



(19)
Bundesrepublik Deutschland
Deutsches Patent- und Markenamt

(10) **DE 694 34 166 T2 2005.11.10**

(12) **Übersetzung der europäischen Patentschrift**

(97) **EP 0 720 650 B1**

(21) Deutsches Aktenzeichen: **694 34 166.5**

(86) PCT-Aktenzeichen: **PCT/EP94/02991**

(96) Europäisches Aktenzeichen: **94 926 247.1**

(87) PCT-Veröffentlichungs-Nr.: **WO 95/008627**

(86) PCT-Anmeldetag: **07.09.1994**

(87) Veröffentlichungstag
der PCT-Anmeldung: **30.03.1995**

(97) Erstveröffentlichung durch das EPA: **10.07.1996**

(97) Veröffentlichungstag
der Patenterteilung beim EPA: **01.12.2004**

(47) Veröffentlichungstag im Patentblatt: **10.11.2005**

(51) Int Cl.7: **C12N 15/12**

C12N 15/62, C07K 14/705, C07K 16/28,

C12N 5/10, C12Q 1/68, G01N 33/68

(30) Unionspriorität:

93810663	20.09.1993	EP
9416553	19.08.1994	GB

(84) Benannte Vertragsstaaten:

**AT, BE, CH, DE, DK, ES, FR, GB, GR, IE, IT, LI, LU,
MC, NL, PT, SE**

(73) Patentinhaber:

Novartis AG, Basel, CH

(72) Erfinder:

**FLOR, Peter Josef, 79098 Freiburg, DE; KUHN,
Rainer, 79540 Lörrach, DE; LINDAUER, Kristin,
79106 Freiburg, DE; PÜTTNER, Irene, 4053 Basle,
CH; KNÖPFEL, Thomas, 4310 Rheinfelden, CH**

(74) Vertreter:

Spott & Weinmiller, 80336 München

(54) Bezeichnung: **MENSCHLICHE METABOTROPISCHE GLUTAMATREZEPTOR UNTERTYPE HMGLUR7 UND VER-
WANDTE DNS-VERBINDUNGEN**

Anmerkung: Innerhalb von neun Monaten nach der Bekanntmachung des Hinweises auf die Erteilung des europäischen Patents kann jedermann beim Europäischen Patentamt gegen das erteilte europäische Patent Einspruch einlegen. Der Einspruch ist schriftlich einzureichen und zu begründen. Er gilt erst als eingelegt, wenn die Einspruchsgebühr entrichtet worden ist (Art. 99 (1) Europäisches Patentübereinkommen).

Die Übersetzung ist gemäß Artikel II § 3 Abs. 1 IntPatÜG 1991 vom Patentinhaber eingereicht worden. Sie wurde vom Deutschen Patent- und Markenamt inhaltlich nicht geprüft.

Beschreibung

[0001] Die vorliegende Erfindung betrifft die humanen, metabotropen Glutamatrezeptorproteine (hmGluR), isolierte Nukleinsäuren hierfür, Wirtszellen, die die erfindungsgemäßen Proteine bilden, Verfahren zur Herstellung solcher Proteine, Nukleinsäuren und Wirtszellen und Verwendungen hiervon. Ferner liefert die Erfindung Antikörper; die gegen die hmGluR Proteine der Erfindung gerichtet sind.

[0002] Metabotrope Glutamatrezeptoren (hmGluR) gehören zur Klasse der G-Protein (Guaninnukleotidbindende) gekuppelten Rezeptoren, die nach dem Binden eines glutamatergen Liganden ein extrazelluläres Signal über ein intrazelluläres Botenstoffsystem, wie Calciumionen, ein cyclisches Nukleotid, Diacylglycerin und Inosit-1,4,5-triphosphat in eine physiologische Reaktion umwandeln. Da sie sieben putative Transmembransegmente aufweisen, die von einer großen extrazellulären aminoterminalen Domäne angeführt sind und von einer großen carboxyterminalen Domäne gefolgt werden, sind metabotrope Glutamatrezeptoren durch eine gemeinsame Struktur gekennzeichnet. Auf der Grundlage der Sequenzidentität auf Aminosäureebene kann die Klasse der mGluR in unterschiedliche Unterfamilien eingeteilt werden, die einzelne Rezeptorsubtypen umfassen (Nakanishi, Science 258, 597–603 (1992)). Jeder mGluR Subtyp wird durch ein einziges Gen kodiert. In Anbetracht der Homologie eines individuellen mGluR Subtyps zu einem anderen Subtyp einer unterschiedlichen Unterfamilie sind die Aminosäuresequenzen zu weniger als etwa 50% identisch. Innerhalb einer Subfamilie beträgt das Maß an Sequenzidentität im allgemeinen weniger als etwa 70%. So kann ein bestimmter Subtyp durch die Aminosäuresequenzhomologie zu einem anderen mGluR Subtyp charakterisiert werden, speziell einem Subtyp der gleichen Säugerspezies. Ferner kann ein bestimmter Subtyp durch seine Region- und Gewebeverteilung, sein zelluläres und subzelluläres Expressionsmuster oder sein bestimmtes physiologisches Profil charakterisiert werden, beispielsweise durch die elektrophysiologischen und pharmakologischen Eigenschaften.

[0003] Die Aminosäure L-Glutamat ist der hauptsächlichliche erregende Neurotransmitter, wobei glutamaterge Systeme eine wichtige Rolle in mehreren neurologischen Prozessen spielen dürften, wie unter anderem schnelle erregende, synaptische Übertragung, Regulation der Neurotransmitterfreisetzungen, Langzeitpotenzierung, Lernen und Gedächtnis, synaptische Entwicklungsplastizität, hypoxisch-ischämische Schädigung und neuronaler Zelltod, epileptiforme Schädigungen, wie auch bei der Pathogenese von mehreren neurodegenerativen Störungen. Molekulare Klonierungsstudien haben 5 unterschiedliche Subtypen von mGluRs (mGluR1 bis mGluR5) identifiziert, die sieben putative membrandurchspannende Domänen aufweisen, denen eine große extrazelluläre Domäne vorausgeht (Masu et al., Nature, 349, (1991), 760–765, Houamed et al., Science 252 (1991) 1318–1321, Tanabe et al., Neuron 8 (1992) 169–179, Abe et al., J. Biol. Chem. 267 (1992), 13361 bis 13368). Nakajima et al., J. Biol. Chem. Band 268, Seiten 11868–11873 beschreiben den aus Ratten isolierten mGluR6 Rezeptor. Jedoch ist bis heute keine Information über die humanen, metabotropen Glutamatrezeptorsubtypen (hmGluR) verfügbar, beispielsweise über ihre Aminosäuresequenz oder ihre Gewebeverteilung. Dieses fehlende Wissen hemmt die Suche nach humanen, therapeutischen Mitteln, die zur spezifischen Beeinflussung jeder Störung fähig sind, die einem Defekt im glutamatergen System zuzuordnen ist. In Anbetracht der potentiellen physiologischen und pathologischen Bedeutung der metabotropen Glutamatrezeptoren besteht ein Bedarf für humane Rezeptorsubtypen und Zellen, die solche Subtypen in Mengen bilden, die zur Ermittlung der elektrophysiologischen und pharmakologischen Eigenschaften dieser Proteine ausreichen. Beispielsweise erfordern Arzneimittelscreeningtests gereinigte humane Rezeptorproteine in einer aktiven Form, die bisher nicht zuzuordnen waren.

[0004] Es ist ein Ziel der vorliegenden Erfindung, diesen Bedarf zu befriedigen, nämlich bestimmte hmGluR Subtypen, Nukleinsäuren, die hierfür kodieren, und Wirtszellen, die solche Subtypen bilden, bereitzustellen. Insbesondere beschreibt die vorliegende Erfindung den hmGluR Subtyp, der als hmGluR7 bezeichnet wird. Die Verwendung eines Systems, das einen rekombinanten hmGluR Subtyp der Erfindung beim Screening auf hmGluR reaktive Arzneimittel umfasst, bietet (unter anderem) die Möglichkeiten, eine größere Anzahl an Rezeptoren pro Zelle zu erreichen, was zu einer größeren Ausbeute an Reagenz und einem höheren Signal zu Rausch Verhältnis in Tests führt, wie auch zu einer erhöhten Rezeptorsubtypspezifität (was möglicherweise zu einer größeren biologischen Spezifität und Krankheitsspezifität führt).

[0005] Gemäß der Erfindung bezieht sich der Ausdruck "hmGluR Subtyp" auf ein gereinigtes Protein, das zur Klasse der G-Protein gekuppelten Rezeptoren gehört und das beim Binden eines glutamatergen Liganden ein extrazelluläres Signal über ein intrazelluläres Botenstoffsystem hervorruft. In einem solchen Fall ist die Erfindung dadurch gekennzeichnet, dass sie die Menge eines cyclischen Nukleotids (cAMP, cGMP) modifiziert. Alternativ dazu kann die Signaltransduktion über eine direkte Wechselwirkung des an einen erfindungsgemäßen Rezeptorsubtyp gekuppelten G-Proteins mit einem anderen Membranprotein erfolgen, wie einem Ionenkanal

oder einem weiteren Rezeptor. Ein erfindungsgemäßer Rezeptorsubtyp dürfte durch ein bestimmtes Gen kodiert sein, das keinen anderen metabotropen Glutamaterezeptorsubtyp kodiert. Ein bestimmter Subtyp der Erfindung kann durch das distinkte physiologische Profil gekennzeichnet sein, vorzugsweise durch die Signaltransduktion und die pharmakologischen Eigenschaften. Die pharmakologischen Eigenschaften sind beispielsweise die Selektivität für Reaktionen durch Agonisten und Antagonisten.

[0006] Wie hierin definiert ist ein glutamaterger Ligand beispielsweise L-Glutamat oder eine andere Verbindung, die mit einem hmGluR Subtyp in einer Glutamat-ähnlichen Weise wechselwirkt und insbesondere hieran bindet, wie ACPD (1S,3R-1-Aminocyclopentan-1,3-dicarbonensäure), ein ACPD-ähnlicher Ligand, beispielsweise QUIS (Quisqualat), AP4 und dergleichen. Andere Liganden, beispielsweise (R,S)- α -Methylcarboxyphenylglycin (MCPG) oder α -Methyl-L-AP4, können mit einem erfindungsgemäßen Rezeptor so wechselwirken, dass die Bindung des glutamatergen Liganden verhindert wird.

[0007] Wie hierin vorher oder später verwendet sollen sich die Ausdrücke "gereinigt" oder "isoliert" auf ein erfindungsgemäßes Molekül in einer angereicherten oder reinen Form beziehen, das aus einer natürlichen Quelle oder durch Gentechnik erhalten werden kann. Die gereinigten Proteine, DNAs und RNAs der Erfindung können auf eine Weise brauchbar sein, dass die Proteine, DNAs und RNAs, wie sie natürlich vorkommen oder auch nicht, zur Identifizierung von Verbindungen dienen, die die Expression der Aktivität eines hmGluR der Erfindung selektiv modulieren.

[0008] Gereinigter hmGluR der Erfindung meint hmGluR7, einen Vertreter der hmGluR4 Subfamilie, die identifiziert wurde und keine Komponente aus ihrer natürlichen Umgebung aufweist. Gereinigter hmGluR umfasst gereinigten hmGluR der Erfindung in rekombinanter Zellkultur. Die angereicherte Form eines Subtyps der Erfindung bezieht sich auf eine Präparation, die den Subtyp in einer Konzentration enthält, die höher als die natürliche ist, beispielsweise eine Zellmembranfraktion, die diesen Subtyp enthält. Falls dieser Subtyp in einer reinen Form vorliegt, ist diese im wesentlichen frei von anderen Makromolekülen, insbesondere von natürlich vorkommenden proteinartigen Kontaminationen. Erforderlichenfalls kann der Subtyp der Erfindung solubilisiert werden. Ein bevorzugter hmGluR Subtyp der Erfindung ist ein rekombinantes Protein. Vorzugsweise ist der Subtyp der Erfindung in einem aktiven Zustand, was meint, dass er sowohl Ligandenbindungs- und Signaltransduktionsaktivität aufweist. Die Rezeptoraktivität wird gemäß in der Technik bekannter Verfahren gemessen, beispielsweise mittels eines Bindungstests oder eines funktionellen Tests, beispielsweise eines unten beschriebenen Tests.

[0009] Ein Protein vom hmGluR7-Typ kann ein Polypeptid enthalten, das aus der Gruppe ausgewählt ist, die besteht aus den Polypeptiden, welche die jeweils in den SEQ ID Nr. 4, 8 und 10 gezeigten Sequenzen aufweisen. Ein solcher hmGluR7 Subtyp ist bevorzugt. Besonders bevorzugt sind die hmGluR7 Subtypen mit den jeweils in den SEQ ID Nr. 12 und 14 gezeigten Aminosäuresequenzen.

[0010] Die Erfindung soll feiner Varianten der erfindungsgemäßen Rezeptorsubtypen umfassen. Beispielsweise ist eine Variante eines hmGluR Subtyps der Erfindung ein funktionales oder immunologisches Äquivalent dieses Subtyps. Ein funktionelles Äquivalent ist ein Protein, insbesondere ein humanes Protein, das ein physiologisches Profil aufweist, das im wesentlichen zu dem Profil des bestimmten Subtyps identisch ist. Das physiologische Profil in vitro und in vivo umfasst die Rezeptor-Effektorfunktion, die elektrophysiologischen und pharmakologischen Eigenschaften, beispielsweise die selektive Wechselwirkung mit Agonisten oder Antagonisten. Beispielhafte funktionelle Äquivalente können Spleißvarianten sein, die durch mRNA kodiert werden, welche durch alternatives Spleißen eines Primärtranskripts erzeugt werden, Aminosäuremutanten und Glycosylierungsvarianten. Ein immunologisches Äquivalent eines bestimmten hmGluR Subtyps ist ein Protein oder Peptid, das zur Erzeugung von Antikörpern fähig ist, die für diesen Subtyp spezifisch sind. Portionen der extrazellulären Domäne des Rezeptors, beispielsweise Peptide, die zumindest aus 6 bis 8 Aminosäuren, insbesondere 20 Aminosäuren bestehen, werden als besonders brauchbare immunologische Äquivalente betrachtet.

[0011] Weitere Varianten, die hierin enthalten sind, sind membrangebundene und lösliche Fragmente und kovalente oder aggregative Konjugate mit anderen chemischen Resten, wobei diese Varianten eine oder mehrere Rezeptorfunktionen zeigen, wie die Ligandenbindung oder die Signaltransduktion. Beispielsgemäße Fragmente von hmGluR Subtypen der Erfindung sind die Polypeptide mit den Aminosäuresequenzen, die jeweils in den SEQ ID Nr. 4, 8 und 10 gezeigt sind. Die erfindungsgemäßen Fragmente erhält man von einer natürlichen Quelle, durch chemische Synthese oder durch rekombinante Techniken. Aufgrund ihrer Fähigkeit zur Konkurrenz mit dem endogenen Gegenstück eines hmGluR Subtyps der Erfindung um dessen endogene Liganden, werden Fragmente oder Derivate hiervon, die die Ligandenbindungsdomäne enthalten, als therapeu-

tische Mittel betrachtet.

[0012] Kovalente Derivate umfassen beispielsweise aliphatische Ester oder Amide einer Rezeptorcarboxylgruppe, O-Acylderivate von Hydroxygruppen-enthaltenden Resten und N-Acylderivate von Aminogruppen-enthaltenden Resten. Solche Derivate können durch Bindung von Funktionalitäten an reaktive Gruppen hergestellt werden, die sich in den Seitenketten und am N- und C-Terminus des Rezeptorproteins finden. Das erfindungsgemäße Protein kann auch mit einer detektierbaren Gruppe markiert werden, beispielsweise radioaktiv markiert werden, kovalent an Chelate mit seltenen Erden gebunden werden oder an einen Fluoreszenzrest konjugiert werden.

[0013] Weitere Derivate sind kovalente Konjugate eines erfindungsgemäßen Proteins mit einem weiteren Protein oder Peptid (Fusionsproteine). Beispiele sind Fusionsproteine, die unterschiedliche Teile von verschiedenen Glutamatrezeptoren enthalten. Solche Fusionsproteine können zur Veränderung der Kupplung an G-Proteine und/oder Verbesserung der Empfindlichkeit eines funktionellen Tests verwendet werden. Beispielsweise können in solchen Fusionsproteine oder chimären Rezeptoren die intrazellulären Domänen eines Subtyps der Erfindung durch die entsprechenden Domänen eines anderen mGluR Subtyps, insbesondere eines hmGluR Subtyps ersetzt werden, beispielsweise einem hmGluR Subtyp, der zu einer anderen Unterfamilie gehört. Besonders geeignet zur Konstruktion eines solchen chimären Rezeptors sind die intrazellulären Domänen eines Rezeptors, der den Phospholipase C/Ca²⁺ Signalweg aktiviert, beispielsweise mGluR1 (Masu et al., Nature 349, 760–765) oder mGluR5. Eine intrazelluläre Domäne, die für einen solchen Austausch geeignet ist, ist beispielsweise die zweite intrazelluläre Schleife, die auch als i2 bezeichnet wird (Pin et al., EMBO J. 13, 342–348 (1994)). Daher ist es möglich, die Wechselwirkung einer Testverbindung mit einer Ligandenbindungsdomäne eines erfindungsgemäßen Rezeptors mittels eines Tests für Calciumionen zu analysieren. Der chimäre, erfindungsgemäße Rezeptor kann durch rekombinante Techniken oder Mittel synthetisiert werden, die in der Technik zur Quervernetzung von Proteinen geeignet sind.

[0014] Aggregative Derivate sind beispielsweise Adsorptionskomplexe mit Zellmembranen.

[0015] In einer weiteren Ausführungsform betrifft die vorliegende Erfindung eine Zusammensetzung, die einen hmGluR Subtyp der Erfindung enthält.

[0016] Die erfindungsgemäßen Proteine sind beispielsweise als Immunogene in Arzneimittelscreeningtests als Reagenzien für Immuntests und in Reinigungsverfahren brauchbar, wie zur Affinitätsreinigung eines Bindungsliganden.

[0017] Ein erfindungsgemäßes Protein ist aus einer natürlichen Quelle, beispielsweise durch Isolierung aus Hirngewebe, durch chemische Synthese oder rekombinante Techniken erhältlich.

[0018] Die Erfindung liefert ferner ein Verfahren zur Herstellung eines hmGluR Subtyp der Erfindung, das dadurch gekennzeichnet ist, dass geeignete Wirtszellen, die einen erfindungsgemäßen Rezeptorsubtyp bilden, in vitro oder in vivo vermehrt werden. Vorzugsweise werden die Wirtszellen mit einem Hybridvektor transformiert (transfiziert), der eine Expressionskassette enthält, welche einen Promotor und eine DNA Sequenz umfasst, die für diesen Subtyp kodiert, wobei die DNA durch diesen Promotor kontrolliert wird. Anschließend kann der erfindungsgemäße hmGluR Subtyp gewonnen werden. Die Gewinnung umfasst beispielsweise die Isolierung des Subtyps der Erfindung aus den Wirtszellen oder die Isolierung der Wirtszellen, die den Subtyp enthalten, beispielsweise aus der Kulturbrühe. Besonders bevorzugt ist ein Verfahren zur Herstellung eines funktionell aktiven Rezeptors.

[0019] HmGluR Muteine können aus einer DNA hergestellt werden, die für ein erfindungsgemäßes hmGluR Protein kodiert, wobei die DNA einer in vitro Mutagenese unterzogen wurde, was zu einer Anfügung, einem Austausch und/oder einer Deletion einer oder mehrerer Aminosäuren geführt hat. Beispielsweise werden Substitutions-, Deletions- und Insertionsvarianten eines hmGluR Subtyps der Erfindung durch rekombinante Verfahren hergestellt und auf eine Immunkreuzreaktivität mit den nativen Formen des hmGluR gescreent.

[0020] Ein erfindungsgemäßes Protein kann auch in vitro gemäß herkömmlicher Methoden derivatisiert werden, die in der Technik bekannt sind.

[0021] Geeignete Wirtszellen umfassen eukaryontische Zellen, beispielsweise Tierzellen, Pflanzenzellen und Pilze und prokaryontische Zellen, wie Gram-positive und Gram-negative Bakterien, beispielsweise E. coli. Bevorzugte eukaryontische Wirtszellen sind aus Amphibien- oder Säugerursprung.

[0022] Wie hierin verwendet, meint *in vitro ex vivo* und umfasst so beispielsweise Zellkultur- und Gewebekulturbedingungen.

[0023] Die Erfindung deckt ferner eine Nukleinsäure (DNA, RNA) ab, die eine gereinigte, vorzugsweise rekombinante Nukleinsäure (DNA, RNA) umfasst, die für einen erfindungsgemäßen Subtyp kodiert oder ein Fragment einer solchen Nukleinsäure. Zusätzlich zur Brauchbarkeit bei der Herstellung der oben erwähnten rekombinanten hmGluR Proteine sind diese Nukleinsäuren als Sonden brauchbar, da sie es dem Fachmann ermöglichen, Nukleinsäuren zu identifizieren und/oder isolieren, die für ein hmGluR Protein der Erfindung kodieren. Die Nukleinsäure kann unmarkiert oder markiert sein mit einem detektierbaren Rest. Ferner ist die erfindungsgemäße Nukleinsäure beispielsweise in einem Verfahren zur Bestimmung des Vorkommens von hmGluR brauchbar, wobei das Verfahren die Hybridisierung der DNA (oder RNA), die für hmGluR kodiert (oder hierzu komplementär ist), mit der Testprobennukleinsäure und die Bestimmung der Gegenwart von hmGluR umfasst.

[0024] Gereinigte für hmGluR kodierende Nukleinsäure der Erfindung umfasst Nukleinsäure, die zumindest nicht die kontaminierende Nukleinsäure aufweist, mit der sie normalerweise in der natürlichen Quelle der hmGluR Nukleinsäure assoziiert ist. Gereinigte Nukleinsäuren kommen daher in einer anderen Form oder Umgebung als der vor, die man in der Natur findet. Jedoch umfasst gereinigte hmGluR Nukleinsäure hmGluR Nukleinsäure in üblichen hmGluR exprimierenden Zellen, worin die Nukleinsäure an einer chromosomalen Stelle vorkommt, die sich von der der natürlichen Zellen unterscheidet oder ansonsten von einer unterschiedlichen DNA Sequenz flankiert ist, als der, die man in der Natur findet.

[0025] Insbesondere liefert die Erfindung ein gereinigtes oder isoliertes DNA Molekül, das für einen hmGluR Subtyp der Erfindung kodiert, oder ein Fragment einer solchen DNA. Per Definition umfasst eine solche DNA die einzelsträngige, kodierende DNA, eine doppelsträngige DNA, die aus dieser kodierenden DNA und der komplementären DNA hierzu besteht, oder deren komplementäre (einzelssträngige) DNA. Bevorzugt ist eine DNA, die für die oben isoliert bevorzugten hmGluR Subtypen oder ein Fragment hiervon kodiert. Darüberhinaus betrifft die Erfindung eine DNA, die eine solche DNA umfasst.

[0026] Bevorzugt ist eine für einen hmGluR7 Subtyp kodierende DNA, insbesondere eine DNA, die einen der hmGluR7 Subtypen kodiert, die die jeweils in den SEQ ID Nr. 12 und 14 gezeigten Aminosäuresequenzen aufweisen, beispielsweise die DNAs mit den jeweils in den SEQ ID Nr. 11 und 13 gezeigten Sequenzen. Die Erfindung liefert ferner ein DNA Fragment, das für einen Teil eines hmGluR7 Subtyps kodiert, insbesondere den oben als bevorzugt identifizierten hmGluR7 Subtypen. Beispielhaft umfassen die hmGluR7 DNA Fragmente die für hmGluR7-kodierenden Teile der cDNAs cmR2, cmR3, cmR5 und cR7PCR1, wie dies in den Beispielen beschrieben ist oder ein DNA Fragment hiervon, das im wesentlichen dieselbe Aminosäuresequenz kodiert, die von dem den hmGluR7-kodierenden Teil des Plasmids cmR2 kodiert wird, das am 13. September 1993 unter der Hinterlegungsnummer DSM 8550 bei der DSM hinterlegt wurde. Diese DNAs kodieren Teile von putativen Spleißvarianten des hierin beschriebenen hmGluR7 Subtyps.

[0027] Die hierin bereitgestellten Nukleinsäuresequenzen können zur Identifizierung von DNAs verwendet werden, die weitere hmGluR Subtypen kodieren. Beispielsweise können die erfindungsgemäßen Nukleinsäuresequenzen zur Identifizierung von DNAs verwendet werden, die für weitere hmGluR Subtypen kodieren, welche zur Subfamilie gehören, die hmGluR4 umfasst. Ein Verfahren zur Identifizierung solcher DNA umfasst das Zusammenbringen von humaner DNA mit einer Nukleinsäuresonde, wie dies oben beschrieben ist, und die Identifizierung der DNA(s), die mit dieser Sonde hybridisieren.

[0028] Beispielhafte Nukleinsäuren der Erfindung können alternativ dazu als solche Nukleinsäuren charakterisiert werden, die einen hmGluR Subtyp der Erfindung kodieren und an eine DNA Sequenz hybridisieren, die in den SEQ ID Nr. 3, 7, 9, 11 oder 13 angegeben ist oder einen ausgewählten Teil (Fragment) dieser DNA Sequenz. Beispielsweise sind ausgewählte Fragmente, die zur Hybridisierung brauchbar sind, die Protein-kodierenden Teile dieser DNAs. Bevorzugt sind solche DNAs, die einen hmGluR der Erfindung kodieren und unter Bedingungen mit hoher Stringenz an die oben erwähnten DNAs hybridisieren.

[0029] Die Stringenz der Hybridisierung bezieht sich auf Bedingungen unter denen Polynukleinsäurehybride stabil sind. Solche Bedingungen sind dem Fachmann bekannt. Wie es dem Fachmann bekannt ist, spiegelt sich die Stabilität der Hybride in der Schmelztemperatur/ T_m) des Hybrids wider, das mit jeder Abnahme der Sequenzhomologie um 1% um etwa 1 bis 1,5°C abnimmt. Im allgemeinen ist die Stabilität eines Hybrids eine Funktion der Natriumionenkonzentration und der Temperatur. Typischerweise wird die Hybridisierungsreaktion unter Bedingungen höherer Stringenz ausgeführt, wonach Waschschrte mit variierender Stringenz folgen.

[0030] Wie hierin verwendet bezieht sich die hohe Stringenz auf Bedingungen, die die Hybridisierung von nur den Nukleinsäuresequenzen erlauben, die bei 1 M Na⁺ und 65–68°C stabile Hybride bilden. Bedingungen mit hoher Stringenz können beispielsweise durch die Hybridisierung in einer wässrigen Lösung bereitgestellt werden, die 6 × SSC, 5 × Denhardt's, 1% SDS (Natriumdodecylsulfat), 0,1 Na⁺ Pyrophosphat und 0,1 mg/ml denaturierte Lachsspermien DNA als unspezifischen Kompetitor enthält. Nach der Hybridisierung kann ein Waschen mit hoher Stringenz in mehreren Schritten ausgeführt werden, wobei ein letzter Waschschrift (etwa 30 Minuten) bei der Hybridisierungstemperatur in 0,2–0,1 × SSC, 0,1 SDS ausgeführt wird.

[0031] Moderate Stringenz bezieht sich auf Bedingungen, die einer Hybridisierung in der oben beschriebenen Lösung, aber bei 60–62°C äquivalent sind. In diesem Fall wird der letzte Waschschrift bei der Hybridisierungstemperatur in 1 × SSC, 0,1% SDS ausgeführt.

[0032] Geringe Stringenz bezieht sich auf Bedingungen, die einer Hybridisierung in der oben beschriebenen Lösung bei 60–62°C äquivalent sind. In diesem Fall wird der letzte Waschschrift bei der Hybridisierungstemperatur in 2 × SSC, 0,1% SDS ausgeführt.

[0033] Es ist gut verstanden, dass diese Bedingungen mittels einer Vielzahl an Puffer, beispielsweise auf Formamid basierende Puffer und Temperaturen angepasst und vervielfältigt werden können. Denhardt's Lösung und SSC sind dem Fachmann gut bekannt, wie dies auch bei anderen geeigneten Hybridisierungspuffern der Fall ist (siehe beispielsweise J. Sambrook, E. F. Fritsch und T. Maniatis (1989), *Molecular Cloning: A Laboratory Manual* (2. Ausgabe), Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, USA oder F. M. Ausubel et al., (1993) *Current Protocols in Molecular Biology*, Greene und Wiley, USA). Optimale Hybridisierungsbedingungen müssen empirisch bestimmt werden, da die Länge und der GC-Gehalt der Sonde auch eine Rolle spielen.

[0034] Gemäß der Beschreibung der vorliegenden Erfindung erhält man die erfindungsgemäßen Nukleinsäuren gemäß in der Technik bekannter Verfahren. Die vorliegende Erfindung betrifft ferner ein Verfahren zur Herstellung von solchen Aminosäuren.

[0035] Beispielsweise erhält man eine erfindungsgemäße DNA durch chemische Synthese, durch rekombinante DNA Technologie oder durch Polymerasekettenreaktion (PCR). Die Herstellung durch rekombinante DNA Technologie kann das Screening einer geeigneten cDNA oder genomischen Genbank umfassen. Ein geeignetes Verfahren zur Herstellung einer DNA der Erfindung umfasst die Synthese von mehreren Oligonukleotiden, ihre Amplifizierung durch PCR Methoden und ihr Spleißen unter Bildung der gewünschten DNA Sequenz. Geeignete Genbanken sind im Handel erhältlich, beispielsweise die Genbanken, die in den Beispielen verwendet werden, oder können aus neutralem oder neuronalen Gewebeproben hergestellt werden, beispielsweise Gewebe oder Zelllinien und dergleichen aus Hippocampus und Cerebellum.

[0036] Für einzelne hmGluR Subtypen (und Spleißvarianten) der Erfindung kann das Expressionsmuster in neuronalen oder neuronalen Geweben variieren. Daher ist es zur Isolierung der cDNA, die einen bestimmten Subtyp (oder eine Spleißvariante) kodiert, vorteilhaft, Genbanken zu screenen, die aus unterschiedlichem Gewebe oder Zellen präpariert wurden. Als Screeningsonde kann eine DNA oder RNA verwendet werden, die im wesentlichen die gesamte kodierende Region eines hmGluR Subtyps der Erfindung umfasst oder eine geeignete Oligonukleotidsonde, die auf dieser DNA basiert. Eine geeignete Oligonukleotidsonde (für die beim Screenen beteiligte Hybridisierung) ist eine einzelsträngige DNA oder RNA, die eine Nukleotidsequenz aufweist, die zumindest 14 aufeinanderfolgende Basen umfasst, die identisch (oder komplementär) zu 14 oder mehr aufeinanderfolgenden Basen sind, die in einer der SEQ ID Nr. 3, 7, 9, 11 und 13 gezeigt sind. Die Sonde kann mit einem geeigneten chemischen Rest für eine leichte Detektion markiert werden. Die Nukleinsäuresequenzen, die als Sonden ausgewählt werden, sollten eine ausreichende Länge aufweisen und sollten ausreichend eindeutig sein, so dass falsch positive Ergebnisse minimiert werden.

