

06 106467



Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

PCT

DELEGATURA DE PROPIEDAD INDUSTRIAL

DIVISIÓN DE NUEVAS CREACIONES

06-106467

SOLICITUD DE PATENTE DE
INVENCION

TITULO: FACTOR DE PERMISIVIDAD CELULAR PARA VIRUS. Y USOS DEL
MISMO

SOLICITANTE: PHARMACIA & UPJOHN COMPANY LLC

DIRECCIÓN: 7000 Portage Road, kalamazoo, Michigan 49001, E.U.A.

A BLK 39 / R

APODERADO: CARLOS R. OLARTE

BOGOTÁ 20 de Octubre de 2006

P2006/000204

S.S'

OLARTE RAISBECK



SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
 Rad: 06-106467- -0000-0000
 Fea: 2005-10-20 17:03:14 Dep. 2020 NUECREACIONES
 Tra. 11 PATENTE IYI
 Exp. 379 FASE NACIONAL II
 Act 411 PRESENTACION Folios: 494

PETITORIO - FORMULARIO ÚNICO DE SOLICITUD PATENTE PCT ENTRADA EN FASE NACIONAL

23/11/06

SOLICITUD DE:

1

☒

Patente de Invención.

☐

Patente de Modelo de Utilidad.

☐

Capítulo I.

☒

Capítulo II.

2

SOLICITANTE
(71)

Nombre: PHARMACIA & UPJOHN COMPANY LLC

Dirección: 7000 Portage Road, Kalamazoo,
Michigan 49001, Estados Unidos

Nacionalidad o Domicilio: ESTADOUNIDENSE

Lugar de Constitución: Delaware, Estados
Unidos de América.

Teléfono: _____

Fax: _____

E-mail: _____

IDENTIFICACIÓN

C.C. ☐ NIT ☐

C.E. ☐ Otro ☐

Cual _____

Número _____

REPRESENTANTE
O APODERADO

Nombre: CARLOS R. OLARTE

Dirección: World Trade Center Torre A,
Calle 100 No. 8A-37 Piso 10

Teléfono: 601-7700 Fax: 601-7799

E-mail: office@olarteraisbeck.com

IDENTIFICACIÓN

C.C. ☒ NIT ☐

C.E. ☐ Otro ☐

Cual _____

Número 79782747 Bta
TP 74.295

INVENTOR (ES)
(72)

Nombre: (VER PAGINA ADJUNTA)

Dirección: (VER PAGINA ADJUNTA)

Nacionalidad o Domicilio: (VER PAGINA ADJUNTA)

Jay Gregory CALVERT
Shelly Lynn SHIELDS
David Ewell SLADE
Siao-Kun WAN WELCH

PCT (86)

Solicitud Internacional No. PCT/US2005/011502

Fecha Abril 5, 2005

Publicación Internacional No. WO 2005/107796

Fecha Noviembre 17, 2005

3

Título (54) FACTOR DE PERMISIVIDAD CELULAR PARA VIRUS, Y USOS
DEL MISMO

Clasificación Internacional (51) A61K 39/12, C12Q 1/68, C12N 7/00, 5/06,
15/56

Prioridad

SI

☒

N

☐

(33) País de Origen

US

US

(32) Fecha

Abril 23, 2004

Diciembre 9, 2004

(31) Número de Solicitud

60/565.214

60/634.736

4

Comprobante de pago No. 06 - 78.146

Fecha octubre 10, 2006

10

ANEXOS

☒ x

Comprobante de pago de la tasa de presentación de la solicitud.

☐

Documento que acredita la existencia y representación legal cuando el solicitante sea persona jurídica.

☒ x

Poderes, si fuere el caso.

☒ x

Documento de cesión del inventor al solicitante o a su causante.

☐

Declaraciones.

☒ x

Copia de la solicitud Internacional. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos).

☒ x

Traducción de la solicitud Internacional al castellano. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos).

☐

Copia del examen preliminar Internacional efectuado por la Autoridad Internacional de Examen Preliminar (IPEA).

☐

Traducción del examen preliminar Internacional efectuado por la IPEA.

☐

De ser el caso, copia del contrato de acceso.

☐

De ser el caso, documento que acredite la licencia o autorización de uso de conocimientos tradicionales de las comunidades indígenas.

☐

De ser el caso, certificado de depósito del material biológico.

☐

Arte final 12 x 12.

☐

De ser el caso, información sobre otras solicitudes de patente o títulos obtenidos en el extranjero por el mismo titular o su causante, relacionadas parcial o totalmente con la invención de esta solicitud.

☐

De ser el caso, modificaciones efectuadas a la solicitud Internacional.

☒ x

Otros. Búsqueda Internacional

11

FIGURA CARACTERÍSTICA:

12

Solicito la concesión de la patente,

NOMBRE: CARLOS R. OLARTE

FIRMA:

C.C. 79.782.747 Bta T.P. 74.295

LISTA DE INVENTORES PCT/US2005/011502

JAY GREGORY CALVERT
03400 22nd Street, Otsego,
Michigan 49078,
Estados Unidos de América
Nacionalidad: Estadounidense

SHELLY LYNN SHIELDS
12200 Pine Lake Road,
Plainwell, Michigan 49080
Estados Unidos de América
Nacionalidad: Estadounidense

DAVID EWELL SLADE
7426 Marfield Street,
Portage, Michigan 49024,
Estados Unidos de América
Nacionalidad: Estadounidense

SIAO-KUN WAN WELCH
9087 South 6th Street,
Kalamazoo, Michigan 49009
Estados Unidos de América
Nacionalidad: Estadounidense

A

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 800176089-2

RECIBO OFICIAL DE CAJA : 06 - 78,146
FECHA : OCTUBRE 10 DE 2006

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
Rad: 06-106467- -00000-0000
Fec: 2006-10-20 17:13:14 Dep. 2020 NUECREACIONES
Trib. 11 PATENTEIYB
Eve: 378 FABENACIONALI
42411 PRESENTACION Folios: 494

***** CONSIGNACION *****

DEPOSITANTE	TIPO PASO	BANCO	CUENTA	No. PASO	FECHA PASO	Vr. PASO
OL RAISBEGR	CONSIGNACION	BANCO POPULAR	050-00110-6	52198855	10/10/2006	5,644,000.00

***** C O N C E P T O *****

CANT. RENTISTICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1 50005-01-01 SOLICITUDES	1 TRAMITES DE SOL. DE PATENTE DE IN	463,000.00
	TOTAL :	\$ 463,000.00

SOM: CUATROCIENTOS SESENTA Y TRES MIL PESOS

RESPONSABLE : 

RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No. _____

TRADUCCION OFICIAL No. 04-383

Efectuada el día 24 de noviembre de 2004, de un documento escrito en Inglés, al cual para su identificación se le estampa el sello de Sergio Andrés Rueda Iglesias, Traductor e Intérprete Oficial por Resolución No. 0138 del 11 de febrero de 2002 expedida por el Ministerio de Justicia de la República de Colombia.

Traducción Oficial de las autenticaciones notariales y subsiguientes correspondientes a un Poder otorgado por **Pharmacia & Upjohn Company LLC** a **Carlos R. Olarte**, y/o **J. Ian Raisbeck** y/o **Ana María Frieri**, documento este que viene en español y se explica por sí solo.

(Fdo.) **Grover F. Fuller Jr**, Secretario Asistente, 8 de noviembre de 2004.

En inglés y en español viene certificación notarial del 8 de noviembre de 2004 mediante el cual se confirma el nombre y cargo de **Grover F. Fuller Jr**, así como la existencia legal de la compañía. Dicha certificación notarial fue firmada por **Jane E. Callahan**, Notario Público de Nueva York, cuyo sello notarial expira el 12/11/2005, según consta en su correspondiente sello notarial.

Estado de Nueva York - Condado de Nueva York

Como Notario Público he visto este Certificado y hago constar que el original que se me presentó coincide con la copia que se me ha presentado a la vista.

NOVENA DE DICIEMBRE DE 2004

FEELIX RUJAS SANCLEMENTE
BOGOTÁ D. C. - COLOMBIA

SERGIO ANDRÉS RUEDA IGLESIAS
C. C. 2773
TRADUCTOR E INTERPRETE OFICIAL
ESPAÑOL - INGLÉS / INGLÉS - ESPAÑOL
RESOLUCION No. 0138 DE FEBRERO 11.2002
MINISTERIO DE JUSTICIA Y EF. DE "GON"

6

No. 405290

El suscrito, Norman Goodman, Escribano del Condado y del Tribunal Supremo del Estado de Nueva York, tribunal éste provisto de sello por ley, por medio de este documento certifico conforme a la ley ejecutiva del Estado de Nueva York que Jane E. Callahan, cuyo nombre aparece suscrito en la declaración jurada o certificado de reconocimiento anexo, desempeñaba en el momento de tomar el mismo, las funciones de Notario Público, en y para el Estado de Nueva York, estando debidamente comisionado bajo juramento y habilitado como tal; que conforme a la ley en mi despacho obra un certificado de su nombramiento con su firma autógrafa; que conozco bien la letra manuscrita de dicho Notario Público o he comparado la firma que aparece en el instrumento anexo con la que reposa en los archivos de mi oficina, y creo en conciencia que la misma es auténtica.

EN FE DE LO CUAL, firmo de mi puño y letra y es
oficial, el día 15 de noviembre de 2004.

la que reposa
ciencia que la
con su original que ha tenido a la vista
28 DIC 2005
NOTARIO VEINTISIETE (E).
Eduardo José Rodríguez
tampoco en el
BOGOTÁ, D. C. - COLOMBIA

SERGIO ANDRÉS RIVERA IGLESIAS
C. C. 773
TRADUCTOR DE ALFABETO FONÉTICO
ESPAÑOL - INGLÉS / INGLÉS - ESPAÑOL
RESOLUCIÓN 110113 17 FEBRERO 11 2002
MINISTERIO DE JUSTICIA Y DEL DERECHO

7

(Fdo.) Norman Goodman, Escribano del Condado y del Tribunal
Supremo del Estado de Nueva York.

APOSTILLA

(Convención de La Haya del 5 de octubre de 1961)

1. País: Estados Unidos de América

El presente documento público

2. Fue firmado por Norman Goodman

3. Que actuó en su calidad de Escribano del Condado

4. Lleva el sello del Condado de Nueva York

Se certificó:

5. En Nueva York, Nueva York

6. El 15 de noviembre de 2004

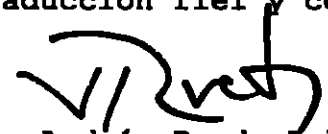
7. Por parte del Secretario Encargado del Estado de Nueva
York

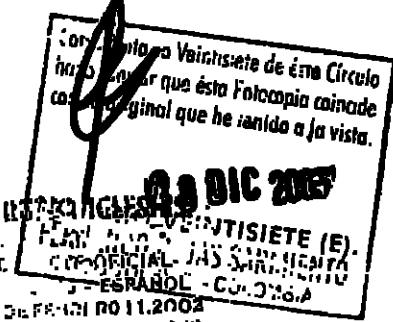
8. Bajo el Número **NYC-10317312A**

9. Aparece Sello del Distrito de Columbia

10. Firmado por James Bizarri, Secretario de Estado Encargado

Es traducción fiel y completa efectuada por:


Sergio Andrés Rueda Iglesias
C.C.80.424.773 de Bogotá


SERGIO A. RUEDA IGLESIAS
C.C.80.424.773 de Bogotá
TRADUCCION FIEL
ESPAÑOL - INGLÉS
RESOLUCION No. 01533 de FEBRERO 11, 2004
MINISTERIO DE JUSTICIA Y DEL DERECHO

Apostille

(Convention de La Haye du 5 Octobre 1961)

8

1. Country: **United States of America**
This public document
2. has been signed by **Norman Goodman**
3. acting in the capacity of **County Clerk**
4. bears the seal/stamp of the county of **New York**

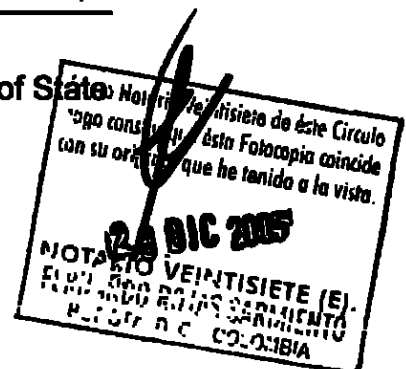
Certified

5. At New York, New York
6. the 15th day of November 2004
7. by Special Deputy Secretary of State, State of New York
8. No. NYC-10317312A
9. Seal/Stamp
10. Signature

James Bizzarri

James Bizzarri

Special Deputy Secretary of State



OLARTE RAISBECK

OLARTE RAISBECK & FRIERI, LTDA.
LEGAL & PROFESSIONAL SERVICES

WORLD TRADE CENTER — TORRE C
CALLE 100 No. 8A-55 Piso 10
BOGOTÁ, COLOMBIA
TELEPHONE: +57-1 638-6200
FAX: +57-1 638-6201

www.olarteraisbeck.com

Power of Attorney

The undersigned,

domiciled in

Pharmacia & Upjohn Company LLC

301 Henrietta Street, Kalamazoo, MI 49001 U.S.A.

by means of these presents hereby grants to **Carlos R. Olarte, J. Ian Ralsbeck and Ana María Frieri** full and sufficient Power of Attorney to file, prosecute, obtain, defend and enforce any and all of the company's Patents, Utility Models and Industrial Designs in the Republic of Colombia, to which end it empowers them to take all steps necessary before any administrative or judicial authority of any class for the objects stated, to file petitions, appeals, replies and oppositions, pay taxes and annuities, request testimonies, receive documents and securities, abandon applications and collect refunds. Sufficient power is hereby granted to receive notifications on behalf of the Company, to confer powers on those who are to represent the company judicially and extrajudicially, to answer in court in the matter of all claims and demands that may be presented in connection with the objects stated, giving them likewise power to substitute these presents and revoke such substitutions.

Poder

El suscrito,

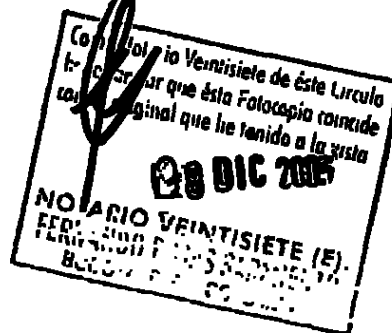
domiciliado en

por medio del presente otorga a **Carlos R. Olarte, J. Ian Ralsbeck y Ana María Frieri** poder especial, amplio y suficiente para presentar, tramitar, obtener, defender y hacer respetar todas y cualquiera de Patentes, Modelos de Utilidad y Diseños Industriales de la compañía en la República de Colombia, a cuyo efecto los faculta para dar todos los pasos necesarios ante cualquier autoridad administrativa o judicial de cualquier jerarquía para cumplir con lo encomendado, elevar solicitudes, apelaciones, respuestas y oposiciones, pagar impuestos y anualidades, solicitar testimonios, recibir documentos y valores, desistir y percibir. Se concede poder bastante para recibir notificaciones a nombre de la compañía, otorgar poderes a quienes vayan a representar a la compañía judicial y extrajudicialmente, responder en juicio a todas las reclamaciones o demandas que por motivo de lo encomendado se presentaren, dándoles asimismo facultad para sustituir el presente y revocar dichas sustituciones.

Signature/Firma: Grover F. Fuller Jr., Assistant Secretary

Date/Fecha: November 8, 2004

City/Country/Ciudad,País: New York, NY U.S.A.



OLARTE RAISBECK

OLARTE RAISBECK & FRIER, LTDA.
LEGAL & PROFESSIONAL SERVICES

WORLD TRADE CENTER -- TORRE C
CALLE 100 No. 8A-55 PISO 10
BOGOTÁ, COLOMBIA
TELEPHONE +57-1 638-6200
FAX: +57-1 638-6201

www.olarteraisbeck.com

Notarial Certification

Certificación Notarial

On this date, **Nov. 8, 2004**

En esta fecha,

The undersigned Notary Public certifies:

el Notario Público suscrito certifica:

1. That

Grover F. Fuller Jr., Assistant Secretary
of legal age and domiciled in
150 East 42nd Street, New York, NY 10017 U.S.A.
signed the foregoing document.

1. Que

mayor de edad y domiciliado
suscribió el documento que antecede.

2. That the grantor has executed the foregoing document as Assistant Secretary of Pharmacia & Upjohn Company LLC

2. Que el otorgante ha suscrito el referido documento en su carácter de de

3. That Pharmacia & Upjohn Company LLC, having its principal place of business located in 301 Henrietta Street, Kalamazoo, MI 49001 is duly incorporated, is currently in existence, and that the purposes for which the Power of Attorney is granted are within the scope of its corporate purposes.

4. Que
con sede principal ubicada en

está legalmente constituida, que tiene existencia legal vigente y que los propósitos para los cuales se otorga el poder se encuentra dentro de los que comprenden su objeto social.

4. That the grantor has the authority to execute the Power of Attorney and that his/her representation is legal.

4. Que el otorgante tiene la representación para suscribir el poder, y que ésta es legítima.

5. The foundation for my certifications contained in points 2, 3 and 4 was the exhibition of the following authentic document(s):

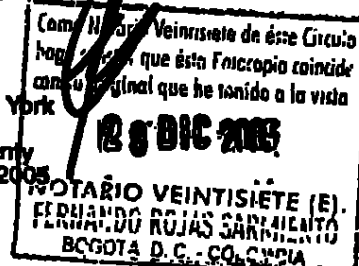
5. El fundamento de mis certificaciones contenidas en los puntos 2, 3 y 4 fue la exhibición de los (del) siguiente(s) documento(s) auténtico(s):

NOTARY PUBLIC (Signature):

*State of New York
County of New York*

*Seen to before me
this 8th day of Nov. 2004*

Jane E. Callahan
JANE E. CALLAHAN
Notary Public, State Of New York
No. 01CA4859877
Qualified in New York County
Commission Expires 12/11/2005



Yo, George Andrew Lewis, Notario Público de la ciudad de Slough en Berkshire, debidamente licenciado y juramentado y en ejercicio en dicha ciudad,

DOY FE Y CERTIFICO POR EL PRESENTE:

Que las firmas puestas en el documento adjunto presentado al suscrito son genuinas.

CESION

EN FE DE LO CUAL firmo y sello el presente con mi sello oficial en la ciudad de Slough según lo dicho anteriormente, el día de hoy 26 de septiembre de 2006.

[Firmado y sellado]

George Andrew Lewis
Notario Público

Apostille

(Convención de La Haya del 5 de octubre de 1961)

REINO UNIDO DE GRAN BRETAÑA E IRLANDA DEL NORTE

1. País: Reino Unido de Gran Bretaña e Irlanda del Norte
2. Este documento público ha sido firmado por: George Andrew Lewis
3. obrando en su condición de Notario Público
4. lleva el sello/estampilla de dicho Notario Público

Certificado

- | | |
|--|------------------------------------|
| 5. en Londres | 6. el 27 de septiembre de 2006 |
| 7. por: Secretario Principal de Estado de su Majestad para Asuntos Extranjeros | |
| 8. No. H151808 | |
| 9. Sello / Estampilla
[Sellado] | 10. Firma: T. Bissell
[Firmado] |

CESIÓN

A cambio de una contraprestación de valor, la cual me (nos) pagó PHARMACIA & UPJOHN COMPANY LLC, una sociedad de responsabilidad limitada constituida y existente bajo las leyes del Estado de Delaware, Estados Unidos, con dirección de correos en el # 301 de Henrietta Street, Kalamazoo, Michigan 49001, Estados Unidos, por el presente le vendo y le cedo (le vendemos y le cedemos) a la citada PHARMACIA & UPJOHN COMPANY LLC la totalidad de mis (nuestros) derechos, el título y el interés que tengo (tenemos) en mi (nuestro) invento de una cierta mejora, nueva y útil, del FACTOR DE PERMISIVIDAD CELULAR PARA VIRUSES Y USOS DEL MISMO, en la medida en que esta cesión concierne a

State of New York
County of New York, } ss.

