Gln	Arg	Ser	Ser	Asp	Met	Phe	Ala	Leu	Glu	Met	Ile	Leu
			900					905					910		
Lys	Leu	Ala	Ala	Phe	Gly	Leu	Phe	Asp	Tyr	Leu	Arg	Asn	Pro	Tyr	Asn
		915					920					925			
Ile	Phe	Asp	Ser	Ile	Ile	Val	Ile	Ile	Ser	Ile	Trp	Glu	Ile	Val	Gly
	930					935					940				
Gln	Ala	Asp	Gly	Gly	Leu	Ser	Val	Leu	Arg	Thr	Phe	Arg	Leu	Leu	Arg
945					950					955					960
Val	Leu	Lys	Leu	Val	Arg	Phe	Met	Pro	Ala	Leu	Arg	Arg	Gln	Leu	Val
				965					970					975	
Val	Leu	Met	Lys	Thr	Met	Asp	Asn	Val	Ala	Thr	Phe	Cys	Met	Leu	Leu
			980				985						990		
Met	Leu	Phe	Ile	Phe	Ile	Phe	Ser	Ile	Leu	Gly	Met	His	Ile	Phe	Gly
		995					1000					1005			
Cys	Lys	Phe	Ser	Leu	Arg	Thr	Asp	Thr	Gly	Asp	Thr	Val	Pro	Asp	Arg
	1010						1015				1020				
Lys	Asn	Phe	Asp	Ser	Leu	Leu	Trp	Ala	Ile	Val	Thr	Val	Phe	Gln	Ile
1025					1030					1035					1040
Leu	Thr	Gln	Glu	Asp	Trp	Asn	Val	Val	Leu	Tyr	Asn	Gly	Met	Ala	Ser
				1045					1050					1055	
Thr	Ser	Pro	Trp	Ala	Ser	Leu	Tyr	Phe	Val	Ala	Leu	Met	Thr	Phe	Gly

1060					1065					1070					
Asn	Tyr	Val	Leu	Phe	Asn	Leu	Leu	Val	Ala	Ile	Leu	Val	Glu	Gly	Phe
		1075					1080						1085		
Gln	Ala	Glu	Val	Thr	Val	Val	Leu	Ala	Glu	Glu	Ala	Pro	Pro	Gln	Gly
		1090					1095						1100		
Leu	Arg	Lys	Thr	Gly	Arg	Gly	Arg	Gly	Gly	Leu	Asp	Gly	Gly	Gly	Leu
		1105					1110					1115			1120
Gln	Phe	Lys	Leu	Leu	Ala	Gly	Asn	Leu	Ser	Leu	Lys	Glu	Gly	Val	Ala
				1125					1130					1135	
Asp	Glu	Val	Gly	Asp	Ala	Asn	Arg	Ser	Tyr	Ser	Asp	Glu	Asp	Gln	Ser
			1140					1145					1150		
Ser	Ser	Asn	Ile	Glu	Glu	Phe	Asp	Lys	Leu	Gln	Glu	Gly	Leu	Asp	Ser
		1155					1160						1165		
Ser	Gly	Asp	Pro	Lys	Leu	Cys	Pro	Ile	Pro	Met	Thr	Pro	Asn	Gly	His
		1170					1175					1180			
Leu	Asp	Pro	Ser	Leu	Pro	Leu	Gly	Gly	His	Leu	Gly	Pro	Ala	Gly	Ala
		1185					1190					1195			1200
Ala	Gly	Pro	Ala	Pro	Arg	Leu	Ser	Leu	Gln	Pro	Asp	Pro	Met	Leu	Val
				1205					1210					1215	
Ala	Leu	Gly	Ser	Arg	Lys	Ser	Ser	Val	Met	Ser	Leu	Gly	Arg	Met	Ser
			1220					1225					1230		
Tyr	Asp	Gln	Arg	Ser	Leu	Val	Gly	Gly	Leu	Arg	Ala	Thr	Ala	Gly	Val
		1235					1240						1245		
Gln	Ala	Ala	Phe	Gly	His	Leu	Val	Pro	Gln	Pro	Trp	Val	Cys	Leu	Trp
		1250					1255						1260		
Gly	Ala	Asp	Pro	Asn	Gly	Asn	Ser	Phe	Gln	Ser	Ser	Ser	Arg	Ser	Ser
		1265					1270					1275			1280
Tyr	Tyr	Gly	Pro	Trp	Gly	Arg	Ser	Ala	Ala	Trp	Ala	Ser	Arg	Arg	Ser
				1285					1290					1295	
Ser	Trp	Asn	Ser	Leu	Lys	His	Lys	Pro	Pro	Ser	Ala	Glu	His	Glu	Ser
		1300						1305					1310		
Leu	Leu	Ser	Ala	Glu	Arg	Gly	Gly	Gly	Ala	Arg	Val	Cys	Glu	Val	Ala

1570			1575			1580		
Asp Gly Phe	Leu Val Phe	Val Ser Ile	Ile Asp Ile	Val Val Ser	Leu			
1585	1590		1595		1600			
Ala Ser Ala	Gly Gly Ala	Lys Ile Leu	Gly Val Leu	Arg Val Leu	Arg			
	1605		1610		1615			
Leu Leu Arg	Thr Leu Arg	Pro Leu Arg	Val Ile Ser	Arg Ala Pro	Gly			
	1620		1625		1630			
Leu Lys Leu	Val Val Glu	Thr Leu Ile	Ser Ser Leu	Lys Pro Ile	Gly			
	1635		1640		1645			
Asn Ile Val	Leu Ile Cys	Cys Ala Phe	Phe Ile Ile	Phe Gly Ile	Leu			
	1650		1655		1660			
Gly Val Gln	Leu Phe Lys	Gly Lys Phe	Tyr His Cys	Leu Gly Val	Asp			
1665	1670		1675		1680			
Thr Arg Asn	Ile Thr Asn	Arg Ser Asp	Cys Met Ala	Ala Asn Tyr	Arg			
	1685		1690		1695			
Trp Val His	His Lys Tyr	Asn Phe Asp	Asn Leu Gly	Gln Ala Leu	Met			
	1700		1705		1710			
Ser Leu Phe	Val Leu Ala	Ser Lys Asp	Gly Trp Val	Asn Ile Met	Tyr			
	1715		1720		1725			
Asn Gly Leu	Asp Ala Val	Ala Val Asp	Gln Gln Pro	Val Thr Asn	His			
	1730		1735		1740			
Asn Pro Trp	Met Leu Leu	Tyr Phe Ile	Ser Phe Leu	Leu Ile Val	Ser			
1745	1750		1755		1760			
Phe Phe Val	Leu Asn Met	Phe Val Gly	Val Val Val	Glu Asn Phe	His			
	1765		1770		1775			
Lys Cys Arg	Gln His Gln	Glu Ala Glu	Glu Ala Arg	Arg Arg Glu	Glu			
	1780		1785		1790			
Lys Arg Leu	Arg Arg Leu	Glu Lys Lys	Arg Arg Lys	Ala Gln Arg	Leu			
	1795		1800		1805			
Pro Tyr Tyr	Ala Thr Tyr	Cys His Thr	Arg Leu Leu	Ile His Ser	Met			
	1810		1815		1820			
Cys Thr Ser	His Tyr Leu	Asp Ile Phe	Ile Thr Phe	Ile Ile Cys	Leu			

<220>
 <223> rat alpha-I partial sequence

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

<210> 23
 <211> 7540
 <212> DNA
 <213> rat

<400> 23

ccgtctctgg cgcggagcgg gacgatgctg accccttaga tcctgctcca gctgcgccga 60
 ggggaagaggg ggccgcccctc cccggaccoc cgcctcccat cgggtggccc cttttttttc 120
 tcttcctctc gggggctgct tcgcccgaagg tagcgcctgt tacgggcaac cggagcctgg 180
 gcgcgaacga agaagccgga acaaagtgag gggaagccgc ccggctagtc ggggagcccc 240
 cgggaaccca ggggaagcgg gactctacgc caggcggggc tcctctgaga cccggcgcoc 300
 cgcgggcagc atgccctgag ggcaggggga gctgagctga actggccctc ctggggactc 360
 agcaagctct ctagagcccc ccacatgctc ccccaaccgg tccccggtg cgtgaggaca 420
 cctcctctga ggggctccgc tcgcccctct tcggaccccc cggggccccc gctggccaga 480
 ggatggacga ggaggagat ggagcggggc ccgagagtc gggacagccc cgtagcttca 540
 cgcagctcaa cgacctgtc ggggcccggg gcggcagggg ccgggtcgcac ggaaaaggac 600
 ccgggcagcg cggactccga ggcggagggg ctgccgtacc cggcgtagc ccggtggtt 660
 ttcttctact tgagccagga cagccgcccg cggagctggt gtctccgcac ggtctgtaac 720
 ccgtggttcg acgagtcag tatgctggtc attctctcca actgtgtgac tctgggtatg 780
 ttcaggccgt gtgaggacat tgcctgtgac tcccagcgt gccggtacct gcaggccttc 840
 gatgacttca tctttgcctt cttgctgtg gaaatggtg tgaagatggt ggocctgggc 900
 atctttggga agaaatgta cctgggagac acttggaaac ggcttgactt tttcattgtc 960
 attgcaggga tcttgagta ttcgctggac ctgcagaacg tcagcttctc cgcagtcagg 1020
 acagtcctgt tgcctgcacc gctcagggcc attaacccgg tgcccagcat gcgcattctc 1080
 tctgcattac tcttgaccac cttgcttatg ctgggcaacg tcctgctgct ctgttctgtt 1140
 gtctttttca tctttggcat cgtgggcgtc cagctgtggg caggactgct tcgcaaccgg 1200
 tgcctcctcc ccgagaact cagcctcccc ctgagcgtgg acctggagcc ttattaccag 1260
 acagagaatg aggacgagag ccccttctac tgcctctcagc ctccgggagaa tggcatgaga 1320
 tcctgcagga tcttgcccac actgctggg gaaggcggtg gtggcccacc ctgcagtctc 1380
 gactatgaga cctataacag tccagcaac accacctgtg tcaactggaa ccagctactat 1440
 accaactgct ctgcccggca gcacaacccc ttcaaaggcg ccatcaactt tgacaacatt 1500
 ggctatgctt ggatcgccat cttccaggtc atcacactgg agggctgggt cgacatcatg 1560
 tacttcgtaa tggacgctca ctctctctac aacttctct acttctctt tctcatctc 1620
 gtgggctcct tcttcatgat caacctgtgc ctgggtggtg ttgccacgca gttctccgag 1680
 accaaacagc gggagagtca gctgatgccc gagcagcgtg tacgattcct gtccaatgct 1740
 agcaccctgg caagcttctc tgagccaggc agctgctatg aggagctact caagtacctg 1800
 gtgtacatcc tccgaaaagc agcccgaagg ctggcccagg tctctagggc tataggcgtg 1860
 cgggctgggc tgcctcagcag cccagtgggc cgtagtgggc aggagcccca gccagtggc 1920
 agctgcactc gctcacaccg tcgtctgtct gtcccaccac tggteccacca ccatcaccac 1980
 caccatcacc actaccact gggtaatggg acgctcagag ttccccgggc cagcccagag 2040
 atccaggaca gggatgocaa tgggtctcgc cggctcatgc taccaccacc ctctacacc 2100
 actcctctcg ggggcccctc gaggggtgcg gagtctgtac acagcttcta ccatgctgac 2160
 tgcacttgg agccagtcgg ttgccaggca cccctcccca gatgccatc ggaggcatct 2220
 ggtaggactg tgggtagtgg gaaggtgtac cccactgtgc ataccagccc tccaccagag 2280
 atactgaagg ataaagcact agtggaggtg gccccagcc ctgggcccc caccctcacc 2340
 agcttcaaca tcccacctgg gcccttcagc tccatgcaca agctcctgga gacacagagt 2400
 acgggagcct gccatagctc ctgcaaaaatc tccagccctt gctccaaggc agacagtgga 2460
 gctgcccggc cggacagttg tccctactgt gcccgacag gagcaggaga gccagagtcc 2520
 gctgaccatg tcatgcctga ctcagacagc gaggctgtgt atgagttcac acaggacgct 2580
 cagcacagtg acctccggga tccccacagc cggcggcgac agcggagcct gggcccagat 2640
 gcagagccta gttctgtgct ggccttctgg aggctgatct gtgacacatt ccggaagatc 2700
 gtagatagca aatcttgg ccggggaatc atgatcgcca tcctgggtcaa tacactcagc 2760
 atgggcctcg agtaccacga gcagcccagc gagctcacca acgcccggga aatcagcaac 2820
 atcgtcttca ccagcctctt cgccttggag atgctgctga aactgcttgt ctacggctcc 2880

tttggctaca	ttaagaatcc	ctacaacatc	tttgatgggt	tcattgtggt	catcagtgtg	2940
tgggagattg	tgggccagca	gggaggtggc	ctgtcgggtg	tgcggacett	ccgctgatg	3000
cgggtgctga	agctgggtcg	cttcctgcoy	gcectgcage	gccagctcgt	ggtgctcatg	3060
aagaccatgg	acaacgtggc	caccttctgc	atgctcctca	tgctgttcat	cttcatcttc	3120
agcatcctgg	gcatgcatct	ctttgggttg	aagttcgcac	ctgaacggga	tggggacacg	3180
ttgccagacc	ggaagaattt	cgactcctcg	ctctggggca	tcgtcactgt	ctttcagatt	3240
ctgactcagg	aagactggaa	taaagtctct	tacaacggca	tggcctccac	atcgtcttgg	3300
gctgctcttt	acttcatcgc	cctcatgact	tttggcaact	atgtgctctt	taacctgctg	3360
gtggccattc	ttgtggaagg	attcccaggca	gagggagatg	ccaccaagtc	tgagtcagag	3420
cctgatttct	tttcgccag	tgtggatggg	gatggggaca	gaaagaagcg	cttggccctg	3480
gtggctttgg	gagaacaacg	ggaactacga	aagagccttt	tgccaccctc	catcatccat	3540
acggctgcga	caccaatgtc	acaccccag	agctccagca	caggtgtggg	ggaagcactg	3600
ggctctggct	ctcgacgtac	cagtagcagt	gggtccgctg	agcctggagc	tgccaccat	3660
gagatgaaat	gtcccgaag	tgcccgcagc	tcccgcaca	gtccctggag	tggggcaagc	3720
agctggacca	gcagggcctc	cagcaggaac	agcctgggcc	gggccccag	cctaagcgg	3780
aggagcccg	gcggggagcg	gaggtccctg	ctgtctggag	agggccagga	gagtcaggat	3840
gaggaggaaa	gttcagaaga	ggaccgggcc	agcccagcag	gcagtgacca	tgcaccacag	3900
ggttcccttg	aaagtgaagg	caagagtctc	tttgaactgc	ctgacactct	gcaggtgccc	3960
gggtcgacc	gcacagccag	cggccggagc	tctgtcctct	agcaccaga	ctgtaatggc	4020
aagtggctt	cagggcgttt	ggcccgcacc	ctgaggactg	atgaccccca	actggatggg	4080
gatgatgaca	atgatgaggg	aaatctgagc	aaagggaac	gcatacaagc	ctgggtcaga	4140
tcccggcttc	ctgectgttg	ccgagagcga	gattcctggt	cggcctatat	ctttcctctc	4200
cagtcaaggt	ttcgtctcct	gtgtcacccg	atcatcacc	acaagatggt	tgacctggtg	4260
gtcctcgtca	tcactcttct	caactgtatc	accatcgeta	tggagcgcct	caaaaattgac	4320
ccccacagcg	ctgagcgcac	cttcctgacc	ctctccaact	acatcttcac	ggcagttctt	4380
ctagctgaaa	tgacagtgaa	ggtgggtggc	ctgggctggt	gctttgggga	gcaggcctac	4440
ctgcgcagca	gctggaatgt	gctggacggc	ttgctggtgc	tcactctcgt	catcgacatc	4500
ctggtctcca	tggctctcga	cagcggcacc	aagatccttg	gcattgctgag	ggtgctgogg	4560
ctgctgcgga	ccctgcctcc	actcagggtc	atcagccggg	cccagggact	gaagctggty	4620
gtagagactc	tgatgtcatc	cctcaaacc	attggcaaca	ttgtggtcat	ttgctgtgcc	4680
ttcttcacga	tttttggaa	tctcggggtg	cagctcttca	aagggaagtt	cttcgtgtgt	4740
cagggtgagg	acaccaggaa	catcactaac	aaatccgact	gcgctgagge	cagctaccga	4800
tgggtccggc	acaagtacaa	ctttgacaa	ctgggcccag	ctctgatgtc	cctgtttgtg	4860
ctggcctcca	aggatgggtg	ggttgacatc	atgtatgatg	ggctggatgc	tgtgggtgty	4920
gatcagcagc	ccatcatgaa	ccacaacccc	tggatgctgc	tatacttcat	ctccttcctc	4980
ctcatcgtgg	ccttctttgt	cctgaacatg	tttgtgggoc	tgggtggtgga	gaacttccat	5040
aagtgcagac	agcaccaggga	ggaggaggag	gcgaggcggc	gtgaggagaa	gcgactacgg	5100
aggctggaga	aaaagagaag	gagtaaggag	aagcagatgg	ccgaagccca	gtgcaagccc	5160
tactactctg	actactcgag	attccggctc	cttgtccacc	acctgtgtac	cagccactac	5220
ctggacctct	tcactactgg	tgtcatcggg	ctgaactgty	tcactatggc	catggaacat	5280
taccagcagc	cccagatcct	ggacgaggct	ctgaagatct	gcaattacat	ctttaccgtc	5340
atctttgtct	ttgagtcagt	tttcaaaact	gtggcctttg	cgttccgcog	tttcttccag	5400
gacaggtgga	accagctgga	cctggetatt	gtgcttctgt	ccatcatggg	catcacactg	5460
gaggagattg	aggtaaatct	gtcgctgccc	atcaacccca	ccatcatccg	tatcatgagg	5520
gtgctccgca	ttgtctgagt	tctgaagctg	ttgaagatgg	ctgtgggcat	gcccggcactg	5580
ctgcacacgg	tgatgcaggc	cctgccccag	gtggggaacc	tgggacttct	cttcatgtta	5640
ttgttttca	tctttgcagc	tctgggctg	gagctctttg	gagacctgga	gtgtgatgag	5700
acacaccctt	gtgagggttt	gggtcggcat	gccaccttca	ggaactttgg	tatggccttt	5760

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

Arg Gly Glu Gly Gly Gly Gly Pro Pro Cys Ser Leu Asp Tyr Glu Thr
 325 330 335
 Tyr Asn Ser Ser Ser Asn Thr Thr Cys Val Asn Trp Asn Gln Tyr Tyr
 340 345 350
 Thr Asn Cys Ser Ala Gly Glu His Asn Pro Phe Lys Gly Ala Ile Asn
 355 360 365
 Phe Asp Asn Ile Gly Tyr Ala Trp Ile Ala Ile Phe Gln Val Ile Thr
 370 375 380
 Leu Glu Gly Trp Val Asp Ile Met Tyr Phe Val Met Asp Ala His Ser
 385 390 395 400
 Phe Tyr Asn Phe Ile Tyr Phe Ile Leu Leu Ile Ile Val Gly Ser Phe
 405 410 415
 Phe Met Ile Asn Leu Cys Leu Val Val Ile Ala Thr Gln Phe Ser Glu
 420 425 430
 Thr Lys Gln Arg Glu Ser Gln Leu Met Arg Glu Gln Arg Val Arg Phe
 435 440 445
 Leu Ser Asn Ala Ser Thr Leu Ala Ser Phe Ser Glu Pro Gly Ser Cys
 450 455 460
 Tyr Glu Glu Leu Leu Lys Tyr Leu Val Tyr Ile Leu Arg Lys Ala Ala
 465 470 475 480
 Arg Arg Leu Ala Gln Val Ser Arg Ala Ile Gly Val Arg Ala Gly Leu
 485 490 495
 Leu Ser Ser Pro Val Ala Arg Ser Gly Gln Glu Pro Gln Pro Ser Gly
 500 505 510
 Ser Cys Thr Arg Ser His Arg Arg Leu Ser Val His His Leu Val His
 515 520 525
 His His His His His His His His Tyr His Leu Gly Asn Gly Thr Leu
 530 535 540
 Arg Val Pro Arg Ala Ser Pro Glu Ile Gln Asp Arg Asp Ala Asn Gly
 545 550 555 560
 Ser Arg Arg Leu Met Leu Pro Pro Pro Ser Thr Pro Thr Pro Ser Gly
 565 570 575