[0037] Bevorzugte Regionen, aus denen die Sonden konstruiert werden, umfassen 5' und/oder 3' kodierende Sequenzen, Sequenzen, die Ligandenbindungsstellen kodieren sollen und dergleichen. Beispielsweise können entweder die hierin beschriebenen Vollängen-cDNA-Klone oder Fragmente hiervon als Sonden verwendet werden. Vorzugsweise werden die Nukleinsäuresonden der Erfindung mit geeigneten Markierungen zur leichten Detektion bei einer Hybridisierung markiert. Beispielsweise ist eine geeignete Markierung eine radioaktive Markierung. Das bevorzugte Verfahren zur Markierung eines DNA Fragments ist der Einbau von ³²P markiertem α-dATP mit dem Klenowfragment der DNA Polymerase in einer zufälligen Primerreaktion, wie dies in der Technik bekannt ist. Oligonukleotide werden gewöhnlich mit ³²P markiertem γ-ATP und Polynukleotidkinase endmarkiert. Jedoch können andere Verfahren (beispielsweise nicht radioaktiv) auch zur Markierung des Frag-

ments oder Oligonukleotids verwendet werden, einschließlich beispielsweise Enzymmarkierung und Biotinylierung.

[0038] Nach dem Screenen der Genbank, beispielsweise mit einem Teil der DNA, die im wesentlichen die gesamte für hmGluR kodierende Sequenz enthält oder einem geeigneten Oligonukleotid, das auf einem Teil dieser DNA basiert, werden positive Klone durch die Detektion eines Hybridisierungssignals identifiziert, die identifizierten Klone werden durch Restriktionsenzymkartierung und/oder DNA Sequenzanalyse charakterisiert und dann untersucht, beispielsweise durch den Vergleich mit den hierin beschriebenen Sequenzen, um sicherzustellen, ob sie DNA enthalten, die für ein vollständiges hmGluR kodiert (das heißt, ob sie Translationsinitiations- und Translationsterminationscodons enthält). Falls die ausgewählten Klone unvollständig sind, können sie verwendet werden, um dieselbe oder eine unterschiedliche Genbank zu screenen, um überlappende Klone zu erhalten. Falls die Genbank genomisch ist, können die überlappenden Klone Exons und Introns enthalten. Falls die Genbank eine cDNA Genbank ist, dann enthalten die überlappenden Klone einen offenen Leserahmen. In beiden Fällen können vollständige Klone durch den Vergleich mit den hierin bereitgestellten DNA und abgeleiteten Aminosäuresequenzen identifiziert werden.

[0039] Darüberhinaus kann zur Detektion jeder Abnormalität eines endogenen hmGluR Subtyps der Erfindung ein genetisches Screening mittels der erfindungsgemäßen Nukleotidsequenzen als Hybridisierungssonden ausgeführt werden. Ebenfalls können auf der Grundlage der hierin bereitgestellten Nukleinsäuresequenzen therapeutische Mittel vom Antisensetyp entwickelt werden.

[0040] Es wird erkannt, dass die erfindungsgemäße Nukleinsäure leicht durch Nukleotidsubstitution, Nukleotiddeletion, Nukleotidinsertion oder Nukleotidinversion eines Nukleotidabschnitts und jeder Kombination hiervon modifiziert werden kann. Solche modifizierten Sequenzen können zur Bildung eines mutierten hmGluR Subtyps verwendet werden, der sich von den in der Natur gefundenen Rezeptorsubtypen unterscheidet. Die Mutagenese kann vorbestimmt (ortsspezifisch) oder zufällig sein. Eine Mutation, die keine stille Mutation ist, darf die Sequenzen nicht aus dem Leserahmen bringen und erzeugt vorzugsweise keine komplementären Regionen, die unter Bildung von sekundären mRNA Strukturen hybridisieren können, wie Schleifen oder Haarnadeln.

[0041] Die cDNA oder genomische DNA, die den nativen oder mutierten hmGluR der Erfindung kodiert, kann in Vektoren zur weiteren Vermehrung eingebracht werden. Ferner betrifft die Erfindung eine rekombinante DNA, die ein Hybridvektor ist, der zumindest eine der oben erwähnten DNAs umfasst.

[0042] Die erfindungsgemäßen Hybridvektoren umfassen einen Replikationsursprung oder eine autonom replizierende Sequenz, einen oder mehrere dominante Markersequenzen und wahlweise Expressionskontrollsequenzen, Signalsequenzen und zusätzliche Restriktionsstellen.

[0043] Vorzugsweise umfasst der erfindungsgemäße Hybridvektor eine oben beschriebene Nukleinsäureinsertion, die wahlweise an eine Expressionskontrollsequenz gebunden ist, insbesondere eine der hierin später beschriebenen.

[0044] Vektoren üben typischerweise zwei Funktionen zusammen mit kompatiblen Wirtszellen aus. Eine Funktion ist es, die Klonierung der Nukleinsäure zu erleichtern, die den hmGluR Subtyp der Erfindung kodiert, das heißt brauchbare Mengen der Nukleinsäure (Klonierungsvektoren) herzustellen. Die andere Funktion ist es, für die Replikation und Expression der Genkonstrukte in einem geeigneten Wirt zu sorgen, entweder durch Aufrechterhaltung als extrachromosomales Element oder durch Integration in das Wirtschromosom (Expressionsvektoren). Ein Klonierungsvektor umfasst die wie oben beschriebenen DNAs, einen Replikationsursprung oder eine autonom replizierende Sequenz, selektierbare Markersequenzen und wahlweise Signalsequenzen und zusätzliche Restriktionsstellen. Ein Expressionsvektor umfasst zusätzlich Expressionskontrollsequenzen, die zur Transkription und Translation der erfindungsgemäßen DNA essentiell sind. Daher bezieht sich ein Expressionsvektor auf ein rekombinantes DNA Konstrukt, wie ein Plasmid, einen Phagen, ein rekombinantes Virus oder einen anderen Vektor, der bei der Einführung in eine geeignete Wirtszelle zu einer Expression der klonierten DNA führt. Geeignete Expressionsvektoren sind in der Technik gut bekannt und umfassen die, die in eukaryontischen und/oder prokaryontischen Zellen replizierbar sind.

[0045] Die meisten Expressionsvektoren sind zur Replikation in zumindest einer Klasse an Organismen fähig, aber können zur Expression in einen anderen Organismus transfiziert werden. Beispielsweise wird ein Vektor in E. coli kloniert und dann wird derselbe Vektor in Hefe oder Säugerzellen transfiziert, auch wenn er nicht zur Replikation unabhängig vom Wirtszellchromosom fähig ist. Die DNA kann auch durch Insertion in das Wirts-

genom amplifiziert werden. Jedoch ist die Gewinnung von genomischer DNA, die für hmGluR kodiert, komplexer als die des exogen replizierten Vektors, da ein Restriktionsenzymverdau erforderlich ist, um die hmGluR DNA auszuschneiden. Die DNA kann durch PCR amplifiziert und direkt in die Wirtszellen ohne Replikationskomponente transfiziert werden.

[0046] Vorteilhafterweise enthält der Expressions- und Klonierungsvektor ein Selektionsgen, das auch als Selektionsmarker bezeichnet wird. Dieses Gen kodiert für ein Protein, das für das Überleben oder das Wachstum der transformierten Wirtszellen erforderlich ist, die in einem selektiven Kulturmedium angezogen werden. Wirtszellen, die nicht mit dem Vektor transformiert sind, der das Selektionsgen enthält, überleben im Kulturmedium nicht. Typische Selektionsgene kodieren für Proteine, die eine Resistenz gegenüber Antibiotika und anderen Toxinen verleihen, beispielsweise Ampicillin, Neomycin, Methotrexat oder Tetracyclin, auxotrophe Defizienzen komplementieren oder kritische Nährstoffe liefern, die aus komplexen Medien nicht verfügbar sind.

[0047] Da die Amplifizierung der Vektoren bequem in *E. coli* ausgeführt wird, werden vorteilhafterweise ein genetischer *E. coli* Marker und ein *E. coli* Replikationsursprung einbezogen. Diese können von *E. coli* Plasmiden erhalten werden, wie pBR322, Blueskript Vektor oder einem pUC Plasmid.

[0048] Geeignete Selektionsmarker für Säugerzellen sind die, die die Identifizierung von Zellen ermöglichen, die zur Aufnahme von hmGluR Nukleinsäure kompetent sind, wie die Dihydrofolatreduktase (DHFR, Methotrexatresistenz), Thymidinkinase oder Gene, die eine Resistenz gegenüber G418 oder Hygromycin verleihen. Die Säugerzelltransfektanden werden unter Selektionsdruck gestellt, wobei nur die Transfektanden überleben, die einzigartig an ein Überleben angepasst sind, die den Marker aufgenommen haben und exprimieren.

[0049] Die Expressions- und Klonierungsvektoren enthalten gewöhnlich einen Promotor, der vom Wirtsgenom erkannt wird und operativ an die hmGluR Nukleinsäure gebunden ist. Ein solcher Promotor kann induzierbar oder konstitutiv sein. Die Promotoren sind operativ an DNA gebunden, die für hmGluR kodiert, indem man den Promotor aus der Quellen-DNA durch Restriktionsverdau entfernt und die isolierte Promotorsequenz in den Vektor einbaut. Sowohl die native hmGluR Promotorsequenz als auch viele heterologe Promotoren können zur direkten Amplifizierung und/oder Expression der hmGluR DNA verwendet werden. Jedoch sind heterologe Promotoren bevorzugt, da sie im allgemeinen eine stärkere Transkription und höhere Ausbeuten des exprimierten hmGluR im Vergleich zum nativen hmGluR Promotor erlauben.

[0050] Promotoren, die zur Verwendung mit prokaryontischen Wirten geeignet sind, umfassen beispielsweise die β -Lactamase- und Lactosepromotorsysteme, alkalische Phosphatase, ein Tryptophanpromotorsystem (*trp*) und Hybridpromotoren, wie den *tac*-Promotor. Die Nukleotidsequenzen wurden veröffentlicht und ermöglichen es daher dem Fachmann, sie operativ an DNA zu binden, die für hmGluR kodiert, indem sie Linker oder Adaptoren verwenden, um die erforderlichen Restriktionsschnittstellen bereitzustellen. Promotoren zur Verwendung in bakteriellen Systemen enthalten im allgemeinen auch eine Shine-Dalgarno-Sequenz, die operativ an die für hmGluR kodierende DNA gebunden ist.

[0051] Die hmGluR Gentranskription von Vektoren in Säugerwirtszellen kann durch Promotoren kontrolliert werden, die mit den Wirtszellsystemen kompatibel sind, beispielsweise Promotoren, die von den Genomen von Viren stammen. Geeignete Plasmide zur Expression eines hmGluR Subtyps der Erfindung in eukaryontischen Wirtszellen, insbesondere Säugerzellen, sind beispielsweise Cytomegalievirus(CMV)-Promotoren enthaltende Vektoren, RSV Promotor enthaltende Vektoren, SV40 Promotor enthaltende Vektoren und MMTV LTR Promotor enthaltende Vektoren. In Abhängigkeit der Art der Regulation können die Promotoren konstitutiv sein oder durch experimentelle Bedingungen regulierbar sein.

[0052] Die Transkription einer für einen erfindungsgemäßen hmGluR Subtyp kodierenden DNA durch höhere Eukaryonten kann durch die Insertion einer Enhancersequenz in den Vektor erhöht werden.

[0053] Die verschiedenen DNA Segmente der Vektor DNA sind operativ verbunden, das heißt sie folgen aufeinander und sind in eine funktionelle Beziehung zueinander gesetzt.

[0054] Die Konstruktion der erfindungsgemäßen Vektoren verwendet herkömmliche Ligationstechniken. Isolierte Plasmide oder DNA Fragmente werden gespalten, zurechtgeschnitten und in der Form religiert, die erwünscht ist, um die erforderlichen Plasmide zu erzeugen. Erforderlichenfalls wird eine Analyse auf eine in der Technik bekannte Weise ausgeführt, um die korrekten Sequenzen in den konstruierten Plasmiden zu bestätigen. Geeignete Verfahren zur Konstruktion von Expressionsvektoren, Herstellung von *in vitro* Transkripten, Einführung von DNA in Wirtszellen und die Ausführung von Analysen zur Untersuchung der hmGluR Expres-

sion und Funktion sind dem Fachmann bekannt. Das Vorkommen des Gens, die Amplifizierung und/oder Expression kann in einer Probe direkt gemessen werden, beispielsweise durch einen herkömmlichen Southern Blot, Northern Blot zur Quantifizierung der Transkription der mRNA, Dot Blot (DNA oder RNA Analyse), in situ Hybridisierung, wobei eine geeignet markierte Sonde verwendet wird, die auf einer hierin bereitgestellten Sequenz basiert, durch Bindungstests, Immundetektion und Funktionstests. Geeignete Verfahren umfassen die, welche im Detail in den Beispielen beschrieben sind. Der Fachmann erkennt, wie diese Verfahren modifiziert werden, falls dies gewünscht wird.

[0055] Die Erfindung liefert ferner Wirtszellen, die zur Bildung eines hmGluR Subtyps der Erfindung fähig sind und auch heterologe (fremde) DNA, die für diesen Subtyp kodiert.

[0056] Die Nukleinsäuren der Erfindung können in einer großen Vielzahl an Wirtszellen exprimiert werden, beispielsweise den oben erwähnten, die mit einem geeigneten Expressionsvektor transformiert oder transfiziert sind. Der Rezeptor der Erfindung (oder ein Teil hiervon) kann auch als Fusionsprotein exprimiert werden. Rekombinante Zellen können dann unter Bedingungen kultiviert werden, wobei die durch die erfindungsgemäße DNA kodierten Proteine exprimiert werden.

[0057] Geeignete Prokaryonten umfassen Eubakterien, wie Gram-negative oder Gram-positive Organismen, wie *E. coli*, beispielsweise *E. coli* K 12 Stämme, DH5 α und HB 101 oder Bazillen. Ferner umfassen Wirtszellen, die für hmGluR kodierende Vektoren geeignet sind, eukaryontische Mikroben, wie filamentöse Pilze oder Hefe, beispielsweise *Saccharomyces cerevisiae*. Höhere eukaryontische Zellen umfassen Insekten-, Amphibien- und Vertebratenzellen, insbesondere Säugerzellen, beispielsweise Neuroblastomzelllinien oder von Fibroblasten abgeleitete Zelllinien. Beispiele für bevorzugte Zelllinien sind beispielsweise HEK 293 Zellen, CHO Zellen, CV1 Zellen, BHK Zellen, L Zellen, LLCPK-1 Zellen, GH3 Zellen, L Zellen und COS Zellen. In den letzten Jahren wurde die Vermehrung von Vertebratenzellen in Kultur (Gewebekultur) ein Routineverfahren. Die in dieser Anmeldung angeführten Wirtszellen umfassen Zellen in *in vitro* Kultur wie auch Zellen, die innerhalb eines Wirtstieres vorkommen.

[0058] Geeignete Wirtszellen zur Expression eines aktiven, rekombinanten hmGluR der Erfindung exprimieren vorteilhafterweise endogene oder rekombinante G-Proteine. Bevorzugt sind Zellen, die wenig oder gar keinen endogenen metabotropen Glutamaterezeptor bilden. Die DNA kann stabil in die Zellen eingebaut werden oder kann transient gemäß herkömmlicher Verfahren exprimiert werden.

[0059] Stabil transfizierte Säugerzellen können durch die Transfektion von Zellen mit einem Expressionsvektor, der ein Selektionsmarkergen aufweist, und der Anzucht der transfizierten Zellen unter Bedingungen hergestellt werden, die für Zellen selektiv sind, die das Markergen exprimieren. Um transiente Transfektanden herzustellen, werden Säugerzellen mit einem Reportergen transfiziert, um die Transfektionseffizienz zu verfolgen.

[0060] Um solche stabilen oder transient transfizierten Zellen herzustellen, sollten die Zellen mit einer ausreichenden Menge an hm-GluR-kodierender Nukleinsäure unter Bildung von hmGluR der Erfindung transfiziert werden. Die genauen Mengen der für erfindungsgemäßen hmGluR kodierenden DNA können empirisch bestimmt und für eine bestimmte Zelle und einen bestimmten Test optimiert werden.

[0061] Eine erfindungsgemäße DNA kann auch in nicht humanen, transgenen Tieren exprimiert werden, insbesondere in transgenen Warmblütern. Verfahren zur Herstellung dieser transgenen Tiere, einschließlich Mäuse, Ratten, Kaninchen, Schafe und Schweine sind in der Technik bekannt und sind beispielsweise von Hammer et al., (*Nature* 315, 680–683, 1985) beschrieben. Eine Expressionseinheit, die eine für einen hmGluR kodierende DNA der Erfindung zusammen mit geeignet positionierten Expressionskontrollsequenzen umfasst, wird in die Pronuklei von befruchteten Eiern eingeführt. Die Einführung kann beispielsweise durch Mikroinjektion erreicht werden. Die Integration der injizierten DNA wird beispielsweise durch Blotanalyse der DNA aus geeigneten Gewebeproben detektiert. Es ist bevorzugt, dass die eingeführte DNA in die Keimlinie des Tieres eingebaut wird, so dass sie an die Nachkommen des Tieres weitergegeben wird. Vorzugsweise wird ein transgenes Tier durch gezielte Mutation zur Zerstörung einer hmGluR Sequenz entwickelt. Ein solches Tier ist beispielsweise für die Untersuchung der Rolle eines metabotropen Rezeptors im Metabolismus brauchbar.

[0062] Ferner kann ein Knock-out Tier durch die Einführung einer Mutation in die hmGluR Sequenz entwickelt werden, wobei ein Tier erzeugt wird, das kein funktionelles hmGluR Gen mehr exprimiert. Ein solches Knock-out Tier ist beispielsweise zur Untersuchung der Rolle des metabotropen Rezeptors im Metabolismus brauchbar. Verfahren zur Herstellung von Knock-out Mäusen sind in der Technik bekannt.

[0063] Es werden Wirtszellen mit den oben gewonnenen Expressions- oder Klonierungsvektoren der Erfindung transfiziert oder transformiert und in herkömmlichen Nährmedien kultiviert, die geeigneterweise zur Einführung von Promotoren, Auswahl von Transformanden oder Amplifizierung der Gene modifiziert wurden, die die gewünschten Sequenzen kodieren. Es kann heterologe DNA in die Wirtszellen durch jedes in der Technik bekannte Verfahren eingeführt werden, wie Transfektion mit einem Vektor, der eine heterologe DNA enthält, durch die Calciumphosphatcopräzipitationstechnik, durch Elektroporation oder durch Lipofektinvermittlung. Es sind mehrere Verfahren zur Transfektion dem Fachmann bekannt. Eine erfolgreiche Transfektion wird im allgemeinen erkannt, wenn Anzeichen zur Funktionsfähigkeit des Vektors in der Zelle auftreten. Die Transformation wird mittels Standardtechniken erreicht, die für die im einzelnen verwendeten Wirtszellen geeignet ist.

[0064] Der Einbau der klonierten DNA in einen geeigneten Expressionsvektor, die Transfektion von eukaryontischen Zellen mit einem Plasmidvektor oder eine Kombination von Plasmidvektoren, wobei jeder ein oder mehrere distinkte Gene enthält, oder mit linearer DNA und die Selektion der transfizierten Zellen sind in der Technik gut bekannt (siehe beispielsweise Sambrook et al., (1989) *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, 2. Ausgabe, Cold Spring Harbor Laboratory Press).

[0065] Transfizierte oder transformierte Zellen werden mittels Medien und Kulturbedingungen kultiviert, die in der Technik bekannt sind, vorzugsweise unter Bedingungen, bei denen durch die DNA kodierte hmGluR exprimiert wird. Die Zusammensetzung von geeigneten Medien ist dem Fachmann bekannt, so dass sie leicht hergestellt werden können. Geeignete Kulturmedien sind auch im Handel erhältlich.

[0066] Während die hierin bereitgestellte DNA in jeder geeigneten Wirtszelle exprimiert werden kann, beispielsweise in den oben erwähnten, sind eukaryontische Expressionssysteme zur Expression der funktionellen hmGluR kodierenden DNA bevorzugt, insbesondere Säugerexpressionssysteme, einschließlich im Handel erhältlicher Systeme oder Systeme, die dem Fachmann bekannt sind.

[0067] Humane mGluR DNA der Erfindung wird in einen Vektor ligiert und in geeignete Wirtszellen unter Bildung von transformierten Zelllinien eingeführt, die einen bestimmten hmGluR Subtyp der Erfindung oder spezifische Subtypkombinationen exprimieren. Die entstehende Zelllinie kann dann in Mengen gebildet werden, die für eine reproduzierbare qualitative und quantitative Analyse der Effekte eines Rezeptoragonisten, Rezeptorantagonisten oder allosterischen Modulators ausreichen. Zusätzlich kann mRNA durch eine in vitro Transkription von DNA gebildet werden, die einen Subtyp der Erfindung kodiert. Diese mRNA kann in *Xenopus* Oocyten injiziert werden, worin die mRNA die Synthese des aktiven Rezeptorsubtyps steuert. Alternativ dazu kann die für den Subtyp kodierende DNA direkt in Oocyten injiziert werden. Die transfizierten Säugerzellen oder die injizierten Oocyten können dann in einem Arzneimittelscreeningtest verwendet werden, der hierin später bereitgestellt wird. Solche Arzneimittel sind bei Erkrankungen brauchbar, die mit der Pathogenese eines hmGluR Subtyps der Erfindung assoziiert sind. Solche Erkrankungen umfassen Erkrankungen, die aus einer übermäßigen Wirkung von Glutamat resultieren, die durch vorwiegend von hmGluRs vermittelt wird, wie Schlaganfall, Epilepsie und chronische, neurodegenerative Erkrankungen. Besonders brauchbar zur Untersuchung der spezifischen Wechselwirkung der Verbindungen mit spezifischen hmGluR Subtypen sind stabil transfizierte Zelllinien, die einen hmGluR der Erfindung exprimieren.

[0068] Daher sind Wirtszellen, die einen hmGluR der Erfindung exprimieren, zum Arzneimittelscreening brauchbar und es ist ein weiteres Ziel der vorliegenden Erfindung, ein Verfahren zur Identifizierung einer Verbindung oder eines Signals bereitzustellen, das die Aktivität von hmGluR moduliert, wobei das Verfahren die Exposition von Zellen umfasst, die heterologe DNA enthalten, welche den erfindungsgemäßen hmGluR kodiert, wobei die Zellen funktionelles hmGluR bilden, gegenüber zumindest einer Verbindung oder eines Signals, deren Fähigkeit zur Modulation der Aktivität des hmGluR bestimmt werden soll, und anschließend Verfolgen dieser Zellen bezüglich Veränderungen, die durch diese Modulation verursacht werden. Ein solcher Test ermöglicht die Identifizierung von Agonisten, Antagonisten und allosterischen Modulatoren eines hmGluR der Erfindung.

[0069] In einem weiteren Aspekt betrifft die Erfindung einen Test zur Identifizierung von Verbindungen, die die Aktivität eines hmGluR Subtyps der Erfindung modulieren, wobei der Test umfasst

- Zusammenbringen der Zellen, die einen aktiven hmGluR Subtyp der Erfindung exprimieren und heterologe DNA enthalten, die diesen hmGluR Subtyp kodiert, mit zumindest einer Verbindung, deren Fähigkeit zur Modulation der Aktivität dieses Rezeptorsubtyps bestimmt werden soll und
- Analyse der Zellen auf einen Unterschied in der Menge an Botenstoff oder Rezeptoraktivität.

[0070] Insbesondere umfasst die Erfindung einen Test zur Identifizierung von Verbindungen, die die Aktivität

eines hmGluR Subtyps der Erfindung modulieren, wobei der Test umfasst:

- Zusammenbringen der Zellen, die einen aktiven hmGluR der Erfindung kodieren und heterologe DNA enthalten, die diesen hmGluR Subtyp kodiert, mit mindestens einer Verbindung, deren Fähigkeit zur Modulation der Aktivität dieses Rezeptors bestimmt werden soll, und
- Beobachtung dieser Zellen bezüglich einer resultierenden Veränderung der Botenstoffaktivität.

[0071] Das erhaltene Ergebnis im Test wird mit einem Test verglichen, der als Negativkontrolle geeignet ist.

[0072] Testverfahren erfordern allgemein einen Vergleich mit verschiedenen Kontrollen. Eine Veränderung in der Rezeptoraktivität oder in der Menge des Botenstoffs sollte durch eine Testverbindung induziert werden, falls ein solcher Effekt nicht in Abwesenheit der Testverbindung auftritt. Ein Effekt einer Testverbindung auf einen Rezeptorsubtyp der Erfindung dürfte durch den Rezeptor vermittelt werden, falls der Effekt nicht in Zellen beobachtet wird, die den Rezeptor nicht exprimieren.

[0073] Wie hierin verwendet bezieht sich eine Verbindung oder ein Signal, das die Aktivität eines hmGluR der Erfindung moduliert, auf eine Verbindung oder ein Signal, das den durch hmGluR vermittelten Reaktionsweg in einer Zelle verändert (im Vergleich zur Abwesenheit dieses hmGluR). Ein Reaktionsweg wird durch einen extrazellulären Stimulus aktiviert, was zu einer Veränderung der Botenstoffkonzentration oder der Enzymaktivität führt, oder zu einer Veränderung der Aktivität eines membrangebundenen Proteins führt, wie einem Rezeptor oder einem Ionenkanal. Es kann eine Vielzahl an Reaktionswegen verwendet werden, einschließlich beispielsweise der Adenylatcyclasereaktionsweg, der Phospholipase C/intrazellulärer Calciumionenreaktionsweg oder die Kupplung an einen Ionenkanal. Tests zur Bestimmung der Adenylatcyclaseaktivität sind in der Technik gut bekannt und umfassen beispielsweise den von Nakajima et al., J. Biol. Chem. 267, 2437–2442 (1992)) beschriebenen Test.

[0074] Daher können die Zellen, die den erfindungsgemäßen hmGluR exprimieren, zur Identifizierung der Verbindungen verwendet werden, insbesondere niedermolekulare Moleküle, die zur Wirkung als Glutamagonisten oder Glutamatantagonisten fähig sind. Bevorzugt sind niedermolekulare Moleküle mit weniger als 1000 Dalton. Innerhalb des Zusammenhangs der vorliegenden Erfindung soll ein Agonist ein Molekül sein, das zur Wechselwirkung mit einem Rezeptor fähig ist, wobei die Wirkung von L-Glutamat nachgeahmt wird. Insbesondere wird ein Glutamagonist durch die Fähigkeit zur Wechselwirkung mit einem hmGluR der Erfindung und einer Erhöhung oder Verringerung der Stimulierung eines Reaktionswegs in einer Zelle charakterisiert. Beispielsweise erhöht oder verringert ein Agonist einen messbaren Parameter innerhalb der Wirtszelle, wie die Konzentration eines Botenstoffs, wie der natürliche Ligand diesen Parameter erhöht oder verringert. Beispielsweise ist ein solcher Agonist in einem geeigneten Testsystem, worin hmGluR der Erfindung negativ an die Adenylatcyclase gekuppelt ist, beispielsweise CHO oder BHK Zellen, die einen erfindungsgemäßen hmGluR exprimieren, zur Modulation der Funktion dieses hmGluR auf eine Weise fähig, dass die intrazelluläre Konzentration an cAMP verringert wird.

[0075] Im Gegensatz dazu sind in Situationen, in denen es gewünscht ist, die Aktivität des hmGluR abzuschwächen, antagonisierende Moleküle brauchbar. Innerhalb des Zusammenhangs der vorliegenden Erfindung bezieht sich ein Antagonist auf ein Molekül, das zur Wechselwirkung mit einem Rezeptor oder mit L-Glutamat fähig ist, das aber keine Reaktion in einer Zelle stimuliert. Insbesondere werden Glutamatantagonisten im allgemeinen durch ihre Fähigkeit zur Wechselwirkung mit einem hmGluR der Erfindung und einer Verringerung der Fähigkeit der natürlichen Liganden zur Stimulierung einer Reaktion in einer Zelle identifiziert, beispielsweise durch Wechselwirkung mit der Bindung von L-Glutamat an einen hmGluR der Erfindung oder durch die Hemmung von anderen zellulären Funktionen, die zur Aktivität eines hmGluR erforderlich sind. Beispielsweise ist in einem geeigneten Test, beispielsweise einem Test der CHO oder BHK Zellen umfasst, die einen erfindungsgemäßen hmGluR exprimieren, ein Glutamatantagonist zur Modulation der Aktivität eines erfindungsgemäßen hmGluR auf die Weise fähig, dass die Fähigkeit des natürlichen Liganden zur Verringerung der intrazellulären cAMP Konzentration geschwächt wird. Eine weitere Alternative zur Erzielung eines Antagonisteneffekts ist es, eine Überexpression einer hmGluR Antisense-RNA zu erzielen. Bevorzugt ist ein Agonist oder Antagonist, der selektiv am Rezeptor der hmGluR4 Unterfamilie hmGluR7 wirkt. Besonders brauchbar ist ein Agonist oder Antagonist, der spezifisch die Aktivität eines bestimmten hmGluR Subtyps ohne Beeinflussung der Aktivität eines anderen Subtyps moduliert.

[0076] Ein weiterer allosterischer Modulator eines erfindungsgemäßen hmGluR wechselwirkt mit dem Rezeptorprotein an einer anderen Stelle als L-Glutamat und wirkt so als Agonist oder Antagonist. Daher sind die hierin beschriebenen Screeningtests auch zur Detektion eines allosterischen Modulators eines erfindungsgemäßen Rezeptors brauchbar. Beispielsweise kann ein als allosterischer Modulator wirkender Agonist die spezifi-

sche Wechselwirkung zwischen einem hmGluR der Erfindung und L-Glutamat fördern. Falls ein allosterischer Modulator als Antagonist wirkt kann dieser beispielsweise mit einem Rezeptorprotein auf eine Weise Wechselwirken, dass die Bindung des Agonisten funktionell weniger wirksam ist.

[0077] Ein in vitro Test für einen Glutamatagonisten oder Glutamatantagonisten kann erfordern, dass ein erfindungsgemäßer hmGluR in ausreichenden Mengen in einer funktionellen Form mittels rekombinanter DNA Verfahren hergestellt wird. Es wird dann ein Test zur Messung einer funktionellen Eigenschaft des hmGluR Proteins entworfen, beispielsweise der Wechselwirkung mit einem glutamatergen Liganden. Die Bildung eines erfindungsgemäßen hmGluR wird als ausreichende Menge betrachtet, falls die Aktivität dieses Rezeptors zu einer messbaren Reaktion führt.

[0078] Beispielsweise werden Säugerzellen, wie HEK293 Zellen, L Zellen, CHO-K1 Zellen, LLCPK-1 Zellen oder GH3 Zellen (erhältlich von der American Tissue Type Culture Collection) angepasst, um in einem Glutamat-reduzierten, vorzugsweise Glutamat-freien Medium zu wachsen. Ein hmGluR Expressionsplasmid, beispielsweise ein in den Beispielen beschriebenes Plasmid, wird transient in die Zellen transfiziert, beispielsweise durch Calciumphosphatfällung (F. M. Ausubel et al., (1993) *Current Protocols in Molecular Biology*, Greene and Wiley, USA). Die Zelllinien, die stabil einen erfindungsgemäßen hmGluR exprimieren, können beispielsweise durch Lipofectin-vermittelte Transfektion mit hmGluR Expressionsplasmiden und einem Plasmid, das ein Selektionsmarkergen enthält, erzeugt werden, beispielsweise pSV2-Neo (Southern und Berg, *J. Mol. Appl. Genet.* 1, 327–341 (1982)), ein Plasmidvektor, der das G 418 Resistenzgen kodiert. Die die Selektion überlebenden Zellen werden isoliert und im Selektionsmedium angezogen. Resistente klonale Zelllinien werden beispielsweise auf Immunreaktivität mit Subtyp-spezifischen hmGluR Antikörpern oder durch Tests auf funktionelle hmGluR Reaktionen nach einer Agonistzugabe analysiert. Zellen, die den gewünschten hmGluR Subtyp bilden, werden in einem Verfahren zur Detektion von Verbindungen verwendet, die an den hmGluR der Erfindung binden oder in einem Verfahren zur Identifizierung eines Glutamatagonisten oder Glutamatantagonisten.

