

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2005-522187

(P2005-522187A)

(43) 公表日 平成17年7月28日(2005.7.28)

(51) Int. Cl. ⁷	F I	テーマコード (参考)	
C 1 2 N 15/09	C 1 2 N 15/00	Z N A A	4 B O 2 4
C 1 2 N 5/10	C 1 2 Q 1/02		4 B O 6 3
C 1 2 Q 1/02	G O 1 N 33/15	Z	4 B O 6 5
G O 1 N 33/15	C 1 2 N 5/00	B	

審査請求 未請求 予備審査請求 有 (全 86 頁)

(21) 出願番号	特願2003-534574 (P2003-534574)	(71) 出願人	503057112
(86) (22) 出願日	平成14年10月11日 (2002.10.11)		ザ レジェンツ オブ ザ ユニバーシテ
(85) 翻訳文提出日	平成16年5月21日 (2004.5.21)		ィー オブ カリフォルニア サン ディ
(86) 国際出願番号	PCT/US2002/032664		エゴ
(87) 国際公開番号	W02003/031604		アメリカ合衆国 カリフォルニア州 オー
(87) 国際公開日	平成15年4月17日 (2003.4.17)		克蘭ド 12ス フロアー フランクリ
(31) 優先権主張番号	60/328,993	(74) 代理人	100102978
(32) 優先日	平成13年10月12日 (2001.10.12)		弁理士 清水 初志
(33) 優先権主張国	米国 (US)	(72) 発明者	ウォルシュ ジョン エイチ.
			アメリカ合衆国 カリフォルニア州 ロサ
			ンジェルズ ルーム 115 ビルディン
			グ 115 ブイエイ メディカル セン
			ター ウエスト ロサンジェルズ

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 胃腸化学感覚受容体

(57) 【要約】

本発明は、胃腸内分泌細胞特異的Gタンパク質共役受容体の単離核酸およびアミノ酸配列、このような受容体の検出方法、およびこのような受容体のリガンドをスクリーニングする方法を提供する。さらに、本発明は、STC-1腸内分泌細胞が複数の苦味覚受容体ならびに味覚シグナル伝達を媒介して細胞内カルシウム濃度の変化を開始させる苦味化合物に応答するGタンパク質のサブユニットを発現することを証明する。現在、味覚受容体媒介シグナル伝達の機能的効果を決定するための培養細胞モデル系が存在しないことを考慮すると、本発明者らの所見により、STC-1細胞は、味覚媒介シグナル伝達の研究のための細胞モデルとして同定される。

【特許請求の範囲】

【請求項1】

受容体が、胃腸内分泌細胞中で発現し、配列番号：1、配列番号：3、配列番号：5、配列番号：7、配列番号：9、配列番号：11、もしくは配列番号：13からなる群より、または配列番号：15、17、19、21、23、25、27、29からなる群より、または配列番号：31、33、35、37、39、41、43、45、47、49、51、53、55、57、59、61、63、65、67からなる群より、または配列番号：69、71、73、75、77、79、81、83、85、87、89からなる群より選択される配列と60%を超える核酸配列同一性を構成する、化学感覚Gタンパク質共役受容体をコードする単離核酸。

【請求項2】

配列番号：2、配列番号：4、配列番号：6、配列番号：8、配列番号：10、配列番号：12、配列番号：14のアミノ酸配列を含む受容体をコードする、請求項1記載の単離核酸。

【請求項3】

配列番号：1、配列番号：3、配列番号：5および配列番号：7、配列番号：9、配列番号：11、または配列番号：13の核酸配列を含む、請求項1記載の単離核酸。

【請求項4】

マウス、ラット、またはヒト起源である、請求項1記載の単離核酸。

【請求項5】

配列番号：2、配列番号：4、配列番号：6、配列番号：8、配列番号：10、配列番号：12、配列番号：14からなる群より選択されるアミノ酸配列をコードする縮重プライマーと同一の配列にアニーリングするプライマーによって増幅される、請求項1記載の単離核酸。

【請求項6】

(i) 化合物を味覚Gタンパク質共役受容体ポリペプチドに接触させる工程であって、該ポリペプチドは、胃腸内分泌細胞中で発現し、(a) マウスGT2R:配列番号：2、4、6、8、10、12、14、16、18、20、22、24、26、28、30からなる群より、または(b) ラットGT2R:配列番号：32、34、36、38、40、42、44、46、48、50、52、54、56、58、60、62、64、66、68からなる群より、または(c) ヒトGT2R:配列番号：70、72、74、76、78、80、82、84、86、88、90からなる群より選択される配列と50%を超えるアミノ酸配列同一性を構成する工程と、

(ii) 該ポリペプチドに対する該化合物の機能的効果を決定する工程とを含む、胃腸内分泌細胞の化学感覚応答を改変する化合物を同定する方法。

【請求項7】

ポリペプチドが、Gタンパク質共役受容体活性を有する、請求項6記載の方法。

【請求項8】

機能的効果を、細胞内Ca²⁺、サイクリックヌクレオチド、リン酸化および脱リン酸化、ならびにpHの変化を測定することによって決定する、請求項6記載の方法。

【請求項9】

機能的効果を、ペプチドホルモンおよび神経伝達物質の放出を測定することによって決定する、請求項6記載の方法。

【請求項10】

ポリペプチドが天然型または組換え型である、請求項6記載の方法。

【請求項11】

ポリペプチドが、マウス、ラット、およびヒト起源である、請求項6記載の方法。

【請求項12】

ポリペプチドが、内分泌細胞および外分泌細胞、上皮細胞ならびに神経内分泌細胞を含むが排他的でない胃腸細胞で発現する、請求項6記載の方法。

【請求項13】

機能的効果を、受容体のリン酸化、内在化、および再分布の変化を測定することによって決定する、請求項6記載の方法。

【請求項14】

10

20

30

40

50

細胞が真核細胞である、請求項6記載の方法。

【請求項15】

ポリペプチドが、(a) マウスGT2R:配列番号:2、4、6、8、10、12、14、16、18、20、22、24、26、28、30からなる群より、または(b) ラットGT2R:配列番号:32、34、36、38、40、42、44、46、48、50、52、54、56、58、60、62、64、66、68からなる群より、または(c) ヒトGT2R:配列番号:70、72、74、76、78、80、82、84、86、88、90からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む、請求項6記載の方法。

【請求項16】

請求項1記載の核酸を含む、発現ベクター。

【請求項17】

請求項16記載のベクターを含む、単離細胞。

10

【請求項18】

味覚受容体媒介シグナル伝達のカモジュレーターを同定するための、GT2Rを天然に発現する天然のSTC-1腸内分泌細胞の使用。

【請求項19】

STC-1腸内分泌細胞を化合物に接触させる工程と、

STC-1細胞に対する該化合物の機能的効果を測定する工程とを含む、GT2R媒介シグナル伝達のカモジュレーターを同定するための請求項18記載の方法。

【請求項20】

カモジュレーターが、食物または薬学的成分、その分解産物、または夾雑物由来の味分子である、請求項18記載の方法。

20

【請求項21】

シグナル伝達を、細胞内Ca²⁺、サイクリックヌクレオチド、リン酸化および脱リン酸化、pH、ならびにコレシストキニン(CCK)放出の変化を測定することによって決定する、請求項18記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

政府の利益

本発明は、国立衛生研究所(National Institute of Health)によって授与された助成金番号DK17294の政府支援を使用して実施した。政府は、本発明に一定の権利を有する。

30

【0002】

発明の分野

本発明は、GI内分泌細胞特異的Gタンパク共役受容体の単離核酸およびアミノ酸配列、このような核酸および受容体を検出する方法、ならびにGI特異的Gタンパク質共役受容体の天然および人工リガンドのスクリーニングモデルを提供する。

【背景技術】

【0003】

発明の背景

味覚系は、栄養になる有益な化合物ならびに有害または有毒な物質を検出するために進化過程において選択された(Hernessら、Annu.Rev.Physiol.、61、873~900、1999)。特に、苦味は、有毒な可能性のある物質の摂取に対する中心的な警戒信号として進化してきた(Glendinningら、Behav.Neurosci.、113、840~854、1999)。最近、舌中の味蕾内に組織されている特殊化神経上皮味覚受容体細胞で発現される大きな苦味覚受容体(T2R)ファミリーが、ヒトおよびげっ歯類で同定されている(Chandrashekarら、Cell、100、703~711、2000;Adlerら、Cell、100、693~702、2000;Matsunamiら、Nature(London)、404、601~604、2000)。推定7回膜貫通ドメインによって特徴付けられるグアニンヌクレオチド結合調節タンパク質(Gタンパク質)共役受容体(GPCR)スーパーファミリーに属するこれらの推定味覚受容体は、V1R鋤鼻受容体およびオプシンと遠戚関係にある(Adlerら、Cell、100、693~702、2000)。遺伝的および生化学的証拠は、特異的G、サブユニ

40

50

ット、ガストデューション (G_{gust})、およびトランスデューション (G_t) が舌上皮の味蕾における苦味および甘味の味覚シグナルを媒介することを示す (Ruiz-Avilaら、Nature (London)、376、80~85、1995; Wongら、Nature (London)、381、796~800、1996; Mingら、Proc. Natl. Acad. Sci. USA、96、9903~9908、1999)。

【0004】

舌の外側では、 G_{gust} の発現は胃細胞 (Hoeflerら、Proc. Natl. Acad. Sci. USA、93、6631~6634、1996) および膵臓細胞 (Hoeflerら、1998、Histochem. Cell. Biol.、110、303~309、1998) にも局在しており、味覚機構が胃腸 (GI) 管にも存在する可能性が示唆される。しかし、 G_{gust} を発現する細胞の全てが受容体のT2Rファミリーのメンバーを同時発現するわけではない (Adlerら、Cell、100、693~702、2000)。例えば、舌の茸状乳頭中のほとんどの G_{gust} 陽性味覚受容体細胞はT2R陰性であり、 G_{gust} は他の受容体を介したシグナル伝達も媒介しうることを示唆する (Wongら、Nature (London)、381、796~800、1996)。胃粘膜および腸粘膜が分子感知の役割を果たすことを確立し、関連するシグナル伝達機構を解明するために、胃または腸上皮の味覚受容体遺伝子転写物を同定することは極めて重要である。

10

【0005】

味覚系に加えて、嗅覚系は、化学的に異なる構造から構成される何千もの臭気 (臭気物質) を区別しなければならない。一般に、一次嗅覚受容体ニューロンは、吸入した臭気物質と直接接触する嗅覚上皮に存在すると認識されている。臭気物質が嗅覚ニューロン表面に存在する特異的GPCRと相互作用して、特異的ヘテロ三量体Gタンパク質 (G_{olf}) を活性化してcAMPの蓄積を促進した場合、臭気物質シグナル伝達を開始される (Ronnettら、Annu. Rev. Physiol.、64、189~222、2002)。しかし、いくつかの研究により、嗅覚受容体遺伝子に密接に関連する受容体が嗅覚上皮以外の組織で発現している可能性が示されている。この所見により、この化学感覚受容体ファミリーの別の生物学的役割が存在する可能性が示唆される。

20

【0006】

ヒトおよびマウス赤血球 (Feingoldら、Genomics、61、15~23、1999)、成長中のラットの心臓 (Drutelら、Recept. Channel、3、33~40、1995)、鳥類脊索 (Nefら、Proc. Natl. Acad. Sci. USA、94、4766~71、1997)、および舌上皮 (Abeら、FEBS Lett.、316、253~56、1993) での種々の嗅覚受容体の発現が報告された。嗅覚受容体存在の最もよい事例は、哺乳動物嗅覚GPCRに関連する遺伝子が睾丸で転写されて成熟精子表面で発現することが見出され、嗅覚受容体の精子走化性における可能な役割が示唆されていることである (Walenskyら、J. Biol. Chem.、273、9378~87、1998)。本発明者らは、味覚受容体に加えて、胃腸管内の腸内分泌細胞または他の細胞型が臭気物質受容体および対応するシグナル伝達物質 (G_{olf}) を発現することができる可能性を考えた。

30

【0007】

胃腸管の管腔内容物の分子感知は、運動性、GIホルモンの放出、および膵胆管 (pancreatobiliary) 分泌を制御するだけでなく、摂取した薬物および毒素の検出、それによる生存に重要な応答の開始も担う。20種を超える同定されたホルモンを産生および放出する腸内分泌細胞は、これらの生理学的応答の調和および調整に重要な役割を果たすと考えられる。 (Furnessら、Am. J. Physiol.、277、G922~G928、1999)。これらの基本的調節系は数十年前より公知であるにもかかわらず、管腔内容物の化学組成物を感知する最初の分子認識事象は理解されていないままである。

40

【0008】

食物の摂取、消化、および毒物拒絶における化学感覚の重要性の観点からの、味覚および嗅覚受容体の発現が関心対象である。化学感覚受容体 (味覚イオンチャネルを含む) およびシグナル伝達分子の同定および単離により、味覚伝達経路が薬理学的および遺伝学的に調整される。例えば、受容体およびチャネル分子の利用可能性により、化学感覚細胞活性の高親和性アゴニスト、アンタゴニスト、逆アゴニスト、およびモジュレーターをスクリーニング可能である。このような化合物を、味をカスタマイズするために医薬品および

50

食品工業で使用することができる。

【発明の開示】

【0009】

発明の概要

本発明は、薬物および毒素を含む摂取物質の化学成分を知覚する味覚受容体ファミリーであって、GI管における分子感知の理解および腸内のこれらの受容体の機能を改変する新規の治療化合物の開発に重要な意味を有する胃および腸の味覚受容体ファミリーを同定する。このような治療化合物は、胃腸の運動性および反射、粘膜成長、イオンおよび酵素の分泌、満腹および食欲の公知のレギュレーターであるペプチドホルモンおよび神経伝達物質の放出に対する機能的効果を有する。治療化合物はまた、味の感受性および適合性を改変する、受容体のリン酸化、内在化、および再分布を変化させうる。

10

【0010】

1つの局面では、本発明は、(a) マウスGT2R:配列番号:2、4、6、8、10、12、14、16、18、20、22、24、26、28、30からなる群より、または(b) ラットGT2R:配列番号:32、34、36、38、40、42、44、46、48、50、52、54、56、58、60、62、64、66、68からなる群より、または(c) ヒトGT2R:配列番号:70、72、74、76、78、80、82、84、86、88、90からなる群より選択されるアミノ酸配列と、少なくとも50%のアミノ酸同一性、通常60%を超える配列同一性を有し、70%、80%、または90%の同一性を有しうる胃腸管味覚伝達Gタンパク質共役受容体(本明細書中では、GT2Rという)をコードする単離核酸を提供する。

20

【0011】

1つの局面では、本発明は、(a) マウスGT2R:配列番号:2、4、6、8、10、12、14、16、18、20、22、24、26、28、30からなる群より、または(b) ラットGT2R:配列番号:32、34、36、38、40、42、44、46、48、50、52、54、56、58、60、62、64、66、68からなる群より、または(c) ヒトGT2R:配列番号:70、72、74、76、78、80、82、84、86、88、90からなる群より選択される膜貫通ドメイン配列と、少なくとも60%のアミノ酸配列同一性、通常70%を超える同一性を有し、80%または90%の同一性を有しうる、感覚伝達Gタンパク質共役受容体の膜貫通ドメインを含む単離ポリペプチドを提供する。

【0012】

別の局面では、本発明は、(a) マウスGT2R:配列番号:2、4、6、8、10、12、14、16、18、20、22、24、26、28、30からなる群より、または(b) ラットGT2R:配列番号:32、34、36、38、42、44、46、48、50、52、54、56、58、60、62、64、66、68からなる群より、または(c) ヒトGT2R:配列番号:70、72、74、76、78、80、82、84、86、88、90からなる群より選択されるアミノ酸配列と約50%を超えるアミノ酸配列同一性を有するポリペプチドをコードする核酸を含む発現ベクターを提供する。

30

【0013】

別の局面では、本発明は、配列番号:1、配列番号:3、配列番号:5、配列番号:7、配列番号:9、配列番号:11、配列番号:13からなる群より選択される配列を含む内因性GT2Rを発現する宿主細胞株STC-1を提供する。別の局面では、本発明は、(a) マウスGT2R:配列番号:15、17、19、21、23、25、27、29からなる群より、または(b) ラットGT2R:配列番号:31、33、35、37、41、43、45、47、49、51、53、55、57、59、61、63、65、67からなる群より、または(c) ヒトGT2R:配列番号:69、71、73、75、77、79、81、83、85、87、89からなる群より選択される配列を含む組換えGT2Rを含む発現ベクターでトランスフェクトすることができる宿主細胞株STC-1を提供する。

40

【0014】

別の局面では、本発明は、(i) 化合物を味覚伝達Gタンパク質共役受容体ポリペプチドに接触させる工程であって、ポリペプチドが、STC-1細胞中で発現し、配列番号:2、配列番号:4、または配列番号:6、および配列番号:8、配列番号:10、配列番号:12、配列番号:14からなる群より選択される配列と60%を超えるアミノ酸同一性を有する工程と、(ii) 前記ポリペプチドに対する前記化合物の機能的効果を決定する工程とを含む、胃腸

50

化学感覚細胞の味覚シグナル伝達を調整する化合物を同定する方法を提供する。

【0015】

1つの態様では、ポリペプチドは、(a) マウスGT2R:配列番号:2、4、6、8、10、12、14、16、18、20、22、24、26、28、30からなる群より、または(b) ラットGT2R:配列番号:32、34、36、38、42、44、46、48、50、52、54、56、58、60、62、64、66、68からなる群より、または(c) ヒトGT2R:配列番号:70、72、74、76、78、80、82、84、86、88、90からなる群より選択されるポリペプチドと、約50%を超えるアミノ酸同一性、通常少なくとも60%の配列同一性を有し、70%、80%、または90%の同一性を有しうる、味覚Gタンパク質共役受容体である。別の態様では、ポリペプチドは、Gタンパク質共役受容体活性を有する。別の態様では、機能的効果を、細胞内cAMP、IP3、またはCa²⁺の変化の測定によって決定する。別の態様では、機能的効果は、化学的効果である。別の態様では、機能的効果を、化合物の結合ドメインへの結合の測定によって決定する。別の態様では、ポリペプチドは組換え型である。別の態様では、ポリペプチドは、マウス、ラット、またはヒト由来である。別の態様では、ポリペプチドは、胃腺、腸腺、細胞株、または細胞膜で発現される。別の態様では、細胞は真核細胞である。

10

【0016】

発明の詳細な説明

本発明は、マウス、ラット、およびヒトの胃腸管由来の味覚伝達Gタンパク質共役受容体ファミリーをコードする新規の核酸配列を提供する。本発明はまた、舌外のGI管に存在する公知のT2Rホモログの同一性およびいくつかの部分的に特徴付けられたT2Rフラグメントの全配列を初めて提供する。これらの核酸およびこれらがコードする受容体を、胃腸味覚受容体については「GT2R」といい、GT2R-s (STC-1細胞由来の配列番号:1~14)、GT2R-m (マウスGI粘膜由来の配列番号:15~30)、GT2R-r (ラットGI粘膜由来の配列番号:31~68)、およびGT2R-h (ヒトGI cDNA由来の配列番号:69~90)と命名する。

20

【0017】

これらの特異的GT2Rおよびその一次共役Gタンパク質G_tおよびG_{gust}は、味覚伝達経路の構成要素である(実施例1を参照のこと)。これらの核酸は、特にGI管または細胞株で発現するので、味覚細胞の同定のための価値あるプローブを提供する。例えば、GT2Rポリペプチドおよびタンパク質のプローブを使用して、腸管ニューロンなどの化学感覚細胞または特異的内分泌細胞(例えば、腸クロム親和性(EC)細胞、腸クロム親和性様(EC)細胞、およびCCK産生細胞)のサブセットを同定することができる。さらに、核酸およびこれらがコードするタンパク質を、味覚誘導性挙動の分析のためのプローブとして使用することができる。

30

【0018】

本発明はまた、これらの新規のGT2Rのリガンド/モジュレーター(例えば、アクチベーター、インヒビター、ステイミュレーター、エンハンサー、アゴニスト、およびアンタゴニスト)のスクリーニング方法を提供する。味覚伝達のこのようなモジュレーターは、味覚シグナル伝達経路の薬理学的および遺伝学的調整に有用である。これらのスクリーニング方法を使用して、GI化学感覚細胞活性の高親和性アゴニストおよびアンタゴニストを同定することができる。次いで、これらの調整化合物を、腸内での味覚をカスタマイズするために食品工業および医薬品工業で使用することができる。したがって、本発明は、GT2Rがシグナル伝達に対するモジュレーター効果のための直接または間接的受容体分子として作用する、味覚調整アッセイを提供する。例えば、インピトロ、インピボ、およびエクスピボにおける、イオン濃度、膜電位、電流、イオンの流れ、転写、シグナル伝達、受容体-リガンド相互作用、二次メッセンジャー濃度の変化を測定するために、GT2Rをアッセイで使用することができる。1つの態様では、GT2Rを、緑色蛍光タンパク質などの第2のレポーター分子への結合を介する間接的レポーターとして使用することができる(例えば、Mistili & Spector, Nature Biotechnology, 15, 961~964, 1997を参照のこと)。別の態様では、細胞中でGT2Rが発現し、GT2R活性を介したシグナル伝達の調整を、Ca²⁺レベルの変化の測定によってアッセイする(実施例2を参照のこと)。

40

50

【0019】

味覚伝達のもジュレーターのアッセイ方法には、GT2R-S1、膜貫通ドメインなどのその一部、または1つもしくは複数のGT2R-S1ドメインを含むキメラタンパク質を使用するインビトロリガンド結合アッセイ;組織培養細胞GT2R-S1発現;GT2R-S1の転写活性化;GT2Rのリン酸化および脱リン酸化;GT2RへのGタンパク質結合;リガンド結合アッセイ;電圧;膜電位および膜コンダクタンスの変化;イオン流アッセイ;cAMPおよびイノシトール三リン酸などの細胞内二次メッセンジャーの変化;細胞内カルシウムレベルの変化;およびホルモンまたは神経伝達物質の放出が含まれる。

【0020】

最後に、本発明は、味覚伝達制御の調査および味覚受容体細胞の特異的同定を可能にするGT2R-S1核酸およびタンパク質発現の検出方法を提供する。GT2R-S1は、EC、ECL、および/またはCCK産生細胞などの化学感覚内分泌細胞の下位集団の同定用の核酸プローブとして有用である。GT2R-S1受容体を使用して、味覚内分泌細胞の同定に有用なポリクローナル抗体およびモノクローナル抗体を作製することもできる。mRNAの逆転写および増幅、総RNAもしくはポリA⁺ RNAの単離、ノーザンブロッティング、インサイチュハイブリダイゼーション、RNアーゼ保護、プロービングDNAマイクロチップアレイ、ウェスタンブロットなどの技術を使用してこれらの細胞を同定することもできる。

【0021】

GT2R遺伝子は、巨大な苦味覚受容体T2Rファミリーの一部である。哺乳動物ゲノムでは、ほとんどのT2R遺伝子は、いくつかの遺伝子クラスターのうちの1つに存在する。例えば、マウス第6染色体には、7、6、および27個の遺伝子(および偽遺伝子)を含む3つの遺伝子クラスターが同定されている。ヒトでは、第12染色体上に見出された2つの遺伝子クラスターは14個および5個の遺伝子を含み、第7染色体上に存在する別のクラスターは10個の遺伝子を含んでいる。マウスおよびヒトゲノムはそれぞれ少なくとも40~50種の異なるT2R遺伝子を含み得ることが推定されている。GT2Rをコードする遺伝子の染色体局在化を使用して、ヒトにおけるGT2Rに関連する疾患、代謝障害、および形質を同定し、罹患個体をより良好に予防および治療する栄養補助食品および遺伝子ターゲティング研究のための動物モデルを開発することができる。

【0022】

機能的には、GT2Rは、Gタンパク質と相互作用する苦味覚伝達に關与する7回膜貫通Gタンパク質共役受容体(味覚シグナル伝達を媒介するためのG_tまたはG_{gust})を示す(例えば、Fong、Cell Signal、8、217、1996;Baldwin、Curr.Opin.Cell Biol.、6、180、1994、および実施例3を参照のこと)。

【0023】

構造的には、GT2Rのヌクレオチド配列(例えば、マウス由来の配列番号:1、3、5、または7を参照のこと)は、推定分子量が約38kDaおよび推定範囲が35~40kDaの約300~350個のアミノ酸のポリペプチドをコードする(例えば、配列番号:2を参照のこと)。同種由来のGT2R遺伝子は、少なくとも約25アミノ酸長、選択的に50~100アミノ酸長の領域にわたって、少なくとも約50%のアミノ酸同一性を共有する。

【0024】

GT2Rメンバーは、GI管での発現が異なる。mT2R19と同様に、GT2R-S1は幽門、胃底、および十二指腸で豊富に発現し、GT2R-S7はこれらの組織中に中程度に豊富な配列である。他方では、GT2R-S2はあまり豊富ではなく、mT2R21はSTC-1および胃粘膜でほとんど発現しない(実施例1および4を参照のこと)。核酸プローブおよびプライマーの提供に加えて、本発明はまた、GI管およびSTC-1細胞株におけるG_{t-2}またはG_{gust}発現細胞中でのT2R転写のGI特異的発現をモニターするために使用することができるGT2Rプロモーターのヌクレオチド配列を提供する。

【0025】

mT2R5における4個のアミノ酸の相違により、シクロヘキシミド知覚種(taster)(DBA/2J)と非知覚種(non-taster)(C57BL/6J)に分かれることが報告されている(Chandras

10

20

30

40

50

hekarら、Cell、100、703~711、2000)。本発明はまた、本明細書中に提供したGT2Rタンパク質の多型バリエーションを提供する。例えば、GT2R-S2は、11個のアミノ酸が置換されたmT2R23と高度に相同であり、GT2R-S7は2個のアミノ酸のみを変化させるとmT2R2と同一である。部分配列GT2R-S5-1は、5個のアミノ酸が置換されているmT2R7と密接に関連する。したがって、味覚シグナル伝達を増強または除去することができる天然のバリエーションまたはミュータントにおける重要な残基の同定により、味分子を改変するための有用な標的が得られる。

【0026】

GT2R発現STC-1細胞系の同定により、リガンド結合、Gタンパク質の共役および活性化、リン酸化および脱リン酸化、細胞内二次メッセンジャー、ホルモン放出を測定するためのインビトロアッセイを使用した、味覚伝達物質（特に、苦味物質）としてのT2Rのインヒビターおよびアクチベーターのスクリーニング手段も提供される（実施例5を参照のこと）。このようなアクチベーターおよびインヒビターは、味の改変および栄養価の付加に有用な医薬品および食用薬剤（food agent）である。

10

【0027】

11. 定義

本明細書中で使用される、以下の用語は、特記しない限り、これらの用語に対して記載した意味を有する。

【0028】

「胃腸内分泌細胞」は、胃腺および腸腺に存在するホルモンおよび神経伝達物質産生細胞（例えば、腸クロム親和性（EC）細胞、腸クロム親和性様（ECL）細胞、およびコレシストキニン産生細胞、または腫瘍細胞STC-1）である。

20

【0029】

「GT2R」は、胃腸味覚受容体を示し、STC-1およびGI組織中に特異的に発現するGタンパク質共役受容体をいう。このような化学感覚細胞は、G_{gust}（味細胞特異的Gタンパク質）などの特異的分子を発現するので、同定することができる（McLaughlinら、Nature、357、563~569、1992）。形態学に基づいて内分泌細胞を同定することもできる（Norlenら、J.Histochem.Cytochem.、49、9~18、2001）。

【0030】

GT2Rは、「Gタンパク質共役受容体活性」（例えば、細胞外刺激にตอบสนองしてGタンパク質に結合し、ホスホリパーゼC（PLC）およびアデニルシクラーゼなどの酵素刺激を介してイノシトール三リン酸（IP3）、cAMP、およびCa²⁺などの二次メッセンジャーの産生を促進する）を有する7回膜貫通領域を有するGPCRをコードする（GPCRの構造および機能の説明については、例えば、Fong、前記およびBaldwin、前記を参照のこと）。

30

【0031】

したがって、「GT2R」という用語は、（1）約25個のアミノ酸、選択的に50~100個のアミノ酸範囲（window）にわたって配列番号：2、配列番号：4、配列番号：6、配列番号：8と約60%のアミノ酸配列同一性を有する、（2）ストリンジェントなハイブリダイゼーション条件下で、配列番号：1、配列番号：3、配列番号：5、配列番号：7、およびこれらの保存的に改変されたバリエーションからなる群より選択される配列と特異的にハイブリダイズする（少なくとも約500、選択的に少なくとも約900ヌクレオチドのサイズを有する）、または（3）ストリンジェントなハイブリダイゼーション条件下で、配列番号：1、配列番号：3、配列番号：5、配列番号：7をコードする縮重プライマーセットと同一の配列と特異的にハイブリダイズするプライマーによって増幅される、多型バリエーション、対立遺伝子、ミュータント、および種間ホモログをいう。

40

【0032】

形態的には、味覚GPCRは、短いN末端「細胞外ドメイン」、7回膜貫通領域および対応する細胞質ループおよび細胞外ループを含む「膜貫通ドメイン」、およびC末端「細胞質ドメイン」を有する（Buck&Axel、Cell、65、175~187、1991を参照のこと）。疎水性および親水性ドメインを同定する配列分析プログラムなどの当業者に公知の方法を使用してこ

50

これらのドメインを構造的に同定することができる（例えば、Kyte&Doolittle、J.Mol.Biol.、157、105～132、1982を参照のこと）。このようなドメインは、本発明のキメラタンパク質の作製およびインビトロアッセイに有用である。

【0033】

「細胞外ドメイン」は、細胞膜から突出して細胞の外部表面に曝されたGT2Rポリペプチドのドメインをいう。このようなドメインは、「N末端ドメイン」および膜貫通ドメインの間（例えば、膜貫通領域2と3との間および膜貫通領域4と5との間）の「細胞外ループ」を含む。

【0034】

7回膜貫領域を含む「膜貫通ドメイン」は、原形質膜内に存在するGT2Rポリペプチドのドメインをいう。

10

【0035】

「細胞質ドメイン」は、細胞の内側に面するGT2Rポリペプチドのドメインをいう。このようなドメインは、「C末端ドメイン」および膜貫通ドメインの間（例えば、膜貫通領域1と2との間および膜貫通領域3と4との間）の「細胞内ループ」を含む。「C末端ドメイン」は、最後の膜貫通ドメインの末端からポリペプチドのC末端にわたる領域をいう。

【0036】

「GPCR活性」は、GPCRが味覚シグナルを伝達する能力をいう。このような活性を、Gタンパク質、 $G_{\text{ Gust}}$ 、または G_{15} などの無差別な（promiscuous）Gタンパク質、およびPLCなどの酵素へのGPCRへの共役および使用する細胞内カルシウムの増加の測定によって、GPCRを発現する天然の細胞株（例えば、SCT-1）および異種細胞で測定することができる（Offermans&Simon、J.Biol.Chem.、270、15175～15180、1995）。受容体活性を、蛍光 Ca^{2+} 指示色素および蛍光画像化を使用した $[\text{Ca}^{2+}]_i$ のリガンド誘導変化の記録によって有効に測定することができる。

20

【0037】

GT2R媒介シグナル伝達を調整する化合物を試験するためのアッセイの文脈での句「機能的効果」には、受容体の影響下での間接的または直接的な、例えば、機能的、物理的、および化学的効果である任意のパラメーターの決定が含まれる。これには、インビトロ、インビボ、およびエクスピボでの、リガンド結合、イオン流の変化、膜電位、電流、転写、Gタンパク質結合、受容体のリン酸化もしくは脱リン酸化、受容体の内在化および再分布、受容体-リガンド相互作用、二次メッセンジャー濃度（例えば、cAMP、IP3、または細胞内 Ca^{2+} ）が含まれ、神経伝達物質もしくはホルモン放出の増減などの他の生理学的効果も含まれる。

30

【0038】

「機能的効果の決定」は、GT2Rの影響下での間接的または直接的な、例えば、機能的、物理的、および化学的効果であるパラメーターを増減させる化合物のアッセイを意味する。このような機能的効果を、当業者に公知の任意の手段（例えば、分光学的特徴（例えば、蛍光、吸光度、屈折率）の変化、水力学的特性（例えば、形状）、クロマトグラフ特性、または可溶性、パッチクランピング、電位感受性色素、細胞全体の電流（whole cell current）、放射性同位体の流出、誘導性マーカー、組織培養細胞GT2R発現；GT2Rの転写活性化；リガンド結合アッセイ；電圧、膜電位、および伝導性の変化；イオン流アッセイ；cAMPおよびIP3などの細胞内二次メッセンジャーの変化；細胞内カルシウムレベルの変化；ホルモンおよび神経伝達物質の放出など）によって測定することができる。