NY
No 405290 Form 1

I, NORMAN GOODMAN, County Clerk and Clerk of the Supreme Court of the State of New York, in and for the County of New York, a Court of Record, having by law a seal,
DO HEREBY CERTIFY pursuant to the Executive Law of the State of New York, that

Jane E. Colla
whose name is subscribed to the annexed affidavit, deposition, certificate of acknowledgment, or proof, was at the time of taking the same a NOTARY PUBLIC in and for the State of New York duly commissioned, with his name qualified to act as such; that pursuant to law, a commission or a certificate of his official character, with his autograph signature has been filed in my office; that at the time of taking such proof, acknowledgment or oath, he was duly authorized to take the same; that I am well acquainted with the handwriting of such NOTARY PUBLIC, or have compared the signature on the annexed instrument with his autograph signature deposited in my office; and I believe that such signature is genuine.

IN WITNESS WHEREOF, I have hereunto set my hand affixed my official seal this

NOV 15 2004

FEE PAID \$3.00

Norman Goodman
County Clerk and Clerk of the Supreme Court, New York County

NOTARIO VEINTISIETE (E).
EDUARDO ROJAS SARRIENTO
BOGOTA D.C. - COLOMBIA

la República de Colombia, tal y como se describe plenamente el mismo en las especificaciones, y yo (nosotros) autorizo (autorizamos) y le solicito (solicitamos) por el presente a la Oficina de Patentes de Colombia que le expida dicha patente a la citada PHARMACIA & UPJOHN COMPANY LLC de conformidad con la presente cesión.

En fe de lo cual firmamos el presente el día de hoy.

Kalamazoo, MI, 5 de septiembre de 2006 [Firmado]
Lugar, fecha y firma – Jay Gregory Calvert

Kalamazoo, MI, 5 de septiembre de 2006 [Firmado]
Lugar, fecha y firma – Shelly Lynn Shields

Kalamazoo, MI, 5 de septiembre de 2006 [Firmado]
Lugar, fecha y firma – David Ewell Slade

Kalamazoo, MI, 5 de septiembre de 2006 [Firmado]
Lugar, fecha y firma – Siao-Kun Wan Welch

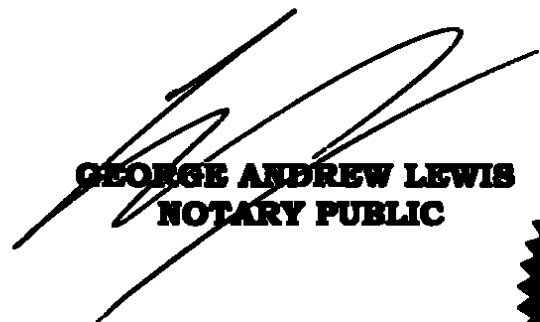
I, GEORGE ANDREW LEWIS, Notary Public of the Town of Slough in Berkshire, duly admitted and sworn, practising in the said Town,

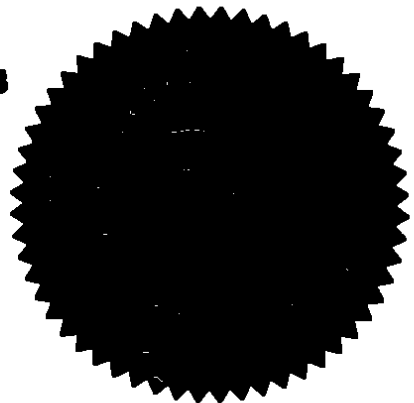
DO HEREBY CERTIFY AND ATTEST:

THAT the signature/s stated on the attached document presented before me are genuine.

ASSIGNMENT

IN TESTIMONY WHEREOF I have hereunto set my hand and affixed my Seal of Office in the Town of Slough aforesaid, this 26th day of September Two Thousand and Six


**GEORGE ANDREW LEWIS
NOTARY PUBLIC**



APOSTILLE
(Hague Convention of 5 October 1961 / Convention de La Haye du 5 octobre 1961)
UNITED KINGDOM OF GREAT BRITAIN AND NORTHERN IRELAND

1. Country: United Kingdom of Great Britain and Northern Ireland
Pays: Royaume-Uni de Grande-Bretagne et d'Irlande du Nord

This public document / Le présent acte public
2. Has been signed by George Andrew Lewis
a été signé par
3. Acting in the capacity of Notary Public
agissant en qualité de
4. Bears the seal/stamp of The Said Notary Public
est revêtu du sceau/timbre de
5. at London/à Londres
6. Certified/Attesté
the/le 27 September 2006
7. by Her Majesty's Principal Secretary of State for Foreign and Commonwealth Affairs /
par le Secrétaire d'Etat Principal de Sa Majesté aux Affaires Etrangères et du Commonwealth.
8. Number/sous No **H151808**
9. Stamp:
timbre:
10. Signature: T. Blaseell



For the Secretary of State / Pour le Secrétaire d'Etat

If this document is to be used in a country which is not party to the Hague Convention of 5 October 1961, it should be presented to the consular section of the mission representing that country. An apostille or legalisation certificate only confirms that the signature, seal or stamp on the document is genuine. It does not mean that the contents of the document are correct or that the Foreign & Commonwealth Office approves of the contents.

ASSIGNMENT

For valuable consideration paid to me (us) by PHARMACIA & UPJOHN COMPANY LLC a limited liability company organized and existing under the laws of the State of Delaware, United States of America whose full post office address is 301 Henrietta Street, Kalamazoo, Michigan 49001, United States of America, I (we) do hereby sell and assign to the said PHARMACIA & UPJOHN COMPANY LLC, all my (our) right, title and interest in and to my (our) invention for a new and useful Improvement in CELLULAR PERMISSIVITY FACTOR FOR VIRUSES AND USES THEREOF so far as the Republic of Colombia is concerned, as fully set forth and described in the specification, and I (we) do hereby authorize and request the Commissioner of Patents of Colombia to issue said patent to the said PHARMACIA & UPJOHN COMPANY LLC in accordance with this assignment.

In witness whereof I (we) have hereunto set my (our) hand(s) this

Kalamazoo, MI 5 Sept 2006 Jay Gregory Calvert
Place, date and signature - Jay Gregory CALVERT

Kalamazoo, MI 5 Sept 06 Shelly Lynn Shields
Place, date and signature - Shelly Lynn SHIELDS

Kalamazoo, MI 5 Sept 06 David Ewell Slade
Place, date and signature - David Ewell SLADE

Kalamazoo, MI 5 Sept 2006 Siao-Kun Wan Welch
Place, date and signature - Siao-Kun Wan WELCH

(12) INTERNATIONAL APPLICATION PUBLISHED UNDER THE PATENT COOPERATION TREATY (PCT)

(19) World Intellectual Property Organization
International Bureau



(43) International Publication Date
17 November 2005 (17.11.2005)

PCT

(10) International Publication Number
WO 2005/107796 A2

(51) International Patent Classification: A61K 39/12,
C12Q 1/68, C12N 7/00, S06, 15/86

(21) International Application Number:
PCT/US2005/011502

(22) International Filing Date: 5 April 2005 (05.04.2005)

(25) Filing Language: English

(26) Publication Language: English

(30) Priority Data:
60/565,214 23 April 2004 (23.04.2004) US
60/634,736 9 December 2004 (09.12.2004) US

(71) Applicant (for all designated States except US): PHARMACIA & UPJOHN COMPANY, LLC (US/US); 301 Henrietta Street, Kalamazoo, MI 49001 (US).

(72) Inventors: and
(75) Inventors/Applicants (for US only): CALVERT, Jay, Gregory (US/US); 03400 22nd Street, Oshtemo, MI 49078 (US). SHIELDS, Shelly, Lynn (US/US); 12200 Pine Lake Road, Plainwell, MI 49080 (US). SLADE, David, Ewell (US/US); 7426 Marfield Street, Portage, MI 49024 (US). WELCH, Niao-Kun, Wan (US/US); 9087 South 6th Street, Kalamazoo, MI 49009 (US).

(74) Agent: GROLZ, Edward, W.; Scully, Scott, Murphy & Presser, 400 Garden City Plaza, Garden City, NY 11530 (US).

(81) Designated States (unless otherwise indicated, for every kind of national protection available): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, MC, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR, OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

(84) Designated States (unless otherwise indicated, for every kind of regional protection available): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), Eurasian (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), European (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, MC, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

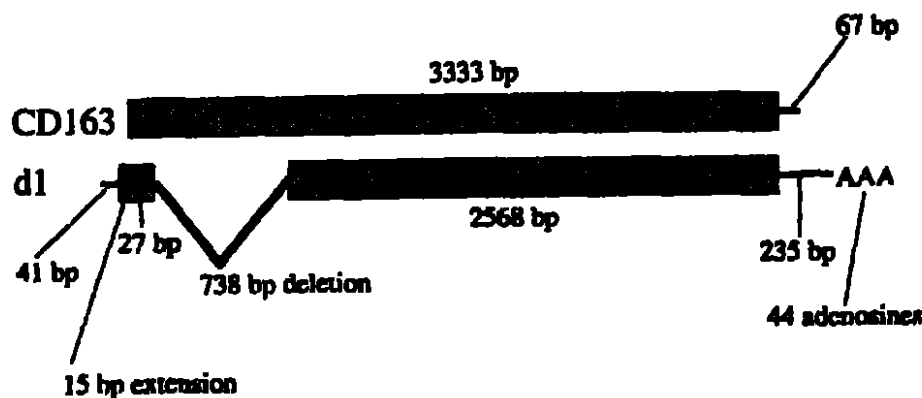
Declarations under Rule 4.17:

— as to applicant's entitlement to apply for and be granted a patent (Rule 4.17(ii)) for the following designations AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW, ARIPO patents (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), Eurasian patents (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), European patents (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, MC, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI patents (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG)

— as to the applicant's entitlement to claim the priority of the earlier application (Rule 4.17(iii)) for all designations

[Continued on next page]

(54) Title: CELLULAR PERMISSIVITY FACTOR FOR VIRUSES, AND USES THEREOF



(57) Abstract: The present invention provides methods and compositions related to the generation of host cells permissive for virus growth, particularly Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome (PRRS) virus.

WO 2005/107796 A2

WO 2005/107796 A2



— as to the applicant's entitlement to claim the priority of the earlier application (Rule 4.17(iii)) for all designations

For two-letter codes and other abbreviations, refer to the "Guidance Notes on Codes and Abbreviations" appearing at the beginning of each regular issue of the PCT Gazette.

Published:

— without international search report and to be republished upon receipt of that report

Cellular Permissivity Factor for Viruses, and Uses Thereof FIELD OF THE INVENTION

The present invention provides methods and compositions related to the generation of host cells permissive for virus growth for viruses of the family

5 *Asfarviridae* and *Arteriviridae*.

BACKGROUND OF THE INVENTION

Asfarviridae

Asfarviridae is a family of icosohedral enveloped viruses whose genome consists of a single molecule of linear double-stranded DNA of about 150000–190000 nucleotides
10 long. The name of the family is derived from African Swine Fever And Related Viruses. African Swine Fever Virus (ASFV) is the type species of the *Asfivirus* genus and is the sole member of the family. Recently, porcine CD163 polypeptide has been surmised by implication to be the cellular receptor for African swine fever virus (ASFV) (Sanchez-Torres et al., 2003)

15 *Arteriviridae*

Viruses of the family of *Arteriviridae* includes equine arteritis virus (EAV), lactate dehydrogenase-elevating virus (LDV) and simian hemorrhagic fever virus (SHFV). The Arterivirus having the greatest economic importance is Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus (PRRSV).

20 PRRSV

Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome (PRRS) is one of the most economically important diseases of swine. The syndrome appeared almost simultaneously in North American and in Western Europe in the late 1980s, and has since spread to become endemic in the major swine producing nations of Europe,
25 Asia, and the Americas. The etiologic agent of PRRS is a virus that has been designated PRRS virus or PRRSV. For both European and North American PRRS, the disease is characterized by reproductive failure in sows and gilts (late term abortions, still births, and mummies), high mortality among nursery pigs, and respiratory disease in swine of all ages. The disease has been the subject of recent
30 reviews (Mengeling and Lager, 2000; Murtaugh et al., 2002; Nodelijk, 2002; Plagemann, 2003).

In the pig, PRRSV infection is limited to a subset of cells of the monocyte/macrophage lineage. Fully differentiated porcine alveolar macrophage (PAM) cells are the primary target cells for viral replication (Duan et al., 1997a; Duan

et al., 1997b). Immortalization of PAM-cells is technically challenging, and when successful, has resulted in cell lines that are not permissive for PRRS virus growth (Weingartl et al., 2002). PRRS virions are specifically bound by macrophages and internalized in clathrin-coated pits by endocytosis. Release from endocytic vesicles requires acidic pH (Nauwynck et al., 1999). Initial binding of virions is mediated by interaction of the viral matrix protein with heparin sulfate glycosaminoglycans (Delputte et al., 2002). Internalization can be facilitated by a 210 or 220 kDa membrane glycoprotein, as incubation of PAM cells with monoclonal antibodies to this polypeptide block infection with PRRS virus (Duan et al., 1998; Wissink et al., 2003). The 210 kDa glycoprotein has recently been identified as sialoadhesin, a member of siglec family of sialic acid binding immunoglobulin-like lectins (Pensaert et al., 2003). Transfection of the non-permissive PK-15 (porcine kidney) cell line with porcine sialoadhesin conferred the ability to internalize PRRSV particles, but there remained an apparent block at the uncoating stage, as virions entered into cellular vesicles but did not undergo nucleocapsid disintegration and vesicle membrane fusion. Viral genes were not expressed, and the transfected PK-15 cells were not rendered permissive for the PRRS virus (Vanderheijden et al., 2003). To our knowledge, transfection with sialoadhesin has not been shown to be sufficient to convert any PRRSV non-permissive cell line to a PRRSV-permissive phenotype.

Apart from primary porcine cells of the monocyte/macrophage lineage, the only other cell type known to be permissive for the growth of PRRSV in cell culture is the immortalized monkey kidney cell line MA-104 (Chladek et al., 1998) and derivatives such as MARC-145 (Kim et al., 1993) and CL-2621. It is not known why this one particular cell line is permissive, yet other mammalian cell lines are not. The PRRS virus binds specifically to a number of different cell types, but does not initiate infection (Kreutz, 1998; Therrien et al., 2000). In MARC-145 cells, the internalization of the virus by endocytosis and subsequent uncoating in low pH vesicles seems to mimic similar events in PAM cells (Kreutz and Ackermann, 1996). However, a number of monoclonal antibodies that bind to porcine sialoadhesin fail to detect a homologous protein on the surface of MARC-145-cells (Duan et al., 1998; Wissink et al., 2003), suggesting that MARC-145 cells may use a divergent member of the same protein family or a different receptor altogether.

Current PRRSV vaccines are propagated on simian cell lines, which is a potentially dangerous activity. The use of simian cell lines for vaccine production has the potential to introduce primate viruses of significance into swine lines intended for xenotransplant purposes. Because swine are being increasingly explored as a source of xenotransplanted organs for humans, the introduction of primate cell lines to swine populations may ultimately pose a risk to humans receiving xenotransplanted organs. Thus, it would be prudent to avoid the use of simian cell lines in swine vaccine preparations. It would be therefore desirable to identify or generate non-simian cells or cell lines capable of supporting PRRSV replication. Towards this goal, it is essential to identify the gene product(s) which may be responsible for conferring the permissivity for PRRSV replication as seen in certain simian cells lines as well as PAM cells. Once such gene products are identified, non-permissive cells might be rendered permissive by transfection of the essential gene into them, thereby affording a wider array of production lines for a vaccine.

One lab has reported that the tetraspanin protein CD151 from MARC-145 cells, when transfected into non-permissive BHK-21 cells, confers permissivity to the PRRS virus (Kapil and Shanmukhappa, 2003; Shanmukhappa and Kapil, 2001). This observation has yet to be confirmed by an independent lab.

We describe here an unrelated polypeptide, which when transfected into non-permissive cells, confers permissivity to the PRRS virus.

References Cited

Chladek, D. W., Harris, L. L., and Gorcyca, D. E. Method of growing and attenuating a viral agent associated with mystery swine disease. Boehringer Ingelheim Animal Health, Inc. 677,585[US 5,840,563], 1-24. 11-24-1998. USA. 7-9-1996.
Ref Type: Patent

Dea, S., Gagnon, C.A., Mardassi, H., Pirzadeh, B., and Rogan, D. (2000). Current knowledge on the structural proteins of porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) virus: comparison of the North American and European isolates [Review]. Arch. Virol. 145, 659-688.

Delputte, P.L., Vanderheijden, N., Nauwynck, H.J., and Pensaert, M.B. (2002). Involvement of the matrix protein in attachment of porcine reproductive and respiratory syndrome virus to a heparinlike receptor on porcine alveolar macrophages. J. Virol. 76, 4312-4320.

- Duan,X., Nauwynck,H.J., and Pensaert,M.B. (1997a). Effects of origin and state of differentiation and activation of monocytes/macrophages on their susceptibility to porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV). *Arch. Virol.* 142, 2483-2497.
- 5 Duan,X., Nauwynck,H.J., and Pensaert,M.B. (1997b). Virus quantification and identification of cellular targets in the lungs and lymphoid tissues of pigs at different time intervals after inoculation with porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV). *Vet. Microbiol.* 56, 9-19.
- Duan,X.B., Nauwynck,H.J., Favoreel,H.W., and Pensaert,M.B. (1998). Identification
10 of a putative receptor for porcine reproductive and respiratory syndrome virus on porcine alveolar macrophages. *J. Virol.* 72, 4520-4523.
- Graversen,J.H., Madsen,M., and Moestrup,S.K. (2002). CD163: a signal receptor scavenging haptoglobin-hemoglobin complexes from plasma. [Review] [19 refs]. *International Journal of Biochemistry & Cell Biology* 34, 309-314.
- 15 Gronlund J. Vitved L. Lausen M. Skjodt K. Holmsoy U. Cloning of a novel scavenger receptor cysteine-rich type I transmembrane molecule (M160) expressed by human macrophages. *Journal of Immunology* 165(11):6406-6415, 2000.
- Kapil, S. and Shanmukhappa, K. Host susceptibility factor(s) for porcine reproductive
20 and respiratory syndrome virus and uses in swine breeding, as a target for antiviral compounds, and development of a non-simian recombinant cell line for propagation of the virus. none. US 2003/0186236 A1, 1-45. 10-2-2003. USA. 1-28-2002.
Ref Type: Patent
- Kim,H.S., Kwang,J., Yoon,I.J., Joo,H.S., and Frey,M.L. (1993). Enhanced replication
25 of porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) virus in a homogenous subpopulation of MA-104 cell line. *Arch. Virol.* 133, 477-483.
- Kreutz,L.C. (1998). Cellular membrane factors are the major determinants of porcine reproductive and respiratory syndrome virus tropism. *Virus Res.* 53, 121-128.
- Kreutz,L.C. and Ackermann,M.R. (1996). Porcine reproductive and respiratory
30 syndrome virus enters cells through a low pH-dependent endocytic pathway. *Virus Res.* 42, 137-147.
- Mengeling,W.L. and Lager,K.M. (2000). A brief review of procedures and potential problems associated with the diagnosis of porcine reproductive and respiratory syndrome. *Veterinary Research* 31, 61-69.
- 35 Meulenbergh,J.J.M. (2000). PRRSV, the virus. *Veterinary Research* 31, 11-21.
- Murtaugh,M.P., Xiao,Z.G., and Zuckermann,F. (2002). Immunological responses of swine to porcine reproductive and respiratory syndrome virus infection [Review]. *Viral Immunology* 15, 533-547.
- Nauwynck,H.J., Duan,X., Favoreel,H.W., Van Oostveldt,P., and Pensaert,M.B.
40 (1999). Entry of porcine reproductive and respiratory syndrome virus into porcine alveolar macrophages via receptor-mediated endocytosis. *J. Gen. Virol.* 80, 297-305.