Gly Pro Pro Arg Gly Ala Glu Ser Val His Ser Phe Tyr His Ala Asp
 580 585 590

Cys His Leu Glu Pro Val Arg Cys Gln Ala Pro Pro Pro Arg Cys Pro
 595 600 605

Ser Glu Ala Ser Gly Arg Thr Val Gly Ser Gly Lys Val Tyr Pro Thr
 610 615 620

Val His Thr Ser Pro Pro Pro Glu Ile Leu Lys Asp Lys Ala Leu Val
 625 630 635 640

Glu Val Ala Pro Ser Pro Gly Pro Pro Thr Leu Thr Ser Phe Asn Ile
 645 650 655

Pro Pro Gly Pro Phe Ser Ser Met His Lys Leu Leu Glu Thr Gln Ser
 660 665 670

Thr Gly Ala Cys His Ser Ser Cys Lys Ile Ser Ser Pro Cys Ser Lys
 675 680 685

Ala Asp Ser Gly Ala Cys Gly Pro Asp Ser Cys Pro Tyr Cys Ala Arg
 690 695 700

Thr Gly Ala Gly Glu Pro Glu Ser Ala Asp His Val Met Pro Asp Ser
 705 710 715 720

Asp Ser Glu Ala Val Tyr Glu Phe Thr Gln Asp Ala Gln His Ser Asp
 725 730 735

Leu Arg Asp Pro His Ser Arg Arg Arg Gln Arg Ser Leu Gly Pro Asp
 740 745 750

Ala Glu Pro Ser Ser Val Leu Ala Phe Trp Arg Leu Ile Cys Asp Thr
 755 760 765

Phe Arg Lys Ile Val Asp Ser Lys Tyr Phe Gly Arg Gly Ile Met Ile
 770 775 780

Ala Ile Leu Val Asn Thr Leu Ser Met Gly Ile Glu Tyr His Glu Gln
 785 790 795 800

Pro Glu Glu Leu Thr Asn Ala Leu Glu Ile Ser Asn Ile Val Phe Thr
 805 810 815

Ser Leu Phe Ala Leu Glu Met Leu Leu Lys Leu Leu Val Tyr Gly Pro
 820 825 830

Phe Gly Tyr Ile Lys Asn Pro Tyr Asn Ile Phe Asp Gly Val Ile Val
 835 840 845
 Val Ile Ser Val Trp Glu Ile Val Gly Gln Gln Gly Gly Gly Leu Ser
 850 855 860
 Val Leu Arg Thr Phe Arg Leu Met Arg Val Leu Lys Leu Val Arg Phe
 865 870 875 880
 Leu Pro Ala Leu Gln Arg Gln Leu Val Val Leu Met Lys Thr Met Asp
 885 890 895
 Asn Val Ala Thr Phe Cys Met Leu Leu Met Leu Phe Ile Phe Ile Phe
 900 905 910
 Ser Ile Leu Gly Met His Leu Phe Gly Cys Lys Phe Ala Ser Glu Arg
 915 920 925
 Asp Gly Asp Thr Leu Pro Asp Arg Lys Asn Phe Asp Ser Leu Leu Trp
 930 935 940
 Ala Ile Val Thr Val Phe Gln Ile Leu Thr Gln Glu Asp Trp Asn Lys
 945 950 955 960
 Val Leu Tyr Asn Gly Met Ala Ser Thr Ser Ser Trp Ala Ala Leu Tyr
 965 970 975
 Phe Ile Ala Leu Met Thr Phe Gly Asn Tyr Val Leu Phe Asn Leu Leu
 980 985 990
 Val Ala Ile Leu Val Glu Gly Phe Gln Ala Glu Gly Asp Ala Thr Lys
 995 1000 1005
 Ser Glu Ser Glu Pro Asp Phe Phe Ser Pro Ser Val Asp Gly Asp Gly
 1010 1015 1020
 Asp Arg Lys Lys Arg Leu Ala Leu Val Ala Leu Gly Glu His Ala Glu
 1025 1030 1035 1040
 Leu Arg Lys Ser Leu Leu Pro Pro Leu Ile Ile His Thr Ala Ala Thr
 1045 1050 1055
 Pro Met Ser His Pro Lys Ser Ser Ser Thr Gly Val Gly Glu Ala Leu
 1060 1065 1070
 Gly Ser Gly Ser Arg Arg Thr Ser Ser Ser Gly Ser Ala Glu Pro Gly
 1075 1080 1085

Ala Ala His His Glu Met Lys Cys Pro Pro Ser Ala Arg Ser Ser Pro
1090 1095 1100

His Ser Pro Trp Ser Ala Ala Ser Ser Trp Thr Ser Arg Arg Ser Ser
1105 1110 1115 1120

Arg Asn Ser Leu Gly Arg Ala Pro Ser Leu Lys Arg Arg Ser Pro Ser
1125 1130 1135

Gly Glu Arg Arg Ser Leu Leu Ser Gly Glu Gly Gln Glu Ser Gln Asp
1140 1145 1150

Glu Glu Glu Ser Ser Glu Glu Asp Arg Ala Ser Pro Ala Gly Ser Asp
1155 1160 1165

His Arg His Arg Gly Ser Leu Glu Arg Glu Ala Lys Ser Ser Phe Asp
1170 1175 1180

Leu Pro Asp Thr Leu Gln Val Pro Gly Leu His Arg Thr Ala Ser Gly
1185 1190 1195 1200

Arg Ser Ser Ala Ser Glu His Gln Asp Cys Asn Gly Lys Ser Ala Ser
1205 1210 1215

Gly Arg Leu Ala Arg Thr Leu Arg Thr Asp Asp Pro Gln Leu Asp Gly
1220 1225 1230

Asp Asp Asp Asn Asp Glu Gly Asn Leu Ser Lys Gly Glu Arg Ile Gln
1235 1240 1245

Ala Trp Val Arg Ser Arg Leu Pro Ala Cys Cys Arg Glu Arg Asp Ser
1250 1255 1260

Trp Ser Ala Tyr Ile Phe Pro Pro Gln Ser Arg Phe Arg Leu Leu Cys
1265 1270 1275 1280

His Arg Ile Ile Thr His Lys Met Phe Asp His Val Val Leu Val Ile
1285 1290 1295

Ile Phe Leu Asn Cys Ile Thr Ile Ala Met Glu Arg Pro Lys Ile Asp
1300 1305 1310

Pro His Ser Ala Glu Arg Ile Phe Leu Thr Leu Ser Asn Tyr Ile Phe
1315 1320 1325

Thr Ala Val Phe Leu Ala Glu Met Thr Val Lys Val Val Ala Leu Gly
1330 1335 1340

Trp Cys Phe Gly Glu Gln Ala Tyr Leu Arg Ser Ser Trp Asn Val Leu
 1345 1350 1355 1360
 Asp Gly Leu Leu Val Leu Ile Ser Val Ile Asp Ile Leu Val Ser Met
 1365 1370 1375
 Val Ser Asp Ser Gly Thr Lys Ile Leu Gly Met Leu Arg Val Leu Arg
 1380 1385 1390
 Leu Leu Arg Thr Leu Arg Pro Leu Arg Val Ile Ser Arg Ala Gln Gly
 1395 1400 1405
 Leu Lys Leu Val Val Glu Thr Leu Met Ser Ser Leu Lys Pro Ile Gly
 1410 1415 1420
 Asn Ile Val Val Ile Cys Cys Ala Phe Phe Ile Ile Phe Gly Ile Leu
 1425 1430 1435 1440
 Gly Val Gln Leu Phe Lys Gly Lys Phe Phe Val Cys Gln Gly Glu Asp
 1445 1450 1455
 Thr Arg Asn Ile Thr Asn Lys Ser Asp Cys Ala Glu Ala Ser Tyr Arg
 1460 1465 1470
 Trp Val Arg His Lys Tyr Asn Phe Asp Asn Leu Gly Gln Ala Leu Met
 1475 1480 1485
 Ser Leu Phe Val Leu Ala Ser Lys Asp Gly Trp Val Asp Ile Met Tyr
 1490 1495 1500
 Asp Gly Leu Asp Ala Val Gly Val Asp Gln Gln Pro Ile Met Asn His
 1505 1510 1515 1520
 Asn Pro Trp Met Leu Leu Tyr Phe Ile Ser Phe Leu Leu Ile Val Ala
 1525 1530 1535
 Phe Phe Val Leu Asn Met Phe Val Gly Val Val Val Glu Asn Phe His
 1540 1545 1550
 Lys Cys Arg Gln His Gln Glu Glu Glu Glu Ala Arg Arg Arg Glu Glu
 1555 1560 1565
 Lys Arg Leu Arg Arg Leu Glu Lys Lys Arg Arg Ser Lys Glu Lys Gln
 1570 1575 1580
 Met Ala Glu Ala Gln Cys Lys Pro Tyr Tyr Ser Asp Tyr Ser Arg Phe
 1585 1590 1595 1600

Arg Leu Leu Val His His Leu Cys Thr Ser His Tyr Leu Asp Leu Phe
 1605 1610 1615
 Ile Thr Gly Val Ile Gly Leu Asn Val Val Thr Met Ala Met Glu His
 1620 1625 1630
 Tyr Gln Gln Pro Gln Ile Leu Asp Glu Ala Leu Lys Ile Cys Asn Tyr
 1635 1640 1645
 Ile Phe Thr Val Ile Phe Val Phe Glu Ser Val Phe Lys Leu Val Ala
 1650 1655 1660
 Phe Ala Phe Arg Arg Phe Phe Gln Asp Arg Trp Asn Gln Leu Asp Leu
 1665 1670 1675 1680
 Ala Ile Val Leu Leu Ser Ile Met Gly Ile Thr Leu Glu Glu Ile Glu
 1685 1690 1695
 Val Asn Leu Ser Leu Pro Ile Asn Pro Thr Ile Ile Arg Ile Met Arg
 1700 1705 1710
 Val Leu Arg Ile Ala Arg Val Leu Lys Leu Leu Lys Met Ala Val Gly
 1715 1720 1725
 Met Arg Ala Leu Leu His Thr Val Met Gln Ala Leu Pro Gln Val Gly
 1730 1735 1740
 Asn Leu Gly Leu Leu Phe Met Leu Leu Phe Phe Ile Phe Ala Ala Leu
 1745 1750 1755 1760
 Gly Val Glu Leu Phe Gly Asp Leu Glu Cys Asp Glu Thr His Pro Cys
 1765 1770 1775
 Glu Gly Leu Gly Arg His Ala Thr Phe Arg Asn Phe Gly Met Ala Phe
 1780 1785 1790
 Leu Thr Leu Phe Arg Val Ser Thr Gly Asp Asn Trp Asn Gly Ile Met
 1795 1800 1805
 Lys Asp Pro Ser Arg Asp Cys Asp Gln Glu Ser Thr Cys Tyr Asn Thr
 1810 1815 1820
 Val Ile Ser Pro Ile Tyr Phe Val Ser Phe Val Leu Thr Ala Gln Phe
 1825 1830 1835 1840
 Val Leu Val Asn Val Val Ile Ala Val Leu Met Lys His Leu Glu Glu
 1845 1850 1855

Ser Asn Lys Glu Ala Lys Glu Glu Ala Glu Leu Glu Ala Glu Leu Glu
 1860 1865 1870
 Leu Glu Met Lys Thr Leu Ser Pro Gln Pro His Ser Pro Leu Gly Ser
 1875 1880 1885
 Pro Phe Leu Trp Pro Gly Val Glu Gly Val Asn Ser Thr Asp Ser Pro
 1890 1895 1900
 Lys Pro Gly Ala Pro His Thr Thr Ala His Ile Gly Ala Ala Ser Gly
 1905 1910 1915 1920
 Phe Ser Leu Glu His Pro Thr Met Val Pro His Pro Glu Glu Val Pro
 1925 1930 1935
 Val Pro Leu Gly Pro Asp Leu Leu Thr Val Arg Lys Ser Gly Val Ser
 1940 1945 1950
 Arg Thr His Ser Leu Pro Asn Asp Ser Tyr Met Cys Arg Asn Gly Ser
 1955 1960 1965
 Thr Ala Glu Arg Ser Leu Gly His Arg Gly Trp Gly Leu Pro Lys Ala
 1970 1975 1980
 Gln Ser Gly Ser Ile Leu Ser Val His Ser Gln Pro Ala Asp Thr Ser
 1985 1990 1995 2000
 Cys Ile Leu Gln Leu Pro Lys Asp Val His Tyr Leu Leu Gln Pro His
 2005 2010 2015
 Gly Ala Pro Thr Trp Gly Ala Ile Pro Lys Leu Pro Pro Pro Gly Arg
 2020 2025 2030
 Ser Pro Leu Ala Gln Arg Pro Leu Arg Arg Gln Ala Ala Ile Arg Thr
 2035 2040 2045
 Asp Ser Leu Asp Val Gln Gly Leu Gly Ser Arg Glu Asp Leu Leu Ser
 2050 2055 2060
 Glu Val Ser Gly Pro Ser Cys Pro Leu Thr Arg Ser Ser Ser Phe Trp
 2065 2070 2075 2080
 Gly Gly Ser Ser Ile Gln Val Gln Gln Arg Ser Gly Ile Gln Ser Lys
 2085 2090 2095
 Val Ser Lys His Ile Arg Leu Pro Ala Pro Cys Pro Gly Leu Glu Pro
 2100 2105 2110

Ser Trp Ala Lys Asp Pro Pro Glu Thr Arg Ser Ser Leu Glu Leu Asp
 2115 2120 2125
 Thr Glu Leu Ser Trp Ile Ser Gly Asp Leu Leu Pro Ser Ser Gln Glu
 2130 2135 2140
 Glu Pro Leu Phe Pro Arg Asp Leu Lys Lys Cys Tyr Ser Val Glu Thr
 2145 2150 2155 2160
 Gln Ser Cys Arg Arg Arg Pro Gly Phe Trp Leu Asp Glu Gln Arg Arg
 2165 2170 2175
 His Ser Ile Ala Val Ser Cys Leu Asp Ser Gly Ser Gln Pro Arg Leu
 2180 2185 2190
 Cys Pro Ser Pro Ser Ser Leu Gly Gly Gln Pro Leu Gly Gly Pro Gly
 2195 2200 2205
 Ser Arg Pro Lys Lys Lys Leu Ser Pro Pro Ser Ile Ser Ile Asp Pro
 2210 2215 2220
 Pro Glu Ser Gln Gly Ser Arg Pro Pro Cys Ser Pro Gly Val Cys Leu
 2225 2230 2235 2240
 Arg Arg Arg Ala Pro Ala Ser Asp Ser Lys Asp Pro Ser Val Ser Ser
 2245 2250 2255
 Pro Leu Asp Ser Thr Ala Ala Ser Pro Ser Pro Lys Lys Asp Thr Leu
 2260 2265 2270
 Ser Leu Ser Gly Leu Ser Ser Asp Pro Thr Asp Met Asp Pro Glx
 2275 2280 2285

<210> 25

<211> 8447

<212> DNA

<213> rat

<400> 25

cgggataatt ctgtctcatt accataggca cacaataaaa catctttacc atttctctaa 60
 actcagccat tggccaaagc cagaaggaag acctgtgcat ttgcatctgg ggatccgatc 120
 ctgactgatg ctctagggtg ctgctgtatac agtggaggag actgtgagaa aggaccatag 180
 tagtcaagga agaaagcatc ctgggacaga gccacaatca cgagatgatt cctaccaatg 240
 aacctcttcg gactgggtcc cagtgacagc gccgcccggg ctatgccacg gggacgccgc 300
 tagccaccgg agcgaggtga gatgcccagg gtacgcgcgc ttactgcccg cctggggacc 360
 tttgaacttg agctctgtgg gctccgagcc cctagggctc ccgcaaccct tcgcctcggc 420

```

cttgggggtg gggctgccc gctttgcccg cgggaggggg cggggggcgc atttgtctct 480
aataaggaga gacaaaagaca tcccggcggc cgcggctgtt cccgcagctc cgctccgct 540
gaggcggggc gggggcgctcg ttccctgggco agggtcacct cctgcctctc ctccgcaggt 600
gctgccctcc gccaccatga ccgagggcac gctggcagcg gacgaagtcc ggggtccct 660
gggcgcttcg ccgcccggccc ctgcagcgcc ggtgagagct tcccagcga gccctggggc 720
gcccggggcgc gaggagcagg gaggatccgg gtcgggagtg ttggctcccg agagcccagg 780
gaccgagtggt ggtgcccggcc tgggcccga cggggaacag ccggtcccat accagctct 840
ggtgcccaca gtctctctc gccctgggca aaccaocggg ccgcccagct ggtgctccg 900
actggtttgt aaccocgtgt tccgagcacgt cagcatgctg gtcatcatgc tgaactgct 960
gacactgggc atgttcaggc cctgtgagga tgttgagtgc cgctccgaac gttgcagcat 1020
cttggaggcc ttcgacgact tcatctttgc ctctctcgcc gtggagatgg tgatcaagt 1080
ggtggctttg gggctgtttg ggcaaaaatg ctacctgggt gacacctgga acaggctgga 1140
ctctctcatt gtcattggcg gcatgatgga gtactctctg gacggacaca aggtgagcct 1200
ctctgccatc cgaaccgtgc gttgtgctgc gccctccgc gccatcaacc gagtcccag 1260
tatcgcgatc ctggtcactc tctgctgga cacgctgccc atgctggga atgtctctc 1320
cctctgcttc tctgctctc tcatctctcg cattgttggg gtccagctct gggctggcct 1380
gcttcggaac cgatgcttcc tggacagcgc ctctcctcagg aacaacaaoc tgacctctc 1440
gcccgcatac taccagacgg aggggggtga ggagaacct tcatctgct cctcccgcg 1500
tgacaacggc atgcagaagt gctcgacat ccccagccc cgtgagcttc gagtgcagt 1560
cacactcggc tgggaggcct atgggcagcc acaggctgag gatgggggtg ctggccgca 1620
cgctgtatc aactggaacc agtattaca cgtgtcccgc tccggggaat tcaaccctca 1680
caacgggtcc atcaacttc acaacattgg ctacgcttg attgccatc tccaggtcat 1740
cacactggag ggtgggtgg acatcatgta ctacgtcatg gatgccact cgttctaca 1800
cttcatctac ttcactctc tcatcattat gggctcttc tcatgatca acctgtgct 1860
ggtggtgata gccacacagt tctcagagac aaagcaagg gaaaaccagc tgatgcgaga 1920
acagcgggcc cgctatctgt ccaacgacag cactctggcc agcttctcag agcccggcag 1980
ctgctacgag gagctcctca agtatgtagg ccacatctc cgggaaggta aacgcccag 2040
cctgogtctt tatgcccgtt ggcagagccg ctggcgtaag aagggtggat ccagcagtac 2100
cgtgcatgyc caaggccctg ggcggcggcc acgacgggca ggcagggcgt 2160
gcaccatctg gtctaccacc accaccacca ccatcaccac cattaccact ttaggccag 2220
tggcccacgc aggcccagcc cagagccagg tgcctggtgac aacaggttgg tccagggcctg 2280
tgcgccacc tgcgcgcat ccccaggcca tgggcccacca gactctgagt ctgtgcacag 2340
tatctaccat gctgactgcc acgtggaggg gccgcaggaa cgagcccag tggcacactc 2400
catagccact gctgctagcc tcaagctggc ctccaggttg ggtaccatga actaccccac 2460
catctactc tcaggaacag tcaacagcaa aggtggcacc agctcacgac ccaaggggct 2520
acgaggtgct ggcgcccag gggctgcagt acacagccct ctgagcctgg gaagcccag 2580
accctatgag aagatccagg atgtggtggg agaacaagg ctaggccgag cctctagcca 2640
cctgtcagge ctgagtgtgc ctgcccctt gccagcccc caggctggca cgctgacctg 2700
tgagctgaa agctgccc atttgtgctag cgcctggag gcccccaggt ttgaattcag 2760
tggctcagag agcggggact cggatgccc cggagtctat gagtctacc aggatgtacg 2820
gcatggggat tctcgggacc ctgtgcagca gccccatgaa gtgggcacac caggccacag 2880
caatgagcgg cggcgggaca cactgcccga ggcctcaca ccaggaggga taggcccact 2940
ctgggcatcc ttcagtggca agctacgtcg cattgtagac agcaagtact tcaaccgagg 3000
catcatggca gccatcctcg tcaatactct gagcatgggc gttgagtatc atgaacagcc 3060
tgaggagctg accaacgccc tggagataag caacatcgtg ttcaccagca tgtttgctc 3120
ggagatgcta ctgaagctgc tggcctgccc cccactggga tacatccgga acccctaca 3180
catcttcgat ggcattgtt tegtcataag tgtctgggag atcgtggggc aggcagacgg 3240
tggccagctt gtgtgogca ccttcaggct gctgcccgtg ctgaagctgg tgcgctctc 3300