40

【0039】

GT2Rの「インヒビター」、「アクチベーター」、および「モジュレーター」は、インビトロおよびインビボシグナル伝達アッセイを使用して同定される、阻害、活性化、または調整分子（例えば、リガンド、アゴニスト、アンタゴニスト、およびそのホモログおよび模倣物）をいうために交換可能に使用される。インヒビターは、例えば、結合して、味覚伝達の刺激を部分的もしくは全体的に遮断するか、活性化を減少するか、防止するか、遅らせるか、不活化させるか、脱感作するか、下方制御する化合物（例えば、アンタゴニス

50

ト)である。アクチベーターは、例えば、結合して味覚伝達の活性化を刺激するか、増加させるか、広げるか、活性化するか、促進するか、増強するか、感作するか、上方制御する化合物(例えば、アゴニスト)である。モジュレーターには、例えば、アクチベーターまたはインヒビターに結合する細胞外タンパク質;Gタンパク質;キナーゼ(例えば、ロドプシンキナーゼおよび受容体の不活化および脱感作に關与する アドレナリン作動性受容体キナーゼのホモログ);ならびに受容体を不活化および脱感作するアレスチン様タンパク質との受容体の相互作用を変化させる化合物が含まれる。モジュレーターには、例えば、活性が変化したGT2Rの遺伝子改変異形ならびに天然および合成のリガンド、アンタゴニスト、アゴニスト、および化学的小分子などが含まれる。このようなインヒビターおよびアクチベーターアッセイには、例えば、細胞または細胞膜でのGT2Rの発現、推定モジュレーター化合物の適用、および上記の味覚伝達に対する機能的効果の決定が含まれる。潜在的なアクチベーター、インヒビター、またはモジュレーターで処理したGT2Rを含むサンプルまたはアッセイを、阻害範囲を試験するためにインヒビター、アクチベーター、またはモジュレーターを含まない対照サンプルと比較する。対照サンプル(インヒビターで未処理)に、100%の相対GT2R活性値を割り当てる。GT2R活性の値が対照と比較して約50%またはそれ以下である場合、GT2Rの有意な阻害が達成されたとする。GT2R活性の値が対照と比較して150%、選択的に200~500%またはそれ以上である場合、GT2Rの有意な活性化が達成されたとする。

【0040】

特に示さない限り、特定の核酸配列は、明確に示された配列に加えて、保存的に改変されたバリエーション(例えば、縮重コドン置換)および相補配列も暗黙のうちに含む。詳細には、1つまたは複数の選択された(または全ての)コドンの第3の位置を、混合した塩基および/またはデオキシイノシン残基と置換した配列を作製することによって、縮重コドン置換を行うことができる(Batzerら、Nucleic Acid Res.、19、5081、1991;Ohtsukaら、J.Biol.Chem.、260、2605~2608、1985;Rossoliniら、Mol.Cell.Probes、8、91~98、1994)。「核酸」という用語を、遺伝子、cDNA、mRNA、オリゴヌクレオチド、およびポリヌクレオチドと交換可能に使用する。

【0041】

「ポリペプチド」、「ペプチド」、および「タンパク質」という用語を、アミノ酸残基のポリマーをいうために本明細書中で交換可能に使用する。この用語は、1つまたは複数のアミノ酸残基が、対応する天然に存在するアミノ酸の人為的な化学的模倣物である、アミノ酸ポリマー、ならびに天然に存在するアミノ酸ポリマー、および天然に存在しないアミノ酸ポリマーに適用する。

【0042】

「アミノ酸」という用語は、天然に存在するアミノ酸および合成アミノ酸、ならびに天然に存在するアミノ酸と類似の様式で機能するアミノ酸アナログおよびアミノ酸模倣物をいう。天然に存在するアミノ酸は、遺伝コードによってコードされるアミノ酸、ならびにその後例えばヒドロキシプロリン、 γ -カルボキシグルタミン酸、およびO-ホスホセリンで修飾されたアミノ酸である。アミノ酸アナログは、天然に存在するアミノ酸と同じ基本的化学構造を有する化合物(すなわち、水素、カルボキシル基、アミノ基、およびR基(例えば、ホモセリン、ノルロイシン、メチオニンスルホキシド、メチオニンメチルスルホニウム)に結合した炭素)をいう。このようなアナログは、修飾R基(例えば、ノルロイシン)または修飾ペプチド骨格を有するが、天然に存在するアミノ酸と同じ基本的化学構造を保持している。アミノ酸模倣物は、アミノ酸の全体的な化学構造は異なるが、天然に存在するアミノ酸と類似の様式で機能する構造を有する化合物をいう。

【0043】

本明細書において、一般的に公知の3文字表記またはIUPAC-IUB生化学命名委員会が推奨する1文字表記によってアミノ酸を表すことがある。同様に、一般的に認められている1文字コードによってヌクレオチドを表すことがある。「保存的に修飾されたバリエーション」を、アミノ酸配列および核酸配列の両方に適用する。特定の核酸配列に関して、保存的に

修飾されたバリエーションは、同一もしくは本質的に同一のアミノ酸配列をコードする核酸をいうか、核酸がアミノ酸配列をコードしない場合、本質的に同一の配列をいう。遺伝コードの縮重により、多数の機能的に同一の核酸が任意の所与のタンパク質をコードする。例えば、コドンGCA、GCC、GCG、およびGCUは全てアミノ酸アラニンをコードする。したがって、アラニンがコドンによって特定される全ての位置で、コードされるポリペプチドを変化させることなく、コドンを任意の対応する記載のコドンに変化させることができる。このような核酸のバリエーションは、保存的に修飾されたバリエーションの一種である「サイレントバリエーション」である。ポリペプチドをコードする本明細書中の各核酸配列は、核酸の全ての可能なサイレントバリエーションも説明する。当業者は、核酸中の各コドン（通常メチオニンのみコドンであるAUGおよび通常トリプトファンのみコドンであるTGGを除く）を修飾して機能的に同一の分子を得ることができることを認識する。したがって、ポリペプチドをコードする核酸の各サイレントバリエーションが記載の各配列中に潜在する。

10

【0044】

アミノ酸配列に関して、当業者は、コードされた配列の1つのアミノ酸または少数のアミノ酸を変化、添加、または欠失させる核酸、ペプチド、ポリペプチド、またはタンパク質配列の各置換、欠失、または付加は、変化によってアミノ酸が化学的に類似のアミノ酸に置換される「保存的に修飾されたバリエーション」であることを認識する。機能的に類似のアミノ酸を提供する保存的置換表は、当技術分野において周知である。このような保存的に修飾されたバリエーションは、本発明の多型バリエーション、種間ホモログ、および対立遺伝子

20

【0045】

本明細書中で使用される、「核酸プローブまたはオリゴヌクレオチド」を、1つまたは複数の化学結合型、通常相補的塩基対合、通常水素結合形成によって相補配列の標的核酸に結合することができる核酸と定義する。本明細書中で使用される、「プローブ」は、天然（すなわち、A、G、C、またはT）または修飾塩基（7-デアザグアノシン、イノシンなど）を含み得る。さらに、プローブ中の塩基を、ハイブリダイゼーションを妨害しない限り、ホスホジエステル結合以外の結合によって連結することができる。したがって、例えば、プローブは、構成塩基がホスホジエステル結合ではなくペプチド結合によって結合されたペプチド核酸であり得る。プローブは、ハイブリダイゼーション条件のストリンジエンシーに依存してプローブ配列と完全な相補性を欠く標的配列に結合しうるものが当業者に理解される。プローブは、同位体、発色団、発光団、色素原で選択的に直接標識されるか、後にストレプトアビジン複合体が結合しうるビオチンなどで間接的に標識される。プローブの有無のアッセイにより、選択した配列またはサブシーケンス（subsequence）の有無を検出することができる。

30

【0046】

「組換え」という用語は、例えば、細胞、核酸、タンパク質、またはベクターに関して使用する場合、細胞、核酸、タンパク質、またはベクターを、異種核酸もしくはタンパク質の導入または天然の核酸もしくはタンパク質の変化によって改変することを示すか、細胞がこのように改変された細胞に由来することを示す。したがって、例えば、組換え細胞は、天然（非組換え）型の細胞内で見出されない遺伝子を発現するか、異常に発現されるか、過小発現されるか、全く発現されない天然の遺伝子を発現する。

40

【0047】

「異種」という用語は、核酸の一部に関して使用する場合、核酸が天然で互いに同じ関係で見出されない2つまたはそれ以上のサブシーケンスを含むことを示す。例えば、核酸は、典型的には組換えによって産生され、新規の機能的核酸が得られるように配置された無関係の遺伝子由来の2つまたはそれ以上の配列（例えば、ある供給源由来のプロモーターおよび別の供給源由来のコード領域）を有する。同様に、異種タンパク質とは、タンパク質が天然で互いに同じ関係で見出されない2つまたはそれ以上のサブシーケンスを有することを示す（例えば、融合タンパク質）。

50

【0048】

「プロモーター」を、核酸の転写を指示する核酸調節配列のアレイと定義する。本明細書中で使用される「プロモーター」は、転写開始部位付近の必要な核酸配列を含む（ポリメラーゼII型プロモーターの場合、TATAエレメントなど）。プロモーターはまた、選択的に、転写開始部位から数千塩基対離れて存在し得る遠位エンハンサーまたはリプレッサーエレメントを含む。「構成性」プロモーターは、ほとんどの環境および開発条件下で活性化プロモーターである。「誘導性」プロモーターは、環境または開発調節下で活性化プロモーターである。「作動可能に連結された」という用語は、核酸発現調節配列（プロモーター（転写因子結合部位のアレイ）など）と第2の核酸配列との間での、発現調節配列が第2の配列に対応する核酸の転写を指示する機能的結合をいう。

10

【0049】

「発現ベクター」は、宿主細胞中で特定の核酸を転写する一連の特定の核酸エレメントを使用して組換えまたは合成によって作製された核酸構築物である。発現ベクターは、プラスミド、ウイルス、または核酸フラグメントの一部であり得る。典型的には、発現ベクターは、プロモーターに物理的に結合した転写されるべき核酸を含む。

【0050】

「同一」またはパーセント「同一性」という用語は、2つまたはそれ以上の核酸またはポリペプチド配列の文脈において、比較範囲、すなわち以下の配列比較アルゴリズムの1つを使用するかもしくは手動のアラインメントおよび目視によって測定した指定領域において、最大一致のために比較および整列させた場合に、同じであるか、特定のパーセンテージで同じアミノ酸残基またはヌクレオチドを有する（すなわち、特定の領域にわたって、70%の同一性、選択的に75%、80%、85%、90%、または95%の同一性）、2つまたはそれ以上の配列またはサブシーケンスをいう。このような配列を、「実質的に同一」とであるという。この定義はまた、試験配列の相補性をいう。選択的に、同一性は、少なくとも約50アミノ酸長またはヌクレオチド長の領域にわたって、より好ましくは75~100アミノ酸長またはヌクレオチド長の領域にわたって存在する。

20

【0051】

配列比較のために、典型的には、1つの配列は、試験配列と比較する基準配列として作用する。配列比較アルゴリズムを使用した場合、試験配列および基準配列を、コンピュータに入力し、必要に応じて、サブシーケンスの座標を指定し、配列アルゴリズムプログラムのパラメータを指定する。デフォルトのプログラムパラメータを使用してもよく、または別のパラメータを指定してもよい。次いで、配列比較アルゴリズムが、プログラムパラメータに基づいて基準配列と比較した試験配列のパーセント配列同一性を計算する。

30

【0052】

パーセント配列同一性および配列類似性の決定に適切なアルゴリズムの1つの例は、それぞれAltschulら、Nuc.Acids Res.、25、3389~3402、1977およびAltschulら、J.Mol.Biol.、215、403~410、1990に記載のBLASTおよびBLAST2.0アルゴリズムである。BLAST分析のためのソフトウェアは、National Center for Biotechnology Information (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) から公的に利用可能である。このアルゴリズムは、データベース配列中の同じ長さのワードを用いて整列させた何らかの正の閾値スコアTと適合するかこれを満たすクエリー配列中の長さWの短いワードの同定によって高スコア配列対（HSP）を同定する工程を最初を含む。Tは、隣接ワードのスコア閾値をいう（Altschulら、前記）。これらの最初の隣接ワードのヒットは、これらを含むより長いHSPを見出すための検索開始の基礎として作用する。累積アラインメントスコアが増加し得る限り、各配列に沿った両方の方向にワードヒットが拡大される。パラメータM（適合残基組についてのリワードスコア、常に>0）およびN（ミスマッチ残基についてのペナルティスコア、常に<0）を使用してヌクレオチド配列についての累積スコアを計算する。アミノ酸配列のために、スコア行列を使用して、累積スコアを計算する。累積アラインメントスコアがその最大達成値から数量X減少した場合、1つまたは複数の負のスコアにする残基アラインメントの蓄積によって累積スコアが0またはそれ以下になる場合、またはいずれかの配列が終了した

40

50

場合に、各方向でのワードヒットの拡大を停止する。BLASTアルゴリズムパラメータW、T、およびXは、アラインメントの感度およびスピードを決定する。BLASTNプログラム（ヌクレオチド配列用）は、デフォルトとして、ワード長（W）11、期待値（E）10、M=5、N=4、および両鎖の比較を使用する。アミノ酸配列のために、BLASTPプログラムは、デフォルトとして、ワード長3、期待値（E）10、BLOSUM62スコア行列（Henikoff & Henikoff、Proc.Natl.Acad.Sci.USA、89、10915、1989を参照のこと）、アラインメント（B）50、期待値（E）10、M=5、N=4、および両鎖の比較を使用する。

【0053】

BLASTアルゴリズムはまた、2つの配列間の類似性の統計分析を行う（例えば、Karlin & Altschul、Proc.Nat'l.Acad.Sci.USA、90、5873~5877、1993を参照のこと）。BLASTアルゴリズムによって得られた類似性の1つの基準は、2つのヌクレオチド配列またはアミノ酸配列の間で偶然に適合する可能性の指標が得られる最小総計の確率（smallest sum probability）（P(N））である。例えば、試験核酸と基準核酸の比較における最小総計の確率が約0.2未満、より好ましくは約0.01未満、最も好ましくは約0.001未満である場合、核酸を基準配列と類似すると見なす。

【0054】

2つの核酸配列またはポリペプチドが実質的に同一である指標は、下記のように第1の核酸によってコードされるポリペプチドが第2の核酸によってコードされるポリペプチドに対して惹起された抗体と免疫学的に交差反応性を示すことである。したがって、ポリペプチドは、典型的には、例えば、2つのペプチドが保存的置換によってのみ異なる場合、第2のポリペプチドと実質的に同一である。2つの核酸配列が実質的に同一であることの別の指標は、2つの分子またはその相補物が下記のようにストリンジェントな条件下で互いにハイブリダイゼーションすることである。2つの核酸配列が実質的に同一であるさらに別の指標は、同じプライマーを使用して配列を増幅できることである。

【0055】

「宿主細胞」は、発現ベクターを含み、発現ベクターの複製または発現を補助する細胞を意味する。宿主細胞は、大腸菌などの原核細胞、酵母などの真核細胞、昆虫細胞、両生類細胞、またはCHOなどの哺乳動物細胞、およびHeLa細胞など（例えば、培養細胞、移植片、およびインビボでの細胞）であり得る。

【0056】

本発明は、組換え遺伝学分野の日常的な技術に依存する。本発明での一般的な使用方法を開示した基礎テキストには、Sambrookら、Molecular Cloning、A Laboratory Manual、第2版、1989;Kriegler、Gene Transfer and Expression: A Laboratory Manual、1990;およびCurrent Protocols in Molecular Biology、Ausubelら編、1994が含まれる。

【0057】

核酸について、キロベース（kb）または塩基対（bp）のいずれかでサイズを示す。これらは、アガロースもしくはアクリルアミドゲル電気泳動、配列決定された核酸、または公開されたDNA配列より見積もったものである。タンパク質について、キロダルトン（kDa）またはアミノ酸残基数でサイズを示す。タンパク質のサイズを、ゲル電気泳動、配列決定されたタンパク質、誘導アミノ酸配列、または公開されたタンパク質配列から評価する。

【0058】

市販されていないオリゴヌクレオチドを、Van Devanterら、Nucleic Acids Res.、12、6159~6168、1984に記載の自動化合成機を使用したBeaucage & Caruthers、Tetrahedron Letts.、22、1859~1862、1981に最初に記載の固相ホスホラミダイトリエステル法にしたがって化学的に合成することができる。オリゴヌクレオチドの精製は、Pearson & Reanier、J.Chrom.、255、137~149、1983に記載の未変性のアクリルアミドゲル電気泳動または陰イオン交換HPLCによる。

【0059】

クローン化遺伝子および合成オリゴヌクレオチドの配列を、例えば、Wallaceら、Gene、16、21~26、1981の二本鎖テンプレートの配列決定のための鎖延長阻止法（chain term

ination method) を使用してクローニング後に確認することができる。

【0060】

プライマーを使用した増幅技術を使用して、DNAまたはRNAからGT2Rを増幅および単離することもできる。以下のアミノ酸配列をコードする縮重プライマーを使用して、配列番号：1、3、5、または7からなる群よりGT2R配列を増幅することもできる（例えば、Dieffenbach & Dveksler, PCR Primer. A Laboratory Manual, 1995を参照のこと）。これらのプライマーを使用して、例えば、全長配列または1~数百ヌクレオチドのプローブを増幅し、これを全長GT2R-S1の哺乳動物ライブラリーのスクリーニングに使用することができる。

【0061】

GT2R核酸ホモログの別の単離方法は、合成オリゴヌクレオチドプライマーの使用とRNAまたはDNAテンプレートの増幅とを組み合わせる（米国特許第4,683,195号および同第4,683,202号、PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications, Innisら編、1990を参照のこと）。ポリメラーゼ連鎖反応（PCR）およびリガーゼ連鎖反応（LCR）などの方法を使用して、mRNA、cDNA、ゲノムライブラリー、またはcDNAライブラリーから直接GCR-S1の核酸配列を増幅することができる。本明細書中に記載の配列を使用してGCR-S1ホモログを増幅するように縮重オリゴヌクレオチドをデザインすることができる。制限エンドヌクレアーゼ部位を、プライマーに組み込むことができる。例えば、核酸配列決定または他の目的のための生理学的サンプル中のGT2RをコードするmRNAの存在を検出するためのプローブとしての核酸を作製するために、発現すべきタンパク質をコードする核酸配列のクローン化に、ポリメラーゼ連鎖反応または他のインビトロ増幅方法も有用であり得る。PCR反応によって増幅した遺伝子を、アガロースゲルから精製し、適切なベクターにクローン化することができる。

【0062】

GT2Rの遺伝子発現を、当技術分野において公知の技術（例えば、mRNAの逆転写および増幅、全RNAまたはポリA⁺ RNAの単離、ノーザンブロットティング、ドットブロットティング、インサイチュハイブリダイゼーション、RNアーゼ保護、およびプロービングDNAマイクロチップアレイなど）によって分析することもできる。1つの態様では、高密度オリゴヌクレオチド分析技術（例えば、GeneChip（商標）、Affymetrix）を使用して、本発明のGT2Rのホモログおよび多型パラリントを同定する。同定されるホモログが公知の疾患に関連する場合、これを生体サンプルにおける疾患検出における診断ツールとしてGeneChip（商標）と共に使用することができる（例えば、Gunthandら、AIDS Res. Hum. Retroviruses、14、869~876、1998; Kozalら、Nat. Med.、2、753~759、1996; Matsonら、Anal. Biochem.、224、110~106、1995; Lockhartら、Nat. Biotechnol.、14、1675~1680、1996; Gingerasら、Genome Res.、8、435~448、1998; Haciaら、Nucleic Acids Res.、26、3865~3866、1998を参照のこと）。

【0063】

合成オリゴヌクレオチドを使用して、プローブとして使用するかタンパク質発現のための組換えGT2R遺伝子（例えば、配列番号：1、3、5、または7）を構築することができる。遺伝子のセンス鎖および非センス鎖の両方を示す通常40~120bp長の一連の重複オリゴヌクレオチドを使用してこの方法を行う。次いで、これらのDNAフラグメントを、アニーリングし、ライゲーションし、クローン化する。または、正確なプライマーと共に増幅技術を使用して、GT2R核酸の特異的配列（例えば、配列番号：1、3、5、または7）を増幅することができる。次いで、特異的配列を、発現ベクターにライゲーションする。

【0064】

GT2Rをコードする核酸を、典型的には、複製および/または発現のための原核細胞または真核細胞への形質転換前に媒介ベクター（intermediate vector）にクローン化する。これらの媒介ベクターは、典型的には、原核生物ベクター（例えば、プラスミド）またはシャトルベクターである。

【0065】

10

20

30

40

50

または、GT2Rまたはそのドメインを含むキメラタンパク質をコードする核酸を、標準的技術によって作製することができる。例えば、リガンド結合ドメイン、細胞外ドメイン、膜貫通ドメイン（例えば、7回膜貫通領域ならびに対応する細胞外およびサイトゾルループを含むもの）などのドメイン、膜貫通ドメインおよび細胞質ドメイン、活性部位、サブユニット結合領域などを、異種タンパク質に共有結合することができる。例えば、細胞外ドメインを異種GPCR膜貫通ドメインに結合することができ、または異種GPCR細胞外ドメインを膜貫通ドメインに結合することができる。他の異種タンパク質の選択肢には、例えば、緑色蛍光タンパク質、 β -ガラクトシダーゼ、カルシウム感知（calcium sensing）受容体、およびロドプシンプレ配列が含まれる。

【0066】

目的の配列には、表1に記載の配列表中に記載の配列が含まれる。以下の配列は、マウス、ラット、およびヒト由来の胃腸組織、細胞株、またはcDNAライブラリー中に発現されることが確定された。これらの配列は、味覚シグナル伝達で機能する公知のT2Rに対して配列類似性を示した。

【0067】

【表1】

配列番号	内部コード	アミノ酸配列 および 核酸配列	他の名称	GenBank アクセッション 番号
配列番号 :1	GT2R-S1	n.a.	STC 9-1 (mT2R10)	AF412304
配列番号 :2	GT2R-S1	a.a.	STC 9-1	AAL85201
配列番号 :3	GT2R-S2	n.a.	STC 9-2, mT2R23	AF412305
配列番号 :4	GT2R-S2	a.a.	STC 9-2	AAL85202
配列番号 :5	GT2R-S7	n.a.	STC 9-7, mT2R2	AF412306
配列番号 :6	GT2R-S7	a.a.	STC 9-7	AAL85203
配列番号 :7	GT2R-S8	n.a.	STC 9-8	(新規)
配列番号 :8	GT2R-S8	a.a.	STC 9-8	
配列番号 :9	GT2R-S5-1	n.a.	STC 5-1, mT2R7	AF412301
配列番号 :10	GT2R-S5-1	a.a.	STC 5-1	AAL85198.1
配列番号 :11	GT2R-S7-1	n.a.	STC 7-1	AF412302
配列番号 :12	GT2R-S7-1	a.a.	STC 7-1	AAL85199.1
配列番号 :13	GT2R-S7-4	n.a.	STC 7-4	AF412303
配列番号 :14	GT2R-S7-4	a.a.	STC 7-4	AAL85200
配列番号 :15	GT2R-m33	n.a.	619A	(新規)
配列番号 :16	GT2R-m33	a.a.		
配列番号 :17	GT2R-m34	n.a.	088	(新規)
配列番号 :18	GT2R-m34	a.a.		
配列番号 :19	GT2R-m35	n.a.	273A	(新規)
配列番号 :20	GT2R-m35	a.a.		
配列番号 :21	GT2R-m36	n.a.	273B	(新規)
配列番号 :22	GT2R-m36	a.a.		
配列番号 :23	GT2R-m37	n.a.	273C	(新規)
配列番号 :24	GT2R-m37	a.a.		
配列番号 :25	GT2R-m38	n.a.	273D	(新規)
配列番号 :26	GT2R-m38	a.a.		
配列番号 :27	GT2R-m39	n.a.	625A	(新規)
配列番号 :28	GT2R-m39	a.a.		
配列番号 :29	GT2R-m41	n.a.	923	(新規)
配列番号 :30	GT2R-m41	a.a.		
配列番号 :31	GT2R-r6	n.a.	rT2R6	AF240766 (一部)
配列番号 :32	GT2R-r6	a.a.	全長 rT2R6	
配列番号 :33	GT2R-r14	n.a.	全長 rT2R14	
配列番号 :34	GT2R-r14	a.a.	全長 rT2R14	

配列番号 :35	GT2R-r15	n.a.	912A	
配列番号 :36	GT2R-r15	a.a.		
配列番号 :37	GT2R-r16	n.a.		
配列番号 :38	GT2R-r16	a.a.		
配列番号 :39	GT2R-r17	n.a.		
配列番号 :40	GT2R-r17	a.a.		
配列番号 :41	GT2R-r18	n.a.		
配列番号 :42	GT2R-r18	a.a.		
配列番号 :43	GT2R-r19	n.a.	094B	
配列番号 :44	GT2R-r19	a.a.		
配列番号 :45	GT2R-r20	n.a.		
配列番号 :46	GT2R-r20	a.a.		
配列番号 :47	GT2R-r21	n.a.	rD4081	
配列番号 :48	GT2R-r21	a.a.		
配列番号 :49	GT2R-r22	n.a.	rD4082	
配列番号 :50	GT2R-r22	a.a.		
配列番号 :51	GT2R-r23	n.a.	503A	
配列番号 :52	GT2R-r23	a.a.		
配列番号 :53	GT2R-r24	n.a.	503B	
配列番号 :54	GT2R-r24	a.a.		
配列番号 :55	GT2R-r25	n.a.		
配列番号 :56	GT2R-r25	a.a.		
配列番号 :57	GT2R-r26	n.a.		
配列番号 :58	GT2R-r26	a.a.		
配列番号 :59	GT2R-r27	n.a.		
配列番号 :60	GT2R-r27	a.a.		
配列番号 :61	GT2R-r28	n.a.		
配列番号 :62	GT2R-r28	a.a.		
配列番号 :63	GT2R-r29	n.a.		
配列番号 :64	GT2R-r29	a.a.		
配列番号 :65	GT2R-r30	n.a.		
配列番号 :66	GT2R-r30	a.a.		
配列番号 :67	GT2R-r31	n.a.	rD4232	
配列番号 :68	GT2R-r31	a.a.		
配列番号 :69	GT2R-h44	n.a.	630G, hT2R44	
配列番号 :70	GT2R-h44	a.a.		
配列番号 :71	GT2R-h50	n.a.		
配列番号 :72	GT2R-h50	a.a.	胃のペプチド ZG24	
配列番号 :73	GT2R-h51	n.a.	630C	
配列番号 :74	GT2R-h51	a.a.		
配列番号 :75	GT2R-h52	n.a.	630D	
配列番号 :76	GT2R-h52	a.a.		
配列番号 :77	GT2R-h53	n.a.	630E	
配列番号 :78	GT2R-h53	a.a.		
配列番号 :79	GT2R-h54	n.a.	630H	
配列番号 :80	GT2R-h54	a.a.		
配列番号 :81	GT2R-h55	n.a.	630F	
配列番号 :82	GT2R-h55	a.a.		
配列番号 :83	GT2R-h56	n.a.	630I	
配列番号 :84	GT2R-h56	a.a.		
配列番号 :85	GT2R-h57	n.a.	630J	
配列番号 :86	GT2R-h57	a.a.		
配列番号 :87	GT2R-h58	n.a.	640A	
配列番号 :88	GT2R-h58	a.a.		
配列番号 :89	GT2R-h59	n.a.	hT2R38	
配列番号 :90	GT2R-h59	a.a.		

10

20

30

40

50

【 0 0 6 8 】

GT2R活性のアッセイ

GT2R-S1ならびにその対立遺伝子、多型バリエーション、およびホモログは、味覚伝達に
 与するGタンパク質共役受容体である。GT2Rポリペプチド活性を、機能的、化学的、およ

び物理的効果（例えば、リガンド結合（例えば、放射性リガンド結合）、二次メッセンジャー（例えば、cAMP、cGMP、IP₃、DAG、またはCa²⁺）、イオン流、リン酸化レベル、転写レベル、神経伝達物質レベルなどの測定）を決定するための種々のインビトロおよびインビボアッセイを使用して評価することができる。さらに、このようなアッセイを使用して、GT2Rのインヒビターおよびアクチベーターを試験することができる。モジュレーターはまた、GT2Rの遺伝子改変形態であり得る。味覚伝達活性のこのようなモジュレーターは、味のカスタマイズに有用である。

【0069】

アッセイのGT2Rを、配列番号：2、4、6、8、またはその保存的に改変されたバリエーションからなる群より選択される配列を有するポリペプチドから選択する。または、アッセイのGT2Rは、真核生物に由来し、配列番号：2、4、6、または8とアミノ酸配列同一性を有するアミノ酸サブシーケンスが含まれる。一般に、アミノ酸配列同一性は、少なくとも70%、選択的に少なくとも85%、選択的に少なくとも90~95%である。選択的に、アッセイのポリペプチドは、細胞外ドメイン、膜貫通ドメイン、細胞質ドメイン、リガンド結合ドメイン、サブユニット結合ドメイン、活性部位などの選択されたGT2Rのドメインを含む。GT2Rポリペプチド全体またはそのドメインのいずれかを、異種タンパク質と共有結合させて、本明細書中に記載のアッセイで使用するキメラタンパク質を作製することができる。

10

【0070】

GT2R-S1活性のモジュレーターを、上記の組換えまたは天然の選択されたGT2Rポリペプチドを使用して試験する。タンパク質を、組換えまたは天然に存在する細胞中で単離、発現させるか、細胞由来の膜中で発現させるか、組織もしくは動物中で発現させることができる。例えば、胃腺、GI粘膜から分離した細胞、形質転換細胞（例えば、STC-1）、または膜を使用することができる。本明細書中に記載のインビトロまたはインビボアッセイの1つを使用して、改変を試験する。可溶性または固体状態反応を使用し、異種シグナル伝達ドメインに共有結合した受容体の細胞外ドメインまたは受容体の膜貫通ドメインおよびもしくは細胞質ドメインに共有結合した異種細胞外ドメインなどのキメラ分子を使用して、味覚伝達をインビトロで試験することもできる。さらに、目的のタンパク質のリガンド結合ドメインを、インビトロでの可溶性または固体状態反応で使用してリガンド結合をアッセイすることができる。

20

【0071】

溶液中、二分子膜、固相に結合した形態、脂質単分子層、または小胞中で、GT2Rの全タンパク質、ドメイン、またはキメラタンパク質へのリガンド結合を試験することができる。モジュレーターの結合を、例えば、分光学的特徴（例えば、蛍光、吸光度、屈折率）、水力学（例えば、形状）、クロマトグラフィー、または溶解性の変化を使用して試験することができる。

30

【0072】

受容体-Gタンパク質の相互作用も試験することができる。例えば、受容体へのGタンパク質の結合または受容体からの放出を試験することができる。例えば、GTPの非存在下で、アクチベーターにより、Gタンパク質（3つ全てのサブユニット）の受容体との強固な複合体が形成される。この複合体を、種々の方法（上記）で検出することができる。このようなアッセイを、インヒビターを検索するように改変することができる。GTPの非存在下での受容体およびGタンパク質へのアクチベーターの添加により強固な複合体が形成され、その後、受容体-Gタンパク質複合体の解離の検索によってインヒビターをスクリーニングする。GTPの存在下での他の2つのGタンパク質サブユニットからのGタンパク質のサブユニットの放出は、活性化の基準として使用される。

40

【0073】

次いで、活性化または阻害されたGタンパク質は、標的酵素、チャネル、および他のエフェクタータンパク質の性質が変化する。古典的な例は、視覚体系における伝達によるcGMPホスホジエステラーゼの活性化、刺激Gタンパク質によるアデニリルシクラーゼ、Gqおよび他の同族Gタンパク質によるホスホリパーゼC、ならびにGiおよび他のGタンパク質に

50

よる種々のチャネルの改変である。PLCによるジアシルグリセロールおよびIP3の発生およびその後のIP3によるカルシウム動員などの下流コンシーケンス (consequence) を試験することもできる。

【0074】

活性化GPCR受容体は、受容体のC末端テール（および他の部位も同様に可能である）をリン酸化するキナーゼの基質となる。したがって、アクチベーターは、シンチレーションカウンターでアッセイすることができる³²Pの標識GTPから受容体への移動を促進する。C末端テールのリン酸化は、アレスチン様タンパク質の結合を促進し、Gタンパク質の結合を妨害する。キナーゼ/アレスチン経路は、多くのGPCR受容体の脱感作で重要な役割を果たす。例えば、味覚受容体を活性化ままにする持続時間を調整する化合物は、所望の味を延長するか望ましくない味を遮断する手段として有用である。GTPRシグナル伝達の一般的概説およびシグナル伝達のアッセイ方法については、例えば、Methods in Enzymology、第237巻および第238巻（1994）ならびに第96巻（1983）；Bourneら、Nature、10、349、117~27、1991；Bourneら、Nature、348、125~32、1990；Pitcherら、Annu.Rev.Biochem.、67、653~92、1998を参照のこと。