[0079] In einer weiteren Ausführungsform liefert die Erfindung ein Verfahren zur Identifizierung von Verbindungen, die an einen hmGluR Subtyp binden, wobei das Verfahren die Verwendung eines erfindungsgemäßen hmGluR Subtyps in einem kompetitiven Bindungstest umfasst. Das einem kompetitiven Bindungstest zugrundeliegende Prinzip ist in der Technik allgemein bekannt. Kurz gesagt werden erfindungsgemäße Bindungstests ausgeführt, indem die auf die hmGluR Bindungsfähigkeit zu testende Verbindung in Konkurrenz mit einem bekannten, geeignet markierten, glutamatergen Liganden um die Bindungsstelle am hmGluR Zielmolekül getestet wird. Ein geeignet markierter Ligand ist beispielsweise ein radioaktiv markierter Ligand, wie [³H]-Glutamat oder ein Ligand, der durch die optischen Eigenschaften detektiert werden kann, wie Absorption oder Fluoreszenz. Nach der Entfernung des ungebundenen Liganden und der Testverbindung wird die Menge an markiertem Liganden gemessen, die an hmGluR gebunden ist. Falls die Menge des markierten Liganden in Gegenwart der Testverbindung verringert wird, dürfte die Verbindung an das Zielmolekül binden. Ein kompetitiver Bindungstest kann beispielsweise mit transformierten oder transfizierten Wirtszellen ausgeführt werden, die einen erfindungsgemäßen hmGluR exprimieren oder mit einer Membranzellfraktion ausgeführt werden, die einen hmGluR der Erfindung umfasst.

[0080] Die an den Ziel-hmGluR gebundene Verbindung kann die funktionellen Eigenschaften von hmGluR modulieren und hierbei als Glutamatagonist oder Glutamatantagonist eines funktionellen Tests identifiziert werden.

[0081] Funktionelle Tests werden zur Detektion einer Veränderung in der funktionellen Aktivität eines erfindungsgemäßen hmGluR verwendet, das heißt zur Detektion einer funktionellen Reaktion, beispielsweise als Ergebnis der Wechselwirkung der zu testenden Verbindung mit dem hmGluR. Eine funktionelle Reaktion ist beispielsweise eine Veränderung (ein Unterschied) in der Konzentration eines relevanten Botenstoffs oder eine Veränderung in der Aktivität eines anderen membrangebundenen Proteins, das durch den erfindungsgemäßen Rezeptor beeinflusst wird, in Zellen, die einen funktionellen hmGluR der Erfindung exprimieren (im Vergleich zu einer Negativkontrolle). Der Fachmann kann leicht einen Test identifizieren, der zur Detektion einer Veränderung in der Menge eines intrazellulären Botenstoffs geeignet ist, der die Expression eines aktiven hmGluR anzeigt (funktioneller Test). Beispiele umfassen cAMP Tests (siehe beispielsweise Nakajima et al., *J. Biol. Chem.* 267, 2437–2442 (1992)), cGMP Tests (siehe beispielsweise Steiner et al., *J. Biol. Chem.* 247, 1106–1113 (1997)), Phosphatidylinositol (PI) Umsatztests (Nakajima et al., *J. Biol. Chem.* 267, 2437–2442 (1992)), Calciumionenflusstests (Ito et al., *J. Neurochem.* 56, 531–540 (1991)), Arachidonsäurefreisetzungstests (siehe beispielsweise Felder et al., *J. Biol. Chem.* 264, 20356–20362 (1989)) und dergleichen.

[0082] Genauer gesagt umfasst ein erfindungsgemäßes Verfahren zur Detektion eines Glutamatagonisten

die Schritte aus (a) Exposition einer Verbindung gegenüber einem erfindungsgemäßen hmGluR Subtyp, der an einen Reaktionsweg gekuppelt ist unter Bedingungen und für eine Zeit, die eine Wechselwirkung der Verbindung mit dem Rezeptor und eine assoziierte Reaktion über den Signalweg erlaubt und (b) Detektion einer Erhöhung oder Verringerung der Stimulierung des Reaktionswegs, der aus der Wechselwirkung der Verbindung mit dem hmGluR Subtyp resultiert relativ zur Abwesenheit der getesteten Verbindung und hieraus Bestimmung der Anwesenheit eines Glutamatagonisten.

[0083] Ein Verfahren zur Identifizierung eines Glutamatantagonisten umfasst die Schritte aus (a) Exposition einer Verbindung in Gegenwart eines bekannten Glutamatagonisten gegenüber einem hmGluR Subtyp der Erfindung, der an einen Reaktionsweg gekuppelt ist, unter Bedingungen und für eine Zeit, die eine Wechselwirkung des Agonisten mit dem Rezeptor und eine assoziierte Reaktion über den Reaktionsweg erlaubt und (b) Detektion einer Hemmung der Stimulierung des Reaktionswegs durch den Agonisten, die aus einer Wechselwirkung der Testverbindung mit dem hmGluR Subtyp resultiert, relativ zur Stimulierung des Reaktionswegs, die durch den Glutamatagonisten alleine ausgelöst wird und hieraus Bestimmung der Anwesenheit eines Glutamatantagonisten. Die Hemmung kann beispielsweise detektiert werden, falls die Verbindung mit dem Glutamatagonisten für den erfindungsgemäßen hmGluR konkurriert. Die Verbindungen, die mittels solcher Verfahren gescreent werden können, sind blockierende Antikörper, die spezifisch an den hmGluR Subtyp binden. Ferner ist ein solcher Test zum Screening von Verbindungen brauchbar, die mit L-Glutamat wechselwirken, beispielsweise lösliche hmGluR Fragmente, die die gesamte Ligandenbindungsdomäne oder einen Teil hiervon umfassen.

[0084] Vorzugsweise zeigt die Wechselwirkung eines Agonisten oder eines Antagonisten mit einem hmGluR der Erfindung die Bindung des Agonisten oder Antagonisten an diesen hmGluR an.

[0085] Wie hierin verwendet variieren die Bedingungen und Zeiten, die zur Wechselwirkung eines Kandidaten für einen Glutamatagonisten oder Glutamatantagonisten mit dem Rezeptor ausreichend sind, mit der Quelle des Rezeptors, jedoch liegen die Bedingungen, die im allgemeinen zur Ausbildung der Bindung geeignet sind, zwischen etwa 4°C und etwa 40°C, vorzugsweise zwischen etwa 4°C und etwa 37°C in einer Pufferlösung zwischen 0 und 2 M NaCl, vorzugsweise zwischen 0 und 0,9 M NaCl, wobei 0,1 M NaCl besonders bevorzugt ist und innerhalb eines pH Bereichs von 5 bis 9, vorzugsweise zwischen 6,5 und 8. Ausreichend Zeit zur Bindung und Reaktion liegt im allgemeinen zwischen 1 ms und etwa 24 Stunden nach der Exposition.

[0086] Innerhalb einer Ausführungsform der vorliegenden Erfindung ist der Reaktionsweg ein membrangebundener Adenylatcyclaseweg und für einen Agonisten umfasst der Detektionsschritt die Messung der Reduktion oder Erhöhung, vorzugsweise der Reduktion der cAMP Bildung durch den membrangebundenen Adenylatcyclasereaktionsweg relativ zur cAMP Bildung in der relevanten Kontrollumgebung. Für den Zweck der vorliegenden Erfindung ist es bevorzugt, dass die Verringerung oder Erhöhung der cAMP Bildung gleich groß oder größer als die Verringerung oder Erhöhung ist, die durch L-Glutamat induziert wird, das mit einer seiner HK_{50} entsprechenden Konzentration angewendet wird. Für einen Antagonisten umfasst der Detektionsschritt die Messung in Gegenwart des Antagonisten einer geringeren durch L-Glutamat induzierten Verringerung oder Erhöhung der cAMP Bildung durch den membrangebundenen Adenylatcyclasereaktionsweg im Vergleich zur cAMP Bildung in Abwesenheit des Antagonisten. Die Messung von cAMP kann nach der Zellzerstörung oder durch eine für cAMP empfindliche in die Zelle gebrachte Molekularsonde ausgeführt werden, wie ein Fluoreszenzfarbstoff, der bei der Bindung von cAMP seine Eigenschaften ändert, beispielsweise seine Fluoreszenzeigenschaften.

[0087] Die Bildung von cyclischem AMP kann mittels in der Technik gut bekannter Verfahren gemessen werden, einschließlich beispielsweise Verfahren, die von Nakajima et al., siehe obige Literaturstelle beschrieben sind oder mittels im Handel erhältlicher Kits, beispielsweise Kits, die radioaktiv markiertes cAMP enthalten, beispielsweise [125 I]cAMP oder [3 H]cAMP. Beispielsgemäße Kits sind der Scintillation Proximity Assay Kit von Amersham, der die Bildung von cAMP durch die Kompetition von iodiertem cAMP mit cAMP Antikörpern misst oder der Cyclic AMP [3 H] Assay Kit von Amersham.

[0088] In Testsystemen mittels Zellen, die Rezeptorsubtypen exprimieren, die negativ an den Adenylatcyclaseweg gekuppelt sind, das heißt eine Verringerung des cAMP nach einer Stimulierung und eine Erhöhung des cAMP nach einer Verringerung der Stimulierung verursachen, ist es bevorzugt, die Zellen vor der Zugabe des (potentiellen) Rezeptoragonisten oder Rezeptorantagonisten gegenüber einer Verbindung zu exponieren, die reversibel oder irreversibel die Adenylatcyclase hemmt, beispielsweise Forskolin oder ein Phosphodiesteraseinhibitor ist, wie Isobutylmethylxanthin (IBMX).

[0089] In einer anderen Ausführungsform der Erfindung ist der Reaktionsweg der PI Hydrolyse/ Ca^{2+} Mobilisierungsweg. Ein solcher Test zur Bestimmung der spezifischen Wechselwirkung einer Testverbindung mit einem hmGluR Subtyp der Erfindung kann funktionell an Veränderungen in der intrazellulären Calciumionenkonzentration (Ca^{2+}) gebunden sein. Es sind mehrere Verfahren zur Bestimmung der Veränderung in der intrazellulären Konzentration von Ca^{2+} in der Technik bekannt, beispielsweise ein Verfahren, das einen auf Calciumionen empfindlichen Fluoreszenzfarbstoff umfasst, wie Fura-2 (siehe Grynkiewisz et al., J. Biol. Chem. 260, 3440–3450, 1985), Fluo-3 oder Indo-1, wie das Calcium-Fluor-QuinZ Verfahren, das von Charest et al. (J. Biol. Chem. 259, 8679–8773 (1993)) beschrieben ist oder das Aequorinphotoproteinverfahren, das von Nakajima-Shimada (Proc. Natl. Acad. Sci. USA 88, 6878–6882 (1991)) beschrieben ist. In einer Ausführungsform der Erfindung wird die intrazelluläre Calciumionenkonzentration durch Mikrofluorometrie in rekombinanten Zellen gemessen, die mit Calcium-sensitiven Fluoreszenzfarbstoffen Fluo-3 oder Fura-2 beladen sind. Diese Messungen können mittels Zellen ausgeführt werden, die auf einem Deckglas angezogen wurden, was die Verwendung eines invertierten Mikroskops und Videobildaufzeichnungstechnologien oder eines Fluoreszenzphotometers erlaubt, um die Calciumkonzentrationen auf Einzelzellebene zu messen. Für beide Ansätze müssen die Zellen, die mit einem hmGluR exprimierenden Plasmid transformiert sind, mit dem Calciumindikator beladen werden. Am Ende wird das Wachstumsmedium von den Zellen entfernt und mit einer Lösung ersetzt, die Fura-2 oder Fluo-3 enthält. Die Zellen werden für Calciummessungen vorzugsweise während der folgenden 8 Stunden verwendet. Die Mikrofluorometrie erfolgt nach Standardverfahren.

[0090] Die Ca^{2+} Signale, die aus der funktionellen Wechselwirkung der Verbindungen mit dem Zielmolekül resultieren, können transient sein, falls die Verbindung für eine begrenzte Zeitspanne angewendet wird, beispielsweise über ein Perfusionssystem. Mittels einer transienten Anwendung können mehrere Messungen mit denselben Zellen gemacht werden, was interne Kontrollen und eine große Anzahl an getesteten Verbindungen erlaubt.

[0091] Die funktionelle Kupplung eines erfindungsgemäßen hmGluR an die Ca^{2+} Signalkette kann beispielsweise in CHO Zellen durch verschiedene Verfahren erreicht werden

- (i) Coexpression eines rekombinanten hmGluR der Erfindung und eines rekombinanten, spannungsgesteuerten Kationenkanals, dessen Aktivität funktionell an die Aktivität des hmGluR gekuppelt ist,
- (ii) Expression eines chimären hmGluR Rezeptors, der direkt den PI/ Ca^{2+} Signalweg stimuliert,
- (iii) Coexpression eines rekombinanten hmGluR der Erfindung mit einem rekombinanten, Ca^{2+} -permeablen cAMP abhängigen Kationenkanal.

[0092] In anderen Expressionssystemen kann die funktionelle Kupplung eines hmGluR an die Ca^{2+} Signalkette durch die Transfektion eines hmGluR der Erfindung erreicht werden, falls diese Zellen natürlicherweise exprimieren (i) spannungsgesteuerte Ca-Kanäle, deren Aktivität funktionell an die Aktivität von mGluRs gekuppelt ist oder (ii) Ca^{2+} -permeable cAMP abhängige Ionenkanäle. Beispielsweise erlauben GH3 Zellen, die natürlicherweise spannungsgesteuerte Ca-Kanäle exprimieren, direkt die Anwendung von Ca^{2+} Tests, um auf die funktionelle Aktivität von hmGluR durch die Cotransfektion von hmGluRs zu testen.

[0093] Ferner können Zell-basierte Screeningtests beispielsweise durch die Konstruktion von Zelllinien entworfen werden, worin die Expression eines Reporterproteins, das heißt eines leicht zu testenden Proteins, wie β -Galactosidase, Chloramphenicolacetyltransferase (CAT) oder Luciferase, von der Funktion eines erfindungsgemäßen hmGluR abhängt. Beispielsweise ist ein DNA Konstrukt, das ein cAMP Reaktionselement enthält, operativ an eine DNA gekuppelt, die für Luciferase kodiert. Das entstehende DNA Konstrukt, das die Enzym-DNA enthält, wird stabil in eine Wirtszelle transfiziert. Die Wirtszelle wird dann mit einem zweiten DNA Konstrukt transfiziert, das ein erstes DNA Segment enthält, welches für einen erfindungsgemäßen hmGluR kodiert, das operativ an zusätzliche DNA Segmente gebunden ist, die zur Expression des Rezeptors erforderlich sind. Falls beispielsweise die Bindung einer Testverbindung an den erfindungsgemäßen hmGluR zu erhöhten cAMP Spiegeln führt, wird die Expression der Luciferase in Abhängigkeit des gewählten Promotors induziert oder verringert. Die Luciferase wird gegenüber Luciferin exponiert und die während der Oxidation des Luciferins emittierten Photonen werden gemessen.

[0094] Die hierin bereitgestellten Arzneimittelscreeningtests ermöglichen die Identifizierung und die Konstruktion von Rezeptorsubtyp-spezifischen Verbindungen, insbesondere von Liganden, die das Rezeptorprotein binden, was eventuell zur Entwicklung eines für eine Erkrankung spezifischen Arzneimittels führt. Falls es für eine sehr spezifische Wechselwirkung mit nur einem bestimmten hmGluR Subtyp (oder einer vorbestimmten Selektion von hmGluR Subtypen) entworfen wurde, dürfte ein solches Arzneimittel weniger unerwünschte Nebenwirkungen aufweisen, als ein Arzneimittel, das durch das Screening mit Zellen identifiziert wurde, die eine (unbekannte) Anzahl an Rezeptorsubtypen exprimieren. Ebenfalls liefert das Testen eines einzelnen Rezep-

torsubtyps der Erfindung oder spezifischer Kombinationen an unterschiedlichen Rezeptorsubtypen mit einer Vielzahl an potentiellen Agonisten oder Antagonisten zusätzliche Information in Bezug auf die Funktion und die Aktivität der einzelnen Subtypen und sollte zur Identifizierung und der Konstruktion von Verbindungen führen, die zur sehr spezifischen Wechselwirkung mit einem oder mehreren Rezeptorsubtypen fähig sind.

[0095] In einer weiteren Ausführungsform liefert die Erfindung polyklonale und monoklonale Antikörper, die gegen einen erfindungsgemäßen hmGluR Subtyp erzeugt wurden. Solche Antikörper können beispielsweise für Immuntests brauchbar sein, die Immunhistochemie wie auch diagnostische und therapeutische Anwendungen umfassen. Beispielsweise können Antikörper, die für die extrazelluläre Domäne eines bestimmten hmGluR Subtyps oder Teile hiervon spezifisch sind, zur Blockierung des endogenen hmGluR Subtyps angewendet werden.

[0096] Die erfindungsgemäßen Antikörper können gemäß Verfahren hergestellt werden, die in der Technik gut bekannt sind, wobei ein Antigen eines erfindungsgemäßen hmGluR Subtyps oder ein Fragment hiervon oder eine Zelle, die diesen Subtyp oder das Fragment exprimiert, verwendet werden. Das Antigen kann die aktive oder inaktive Form des erfindungsgemäßen Rezeptors darstellen. Die Antikörper können zur Unterscheidung zwischen der aktiven und der inaktiven Form fähig sein. Faktoren, die bei der Auswahl der Subtypfragmente als Antigene (entweder als synthetisches Peptid oder als Fusionsprotein) zu berücksichtigen sind, umfassen Antigenität, Zugänglichkeit (das heißt extrazelluläre und cytoplasmatische Domänen) und Einzigartigkeit für den bestimmten Subtyp.

[0097] Besonders brauchbar sind Antikörper, die selektiv die Rezeptorsubtypen der oben beschriebenen Unterfamilie erkennen und binden, ohne an einen Subtyp einer anderen Unterfamilie zu binden und Antikörper, die selektiv einen bestimmten Subtyp ohne der Bindung an einen anderen Subtyp erkennen und binden.

[0098] Die erfindungsgemäßen Antikörper können einem behandlungsbedürftigen Patienten unter Verwendung von in der Technik bekannten Standardverfahren verabreicht werden. Der Fachmann kann leicht Dosierungsformen, Behandlungspläne usw. in Abhängigkeit der Art der verwendeten Verabreichung bestimmen.

[0099] Die Erfindung betrifft insbesondere die spezifischen Ausführungsformen, wie sie in den Beispielen beschrieben sind, die zur Erläuterung der vorliegenden Erfindung dienen, sollten aber nicht als Beschränkungen hiervon aufgefasst werden.

Abkürzungen: hmGluR = humaner metabotroper Glutamatrezeptor, nt = Nukleotid.

Referenzbeispiel 1: cDNA, die für hmGluR4 kodiert

[0100] Humane mGluR4 cDNA Klone werden aus humanem, fetalem Gehirn und humanen Cerebellum cDNA Genbanken durch Hybridisierung mit geringer Stringenz mittels einer radioaktiv markierten mGluR4 Ratten-sonde isoliert, die durch PCR aus Rattenhirn cDNA isoliert wurde.

1.1. Herstellung von Poly(A)⁺ RNA aus dem Rattengroßhirn

[0101] Erwachsene, männliche Sprague-Dawley Ratten werden durch Erstickung getötet, ihr Großhirn wird entfernt und unmittelbar in flüssigem N₂ eingefroren. Die Gesamt-RNA wird mittels des Guanidiniumthiocyanatverfahrens (Chomczynski und Sacchi (1987), Anal. Biochem. 162, 156–159) isoliert. Eine Anreicherung von Poly(A)⁺ RNA wird durch eine Affinitätschromatographie auf Oligo(dt)-Cellulose gemäß den Standardverfahren erreicht (J. Sambrook, E. F. Fritsch und T. Maniatis (1989), Molecular Cloning: A Laboratory Manual (2. Ausgabe), Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, USA).

1.2. cDNA Erststrangsynthese für PCR

[0102] Poly(A)⁺ RNA (mRNA) wird revers in DNA durch die Moloney Murine Leukämie Virus Reverse Transkriptase (M-MLV RT, BRL) transkribiert. 50 µl Reaktionen werden wie folgt angesetzt: 10 µg der Rattengroßhirn Poly(A)⁺ RNA in 10 µl sterilem H₂O werden für 10 Minuten auf 70°C erhitzt und dann schnell auf Eis gekühlt. Dann werden 10 µl 5 × Reaktionspuffer (250 mM Tris-HCl pH 8,3, 375 mM KCl, 15 mM MgCl₂t), 5 µl 0,1 M Dithiothreitol, 5 µl gemischte dNTP (10 mM jeweils von dATP, dCTP, dGTP, dTTP, Pharmacia), 1,25 µl Oligo-dT₁₂₋₁₈ (2 mg/ml, Pharmacia), 2,5 µl RNAsin (40 E/µl, Promega), 12,25 µl steriles H₂O und 4 µl (200 E/µl) M-MLV RT zugegeben. Die Reaktion wird bei 37°C für 60 Minuten ausgeführt.

1.3 PCR Bedingungen zur Erzeugung des mGluR4 Rattenfragments

[0103] Die für die PCR verwendeten Oligodesoxynukleotidprimer werden durch das Phosphoramiditverfahren synthetisiert. Die Sequenzen sind in Tabelle 1 angegeben.

Tabelle I

P1: 5'-GTCAAGGCCTCGGGCCGGGA-3'
entsprechen den Basenpaaren 1921–1940 der mGluR4 cDNA der Ratte
(Tanabe et al., (1992), Neuron 8, 169–179)
P2: 5'-CTAGATGGCATGGTTGGTGTA-3'
entsprechen den Basenpaaren 2788–2808 der mGluR4 cDNA der Ratte
(Tanabe et al., (1992), Neuron 8, 169–179)

[0104] Die PCR Standardbedingungen für ein 100 µl Reaktionsgemisch sind: 30 ng Rattengroßhirn cDNA, 50 pmol von jedem der Primer P1 und P2, jeweils 200 µmol der vier Desoxynukleosidtriphosphate dATP, dCTP, dGTP und dTTP, 10% DMSO in PCR-Puffer (10 mM Tris-HCl, pH 8,3, 1,5 mM MgCl₂, 50 mM KCl, 10 mM β-Mercaptoethanol, 0,05% Tween (G/V), 0,05% NP-40 (G(V)) und 0,5 E AmpliTaq Polymerase (Perkin Elmer Cetus). Die Amplifikation wird mittels der folgenden Bedingungen ausgeführt: 30 Sekunden Denaturierung bei 93°C, 1 Minute 30 Sekunden Anellierung bei 56°C und 3 Minuten Verlängerung bei 72°C für insgesamt 40 Zyklen. Die anfängliche Denaturierung wird für 4 Minuten bei 94°C ausgeführt.

1.4 Subklonierung des mGluR4 PCR Fragments aus der Ratte

[0105] Restriktionsendonukleaseverdaus, die Verwendung von modifizierenden Enzymen, Vektorpräparation (Dephosphorylierung, Gelreinigung), Ligationen, Transformation von E. coli und Plasmid-DNA-Präparationen werden gemäß Standardverfahren ausgeführt (Sambrook et al., (1989), siehe obige Literaturstelle).

[0106] Das gemäß dem in 1.3 beschriebenen Verfahren erhaltene PCR Fragment (888 bp) wird in die SmaI Schnittstelle des Blueskript SK⁺ Plasmids (Stratagene, La Jolla, USA) ligiert. Das in den Blueskriptvektor inserierte Fragment wird von beiden Enden mittels T7 und T3 Primern (Stratagene, La Jolla, USA) sequenziert.

1.5. Herstellung einer radioaktiv markierten Sonde

[0107] 20–50 ng des durch PCR erzeugten mGluR4 Fragments der Ratte werden im Gel gereinigt und durch zufälliges Primern mittels eines DNA Labeling Kits (Boehringer Mannheim) ³²P-markiert.

1.6 cDNA Genbankscreening

[0108] Etwa 1×10^6 Phagen von einer humanen fetalen Gehirngenenbank (λZAP II, Stratagene, La Jolla, USA), einer cDNA Bank aus dem humanen Hippocampus (λZAP, Stratagene, La Jolla, USA) und aus dem humanen Cerebellum (λZAP, Stratagene) werden auf eine Hybridisierung mit dem mGluR4 Fragment der Ratte gescreent. Die Hybridisierung wird in 5 × SSC, 0,02% (G/V) Ficoll (Typ 400), 0,02% (G/V) Polyvinylpyrrolidon, 0,1% (G/V) SDS, 50 µg/ml Herring Testis DNA ausgeführt. Die Prähybridisierung wird zwischen 30 Minuten bis 3 Stunden bei 58°C ausgeführt. Die Hybridisierung wird bei einer geringen Stringenz bei 58°C über Nacht in derselben Lösung ausgeführt, die das ³²P-markierte Fragment in einer Konzentration von $1-3 \times 10^5$ cpm/ml enthält. Die Waschschrte werden dreimal für 20 Minuten bei jeweils 58°C in 2 × SSC/0,1% SDS ausgeführt.

[0109] Phagen, die mit der mGluR4 Rattensonde hybridisieren, werden durch eine zweite und dritte Screeningrunde unter den oben beschriebenen Bedingungen gereinigt. Die cDNA Inserts, die die gereinigten Phagen enthalten, werden durch in vivo Exzision mittels des ExAssist/SOLR Systems (Stratagene, La Jolla, USA) gewonnen.

1.7 Charakterisierung der isolierten cDNA Klone

[0110] Es werden mehrere cDNA Inserts durch Restriktionsenzymkartierung und DNA Sequenzanalyse charakterisiert. Einer dieser Klone, nämlich cDNA cmR20 (aus der humanen Cerebellumgenbank isoliert) enthält ein Insert mit etwa 3,3 kb. Die Sequenzanalyse von cmR20 zeigt an, dass er fast die gesamte kodierende Region des humanen mGluR4 einschließlich eines Translationsterminationscodons (Nukleotide 158 bis 2739, siehe SEQ ID Nr. 1) wie auch etwa 750 nt der 3'-untranslatierten Region enthält. Das 5'-Ende einschließlich

des Translationsstartcodons fehlt.

1.8 Isolierung des 5'-Endes des humanen mGluR4

[0111] Um die kodierende Region des humanen mGluR4 zu vervollständigen, werden PCR Reaktionen mittels humaner, genomischer DNA oder Erststrang-cDNA der humanen Gehirn-RNA als Matrize ausgeführt. Der Sinnprimer P3 entspricht dem 5'-Ende der mGluR4 cDNA der Ratte, der Antisinnprimer P4 entspricht den Nucleotiden 440–459 der mGluR4 cDNA der Ratte.

Tabelle 2

P3: 5'-GCGCTGCAGGCGGCCGCAGGGCCTGCTAGGGCTAGGAGCGGGGC-3'

entspricht den Nucleotiden 11–37 der mGluR4 cDNA der Ratte
(Tanabe, et al., (1992), Neuron 8, 169–179)

P4: 5'-GCGGAATTCCTCCGTGCCGTCCTTCTCG-3'

entspricht den Nucleotiden 440–459 der mGluR4 cDNA der Ratte
(Tanabe, et al., (1992), Neuron 8, 169–179)

[0112] Zusätzliche Sequenzen sind unterstrichen, Restriktionsenzyme sind in Fettdruck angegeben.

[0113] Die PCR Reaktionen für ein 100 µl Reaktionsgemisch sind: 400 ng der humanen, genomischen DNA, 1 µM jedes Primers, 2 mM jedes Desoxynucleosidtriphosphats (dATP, dCTP, dGTP und dTTP) in PCR Puffer (10 mM Tris-HCl, pH 8,3, 1,5 mM MgCl₂, 50 mM KCl und 2 E AmpliTaq Polymerase. Die Amplifizierung wird unter Verwendung der folgenden Bedingungen ausgeführt; 1 Minute Denaturierung bei 95°C, 1 Minute Annelierung bei 56°C und 1 Minute Verlängerung bei 72°C für insgesamt 32 Zyklen. Die anfängliche Denaturierung wird für 3 Minuten bei 94°C ausgeführt.

[0114] Die Produkte von mehreren unabhängigen PCRs werden mit den Restriktionsenzymen PstI und EcoRI verdaut, im Gel gereinigt und in die PstI/EcoRI Schnittstellen von Bluescript SK (Stratagene) ligiert. Subklonierete Fragmente von verschiedenen unabhängigen PCRs werden durch DNA Sequenzanalyse (cP4PGR1-4) analysiert. Eine Sequenzanalyse zeigt, dass der Klon cR4PCR2 380 Nucleotide der für hmGluR4 kodierenden Region einschließlich des Translationsinitiationscodons enthält (Nucleotide 1–380, siehe SEQ ID Nr. 1). cR4PCR2 überlappt am 3' Ende um 223 nt mit cmR20.

[0115] Die vollständige abgeleitete Aminosäuresequenz des hmGluR4 Proteins ist in SEQ ID Nr. 2 gezeigt.

Beispiel 2: cDNA Klone, die für hmGluR7 kodieren

[0116] Das Screening der humanen fetalen Gehirn- und humanen Cerebellum cDNA Genbanken durch eine Hybridisierung mit geringer Stringenz unter Verwendung des radioaktiv markierten mGluR Fragments der Ratte (wie dies in 1.5 und 1.6 beschrieben ist) erlaubt die Isolierung von cDNA Klonen, die den humanen metabotropen Glutamatrezeptorsubtyp mGluR7 identifizieren. Die Charakterisierung der cDNA Klone durch DNA Sequenzanalyse zeigt, dass die isolierten cDNAs zumindest zwei scheinbare Spleißvarianten der humanen mGluR7 mRNA darstellen.

[0117] Die cDNA cmR2 (isoliert aus der humanen, fetalen Gehirn-cDNA-Genbank) hat eine Größe von 3804 nt. Der Klon cmR2 enthält 2604 nt aus der für hmGluR7 kodierenden Sequenz, einschließlich eines Translationsterminationscodons, gefolgt von 1200 nt an 3'-untranslatierter Sequenz (siehe SEQ ID Nr. 3).

[0118] Die cDNA cmR3 (isoliert aus der humanen Hippocampus cDNA Genbank) hat eine Größe von 1399 nt (SEQ ID Nr. 5). Die cDNA cmR3 enthält 270 nt der für hmGluR7 am 3'-Ende kodierenden Region, einschließlich eines Translationsstopcodons (die abgeleitete Aminosäuresequenz ist in SEQ ID Nr. 6 gezeigt), wonach 1129 nt der 3'-untranslatierten Sequenz folgen. Die Sequenz von cmR3 ist vollständig in cmR2 enthalten, unterscheidet sich aber von cmR2 durch die Deletion von 92 Nucleotiden, die sich vom nt an der Position 2534 bis zum nt an der Position 2625 in SEQ ID Nr. 3 erstrecken. Diese scheinbare Spleißvariante von hmGluR7 erzeugt ein unterschiedliches 3'-Ende der abgeleiteten hmGluR7 Aminosäuresequenz.