```

gccggccctg	ogggccagc	tcgtggtgct	catgaggacc	atggacaacg	tggccacctt	3360
ctgcatgctc	ctcatgctgt	tcatcttcat	cttcagcacc	ctgggcatgc	acctgttcgg	3420
ctgtaagttc	agcctgaaga	cagactctgg	agacaccgtc	cctgacagga	agaaccttca	3480
ctccctactg	tgggcatcgg	tcaccgtggt	tcagatcttg	acacaggaag	actggaacct	3540
ggttctgtac	aacggcatgg	cctccacttc	gtcctgggcc	gccctttact	ttgtggccct	3600
catgaccttt	gggaactatg	tgctcttcaa	cctgctggta	gccatcctgg	tggaaaggtt	3660
ccaggcagag	ggtgacgcca	ccagatctga	caccgacgag	gataagacgt	ctaccagct	3720
agagggggat	ttcgataaag	tcagagatct	tcgagccaca	gagatgaaga	tgtatttact	3780
ggcagtgacc	cctaaccggc	acctagaggg	ccgaggcagc	ctgcccggcc	ccctcatcac	3840
tcacacggca	gctacgccta	tgctactctc	caaaagctcc	ccaaacctgg	acctggccca	3900
tgctctcctg	gactctcggc	gcagcagcag	cggctctgtg	gacccccagc	tgggggacca	3960
gaagtctctg	gccagcctcc	gcagctcccc	ttgcacccca	tggggcccca	acagcgctgg	4020
gagcagcagg	cgctccagtt	ggaaacagcct	gggcccggca	cccagcctca	aacgcccag	4080
ccagtgtggg	gagcgcaggt	ccctgctctc	tggagagggg	aagggcagca	ccgatgacga	4140
ggccgaggag	agcagaccaa	gcacgggaac	ccaccagggg	gcctcgccag	ggcccagctc	4200
cacgcccactg	cggcgtgccg	agtcattgga	ccaccgcagc	acgctggacc	tgtgtcccac	4260
acggcctgcg	cctcctgccg	tccaagtcca	tgactgcaac	gggcagatgg	tggccctgcc	4320
cagcgagttc	ttctctgcga	tcgacagcca	caaggaggat	gcagcggagt	ttgatgatga	4380
catagaggat	agctgctgct	tccgtctaca	cgaagtgctg	gaaccctatg	caccggacca	4440
gtgcccgtagc	cgggagtcct	gggcccgtga	tctcttccca	ccgcagaaca	ggctacgcgt	4500
ctcctgccag	aaagtcatcg	cacacaagat	gtttgaccac	gtggtccttg	tcttcatctt	4560
cctcaactgt	atcaccattg	ctctggagag	gccagacatt	gaccaggcca	gcactgagcg	4620
ggccttccctc	agcgtctcca	actacatctt	cacagccatc	ttcgtggtgg	agatgatggt	4680
gaagggtgta	gccttgggac	tgctgtgggg	tgaacatgcc	tacctacaga	gcagttggaa	4740
tgtgctggac	gggctgcttg	tcctggtatc	cctggttgac	atcatcgtgg	ccatggccctc	4800
agctggcggg	gccaagatcc	taggcgtcct	gcgtgtcgtg	cgctgctgct	ggaccctgag	4860
gcctctgagg	gtcatcagcc	gagctccagg	cctcaagctg	gttgtagaga	ctctgatatc	4920
atcgctcagg	cccattggga	acatcgtcct	catctgctgc	gccttcttca	tcactctttg	4980
catcctcggg	gtgcagcttt	tcaaggycaa	attctactac	tgcgagggca	cagataccag	5040
gaatatcacc	accaaggccc	agtgccatgc	tgcccactac	cgctgggtga	ggcgcaaata	5100
caactttgac	aacctgggtc	aggcgctgat	gtctctgttc	gtgctgtcat	ctaaggatgg	5160
ctgggtaaac	atcatgtatg	acgggctgga	tgcctggggc	atcgaccagc	agcccgtgca	5220
gaaccacaac	ccctggatgc	tgctctactt	catctccttc	ctgctcatcg	tcagcttctt	5280
cgtgctcaac	atgtttgtgg	gcgtggtggt	ggagaacttc	cacaagtgcc	ggcagcacca	5340
ggaggctgag	gaggctcggc	gccgggagga	gaaaaggctg	cggcgccctg	agaggaggcg	5400
caggaaggcc	cagcgcgggc	cctactacgc	agactattca	cacactcgcc	gctccatcca	5460
ttcgctgtgc	accagccact	acctggacct	cttcatcacc	ttcatcatct	gcctcaatgt	5520
catcaccatg	tccatggagc	actacaacca	gcccaggctc	ctggatgagg	ccctcaagta	5580
ctgcaactac	gtctttacca	tcgtctctgt	ctttgaggct	gcactgaagc	tgggtggcctt	5640
tgggttccgg	aggttcttca	aggacaggtg	gaaccagctg	gacttggcca	tcgtcctcct	5700
atccatcatg	ggcattgcgc	tggaggagat	tgagatgaac	gccgcccctg	ccatcaatcc	5760
caccatcatc	cgcatcatgc	gtgtgctctg	aatcgcccgt	gtgctgaagc	tactgaagat	5820
ggccacaggg	atgocgcctc	tgctggatac	tgtggttcaa	gctctgcctc	aggtagggaa	5880
ccttgggtctt	cttttcatgc	tctctgtttt	tatctatgct	gcctggggag	tggagctggt	5940
tgggaggcta	gagtgacggc	aggataaccc	ctgagagggc	ctgagcaggc	acgctacctt	6000
caccaacttc	ggcatggcct	tcttcacact	gttccgagtg	tccactgggg	acaactggaa	6060
tgggattatg	aaggataccc	tccgtgagtg	taaccgtgag	gacaagcact	gcctcageta	6120
cctgcccggc	ctctcaccgg	tctactctgt	caccttcag	ctgggtggctc	agttcgtgct	6180

```

ggccaatgtg gtgggtggccg tgctcatgaa gcacctggag gagagcaaca aggaggcccc 6240
cgaggatgca gagatggacg ccgagatcga gctggagatg gcacaggggt ccacagcccc 6300
gcccccaacct acagcacagg aaagccaagg taaccagcca gacaccccca acctcctggg 6360
cgtgcaaaaa gtatctgtgt ccaggatgct ctgctgctccc aatgacagct acatggtcag 6420
gccggtggct cccgctggct cccacatctc ccaccactg caggaagtgg agatggagac 6480
ctacacaggc ccggtcacct ctgctcactc gccaccctg gagccccggc cctctttcca 6540
gggtcccatca gccgctcct cccagccag ggtcagtga ccccttggg cctttcacc 6600
ccgggggtaca cccgctctc tgagtctctc acggatactc tgcagacagg aggccatgca 6660
ctctgagtcc ctggaaggga aggttgatga tgttgaggga gacagcatcc cagactacac 6720
agagcctgct gaaaaatagt ccacgagcca ggcatcaaca ggtgccccga ggtccccctc 6780
gtgctccccg cgacctgcca ccgtccgtac ccgcaagcac acgtttgggc aacgctcgtg 6840
ctccagccgc cctcccacc tgggaggaga tgaggctgaa gcagcagacc cagcagatga 6900
ggaggtcagc cacatcacca gctcagcccc cccctggccg gctacagagc cccacagccc 6960
tgaggcctcc ccaacagcct ctctgtgaa aggcacaatg ggcagtgggc gggaccaccg 7020
caggtctctgc agtgtagatg ctcagagctt cctggacaaa ccaggtcggc cagatgcaca 7080
acgggtggcc tcagtggaac tggataacgg agaaagccac cttagatccg gggaaagtga 7140
gggcccggcc tcagagctcg aaccagctct tgggtcacga aggaagaaga agatgagccc 7200
tccttgcctc tccattgaac ctcccactaa ggatgagggc tcttcccggc cccctgcagc 7260
cgaaggagcc aacactacc tgaggcggcc aaccccatcc tgtgaggctg cctccatag 7320
ggactgcccc gagcctacag aaggcccagg caccggaggg gaccctgtag ccaagggtga 7380
ggcctggggc caggcctctt gccgagcaga gcatctgact gtccccact ttgctcttga 7440
gcctctggac atggggcgac ctgggtggaga ctgtttcttg gacagtgacc aaagtgtgac 7500
cccagaacct agagtctcct ctttgggggc tatagtgcct ctgatactag aaactgact 7560
ttctatgccc tctcctgact gccagagaa ggaacaagga ctgtaoctca ctgtgcccc 7620
gacccccctg aagaaaccag ggtctacccc agccactcct gccccagatg acagtggaga 7680
tgagcctgtg tagatggggc tgcgtgtcca cagggtcttg gcattgaggt tgttggctcc 7740
tgcagggtgg tagggccatg agtggaccct gcttagggcc cactaaggca gagggaaccg 7800
gagataacca tcccaggaga ggcagcagac atcccgtctc tgcaccatga cacaggagca 7860
gcctcggggc ccacgagcct cctcgtggg gattcaggtt tgggttttcc tgagtlttaa 7920
ccaccaccag aagctgtacc aggaccaggt catcagtctc aggaggagag gctgtgtcct 7980
gggaaggacc agtaattcct cacaggcacc acagctccat ccagtgtgaca cacaggtttc 8040
cgacagggag tacagcttga gcctgtgtac attgggtcct gcagccaccg cacccaatat 8100
cacctcgtt cacagctctg tttctgtcca ccaactggca tcttccctc tcacagtgcc 8160
cctcccccat tccatcccc tagatggctc agaactttgc agtgaccctg ggaagtactg 8220
acccatgcaa taagacattg cagtccaac tgaggtgggg cttcccatcc attccaggct 8280
gttgggctca acattcattt gacatccatt tgctttatgt catccgtttc tacaaattca 8340
ggttaaatgt tgcaataatc tgatgcagaa aacttggctt cctaagtcaa agctgagggg 8400
aggggagggg aggggcaagg caaatctgaa taaactacta cttattg 8447

```

<210> 26

<211> 2359

<212> PRT

<213> rat

<400> 26

Met Thr Glu Gly Thr Leu Ala Ala Asp Glu Val Arg Val Pro Leu Gly

1

5

10

15

Ala Ser Pro Pro Ala Pro Ala Ala Pro Val Arg Ala Ser Pro Ala Ser
20 25 30

Pro Gly Ala Pro Gly Arg Glu Glu Gln Gly Gly Ser Gly Ser Gly Val
35 40 45

Leu Ala Pro Glu Ser Pro Gly Thr Glu Cys Gly Ala Asp Leu Gly Ala
50 55 60

Asp Glu Glu Gln Pro Val Pro Tyr Pro Ala Leu Ala Ala Thr Val Phe
65 70 75 80

Phe Cys Leu Gly Gln Thr Thr Arg Pro Arg Ser Trp Cys Leu Arg Leu
85 90 95

Val Cys Asn Pro Trp Phe Glu His Val Ser Met Leu Val Ile Met Leu
100 105 110

Asn Cys Val Thr Leu Gly Met Phe Arg Pro Cys Glu Asp Val Glu Cys
115 120 125

Arg Ser Glu Arg Cys Ser Ile Leu Glu Ala Phe Asp Asp Phe Ile Phe
130 135 140

Ala Phe Phe Ala Val Glu Met Val Ile Lys Met Val Ala Leu Gly Leu
145 150 155 160

Phe Gly Gln Lys Cys Tyr Leu Gly Asp Thr Trp Asn Arg Leu Asp Phe
165 170 175

Phe Ile Val Met Ala Gly Met Met Glu Tyr Ser Leu Asp Gly His Lys
180 185 190

Val Ser Leu Ser Ala Ile Arg Thr Val Arg Val Leu Arg Pro Leu Arg
195 200 205

Ala Ile Asn Arg Val Pro Ser Met Arg Ile Leu Val Thr Leu Leu Leu
210 215 220

Asp Thr Leu Pro Met Leu Gly Asn Val Leu Leu Leu Cys Phe Phe Val
225 230 235 240

Phe Phe Ile Phe Gly Ile Val Gly Val Gln Leu Trp Ala Gly Leu Leu
245 250 255

Arg Asn Arg Cys Phe Leu Asp Ser Ala Phe Val Arg Asn Asn Asn Leu
260 265 270

Thr Phe Leu Arg Pro Tyr Tyr Gln Thr Glu Glu Gly Glu Glu Asn Pro
 275 280 285
 Phe Ile Cys Ser Ser Arg Arg Asp Asn Gly Met Gln Lys Cys Ser His
 290 295 300
 Ile Pro Ser Arg Arg Glu Leu Arg Val Gln Cys Thr Leu Gly Trp Glu
 305 310 315 320
 Ala Tyr Gly Gln Pro Gln Ala Glu Asp Gly Gly Ala Gly Arg Asn Ala
 325 330 335
 Cys Ile Asn Trp Asn Gln Tyr Tyr Asn Val Cys Arg Ser Gly Glu Phe
 340 345 350
 Asn Pro His Asn Gly Ala Ile Asn Phe Asp Asn Ile Gly Tyr Ala Trp
 355 360 365
 Ile Ala Ile Phe Gln Val Ile Thr Leu Glu Gly Trp Val Asp Ile Met
 370 375 380
 Tyr Tyr Val Met Asp Ala His Ser Phe Tyr Asn Phe Ile Tyr Phe Ile
 385 390 395 400
 Leu Leu Ile Ile Met Gly Ser Phe Phe Met Ile Asn Leu Cys Leu Val
 405 410 415
 Val Ile Ala Thr Gln Phe Ser Glu Thr Lys Gln Arg Glu Asn Gln Leu
 420 425 430
 Met Arg Glu Gln Arg Ala Arg Tyr Leu Ser Asn Asp Ser Thr Leu Ala
 435 440 445
 Ser Phe Ser Glu Pro Gly Ser Cys Tyr Glu Glu Leu Leu Lys Tyr Val
 450 455 460
 Gly His Ile Phe Arg Lys Val Lys Arg Arg Ser Leu Arg Leu Tyr Ala
 465 470 475 480
 Arg Trp Gln Ser Arg Trp Arg Lys Lys Val Asp Pro Ser Ser Thr Val
 485 490 495
 His Gly Gln Gly Pro Gly Arg Arg Pro Arg Arg Ala Gly Arg Arg Thr
 500 505 510
 Ala Ser Val His His Leu Val Tyr His His His His His His His His
 515 520 525

His Tyr His Phe Ser His Gly Gly Pro Arg Arg Pro Ser Pro Glu Pro
 530 535 540
 Gly Ala Gly Asp Asn Arg Leu Val Arg Ala Cys Ala Pro Pro Ser Pro
 545 550 555 560
 Pro Ser Pro Gly His Gly Pro Pro Asp Ser Glu Ser Val His Ser Ile
 565 570 575
 Tyr His Ala Asp Cys His Val Glu Gly Pro Gln Glu Arg Ala Arg Val
 580 585 590
 Ala His Ser Ile Ala Thr Ala Ala Ser Leu Lys Leu Ala Ser Gly Leu
 595 600 605
 Gly Thr Met Asn Tyr Pro Thr Ile Leu Pro Ser Gly Thr Val Asn Ser
 610 615 620
 Lys Gly Gly Thr Ser Ser Arg Pro Lys Gly Leu Arg Gly Ala Gly Ala
 625 630 635 640
 Pro Gly Ala Ala Val His Ser Pro Leu Ser Leu Gly Ser Pro Arg Pro
 645 650 655
 Tyr Glu Lys Ile Gln Asp Val Val Gly Glu Gln Gly Leu Gly Arg Ala
 660 665 670
 Ser Ser His Leu Ser Gly Leu Ser Val Pro Cys Pro Leu Pro Ser Pro
 675 680 685
 Gln Ala Gly Thr Leu Thr Cys Glu Leu Lys Ser Cys Pro Tyr Cys Ala
 690 695 700
 Ser Ala Leu Glu Asp Pro Glu Phe Glu Phe Ser Gly Ser Glu Ser Gly
 705 710 715 720
 Asp Ser Asp Ala His Gly Val Tyr Glu Phe Thr Gln Asp Val Arg His
 725 730 735
 Gly Asp Cys Arg Asp Pro Val Gln Gln Pro His Glu Val Gly Thr Pro
 740 745 750
 Gly His Ser Asn Glu Arg Arg Arg Thr Pro Leu Arg Lys Ala Ser Gln
 755 760 765
 Pro Gly Gly Ile Gly His Leu Trp Ala Ser Phe Ser Gly Lys Leu Arg
 770 775 780

Arg Ile Val Asp Ser Lys Tyr Phe Asn Arg Gly Ile Met Ala Ala Ile
 785 790 795 800
 Leu Val Asn Thr Leu Ser Met Gly Val Glu Tyr His Glu Gln Pro Glu
 805 810 815
 Glu Leu Thr Asn Ala Leu Glu Ile Ser Asn Ile Val Phe Thr Ser Met
 820 825 830
 Phe Ala Leu Glu Met Leu Leu Lys Leu Leu Ala Cys Gly Pro Leu Gly
 835 840 845
 Tyr Ile Arg Asn Pro Tyr Asn Ile Phe Asp Gly Ile Val Val Val Ile
 850 855 860
 Ser Val Trp Glu Ile Val Gly Gln Ala Asp Gly Gly Gln Ser Val Leu
 865 870 875 880
 Arg Thr Phe Arg Leu Leu Arg Val Leu Lys Leu Val Arg Phe Leu Pro
 885 890 895
 Ala Leu Arg Arg Gln Leu Val Val Leu Met Arg Thr Met Asp Asn Val
 900 905 910
 Ala Thr Phe Cys Met Leu Leu Met Leu Phe Ile Phe Ile Phe Ser Ile
 915 920 925
 Leu Gly Met His Leu Phe Gly Cys Lys Phe Ser Leu Lys Thr Asp Ser
 930 935 940
 Gly Asp Thr Val Pro Asp Arg Lys Asn Phe Asp Ser Leu Leu Trp Ala
 945 950 955 960
 Ile Val Thr Val Phe Gln Ile Leu Thr Gln Glu Asp Trp Asn Val Val
 965 970 975
 Leu Tyr Asn Gly Met Ala Ser Thr Ser Ser Trp Ala Ala Leu Tyr Phe
 980 985 990
 Val Ala Leu Met Thr Phe Gly Asn Tyr Val Leu Phe Asn Leu Leu Val
 995 1000 1005
 Ala Ile Leu Val Glu Gly Phe Gln Ala Glu Gly Asp Ala Thr Arg Ser
 1010 1015 1020
 Asp Thr Asp Glu Asp Lys Thr Ser Thr Gln Leu Glu Gly Asp Phe Asp
 1025 1030 1035 1040

Lys Leu Arg Asp Leu Arg Ala Thr Glu Met Lys Met Tyr Ser Leu Ala
 1045 1050 1055
 Val Thr Pro Asn Gly His Leu Glu Gly Arg Gly Ser Leu Pro Pro Pro
 1060 1065 1070
 Leu Ile Thr His Thr Ala Ala Thr Pro Met Pro Thr Pro Lys Ser Ser
 1075 1080 1085
 Pro Asn Leu Asp Val Ala His Ala Leu Leu Asp Ser Arg Arg Ser Ser
 1090 1095 1100
 Ser Gly Ser Val Asp Pro Gln Leu Gly Asp Gln Lys Ser Leu Ala Ser
 1105 1110 1115 1120
 Leu Arg Ser Ser Pro Cys Thr Pro Trp Gly Pro Asn Ser Ala Gly Ser
 1125 1130 1135
 Ser Arg Arg Ser Ser Trp Asn Ser Leu Gly Arg Ala Pro Ser Leu Lys
 1140 1145 1150
 Arg Arg Ser Gln Cys Gly Glu Arg Glu Ser Leu Leu Ser Gly Glu Gly
 1155 1160 1165
 Lys Gly Ser Thr Asp Asp Glu Ala Glu Asp Ser Arg Pro Ser Thr Gly
 1170 1175 1180
 Thr His Pro Gly Ala Ser Pro Gly Pro Arg Ala Thr Pro Leu Arg Arg
 1185 1190 1195 1200
 Ala Glu Ser Leu Asp His Arg Ser Thr Leu Asp Leu Cys Pro Pro Arg
 1205 1210 1215
 Pro Ala Pro Pro Ala Val Gln Val His Asp Cys Asn Gly Gln Met Val
 1220 1225 1230
 Ala Leu Pro Ser Glu Phe Phe Leu Arg Ile Asp Ser His Lys Glu Asp
 1235 1240 1245
 Ala Ala Glu Phe Asp Asp Asp Ile Glu Asp Ser Cys Cys Phe Arg Leu
 1250 1255 1260
 His Lys Val Leu Glu Pro Tyr Ala Pro Gln Trp Cys Arg Ser Arg Glu
 1265 1270 1275 1280
 Ser Trp Ala Leu Tyr Leu Phe Pro Pro Gln Asn Arg Leu Arg Val Ser
 1285 1290 1295