- Nodelijk, G. (2002). Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome (PRRS) with special reference to clinical aspects and diagnosis - A review [Review]. *Vet. Quart.* 24, 95-100.
- 5 Pensaert, M., Nauwynck, H., and Vanderheijden, N. Nucleic acid encoding polypeptide involved in cellular entrance of the PRRS virus. Akzo Nobel N.V. and Universiteit Gent. WO 03/010200 A2, 1-24. 2-6-2003. 7-18-2002.
Ref Type: Patent
- 10 Philippidis, P., Mason, J.C., Evans, B.J., Nadra, I., Taylor, K.M., Haskard, D.O., and Landis, R.C. (2004). Hemoglobin scavenger receptor CD163 mediates interleukin-10 release and heme oxygenase-1 synthesis - Antiinflammatory monocyte-macrophage responses in vitro, in resolving skin blisters in vivo, and after cardiopulmonary bypass surgery. *Circulation Research* 94, 119-126.
- Plagemann, P.G.W. (2003). Porcine reproductive and respiratory syndrome virus: Origin hypothesis. *Emerging Infectious Diseases* 9, 903-908.
- 15 Ritter, M., Buechler, C., Langmann, T., and Schmitz, G. (1999). Genomic organization and chromosomal localization of the human CD163 (M130) gene: a member of the scavenger receptor cysteine-rich superfamily. *Biochemical & Biophysical Research Communications* 260, 466-474.
- 20 Sanchez-Torres, C., Gomez-Puertas, P., Gomez-del-Moral, M., Alonso, F., Escribano, J.M., Ezquerro, A., and Dominguez, J. (2003). Expression of porcine CD163 on monocytes/macrophages correlates with permissiveness to African swine fever infection. *Arch. Virol.* 148, 2307-2323.
- 25 Shanmukhappa, K. and Kapil, S. (2001). Cloning and identification of MARC-145 cell proteins binding to 3'UTR and partial nucleoprotein gene of porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *Adv. Exp. Med. Biol.* 494, 641-646.
- Snijder, E.J. and Meulenbergh, J.J.M. (2001). Arteriviruses. In *Fields Virology*, D.M.Knipe, P.M.Howley, D.E.Griffin, M.A.Martin, R.A.Lamb, B.Roizman, and S.E.Straus, eds. (Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins), pp. 1205-1220.
- 30 Therrien, D., St Pierre, Y., and Dea, S. (2000). Preliminary characterization of protein binding factor for porcine reproductive and respiratory syndrome virus on the surface of permissive and non-permissive cells. *Arch. Virol.* 145, 1099-1116.
- 35 Vanderheijden, N., Delputte, P.L., Favoreel, H.W., Vandekerckhove, J., Van Damme, J., van Woensel, P.A., and Nauwynck, H.J. (2003). Involvement of sialoadhesin in entry of porcine reproductive and respiratory syndrome virus into porcine alveolar macrophages. *J. Virol.* 77, 8207-8215.
- Weingartl, H.M., Sabara, M., Pasick, J., van Moorleghem, E., and Babiuk, L. (2002). Continuous porcine cell lines developed from alveolar macrophages - Partial characterization and virus susceptibility. *J. Virol. Methods* 104, 203-216.
- 40 Wissink, E.H.J., van Wijk, H.A.R., Pol, J.M.A., Godeke, G.J., van Rijn, P.A., Rottier, P.J.M., and Meulenbergh, J.J.M. (2003). Identification of porcine alveolar

macrophage glycoproteins involved in infection of porcine respiratory and reproductive syndrome virus. Arch. Virol. 148, 177-187.

SUMMARY OF THE INVENTION

The invention includes a method of facilitating infection of one or more cells
5 by a virus that is selected from the group consisting of *Arteriviridae* and *Asfarviridae*,
which comprises the step of directing increased expression of a CD163 polypeptide
within said cell. In a preferred embodiment the CD163 is membrane bound. In one
embodiment the virus is selected from the group consisting of *Arteriviridae*. In a
preferred embodiment the virus is PRRSV. In another embodiment said virus is
10 equine arteritis virus (EAV). In yet another embodiment said virus is African Swine
Fever virus (ASFV).

Increased expression of a CD163 polypeptide may be accomplished by
methods such as introduction of exogenous nucleic acids encoding CD163
polypeptides such methods include but are not limited to transfection, electroporation
15 and fusion with a carrier of a polynucleotide comprising a polynucleotide encoding a
CD163 polypeptide. Increased expression may also be accomplished by induction of
expression of endogenous CD163 by chemical treatment.

The method may render previously non PRRSV-permissive cells PRRS
permissive. The method may also include rendering one or more cells that previously
20 did not express a CD163 polypeptide into cells that are induced to express a CD 163
polypeptide.

The cells in a preferred embodiment are animal cells. They may be vertebrate
or invertebrate cells. The cells may be mammalian. The cells or cell line may be an
insect cell line. The cells may be BHK21 cells. The cells may be derived from
25 porcine kidney cells. The cells or cell line may be derived from feline kidney cells.
The cells or cell line may be but are not limited to BHK-21, NLST-1, NLFK-1, Vero
or RL cells. The PRRSV may be or the European or North American genotype.

As noted above, increased expression of a CD163 polypeptide may be
accomplished by methods which include but are not limited to: transfection,
30 electroporation and fusion with a carrier of a polynucleotide comprising a
polynucleotide encoding a CD163 polypeptide. Any CD163 polypeptides are
contemplated. Those containing a transmembrane region are preferred. Exemplary

CD163 polypeptides are selected from the group consisting of the polynucleotides listed below.

One such polynucleotide comprises a polynucleotide encoding a polypeptide having at least 70% 71%, 72%, 73%, 74%, 75%, 76%, 77%, 78%, 79%, 80%, 81%,
5 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 93%, 94%, 95%, 96% 97% 98%, 99%, identity with SEQ ID NO: 2.

One such polynucleotide comprises a polynucleotide encoding a polypeptide differing from SEQ ID NO: 2 by no more than 20 conservative amino acid substitutions.

10 One such polynucleotide comprises a polynucleotide encoding a polypeptide differing from SEQ ID NO: 2 by no more than 10 conservative amino acid substitutions.

One such polynucleotide comprises a polynucleotide encoding a polypeptide comprising SEQ ID NO: 2.

15 One such polynucleotide comprises a polynucleotide with the sequence set forth in SEQ ID NO: 1

One such polynucleotide comprises a polynucleotide encoding a polypeptide that has at least 99% identity to a polypeptide set forth in SEQ ID NO: 14

One such polynucleotide comprises a polynucleotide encoding a polypeptide
20 differing from SEQ ID NO: 14 by no more than 15 conservative amino acid substitutions.

One such polynucleotide comprises a polynucleotide encoding a polypeptide differing from SEQ ID NO: 14 by no more than 10 conservative amino acid substitutions.

25 One such polynucleotide comprises a polynucleotide encoding a polypeptide comprising SEQ ID NO: 14.

One such polynucleotide comprises a polynucleotide with the sequence set forth in SEQ ID NO: 13.

One such polynucleotide comprises a polynucleotide encoding a polypeptide
30 differing from SEQ ID NO: 24 by no more than 2 conservative amino acid substitutions.

One such polynucleotide comprises a polynucleotide encoding a polypeptide comprising SEQ ID NO: 24.

29

One such polynucleotide comprises a polynucleotide with the sequence set forth in SEQ ID NO: 23.

One such polynucleotide comprises a polynucleotide encoding a polypeptide having at least 96% 97% 98%, or 99%, identity to a polypeptide set forth in SEQ ID
5 NO: 27.

One such polynucleotide comprises a polynucleotide encoding a polypeptide differing from SEQ ID NO: 27 by no more than 20 conservative amino acid substitutions.

One such polynucleotide comprises a polynucleotide encoding a polypeptide
10 differing from SEQ ID NO: 27 by no more than 10 conservative amino acid substitutions.

One such polynucleotide comprises a polynucleotide encoding a polypeptide comprising SEQ ID NO: 27.

One such polynucleotide comprises a polynucleotide with the sequence set
15 forth in SEQ ID NO: 26.

One such polynucleotide comprises a polynucleotide encoding a polypeptide that has at least 98%, 99% identity to a polypeptide set forth in SEQ ID NO: 32

One such polynucleotide comprises a polynucleotide encoding a polypeptide differing from SEQ ID NO: 32 by no more than 15 conservative amino acid
20 substitutions.

One such polynucleotide comprises a polynucleotide encoding a polypeptide differing from SEQ ID NO: 32 by no more than 10 conservative amino acid substitutions.

One such polynucleotide comprises a polynucleotide encoding a polypeptide
25 comprising SEQ ID NO: 32.

One such polynucleotide comprises a polynucleotide with the sequence set forth in SEQ ID NO: 31.

One such polynucleotide comprises a polynucleotide encoding a polypeptide that has at least 95%, 96%, 97%, 98%, 99% identity to a polypeptide set forth in SEQ
30 ID NO: 34

One such polynucleotide comprises a polynucleotide encoding a polypeptide differing from SEQ ID NO: 34 by no more than 15 conservative amino acid substitutions.

One such polynucleotide comprises a polynucleotide encoding a polypeptide differing from SEQ ID NO: 34 by no more than 10 conservative amino acid substitutions.

5 One such polynucleotide comprises a polynucleotide encoding a polypeptide comprising SEQ ID NO: 34.

One such polynucleotide comprises a polynucleotide with the sequence set forth in SEQ ID NO: 33.

10 One such polynucleotide comprises a polynucleotide encoding a polypeptide that has at least 95%, 96%, 97%, 98%, 99% identity to a polypeptide set forth in SEQ ID NO: 36

One such polynucleotide comprises a polynucleotide encoding a polypeptide differing from SEQ ID NO: 36 by no more than 15 conservative amino acid substitutions.

15 One such polynucleotide comprises a polynucleotide encoding a polypeptide differing from SEQ ID NO: 36 by no more than 10 conservative amino acid substitutions.

One such polynucleotide comprises a polynucleotide encoding a polypeptide comprising SEQ ID NO: 36.

20 One such polynucleotide comprises a polynucleotide with the sequence set forth in SEQ ID NO: 35.

One such polynucleotide comprises a polynucleotide encoding a polypeptide that has at least 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% identity to a polypeptide set forth in SEQ ID NO: 42

25 One such polynucleotide comprises a polynucleotide encoding a polypeptide differing from SEQ ID NO: 42 by no more than 15 conservative amino acid substitutions.

One such polynucleotide comprises a polynucleotide encoding a polypeptide differing from SEQ ID NO: 42 by no more than 10 conservative amino acid substitutions.

30 One such polynucleotide comprises a polynucleotide encoding a polypeptide comprising SEQ ID NO: 42.

One such polynucleotide comprises a polynucleotide with the sequence set forth in SEQ ID NO: 41.

76

One such polynucleotide comprises a polynucleotide encoding a polypeptide that has at least 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% identity to a polypeptide set forth in SEQ ID NO: 44

5 One such polynucleotide comprises a polynucleotide encoding a polypeptide differing from SEQ ID NO: 44 by no more than 15 conservative amino acid substitutions.

One such polynucleotide comprises a polynucleotide encoding a polypeptide differing from SEQ ID NO: 44 by no more than 10 conservative amino acid substitutions.

10 One such polynucleotide comprises a polynucleotide encoding a polypeptide comprising SEQ ID NO: 44.

One such polynucleotide comprises a polynucleotide with the sequence set forth in SEQ ID NO: 43

15 One such polynucleotide comprises a polynucleotide encoding a polypeptide that has at least 95%, 96%, 97%, 98%, 99% identity to a polypeptide set forth in SEQ ID NO: 46

One such polynucleotide comprises a polynucleotide encoding a polypeptide differing from SEQ ID NO: 46 by no more than 15 conservative amino acid substitutions.

20 One such polynucleotide comprises a polynucleotide encoding a polypeptide differing from SEQ ID NO: 46 by no more than 10 conservative amino acid substitutions.

One such polynucleotide comprises a polynucleotide encoding a polypeptide comprising SEQ ID NO: 46.

25 One such polynucleotide comprises a polynucleotide with the sequence set forth in SEQ ID NO: 45.

One such polynucleotide comprises a polynucleotide encoding a polypeptide that has at least 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% identity to a polypeptide set forth in SEQ ID NO: 48

30 One such polynucleotide comprises a polynucleotide encoding a polypeptide differing from SEQ ID NO: 48 by no more than 15 conservative amino acid substitutions.

27

One such polynucleotide comprises a polynucleotide encoding a polypeptide differing from SEQ ID NO: 48 by no more than 10 conservative amino acid substitutions.

5 One such polynucleotide comprises a polynucleotide encoding a polypeptide comprising SEQ ID NO: 48.

One such polynucleotide comprises a polynucleotide with the sequence set forth in SEQ ID NO: 47.

The method of facilitating infection described above may further comprise the step of producing a culture of virus.

10 The invention further comprises the culture isolated by the method described above.

Any of the methods described above may further comprise the step of producing a PRRS or other viral vaccine. The vaccine may be killed or live attenuated.

15 The invention also comprises a cell or cell line wherein the ability of one or more cells to be infected by a virus selected from the group consisting of *Arteriviridae* and *Asfarviridae* has been modified by directing increased expression of a CD163 polypeptide within said cells.

20 In a preferred embodiment the CD163 polypeptide comprises a transmembrane region. In one embodiment the virus is selected from the group consisting of *Arteriviridae*. In a preferred embodiment the virus is PRRSV. In another embodiment said virus is equine arteritis virus (EAV). In yet another embodiment said virus is African Swine Fever virus (ASFV).

25 The cell or cell line of the invention may have been previously PRRSV non-permissive and is rendered PRRSV permissive by directing increased expression of a CD163 polypeptide within said cell or cell line.

The cell or cell line of the invention includes cells or cell lines that did not express a CD163 polypeptide and is induced to express a CD 163 polypeptide.

30 The cells in a preferred embodiment are animal cells. They may be vertebrate or invertebrate cells. The cells may be mammalian. The cell or cell line may be an insect cell or cell line. The cells may be BHK21 cells. The cells may be derived from porcine kidney cells. The cell or cell line may be derived from feline kidney cells.

28

The cells may be, but are not limited to, BHK-21, NLST-1, NLFK-1, Vero or RL cells. The PRRSV may be North American or European.

The invention includes a method for measuring the propensity of a test cell or cell line to allow infection by a virus selected from the group consisting of

5 *Arteriviridae* and *Asfarviridae* comprising:

- a) providing a sample containing nucleic acids from the test cell or cell line;
- b) determining the amount of polynucleotide encoding a CD163 polypeptide or its complement in said sample;

wherein an increased amount of polynucleotide encoding a CD163 polypeptide
10 relative to a control sample derived from a control cell or cell line known not to support the growth of said virus indicates a propensity of the test cell or cell line to support the replication of said virus.

In one embodiment the virus is selected from the group consisting of *Arteriviridae*. In a preferred embodiment the virus is PRRSV. In another embodiment
15 said virus is equine arteritis virus (EAV). In yet another embodiment said virus is African Swine Fever virus (ASFV).

The amount of polynucleotide encoding a CD163 polypeptide may be determined by hybridization.

The amount of polynucleotide encoding a CD163 polypeptide may be
20 determined by PCR.

The invention also includes a method for measuring the propensity of a test cell or cell line to allow infection by a virus selected from the group consisting of *Arteriviridae* and *Asfarviridae* comprising:

- (a) providing a sample containing polypeptides from the test cell or cell line;
 - 25 (b) determining the amount of CD163 polypeptide in said sample;
- wherein an increased amount of a CD163 polypeptide relative to a control sample derived from a control cell or cell line known not to support the growth of said virus indicates a propensity of the test cell or cell line to support the replication of said virus.

30 In one embodiment the virus is selected from the group consisting of *Arteriviridae*. In a preferred embodiment the virus is PRRSV. In another embodiment said virus is equine arteritis virus (EAV). In yet another embodiment said virus is African Swine Fever virus (ASFV).

In one embodiment the determining is accomplished by contacting a CD163 polypeptide with an antibody specific for the CD163 polypeptide, under conditions wherein the antibody binds the CD163 polypeptide.

The invention includes a method for measuring the propensity of a pig to be infected by a virus selected from the group consisting of *Arteriviridae* and *Asfarviridae* comprising:

- a) providing a sample containing nucleic acids from the pig to be tested;
 - b) determining the amount of polynucleotide encoding a CD163 polypeptide or its complement in said sample;
- wherein an increased amount of polynucleotide encoding a CD163 polypeptide relative to a control sample derived from a pig known to be resistant to said virus infection indicates a propensity of the pig to be tested to be infected by said virus.

In one embodiment the virus is selected from the group consisting of *Arteriviridae*. In a preferred embodiment the virus is PRRSV. In another embodiment said virus is equine arteritis virus (EAV). In yet another embodiment said virus is African Swine Fever virus (ASFV).

In one embodiment the determining is accomplished by hybridization. In another embodiment the determining is accomplished by PCR.

The invention also includes a method for measuring the propensity of a pig to be infected by a virus selected from the group consisting of *Arteriviridae* and *Asfarviridae* comprising:

- (a) providing a sample containing polypeptides from pig to be tested;
 - (b) determining the amount of CD163 polypeptide in said sample;
- wherein an increased amount of a CD163 polypeptide relative to a control sample derived from a pig known to be resistant to said virus infection indicates a propensity of the pig to be tested to be infected by said virus.

In one embodiment the virus is selected from the group consisting of *Arteriviridae*. In a preferred embodiment the virus is PRRSV. In another embodiment said virus is equine arteritis virus (EAV). In yet another embodiment said virus is African Swine Fever virus (ASFV).

In one embodiment the determining is accomplished by contacting a CD163 polypeptide with an antibody specific for the CD163 polypeptide, under conditions wherein the antibody binds the CD163 polypeptide.

The invention also includes an isolated polypeptide wherein the polypeptide is selected from the group consisting of the polypeptides described below.

Therefore the invention also includes an isolated polypeptide having at least 70% 71%, 72%, 73%, 74%, 75%, 76%, 77%, 78%, 79%, 80%, 81%, 82%, 83%,
5 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 93%, 94%, 95%, 96% 97% 98%, 99%, identity with SEQ ID NO: 2.

One such polypeptide is a polypeptide differing from SEQ ID NO: 2 by no more than 20 conservative amino acid substitutions.

One such polypeptide is a polypeptide differing from SEQ ID NO: 2 by no
10 more than 10 conservative amino acid substitutions.

One such polypeptide comprises SEQ ID NO: 2.

Therefore the invention also includes an isolated polypeptide having at least 99%, identity to a polypeptide set forth in SEQ ID NO: 14

One such polypeptide is a polypeptide differing from SEQ ID NO: 14 by no
15 more than 15 conservative amino acid substitutions.

One such polypeptide is a polypeptide differing from SEQ ID NO: 14 by no more than 10 conservative amino acid substitutions.

One such polypeptide comprises SEQ ID NO: 14.