[0119] Die cDNA cmR5 (isoliert aus der humanen, fetalen Gehirn cDNA Genbank) hat eine Größe von 1588 nt (SEQ ID Nr. 7). Die cDNA cmR5 überlappt um 1424 nt mit der cDNA cmR2. Sie unterscheidet sich am 3'-Ende exakt an der Position der 92 nt Insertion/Deletion von cmR2/cmR3. Zusätzliche 164 nt von cmR5 kodieren

entweder für Intronsequenzen, wie dies durch das Vorkommen einer konservierten Spleißdonorsequenz unmittelbar nach der Stelle des cmR5 und cmR2/cmR3 Sequenzunterschieds gezeigt ist oder repräsentieren eine dritte Spleißvariante.

[0120] Das 5'-Ende der kodierenden Region der hmGluR7 DNA, das in den cDNA Klonen cmR2, cmR3 und cmR5 fehlt, wird durch eine Kombination aus genomischem Genbankscreening und PCR Techniken isoliert. Eine genomische Lambda-Fix Genbank (Stratagene) wird mit einem EcoRI/SmaI Restriktionsfragment, das die Nukleotide 1–1304 der cDNA cmR2 enthält, unter Hybridisierungsbedingungen mit hoher Stringenz gescreent, wie dies in Sambrook et al., (1989), obige Literaturstelle beschrieben ist. Lambdaklone, die an das 5'-Ende des cDNA Klons cmR2 hybridisieren, werden gereinigt und durch Restriktionsanalysen und DNA Sequenzierung analysiert. Das vollständige 5'-Ende der kodierenden Region des humanen mGluR7, einschließlich des ATG Translationsinitiationscodons, wird durch PCR aus humaner Gehirn-DNA mittels Primersequenzen amplifiziert, die aus klonierten genomischen Fragmenten stammen. Das PCR Fragment hat eine Größe von 557 nt. Es wird als cR7PCR1 bezeichnet und ist als SEQ ID Nr. 9 dargestellt. Die abgeleitete Aminosäuresequenz ist in SEQ ID Nr. 10 beschrieben. cR7PCR1 überlappt am 3'-Ende mit cmR2 um 392 nt.

[0121] Die DNA Sequenzen, die für die vollständigen hmGluR7a und b Proteine kodieren, sind jeweils in SEQ ID Nr. 11 und 13 dargestellt. Die abgeleiteten Aminosäuresequenzen sind jeweils in SEQ ID Nr. 12 und 14 dargestellt. Ein Vergleich der abgeleiteten Aminosäuresequenzen zeigt etwa 70% Sequenzidentität zu dem hmGluR4 Subtyp von Beispiel 1.

Referenzbeispiel 3: cDNA, die partiell hmGluR6 kodiert

[0122] Ein einzelner cDNA Klon, nämlich cmR1, mit einem Insert von 1,0 kb wird aus einer humanen Hippocampusgenbank durch Hybridisierung mit niedriger Stringenz unter Verwendung des hmGluR Fragments isoliert, wie dies oben in Beispiel 1.5 und 1.6 beschrieben ist. Etwa 630 Nukleotide sind zum humanen mGluR4 homolog. Zusätzliche Sequenzen am 5'- und 3'-Ende von cmR1 kodieren scheinbar Intronsequenzen, wie dies durch das Vorkommen von putativen Spleißdonor- und Spleißakzeptorsequenzen angedeutet wird. Die cDNA cmR1 identifiziert einen Teil des humanen metabotropen Glutamatrezeptorsubtyps hmGluR6 (SEQ ID Nr. 15). Die abgeleitete Aminosäuresequenz ist in SEQ ID Nr. 16 gezeigt.

[0123] Die vollständige kodierende Region von hmGluR6 wird durch Screenen der cDNA und genomischen Genbanken unter Bedingungen mit hoher Stringenz unter Verwendung von cDNA cmR1 als Sonde isoliert. Ein Vergleich der abgeleiteten Aminosäuresequenzen zeigt etwa 70% Sequenzidentität zu hmGluR4 von Beispiel 1.

Beispiel 4: Expression von hmGluR cDNAs in Säugerzellen

4.1 Rezeptorexpressionsplasmide

[0124] cDNAs, die für die obigen hmGluR4, hmGluR6 und hmGluR7 Vollängenproteine kodieren, werden aus cDNA Fragmenten erzeugt und in Säugerexpressionsvektoren ligiert, die auf konstitutiven Promotoren (CMV, SV40, RSV) oder induzierbaren Promotoren basieren. Beispiele sind pBK-CMV (Stratagene), pBK-RSV (Stratagene), pCMV-T7 (Sibia, Inc.) und pICP4 (Novagen, USA).

[0125] Die Vollängen cDNA, die für den hmGluR4 Subtyp kodiert, wird in den Säugerexpressionsvektor pBK-CMV durch die Ligation des hmGluR4 Fragments vom 5'-Ende (Klon cR4PCR2) mit der cDNA cmR20 an der XhoI Einzelschnittstelle eingebaut, die bei Nukleotid 346–351 der hmGluR4 cDNA liegt. Genauer gesagt wird das Plasmid pBK-CMV-hmGluR4 durch eine Dreierligation des NotI/XhoI Fragments von cR4PCR2, des XhoI/NotI Fragments der cDNA cmR20 und des mit NotI verdauten Vektors pBK-CMV erzeugt. Das Plasmid pCMV-T7-hmGluR4 wird durch die Dreierligation des PstI/XhoI Fragments von cR4PCR4, des XhoI/EcoRI Fragments von cmR20 und des mit PstI/EcoRI verdauten Vektors pCMV-T7-2 erzeugt. Beide Expressionskonstrukte enthalten die vollständige kodierende Region von hmGluR4, wie auch etwa 750 nt der 3'-untranslatierten Sequenzen.

[0126] Die Vollängen cDNAs, die die zwei hmGluR7 Spleißvarianten darstellen, die als hmGluR7a (SEQ ID Nr. 12) und hmGluR7b (SEQ ID Nr. 14) bezeichnet werden, werden in pCMV-T7-2 (SIBIA Inc.) unter Verwendung der überlappenden cDNA Klone cmR2, cmR3 und hcR7PCR1 eingebaut. Ein hmGluR7b Vollängenexpressionskonstrukt, das als pCMV-T7-hmGluR7b bezeichnet wird, wird durch eine Dreierligation des PstI/BsaI Fragments von hcR7PCR1, des BSAI/EagI Fragments von cmR2 und des PstI/NotI Fragments von

pCMV-T7-2 hergestellt. Das Plasmid pCMV-T7-hmGluR7b enthält die vollständige kodierende Region von hmGluR7b und 191 nt der 3'-untranslatierten Sequenzen. Zur Konstruktion eines Vollängen-hmGluR7a Expressionskonstrukts, das als pCMV-T7-hmGluR7a bezeichnet wird, wird ein 370 bp HindIII/EagI Fragment von cmR2 gegen das entsprechende Fragment von cmR3 ausgetauscht. Das Bsal/EagI Fragment des entstehenden Klons wird für eine Dreierligation verwendet, wie dies oben beschrieben ist.

[0127] Das Plasmid pBK-CMV-hmGluR6 wird analog mittels herkömmlicher Techniken erzeugt (Sambrook et al., siehe obige Literaturstelle).

4.2 Transfektion von Säugerzellen

[0128] Säugerzellen (beispielsweise CHO-K1, GH3, American Tissue Type Culture Collection) werden zum Wachstum in Glutamat-freiem Medium angepasst (Dulbecco's Modified Eagle's Medium, dem L-Glutamat fehlt und das eine verringerte Konzentration an 2 mM L-Glutamin enthält und mit 0,046 mg/ml Prolin und 10% dialysiertem, fetalem Rinderserum versetzt ist, Gibco-BRL). HmGluR Expressionsplasmide werden transient in die Zellen durch Calciumphosphatfällung transfiziert (F. M. Ausubel et al., (1993), Current Protocols in Molecular Biology, Greene and Wiley, USA).

[0129] Die stabil hmGluRs exprimierenden Zelllinien werden durch eine Lipofectin-vermittelte Transfektion (Gibco-BRL) von CHO-K1 Zellen mit hmGluR Expressionsplasmiden und pSV2-Neo erzeugt (Southern und Berg, 1982), einem Plasmidvektor, der das G 418 Resistenzgen kodiert. Die Zellen werden für 48 Stunden angezogen, bevor 1 mg/ml G 418 Sulfat (Geneticin, Gibco) zugegeben wird. Das Medium wird alle zwei bis drei Tage ersetzt. Die die G 418 Selektion überlebenden Zellen werden isoliert und im Selektionsmedium angezogen. 32 G-418 resistente klonale Zelllinien werden 6 bis 8 Wochen nach der anfänglichen Transfektion auf hmGluR Proteinexpression durch eine Immunreaktivität mit dem anti-hmGluR7 Antikörper (Immundetektion siehe später 4.3) und funktionellen Reaktionen nach einer Agonistzugabe über einen cAMP Radioimmuntest (siehe später 5.1) getestet.

[0130] Ähnlich werden die hmGluR Expressionskonstrukte pBK-CMV-hm-GluR4, pCMV-T7-hmGluR4, pCMV-T7-hmGluR7b und pCMV-T7-hmGluR7a transient und stabil in Säugerzellen (CV1, CHO, HEK293, COS) gemäß Standardverfahren exprimiert (F. M. Ausubel et al., (1993), Current Protocols in Molecular Biology, Greene and Wiley, USA). Die transfizierten Zellen werden durch verschiedene Tests auf die hmGluR Expression analysiert: [³H]-Glutamatbindungsstudien, Immunocytochemie mittels hmGluR Subtyp-spezifischer Antikörper und Tests, die eine Veränderung in der intrazellulären Konzentration von cAMP ([cAMP]) detektieren.

4.3 Immundetektion von hmGluR Proteinexpression mit Subtyp-spezifischen hmGluR Antikörpern

[0131] Die hmGluR Proteinexpression wird durch Immunocytochemie mit Subtyp-spezifischen hmGluR Antikörpern analysiert (siehe Beispiel 7). Ein bis drei Tage nach der Transfektion werden die Zellen zweimal mit Phosphat-gepufferter Kochsalzlösung (PBS) gewaschen, mit PBS/4% Paraformaldehyd für 10 Minuten fixiert und mit PBS gewaschen. Die Zellen werden mit PBS/0,4% Triton X-100 permeabilisiert, wonach ein Waschschritt mit PBS/10 mM Glycin und PBS erfolgt. Die Zellen werden mit PBSTB (1 × PBS/0,1% Triton X-100/1% BSA) für 1 Stunde blockiert und dann anschließend mit immungereinigtem hmGluR Antiserum (0,5–2,0 µg/ml in PBSTB) für 1 Stunde inkubiert. Nach drei Waschschritten mit PBS werden die Zellen für 1 Stunde mit alkalischer Peroxidase-konjugiertem Ziege-anti-Kaninchen-IgG (1 : 200 in PBSTB, Jackson Immuno Research) inkubiert. Die Zellen werden dreimal mit PBS gewaschen und die Immunreaktivität wird mit 0,4 mg/ml Naphtholphosphat (Biorad)/1 mg/ml Fast red (Biorad)/10 mM Levamisol (Sigma)/100 mM Tris/HCl pH 8,8/100 mM NaCl/50 mM MgCl₂ detektiert. Die Färbereaktion wird nach 15 Minuten durch anschließendes Waschen mit PBS gestoppt. 2 bis 4 Zelllinien, die jeweils homolog hmGluR4, hmGluR6 oder hmGluR7 exprimieren, werden durch Immunfärbung identifiziert.

Beispiel 5: Verwendung von stabilen Zelllinien die hmGluRs für das Screening von Modulatoren der Rezeptoraktivität exprimieren

[0132] Es werden stabile Zelllinien, die hmGluR4, hmGluR6 und hmGluR7 exprimieren, zum Screening auf Agonisten, Antagonisten und allosterische Modulatoren verwendet. Solche Verbindungen werden durch die Bindungsstudien identifiziert, die [³H]-Glutamat verwenden und/oder Messungen der Veränderungen der intrazellulären Botenstoffmengen ([cAMP], [Ca²⁺]).

5.1 cAMP Radioimmunttest

[0133] Die Ligandenbindung und die durch Agonisten induzierte Depression der durch Forskolin stimulierten cAMP Akkumulation (Veränderungen in der intrazellulären cAMP Konzentration) werden durch cAMP Radioimmunttest (Amersham) analysiert. Die Zellen werden in Platten mit 12 Vertiefungen mit einer Dichte von $0,5\text{--}2,0 \times 10^5$ Zellen pro Vertiefung angeimpft und für 2 bis 4 Tage angezogen, bis man eine konfluente Lage an Zellen erhält. Die Zellen werden zweimal mit PBS gewaschen und für 20 Minuten in PBS inkubiert, worin 1 mM 3-Isobutyl-1-methylxanthin (IBMX) enthalten ist. Die Zellen werden für 20 Minuten mit frischem PBS inkubiert, worin 10 μM Forskolin, 1 mM IBMX und ein bekannter hmGluR Agonist enthalten sind. Der agonistische Effekt wird gestoppt und das durch die Zellen gebildete cAMP wird durch die Zugabe von 1 ml an Ethanol-Wasser-HCl Gemisch (100 ml Ethanol, 50 ml Wasser, 1 ml 1 M HCl) freigesetzt, nachdem das Arzneimittel-enthaltende Medium abgesaugt wurde. Die cAMP Mengen werden durch einen cAMP Radioimmunttest bestimmt, worin [^3H] cAMP (Amersham) enthalten ist.

[0134] Die hmGluR Subtypen 4, 6 und 7 werden negativ an die Adenylatcyclase gekuppelt, wenn sie in CHO Zellen exprimiert werden. Eine Agonistenbindung führt zu einer Hemmung der durch Forskolin induzierten cAMP Akkumulation. Alle Subtypen sind AP-4 sensitiv, was bedeutet, dass AP4 einen Agonisteneffekt in einer Konzentration von weniger als 1 mM hat.

5.2 Messung des intrazellulären $[\text{Ca}^{2+}]$

[0135] Zellen, die mit einem der obigen Expressionsplasmide transformiert sind, werden mit einem Calcium-sensitiven Fluoreszenzfarbstoff beladen, wie Fura-2 oder Fluo-3. Um dies zu erreichen, werden die Zellen in einzelne Vertiefungen, wobei die einzelnen Vertiefungen ein Deckgläschen aufweisen, oder in Platten mit 96 Vertiefungen plattiert und für 1 bis 5 Tage angezogen, bis eine 50–100% konfluente Zelllage erhalten wird. Die Zellen werden dreimal mit einer Balancesalzlösung (BBS) gewaschen und für 1 Stunde in BBS inkubiert, wonach 3 zusätzliche Waschschrte mit BBS erfolgen. Dann werden die Zellen für 20 bis 60 Minuten in einer Lösung inkubiert, die 50 μg Fura-2-AM (oder Fluo-3-AM) (Molecular Probes, Inc.), 4,99 ml BBS, 75 μl DMSO und 6,25 μg Pluronic (Molecular Probes, Inc.) enthält. Die Zellen werden dreimal mit BBS gewaschen, worin 2 mg/ml Rinderalbumin enthalten sind, wonach drei Waschschrte in BBS erfolgen. Nach der Erholung der Zellen für mindestens 10 Minuten werden sie für mikrofluorometrische Messungen von $[\text{Ca}^{2+}]$ verwendet.

[0136] Die Zellen werden in ein Gerät für eine Fluorometrie überführt, wie ein invertiertes Mikroskop und ein Spektrofluorometer eines Fluoreszenzmessgeräts. Die Fluoreszenz des Calciumindikators (beispielsweise Fura-2 oder Fluo-3) wird durch Beleuchtung mit Licht einer Wellenlänge induziert, die das Anregungsspektrum des Farbstoffs abdeckt (Fura 2: 340/380 nm, Fluo-3: 480 nm). Eine Zunahme der intrazellulären Konzentration an freien Calciumionen wird jeweils als Zunahme der Fluoreszenz von Fura-2 oder Fluo-3 gemessen, die jeweils bei 340 nm und 480 nm angeregt wird oder durch eine Abnahme der Fura-2 Fluoreszenz, die bei 380 nm angeregt wird.

[0137] Als Positivkontrolle wird L-Glutamat in einer Konzentration angewendet, die dem EK_{50} Wert auf die Zellen entspricht, wobei eine messbare Zunahme der intrazellulären Calciumionenkonzentration induziert wird. Eine Testverbindung ist ein Agonist, falls sie ein Ca^{2+} Signal induziert, das mit dem vergleichbar ist, das durch Glutamat induziert wird. Eine Testverbindung ist ein Antagonist, falls das durch Glutamat induzierte Calciumsignal in Gegenwart der Testverbindung kleiner ist, als in Abwesenheit der Testverbindung.

Beispiel 6: Chimäre hmGluR4, 6 und 7 Rezeptoren

[0138] Intrazelluläre Domänen von mGluR1, insbesondere die zweite intrazelluläre Schlaufe ($i2$) und die C-terminale Region, sind für die Bindung von G-Proteinen entscheidend, die den Phospholipase C/ Ca^{2+} Signalweg aktivieren, ohne das pharmakologische Profil des Rezeptors zu verändern (Pin et al., EMBO J. 13, 342–348 (1994)). Herkömmliche PCR Mutagenesetechniken werden zum Austausch der intrazellulären Domänen der hmGluR 4, 6 und 7 gegen die entsprechenden Domänen von hmGluR1 verwendet. Es werden stabile CHO Zelllinien mit chimären hmGluR4/1, 6/1 und 7/1 Expressionskonstrukten erzeugt, wobei die Analyse des Einflusses von Modulatoren der Rezeptoraktivität (hmGluR 4, 6 und 7) mittels Ca^{2+} -abhängiger Tests ermöglicht wird. Im folgenden wird die Erzeugung eines chimären hmGluR7/1 Rezeptors beschrieben. Die Expressionskonstrukte mit chimären hmGluR4/1 und hmGluR6/1 werden mittels analoger Klonierungs- und PCR-Techniken erzeugt.

(i) Das Expressionskonstrukt pCMV-hmGluR7b wird mit EagI verdaut, wobei das vollständige cDNA Insert freigesetzt wird. Die cDNA wird in die NotI Schnittstelle von Bluescript-NotI kloniert, einem Derivat von

pBluescript II (Stratagene), worin die Polylinkersequenzen zwischen den KpnI und NotI Einzelschnittstellen deletiert sind. Der entstehende Klon wird als pBluescript-Not-hmGluR7 bezeichnet.

(ii) Die Transmembranregion von hmGluR1 wird durch PCR unter Verwendung von Primern kloniert, die von Masu et al., 1991, siehe obige Literaturstelle stammen. Das Oligonukleotid mit der Sequenz 5'-TATCTTGAGTGGAGTGACATAG-3'

(entspricht den nt 1753 bis 1774 der Masu-Sequenz) wird als Sinnprimer verwendet. Der Antisinnprimer hat die Sequenz

5'-ACTGCGGACGTTCTCTCAGG-3'

und entspricht den Nukleotiden 2524 bis 2544 der Masu-Sequenz. Das C-terminale Ende der Spleißvarianten 1a, 1b und 1c wird durch PCR mittels Primern abgespalten, die jeweils von Masu et al., 1991, Tanabe et al., 1992, siehe obige Literaturstellen und Pin et al., 1992 (Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 89, 10331–10335 (1992)) stammen. Das Oligonukleotid mit der folgenden Sequenz

5'-AAACCTGAGAGGAACGTCCGCAG-3'

(das den Nukleotiden 2521 bis 2543 der Masu-Sequenz entspricht) wird als Sinnprimer verwendet. Die Oligonukleotide mit den folgenden Sequenzen

5'-CTACAGGGTGGAAAGAGCTTTGCTT-3', die den Nukleotiden 3577 bis 3600 der Masu-Sequenz entspricht,

5'-TCAAAGCTGCGCATGTGCCGACGG-3', die den Nukleotiden 2698 bis 2721 der Tanabe-Sequenz entspricht, und

5'-TCAATAGACAGTGTTTTGGCGGTC-3', die den Nukleotiden 2671 bis 2694 der Pin-Sequenz entspricht, werden als Antisinnprimer jeweils für hmGluR1a, 1b und 1c verwendet. Das PCR Fragment wird in pBluescript II kloniert und vollständig sequenziert.

(iii) Ein chimäres cDNA Fragment, worin die i2 Schlaufe von hmGluR7a oder hmGluR7b (jeweils Nukleotide 2035 bis 2106 der SEQ ID Nr. 11 und 13) durch die entsprechenden Sequenzen von hmGluR1 ersetzt ist, wird durch PCR erzeugt (wie dies in Pin et al., 1994, siehe obige Literaturstelle beschrieben ist). Das Fragment wird mit SmI und BglII verdaut, die an Einzelschnittstellen schneiden, welche die i2-Schlaufe flankieren. Das chimäre SmI/BglII Fragment wird gegen die SmI/BglII Fragmente von pBluescript-NotI-mGluR7 ausgetauscht.

(iv) Ein zusätzlicher Austausch der C-terminalen Domäne von hmGluR7b oder hmGluR7a durch die entsprechenden Sequenzen der oben erwähnten hmGluR1 Spleißvarianten wird durch die Verwendung der Restriktionsschnittstellen BglII und SacII erreicht, die das C-terminale Ende von hmGluR7 flankieren.

(v) Die entstehenden chimären hmGluR7/hmGluR1 cDNAs werden sequenziert und mit EagI verdaut, wobei die vollständigen cDNAs aus pBluescript-NotI freigesetzt werden. Für eine stabile Expression in CHO Zellen werden die chimären cDNAs in die NotI Einzelschnittstelle des Säugerexpressionsvektors pCMV-T7-2 kloniert.

Beispiel 7: Erzeugung und Anwendung von anti-hmGluR Antikörpern

[0139] Peptide, die der abgeleiteten C-terminalen Aminosäuresequenz von hmGluR7 entsprechen, werden synthetisiert und an Ovalbumin oder Tentagel gekuppelt. Es werden polyklonale Antiseren in Kaninchen erzeugt. Für humanen mGluR spezifische Antikörper werden aus den Antiseren durch die Immunitätschromatographie auf Peptidsäulen gereinigt. Die für hmGluR spezifischen Antikörper werden durch ELISA und Immunblots mit Glutathion-S-Transferase/hmGluR Fusionsproteinen (hergestellt in *E. coli*) oder humanen Gehirnextrakten charakterisiert. Antikörper, die für hmGluR7 spezifisch sind, werden zur Detektion von hmGluR Rezeptoren in transfizierten Zellen und zur Analyse des zellulären und subzellulären Expressionsmusters der hmGluR Rezeptorproteine in Gewebeschnitten von humanem Gehirnmateriale verwendet. Es werden Antikörper gegen unterschiedliche für hmGluR-spezifische Peptide, die aus 20 Aminosäuren bestehen, und Fusionsproteine erzeugt, die in *E. coli* exprimiert werden. Die Peptide werden durch Festphasensynthese synthetisiert und an Keyhole Limpet Hämocyanin (KLH) oder Ovalbumin mit Glutaraldehyd gekuppelt. PCR Fragmente, die das gesamte putative intrazelluläre C-terminale Fragment der hmGluRs enthalten, werden als BamHI/EcoRI Fragmente in das *E. coli* Expressionsplasmid pGEX-2T (Guan und Dixon, Analytical Biochemistry 192, 262–267 (1991)) unter Bildung von Glutathion-S-transferase (GST)/hmGluR Fusionsgenen kloniert. *E. coli* DH5 α Zellen (Gibco BRL), die die Expressionsplasmide mit den GST/hmGluR Fusionsgenen enthalten, werden über Nacht bei 37°C in LB Medium/100 mg/ml Ampicillin angezogen. Die Kulturen werden 1 : 30 in LB verdünnt und für 2 Stunden bei 30°C angezogen. Die Expression der Fusionsproteine wird durch die Behandlung mit 0,1 mM Isopropyl- β -D-thiogalactopyranosid für 3 Stunden bei 30°C induziert. Die Zellen werden durch die Zentrifugation bei 5000 \times g geerntet. Das Fusionsprotein wird mittels Glutathionaffinitätschromatographie isoliert.

Hinterlegungsdaten

[0140] Die folgenden Plasmide wurden bei der Deutschen Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH (DSMZ), Mascheroder Weg 1b, D-38124 Braunschweig am 13. September 1993 hinterlegt:
Plasmid cmR1: Hinterlegungsnummer DSM 8549.
Plasmid cmR2: Hinterlegungsnummer DSM 8550

Sequenzliste

(1) Allgemeine Information:

(i) Anmelder:

(A) Name:	Ciba-Geigy AG
(B) Straße:	Klybeckstr. 141
(C) Stadt:	Basel
(E) Land:	Schweiz
(F) Postleitzahl (ZIP):	4002
(G) Telefon:	+41 61 69 11 11
(H) Telefax:	+41 61 696 79 76
(I) Telex:	962 991

(ii) Titel der Erfindung: Humane Rezeptorproteine

(iii) Anzahl an Sequenzen: 16

(iv) Computerlesbare Form:

(A) Mediumtyp:	Diskette
(B) Computer:	IBM PC kompatibel
(C) Betriebssystem:	PC-DOS/MS-DOS
(D) Software:	PatentIn Release Nr. 1.0, Version Nr. 1.25 (EPO)

(2) Information für SEQ ID Nr: 1

(i) Sequenzeigenschaften:

(A) Länge:	2739 Basenpaare
(B) Typ:	Nukleinsäure
(C) Strangart:	Einzelstrang
(D) Topologie:	linear

(ii) Molekültyp: cDNA

(ix) Merkmal:

(A) Name/Schlüssel: CDS
 (B) Lage: 1...2739
 (D) Andere Information: Produkt = "hmGluR4"

(xi) Sequenzbeschreibung: SEQ ID Nr: 1

```

ATG CCT GGG AAG AGA GGC TTG GGC TGG TGG TGG GCC CGG CTG CCC CTT      48
Met Pro Gly Lys Arg Gly Leu Gly Trp Trp Trp Ala Arg Leu Pro Leu
  1                5                10                15

TGC CTG CTC CTC AGC CTT TAC GGC CCC TGG ATG CCT TCC TCC CTG GGA      96
Cys Leu Leu Leu Ser Leu Tyr Gly Pro Trp Met Pro Ser Ser Leu Gly
                20                25                30

AAG CCC AAA GGC CAC CCT CAC ATG AAT TCC ATC CGC ATA GAT GGG GAC     144
Lys Pro Lys Gly His Pro His Met Asn Ser Ile Arg Ile Asp Gly Asp
                35                40                45

ATC ACA CTG GGA GGC CTG TTC CCG GTG CAT GGC CGG GGC TCA GAG GGC     192
Ile Thr Leu Gly Gly Leu Phe Pro Val His Gly Arg Gly Ser Glu Gly
                50                55                60

AAG CCC TGT GGA GAA CTT AAG AAG GAA AAG GGC ATC CAC CGG CTG GAG     240
Lys Pro Cys Gly Glu Leu Lys Lys Glu Lys Gly Ile His Arg Leu Glu
                65                70                75                80

GCC ATG CTG TTC GCC CTG GAT CGC ATC AAC AAC GAC CCG GAC CTG CTG     288
Ala Met Leu Phe Ala Leu Asp Arg Ile Asn Asn Asp Pro Asp Leu Leu
                85                90                95

```

DE 694 34 166 T2 2005.11.10

CCT AAC ATC ACG CTG GGC GCC CGC ATT CTG GAC ACC TGC TCC AGG GAC	336
Pro Asn Ile Thr Leu Gly Ala Arg Ile Leu Asp Thr Cys Ser Arg Asp	
100 105 110	
ACC CAT GCC CTC GAG CAG TCG CTG ACC TTT GTG CAG GCG CTC ATC GAG	384
Thr His Ala Leu Glu Gln Ser Leu Thr Phe Val Gln Ala Leu Ile Glu	
115 120 125	
AAG GAT GGC ACA GAG GTC CGC TGT GGC AGT GGC GGC CCA CCC ATC ATC	432
Lys Asp Gly Thr Glu Val Arg Cys Gly Ser Gly Gly Pro Pro Ile Ile	
130 135 140	
ACC AAG CCT GAA CGT GTG GTG GGT GTC ATC GGT GCT TCA GGG AGC TCG	480
Thr Lys Pro Glu Arg Val Val Gly Val Ile Gly Ala Ser Gly Ser Ser	
145 150 155 160	
GTC TCC ATC ATG GTG GCC AAC ATC CTT CGC CTC TTC AAG ATA CCC CAG	528
Val Ser Ile Met Val Ala Asn Ile Leu Arg Leu Phe Lys Ile Pro Gln	
165 170 175	
ATC AGC TAC GCC TCC ACA GCG CCA GAC CTG AGT GAC AAC AGC CGC TAC	576
Ile Ser Tyr Ala Ser Thr Ala Pro Asp Leu Ser Asp Asn Ser Arg Tyr	
180 185 190	
GAC TTC TTC TCC CGC GTG GTG CCC TCG GAC ACG TAC CAG GCC CAG GCC	624
Asp Phe Phe Ser Arg Val Val Pro Ser Asp Thr Tyr Gln Ala Gln Ala	
195 200 205	
ATG GTG GAC ATC GTC CGT GCC CTC AAG TGG AAC TAT GTG TCC ACA GTG	672
Met Val Asp Ile Val Arg Ala Leu Lys Trp Asn Tyr Val Ser Thr Val	
210 215 220	
GCC TCG GAG GGC AGC TAT GGT GAG AGC GGT GTG GAG GCC TTC ATC CAG	720
Ala Ser Glu Gly Ser Tyr Gly Glu Ser Gly Val Glu Ala Phe Ile Gln	
225 230 235 240	

DE 694 34 166 T2 2005.11.10

AAG TCC CGT GAG GAC GGG GGC GTG TGC ATC GCC CAG TCG GTG AAG ATA	768
Lys Ser Arg Glu Asp Gly Gly Val Cys Ile Ala Gln Ser Val Lys Ile	
245 250 255	
CCA CGG GAG CCC AAG GCA GGC GAG TTC GAC AAG ATC ATC CGC CGC CTC	816
Pro Arg Glu Pro Lys Ala Gly Glu Phe Asp Lys Ile Ile Arg Arg Leu	
260 265 270	
CTG GAG ACT TCG AAC GCC AGG GCA GTC ATC ATC TTT GCC AAC GAG GAT	864
Leu Glu Thr Ser Asn Ala Arg Ala Val Ile Ile Phe Ala Asn Glu Asp	
275 280 285	
GAC ATC AGG CGT GTG CTG GAG GCA GCA CGA AGG GCC AAC CAG ACA GGC	912
Asp Ile Arg Arg Val Leu Glu Ala Ala Arg Arg Ala Asn Gln Thr Gly	
290 295 300	
CAT TTC TTC TGG ATG GGC TCT GAC AGC TGG GGC TCC AAG ATT GCA CCT	960
His Phe Phe Trp Met Gly Ser Asp Ser Trp Gly Ser Lys Ile Ala Pro	
305 310 315 320	
GTG CTG CAC CTG GAG GAG GTG GCT GAG GGT GCT GTC ACG ATC CTC CCC	1008
Val Leu His Leu Glu Glu Val Ala Glu Gly Ala Val Thr Ile Leu Pro	
325 330 335	
AAG AGG ATG TCC GTA CGA GGC TTC GAC CGC TAC TTC TCC AGC CGC ACG	1056
Lys Arg Met Ser Val Arg Gly Phe Asp Arg Tyr Phe Ser Ser Arg Thr	
340 345 350	
CTG GAC AAC AAC CGG CGC AAC ATC TGG TTT GCC GAG TTC TGG GAG GAC	1104
Leu Asp Asn Asn Arg Arg Asn Ile Trp Phe Ala Glu Phe Trp Glu Asp	
355 360 365	
AAC TTC CAC TGC AAG CTG AGC CGC CAC GCC CTC AAG AAG GGC AGC CAC	1152
Asn Phe His Cys Lys Leu Ser Arg His Ala Leu Lys Lys Gly Ser His	
370 375 380	