Cys Gln Lys Val Ile Ala His Lys Met Phe Asp His Val Val Leu Val
 1300 1305 1310
 Phe Ile Phe Leu Asn Cys Ile Thr Ile Ala Leu Glu Arg Pro Asp Ile
 1315 1320 1325
 Asp Pro Gly Ser Thr Glu Arg Ala Phe Leu Ser Val Ser Asn Tyr Ile
 1330 1335 1340
 Phe Thr Ala Ile Phe Val Val Glu Met Met Val Lys Val Val Ala Leu
 1345 1350 1355 1360
 Gly Leu Leu Trp Gly Glu His Ala Tyr Leu Gln Ser Ser Trp Asn Val
 1365 1370 1375
 Leu Asp Gly Leu Leu Val Leu Val Ser Leu Val Asp Ile Ile Val Ala
 1380 1385 1390
 Met Ala Ser Ala Gly Gly Ala Lys Ile Leu Gly Val Leu Arg Val Val
 1395 1400 1405
 Arg Leu Leu Arg Thr Leu Arg Pro Leu Arg Val Ile Ser Arg Ala Pro
 1410 1415 1420
 Gly Leu Lys Leu Val Val Glu Thr Leu Ile Ser Ser Leu Arg Pro Ile
 1425 1430 1435 1440
 Gly Asn Ile Val Leu Ile Cys Cys Ala Phe Phe Ile Ile Phe Gly Ile
 1445 1450 1455
 Leu Gly Val Gln Leu Phe Lys Gly Lys Phe Tyr Tyr Cys Glu Gly Thr
 1460 1465 1470
 Asp Thr Arg Asn Ile Thr Thr Lys Ala Glu Cys His Ala Ala His Tyr
 1475 1480 1485
 Arg Trp Val Arg Arg Lys Tyr Asn Phe Asp Asn Leu Gly Gln Ala Leu
 1490 1495 1500
 Met Ser Leu Phe Val Leu Ser Ser Lys Asp Gly Trp Val Asn Ile Met
 1505 1510 1515 1520
 Tyr Asp Gly Leu Asp Ala Val Gly Ile Asp Gln Gln Pro Val Gln Asn
 1525 1530 1535
 His Asn Pro Trp Met Leu Leu Tyr Phe Ile Ser Phe Leu Leu Ile Val
 1540 1545 1550

Ser Phe Phe Val Leu Asn Met Phe Val Gly Val Val Val Glu Asn Phe
 1555 1560 1565
 His Lys Cys Arg Gln His Gln Glu Ala Glu Glu Ala Arg Arg Arg Glu
 1570 1575 1580
 Glu Lys Arg Leu Arg Arg Leu Glu Arg Arg Arg Arg Lys Ala Gln Arg
 1585 1590 1595 1600
 Arg Pro Tyr Tyr Ala Asp Tyr Ser His Thr Arg Arg Ser Ile His Ser
 1605 1610 1615
 Leu Cys Thr Ser His Tyr Leu Asp Leu Phe Ile Thr Phe Ile Ile Cys
 1620 1625 1630
 Leu Asn Val Ile Thr Met Ser Met Glu His Tyr Asn Gln Pro Lys Ser
 1635 1640 1645
 Leu Asp Glu Ala Leu Lys Tyr Cys Asn Tyr Val Phe Thr Ile Val Phe
 1650 1655 1660
 Val Phe Glu Ala Ala Leu Lys Leu Val Ala Phe Gly Phe Arg Arg Phe
 1665 1670 1675 1680
 Phe Lys Asp Arg Trp Asn Gln Leu Asp Leu Ala Ile Val Leu Leu Ser
 1685 1690 1695
 Ile Met Gly Ile Ala Leu Glu Glu Ile Glu Met Asn Ala Ala Leu Pro
 1700 1705 1710
 Ile Asn Pro Thr Ile Ile Arg Ile Met Arg Val Leu Arg Ile Ala Arg
 1715 1720 1725
 Val Leu Lys Leu Leu Lys Met Ala Thr Gly Met Arg Ala Leu Leu Asp
 1730 1735 1740
 Thr Val Val Gln Ala Leu Pro Gln Val Gly Asn Leu Gly Leu Leu Phe
 1745 1750 1755 1760
 Met Leu Leu Phe Phe Ile Tyr Ala Ala Leu Gly Val Glu Leu Phe Gly
 1765 1770 1775
 Arg Leu Glu Cys Ser Glu Asp Asn Pro Cys Glu Gly Leu Ser Arg His
 1780 1785 1790
 Ala Thr Phe Thr Asn Phe Gly Met Ala Phe Leu Thr Leu Phe Arg Val
 1795 1800 1805

Ser Thr Gly Asp Asn Trp Asn Gly Ile Met Lys Asp Thr Leu Arg Glu
 1810 1815 1820
 Cys Thr Arg Glu Asp Lys His Cys Leu Ser Tyr Leu Pro Ala Leu Ser
 1825 1830 1835 1840
 Pro Val Tyr Phe Val Thr Phe Met Leu Val Ala Gln Phe Val Leu Val
 1845 1850 1855
 Asn Val Val Val Ala Val Leu Met Lys His Leu Glu Glu Ser Asn Lys
 1860 1865 1870
 Glu Ala Arg Glu Asp Ala Glu Met Asp Ala Glu Ile Glu Leu Glu Met
 1875 1880 1885
 Ala Gln Gly Ser Thr Ala Gln Pro Pro Pro Thr Ala Gln Glu Ser Gln
 1890 1895 1900
 Gly Thr Gln Pro Asp Thr Pro Asn Leu Leu Val Val Arg Lys Val Ser
 1905 1910 1915 1920
 Val Ser Arg Met Leu Ser Leu Pro Asn Asp Ser Tyr Met Phe Arg Pro
 1925 1930 1935
 Val Ala Pro Ala Ala Ala Pro His Ser His Pro Leu Gln Glu Val Glu
 1940 1945 1950
 Met Glu Thr Tyr Thr Gly Pro Val Thr Ser Ala His Ser Pro Pro Leu
 1955 1960 1965
 Glu Pro Arg Ala Ser Phe Gln Val Pro Ser Ala Ala Ser Ser Pro Ala
 1970 1975 1980
 Arg Val Ser Asp Pro Leu Cys Ala Leu Ser Pro Arg Gly Thr Pro Arg
 1985 1990 1995 2000
 Ser Leu Ser Leu Ser Arg Ile Leu Cys Arg Gln Glu Ala Met His Ser
 2005 2010 2015
 Glu Ser Leu Glu Gly Lys Val Asp Asp Val Gly Gly Asp Ser Ile Pro
 2020 2025 2030
 Asp Tyr Thr Glu Pro Ala Glu Asn Met Ser Thr Ser Gln Ala Ser Thr
 2035 2040 2045
 Gly Ala Pro Arg Ser Pro Pro Cys Ser Pro Arg Pro Ala Ser Val Arg
 2050 2055 2060

Thr Arg Lys His Thr Phe Gly Gln Arg Cys Ile Ser Ser Arg Pro Pro
 2065 2070 2075 2080
 Thr Leu Gly Gly Asp Glu Ala Glu Ala Ala Asp Pro Ala Asp Glu Glu
 2085 2090 2095
 Val Ser His Ile Thr Ser Ser Ala His Pro Trp Pro Ala Thr Glu Pro
 2100 2105 2110
 His Ser Pro Glu Ala Ser Pro Thr Ala Ser Pro Val Lys Gly Thr Met
 2115 2120 2125
 Gly Ser Gly Arg Asp Pro Arg Arg Phe Cys Ser Val Asp Ala Gln Ser
 2130 2135 2140
 Phe Leu Asp Lys Pro Gly Arg Pro Asp Ala Gln Arg Trp Ser Ser Val
 2145 2150 2155 2160
 Glu Leu Asp Asn Gly Glu Ser His Leu Glu Ser Gly Glu Val Arg Gly
 2165 2170 2175
 Arg Ala Ser Glu Leu Glu Pro Ala Leu Gly Ser Arg Arg Lys Lys Lys
 2180 2185 2190
 Met Ser Pro Pro Cys Ile Ser Ile Glu Pro Pro Thr Lys Asp Glu Gly
 2195 2200 2205
 Ser Ser Arg Pro Pro Ala Ala Glu Gly Gly Asn Thr Thr Leu Arg Arg
 2210 2215 2220
 Arg Thr Pro Ser Cys Glu Ala Ala Leu His Arg Asp Cys Pro Glu Pro
 2225 2230 2235 2240
 Thr Glu Gly Pro Gly Thr Gly Gly Asp Pro Val Ala Lys Gly Glu Arg
 2245 2250 2255
 Trp Gly Gln Ala Ser Cys Arg Ala Glu His Leu Thr Val Pro Asn Phe
 2260 2265 2270
 Ala Phe Glu Pro Leu Asp Met Gly Gly Pro Gly Gly Asp Cys Phe Leu
 2275 2280 2285
 Asp Ser Asp Gln Ser Val Thr Pro Glu Pro Arg Val Ser Ser Leu Gly
 2290 2295 2300
 Ala Ile Val Pro Leu Ile Leu Glu Thr Glu Leu Ser Met Pro Ser Pro
 2305 2310 2315 2320

Asp Cys Pro Glu Lys Glu Gln Gly Leu Tyr Leu Thr Val Pro Gln Thr
 2325 2330 2335

Pro Leu Lys Lys Pro Gly Ser Thr Pro Ala Thr Pro Ala Pro Asp Asp
 2340 2345 2350

Ser Gly Asp Glu Pro Val Glx
 2355

<210> 27
 <211> 5735
 <212> DNA
 <213> rat

<400> 27
 ccggcttcgg cgcggtgccc ggccaacgtcc atgccaaaggg ctccctgctc cacgctgaca 60
 tggctgacag caacttaccg cctcatctg cagcagcccc ggcccccgag ccgggaatca 120
 ctgagcagcc ggggccccgg agtccccctc catccccctc aggcctggag gagecattgg 180
 aaggaaacaa cctgacgtc ccacatccag acctggctcc tgttgcttcc ttctgcctgc 240
 gccagaccac gagcccacgg aactggtgca tcaagatggg ttgtaaccgg tggttcgagt 300
 gtgtgagcat gctggttatt ctgctgaact gtgtgacct gggcatgtac cagccatgtg 360
 atgacatgga gtgcctgtcg gaccgttgca agatcctgca ggtcttcgat gacttcatct 420
 tcatcttctt tgcctaggag atgggtgctta agatgggtggc cctgggcatt ttggcaaga 480
 agtgcctacct cggagacaca tggaaaccgc tggatttctt cattgtcatg gcagggatgg 540
 ttgagtactc tctggacctc cagaacatca acctgtcagc catccgcact gtgcctgtgc 600
 tgaggcctct caaagccatc aaccgtgtac ccagcctgcg gatcctggtg aacctgctgc 660
 tcgacacgct gcccatgctg gggaacgtgc tctgtctctg ttctctcgtc ttcttcatct 720
 tggcatcat tggcgtgag ctctgggag gcctgctacg gaaccgctgc ttctggaag 780
 aaaacttca catacaagg gatgtggccc tgccccctta ttaccaacca gaggaggatg 840
 acgagatgcc ctttatctgc tccctgactg gggacaatgg catcatgggc tgccacgaga 900
 tccccact gaaggagcag ggccgggaag tctgcctgtc caaagatgat gtgtatgact 960
 tggggcggg gcgccaggac ctcaacgcca gcggtctgtg cgtcaactgg aaccgctact 1020
 acaacgtctg ccgcacgggc aacgccaaac ctcaacaagg ccgatcaac ttgacaaca 1080
 ttggctatgc ctggattgtg attttccagg tgatcactct ggaaggctgg gtggagatca 1140
 tgtactatgt gatggacgca cattcttctt acaacttcat tctgtctcat atagtggct 1200
 ccttcttcat gatcaacttg tgcctcgttc tcatagcaac ccagttctct gagaccaagc 1260
 aacggaacca ccggctgatg ctggagcaac gccagcgtca cctgtcctcc agcacgggtg 1320
 ccagttacgc tgagccccgt gattgctatg aggagatctt ccaatatgtc tgtcacatcc 1380
 ttcgcaaaag caagcgcgt gccctaggcc tctaccaggc cctgcagaac cggcgccagg 1440
 ccattggccc ggggacacca gccctgcca agcctgggcc ccatgccaag gagcccagcc 1500
 actcgaagct gtgcccacga cacagcccc tggaccccc tccccacaca ctggtgcagc 1560
 ccattctgcc cattctggcc tcttacccca gcagctgccc tcaactgccag cacgaggcag 1620
 gcaggcggcc ctctggcctg ggcagcactg actcaggcca ggaaggctca ggttctgggt 1680
 gctctgcaga ggccgaagcc aatggggatg gactccagag cagagaggat ggggtctcct 1740
 cggacctggg gaaggaggag gaacaggagg acggggcagc ccgactgtgt ggggatgtat 1800
 ggcgcgagac acgaaaaag ctgcggggca tcgtggacag caagtacttc aacagaggtt 1860
 tcatgatggc tatcctggtg aacacagtca gcatgggcat cgagcaccac gaacagcccg 1920

aggagctgac	caacatcctg	gagatctgca	atgtggtctt	caccagtatg	tttgcctggg	1980
agatgatcct	gaaactggcc	gcctttgggc	tcttcgacta	cctgcggaac	ccttacaaca	2040
tctttgacag	catcatcgtc	atcatcagca	tctgggaaat	cgtggggcag	goggacagtg	2100
gctgtctgtg	gctgcgcact	tcccggttgc	tgcggtgct	gaagctagtg	cgcttcatgc	2160
cgggcgtgvg	ccagctcgtg	gtgctcatga	agaccatgga	caacgtggcc	accttctgca	2220
tgctactcat	gctgttcac	ttcatcttca	gcacccctgg	gatcgatata	tttggctgca	2280
aattcagcct	ccgcacggac	acgggagaca	ccgttcctga	caggaagaac	ttcgattcct	2340
tactgtgggc	catcgtcaca	gtgttccaga	tcctcactca	ggaggactgg	aacgttgtcc	2400
tgtacaatgg	catggcctcc	accacccctt	gggcctccct	ctattttggt	gocctcatga	2460
cctttggcaa	ctacgttctc	ttcaatctcc	tggtggctat	cctggtagag	ggtttccagg	2520
ctgagggtga	tgctaactgt	tcctactctg	atgaggacca	gagctcatcc	aatttagagt	2580
agttagacaa	gctcccagag	ggcctggaca	acaggagaga	tctcaagctc	tgcccataac	2640
ccatgacacc	caatggacac	ctggacccta	gcctccctct	gggtgcgcat	ctgggtcctg	2700
ctggtaaccat	gggtactgcc	ccccgcctct	cactgcagcc	agaccocgta	ctgggtggcc	2760
gggactctcg	gaaaagcagt	tactggctcc	tgggcaggat	gagctatgat	cagcctatcc	2820
tgtccagctc	ccggagctcc	tactacggcc	ctgggggocg	cagtgggacc	tgggctagcc	2880
gcgcctccag	ctggaacagc	ctgaaacaca	agccgcctcc	agctgagcat	gagctcttac	2940
tgctctggga	gggtggaggt	agctgcgtca	gggcctgtga	agggcccccg	gaggaggcgc	3000
caaccaagat	cgcaaccctg	catgctccac	accgcaacca	cgccgaccat	ggaccctacc	3060
tggcacaccg	tcaccgacac	caccgcggga	ctctgtccct	cgataccagg	gactctgttg	3120
acctgggaga	gcttgggtccc	gtgggtgggtg	cccactcacg	ggccgcttgg	aggggggocg	3180
gtcaggcccc	tgggcaagag	gactgcaatg	gcagaatgcr	caacatggcc	aaggatgtct	3240
tcaccaagat	ggatgaccgc	cgccgacggc	gggaggacga	ggaggagatc	gactataccc	3300
tgtgttcccg	ggtccgcaag	atgatttgc	gtgtgtacaa	gccggactgg	tgcgaagtcc	3360
gcgaggactg	gtcggcttac	ctcttctccc	ccgagaacaa	gttccggatc	ctgtgtcaga	3420
ctatcattgc	tcacaagctt	tttgactacg	tggtcttggc	ctttatcttc	ctcaactgta	3480
tcaccattgc	tctggagaga	cccagatttg	aaegtggtag	cactgagcgc	atcttctcca	3540
cggtgtctaa	ctacatcttc	acagccatct	tcgtgggcca	gatgacactg	aagggtggtt	3600
ctctgggcct	gtactttggt	gagcaaggct	acctgcgtac	ggactgggat	gtactggatg	3660
gtttccctgg	ctttgtgtcc	atcatcagata	tcgtagtgtc	cgtggcctct	gctgggggag	3720
ccaagattct	gggggtcctg	cggtcctctg	gtaccttacg	tcctttgaga	gttatcagcc	3780
gggcccctgg	gctgaagctg	gtggtagaga	cgctcatctc	ctccctcaag	cccattggga	3840
acatcgtcct	catctgctgt	gccttcttca	tcactctcgg	catcctgggg	gtgcagcttt	3900
tcaaaggcaa	gttctaccat	tgtttgggag	tggacaccgg	aaacatcacc	aaccgatctg	3960
actgcgtggc	ggccaactac	cgctgggtgc	atcacaataa	caactttgac	aacctgggcc	4020
aggcattgat	gtccctcttt	gtcttggcct	ccaaggacgg	ctgggtgaac	atcatgtata	4080
atggattaga	tgctgttgtc	gtggaccagc	agcccgtagc	gaaccacaac	ccctggatgc	4140
tactgtactt	catttcgttc	ctgetcatcg	tcagcttctt	tgtgctcaac	atgtttgtgg	4200
gcgtggtcgt	ggagaacttc	cacaagtgcc	ggcagcacca	ggaggctgag	gaggcgcgga	4260
ggcgtgagga	gaaacggctg	cgggcctctg	aaaagaagcg	ccgttacgct	cagaggctgc	4320
cctactatgc	tacctactgt	cccacaaggc	tgctcatcca	ctccatgtgc	accagccact	4380
acctggacat	cttcattacc	ttcatcatct	gcctcaatgt	tgtcaccatg	tcctgggagc	4440
actacaacca	gcctacatcc	ctagagacag	cccttaagta	ctgcaactac	atgttcacca	4500
ctgtgtttgt	gctggaggct	gtgctgaagc	tggtggcatt	tggcctgagg	cgtttcttca	4560
aggaccgatg	gaaccagctg	gacctggcca	ttgtgctgct	gtccgctcatg	ggcatcacac	4620
tggaggagat	cgagatcaat	gccgcctctc	ccatcaaccc	caccatcatc	cgtatcatgc	4680
gtgttctgcg	tatcgcccg	gtgttgaagc	tattgaagat	ggccacagga	atggggcccc	4740
tgtcggacac	agtggtagac	gctctgcccc	aggtgggcaa	cctgggcctg	ctcttcatgc	4800

```

tgctcttctt catctatgct gctctgggag tggagctctt cggaaagctg gtctgcaatg 4860
acgagaaccc gtgtgagggg atgagccggc acgccacctt tgaaaactct gctagggcct 4920
tctcagcgt cttccagggt tccacaggcg ataactggaa tggaaattatg aaggacacce 4980
tgcgagactg taccatgat gagcgcacgt gcctaagcag cctgcagttt gtgtcaccgc 5040
tctactttgt gagctctgtg ctcacagctc agttcgtgct catcaacgtg gtggtggccg 5100
tgctgatgaa acatctggat gacagcaaca aggaggccca ggaggatgca gagatggatg 5160
ctgagatcga gctggagatg gcccatggct cgggccctg ccttggcccc tgccttggtc 5220
cctgccccgt cccctgcccc tgccccgtt ctggcccgag gtgcccacta gttacctggg 5280
gctcgggggc gatggatcgg gaggggcagg tgctggaggc acaccgagag tcacctgtgc 5340
gcactgctat caggtgctgg acaccgagag tcacctgtgc cggcactgct attctccagc 5400
ccaggagacc ctgtggctgg acagggctct tttaatcacc aaggactcct tggaggggga 5460
gctgaccatc attgacaacc tgtctgggtc cgtcttccac cactacgcct cactgacggc 5520
tgtggcaagt gtcaccatga caagcaagag gtgcagctgg ctgagacaga ggccttctcc 5580
ctgaaactcag acaggtcttc atccatcctg ctgggggatg acctgagtct tgaggacccc 5640
acggcctcgc acagggcccc aaaggagagc aagggtgaac aataaagagc ctccggagcc 5700
catgcaggct ggagacctgg atgaatgcaa aaaaa 5735