Therefore the invention also includes an isolated polypeptide differing from
20 SEQ ID NO: 24 by no more than 2 conservative amino acid substitutions.

One such polypeptide comprises SEQ ID NO: 24.

Therefore the invention also includes an isolated polypeptide having at least 96% 97% 98%, or 99%, identity to a polypeptide set forth in SEQ ID NO: 27.

One such polypeptide is a polypeptide differing from SEQ ID NO: 27 by no
25 more than 20 conservative amino acid substitutions.

One such polypeptide is a polypeptide differing from SEQ ID NO: 27 by no more than 10 conservative amino acid substitutions.

One such polypeptide is a polypeptide comprising SEQ ID NO: 27.

Therefore the invention also includes an isolated polypeptide having at least
30 98%, 99% identity to a polypeptide set forth in SEQ ID NO: 32

One such polypeptide is a polypeptide differing from SEQ ID NO: 32 by no more than 15 conservative amino acid substitutions.

31

One such polypeptide is a polypeptide differing from SEQ ID NO: 32 by no more than 10 conservative amino acid substitutions.

One such polypeptide is a polypeptide comprising SEQ ID NO: 32.

Therefore the invention also includes an isolated polypeptide having at least 95%, 96%, 97%, 98%, 99% identity to a polypeptide set forth in SEQ ID NO: 34

One such polypeptide is a polypeptide differing from SEQ ID NO: 34 by no more than 15 conservative amino acid substitutions.

One such polypeptide is a polypeptide differing from SEQ ID NO: 34 by no more than 10 conservative amino acid substitutions.

One such polypeptide is a polypeptide comprising SEQ ID NO: 34.

Therefore the invention also includes an isolated polypeptide having at least 95%, 96%, 97%, 98%, 99% identity to a polypeptide set forth in SEQ ID NO: 36

One such polypeptide is a polypeptide differing from SEQ ID NO: 36 by no more than 15 conservative amino acid substitutions.

One such polypeptide is a polypeptide differing from SEQ ID NO: 36 by no more than 10 conservative amino acid substitutions.

One such polypeptide is a polypeptide comprising SEQ ID NO: 36.

The invention also includes an isolated polypeptide having at least 95%, 96%, 97%, 98%, 99% identity to a polypeptide set forth in SEQ ID NO: 38

One such polypeptide is a polypeptide differing from SEQ ID NO: 38 by no more than 15 conservative amino acid substitutions.

One such polypeptide is a polypeptide differing from SEQ ID NO: 38 by no more than 10 conservative amino acid substitutions.

One such polypeptide is a polypeptide comprising SEQ ID NO: 40

Therefore the invention also includes an isolated polypeptide having at least 95%, 96%, 97%, 98%, 99% identity to a polypeptide set forth in SEQ ID NO: 40

One such polypeptide is a polypeptide differing from SEQ ID NO: 40 by no more than 15 conservative amino acid substitutions.

One such polypeptide is a polypeptide differing from SEQ ID NO: 40 by no more than 10 conservative amino acid substitutions.

One such polypeptide is a polypeptide comprising SEQ ID NO: 40.

32

Therefore the invention also includes an isolated polypeptide having at 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% identity to a polypeptide set forth in SEQ ID NO: 42

One such polypeptide is a polypeptide differing from SEQ ID NO: 42 by no more than 15 conservative amino acid substitutions.

One such polypeptide is a polypeptide differing from SEQ ID NO: 42 by no more than 10 conservative amino acid substitutions.

One such polypeptide is a polypeptide comprising SEQ ID NO: 42.

Therefore the invention also includes an isolated polypeptide having at least 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% identity to a polypeptide set forth in SEQ ID NO: 44

One such polypeptide is a polypeptide differing from SEQ ID NO: 44 by no more than 15 conservative amino acid substitutions.

One such polypeptide is a polypeptide differing from SEQ ID NO: 44 by no more than 10 conservative amino acid substitutions.

One such polypeptide is a polypeptide comprising SEQ ID NO: 44.

Therefore the invention also includes an isolated polypeptide having at least 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% identity to a polypeptide set forth in SEQ ID NO: 46

One such polypeptide is a polypeptide differing from SEQ ID NO: 46 by no more than 15 conservative amino acid substitutions.

One such polypeptide is a polypeptide differing from SEQ ID NO: 46 by no more than 10 conservative amino acid substitutions.

One such polypeptide is a polypeptide comprising SEQ ID NO: 46.

Therefore the invention also includes an isolated polypeptide having at least 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% identity to a polypeptide set forth in SEQ ID NO: 48

One such polypeptide is a polypeptide differing from SEQ ID NO: 48 by no more than 15 conservative amino acid substitutions.

One such polypeptide is a polypeptide differing from SEQ ID NO: 48 by no more than 10 conservative amino acid substitutions.

One such polynucleotide comprises a polynucleotide encoding a polypeptide comprising SEQ ID NO: 48.

33

The invention also includes an isolated CD163 polynucleotide wherein said polynucleotide is selected from the group-consisting of the polynucleotides enumerated below.

Therefore the invention also includes an isolated polynucleotide comprising:

- 5 (a) a polynucleotide sequence set forth in SEQ ID NOs: 1 or 5
- (b) a polynucleotide that encodes a polypeptide that has at least 70%, 71%, 72%, 73%, 74%, 75%, 76%, 77%, 78%, 79%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, or 99%, identity and or similarity to a polypeptide set forth in SEQ ID NO: 2
- 10 (c) a polynucleotide encoding a polypeptide of SEQ ID: 2,
- (d) a polynucleotide which is the complement of any of (a), (b) or (c).

Therefore the invention also includes an isolated polynucleotide comprising:

- (a) a polynucleotide sequence set forth in SEQ ID NOs: 12 or 13
- (b) a polynucleotide that encodes a polypeptide that has at least 99%, identity and or
- 15 similarity to a polypeptide set forth in SEQ ID NO: 14
- (c) a polynucleotide encoding a polypeptide of SEQ ID: 14,
- (d) a polynucleotide which is the complement of any of (a), (b) or (c).

Therefore the invention also includes an isolated polynucleotide comprising:

- (a) a polynucleotide sequence set forth in SEQ ID NOs: 22 or 23
- 20 (b) a polynucleotide encoding a polypeptide of SEQ ID: 24,
- (c) a polynucleotide which is the complement of any of (a) or (b).

Therefore the invention also includes an isolated polynucleotide comprising:

- (a) a polynucleotide sequence set forth in SEQ ID NOs: 25 or 26
- (b) a polynucleotide that encodes a polypeptide that has at least 96% 97% 98%, or
- 25 99%, identity and or similarity to a polypeptide set forth in SEQ ID NO: 27
- (c) a polynucleotide encoding a polypeptide of SEQ ID: 27,
- (d) a polynucleotide which is the complement of any of (a), (b) or (c).

Therefore the invention also includes an isolated polynucleotide comprising:

- (a) polynucleotide sequence set forth in SEQ ID NOs: 30 or 31
- 30 (b) a polynucleotide that encodes a polypeptide that has at least 98% or 99%, identity and or similarity to a polypeptide set forth in SEQ ID NO: 32
- (c) a polynucleotide encoding a polypeptide of SEQ ID: 32,
- (d) a polynucleotide which is the complement of any of (a), (b) or (c).

34

Therefore the invention also includes an isolated polynucleotide comprising:

- (a) polynucleotide sequence set forth in SEQ ID NOs: 33
- (b) a polynucleotide that encodes a polypeptide that has at least 95% 96%, 97%, 98% or 99%,, identity and or similarity to a polypeptide set forth in SEQ ID NO: 34
- 5 (c) a polynucleotide encoding a polypeptide of SEQ ID: 34,
- (d) a polynucleotide which is the complement of any of (a), (b) or (c).

Therefore the invention also includes an isolated polynucleotide comprising:

- (a) polynucleotide sequence set forth in SEQ ID NOs: 35
- (b) a polynucleotide that encodes a polypeptide that has at least 95% 96%, 97%, 98% or
- 10 99%,, identity and or similarity to a polypeptide set forth in SEQ ID NO: 36
- (c) a polynucleotide encoding a polypeptide of SEQ ID: 36,
- (d) a polynucleotide which is the complement of any of (a), (b) or (c).

Therefore the invention also includes an isolated polynucleotide comprising:

- (a) polynucleotide sequence set forth in SEQ ID NOs: 37
- 15 (b) a polynucleotide that encodes a polypeptide that has at least 95% 96%, 97%, 98% or 99%,, identity and or similarity to a polypeptide set forth in SEQ ID NO: 38
- (c) a polynucleotide encoding a polypeptide of SEQ ID: 38,
- (d) a polynucleotide which is the complement of any of (a), (b) or (c).

Therefore the invention also includes an isolated polynucleotide comprising:

- 20 (a) polynucleotide sequence set forth in SEQ ID NOs: 39
- (b) a polynucleotide that encodes a polypeptide that has at least 95% 96%, 97%, 98% or 99%,, identity and or similarity to a polypeptide set forth in SEQ ID NO: 40
- (c) a polynucleotide encoding a polypeptide of SEQ ID: 40,
- (d) a polynucleotide which is the complement of any of (a), (b) or (c).

25 Therefore the invention also includes an isolated polynucleotide comprising:

- (a) polynucleotide sequence set forth in SEQ ID NOs: 41
- (b) a polynucleotide that encodes a polypeptide that has at least 95% 96%, 97%, 98% or 99%,, identity and or similarity to a polypeptide set forth in SEQ ID NO: 42
- (c) a polynucleotide encoding a polypeptide of SEQ ID: 42,
- 30 (d) a polynucleotide which is the complement of any of (a), (b) or (c).

Therefore the invention also includes an isolated polynucleotide comprising:

- (a) polynucleotide sequence set forth in SEQ ID NOs: 43

35

(b) a polynucleotide that encodes a polypeptide that has at least 95% 96%, 97%, 98% or 99%,, identity and or similarity to a polypeptide set forth in SEQ ID NO: 44

(c) a polynucleotide encoding a polypeptide of SEQ ID: 44,

(d) a polynucleotide which is the complement of any of (a), (b) or (c).

5 Therefore the invention also includes an isolated polynucleotide comprising:

(a) polynucleotide sequence set forth in SEQ ID NOs: 45

(b) a polynucleotide that encodes a polypeptide that has at least 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95% 96%, 97%, 98% or 99%,, identity and or similarity to a polypeptide set forth in SEQ ID NO: 46

10 (c) a polynucleotide encoding a polypeptide of SEQ ID: 46,

(d) a polynucleotide which is the complement of any of (a), (b) or (c).

The invention also includes an isolated polynucleotide comprising:

(a) polynucleotide sequence set forth in SEQ ID NOs: 47

(b) a polynucleotide that encodes a polypeptide that has at least 90%, 91%, 92%, 93%,
15 94%, 95% 96%, 97%, 98% or 99%,, identity and or similarity to a polypeptide set forth in SEQ ID NO: 48

(c) a polynucleotide encoding a polypeptide of SEQ ID: 49,

(d) a polynucleotide which is the complement of any of (a), (b) or (c).

20 Therefore the invention also includes a CD163 polypeptide in which the transmembrane region is deleted.

Therefore the invention also includes a polynucleotide encoding a CD163 polypeptide in which the transmembrane region is deleted.

In addition to the foregoing, the invention includes, as an additional aspect, all
embodiments of the invention narrower in scope in any way than the variations
25 specifically mentioned above.

Brief Description of the Sequence Listings

SEQ ID NO: 1—cDNA sequence encoding porcine susCD163v1

SEQ ID NO: 2—predicted amino acid sequence of porcine susCD163v1

SEQ ID NO: 3— cDNA sequence, Genbank accession number AJ311716

30 SEQ ID NO:4—predicted amino acid sequence derived from Genbank accession number AJ311716

SEQ ID NO: 5—cDNA sequence of susCD163v1 containing flanking (non-coding) sequence.

- 36
- SEQ ID NO: 6-11—primer sequences
- SEQ ID NO:12 —cDNA sequence encoding porcine susCD163v2 containing flanking (non-coding) sequence.
- SEQ ID NO:13 —cDNA sequence encoding porcine susCD163v2
- 5 SEQ ID NO:14 —predicted amino acid sequence of porcine susCD163v2
- SEQ ID NO:15-16—primer sequences
- SEQ ID NO:17—cDNA sequence encoding human CD163v2 containing flanking (non-coding) sequence.
- SEQ ID NO:18— cDNA sequence encoding human CD163v2
- 10 SEQ ID NO:19— predicted amino acid sequence of human CD163v2
- SEQ ID NO:20-21—primer sequences
- SEQ ID NO:22—cDNA sequence encoding murine CD163v2 containing flanking (non-coding) sequence.
- SEQ ID NO:23— cDNA sequence encoding murine CD163v2
- 15 SEQ ID NO:24— predicted amino acid sequence of murine CD163v2
- SEQ ID NO:25—cDNA sequence encoding murine CD163v3 containing flanking (non-coding) sequence.
- SEQ ID NO:26— cDNA sequence encoding murine CD163v3
- SEQ ID NO:27— predicted amino acid sequence of murine CD163v3
- 20 SEQ ID NO:28-29—primer sequences
- SEQ ID NO:30—cDNA sequence encoding MARC-145 CD163v3 containing flanking (non-coding) sequence.
- SEQ ID NO:31— cDNA sequence encoding MARC-145 CD163v3
- SEQ ID NO:32— predicted amino acid sequence of MARC-145 CD163v3
- 25 SEQ ID NO:33—cDNA sequence encoding Vero cell CD163v2 transcript
- SEQ ID NO:34— predicted amino acid sequence of Vero cell CD163v2
- SEQ ID NO:35— cDNA sequence encoding Vero cell CD163v3 transcript
- SEQ ID NO:36— predicted amino acid sequence of Vero cell CD163v3
- SEQ ID NO:37— cDNA sequence encoding Vero cell CD163v4 transcript
- 30 SEQ ID NO:38-- predicted amino acid sequence of Vero cell CD163v4
- SEQ ID NO:39— cDNA sequence encoding Vero cell CD163v5 transcript
- SEQ ID NO:40— predicted amino acid sequence of Vero cell CD163v5
- SEQ ID NO:41— cDNA sequence encoding Vero cell CD163v6 transcript

37

SEQ ID NO:42-- predicted amino acid sequence of Vero cell CD163v6

SEQ ID NO:43-- cDNA sequence encoding Vero cell CD163v7 transcript

SEQ ID NO:44-- predicted amino acid sequence of Vero cell CD163v7

SEQ ID NO:45-- cDNA sequence encoding canine CD163v2 transcript.

5 SEQ ID NO:46-- predicted amino acid sequence of canine CD163v2

SEQ ID NO:47-- cDNA sequence encoding canine CD163v3 transcript.

SEQ ID NO:48-- predicted amino acid sequence of canine CD163v3

Brief Description of the Drawings

10 Figure 1 Schematic comparison of susCD163v1 with AJ311716

Figure 2 Amino acid Sequence alignment of susCD163v1 (SEQ ID NO: 2) with AJ311716 (SEQ ID NO: 4)

Figure 3 Nucleotide Sequence alignment of susCD163v1 with AJ311716

15 Figure 4 Generation of DNA fragments and ligation to place CD163 directly behind the RSV promoter. Plasmids were digested with either *DraIII* or *DrdI*, followed by a blunting reaction with Klenow enzyme. After clean up, the plasmids were digested with *NotI*. Gel purification yielded DNA fragments that were subsequently ligated utilizing the cohesive *NotI* termini. Promoters from RSV (pRSV) and SV40 (pSV40) are indicated with arrows.

20 Figure 5 Map of pCDNA3.1 Directional V5/His/TOPO cloning vector

Figure 6 Three BHK/CMV/v1 cell lines, #3, #5, and #12 and a non-permissive BHK cell line were infected with PRRSV isolate P129 and stained with SDOW17-FITC.

Panel A shows a non-permissive BHK21 cell clone. Panel B shows BHK/CMV/v1 clone #3. Panel C shows BHK/CMV/v1 clone #5. Panel D shows BHK/CMV/v1

25 clone #12.

Figure 7 Three BHK/RSV/v1 cell lines, #2, #3, and #4 were infected with PRRSV isolate P129 and stained with SDOW17-FITC. Panel A shows BHK/RSV/v1 clone #2. Panel B shows BHK/RSV/v1 clone #3. Panel C shows BHK/RSV/v1 clone #4.

30 Figure 8 Feline kidney cell lines stably expressing porcine CD163v1, showing PRRSV plaques. Cell lines NLFK-CMV-susCD163v1-G4F and NLFK-CMV-susCD163v1-G4L, both at passage 4, were infected with the P129 isolate of North American PRRSV and incubated for 6 days. Monolayers were fixed with 80% acetone and stained with monoclonal antibody SDOW17-FITC. Phase contrast

microscopy (right) shows localized regions of viral CPE (plaques), while FA detection (left) shows co-localized viral nucleocapsid antigen.

Figure 9 Four FK/RSV/v1 cell lines, #1, #2, #3, and #4 were infected with PRRSV isolate P129 and stained with monoclonal antibody SDOW17-FITC. Panel A shows
5 FK/RSV/v1 #1 cell clone. Panel B shows FK/RSV/v1 clone #2. Panel C shows FK/RSV/v1 clone #3. Panel D shows FK/RSV/v1 #4.

Figure 10 PK-CMV-susCD163v1-A10 cells at passage 19, infected with PRRSV isolate P129. Left: The monolayer was fixed with 80% acetone and stained with
10 FITC-conjugated monoclonal antibody SDOW17 (Rural Technologies Inc), which is specific for PRRSV nucleocapsid. Right: The same well under bright field illumination, showing cell distribution.

Figure 11 BHK-CMVScript-susCD163v2-A9 at passage 17 infected with PRRSV isolate P129. The monolayer was fixed with 80% acetone and stained with FITC-
15 conjugated monoclonal antibody SDOW17 (Rural Technologies Inc), which is specific for PRRSV nucleocapsid.

Figure 12 Three representative examples of the BHK/RSV/v2 cell lines. The cells were infected with PRRSV isolate P129 and subsequently stained with SDOW17-FITC. Panel A shows cell line BHK/RSV/v2 #1, panel B shows cell line
BHK/RSV/v2 #34, and panel C shows cell line BHK/RSV/v2 #47.

Figure 13 FK-cDNA3.1D-humCD163v2-A6 at passage 15 infected with PRRSV isolate P129. The monolayer was then fixed with 80% acetone and stained with FITC-
20 conjugated monoclonal antibody SDOW17 (Rural Technologies Inc), which is specific for PRRSV nucleocapsid.

Figure 14 The amount of progeny PRRSV produced by four recombinant cell lines stably expressing susCD163v1, and by MARC-145 cells, was determined in a growth
25 curve experiment using the NVSL 94-3 isolate of PRRSV. Samples harvested at 12-hour intervals were titrated on MARC-145 cell monolayers.

Figure 15 Flow cytometry analysis of PRRSV infection in the presence of CD163 specific antibody. BHK-21 cells expressing MARC-145 CD163 from transient
30 transfection were incubated with either CD163 specific antibody or normal goat IgG (NGS) and infected with a GFP-expressing PRRSV. Each data point represents the results of triplicate wells.

Figure 16 Flow cytometry analysis of PRRSV infection in the presence of CD163 specific antibody. NLFK cells stably expressing human CD163 were incubated with either CD163 specific antibody or normal goat IgG (NGS) and infected with a GFP expressing PRRSV. At 24 hours post infection the percentage of GFP expressing infected cells was determined. Each data point represents the result from a single well of cells

Figure 17. Graphical depiction of six alternative splicing variants of CD163 mRNA recovered from Vero cells. The six variants differ in the presence or absence of three exons, designated E6, E105, and E83. Exons E6 and E105 have lengths that are multiples of three, and therefore do not result in a change in reading frame when absent. In contrast, the absence of E83 results in a shifted reading frame and an alternative amino acid sequence at the carboxy terminus of the protein (indicated by a hatched pattern in the figure). The hydrophobic transmembrane (TM) region is encoded within E105.