DE 694 34 166 T2 2005.11.10

GTC AAG AAG TGC ACC AAC CGT GAG CGA ATT GGG CAG GAT TCA GCT TAT 1200
 Val Lys Lys Cys Thr Asn Arg Glu Arg Ile Gly Gln Asp Ser Ala Tyr
 385 390 395 400

GAG CAG GAG GGG AAG GTG CAG TTT GTG ATC GAT GCC GTG TAC GCC ATG 1248
 Glu Gln Glu Gly Lys Val Gln Phe Val Ile Asp Ala Val Tyr Ala Met
 405 410 415

GGC CAC GCG CTG CAC GCC ATG CAC CGT GAC CTG TGT CCC GGC CGC GTG 1296
 Gly His Ala Leu His Ala Met His Arg Asp Leu Cys Pro Gly Arg Val
 420 425 430

GGG CTC TGC CCG CGC ATG GAC CCT GTA GAT GGC ACC CAG CTG CTT AAG 1344
 Gly Leu Cys Pro Arg Met Asp Pro Val Asp Gly Thr Gln Leu Leu Lys
 435 440 445

TAC ATC CGA AAC GTC AAC TTC TCA GGC ATC GCA GGG AAC CCT GTG ACC 1392
 Tyr Ile Arg Asn Val Asn Phe Ser Gly Ile Ala Gly Asn Pro Val Thr
 450 455 460

TTC AAT GAG AAT GGA GAT GCG CCT GGG CGC TAT GAC ATC TAC CAA TAC 1440
 Phe Asn Glu Asn Gly Asp Ala Pro Gly Arg Tyr Asp Ile Tyr Gln Tyr
 465 470 475 480

CAG CTG CGC AAC GAT TCT GCC GAG TAC AAG GTC ATT GGC TCC TGG ACT 1488
 Gln Leu Arg Asn Asp Ser Ala Glu Tyr Lys Val Ile Gly Ser Trp Thr
 485 490 495

GAC CAC CTG CAC CTT AGA ATA GAG CGG ATG CAC TGG CCG GGG AGC GGG 1536
 Asp His Leu His Leu Arg Ile Glu Arg Met His Trp Pro Gly Ser Gly
 500 505 510

CAG CAG CTG CCC CGC TCC ATC TGC AGC CTG CCC TGC CAA CCG GGT GAG 1584
 Gln Gln Leu Pro Arg Ser Ile Cys Ser Leu Pro Cys Gln Pro Gly Glu
 515 520 525

DE 694 34 166 T2 2005.11.10

CGG AAG AAG ACA GTG AAG GGC ATG CCT TGC TGC TGG CAC TGC GAG CCT	1632
Arg Lys Lys Thr Val Lys Gly Met Pro Cys Cys Trp His Cys Glu Pro	
530 535 540	
TGC ACA GGG TAC CAG TAC CAG GTG GAC CGC TAC ACC TGT AAG ACG TGT	1680
Cys Thr Gly Tyr Gln Tyr Gln Val Asp Arg Tyr Thr Cys Lys Thr Cys	
545 550 555 560	
CCC TAT GAC ATG CGG CCC ACA GAG AAC CGC ACG GGC TGC CGG CCC ATC	1728
Pro Tyr Asp Met Arg Pro Thr Glu Asn Arg Thr Gly Cys Arg Pro Ile	
565 570 575	
CCC ATC ATC AAG CTT GAG TGG GGC TCG CCC TGG GCC GTG CTG CCC CTC	1776
Pro Ile Ile Lys Leu Glu Trp Gly Ser Pro Trp Ala Val Leu Pro Leu	
580 585 590	
TTC CTG GCC GTG GTG GGC ATC GCT GCC ACG TTG TTC GTG GTG ATC ACC	1824
Phe Leu Ala Val Val Gly Ile Ala Ala Thr Leu Phe Val Val Ile Thr	
595 600 605	
TTT GTG CGC TAC AAC GAC ACG CCC ATC GTC AAG GCC TCG GGC CGT GAA	1872
Phe Val Arg Tyr Asn Asp Thr Pro Ile Val Lys Ala Ser Gly Arg Glu	
610 615 620	
CTG AGC TAC GTG CTG CTG GCA GGC ATC TTC CTG TGC TAT GCC ACC ACC	1920
Leu Ser Tyr Val Leu Leu Ala Gly Ile Phe Leu Cys Tyr Ala Thr Thr	
625 630 635 640	
TTC CTC ATG ATC GCT GAG CCC GAC CTT GGC ACC TGC TCG CTG CGC CGA	1968
Phe Leu Met Ile Ala Glu Pro Asp Leu Gly Thr Cys Ser Leu Arg Arg	
645 650 655	
ATC TTC CTG GGA CTA GGG ATG AGC ATC AGC TAT GCA GCC CTG CTC ACC	2016
Ile Phe Leu Gly Leu Gly Met Ser Ile Ser Tyr Ala Ala Leu Leu Thr	
660 665 670	

DE 694 34 166 T2 2005.11.10

AAG ACC AAC CGC ATC TAC CGC ATC TTC GAG CAG GGC AAG CGC TCG GTC	2064
Lys Thr Asn Arg Ile Tyr Arg Ile Phe Glu Gln Gly Lys Arg Ser Val	
675 680 685	
AGT GCC CCA CGC TTC ATC AGC CCC GCC TCA CAG CTG GCC ATC ACC TTC	2112
Ser Ala Pro Arg Phe Ile Ser Pro Ala Ser Gln Leu Ala Ile Thr Phe	
690 695 700	
AGC CTC ATC TCG CTG CAG CTG CTG GGC ATC TGT GTG TGG TTT GTG GTG	2160
Ser Leu Ile Ser Leu Gln Leu Leu Gly Ile Cys Val Trp Phe Val Val	
705 710 715 720	
GAC CCC TCC CAC TCG GTG GTG GAC TTC CAG GAC CAG CGG ACA CTC GAC	2208
Asp Pro Ser His Ser Val Val Asp Phe Gln Asp Gln Arg Thr Leu Asp	
725 730 735	
CCC CGC TTC GCC AGG GGT GTG CTC AAG TGT GAC ATC TCG GAC CTG TCG	2256
Pro Arg Phe Ala Arg Gly Val Leu Lys Cys Asp Ile Ser Asp Leu Ser	
740 745 750	
CTC ATC TGC CTG CTG GGC TAC AGC ATG CTG CTC ATG GTC ACG TGC ACC	2304
Leu Ile Cys Leu Leu Gly Tyr Ser Met Leu Leu Met Val Thr Cys Thr	
755 760 765	
GTG TAT GCC ATC AAG ACA CGC GGC GTG CCC GAG ACC TTC AAT GAG GCC	2352
Val Tyr Ala Ile Lys Thr Arg Gly Val Pro Glu Thr Phe Asn Glu Ala	
770 775 780	
AAG CCC ATT GGC TTC ACC ATG TAC ACC ACT TGC ATC GTC TGG CTG GCC	2400
Lys Pro Ile Gly Phe Thr Met Tyr Thr Thr Cys Ile Val Trp Leu Ala	
785 790 795 800	
TTC ATC CCC ATC TTC TTT GGC ACC TCG CAG TCG GCC GAC AAG CTG TAC	2448
Phe Ile Pro Ile Phe Phe Gly Thr Ser Gln Ser Ala Asp Lys Leu Tyr	
805 810 815	

DE 694 34 166 T2 2005.11.10

ATC CAG ACG ACG ACG CTG ACG GTC TCG GTG AGT CTG AGC GCC TCG GTG	2496
Ile Gln Thr Thr Thr Leu Thr Val Ser Val Ser Leu Ser Ala Ser Val	
820 825 830	
TCC CTG GGA ATG CTC TAC ATG CCC AAA GTC TAC ATC ATC CTC TTC CAC	2544
Ser Leu Gly Met Leu Tyr Met Pro Lys Val Tyr Ile Ile Leu Phe His	
835 840 845	
CCG GAG CAG AAC GTG CCC AAG CGC AAG CGC AGC CTC AAA GCC GTC GTT	2592
Pro Glu Gln Asn Val Pro Lys Arg Lys Arg Ser Leu Lys Ala Val Val	
850 855 860	
ACG GCG GCC ACC ATG TCC AAC AAG TTC ACG CAG AAG GGC AAC TTC CGG	2640
Thr Ala Ala Thr Met Ser Asn Lys Phe Thr Gln Lys Gly Asn Phe Arg	
865 870 875 880	
CCC AAC GGA GAG GCC AAG TCT GAG CTC TGC GAG AAC CTT GAG GCC CCA	2688
Pro Asn Gly Glu Ala Lys Ser Glu Leu Cys Glu Asn Leu Glu Ala Pro	
885 890 895	
GCG CTG GCC ACC AAA CAG ACT TAC GTC ACT TAC ACC AAC CAT GCA ATC	2736
Ala Leu Ala Thr Lys Gln Thr Tyr Val Thr Tyr Thr Asn His Ala Ile	
900 905 910	
TA	2739

(2) Information für SEQ ID Nr: 2

(i) Sequenzeigenschaften:

(A) Länge:	912 Aminosäuren
(B) Typ:	Aminosäure
(D) Topologie:	linear

(ii) Molekültyp:

Protein

(xi) Sequenzbeschreibung: SEQ ID Nr: 2

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

DE 694 34 166 T2 2005.11.10

Ile Ser Tyr Ala Ser Thr Ala Pro Asp Leu Ser Asp Asn Ser Arg Tyr
 180 185 190

Asp Phe Phe Ser Arg Val Val Pro Ser Asp Thr Tyr Gln Ala Gln Ala
 195 200 205

Met Val Asp Ile Val Arg Ala Leu Lys Trp Asn Tyr Val Ser Thr Val
 210 215 220

Ala Ser Glu Gly Ser Tyr Gly Glu Ser Gly Val Glu Ala Phe Ile Gln
 225 230 235 240

Lys Ser Arg Glu Asp Gly Gly Val Cys Ile Ala Gln Ser Val Lys Ile
 245 250 255

Pro Arg Glu Pro Lys Ala Gly Glu Phe Asp Lys Ile Ile Arg Arg Leu
 260 265 270

Leu Glu Thr Ser Asn Ala Arg Ala Val Ile Ile Phe Ala Asn Glu Asp
 275 280 285

Asp Ile Arg Arg Val Leu Glu Ala Ala Arg Arg Ala Asn Gln Thr Gly
 290 295 300

His Phe Phe Trp Met Gly Ser Asp Ser Trp Gly Ser Lys Ile Ala Pro
 305 310 315 320

Val Leu His Leu Glu Glu Val Ala Glu Gly Ala Val Thr Ile Leu Pro
 325 330 335

Lys Arg Met Ser Val Arg Gly Phe Asp Arg Tyr Phe Ser Ser Arg Thr
 340 345 350

Leu Asp Asn Asn Arg Arg Asn Ile Trp Phe Ala Glu Phe Trp Glu Asp
 355 360 365

DE 694 34 166 T2 2005.11.10

Asn Phe His Cys Lys Leu Ser Arg His Ala Leu Lys Lys Gly Ser His
 370 375 380

Val Lys Lys Cys Thr Asn Arg Glu Arg Ile Gly Gln Asp Ser Ala Tyr
 385 390 395 400

Glu Gln Glu Gly Lys Val Gln Phe Val Ile Asp Ala Val Tyr Ala Met
 405 410 415

Gly His Ala Leu His Ala Met His Arg Asp Leu Cys Pro Gly Arg Val
 420 425 430

Gly Leu Cys Pro Arg Met Asp Pro Val Asp Gly Thr Gln Leu Leu Lys
 435 440 445

Tyr Ile Arg Asn Val Asn Phe Ser Gly Ile Ala Gly Asn Pro Val Thr
 450 455 460

Phe Asn Glu Asn Gly Asp Ala Pro Gly Arg Tyr Asp Ile Tyr Gln Tyr
 465 470 475 480

Gln Leu Arg Asn Asp Ser Ala Glu Tyr Lys Val Ile Gly Ser Trp Thr
 485 490 495

Asp His Leu His Leu Arg Ile Glu Arg Met His Trp Pro Gly Ser Gly
 500 505 510

Gln Gln Leu Pro Arg Ser Ile Cys Ser Leu Pro Cys Gln Pro Gly Glu
 515 520 525

Arg Lys Lys Thr Val Lys Gly Met Pro Cys Cys Trp His Cys Glu Pro
 530 535 540

Cys Thr Gly Tyr Gln Tyr Gln Val Asp Arg Tyr Thr Cys Lys Thr Cys
 545 550 555 560

Pro Tyr Asp Met Arg Pro Thr Glu Asn Arg Thr Gly Cys Arg Pro Ile
 565 570 575

Pro Ile Ile Lys Leu Glu Trp Gly Ser Pro Trp Ala Val Leu Pro Leu
 580 585 590

Phe Leu Ala Val Val Gly Ile Ala Ala Thr Leu Phe Val Val Ile Thr
 595 600 605

Phe Val Arg Tyr Asn Asp Thr Pro Ile Val Lys Ala Ser Gly Arg Glu
 610 615 620

Leu Ser Tyr Val Leu Leu Ala Gly Ile Phe Leu Cys Tyr Ala Thr Thr
 625 630 635 640

Phe Leu Met Ile Ala Glu Pro Asp Leu Gly Thr Cys Ser Leu Arg Arg
 645 650 655

Ile Phe Leu Gly Leu Gly Met Ser Ile Ser Tyr Ala Ala Leu Leu Thr
 660 665 670

Lys Thr Asn Arg Ile Tyr Arg Ile Phe Glu Gln Gly Lys Arg Ser Val
 675 680 685

Ser Ala Pro Arg Phe Ile Ser Pro Ala Ser Gln Leu Ala Ile Thr Phe
 690 695 700

Ser Leu Ile Ser Leu Gln Leu Leu Gly Ile Cys Val Trp Phe Val Val
 705 710 715 720

Asp Pro Ser His Ser Val Val Asp Phe Gln Asp Gln Arg Thr Leu Asp
 725 730 735

Pro Arg Phe Ala Arg Gly Val Leu Lys Cys Asp Ile Ser Asp Leu Ser
 740 745 750

Leu Ile Cys Leu Leu Gly Tyr Ser Met Leu Leu Met Val Thr Cys Thr
 755 760 765

Val Tyr Ala Ile Lys Thr Arg Gly Val Pro Glu Thr Phe Asn Glu Ala
 770 775 780

Lys Pro Ile Gly Phe Thr Met Tyr Thr Thr Cys Ile Val Trp Leu Ala
 785 790 795 800

Phe Ile Pro Ile Phe Phe Gly Thr Ser Gln Ser Ala Asp Lys Leu Tyr
 805 810 815

Ile Gln Thr Thr Thr Leu Thr Val Ser Val Ser Leu Ser Ala Ser Val
 820 825 830

Ser Leu Gly Met Leu Tyr Met Pro Lys Val Tyr Ile Ile Leu Phe His
 835 840 845

Pro Glu Gln Asn Val Pro Lys Arg Lys Arg Ser Leu Lys Ala Val Val
 850 855 860

Thr Ala Ala Thr Met Ser Asn Lys Phe Thr Gln Lys Gly Asn Phe Arg
 865 870 875 880

Pro Asn Gly Glu Ala Lys Ser Glu Leu Cys Glu Asn Leu Glu Ala Pro
 885 890 895

Ala Leu Ala Thr Lys Gln Thr Tyr Val Thr Tyr Thr Asn His Ala Ile
 900 905 910

(2) Information für SEQ ID Nr: 3

(i) Sequenzeigenschaften:

(A) Länge: 3804 Basenpaare
 (B) Typ: Nukleinsäure
 (C) Strangart: Einzelstrang
 (D) Topologie: linear

(ii) Molekültyp: DNA (genomisch)

(ix) Merkmal:

(A) Name/Schlüssel: CDS
 (B) Lage: 1...2604
 (D) Andere Information: Produkt = "für hmGluR7 kodierende Region von cmR2"

(xi) Sequenzbeschreibung: SEQ ID Nr: 3

```

CCC GTA CAC GCC AAG GGT CCC AGC GGA GTG CCC TGC GGC GAC ATC AAG      48
Pro Val His Ala Lys Gly Pro Ser Gly Val Pro Cys Gly Asp Ile Lys
  1                5                10                15

AGG GAA AAC GGG ATC CAC AGG CTG GAA GCG ATG CTC TAC GCC CTG GAC      96
Arg Glu Asn Gly Ile His Arg Leu Glu Ala Met Leu Tyr Ala Leu Asp
          20                25                30

CAG ATC AAC AGT GAT CCC AAC CTA CTG CCC AAC GTG ACG CTG GGC GCG .    144
Gln Ile Asn Ser Asp Pro Asn Leu Leu Pro Asn Val Thr Leu Gly Ala
          35                40                45

```

DE 694 34 166 T2 2005.11.10

CGG ATC CTG GAC ACT TGT TCC AGG GAC ACT TAC GCG CTC GAA CAG TCG	192
Arg Ile Leu Asp Thr Cys Ser Arg Asp Thr Tyr Ala Leu Glu Gln Ser	
50 55 60	
CTT ACT TTC GTC CAG GCG CTC ATC CAG AAG GAC ACC TCC GAC GTG CGC	240
Leu Thr Phe Val Gln Ala Leu Ile Gln Lys Asp Thr Ser Asp Val Arg	
65 70 75 80	
TGC ACC AAC GGC GAA CCG CCG GTT TTC GTC AAG CCG GAG AAA GTA GTT	288
Cys Thr Asn Gly Glu Pro Pro Val Phe Val Lys Pro Glu Lys Val Val	
85 90 95	
GGA GTG ATT GGG GCT TCG GGG AGT TCG GTC TCC ATC ATG GTA GCC AAC	336
Gly Val Ile Gly Ala Ser Gly Ser Ser Val Ser Ile Met Val Ala Asn	
100 105 110	
ATC CTG AGG CTC TTC CAG ATC CCC CAG ATT AGT TAT GCA TCA ACG GCA	384
Ile Leu Arg Leu Phe Gln Ile Pro Gln Ile Ser Tyr Ala Ser Thr Ala	
115 120 125	
CCC GAG CTA AGT GAT GAC CGG CGC TAT GAC TTC TTC TCT CGC GTG GTG	432
Pro Glu Leu Ser Asp Asp Arg Arg Tyr Asp Phe Phe Ser Arg Val Val	
130 135 140	
CCA CCC GAT TCC TTC CAA GCC CAG GCC ATG GTA GAC ATT GTA AAG GCC	480
Pro Pro Asp Ser Phe Gln Ala Gln Ala Met Val Asp Ile Val Lys Ala	
145 150 155 160	
CTA GGC TGG AAT TAT GTG TCT ACC CTC GCA TCG GAA GGA AGT TAT GGA	528
Leu Gly Trp Asn Tyr Val Ser Thr Leu Ala Ser Glu Gly Ser Tyr Gly	
165 170 175	
GAG AAA GGT GTG GAG TCC TTC ACG CAG ATT TCC AAA GAG GCA GGT GGA	576
Glu Lys Gly Val Glu Ser Phe Thr Gln Ile Ser Lys Glu Ala Gly Gly	
180 185 190	

DE 694 34 166 T2 2005.11.10

CTC TGC ATT GCC CAG TCC GTG AGA ATC CCC CAG GAA CGC AAA GAC AGG	624
Leu Cys Ile Ala Gln Ser Val Arg Ile Pro Gln Glu Arg Lys Asp Arg	
195 200 205	
ACC ATT GAC TTT GAT AGA ATT ATC AAA CAG CTC CTG GAC ACC CCC AAC	672
Thr Ile Asp Phe Asp Arg Ile Ile Lys Gln Leu Leu Asp Thr Pro Asn	
210 215 220	
TCC AGG GCC GTC GTG ATT TTT GCC AAC GAT GAG GAT ATA AAG CAG ATC	720
Ser Arg Ala Val Val Ile Phe Ala Asn Asp Glu Asp Ile Lys Gln Ile	
225 230 235 240	
CTT GCA GCA GCC AAA AGA GCT GAC CAA GTT GGC CAT TTT CTT TGG GTG	768
Leu Ala Ala Ala Lys Arg Ala Asp Gln Val Gly His Phe Leu Trp Val	
245 250 255	
GGA TCA GAC AGC TGG GGA TCC AAA ATA AAC CCA CTG CAC CAG CAT GAA	816
Gly Ser Asp Ser Trp Gly Ser Lys Ile Asn Pro Leu His Gln His Glu	
260 265 270	
GAT ATC GCA GAA GGG GCC ATC ACC ATT CAG CCC AAG CGA GCC ACG GTG	864
Asp Ile Ala Glu Gly Ala Ile Thr Ile Gln Pro Lys Arg Ala Thr Val	
275 280 285	
GAA GGG TTT GAT GCC TAC TTT ACG TCC CGT ACA CTT GAA AAC AAC AGA	912
Glu Gly Phe Asp Ala Tyr Phe Thr Ser Arg Thr Leu Glu Asn Asn Arg	
290 295 300	
AGA AAT GTA TGG TTT GCC GAA TAC TGG GAG GAA AAC TTC AAC TGC AAG	960
Arg Asn Val Trp Phe Ala Glu Tyr Trp Glu Glu Asn Phe Asn Cys Lys	
305 310 315 320	
TTG ACG ATT AGT GGG TCA AAA AAA GAA GAC ACA GAT CGC AAA TGC ACA	1008
Leu Thr Ile Ser Gly Ser Lys Lys Glu Asp Thr Asp Arg Lys Cys Thr	
325 330 335	

DE 694 34 166 T2 2005.11.10

GGA CAG GAG AGA ATT GGA AAA GAT TCC AAC TAT GAG CAG GAG GGT AAA	1056
Gly Gln Glu Arg Ile Gly Lys Asp Ser Asn Tyr Glu Gln Glu Gly Lys	
340 345 350	
GTC CAG TTC GTG ATT GAC GCA GTC TAT GCT ATG GCT CAC GCC CTT CAC	1104
Val Gln Phe Val Ile Asp Ala Val Tyr Ala Met Ala His Ala Leu His	
355 360 365	
CAC ATG AAC AAG GAT CTC TGT GCT GAC TAC CGG GGT GTC TGC CCA GAG	1152
His Met Asn Lys Asp Leu Cys Ala Asp Tyr Arg Gly Val Cys Pro Glu	
370 375 380	
ATG GAG CAA GCT GGA GGC AAG AAG TTG CTG AAG TAT ATA CGC AAT GTT	1200
Met Glu Gln Ala Gly Gly Lys Lys Leu Leu Lys Tyr Ile Arg Asn Val	
385 390 395 400	
AAT TTC AAT GGT AGT GCT GGC ACT CCA GTG ATG TTT AAC AAG AAC GGG	1248
Asn Phe Asn Gly Ser Ala Gly Thr Pro Val Met Phe Asn Lys Asn Gly	
405 410 415	
GAT GCA CCT GGG CGT TAT GAC ATC TTT CAG TAC CAG ACC ACA AAC ACC	1296
Asp Ala Pro Gly Arg Tyr Asp Ile Phe Gln Tyr Gln Thr Thr Asn Thr	
420 425 430	
AGC AAC CCG GGT TAC CGT CTG ATC GGG CAG TGG ACA GAC GAA CTT CAG	1344
Ser Asn Pro Gly Tyr Arg Leu Ile Gly Gln Trp Thr Asp Glu Leu Gln	
435 440 445	
CTC AAT ATA GAA GAC ATG CAG TGG GGT AAA GGA GTC CGA GAG ATA CCC	1392
Leu Asn Ile Glu Asp Met Gln Trp Gly Lys Gly Val Arg Glu Ile Pro	
450 455 460	
GCC TCA GTG TGC ACA CTA CCA TGT AAG CCA GGA CAG AGA AAG AAG ACA	1440
Ala Ser Val Cys Thr Leu Pro Cys Lys Pro Gly Gln Arg Lys Lys Thr	
465 470 475 480	

DE 694 34 166 T2 2005.11.10

CAG AAA GGA ACT CCT TGC TGT TGG ACC TGT GAG CCT TGC GAT GGT TAC	1488
Gln Lys Gly Thr Pro Cys Cys Trp Thr Cys Glu Pro Cys Asp Gly Tyr	
485 490 495	
CAG TAC CAG TTT GAT GAG ATG ACA TGC CAG CAT TGC CCC TAT GAC CAG	1536
Gln Tyr Gln Phe Asp Glu Met Thr Cys Gln His Cys Pro Tyr Asp Gln	
500 505 510	
AGG CCC AAT GAA AAT CGA ACC GGA TGC CAG GAT ATT CCC ATC ATC AAA	1584
Arg Pro Asn Glu Asn Arg Thr Gly Cys Gln Asp Ile Pro Ile Ile Lys	
515 520 525	
CTG GAG TGG CAC TCC CCC TGG GCT GTG ATT CCT GTC TTC CTG GCA ATG	1632
Leu Glu Trp His Ser Pro Trp Ala Val Ile Pro Val Phe Leu Ala Met	
530 535 540	
TTG GGG ATC ATT GCC ACC ATC TTT GTC ATG GCC ACT TTC ATC CGC TAC	1680
Leu Gly Ile Ile Ala Thr Ile Phe Val Met Ala Thr Phe Ile Arg Tyr	
545 550 555 560	
AAT GAC ACG CCC ATT GTC CGG GCA TCT GGG CGG GAA CTC AGC TAT GTT	1728
Asn Asp Thr Pro Ile Val Arg Ala Ser Gly Arg Glu Leu Ser Tyr Val	
565 570 575	
CTT TTG ACG GGC ATC TTT CTT TGC TAC ATC ATC ACT TTC CTG ATG ATT	1776
Leu Leu Thr Gly Ile Phe Leu Cys Tyr Ile Ile Thr Phe Leu Met Ile	
580 585 590	
GCC AAA CCA GAT GTG GCA GTG TGT TCT TTC CGG CGA GTT TTC TTG GGC	1824
Ala Lys Pro Asp Val Ala Val Cys Ser Phe Arg Arg Val Phe Leu Gly	
595 600 605	
TTG GGT ATG TGC ATC AGT TAT GCA GCC CTC TTG ACG AAA ACA AAT CGG	1872
Leu Gly Met Cys Ile Ser Tyr Ala Ala Leu Leu Thr Lys Thr Asn Arg	
610 615 620	

DE 694 34 166 T2 2005.11.10

ATT TAT CGC ATA TTT GAG CAG GGC AAG AAA TCA GTA ACA GCT CCC AGA	1920
Ile Tyr Arg Ile Phe Glu Gln Gly Lys Lys Ser Val Thr Ala Pro Arg	
625 630 635 640	
CTC ATA AGC CCA ACA TCA CAA CTG GCA ATC ACT TCC AGT TTA ATA TCA	1968
Leu Ile Ser Pro Thr Ser Gln Leu Ala Ile Thr Ser Ser Leu Ile Ser	
645 650 655	
GTT CAG CTT CTA GGG GTG TTC ATT TGG TTT GGT GTP GAT CCA CCC AAC	2016
Val Gln Leu Leu Gly Val Phe Ile Trp Phe Gly Val Asp Pro Pro Asn	
660 665 670	
ATC ATC ATA GAC TAC GAT GAA CAC AAG ACA ATG AAC CCT GAG CAA GCC	2064
Ile Ile Ile Asp Tyr Asp Glu His Lys Thr Met Asn Pro Glu Gln Ala	
675 680 685	
AGA GGG GTT CTC AAG TGT GAC ATT ACA GAT CTC CAA ATC ATT TGC TCC	2112
Arg Gly Val Leu Lys Cys Asp Ile Thr Asp Leu Gln Ile Ile Cys Ser	
690 695 700	
TTG GGA TAT AGC ATT CTT CTC ATG GTC ACA TGT ACT GTG TAT GCC ATC	2160
Leu Gly Tyr Ser Ile Leu Leu Met Val Thr Cys Thr Val Tyr Ala Ile	
705 710 715 720	
AAG ACT CGG GGT GTA CCC GAG AAT TTT AAC GAA GCC AAG CCC ATT GGA	2208
Lys Thr Arg Gly Val Pro Glu Asn Phe Asn Glu Ala Lys Pro Ile Gly	
725 730 735	
TTC ACT ATG TAC ACG ACA TGT ATA GTA TGG CTT GCC TTC ATT CCA ATT	2256
Phe Thr Met Tyr Thr Thr Cys Ile Val Trp Leu Ala Phe Ile Pro Ile	
740 745 750	
TTT TTT GGC ACC GCT CAA TCA GCG GAA AAG CTC TAC ATA CAA ACT ACC	2304
Phe Phe Gly Thr Ala Gln Ser Ala Glu Lys Leu Tyr Ile Gln Thr Thr	
755 760 765	

DE 694 34 166 T2 2005.11.10

ACG CTT ACA ATC TCC ATG AAC CTA AGT GCA TCA GTG GCG CTG GGG ATG 2352
 Thr Leu Thr Ile Ser Met Asn Leu Ser Ala Ser Val Ala Leu Gly Met
 770 775 780

CTA TAC ATG CCG AAA GTG TAC ATC ATC ATT TTC CAC CCT GAA CTC AAT 2400
 Leu Tyr Met Pro Lys Val Tyr Ile Ile Ile Phe His Pro Glu Leu Asn
 785 790 795 800

GTC CAG AAA CGG AAG CGA AGC TTC AAG GCG GTA GTC ACA GCA GCC ACC 2448
 Val Gln Lys Arg Lys Arg Ser Phe Lys Ala Val Val Thr Ala Ala Thr
 805 810 815

ATG TCA TCG AGG CTG TCA CAC AAA CCC AGT GAC AGA CCC AAC GGT GAG 2496
 Met Ser Ser Arg Leu Ser His Lys Pro Ser Asp Arg Pro Asn Gly Glu
 820 825 830

GCA AAG ACC GAG CTC TGT GAA AAC GTA GAC CCA AAC AAC TGT ATA CCA 2544
 Ala Lys Thr Glu Leu Cys Glu Asn Val Asp Pro Asn Asn Cys Ile Pro
 835 840 845

CCA GTA AGA AAG AGT GTA CAA AAG TCT GTT ACT TGG TAC ACT ATC CCA 2592
 Pro Val Arg Lys Ser Val Gln Lys Ser Val Thr Trp Tyr Thr Ile Pro
 850 855 860