10

【0075】

調整範囲を試験するために、潜在的なGT2Rインヒビターまたはアクチベーターで処理するサンプルまたはアッセイを、試験化合物を使用しない対照サンプルと比較する。対照サンプル（アクチベーターまたはインヒビターで未処理）を、相対GT2R活性値100とする。対照と比較したGT2R活性値が、80%、選択的に50%またはそれ以下である場合、GT2Rの阻害を有意と見なす。対照と比較したGT2R活性値が、150%、好ましくは200~500%またはそれ以上である場合、GT2Rが活性化されたとする。

20

【0076】

ポリペプチド機能に対する試験化合物の効果を、上記の任意のパラメータの試験によって測定することができる。GPCR活性に影響を与える任意の適切な生理学的変化を使用して、本発明のポリペプチドに対する試験化合物の影響を評価することができる。インタクトな細胞または動物を使用して機能的コンシーケンスを測定した場合、伝達物質の放出、ホルモンの放出、公知および特徴付けられていない遺伝子マーカーに対する転写の変化（例えば、ノーザンブロット）、細胞成長もしくはpH変化などの細胞代謝の変化、ならびにCa²⁺、IP3、またはcAMPなどの細胞内二次メッセンジャーの変化などの種々の効果を測定することもできる。

30

【0077】

Gタンパク質共役受容体の好ましいアッセイには、受容体活性を報告するためのイオンまたは電位感受性色素を負荷した細胞が含まれる。このような受容体の活性を決定するアッセイはまた、試験した化合物の活性を評価するための負または正の対照として他のGタンパク質共役受容体の公知のアゴニストおよびアンタゴニストを使用することができる。調整化合物（例えば、アゴニスト、アンタゴニスト）の同定アッセイでは、細胞質におけるイオンレベルまたは膜電位の変化を、それぞれイオン感受性または膜電位蛍光指示薬を使用してモニターする。使用することができるイオン感受性指示薬および電位プローブは、Molecular Probes 1997 Catalogに開示のものである。Gタンパク質共役受容体について、G₁₅およびG₁₆などの無差別の（promiscuous）Gタンパク質を、選択したアッセイで使用することができる（Wilkieら、Proc.Nat'l.Acad.Sci.USA、88、10049~10053、1991）。このような無差別のGタンパク質は、広範な受容体に結合可能である。

40

【0078】

受容体活性化により、典型的には、その後の細胞内事象（例えば、カルシウムイオンの細胞内貯蔵物を放出するIP3などの二次メッセンジャーの増加）が開始される。いくつかのGタンパク質共役受容体の活性化により、ホスファチジルイノシトールのホスホリパーゼC媒介加水分解を介したIP3形成が刺激される（Berridge & Irvine、Nature、312、315~21、1984）。次に、IP3は、細胞内カルシウムイオン蓄積物の放出を刺激する。したがって、細胞質のカルシウムイオンレベルの変化またはIP3などの二次メッセンジャーレベ

50

ルの変化を使用して、Gタンパク質共役受容体機能を評価することができる。このようなGタンパク質共役受容体を発現する細胞は、細胞内貯蔵物およびイオンチャネルの活性化の両方からの寄与の結果として細胞質カルシウムレベルの増加を示すことができ、内部貯蔵物からのカルシウム放出に起因する蛍光応答を区別するために選択的にEGTAなどのキレート剤を補足した無カルシウム緩衝液でこのようなアッセイを行うことが望ましいが、その必要はない。

【0079】

他のアッセイは、活性化された場合にアデニリルシクラーゼなどの酵素の活性化または阻害によって細胞内サイクリックヌクレオチド（例えば、cAMPまたはcGMP）レベルが変化する受容体の活性を決定する工程を含み得る。サイクリックヌクレオチド依存性イオンチャネル（例えば、cAMPまたはcGMPの結合による活性化の際に陽イオンを透過可能な桿体光受容体細胞チャネルおよび嗅覚ニューロンチャネル）が存在する（例えば、Altenhofenら、Proc.Natl.Acad.Sci.USA、88、9868~9872、1991およびDhallanら、Nature、347、184~187、1990を参照のこと）。受容体の活性化によりサイクリックヌクレオチドレベルが減少する場合、アッセイにおいて受容体活性化化合物を細胞に添加する前に細胞内サイクリックヌクレオチドレベルを増加させる薬剤（例えば、フォルスコリン）に細胞を曝露することが好ましい。このアッセイ型のための細胞を、サイクリックヌクレオチド封入（crated）イオンチャネルをコードするDNA、GPCRホスファターゼ、および活性化した場合に細胞質中のサイクリックヌクレオチドレベルが変化する受容体（例えば、一定のグルタミン酸受容体、ムスカリン性アセチルコリン受容体、ドーパミン受容体、セロトニン受容体など）をコードするDNAでの宿主細胞の共トランスフェクションによって作製することができる。

【0080】

1つの態様では、受容体をPLCCシグナル伝達経路にリンクさせる無差別なGタンパク質を有する異種細胞での選択されたGT2R（例えば、GT2R-S1、配列番号：1）の発現によってGT2R活性を測定する（Offermanns & Simon、J.Biol.Chem.、270、15175~15180、1995を参照のこと；実施例2も参照のこと）。選択的に、細胞株はHEK-293（GT2Rを天然に発現しない）であり、無差別なGタンパク質はG₁₅である（Offermanns & Simon、前記）。この特異的GT2Rと会合する分子の投与を介してGT2Rシグナル伝達経路の調整に応答して変化する細胞内Ca²⁺レベルの変化の測定によって味覚伝達の調整をアッセイする。Ca²⁺レベルの変化を、選択的に、蛍光Ca²⁺指示薬および蛍光画像化を使用して測定する。

【0081】

別の態様では、細胞内cAMPまたはcGMPの変化を、免疫アッセイを使用して測定することができる。Offermanns & Simon、J.Biol.Chem.、270、15175~15180、1995に記載の方法を使用して、cAMPレベルを決定することができる。また、Folley-Boscoら、Am.J.Resp.Cell and Mol.Biol.、11、159~164、1994に記載の方法を使用して、cGMPレベルを決定することができる。さらに、cAMPおよび/またはcGMPを測定するためのアッセイキットは、米国特許第4,115,538号（参照として本明細書に組み入れられる）に記載されている。

【0082】

別の態様では、米国特許第5,436,128号（参照として本明細書に組み入れられる）にしたがってホスファチジルイノシトール（PI）加水分解を分析することができる。簡単に述べれば、アッセイは、³H-ミオイノシトールでの48時間の細胞の標識を含む。標識細胞を、試験化合物で1時間処理する。処理した細胞を溶解し、クロロホルム-メタノール-水で抽出し、その後、リン酸イノシトールをイオン交換クロマトグラフィで分離し、シンチレーションカウンティングによって定量した。緩衝液対照の存在下でのcpmに対するアゴニストの存在下でのcpmの比の計算によって倍率（fold）刺激を決定する。同様に、緩衝液対照（アゴニストを含んでいても含んでいなくてもよい）の存在下でのcpmに対するアンタゴニストの存在下でのcpmの比の計算によって倍率（fold）阻害を決定する。

【0083】

別の態様では、シグナル伝達に対する試験化合物の効果を評価するために、転写レベル

を測定することができる。目的のタンパク質を含む宿主細胞を、任意の相互作用に影響を与えるのに十分な時間試験化合物と接触させ、遺伝子の発現レベルを測定する。このような相互作用に影響を与える時間を、時間の関数としての経時変化の実施および転写レベルの測定などによって実験的に決定することができる。当業者に公知の適切な任意の方法の使用によって、転写量を測定することができる。例えば、ノーザンブロットを使用して目的のタンパク質のmRNA発現を検出することができ、または免疫アッセイを使用してそのポリペプチド産物を同定することができる。または、米国特許第5,436,128号(参照として本明細書に組み入れられる)に記載のレポーター遺伝子を使用した転写ベースのアッセイを使用することができる。レポーター遺伝子は、例えば、クロラムフェニコールアセチルトランスフェラーゼ、ホタルルシフェラーゼ、細菌ルシフェラーゼ、 β -ガラクトシダーゼ、およびアルカリホスファターゼであり得る。さらに、緑色蛍光タンパク質などの第2のレポーターへの結合を介した間接的レポーターとして目的のタンパク質を使用することができる(例えば、Mistili & Spector, Nature Biotechnology, 15, 961~964, 1997を参照のこと)。

10

【0084】

次いで、転写量を、試験化合物の非存在下でのいずれかの同じ細胞での転写量と比較するか、目的のタンパク質を欠く実質的に同一の細胞における転写量と比較することができる。実質的に同一の細胞は、組換え細胞を調製した、異種DNAの移入によって改変されていない同じ細胞に由来し得る。転写量の任意の相違は、試験化合物が何らかの様式で目的のタンパク質の活性を変化させることを示す。

20

【0085】

GT2Rのモジュレーター

GT2Rのモジュレーターとして試験した化合物は、任意の化合物またはタンパク質、アミノ酸、糖、核酸、もしくは脂質などの生物学的実体であり得る。または、モジュレーターは、GT2Rの遺伝的変態であり得る。典型的には、試験化合物は、化学小分子およびペプチドである。本質的に任意の化合物を、本発明のアッセイでの潜在的モジュレーターまたはリガンドとして使用することができるが、ほとんどの場合、水溶液または有機溶媒(特に、DMSOベース)に溶解することができる化合物を使用する。典型的に同時進行する(例えば、ロボットアッセイにおけるマイクロタイタープレート上でのマイクロタイター形式)アッセイ工程の自動化およびアッセイのための任意の都合の良い供給源からの化合物の提供によって巨大な化合物ライブラリーをスクリーニングするようにアッセイをデザインする。多数の化合物の供給元(Sigma(St.Louis, Mo)、Aldrich(St.Louis, Mo)、Sigma-Aldrich(St.Louis, Mo)、およびFluka Chemika-Biochemica Analytika(Buchs Switzerland)などが含まれる)の存在が認識されている。

30

【0086】

1つの好ましい態様では、高処理スクリーニング法は、多数の潜在的な治療化合物(潜在的なモジュレーターまたはリガンド化合物)を含むコンビナトリアル化学またはペプチドライブラリーを提供する工程を含む。このような「コンビナトリアル化学ライブラリー」または「リガンドライブラリー」を、所望の特徴的活性を示すライブラリーメンバー(特定の化合物の種またはサブクラス)を同定するための本明細書中に記載のような1つまたは複数のアッセイでスクリーニングする。このようにして同定した化合物は、従来の「リード化合物」として供することができるか、これら自体を潜在的または実際の治療薬として使用することができる。

40

【0087】

コンビナトリアル化学ライブラリーは、試薬などの多数の化学的「基礎単位」の組み合わせによる化学合成または生物学的合成によって作製された多様な化合物の集団である。例えば、ポリペプチドライブラリーなどの一次コンビナトリアル化学ライブラリーを、所与の化合物の長さ(すなわち、ポリペプチド化合物のアミノ酸数)のためのすべての可能な方法における化学的基礎単位(アミノ酸)組の組み合わせによって形成する。化学的基礎単位のこのようなコンビナトリアル混合によって、無数の化合物を合成することができ

50

る。

【0088】

コンビナトリアル化学ライブラリーの調製およびスクリーニングは、当業者に周知である。このようなコンビナトリアル化学ライブラリーには、ペプチドライブラリー（例えば、米国特許第5,010,175号、Furka、*Int. J. Pept. Prot. Res.*、37、487~493、1991、およびHoughtonら、*Nature*、354、84~88、1991を参照のこと）が含まれるが、これらに限定されない。化学的多様性ライブラリーを作製するための他の化学論を使用することもできる。このような化学論には、ペプチド（例えば、PCT国際公開公報第91/19735号）、コードされたペプチド（例えば、PCT国際公開公報第93/20242号）、ランダムバイオオリゴマー（例えば、PCT国際公開公報第92/00091号）、ベンゾジアゼピン（例えば、米国特許第5,288,514号）、ヒダントイン、ベンゾジアゼピン、およびジペプチドなどのディパーソマー（diversomer）（Hobbsら、*Proc. Natl. Acad. Sci. USA*、90、6909~6913、1993）、ビニロガス（vinylogous）ポリペプチド（Hagiharaら、*J. Amer. Chem. Soc.*、114、6568、1992）、グルコース足場を有する非ペプチドペプチド模倣物（Hirschmannら、*J. Amer. Chem. Soc.*、114、9217~9218、1992）、小化合物ライブラリーの類似の有機合成（Chenら、*J. Amer. Chem. Soc.*、116、2661、1994）、オリゴカルバメート（Choら、*Science*、261、1303、1993）、および/またはホスホン酸ペプチジル（Campbellら、*J. Org. Chem.*、59、658、1994）、核酸ライブラリー（Ausubel、Berger、およびSambrook（全て前記）を参照のこと）、ペプチド核酸ライブラリー（例えば、米国特許第5,539,083号を参照のこと）、抗体ライブラリー（例えば、Vaughnら、*Nature Biotechnology*、14（3）、309~314、1996およびPCTIUS96/10287号を参照のこと）、炭水化物ライブラリー（例えば、Liangら、*Science*、274、1520~1522、1996および米国特許第5,593,853号を参照のこと）、小有機分子ライブラリー（例えば、ベンゾジアゼピン、Baum C&EN、1月18日、第33頁、1993；イソプレノイド、米国特許第5,569,588号；チアゾリジノンおよびメタチアザノン、米国特許第5,549,974号；ピロリジン、米国特許第5,525,735号および同第5,519,134号；モルホリノ化合物、米国特許第5,506,337号；ベンゾジアゼピン、米国特許第5,288,514号などを参照のこと）が含まれるが、これらに限定されない。

10

20

30

40

50

【0089】

コンビナトリアルライブラリーを調製するためのデバイスは、市販されている（例えば、357MPS、390MPS、Advanced Chem Tech、Louisville Ky.、Symphony、Rainin、Wobum、Mass.、433A Applied Biosystems、Foster City、Calif.、9050 Plus、Millipore、Bedford、Mass.を参照のこと）。さらに、多数のコンビナトリアルライブラリー自体が市販されている（例えば、ComGenex、Princeton、N.J.、Tripos, Inc.、St. Louis、Mo.、3D Pharmaceuticals、Exton, Pa.、Martek Biosciences、Columbia、Md.などを参照のこと）。

【0090】

コンピュータベースのアッセイ

GT2R活性を調整する化合物のさらに別のアッセイは、コンピュータシステムを使用してアミノ酸配列によってコードされる構造情報に基づいてGT2Rの三次元構造を作製するコンピュータ支援薬物デザインを含む。入力したアミノ酸配列は、コンピュータプログラムの予め確立されたアルゴリズムと直接的且つ積極的に相互作用して、タンパク質の二次、三次、および四次構造モデルが得られる。次いで、タンパク質構造モデルを、例えば、リガンドへの結合能力を有する構造領域を同定するために試験する。次いで、これらの構造を使用して、タンパク質に結合するリガンドを同定する。

【0091】

タンパク質の三次元構造モデルを、コンピュータシステムへの少なくとも10個のアミノ酸残基のタンパク質アミノ酸配列またはGT2Rポリペプチドをコードする対応する核酸配列の入力によって作製する。ポリペプチドをコードする核酸のポリペプチドのアミノ酸配列を、配列番号：2、4、6、または8およびその保存的に改変された形態からなる群より選択する。アミノ酸配列は、タンパク質の構造情報をコードするタンパク質の一次配列またはサブシーケンスを示す。アミノ酸配列の少なくとも10個の残基（または10個のアミノ酸を

コードするヌクレオチド配列)を、コンピューターキーボードからコンピュータシステム、コンピュータ読取可能基板(電子記憶媒体(例えば、磁気ディスク、テープ、カートリッジ、およびチップ)、光学媒体(例えば、CD ROM、DVD)、インターネットサイトおよびRAMによって分配される情報が含まれるが、これらに限定されない)に入力する。次いで、タンパク質の三次元構造モデルを、当業者に公知のソフトウェアを使用してアミノ酸配列の相互作用およびコンピュータシステムによって作製する。

【0092】

アミノ酸配列は、目的のタンパク質の二次、三次、および四次構造の形成に必要な情報をコードする一次構造を示す。ソフトウェアは、構造モデルを作製するための一次配列によってコードされる一定のパラメータを検索する。これらのパラメータを、「エネルギー項」といい、主に、静電ポテンシャル、疎水性ポテンシャル、溶媒接触表面、および水素結合が含まれる。二次エネルギー項は、ファンデルワールスポテンシャルを含む。生体分子は、漸増様式でエネルギー項を最小化する構造を形成する。したがって、コンピュータプログラムは、一次構造またはアミノ酸配列によってコードされるこれらの項を使用して、二次構造モデルを作製する。

10

【0093】

次いで、二次構造によってコードされるタンパク質の三次構造を、二次構造のエネルギー項に基づいて形成する。この時点で、ユーザーは、タンパク質が膜結合しているか可溶性であるかどうか、体内での位置、および細胞での位置(例えば、細胞質、表面、または核)などのさらなる変数を入力することができる。二次構造のエネルギー項と共にこれらの変数を使用して、三次構造モデルを形成する。三次構造のモデリングでは、コンピュータプログラムは、二次構造の疎水性表面および二次構造の親水性表面を変数と適合させる。

20

【0094】

一旦構造が得られると、コンピュータシステムによって潜在的なリガンド結合領域が同定される。潜在的なリガンドの三次元構造を、上記のような化合物のアミノ酸配列もしくはヌクレオチド配列または化学式の入力によって作製する。次いで、GT2R-S1に結合するリガンドの同定のために、潜在的なリガンドの三次元構造をGT2R-S1タンパク質の三次元構造と比較する。どのリガンドがタンパク質への結合能力が増強されているかを決定するために、タンパク質とリガンドとの間の結合親和性を、エネルギー項を使用して決定する。

30

【0095】

コンピュータシステムを使用して、選択されたGT2R遺伝子の、変異、多型バリエーション、対立遺伝子および種間ホモログについてもスクリーニングする。このような変異は、病態または遺伝形質に関連し得る。上記のようなGeneChip(商標)および関連テクノロジーを使用して、変異、多型バリエーション、対立遺伝子および種間ホモログについてもスクリーニングすることもできる。一旦バリエーションが同定されると、診断アッセイを使用して、このような変異遺伝子を有する患者を同定することができる。変異GT2R遺伝子の同定は、配列番号:1、3、5、もしくは7または配列番号:2、4、6、または8ならびにその保存的に改変された形態からなる群より選択される第1の核酸またはアミノ酸配列の入力を受けること含む。配列を、上記のようなコンピュータシステムに入力する。次いで、第1の核酸またはアミノ酸配列を、第1の配列と実質的な同一性を有する第2の核酸またはアミノ酸配列と比較する。第2の配列を、上記の様式でコンピュータシステムに入力する。一旦第1および第2の配列が比較されると、ヌクレオチドまたはアミノ酸の配列間の相違が同定される。このような配列は、GT2R遺伝子の対立遺伝子の相違ならびに病態および遺伝形質に関連する変異を示すことができる。

40

【0096】

キット

GT2Rホモログは、味覚細胞の同定、法医学および父子鑑別、および味覚伝達の試験のための有用なツールである。GT2R-S1プローブおよびプライマーなどのGT2R核酸に特異的に

50

ハイブリダイゼーションするGT2R特異的試薬ならびにGT2Rタンパク質に特異的に結合するGT2R特異的試薬（例えば、GT2R抗体）を使用して、胃腸味覚細胞発現および味覚伝達制御を試験する。

【0097】

サンプル中のGT2RのDNAおよびRNAの存在についての核酸アッセイは、当業者に公知の多数の技術（サザン分析、ノーザン分析、ドットプロット、RNアーゼ保護、S1分析、RT-PCRおよびQPCRなどの増幅技術、ならびにインサイチューハイブリダイゼーションなど）を含む。インサイチューハイブリダイゼーションでは、例えば、標的核酸を、その後の解釈および分析のための細胞形態を保存しながら細胞内のハイブリダイゼーションに利用可能なように細胞周囲物から遊離する。以下の文献は、インサイチューハイブリダイゼーション分野の概説を提供している：Singerら、Biotechniques、4、230～250、1986；Haaseら、Methods in Virology、第VII巻、189～226、1984；およびNucleic Acid Hybridization: A Practical Approach、Hamesら編、1987。

10

【0098】

さらに、GT2Rタンパク質を、上記の種々の免疫アッセイ技術を使用して検出することができる。試験サンプルを、典型的には、正の対照（例えば、組換えGT2Rを発現するサンプル）および負の対照の両方と比較する。

【0099】

本発明はまた、特異的GT2Rのモジュレーターのスクリーニングキットを提供する。このようなキットを、容易に利用可能な材料および試薬から調製することができる。例えば、このようなキットは、1つまたは複数の以下の材料を含み得る：GT2R核酸またはタンパク質、反応チューブ、およびGT2R活性試験の説明書。選択的に、キットは、生物活性GT2Rを含む。広範な種々のキットおよび成分を、キットの意図する使用者および使用者の特定のニーズに依存して、本発明にしたがって調製することができる。

20

【0100】

実施例

以下の実施例は、例示のみを目的として提供されるものであって、本発明を制限するものではない。当業者は、本質的に類似の結果を得るために変化または改変することができる種々の重要でないパラメータを容易に認識するであろう。

【0101】

実施例 1

STC-1細胞中でのG_{gust}、G_{t-2}およびGT2Rの発現

腸内分泌細胞は、運動性、胃腸ホルモンの放出、および膵胆管分泌を含む多数の生理学的応答の統合および調整で重要な役割を果たす。本発明者らは、これらの細胞は管腔内容物の化学組成の感知で役割を果たすと仮定した。この仮定を試験するための最初の工程として、腸STC-1細胞株（内分泌細胞の混合集団）（Rindiら、Amer.J.Pathol.、136、1349～1363、1990）がT2Rファミリーメンバーおよび細胞内味覚シグナル伝達に関係するGタンパク質のサブユニットを発現するかどうか試験した。

30

【0102】

RT-PCRおよび配列決定により、STC-1細胞におけるG_{gust}およびG_{t-2}の転写物の存在が明らかとなった（図1A）。さらに、G_{gust}およびG_{t-2}に指向する特異的抗体を使用したSTC-1細胞溶解物のウェスタンブロット分析により、免疫原性ペプチドの存在によって消滅する42～46kDaの免疫反応性バンドが明らかとなった（図1B）。これらの結果は、STC-1細胞は、細胞内味覚シグナル伝達に関与し、そのため本発明者らがこれらの腸内分泌細胞も苦味覚受容体を発現することができるかどうかを試験することを考えた、Gタンパク質のサブユニットを発現することを証明する。

40

【0103】

T2RファミリーのメンバーがSTC-1細胞で発現されるかを試験するために、mT2R5、mT2R8、およびmT2R19の利用可能な配列に基づいてマウスT2Rサブタイプ特異的プライマーを最初に使用した。RT-PCRおよび配列決定分析により、mT2R5およびmT2R19の存在が明らかと

50

なった。これらの細胞由来のmT2R19およびmT2R5の全長受容体タンパク質をコードするcDNAの配列決定によって示されるように、STC-1細胞由来の味覚受容体は、味覚細胞由来の味覚受容体と同一である。対照的に、これらの転写物は、マウスSwiss3T3線維芽細胞から単離したRNAを使用したRT-PCRによって検出されなかった。

【0104】

苦味覚受容体ファミリーの他のメンバーがSTC-1細胞で発現されるかを決定するために、異種間および縮重プライマーを使用して、マウスSTC-1細胞のcDNAを増幅させた。RT-PCRおよび配列決定分析は、STC-1細胞はmT2R19、mT2R23、mT2R18、mT2R7、mT2R30、mT2R2、mT2R5、およびmT2R26(図1C)、および新規のT2R遺伝子を発現することを証明した。

【0105】

ゲノムDNAからマウス遺伝子フラグメントを増幅し、2つのゲノムDNAライブラリー中のこれらのマウス遺伝子をスクリーニングするために特異的プライマーを使用した(BACマウスES-129/SvJ rel.1およびII、Incyte Genomics、St.Louis、MO)。7つのゲノムクローンが得られ、4つのGT2R遺伝子(STC-1 cDNAクローンS-1、S-2、S-7、およびS-8に対応する)が、これらのゲノムDNAクローンで見出された。

【0106】

実施例2

STC-1由来のGT2Rは味覚受容体である

STC-1のcDNAクローンまたはマウスゲノムDNAライブラリーから単離したゲノムクローンからアミノ酸配列を推定した(図2)。この分析により、マウスGT2R-S1およびS4が、rT2R2およびGT2R-r22とそれぞれ84%および75%相同性を有する新規の配列であることが明らかとなった。マウスGT2R-S1は、さらに、マウス胃底、幽門、および十二指腸の粘膜組織で発現されることが見出された。マウスGT2R-S2遺伝子は、mT2R23と密接に関連し(7個のアミノ酸が置換されている)、GT2R-S7は、mT2R2とほとんど同一である(2個しかアミノ酸が変化していない)。後者の2つの転写物は、既存のmT2Rのバリエーションを示す。同様に、マウスcDNAクローンGT2R-S5-1およびS7-4は事実上mT2R7およびmT2R30と同一であり、それによりこれらの遺伝子のバリエーション形態であり得る。しかし、全長GT2Rタンパク質をコードする遺伝子は、その真の同一性を確認することが必要である。

【0107】

STC-1細胞がG_{gust}、G_{t-2}、および多数のGT2Rを発現することが証明されたので、苦味化合物の添加によりこれらの細胞における機能的応答が誘導されるかどうかを試験した。STC-1細胞集団の異種性のために、各細胞のCa²⁺画像化を使用して細胞内Ca²⁺濃度([Ca²⁺]_i)の応答をモニターし、苦味覚シグナル伝達で広範に使用されるいくつかの化合物の効果を試験した。

【0108】

蛍光Ca²⁺指示薬フラ2-AMを負荷したSTC-1細胞培養物への安息香酸デナトニウムの添加により、細胞内Ca²⁺濃度([Ca²⁺]_i)の急速且つ用量依存性の上昇が誘導された。10mMでは、デナトニウムにより、試験した細胞の97%で[Ca²⁺]_iの顕著な増加が誘導され、1mMでは、この苦味物質により、STC-1集団の33%で[Ca²⁺]_iの増加が誘導された。これらの実験で使用したデナトニウムの濃度は、味覚組織における二次メッセンジャーの変化およびイオンチャネル活性の誘発で使用した濃度と同様である。フェニルチオカルバミド、6-n-プロピル-2-チオウラシル、カフェイン、およびニコチンを含む種々の他の苦味物質によっても、STC-1細胞における強力な[Ca²⁺]_i応答が誘導された(図9および10)。

【0109】

ロドプシンのNH2末端39アミノ酸を含むキメラmT2R5受容体のHEK-293細胞における異種発現は、[Ca²⁺]_iの増加で示されるようにmT2R-5がシクロヘキシミドに反応することを証明した(Chandrashekarら、Cell、100、703~711、2000)。STC-1細胞で低レベルのmT2R5発現が検出されたので、シクロヘキシミドがこれらの細胞での[Ca²⁺]_i応答を刺激するかを検定した。シクロヘキシミドの添加により、STC-1細胞の小亜集団で[Ca²⁺]_iの

10

20

30

40

50

振動変化が誘導されることが見出された(図9)。対照的に、アトロピン、コーヒー酸、およびエピカテキンを含む他の苦味物質によっては、STC-1細胞において $[Ca^{2+}]_i$ のいかなる検出可能な変化も誘導されなかった。

【0110】

実施例3

ラットおよびマウスGI組織におけるガストデューション(G_{gust})およびトランスデューション(G_t)の発現

GI管での G_{gust} 発現を同定するために、ラットの幽門、胃底、および十二指腸粘膜から単離した逆転写mRNAを、ラット G_{gust} 配列に基づいた特異的プライマーを使用したPCRに供した(図7)。これらの各組織から推定サイズ(332bp)の主要なPCR産物を得た。興味深いことに、 G_{gust} 特異的プライマーを使用したラット胃内分泌細胞で豊富なcDNAライブラリーのPCR増幅によっても、332bpフラグメントが産生された。配列分析により、これらのPCR産物が増幅 G_{gust} に対応することが確認された。胃内分泌細胞cDNAライブラリー由来の G_{gust} の全読み取り枠をコードするcDNAフラグメントのクローニングおよび配列決定によって、胃 G_{gust} の同一性を確認した。

10

【0111】

最初に網膜の光受容体のみで発現すると考えられていたトランスデューション1(G_{t-1})および2(G_{t-2})のサブユニットは、細胞内味覚シグナル伝達に参与する脊椎動物味覚細胞にも存在する。ここで、トランスデューションがGI粘膜でも発現することを同定するために、RT-PCRおよび免疫組織化学を使用した。

20

【0112】

ヒトおよびマウストランスデューションのCOOH末端の114アミノ酸をコードするコンセンサス配列に基づいたプライマーを使用したRT-PCRによって(図1に記載)、胃底粘膜で G_{t-2} 転写物が支配的に検出された。胃幽門および十二指腸から抽出されたRNAを使用して、より弱いRT-PCRシグナルも得られた。さらに、ラット胃内分泌細胞のcDNAライブラリーにおいても G_{t-2} が検出された。対照的に、同じRT-PCR条件を使用して、胃底、幽門、十二指腸、およびラット胃内分泌細胞のcDNAライブラリーから増幅 G_{t-1} に対応するわずかなシグナルしか得られなかった。 G_{t-1} のRT-PCRをさらに15サイクル行った場合、胃底のみで推定 G_{t-1} 産物(340bp)が検出され、さらに116bpのイントロン7を含む非スプライシングバリエーション(456bp)が幽門で同定された(データ示さず)。これらの結果は、 G_{gust} に加えて、トランスデューション(特に G_{t-2})もまた胃腸系で発現されることを示す。

30

【0113】

G_{gust} 転写物が胃底および幽門で検出され、 G_{t-2} は胃底に優先的に存在するとみられることにより、これら2つのGタンパク質は異なる胃細胞によって発現されることが示唆され、この可能性を調査するために、本発明者らは、 G_{gust} および G_{t-2} の固有のアミノ酸配列に指向する特異的抗体を使用した免疫組織化学によってこれらGタンパク質のサブユニットの発現を試験した。マウス胃底粘膜切片では、 G_{t-2} は、腺の先端領域よりもむしろ基底に存在する細胞に局在していた。首(neck)では、拡散したわずかな G_{t-2} 陽性細胞のみが認められた。対照的に、胃底のほとんどの G_{gust} 陽性細胞は、腺の上部(首)領域、峽部、または表面上皮に存在するが、基底部分に存在しなかった。幽門粘膜で稀に G_{t-2} 染色細胞が認められたが、この胃領域では G_{gust} 陽性細胞が豊富であった。 G_{t-2} および G_{gust} 抗体の対応する免疫原性ペプチドへの曝露により、胃上皮細胞の免疫染色が完全に消滅した。連続切片試験によって明らかのように、 G_{t-2} 陽性細胞の分布および形態(挿入図を参照のこと)は、 G_{gust} 陽性細胞のものと明らかに異なっていた(図4~6)。この所見は、 G_{gust} および G_{t-2} が、胃粘膜中の異なる上皮細胞型によって発現されることを示す。

40

【0114】

実施例4

ラットおよびマウスGI粘膜中の推定GT2R転写物の同定

苦味覚受容体シグナル伝達に参与するガストデューションおよびトランスデューションがGI

50

管で発現されるので、次の工程は、舌上皮の味覚細胞において同定された任意の味覚受容体ファミリーのメンバーも胃粘膜および十二指腸粘膜で発現されるかどうかを決定することであった。マウスまたはラットの胃粘膜または十二指腸粘膜中にT1Rファミリーの転写物は検出されなかった。非常に対照的に、縮重T2Rプライマーを使用したRT-PCR分析によって、幽門、胃底、および十二指腸で増幅産物が産生された。

【0115】

ラットの幽門、胃底、および十二指腸組織中の公知のT2Rサブタイプの発現をさらに試験した。ラット特異的プライマーを使用したRT-PCRによって、ラットの幽門、胃底、および十二指腸中に多数のT2R転写物が検出された(図8)。さらに、非常に富化されたラット胃内分泌細胞cDNAライブラリーで多数のT2R cDNA配列がまた見出された。全ての増幅産物をクローン化および配列決定し、これらが公知のT2R配列と同一であることを確認した。対照的に、肝臓、顎下腺、心臓、腎臓、および脳ならびに非分化腸上皮細胞株IEC-6から単離したRNAを使用したRT-PCRでは、いかなるこれらの転写物も検出されなかった。これらの結果により、ラット胃粘膜および十二指腸粘膜でのT2Rファミリーの味覚受容体の選択的発現が明らかとなった。マウス胃および十二指腸組織で任意の公知のT2Rが発現するかどうかも決定した。RT-PCRおよび配列決定分析により、mT2R19に対応する転写物が幽門、胃底、および十二指腸ならびに舌に存在するが、結腸、肝臓、心臓、および腎臓を含む他の組織には存在しないことが確認された(図3)。しかし、最初にSTC-1細胞(GT2R-S1、-S2、-S7、mT2R5、mT2R8、およびmT2R30が含まれる)から同定された他のGT2Rは、マウスの幽門、胃底、および十二指腸で発現が異なるにもかかわらず、その遺伝子は全て第6