Figure 18. PK-RSVScript-susCD163v2 #9 cells infected with PRRSV isolate P129. Undiluted supernatant from PRRSV isolate P201 infected PAMs was used to infect PK-RSVScript-susCD163v2 #9 cells. After two days of incubation the cells were fixed and stained with monoclonal antibody SDOW17 as described in Example 11.

Figure 19. FK-RSVScript-susCD163v2 #51 cells infected with PRRSV isolate P129. Undiluted supernatant from PRRSV isolate P201 infected PAMs was used to infect FK-RSVScript-susCD163v2 #51 cells. Two days post infection the cells were acetone fixed and stained with monoclonal antibody SDOW17 as described in Example 11.

Figure 20. Infection of PK-RSVScript-susCD163v2 clone #9 cells with PRRSV isolate P201. Panel A shows a monolayer of cells infected with PRRSV P201 at passage 1, twenty-four hours post infection. Panel B shows a monolayer of cells 2 days post infection with cell free supernatant PRRSV P201 at passage 10.

Figure 21. NLFK parent cells and one subclone of FK-cDNA3.1D-humCD163v2-A6 were examined for the CD163 expression. Cells were fixed in 80% acetone and reacted with Goat anti-human CD163 (R&D System at 1:200) for one hour following by washing with PBS. For visualization, donkey anti-Goat IgG conjugated with FITC (Bioscience Inc at 1:100) were used. No specific fluorescence was detected in the

NLFK parent cells as shown in Figure 21A. The majority of the FK.A6.A2 subclone showed good fluorescent staining indicating the presence of CD163 (Figure 21B).

DETAILED DESCRIPTION OF THE INVENTION

5 General Definitions

Cells and cell lines can be either virus permissive" or "virus non-permissive". For example, a cell or cell line that is virus permissive is capable of allowing virus infection, subsequent replication and virus production. A cell or cell line that is virus non-permissive is incapable of allowing virus infection, subsequent replication and virus production. A cell line that is already somewhat permissive may be rendered more permissive by the methods of the invention.

Arteriviridae refers to a family of enveloped, positive-stranded RNA viruses belonging to the order *Nidovirales*. The family includes lactate dehydrogenase-elevating virus (LDV) of mice, equine arteritis virus (EAV), simian hemorrhagic fever virus (SHFV), and PRRSV.

Asfarviridae is a family of icosahedral, enveloped viruses whose genomes consist of single molecules of linear double-stranded DNA about 150000–190000 nucleotides long. The name of the family is derived from African Swine Fever And Related Viruses. African Swine Fever Virus (ASFV) is the type species of the *Asfivirus* genus and is the sole member of the family.

The term "PRRSV" or PRRS virus refers to both European and North American PRRS virus genotypes. Within each genotype, isolates typically share 85% or higher nucleotide identity. Between genotypes, however, the level of sequence identity is only about 60%.

The PRRS virus is a member of the family *Arteriviridae*. The genome of the arteriviruses is single-stranded RNA of positive polarity between 12 and 16 kb in length, capped at the 5' end and polyadenylated at the 3' end. Over two-thirds of the genome is dedicated to open reading frames (ORFs) 1a and 1b, which encode the non-structural functions of the virus. ORF1b is an extension of ORF1a, and is the result of a ribosomal frameshift. ORFs 1a and 1b are translated directly from the genomic RNA. These large polypeptide products are cleaved by viral proteases to yield 12 or 13 discrete smaller peptides. The remaining ORFs, which encode viral structural proteins, are expressed from a series of 3' co-terminal subgenomic RNAs (sgRNAs).

The sgRNAs are produced by discontinuous transcription of negative-stranded RNA, such that a common 5' leader sequence becomes fused to each transcript. The major structural proteins are the nucleocapsid (N, encoded by ORF7), the matrix protein (M, encoded by ORF6), and the major envelope glycoprotein (GP5, encoded by ORF5).

- 5 The remaining proteins, GP4 (ORF4), GP3 (ORF3), GP2 (ORF2a), and E (ORF2b) are minor structural components of the virion, whose functions have not yet been elucidated. The molecular biology of PRRSV has been the subject of recent review articles (Dea et al., 2000; Meulenberg, 2000; Snijder and Meulenberg, 2001).

- As used herein, the term "CD163 polypeptide" means a protein encoded by a mammalian CD163 gene, including allelic variants containing conservative or non-conservative changes. A cDNA sequence that encodes a porcine CD163 polypeptide has been reported (Genbank accession number AJ311716). A murine CD163 polypeptide has also been reported (Genbank access number AF274883), as well as multiple human variants, exemplified by Genbank access numbers AAH51281 and
- 15 CAA80543. We report herein polynucleotides that encode porcine, human, murine, canine, and african green monkey CD163 polypeptides and which comprise the sequences set forth in SEQ ID NO: 1, 5, 12 13, 17, 18, 22, 23, 25, 26, 30, 31 33, 35, 37, 39, 41, 42, 43, 45 and 47. A "CD163 polypeptide" is a member of the scavenger receptor cysteine-rich (SRCR) family of transmembrane glycoproteins, and is thought
- 20 to be expressed exclusively on monocytes and macrophages. One identified role of CD163 is to inhibit oxidative tissue damage following hemolysis by consuming hemoglobin:haptoglobin complexes by endocytosis. The subsequent release of interleukin-10 and synthesis of heme oxygenase-1 results in antiinflammatory and cytoprotective effects (Philippidis et al., 2004; Graversen et al., 2002). The human
- 25 CD163 gene spans 35 kb on chromosome 12, and consists of 17 exons and 16 introns. A number of isoforms of the CD163 polypeptide, including membrane bound, cytoplasmic and secreted types, are known to be generated by alternative splicing (Ritter et al., 1999). Isoforms that comprise a transmembrane domain are particularly preferred.

- 30 A transmembrane domain is characterized by a polypeptide segment of a larger sequence that is exposed on both sides of a membrane. The cytoplasmic and extracellular domains are separated by at least one membrane-spanning segment that traverses the hydrophobic environment of the lipid bilayer. The membrane- spanning

segment is composed of amino acid residues with nonpolar side chains, usually in the form of an alpha helix. Segments that contain about 20-30 hydrophobic residues are long enough to span a membrane as an alpha helix, and they can often be identified by means of a hydropathy plot. The predicted transmembrane domain of SEQ ID NO:2 and 14 are indicated by bolding in the specification. To determine whether other CD163 sequences contain a similar sequence feature is easily determined by inspection of the sequence or hydropathy plots. SEQ ID NOS: 37-40 are representative of variant CD163 proteins which do not contain a transmembrane domain and their encoding nucleic acids.

As used hereinafter, "polynucleotide" generally refers to any polyribonucleotide or polydeoxribonucleotide, which may be unmodified RNA or DNA or modified RNA or DNA. "Polynucleotides" include, without limitation, single- and double-stranded DNA, DNA that is a mixture of single- and double-stranded regions, single- and double-stranded RNA, RNA that is mixture of single- and double-stranded regions, and hybrid molecules comprising DNA and RNA that may be single-stranded or, more typically, double-stranded or a mixture of single- and double-stranded regions. In addition, "polynucleotide" refers to triple-stranded regions comprising RNA or DNA or both RNA and DNA. The term "polynucleotide" also includes DNAs or RNAs containing one or more modified bases and DNAs or RNAs with backbones modified for stability or for other reasons. "Modified" bases include, for example, tritylated bases and unusual bases such as inosine. A variety of modifications may be made to DNA and RNA; thus, "polynucleotide" embraces chemically, enzymatically or metabolically modified forms of polynucleotides as typically found in nature, as well as the chemical forms of DNA and RNA characteristic of viruses and cells. "Polynucleotide" also embraces relatively short polynucleotides, often referred to as oligonucleotides.

As used hereinafter, "polypeptide" refers to any peptide or protein comprising amino acids joined to each other by peptide bonds or modified peptide bonds.

"Polypeptide" refers to both short chains, commonly referred to as peptides, oligopeptides or oligomers, and to longer chains, generally referred to as proteins. Polypeptides may contain amino acids other than the 20 gene-encoded amino acids. "Polypeptides" include amino acid sequences modified either by natural processes, such as post-translational processing, or by chemical modification techniques which

are well known in the art. Such modifications are well described in basic texts and in more detailed monographs, as well as in a voluminous research literature.

Modifications may occur anywhere in a polypeptide, including the peptide backbone, the amino acid side-chains and the amino or carboxyl termini. It will be appreciated

5 that the same type of modification may be present to the same or varying degrees at several sites in a given polypeptide. Also, a given polypeptide may contain many types of modifications. Polypeptides may be branched as a result of ubiquitination, and they may be cyclic, with or without branching. Cyclic, branched and branched cyclic polypeptides may result from post-translation natural processes or may be made by
10 synthetic methods. Modifications or modified forms include acetylation, acylation, ADP-ribosylation, amidation, covalent attachment of flavin, covalent attachment of a heme moiety, covalent attachment of a nucleotide or nucleotide derivative, covalent attachment of a lipid or lipid derivative, covalent attachment of phosphatidylinositol, cross-linking, cyclization, disulfide bond formation, demethylation, formation of
15 covalent cross-links, formation of cystine, formation of pyroglutamate, formylation, gamma-carboxylation, glycosylation, GPI anchor formation, hydroxylation, iodination, methylation, myristoylation, oxidation, proteolytic processing, phosphorylation prenylation, racemization, selenoylation, sulfation, transfer-RNA mediated addition of amino acids to proteins such as arginylation, and ubiquitination
20 (see, for instance, *Proteins-Structure and Molecular Properties*, 2nd Ed., T. E. Creighton, W. H. Freeman and Company, New York, 1993; Wold, F., *Post-translational Protein Modifications: Perspectives and Prospects*, pgs. 1-12 in *Posttranslational Covalent Modification of Proteins*, B. C. Johnson, Ed., Academic Press, New York, 1983; Seifter et al., "Analysis for protein modifications and
25 nonprotein cofactors", *Meth Enzymol* (1990) 182:626-646 and Rattan et al., "Protein Synthesis: Post-translational Modifications and Aging", *Ann NY Acad Sci* (1992) 663:4842).

As used hereinafter, "isolated" means altered by the hand of man from the natural state. If an "isolated" composition or substance occurs in nature, it has been
30 changed or removed from its original environment, or both. For example, a polynucleotide or a polypeptide naturally present in a living animal is not "isolated," but the same polynucleotide or polypeptide separated from the coexisting materials of its natural state is "isolated", as the term is employed herein. Therefore "isolated" as

44

used herein and as understood in the art, whether referring to "isolated" polynucleotides or polypeptides, is taken to mean separated from the original cellular environment in which the polypeptide or nucleic acid is normally found. As used herein therefore, by way of example only, a transgenic animal or a recombinant cell line constructed with a polynucleotide of the invention makes use of the "isolated" nucleic acid. Specifically excluded from the definition of isolated polynucleotides of the invention are entire isolated chromosomes from native host cells from which the polynucleotide was originally derived.

In the disclosure to follow we will often make use of the term "identity" or similarity as applied to the amino acid sequences of polypeptides. Percent amino acid sequence "identity" with respect to polypeptides is defined herein as the percentage of amino acid residues in the candidate sequence that are identical with the residues in the target sequences after aligning both sequences and introducing gaps, if necessary, to achieve the maximum percent sequence identity, and not considering any conservative substitutions as part of the sequence identity. Percent sequence identity is determined by conventional methods. For example, BLASTP 2.2.6 [Tatusova TA and TL Madden, "BLAST 2 sequences- a new tool for comparing protein and nucleotide sequences." (1999) FEMS Microbiol Lett. 174:247-250.]

Briefly, as noted above, two amino acid sequences are aligned to optimize the alignment scores using a gap opening penalty of 10, a gap extension penalty of 0.1, and the "blosum62" scoring matrix of Henikoff and Henikoff (Proc. Nat. Acad. Sci. USA 89:10915-10919. 1992).

The percent identity is then calculated as:

$$\frac{\text{Total number of identical matches}}{[\text{length of the longer sequence} + \text{number of gaps introduced into the longer sequence to align the two sequences}]} \times 100$$

Percent sequence "similarity" (often referred to as "homology") with respect to a polypeptide of the invention is defined herein as the percentage of amino acid residues in the candidate sequence that are identical with the residues in the target sequences after aligning the sequences and introducing gaps, if necessary, to achieve the maximum percent sequence identity (as described above), and also considering any conservative substitutions as part of the sequence identity.

45

Total number of identical matches and conservative substitutions _____ x
 100
 [length of the longer sequence + number of gaps introduced into
 the longer sequence to align the two sequences]

5

Amino acids can be classified according to physical properties and contribution to secondary and tertiary protein structure. A conservative substitution is recognized in the art as a substitution of one amino acid for another amino acid that has similar properties.

10

Exemplary conservative substitutions are set out in Table 1, 2, and 3 below.

Table 1
Conservative Substitutions I

15

SIDE CHAIN
CHARACTERISTIC **AMINO ACID**

Aliphatic

Non-polar

G A P

I L V

20

Polar - uncharged

C S T M

N Q

Polar - charged

D E

K R

Aromatic

H F W Y

25

Other

N Q D E

Alternatively, conservative amino acids can be grouped as described in Lehninger, [Biochemistry, Second Edition; Worth Publishers, Inc. NY:NY (1975), pp.71-77] as set out in Table 2, immediately below

30

46.

Table 2
Conservative Substitutions II

<u>SIDE CHAIN</u>		
5	<u>CHARACTERISTIC</u>	<u>AMINO ACID</u>
	Non-polar (hydrophobic)	
	A. Aliphatic:	A L I V P
	B. Aromatic:	F W
10	C. Sulfur-containing:	M
	D. Borderline:	G
	Uncharged-polar	
	A. Hydroxyl:	S T Y
	B. Amides:	N Q
15	C. Sulfhydryl:	C
	D. Borderline:	G
	Positively Charged (Basic):	K R H
	Negatively Charged (Acidic):	D E

20 As still another alternative, exemplary conservative substitutions are set out in Table 3, immediately below.

Table 3
Conservative Substitutions III

25	<u>Original Residue</u>	<u>Exemplary Substitution</u>
	Ala (A)	Val, Leu, Ile
	Arg (R)	Lys, Gln, Asn
	Asn (N)	Gln, His, Lys, Arg
	Asp (D)	Glu
30	Cys (C)	Ser
	Gln (Q)	Asn
	Glu (E)	Asp

47

	His (H)	Asn, Gln, Lys, Arg
	Ile (I)	Leu, Val, Met, Ala, Phe,
	Leu (L)	Ile, Val, Met, Ala, Phe
	Lys (K)	Arg, Gln, Asn
5	Met (M)	Leu, Phe, Ile
	Phe (F)	Leu, Val, Ile, Ala
	Pro (P)	Gly
	Ser (S)	Thr
	Thr (T)	Ser
10	Trp (W)	Tyr
	Tyr (Y)	Trp, Phe, Thr, Ser
	Val (V)	Ile, Leu, Met, Phe, Ala

Methods Directed to the Production of Virus and Host Cells of the Invention

15 The invention provides a method of modifying production a virus that is a member of the family *Arteriviridae* and *Asfarviridae* in a cell comprising the step of directing said cell to express a CD163 polypeptide. This may include rendering a virus non-permissive cell into a virus permissive cell, or may involve rendering a cell more permissive to the virus.

20 In one embodiment, the virus that is a member of the family *Arteriviridae* or *Asfarviridae* is selected from the group consisting of LDV of mice, equine arteritis virus (EAV), simian hemorrhagic fever virus (SHFV), PRRSV of swine and ASFV of swine.

In a preferred embodiment the virus is PRRSV.

25 The invention further provides a method of preparing a culture of a virus that is a member of the family *Arteriviridae* or *Asfarviridae* comprising the steps of: providing a cell line; directing said cell line to express a CD163 polypeptide; infecting said cell line with virus; and causing said cell line to produce viral progeny.

30 In one embodiment, the virus that is a member of the family *Arteriviridae* is selected from the group consisting of LDV of mice, equine arteritis virus (EAV), simian hemorrhagic fever virus (SHFV), PRRSV of swine and ASFV of swine.

In a preferred embodiment the virus is PRRSV.

All of the above methods utilize cells and cell lines expressing a CD163 polypeptide. CD163 may be facilitated or increased by methods that involve the introduction of exogenous nucleic acid into the cell. Such a cell may comprise a polynucleotide or vector in a manner that permits expression of an encoded CD163 polypeptide.

Polynucleotides that encode CD163 may be introduced into the host cell as part of a circular plasmid, or as linear DNA comprising an isolated protein-coding region, or in a viral vector. Methods for introducing exogenous nucleic acid into the host cell well known and routinely practiced in the art include transformation, transfection, electroporation, nuclear injection, or fusion with carriers such as liposomes, micelles, ghost cells, and protoplasts. Host cell systems of the invention include invertebrate and vertebrate cells systems. Hosts may include, but are not limited to, the following: insect cells, porcine kidney (PK) cells, feline kidney (FK) cells, swine testicular (ST) cells, African green monkey kidney cells (MA-104, MARC-145, VERO, and COS cells), Chinese hamster ovary (CHO) cells, baby hamster kidney cells, human 293 cells, and murine 3T3 fibroblasts. Insect host cell culture systems may also be used for the expression of CD163 polypeptides. In another embodiment, the CD163 polypeptides are expressed using a drosophila expression system.

The choice of a suitable expression vector for expression of the CD163 polypeptides will of course depend upon the specific host cell to be used, and is within the skill of the ordinary artisan. Examples of suitable expression vectors include pSport and pcDNA3 (Invitrogen), pCMV-Script (Stratagene), and pSVL (Pharmacia Biotech). Expression vectors for use in mammalian host cells may include transcriptional and translational control sequences derived from viral genomes. Commonly used promoter sequences and modifier sequences which may be used in the present invention include, but are not limited to, those derived from human cytomegalovirus (CMV), Rous sarcoma virus (RSV), Adenovirus 2, Polyoma virus, and Simian virus 40 (SV40). Methods for the construction of mammalian expression vectors are disclosed, for example, in Okayama and Berg (*Mol. Cell. Biol.* 3:280 (1983)); Cosman *et al.* (*Mol. Immunol.* 23:935 (1986)); Cosman *et al.* (*Nature* 312:768 (1984)); EP-A-0367566; and WO 91/18982.

Because CD163 sequences are known to exist in cells from various species, the endogenous gene may be modified to permit, or increase, expression of the CD163 polypeptide. Cells can be modified (e.g., by homologous recombination) to provide increased expression by replacing, in whole or in part, the naturally occurring CD163 promoter with all or part of a heterologous promoter, so that the cells express CD163 polypeptide at higher levels. The heterologous promoter is inserted in such a manner that it is operatively linked to endogenous CD163 encoding sequences. [See, for example, PCT International Publication No. WO 94/12650, PCT International Publication No. WO 92/20808, and PCT International Publication No. WO 91/09955.] It is also contemplated that, in addition to heterologous promoter DNA, amplifiable marker DNA (e.g., *ada*, *dhfr*, and the multifunctional *cad* gene, which encodes for carbamyl phosphate synthase, aspartate transcarbamylase, and dihydroorotase) and/or intron DNA may be inserted along with the heterologous promoter DNA. If linked to the CD163 coding sequence, amplification of the marker DNA by standard selection methods results in co-amplification of the CD163 coding sequences in the cells.