```

<210> 28

<211> 1792

<212> PRT

<213> rat

<400> 28

```

Met Ala Asp Ser Asn Leu Pro Pro Ser Ser Ala Ala Ala Pro Ala Pro
  1                      5                      10                      15

Glu Pro Gly Ile Thr Glu Gln Pro Gly Pro Arg Ser Pro Pro Pro Ser
                20                      25                      30

Pro Pro Gly Leu Glu Glu Pro Leu Glu Gly Thr Asn Pro Asp Val Pro
  35                      40                      45

His Pro Asp Leu Ala Pro Val Ala Phe Phe Cys Leu Arg Gln Thr Thr
  50                      55                      60

Ser Pro Arg Asn Trp Cys Ile Lys Met Val Cys Asn Pro Trp Phe Glu
  65                      70                      75                      80

Cys Val Ser Met Leu Val Ile Leu Leu Asn Cys Val Thr Leu Gly Met
                85                      90                      95

Tyr Gln Pro Cys Asp Asp Met Glu Cys Leu Ser Asp Arg Cys Lys Ile
  100                      105                      110

Leu Gln Val Phe Asp Asp Phe Ile Phe Ile Phe Phe Ala Met Glu Met
  115                      120                      125

Val Leu Lys Met Val Ala Leu Gly Ile Phe Gly Lys Lys Cys Tyr Leu

```

130				135				140							
Gly	Asp	Thr	Trp	Asn	Arg	Leu	Asp	Phe	Phe	Ile	Val	Met	Ala	Gly	Met
145					150					155					160
Val	Glu	Tyr	Ser	Leu	Asp	Leu	Gln	Asn	Ile	Asn	Leu	Ser	Ala	Ile	Arg
				165						170				175	
Thr	Val	Arg	Val	Leu	Arg	Pro	Leu	Lys	Ala	Ile	Asn	Arg	Val	Pro	Ser
			180					185					190		
Leu	Arg	Ile	Leu	Val	Asn	Leu	Leu	Leu	Asp	Thr	Leu	Pro	Met	Leu	Gly
		195					200					205			
Asn	Val	Leu	Leu	Leu	Cys	Phe	Phe	Val	Phe	Phe	Ile	Phe	Gly	Ile	Ile
	210					215					220				
Gly	Val	Gln	Leu	Trp	Ala	Gly	Leu	Leu	Arg	Asn	Arg	Cys	Phe	Leu	Glu
225				230						235					240
Glu	Asn	Phe	Thr	Ile	Gln	Gly	Asp	Val	Ala	Leu	Pro	Pro	Tyr	Tyr	Gln
				245					250					255	
Pro	Glu	Glu	Asp	Asp	Glu	Met	Pro	Phe	Ile	Cys	Ser	Leu	Thr	Gly	Asp
			260					265					270		
Asn	Gly	Ile	Met	Gly	Cys	His	Glu	Ile	Pro	Pro	Leu	Lys	Glu	Gln	Gly
		275					280					285			
Arg	Glu	Val	Cys	Leu	Ser	Lys	Asp	Asp	Val	Tyr	Asp	Phe	Gly	Ala	Gly
	290					295					300				
Arg	Gln	Asp	Leu	Asn	Ala	Ser	Gly	Leu	Cys	Val	Asn	Trp	Asn	Arg	Tyr
305					310					315					320
Tyr	Asn	Val	Cys	Arg	Thr	Gly	Asn	Ala	Asn	Pro	His	Lys	Gly	Ala	Ile
				325					330					335	
Asn	Phe	Asp	Asn	Ile	Gly	Tyr	Ala	Trp	Ile	Val	Ile	Phe	Gln	Val	Ile
			340					345					350		
Thr	Leu	Glu	Gly	Trp	Val	Glu	Ile	Met	Tyr	Tyr	Val	Met	Asp	Ala	His
		355					360					365			
Ser	Phe	Tyr	Asn	Phe	Ile	Leu	Leu	Ile	Ile	Val	Gly	Ser	Phe	Phe	Met
	370					375					380				
Ile	Asn	Leu	Cys	Leu	Val	Leu	Ile	Ala	Thr	Gln	Phe	Ser	Glu	Thr	Lys

645					650					655					
Asn	Pro	Tyr	Asn	Ile	Phe	Asp	Ser	Ile	Ile	Val	Ile	Ile	Ser	Ile	Trp
			660					665					670		
Glu	Ile	Val	Gly	Gln	Ala	Asp	Ser	Gly	Leu	Ser	Val	Leu	Arg	Thr	Ser
		675					680					685			
Arg	Leu	Leu	Arg	Val	Leu	Lys	Leu	Val	Arg	Phe	Met	Pro	Ala	Leu	Arg
	690					695					700				
Gln	Leu	Val	Val	Leu	Met	Lys	Thr	Met	Asp	Asn	Val	Ala	Thr	Phe	Cys
705					710					715					720
Met	Leu	Leu	Met	Leu	Phe	Ile	Phe	Ile	Phe	Ser	Ile	Leu	Gly	Ile	Asp
				725					730					735	
Ile	Phe	Gly	Cys	Lys	Phe	Ser	Leu	Arg	Thr	Asp	Thr	Gly	Asp	Thr	Val
			740					745					750		
Pro	Asp	Arg	Lys	Asn	Phe	Asp	Ser	Leu	Leu	Trp	Ala	Ile	Val	Thr	Val
		755					760					765			
Phe	Gln	Ile	Leu	Thr	Gln	Glu	Asp	Trp	Asn	Val	Val	Leu	Tyr	Asn	Gly
	770					775					780				
Met	Ala	Ser	Thr	Thr	Pro	Trp	Ala	Ser	Leu	Tyr	Phe	Val	Ala	Leu	Met
785					790					795					800
Thr	Phe	Gly	Asn	Tyr	Val	Leu	Phe	Asn	Leu	Leu	Val	Ala	Ile	Leu	Val
				805					810					815	
Glu	Gly	Phe	Gln	Ala	Glu	Gly	Asp	Ala	Asn	Arg	Ser	Tyr	Ser	Asp	Glu
			820					825					830		
Asp	Gln	Ser	Ser	Ser	Asn	Leu	Glu	Glu	Leu	Asp	Lys	Leu	Pro	Glu	Gly
	835						840					845			
Leu	Asp	Asn	Arg	Arg	Asp	Leu	Lys	Leu	Cys	Pro	Ile	Pro	Met	Thr	Pro
	850						855				860				
Asn	Gly	His	Leu	Asp	Pro	Ser	Leu	Pro	Leu	Gly	Ala	His	Leu	Gly	Pro
865					870					875					880
Ala	Gly	Thr	Met	Gly	Thr	Ala	Pro	Arg	Leu	Ser	Leu	Gln	Pro	Asp	Pro
				885					890					895	
Val	Leu	Val	Ala	Arg	Asp	Ser	Arg	Lys	Ser	Ser	Tyr	Trp	Ser	Leu	Gly

900					905					910						
Arg	Met	Ser	Tyr	Asp	Gln	Arg	Ser	Leu	Ser	Ser	Ser	Ser	Arg	Ser	Ser	Tyr
		915					920						925			
Tyr	Gly	Pro	Gly	Gly	Arg	Ser	Gly	Thr	Trp	Ala	Ser	Arg	Arg	Ser	Ser	
	930						935					940				
Trp	Asn	Ser	Leu	Lys	His	Lys	Pro	Pro	Ser	Ala	Glu	His	Glu	Ser	Leu	
945						950					955				960	
Leu	Ser	Gly	Glu	Gly	Gly	Gly	Ser	Cys	Val	Arg	Ala	Cys	Glu	Gly	Ala	
				965					970					975		
Arg	Glu	Glu	Ala	Pro	Thr	Arg	Thr	Ala	Pro	Leu	His	Ala	Pro	His	Arg	
			980					985					990			
His	His	Ala	His	His	Gly	Pro	His	Leu	Ala	His	Arg	His	Arg	His	His	
		995					1000					1005				
Arg	Arg	Thr	Leu	Ser	Leu	Asp	Thr	Arg	Asp	Ser	Val	Asp	Leu	Gly	Glu	
		1010					1015					1020				
Leu	Val	Pro	Val	Val	Gly	Ala	His	Ser	Arg	Ala	Ala	Trp	Arg	Gly	Ala	
1025						1030					1035				1040	
Gly	Gln	Ala	Pro	Gly	His	Glu	Asp	Cys	Asn	Gly	Arg	Met	Pro	Asn	Met	
				1045					1050					1055		
Ala	Lys	Asp	Val	Phe	Thr	Lys	Met	Asp	Asp	Arg	Arg	Asp	Arg	Gly	Glu	
			1060					1065					1070			
Asp	Glu	Glu	Glu	Ile	Asp	Tyr	Thr	Leu	Cys	Phe	Arg	Val	Arg	Lys	Met	
		1075					1080					1085				
Ile	Cys	Cys	Val	Tyr	Lys	Pro	Asp	Trp	Cys	Glu	Val	Arg	Glu	Asp	Trp	
		1090					1095					1100				
Ser	Val	Tyr	Leu	Phe	Ser	Pro	Glu	Asn	Lys	Phe	Arg	Ile	Leu	Cys	Gln	
1105						1110					1115				1120	
Thr	Ile	Ile	Ala	His	Lys	Leu	Phe	Asp	Tyr	Val	Val	Leu	Ala	Phe	Ile	
				1125					1130					1135		
Phe	Leu	Asn	Cys	Ile	Thr	Ile	Ala	Leu	Glu	Arg	Pro	Gln	Ile	Glu	Ala	
			1140					1145					1150			
Gly	Ser	Thr	Glu	Arg	Ile	Phe	Leu	Thr	Val	Ser	Asn	Tyr	Ile	Phe	Thr	

1155	1160	1165
Ala Ile Phe Val Gly Glu Met Thr Leu Lys Val Val Ser Leu Gly Leu 1170	1175	1180
Tyr Phe Gly Glu Gln Ala Tyr Leu Arg Thr Asp Trp Asn Val Leu Asp 1185	1190	1195
Gly Phe Leu Val Phe Val Ser Ile Ile Asp Ile Val Val Ser Val Ala 1205	1210	1215
Ser Ala Gly Gly Ala Lys Ile Leu Gly Val Leu Arg Leu Leu Arg Thr 1220	1225	1230
Leu Arg Pro Leu Arg Val Ile Ser Arg Ala Pro Gly Leu Lys Leu Val 1235	1240	1245
Val Glu Thr Leu Ile Ser Ser Leu Lys Pro Ile Gly Asn Ile Val Leu 1250	1255	1260
Ile Cys Cys Ala Phe Phe Ile Ile Phe Gly Ile Leu Gly Val Gln Leu 1265	1270	1275
Phe Lys Gly Lys Phe Tyr His Cys Leu Gly Val Asp Thr Arg Asn Ile 1285	1290	1295
Thr Asn Arg Ser Asp Cys Val Ala Ala Asn Tyr Arg Trp Val His His 1300	1305	1310
Lys Tyr Asn Phe Asp Asn Leu Gly Gln Ala Leu Met Ser Leu Phe Val 1315	1320	1325
Leu Ala Ser Lys Asp Gly Trp Val Asn Ile Met Tyr Asn Gly Leu Asp 1330	1335	1340
Ala Val Ala Val Asp Gln Gln Pro Val Thr Asn His Asn Pro Trp Met 1345	1350	1355
Leu Leu Tyr Phe Ile Ser Phe Leu Leu Ile Val Ser Phe Phe Val Leu 1365	1370	1375
Asn Met Phe Val Gly Val Val Val Glu Asn Phe His Lys Cys Arg Gln 1380	1385	1390
His Gln Glu Ala Glu Glu Ala Arg Arg Arg Glu Glu Lys Arg Leu Arg 1395	1400	1405
Arg Leu Glu Lys Lys Arg Arg Tyr Ala Gln Arg Leu Pro Tyr Tyr Ala		

1410	1415	1420
Thr Tyr Cys Pro Thr Arg 1425	Leu Leu Ile His Ser Met Cys Thr Ser His 1430	1435
Tyr Leu Asp Ile Phe Ile 1445	Thr Phe Ile Ile Cys Leu Asn Val Val Thr 1450	1455
Met Ser Leu Glu His Tyr 1460	Asn Gln Pro Thr Ser Leu Glu Thr Ala Leu 1465	1470
Lys Tyr Cys Asn Tyr Met 1475	Phe Thr Thr Val Phe Val Leu Glu Ala Val 1480	1485
Leu Lys Leu Val Ala Phe Gly 1490	Leu Arg Arg Phe Phe Lys Asp Arg Trp 1495	1500
Asn Gln Leu Asp Leu Ala Ile 1505	Val Leu Leu Ser Val Met Gly Ile Thr 1510	1515
Leu Glu Glu Ile Glu Ile 1525	Asn Ala Ala Leu Pro Ile Asn Pro Thr Ile 1530	1535
Ile Arg Ile Met Arg Val 1540	Leu Arg Ile Ala Arg Val Leu Lys Leu Leu 1545	1550
Lys Met Ala Thr Gly Met 1555	Arg Ala Leu Leu Asp Thr Val Val Gln Ala 1560	1565
Leu Pro Gln Val Gly Asn 1570	Leu Gly Leu Leu Phe Met Leu Leu Phe Phe 1575	1580
Ile Tyr Ala Ala Leu Gly 1585	Val Glu Leu Phe Gly Lys Leu Val Cys Asn 1590	1595
Asp Glu Asn Pro Cys Glu Gly 1605	Met Ser Arg His Ala Thr Phe Glu Asn 1610	1615
Ser Ala Arg Ala Phe Leu 1620	Thr Leu Phe Gln Val Ser Thr Gly Asp Asn 1625	1630
Trp Asn Gly Ile Met Lys 1635	Asp Thr Leu Arg Asp Cys Thr His Asp Glu 1640	1645
Arg Thr Cys Leu Ser Ser 1650	Leu Gln Phe Val Ser Pro Leu Tyr Phe Val 1655	1660
Ser Phe Val Leu Thr Ala 1665	Gln Phe Val Leu Ile Asn Val Val Val Ala 1670	


```

<400> 30
gtgaggggga gccggccggc tggccccgga agccccaggg gcgcagggga agcgggactc 60
gcgccgggcg ggggtttccct gcgcccgggc gcccgcgggg cagcatgccc ctgcccggcag 120
ggggagctgg gctgaactgg cctcccggg ggcctcagctt gcgccctaga gccaccaga 180
tgtgcccccg ccggggcccc cgggttgcgt gaggacacct cctctgaggg gcgccgcttg 240
cccctctccg gatcgcgccg ggccccggct ggccagagga tggacgagga ggaggatgga 300
gcgggcggcg aggagtcggg acagccccgg agcttcctgc ggctcaacga cctgtcgggg 360
gccggggggc gccggggggc ggggtcagca gaaaaggacc cgggcagcgc ggaactccag 420
gcggaggggg tgccgtaccg ggcgctggcc ccggtggttt tcttctactt gagccagcac 480
agccgcccgc ggagctggtg tctccgcacg gtctgtaacc cctggtttga gcgcatcagc 540
atggttggtc tcttctcaa ctgcgtgacc ctgggcatgt tccggccatg cgaggacatc 600
gcctgtgact ccacgctcg ccggatcctg caggcctttg atgacttcat ctttgccttc 660
tttgccgtgg agatgggtgg gaagatgggt gccttgggca tctttgggaa aaagtgttac 720
ctgggagaca cttggaaccg gcttgacttt ttcactgta tcgcagggat gctggagtac 780
tcgctgggac tgcagaacgt cagcttctca gctgtcagga cagtccgtgt gctgcgaccg 840
ctcagggcca ttaaccgggt gccacgcatg cgcactcctg tcacgttgot gctggatagc 900
ctgcccacgc tgggcaacgt cctgctgctc tgcttctctg tcttctctcat cttcggcacc 960
gtcggcgctc agctgtgggc agggctgctt oggaaocgat gcttctacc tgagaatttc 1020
agcctccccc tgagcgtgga cctggagcgc tattaccaga cagagaacga ggatgagagc 1080
cccttcatct gctcccagcc acgcgagaac ggcatgcggt cctgcagaag cgtgccaccg 1140
ctgcgcgggg acggggggcg tggcccacct tgcggctctg actatgaggg ctacaacagc 1200
tccagcaaca ccacctgtgt caactggaac cagtactaca ccaactgctc agcggggggag 1260
cacaaccccc tcaaggcgc catcaacttt gacaacattg gctatgctcg gatcggcacc 1320
ttccaggtca tcacgctgga gggctgggtc gacatcatgt acttttgtat ggatgctcat 1380
tcttctaca atttcatcta ctctcatcct ctcactatcg tgggctcctt ctctcatgac 1440
aacctgtgcc tgggtggtgat tgccacgcag ttctcagaga ccaagcagcg ggaagccag 1500
ctgatcgggg agcagcgtgt gcggttctcg tccaacgcca gcacctggc tagcttctct 1560
gagcccggca gctgctatga ggagctgctc aagtacctgg tgtacatcct tcgtaaggca 1620
gcccgcaggg tggctcaggt ctctcgggca gcaggtgtgc gggttgggct gctcagcagc 1680
ccagcaccoc tcggggggcca ggagaccocag ccacgagca gctgctctcg ctcccaccgc 1740
cgcctatccg tccaccacct ggtgcaccac caccaccacc atcaccacca ctaccacctg 1800
ggcaatggga cgtcagggc cccccgggc agcccggaga tccaggacag ggatgccaat 1860
gggtccccgc ggtcctatgt gccaccacc ctagcgcctg ccctctccgg ggccccccct 1920
ggtggcgcag agtctgtgca cagcttctac catgcccact gccacttaga gccagtcacc 1980
tgccagggcg cccctcccag gtcccactct gaggcatccg gcaggactgt gggcagcggg 2040
aagggtgtat ccacctgca caccagccct ccaccggaga cgctgaagga gaaggcacta 2100
gtagaggtgg ctgcccagctc tgggccccca accctcacca gcctcaacat cccaccgggg 2160
ccctacagct ccattgcacaa gctgctggag acacagagta cagggtgctg cc 2212

```

```

<210> 31
<211> 644
<212> PRT
<213> HUMAN

```

```

<400> 31
Met Asp Glu Glu Glu Asp Gly Ala Gly Ala Glu Glu Ser Gly Gln Pro
1 5 10 15

```

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

Gln Pro Arg Glu Asn Gly Met Arg Ser Cys Arg Ser Val Pro Thr Leu
 275 280 285
 Arg Gly Asp Gly Gly Gly Gly Pro Pro Cys Gly Leu Asp Tyr Glu Ala
 290 295 300
 Tyr Asn Ser Ser Ser Asn Thr Thr Cys Val Asn Trp Asn Gln Tyr Tyr
 305 310 315 320
 Thr Asn Cys Ser Ala Gly Glu His Asn Pro Phe Lys Gly Ala Ile Asn
 325 330 335
 Phe Asp Asn Ile Gly Tyr Ala Trp Ile Ala Ile Phe Gln Val Ile Thr
 340 345 350
 Leu Glu Gly Trp Val Asp Ile Met Tyr Phe Val Met Asp Ala His Ser
 355 360 365
 Phe Tyr Asn Phe Ile Tyr Phe Ile Leu Leu Ile Ile Val Gly Ser Phe
 370 375 380
 Phe Met Ile Asn Leu Cys Leu Val Val Ile Ala Thr Gln Phe Ser Glu
 385 390 395 400
 Thr Lys Gln Arg Glu Ser Gln Leu Met Arg Glu Gln Arg Val Arg Phe
 405 410 415
 Leu Ser Asn Ala Ser Thr Leu Ala Ser Phe Ser Glu Pro Gly Ser Cys
 420 425 430
 Tyr Glu Glu Leu Leu Lys Tyr Leu Val Tyr Ile Leu Arg Lys Ala Ala
 435 440 445
 Arg Arg Leu Ala Gln Val Ser Arg Ala Ala Gly Val Arg Val Gly Leu
 450 455 460
 Leu Ser Ser Pro Ala Pro Leu Gly Gly Gln Glu Thr Gln Pro Ser Ser
 465 470 475 480
 Ser Cys Ser Arg Ser His Arg Arg Leu Ser Val His His Leu Val His
 485 490 495
 His His His His His His His Tyr His Leu Gly Asn Gly Thr Leu
 500 505 510
 Arg Ala Pro Arg Ala Ser Pro Glu Ile Gln Asp Arg Asp Ala Asn Gly
 515 520 525