10

20

【0116】

実施例5

STC-1は、味覚伝達の新規の細胞モデルである

STC-1細胞が多数の苦味覚受容体および味覚シグナル伝達を媒介するGタンパク質のサブユニットを発現することが証明された。本発明者らは、苦味覚シグナル伝達で広範に使用される化合物(例えば、デナトニウム、フェニルチオカルバミド、6-n-プロピル-2-チオウラシル、およびシクロヘキシミド)のSTC-1細胞の培養物への添加により、これらの細胞において迅速な $[Ca^{2+}]_i$ 応答が促進されるが(図9)、IEC-18または3T3などの十分に研究された他の細胞株では促進されない(図10)ことも証明した。

30

【0117】

したがって、1つまたは多数のGT2Rの活性化は、細胞内貯蔵物からの Ca^{2+} が放出される二次メッセンジャーの合成を促進するか、細胞への Ca^{2+} の侵入を媒介するイオンチャネルの開閉を調整する。苦味物質に応答した $[Ca^{2+}]_i$ の増加は、神経の反射を活性化し、そして/または隣接細胞の活性を調整するシグナル伝達分子の放出を誘発することができる。現時点では味覚受容体媒介シグナル伝達を研究するための長期培養細胞系が存在しないので、本発明は、GT2R遺伝子調節およびGT2R媒介シグナル伝達の研究のためのSTC-1の優れた細胞モデルを提供する。

【0118】

結論

薬物および毒素を含む摂取物質の化学成分を感知する胃および腸中の化学感覚受容体の同定は、これらの受容体の活性化によって開始された応答を改変する新規の分子デザインを含む多数の重要な意味を有する。例えば、薬物および毒素は嘔吐反射を開始させ、いくつかの食品成分は食欲および満腹を制御し、胃腸の運動性を変化させ、正常な消化機能に必要な神経およびホルモンの経路を開始する。本発明者らが胃および腸で同定した化学感覚受容体の巨大なファミリーは、これらの応答の媒介において重要な役割を果たす可能性が高い。

40

【0119】

口より後ろの(post-oral)GI管における味覚受容を、中枢神経系で舌上皮から生じる味覚シグナルと統合し得、または全く異なる系によって処理される。苦味化合物の挙動効

50

果（例えば、条件付きの味の回避）は、味蕾だけでなく胃および腸で発現した味覚受容体によって感知された刺激の複雑な統合の結果である可能性がある。胃および十二指腸の粘膜における味覚受容体の同定は、分子感知理解に新たな道を開き、消化管内のこれらの受容体の機能を改変する治療化合物の開発の道を開く。

【0120】

本明細書中で引用された全ての刊行物および特許出願は、各刊行物または特許出願が具体的且つ個別に参照として組み入れられることが示されたかのように、参照として本明細書に組み入れられる。任意の刊行物の引用は、出願日前のその開示のためであり、本発明が先行発明によるこのような刊行物よりも日付が前である権利がないという承認と解釈すべきではない。

【0121】

上記の発明は、明確な理解を目的として例示および実施例によって詳細に説明されているが、本発明の教示を考慮して、添付の特許請求の範囲の精神または範囲から逸脱することなく一定の変形形態および改変形態を作製し得ることが当業者に容易には明らかである。

【図面の簡単な説明】

【0122】

【図1】STC-1細胞における、 G_{t-2} 、 G_{gust} 、およびGT2Rファミリーメンバーの発現を示す。A:STC-1細胞から単離したポリA⁺RNAに対して、 G_{t-2} および G_{gust} のサブユニットについてRT-PCR分析を行った。推定サイズ（矢印で示す）のPCR産物を、サブクローン化し、配列決定してその同一性を確認した。B:STC-1細胞から調製した総タンパク質抽出物に対する G_{t-2} および G_{gust} についての免疫プロット分析を行った。通常のまたは予め吸収させた G_{t-2} および G_{gust} 特異的抗体を使用して、その各Gの存在を検出し、総タンパク質抽出物中のサブユニットを電気泳動し、ニトロセルロースメンブレンにプロットした。C:セクションAに記載の実験で使用したものと同一のcDNAに対して、T2R特異的プライマーを使用したRT-PCR分析を行った。推定mT2Rに対応するPCR産物をサブクローン化し配列決定して、公開されているラットおよびマウス配列との関連を確認した。

【図2】STC-1細胞から単離されたマウスGT2Rホモログの推定アミノ酸配列を示す。縮重または特異的プライマーを使用したRT-PCRによって作製したSTC-1のcDNAクローンおよびマウスBACゲノムDNAライブラリーから単離したゲノムクローンから完全な配列を推定した。複数の配列および相同性分析のために、MacVectorソフトウェア（バージョン7.1、Accelrys Inc.）を使用してClustalWアラインメントを行った。

【図3】マウス上部消化管におけるヒトT2R1およびラットT2R1の公知のマウスオルソログであるmT2R19転写物の組織分布を示す。種々のマウス組織から調製したcDNAに対してmT2R19特異的プライマーを使用したRT-PCRを行った。PCR産物を、EtBrを含む1%アガロースゲルで分離し、推定mT2R19 cDNAフラグメント（698bp）の同一性を、DNA配列決定によって確認した。A:幽門、F:胃底、D:十二指腸、I:回腸、J:空腸、C:結腸、L:肝臓、H:心臓、K:腎臓、およびT:舌。対照として、各サンプル由来の α -アクチンを増幅し、下のパネルに示す。

【図4】図4A~4Dは、マウス胃底（AおよびB）および幽門（CおよびD）における G_{t-2} および G_{gust} の免疫染色を示す。図4A- G_{t-2} に対する抗体での免疫染色。胃底腺の基部（base）は、陽性染色細胞に富む（矢印）（40倍）。挿入図:染色細胞は円く、中心またはわずかに中心から外れた核および淡色の（pale）細胞質を含むことを示す、腺の拡大図（100倍）。図4B- G_{gust} に対する抗体で染色された連続切片。この腺部分で陽性細胞は認められない（40倍）。図4C- G_{t-2} に対する抗体で免疫染色した幽門粘膜。陽性細胞は認められない（40倍）。図4D- G_{gust} に対する抗体で染色された連続切片。矢印は、多数の陽性染色細胞のいくつかを示す（40倍）。挿入図:基底膜に向かう管腔の棒状物（pole）および突出を有する伸長した形状を示す G_{gust} 陽性細胞の拡大図（100倍）。

【図5】図5A~5Dは、舌の味蕾（AおよびB）および胃幽門（CおよびD）の G_{gust} の免疫染色を示す。図5A- G_{gust} に対する抗体での舌上皮の免疫染色により、味蕾中の G_{gust}

10

20

30

40

50

陽性細胞の存在が示される。図5B-G_{gust}に対する抗体で免疫染色しているが、免疫化ペプチドの存在下でインキュベートした舌上皮の連続切片。図5C-G_{gust}に対する抗体で免疫染色した幽門粘膜。図5D-G_{gust}に対する抗体で免疫染色しているが、免疫化ペプチドの存在下でインキュベートした連続切片。免疫原性ペプチドの添加により味蕾中の細胞または胃粘膜細胞のいずれかの染色が完全に遮断されることに留意のこと。対照的に、G_{olf}のサブユニットまたは細胞外シグナル調節キナーゼ領域に対応する構造的に無関係のペプチドの存在下での抗体のインキュベーションにより、胃上皮細胞の免疫染色は減少しなかった。使用した抗体は、G_{gust}のアミノ酸93~112に対応するペプチド(ラットタンパク質中の非常に多岐にわたる配列)[G_{gust}(1-20);Santa Cruz Biotechnology]で惹起された親和性精製ウサギポリクローナル抗体であった。ウェスタンブロッティングおよび免疫組織化学によって示されるように、G_{gust}(1-20)は、マウス、ラット、およびヒト細胞起源のガストデューシンのサブユニットと特異的に反応するが、桿体(G_{t-1})または錐体(G_{t-2})トランスデューシン(Santa Cruz Biotechnology)を含む他のGサブユニットとは交差反応しない(倍率:AおよびB、40倍;CおよびD、20倍)。

【図6】図6A~6Dは、マウス網膜(AおよびB)および胃底(CおよびD)におけるG_{t-2}の免疫染色を示す。図6A-網膜におけるG_{t-2}に対する抗体での免疫染色。図6B-網膜の連続切片を、G_{t-2}に対する抗体で免疫染色したが、免疫化ペプチドの存在下でインキュベートした。図6C-胃底腺の基部におけるG_{t-2}に対する抗体での免疫染色。図6D-胃底腺の基部の連続切片を、G_{t-2}に対する抗体で免疫染色したが、免疫化ペプチドの存在下でインキュベートした。1.色素上皮、2.光受容体(錐体および桿体)層。免疫原性ペプチドの添加により網膜の錐体細胞または胃粘膜細胞のいずれかの染色が完全に遮断されることに留意のこと。対照的に、G_{olf}のサブユニットまたは細胞外シグナル関連キナーゼ領域に対応する構造的に無関係のペプチドの存在下での抗体のインキュベーションにより、胃上皮細胞の免疫染色は減少しなかった。これらの実験で使用した抗体は、ウェスタンブロッティングおよび免疫組織化学によって示されるように、マウス、ラット、およびヒト起源の細胞と反応するが、G_{t-1}(Santa Cruz Biotechnology)を含む他のGサブユニットと交差反応しない、α-トランスデューシン-2(G_{t-2}(1-20);Santa Cruz Biotechnology)に対する親和性精製ウサギポリクローナル抗体であった(倍率:20倍)。

【図7】ラットGI組織およびラット胃内分泌細胞のcDNAライブラリーにおけるG_tおよびG_{gust}の発現を示す。PCRによってG_{t-2}およびG_{gust}のサブユニットを増幅するためのコンセンサスプライマーを、公開されたラット、マウス、およびヒトG配列に基づいてデザインした。ラットの幽門(A)、胃底(F)、および十二指腸(D)由来の逆転写mRNAならびに胃内分泌細胞ライブラリー由来のcDNAに対してPCR増幅反応を行った。G_{t-2}およびG_{gust}のPCR産物の推定サイズは、それぞれ340bpおよび332bpである。

【図8】ラットGI管における公知のrT2Rファミリーメンバーの発現を示す。ラット幽門、胃底、十二指腸粘膜、およびIEC-6細胞から単離したポリA⁺mRNAならびにラット胃内分泌細胞cDNAライブラリー由来のcDNAに対して、11種の各rT2Rサブタイプについてのラット特異的プライマーを使用してRT-PCRを行った。PCR産物を、臭化エチジウムを含む1%アガロースゲルで分離し、各rT2Rサブタイプについて予想されるサイズを有する産物をサブクローン化し、配列決定してその同一性を評価した。対照転写物である各サンプル由来のβ-アクチンを、隣のレーンに示す。

【図9】細胞内カルシウム濃度を増加させた苦味物質分子に対するSTC-1細胞の応答を示す。各細胞の[Ca²⁺]_iを、苦味物質の単一濃縮物への曝露前後に測定した。上のパネル:各味物質に応答した細胞のパーセンテージ:DB(安息香酸デナトニウム)10mM(n=160細胞)、1mM(n=98細胞)、0.1mM(n=82細胞);PTC(フェニルチオカルバミド)3mM(n=60細胞);6-PTU(6-n-プロピルチオウラシル)1mM(n=63細胞);CAP(カフェイン)10mM(n=52);NIC(ニコチン)10mM(n=53細胞);CHL(クロロキン)1mM(n=52細胞)、CYC(シクロヘキシミド)50μM(n=538細胞)。括弧内の値は、分析細胞数である。下のパネル:安息香酸デナトニウムまたはシクロヘキシミドに曝露した2つの細胞由来の各[Ca²⁺]_iの軌跡。

10

20

30

40

50

【図10】STC-1細胞中の $[Ca^{2+}]_i$ の用量依存性増加を誘導するデナトニウムの効果を示す。(A)カバーガラス上で成長させたSTC-1細胞を、0.03% NaHCO₃、1.3mM CaCl₂、0.5mM MgCl₂、0.4mM MgSO₄、および0.1% BSAを補足したハックス平衡化塩溶液からなる緩衝液(緩衝液A)で洗浄した。洗浄後、細胞を、DMSO中、1mMのストック由来の5mM フラ-2-テトラ-アセトキシメチルエステル(fura-2/AME)と室温で30分間インキュベートした。次いで、細胞を再度緩衝液Aで洗浄し、室温でさらに30分間放置した。各カバーガラスを、2mlの緩衝液Aを含むガラスキュベット中に入れ、Hitachi F-2000蛍光光度計にて励起波長340nmおよび380nmならびに発光波長510nmで連続的に蛍光を測定した。バーは、示した種々の濃度の安息香酸デナトニウム(DB)応答における $[Ca^{2+}]_i$ の増加を示す。(B)5mM安息香酸デナトニウム(DB)およびその後の正の対照として添加した50nMバソプレシン(VP)の連続添加後のIEC-18細胞(正常なラット腸上皮細胞株)の $[Ca^{2+}]_i$ 変化。(C)5mM安息香酸デナトニウム(DB)およびその後の正の対照として添加した10nMボンベシン(Bom)の連続添加後のSwiss3T3細胞の $[Ca^{2+}]_i$ 変化。IEC-18細胞およびSwiss3T3細胞の $[Ca^{2+}]_i$ 変化を、STC-1細胞についての上記のように測定した。

10

【図11】マウス第6染色体に対するT2R遺伝子の組織化を示す。苦味遺伝子座は、約1.4Mbにわたり、7個の偽遺伝子を含む少なくとも30個のT2R関連配列を有する。STC-1から同定したGT2R遺伝子は、バンド6F3上の2つのクラスターに分布する。

【配列表】

SEQUENCE LISTING

<110> Rozenfurt, Juan E.
Walsh, John H.
Wu, S. Vincent

<120> Gastrointestinal Chemosensory Receptors

<130> UCLA-003WO

<150> 60/328,993

<151> 2001-10-12

<160> 90

<170> FastSEQ for Windows Version 4.0

<210> 1
<211> 1603
<212> DNA
<213> M. musculus

<220>
<221> misc_feature
<222> (1)...(1603)
<223> n = A,T,C or G

<400> 1
ttgggaaaaa aagccaagta gtcataaaga atttatgaan caattcctgg gattgttttat 60
atthgttaca aacaaattha tatgthtgtt agtcagtaat gtataagtgg gattthaaag 120
catgattatc ttgaattttt aacaaaaaac atgtagtgtc tthtaaatgt agcagaaaca 180
tthaaaaattg aagcatgttc tcacagataa taagcaccag tgatattttt actthtaca 240
taatattatt tgtggaatta gtaataggaa tthtaggaaa tggattcata gcactagtga 300
atatcatgga ctggaccaag agaagaagca thcatcagc ggatcagatt ctcactgctt 360
tggccattac cagatttctc tatgtgtggt thtagatcat ttgtatattg thtattcatgc 420
tgtgcccaca thtgcctaca agatcagaaa tagtaacatc aattggtatt atthggatag 480
tgaataacca thtcagcgtt tggcttgcca catgcctcgg tgtctthtat thtctgaaga 540
tagccaatth thtctaactc thgtthctth acotaaagtg gagggthaaa aaagtattht 600
taatgataat ccaggtatca atgattthct tgattthaaa cctggtatct ctaagcatgt 660
atgatcagth tccaattgat gthtatgaag gaaatacatt thataattht ggggattcaa 720
ccccattthc cacaattthc thtattcatca atthcatcaa agththctgta atcccaact 780
catcccatat thtcttacc cccaactccc tgttcatgct catacccttc acagtgtccc 840
tggtagcctt thtcatgctc atctthctac tgtggaagca tgcataaaag atgcaggthc 900
atgccaagcc acctagagat gccagcacca tggccacat taaagccttg caaacagggt 960
tgtccttctc gctgctgtat gcagtatact tactththt tgtcatagga atgthgagcc 1020
thaggthgat aggaggaaaa thataactth ththtgacca cththctgga ataggththc 1080
ctataagcca ctcatttgth ctgattctgg gaaataacaa gctgagacaa gccagththt 1140
cagththgca thtctgagg tgcagatcca aagatagga caccatgggt ccaataaaaa 1200
thtcagaggth cattgggaaa catcttgaga ththtaggg gaaaaagaaa acgtggggct 1260
tcaaagctgg taggagtha atagagaagg ataggaggag aatgaagaga ctaacattat 1320
atatgtgacc tcagaggaga aggggagatc thtaggaaat aaagaggtac atacaggag 1380
aagaggggtt agagaggha cataataata agaatggagt thtctatgc taagaaaaat 1440
ctatagthca thtgattcat ggtgccaag agactcctga aacactcatc ctattgctgg 1500
tgatattgct thattactag tggthaaat thaatcccc thtctgagth ataccatgta 1560
thaaacaagga ataggaacct thcggthtgg gaactggacc thc 1603

<210> 2
<211> 333
<212> PRT

10

20

30

40

<213> M. musculus

<400> 2

```

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

```

10

20

30

<210> 3

<211> 1634

<212> DNA

<213> M. musculus

<220>

<221> misc_feature

<222> (1)...(1634)

<223> n = A,T,C or G

<400> 3

```

ctgagtagga tgacatataa ataatattta tccattgatc aggactgatg ttgtgtggct      60
taaaatgtgt atccagggcc aaaagtgaaa ataatgtgaa taaatataac tctttttttg      120
tagggttagc atcttgataa ttccagcatt tttatttaac ttcagaaaaa tagatgtgaa      180
gtactggata aagcagagtt catctctttg ggaagaaacc aaccnagat tttcatggag      240

```

40

```

gaattatgga acaattcctg gaaaattgat gtttcctaag agtaatgtgt gaatgggatt 300
ttaaaggatg aatattttga gttttcagcg nccaatatgt agacttttta atgcatcaga 360
gacattatgg attgaagcat gttttcacag gaaataaact gcagccattt gtttactttt 420
tcaatcacct tgmtatgga aatagtaacg ggaatcttag gacatggatt catagcatta 480
gtgaacatca tggactgggt cggaagaaga aggatctctt cagtggatca gattctcact 540
gttttgcccc ttaccagatt catttatgtc tgggctatgc tgatttgcatt attgttattc 600
atgctgagcc cacatttgcc taggagatca gaaatgcttt cagcaatggg tattttctgg 660
gtagtcaaca gccatttttag catctggctt actacatgcc tcggtgtctt ttattttctc 720
aagatagcca atttttctaa ctotTTTTTT ctttatctaa agtggagagt taaaaaagtg 780
atTTTaaTaa taatcctggc atcactgatt ttcttgactt tacacatttt atctttaggg 840
atatatgatac agtttcaat tgcctgttat gtaggaaata tgccttatag tttgacagat 900
tTaaCacaat tttccagTac tttcttattc tccaactcat ccaatgTTTT ctTaatCacc 960
aactcatccc atgttttctt acccatcaac tccttggtca tgcTcatacc cttcacagTg 1020
tcctgggtag cctttctcat gctcatcttc tcactgtgga agcatcaca aaagatgcag 1080
gtcaatgcca gccaacctag aaatgtcagt actatggccc acattaaagc cttgcaaact 1140
gtgttctcct tctgtctgct gtatgccata aacttacttt tccttatcat aggaattttg 1200
aaccttggat tgatggagaa aatagtgatc ctgatatttg accacatttc tgcagcagtt 1260
tttctataaa gccactcatt tgtactgatt ctgggaaaca gtaagctgag acaagccagt 1320
cttctgtgtg tgccttgctt aaggTgCag tccaaagata tggacaccat gggTctctag 1380
taaattocag agTacatttc gTaaaaatcc cgaggacgat cagctcatag aaaaaagTta 1440
ccttatgggg gaaaaTaaaa agTggggctt caatcctggg agcaataata cacagagggg 1500
caggacagca Tgaaggagac tagcactata taagtggcct cacaCaggat atgggaaagg 1560
aaagatttat gcaataaaga gggagataca tattgcagga tgaggaggca cTcacactac 1620
gTaaaatgac tatc 1634

```

```

<210> 4
<211> 333
<212> PRT
<213> M. musculus

```

```

<400> 4
Met Phe Ser Gln Glu Ile Asn Cys Ser His Leu Phe Thr Phe Ser Ile
1 5 10 15
Thr Leu Tyr Val Glu Ile Val Thr Gly Ile Leu Gly His Gly Phe Ile
20 25 30
Ala Leu Val Asn Ile Met Asp Trp Val Gly Arg Arg Arg Ile Ser Ser
35 40 45
Val Asp Gln Ile Leu Thr Ala Leu Ala Leu Thr Arg Phe Ile Tyr Val
50 55 60
Trp Ala Met Leu Ile Cys Ile Leu Leu Phe Met Leu Ser Pro His Leu
65 70 75 80
Pro Arg Arg Ser Glu Met Leu Ser Ala Met Gly Ile Phe Trp Val Val
85 90 95
Asn Ser His Phe Ser Ile Trp Leu Thr Thr Cys Leu Gly Val Phe Tyr
100 105 110
Phe Leu Lys Ile Ala Asn Phe Ser Asn Ser Phe Phe Leu Tyr Leu Lys
115 120 125
Trp Arg Val Lys Lys Val Ile Leu Ile Ile Ile Leu Ala Ser Leu Ile
130 135 140
Phe Leu Thr Leu His Ile Leu Ser Leu Gly Ile Tyr Asp Gln Phe Ser
145 150 155 160
Ile Ala Ala Tyr Val Gly Asn Met Ser Tyr Ser Leu Thr Asp Leu Thr
165 170 175
Gln Phe Ser Ser Thr Phe Leu Phe Ser Asn Ser Ser Asn Val Phe Leu
180 185 190
Ile Thr Asn Ser Ser His Val Phe Leu Pro Ile Asn Ser Leu Val Met
195 200 205
Leu Ile Pro Phe Thr Val Ser Leu Val Ala Phe Leu Met Leu Ile Phe
210 215 220
Ser Leu Trp Lys His His Lys Lys Met Gln Val Asn Ala Ser Gln Pro
225 230 235 240

```

10

20

30

40

```

Arg Asn Val Ser Thr Met Ala His Ile Lys Ala Leu Gln Thr Val Phe
                245                250                255
Ser Phe Leu Leu Leu Tyr Ala Ile Asn Leu Leu Phe Leu Ile Ile Gly
                260                265                270
Ile Leu Asn Leu Gly Leu Met Glu Lys Ile Val Ile Leu Ile Phe Asp
                275                280                285
His Ile Ser Ala Ala Val Phe Pro Ile Ser His Ser Phe Val Leu Ile
                290                295                300
Leu Gly Asn Ser Lys Leu Arg Gln Ala Ser Leu Ser Val Leu Pro Cys
305                310                315                320
Leu Arg Cys Gln Ser Lys Asp Met Asp Thr Met Gly Leu
                325                330

```

```

<210> 5
<211> 1860
<212> DNA
<213> M. musculus

```

10

```

<400> 5
attgagtttc attttttcta ccttggtacc ctataccctc gcaaatgcaa agctggcccc      60
aaccaaatth ccttttaact tgatacaggc acaacatgca aaacagtgga aaagtgtgat      120
cttgattagc atatctgcat tgtgagtttg catttatttc ttaaatacctc tgattaatat      180
ttaggatatg gtaagggcaa acacatactt gctaagactc accagagaat tgcaggaaaa      240
aaattactta agaaaatag tcaatataat gccaaacagg aaatattcaa cttgatatgt      300
tttcagagac ttcaaaaagga gcaggacaaa gagaagaaaa catttaacag cacagtgaaa      360
aactcatggg ccacttgggc acccagggac aggcgacgct gttatatgcc aagctttcta      420
tgaacatgga atctgtcctt cacaactttg ccactgtact aatatacgtg gagtttattt      480
ttgggaatth gagcaatgga ttcatagtgt tgtcaaaact cttggactgg gtcattaaac      540
aaaagctttc cttaatagat aaaattcttc ttacattggc aatttcaaga atcactaaca      600
tctgggaaat atatgcttgg tttaaaagt tataratgac atcttccttt ttaattggaa      660
tagaatttca aattatttat tttagctggg tcttttctag tcaactcagc ctctggcttg      720
ccacaactct cagcgtcttt tatttactca gaatagctaa ctgctcctgg cagatctttc      780
tctatttgaa atggagactt aaacaactga ttgtggggat gttgctggga agcttgggtg      840
tcttgccttg aaatctgatg caaagcatgc ttgaagagag ggtctatcaa tatggaagga      900
acacaagtgt gaataccatg agcaatgacc ttgcaatggt gaccgagctg atctttttca      960
acatggctat gttctctgta ataccattta cattggcctt gatttctttt ctctgcttaa      1020
tcttttcttt gtggaaacat ctccagaaga tgcagctcat ttccagaaga cacagagacc      1080
ctagcaccaa ggcccacatg aatgocctga gaattatggt gtccttctct ttgctctata      1140
ccatgcattt cctgtctctt cttatatcat ggattgctca aaagcatcag agtgaactgg      1200
ctgatattat tggatgata actgaactca tgtatccttc agtccattca tgtatcctga      1260
ttctaggaaa ttctaaatta aagcagactt ctctttgtat gctgaggcat ttgagatgta      1320
ggctgaaagg agagaatctc acaattgcat atagcaacca aataactagc ttttgtgtat      1380
tctgtgttgc aaacaaatct atgaggtagt tgttcaagga atccttctct gacttattgt      1440
atcatggaag tcatatgggg gactctgaaa gagctgtcct ctgtaagcaa ggtttgata      1500
cactagtggg gctgggacac caaccaaac acaaaaaccta gctataacct atcctggctg      1560
caggatatgc tggacaatg gtggcttggg aattgtggga ctggcaaaagc aatagctagt      1620
ctaacttgag gccatttcca cagcaggaag ctcatgcccc cctctgctct gatggccagg      1680
aagcaaaatc ttgatggccc caagacctat ggtaaactga acactactgg aaaaaagaaa      1740
gactcgtgta atgatctatc aaatattttc ctaatgatat tctgataaac tcatatatta      1800
gtcctctgtc taatcatcat cactgggact tcttccocag cacctgatgg ggagcaaaaa      1860

```

20

30

```

<210> 6
<211> 347
<212> PRT
<213> M. musculus

```

```

<400> 6
Met Gly His Leu Val Thr Gln Gly Gln Ala Thr Leu Leu Tyr Ala Lys
1                5                10                15
Leu Ser Met Asn Met Glu Ser Val Leu His Asn Phe Ala Thr Val Leu
                20                25                30

```

40

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

10

20

<210> 7
 <211> 1280
 <212> DNA
 <213> M. musculus

30

<400> 7
 atattttaaaa atccatttga actgttttgt aaacattcct atttttataa tacctgtacc 60
 atattcatcc attagcacac agggatgctt tcctacttga aaatggccat gggatttcta 120
 caaaacatga tctttgctga ccataaatga agaccacatg aatcagtggtg ttcataaat 180
 cacagccagt gacacaacag ctacctttca tttttcctct tttcaaaact tgctcagaca 240
 tgatgagttt cttggtaagc attgcatcca ttgcaatgct ggtgaaaatt gttcttggaa 300
 cctttgccaa tgtcttcatt gttctggtaa acttcaactga ctgcatcaag aaaagaaaaa 360
 tcctcttagc tgatagaatt ctcactgttc tggtatcctt caggtttgac ttgctttgga 420
 taatattaat gaattggagc tcaagtgtgt ttcattgtagg tttgtatttc caagtaagat 480
 tttgtatttg tgtgtcttgg atagtaacca accattttaa tacatggctt gcaaataac 540
 tcagcatact ttatttgttg aagatagaca atttctcaaa tcttattttt cttggcctga 600
 aaggaaaaat taagtgtcct tatattgtac ttttgccatg ttttgtgctt ttatttcta 660
 atcttataat ggtaacata tgtgagacaa cacaagcaaa tggacaccag ggcaacttga 720
 ctgggaagac aaaactgact tatttcacga accttatagc tatgactttc actctaggca 780
 gtttagttcc cttcaccaca ttcattgatct gtttccttct cttaatctgt tctctgtgta 840

40

```

aacaccttag gacaatgagg ctttatggaa aaggatccca gggccccagt gcttcaaccc 900
acattaaggt tttgcaagtt ttgatctcat ttctgttgtt attctccatg tttattctgt 960
tgctaatacat atcagattac aattatacaa agtctctgga ggaaccaatc cacctgattt 1020
gccagggtat tggaaccttg tacccttcaa gacattctta tatcttgcta tggggaaaca 1080
agaggatcaa acaggccttt gtgttgcaa tggttcaggt gagagcaagg ttctggctga 1140
aagaaaagaa accttgaaac acttcaatca atttatgaga tgcagtgtga ctaatagcag 1200
ggtctgtagc attgtattct ttgtattgct ttcaaaagtt tactgtgtaa attgtttcta 1260
aagaaatttc tagaaagcat 1280

```

<210> 8
 <211> 305
 <212> PRT
 <213> M. musculus

```

<400> 8
Met Met Ser Phe Leu Val Ser Ile Ala Ser Ile Ala Met Leu Val Lys 10
 1 5 10 15
Ile Val Leu Gly Thr Phe Ala Asn Val Phe Ile Val Leu Val Asn Phe
 20 25 30
Thr Asp Cys Ile Lys Lys Arg Lys Phe Leu Leu Ala Asp Arg Ile Leu
 35 40 45
Thr Val Leu Ala Ile Phe Arg Phe Asp Leu Leu Trp Ile Ile Leu Met
 50 55 60
Asn Trp Ser Ser Ser Val Phe His Val Gly Leu Tyr Phe Gln Val Arg
 65 70 75 80
Phe Cys Ile Cys Val Val Trp Ile Val Thr Asn His Phe Asn Thr Trp
 85 90 95
Leu Ala Asn Ile Leu Ser Ile Leu Tyr Leu Leu Lys Ile Asp Asn Phe
 100 105 110
Ser Asn Leu Ile Phe Leu Gly Leu Lys Gly Lys Ile Lys Cys Pro Tyr
 115 120 125
Ile Val Leu Leu Pro Cys Phe Val Leu Leu Phe Pro Asn Leu Ile Met
 130 135 140
Val Thr Ile Cys Glu Thr Thr Gln Ala Asn Gly His Gln Gly Asn Leu
 145 150 155 160
Thr Gly Lys Thr Lys Leu Thr Tyr Phe Thr Asn Leu Ile Ala Met Thr
 165 170 175
Phe Thr Leu Gly Ser Leu Val Pro Phe Thr Thr Phe Met Ile Cys Phe
 180 185 190
Leu Leu Leu Ile Cys Ser Leu Cys Lys His Leu Arg Thr Met Arg Leu
 195 200 205
Tyr Gly Lys Gly Ser Gln Gly Pro Ser Ala Ser Thr His Ile Lys Val
 210 215 220
Leu Gln Val Leu Ile Ser Phe Leu Leu Leu Phe Ser Met Phe Ile Leu
 225 230 235 240
Leu Leu Ile Ile Ser Asp Tyr Asn Tyr Thr Lys Ser Leu Glu Glu Pro
 245 250 255
Ile His Leu Ile Cys Gln Val Ile Gly Thr Leu Tyr Pro Ser Arg His
 260 265 270
Ser Tyr Ile Leu Leu Trp Gly Asn Lys Arg Ile Lys Gln Ala Phe Val
 275 280 285
Leu Ala Met Val Gln Val Arg Ala Arg Phe Trp Leu Lys Glu Lys Lys
 290 295 300
Pro
305

```

<210> 9
 <211> 672
 <212> DNA
 <213> M. musculus

10

20

30

40

<400> 9
 attggtgtcg tatggataat aataatatta catgggaata tacaggtgca ttatccacac 60
 acccacacca gaggaacga aacgaggacc gttgcctact tctggacact taccaaccac 120
 ttaagtgtct ggtttgccac ctgccctcagc attctctatt tattcaagat agcaaacctc 180
 ttccaccctc ttttctctg gataaaagg agaattgaca agctaattct cagaactcta 240
 ctggcatggg tgaccatctg cctgcgtttt aacctcccag tcaactgaaaa tctgagggat 300
 gatttcaaac gccgggggaa caccaaggag agaataacct ctcttttgcg atgcaaagta 360
 aataaagctg gacatgcctc tgtcaaggta aatctcaact tggatcatgct gctccccttt 420
 tctgtgtctc tgggtcctt tctctcttg gtcctctccc tgtggagaca caccaggcag 480
 atacaactca gtgtaacagg gtacaaagat cccagcacia cagctcatgt gaaagccatg 540
 aaagcagtaa tttcttctt gccctgttt gttgtctact gcctagcctt tctcatagcc 600
 acctccagct actttatgcc agagagtga ctacctgtaa tatgggggtga gctgatagct 660
 ctaatctatc ct 672