CD163 expression may also be induced by chemical treatment. Phorbol esters, especially phorbol myristyl acetate (PMA), activate one or more isozymes of the ubiquitous membrane receptor, protein kinase C (PKC) and are particularly preferred means of increasing CD163 expression. Other methods of intracellular calcium mobilization are also contemplated.

Vaccine Production

The methods described above may be used to produce any virus that is a member of the family *Arteriviridae* or *Asfarviridae* for the purpose of vaccine production or diagnostics.

In one embodiment the virus that is a member of the family *Arteriviridae* is selected from the group consisting of LDV of mice, equine arteritis virus (EAV), simian hemorrhagic fever virus (SHFV), and PRRSV of swine.

In a preferred embodiment the virus is PRRSV.

Vaccine Production

The methods described above may be used to produce virus for the purpose of vaccine production or diagnostics.

Killed (inactivated) or live vaccines can be produced. Therefore, to make a live vaccine, a viral isolate, or an attenuated or mutated variant thereof, is grown in cell culture. The virus is harvested according to methods well known in the art. The virus may then be concentrated, frozen, and stored at -70°C , or freeze-dried and stored at 4°C . Prior to vaccination the virus is mixed at an appropriate dosage, (which is from about 10^3 to 10^8 tissue culture infectious doses per ml ($\text{TCID}_{50}/\text{ml}$)), with a pharmaceutically acceptable carrier such as a saline solution, and optionally an adjuvant.

The vaccine produced might also comprise an inactivated or killed vaccine comprising a virus grown by the methods of the invention. The inactivated vaccine is made by methods well known in the art. For example, once the virus is propagated to high titers, it would be readily apparent by those skilled in the art that the virus antigenic mass could be obtained by methods well known in the art. For example, the virus antigenic mass may be obtained by dilution, concentration, or extraction. All of these methods have been employed to obtain appropriate viral antigenic mass to produce vaccines. The virus is then inactivated by treatment with formalin, betapropiolactone (BPL), binary ethyleneimine (BEI), or other methods known to those skilled in the art. The inactivated virus is then mixed with a pharmaceutically acceptable carrier such as a saline solution, and optionally an adjuvant. Examples of adjuvants include, but not limited to, aluminum hydroxide, oil-in-water and water-in-oil emulsions, AMPHIGEN, saponins such as QuilA, and polypeptide adjuvants including interleukins, interferons, and other cytokines.

Inactivation by formalin is performed by mixing the viral suspension with 37% formaldehyde to a final formaldehyde concentration of 0.05%. The virus-formaldehyde mixture is mixed by constant stirring for approximately 24 hours at room temperature. The inactivated virus mixture is then tested for residual live virus by assaying for growth on a suitable cell line.

Inactivation by BEI is performed by mixing the viral suspension of the present invention with 0.1 M BEI (2-bromo-ethylamine in 0.175 N NaOH) to a final BEI concentration of 1 mM. The virus-BEI mixture is mixed by constant stirring for approximately 48 hours at room temperature, followed by the addition of 1.0 M sodium thiosulfate to a final concentration of 0.1 mM. Mixing is continued for an

additional two hours. The inactivated virus mixture is tested for residual live virus by assaying for growth on a suitable cell line.

Virus permissive cells that have been directed to express CD163 can also be used to quantify live virus. Two common methods, which are well known to those skilled in the art, are the plaque assay and the limiting dilution assay.

CD163-expressing cell lines of the present invention can be used to grow virus for the purpose of producing viral antigen for diagnostic kits. For example lysates from infected cells (with optional purification of viral particles or extraction of selected viral proteins) may be coated on ELISA plates in order to detect and quantify antibodies to the virus in swine sera.

Live or inactivated virus grown in CD163-expressing cells can be used after optional separation of the viral proteins to immunize animals in order to generate polyclonal, monospecific or monoclonal antibodies. These in turn can be used as the basis of diagnostic assays for the detection and quantification of virus in swine serum and other biological samples.

Assays of the Invention

The invention provides methods for determining the propensity of an animal to be infected by a virus that is a member of the family *Arteriviridae* or *Asfarviridae* or of a cell line to support the replication of a virus that is a member of the family *Arteriviridae* or *Asfarviridae*. Samples from either source are obtained and assayed for expression of CD163. The level of CD163 gene expression can be compared with levels of controls known not to support replication of the virus.

In the case of an animal, samples can be any sample comprising sample nucleic acid molecules or proteins, and obtained from any bodily tissue expressing CD163, including, but not limited to, alveolar macrophages, cultured cells, biopsies, or other tissue preparations. The level of expression can be assessed at either or both the level of messenger RNA or protein produced. In a preferred embodiment the member of the virus of the family *Arteriviridae* or *Asfarviridae* is selected from the group consisting of LDV of mice, equine arteritis virus (EAV), simian hemorrhagic fever virus (SHFV), PRRSV of swine, and ASFV of swine.

Nucleic Acid based Assays

Methods of determining CD163 levels may be nucleic acid based as noted above. CD163-derived nucleic acids may be in solution or on a solid-support. In

some embodiments, they may be employed as array elements in microarrays alone or in combination with other array element molecules. Nucleic acid based methods generally require the isolation of DNA or RNA from the sample and subsequent hybridization or PCR amplification using specific primers derived from any known CD163 encoding sequences in the art or those specifically disclosed as SEQ ID NO: 1, 3, 5, 12, 13, 17, 18, 22, 23, 25, 26, 30, 31 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, and 47. DNA or RNA can be isolated from the sample according to any of a number of methods well known to those of skill in the art. For example, methods of purification of nucleic acids are described in Tijssen, P. (1993) *Laboratory Techniques in Biochemistry and Molecular Biology: Hybridization With Nucleic Acid Probes, Part I. Theory and Nucleic Acid Preparation*, Elsevier, New York, N.Y. In one preferred embodiment, total RNA is isolated using the TRIZOL total RNA isolation reagent (Life Technologies, Inc., Gaithersburg Md.) and mRNA is isolated using oligo d(T) column chromatography or glass beads. When sample nucleic acid molecules are amplified it is desirable to amplify the sample nucleic acid molecules and maintain the relative abundances of the original sample, including low abundance transcripts. RNA can be amplified in vitro, in situ, or in vivo (See Eberwine U.S. Pat. No. 5,514,545).

It is also advantageous to include controls within the sample to assure that amplification and labeling procedures do not change the true distribution of nucleic acid molecules in a sample. For this purpose, a sample is spiked with an amount of a control nucleic acid molecule predetermined to be detectable upon hybridization to its complementary arrayed nucleic acid molecule and the composition of nucleic acid molecules includes reference nucleic acid molecules which specifically hybridize with the control arrayed nucleic acid molecules. After hybridization and processing, the hybridization signals obtained should reflect accurately the amounts of control arrayed nucleic acid molecules added to the sample.

Prior to hybridization, it may be desirable to fragment the sample nucleic acid molecules. Fragmentation improves hybridization by minimizing secondary structure and cross-hybridization to other sample nucleic acid molecules in the sample or noncomplementary nucleic acid molecules. Fragmentation can be performed by mechanical or chemical means.

Labeling

The sample nucleic acid molecules or probes may be labeled with one or more

labeling moieties to allow for detection of hybridized arrayed/sample nucleic acid molecule complexes. The labeling moieties can include compositions that can be detected by spectroscopic, photochemical, biochemical, bioelectronic, immunochemical, electrical, optical, or chemical means. The labeling moieties include radioisotopes, such as (32)P, (33)P or (35)S, chemiluminescent compounds, labeled binding proteins, heavy metal atoms, spectroscopic markers, such as fluorescent markers and dyes, magnetic labels, linked enzymes, mass spectrometry tags, spin labels, electron transfer donors and acceptors, and the like. Preferred fluorescent markers include Cy3 and Cy5 fluorophores (Amersham Pharmacia Biotech, Piscataway N.J.).

Hybridization

The nucleic acid molecule sequence of SEQ ID NO: 1, 3, 5, 12, 13, 17, 18, 22, 23, 25, 26, 30, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45 and 47 or other CD163 encoding sequences in the art and fragments thereof can be used in various hybridization technologies for various purposes. Hybridization probes may be designed or derived from any mammalian CD163 sequence but may make use of those sequences disclosed in SEQ ID NO: 1, 3, 5, 12, 13, 17, 18, 22, 23, 25, 26, 30, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45 and 47. Such probes may be made from a highly specific region or from a conserved motif, and used in protocols to quantify CD163 message, allelic variants, or related sequences. The hybridization probes of the subject invention may be DNA or RNA and may be derived from any mammalian CD163 sequence known in the art or from those sequences disclosed herein as SEQ ID NO: 1, 3, 5, 12, 13, 17, 18, 22, 23, 25, 26, 30 or from genomic sequences including promoters, enhancers, and introns of the mammalian gene. Hybridization or PCR probes may be produced using oligolabeling, nick translation, end-labeling, or PCR amplification in the presence of the labeled nucleotide. A vector containing the nucleic acid sequence may be used to produce an mRNA probe in vitro by addition of an RNA polymerase and labeled nucleic acid molecules. These procedures may be conducted using commercially available kits such as those provided by Amersham Pharmacia Biotech.

The stringency of hybridization is determined by the G+C content of the probe, salt concentration, and temperature. In particular, stringency can be increased by reducing the concentration of salt or raising the hybridization temperature. In solutions used for some membrane-based hybridizations, additions of an organic solvent such as

formamide allows the reaction to occur at a lower temperature. Hybridization can be performed at low stringency with buffers, such as 5xSSC with 1% sodium dodecyl sulfate (SDS) at 60°C., which permits the formation of a hybridization complex between nucleotide sequences that contain some mismatches. Subsequent washes are performed at higher stringency with buffers such as 0.2xSSC with 0.1% SDS at either 45°C (medium stringency) or 68°C (high stringency). At high stringency, hybridization complexes will remain stable only where the nucleic acid sequences are almost completely complementary. In some membrane-based hybridizations, preferably 35% or most preferably 50%, formamide can be added to the hybridization solution to reduce the temperature at which hybridization is performed, and background signals can be reduced by the use of other detergents such as Sarkosyl or Triton X-100 and a blocking agent such as salmon sperm DNA. Selection of components and conditions for hybridization are well known to those skilled in the art and are reviewed in Ausubel (supra) and Sambrook et al. (1989) *Molecular Cloning, A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Press, Plainview N.Y.

Exemplary highly stringent hybridization conditions are as follows: hybridization at 42°C in a hybridization solution comprising 50% formamide, 1% SDS, 1M NaCl, 10% Dextran sulfate, and washing twice for 30 minutes at 60°C in a wash solution comprising 0.1 X SSC and 1% SDS. It is understood in the art that conditions of equivalent stringency can be achieved through variation of temperature and buffer, or salt concentration as described Ausubel, et al. (Eds.), *Protocols in Molecular Biology*, John Wiley & Sons (1994), pp. 6.0.3 to 6.4.10. Modifications in hybridization conditions can be empirically determined or precisely calculated based on the length and the percentage of guanosine/cytosine (GC) base pairing of the probe. The hybridization conditions can be calculated as described in Sambrook, et al., (Eds.), *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory Press: Cold Spring Harbor, New York (1989), pp. 9.47 to 9.51.

Hybridization specificity can be evaluated by comparing the hybridization of specificity-control nucleic acid molecules to specificity-control sample nucleic acid molecules that are added to a sample in a known amount. The specificity-control arrayed nucleic acid molecules may have one or more sequence mismatches compared with the corresponding arrayed nucleic acid molecules. In this manner, it is possible to determine whether only complementary arrayed nucleic acid molecules are

hybridizing to the sample nucleic acid molecules or whether mismatched hybrid duplexes are forming is determined.

Hybridization reactions can be performed in absolute or differential hybridization formats. In the absolute hybridization format, nucleic acid molecules from one sample are hybridized to the molecules in a microarray format and signals detected after hybridization complex formation correlate to nucleic acid molecule levels in a sample. In the differential hybridization format, the differential expression of a set of genes in two biological samples is analyzed. For differential hybridization, nucleic acid molecules from both biological samples are prepared and labeled with different labeling moieties. A mixture of the two labeled nucleic acid molecules is added to a microarray. The microarray is then examined under conditions in which the emissions from the two different labels are individually detectable. Molecules in the microarray that are hybridized to substantially equal numbers of nucleic acid molecules derived from both biological samples give a distinct combined fluorescence (Shalon et al.; PCT publication WO95/35505). In a preferred embodiment, the labels are fluorescent markers with distinguishable emission spectra, such as Cy3 and Cy5 fluorophores.

After hybridization, the microarray is washed to remove nonhybridized nucleic acid molecules and complex formation between the hybridizable array elements and the nucleic acid molecules is detected. Methods for detecting complex formation are well known to those skilled in the art. In a preferred embodiment, the nucleic acid molecules are labeled with a fluorescent label and measurement of levels and patterns of fluorescence indicative of complex formation is accomplished by fluorescence microscopy, preferably confocal fluorescence microscopy.

In a differential hybridization experiment, nucleic acid molecules from two or more different biological samples are labeled with two or more different fluorescent labels with different emission wavelengths. Fluorescent signals are detected separately with different photomultipliers set to detect specific wavelengths. The relative abundances/ expression levels of the nucleic acid molecules in two or more samples are obtained.

Typically, microarray fluorescence intensities can be normalized to take into account variations in hybridization intensities when more than one microarray is used under similar test conditions. In a preferred embodiment, individual arrayed-sample

nucleic acid molecule complex hybridization intensities are normalized using the intensities derived from internal normalization controls contained on each microarray.

Polypeptide Based Assays

The present invention provides methods and reagents for detecting and
5 quantifying CD163 polypeptides. These methods include analytical biochemical methods such as electrophoresis, mass spectroscopy, chromatographic methods and the like, or various immunological methods such as radioimmunoassay (RIA), enzyme-linked immunosorbent assays (ELISAs), immunofluorescent assays, western blotting, affinity capture mass spectrometry, biological activity, and others described
10 below and apparent to those of skill in the art upon review of this disclosure.

Immunoassays

The present invention also provides methods for detection of CD163 polypeptides employing one or more anti- CD163 antibody reagents (i.e., immunoassays). As used
15 herein, an immunoassay is an assay that utilizes an antibody (as broadly defined herein and specifically includes fragments, chimeras and other-binding agents) that specifically binds a CD163 polypeptide or epitope.

A number of well-established immunological binding assay formats suitable for the practice of the invention are known (see, e.g., U.S. Pat. Nos. 4,366,241; 4,376,110; 4,517,288; and 4,837,168). See, e.g., Methods in Cell Biology Volume 37:
20 Antibodies in Cell Biology, Asai, ed. Academic Press, Inc. New York (1993); Basic and Clinical Immunology 7th Edition, Stites & Terr, eds. (1991); Harlow and Lane, supra [e.g., Chapter 14], and Ausubel et al., supra, [e.g., Chapter 11]. Typically, immunological binding assays (or immunoassays) utilize a "capture agent" to specifically bind to and, often, immobilize the analyte to a solid phase. In one
25 embodiment, the capture agent is a moiety that specifically binds to a CD163 polypeptide or subsequence, such as an anti- CD163 antibody.

Usually the CD163 gene product being assayed is detected directly or indirectly using a detectable label. The particular label or detectable group used in the assay is usually not a critical aspect of the invention, so long as it does not
30 significantly interfere with the specific binding of the antibody or antibodies used in the assay. The label may be covalently attached to the capture agent (e.g., an anti- CD163 antibody), or may be attached to a third moiety, such as another antibody, that specifically binds to the CD163 polypeptide.

The present invention provides methods and reagents for competitive and noncompetitive immunoassays for detecting CD163 polypeptides. Noncompetitive immunoassays are assays in which the amount of captured analyte (in this case CD163) is directly measured. One such assay is a two-site, monoclonal-based immunoassay utilizing monoclonal antibodies reactive to two non-interfering epitopes on the CD163 polypeptide. See, e.g., Maddox et al., 1983, J. Exp. Med., 158:1211 for background information. In one "sandwich" assay, the capture agent (e.g., an anti-CD163 antibody) is bound directly to a solid substrate where it is immobilized. These immobilized antibodies then capture any CD163 polypeptide present in the test sample. The CD163 polypeptide thus immobilized can then be labeled, i.e., by binding to a second anti-CD163 antibody bearing a label. Alternatively, the second CD163 antibody may lack a label, but be bound by a labeled third antibody specific to antibodies of the species from which the second antibody is derived. The second antibody alternatively can be modified with a detectable moiety, such as biotin, to which a third labeled molecule can specifically bind, such as enzyme-labeled streptavidin.

In competitive assays, the amount of CD163 polypeptide present in the sample is measured indirectly by measuring the amount of an added (exogenous) CD163 polypeptide displaced (or competed away) from a capture agent (e.g., CD163 antibody) by the CD163 polypeptide present in the sample. A hapten inhibition assay is another example of a competitive assay. In this assay CD163 polypeptide is immobilized on a solid substrate. A known amount of CD163 antibody is added to the sample, and the sample is then contacted with the immobilized CD163 polypeptide. In this case, the amount of anti-CD163 antibody bound to the immobilized CD163 polypeptide is inversely proportional to the amount of CD163 polypeptide present in the sample. The amount of immobilized antibody may be detected by detecting either the immobilized fraction of antibody or the fraction of the antibody that remains in solution. In this aspect, detection may be direct, where the antibody is labeled, or indirect where the label is bound to a molecule that specifically binds to the antibody as described above.

Other Antibody-based Assay Formats

The invention also provides reagents and methods for detecting and quantifying the presence of CD163 polypeptide in the sample by using an immunoblot (Western blot)

format. Another immunoassay is the so-called "lateral flow chromatography." In a non-competitive version of lateral flow chromatography, a sample moves across a substrate by, e.g., capillary action, and encounters a mobile-labeled antibody that binds the analyte forming a conjugate. The conjugate then moves across the substrate and encounters an immobilized second antibody that binds the analyte. Thus, immobilized analyte is detected by detecting the labeled antibody. In a competitive version of lateral flow chromatography a labeled version of the analyte moves across the carrier and competes with unlabeled analyte for binding with the immobilized antibody. The greater the amount of the analyte in the sample, the less the binding by labeled analyte and, therefore, the weaker the signal. See, e.g., May et al., U.S. Pat. No. 5,622,871 and Rosenstein, U.S. Pat. No. 5,591,645.

Depending upon the assay, various components, including the antigen, target antibody, or anti-cathepsin S antibody, may be bound to a solid surface or support (i.e., a substrate, membrane, or filter paper). Many methods for immobilizing biomolecules to a variety of solid surfaces are known in the art. For instance, the solid surface may be a membrane (e.g., nitrocellulose), a microtiter dish (e.g., PVC, polypropylene, or polystyrene), a test tube (glass or plastic), a dipstick (e.g. glass, PVC, polypropylene, polystyrene, latex, and the like), a microcentrifuge tube, or a glass or plastic bead. The desired component may be covalently bound or noncovalently attached through nonspecific bonding.

A wide variety of organic and inorganic polymers, both natural and synthetic may be employed as the material for the solid surface. Illustrative polymers include polyethylene, polypropylene, poly (4- methylbutene), polystyrene, polymethacrylate, poly(ethylene terephthalate), rayon, nylon, poly(vinylbutyrate), polyvinylidene difluoride (PVDF), silicones, polyformaldehyde, cellulose, cellulose acetate, nitrocellulose, and the like. Other materials which may be employed, include paper, glasses, ceramics, metals, metalloids, semiconductive materials, cements or the like. In addition, substances that form gels, such as proteins (e. g., gelatins), lipopolysaccharides, silicates, agarose and polyacrylamides can be used. Polymers that form several aqueous phases, such as dextrans, polyalkylene glycols or surfactants, such as phospholipids, long chain (12-24 carbon atoms) alkyl ammonium salts and the like are also suitable. Where the solid surface is porous, various pore sizes may be employed depending upon the nature of the system.