Ser Arg Arg Leu Met Leu Pro Pro Pro Ser Thr Pro Ala Leu Ser Gly
 530 535 540

Ala Pro Pro Gly Gly Ala Glu Ser Val His Ser Phe Tyr His Ala Asp
 545 550 555 560

Cys His Leu Glu Pro Val Arg Cys Gln Ala Pro Pro Pro Arg Ser Pro
 565 570 575

Ser Glu Ala Ser Gly Arg Thr Val Gly Ser Gly Lys Val Tyr Pro Thr
 580 585 590

Val His Thr Ser Pro Pro Pro Glu Thr Leu Lys Glu Lys Ala Leu Val
 595 600 605

Glu Val Ala Ala Ser Ser Gly Pro Pro Thr Leu Thr Ser Leu Asn Ile
 610 615 620

Pro Pro Gly Pro Tyr Ser Ser Met His Lys Leu Leu Glu Thr Gln Ser
 625 630 635 640

Thr Gly Ala Cys

<210> 32
 <211> 1608
 <212> DNA
 <213> HUMAN

<400> 32
 atgcccgcgg ggacgcccgc gccccagcaga gcgaggtgct gccggccgcc accatgaccg 60
 agggcgcacg ggccgcccgc gaggtccggg tgcccctggg cgcgccgcc cctggccctg 120
 cggcgttggt gggggcgctc ccggagagcc ccggggcgcc gggacgcgag gcggagcggg 180
 ggtccgagct cggcggtgca cctccgaga gcccgcgcc cgagcgcggc gcggagctgg 240
 gtgccgacga ggagcagcgc gtcccgtacc cggccttggc ggccacggtc ttcttctgcc 300
 tcggtcagac caccgcccgc cgcagctggg gcctccggct ggtctgcaac ccatggttcg 360
 agcacgtgag catgctggta atcatgctca actgcgtgac cctgggcatg ttccggccct 420
 gtgaggacgt tgagtgcggc tccgagcgt gcaacatcct ggaggcctt gacgccttca 480
 ttttcgcctt ttttgcggtg gagatggtca tcaagatggt ggccttgggg ctggttcggg 540
 agaagtgtta cctgggtgac acgtggaaca ggctggattt ctccatcgtc gtggcgggca 600
 tgatggagta ctcgttggac ggacacaacg tgagcctctc ggctatcagg accgtgcggg 660
 tgctgcccgc cctccgcgcc atcaaccgcg tgcctagcat gcggatcctg gtcactctgc 720
 tgctggatac gctgcccacg ctcgggaacg tccttctgct gtgcttcttc gtcttcttca 780
 ttttcggcat cgttggcgtc cagctctggg ctggcctcct gcggaaccgc tgcttccctg 840
 acagtgccct tgtcaggaac aacaacctga ccttctctgc gccgtactac cagacggagg 900
 agggcgagga gaacccgttc atctgctcct caccgcgaga caacggcatg cagaagtgct 960
 cgcacatccc cggccgcccgc gagctgcgca tgcctctgac cctgggctgg gaggcctaca 1020

```

cgcagccgca ggccgagggg gtgggcgctg cacgcaacgc ctgcatcaac tggaaaccagt 1080
actacaacgt gtgccgctcg ggtgactcca acccccacaa cggtgccatc aacttcgaca 1140
acatcggcta cgcctggatc gccatcttcc aggtgatcac gctggaaggc tgggtggaca 1200
tcatgtacta cgtcatggac gcccaactat tctacaactt catctatttc atcctgctca 1260
tcatcgtggg ctcccttcttc atgatcaacc tgtgcctggg ggtgatlgcc acgcagttct 1320
cggagacgaa gcagcgggag agtcagctga tgcgggagca gcgggcacgc cacctgtcca 1380
acgacagcac gctggccagc ttctccgagc ctggcagctg ctacgaagag ctgctgaagt 1440
acgtgggcca catattccgc aaggccaagc ggccagctt gcgcctctac gcccctggc 1500
agagccgctg gcgcaagaag gtggacccca gtgctgtgca aggccagggt cccgggcacc 1560
gccagcgcg ggccagcagg cacacagcct cgggtgcacca cctggtct 1608

```

```

<210> 33
<211> 518
<212> PRT
<213> HUMAN

```

```

<400> 33
Met Thr Glu Gly Ala Arg Ala Ala Asp Glu Val Arg Val Pro Leu Gly
  1          5          10          15

Ala Pro Pro Pro Gly Pro Ala Ala Leu Val Gly Ala Ser Pro Glu Ser
  20          25          30

Pro Gly Ala Pro Gly Arg Glu Ala Glu Arg Gly Ser Glu Leu Gly Val
  35          40          45

Ser Pro Ser Glu Ser Pro Ala Ala Glu Arg Gly Ala Glu Leu Gly Ala
  50          55          60

Asp Glu Glu Gln Arg Val Pro Tyr Pro Ala Leu Ala Ala Thr Val Phe
  65          70          75          80

Phe Cys Leu Gly Gln Thr Thr Arg Pro Arg Ser Trp Cys Leu Arg Leu
  85          90          95

Val Cys Asn Pro Trp Phe Glu His Val Ser Met Leu Val Ile Met Leu
 100          105          110

Asn Cys Val Thr Leu Gly Met Phe Arg Pro Cys Glu Asp Val Glu Cys
 115          120          125

Gly Ser Glu Arg Cys Asn Ile Leu Glu Ala Phe Asp Ala Phe Ile Phe
 130          135          140

Ala Phe Phe Ala Val Glu Met Val Ile Lys Met Val Ala Leu Gly Leu
 145          150          155          160

Phe Gly Gln Lys Cys Tyr Leu Gly Asp Thr Trp Asn Arg Leu Asp Phe

```


<212> PRT
 <213> HUMAN
 <400> 35
 Ser Val Met Ser Leu Gly Arg Met Ser Tyr Asp Gln Arg Ser Leu Ser
 1 5 10 15
 Ser Ser Arg Ser Ser Tyr Tyr Gly Pro Trp Gly Arg Ser Ala Ala Trp
 20 25 30
 Ala Ser Arg Arg Ser Ser Trp Asn Ser Leu Lys His Lys Pro Pro Ser
 35 40 45
 Ala Glu His Glu Ser Leu Leu Ser Ala Glu Arg Gly Gly Gly Ala Arg
 50 55 60
 Val Cys Glu Val Ala Ala Asp Glu Gly Pro Pro Arg Ala Ala Pro Leu
 65 70 75 80
 His Thr Pro His Ala His His Ile His His Gly Pro His Leu Ala His
 85 90 95
 Arg His Arg His His Arg Arg Thr Leu Ser Leu Asp Asn Arg Asp Ser
 100 105 110
 Val Asp Leu Ala Glu Leu Val Pro Ala Val Gly Ala His Pro Arg Ala
 115 120 125
 Ala Trp Arg Ala Ala Gly Pro Ala Pro Gly His Glu Asp Cys Asn Gly
 130 135 140
 Arg Met Pro Ser Ile Ala Lys Asp Val Phe Thr Lys Met Gly Asp Arg
 145 150 155 160
 Gly Asp Arg Gly Glu Asp Glu Glu Glu Ile Asp Tyr Thr Leu Cys Phe
 165 170 175
 Arg Val Arg Lys Met Ile Asp Val Tyr Lys Pro Asp Trp Cys Glu Val
 180 185 190
 Arg Glu Asp Trp Ser Val Tyr Leu Phe Ser Pro Glu Asn Arg Phe Arg
 195 200 205
 Val Leu Cys Gln Thr Ile Ile Ala His Lys Leu Phe Asp Tyr Val Val
 210 215 220
 Leu Ala Phe Ile Phe Leu Asn Cys Ile Thr Ile Ala Leu Glu Arg Pro
 225 230 235 240
 Gln Ile Glu Ala Gly Ser Thr Glu Arg Ile Phe Leu Thr Val Ser Asn
 245 250 255
 Tyr Ile Phe Thr Ala Ile Phe Val Gly Glu Met Thr Leu Lys Val Val
 260 265 270
 Ser Leu Gly Leu Tyr Phe Gly Glu Gln Ala Tyr Leu Arg Ser Ser Trp
 275 280 285
 Asn Val Leu Asp Gly Phe Leu Val Phe Val Ser Ile Ile Asp Ile Val
 290 295 300
 Val Ser Leu Ala Ser Ala Gly Gly Ala Lys Ile Leu Gly Val Leu Arg
 305 310 315 320
 Val Leu Arg Leu Leu Arg Thr Leu Arg Pro Leu Arg Val Ile Ser Arg
 325 330 335
 Ala Pro Gly Leu Lys Leu Val Val Glu Thr Leu Ile Ser Ser Leu Lys
 340 345 350
 Pro Ile Gly Asn Ile Val Leu
 355