<210> 10
 <211> 224
 <212> PRT
 <213> M. musculus

10

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

20

30

<210> 11
 <211> 675
 <212> DNA
 <213> M. musculus

<400> 11
 atttgtctac agtgtataat cctattagat ggtattatat tgggtgcagta tccagacact 60
 tacaacaggg gtaaagaat gaggatcatt gatttcttct ggacgcttac caaccattta 120
 agtgtctggt ttgccacctg cctcagcatt ttccatttct tcaagatagc aaacttcttc 180
 catcctcttt fcctctggat aaagtggaga attgacaagc taattctgag gactctactg 240
 gcatgcttga ttctctcct atgcttttagc ctcccagtca ctgagaattt gactgatgat 300
 ttcagacgct gtgtcaaac aaaagaaaga ataaactcta ctctgaggtg caaatataat 360

40

```

aaagctggat atgcttctgt caaggtaaat ctcaacttgg tcatgctggt ccccttttct 420
gtgtcccttg tctcattcct tctcttgatt ctctccctat ggagacacac caggcagatg 480
caactcaatg taacagggta caatgatccc agcacaacag ctcatgtgaa agccacaaaa 540
gcagtaattt ccttcctagt tctgtttatt gtctactgcc tggcctttct tatagccact 600
tccagctact ttatgccaga gagtgaatta gctgtaattt ggggtgagct gatagctcta 660
atatatccct caagc 675

```

```

<210> 12
<211> 225
<212> PRT
<213> M. musculus

```

```

<400> 12
Ile Cys Leu Gln Cys Ile Ile Leu Leu Asp Gly Ile Ile Leu Val Gln
1 5 10 15
Tyr Pro Asp Thr Tyr Asn Arg Gly Lys Glu Met Arg Ile Ile Asp Phe
20 25 30
Phe Trp Thr Leu Thr Asn His Leu Ser Val Trp Phe Ala Thr Cys Leu
35 40 45
Ser Ile Phe His Phe Phe Lys Ile Ala Asn Phe Phe His Pro Leu Phe
50 55 60
Leu Trp Ile Lys Trp Arg Ile Asp Lys Leu Ile Leu Arg Thr Leu Leu
65 70 75 80
Ala Cys Leu Ile Leu Ser Leu Cys Phe Ser Leu Pro Val Thr Glu Asn
85 90 95
Leu Thr Asp Asp Phe Arg Arg Cys Val Lys Thr Lys Glu Arg Ile Asn
100 105 110
Ser Thr Leu Arg Cys Lys Leu Asn Lys Ala Gly Tyr Ala Ser Val Lys
115 120 125
Val Asn Leu Asn Leu Val Met Leu Phe Pro Phe Ser Val Ser Leu Val
130 135 140
Ser Phe Leu Leu Leu Ile Leu Ser Leu Trp Arg His Thr Arg Gln Met
145 150 155 160
Gln Leu Asn Val Thr Gly Tyr Asn Asp Pro Ser Thr Thr Ala His Val
165 170 175
Lys Ala Thr Lys Ala Val Ile Ser Phe Leu Val Leu Phe Ile Val Tyr
180 185 190
Cys Leu Ala Phe Leu Ile Ala Thr Ser Ser Tyr Phe Met Pro Glu Ser
195 200 205
Glu Leu Ala Val Ile Trp Gly Glu Leu Ile Ala Leu Ile Tyr Pro Ser
210 215 220
Ser
225

```

10

20

```

<210> 13
<211> 3
<212> DNA
<213> M. musculus

```

30

```

<220>
<221> misc_feature
<222> (1)...(3)
<223> n = A,T,C or G

```

```

<400> 13
nnn

```

3

```

<210> 14
<211> 3
<212> PRT
<213> M. musculus

```

40

<220>
 <221> VARIANT
 <222> (1)...(3)
 <223> Xaa = Any Amino Acid

<400> 14
 Xaa Xaa Xaa
 1

<210> 15
 <211> 912
 <212> DNA
 <213> M. musculus

10

```

<400> 15
atgacctccc ctttcccagc tatttatcac atgggtcatca tgacagcaga gtttctcatc      60
gggactacag tgaatggatt ctttatcatt gtgaactgct atgacttggt caagagccga      120
acgttcctga tcctgcagac cctcttgatg tgacacagggc tgtccagact cggctctgcag      180
ataaatgctca tgaccocaaag cttcttctct gtgttctttc catactctta tgaggaaaat      240
atttatagtt cagatataat gttcgtctgg atgttcttca gctcagattgg cctctgggtt      300
gccacatgtc tctctgtctt ttactgcctc aagatttcag gcttcaactcc accctgggtt      360
ctttggctga aattcagaat ttcaaagctc atattttggc tgcttctggg cagcttgctg      420
gcctctctgg gcaactgcaac tgtgtgcatc gaggtaggtt tccctttaat tgaggatggc      480
tatgtcctga gaaacgcagg actaaatgat agtaatgcca agctagtggag aaataatgac      540
ttgtcctca tcaacctgat cctcctgctt ccctgtctg tgtttgtgat gtgcacctct      600
atggtatttg tttctcttta caagcacatg cactggatgc aaagcgaatc tcacaagctg      660
tcaagtgccg gaaccgaagc tcatataaat gcattaaaga cagtgacaac attcttttgt      720
ttctttgttt cttactttgc tgccttcatg gcaaatatga catttagaat tccatacaga      780
agtcacagtt tcttctggtt gaaggaaatc atggcagcat atcccgcgg ccactctgct      840
ataatcgtct tgagtaactc taagttcaaa gacttattca ggagaatgat ctgtctacag      900
aaggaagagt ga                                         912
  
```

20

<210> 16
 <211> 303
 <212> PRT
 <213> M musculus

```

<400> 16
Met Thr Ser Pro Phe Pro Ala Ile Tyr His Met Val Ile Met Thr Ala
 1                               5                               10           15
Glu Phe Leu Ile Gly Thr Thr Val Asn Gly Phe Leu Ile Ile Val Asn
 20                               25                               30
Cys Tyr Asp Leu Phe Lys Ser Arg Thr Phe Leu Ile Leu Gln Thr Leu
 35                               40                               45
Leu Met Cys Thr Gly Leu Ser Arg Leu Gly Leu Gln Ile Met Leu Met
 50                               55                               60
Thr Gln Ser Phe Phe Ser Val Phe Phe Pro Tyr Ser Tyr Glu Glu Asn
 65                               70                               75           80
Ile Tyr Ser Ser Asp Ile Met Phe Val Trp Met Phe Phe Ser Ser Ile
 85                               90                               95
Gly Leu Trp Phe Ala Thr Cys Leu Ser Val Phe Tyr Cys Leu Lys Ile
 100                              105                              110
Ser Gly Phe Thr Pro Pro Trp Phe Leu Trp Leu Lys Phe Arg Ile Ser
 115                              120                              125
Lys Leu Ile Phe Trp Leu Leu Leu Gly Ser Leu Leu Ala Ser Leu Gly
 130                              135                              140
Thr Ala Thr Val Cys Ile Glu Val Gly Phe Pro Leu Ile Glu Asp Gly
 145                              150                              155           160
Tyr Val Leu Arg Asn Ala Gly Leu Asn Asp Ser Asn Ala Lys Leu Val
 165                              170                              175
  
```

30

40

Arg Asn Asn Asp Leu Leu Leu Ile Asn Leu Ile Leu Leu Leu Pro Leu
 180 185 190
 Ser Val Phe Val Met Cys Thr Ser Met Leu Phe Val Ser Leu Tyr Lys
 195 200 205
 His Met His Trp Met Gln Ser Glu Ser His Lys Leu Ser Ser Ala Arg
 210 215 220
 Thr Glu Ala His Ile Asn Ala Leu Lys Thr Val Thr Thr Phe Phe Cys
 225 230 235 240
 Phe Phe Val Ser Tyr Phe Ala Ala Phe Met Ala Asn Met Thr Phe Arg
 245 250 255
 Ile Pro Tyr Arg Ser His Gln Phe Phe Val Val Lys Glu Ile Met Ala
 260 265 270
 Ala Tyr Pro Ala Gly His Ser Val Ile Ile Val Leu Ser Asn Ser Lys
 275 280 285
 Phe Lys Asp Leu Phe Arg Arg Met Ile Cys Leu Gln Lys Glu Glu
 290 295 300

10

<210> 17
 <211> 1002
 <212> DNA
 <213> M. musculus

<400> 17
 atgagattta tgaacagaac aagcaaggat cagggtggcc taaattctaa tatgtttgga 60
 ttcattgaag ggggtgttct ggttctgact atcactgagt ttattcttgg aaatctgggtg 120
 aatggtttca ttgtgtcaat caatagcagc tattggttca agagcaagaa gatttctttg 180
 tctaacttca tcattaccag cttggccctc ttcaggatct ttctgtttgtg gattatcttt 240
 attgatagtc ttataatagt gttctcttac cagactcatg actcagggat aatgatgcaa 300
 ctaattgatg ttttctggac atttacaac cacttcagta ttgggtttat ctctgtctc 360
 agtgttttct actgctgaa aatagccagt ttctcccacc cctcattcct ctgggtcaaa 420
 tggagagctt ctagagtggt tgttgggatg ctgtggggcg cactgctctt atcctgtgtc 480
 agtaccatgt ctctgatgaa tgaatttaag atctattctg cctcactag aagcaaagac 540
 acaccaaata tgactgaata catcagactg aagcgacagg aatataatct gatgcatgtt 600
 cttgggaate tgtggaagat tccttcctta attgtttccc tggttgccta ccttctgctg 660
 ctctctctc tggggaagca cacacagcag atgcagcaat acagtattga ctccagagat 720
 cagagtgtctg agggccacaa aagagccatg agaatcatct cttcctttct cctattcttc 780
 ttattctact ttctttcctt tatgattttg tcatccagtc gtttctacc agaaaccagg 840
 atgccagga taattggagt agtgatttca atgcatacc ttgttgggtga ttcatttatt 900
 ctcatagtat gtaacaacaa gctgaagcat acatttgtg ccatgctccc atgtgagtgt 960
 ggtcatctga aacctggatc taagggacc tctgcttcat aa 1002

20

<210> 18
 <211> 333
 <212> PRT
 <213> M. musculus

30

<400> 18
 Met Arg Phe Met Asn Arg Thr Ser Lys Asp Gln Gly Gly Leu Asn Ser
 1 5 10 15
 Asn Met Phe Gly Phe Ile Glu Gly Val Phe Leu Val Leu Thr Ile Thr
 20 25 30
 Glu Phe Ile Leu Gly Asn Leu Val Asn Gly Phe Ile Val Ser Ile Asn
 35 40 45
 Ser Ser Tyr Trp Phe Lys Ser Lys Lys Ile Ser Leu Ser Asn Phe Ile
 50 55 60
 Ile Thr Ser Leu Ala Leu Phe Arg Ile Phe Leu Leu Trp Ile Ile Phe
 65 70 75 80
 Ile Asp Ser Leu Ile Val Phe Ser Tyr Gln Thr His Asp Ser Gly
 85 90 95
 Ile Met Met Gln Leu Ile Asp Val Phe Trp Thr Phe Thr Asn His Phe
 100 105 110

40

Ser Ile Trp Leu Ile Ser Cys Leu Ser Val Phe Tyr Cys Leu Lys Ile
 115 120 125
 Ala Ser Phe Ser His Pro Ser Phe Leu Trp Leu Lys Trp Arg Ala Ser
 130 135 140
 Arg Val Val Val Gly Met Leu Trp Gly Ala Leu Leu Leu Ser Cys Val
 145 150 155 160
 Ser Thr Met Ser Leu Met Asn Glu Phe Lys Ile Tyr Ser Ala Leu Thr
 165 170 175
 Arg Ser Lys Asp Thr Pro Asn Met Thr Glu Tyr Ile Arg Leu Lys Arg
 180 185 190
 Gln Glu Tyr Asn Leu Met His Val Leu Gly Asn Leu Trp Lys Ile Pro
 195 200 205
 Ser Leu Ile Val Ser Leu Val Ala Tyr Leu Leu Leu Leu Ser Leu
 210 215 220
 Gly Lys His Thr Gln Gln Met Gln Gln Tyr Ser Ile Asp Ser Arg Asp
 225 230 235 240
 Gln Ser Ala Glu Ala His Lys Arg Ala Met Arg Ile Ile Ser Ser Phe
 245 250 255
 Leu Leu Phe Phe Leu Phe Tyr Phe Leu Ser Phe Met Ile Leu Ser Ser
 260 265 270
 Ser Arg Phe Leu Pro Glu Thr Arg Ile Ala Arg Ile Ile Gly Val Val
 275 280 285
 Ile Ser Met Ser Tyr Leu Val Gly Asp Ser Phe Ile Leu Ile Val Cys
 290 295 300
 Asn Asn Lys Leu Lys His Thr Phe Val Ala Met Leu Pro Cys Glu Cys
 305 310 315 320
 Gly His Leu Lys Pro Gly Ser Lys Gly Pro Ser Ala Ser
 325 330

10

<210> 19
 <211> 996
 <212> DNA
 <213> M. musculus

20

<400> 19
 atgctgagtc tgactcctgt cttactgtg tcctatgaag ccaagatttc atttctgttc 60
 ctttcagcca tggagtttgc agtgggaatc ctggccaacg ccttcattgt cttggtaaat 120
 gtttgggatg tggtaaaaa gcagcccttg aacaactgtg acatcgcaact gctgtgtctc 180
 agcatcactc ggcttttctc gcagggcctt ctgcttcttg atgctattca gctcgcctgc 240
 ttccagcaga tgaagaccc actgagccac aactaccaag ccacctcac tctctggatg 300
 attgcaaacc aagtgagcct ctggetggct gctgcctca gtctcctcta ctgctccaag 360
 attgtccgct tctctcacac ctttcactc catgtagcaa gctgggtctc caggagattt 420
 cttcagatgc ttctagttgt tcttctctc tcctgcatct gcactgccct ttgtttgtgg 480
 gactttttt gcagatctca ctccacggtc acatctctac tgcacctgaa cagcacagaa 540
 ttcagtttgc aaattgcaaa actcaatttc ttttactcgt ttatctctg caatgtgggc 600
 tctgtccccc cttctctagc tttcctgggt tcctcgggag tgcctggttat ctccctgggg 660
 agtcacatga ggactatgaa gtccaaaacc agcagctctg gtgacccag ccttgaggcc 720
 cacatcagag ccacatatt tctgatctcc ttttctgtt tttacgtggt gtcattctgt 780
 gctgctttaa tatcaatacc cttactgatg ctatggcaca ataagggggg agtcatgatt 840
 tgtatagggg tcatggcagc ttgtccttcg ggacatgcag ccacctctgat atcaggcaat 900
 gctaagctga ggagggccat agagaccatg ctattctggt ttcaaagcag gcaaaagggtg 960
 agaccagtcc acaaggttcc tcccaggaca ctctga 996

30

<210> 20
 <211> 331
 <212> PRT
 <213> M. musculus

<400> 20
 Met Leu Ser Leu Thr Pro Val Leu Thr Val Ser Tyr Glu Ala Lys Ile
 1 5 10 15

40

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

10

20

<210> 21
 <211> 960
 <212> DNA
 <213> M. musculus

30

<400> 21
 atggctcaac ccagcaacta ctggaacaa gatgtgctac cattgtctat tttgatgtta 60
 acacttggg ccaactgagtg caccataggt atcattgcaa gtgggattgt catggctgtg 120
 aatgcagtct catgggttca gaaaaaggca atttccataa ctactaggat tctgcttctt 180
 ctgagtgat ccagaatagg cctccaaagc atcatgttga tagaaattac ctctccata 240
 ttcaacgttg ctttttacia cagtgtttta tatagagtct caaatgtaag ttttgtattc 300
 ttaaattatt gtagtctctg gtttctctgt ttgcttagtt tcttccactt tgtgaagatt 360
 gccaattttt cttaccctct gttcttcaaa ctaaagtggga gaatttctga attaatgcc 420
 tggcttctgt ggcctctcagt gtttatttcc ttcagctcca gcatgttctt cagcaagcac 480
 aagttcaactg tgaacaacaa caattctcta agtaacaaca tctgcaactt cacaatgaaa 540
 ctttacgttg ttgagaccaa tgttgtcaat gtgtcttttt tattcatttc gggaaatactc 600
 cctcctttga caatgttctg cgcaacagct actcttctga ttttttctct caggagacac 660
 accctgaaca tgagaaacag tgccactggc tccagaaacc cctgcataga ggctcatatg 720
 caggccatca aagaaaactag ctgttttctc tttctctaca ttttaaatgc agctgctctg 780
 cttctgtcca catccaacat agtcgatgct agtctcttct ggagtattgt gatcagaatt 840

40

gttctgectg tctaccagc tggccattca gttttactaa ttcagaacaa ccttggatta 900
agaagaacat ggaagcatct tcagtctcaa attcatttgt acttacaana tagattctga 960

<210> 22
<211> 319
<212> PRT
<213> M. musculus

<400> 22
Met Ala Gln Pro Ser Asn Tyr Trp Lys Gln Asp Val Leu Pro Leu Ser
1 5 10 15
Ile Leu Met Leu Thr Leu Val Ala Thr Glu Cys Thr Ile Gly Ile Ile
20 25 30
Ala Ser Gly Ile Val Met Ala Val Asn Ala Val Ser Trp Val Gln Lys
35 40 45
Lys Ala Ile Ser Ile Thr Thr Arg Ile Leu Leu Leu Leu Ser Val Ser
50 55 60
Arg Ile Gly Leu Gln Ser Ile Met Leu Ile Glu Ile Thr Ser Ser Ile
65 70 75 80
Phe Asn Val Ala Phe Tyr Asn Ser Val Leu Tyr Arg Val Ser Asn Val
85 90 95
Ser Phe Val Phe Leu Asn Tyr Cys Ser Leu Trp Phe Ala Ala Leu Leu
100 105 110
Ser Phe Phe His Phe Val Lys Ile Ala Asn Phe Ser Tyr Pro Leu Phe
115 120 125
Phe Lys Leu Lys Trp Arg Ile Ser Glu Leu Met Pro Trp Leu Leu Trp
130 135 140
Leu Ser Val Phe Ile Ser Phe Ser Ser Ser Met Phe Phe Ser Lys His
145 150 155 160
Lys Phe Thr Val Asn Asn Asn Asn Ser Leu Ser Asn Asn Ile Cys Asn
165 170 175
Phe Thr Met Lys Leu Tyr Val Val Glu Thr Asn Val Val Asn Val Ser
180 185 190
Phe Leu Phe Ile Ser Gly Ile Leu Pro Pro Leu Thr Met Phe Val Ala
195 200 205
Thr Ala Thr Leu Leu Ile Phe Ser Leu Arg Arg His Thr Leu Asn Met
210 215 220
Arg Asn Ser Ala Thr Gly Ser Arg Asn Pro Cys Ile Glu Ala His Met
225 230 235 240
Gln Ala Ile Lys Glu Thr Ser Cys Phe Leu Phe Leu Tyr Ile Leu Asn
245 250 255
Ala Ala Ala Leu Leu Leu Ser Thr Ser Asn Ile Val Asp Ala Ser Leu
260 265 270
Phe Trp Ser Ile Val Ile Arg Ile Val Leu Pro Val Tyr Pro Ala Gly
275 280 285
His Ser Val Leu Leu Ile Gln Asn Asn Pro Gly Leu Arg Arg Thr Trp
290 295 300
Lys His Leu Gln Ser Gln Ile His Leu Tyr Leu Gln Asn Arg Phe
305 310 315

10

20

30

<210> 23
<211> 960
<212> DNA
<213> M. musculus

<400> 23
atggcaataa ttaccacaaa ttctgactat tttgctcaca ggtatgaagt cataatccct 60
ttcgtggtct ctacaatatg ctctattggt ggcattcattg gcaatggctt catcacagtc 120
atctatggga ctgaatgggt caggagcaaa agaactcccca ctggtgagaa ccttatgttg 180
atgctgagtt ttccaggct gttgctacag atatggatga tggttagagat tacttatagt 240
ctacttttcc cgatcattta taaccataat gccatgtata aactattcaa agccatctct 300

40

```

gtgtttctaa actactgtaa cctctggttt gctgcttggc tcaatgtctt ctattgtctt 360
aaaattgtga acttagctca cctctgttcc ctctctgatga agcagaaaat catagggctg 420
atgcctcggc tctctgagtct gtcagtgttg gtttccttca gcttaagttc cttcttctct 480
aaagacatct taaatgtgta tgtgaacaact tctgttccca tcccttcttc caactccaca 540
aagatgaagt acatctttat gatcaatgta ctacgcttag ctttcttgta ttatatgggg 600
atcttctctc ctttgttcat gttcatcatg gcagccactc tgctgatcac ctactcaag 660
aggcacaccc tgcacatgga aaacagcacc acaggtctca gggactccag catggaggct 720
cacgtgggtg ccatcaaatc gaccagccac tctctcattc tctacattat taatgcactg 780
gctttatatta tttccatgtc aaacatcctt ggtgcttaca gtgtctggaa tagttgtgc 840
aacattatca tgactgccta tccagccggc cagtcatgct atctgatctt gagaaatcca 900
gggctgagaa gagcctggag gcggtttcag caocatgttc atctttacct taaaaggtag 960

```

<210> 24

<211> 319

<212> PRT

<213> M. musculus

10

<400> 24

```

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

```

20

30

<210> 25

<211> 882

40

<212> DNA
<213> M. musculus

```

<400> 25
atgccctcca caccacatt gatcttcatt atcatctttt acctgggtgc attggcctct      60
atgttgacaga atggcttcat gatgattgtg ctgggcagag agtggatgag gaaccggaca      120
ctaccggcag ctgacatgat tgtggcctct ctgtcttctt cccggttctg cttgcatggg      180
atcgccatcc tggccaacct cttggcctcc tttgattttt gttaccaagc gaaccttatt      240
ggcctcctct gggatttcac taacactctc attttttggc ttactgcctg gcttgccatc      300
ttctactgtg tgaagatctc ctctttctcc caccctgtcc tcttttggct caagtggagg      360
atttcccagt tagttcccag gctgctgggt gtatctctca tcataggtgg cctgtcagct      420
gtcatttcag ccaccgggaa cttcattggcc aatcagatga ccatctccca gggtttccat      480
ggaactgca cttttgggtca catgtcactg gacttctatc ggtactatta cctgtatcac      540
tcagtgtcca tgtggttcac tcctttcttc ctgtttctag tgtccgttat cgtgctcatg      600
ttctcaactgt accagcatgt ggagaagatg aggggccaca ggctggggcc ttgggatctc      660
catactcagg cacataccat ggctctgaaa tcctttacct tcttcttcat cttttatata      720
ttttttttct tggcctcggg aatttctagt acaaaaagga aaagcatgca gagttactat      780
tgggccagag aggctatcat ctacacaggc atctttttga actccatcat cctgctgttt      840
agcaacccca aactgagaaa ggccctgaag atgaggtttt ag      882

```

10

<210> 26
<211> 293
<212> PRT
<213> M. musculus

```

<400> 26
Met Pro Ser Thr Pro Thr Leu Ile Phe Ile Ile Ile Phe Tyr Leu Val
1      5      10      15
Ser Leu Ala Ser Met Leu Gln Asn Gly Phe Met Met Ile Val Leu Gly
20     25     30
Arg Glu Trp Met Arg Asn Arg Thr Leu Pro Ala Ala Asp Met Ile Val
35     40     45
Ala Ser Leu Ala Ser Ser Arg Phe Cys Leu His Gly Ile Ala Ile Leu
50     55     60
Ala Asn Leu Leu Ala Ser Phe Asp Phe Cys Tyr Gln Ala Asn Leu Ile
65     70     75     80
Gly Ile Leu Trp Asp Phe Thr Asn Thr Leu Ile Phe Trp Leu Thr Ala
85     90     95
Trp Leu Ala Ile Phe Tyr Cys Val Lys Ile Ser Ser Phe Ser His Pro
100    105    110
Val Leu Phe Trp Leu Lys Trp Arg Ile Ser Gln Leu Val Pro Arg Leu
115    120    125
Leu Val Val Ser Leu Ile Ile Gly Gly Leu Ser Ala Val Ile Ser Ala
130    135    140
Thr Gly Asn Phe Met Ala Asn Gln Met Thr Ile Ser Gln Gly Phe His
145    150    155    160
Gly Asn Cys Thr Phe Gly His Met Ser Leu Asp Phe Tyr Arg Tyr Tyr
165    170    175
Tyr Leu Tyr His Ser Val Leu Met Trp Phe Thr Pro Phe Phe Leu Phe
180    185    190
Leu Val Ser Val Ile Val Leu Met Phe Ser Leu Tyr Gln His Val Glu
195    200    205
Lys Met Arg Gly His Arg Pro Gly Pro Trp Asp Leu His Thr Gln Ala
210    215    220
His Thr Met Ala Leu Lys Ser Leu Thr Phe Phe Phe Ile Phe Tyr Ile
225    230    235    240
Phe Phe Phe Leu Ala Leu Val Ile Ser Ser Thr Lys Arg Lys Ser Met
245    250    255
Gln Ser Tyr Tyr Trp Ala Arg Glu Ala Ile Ile Tyr Thr Gly Ile Phe
260    265    270
Leu Asn Ser Ile Ile Leu Leu Phe Ser Asn Pro Lys Leu Arg Lys Ala

```

20

30

40

275
Leu Lys Met Arg Phe
290

280

285

<210> 27
<211> 939
<212> DNA
<213> M. musculus

```

<400> 27
atgagcacag gccatacagt tcttggatgt cagactactg ataagacagt cgtcacotta      60
tttatcattt tagtcctttt gtgcctgggtg gcagtggttag gcaatggatt tatcattata      120
gcactgggca tgaaatgggtt gctccggaga acactgtcag ctcataataa gttactgatc      180
agtcctagcag cctctcgatt ctgtctccaa tgtgtggtga taggtaagaa tatttatggt      240
ttcctgaatc caacaagctt cccatacaac cctgtaatac agtcctaaa tttaatgtgg      300
gacttcttga ctgctgcaac catctggctc tgttctttgc taggtttctt ctattgtgtg      360
aaaattgcaa ccttaaccca tcctgtcttt gtctggctaa agtacagggtt gcctgggtgg      420
gtaccatgga tgctgctcag tgctgtgggg atgtcagagct taactagtat cctatgtttc      480
ataggcaatt atatgatata tcagaacctt gcaaagagtg gccatcaacc ttggaatgtc      540
actgggaata gottaagaca ctcaactgag aaattctact tcttttctat aaagataatc      600
atgtggacaa ttcccactgt tgtcttcagc atcttcatga gtttgcctct cgtatctttg      660
gtaagacaca tgaagaagac tttcttggcc ctttcagaac ttcgggatgt ctgggcacag      720
gccatttca aggctcttct tcctctgctc tccttcatcg tccttttcat ctccgttttt      780
ctgacgctgg tactcagttc tgccagcaac acaccatc aggaattcag gtactgggatg      840
tggcaggtgg tgattcatct gtgcacagtg atacatcca ttgttatact cttcagcaac      900
cctgttttga gagtgggtgat aaagaggggc tgctgctga      939

```

10

<210> 28
<211> 312
<212> PRT
<213> M. musculus

20

```

<400> 28
Met Ser Thr Gly His Thr Val Leu Gly Cys Gln Thr Thr Asp Lys Thr
1          5          10
Val Val Thr Leu Phe Ile Ile Leu Val Leu Leu Cys Leu Val Ala Val
20          25          30
Val Gly Asn Gly Phe Ile Ile Ile Ala Leu Gly Met Lys Trp Leu Leu
35          40          45
Arg Arg Thr Leu Ser Ala His Asn Lys Leu Leu Ile Ser Leu Ala Ala
50          55          60
Ser Arg Phe Cys Leu Gln Cys Val Val Ile Gly Lys Asn Ile Tyr Val
65          70          75          80
Phe Leu Asn Pro Thr Ser Phe Pro Tyr Asn Pro Val Ile Gln Leu Leu
85          90          95
Asn Leu Met Trp Asp Phe Leu Thr Ala Ala Thr Ile Trp Leu Cys Ser
100         105         110
Leu Leu Gly Phe Phe Tyr Cys Val Lys Ile Ala Thr Leu Thr His Pro
115         120         125
Val Phe Val Trp Leu Lys Tyr Arg Leu Pro Gly Trp Val Pro Trp Met
130         135         140
Leu Leu Ser Ala Val Gly Met Ser Ser Leu Thr Ser Ile Leu Cys Phe
145         150         155         160
Ile Gly Asn Tyr Met Ile Tyr Gln Asn His Ala Lys Ser Gly His Gln
165         170         175
Pro Trp Asn Val Thr Gly Asn Ser Leu Arg His Ser Leu Glu Lys Phe
180         185         190
Tyr Phe Phe Ser Ile Lys Ile Ile Met Trp Thr Ile Pro Thr Val Val
195         200         205
Phe Ser Ile Phe Met Ser Leu Leu Leu Val Ser Leu Val Arg His Met
210         215         220

```

30

40

Lys Lys Thr Phe Leu Ala Leu Ser Glu Leu Arg Asp Val Trp Ala Gln
 225 230 235 240
 Ala His Phe Lys Ala Leu Leu Pro Leu Leu Ser Phe Ile Val Leu Phe
 245 250 255
 Ile Ser Cys Phe Leu Thr Leu Val Leu Ser Ser Ala Ser Asn Thr Pro
 260 265 270
 Tyr Gln Glu Phe Arg Tyr Trp Met Trp Gln Val Val Ile His Leu Cys
 275 280 285
 Thr Val Ile His Pro Ile Val Ile Leu Phe Ser Asn Pro Val Leu Arg
 290 295 300
 Val Val Ile Lys Arg Gly Cys Cys
 305 310

<210> 29
 <211> 897
 <212> DNA
 <213> M. musculus

10

<400> 29
 atgtctttct cacattcatt catcttcata gtcacttttt gtatgcagtc tctagctgct 60
 ttgctgcaaa atggctttat ggccaccgtg ctgggcaggg aatgggtaag aagccagggc 120
 ctccctgcag gtgacatgat tatggcttgc tttagctgct ccaggttctg tctgcatgga 180
 atagcogtcc taaacaactt cctggcctct gctatgtttt ggaccataaa gaattatttt 240
 tctatctctt gggacttcac caacactgtc aatttctggt ttaccacctg tcttgcctac 300
 ttctactgtg taaagatctc ttctgtttcc caccctatct tcttctggat aaaatggaga 360
 atttctcggt cagtgccag gttactgctg ggatccctga tcattgggtg actgtcagcc 420
 atctcctcag ccaactggaaa cacaattgcc ctccagatgg cggcctgtga aaactacaca 480
 atttattata aaacgatggc attttatctg tattattttc gctgtcatgc gatgctgatg 540
 tgggtcattc cattcttct gtttctgctg tccatcatct tgctcatggt ctcactgtat 600
 cggcatctgg aacagatgag gtaccacaga cccaggactc atgattatag caccocaggct 660
 cacattatgg ctctgaagtc ccttgccttc ttctctatct tctatacatc atatgacctg 720
 ctccctatgg tatctgttgc acatgtcata aatgtccaag gttcctggca ctgggcctgg 780
 gaagtggtaa cctacatggg catctcactg cattccacca ttctgatact aagcaacacc 840
 aagatgagaa aggccctcat gataaagttc ccagaccttt gtattcccag atcataa 897

<210> 30
 <211> 298
 <212> PRT
 <213> M. musculus

20

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

30

40

Ile Tyr Tyr Lys Thr Met Ala Phe Tyr Leu Tyr Tyr Phe Arg Cys His
 165 170 175
 Ala Met Leu Met Trp Val Ile Pro Phe Phe Leu Phe Leu Leu Ser Ile
 180 185 190
 Ile Leu Leu Met Phe Ser Leu Tyr Arg His Leu Glu Gln Met Arg Tyr
 195 200 205
 His Arg Pro Arg Thr His Asp Tyr Ser Thr Gln Ala His Ile Met Ala
 210 215 220
 Leu Lys Ser Leu Ala Phe Phe Leu Ile Phe Tyr Thr Ser Tyr Ala Leu
 225 230 235 240
 Leu Leu Met Val Ser Val Ala His Val Ile Asn Val His Gly Ser Trp
 245 250 255
 His Trp Ala Trp Glu Val Val Thr Tyr Met Gly Ile Ser Leu His Ser
 260 265 270
 Thr Ile Leu Ile Leu Ser Asn Thr Lys Met Arg Lys Ala Leu Met Ile
 275 280 285
 Lys Phe Pro Asp Leu Cys Ile Pro Arg Ser
 290 295