Mass Spectrometry

The mass of a molecule frequently can be used as an identifier of the molecule.

Therefore, methods of mass spectrometry can be used to identify a protein analyte.

Mass spectrometers can measure mass by determining the time required for an ionized

5 analyte to travel down a flight tube and to be detected by an ion detector. One method of mass spectrometry for proteins is matrix-assisted laser desorption ionization mass spectrometry ("MALDI"). In MALDI the analyte is mixed with an energy absorbing matrix material that absorbs energy of the wavelength of a laser and placed on the surface of a probe. Upon striking the matrix with the laser, the analyte is desorbed
10 from the probe surface, ionized, and detected by the ion detector. See, for example, Hillenkamp et al., U.S. Pat. No. 5,118,937.

Other methods of mass spectrometry for proteins are described in Hutchens and Yip, U.S. Pat. No. 5,719,060. In one such method referred to as Surfaces
Enhanced for Affinity Capture ("SEAC") a solid phase affinity reagent that binds the
15 analyte specifically or non-specifically, such as an antibody or a metal ion, is used to separate the analyte from other materials in a sample. Then the captured analyte is desorbed from the solid phase by, e.g., laser energy, ionized, and detected by the detector.

Nucleic Acids of the Invention

20 The examples disclose our discovery of several novel CD163 polynucleotides. The invention includes these novel CD163 polynucleotides. The present invention provides several isolated novel polynucleotides (e.g., DNA sequences and RNA transcripts, both sense and complementary antisense strands, both single and double-stranded, including splice variants thereof, which encode novel CD163 polypeptides.
25 We report herein isolated novel polynucleotides which encode porcine, murine, human, canine, and african green monkey CD163 polypeptides and which comprise the sequences set forth in SEQ ID NO: 1, 5, 12 13, 22, 23, 25, 26, 30 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, and 47.

It should be recognized that by disclosing SEQ ID NOs: 1, 5, 12 13, 22, 23, 25,
30 26, 30 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, and 47 it provides one skilled in the art a multitude of methods of obtaining these sequences. By way of example, it would be possible to generate probes from the sequence disclosed in SEQ ID NOs: 1, 5, 12 13, 22, 23, 25, 26, 30 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, and 47 and screen porcine, murine,

60

human, canine, and african green monkey cDNA or genomic libraries and thereby obtain the entire SEQ ID NO: 1, 3, 5, 12, 13, 17, 18, 22, 23, 25, 26, 30, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45 and 47, or its genomic equivalent. Sambrook, *et al.*, (Eds.), *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory Press: Cold Spring Harbor, New York (1989). Also by way of example, one skilled in the art would immediately recognize that given the sequence disclosed in SEQ ID NO: 5, 12 13, 22, 23, 25, 26, 30 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, and 47 it is then possible to generate the appropriate primers for PCR amplification to obtain the entire sequence represented by these sequences. (See e.g., PCR Technology, H. A. Erlich, ed., Stockton Press, New York, 1989; PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications, M. A. Innis, David H. Gelfand, John J. Sninsky, and Thomas J. White, eds., Academic Press, Inc., New York, 1990.)

DNA polynucleotides of the invention include cDNA, and DNA that has been chemically synthesized in whole or in part and is also intended to include allelic variants thereof. Allelic variants are modified forms of a wild type gene sequence, the modification resulting from recombination during chromosomal segregation, or exposure to conditions which give rise to genetic mutation. Allelic variants, like wild type genes, are naturally occurring sequences (as opposed to non-naturally occurring variants which arise from in vitro manipulation).

DNA sequences encoding the novel CD163 polypeptides are set forth in SEQ ID NOs: 5, 12 13, 22, 23, 25, 26, 30 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, and 47. The worker of skill in the art will readily appreciate that the DNA of the invention comprises a double stranded molecule, for example the molecule having the sequence set forth in SEQ ID NO: 5, 12 13, 22, 23, 25, 26, 30 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, and 47 along with the complementary molecule (the "non-coding strand" or "complement") having a sequence deducible from the sequence of SEQ ID NOs: 5, 12 13, 22, 23, 25, 26, 30 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, and 47 according to Watson-Crick base pairing rules for DNA. Also contemplated by the invention are other polynucleotides encoding for the porcine, murine and african green monkey CD163 polypeptides of SEQ ID NO: 2, 14, 24, 27 and 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48 which differ in sequence from the polynucleotide of SEQ ID NOs: 1, 3, 5, 12, 13, 17, 18, 22, 23, 25, 26, 30, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45 and 47 by virtue of the well-known degeneracy of the universal genetic code, as is well known in the art. The

present invention, therefore, contemplates those other DNA and RNA molecules that, on expression, encode the polypeptides of SEQ ID NO: 2, 14, 24, 27 and 32. Having identified the amino acid residue sequence encoded the porcine CD163 polypeptide, and with the knowledge of all triplet codons for each particular amino acid residue, it is possible to describe all such encoding RNA and DNA sequences. DNA and RNA molecules other than those specifically disclosed herein characterized simply by a change in a codon for a particular amino acid, are, therefore, within the scope of this invention.

A table of amino acids and their representative abbreviations, symbols and codons is set forth below in the following Table 4.

Table 4

Amino acid	Abbrev.	Symbol	Codon(s)					
Alanine	Ala	A	GCA	GCC	GCG	GCU		
Cysteine	Cys	C	UGC	UGU				
Aspartic acid	Asp	D	GAC	GAU				
Glutamic acid	Glu	E	GAA	GAG				
Phenylalanine	Phe	F	UUC	UUU				
Glycine	Gly	G	GGA	GGC	GGG	GGU		
Histidine	His	H	CAC	CAU				
Isoleucine	Ile	I	AUA	AUC	AUU			
Lysine	Lys	K	AAA	AAG				
Leucine	Leu	L	UUA	UUG	CUA	CUC	CUG	CUU
Methionine	Met	M	AUG					
Asparagine	Asn	N	AAC	AAU				
Proline	Pro	P	CCA	CCC	CCG	CCU		
Glutamine	Gln	Q	CAA	CAG				
Arginine	Arg	R	AGA	AGG	GGA	GGC	GGG	GGU
Serine	Ser	S	AGC	AGU	UCA	UCC	UCG	UCU
Threonine	Thr	T	ACA	AOC	ACG	ACU		
Valine	Val	V	GUA	GUC	GUG	GUU		
Tryptophan	Trp	W	UGG					
Tyrosine	Tyr	Y	UAC	UAU				

As is well known in the art, codons constitute triplet sequences of nucleotides in mRNA and their corresponding cDNA molecules. Codons are characterized by the base uracil (U) when present in an mRNA molecule but are characterized by the base thymidine (T) when present in DNA. A simple change in a codon for the same amino acid residue within a polynucleotide will not change the sequence or structure of the encoded polypeptide. It is apparent that when a phrase stating that a particular 3 nucleotide sequence "encode(s)" any particular amino acid, the ordinarily skilled artisan would recognize that the table above provides a means of identifying the particular nucleotides at issue. By way of example, if a particular three-nucleotide

62

sequence encodes therefore the table above discloses that the possible triplet sequences are ACA, ACG, ACC and ACU (ACT if in DNA).

The invention includes therefore, an isolated polynucleotide comprising:

- (a) a susCD163v1 polynucleotide sequence set forth in SEQ ID NOs: 1, and 5
- 5 (b) a polynucleotide that encodes a polypeptide that has at least 70%, 71%, 72%, 73%, 74%, 75%, 76%, 77%, 78%, 79%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 93%, 94%, 95%, 96% 97% 98%, or 99%, identity and/or similarity to a polypeptide set forth in SEQ ID NO: 2
- (c) a polynucleotide encoding a polypeptide of SEQ ID: 2,
- 10 (d) a polynucleotide which is the complement of any of (a), (b) or (c).

The invention also includes an isolated polynucleotide comprising:

- (a) a susCD163v2 polynucleotide sequence set forth in SEQ ID NOs: 12 or 13
- (b) a polynucleotide that encodes a polypeptide that has at least 99%, identity and/or similarity to a polypeptide set forth in SEQ ID NO: 14
- 15 (c) a polynucleotide encoding a polypeptide of SEQ ID: 14,
- (d) a polynucleotide which is the complement of any of (a), (b) or (c).

The invention also includes an isolated polynucleotide comprising:

- (a) a murine CD63v2 polynucleotide sequence set forth in SEQ ID NOs: 22 or 23
- (b) a polynucleotide encoding a polypeptide of SEQ ID: 24,
- 20 (c) a polynucleotide which is the complement of any of (a) or (b).

The invention also includes an isolated polynucleotide comprising:

- (a) a murine CD163v3 polynucleotide sequence set forth in SEQ ID NOs: 25 or 26
- (b) a polynucleotide that encodes a polypeptide that has at least 96% 97% 98%, or 99% identity and/or similarity to a polypeptide set forth in SEQ ID NO: 27
- 25 (c) a polynucleotide encoding a polypeptide of SEQ ID: 27,
- (d) a polynucleotide which is the complement of any of (a), (b) or (c).

The invention also includes an isolated polynucleotide comprising:

- (a) an african green monkey CD163v2 polynucleotide sequence set forth in SEQ ID NOs: 30 or 31
- 30 (b) a polynucleotide that encodes a polypeptide that has at least 98% or 99% identity and/or similarity to a polypeptide set forth in SEQ ID NO: 32
- (c) a polynucleotide encoding a polypeptide of SEQ ID: 32,
- (d) a polynucleotide which is the complement of any of (a), (b) or (c).

The invention also includes an isolated polynucleotide comprising:

- (a) a polynucleotide sequence set forth in SEQ ID NO: 33
- (b) a polynucleotide that encodes a polypeptide that has at least 95% 96%, 97%, 98% or 99% identity and/or similarity to a polypeptide set forth in SEQ ID NO: 34
- 5 (c) a polynucleotide encoding a polypeptide of SEQ ID: 34,
- (d) a polynucleotide which is the complement of any of (a), (b) or (c).

The invention also includes an isolated polynucleotide comprising:

- (a) a polynucleotide sequence set forth in SEQ ID NO: 35
- (b) a polynucleotide that encodes a polypeptide that has at least 95% 96%, 97%, 98% or
- 10 99% identity and/or similarity to a polypeptide set forth in SEQ ID NO: 36
- (c) a polynucleotide encoding a polypeptide of SEQ ID: 36,
- (d) a polynucleotide which is the complement of any of (a), (b) or (c).

The invention also includes an isolated polynucleotide comprising:

- (a) a polynucleotide sequence set forth in SEQ ID NO: 37
- 15 (b) a polynucleotide that encodes a polypeptide that has at least 95% 96%, 97%, 98% or 99% identity and/or similarity to a polypeptide set forth in SEQ ID NO: 38
- (c) a polynucleotide encoding a polypeptide of SEQ ID: 38,
- (d) a polynucleotide which is the complement of any of (a), (b) or (c).

The invention also includes an isolated polynucleotide comprising:

- 20 (a) a polynucleotide sequence set forth in SEQ ID NO: 39
- (b) a polynucleotide that encodes a polypeptide that has at least 95% 96%, 97%, 98% or 99% identity and/or similarity to a polypeptide set forth in SEQ ID NO: 40
- (c) a polynucleotide encoding a polypeptide of SEQ ID: 40,
- (d) a polynucleotide which is the complement of any of (a), (b) or (c).

25 The invention also includes an isolated polynucleotide comprising:

- (a) a polynucleotide sequence set forth in SEQ ID NO: 41
- (b) a polynucleotide that encodes a polypeptide that has at least 95% 96%, 97%, 98% or 99% identity and/or similarity to a polypeptide set forth in SEQ ID NO: 42
- (c) a polynucleotide encoding a polypeptide of SEQ ID: 42,
- 30 (d) a polynucleotide which is the complement of any of (a), (b) or (c).

The invention also includes an isolated polynucleotide comprising:

- (a) a polynucleotide sequence set forth in SEQ ID NO: 43

- (b) a polynucleotide that encodes a polypeptide that has at least 95% 96%, 97%, 98% or 99% identity and/or similarity to a polypeptide set forth in SEQ ID NO: 44
- (c) a polynucleotide encoding a polypeptide of SEQ ID: 44,
- (d) a polynucleotide which is the complement of any of (a), (b) or (c).

5 The invention also includes an isolated polynucleotide comprising:

- (a) a polynucleotide sequence set forth in SEQ ID NO: 45
- (b) a polynucleotide that encodes a polypeptide that has at least 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95% 96%, 97%, 98% or 99% identity and/or similarity to a polypeptide set forth in SEQ ID NO: 46
- (c) a polynucleotide encoding a polypeptide of SEQ ID: 46,
- (d) a polynucleotide which is the complement of any of (a), (b) or (c).

 The invention also includes an isolated polynucleotide comprising:

- (a) a polynucleotide sequence set forth in SEQ ID NO: 47
- (b) a polynucleotide that encodes a polypeptide that has at least 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95% 96%, 97%, 98% or 99% identity and/or similarity to a polypeptide set forth in SEQ ID NO: 48
- (c) a polynucleotide encoding a polypeptide of SEQ ID: 49,
- (d) a polynucleotide which is the complement of any of (a), (b) or (c).

20 The polynucleotide sequence information provided by the invention makes possible large-scale expression of the encoded polypeptide by techniques well known and routinely practiced in the art. Polynucleotides of the invention also permit identification and isolation of polynucleotides encoding related porcine CD163v1 polypeptides, such as human allelic variants and species homologs, by well-known techniques including Southern and/or Northern hybridization, and the polymerase chain reaction (PCR).

25 Knowledge of the sequence of a any of the CD163 sequences disclosed herein also makes possible through use of Southern hybridization or polymerase chain reaction (PCR), the identification of genomic DNA sequences encoding CD163 regulatory sequences, such as promoters, operators, enhancers, repressors, and the like.

30 As noted in the section above entitled "Assays of the Invention" polynucleotides of the invention are also useful in hybridization assays to detect the capacity of cells to express CD163, or to measure levels of CD163 expression.

65

Polynucleotides of the invention may also be the basis for diagnostic methods useful for determining the susceptibility of an animal to virus infection as described above.

The disclosure herein of the full-length polynucleotides encoding a CD163 polypeptide makes readily available to the worker of ordinary skill in the art fragments of the full length polynucleotide. The invention therefore provides unique fragments of the CD163 encoding polynucleotides comprising at least 15 through the length of the full-length sequence (including each and every integer value between) consecutive nucleotides of a polynucleotide encoding a CD163 disclosed herein. Because polynucleotides of the invention (including fragments) comprise sequences unique to the particular CD163-encoding polynucleotide sequence, they therefore would hybridize under highly stringent or moderately stringent conditions only (i.e., "specifically") to polynucleotides encoding the various CD163 polypeptides. Sequences unique to polynucleotides of the invention are recognizable through sequence comparison to other known polynucleotides, and can be identified through use of alignment programs routinely utilized in the art, e.g., those made available in public sequence databases. Such sequences also are recognizable from Southern hybridization analyses to determine the number of fragments of genomic DNA to which a polynucleotide will hybridize. Polynucleotides of the invention can be labeled in a manner that permits their detection, including radioactive, fluorescent, and enzymatic labeling.

One or more unique fragment polynucleotides (or other CD163 polynucleotides as discussed above) can be included in kits that are used to detect the presence of a polynucleotide encoding for CD163, or used to detect variations in a polynucleotide sequence encoding for CD163. Also made available by the invention are anti-sense polynucleotides that recognize and hybridize to polynucleotides encoding CD163. Full length and fragment anti-sense polynucleotides are provided. Fragment anti-sense molecules of the invention include (i) those that specifically recognize and hybridize to the CD163 variants disclosed herein (as determined by sequence comparison of DNA encoding CD163s to DNA encoding other known molecules). Identification of sequences unique to the novel CD163-encoding polynucleotides can be deduced through the use of any publicly available sequence database, and/or through the use of commercially available sequence comparison programs. The uniqueness of selected sequences in an entire genome can be further

6L

verified by hybridization analyses. After identification of the desired sequences, isolation through restriction digestion or amplification using any of the various polymerase chain reaction techniques well known in the art can be performed. Antisense polynucleotides are particularly relevant to regulating expression of CD163 by those cells expressing CD163 mRNA.

Antisense nucleic acids (preferably 10 to 20 base pair oligonucleotides) capable of specifically binding to CD163 expression control sequences or CD163 RNA are introduced into cells (e.g., by a viral vector or colloidal dispersion system such as a liposome). The antisense nucleic acid binds to the porcine CD163 target nucleotide sequence in the cell and prevents transcription or translation of the target sequence. Phosphorothioate and methylphosphonate antisense oligonucleotides are specifically contemplated for therapeutic use by the invention. The antisense oligonucleotides may be further modified by poly-L-lysine, transferrin polylysine, or cholesterol moieties at their 5' end. Suppression of porcine CD163 expression at either the transcriptional or translational level is useful to generate cellular or animal models for diseases characterized by aberrant porcine CD163 expression or as a therapeutic modality.

As noted above in more detail, the nucleic acids of the invention include vectors comprising a polynucleotide of the invention. Such vectors are useful, e.g., for amplifying the polynucleotides in host cells to create useful quantities thereof. In other embodiments, the vector is an expression vector wherein the polynucleotide of the invention is operatively linked to a polynucleotide comprising an expression control sequence. Such vectors are useful for recombinant production of polypeptides of the invention.

Also as noted above the invention provides host cells that are transformed or transfected (stably or transiently) with polynucleotides of the invention or vectors of the invention. As stated above, such host cells are useful for the production of virus and the production of vaccines.

The invention also provides isolated CD163 polypeptides encoded by a novel polynucleotide of the invention.

Polypeptides of the Invention

The examples disclose our discovery of several novel CD163 polypeptides. The invention includes these novel CD163 polypeptide which are set forth in SEQ ID NOs: 2, 14, 19, 24, 27, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, and 48.

5 The invention includes therefore, an isolated polynucleotide comprising a *musCD163v1* polypeptide with the sequence set forth in SEQ ID NO: 2.

The invention also includes a polypeptide that has at least 70%, 71%, 72%, 73%, 74%, 75%, 76%, 77%, 78%, 79%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, or 99%,
10 identity and/or similarity to a polypeptide set forth in SEQ ID NO: 2.

The invention includes therefore, an isolated polynucleotide comprising a *musCD163v2* polypeptide with the sequence set forth in SEQ ID NO: 14.

The invention also includes a polypeptide that has at least 99%, identity and or similarity to a *musCD163v2* polypeptide set forth in SEQ ID NO: 14.

15 The invention also includes a murine CD163v2 polypeptide having the sequence set forth in SEQ ID: 24.

The invention also includes a murine CD163v3 polypeptide having the sequence set forth in SEQ ID: 27.

The invention also includes at least a polypeptide having 96% 97% 98%, or
20 99%, identity and/or similarity to a polypeptide set forth in SEQ ID NO: 27.

The invention also includes a polypeptide having the sequence set forth in SEQ ID: 32.

The invention also includes a polypeptide that has at least 98% or 99%, identity and/or similarity to a polypeptide set forth in SEQ ID NO: 32.

25 The invention also includes a polypeptide having the sequence set forth in SEQ ID: 34.

The invention also includes a polypeptide that has at least 95%, 96%, 97%, 98%, 99% identity and/or similarity to a polypeptide set forth in SEQ ID NO: 34.

The invention also includes a polypeptide having the sequence set forth in SEQ ID:
30 36.