CCA ACA GTA TAGCTTTTGA CTGCTTTCCC AAAGGCCCTG CTGCAAAAAA 2641
 Pro Thr Val
 865

GAAGTATGTC AGTTATAATA ACCTGGTTAT CTAACCTGTT CCATTCCATG GAACCATGGA 2701

GGAGGAAGAC CCTCAGTTAT TTTGTCACCC AACCTGGCAT AGGACTCTTT GGTCCCTACCC 2761

GCTTCCCATC ACCGGAGGAG CTTCCCCGGC CGGGAGACCA GTGTTAGAGG ATCCAAGCGA 2821

CCTAAACAGC TGCTTTTATGA AATATCCTTA CTTTATCTGG GCTTAATAAG TCACTGACAT 2881

CAGCACTGCC AACTTGGCTG CAATTGTGGA CCTTCCCTAC CAAAGGGAGT GTTGAAACTC 2941
 AAGTCCCGCC CCGGCTCTTT AGAATGGACC ACTGAGAGCC ACAGGACCGT TTTGGGGCTG 3001
 ACCTGTCTTA TTACGTATGT ACTTCTAGGT TGCAAGGTTT TGAAATTTTC TGTACAGTTT 3061
 GTGAGGACCT TTGCACTTTG CCATCTGATG TCGTACCTCG GTTCACTGTT TGTMTTCGAA 3121
 TGCCTTGTTT TCATAGAGCC CTATTCTCTC AGACGGTGGG ATATTTGGAA AAATTTTAAA 3181
 ACAATTAAAA TTTTAAAGCA ATCTTGGCAG ACTAAAACAA GTACATCTGT ACATGACTGT 3241
 ATAATTACGT TATAGTACCA CTGCACATCA TGTMTMTMTT TTTAAGACAA AAAAGATGTT 3301
 TAAAGACCAA AAAGTGTGCT GAGNAAGTAT GCCCCACCTA TCTTTNGNAT ATGATAGGTT 3361
 ACATAAAAGG AAGGTATTGG CTGAACTGNA TAGAGGTCTT GATCTTTGGA ATGCATGCCA 3421
 GTAATGTATT TACAGTACAT GTTTATTATG TTCAATATTT GTATTTGTGT TCTCTTTTGT 3481
 TATMTTTAAT TAGNGTATAT GAATATMTTG CAATAATMTT AATAATTATT AAGCTGTTTG 3541
 AAGGAAAGAA TATGGATTTT TCATGTCTTG AGGTTTTGTT CATGCCCCCT TTGACTGATC 3601
 AGTGTGATAA GGACTTTAGG AAAAAAAGCA TGTATGTTTT TTAAGTTTG TAATAAGTAC 3661
 TTTCGTTAAT CTTGCTGCTT ATGTGCCAAT TTAGTGGAAA AGAACAACCC TTGCTGAAAA 3721
 ATCCCTCTT TCCATTCTCT TTCAATTCTG TGATATTGTC CAAGAATGTA TCAATAAAAT 3781
 ACTTTGGTTA ACTTTAAAA AAA 3804

(2) Information für SEQ ID Nr: 4

(i) Sequenzeigenschaften:

(A) Länge: 867 Aminosäuren
 (B) Typ: Aminosäure
 (D) Topologie: linear

(ii) Molekültyp: Protein

(xi) Sequenzbeschreibung: SEQ ID Nr: 4

```

Pro Val His Ala Lys Gly Pro Ser Gly Val Pro Cys Gly Asp Ile Lys
  1                5                10                15

Arg Glu Asn Gly Ile His Arg Leu Glu Ala Met Leu Tyr Ala Leu Asp
      20                25                30

Gln Ile Asn Ser Asp Pro Asn Leu Leu Pro Asn Val Thr Leu Gly Ala
      35                40                45

Arg Ile Leu Asp Thr Cys Ser Arg Asp Thr Tyr Ala Leu Glu Gln Ser
      50                55                60

Leu Thr Phe Val Gln Ala Leu Ile Gln Lys Asp Thr Ser Asp Val Arg
      65                70                75                80

Cys Thr Asn Gly Glu Pro Pro Val Phe Val Lys Pro Glu Lys Val Val
      85                90                95

Gly Val Ile Gly Ala Ser Gly Ser Ser Val Ser Ile Met Val Ala Asn
      100                105                110

Ile Leu Arg Leu Phe Gln Ile Pro Gln Ile Ser Tyr Ala Ser Thr Ala
      115                120                125

```

DE 694 34 166 T2 2005.11.10

Pro Glu Leu Ser Asp Asp Arg Arg Tyr Asp Phe Phe Ser Arg Val Val
 130 135 140

Pro Pro Asp Ser Phe Gln Ala Gln Ala Met Val Asp Ile Val Lys Ala
 145 150 155 160

Leu Gly Trp Asn Tyr Val Ser Thr Leu Ala Ser Glu Gly Ser Tyr Gly
 165 170 175

Glu Lys Gly Val Glu Ser Phe Thr Gln Ile Ser Lys Glu Ala Gly Gly
 180 185 190

Leu Cys Ile Ala Gln Ser Val Arg Ile Pro Gln Glu Arg Lys Asp Arg
 195 200 205

Thr Ile Asp Phe Asp Arg Ile Ile Lys Gln Leu Leu Asp Thr Pro Asn
 210 215 220

Ser Arg Ala Val Val Ile Phe Ala Asn Asp Glu Asp Ile Lys Gln Ile
 225 230 235 240

Leu Ala Ala Ala Lys Arg Ala Asp Gln Val Gly His Phe Leu Trp Val
 245 250 255

Gly Ser Asp Ser Trp Gly Ser Lys Ile Asn Pro Leu His Gln His Glu
 260 265 270

Asp Ile Ala Glu Gly Ala Ile Thr Ile Gln Pro Lys Arg Ala Thr Val
 275 280 285

Glu Gly Phe Asp Ala Tyr Phe Thr Ser Arg Thr Leu Glu Asn Asn Arg
 290 295 300

Arg Asn Val Trp Phe Ala Glu Tyr Trp Glu Glu Asn Phe Asn Cys Lys
 305 310 315 320

DE 694 34 166 T2 2005.11.10

Leu Thr Ile Ser Gly Ser Lys Lys Glu Asp Thr Asp Arg Lys Cys Thr
 325 330 335

Gly Gln Glu Arg Ile Gly Lys Asp Ser Asn Tyr Glu Gln Glu Gly Lys
 340 345 350

Val Gln Phe Val Ile Asp Ala Val Tyr Ala Met Ala His Ala Leu His
 355 360 365

His Met Asn Lys Asp Leu Cys Ala Asp Tyr Arg Gly Val Cys Pro Glu
 370 375 380

Met Glu Gln Ala Gly Gly Lys Lys Leu Leu Lys Tyr Ile Arg Asn Val
 385 390 395 400

Asn Phe Asn Gly Ser Ala Gly Thr Pro Val Met Phe Asn Lys Asn Gly
 405 410 415

Asp Ala Pro Gly Arg Tyr Asp Ile Phe Gln Tyr Gln Thr Thr Asn Thr
 420 425 430

Ser Asn Pro Gly Tyr Arg Leu Ile Gly Gln Trp Thr Asp Glu Leu Gln
 435 440 445

Leu Asn Ile Glu Asp Met Gln Trp Gly Lys Gly Val Arg Glu Ile Pro
 450 455 460

Ala Ser Val Cys Thr Leu Pro Cys Lys Pro Gly Gln Arg Lys Lys Thr
 465 470 475 480

Gln Lys Gly Thr Pro Cys Cys Trp Thr Cys Glu Pro Cys Asp Gly Tyr
 485 490 495

Gln Tyr Gln Phe Asp Glu Met Thr Cys Gln His Cys Pro Tyr Asp Gln
 500 505 510

Arg Pro Asn Glu Asn Arg Thr Gly Cys Gln Asp Ile Pro Ile Ile Lys
 515 520 525

Leu Glu Trp His Ser Pro Trp Ala Val Ile Pro Val Phe Leu Ala Met
 530 535 540

Leu Gly Ile Ile Ala Thr Ile Phe Val Met Ala Thr Phe Ile Arg Tyr
 545 550 555 560

Asn Asp Thr Pro Ile Val Arg Ala Ser Gly Arg Glu Leu Ser Tyr Val
 565 570 575

Leu Leu Thr Gly Ile Phe Leu Cys Tyr Ile Ile Thr Phe Leu Met Ile
 580 585 590

Ala Lys Pro Asp Val Ala Val Cys Ser Phe Arg Arg Val Phe Leu Gly
 595 600 605

Leu Gly Met Cys Ile Ser Tyr Ala Ala Leu Leu Thr Lys Thr Asn Arg
 610 615 620

Ile Tyr Arg Ile Phe Glu Gln Gly Lys Lys Ser Val Thr Ala Pro Arg
 625 630 635 640

Leu Ile Ser Pro Thr Ser Gln Leu Ala Ile Thr Ser Ser Leu Ile Ser
 645 650 655

Val Gln Leu Leu Gly Val Phe Ile Trp Phe Gly Val Asp Pro Pro Asn
 660 665 670

Ile Ile Ile Asp Tyr Asp Glu His Lys Thr Met Asn Pro Glu Gln Ala
 675 680 685

Arg Gly Val Leu Lys Cys Asp Ile Thr Asp Leu Gln Ile Ile Cys Ser
 690 695 700

Leu Gly Tyr Ser Ile Leu Leu Met Val Thr Cys Thr Val Tyr Ala Ile
 705 710 715 720

Lys Thr Arg Gly Val Pro Glu Asn Phe Asn Glu Ala Lys Pro Ile Gly
 725 730 735

Phe Thr Met Tyr Thr Thr Cys Ile Val Trp Leu Ala Phe Ile Pro Ile
 740 745 750

Phe Phe Gly Thr Ala Gln Ser Ala Glu Lys Leu Tyr Ile Gln Thr Thr
 755 760 765

Thr Leu Thr Ile Ser Met Asn Leu Ser Ala Ser Val Ala Leu Gly Met
 770 775 780

Leu Tyr Met Pro Lys Val Tyr Ile Ile Ile Phe His Pro Glu Leu Asn
 785 790 795 800

Val Gln Lys Arg Lys Arg Ser Phe Lys Ala Val Val Thr Ala Ala Thr
 805 810 815

Met Ser Ser Arg Leu Ser His Lys Pro Ser Asp Arg Pro Asn Gly Glu
 820 825 830

Ala Lys Thr Glu Leu Cys Glu Asn Val Asp Pro Asn Asn Cys Ile Pro
 835 840 845

Pro Val Arg Lys Ser Val Gln Lys Ser Val Thr Trp Tyr Thr Ile Pro
 850 855 860

Pro Thr Val
 865

(2) Information für SEQ ID Nr: 5

(i) Sequenzeigenschaften:

(A) Länge: 1399 Basenpaare
 (B) Typ: Nukleinsäure
 (C) Strangart: Einzelstrang
 (D) Topologie: linear

(ii) Molekültyp: cDNA

(ix) Merkmal:

(A) Name/Schlüssel: CDS
 (B) Lage: 1...270
 (D) Andere Information: Produkt = "für hmGluR7 kodierende Region von cmR3"

(xi) Sequenzbeschreibung: SEQ ID Nr: 5

```

ATC TCC ATG AAC CTA AGT GCA TCA GTG GCG CTG GGG ATG CTA TAC ATG      48
Ile Ser Met Asn Leu Ser Ala Ser Val Ala Leu Gly Met Leu Tyr Met
  1             5             10             15

CCG AAA GTG TAC ATC ATC ATT TTC CAC CCT GAA CTC AAT GTC CAG AAA      96
Pro Lys Val Tyr Ile Ile Ile Phe His Pro Glu Leu Asn Val Gln Lys
          20             25             30

CGG AAG CGA AGC TTC AAG GCG GTA GTC ACA GCA GCC ACC ATG TCA TCG     144
Arg Lys Arg Ser Phe Lys Ala Val Val Thr Ala Ala Thr Met Ser Ser
          35             40             45

AGG CTG TCA CAC AAA CCC AGT GAC AGA CCC AAC GGT GAG GCA AAG ACC     192
Arg Leu Ser His Lys Pro Ser Asp Arg Pro Asn Gly Glu Ala Lys Thr
          50             55             60

```


DE 694 34 166 T2 2005.11.10

GAG CTC TGT GAA AAC GTA GAC CCA AAC AGC CCT GCT GCA AAA AAG AAG 240
 Glu Leu Cys Glu Asn Val Asp Pro Asn Ser Pro Ala Ala Lys Lys Lys
 65 70 75 80

TAT GTC AGT TAT AAT AAC CTG GTT ATC TAACCTGTTT CATTCCATGG 287
 Tyr Val Ser Tyr Asn Asn Leu Val Ile
 85 90

AACCATGGAG GAGGAAGACC CTCAGTTATT TTGTCACCCA ACCTGGCATA GGACTCTTTG 347

GTCCTACCCG CTTCATCA CCGGAGGAGC TTCCCGGCC GGGAGACCAG TGTTAGAGGA 407

TCCAAGCGAC CTAAACAGCT GCTTTATGAA ATATCCTTAC TTTATCTGGG: CTTAATAAGT 467

CACTGACATC AGCACTGCCA ACTTGGCTGC AATTGTGGAC CTTCCCTACC AAAGGGAGTG 527

TTGAAACTCA AGTCCCGCCC CGGCTCTTTA GAATGGACCA CTGAGAGCCA CAGGACCGTT 587

TTGGGGCTGA CCTGTCTTAT TACGTATGTA CTTCTAGGTT GCAAGGTTTT GAAATTTTCT 647

GTACAGTTTG TGAGGACCTT TGCACCTTGC CATCTGATGT CGTACCTCGG TTCACTGTTT 707

GTTTTCGAAT GCCTTGTTTT CATAGAGCCC TATTCTCTCA GACGGTGGAA: TATTTGGAAA 767

AATTTTAAAA CAATTAAAAT TTTAAAGCAA TCTTGGCAGA CTAAAACAAG TACATCTGTA 827

CATGACTGTA TAATTACGTT ATAGTACCAC TGCACATCAT GTTTTTTTTT: TTAAGACAAA 887

AAAGATGTTT AAAGACCAA AACTGTGCTG AGNAAGTATG CCCACCTAT CTTTNGNATA 947

TGATAGGTTA CATAAAAGGA AGGTATTGGC TGAAGTGNAT AGAGGTCCTG ATCTTTGGAA 1007

TGCATGCCAG TAATGTATTT ACAGTACATG TTTATTATGT TCAATATTTG TATTTGTGTT 1067

CTCTTTTGTT ATTTTAAATT AGNGTATATG AATATTTTGC AATAATTTTA ATAATTATTA 1127

AGCTGTTTGA AGGAAAGAAT ATGGATTTTT CATGTCTTGA GTTTTGTTC ATGCCCCCTT 1187
 TGA CTGATCA GTGTGATAAG GACTTTAGGA AAAAAAGCAT GTATGTTTTT TACTGTTTGT 1247
 AATAAGTACT TTCGTTAATC TTGCTGCTTA TGTGCCAATT TAGTGAAAA GAACAACCCT 1307
 TGCTGAAAAA TTCCCTCTTT CCATTCTCTT TCAATTCTGT GATATTGTCC AAGAATGTAT 1367
 CAATAAAATA CTTTGGTTAA CTTTAAAAAA AA 1399

(2) Information für SEQ ID Nr: 6

(i) Sequenzeigenschaften:

(A) Länge: 89 Aminosäuren
 (B) Typ: Aminosäure
 (D) Topologie: linear

(ii) Molekültyp: Protein

(xi) Sequenzbeschreibung: SEQ ID Nr: 6

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

Tyr Val Ser Tyr Asn Asn Leu Val Ile

85

(2) Information für SEQ ID Nr: 7

(i) Sequenzeigenschaften:

(A) Länge: 1588 Basenpaare
 (B) Typ: Nukleinsäure
 (C) Strangart: Einzelstrang
 (D) Topologie: linear

(ii) Molekültyp: cDNA

(ix) Merkmal:

(A) Name/Schlüssel: CDS
 (B) Lage: 2...1447
 (D) Andere Information: Produkt = "für hmGluR7 kodierender Teil von cmR5"

(xi) Sequenzbeschreibung: SEQ ID Nr: 7

```

G AAC AAG GAT CTC TGT GCT GAC TAC CGG GGT GTC TGC CCA GAG ATG .      46
  Asn Lys Asp Leu Cys Ala Asp Tyr Arg Gly Val Cys Pro Glu Met
    1             5             10             15

GAG CAA GCT GGA GGC AAG AAG TTG CTG AAG TAT ATA CGC AAT GTT AAT      94
Glu Gln Ala Gly Gly Lys Lys Leu Leu Lys Tyr Ile Arg Asn Val Asn
          20             25             30

TTC AAT GGT AGT GCT GGC ACT CCA GTG ATG TTT AAC AAG AAC GGG GAT      142
Phe Asn Gly Ser Ala Gly Thr Pro Val Met Phe Asn Lys Asn Gly Asp
          35             40             45

```

DE 694 34 166 T2 2005.11.10

GCA CCT GGG CGT TAT GAC ATC TTT CAG TAC CAG ACC ACA AAC ACC AGC	190
Ala Pro Gly Arg Tyr Asp Ile Phe Gln Tyr Gln Thr Thr Asn Thr Ser	
50 55 60	
AAC CCG GGT TAC CGT CTG ATC GGG CAG TGG ACA GAC GAA CTT CAG CTC	238
Asn Pro Gly Tyr Arg Leu Ile Gly Gln Trp Thr Asp Glu Leu Gln Leu	
65 70 75	
AAT ATA GAA GAC ATG CAG TGG GGT AAA GGA GTC CGA GAG ATA CCC GCC	286
Asn Ile Glu Asp Met Gln Trp Gly Lys Gly Val Arg Glu Ile Pro Ala	
80 85 90 95	
TCA GTG TGC ACA CTA CCA TGT AAG CCA GGA CAG AGA AAG AAG ACA CAG	334
Ser Val Cys Thr Leu Pro Cys Lys Pro Gly Gln Arg Lys Lys Thr Gln	
100 105 110	
AAA GGA ACT CCT TGC TGT TGG ACC TGT GAG CCT TGC GAT GGT TAC CAG	382
Lys Gly Thr Pro Cys Cys Trp Thr Cys Glu Pro Cys Asp Gly Tyr Gln	
115 120 125	
TAC CAG TTT GAT GAG ATG ACA TGC CAG CAT TGC CCC TAT GAC CAG AGG	430
Tyr Gln Phe Asp Glu Met Thr Cys Gln His Cys Pro Tyr Asp Gln Arg	
130 135 140	
CCC AAT GAA AAT CGA ACC GGA TGC CAG GAT ATT CCC ATC ATC AAA CTG	478
Pro Asn Glu Asn Arg Thr Gly Cys Gln Asp Ile Pro Ile Ile Lys Leu	
145 150 155	
GAG TGG CAC TCC CCC TGG GCT GTG ATT CCT GTC TTC CTG GCA ATG TTG	526
Glu Trp His Ser Pro Trp Ala Val Ile Pro Val Phe Leu Ala Met Leu	
160 165 170 175	
GGG ATC ATT GCC ACC ATC TTT GTC ATG GCC ACT TTC ATC CGC TAC AAT	574
Gly Ile Ile Ala Thr Ile Phe Val Met Ala Thr Phe Ile Arg Tyr Asn	
180 185 190	

DE 694 34 166 T2 2005.11.10

GAC ACG CCC ATT GTC CGG GCA TCT GGG CGG GAA CTC AGC TAT GTP CTT	622
Asp Thr Pro Ile Val Arg Ala Ser Gly Arg Glu Leu Ser Tyr Val Leu	
195 200 205	
TTG ACG GGC ATC TTT CTT TGC TAC ATC ATC ACT TTC CTG ATG ATT GCC	670
Leu Thr Gly Ile Phe Leu Cys Tyr Ile Ile Thr Phe Leu Met Ile Ala	
210 215 220	
AAA CCA GAT GTG GCA GTG TGT TCT TTC CGG CGA GTT TTC TTG GGC TTG	718
Lys Pro Asp Val Ala Val Cys Ser Phe Arg Arg Val Phe Leu Gly Leu	
225 230 235	
GGT ATG TGC ATC AGT TAT GCA GCC CTC TTG ACG AAA ACA AAT CGG ATT	766
Gly Met Cys Ile Ser Tyr Ala Ala Leu Leu Thr Lys Thr Asn Arg Ile	
240 245 250 255	
TAT CGC ATA TTT GAG CAG GGC AAG AAA TCA GTA ACA GCT CCC AGA CTC	814
Tyr Arg Ile Phe Glu Gln Gly Lys Lys Ser Val Thr Ala Pro Arg Leu	
260 265 270	
ATA AGC CCA ACA TCA CAA CTG GCA ATC ACT TCC AGT TTA ATA TCA GTT	862
Ile Ser Pro Thr Ser Gln Leu Ala Ile Thr Ser Ser Leu Ile Ser Val	
275 280 285	
CAG CTT CTA GGG GTG TTC ATT TGG TTT GGT GTT GAT CCA CCC AAC ATC	910
Gln Leu Leu Gly Val Phe Ile Trp Phe Gly Val Asp Pro Pro Asn Ile	
290 295 300	
ATC ATA GAC TAC GAT GAA CAC AAG ACA ATG AAC CCT GAG CAA GCC AGA	958
Ile Ile Asp Tyr Asp Glu His Lys Thr Met Asn Pro Glu Gln Ala Arg	
305 310 315	
GGG GTT CTC AAG TGT GAC ATT ACA GAT CTC CAA ATC ATT TGC TCC TTG	1006
Gly Val Leu Lys Cys Asp Ile Thr Asp Leu Gln Ile Ile Cys Ser Leu	
320 325 330 335	

DE 694 34 166 T2 2005.11.10

GGA TAT AGC ATT CTT CTC ATG GTC ACA TGT ACT GTG TAT GCC ATC AAG 1054
 Gly Tyr Ser Ile Leu Leu Met Val Thr Cys Thr Val Tyr Ala Ile Lys
 340 345 350

ACT CGG GGT GTA CCC GAG AAT TTT AAC GAA GCC AAG CCC ATT GGA TTC 1102
 Thr Arg Gly Val Pro Glu Asn Phe Asn Glu Ala Lys Pro Ile Gly Phe
 355 360 365

ACT ATG TAC ACG ACA TGT ATA GTA TGG CTT GCC TTC ATT CCA ATT TTT 1150
 Thr Met Tyr Thr Thr Cys Ile Val Trp Leu Ala Phe Ile Pro Ile Phe
 370 375 380

TTT GGC ACC GCT CAA TCA GCG GAA AAG CTC TAC ATA CAA ACT ACC ACG 1198
 Phe Gly Thr Ala Gln Ser Ala Glu Lys Leu Tyr Ile Gln Thr Thr Thr
 385 390 395

CTT ACA ATC TCC ATG AAC CTA AGT GCA TCA GTG GCG CTG GGG ATG CTA 1246
 Leu Thr Ile Ser Met Asn Leu Ser Ala Ser Val Ala Leu Gly Met Leu
 400 405 410 415

TAC ATG CCG AAA GTG TAC ATC ATC ATT TTC CAC CCT GAA CTC AAT GTC 1294
 Tyr Met Pro Lys Val Tyr Ile Ile Ile Phe His Pro Glu Leu Asn Val
 420 425 430

CAG AAA CGG AAG CGA AGC TTC AAG GCG GTA GTC ACA GCA GCC ACC ATG 1342
 Gln Lys Arg Lys Arg Ser Phe Lys Ala Val Val Thr Ala Ala Thr Met
 435 440 445

TCA TCG AGG CTG TCA CAC AAA CCC AGT GAC AGA CCC AAC GGT GAG GCA 1390
 Ser Ser Arg Leu Ser His Lys Pro Ser Asp Arg Pro Asn Gly Glu Ala
 450 455 460

AAG ACC GAG CTC TGT GAA AAC GTA GAC CCA AAC AGT GAG AAG TGC AAC 1438
 Lys Thr Glu Leu Cys Glu Asn Val Asp Pro Asn Ser Glu Lys Cys Asn
 465 470 475

TGC TAC TGACCATCTG CACTGGCATC TAGTCAAGCG ATTGTCTGAG GAAAGGATTT 1494

Cys Tyr

480

TGGAGATTCC CATCTGATAT TCTTCTATTT GGTCTCTTGT ACCCATTGTC ATCCTGTACC 1554

ACACATAATA AAGTTTAAGA ATGTCAAGCA AAAG 1588

(2) Information für SEQ ID Nr: 8

(i) Sequenzeigenschaften:

(A) Länge: 481 Aminosäuren
 (B) Typ: Aminosäure
 (D) Topologie: linear

(ii) Molekültyp: Protein

(xi) Sequenzbeschreibung: SEQ ID Nr: 8

Asn Lys Asp Leu Cys Ala Asp Tyr Arg Gly Val Cys Pro Glu Met Glu .
 1 5 10 15

Gln Ala Gly Gly Lys Lys Leu Leu Lys Tyr Ile Arg Asn Val Asn Phe ;
 20 25 30

Asn Gly Ser Ala Gly Thr Pro Val Met Phe Asn Lys Asn Gly Asp Ala ;
 35 40 45

Pro Gly Arg Tyr Asp Ile Phe Gln Tyr Gln Thr Thr Asn Thr Ser Asn
 50 55 60

Pro Gly Tyr Arg Leu Ile Gly Gln Trp Thr Asp Glu Leu Gln Leu Asn
 65 70 75 80

DE 694 34 166 T2 2005.11.10

Ile Glu Asp Met Gln Trp Gly Lys Gly Val Arg Glu Ile Pro Ala Ser
 85 90 95

Val Cys Thr Leu Pro Cys Lys Pro Gly Gln Arg Lys Lys Thr Gln Lys
 100 105 110

Gly Thr Pro Cys Cys Trp Thr Cys Glu Pro Cys Asp Gly Tyr Gln Tyr
 115 120 125

Gln Phe Asp Glu Met Thr Cys Gln His Cys Pro Tyr Asp Gln Arg Pro
 130 135 140

Asn Glu Asn Arg Thr Gly Cys Gln Asp Ile Pro Ile Ile Lys Leu Glu
 145 150 155 160

Trp His Ser Pro Trp Ala Val Ile Pro Val Phe Leu Ala Met Leu Gly
 165 170 175

Ile Ile Ala Thr Ile Phe Val Met Ala Thr Phe Ile Arg Tyr Asn Asp
 180 185 190

Thr Pro Ile Val Arg Ala Ser Gly Arg Glu Leu Ser Tyr Val Leu Leu
 195 200 205

Thr Gly Ile Phe Leu Cys Tyr Ile Ile Thr Phe Leu Met Ile Ala Lys
 210 215 220

Pro Asp Val Ala Val Cys Ser Phe Arg Arg Val Phe Leu Gly Leu Gly
 225 230 235 240

Met Cys Ile Ser Tyr Ala Ala Leu Leu Thr Lys Thr Asn Arg Ile Tyr
 245 250 255

Arg Ile Phe Glu Gln Gly Lys Lys Ser Val Thr Ala Pro Arg Leu Ile
 260 265 270

DE 694 34 166 T2 2005.11.10

Ser Pro Thr Ser Gln Leu Ala Ile Thr Ser Ser Leu Ile Ser Val Gln
 275 280 285

Leu Leu Gly Val Phe Ile Trp Phe Gly Val Asp Pro Pro Asn Ile Ile
 290 295 300

Ile Asp Tyr Asp Glu His Lys Thr Met Asn Pro Glu Gln Ala Arg Gly
 305 310 315 320

Val Leu Lys Cys Asp Ile Thr Asp Leu Gln Ile Ile Cys Ser Leu Gly
 325 330 335

Tyr Ser Ile Leu Leu Met Val Thr Cys Thr Val Tyr Ala Ile Lys Thr
 340 345 350

Arg Gly Val Pro Glu Asn Phe Asn Glu Ala Lys Pro Ile Gly Phe Thr
 355 360 365

Met Tyr Thr Thr Cys Ile Val Trp Leu Ala Phe Ile Pro Ile Phe Phe
 370 375 380

Gly Thr Ala Gln Ser Ala Glu Lys Leu Tyr Ile Gln Thr Thr Thr Leu
 385 390 395 400

Thr Ile Ser Met Asn Leu Ser Ala Ser Val Ala Leu Gly Met Leu Tyr
 405 410 415

Met Pro Lys Val Tyr Ile Ile Ile Phe His Pro Glu Leu Asn Val Gln
 420 425 430

Lys Arg Lys Arg Ser Phe Lys Ala Val Val Thr Ala Ala Thr Met Ser
 435 440 445

Ser Arg Leu Ser His Lys Pro Ser Asp Arg Pro Asn Gly Glu Ala Lys
 450 455 460

Thr Glu Leu Cys Glu Asn Val Asp Pro Asn Ser Glu Lys Cys Asn Cys
 465 470 475 480

Tyr

(2) Information für SEQ ID Nr: 9

(i) Sequenzeigenschaften:

(A) Länge: 558 Basenpaare
 (B) Typ: Nukleinsäure
 (C) Strangart: Einzelstrang
 (D) Topologie: linear

(ii) Molekültyp: cDNA

(ix) Merkmal:

(A) Name/Schlüssel: CDS
 (B) Lage: 1...558
 (D) Andere Information: Produkt = "für hmGluR7 kodierender Teil von cR7PCR1"

(xi) Sequenzbeschreibung: SEQ ID Nr: 9

ATG GTC CAG CTG AGG AAG CTG CTC CGC GTC CTG ACT. TTG ATG AAG TTC 48
 Met Val Gln Leu Arg Lys Leu Leu Arg Val Leu Thr Leu Met Lys Phe
 1 5 10 15

CCC TGC TGC GTG CTG GAG GTG CTC CTG TGC GCG CTG GCG GCG GCG GCG 96
 Pro Cys Cys Val Leu Glu Val Leu Leu Cys Ala Leu Ala Ala Ala Ala
 20 25 30

DE 694 34 166 T2 2005.11.10

CGC GGC CAG GAG ATG TAC GCC CCG CAC TCA ATC CGG ATC GAG GGG GAC 144
 Arg Gly Gln Glu Met Tyr Ala Pro His Ser Ile Arg Ile Glu Gly Asp
 35 40 45

GTC ACC CTC GGG GGG CTG TTC CCC GTA CAC GCC AAG GGT CCC AGC GGA 192
 Val Thr Leu Gly Gly Leu Phe Pro Val His Ala Lys Gly Pro Ser Gly
 50 55 60

GTG CCC TGC GGC GAC ATC AAG AGG GAA AAC GGG ATC CAC AGG CTG GAA 240
 Val Pro Cys Gly Asp Ile Lys Arg Glu Asn Gly Ile His Arg Leu Glu
 65 70 75 80

GCG ATG CTC TAC GCC CTG GAC CAG ATC AAC AGT GAT CCC AAC CTA CTG 288
 Ala Met Leu Tyr Ala Leu Asp Gln Ile Asn Ser Asp Pro Asn Leu Leu
 85 90 95

CCC AAC GTG ACG CTG GGC GCG CGG ATC CTG GAC ACT TGT TCC AGG GAC 336
 Pro Asn Val Thr Leu Gly Ala Arg Ile Leu Asp Thr Cys Ser Arg Asp
 100 105 110

ACT TAC GCG CTC GAA CAG TCG CTT ACT TTC GTC CAG GCG CTC ATC CAG 384
 Thr Tyr Ala Leu Glu Gln Ser Leu Thr Phe Val Gln Ala Leu Ile Gln
 115 120 125

AAG GAC ACC TCC GAC GTG CGC TGC ACC AAC GGC GAA CCG CCG GTT TTC 432
 Lys Asp Thr Ser Asp Val Arg Cys Thr Asn Gly Glu Pro Pro Val Phe
 130 135 140

GTC AAG CCG GAG AAA GTA GTT GGA GTG ATT GGG GCT TCG GGG AGT TCG 480
 Val Lys Pro Glu Lys Val Val Gly Val Ile Gly Ala Ser Gly Ser Ser
 145 150 155 160

GTC TCC ATC ATG GTA GCC AAC ATC CTG AGG CTC TTC CAG ATC CCC CAG 528
 Val Ser Ile Met Val Ala Asn Ile Leu Arg Leu Phe Gln Ile Pro Gln
 165 170 175

ATT AGT TAT GCA TCA ACG GCA CCC GAG CTA
 Ile Ser Tyr Ala Ser Thr Ala Pro Glu Leu
 180 185

558

(2) Information für SEQ ID Nr: 10

(i) Sequenzeigenschaften:

(A) Länge: 186 Aminosäuren
 (B) Typ: Aminosäure
 (D) Topologie: linear

(ii) Molekültyp: Protein

(xi) Sequenzbeschreibung: SEQ ID Nr: 10

Met Val Gln Leu Arg Lys Leu Leu Arg Val Leu Thr Leu Met Lys Phe.
 1 5 10 15

Pro Cys Cys Val Leu Glu Val Leu Leu Cys Ala Leu Ala Ala Ala Ala
 20 25 30

Arg Gly Gln Glu Met Tyr Ala Pro His Ser Ile Arg Ile Glu Gly Asp
 35 40 45

Val Thr Leu Gly Gly Leu Phe Pro Val His Ala Lys Gly Pro Ser Gly
 50 55 60

Val Pro Cys Gly Asp Ile Lys Arg Glu Asn Gly Ile His Arg Leu Glu
 65 70 75 80

Ala Met Leu Tyr Ala Leu Asp Gln Ile Asn Ser Asp Pro Asn Leu Leu
 85 90 95

Pro Asn Val Thr Leu Gly Ala Arg Ile Leu Asp Thr Cys Ser Arg Asp
 100 105 110

Thr Tyr Ala Leu Glu Gln Ser Leu Thr Phe Val Gln Ala Leu Ile Gln
 115 120 125

 Lys Asp Thr Ser Asp Val Arg Cys Thr Asn Gly Glu Pro Pro Val Phe
 130 135 140

 Val Lys Pro Glu Lys Val Val Gly Val Ile Gly Ala Ser Gly Ser Ser
 145 150 155 160

 Val Ser Ile Met Val Ala Asn Ile Leu Arg Leu Phe Gln Ile Pro Gln
 165 170 175

 Ile Ser Tyr Ala Ser Thr Ala Pro Glu Leu
 180 185

(2) Information für SEQ ID Nr: 11

(i) Sequenzeigenschaften:

(A) Länge: 2748 Basenpaare
 (B) Typ: Nukleinsäure
 (C) Strangart: Einzelstrang
 (D) Topologie: linear

(ii) Molekültyp: cDNA

(ix) Merkmal:

(A) Name/Schlüssel: CDS
 (B) Lage: 1...2748
 (D) Andere Information: Produkt = "hmGluR7a"

(xi) Sequenzbeschreibung: SEQ ID Nr: 11

ATG GTC CAG CTG AGG AAG CTG CTC CGC GTC CTG ACT TTG ATG AAG TTC

DE 694 34 166 T2 2005.11.10

Met	Val	Gln	Leu	Arg	Lys	Leu	Leu	Arg	Val	Leu	Thr	Leu	Met	Lys	Phe	
1				5					10					15		
CCC	TGC	TGC	GTG	CTG	GAG	GTG	CTC	CTG	TGC	GCG	CTG	GCG	GCC	GCG	GCG	96
Pro	Cys	Cys	Val	Leu	Glu	Val	Leu	Leu	Cys	Ala	Leu	Ala	Ala	Ala	Ala	
			20					25					30			
CGC	GGC	CAG	GAG	ATG	TAC	GCC	CCG	CAC	TCA	ATC	CGG	ATC	GAG	GGG	GAC	144
Arg	Gly	Gln	Glu	Met	Tyr	Ala	Pro	His	Ser	Ile	Arg	Ile	Glu	Gly	Asp	
		35						40					45			
GTC	ACC	CTC	GGG	GGG	CTG	TTC	CCC	GTA	CAC	GCC	AAG	GGT	CCC	AGC	GGA	192
Val	Thr	Leu	Gly	Gly	Leu	Phe	Pro	Val	His	Ala	Lys	Gly	Pro	Ser	Gly	
	50					55					60					
GTG	CCC	TGC	GGC	GAC	ATC	AAG	AGG	GAA	AAC	GGG	ATC	CAC	AGG	CTG	GAA	240
Val	Pro	Cys	Gly	Asp	Ile	Lys	Arg	Glu	Asn	Gly	Ile	His	Arg	Leu	Glu	
65					70					75					80	
GCG	ATG	CTC	TAC	GCC	CTG	GAC	CAG	ATC	AAC	AGT	GAT	CCC	AAC	CTA	CTG	288
Ala	Met	Leu	Tyr	Ala	Leu	Asp	Gln	Ile	Asn	Ser	Asp	Pro	Asn	Leu	Leu	
				85						90					95	
CCC	AAC	GTG	ACG	CTG	GGC	GCG	CGG	ATC	CTG	GAC	ACT	TGT	TCC	AGG	GAC	336
Pro	Asn	Val	Thr	Leu	Gly	Ala	Arg	Ile	Leu	Asp	Thr	Cys	Ser	Arg	Asp	
			100						105					110		
ACT	TAC	GCG	CTC	GAA	CAG	TCG	CTT	ACT	TTC	GTC	CAG	GCG	CTC	ATC	CAG	384
Thr	Tyr	Ala	Leu	Glu	Gln	Ser	Leu	Thr	Phe	Val	Gln	Ala	Leu	Ile	Gln	
		115						120						125		
AAG	GAC	ACC	TCC	GAC	GTG	CGC	TGC	ACC	AAC	GGC	GAA	CCG	CCG	GTT	TTC	432
Lys	Asp	Thr	Ser	Asp	Val	Arg	Cys	Thr	Asn	Gly	Glu	Pro	Pro	Val	Phe	
130							135				140					

DE 694 34 166 T2 2005.11.10

GTC AAG CCG GAG AAA GTA GTT GGA GTG ATT GGG GCT TCG GGG AGT TCG	480
Val Lys Pro Glu Lys Val Val Gly Val Ile Gly Ala Ser Gly Ser Ser	
145 150 155 160	
GTC TCC ATC ATG GTA GCC AAC ATC CTG AGG CTC TTC CAG ATC CCC CAG	528
Val Ser Ile Met Val Ala Asn Ile Leu Arg Leu Phe Gln Ile Pro Gln	
165 170 175	
ATT AGT TAT GCA TCA ACG GCA CCC GAG CTA AGT GAT GAC CGG CGC TAT	576
Ile Ser Tyr Ala Ser Thr Ala Pro Glu Leu Ser Asp Asp Arg Arg Tyr	
180 185 190	
GAC TTC TTC TCT CGC GTG GTG CCA CCC GAT TCC TTC CAA GCC CAG GCC	624
Asp Phe Phe Ser Arg Val Val Pro Pro Asp Ser Phe Gln Ala Gln Ala	
195 200 205	
ATG GTA GAC ATT GTA AAG GCC CTA GGC TGG AAT TAT GTG TCT ACC CTC	672
Met Val Asp Ile Val Lys Ala Leu Gly Trp Asn Tyr Val Ser Thr Leu	
210 215 220	
GCA TCG GAA GGA AGT TAT GGA GAG AAA GGT GTG GAG TCC TTC ACG CAG	720
Ala Ser Glu Gly Ser Tyr Gly Glu Lys Gly Val Glu Ser Phe Thr Gln	
225 230 235 240	
ATT TCC AAA GAG GCA GGT GGA CTC TGC ATT GCC CAG TCC GTG AGA ATC	768
Ile Ser Lys Glu Ala Gly Gly Leu Cys Ile Ala Gln Ser Val Arg Ile	
245 250 255	
CCC CAG GAA CGC AAA GAC AGG ACC ATT GAC TTT GAT AGA ATT ATC AAA	816
Pro Gln Glu Arg Lys Asp Arg Thr Ile Asp Phe Asp Arg Ile Ile Lys	
260 265 270	
CAG CTC CTG GAC ACC CCC AAC TCC AGG GCC GTC GTG ATT TTT GCC AAC	864
Gln Leu Leu Asp Thr Pro Asn Ser Arg Ala Val Val Ile Phe Ala Asn	
275 280 285	

DE 694 34 166 T2 2005.11.10

GAT GAG GAT ATA AAG CAG ATC CTT GCA GCA GCC AAA AGA GCT GAC CAA	912
Asp Glu Asp Ile Lys Gln Ile Leu Ala Ala Ala Lys Arg Ala Asp Gln	
290 295 300	
GTT GGC CAT TTT CTT TGG GTG GGA TCA GAC AGC TGG GGA TCC AAA ATA	960
Val Gly His Phe Leu Trp Val Gly Ser Asp Ser Trp Gly Ser Lys Ile	
305 310 315 320	
AAC CCA CTG CAC CAG CAT GAA GAT ATC GCA GAA GGG GCC ATC ACC ATT	1008
Asn Pro Leu His Gln His Glu Asp Ile Ala Glu Gly Ala Ile Thr Ile	
325 330 335	
CAG CCC AAG CGA GCC ACG GTG GAA GGG TTT GAT GCC TAC TTT ACG TCC	1056
Gln Pro Lys Arg Ala Thr Val Glu Gly Phe Asp Ala Tyr Phe Thr Ser	
340 345 350	
CGT ACA CTT GAA AAC AAC AGA AGA AAT GTA TGG TTT GCC GAA TAC TGG	1104
Arg Thr Leu Glu Asn Asn Arg Arg Asn Val Trp Phe Ala Glu Tyr Trp	
355 360 365	
GAG GAA AAC TTC AAC TGC AAG TTG ACG ATT AGT GGG TCA AAA AAA GAA	1152
Glu Glu Asn Phe Asn Cys Lys Leu Thr Ile Ser Gly Ser Lys Lys Glu	
370 375 380	
GAC ACA GAT CGC AAA TGC ACA GGA CAG GAG AGA ATT GGA AAA GAT TCC	1200
Asp Thr Asp Arg Lys Cys Thr Gly Gln Glu Arg Ile Gly Lys Asp Ser	
385 390 395 400	
AAC TAT GAG CAG GAG GGT AAA GTC CAG TTC GTG ATT GAC GCA GTC TAT	1248
Asn Tyr Glu Gln Glu Gly Lys Val Gln Phe Val Ile Asp Ala Val Tyr	
405 410 415	
GCT ATG GCT CAC GCC CTT CAC CAC ATG AAC AAG GAT CTC TGT GCT GAC	1296
Ala Met Ala His Ala Leu His His Met Asn Lys Asp Leu Cys Ala Asp	
420 425 430	

DE 694 34 166 T2 2005.11.10

TAC CGG GGT GTC TGC CCA GAG ATG GAG CAA GCT GGA GGC AAG AAG TTG	1344
Tyr Arg Gly Val Cys Pro Glu Met Glu Gln Ala Gly Gly Lys Lys Leu	
435 440 445	
CTG AAG TAT ATA CGC AAT GTT AAT TTC AAT GGT AGT GCT GGC ACT CCA	1392
Leu Lys Tyr Ile Arg Asn Val Asn Phe Asn Gly Ser Ala Gly Thr Pro	
450 455 460	
GTG ATG TTT AAC AAG AAC GGG GAT GCA CCT GGG CGT TAT GAC ATC TTT	1440
Val Met Phe Asn Lys Asn Gly Asp Ala Pro Gly Arg Tyr Asp Ile Phe	
465 470 475 480	
CAG TAC CAG ACC ACA AAC ACC AGC AAC CCG GGT TAC CGT CTG ATC GGG	1488
Gln Tyr Gln Thr Thr Asn Thr Ser Asn Pro Gly Tyr Arg Leu Ile Gly	
485 490 495	
CAG TGG ACA GAC GAA CTT CAG CTC AAT ATA GAA GAC ATG CAG TGG GGT	1536
Gln Trp Thr Asp Glu Leu Gln Leu Asn Ile Glu Asp Met Gln Trp Gly	
500 505 510	
AAA GGA GTC CGA GAG ATA CCC GCC TCA GTG TGC ACA CTA CCA TGT AAG	1584
Lys Gly Val Arg Glu Ile Pro Ala Ser Val Cys Thr Leu Pro Cys Lys	
515 520 525	
CCA GGA CAG AGA AAG AAG ACA CAG AAA GGA ACT CCT TGC TGT TGG ACC	1632
Pro Gly Gln Arg Lys Lys Thr Gln Lys Gly Thr Pro Cys Cys Trp Thr	
530 535 540	
TGT GAG CCT TGC GAT GGT TAC CAG TAC CAG TTT GAT GAG ATG ACA TGC	1680
Cys Glu Pro Cys Asp Gly Tyr Gln Tyr Gln Phe Asp Glu Met Thr Cys	
545 550 555 560	
CAG CAT TGC CCC TAT GAC CAG AGG CCC AAT GAA AAT CGA ACC GGA TGC	1728
Gln His Cys Pro Tyr Asp Gln Arg Pro Asn Glu Asn Arg Thr Gly Cys	
565 570 575	

DE 694 34 166 T2 2005.11.10

CAG GAT ATT CCC ATC ATC AAA CTG GAG TGG CAC TCC CCC TGG GCT GTG	1776
Gln Asp Ile Pro Ile Ile Lys Leu Glu Trp His Ser Pro Trp Ala Val	
580 585 590	
ATT CCT GTC TTC CTG GCA ATG TTG GGG ATC ATT GCC ACC ATC TTT GTC	1824
Ile Pro Val Phe Leu Ala Met Leu Gly Ile Ile Ala Thr Ile Phe Val	
595 600 605	
ATG GCC ACT TTC ATC CGC TAC AAT GAC ACG CCC ATT GTC CGG GCA TCT	1872
Met Ala Thr Phe Ile Arg Tyr Asn Asp Thr Pro Ile Val Arg Ala Ser	
610 615 620	
GGG CGG GAA CTC AGC TAT GTT CTT TTG ACG GGC ATC TTT CTT TGC TAC	1920
Gly Arg Glu Leu Ser Tyr Val Leu Leu Thr Gly Ile Phe Leu Cys Tyr	
625 630 635 640	
ATC ATC ACT TTC CTG ATG ATT GCC AAA CCA GAT GTG GCA GTG TGT TCT	1968
Ile Ile Thr Phe Leu Met Ile Ala Lys Pro Asp Val Ala Val Cys Ser	
645 650 655	
TTC CGG CGA GTT TTC TTG GGC TTG GGT ATG TGC ATC AGT TAT GCA GCC	2016
Phe Arg Arg Val Phe Leu Gly Leu Gly Met Cys Ile Ser Tyr Ala Ala	
660 665 670	
CTC TTG ACG AAA ACA AAT CGG ATT TAT CGC ATA TTT GAG CAG GGC AAG	2064
Leu Leu Thr Lys Thr Asn Arg Ile Tyr Arg Ile Phe Glu Gln Gly Lys	
675 680 685	
AAA TCA GTA ACA GCT CCC AGA CTC ATA AGC CCA ACA TCA CAA CTG GCA	2112
Lys Ser Val Thr Ala Pro Arg Leu Ile Ser Pro Thr Ser Gln Leu Ala	
690 695 700	
ATC ACT TCC AGT TTA ATA TCA GTT CAG CTT CTA GGG GTG TTC ATT TGG	2160
Ile Thr Ser Ser Leu Ile Ser Val Gln Leu Leu Gly Val Phe Ile Trp	
705 710 715 720	

DE 694 34 166 T2 2005.11.10

TTT GGT GTT GAT CCA CCC AAC ATC ATC ATA GAC TAC GAT GAA CAC AAG	2208
Phe Gly Val Asp Pro Pro Asn Ile Ile Ile Asp Tyr Asp Glu His Lys	
725 730 735	
ACA ATG AAC CCT GAG CAA GCC AGA GGG GTT CTC AAG TGT GAC ATT ACA	2256
Thr Met Asn Pro Glu Gln Ala Arg Gly Val Leu Lys Cys Asp Ile Thr	
740 745 750	
GAT CTC CAA ATC ATT TGC TCC TTG GGA TAT AGC ATT CTT CTC ATG GTC	2304
Asp Leu Gln Ile Ile Cys Ser Leu Gly Tyr Ser Ile Leu Leu Met Val	
755 760 765	
ACA TGT ACT GTG TAT GCC ATC AAG ACT CGG GGT GTA CCC GAG AAT TTT	2352
Thr Cys Thr Val Tyr Ala Ile Lys Thr Arg Gly Val Pro Glu Asn Phe	
770 775 780	
AAC GAA GCC AAG CCC ATT GGA TTC ACT ATG TAC ACG ACA TGT ATA GTA	2400
Asn Glu Ala Lys Pro Ile Gly Phe Thr Met Tyr Thr Thr Cys Ile Val	
785 790 795 800	
TGG CTT GCC TTC ATT CCA ATT TTT TTT GGC ACC GCT CAA TCA GCG GAA	2448
Trp Leu Ala Phe Ile Pro Ile Phe Phe Gly Thr Ala Gln Ser Ala Glu	
805 810 815	
AAG CTC TAC ATA CAA ACT ACC ACG CTT ACA ATC TCC ATG AAC CTA AGT	2496
Lys Leu Tyr Ile Gln Thr Thr Thr Leu Thr Ile Ser Met Asn Leu Ser	
820 825 830	
GCA TCA GTG GCG CTG GGG ATG CTA TAC ATG CCG AAA GTG TAC ATC ATC	2544
Ala Ser Val Ala Leu Gly Met Leu Tyr Met Pro Lys Val Tyr Ile Ile	
835 840 845	
ATT TTC CAC CCT GAA CTC AAT GTC CAG AAA CGG AAG CGA AGC TTC AAG	2592
Ile Phe His Pro Glu Leu Asn Val Gln Lys Arg Lys Arg Ser Phe Lys	
850 855 860	

GCG GTA GTC ACA GCA GCC ACC ATG TCA TCG AGG CTG TCA CAC AAA CCC 2640
 Ala Val Val Thr Ala Ala Thr Met Ser Ser Arg Leu Ser His Lys Pro
 865 870 875 880

AGT GAC AGA CCC AAC GGT GAG GCA AAG ACC GAG CTC TGT GAA AAC GTA 2688
 Ser Asp Arg Pro Asn Gly Glu Ala Lys Thr Glu Leu Cys Glu Asn Val
 885 890 895

GAC CCA AAC AGC CCT GCT GCA AAA AAG AAG TAT GTC AGT TAT AAT AAC 2736
 Asp Pro Asn Ser Pro Ala Ala Lys Lys Lys Tyr Val Ser Tyr Asn Asn
 900 905 910

CTG GTT ATC TA 2748
 Leu Val Ile
 915

(2) Information für SEQ ID Nr: 12

(i) Sequenzeigenschaften:

(A) Länge: 915 Aminosäuren
 (B) Typ: Aminosäure
 (D) Topologie: linear

(ii) Molekültyp: Protein

(xi) Sequenzbeschreibung: SEQ ID Nr: 12

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

DE 694 34 166 T2 2005.11.10

Val Thr Leu Gly Gly Leu Phe Pro Val His Ala Lys Gly Pro Ser Gly
 50 55 60

Val Pro Cys Gly Asp Ile Lys Arg Glu Asn Gly Ile His Arg Leu Glu
 65 70 75 80

Ala Met Leu Tyr Ala Leu Asp Gln Ile Asn Ser Asp Pro Asn Leu Leu
 85 90 95

Pro Asn Val Thr Leu Gly Ala Arg Ile Leu Asp Thr Cys Ser Arg Asp
 100 105 110

Thr Tyr Ala Leu Glu Gln Ser Leu Thr Phe Val Gln Ala Leu Ile Gln
 115 120 125

Lys Asp Thr Ser Asp Val Arg Cys Thr Asn Gly Glu Pro Pro Val Phe
 130 135 140

Val Lys Pro Glu Lys Val Val Gly Val Ile Gly Ala Ser Gly Ser Ser
 145 150 155 160

Val Ser Ile Met Val Ala Asn Ile Leu Arg Leu Phe Gln Ile Pro Gln
 165 170 175

Ile Ser Tyr Ala Ser Thr Ala Pro Glu Leu Ser Asp Asp Arg Arg Tyr
 180 185 190

Asp Phe Phe Ser Arg Val Val Pro Pro Asp Ser Phe Gln Ala Gln Ala
 195 200 205

Met Val Asp Ile Val Lys Ala Leu Gly Trp Asn Tyr Val Ser Thr Leu
 210 215 220

Ala Ser Glu Gly Ser Tyr Gly Glu Lys Gly Val Glu Ser Phe Thr Gln
 225 230 235 240

DE 694 34 166 T2 2005.11.10

Ile Ser Lys Glu Ala Gly Gly Leu Cys Ile Ala Gln Ser Val Arg Ile
 245 250 255

Pro Gln Glu Arg Lys Asp Arg Thr Ile Asp Phe Asp Arg Ile Ile Lys
 260 265 270

Gln Leu Leu Asp Thr Pro Asn Ser Arg Ala Val Val Ile Phe Ala Asn
 275 280 285

Asp Glu Asp Ile Lys Gln Ile Leu Ala Ala Ala Lys Arg Ala Asp Gln
 290 295 300

Val Gly His Phe Leu Trp Val Gly Ser Asp Ser Trp Gly Ser Lys Ile
 305 310 315 320

Asn Pro Leu His Gln His Glu Asp Ile Ala Glu Gly Ala Ile Thr Ile
 325 330 335

Gln Pro Lys Arg Ala Thr Val Glu Gly Phe Asp Ala Tyr Phe Thr Ser
 340 345 350

Arg Thr Leu Glu Asn Asn Arg Arg Asn Val Trp Phe Ala Glu Tyr Trp
 355 360 365

Glu Glu Asn Phe Asn Cys Lys Leu Thr Ile Ser Gly Ser Lys Lys Glu
 370 375 380

Asp Thr Asp Arg Lys Cys Thr Gly Gln Glu Arg Ile Gly Lys Asp Ser
 385 390 395 400

Asn Tyr Glu Gln Glu Gly Lys Val Gln Phe Val Ile Asp Ala Val Tyr
 405 410 415

Ala Met Ala His Ala Leu His His Met Asn Lys Asp Leu Cys Ala Asp
 420 425 430

Tyr Arg Gly Val Cys Pro Glu Met Glu Gln Ala Gly Gly Lys Lys Leu
 435 440 445

Leu Lys Tyr Ile Arg Asn Val Asn Phe Asn Gly Ser Ala Gly Thr Pro
 450 455 460

Val Met Phe Asn Lys Asn Gly Asp Ala Pro Gly Arg Tyr Asp Ile Phe
 465 470 475 480

Gln Tyr Gln Thr Thr Asn Thr Ser Asn Pro Gly Tyr Arg Leu Ile Gly
 485 490 495

Gln Trp Thr Asp Glu Leu Gln Leu Asn Ile Glu Asp Met Gln Trp Gly
 500 505 510

Lys Gly Val Arg Glu Ile Pro Ala Ser Val Cys Thr Leu Pro Cys Lys
 515 520 525

Pro Gly Gln Arg Lys Lys Thr Gln Lys Gly Thr Pro Cys Cys Trp Thr
 530 535 540

Cys Glu Pro Cys Asp Gly Tyr Gln Tyr Gln Phe Asp Glu Met Thr Cys
 545 550 555 560

Gln His Cys Pro Tyr Asp Gln Arg Pro Asn Glu Asn Arg Thr Gly Cys
 565 570 575

Gln Asp Ile Pro Ile Ile Lys Leu Glu Trp His Ser Pro Trp Ala Val
 580 585 590

Ile Pro Val Phe Leu Ala Met Leu Gly Ile Ile Ala Thr Ile Phe Val
 595 600 605

Met Ala Thr Phe Ile Arg Tyr Asn Asp Thr Pro Ile Val Arg Ala Ser
 610 615 620

DE 694 34 166 T2 2005.11.10

Gly Arg Glu Leu Ser Tyr Val Leu Leu Thr Gly Ile Phe Leu Cys Tyr
 625 630 635 640

Ile Ile Thr Phe Leu Met Ile Ala Lys Pro Asp Val Ala Val Cys Ser
 645 650 655

Phe Arg Arg Val Phe Leu Gly Leu Gly Met Cys Ile Ser Tyr Ala Ala
 660 665 670

Leu Leu Thr Lys Thr Asn Arg Ile Tyr Arg Ile Phe Glu Gln Gly Lys
 675 680 685

Lys Ser Val Thr Ala Pro Arg Leu Ile Ser Pro Thr Ser Gln Leu Ala
 690 695 700

Ile Thr Ser Ser Leu Ile Ser Val Gln Leu Leu Gly Val Phe Ile Trp
 705 710 715 720

Phe Gly Val Asp Pro Pro Asn Ile Ile Ile Asp Tyr Asp Glu His Lys
 725 730 735

Thr Met Asn Pro Glu Gln Ala Arg Gly Val Leu Lys Cys Asp Ile Thr
 740 745 750

Asp Leu Gln Ile Ile Cys Ser Leu Gly Tyr Ser Ile Leu Leu Met Val
 755 760 765

Thr Cys Thr Val Tyr Ala Ile Lys Thr Arg Gly Val Pro Glu Asn Phe
 770 775 780

Asn Glu Ala Lys Pro Ile Gly Phe Thr Met Tyr Thr Thr Cys Ile Val
 785 790 795 800

Trp Leu Ala Phe Ile Pro Ile Phe Phe Gly Thr Ala Gln Ser Ala Glu
 805 810 815

Lys Leu Tyr Ile Gln Thr Thr Thr Leu Thr Ile Ser Met Asn Leu Ser
 820 825 830

Ala Ser Val Ala Leu Gly Met Leu Tyr Met Pro Lys Val Tyr Ile Ile
 835 840 845

Ile Phe His Pro Glu Leu Asn Val Gln Lys Arg Lys Arg Ser Phe Lys
 850 855 860

Ala Val Val Thr Ala Ala Thr Met Ser Ser Arg Leu Ser His Lys Pro
 865 870 875 880

Ser Asp Arg Pro Asn Gly Glu Ala Lys Thr Glu Leu Cys Glu Asn Val
 885 890 895

Asp Pro Asn Ser Pro Ala Ala Lys Lys Lys Tyr Val Ser Tyr Asn Asn
 900 905 910

Leu Val Ile
 915

(2) Information für SEQ ID Nr: 13

(i) Sequenzeigenschaften:

(A) Länge: 2769 Basenpaare
 (B) Typ: Nukleinsäure
 (C) Strangart: Einzelstrang
 (D) Topologie: linear

(ii) Molekültyp: cDNA

(ix) Merkmal:

(A) Name/Schlüssel: CDS
 (B) Lage: 1...2769
 (D) Andere Information: Produkt = "hmGluR7b"

(xi) Sequenzbeschreibung: SEQ ID Nr: 13

```

ATG GTC CAG CTG AGG AAG CTG CTC CGC GTC CTG ACT TTG ATG AAG TTC      48
Met Val Gln Leu Arg Lys Leu Leu Arg Val Leu Thr Leu Met Lys Phe
   1             5             10             15

CCC TGC TGC GTG CTG GAG GTG CTC CTG TGC GCG CTG GCG GCG GCG GCG      96
Pro Cys Cys Val Leu Glu Val Leu Leu Cys Ala Leu Ala Ala Ala Ala
           20             25             30

CGC GGC CAG GAG ATG TAC GCC CCG CAC TCA ATC CGG ATC GAG GGG GAC      144
Arg Gly Gln Glu Met Tyr Ala Pro His Ser Ile Arg Ile Glu Gly Asp
           35             40             45

GTC ACC CTC GGG GGG CTG TTC CCC GTA CAC GCC AAG GGT CCC AGC GGA      192
Val Thr Leu Gly Gly Leu Phe Pro Val His Ala Lys Gly Pro Ser Gly
           50             55             60

GTG CCC TGC GGC GAC ATC AAG AGG GAA AAC GGG ATC CAC AGG CTG GAA      240
Val Pro Cys Gly Asp Ile Lys Arg Glu Asn Gly Ile His Arg Leu Glu
           65             70             75             80

GCG ATG CTC TAC GCC CTG GAC CAG ATC AAC AGT GAT CCC AAC CTA CTG      288
Ala Met Leu Tyr Ala Leu Asp Gln Ile Asn Ser Asp Pro Asn Leu Leu
           85             90             95

CCC AAC GTG ACG CTG GGC GCG CGG ATC CTG GAC ACT TGT TCC AGG GAC      336
Pro Asn Val Thr Leu Gly Ala Arg Ile Leu Asp Thr Cys Ser Arg Asp
           100             105             110

```

DE 694 34 166 T2 2005.11.10

ACT TAC GCG CTC GAA CAG TCG CTT ACT TTC GTC CAG GCG CTC ATC CAG	384
Thr Tyr Ala Leu Glu Gln Ser Leu Thr Phe Val Gln Ala Leu Ile Gln	
115 120 125	
AAG GAC ACC TCC GAC GTG CGC TGC ACC AAC GGC GAA CCG CCG GTT TTC	432
Lys Asp Thr Ser Asp Val Arg Cys Thr Asn Gly Glu Pro Pro Val Phe	
130 135 140	
GTC AAG CCG GAG AAA GTA GTT GGA GTG ATT GGG GCT TCG GGG AGT TCG	480
Val Lys Pro Glu Lys Val Val Gly Val Ile Gly Ala Ser Gly Ser Ser	
145 150 155 160	
GTC TCC ATC ATG GTA GCC AAC ATC CTG AGG CTC TTC CAG ATC CCC CAG	528
Val Ser Ile Met Val Ala Asn Ile Leu Arg Leu Phe Gln Ile Pro Gln	
165 170 175	
ATT AGT TAT GCA TCA ACG GCA CCC GAG CTA AGT GAT GAC CGG CGC TAT	576
Ile Ser Tyr Ala Ser Thr Ala Pro Glu Leu Ser Asp Asp Arg Arg Tyr	
180 185 190	
GAC TTC TTC TCT CGC GTG GTG CCA CCC GAT TCC TTC CAA GCC CAG GCC	624
Asp Phe Phe Ser Arg Val Val Pro Pro Asp Ser Phe Gln Ala Gln Ala	
195 200 205	
ATG GTA GAC ATT GTA AAG GCC CTA GGC TGG AAT TAT GTG TCT ACC CTC	672
Met Val Asp Ile Val Lys Ala Leu Gly Trp Asn Tyr Val Ser Thr Leu	
210 215 220	
GCA TCG GAA GGA AGT TAT GGA GAG AAA GGT GTG GAG TCC TTC ACG CAG	720
Ala Ser Glu Gly Ser Tyr Gly Glu Lys Gly Val Glu Ser Phe Thr Gln	
225 230 235 240	
ATT TCC AAA GAG GCA GGT GGA CTC TGC ATT GCC CAG TCC GTG AGA ATC	768
Ile Ser Lys Glu Ala Gly Gly Leu Cys Ile Ala Gln Ser Val Arg Ile	
245 250 255	

DE 694 34 166 T2 2005.11.10

CCC CAG GAA CGC AAA GAC AGG ACC ATT GAC TTT GAT AGA ATT ATC AAA	816
Pro Gln Glu Arg Lys Asp Arg Thr Ile Asp Phe Asp Arg Ile Ile Lys	
260 265 270	
CAG CTC CTG GAC ACC CCC AAC TCC AGG GCC GTC GTG ATT TTT GCC AAC	864
Gln Leu Leu Asp Thr Pro Asn Ser Arg Ala Val Val Ile Phe Ala Asn	
275 280 285	
GAT GAG GAT ATA AAG CAG ATC CTT GCA GCA GCC AAA AGA GCT GAC CAA	912
Asp Glu Asp Ile Lys Gln Ile Leu Ala Ala Ala Lys Arg Ala Asp Gln	
290 295 300	
GTT GGC CAT TTT CTT TGG GTG GGA TCA GAC AGC TGG GGA TCC AAA ATA	960
Val Gly His Phe Leu Trp Val Gly Ser Asp Ser Trp Gly Ser Lys Ile	
305 310 315 320	
AAC CCA CTG CAC CAG CAT GAA GAT ATC GCA GAA GGG GCC ATC ACC ATT	1008
Asn Pro Leu His Gln His Glu Asp Ile Ala Glu Gly Ala Ile Thr Ile	
325 330 335	
CAG CCC AAG CGA GCC ACG GTG GAA GGG TTT GAT GCC TAC TTT ACG TCC	1056
Gln Pro Lys Arg Ala Thr Val Glu Gly Phe Asp Ala Tyr Phe Thr Ser	
340 345 350	
CGT ACA CTT GAA AAC AAC AGA AGA AAT GTA TGG TTT GCC GAA TAC TGG	1104
Arg Thr Leu Glu Asn Asn Arg Arg Asn Val Trp Phe Ala Glu Tyr Trp	
355 360 365	
GAG GAA AAC TTC AAC TGC AAG TTG ACG ATT AGT GGG TCA AAA AAA GAA	1152
Glu Glu Asn Phe Asn Cys Lys Leu Thr Ile Ser Gly Ser Lys Lys Glu	
370 375 380	
GAC ACA GAT CGC AAA TGC ACA GGA CAG GAG AGA ATT GGA AAA GAT TCC	1200
Asp Thr Asp Arg Lys Cys Thr Gly Gln Glu Arg Ile Gly Lys Asp Ser	
385 390 395 400	