10

<210> 31
 <211> 939
 <212> DNA
 <213> r. rattus

<400> 31
 atgacatattg aaactgatac taccttaattg tttgtagctg tttgtgaggc cttagtagga 60
 atcttaggaa atgcattcat tgcattggta` aacttcatgg gctggatgaa gaataggaag 120
 atcaactgcta ttgatttaac cctctcaagt ctggctatgt ccaggatttg tctacagtgt 180
 ataattctat tagattgtat tatattggtg cagtatccag acacttacia caggggtaaa 240
 gaaatgagga tcattgattt cttctggacg cttaccaacc atttaagtgt ctggtttgcc 300
 acctgacctca gcattttcta tttcttcaag atagcaaaact tcttccatcc tcttttccctc 360
 tggataaaagt ggagaattga caagctaatt ctgaggactc tactggcatg cttgattctc 420
 tccctatgct ttagecctccc agtcactgag aatttggctg atgatttcag acgctgtgtc 480
 aagacaaaag aaagaataaa ctctactctg agtgcaaat taaataaagc tggatatgct 540
 tctgtcaagg taaatctcaa ctgggtcatg ctgttcccct tttctgtgtc ccttgtctca 600
 ttccttctct tgattctctc cctatggaga cacaccaggc agatgcaact caatgtaaca 660
 gggtaacaatg atcccagcac aacagctcat gtgaaagcca caaaaagcagt aatttccctc 720
 ctagtctctg ttattgtcta ctgcctggcc tttcttatag ccacttccag ctactttatg 780
 ccagagagtg aattagctgt aatttggggg gagctgatag ctctaataata tccctcaagc 840
 cattcattta tctctgatcct tgggaacagt aaactaaaac aggcactctgt aaggggtgctt 900
 tgtagagtaa agactatggtt aaaggaaga aaatattag 939

20

<210> 32
 <211> 312
 <212> PRT
 <213> R. rattus

30

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

40

```

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

```

10

```

<210> 33
<211> 945
<212> DNA
<213> r. rattus

```

20

```

<400> 33
atgactgcaa cagtagttaa tgtggagttc ataactggaa atttggggaa tggattcacc 60
gctgtggcaa acataatgga ttgggtcaag agaaggaagc tctctgcagt ggatcagctc 120
ctcactgtgc tggccatctc cagaatcact ctgttgggt cattgtacat actgaaatca 180
acattttcaa tggtgccaaa ctttgaagta gctataccgt caccaagact aactaatctt 240
gtctggataa ttcttaacca tttaataata tggctagecca ccattctcag catcttttat 300
tttctcaaga taggaaatth ttctaactct atattctatt acctaagatg gagatttaaa 360
aagggtggtt tgggtggcact actggtgtct ctggtcctct tgtttataga tatttttgtc 420
acaaacatac acatcaatat ctggaaagat gaattcaaag caaacgtatc ttacagttac 480
aaattaaaga tctttttaca ggtttccagg cttctggtgg taactaatac tatgttcgca 540
tgtgtacctt tcgttgtgtc catgataatg tttttctac tcatcttctc cctgtggaaa 600
aatctgaaga tgatgaagca cattgcccaa agctcccaaa atgccagcac tacagcccac 660
atcaatgctt tgaaaaactgt tgttgccctc ctctgctgt atatcatttt tattttatcc 720
ctttttgcac atgtttggag ctatgacttt gaagaaaaga aatattttat tttcttttgc 780
cttgttggtg tgtttgcatt accatcactc cattcataca tcttgattct gggaaacagt 840
aagttgaggc agatctctct tttggtactg tcaactgctaa agtgcaagat ccaaggatgt 900
gaatccctgg gccctggca cactaggggg gataactttta cataa 945

```

30

```

<210> 34
<211> 314
<212> PRT
<213> R. rattus

```

```

<400> 34
Met Thr Ala Thr Val Val Asn Val Glu Phe Ile Leu Gly Asn Leu Gly
 1              5              10              15
Asn Gly Phe Ile Ala Val Ala Asn Ile Met Asp Trp Val Lys Arg Arg
      20              25              30

```

40

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

10

20

<210> 35
 <211> 885
 <212> DNA
 <213> r. rattus

<400> 35
 atgccctcca caccacatt gatcttcatt gtcacttttt ttctggatc agtggcctct 60
 atgttgaga atggcttcat gatcattgtg ctgggcagag agtggatgag gaaccgggca 120
 ctgccggcag ttgacatgat tgtggcttct cttgcttccct cccggttctg cctacatggg 180
 atagccatec tcaacaattt cttggcctcc tttgattttt gttaccaagc aaactttggt 240
 ggcactcctct gggacttcat taatactctc attttgtggc ttactgcctg gcttgccatc 300
 ttctactgtg tgaagatctc ctctttctcc caccctgtcc tcttttggct caagtggagg 360
 atttcccagt tagttcccag gctgctgctg gtatctctca tcatgggtgg cctgtcagcc 420
 atcatatcag ctaccgggaa catcattgcc aatcagatga tcatctccca aggtttccat 480
 ggaaactgca cttttgggca catgtcactg gacttctatc ggtattatta cctgtctcac 540
 gcagtgcctc tgtggttcac tcctttcttc ctgtttctag tgctccattat cttectcatg 600
 ttctcactgt accggcatgt ggagaagatg aggggccata ggcctgggccc ttgggatccc 660
 ogtacacagg cacacaccat ggcctgaaa tcccttactg tcttcatcac cttctatata 720
 ttattttttc tggcctgat aatttctagt acaaaaagta aaactatgca cagttactgg 780
 tattgggtcc gagaaattat catctacact ggcacttttt tgaactccat catcttgggtg 840
 cttagcaacc ccaagctgag aaaggccctg aagatgagat ttttag 885

30

<210> 36
 <211> 294

40

<212> PRT
<213> R. rattus

<400> 36

```

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

```

10

20

<210> 37
<211> 915
<212> DNA
<213> r. rattus

<400> 37

```

atgctctgga aactgtatgc atttgtgttt gccgcctcag ttgttttttaa tttttagga      60
atagttgcaa atttatttat tatagtata atttctaaga ctgggtcaa aagtcacaaa      120
atctctctct cagataagat cctgttcagc ttggccatca ctagattcct gaccctgggg      180
ttgtttctac tgaacactgt ctacattgct acaaacactg gaaggtcagt ctacttttcc      240
acgttttttc tcttgtgttg gaagtttctg gactccaaca gtctctggct agtgacctt      300
ctgaactgct tgtattgctg gaagatcact cattccaac atccagtgtt tcttctgttg      360
aaacggactg tctctatgaa gaccaccagc ctgctgctgg cctgccttct gatttctgoc      420
ttcaccactc tcctatattt tgtgctcaca cagatatcac gttttcctga acacataatt      480
gggagaaatg acacattatt tgacgtcagt gatggcatct tgacgttagc ggcttctttg      540
atcctgagct cacttttaca gtttctgctc aatgtgacct ttgcttcttt gctaatacat      600
tccctgagaa gacatgtaca gaagatgcag agaaacagga gcagcttttg gaatccccag      660
acggaggctc acgtggggcg catgaggctg atgatctgtt tctctgtgct ctatattcca      720

```

40

tattcaatcg ctgccttgct ctatttccct tcctatatga ggaagaatct gagagcccag 780
 gctgcttgca tgatcattac tgctgcttac cctccaggac attctatcct ccttattatc 840
 acacatcaca aactgaaagc taaagcaaag aagatttgct gtttctacaa attgcgggat 900
 ttcgtagta actga 915

<210> 38
 <211> 304
 <212> PRT
 <213> R. rattus

<400> 38

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

10

20

30

<210> 39
 <211> 898
 <212> DNA
 <213> r. rattus

<400> 39

atgtccagcc tacaggagat tttggttggtg atcttttctg ttatagaatt cataatggga 60
 actttgggaa atggatttat tgtactgata aacagtactt cctgggtcaa gagtcggaga 120
 atctctgtaa ttgattttat tctcacttgc tcggccatct cgagaatgtg tgttttgg 180
 acaacagttg caggtgtctc tttctacaag gcattatctt actttaaaag tttgcaagta 240
 ttttttgaca ttatctggac aggatccaac tatttatgta cagcctgtac aacctgcatc 300

40

```

agtgtcttct acttggtcaa gatagccaac ttttctaato caattttcat ctgggttaaa 360
cagagaattc ataaggtgct tctgtctatt gttctaggaa caatcatcta tttcttctta 420
tttctcattt ttatgaaaat aataactaat tatttttatat acgactggac aaaattggaa 480
caaaaacaaaa cattcacttt tttagatact ctaactgggtt tottagtcteta caatgtgatt 540
ctcatatttt ttttttgagc tgtctctgac atcgtttctt cttttaatct tctctttacg 600
gagccacctc aggaggatga aactacaggg catacatacc aaggacacaa gcacagaagc 660
acacataaga gctatgaaaa ttataatttc attcctcttg ttcttcatca tatatttatat 720
cagcaacact atgcttactt tttcacattc cattcttgac aatgtgggtc caaaaacttt 780
ctcttatatc ctaacattta tgtatttato tattcatccc tttctcctgg ttttatggaa 840
cagcaaattg aaatgggcat tccagtgtgt attgagaaaag ctagtgtgtc atagtgtga 898

```

```

<210> 40
<211> 296
<212> PRT
<213> R. rattus

```

10

```

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

```

20

30

```

<210> 41
<211> 733
<212> DNA
<213> r. rattus

```

40

```

<400> 41
atggatttga cagaatggat cgtcactatc ataatgatga tagaatttct cttaggaaac      60
tgtgctaatt tcttcataat ggtagtgaac gccattgact gtatgaagag aagaagatc      120
tcctcagccg atcgaattat aactgctctt gccatctcca gaattggttt gttatgggca      180
atgttaatga actggcattc acgtgtgtat actacagata cgtacagttt tcaagtgaca      240
gcttttagtg gaattatctg ggcgataact aatcatttta ccacttggct tgggaccata      300
ctcagcatgt tttatttatt caagatagcc aacttttcca attgtctatt tcttcactctg      360
aaaagaaaac ttgacagtgt tcttcttctg atatttttgg tgtcttcttt gcttgtgttt      420
gcataccttg gggtagtgaa catcaagaag attgcttggg tgagtgttca tgaaggaat      480
gtgacggtaa agagcaaact gatgaatata gcaagcatta gagatacgcg tctcttcagc      540
ctgataaaca tcgcaccatt tggatatca ctgacctgtg ttctgctctt aatctactcc      600
ctaggcaaac atctcaagaa tatgaaattc tatggcaaag gatgtcaaga tcagagtacc      660
atggtccaca taagggcctt gcaaactgtg gtttccttcc tcttggtata tgctacatac      720
tcttctgtg taa                                                                 733

```

10

```

<210> 42
<211> 244
<212> PRT
<213> R. rattus

```

```

<400> 42
Met Asp Leu Thr Glu Trp Ile Val Thr Ile Ile Met Met Ile Glu Phe
 1                    5                    10           15
Leu Leu Gly Asn Cys Ala Asn Phe Phe Ile Met Val Val Asn Ala Ile
 20                    25                    30
Asp Cys Met Lys Arg Arg Lys Ile Ser Ser Ala Asp Arg Ile Ile Thr
 35                    40                    45
Ala Leu Ala Ile Ser Arg Ile Gly Leu Leu Trp Ala Met Leu Met Asn
 50                    55                    60
Trp His Ser Arg Val Tyr Thr Thr Asp Thr Tyr Ser Phe Gln Val Thr
 65                    70                    75                    80
Ala Phe Ser Gly Ile Ile Trp Ala Ile Thr Asn His Phe Thr Thr Trp
 85                    90                    95
Leu Gly Thr Ile Leu Ser Met Phe Tyr Leu Phe Lys Ile Ala Asn Phe
100                    105                    110
Ser Asn Cys Leu Phe Leu His Leu Lys Arg Lys Leu Asp Ser Val Leu
115                    120                    125
Leu Val Ile Phe Leu Val Ser Ser Leu Leu Val Phe Ala Tyr Leu Gly
130                    135                    140
Val Val Asn Ile Lys Lys Ile Ala Trp Leu Ser Val His Glu Gly Asn
145                    150                    155                    160
Val Thr Val Lys Ser Lys Leu Met Asn Ile Ala Ser Ile Arg Asp Thr
165                    170                    175
Leu Leu Phe Ser Leu Ile Asn Ile Ala Pro Phe Gly Ile Ser Leu Thr
180                    185                    190
Cys Val Leu Leu Leu Ile Tyr Ser Leu Gly Lys His Leu Lys Asn Met
195                    200                    205
Lys Phe Tyr Gly Lys Gly Cys Gln Asp Gln Ser Thr Met Val His Ile
210                    215                    220
Arg Ala Leu Gln Thr Val Val Ser Phe Leu Leu Tyr Ala Thr Tyr
225                    230                    235                    240
Ser Ser Cys Val

```

20

30

```

<210> 43
<211> 960
<212> DNA
<213> r. rattus

```

```

<400> 43
atggcaataa taaccacaga ttccgactac tatactcaca ggtatgaagt gataatccct      60

```

40

```

ttcgtggctc cgaccataga ttgtatcgtc ggcattcattg gcaatggctt catcacagtc 120
atatatggga ctgaattggc caggagcaaa agactcccca ctggtagaca ccttatgttg 180
atgttgagtt tttccaggct cttgctacag atctggataa tggtagagat tacctatcaa 240
ctatntttcc ccatgattta taaccataat gccatgtata aactattcaa aaccatctct 300
gtgtttctga actactgtaa cctctggttt gcgcgtggc tcaatgtctt ctatgtctt 360
aaaattgtga actttgctca ccctctgttt cttatgatga agcagaaaat cgtagtgttg 420
atgcctcggc tcatgagtct gtcagtgttg gtttccatca gcttaagctc cttcttctct 480
aaagacatct tcaatgtgta tatgaatact tcagttccca tccctttctc caactccaca 540
aagatgaagt acttctttta gaccaatgta ctcaacctgg ctttcttata ttatatgggg 600
atcttcattc ctttgttcat gttcatcatg gcagccattc tgctcatcac ctcaactcaag 660
aggcacaccc tgaacatgga aagcagcacc acaggctcta gggactccag catggaggct 720
cacttgggtg ccatcaaata gaccagctac tctctcattc tctacattat caatgcactg 780
gctctatnta tttccatgtc aaatatcttt ggtgcctata gtacctggaa tagtgtgtgc 840
agctttatcc tgaccgccta tccagctgga cagtcagtgc atctgatctt gagaaccca 900
gggctgagaa gagcctggag gcggtttcag caccacgttc gactttacct taaaagatag 960

```

10

```

<210> 44
<211> 319
<212> PRT
<213> R. rattus

```

```

<400> 44
Met Ala Ile Ile Thr Thr Asp Ser Asp Tyr Tyr Thr His Arg Tyr Glu
1 5 10 15
Val Ile Ile Pro Phe Val Val Ser Thr Ile Asp Cys Ile Val Gly Ile
20 25 30
Ile Gly Asn Gly Phe Ile Thr Val Ile Tyr Gly Thr Glu Leu Val Arg
35 40 45
Ser Lys Arg Leu Pro Thr Gly Glu His Leu Met Leu Met Leu Ser Phe
50 55 60
Ser Arg Leu Leu Leu Gln Ile Trp Ile Met Val Glu Ile Thr Tyr Gln
65 70 75 80
Leu Phe Phe Pro Met Ile Tyr Asn His Asn Ala Met Tyr Lys Leu Phe
85 90 95
Lys Thr Ile Ser Val Phe Leu Asn Tyr Cys Asn Leu Trp Phe Ala Ala
100 105 110
Trp Leu Asn Val Phe Tyr Cys Leu Lys Ile Val Asn Phe Ala His Pro
115 120 125
Leu Phe Leu Met Met Lys Gln Lys Ile Val Val Leu Met Pro Arg Leu
130 135 140
Met Ser Leu Ser Val Leu Val Ser Ile Ser Leu Ser Ser Phe Phe Ser
145 150 155 160
Lys Asp Ile Phe Asn Val Tyr Met Asn Thr Ser Val Pro Ile Pro Phe
165 170 175
Ser Asn Ser Thr Lys Met Lys Tyr Phe Phe Lys Thr Asn Val Leu Asn
180 185 190
Leu Ala Phe Leu Tyr Tyr Met Gly Ile Phe Ile Pro Leu Phe Met Phe
195 200 205
Ile Met Ala Ala Ile Leu Leu Ile Thr Ser Leu Lys Arg His Thr Leu
210 215 220
Asn Met Glu Ser Ser Thr Thr Gly Ser Arg Asp Ser Ser Met Glu Ala
225 230 235 240
His Leu Gly Ala Ile Lys Ser Thr Ser Tyr Ser Leu Ile Leu Tyr Ile
245 250 255
Ile Asn Ala Leu Ala Leu Phe Ile Ser Met Ser Asn Ile Phe Gly Ala
260 265 270
Tyr Ser Thr Trp Asn Ser Val Cys Ser Phe Ile Leu Thr Ala Tyr Pro
275 280 285
Ala Gly Gln Ser Val His Leu Ile Leu Arg Asn Pro Gly Leu Arg Arg
290 295 300
Ala Trp Arg Arg Phe Gln His His Val Arg Leu Tyr Leu Lys Arg

```

20

30

40

305

310

315

<210> 45
 <211> 930
 <212> DNA
 <213> r. rattus

<400> 45

```

atggtggccg ttctacagag cacatttga ataattttca gtatggagt catagtggga      60
accttaggaa atggattcat tattctgat acatgcatag actgggtccg aagaagaaaa      120
atctcttttag tggatcaaat cctcaactgt ctggcaatta ccagaatcac tctaattttg      180
ttggtattca tagattgggt ggtatctggt cttttccag cattacatga aactggtaag      240
atattaagaa tgtattttat ctctggact gtgatcaatc attgtaatct ttggttgaca      300
gcaagcctga gcatcattta ttttctcaag atagccagct tttctageat tatttttctt      360
tatctaaaagt ttagagttaa aaatgtggtt ttgtgacct tgttagtgtc tctatttttc      420
ttgttcaata atactgctat tgtaaagtta tattttgat tttgttttga tgggtgtcaa      480
agaaatgtgt ctcaagtttc cagattgtat aaccacgaac aaatttgcaa atttctttct      540
tttactaacc ctatgtttgc attcataccc tttgttacgt ccattggcaac gttctttctg      600
ctcatcttct ccctgtggag acatctgaaa aacatgaagc acaacgcaga aggatgcaga      660
gacgtcagca ccatagtaca catcagagcc ttgcaaacca tcattgtgtc tgtagtgtta      720
tacagtactt ttttctgtc attttttgta aaagtttga gttctgggtc accggagaga      780
tacctgatct ttctgtttgt ctgggctctg ggaatgtctg ttcttctgc tcacacgttt      840
gtctgatgtt ggggaaactg tagattgagg tgggctctc tctccctgat gttgtggctc      900
aggtacaggt tcaaaaatat agacgtatag                                     930
  
```

10

<210> 46
 <211> 309
 <212> PRT
 <213> R. rattus

<400> 46

```

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

20

30

40

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

<210> 47
 <211> 984
 <212> DNA
 <213> r. rattus

10

<400> 47
 atggaacctg tcatttacag ctttgccact ctactaatac atgtggagtt catttttggg 60
 aatctgagca atggatttat agtgttgtca aacttctggg actgggtcat taaacgaaaa 120
 ctttccacaa ttgataaaat tcttcttaca ttggcaattt caagaatcac tctcatctgg 180
 gaaatatata cttgggtttac aagtgtatat ggtccatctt catttgcaat tggaatgaaa 240
 ttacaaatcc tttattttac ctggatcctt tctagtcact tcagcctctg gtttgccaca 300
 gctctcagca tcttttactt actcagaata gctaactgct cctggaagat cttcctgtat 360
 ttgaaatgga gacttaaaaca agtgattgtg gggatgttgt tggcaagctt ggtgttcttg 420
 cctggaatcc tgacgcaaag gactcctgaa gagaggccct atcgatatgg aggaaacaca 480
 agtgaggatt ccatggaac tgactttgca aggtttacag agctgattct tttcaacttg 540
 actatattct ctgtaatacc attttcattg gcctcgattt cttttctcct gctaactctt 600
 tccttgtgga aacatctccg gaagatgcag ctcagttcca gaggacatgg agaccotagc 660
 accaaggccc acacaaatgc tttgagaatt atggtctcct tcctcttgct ctattctata 720
 tatttctgtt ctcttctttt atcatggatt gctcagaagc atcacagtaa actggttgac 780
 attattggta ttattactgg actcatgtat ccttctgccc actcatttat tctgattcta 840
 ggaaattcta aattaatgca gacttctctt tggatactga gtcatttgag atgtagactg 900
 aaaggagaga atattttaa tccatctggc aaccaagtaa ctagctgta tatattctgt 960
 attgcaata aatctgtgag tttag 984

20

<210> 48
 <211> 327
 <212> PRT
 <213> R. rattus

<400> 48
 Met Glu Pro Val Ile Tyr Ser Phe Ala Thr Leu Leu Ile His Val Glu
 1 5 10 15
 Phe Ile Phe Gly Asn Leu Ser Asn Gly Phe Ile Val Leu Ser Asn Phe
 20 25 30
 Trp Asp Trp Val Ile Lys Arg Lys Leu Ser Thr Ile Asp Lys Ile Leu
 35 40 45
 Leu Thr Leu Ala Ile Ser Arg Ile Thr Leu Ile Trp Glu Ile Tyr Thr
 50 55 60
 Trp Phe Thr Ser Val Tyr Gly Pro Ser Ser Phe Ala Ile Gly Met Lys
 65 70 75 80
 Leu Gln Ile Leu Tyr Phe Thr Trp Ile Leu Ser Ser His Phe Ser Leu
 85 90 95
 Trp Phe Ala Thr Ala Leu Ser Ile Phe Tyr Leu Leu Arg Ile Ala Asn
 100 105 110
 Cys Ser Trp Lys Ile Phe Leu Tyr Leu Lys Trp Arg Leu Lys Gln Val
 115 120 125
 Ile Val Gly Met Leu Leu Ala Ser Leu Val Phe Leu Pro Gly Ile Leu
 130 135 140
 Thr Gln Arg Thr Leu Glu Glu Arg Pro Tyr Arg Tyr Gly Gly Asn Thr
 145 150 155 160

30

40

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

10

<210> 49
 <211> 1011
 <212> DNA
 <213> r. rattus

<400> 49
 atgaaatcac aaccagtgac acaagagcta catttcattt ttcctctttt caaaactatt 60
 tottcagaca taatgagttt ctgggtaagc attgcaggca ttgcgatgct ggcacaaatt 120
 gttcttggca cctttgccaa tgtcttcatt gttctgggta cctgcactga ctgcatcagg 180
 agaagaaaaa tgttcctggc tgatggaatt ctcaactccc tggccttctg caggattggc 240
 atgctctggg taatattaat aagttgggtgc tcaattgtgt ttcaccaagc tttgtcttta 300
 caagtaagat ttagcatttg cgttggctgg gcagtaacca accattttaa tatgtggctt 360
 gccactatac ttagcatact ttatttggtg aagataggta atttctctaa tcttattttt 420
 cttggcctaa agagaaaaat caagagtgtc tttatagttg tacttttggc gagcttggtg 480
 cttttatttc ctaatcttat aacggtaacc gtatgtgaga cagtacaagc gaatggatac 540
 cgaggcaact tgactgggaa gaccaaaacg acttatttca tgaaccttac agctatgata 600
 tcttttactc tagacaacat catttcttcc accatatcca tgggtctggtt tcttctgtta 660
 atctattccc tgtgtaaaaca ccttaggaca atgaggcttt atggaaaagg acccccacaac 720
 ccgagtgcgt cagcccacat taaggctctg caagctgtga tctcctttct gttgttattt 780
 tocatgttta ttctgtctct aatcatatca ggttacaatt atatgaagcc tctaaatgaa 840
 ccagtcacc tgatttgcca gcttattggg actttgtatc cttcaagcca ttcttacggt 900
 ttgctatggg gaaataggag gatcaaacctg gccttgggtg tggctatggt acaggtgagg 960
 gcaaggctct ggctaaaaaga gaagaacctt gaagtccttc aaccaattta a 1011

20

30

<210> 50
 <211> 336
 <212> PRT
 <213> R. rattus

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

40

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

10

20

<210> 51
<211> 770
<212> DNA
<213> r. rattus

<400> 51
cttttggtg gtcactactc acagtttttag tgatatctga gottcactca tcattggtga 60
taacaagaaa aatggtgagg ataatcaata atttctggac agtgaccaat catttcagca 120
tctggcttgc tacatgtctc agcatctttt atttctcaaa gatagctaac ttttcaaatt 180
ctatttttct ttcctaagg tggagggtaa aaactgtggt ttcattaaca ctgctggtat 240
ctcttctcct ctgtcttgta aatggttatca tcataaacac atgtattggt atcttggttg 300
aaggatacaa agtaaataatg tcctacagtt ctcatcctca caacaatoca cagatttcca 360
ggattccttt attcaccac actatgttca cattcatacc ctccacagtg actctgacaa 420
ttttctcctc gtcctctctc tcctctgtgga ggcatttgaa gaagatgcag catcatgcca 480
agagccccag agaccccagc accacagccc acattaaggc tctgcaaatg gtctgcaact 540
tcctcttctc atacaccatt ttctttctgg cacttgtcat gcaggcttgg aaaaatgaga 600
ttcagtaaaa gactgtgttc aacttggttt ttgagtcgat agcacttgct tttccttcag 660
gtcactcctg tgtactaatt ctgggaaact ctaagctcag acaggctttt ctgaccataa 720
tatggtggct gaggtccagt tttaatgctg cagaactctc aagtccctag 770

30

<210> 52
<211> 312
<212> PRT
<213> R. rattus

<400> 52

40

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

10

20

<210> 53
 <211> 939
 <212> DNA
 <213> r. rattus

30

<400> 53
 atgggtggtga caatgagggc tgccttacgg ctaatgttga taagtactgt aagtctggag 60
 ctcacatag gaattctgc caatgtattc atagctctgg tgaacatcat agactggatt 120
 aaaagaggaa agatttctgc agtggataag atctacatgg gcttgccat ctccaggact 180
 gcttttgat tgtcactaat cacagggttc ttgatagcat ttttgacc agcttcattg 240
 ggaattggaa taatgataag actccttact atatcctgga cagtgaccaa tcatttcagt 300
 gtctggtttg ctacatgcct cagcatcttt tttttctga agataaccaa tttctcaaac 360
 actgttttcc ttgccctcaa atggaaagt ttttgggtgac attggtggtg 420
 tctctgatca tcttgtttat aaacgttata gtcatacaca tatacactga tagatttcaa 480
 gtgaacatgg tccagaagtg tgggtcaaat aacactttaa gagcttaagg gctctttcta 540
 tccatcagca cgggtgttac attcatccca ttcacgacat ccctgacaat gtttcttctg 600
 ctcacatctct cctgtggag acacctgaag accatgcacc acaatgctac aggctccaga 660
 gatgtcagca cgtggccca cataaaaggc ttgcaaactg tggctgcctt cctgttacta 720
 tatactgttt ttgctatgtc acttttttca cagtctttga gtattgatgc tcaacatata 780
 aatcttcttt ctcacttttt acggtgtata ggagtggctt tcccctcagg ccaactctgt 840

40

gccctgatcc tgggaaacaa taaactgagg caggcctctc tttctgtgat attttgctg 900
 aggtgtaagt acaaacatac agagaatcag ggtccctaa 939

<210> 54
 <211> 312
 <212> PRT
 <213> R. rattus

<400> 54
 Met Val Val Thr Met Arg Ala Ala Leu Arg Leu Met Leu Ile Ser Thr
 1 5 10 15
 Val Ser Leu Glu Leu Ile Ile Gly Ile Leu Ala Asn Val Phe Ile Ala
 20 25 30
 Leu Val Asn Ile Ile Asp Trp Ile Lys Arg Gly Lys Ile Ser Ala Val
 35 40 45
 Asp Lys Ile Tyr Met Gly Leu Ala Ile Ser Arg Thr Ala Phe Val Leu
 50 55 60
 Ser Leu Ile Thr Gly Phe Leu Ile Ala Phe Leu Asp Pro Ala Ser Leu
 65 70 75 80
 Gly Ile Gly Ile Met Ile Arg Leu Leu Thr Ile Ser Trp Thr Val Thr
 85 90 95
 Asn His Phe Ser Val Trp Phe Ala Thr Cys Leu Ser Ile Phe Tyr Phe
 100 105 110
 Leu Lys Ile Thr Asn Phe Ser Asn Thr Val Phe Leu Ala Leu Lys Trp
 115 120 125
 Lys Val Lys Lys Val Val Ser Val Thr Leu Val Val Ser Leu Ile Ile
 130 135 140
 Leu Phe Ile Asn Val Ile Val Ile His Ile Tyr Thr Asp Arg Phe Gln
 145 150 155 160
 Val Asn Met Val Gln Lys Cys Gly Ala Asn Asn Thr Leu Arg Ala Tyr
 165 170 175
 Gly Leu Phe Leu Ser Ile Ser Thr Val Phe Thr Phe Ile Pro Phe Thr
 180 185 190
 Thr Ser Leu Thr Met Phe Leu Leu Leu Ile Phe Ser Leu Trp Arg His
 195 200 205
 Leu Lys Thr Met His His Asn Ala Thr Gly Ser Arg Asp Val Ser Thr
 210 215 220
 Val Ala His Ile Lys Gly Leu Gln Thr Val Val Ala Phe Leu Leu Leu
 225 230 235 240
 Tyr Thr Val Phe Ala Met Ser Leu Phe Ser Gln Ser Leu Ser Ile Asp
 245 250 255
 Ala Gln His Thr Asn Leu Leu Ser His Phe Leu Arg Cys Ile Gly Val
 260 265 270
 Ala Phe Pro Ser Gly His Ser Cys Ala Leu Ile Leu Gly Asn Asn Lys
 275 280 285
 Leu Arg Gln Ala Ser Leu Ser Val Ile Phe Trp Leu Arg Cys Lys Tyr
 290 295 300
 Lys His Thr Glu Asn Gln Gly Pro
 305 310

10

20

30

<210> 55
 <211> 933
 <212> DNA
 <213> r. rattus

<400> 55
 atgggtattg tcatagggat catatgtgcc tttattataa ttgtgcaatt cataattggg 60
 aatggtgcaa atggattcat agcactgggtg aacatcatag actgggtaaa gagaagaaaa 120
 atctcttag tggatcagat cactactgct ttggctatat ccaggataga tatgctgtgc 180
 tctacattct taattatact aataacttca ttgtatccag atctaaatac ggctgtgaac 240
 atggtaaaaa taagcaataa tatctggatt gttgccaatc atttcagcat ctggcttgct 300

40

```

acaagcctca gcatctttta tttcctcaag atagctaact tttctaacta tgtttttctc 360
tgcttaaggt ggagacttag caaagtgggt tcagtgacat tgctgctctc tctggctcctc 420
ttgcttatga atattttaat aatgaacatg catattgata cctggagtga tggattcaaa 480
agaaacgtct cttttgggctt cagatcaaaag aattgcactc tctttttcaa acttgctctt 540
ttaatcaaca caacgttcac gtgtgacccc ttcactgtgt ccattgggtgc gtttctgctt 600
ctcatcttct ccctgtggag acacctgaag aacatgcagt accatgctaa aggtccaga 660
gaccccgaca ctgcccgtgca tataaaggcc ttacaaatgg tgggtgctct cgttctgttc 720
tacacatttt tctttttgtc tcttgccata caactttgga cgtccgagtc tctagagaaa 780
aacaatctgt tttatgtcac tcttataatt acttttccct cagtccattc atgtatgctg 840
attctgagaa acagtaaact gaggcaggca tctcttttgg tgctgtgggtg gctgctgtgc 900
agatccaaaag acatacagac tttggttccc tga 933

```