【図面の簡単な説明】

【図1】

図1 AおよびBは、 1_G に対する波形および電流電圧曲線の比較を示す。

【図2】

図2 AおよびBは、 1_I カルシウムチャネルに対する波形およびに対する電流電圧曲線の比較を示す。

【図3】

図3は、 1_G および 1_I カルシウムチャネルの定常状態不活性プロファイルの比較を示す。

【図4】

図4 A - Cは、 1_G および 1_I カルシウムチャネルの不活性カイネティクスの比較を示す。

【図5】

図5 Aおよび5 Bは、部分的クローンからのヒト 1_G cDNAの完全配列の構造を示す。

【図6】

図6は、ヒトT型カルシウムチャネル 1_G の核酸および推定アミノ酸配列を示す。

【図7】

図7は、ヒト 1_G カルシウムチャネルに対する波形および電流電圧曲線の比較を示す。

【図8】

図8は、T型チャネルに特徴的なポアパターンを示す。

【図1A】

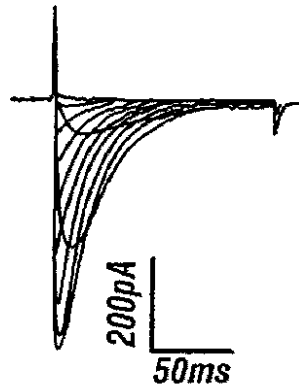


FIG. 1A

【図1B】

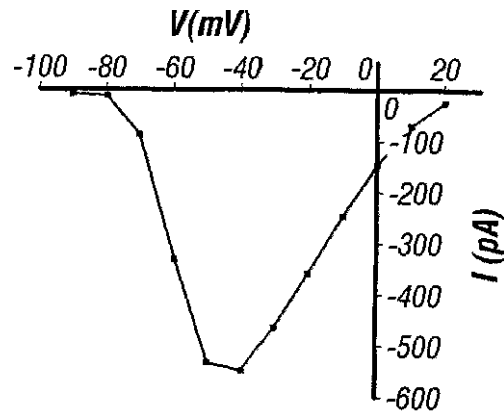


FIG. 1B

【図2A】

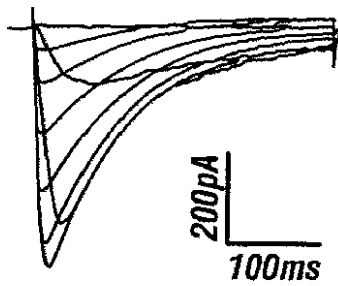


FIG. 2A

【图2B】

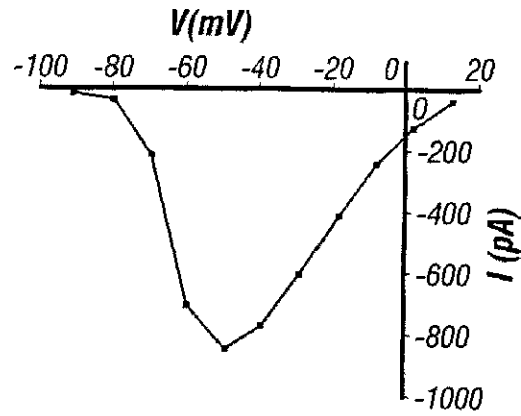


FIG. 2B

【图3】

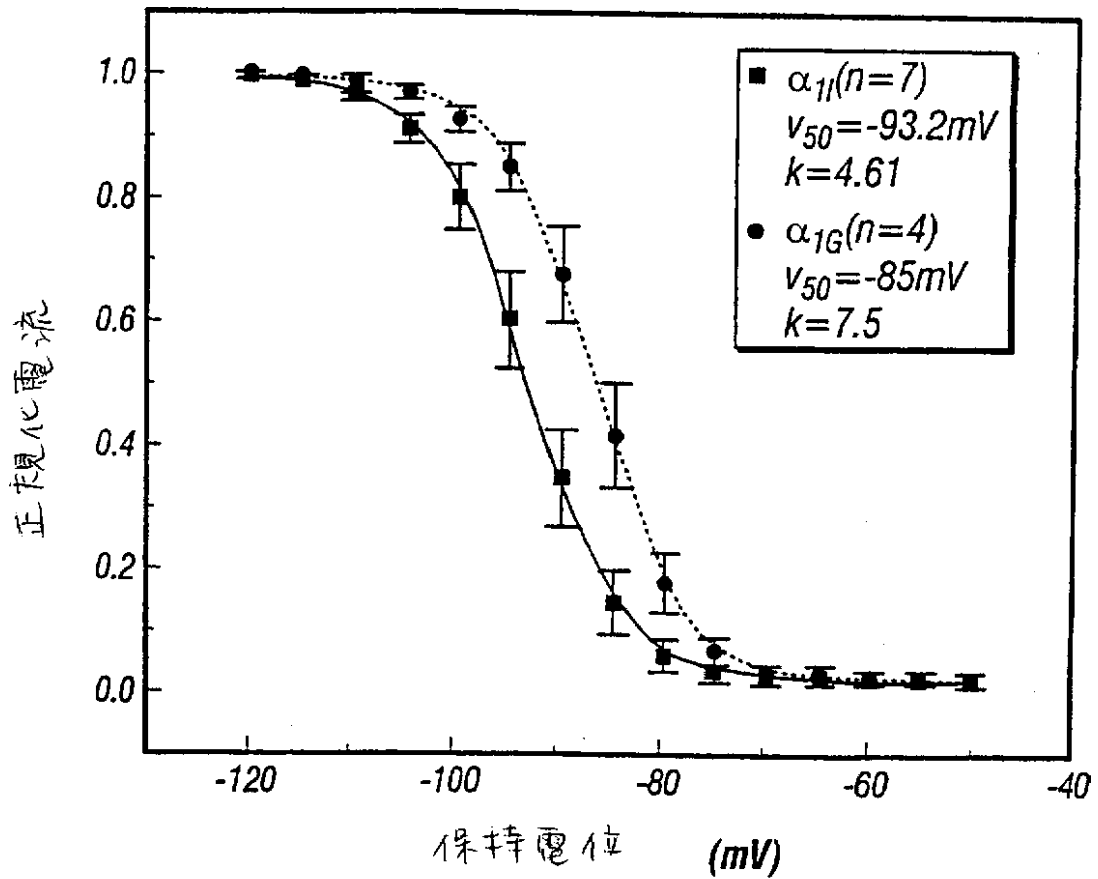


FIG. 3

【図4】

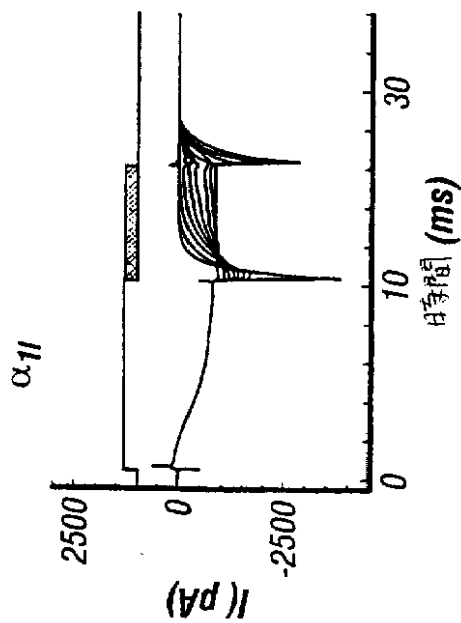


FIG. 4B

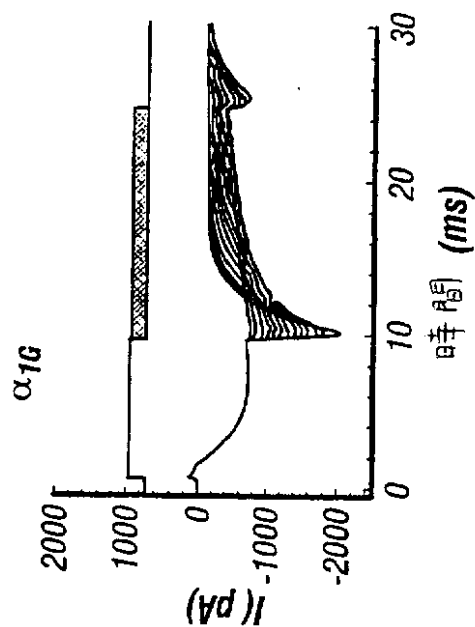


FIG. 4C

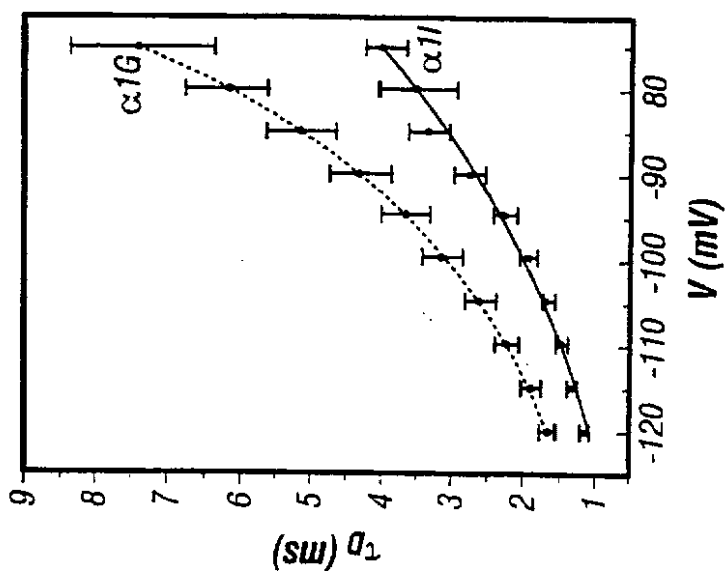



FIG. 4A

【 5 A】

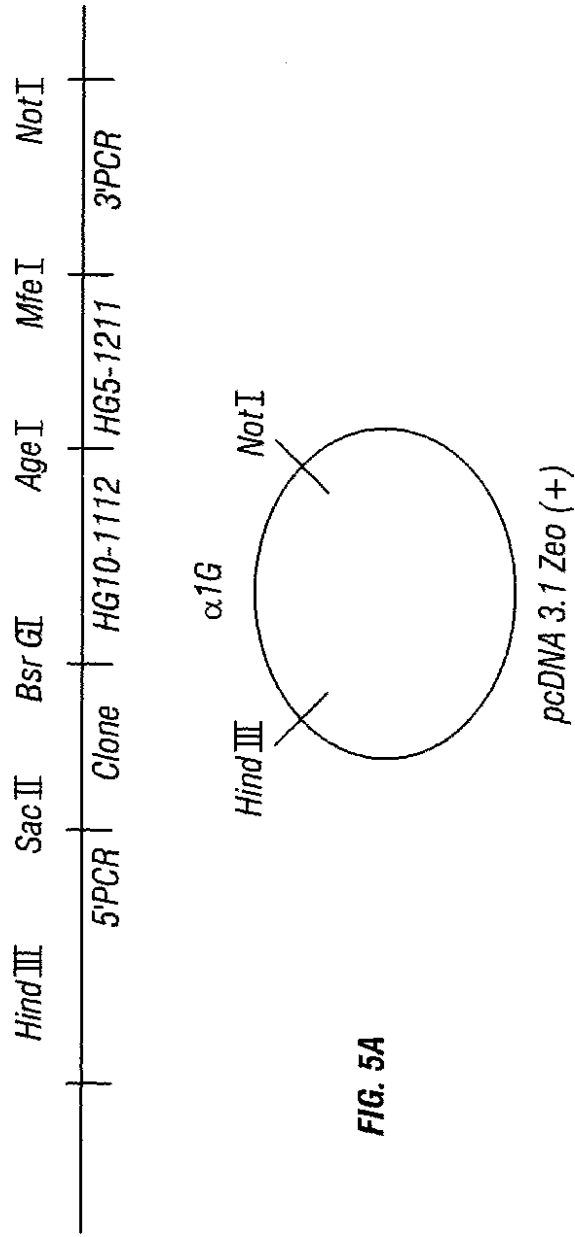


FIG. 5A

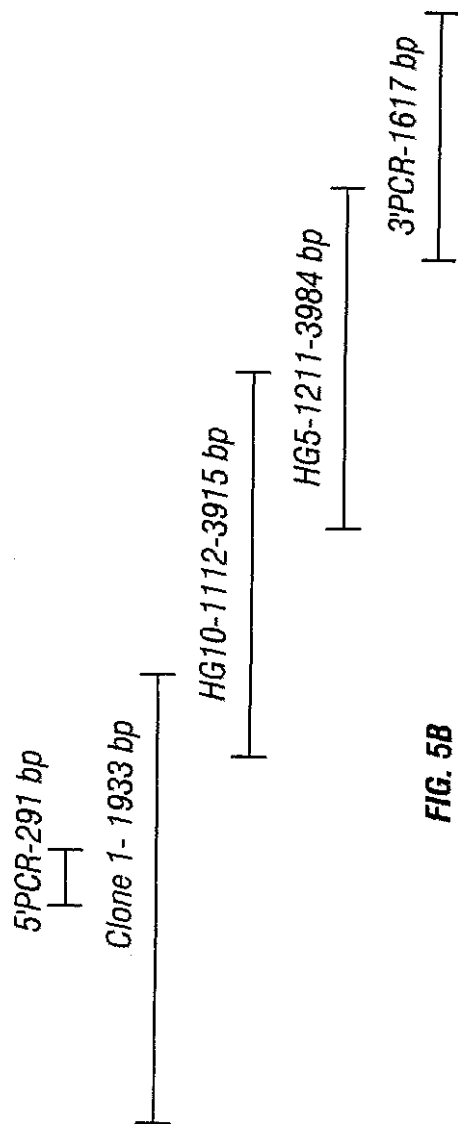


FIG. 5B

【図6A】

```

1 aagcttgcttccccctctccggatcgccccggggccccgggtggccagagg ATG GAC GAG GAG GAG GAT GGA 71
1 M D E E E D G 7
72 GCG GGC GCC GAG GAG TCG GGA CAG CCC CGG AGC TTC ATG CGG CTC AAC GAC CTG TCG GGG 131
8 A G A E E S G Q P R S F M R L N D L S G 27
132 GCC GGG GCG CCG CCG GGG TCA GCA GAA AAG GAC CCG GGC AGC GCG GAC TCC GAG 191
28 A G G R P G P G S A E K D P G S A D S E 47
192 GCG GAG GGG CTG CCG TAC CCG GCG CTG GCC CGG GTG GTT TTC TTC TAC TTG AGC CAG GAC 251
48 A E G L P Y P A L A P V V F F Y L S Q D 67
252 AGC CGC CCG CGG AGC TGG TGT CTC CGC ACG GTC TGT AAC CCC TGG TTT GAG CGC ATC AGC 311
68 S R P R S W C L R T V C N P W F E R I S 87
312 ATG TTG GTC ATC CTT CTC AAC TGC GTG ACC CTG GGC ATG TTC CGG CCA TGC GAG GAC ATC 371
88 M L V I L L N C V T L G M F R P C E D I 107
372 GCC TGT GAC TCC CAG CGC TGC CGG ATC CTG CAG GCC TTT GAT GAC TTC ATC TTT GCC TTC 431
108 A C D S Q R C R I L Q A F D D F I F A F 127
432 TTT GCC GTG GAG ATG GTG AAG ATG GTG GCC TTG GGC ATC TTT GGG AAA AAG TGT TAC 491
128 F A V E M V V K N V A L G I F G K K C Y 147
492 CTG GGA GAC ACT TGG AAC CCG CTT GAC TTT TTC ATC GTC ATC GCA GGG ATG CTG GAG TAC 551
148 L G D T N N R L D F F I V I A G M L E Y 167
552 TCG CTG GAC CTG CAG AAC GTC AGC TTC TCA GCT GTC AGG ACA GTC CGT GTG CTG CGA CCG 611
168 S L D L Q N V S F S A V R T V R V L R P 187


```

FIG. 6A

【図6B】


612 CTC AGG GCC ATT AAC CGG GTG CCC AGC ATG CGC ATC CTT GTC ACG TTG CTG CTG GAT ACG 671
 188 L R A I N R V P S M R I L V T L L L L D T 207
 672 CTG CCC ATG CTG GGC AAC GTC CTG CTG CTC TGC TTC TTC GTC TTC ATC TTC GGC ATC 731
 208 L P M L G N V L L L C F V F I F G I 227
 732 GTC GGC GTC CAG CTG TGG GCA GGG CTG CTT CGG AAC CGA TGC TTC CTA CCT GAG AAT TTC 791
 228 V G V Q L W A G L L R N R C F L P E N F 247
 792 AGC CTC CCC CTG AGC GTG GAC CTG GAG CGC TAT TAC CAG ACA GAG AAC GAG GAT GAG AGC 851
 248 S L P L S V D L E R Y Y O T E N E D E S 267
 852 CCC TTC ATC TGC TCC CAG CCA CGC GAG AAC GGC ATG CGG TCC TGC AGA AGC GTG CCC ACG 911
 268 P F I C S Q P R E N G M R S C R S V P T 287
 912 CTG CGC GGC GAC GGG GGT GGC CCA CCT TGC GGT CTG GAC TAT GAG GCC TAC AAC AGC 971
 288 L R G D G G G P C G L D Y E A Y N S 307
 972 TCC AGC AAC ACC ACC TGT GTC AAC TGG AAC CAG TAC ACC AAC TGC TCA GCG GGG GAG 1031
 308 S S K T T C V N W N Q Y Y T N C S A G E 327
 1032 CAC AAC CCC TTC AAG GGC GCC ATC AAC TTT GAC AAC ATT GGC TAT GCC TGG ATC GCC ATC 1091
 328 H N P F K G A I N F D N I G Y A W I A I 347
 1092 TTC CAG GTC ATC ACG CTG GAG GGC TGG GTC GAC ATC ATG TAC TTT GTG ATG GAT GCT CAT 1151
 348 F Q V I T L E G W V D I M Y F V M D A H 367
 1152 TCC TTC TAC AAT TTC ATC TAC TTC ATC CTC ATC ATC GTG GGC TCC TTC TTC ATG ATC 1211
 368 S F Y N F I Y F I L L I I V G S F F M I 387

FIG. 6B

【 6 C】


1212 AAC CTG TGC CTG GTG GTG ATT GCC ACG CAG TTC TCA GAG ACC AAG CAG CGG GAA AGC CAG 1271
 388 N L C L V I A T Q F S E T K Q R E S Q 407
 1272 CTG ATG CGG GAG CAG CGT GTG CGG TTC CTG TCC AAC GCC AGC ACC CTG GCT AGC TTC TCT 1331
 408 L M R E Q R V R F L S N A S T L A S F S 427
 1332 GAG CCC GGC AGC TGC TAT GAG GAG CTG CTC AAG TAC CTG GTG TAC ATC CTT CGT AAG GCA 1391
 428 E P G S C Y E E L L K Y L V Y I L R K A 447
 1392 GCC CGC AGG CTG GCT CAG GTC TCT CGG GCA GCA GGT GTG CGG GTT GGG CGT CTC AGC AGC 1451
 448 A R R L A Q V S R A A G V R V G L S S 467
 1452 CCA GCA CCC CTC GGG GGC CAG GAG ACC CAG CCC AGC AGC TGC TCT CGC TCC CAC CGC 1511
 468 P A P L G G Q E T Q P S S C S R S H R 487
 1512 CGC CTA TCC GTC CAC CAC CTG GTG CAC CAC CAC CAC CAT CAC CAC CAC TAC CAC CTG 1571
 488 R L S V N H L V H H H N H M H N H Y H L 507
 1572 GGC AAT GGG ACG CTC AGG GCC CCC CGG GCC AGC CCG GAG ATC CAG GAC AGG GAT GCC AAT 1631
 508 G N G T L R A P R A S P E I Q D R D A N 527
 1632 GGG TCC CGC AGG CTC ATG CTG CCA CCC TCG ACG CCT GCC CTC TCC GGG GCC CCC CCT 1691
 528 G S R R L M L P P P S T P A L S G A P P 547
 1692 GGT GGC GCA GAG TCT GTG CAC AGC TTC TAC CAT GCC GAC TGC CAC TTA GAG CCA GTC CGC 1751
 548 G G A E S V H S F Y H A D C M L E P V R 567
 1752 TGC CAG GCG CCC CCT CCC AGG TCC CCA TCT GAG GCA TCC GGC AGG ACT GTG GGC AGC GGG 1811
 568 C Q A P P P R S P S E A S G R T V G S G 587

FIG. 6C

【 6 D】


1812 AAG GTG TAT CCC ACC GTG CAC ACC AGC CCT CCA CCG GAG ACG CTG AAG GAG AAG GCA CTA 1871
 588 K V Y P T V N T S P P P E T L K E R A L 607
 1872 GTA GAG GTG GCT GCC AGC TCT GGG CCC CCA ACC CTC ACC AGC CTC AAC ATC CCA CCC GGG 1931
 608 V E V A A S S G P P T L T S L N I P P G 627
 1932 CCC TAC AGC TCC ATG CAC AAG CTG CTG GAG ACA CAG AGT ACA GGT GCC TGC CAA AGC TCT 1991
 628 P Y S S M H K L L E T Q S T G A C Q S S 647
 1992 TGC AAG ATC TCC AGC CCT TGC TTG AAA GCA GAC AGT GGA GCC TGT GGT CCA GAC AGC TGC 2051
 648 C K I S S P C L K A D S G A C G P D S C 667
 2052 CCC TAC TGT GCC CGG GCC GGA GGG GAG GTG GAG CTC GCC GAC CGT GAA ATG CCT GAC 2111
 668 P Y C A R A G A G E V E L A D R E M P D 687
 2112 TCA GAC AGC GAG GCA GTT TAT GAG TTC ACA CAG GAT GCC CAG CAC AGC GAC CTC CGG GAC 2171
 688 S D S E A V Y E F T Q D A Q H S D L R D 707
 2172 CCC CAC AGC CGG CAA CGG AGC CTG GGC CCA GAT GCA GAG CCC AGC TCT GTG CTG GCC 2231
 708 P H S R R Q R S L G P D A E P S S V L A 727
 2232 TTC TGG AGG CTA ATC TGT GAC ACC TTC CGA AAG ATT GTG GAC AGC AAG TAC TTT GGC CGG 2291
 728 F W R L I C D T F R K I V D S K Y F G R 747
 2292 GGA ATC ATG ATC GCC ATC CTG GTC AAC ACA CTC AGC ATG GGC ATC GAA TAC CAC GAG CAG 2351
 748 G I M I A I L V N T L S M G I E Y H E Q 767
 2352 CCC GAG GAG CTT ACC AAC GCC CTA GAA ATC AGC AAC ATC GTC TTC ACC AGC CTC TTT GCC 2411
 768 P E E L T N A L E I S N I V F T S L F A 787

FIG. 6D

【 6 E】


2412 CTG GAG ATG CTG CTG AAG CTG CTT GTG TAT GGT CCC TTT GGC TAC ATC AAG AAT CCC TAC 2471
 788 L E M L L K L L V Y G P F G Y I K N P Y 807
 2472 AAC ATC TTC GAT GGT GTC ATC ATT GTG GTC ATC AGC GTG TGG GAG ATC GTG GGC CAG CAG GGG 2531
 808 N I F D G V I V I S V N E I V G Q Q G 827
 2532 GGC GGC CTG TCG GTG CTG CGG ACC TTC CGC CTG ATG CGT GTG CTG AAG CTG GTG CGC TTC 2591
 828 G G L S V L R T F R L M R V L K L V R F 847
 2592 CTG CCG GCG CTG CAG CCG CAG CTG GTG GTC CTC ATG AAG ACC ATG GAC AAC GTG GCC ACC 2651
 848 L P A L Q R Q L V V L M K T M D N V A T 867
 2652 TTC TGC ATG CTG CTT ATG CTC TTC ATC TTC AGC ATC CTG GGC ATG CAT CTC TTC 2711
 868 F C M L L M L F I F I S I L G M H L F 887
 2712 GGC TGC AAG TTT GCC TCT GAG CCG GAT GGG GAC ACC CTG CCA GAC CGG AAG AAT TTT GAC 2771
 888 G C K F A S E R D G D T L P D R K N F D 907
 2772 TCC TTG CTC TGG GCC ATC GTC ACT GTC TTT CAG ATC CTG ACC CAG GAG GAC TGG AAC AAA 2831
 908 S L L W A I V T V F Q I L T Q E D W N K 927
 2832 GTC CTC TAC AAT GGT ATG GCC TCC ACG TCG TCC TGG GCG GCC CTT TAT TTC ATT GCC CTC 2891
 928 V L Y N G M A S T S S W A A L Y F I A L 947
 2892 ATG ACC TTC GGC AAC TAC GTG CTC TTC AAT TTG CTG GTC GCC ATT CTG GTG GAG GGC TTC 2951
 948 M T F G N Y V L F N L L V A I L V E G F 967
 2952 CAG GCG GAG GAA ATC AGC AAA CGG GAA GAT GCG AGT GCA CAG TTA AGC TGT ATT CAG CTG 3011
 968 Q A E E I S K R E D A S G Q L S C I Q L 987

FIG. 6E

【 6 F】


3012 CCT GTC GAC TCC CAG GGG GGA GAT GCC AAC AAG TCC GAA TCA GAG CCC GAT TTC TTC TCA 3071
 988 P V D S Q G G D A N K S E S E P D F F S 1007
 3072 CCC AGC CTG GAT GGT GAT GGG GAC AGG AAG TGC TTG GCC TTG GTG TCC CTG GGA GAG 3131
 1008 P S L D G D G D R K C L A L V S L G E 1027
 3132 CAC CCG GAG CTG CGG AAG AGC CTG CTG CCG CCT CTC ATC ATC CAC AGC GCC ACA CCC 3191
 1028 H P E L R K S L L P L I I H T A A T P 1047
 3192 ATG TCG CTG CCC AAG AGC ACC AGC GGC CTG GGC GAG GCG CTG GGC CCT GCG TCG CGC 3251
 1048 M S L P K S T S T G L G E A L G P A S R 1067
 3252 CGC ACC AGC AGC GGG TCG GCA GAG CCT GGG GCG GCC CAC GAG ATG AAG TCA CCG CCC 3311
 1068 R T S S S G S A E P G A A H E M K S P P 1087
 3312 AGC GCC CGC AGC TCT CCG CAC AGC CCC TGG AGC GCT GCA AGC AGC TGG ACC AGC AGG CGC 3371
 1088 S A R S S P H S P W S A A S S W T S R R 1107
 3372 TCC AGC CGG AAC AGC CTC GGC CGT GCA CCC AGC CTG AAG CCG AGA AGC CCA AGT GGA GAG 3431
 1108 S S R N S L G R A P S L K R R S P S G E 1127
 3432 CGG CGG TCC CTG TTG TCG GGA GAA GGC CAG GAG AGC CAG GAT GAA GAG GAG AGC TCA GAA 3491
 1128 R R S L L S G E G Q E S Q D E E S S E 1147
 3492 GAG GAG CGG GCC AGC CCT GCG GGC AGT GAC CAT CGC CAC AGG GGG TCC CTG GAG CGG GAG 3551
 1148 E E R A S P A G S D H R N R G S L E R E 1167
 3552 GCC AAG AGT TCC TTT GAC CTG CCA GAC ACA CTG CAG CTG CCA GGG CTG CAT CGC ACT GCC 3611
 1168 A K S S F D L P D T L Q V P G L H R T A 1187

FIG. 6F

【 6 G】


3612 AGT GGC CGA GGG TCT GCT TCT GAG CAC CAG GAC TGC AAT CGC AAG TCG GCT TCA GGG CGC 3671
 1188 S G R G S A S E H Q D C N G K S A S G R 1207
 3672 CTG GCC CGG GCC CTG CGG CCT GAT GAC CCC CCA CTG GAT GGG GAT GAC GCC GAT GAC GAG 3731
 1208 L A R A L R P D D P P L D G D D A D D E 1227
 3732 GGC AAC CTG AGC AAA GGG GAA CCG GTC CGC GCG TGG ATC CGA GCC CGA CTC CCT GCC TGC 3791
 1228 G N L S K G E R V R A W I R A R L P A C 1247
 3792 TAC CTC GAG CGA GAC TCC TGG TCA CCC TAC ATC TTC CCT CAG TCC AGG TTC CGC CTC 3851
 1248 Y L E R D S W S A Y I F P P Q S R F R L 1267
 3852 CTG TGT CAC CGG ATC ACC CAC AAG ATG TTC GAC CAG GTG GTC CTT GTC ATC ATC TTC 3911
 1268 L C H R I I T N K M F D H V V L V I I F 1287
 3912 CTT AAC TGC ATC ACC ATC GCC ATG GAG CGC CCC AAA ATT GAC CCC CAC AGC GCT GAA CGC 3971
 1288 L N C I T I A M E R P K I D P H S A E R 1307
 3972 ATC TTC CTG ACC CTC TCC AAT TAC ATC TTC ACC GCA GTC TTT CTG GCT GAA ATG ACA GTG 4031
 1308 I F L T L S N Y I F T A V F L A E M T V 1327
 4032 AAG GTG GTG GCA CTG GGC TGG TGC TTC GGG GAG CAG GCG TAC CTG CGG AGC AGT TGG AAC 4091
 1328 K V V A L G W C F G E Q A Y L R S S W N 1347
 4092 GTG CTG GAC GGG CTG TTG GTG CTC ATC TCC GTC ATC GAC ATT CTG GTG TCC ATG GTC TCT 4151
 1348 V L D G L L V L I S V I D I L V S M V S 1367
 4152 GAC AGC GGC ACC AAG ATC CTG GGC ATG CTG AGG GTG CTG CGG CTG CTG CGG ACC CTG CGC 4211
 1368 D S G T K I L G M L R V L R L L R T L R 1387

FIG. 6G

【 6 H】


4212 CCG CTC AGG GTG ATC AGC CGG GCG CAG GGG CTG AAG CTG GTG GTG GAG ACG CTG ATG TCC 4271
 1388 P L R V I S R A Q G L K L V V E T L M S 1407
 4272 TCA CTG AAA CCC ATC GGC AAC ATT GTA GTC ATC TGC TGT GCC TTC TTC ATC ATT TTC GGC 4331
 1408 S L K P I G N I V I C C A F I I F G 1427
 4332 ATC TTG CCG GTG CAG CTC TTC AAA GGG AAG TTT TTC GTG TGC CAG GGC GAG GAT ACC AGG 4391
 1428 I L G V Q L F K G K F V C Q G E D T R 1447
 4392 AAC ATC ACC AAT AAA TCG GAC TGT GCC GAG GCC AGT TAC CGG TGG GTC CGG CAC AAG TAC 4451
 1448 N I T N K S D C A E A S Y R W V R M K Y 1467
 4452 AAC TTT GAC AAC CTT GGC CAG GCC CTG ATG TCC CTG TTC GTT TTG GCC TCC AAG GAT GGT 4511
 1468 N F D N L G Q A L M S L F V L A S K D G 1487
 4512 TGG GTG GAC ATC ATG TAC GAT GGG CTG GAT GCT GTG GGC GTG GAC CAG CAG CCC ATC ATG 4571
 1488 W V D I M Y D G L D A V G V D Q Q P I M 1507
 4572 AAC CAC AAC CCC TGG ATG CTG TAC TTC ATC TCG TTC CTG CTC ATT GTG GCC TTC TTT 4631
 1508 N H N P N M L L Y F I S F L L I V A F F 1527
 4632 GTC CTG AAC ATG TTT GTG GGT GTG GTG GAG AAC TTC CAC AAG TGT AGG CAG CAC CAG 4691
 1528 V L N M F V G V V E N F H K C R Q H Q 1547
 4692 GAG GAA GAG GAG GCC CCG CCG GAG GAG AAC CGC CTA CGA AGA CTG GAG AAA AAG AGA 4751
 1548 E E E A R R E E K R L R R L E K R 1567
 4752 AGG AAA GCC CAG TGC AAA CCT TAC TCC GAC TAC TCC CGC TTC CGG CTC CTC GTC CAC 4811
 1568 R K A Q C K P Y Y S D Y S R F R L L V H 1587