DE 694 34 166 T2 2005.11.10

AAC TAT GAG CAG GAG GGT AAA GTC CAG TTC GTG ATT GAC GCA GTC TAT	1248
Asn Tyr Glu Gln Glu Gly Lys Val Gln Phe Val Ile Asp Ala Val Tyr	
405 410 415	
GCT ATG GCT CAC GCC CTT CAC CAC ATG AAC AAG GAT CTC TGT GCT GAC	1296
Ala Met Ala His Ala Leu His His Met Asn Lys Asp Leu Cys Ala Asp	
420 425 430	
TAC CGG GGT GTC TGC CCA GAG ATG GAG CAA GCT GGA GGC AAG AAG TTG	1344
Tyr Arg Gly Val Cys Pro Glu Met Glu Gln Ala Gly Gly Lys Lys Leu	
435 440 445	
CTG AAG TAT ATA CGC AAT GTT AAT TTC AAT GGT AGT GCT GGC ACT CCA	1392
Leu Lys Tyr Ile Arg Asn Val Asn Phe Asn Gly Ser Ala Gly Thr Pro	
450 455 460	
GTG ATG TTT AAC AAG AAC GGG GAT GCA CCT GGG CGT TAT GAC ATC TTT	1440
Val Met Phe Asn Lys Asn Gly Asp Ala Pro Gly Arg Tyr Asp Ile Phe	
465 470 475 480	
CAG TAC CAG ACC ACA AAC ACC AGC AAC CCG GGT TAC CGT CTG ATC GGG	1488
Gln Tyr Gln Thr Thr Asn Thr Ser Asn Pro Gly Tyr Arg Leu Ile Gly	
485 490 495	
CAG TGG ACA GAC GAA CTT CAG CTC AAT ATA GAA GAC ATG CAG TGG GGT	1536
Gln Trp Thr Asp Glu Leu Gln Leu Asn Ile Glu Asp Met Gln Trp Gly	
500 505 510	
AAA GGA GTC CGA GAG ATA CCC GCC TCA GTG TGC ACA CTA CCA TGT AAG	1584
Lys Gly Val Arg Glu Ile Pro Ala Ser Val Cys Thr Leu Pro Cys Lys	
515 520 525	
CCA GGA CAG AGA AAG AAG ACA CAG AAA GGA ACT CCT TGC TGT TGG ACC	1632
Pro Gly Gln Arg Lys Lys Thr Gln Lys Gly Thr Pro Cys Cys Trp Thr	
530 535 540	

DE 694 34 166 T2 2005.11.10

TGT GAG CCT TGC GAT GGT TAC CAG TAC CAG TTT GAT GAG ATG ACA TGC	1680
Cys Glu Pro Cys Asp Gly Tyr Gln Tyr Gln Phe Asp Glu Met Thr Cys	
545 550 555 560	
CAG CAT TGC CCC TAT GAC CAG AGG CCC AAT GAA AAT CGA ACC GGA TGC	1728
Gln His Cys Pro Tyr Asp Gln Arg Pro Asn Glu Asn Arg Thr Gly Cys	
565 570 575	
CAG GAT ATT CCC ATC ATC AAA CTG GAG TGG CAC TCC CCC TGG GCT GTG	1776
Gln Asp Ile Pro Ile Ile Lys Leu Glu Trp His Ser Pro Trp Ala Val	
580 585 590	
ATT CCT GTC TTC CTG GCA ATG TTG GGG ATC ATT GCC ACC ATC TTT GTC	1824
Ile Pro Val Phe Leu Ala Met Leu Gly Ile Ile Ala Thr Ile Phe Val	
595 600 605	
ATG GCC ACT TTC ATC CGC TAC AAT GAC ACG CCC ATT GTC CGG GCA TCT	1872
Met Ala Thr Phe Ile Arg Tyr Asn Asp Thr Pro Ile Val Arg Ala Ser	
610 615 620	
GGG CGG GAA CTC AGC TAT GTT CTT TTG ACG GGC ATC TTT CTT TGC TAC	1920
Gly Arg Glu Leu Ser Tyr Val Leu Leu Thr Gly Ile Phe Leu Cys Tyr	
625 630 635 640	
ATC ATC ACT TTC CTG ATG ATT GCC AAA CCA GAT GTG GCA GTG TGT TCT	1968
Ile Ile Thr Phe Leu Met Ile Ala Lys Pro Asp Val Ala Val Cys Ser	
645 650 655	
TTC CGG CGA GTT TTC TTG GGC TTG GGT ATG TGC ATC AGT TAT GCA GCC	2016
Phe Arg Arg Val Phe Leu Gly Leu Gly Met Cys Ile Ser Tyr Ala Ala	
660 665 670	
CTC TTG ACG AAA ACA AAT CGG ATT TAT CGC ATA TTT GAG CAG GGC AAG	2064
Leu Leu Thr Lys Thr Asn Arg Ile Tyr Arg Ile Phe Glu Gln Gly Lys	
675 680 685	

DE 694 34 166 T2 2005.11.10

AAA TCA GTA ACA GCT CCC AGA CTC ATA AGC CCA ACA TCA CAA CTG GCA	2112
Lys Ser Val Thr Ala Pro Arg Leu Ile Ser Pro Thr Ser Gln Leu Ala	
690 695 700	
ATC ACT TCC AGT TTA ATA TCA GTT CAG CTT CTA GGG GTG TTC ATT TGG	2160
Ile Thr Ser Ser Leu Ile Ser Val Gln Leu Leu Gly Val Phe Ile Trp	
705 710 715 720	
TTT GGT GTT GAT CCA CCC AAC ATC ATC ATA GAC TAC GAT GAA CAC AAG	2208
Phe Gly Val Asp Pro Pro Asn Ile Ile Ile Asp Tyr Asp Glu His Lys	
725 730 735	
ACA ATG AAC CCT GAG CAA GCC AGA GGG GTT CTC AAG TGT GAC ATT ACA	2256
Thr Met Asn Pro Glu Gln Ala Arg Gly Val Leu Lys Cys Asp Ile Thr	
740 745 750	
GAT CTC CAA ATC ATT TGC TCC TTG GGA TAT AGC ATT CTT CTC ATG GTC	2304
Asp Leu Gln Ile Ile Cys Ser Leu Gly Tyr Ser Ile Leu Leu Met Val	
755 760 765	
ACA TGT ACT GTG TAT GCC ATC AAG ACT CGG GGT GTA CCC GAG AAT TTT	2352
Thr Cys Thr Val Tyr Ala Ile Lys Thr Arg Gly Val Pro Glu Asn Phe	
770 775 780	
AAC GAA GCC AAG CCC ATT GGA TTC ACT ATG TAC ACG ACA TGT ATA GTA	2400
Asn Glu Ala Lys Pro Ile Gly Phe Thr Met Tyr Thr Thr Cys Ile Val	
785 790 795 800	
TGG CTT GCC TTC ATT CCA ATT TTT TTT GGC ACC GCT CAA TCA GCG GAA	2448
Trp Leu Ala Phe Ile Pro Ile Phe Phe Gly Thr Ala Gln Ser Ala Glu	
805 810 815	
AAG CTC TAC ATA CAA ACT ACC ACG CTT ACA ATC TCC ATG AAC CTA AGT	2496
Lys Leu Tyr Ile Gln Thr Thr Thr Leu Thr Ile Ser Met Asn Leu Ser	
820 825 830	

DE 694 34 166 T2 2005.11.10

GCA TCA GTG GCG CTG GGG ATG CTA TAC ATG CCG AAA GTG TAC ATC ATC	2544
Ala Ser Val Ala Leu Gly Met Leu Tyr Met Pro Lys Val Tyr Ile Ile	
835 840 845	
ATT TTC CAC CCT GAA CTC AAT GTC CAG AAA CGG AAG CGA AGC TTC AAG	2592
Ile Phe His Pro Glu Leu Asn Val Gln Lys Arg Lys Arg Ser Phe Lys	
850 855 860	
GCG GTA GTC ACA GCA GCC ACC ATG TCA TCG AGG CTG TCA CAC AAA CCC	2640
Ala Val Val Thr Ala Ala Thr Met Ser Ser Arg Leu Ser His Lys Pro	
865 870 875 880	
AGT GAC AGA CCC AAC GGT GAG GCA AAG ACC GAG CTC TGT GAA AAC GTA	2688
Ser Asp Arg Pro Asn Gly Glu Ala Lys Thr Glu Leu Cys Glu Asn Val	
885 890 895	
GAC CCA AAC AAC TGT ATA CCA CCA GTA AGA AAG AGT GTA CAA AAG TCT	2736
Asp Pro Asn Asn Cys Ile Pro Pro Val Arg Lys Ser Val Gln Lys Ser	
900 905 910	
GTT ACT TGG TAC ACT ATC CCA CCA ACA GTA TA	2769
Val Thr Trp Tyr Thr Ile Pro Pro Thr Val	
915 920	

(2) Information für SEQ ID Nr: 14

(i) Sequenzeigenschaften:

(A) Länge:	922 Aminosäuren
(B) Typ:	Aminosäure
(D) Topologie:	linear

(ii) Molekültyp: Protein

(xi) Sequenzbeschreibung: SEQ ID Nr: 14

DE 694 34 166 T2 2005.11.10

Met Val Gln Leu Arg Lys Leu Leu Arg Val Leu Thr Leu Met Lys Phe
 1 5 10 15

Pro Cys Cys Val Leu Glu Val Leu Leu Cys Ala Leu Ala Ala Ala Ala
 20 25 30

Arg Gly Gln Glu Met Tyr Ala Pro His Ser Ile Arg Ile Glu Gly Asp
 35 40 45

Val Thr Leu Gly Gly Leu Phe Pro Val His Ala Lys Gly Pro Ser Gly
 50 55 60

Val Pro Cys Gly Asp Ile Lys Arg Glu Asn Gly Ile His Arg Leu Glu
 65 70 75 80

Ala Met Leu Tyr Ala Leu Asp Gln Ile Asn Ser Asp Pro Asn Leu Leu
 85 90 95

Pro Asn Val Thr Leu Gly Ala Arg Ile Leu Asp Thr Cys Ser Arg Asp
 100 105 110

Thr Tyr Ala Leu Glu Gln Ser Leu Thr Phe Val Gln Ala Leu Ile Gln
 115 120 125

Lys Asp Thr Ser Asp Val Arg Cys Thr Asn Gly Glu Pro Pro Val Phe
 130 135 140

Val Lys Pro Glu Lys Val Val Gly Val Ile Gly Ala Ser Gly Ser Ser
 145 150 155 160

Val Ser Ile Met Val Ala Asn Ile Leu Arg Leu Phe Gln Ile Pro Gln
 165 170 175

Ile Ser Tyr Ala Ser Thr Ala Pro Glu Leu Ser Asp Asp Arg Arg Tyr
 180 185 190

DE 694 34 166 T2 2005.11.10

Asp Phe Phe Ser Arg Val Val Pro Pro Asp Ser Phe Gln Ala Gln Ala
 195 200 205

Met Val Asp Ile Val Lys Ala Leu Gly Trp Asn Tyr Val Ser Thr Leu
 210 215 220

Ala Ser Glu Gly Ser Tyr Gly Glu Lys Gly Val Glu Ser Phe Thr Gln
 225 230 235 240

Ile Ser Lys Glu Ala Gly Gly Leu Cys Ile Ala Gln Ser Val Arg Ile
 245 250 255

Pro Gln Glu Arg Lys Asp Arg Thr Ile Asp Phe Asp Arg Ile Ile Lys
 260 265 270

Gln Leu Leu Asp Thr Pro Asn Ser Arg Ala Val Val Ile Phe Ala Asn
 275 280 285

Asp Glu Asp Ile Lys Gln Ile Leu Ala Ala Ala Lys Arg Ala Asp Gln
 290 295 300

Val Gly His Phe Leu Trp Val Gly Ser Asp Ser Trp Gly Ser Lys Ile
 305 310 315 320

Asn Pro Leu His Gln His Glu Asp Ile Ala Glu Gly Ala Ile Thr Ile
 325 330 335

Gln Pro Lys Arg Ala Thr Val Glu Gly Phe Asp Ala Tyr Phe Thr Ser
 340 345 350

Arg Thr Leu Glu Asn Asn Arg Arg Asn Val Trp Phe Ala Glu Tyr Trp
 355 360 365

Glu Glu Asn Phe Asn Cys Lys Leu Thr Ile Ser Gly Ser Lys Lys Glu
 370 375 380

DE 694 34 166 T2 2005.11.10

Asp Thr Asp Arg Lys Cys Thr Gly Gln Glu Arg Ile Gly Lys Asp Ser
 385 390 395 400

Asn Tyr Glu Gln Glu Gly Lys Val Gln Phe Val Ile Asp Ala Val Tyr
 405 410 415

Ala Met Ala His Ala Leu His His Met Asn Lys Asp Leu Cys Ala Asp
 420 425 430

Tyr Arg Gly Val Cys Pro Glu Met Glu Gln Ala Gly Gly Lys Lys Leu
 435 440 445

Leu Lys Tyr Ile Arg Asn Val Asn Phe Asn Gly Ser Ala Gly Thr Pro
 450 455 460

Val Met Phe Asn Lys Asn Gly Asp Ala Pro Gly Arg Tyr Asp Ile Phe
 465 470 475 480

Gln Tyr Gln Thr Thr Asn Thr Ser Asn Pro Gly Tyr Arg Leu Ile Gly
 485 490 495

Gln Trp Thr Asp Glu Leu Gln Leu Asn Ile Glu Asp Met Gln Trp Gly
 500 505 510

Lys Gly Val Arg Glu Ile Pro Ala Ser Val Cys Thr Leu Pro Cys Lys
 515 520 525

Pro Gly Gln Arg Lys Lys Thr Gln Lys Gly Thr Pro Cys Cys Trp Thr
 530 535 540

Cys Glu Pro Cys Asp Gly Tyr Gln Tyr Gln Phe Asp Glu Met Thr Cys
 545 550 555 560

Gln His Cys Pro Tyr Asp Gln Arg Pro Asn Glu Asn Arg Thr Gly Cys
 565 570 575

Gln Asp Ile Pro Ile Ile Lys Leu Glu Trp His Ser Pro Trp Ala Val
 580 585 590

Ile Pro Val Phe Leu Ala Met Leu Gly Ile Ile Ala Thr Ile Phe Val
 595 600 605

Met Ala Thr Phe Ile Arg Tyr Asn Asp Thr Pro Ile Val Arg Ala Ser
 610 615 620

Gly Arg Glu Leu Ser Tyr Val Leu Leu Thr Gly Ile Phe Leu Cys Tyr
 625 630 635 640

Ile Ile Thr Phe Leu Met Ile Ala Lys Pro Asp Val Ala Val Cys Ser
 645 650 655

Phe Arg Arg Val Phe Leu Gly Leu Gly Met Cys Ile Ser Tyr Ala Ala
 660 665 670

Leu Leu Thr Lys Thr Asn Arg Ile Tyr Arg Ile Phe Glu Gln Gly Lys
 675 680 685

Lys Ser Val Thr Ala Pro Arg Leu Ile Ser Pro Thr Ser Gln Leu Ala
 690 695 700

Ile Thr Ser Ser Leu Ile Ser Val Gln Leu Leu Gly Val Phe Ile Trp
 705 710 715 720

Phe Gly Val Asp Pro Pro Asn Ile Ile Ile Asp Tyr Asp Glu His Lys
 725 730 735

Thr Met Asn Pro Glu Gln Ala Arg Gly Val Leu Lys Cys Asp Ile Thr
 740 745 750

Asp Leu Gln Ile Ile Cys Ser Leu Gly Tyr Ser Ile Leu Leu Met Val
 755 760 765

Thr Cys Thr Val Tyr Ala Ile Lys Thr Arg Gly Val Pro Glu Asn Phe
 770 775 780

Asn Glu Ala Lys Pro Ile Gly Phe Thr Met Tyr Thr Thr Cys Ile Val
 785 790 795 800

Trp Leu Ala Phe Ile Pro Ile Phe Phe Gly Thr Ala Gln Ser Ala Glu
 805 810 815

Lys Leu Tyr Ile Gln Thr Thr Thr Leu Thr Ile Ser Met Asn Leu Ser
 820 825 830

Ala Ser Val Ala Leu Gly Met Leu Tyr Met Pro Lys Val Tyr Ile Ile
 835 840 845

Ile Phe His Pro Glu Leu Asn Val Gln Lys Arg Lys Arg Ser Phe Lys
 850 855 860

Ala Val Val Thr Ala Ala Thr Met Ser Ser Arg Leu Ser His Lys Pro
 865 870 875 880

Ser Asp Arg Pro Asn Gly Glu Ala Lys Thr Glu Leu Cys Glu Asn Val
 885 890 895

Asp Pro Asn Asn Cys Ile Pro Pro Val Arg Lys Ser Val Gln Lys Ser
 900 905 910

Val Thr Trp Tyr Thr Ile Pro Pro Thr Val
 915 920

(2) Information für SEQ ID Nr: 15

(i) Sequenzeigenschaften:

(A) Länge: 630 Basenpaare
 (B) Typ: Nukleinsäure
 (C) Strangart: Einzelstrang
 (D) Topologie: linear

(ii) Molekültyp: cDNA

(ix) Merkmal:

(A) Name/Schlüssel: CDS
 (B) Lage: 1...630
 (D) Andere Information: Produkt = "partieller hmGluR6"

(xi) Sequenzbeschreibung: SEQ ID Nr: 15

GTG GAG GCC CTG CAG TGG TCT GGC GAC CCC CAC GAG GTG CCC TCG TCT	48
Val Glu Ala Leu Gln Trp Ser Gly Asp Pro His Glu Val Pro Ser Ser	
1 5 10 15	
CTG TGC AGC CTG CCC TGC GGG CCG GGG GAG CGG AAG AAG ATG GTG AAG	96
Leu Cys Ser Leu Pro Cys Gly Pro Gly Glu Arg Lys Lys Met Val Lys	
20 25 30	
GGC GTC CCC TGC TGT TGG CAC TGC GAG GCC TGT GAC GGG TAC CGC TTC	144
Gly Val Pro Cys Cys Trp His Cys Glu Ala Cys Asp Gly Tyr Arg Phe	
35 40 45	
CAG GTG GAC GAG TTC ACA TGC GAG GCC TGT CCT GGG TAC ATG AGG CCC	192
Gln Val Asp Glu Phe Thr Cys Glu Ala Cys Pro Gly Tyr Met Arg Pro	
50 55 60	
ACN CCC AAC CAC ATC NNA CTT NNG CCC ACA CCT GTG GTG CGC CTG AGC	240
Xaa Pro Asn His Ile Xaa Leu Xaa Pro Thr Pro Val Val Arg Leu Ser	
65 70 75 80	

DE 694 34 166 T2 2005.11.10

TGG TCC TCC CCC TGG GCA GCC CCG CCG CTC CTC CTG GCC GTG CTG GGC	288
Trp Ser Ser Pro Trp Ala Ala Pro Pro Leu Leu Leu Ala Val Leu Gly	
85 90 95	
ATC GTG GCC ACT ACC ACG GTG GTG GCC ACC TTC GTG CGG TAC AAC AAC	336
Ile Val Ala Thr Thr Thr Val Val Ala Thr Phe Val Arg Tyr Asn Asn	
100 105 110	
ACG CCC ATC GTC CGG GCC TCG GGC CGA GAG CTC AGC TAC GTC CTC CTC	384
Thr Pro Ile Val Arg Ala Ser Gly Arg Glu Leu Ser Tyr Val Leu Leu	
115 120 125	
ACC GGC ATC TTC CTC ATC TAC GCC ATC ACC TTC CTC ATG GTG GCT GAG	432
Thr Gly Ile Phe Leu Ile Tyr Ala Ile Thr Phe Leu Met Val Ala Glu	
130 135 140	
CCT GGG GCA GCG GTC TGT GCC GCC CGC AGG CTC TTC CTG GGC CTG GGC	480
Pro Gly Ala Ala Val Cys Ala Ala Arg Arg Leu Phe Leu Gly Leu Gly	
145 150 155 160	
ACG ACC CTC AGC TAC TCT GCC CTG CTC ACC AAG ACC AAC CGT ATC TAC	528
Thr Thr Leu Ser Tyr Ser Ala Leu Leu Thr Lys Thr Asn Arg Ile Tyr	
165 170 175	
CGC ATC TTT GAG CAG GGC AAG CGC TCG GTC ACA CCC CCT CCC TTC ATC	576
Arg Ile Phe Glu Gln Gly Lys Arg Ser Val Thr Pro Pro Pro Phe Ile	
180 185 190	
AGC CCC ACC TCA CAG CTG GTC ATC ACC TTC AGC CTC ACC TCC CTG CAG	624
Ser Pro Thr Ser Gln Leu Val Ile Thr Phe Ser Leu Thr Ser Leu Gln	
195 200 205	
GTG GGG	630
Val Gly	
210	

(2) Information für SEQ ID Nr: 16

(i) Sequenzeigenschaften:

(A) Länge: 210 Aminosäuren
 (B) Typ: Aminosäure
 (D) Topologie: linear

(ii) Molekültyp: Protein

(xi) Sequenzbeschreibung: SEQ ID Nr: 16

```

Val Glu Ala Leu Gln Trp Ser Gly Asp Pro His Glu Val Pro Ser Ser
  1           5           10           15

Leu Cys Ser Leu Pro Cys Gly Pro Gly Glu Arg Lys Lys Met Val Lys
           20           25           30

Gly Val Pro Cys Cys Trp His Cys Glu Ala Cys Asp Gly Tyr Arg Phe
           35           40           45

Gln Val Asp Glu Phe Thr Cys Glu Ala Cys Pro Gly Tyr Met Arg Pro
           50           55           60

Xaa Pro Asn His Ile Xaa Leu Xaa Pro Thr Pro Val Val Arg Leu Ser
           65           70           75           80

Trp Ser Ser Pro Trp Ala Ala Pro Pro Leu Leu Leu Ala Val Leu Gly
           85           90           95

Ile Val Ala Thr Thr Thr Val Val Ala Thr Phe Val Arg Tyr Asn Asn
           100          105          110

Thr Pro Ile Val Arg Ala Ser Gly Arg Glu Leu Ser Tyr Val Leu Leu
           115          120          125

```


Thr Gly Ile Phe Leu Ile Tyr Ala Ile Thr Phe Leu Met Val Ala Glu
 130 135 140

Pro Gly Ala Ala Val Cys Ala Ala Arg Arg Leu Phe Leu Gly Leu Gly
 145 150 155 160

Thr Thr Leu Ser Tyr Ser Ala Leu Leu Thr Lys Thr Asn Arg Ile Tyr
 165 170 175

Arg Ile Phe Glu Gln Gly Lys Arg Ser Val Thr Pro Pro Pro Phe Ile
 180 185 190

Ser Pro Thr Ser Gln Leu Val Ile Thr Phe Ser Leu Thr Ser Leu Gln
 195 200 205

Val Gly
 210

Patentansprüche

1. Gereinigter humaner metabotroper Glutamatrezeptor (hmGluR), der die in SEQ ID Nr. 12 gezeigte Aminosäuresequenz umfasst.
2. Gereinigter humaner metabotroper Glutamatrezeptor (hmGluR), der die in SEQ ID Nr. 14 gezeigte Aminosäuresequenz umfasst.
3. Gereinigter humaner metabotroper Glutamatrezeptor (hmGluR), der die in SEQ ID Nr. 4, 8 oder 10 gezeigten Aminosäuresequenzen umfasst.
4. Gereinigter metabotroper Glutamatrezeptor, der durch eine Nukleotidsequenz kodiert wird, die zur Hybridisierung unter hohen Stringenzbedingungen an die SEQ ID Nr. 3, 7, 9, 11 oder 13 fähig ist, wobei das Polypeptidprodukt unter Standardbedingungen im cAMP Radioimmuntest zeigt, dass AP-4 eine agonistische Wirkung bei einer Konzentration von weniger als 1 mM aufweist.
5. Fusionsprotein, das einen Rezeptor nach den Ansprüchen 1, 2, 3 oder 4 umfasst.
6. Nukleinsäure, die eine Nukleinsäure umfasst, welche für einen Rezeptor nach Anspruch 1, 2, 3 oder 4 kodiert.
7. Nukleinsäure nach Anspruch 6, worin die Nukleinsäure DNA ist.
8. DNA nach Anspruch 7, ausgewählt aus der Gruppe, die besteht aus den DNAs mit den in SEQ ID Nr. 3, 7, 9, 11 oder 13 gezeigten Nukleotidsequenzen.
9. Nukleinsäuresonde, die zumindest 14 aufeinanderfolgende Basen der Nukleinsäure gemäß Anspruch 6 oder 7 oder dem Komplementär hiervon umfasst und die spezifisch an eine Nukleinsäure nach Anspruch 6 oder 7 oder dem Komplementär hiervon unter Bedingungen mit hoher Stringenz bindet.
10. DNA nach Anspruch 7, worin die DNA ein Hybridvektor ist.
11. Wirtszelle, die durch den Hybridvektor von Anspruch 10 transformiert ist.

12. Wirtszelle gemäß Anspruch 11, worin die Wirtszelle eine eukaryontische Wirtszelle ist.
13. Wirtszelle nach Anspruch 11, worin die Wirtszelle eine Säugerzelle ist.
14. Gereinigte mRNA, die komplementär zur DNA nach Anspruch 8 ist.
15. Antikörper, der gegen ein Protein nach Anspruch 1, 2, 3 oder 4 gerichtet ist.
16. Antikörper nach Anspruch 15, der ein polyklonaler Antikörper ist.
17. Antikörper nach Anspruch 15, der ein monoklonaler Antikörper ist.
18. Verfahren zur Herstellung eines Rezeptors nach Anspruch 1 bis 4, das die Vermehrung einer geeigneten Wirtszelle umfasst, die mit einem Hybridvektor transformiert ist, der eine Expressionskassette enthält, die einen Promotor und eine DNA enthält, die für einen solchen Rezeptor kodiert, wobei die DNA durch den Promotor kontrolliert wird.
19. Verwendung eines Rezeptors nach Anspruch 1, 2, 3 oder 4 zum Screenen einer Verbindung, die die Aktivität des Rezeptors moduliert.
20. Verfahren zur Herstellung einer Nukleinsäure nach Anspruch 7, das die chemische Synthese, die rekombinante DNA Technologie oder die Polymerasekettenreaktion (PCR) umfasst.
21. Verwendung einer Wirtszelle nach Anspruch 11 zum Screening einer Verbindung, die die Aktivität eines Rezeptors nach Anspruch 1 bis 4 moduliert.
22. Verfahren zur Herstellung einer Wirtszelle nach Anspruch 11, das die Transfektion oder Transformation der Wirtszelle mit dem Hybridvektor nach Anspruch 10 umfasst.
23. Verfahren zur Identifizierung der DNA, die für einen hmGluR Subtyp nach Anspruch 1, 2, 3 oder 4 kodiert, das das Zusammenbringen von humaner DNA mit einer Sonde nach Anspruch 9 und die Identifizierung der DNA(s) umfasst, die mit dieser Sonde hybridisieren.
24. Verfahren zur Identifizierung von Verbindungen, die einen hmGluR Subtyp binden, das die Verwendung eines Rezeptorproteins nach Anspruch 1, 2, 3 oder 4 in einem kompetitiven Bindungstest umfasst.
25. Test zur Identifizierung von Verbindungen, die die Aktivität eines hmGluR Subtyps nach Anspruch 1, 2, 3 oder 4 modulieren, der umfasst
 - Zusammenbringen der Zellen nach Anspruch 12 mit zumindest einer Verbindung oder einem Signal, deren Fähigkeit zur Modulation der Aktivität dieses Rezeptorsubtyps bestimmt werden soll und anschließend
 - Analyse der Zellen auf einen Unterschied in der funktionellen Reaktion, die diesem Rezeptor zuzuordnen ist.
26. Test nach Anspruch 25, der umfasst
 - Zusammenbringen der Zellen nach Anspruch 12 mit mindestens einer Verbindung oder einem Signal, deren Fähigkeit zur Modulation der Botenstoffaktivität eines erfindungsgemäßen Rezeptorsubtyps bestimmt werden soll, und anschließend
 - Beobachtung dieser Zellen bezüglich einer Veränderung der Menge eines bestimmten Botenstoffs.
27. Verfahren zur Detektion eines Glutamatagonisten oder eines allosterischen Modulators eines hmGluR Subtyps nach Anspruch 1, 2, 3 oder 4 mit einer agonistischen Aktivität, das folgende Schritte umfasst (a) Exposition einer Verbindung gegenüber einem hmGluR Subtyp nach Anspruch 1, 2, 3 oder 4, der an einen Reaktionsweg gekuppelt ist unter Bedingungen und für eine Zeit, die eine Wechselwirkung der Verbindung mit dem Rezeptor und eine assoziierte Reaktion über den Signalweg erlaubt und (b) Detektion einer Erhöhung oder Verringerung der Stimulierung des Reaktionswegs, der aus der Wechselwirkung der Verbindung mit dem hmGluR Subtyp resultiert relativ zur Abwesenheit der getesteten Verbindung und Bestimmung der Anwesenheit eines Agonisten oder eines allosterischen Modulators, der eine Agonisten-ähnliche Aktivität aufweist.
28. Verfahren zur Identifizierung eines Glutamatantagonisten oder eines allosterischen Modulators eines hmGluR Subtyps nach Anspruch 1, 2, 3 oder 4 mit einer antagonistischen Aktivität, wobei das Verfahren die folgenden Schritte umfasst (a) Exposition einer Verbindung in Gegenwart eines bekannten Glutamatagonisten

für einen hmGluR Subtyp nach Anspruch 1, 2, 3 oder 4 gegenüber einem Reaktionsweg unter Bedingungen und für eine Zeit, die eine Wechselwirkung des Agonisten mit dem Rezeptor und eine assoziierte Reaktion über den Reaktionsweg erlaubt und (b) Detektion einer Hemmung der Stimulierung des Reaktionswegs durch den Agonisten, die aus einer Wechselwirkung der Testverbindung mit dem hmGluR Subtyp resultiert, relativ zur Stimulierung des Reaktionswegs, die durch den Glutamatagonisten alleine ausgelöst wird und hieraus Bestimmung der Anwesenheit eines Glutamatantagonisten oder eines allosterischen Modulators mit einer Antagonisten-ähnlichen Aktivität.

29. Verfahren zur Modulation der Signaltransduktionsaktivität eines hmGluR Subtyps nach Anspruch 1, 2, 3 oder 4, das das Zusammenbringen des Rezeptors mit einem Antikörper nach Anspruch 15 umfasst.

Es folgt kein Blatt Zeichnungen