```

<210> 56
<211> 310
<212> PRT
<213> R. rattus

```

10

```

<400> 56
Met Gly Ile Val Ile Gly Ile Ile Cys Ala Phe Ile Ile Ile Val Gln
1 5 10 15
Phe Ile Ile Gly Asn Val Ala Asn Gly Phe Ile Ala Leu Val Asn Ile
20 25 30
Ile Asp Trp Val Lys Arg Arg Lys Ile Ser Leu Val Asp Gln Ile Ile
35 40 45
Thr Ala Leu Ala Ile Ser Arg Ile Asp Met Leu Cys Ser Thr Phe Leu
50 55 60
Ile Ile Leu Ile Thr Ser Leu Tyr Pro Asp Leu Asn Thr Ala Val Asn
65 70 75 80
Met Val Lys Ile Ser Asn Asn Ile Trp Ile Val Ala Asn His Phe Ser
85 90 95
Ile Trp Leu Ala Thr Ser Leu Ser Ile Phe Tyr Phe Leu Lys Ile Ala
100 105 110
Asn Phe Ser Asn Tyr Val Phe Leu Cys Leu Arg Trp Arg Leu Ser Lys
115 120 125
Val Val Ser Val Thr Leu Leu Leu Ser Leu Val Leu Leu Leu Met Asn
130 135 140
Ile Leu Ile Met Asn Met His Ile Asp Thr Trp Ser Asp Gly Phe Lys
145 150 155 160
Arg Asn Val Ser Phe Gly Phe Arg Ser Lys Asn Cys Thr Leu Phe Phe
165 170 175
Lys Leu Ala Leu Leu Ile Asn Thr Thr Phe Thr Cys Asp Pro Phe Thr
180 185 190
Val Ser Met Val Ala Phe Leu Leu Leu Ile Phe Ser Leu Trp Arg His
195 200 205
Leu Lys Asn Met Gln Tyr His Ala Lys Gly Ser Arg Asp Pro Ser Thr
210 215 220
Ala Val His Ile Lys Ala Leu Gln Met Val Val Val Phe Val Leu Phe
225 230 235 240
Tyr Thr Phe Phe Phe Leu Ser Leu Ala Ile Gln Leu Trp Thr Ser Glu
245 250 255
Ser Leu Glu Lys Asn Asn Leu Phe Tyr Val Thr Leu Ile Ile Thr Phe
260 265 270
Pro Ser Val His Ser Cys Met Leu Ile Leu Arg Asn Ser Lys Leu Arg
275 280 285
Gln Ala Ser Leu Leu Val Leu Trp Trp Leu Leu Cys Arg Ser Lys Asp
290 295 300
Ile Gln Thr Leu Val Pro
305 310

```

20

30

```

<210> 57
<211> 963

```

40

<212> DNA
<213> r. rattus

```

<400> 57
atggagcatt ttttgaagag tatattgat atotccaaga atgtacttcc aattatttta      60
ttcattgaaat taataattgg aattatagga aatgggttca tggccotggt gcattgcatg      120
gactgggtta agagaaaaaa aatgtcatta gtaaccaaa tcctcaccac cttagcaacc      180
tccagaatatt gtctgctctg gttcatgcta ttaggtttac taattacctt actggatcca      240
gatttagcta gtgctagaat gatgatccag gtcgccagta atctgtggat tatagctaac      300
catatgagca tttggcttgc tacatgcctc actgtttttt attttctcaa gatagccaat      360
ttttctagct ctctttttct ttatctaaag tggagagtgg aaaaagtcat ttcagttata      420
tttctgggtg cgctgggtct actgttttta aatagtgtac taatgaactt ggaaaatgac      480
atgtgtatag ctgaatatca tcagataaat atatcgtaca gtttcattta ccattaccgt      540
gcagactgag aaaggcgtgt ttttaagactt cacattatca tcttgtctgt cccctttggt      600
ttgtccctgc caacttttct cctgctcacc ttctccctgt ggacacatca caagaagatg      660
cagcagcatg ttcaaggacg ccgagatgcc agcaccacgg cccacttcaa agccttgcag      720
accgtgatcg cctttctcct attatactgt atttttatct tgtctatggt actacaattt      780
tggaaatgat aattaatgaa gaaaccctt ttcattttat tttgtcatat tgtatatgga      840
gctttccctt cattccattc atatgtcttg attctgggag acatgaagct gagacagggc      900
tctctctctg tgctgttctg gctgaaatgc aggccaaatt acatagaaac gtttagatctc      960
taa

```

10

<210> 58
<211> 320
<212> PRT
<213> R. rattus

```

<400> 58
Met Glu His Phe Leu Lys Ser Ile Phe Asp Ile Ser Lys Asn Val Leu
 1          5          10          15
Pro Ile Ile Leu Phe Ile Glu Leu Ile Ile Gly Ile Ile Gly Asn Gly
 20          25          30
Phe Met Ala Leu Val His Cys Met Asp Trp Val Lys Arg Lys Lys Met
 35          40          45
Ser Leu Val Asn Gln Ile Leu Thr Thr Leu Ala Thr Ser Arg Ile Cys
 50          55          60
Leu Leu Trp Phe Met Leu Leu Gly Leu Leu Ile Thr Leu Leu Asp Pro
 65          70          75          80
Asp Leu Ala Ser Ala Arg Met Met Ile Gln Val Ala Ser Asn Leu Trp
 85          90          95
Ile Ile Ala Asn His Met Ser Ile Trp Leu Ala Thr Cys Leu Thr Val
100          105          110
Phe Tyr Phe Leu Lys Ile Ala Asn Phe Ser Ser Ser Leu Phe Leu Tyr
115          120          125
Leu Lys Trp Arg Val Glu Lys Val Ile Ser Val Ile Phe Leu Val Ser
130          135          140
Leu Val Leu Leu Phe Leu Asn Met Leu Leu Met Asn Leu Glu Asn Asp
145          150          155          160
Met Cys Ile Ala Glu Tyr His Gln Ile Asn Ile Ser Tyr Ser Phe Ile
165          170          175
Tyr His Tyr Arg Ala Asp Cys Glu Arg Arg Val Leu Arg Leu His Ile
180          185          190
Ile Ile Leu Ser Val Pro Phe Val Leu Ser Leu Pro Thr Phe Leu Leu
195          200          205
Leu Ile Phe Ser Leu Trp Thr His His Lys Lys Met Gln Gln His Val
210          215          220
Gln Gly Arg Arg Asp Ala Ser Thr Thr Ala His Phe Lys Ala Leu Gln
225          230          235          240
Thr Val Ile Ala Phe Leu Leu Leu Tyr Cys Ile Phe Ile Leu Ser Met
245          250          255
Leu Leu Gln Phe Trp Lys Tyr Glu Leu Met Lys Lys Pro Leu Phe Ile

```

20

30

40

```

                260                265                270
Leu Phe Cys His Ile Val Tyr Gly Ala Phe Pro Ser Phe His Ser Tyr
                275                280                285
Val Leu Ile Leu Gly Asp Met Lys Leu Arg Gln Ala Ser Leu Ser Val
                290                295                300
Leu Leu Trp Leu Lys Cys Arg Pro Asn Tyr Ile Glu Thr Leu Asp Leu
305                310                315                320

```

<210> 59
 <211> 789
 <212> DNA
 <213> r. rattus

```

<400> 59
atgcaacata atttgaagac aatatttggt atctctcaca gcacacttac aatcatttta      60
ttcactgaat tagtaactgg aattatagga aatgggttca tggccctggg gcactgtatg      120
gactggctaa ggagaaagaa aatatcatta gttaatcaaa tcctcactgc tttggcaatt      180
tccagaatth ttcaactctg tttattggtt ataagtttag tcatctcctt ttcatatoca      240
gatttaacta caacttcact gataaaagtc acttgtaatc tttggattat agtcaaccat      300
ttcaacatct ggcttgctac atgcctcggg atcttttatt ttctcaagat atccaattht      360
tctaaactctc tttttcttta tctaaagtgg agagttgaaa aagtagttht agttcactg      420
ctggtgtcac tggctcctact gactttaaat agtttactaa ttaactigga aattaacata      480
tgcataaatg aataccaaaag aaacataaca tacagcttca attcttatta tcatgcacat      540
tgtcacaggc agatgttaag ccttcatatt attttcctgt ctgtcccctt tgttttgacc      600
ctgtcaactt ttcccctgat catcttcttc tatgaaggca catcccccat aagatgcgaa      660
cacactgtcc ccgcccagcg gactccacca caatggaccg acttcaaccg totcaaaccc      720
cgaccgcctc ccacctactc actatacaca accccccgcc acccgaccgc ccgtatccac      780
cctcagtga
789

```

10

<210> 60
 <211> 262
 <212> PRT
 <213> R. rattus

20

```

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

```

30

40

Phe Phe Tyr Glu Gly Thr Ser Pro Ile Arg Cys Glu His Thr Val Pro
 210 215 220
 Ala Asp Ala Thr Pro Pro Gln Trp Thr His Phe Asn Pro Leu Lys Pro
 225 230 235 240
 Arg Pro Pro Pro Thr Tyr Ser Leu Tyr Thr Thr Pro Arg His Pro Thr
 245 250 255
 Pro Arg Ile His Pro Gln
 260

<210> 61
 <211> 948
 <212> DNA
 <213> r. rattus

<400> 61
 atggatggaa tcatacagat catatctgcc tttattgtaa ttatagaaat cataatagga 60
 tggtttggaa atggatttat agtttttggg aactgcatgc attggatcaa gagaagaaga 120
 atctctacag tgaatcaaat actcacagcc ttggctttct ccagaatcta ccttcttttg 180
 acagtattca ctggttatatt agcatctgta caatactcaa atatattggt aactagaagg 240
 gaggtaaaag tgattatfff ccatttgatt accagcaatc attttagcat gtggcttgct 300
 gcatgccttg gcctttttta ttttcttaa atagctaatt tttctaactt tatttttggt 360
 ttcttaaaga agagagttaa caaggtagtt tcagggactt tgctcatgtc tttggtcttc 420
 ttgtttctaa acactcttct gataaactca tacattgatg cccagataga tgactacaga 480
 ggatatctgc tgtatgattt cacttcaaat atcactgtat cattttacag ggttatftta 540
 gtcattaata actgtatfff cacatccata ccatttgcac tttcacagtc aacttttctc 600
 atgctcattt tctccctgtg gagacattac aagaagatgc aacaacatgc acaaagatgt 660
 agagataccc tcaccaatgc tcacatcaaa gtcttgcaaa caatgatcat gtatgtcctt 720
 cttctgcca ttttcttctt gtttcttcca atgcaaattt ggaggaataa gttgatggag 780
 aacattcttt ttatcaggtt ttgtgaaact gttgcagcag tttttccttc aggacaactca 840
 tgtgtcttga tctggggaga cacaaacctg agacagacct ttctttctgt gttgtggtgg 900
 ctgaagcaca ggttcacctt atgggtccct aaattatatt gcagataa 948

10

20

<210> 62
 <211> 315
 <212> PRT
 <213> R. rattus

<400> 62
 Met Asp Gly Ile Ile Gln Ile Ile Ser Ala Phe Ile Val Ile Ile Glu
 1 5 10 15
 Ile Ile Ile Gly Trp Phe Gly Asn Gly Phe Ile Val Leu Val Asn Cys
 20 25 30
 Met His Trp Ile Lys Arg Arg Arg Ile Ser Thr Val Asn Gln Ile Leu
 35 40 45
 Thr Ala Leu Ala Phe Ser Arg Ile Tyr Leu Leu Leu Thr Val Phe Thr
 50 55 60
 Val Ile Leu Ala Ser Val Gln Tyr Ser Asn Ile Leu Val Thr Arg Arg
 65 70 75 80
 Glu Val Lys Val Ile Ile Phe His Leu Ile Thr Ser Asn His Phe Ser
 85 90 95
 Met Trp Leu Ala Ala Cys Leu Gly Leu Phe Tyr Phe Leu Lys Ile Ala
 100 105 110
 Asn Phe Ser Asn Phe Ile Phe Val Phe Leu Lys Lys Arg Val Asn Lys
 115 120 125
 Val Val Ser Gly Thr Leu Leu Met Ser Leu Val Phe Leu Phe Leu Asn
 130 135 140
 Thr Leu Leu Ile Asn Ser Tyr Ile Asp Ala Gln Ile Asp Asp Tyr Arg
 145 150 155 160
 Gly Tyr Leu Leu Tyr Asp Phe Thr Ser Asn Ile Thr Val Ser Phe Tyr
 165 170 175
 Arg Val Ile Leu Val Ile Asn Asn Cys Ile Phe Thr Ser Ile Pro Phe

30

40

```

180          185          190
Ala Leu Ser Gln Ser Thr Phe Leu Met Leu Ile Phe Ser Leu Trp Arg
195          200          205
His Tyr Lys Lys Met Gln Gln His Ala Gln Arg Cys Arg Asp Thr Leu
210          215          220
Thr Asn Ala His Ile Lys Val Leu Gln Thr Met Ile Met Tyr Val Leu
225          230          235          240
Leu Ser Ala Ile Phe Phe Leu Phe Leu Ser Met Gln Ile Trp Arg Asn
245          250          255
Lys Leu Met Glu Asn Ile Leu Phe Ile Arg Phe Cys Glu Thr Val Ala
260          265          270
Ala Val Phe Pro Ser Gly His Ser Cys Val Leu Ile Trp Gly Asp Thr
275          280          285
Asn Leu Arg Gln Thr Phe Leu Ser Val Leu Trp Trp Leu Lys His Arg
290          295          300
Phe Thr Leu Trp Val Pro Lys Leu Tyr Cys Arg
305          310          315

```

10

```

<210> 63
<211> 912
<212> DNA
<213> r. rattus

```

```

<220>
<221> misc_feature
<222> (1)...(912)
<223> n = A,T,C or G

```

```

<400> 63
atgactttct ttttcccagc tttttatcac atggtcatca tgacagcaga gttcctcata      60
gggactacag tgaatggatt ccttatcatt gtgaactgct atgacttggt caagagccga      120
gcattcccga toctgactac cctcttgatg tgcacagggc tgtccagact cgggctgcag      180
ataatgctga ntgacttaac cttcttctct gtgttctttc catactotta tgaggaaaat      240
atztatagtt ccaagataat gttcgtttgg atgttcttca gctcaattgg cctctggttt      300
gccacatgto tttctgtctt ttactgcctc aagatttcag gcttcaactca gccctggttt      360
ctttggctga aattcagaat ttcaaagctc atattttggc tgcttctggg cagcttgctg      420
gcctctttgg ggaccgcaac tgtgtgtata gaggtagggt tccctttaat tgaggatggg      480
tatactctga ggaacacaag actaaataat agtaatgtca agctaagtag aaataacaac      540
ttactctca tcaacctgac cttactgctt cccctaactg tgtttgatgat gtgcacctct      600
atgttattca tttctcttta caagcacatg taccggatgc gaagtgaatc tcagaggatg      660
tcaaagtcca gaaccgaagc ccatataaat gcattaaaaa cagtgacatc attcttctgt      720
ttctttgttt cttacttcgc tgccttcatt gcaaatatga catttagaat tccatacaga      780
agtcacatcag tctttgtggg gaaggaaatc atggcagcat atcctgccgg ccaactccgtc      840
ataatcatct tgagtaactc taagttcaaa gacttattca cgagaatgat atgtctgcag      900
aaggaagggt ga      912

```

20

30

```

<210> 64
<211> 303
<212> PRT
<213> R. rattus

```

```

<220>
<221> VARIANT
<222> (1)...(303)
<223> Xaa = Any Amino Acid

```

```

<400> 64
Met Thr Phe Phe Phe Pro Ala Ile Tyr His Met Val Ile Met Thr Ala
1          5          10          15
Glu Phe Leu Ile Gly Thr Thr Val Asn Gly Phe Leu Ile Ile Val Asn
20          25          30

```

40

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

10

20

<210> 65
 <211> 960
 <212> DNA
 <213> r. rattus

<400> 65
 atggcgccacc ccagcaatta ttggaaacag gatttggttac cactgtccat cttgatctta 60
 acaactggtgg ccaactgagtg caccataggt atcatggcaa gtgggatcat cacagttgtg 120
 aatgcagtgat catgggttca gaaaagggca gttccataa ctactaggat tetgcttctt 180
 ctgagcgtat ccagaatagg cctccaaagc atcatcttga tagaaatgac ttctccata 240
 ttcaactttt ctctttacaa cagtgtttta tatagagtct caagggtaag ctttgtattc 300
 ctaaattatt gtagcctctg gtttgcctgt ttgcttagtt tcttccaact tgtgaagatt 360
 gccaatttt ctaccctctg gttcttcaag ctaaagtggga gaatttctga attgatgccc 420
 tggcttctat ggctctcggt gtttatttcc ttcagctcca gcatgttctt ctgcaatcat 480
 aaatacactg tgtacaacaa catttctcta agtagcaaca tctgcaactt cacaatggaa 540
 ctctatgtcg ctgaggccaa tgtggtcaat gtggcctttt tattcagttt tggaaatctc 600
 ccacctctga ccattgttcat tgcaacagct actcttctaa ttttttctct caggagacac 660
 accctgcaca tgagaaacgg tgatgctgac tccagaaatc cccgagtaga ggctcataag 720
 caggccatca aggaaaccag ctgctttctc tttctctaca tcttatatgc agctgttctg 780
 tttctgtcca catccaacat agctgatgac agtctcttct ggagtagtgt tctcagaatc 840
 agtctgcctg tctaccagc tggccactca gttttactga ttcagagcaa cctggctta 900
 aaaagaacgt ggaagcaact tctgtcccaa atccatctgc acttacaaag tagatactga 960

30

<210> 66
 <211> 319
 <212> PRT

40

<213> R. rattus

<400> 66

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

10

20

<210> 67

<211> 909

<212> DNA

<213> r. rattus

<400> 67

atgctaagta tgctgaaag catcctcctt tctgttgcca ctagtgaagc tatgctgggt 60
 atttttaggga atatatttat tgtacttgta aactgtacaa actgggtcag gaataagaaa 120
 ctctccaaga ttaactttat tctcactggc ttggcaattt ccagggtttt taccatatgg 180
 ataataactt tagatgcata tacaaggtt ttcttctga ctacgcttat gcctagcaat 240
 ctacatgaat gcattagtta catatgggta attattaacc acctgagtgt ctggtttgcc 300
 acaagcctca gcatctttta tttcctgaag atagcaaact tttcccacta catatttctc 360
 tggttgaaga gaagagctga taaagttttt gtctttctaa ttggatactt aattataaca 420
 tggctagctt cctttccact agctgtgaca gtgattaaaa atattaaagt gcatcataac 480
 aacacatctt ggctgatcca actggagaag agagagttac ttataaacta tgtttttgcc 540
 aatatggggc ccatttccct ctttatggty gccgtattta cttgtttcct gttaaccatt 600
 tccctttgga gacacagaag gaggatgcaa tccactggat caaaattcag agatctcaac 660

40

```

acagaagttc acgtgaaagc catgaaagtt ttaatttcat ttatcatcct ctttatctta 720
tatittatgg gtgtttctcat agaaacatta tgcttggttc tcacagaaaa tatacttctc 780
tttatttttg gcttccacttt gtcattccacg tatccctggt gccattcctt taccctaatt 840
ctaacaagca gggagctgaa gcaagcctcc atgagggcac tgcagagatt aaaatgctgt 900
gagacttaa 909

```

<210> 68
 <211> 302
 <212> PRT
 <213> R. rattus

<400> 68

```

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

```

<210> 69
 <211> 960
 <212> DNA
 <213> H. sapiens

<400> 69

```

atgataactt ttctgcccac cattttttcc atttctaatag tggttatatt tgttattgga 60
aattttgcta atggcttcat agcatttgta aattccattg agtgggtcaa gagacaaaag 120
atctcctttg ttgaccaaat tctcactgct ctggcgggtct ccagagttgg tttgctctgg 180
gtgttattac tacattggtg tgcaactcag ttgaatccag ctttttatag tgtagaagta 240

```

10

20

30

40

```

agaattactg cttataatgt ctgggcagta accaaccatt tcagcagctg gcttgctact 300
agcctcagca tgttttatTT gctcaggatt gccaatTTct ccaaccttat ttttcttcgc 360
ataaagagga gagttaagag tgtttgttctg gtgatactgt tggggccttt gctattttttg 420
gtttgtcatc tttttgtgat aaacatggat gagactgtat ggacaaaaga atatgaagga 480
aacgtgactt ggaagatcaa attgaggagt gcaatgtacc attcaaatat gactctaacc 540
atgctagcaa actttgtacc cctcactctg accctgatat cttttctgct gttaatctgt 600
tctctgtgta aacatctcaa gaagatgcag ctccatggca aaggatctca agatcccagc 660
accaaggTcc acataaaagc tttgcaaact gtgacctcct ttcttctgTT atgtgccatt 720
tactttctgt ccattgatcat atcagtttgt aattttggga ggctggaaaa gcaacctgtc 780
ttcatgttct gccaaagctat tatattcagc tatccttcaa cccaccatt catcctgatt 840
ttgggaaaca agaagctaaa gcagattttt ctttcagttt tgcggcatgt gaggtactgg 900
gtgaaagaca gaagccttcg tctccataga ttcacaagag gggcattgtg tgtcttctag 960

```

```

<210> 70
<211> 319
<212> PRT
<213> H. sapiens

```

10

```

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

```

20

30

<210> 71

40

<211> 900
<212> DNA
<213> H. sapiens

```

<400> 71
atgataactt ttctgcccat catatatttc attctagtag tggttacatt tgttattgga      60
aattttgcta atggcttcat agcgttggtg aattccacog agtgggtgaa gagacaaaag      120
atctcctttg ctgaccaaat tgtcactgct ctggcggtct ccagagttgg tttgctctgg      180
gtgttattat taaattggta ttcaactgtg ttgaatccag ctttttatag tgtagaatta      240
agaactactg ottataaatat ctgggcagta accggccatt tcagcaactg gcctgctact      300
agcctcagca tattttatatt gctcaagatt gccaatttct ccaaccttat ttttcttcgc      360
ttaaagagga gagttaagag tgtcattctg gtggtgctgt tggggccttt gctatTTTTG      420
gcttgtcctc tttttgtggt aaacatgaaat cagattgtat ggacaaaaga atatgaagga      480
aacatgactt ggaagatcaa attgaggcgt gcaatgtacc tttcagatac gactgtaacc      540
atgctagcaa acttagtacc ctttactgta accctgatat cttttctgct gttagtctgt      600
tctctgtgta aacatctcaa gaagatgcag ctccatggca aaggatctca agatcccagt      660
accaagggtcc acataaaagt ttgcaaaact gtgatctcct tcttcttgtt atgtgccatt      720
tactttgtgt ctgtaataat atcagtttgg agttttaaga atctggaaaa caaacctgtc      780
ttcatgttct gccaaagctat tggattcagc tgttcttcag cccaccggtt catcctgatt      840
tggggaaaca agaagctaaa gcagacttat ctttcagttt tgtggcaaat gaggtactga      900

```

10

<210> 72
<211> 299
<212> PRT
<213> H. sapiens

```

<400> 72
Met Ile Thr Phe Leu Pro Ile Ile Phe Ser Ile Leu Val Val Val Thr
1           5           10          15
Phe Val Ile Gly Asn Phe Ala Asn Gly Phe Ile Ala Leu Val Asn Ser
20          25          30
Thr Glu Trp Val Lys Arg Gln Lys Ile Ser Phe Ala Asp Gln Ile Val
35          40          45
Thr Ala Leu Ala Val Ser Arg Val Gly Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu
50          55          60
Asn Trp Tyr Ser Thr Val Leu Asn Pro Ala Phe Tyr Ser Val Glu Leu
65          70          75          80
Arg Thr Thr Ala Tyr Asn Ile Trp Ala Val Thr Gly His Phe Ser Asn
85          90          95
Trp Pro Ala Thr Ser Leu Ser Ile Phe Tyr Leu Leu Lys Ile Ala Asn
100         105         110
Phe Ser Asn Leu Ile Phe Leu Arg Leu Lys Arg Arg Val Lys Ser Val
115         120         125
Ile Leu Val Val Leu Leu Gly Pro Leu Leu Phe Leu Ala Cys His Leu
130         135         140
Phe Val Val Asn Met Asn Gln Ile Val Trp Thr Lys Glu Tyr Glu Gly
145         150         155         160
Asn Met Thr Trp Lys Ile Lys Leu Arg Arg Ala Met Tyr Leu Ser Asp
165         170         175
Thr Thr Val Thr Met Leu Ala Asn Leu Val Pro Phe Thr Val Thr Leu
180         185         190
Ile Ser Phe Leu Leu Leu Val Cys Ser Leu Cys Lys His Leu Lys Lys
195         200         205
Met Gln Leu His Gly Lys Gly Ser Gln Asp Pro Ser Thr Lys Val His
210         215         220
Ile Lys Val Leu Gln Thr Val Ile Ser Phe Phe Leu Leu Cys Ala Ile
225         230         235         240
Tyr Phe Val Ser Val Ile Ile Ser Val Trp Ser Phe Lys Asn Leu Glu
245         250         255
Asn Lys Pro Val Phe Met Phe Cys Gln Ala Ile Gly Phe Ser Cys Ser
260         265         270

```

20

30

40

Ser Ala His Pro Phe Ile Leu Ile Trp Gly Asn Lys Lys Leu Lys Gln
 275 280 285
 Thr Tyr Leu Ser Val Leu Trp Gln Met Arg Tyr
 290 295

<210> 73
 <211> 900
 <212> DNA
 <213> H. sapiens

<400> 73
 atgataactt ttctatacat ttttttttca attcetaataa tgggttttatt tgttctcgga 60
 aactttgccca atggccttcat agcactggta aatttcattg actgggtgaa gagaaaaaag 120
 atctcctcag ctgaccaaact tctcactgct ctggcggctc ccagaattgg tttgctctgg 180
 gcattattat taaattggga ttttaactgtg ttgaatccag ctttttatag tgtagaatta 240
 agaattactt cttataatgc ctgggttgta accaaccatt tcagcatgtg gcttgctgct 300
 aacctcagca tattttattt gctcaagatt gccaatctct ccaaccttct ttttcttcat 360
 ttaaagagga gagttaggag tgtcattctg gtgatactgt tggggacttt gatatttttg 420
 gtttgcctc tctttgtggc aaacatggat gagagtatgt ggcagaaga atatgaagga 480
 aacatgactg ggaagatgaa attgaggaat acagtacatc tttcatattt gactgtaact 540
 accctatgga gcttcatacc ctttactctg tccttgatat cttttctgat gctaactctgt 600
 tctctgtgta aacatctcaa gaagatgcag ctccatggag aaggatcgca agatctcagc 660
 accaaggctc acataaaagc ttgcaaaact ctgatctcct tcctcttggt atgtgccatt 720
 ttctttctat tcctaactgt ttcggtttgg agtcttagga ggctgcgga tgacctgggt 780
 gtcattggtta gcaaggctgt tggaaacata tatcttgcat tcgactcatt catcctaatt 840
 tggagaacca agaagctaaa acacacctt cttttgattt tgtgtcagat taggtgctga 900

10

<210> 74
 <211> 299
 <212> PRT
 <213> H. sapiens

20

<400> 74
 Met Ile Thr Phe Leu Tyr Ile Phe Phe Ser Ile Leu Ile Met Val Leu
 1 5 10 15
 Phe Val Leu Gly Asn Phe Ala Asn Gly Phe Ile Ala Leu Val Asn Phe
 20 25 30
 Ile Asp Trp Val Lys Arg Lys Lys Ile Ser Ser Ala Asp Gln Ile Leu
 35 40 45
 Thr Ala Leu Ala Val Ser Arg Ile Gly Leu Leu Trp Ala Leu Leu Leu
 50 55 60
 Asn Trp Tyr Leu Thr Val Leu Asn Pro Ala Phe Tyr Ser Val Glu Leu
 65 70 75 80
 Arg Ile Thr Ser Tyr Asn Ala Trp Val Val Thr Asn His Phe Ser Met
 85 90 95
 Trp Leu Ala Ala Asn Leu Ser Ile Phe Tyr Leu Leu Lys Ile Ala Asn
 100 105 110
 Phe Ser Asn Leu Leu Phe Leu His Leu Lys Arg Arg Val Arg Ser Val
 115 120 125
 Ile Leu Val Ile Leu Leu Gly Thr Leu Ile Phe Leu Val Cys His Leu
 130 135 140
 Leu Val Ala Asn Met Asp Glu Ser Met Trp Ala Glu Glu Tyr Glu Gly
 145 150 155 160
 Asn Met Thr Gly Lys Met Lys Leu Arg Asn Thr Val His Leu Ser Tyr
 165 170 175
 Leu Thr Val Thr Thr Leu Trp Ser Phe Ile Pro Phe Thr Leu Ser Leu
 180 185 190
 Ile Ser Phe Leu Met Leu Ile Cys Ser Leu Cys Lys His Leu Lys Lys
 195 200 205
 Met Gln Leu His Gly Glu Gly Ser Gln Asp Leu Ser Thr Lys Val His
 210 215 220

30

40

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

<210> 75
 <211> 930
 <212> DNA
 <213> H. sapiens

10

<400> 75
 atgatgagtt ttctacacat tgttttttcc attctagtag tggttgcatt tattcttggg 60
 aattttgcc aatggctttat agcactgata aatttcattg cctgggtcaa gagacaaaag 120
 atctcctcag ctgatcaaat tattgctgct ctggcagtct ccagagttgg ttgctctgg 180
 gtaatattat tacattggta ttcaactgtg ttgaatccaa ctccatctaa tttaaagta 240
 ataattttta tttctaagtc ctgggcagta accaatcatt tcagcatctg gcttgctact 300
 agcctcagca tattttatatt gctcaagatc gtcaatttct ccagacttat tttcatcac 360
 ttaaaaagga aggctaagag tgtagtctcg gtgatagtg tggggtcttt gttctttttg 420
 gtttgcacc ttgtgatgaa acacacgtat ataatgtgt ggacagaaga atgtgaagga 480
 aacgtaactt ggaagatcaa actgaggaat gcaatgcacc tttccaactt gactgtagcc 540
 atgctagcaa acttgatacc attcactctg accctgatat cttttctgct gttaatctac 600
 tctctgtgta aacatctgaa gaagatgcag ctccatggca aaggatctca agatcccagc 660
 accaagatcc acataaaaagc tctgcaaaact gtgacctct tctctatatt acttgccatt 720
 tactttctgt gtctaatacat atcgttttgg aattttaaga tgcgaccaa agaaattgtc 780
 ttaatgcttt gccaaagcttt tggaatcata tatccatcat tccactcatt cattctgatt 840
 tgggggaaca agacgctaaa gcagaccitt ctttcagttt tgtggcaggt gacttgctgg 900
 gcaaaaaggac agaaccagtc aactccatag 930

<210> 76
 <211> 309
 <212> PRT
 <213> H. sapiens

20

<400> 76
 Met Met Ser Phe Leu His Ile Val Phe Ser Ile Leu Val Val Val Ala
 1 5 10 15
 Phe Ile Leu Gly Asn Phe Ala Asn Gly Phe Ile Ala Leu Ile Asn Phe
 20 25 30
 Ile Ala Trp Val Lys Arg Gln Lys Ile Ser Ser Ala Asp Gln Ile Ile
 35 40 45
 Ala Ala Leu Ala Val Ser Arg Val Gly Leu Leu Trp Val Ile Leu Leu
 50 55 60
 His Trp Tyr Ser Thr Val Leu Asn Pro Thr Ser Ser Asn Leu Lys Val
 65 70 75 80
 Ile Ile Phe Ile Ser Asn Ala Trp Ala Val Thr Asn His Phe Ser Ile
 85 90 95
 Trp Leu Ala Thr Ser Leu Ser Ile Phe Tyr Leu Leu Lys Ile Val Asn
 100 105 110
 Phe Ser Arg Leu Ile Phe His His Leu Lys Arg Lys Ala Lys Ser Val
 115 120 125
 Val Leu Val Ile Val Leu Gly Ser Leu Phe Phe Leu Val Cys His Leu
 130 135 140
 Val Met Lys His Thr Tyr Ile Asn Val Trp Thr Glu Glu Cys Glu Gly
 145 150 155 160
 Asn Val Thr Trp Lys Ile Lys Leu Arg Asn Ala Met His Leu Ser Asn

30

40

```

165          170          175
Leu Thr Val Ala Met Leu Ala Asn Leu Ile Pro Phe Thr Leu Thr Leu
180          185          190
Ile Ser Phe Leu Leu Leu Ile Tyr Ser Leu Cys Lys His Leu Lys Lys
195          200          205
Met Gln Leu His Gly Lys Gly Ser Gln Asp Pro Ser Thr Lys Ile His
210          215          220
Ile Lys Ala Leu Gln Thr Val Thr Ser Phe Leu Ile Leu Leu Ala Ile
225          230          235
Tyr Phe Leu Cys Leu Ile Ile Ser Phe Trp Asn Phe Lys Met Arg Pro
245          250          255
Lys Glu Ile Val Leu Met Leu Cys Gln Ala Phe Gly Ile Ile Tyr Pro
260          265          270
Ser Phe His Ser Phe Ile Leu Ile Trp Gly Asn Lys Thr Leu Lys Gln
275          280          285
Thr Phe Leu Ser Val Leu Trp Gln Val Thr Cys Trp Ala Lys Gly Gln
290          295          300
Asn Gln Ser Thr Pro
305

```