FIG. 6H

【 6 I】


4812 CAC TTG TGC ACC AGC CAC TAC CTG GAC CTC TTC ATC ACA GGT GTC ATC GGG CTG AAC GTG 4871
 1588 H L C T S H Y L D L F I T G V I G L N V 1607
 4872 GTC ACC ATG GCC ATG GAG CAC TAC CAG CAG CCC CAG AAT CTG GAT GAG GCT CTG AAG ATC 4931
 1608 V T M A M E H Y Q Q P Q I L D E A L K I 1627
 4932 TGC AAC TAC ATC TTC ACT GTC ATC TTT GTC TTG GAG TCA GTT TTC AAA CTT GTG GCC TTT 4991
 1628 C N Y I F T V I F V L E S V F K L V A F 1647
 4992 GGT TTC CGT TTC CAG GAC AGG TGG AAC CAG CTG GAC CTG GCC AAT GTG CTG CTG 5051
 1648 G F R R F F Q D R W N Q L D L A I V L L 1667
 5052 TCC ATC ATG GGC ATC ACG CTG GAG GAA ATC GAG GTC AAC GCC TCG CTG CCC ATC AAC CCC 5111
 1668 S I M G I T L E E I E V N A S L P I N P 1687
 5112 ACC ATC ATC CGC ATC ATG AGG GTG CTG CGC AAT GCC CGA GTG CTG AAG CTG AAG ATG 5171
 1688 T I I R I M R V L R I A R V L K L L K M 1707
 5172 GCT GTG GGC ATG CGG GCG CTG GAC ACG GTG ATG CAG GCC CTG CCC CAG GTG GGG AAC 5231
 1708 A V G M R A L L D T V M Q A L P Q V G N 1727
 5232 CTG GGA CTT CTC TTC ATG TTG TTG TTT TTC ATC TTT GCA GCT CTG GGC GTG GAG CTC TTT 5291
 1728 L G L L F M L L F F I F A A L G V E L F 1747
 5292 GGA GAC CTG GAG TGT GAC GAG ACA CAC CCC TGT GAG GGC CTG GGC CGT CAT GCC ACC TTT 5351
 1748 G D L E C D E T H P C E G L G R H A T F 1767
 5352 CGG AAC TTT GGC ATG GCC TTC CTA ACC CTC TTC CGA GTC TCC ACA GGT GAC AAT TGG AAT 5411
 1768 R N F G M A F L T L F R V S T G D N W E 1787

FIG. 6I

【 6 J】


5412 GGC ATT ATG AAG GAC ACC CTC CGG GAC TGT GAC CAG GAG TCC ACC TGC TAC AAC ACG GTC 5471
 1788 G I M K D T L R D C D Q E S T C Y F T V 1807
 5472 ATC TCG CCT ATC TAC TTT GTG TCC TTC GTG CTG ACG GCC CAG TTC GTG CTA GTC AAC GTG 5531
 1808 I S P I Y F V S F V L T A Q F V L V M V 1827
 5532 GTG ATC GCC GTG CTG ATG AAG CAC CTG GAG GAG AGC AAC AAG GAG GCC AAG GAG GAG GCC 5591
 1828 V I A V L M K H L E S N K E A K E E A 1847
 5592 GAG CTA GAG GCT GAG CTG GAG ATG AAG ACC CTC AGC CCC CAG CCC CAC TCG CCA 5651
 1848 E L E A E L E L E M K T L S P Q P H S P 1867
 5652 CTG GGC AGC CCC TTC CTC TGG CCT GGG GTC GAG GGC CCC GAC AGC CCC GAC AGC CCC AAG 5711
 1868 L G S P F L N P G V E G P D S P D S P K 1887
 5712 CCT GGG GCT CTG CAC CCA GCG GCC CAC GCG AGA TCA GCC TCC CAC TTT TCC CTG GAG CAC 5771
 1888 P G A L M P A A H A R S A S H F S L E H 1907
 5772 CCC ACG ATG CAG CCC CAC CCC ACG GAG CTG CCA GGA CCA GAC TTA CTG ACT GTG CGG AAG 5831
 1908 P T M Q P H P T E L P G P D L L T V R K 1927
 5832 TCT GGG GTC AGC CGA ACG CAC TCT CTG CCC AAT GAC AGC TAC ATG TGT CGG CAT GGG AGC 5891
 1928 S G V S R T M S L P N D S Y M C R R G S 1947
 5892 ACT GCC GAG GGG CCC CTG GGA CAC AGG GGC TGG GGC CTC CCC AAA GCT CAG TCA GGC TCC 5951
 1948 T A E G P L G H R G W G L P K A Q S G S 1967
 5952 GTC TTG TCC GTT CAC TCC CAG CCA GCA GAT ACC AGC TAC ATC CTG CAG CTT CCC AAA GAT 6011
 1968 V L S V H S Q P A D T S Y I L Q L P K D 1987

FIG. 6J

【 6 K】

6012 GCA CCT CAT CTG CTC CAG CCC CAC AGC GCC CCA ACC TGG GGC ACC ATC CCC AAA CTG CCC 6071
 1988 A P H L L Q P M S A P T W G T I P K L P 2007
 6072 CCA CCA GGA CGC TCC CCT TTG GCT CAG AGG CCA CTC AGG CGC CAG GCA GCA ATA AGG ACT 6131
 2008 P P G R S P L A Q R P L R Q A A I R T 2027
 6132 GAC TCC TTG GAC GTT CAG GGT CTG GGC AGC CGG GAA GAC CTG CTG GCA GAG GTG AGT GGG 6191
 2028 D S L D V Q G L G S R E D L L A E V S G 2047
 6192 CCC TCC CCG CCC CTG GCC CGG GCC TAC TCT TTC TGG GGC CAG TCA AGT ACC CAG GCA CAG 6251
 2048 P S P P L A R A Y S F W G Q S S T Q A Q 2067
 6252 CAG CAC TCC CGC AGC CAC AGC AAG ATC TCC AAG CAC ATG ACC CCG CCA GCC CCT TGC CCA 6311
 2068 Q H S R S H S K I S K H H T P P A P C A 2087
 6312 GGC CCA GAA CCC AAC TGG GGC AAG GGC CCT CCA GAG ACC AGA AGC AGC TTA GAG TTG GAC 6371
 2088 G P E P N M G K G P P E T R S S L E L D 2107
 6372 ACG GAG CTG AGC TGG ATT TCA GGA GAC CTC CTG CCC CCT GGC GGC CAG GAG GAG CCC CCA 6431
 2108 T E L S N I S G D L L P P G Q E E P P 2127
 6432 TCC CCA CGG GAC CTG AAG AAG TGC TAC AGC GTG GAG GCC CAG AGC TGC CAG CGC CGG CCT 6491
 2128 S P R D L K K C Y S V E A Q S C Q R R P 2147
 6492 ACG TCC TGG CTG GAT GAG CAG AGG AGA CAC TCT ATC GCC GTC AGC TGC CTG GAC AGC GGC 6551
 2148 T S W L D E Q R R H S I A V S C L D S G 2167
 6552 TCC CAA CCC CAC CTG GCC ACA GAC CCC TCT AAC CTT GGG GGC CAG CCT CTT GGG GGC CCT 6611
 2168 S Q P H L G T D P S N L G G Q P L G G P 2187

FIG. 6K

【 6 L】

6612 GGG AGC CCG CCC AAG AAA AAA CTC AGC CCG CCT AGT ATC ACC ATA GAC CCC CCC GAG AGC 6671
 2188 G S R P K K L S P P S I T I D P P E S 2207
 6672 CAA GGT CCT CCG ACC CCG CCC AGC CCT GGT ATC TGC CTC CCG AGG AGG GCT CCG TCC AGC 6731
 2208 Q G P R T P P S P G I C L R R A P S S 2227
 6732 GAC TCC AAG GAT CCC TTG GCC TCT GGC CCC CCT GAC AGC ATG GCT GCC TCG CCC TCC CCA 6791
 2228 D S K D P L A S G P P D S M A A S P S P 2247
 6792 AAG AAA GAT GTG CTG AGT CTC TCC GGT TTA TCC TCT GAC CCA GCA GAC CTG GAC CCC TGA 6851
 2248 K K D V L S L S G L S S D P A D L D P - 2267
 6852 gtctgccccactttcccactcaccctttctccactgggtgc 6892

FIG. 6L

【图7】

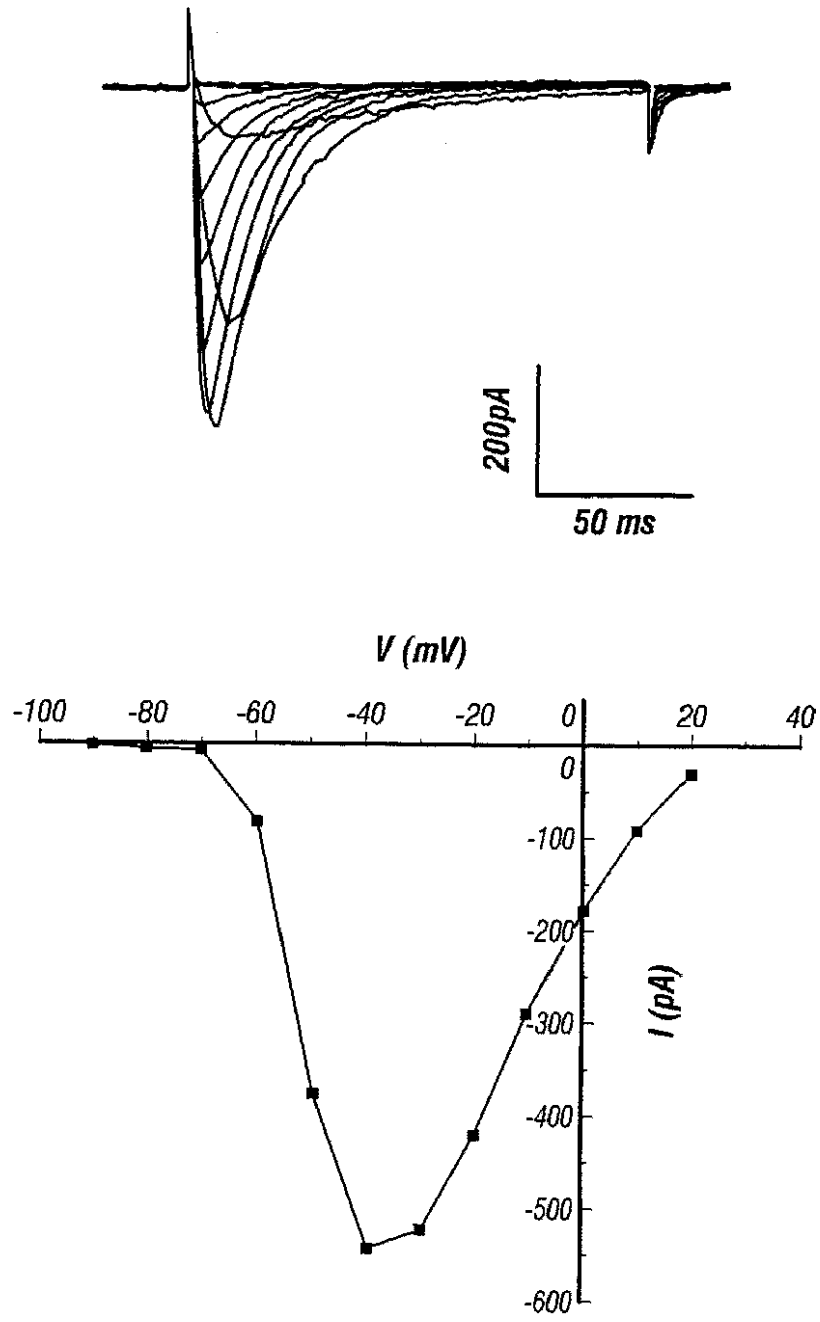


FIG. 7

I	II	III	IV					
LAASE E	GWVYV	QIITQ E	GWTFE	ETLSF K	GWNVI	RCLTG E	DWNDI	NIC-1 (C11D2.6)
LAASQ E	GWVYV	QIITQ E	GWTDV	ETLSY K	GWNVV	RSVTG E	DWNDI	NIC-2 (C27F2.3)
EASSQ E	GWVFL	QILTQ E	GWVDV	EVLSL K	GWVEV	RIVTG E	DWNKI	ネット-NIC
QCITM E	GWTDV	QILTG E	DWNSV	TVSTF K	GWPEL	RCATG E	AWQDI	L-型 Ca 4ヶネル
QVITL E	GWVDI	QILTQ E	DWNKV	VLASK D	GWVDI	RVSTG D	NWNGI	T-型 Ca 4ヶネル
RLMTQ D	FWENL	RVLCG E	WIETM	QVATF K	GWMDI	QITTS A	GDGGL	Na 4ヶネル

FIG. 8

【國際調查報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

		International Application No. PCT/CA 00/00794
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER		
IPC 7	C12N15/12 C12N15/11	C07K14/705 C12Q1/68
G01N33/50 C07K16/28	G01N33/53	A61K38/17
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED		
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) IPC 7 C07K C12N		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used) EPO-Internal, WPI Data		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 98 38301 A (NEUROMED TECH INC) 3 September 1998 (1998-09-03) cited in the application page 19 -page 36; claims 1-13	1-7, 11, 14, 15
X	WO 99 28342 A (SIBIA NEUROSCIENCES INC ; WILLIAMS MARK (US); HANS MICHAEL (US); HA) 10 June 1999 (1999-06-10) abstract; claims 1-57; figure 3	1-7, 11, 14-17
X	WO 99 29847 A (UNIV LOYOLA CHICAGO ; CRIBBS LEANNE L (US); PEREZ REYES EDWARD (US)) 17 June 1999 (1999-06-17) abstract; claims 1-22; figure 1	1-7, 11, 14, 15
-/--		
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of box C.		<input checked="" type="checkbox"/> Patent family members are listed in annex.
* Special categories of cited documents :		
A document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance *E* earlier document but published on or after the international filing date *L* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) *O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means *P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed		*T* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principles or theory underlying the invention *X* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone *Y* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art. *&* document member of the same patent family
Date of the actual completion of the international search 20 December 2000		Date of mailing of the international search report 29/12/2000
Name and mailing address of the ISA European Patent Office, P.B. 5618 Patentlaan 2 NL - 2260 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016		Authorized officer Gurdjian, D

3

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No
PCT/CA 00/00794

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category	Citation of document, with indication where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claims No.
X	CRIBBS LL ET AL: "Cloning and characterization of alpha1H from human heart, a member of the T-type Ca2+ channel gene family" CIRCULATION RESEARCH, GRUNE AND STRATTON, BALTIMORE, US, vol. 83, no. 1, 13 July 1998 (1998-07-13), pages 103-109, XP002093640 ISSN: 0009-7330 abstract; figure 1	1-7, 11, 14, 15

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

Continuation of Box I.2

Claims Nos.: 8

Claim 8 relating to modulators to the polypeptide of claim 7 could not be searched as its subject-matter was insufficiently disclosed

The applicant's attention is drawn to the fact that claims, or parts of claims, relating to inventions in respect of which no international search report has been established need not be the subject of an international preliminary examination (Rule 66.1(e) PCT). The applicant is advised that the EPO policy when acting as an International Preliminary Examining Authority is normally not to carry out a preliminary examination on matter which has not been searched. This is the case irrespective of whether or not the claims are amended following receipt of the search report or during any Chapter II procedure.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No
PCT/CA 00/00794

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 9838301 A	03-09-1998	EP 0973889 A	26-01-2000
WO 9928342 A	10-06-1999	AU 1802699 A EP 1042468 A	16-06-1999 11-10-2000
WO 9929847 A	17-06-1999	EP 1036170 A	20-09-2000

フロントページの続き

(51)Int.Cl. ⁷	識別記号	F I	テ-マ-コ-ト' (参考)	
A 6 1 P	9/06	A 6 1 P	9/12	4 C 0 8 4
	9/12		25/08	4 C 0 8 6
	25/08		25/20	4 H 0 4 5
	25/20		43/00	1 1 1
	43/00	1 1 1	C 0 7 K	14/47
C 0 7 K	14/47			16/18
	16/18		C 1 2 P	21/02
C 1 2 N	5/10			C
C 1 2 P	21/02		C 1 2 Q	1/02
	1/02			1/68
C 1 2 Q	1/02		G 0 1 N	33/15
	1/68			33/50
G 0 1 N	33/15			33/53
	33/50			M
	33/53			Y
	33/566			
	33/58			A
	33/566		C 1 2 N	15/00
	33/58			5/00
				Z N A A
				B

(72)発明者 ベイリー, デイビッド エル.
 カナダ国 ブイ5ゼット 3ゼット3 ブ
 リティッシュ コロンビア, バンクーバ
 ー, ミルバンク 698

Fターム(参考) 2G045 AA40 BB20 CB01 DA12 DA13
 DA14 DA36 FB02 FB03 FB07
 4B024 AA01 AA11 BA80 CA04 CA09
 CA20 DA03 EA04 FA01 GA11
 GA27 HA13 HA14 HA17
 4B063 QA01 QA05 QQ21 QQ41 QQ43
 QQ53 QQ61 QQ89 QR32 QR35
 QR40 QR56 QR77 QR80 QS34
 QS39 QX02 QX05
 4B064 AG01 CA10 CA19 CC01 CC24
 DA01 DA13
 4B065 AA91Y AA93X AA93Y AB01
 BA02 CA24 CA44 CA46
 4C084 AA13 AA17 NA14 ZA051
 ZA061 ZA361 ZA421 ZC022
 4C086 AA01 AA02 EA16 MA01 MA04
 NA14 ZA05 ZA06 ZA36 ZA42
 ZC02
 4H045 AA10 AA11 AA20 AA30 BA10
 CA40 DA75 EA20 EA50 FA71
 FA74

专利名称(译)	新型哺乳动物钙通道和相关探针，细胞系和方法		
公开(公告)号	JP2003504020A	公开(公告)日	2003-02-04
申请号	JP2001508334	申请日	2000-07-04
申请(专利权)人(译)	Nyuromedo Technologies公司		
[标]发明人	スナッチテランスピー ベイリーデイビッドエル		
发明人	スナッチ, テランスピー. ベイリー, デイビッドエル.		
IPC分类号	G01N33/50 A61K31/7088 A61K38/00 A61K45/00 A61K48/00 A61P9/04 A61P9/06 A61P9/12 A61P25/08 A61P25/20 A61P43/00 C07K14/47 C07K14/705 C07K16/18 C12N5/10 C12N15/09 C12N15/12 C12P21/02 C12Q1/02 C12Q1/68 G01N33/15 G01N33/53 G01N33/566 G01N33/58		
CPC分类号	A61K38/00 A61P9/04 A61P9/06 A61P9/12 A61P25/08 A61P25/20 A61P43/00 C07K14/705		
FI分类号	A61K31/7088 A61K45/00 A61K48/00 A61P9/04 A61P9/06 A61P9/12 A61P25/08 A61P25/20 A61P43/00.111 C07K14/47 C07K16/18 C12P21/02.C C12Q1/02 C12Q1/68.A G01N33/15.Z G01N33/50.Z G01N33/53.M G01N33/53.Y G01N33/566 G01N33/58.A C12N15/00.ZNA.A C12N5/00.B		
F-TERM分类号	2G045/AA40 2G045/BB20 2G045/CB01 2G045/DA12 2G045/DA13 2G045/DA14 2G045/DA36 2G045/FB02 2G045/FB03 2G045/FB07 4B024/AA01 4B024/AA11 4B024/BA80 4B024/CA04 4B024/CA09 4B024/CA20 4B024/DA03 4B024/EA04 4B024/FA01 4B024/GA11 4B024/GA27 4B024/HA13 4B024/HA14 4B024/HA17 4B063/QA01 4B063/QA05 4B063/QQ21 4B063/QQ41 4B063/QQ43 4B063/QQ53 4B063/QQ61 4B063/QQ89 4B063/QR32 4B063/QR35 4B063/QR40 4B063/QR56 4B063/QR77 4B063/QR80 4B063/QS34 4B063/QS39 4B063/QX02 4B063/QX05 4B064/AG01 4B064/CA10 4B064/CA19 4B064/CC01 4B064/CC24 4B064/DA01 4B064/DA13 4B065/AA91Y 4B065/AA93X 4B065/AA93Y 4B065/AB01 4B065/BA02 4B065/CA24 4B065/CA44 4B065/CA46 4C084/AA13 4C084/AA17 4C084/NA14 4C084/ZA051 4C084/ZA061 4C084/ZA361 4C084/ZA421 4C084/ZC022 4C086/AA01 4C086/AA02 4C086/EA16 4C086/MA01 4C086/MA04 4C086/NA14 4C086/ZA05 4C086/ZA06 4C086/ZA36 4C086/ZA42 4C086/ZC02 4H045/AA10 4H045/AA11 4H045/AA20 4H045/AA30 4H045/BA10 4H045/CA40 4H045/DA75 4H045/EA20 4H045/EA50 4H045/FA71 4H045/FA74		
优先权	09/346794 1999-07-02 US		
其他公开文献	JP2003504020A5		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

我们将三种类型的哺乳动物T型钙通道亚基(已识别的人和大鼠序列)的序列和部分划分为 $\alpha 1G$, $\alpha 1$ 小时和 $\alpha 1I$ 亚基。提供一个数组。这些钙通道序列的知识使得能够从中定位和恢复完整序列,以及开表达本发明新型钙通道的细胞系。这些细胞可用于鉴定可以作为激动剂或拮抗剂作用于钙通道的化合物。