```

<210> 77
<211> 957
<212> DNA
<213> H. sapiens

```

10

```

<400> 77
atgttaaagg actcagaaca agtgttacta agcctgcatt tttttatctg ttcaaacatg      60
atgtgttttc tgctcatcat ttcatacaatt ctggtagtgt ttgcatttgt tcttggaaat      120
gttgccaatg gcttcatagc cctagtaaatt gtcattgact gggttaacac acgaaagatc      180
tcctcagctg agcaaatctt cactgctctg gtggtctcca gaattggttt actctgggtc      240
atgttattcc tttgggatgc aactgtgitt aattctgctt tatatggttt agaagtaaga      300
attgttgctt ctaatgcctg gctgtaacg aaccatttca gcatgtggct tgctgctagc      360
ctcagcatat tttgtttgct caagattgcc aatttctcca accttatttc tctccaccta      420
aagaagagaa ttaagagtgt tgttctggtg atactgttgg ggcccttggg atttctgatt      480
tgtaatcttg ctgtgataac catggatgag agagtgtgga caaaagaata tgaaggaaat      540
gtgacttgga agatcaaatt gaggaatgca atacaccttt caagcttgac tgtaactact      600
ctagcaaacc tcataaccctt tactctgagc ctaatatggt ttctgctggt aatctgttct      660
ctttgtaaac atctcaagaa gatgoggctc catagcaaag gatctcaaga tcccagcacc      720
aagggtccata taaaagcttt gcaaactgtg acctccttcc tcatgttatt tgccatttac      780
tttctgtgta taatcacatc aacttggaat cttaggacac agcagagcaa acttgtactc      840
ctgctttgcc aaactgttgc aatcatgtat ccttcattcc actcattcat cctgattatg      900
ggaagtagga agctaaaaca gacctttctt tcagttttgt ggcagatgac acgctga      957

```

20

```

<210> 78
<211> 318
<212> PRT
<213> H. sapiens

```

30

```

<400> 78
Met Leu Lys Asp Ser Glu Gln Val Leu Leu Ser Leu His Phe Phe Ile
1          5          10          15
Cys Ser Asn Met Met Cys Phe Leu Leu Ile Ile Ser Ser Ile Leu Val
20          25          30
Val Phe Ala Phe Val Leu Gly Asn Val Ala Asn Gly Phe Ile Ala Leu
35          40          45
Val Asn Val Ile Asp Trp Val Asn Thr Arg Lys Ile Ser Ser Ala Glu
50          55          60
Gln Ile Leu Thr Ala Leu Val Val Ser Arg Ile Gly Leu Leu Trp Val
65          70          75          80
Met Leu Phe Leu Trp Tyr Ala Thr Val Phe Asn Ser Ala Leu Tyr Gly
85          90          95

```

40

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

10

<210> 79
 <211> 930
 <212> DNA
 <213> H. sapiens

20

<400> 79
 atgataactt ttctgcccac cattttttcc atttctaatag tggttacatt tgtgattgga 60
 aattttgcta atggcttcat agcattggta aattccattg agtggttcaa gagacaaaag 120
 atctcttttg ctgaccaaact tctcactgct ctggcagctc ccagagttgg tttactctgg 180
 gtattagtat taaattggta tgcaactgag ttgaatccag cttttaacag tatagaagta 240
 agaattactg cttacaatgt ctgggcagta atcaaccatt tcagcaactg gcttgctact 300
 agcctcagca tattttatatt gctcaagatt gccaatctc ccaaccttat tttcttcac 360
 ttaaagagga gagttaagag tgttgttctg gtgatactat tggggccttt gctatatttg 420
 gtttgtcacc tttttgtgat aaacatgaat cagattatat ggacaaaaga atatgaagga 480
 aacatgactt ggaagatcaa actgaggagt gcaatgtacc tttcaaatac aacggtaacc 540
 atcctagcaa acttagttcc cttcactctg accctgatat cttttctgct gttaatctgt 600
 tctctgtgta aacatctcaa aaagatgcag ctccatggca aaggatctca agatcccagc 660
 atgaaggctc acataaaagc ttgcaaaact gtgacctcct tcctcttggt atgtgccatt 720
 tactttctgt ccataatcat gtcagtttg agttttgaga gtctggaaaa caaacctgtc 780
 ttcatgttct gcgaagctat tgcattcagc tatccttcaa cccaccatt catcctgatt 840
 tggggaaaca agaagctaaa gcagactttt ctttcagttt tgtggcatgt gaggtactgg 900
 gtgaaaggag agaagccttc atcttcatag 930

30

<210> 80
 <211> 309
 <212> PRT
 <213> H. sapiens

<400> 80
 Met Ile Thr Phe Leu Pro Ile Ile Phe Ser Ile Leu Ile Val Val Thr
 1 5 10 15
 Phe Val Ile Gly Asn Phe Ala Asn Gly Phe Ile Ala Leu Val Asn Ser

40

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

10

20

<210> 81
 <211> 930
 <212> DNA
 <213> H. sapiens

<400> 81
 atgacaactt ttatacccat cattttttcc agtgtggtag tggttctatt tgttattgga 60
 aattttgcta atggcttcat agcattggta aattccattg agcgggtcaa gagacaaaag 120
 atctcttttg ctgaccagat tctcactgct ctggcggctc ccagagttgg ttgtctctgg 180
 gtattattat taaattggta ttcaactgtg ttaaatccag ctttttatag tgtagaagta 240
 agaactactg cttataatgt ctgggcagta accggccatt tcagcaactg gcttgctact 300
 agcctcagca tttttatatt gctcaagatt gccaatctc ccaaccttat tttcttcac 360
 ttaaagagga gagttaagag tgtcattctg gtgatgctgt tggggccttt actatttttg 420
 gcttgtaaac tttttgtgat aaacatgaaa gagattgtac ggacaaaaga atatgaagga 480
 aacttgactt ggaagatcaa attgaggagt gcagtgtacc tttcagatgc gactgtaacc 540
 acgctaggaa acttagtgcc cttcactctg accctgctat gttttttgct gttaatctgt 600
 tctctgtgta aacatctcaa gaagatgcag ctccatggta aaggatctca agatcccagc 660
 accaagggtcc acataaaagc tttgcaaaact gtgatctttt tctctttggt atgtgccggt 720
 tactttctgt ccataatgat atcagtttgg agttttggga gtctggaaaa caaacctgtc 780
 ttcatgttct gcaaagctat tagattcagc tacccttcaa tccaccatt catcctgatt 840
 tggggaaaca agaagctaaa gcagactttt ctttcagttt tgccggcaagt gaggtactgg 900
 gtgaaaggag agaagccttc atctccatag 930

30

40

<210> 82
 <211> 309
 <212> PRT
 <213> H. sapiens

<400> 82
 Met Thr Thr Phe Ile Pro Ile Ile Phe Ser Ser Val Val Val Val Leu
 1 5 10 15
 Phe Val Ile Gly Asn Phe Ala Asn Gly Phe Ile Ala Leu Val Asn Ser
 20 25 30
 Ile Glu Arg Val Lys Arg Gln Lys Ile Ser Phe Ala Asp Gln Ile Leu
 35 40 45
 Thr Ala Leu Ala Val Ser Arg Val Gly Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu
 50 55 60
 Asn Trp Tyr Ser Thr Val Phe Asn Pro Ala Phe Tyr Ser Val Glu Val
 65 70 75 80
 Arg Thr Thr Ala Tyr Asn Val Trp Ala Val Thr Gly His Phe Ser Asn
 85 90 95
 Trp Leu Ala Thr Ser Leu Ser Ile Phe Tyr Leu Leu Lys Ile Ala Asn
 100 105 110
 Phe Ser Asn Leu Ile Phe Leu His Leu Lys Arg Arg Val Lys Ser Val
 115 120 125
 Ile Leu Val Met Leu Leu Gly Pro Leu Leu Phe Leu Ala Cys Gln Leu
 130 135 140
 Phe Val Ile Asn Met Lys Glu Ile Val Arg Thr Lys Glu Tyr Glu Gly
 145 150 155 160
 Asn Leu Thr Trp Lys Ile Lys Leu Arg Ser Ala Val Tyr Leu Ser Asp
 165 170 175
 Ala Thr Val Thr Thr Leu Gly Asn Leu Val Pro Phe Thr Leu Thr Leu
 180 185 190
 Leu Cys Phe Leu Leu Leu Ile Cys Ser Leu Cys Lys His Leu Lys Lys
 195 200 205
 Met Gln Leu His Gly Lys Gly Ser Gln Asp Pro Ser Thr Lys Val His
 210 215 220
 Ile Lys Ala Leu Gln Thr Val Ile Phe Phe Leu Leu Leu Cys Ala Val
 225 230 235 240
 Tyr Phe Leu Ser Ile Met Ile Ser Val Trp Ser Phe Gly Ser Leu Glu
 245 250 255
 Asn Lys Pro Val Phe Met Phe Cys Lys Ala Ile Arg Phe Ser Tyr Pro
 260 265 270
 Ser Ile His Pro Phe Ile Leu Ile Trp Gly Asn Lys Lys Leu Lys Gln
 275 280 285
 Thr Phe Leu Ser Val Leu Arg Gln Val Arg Tyr Trp Val Lys Gly Glu
 290 295 300
 Lys Pro Ser Ser Pro
 305

10

20

30

<210> 83
 <211> 969
 <212> DNA
 <213> H. sapiens

<400> 83
 atgctcttac aggcaatggg tgggtgtcata aagagcatat ttacattcgt ttttaattgtg 60
 gaattataa ttggaaattht aggaaatagt ttcatagcac tggatgaactg tattgactgg 120
 gtcaagggaa gaaagatctc ttcggttgat cggatcctca ctgctttggc aatctctcga 180
 attagcctgg tttggttaat attcgggaagc tgggtgtgtgt ctgtgttttt cccagcttta 240
 tttgccactg aaaaaatggt cagaatgctt actaatatct ggacagtgat caatcatttt 300
 agtgtctggg tagctacagg cctcgggtact ttttattttc tcaagatagc caatttttct 360
 aactctattt ttctctacct aaagtggagg gttaaaaaagg tggttttggg gctgcttctt 420
 gtgaactcgg tcttcttggt tttaaatatt gcaactgataa acatccatat aaatgccagt 480

40

```

atcaatggat acagaagaaa caagacttgc agttctgatt caagtaactt tacacgattt 540
tccagtotta ttgtattaac cagcactgtg ttcattttca taccctttac tttgtccctg 600
gcaatgtttc ttctcctcat cttctccatg tggaacatc gcaagaagat gcagcacact 660
gtcaaaatat ccggagacgc cagcaccaaa gccacagag gagttaaag tgtgateact 720
ttcttctac tctatgccat tttctctctg tctttttca tctcagttg gacctctgaa 780
aggttggagg aaaatctaata tattctttcc caggtgatgg gaatggctta tccttcatgt 840
cactcatgtg ttctgattct tggaacaag aagctgagac aggcctctct gtcagtgcta 900
ctgtggctga ggtacatggt caaagatggg gagccctcag gtcacaaaga attagagaa 960
tcattctga 969

```

<210> 84

<211> 322

<212> PRT

<213> H. sapiens

10

<400> 84

```

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

```

20

30

<210> 85

<211> 1179

40

<212> DNA
<213> H. sapiens

```

<400> 85
atggcttcag ccagccgagg caacctacct gggttgcctt tcaactctgtg gaagctttgt      60
cctttctctc ttctcaataa accttgctgt tgctcactct ttgggtccac accatcttta      120
agagcagcaa cactcacctg gaaggtcagt ggctcccttt tgaagtcagc gagaccacga      180
accacactgc aggaaccaat tccggacaca acaccagcat ttaaaaaaat tttttttgtc      240
tgttcagaca tgataacttt tctaccctac attttttcca gtctggtagt ggttacattt      300
gttattggaa attttgctaa tggcttcata gcaactggtaa attccattga gtggttcaag      360
agacaaaaga tctcctttgc tgaccaaatt ctcaactgctc tggcgggtctc cagagttggt      420
ttgctotggg tattattatt aaactgggat tcaactgtgt tgaatccagc ttttaatagt      480
gtagaagtaa gaactactgc ttataatata tgggcagtga tcaaccattt cagcaactgg      540
cttgctacta ccctcagcat attttatttg ctcaagattg ccaatttctc caactttatt      600
tttcttcact taaagaggag agttaagagt gtcattctgg tgatgttggt ggggcctttg      660
ctatttttgg cttgtcatct ttttgtgata aacatgaatg agattgtgag gacaaaagaa      720
tttgaaggaa acatgacttg gaagatcaaa ttgaagagtg caatgtactt ttcaaatatg      780
actgtaacca tggtagcaaa cttagtacct ttcaactctga ccctactatc ttttatgctg      840
ttaatctggt cttttgtgaa acatctcaag aagatgcagc tccatggtaa aggatctcaa      900
gatcccgaca ccaaggtcca cataaaagct ttgcaaaactg tgatctcctt cctcttgtaa      960
tgtgccatct actttctgtc cataatgata tcagtttggg gttttggaag tctggaaaac     1020
aaacctgtct tcatgtttct caaagctatt agattcagct atccttcaat ccaccattc     1080
atcctgattt ggggaaacaa gaagctaaag cagacttttc tttcagtttt ttggcaaatg     1140
aggtactggg tgaaaaggaga gaagacttca tctccatag     1179

```

10

<210> 86
<211> 309
<212> PRT
<213> H. sapiens

```

<400> 86
Met Ile Thr Phe Leu Pro Ile Ile Phe Ser Ser Leu Val Val Val Thr
1      5      10      15
Phe Val Ile Gly Asn Phe Ala Asn Gly Phe Ile Ala Leu Val Asn Ser
20     25     30
Ile Glu Trp Phe Lys Arg Gln Lys Ile Ser Phe Ala Asp Gln Ile Leu
35     40     45
Thr Ala Leu Ala Val Ser Arg Val Gly Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu
50     55     60
Asn Trp Tyr Ser Thr Val Leu Asn Pro Ala Phe Asn Ser Val Glu Val
65     70     75     80
Arg Thr Thr Ala Tyr Asn Ile Trp Ala Val Ile Asn His Phe Ser Asn
85     90     95
Trp Leu Ala Thr Thr Leu Ser Ile Phe Tyr Leu Leu Lys Ile Ala Asn
100    105    110
Phe Ser Asn Phe Ile Phe Leu His Leu Lys Arg Arg Val Lys Ser Val
115    120    125
Ile Leu Val Met Leu Leu Gly Pro Leu Leu Phe Leu Ala Cys His Leu
130    135    140
Phe Val Ile Asn Met Asn Glu Ile Val Arg Thr Lys Glu Phe Glu Gly
145    150    155    160
Asn Met Thr Trp Lys Ile Lys Leu Lys Ser Ala Met Tyr Phe Ser Asn
165    170    175
Met Thr Val Thr Met Val Ala Asn Leu Val Pro Phe Thr Leu Thr Leu
180    185    190
Leu Ser Phe Met Leu Leu Ile Cys Ser Leu Cys Lys His Leu Lys Lys
195    200    205
Met Gln Leu His Gly Lys Gly Ser Gln Asp Pro Ser Thr Lys Val His
210    215    220
Ile Lys Ala Leu Gln Thr Val Ile Ser Phe Leu Leu Leu Cys Ala Ile
225    230    235    240

```

20

30

40

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

<210> 87
 <211> 951
 <212> DNA
 <213> H. sapiens

10

<400> 87
 atggagcadc ttttgaagag aacatttgat atcactgaga acatacttca aattatttta 60
 ttcattgaat taataattgg acttatagga aatggattca cagccttggg gcactgcatg 120
 gattggggtta agagaaaaaa aatgtcatta gtaataaaaa tcttcaccgc tttggcaact 180
 tctagaattt tcttgctctg gttcatgcta gtaggttttc caattagctc actgtaccca 240
 tatttagtta ctactagact gatgatacag ttcactagta ctctatggac tatagctaac 300
 catattagtg totggtttgc tacatgcctc agtgtctttt attttctcaa gatagccaat 360
 ttttctaatt ctccttttct ctatctaaag aggagagttg aaaaagtagt ttcagttaca 420
 ttactggtat ctctggctct cttgttttta aatattttac tacttaattt ggaaattaat 480
 gtgtgtataa atgaatatca tcaaataaac acatcatata tcttcatttc ttattaccat 540
 ttaagttgtc aaattcaggt gtttaggaagt cacattattt tctgttttgc ccccgttggt 600
 ttgtccctgt caacttttct cctgctcacc ttctccctgt ggacacatca caagaggatg 660
 cagcagcatg ttcagggaga cagagatgcc agaactatgg cccacttcaa agccttgcaa 720
 accgtgattg cctttcttct actacactcc atttttatcc tgtcactggt actacaattt 780
 tggatccatg aattaaggaa gaaacctctt ttcggtgcat tttgtcaggt tgtatatata 840
 gcttttctct cattccattc atatgtcttg attctgagag acagaaagct gagacatgcc 900
 tctctttctg tgttgcctg gctgaaatgc aggccaaatt atgtggaata a 951

<210> 88
 <211> 316
 <212> PRT
 <213> H. sapiens

20

<400> 88
 Met Glu His Leu Leu Lys Arg Thr Phe Asp Ile Thr Glu Asn Ile Leu
 1 5 10 15
 Gln Ile Ile Leu Phe Ile Glu Leu Ile Ile Gly Leu Ile Gly Asn Gly
 20 25 30
 Phe Thr Ala Leu Val His Cys Met Asp Trp Val Lys Arg Lys Lys Met
 35 40 45
 Ser Leu Val Asn Lys Ile Leu Thr Ala Leu Ala Thr Ser Arg Ile Phe
 50 55 60
 Leu Leu Trp Phe Met Leu Val Gly Phe Pro Ile Ser Ser Leu Tyr Pro
 65 70 75 80
 Tyr Leu Val Thr Thr Arg Leu Met Ile Gln Phe Thr Ser Thr Leu Trp
 85 90 95
 Thr Ile Ala Asn His Ile Ser Val Trp Phe Ala Thr Cys Leu Ser Val
 100 105 110
 Phe Tyr Phe Leu Lys Ile Ala Asn Phe Ser Asn Ser Pro Phe Leu Tyr
 115 120 125
 Leu Lys Arg Arg Val Glu Lys Val Val Ser Val Thr Leu Leu Val Ser
 130 135 140
 Leu Val Leu Leu Phe Leu Asn Ile Leu Leu Leu Asn Leu Glu Ile Asn
 145 150 155 160
 Val Cys Ile Asn Glu Tyr His Gln Ile Asn Thr Ser Tyr Ile Phe Ile

30

40

```

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

```

```

<210> 89
<211> 1002
<212> DNA
<213> H. sapiens

```

10

```

<400> 89
atgttgactc taactcgcat ccgcactgtg tcctatgaag tcaggagtac atttctgttc      60
atttcagtc tggagtttgc agtggggttt ctgaccaatg ccttcgtttt cttggtgaat      120
ttttgggatg tagtgaagag gcaggcactg agcaacagt attgtgtgct gctgtgtctc      180
agcatcagcc ggcttttctt gcatggactg ctgttcctga gtgctatcca gcttaccac      240
ttccagaagt tgagtgaacc actgaaccac agctaccaag ccatcatcat gctatggatg      300
attgcaaacc aagccaacct ctggcttgc gctgcctca gcctgcttta ctgctccaag      360
ctcatcggtt tctctcacac ctctctgac tgcttggcaa gctgggtctc caggaagatc      420
tcccagatgc tcttgggtat tattctttgc tctgcactc gcaactgctc ctgtgtttgg      480
tgctttttta gcagacctca ctccacagtc acaactgtgc tattcatgaa taacaatata      540
aggctcaact ggcagattaa agatctcaat ttatittatt cctttctctt ctgctatctg      600
tggctgtgct ctcccttctt attgtttctg gtttcttctg ggatgctgac tgtctccctg      660
ggaaggcaca tgaggacaat gaaggtctat accagaaact ctctgaccc cagcctggag      720
gccacatta aagccctcaa gtctcttctc tccttttctt gcttctttgt gatatacatc      780
tgtgttgctc tcactctctg gcccctactg attctgtggc ggcacaaaat aggggtgatg      840
gtttgtgttg ggataatggc agcttgcctc tctgggcatg cagccatcct gatctcaggc      900
aatgccaagt tgaggagagc tgtgatgacc attctgctct gggctcagag cagcctgaag      960
gtaagagccg accacaaggc agattcccgg aactgtgct ga                                1002

```

```

<210> 90
<211> 333
<212> PRT
<213> H. sapiens

```

30

```

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

```

40

				85					90					95			
Met	Leu	Trp	Met	Ile	Ala	Asn	Gln	Ala	Asn	Leu	Trp	Leu	Ala	Ala	Cys		
			100						105					110			
Leu	Ser	Leu	Leu	Tyr	Cys	Ser	Lys	Leu	Ile	Arg	Phe	Ser	His	Thr	Phe		
			115						120					125			
Leu	Ile	Cys	Leu	Ala	Ser	Trp	Val	Ser	Arg	Lys	Ile	Ser	Gln	Met	Leu		
			130						135					140			
Leu	Gly	Ile	Ile	Leu	Cys	Ser	Cys	Ile	Cys	Thr	Val	Leu	Cys	Val	Trp		
145					150						155				160		
Cys	Phe	Phe	Ser	Arg	Pro	His	Phe	Thr	Val	Thr	Thr	Val	Leu	Phe	Met		
				165						170				175			
Asn	Asn	Asn	Thr	Arg	Leu	Asn	Trp	Gln	Ile	Lys	Asp	Leu	Asn	Leu	Phe		
			180						185					190			
Tyr	Ser	Phe	Leu	Phe	Cys	Tyr	Leu	Trp	Ser	Val	Pro	Pro	Phe	Leu	Leu		
			195					200					205				
Phe	Leu	Val	Ser	Ser	Gly	Met	Leu	Thr	Val	Ser	Leu	Gly	Arg	His	Met		
			210			215						220					
Arg	Thr	Met	Lys	Val	Tyr	Thr	Arg	Asn	Ser	Arg	Asp	Pro	Ser	Leu	Glu		
225					230						235				240		
Ala	His	Ile	Lys	Ala	Leu	Lys	Ser	Leu	Val	Ser	Phe	Phe	Cys	Phe	Phe		
				245						250				255			
Val	Ile	Ser	Ser	Cys	Val	Ala	Phe	Ile	Ser	Val	Pro	Leu	Leu	Ile	Leu		
			260						265					270			
Trp	Arg	Asp	Lys	Ile	Gly	Val	Met	Val	Cys	Val	Gly	Ile	Met	Ala	Ala		
			275					280					285				
Cys	Pro	Ser	Gly	His	Ala	Ala	Ile	Leu	Ile	Ser	Gly	Asn	Ala	Lys	Leu		
			290			295						300					
Arg	Arg	Ala	Val	Met	Thr	Ile	Leu	Leu	Trp	Ala	Gln	Ser	Ser	Leu	Lys		
305					310						315				320		
Val	Arg	Ala	Asp	His	Lys	Ala	Asp	Ser	Arg	Thr	Leu	Cys					
				325						330							

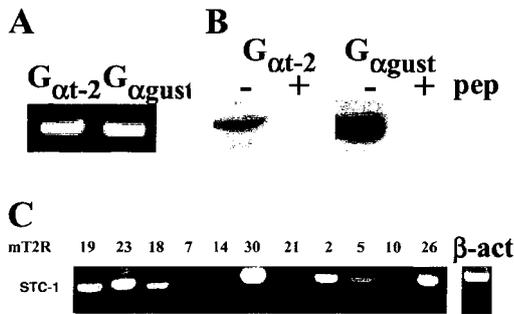
10

20

30

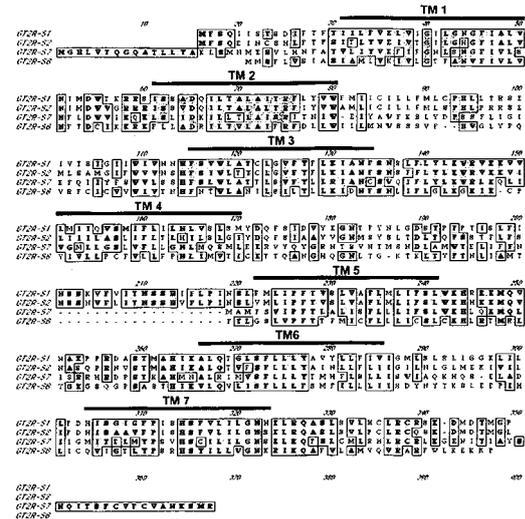
40

【 図 1 】



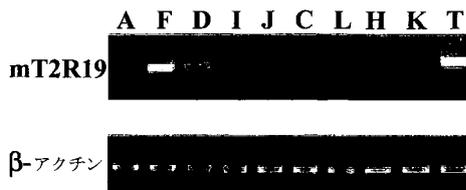
STC-1細胞における、 $G_{\alpha 2}$ 、 $G_{\alpha ust}$ 、および GT2R ファミリーメンバーの発現

【 図 2 】



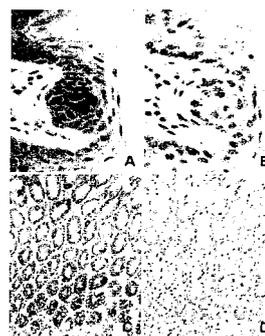
STC-1細胞から単離されたマウスGT2Rホモログの推定アミノ酸配列の配列アラインメント。複数の配列および相同性分析のために、MacVectorソフトウェア(バージョン7.1)を使用してClustalWアラインメントを行った。7回膜貫通ドメインに対応する領域を示す。

【 図 3 】



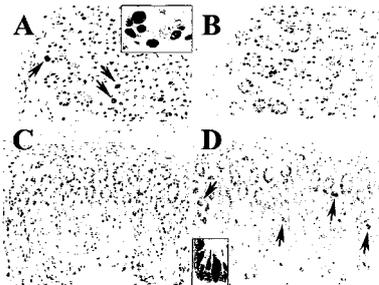
マウス GI 管におけるヒトT2R1およびラットT2R1の公知のマウスオルソログである mT2R19 転写物の組織分布

【 図 5 】



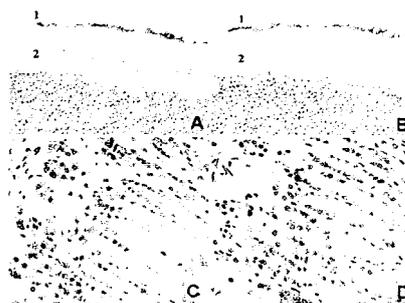
胃の味蕾 (AおよびB)および小腸 (CおよびD)の $G_{\alpha ust}$ の免疫染色

【 図 4 】



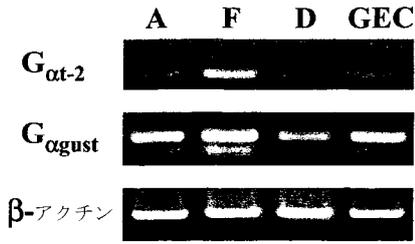
マウス胃底 (AおよびB)および小腸 (CおよびD)における $G_{\alpha 2}$ および $G_{\alpha ust}$ の免疫染色

【 図 6 】



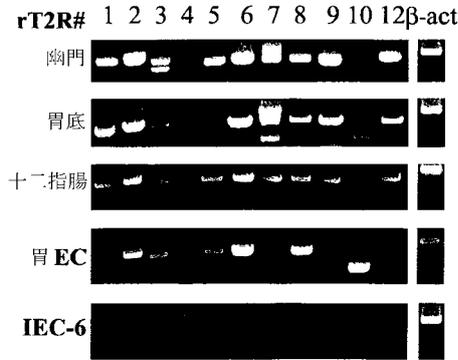
マウス胃底 (AおよびB)および小腸 (CおよびD)における $G_{\alpha 2}$ の免疫染色

【 図 7 】



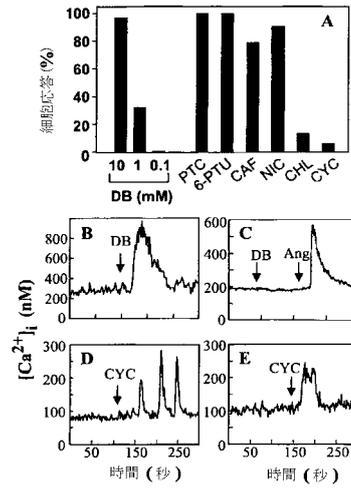
ラットGI組織およびラット胃内分泌細胞における $G_{\alpha t}$ および $G_{\alpha gust}$ の発現

【 図 8 】



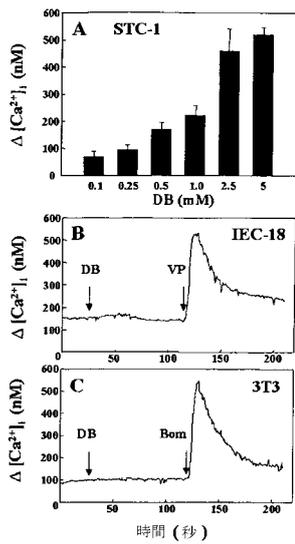
幽門、胃底、十二指腸、および胃内分泌細胞のcDNAライブラリーにおけるラットGT2Rの発現

【 図 9 】



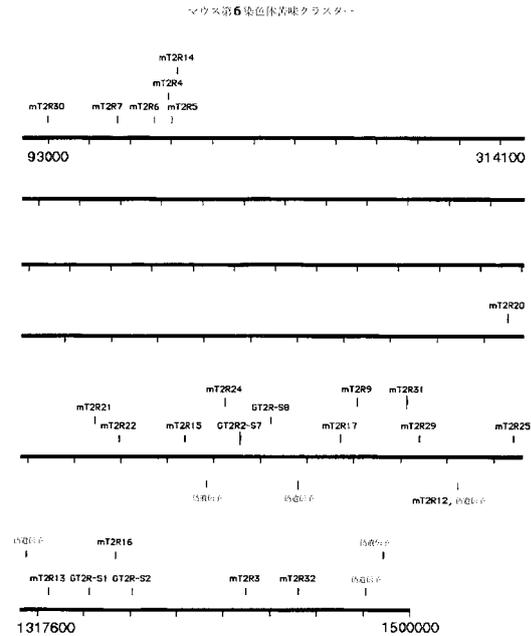
細胞内カルシウム濃度を増加させた苦味物質分子に対するSTC-1細胞の応答

【 図 10 】



STC-1細胞中の $[Ca^{2+}]_i$ の用量依存性増加を誘発するゲナトニウムの効果

【 図 11 】



マウス染色体6F3上の苦味クラスター内に存在する他の公知または推定mT2R遺伝子と関連するGT2Rクローン群の位置

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/US02/32664
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER		
IPC(7) : C12N 5/10, 15/12, 15/63; G01N 33/53,33/566 US CL : 435/7.2, 320.1, 325; 536/23.5		
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) U.S. : 435/7.2, 320.1, 325; 536/23.5		
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 practicable, search terms used) Please See Continuation Sheet		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 01/18050 A2 (THE REGENTS OF UNIVERSITY OF CALIFORNIA) 15 March 2001 (15.03.2001), see especially SEQ ID NO:124, pages 4, 17-21, and 67-78.	1-21
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents:		
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention	
"E" earlier application or patent published on or after the international filing date	"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	
"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)	"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	
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	"&" document member of the same patent family	
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed		
Date of the actual completion of the international search 10 December 2002 (10.12.2002)	Date of mailing of the international search report 02 JAN 2003	
Name and mailing address of the ISA/US Commissioner of Patents and Trademarks Box PCT Washington, D.C. 20231 Facsimile No. (703)305-3230	Authorized officer Michael Pak Telephone No. 703-308-1235	

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 1998)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

PCT/US02/32664

Continuation of B. FIELDS SEARCHED Item 3:
BRS, GENESEQ, GENEMBL, EST, SPTREMBL, PIR, SWISSPROT

search terms: G-protein receptor, taste transduction, gustatory system, bitter taste, gastrointestinal

 フロントページの続き

(81) 指定国 AP(GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), EP(AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, SK, TR), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, N O, NZ, OM, PH, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW

(72) 発明者 ローゼングルト ジュアン イー .

アメリカ合衆国 カリフォルニア州 ロサンジェルス ボックス 9 5 1 7 8 6 ベテラン アベ
ニュー 9 0 0

(72) 発明者 ウー エス . ビンセント

アメリカ合衆国 カリフォルニア州 ロサンジェルス ルーム 1 1 5 ビルディング 1 1 5
ブイエイ メディカル センター ウェスト ロサンジェルス

F ターム(参考) 4B024 AA00 AA01 AA11 BA63 CA01 GA11 HA11 HA20

4B063 QA05 QQ79 QQ91 QR48 QR72 QR77 QS05 QS24 QS32 QS40
QX00

4B065 AA90X AB01 AC20 BA02 BD21 CA24 CA44 CA46