The invention also includes a polypeptide that has at least 95%, 96%, 97%, 98%, 99% identity and/or similarity to a polypeptide set forth in SEQ ID NO: 36.

The invention also includes a polypeptide having the sequence set forth in SEQ ID: 38.

The invention also includes a polypeptide that has at least 95%, 96%, 97%, 98%, 99% identity and/or similarity to a polypeptide set forth in SEQ ID NO: 39.

5 The invention also includes a polypeptide having the sequence set forth in SEQ ID: 40.

The invention also includes a polypeptide that has at least 95%, 96%, 97%, 98%, 99% identity and/or similarity to a polypeptide set forth in SEQ ID NO: 40.

10 The invention also includes a polypeptide having the sequence set forth in SEQ ID: 42.

The invention also includes a polypeptide that has at least 90%, 91%, 92%, 93%, 94% 95%, 96%, 97%, 98%, 99% identity and/or similarity to a polypeptide set forth in SEQ ID NO: 42.

15 The invention also includes a polypeptide having the sequence set forth in SEQ ID: 44.

The invention also includes a polypeptide that has at least 90%, 91%, 92%, 93%, 94% 95%, 96%, 97%, 98%, 99% identity and/or similarity to a polypeptide set forth in SEQ ID NO: 44.

20 The invention also includes a polypeptide having the sequence set forth in SEQ ID: 46.

The invention also includes a polypeptide that has at least 90%, 91%, 92%, 93%, 94% 95%, 96%, 97%, 98%, 99% identity and/or similarity to a polypeptide set forth in SEQ ID NO: 46.

25 The invention also includes a polypeptide having the sequence set forth in SEQ ID: 48.

The invention also includes a polypeptide that has at least 90%, 91%, 92%, 93%, 94% 95%, 96%, 97%, 98%, 99% identity and/or similarity to a polypeptide set forth in SEQ ID NO: 48.

30 Polypeptides of the invention may be isolated from natural cell sources or may be chemically synthesized, but are preferably produced by recombinant procedures involving host cells of the invention. Use of mammalian host cells is expected to provide for such post-translational modifications (e.g., glycosylation, truncation,

lipidation, and phosphorylation) as may be needed to confer optimal biological activity on recombinant expression products of the invention. Glycosylated and non-glycosylated forms of the novel CD163 polypeptides are embraced.

Overexpression in eukaryotic and prokaryotic hosts as described above facilitates the isolation of CD163 polypeptides. The invention therefore includes isolated CD163 polypeptides as set out in SEQ ID NOs: 2, 14, 19, 24, 27 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48 and variants and conservative amino acid substitutions therein including labeled and tagged polypeptides.

The invention includes novel CD163 polypeptides that are "labeled". The term "labeled" is used herein to refer to the conjugating or covalent bonding of any suitable detectable group, including enzymes (e.g., horseradish peroxidase, beta-glucuronidase, alkaline phosphatase, and beta-D-galactosidase), fluorescent labels (e.g., fluorescein, luciferase), and radiolabels (e.g., ^{14}C , ^{125}I , ^3H , ^{32}P , and ^{35}S) to the compound being labeled. Techniques for labeling various compounds, including proteins, peptides, and antibodies, are well known. See, e.g., Morrison, *Methods in Enzymology* 32b, 103 (1974); Syvanen et al., *J. Biol. Chem.* 284, 3762 (1973); Bolton and Hunter, *Biochem. J.* 133, 529 (1973). The termed labeled may also encompass a polypeptide which has covalently attached an amino acid tag as discussed below.

In addition, the novel CD163 polypeptides of the invention may be indirectly labeled. This involves the covalent addition of a moiety to the polypeptide and subsequent coupling of the added moiety to a label or labeled compound that exhibits specific binding to the added moiety. Possibilities for indirect labeling include biotinylation of the peptide followed by binding to avidin coupled to one of the above label groups. Another example would be incubating a radiolabeled antibody specific for a histidine tag with a CD163s polypeptide comprising a polyhistidine tag. The net effect is to bind the radioactive antibody to the polypeptide because of the considerable affinity of the antibody for the tag.

The invention also embraces variants (or analogs) of the novel CD163 protein. In one example, insertion variants are provided wherein one or more amino acid residues supplement a novel CD163 amino acid sequence. Insertions may be located at either or both termini of the protein, or may be positioned within internal regions of the novel CD163 protein amino acid sequence. Insertional variants with additional

70

residues at either or both termini can include for example, fusion proteins and proteins including amino acid tags or labels. Insertion variants include novel CD163 polypeptides wherein one or more amino acid residues are added to a CD163 acid sequence, or to a biologically active fragment thereof.

5 Insertional variants therefore can also include fusion proteins wherein the amino and/or carboxy terminal of the novel CD163 polypeptide is fused to another polypeptide. Various tag polypeptides and their respective antibodies are well known in the art. Examples include poly-histidine (poly-his) or poly-histidine-glycine (poly-his-gly) tags; the influenza HA tag polypeptide and its antibody
10 12CA5 [Field et al., Mol. Cell. Biol., 8:2159-2165 (1988)]; the c-myc tag and the 8F9, 3C7, 6E10, G4, B7 and 9E10 antibodies thereto [Evan et al., Molecular and Cellular Biology, 5:3610-3616 (1985)], and the Herpes Simplex virus glycoprotein D (gD) tag and its antibody [Paboraky et al., Protein Engineering, 3(6):547-553 (1990)]. Other tag polypeptides include the Flag -peptide [Hopp et al.,
15 BioTechnology, 6:1204-1210 (1988)]; the KT3 epitope peptide [Martin et al., Science, 255:192-194 (1992)]; an alpha -tubulin epitope peptide [Skinner et al., J. Biol. Chem., 266:15163-15166 (1991)]; and the T7 gene 10 protein peptide tag [Lutz-Freyermuth et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 87:6393-6397(1990)]. In addition, the CD163 polypeptide can be tagged with enzymatic proteins such as
20 peroxidase and alkaline phosphatase.

 In another aspect, the invention provides deletion variants wherein one or more amino acid residues in a novel CD163 polypeptide is removed. Deletions can be effected at one or both termini of the novel CD163 polypeptide, or with removal of one or more residues within the novel CD163 amino acid sequence. Deletion
25 variants, therefore, include all fragments of the novel CD163 polypeptide.

 CD163 polypeptides contain a transmembrane or membrane anchor region. It should be recognized that such transmembrane domains are useful when expressed in the context of a heterologous protein to aid in the targeting of the heterologous protein to membranes. It should also be recognized that it may be advantageous to delete
30 some transmembrane domains to enhance the purification or solubility of the protein. Transmembrane deleted variants of CD163 and polynucleotides encoding them are of potential value as antiviral therapeutics. Such variants are specifically disclosed here as SBQ ID NOs: 37-40.

The present invention also includes variants of the aforementioned polypeptides, that is, polypeptides that vary from the reference sequence by conservative amino acid substitutions,

Exemplary conservative substitutions are set out in Tables 1, 2 and 3 in the section above entitled "Definitions".

In those situations where it is preferable to partially or completely isolate the novel CD163 polypeptides, purification can be accomplished using standard methods well known to the skilled artisan. Such methods include, without limitation, separation by electrophoresis followed by electroelution, various types of chromatography (immunoaffinity, molecular sieve, and/or ion exchange), and/or high pressure liquid chromatography. In some cases, it may be preferable to use more than one of these methods for complete purification.

Purification of novel CD163 polypeptides can be accomplished using a variety of techniques. If the polypeptide has been synthesized such that it contains a tag such as Hexahistidine (CD163 /hexaHis) or other small peptide such as FLAG (Eastman Kodak Co., New Haven, Conn.) or myc (Invitrogen, Carlsbad, Calif.) at either its carboxyl or amino terminus, it may essentially be purified in a one-step process by passing the solution through an affinity column where the column matrix has a high affinity for the tag or for the polypeptide directly (i.e., a monoclonal antibody specifically recognizing CD163). For example, polyhistidine binds with great affinity and specificity to nickel, thus an affinity column of nickel (such as the Qiagen Registered TM nickel columns) can be used for purification of CD163 /polyHis. (See for example, Ausubel et al., eds., Current Protocols in Molecular Biology, Section 10.11.8, John Wiley & Sons, New York [1993]).

Even if the novel CD163 polypeptide is prepared without a label or tag to facilitate purification, the novel CD163 of the invention may be purified by immunoaffinity chromatography. To accomplish this, antibodies specific for CD163 polypeptides must be prepared by means well known in the art.

Antibodies generated against the novel CD163 polypeptides of the invention can be obtained by administering the polypeptides or epitope-bearing fragments, analogues, or cells to an animal, preferably a non-human, using routine protocols. For preparation of monoclonal antibodies, any technique known in the art that provides antibodies produced by continuous cell line cultures can be used. Examples include

various techniques, such as those in Kohler, G. and Milstein, C., *Nature* 256: 493-497 (1975); Kozbor et al., *Immunology Today* 4: 72 (1983); Cole et al., pg. 77-96 in *Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy*, Alan R. Liss, Inc. (1985).

Where the novel CD163 polypeptides are prepared without a tag attached, and
5 no antibodies are available, other well-known procedures for purification can be used. Such procedures include, without limitation, ion exchange chromatography, molecular sieve chromatography, HPLC, native gel electrophoresis in combination with gel elution, and preparative isoelectric focusing ("Isoprime" machine/technique, Hoefer Scientific). In some cases, two or more of these techniques may be combined
10 to achieve increased purity.

It should be understood that the definition of polypeptides of the invention is intended to include polypeptides bearing modifications other than insertion, deletion, or substitution of amino acid residues. By way of example, the modifications may be covalent in nature, and include for example, chemical bonding with polymers, lipids,
15 other organic, and inorganic moieties.

Antibodies

Also comprehended by the present invention are antibodies (e.g., monoclonal and polyclonal antibodies, single chain antibodies, chimeric antibodies, bifunctional/bispecific antibodies, humanized antibodies, human antibodies, and
20 complementary determining region (CDR)-grafted antibodies, including compounds which include CDR sequences which specifically recognize a polypeptide of the invention) specific for novel CD163 or fragments thereof.

The term "specific for," when used to describe antibodies of the invention, indicates that the variable regions of the antibodies of the invention recognize and
25 bind CD163s polypeptides exclusively (i.e., able to distinguish CD163s polypeptides from other known polypeptides by virtue of measurable differences in binding affinity, despite the possible existence of localized sequence identity, homology, or similarity between the novel CD163 and such polypeptides). It will be understood that specific antibodies may also interact with other proteins (for example, *S. aureus* protein A or
30 other antibodies in ELISA techniques) through interactions with sequences outside the variable region of the antibodies, and in particular, in the constant region of the molecule. Screening assays to determine binding specificity of an antibody of the invention are well known and routinely practiced in the art. For a comprehensive

discussion of such assays, see Harlow et al. (Eds), *Antibodies A Laboratory Manual*; Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, NY (1988), Chapter 6.

Antibodies that recognize and bind fragments of the CD163s polypeptides of the invention are also contemplated, provided that the antibodies are, first and foremost, specific for novel CD163 polypeptides. Antibodies of the invention can be produced using any method well known and routinely practiced in the art. Non-human antibodies may be humanized by any methods known in the art. In one method, the non-human CDRs are inserted into a human antibody or consensus antibody framework sequence. Further changes can then be introduced into the antibody framework to modulate affinity or immunogenicity.

Antibodies of the invention are useful for, diagnostic purposes to detect or quantitate CD163s, as well as purification of CD163s. Kits comprising an antibody of the invention for any of the purposes described herein are also comprehended. In general, a kit of the invention also includes a control antigen for which the antibody is immunospecific

The present invention is further illustrated, but not limited, by the following examples.

Example 1: Transient transfection with porcine CD163 confers permissivity to PRRS virus infection to a non-permissive cell line. Total mRNA from primary porcine alveolar macrophage cells was used to construct a cDNA library in the plasmid pCMV-Sport6.1 (Invitrogen), with the cDNA cloned between the *EcoRV* and *NotI* sites. A member of this library, when isolated and transiently transfected into the BHK-21 (baby hamster kidney) cell line, conferred a PRRS-permissive phenotype. Cells were grown in Dulbecco's modified Eagle medium (DMEM) supplemented with 5% fetal bovine serum (FBS) in a 5% CO₂ atmosphere at 37°C. Cell cultures were transiently transfected using 10.0 μ L of Lipofectamine 2000 (Invitrogen) and 2.0 μ g of plasmid. A duplicate monolayer was transfected with negative control plasmid pPAMB. This plasmid is pCMV-Sport6.1 lacking an insert. Transfection efficiency was monitored with a plasmid expressing green fluorescent protein (GFP). Approximately 24 hours post-transfection, monolayers were infected with either North American (isolate P129) or European (isolate 96V198) genotypes of PRRS virus. For detection of PRRS replication, the monolayers were fixed using 80% acetone approximately 24 hours post-infection and incubated for approximately 1 hour with

7A

FITC-conjugated monoclonal antibody SDOW17 (Rural Technologies Inc.). This monoclonal antibody is specific for PRRS viral nucleocapsid expressed from open reading frame 7. A Nikon TE 300 inverted fluorescent microscope with a 10x objective was used to photograph a monolayer containing FITC positive cells and a negative control monolayer.

It was confirmed that transfected cells became permissive to both the North American (isolate P129) and European (isolate 96V198) genotypes of PRRSV. Expression of viral genes could be detected in many of the transfected BHK cells, and progeny virus was readily detectable in the supernatant. Control transfections using vector without insert or irrelevant plasmids did not confer permissivity.

Sequencing of the insert in the functional plasmid, using the Big Dye Terminator Version 1.0 Sequence Reaction kit (Applied Biosystems, Foster City, CA) and the Applied Biosystems 3730 DNA Analyzer (Applied Biosystems), revealed a gene that was highly homologous to the published porcine CD163 gene cDNA (Genbank accession number AJ311716). The cDNA we identified contained additional 5' and 3' untranslated regions relative to AJ311716, and the open reading frame differed in three ways: (1) a 738 bp internal deletion near the 5' end, (2) a 15 bp extension of the 5' end to an upstream ATG codon, and (3) sixteen nucleotide changes predicted to cause 10 amino acid changes. Nucleotide sequence identity between the sequences was 99.4%. Alignments of the newly discovered porcine CD163 sequence with the previously reported sequence AJ311716 are shown in figures 1 and 2. The novel porcine CD163 variant was designated "susCD163v1".

SEQUENCE			ID NO
gtaataatca aagaagtttt aatgggcat aaaaacttgg aatggacaaa ctongaatgg	60	SEQ ID NO:5	
tgtataatga aaactotgga totgcagac tgaactgag agtggtagat ggaatcaatg	120		
aatgttcaag aagattggaa gtgaatttc aagggagatg ggaacacata tgtgatgatg	180		
gctgggatag tgatgatgaa gctgtggcat gtaagcaact gggatgtaca aotgotgton	240		
ctgcatttgg toaggttaac gaaagtgagg gaactggaca catttggott gaacgtgttt	300		
cttgcatttgg aacagatct gctctotgga agtgtagac caatgastgg ggaagcatt	360		
attgcacatc taatgaagat gctggtgtga catgttttga tggatcagat ctggaaatga	420		
gaattaaagg tggaggcaga caatgtgctg ggaactgga gttggaatt cagaaactgg	480		
taggaanaat gtgtgatga agtggggac tgaagagga tgatgtgatt tgaaggcaga	540		
tgggtgtgag atctgacata aaacatcat atcagttta ttcaaaacac aaggaaacaa	600		
aaactgggt gtttgtaagc agtgtaatg gaattgaac ttctcttttg gactgacaga	660		
attggcagtg ggttggactt agttgtgata aatagacga agcaaaatt aactgtcag	720		
ccaaaggaac aacaggctg gttgaggag caattcaatg ctatgttgtt gttgaagtac	780		

77

181	SHHSHHSHH SHHSHHSHH SHHSHHSHH SHHSHHSHH SHHSHHSHH	NO:2
182	SHHSHHSHH SHHSHHSHH SHHSHHSHH SHHSHHSHH SHHSHHSHH	
183	SHHSHHSHH SHHSHHSHH SHHSHHSHH SHHSHHSHH SHHSHHSHH	
184	SHHSHHSHH SHHSHHSHH SHHSHHSHH SHHSHHSHH SHHSHHSHH	
185	SHHSHHSHH SHHSHHSHH SHHSHHSHH SHHSHHSHH SHHSHHSHH	
186	SHHSHHSHH SHHSHHSHH SHHSHHSHH SHHSHHSHH SHHSHHSHH	
187	SHHSHHSHH SHHSHHSHH SHHSHHSHH SHHSHHSHH SHHSHHSHH	
188	SHHSHHSHH SHHSHHSHH SHHSHHSHH SHHSHHSHH SHHSHHSHH	
189	SHHSHHSHH SHHSHHSHH SHHSHHSHH SHHSHHSHH SHHSHHSHH	
190	SHHSHHSHH SHHSHHSHH SHHSHHSHH SHHSHHSHH SHHSHHSHH	
191	SHHSHHSHH SHHSHHSHH SHHSHHSHH SHHSHHSHH SHHSHHSHH	
192	SHHSHHSHH SHHSHHSHH SHHSHHSHH SHHSHHSHH SHHSHHSHH	
193	SHHSHHSHH SHHSHHSHH SHHSHHSHH SHHSHHSHH SHHSHHSHH	
194	SHHSHHSHH SHHSHHSHH SHHSHHSHH SHHSHHSHH SHHSHHSHH	
195	SHHSHHSHH SHHSHHSHH SHHSHHSHH SHHSHHSHH SHHSHHSHH	
196	SHHSHHSHH SHHSHHSHH SHHSHHSHH SHHSHHSHH SHHSHHSHH	
197	SHHSHHSHH SHHSHHSHH SHHSHHSHH SHHSHHSHH SHHSHHSHH	
198	SHHSHHSHH SHHSHHSHH SHHSHHSHH SHHSHHSHH SHHSHHSHH	

Example 2: Construction of plasmid pCMV_{vas}CD163v1

Construction of the plasmid pCMV_{vas}CD163v1 was performed as follows. The functional clone identified in the primary porcine macrophage cDNA library as

5 conferring PRRSV permissivity served as template for PCR amplification of the CD163 insert, including the 5' and 3' untranslated regions, using the primers 5'DS-CD163 (SEQ ID NO:6) (5'-CGGAATTCCGCGGATGTAATAATACAAGAAGA-3') and 3'CD163 (SEQ ID NO:7)

(5'CCGCTCGAGTAGTCCAGGTCTTCATCAAGGTATCTT-3'). Primer 5'DS-

10 CD163 incorporates a *SacII* restriction site at the 5' end of the CD163 insert, while primer 3'CD163 incorporates an *XhoI* restriction site at the 3' end of the insert

(underlined). Reactions containing 190ng of plasmid template were amplified using Platinum *Pfx* DNA polymerase (Invitrogen cat # 11708-013) following the

manufacture's instructions. Reactions were heated to 94° for 2 minutes then cycled

15 35 times through 94° for 20 seconds, 55° for 30 seconds, and 68° for 3.5 minutes followed by a terminal extension at 72° for 7 minutes. The resulting PCR products were purified using the Qiaquick PCR purification kit (Qiagen cat # 28104), digested with restriction enzymes *SacII* and *XhoI*, and the resulting fragments were gel purified using the Qiaquick Gel Extraction kit (Qiagen cat # 28704). The CD163 PCR

20 fragment was then ligated into the plasmid pCMV-Script (Stratagene cat # 212220) prepared to accept the digested PCR fragment by digestion with *SacII* and *XhoI* followed by gel purification as described above. The ligated material was transformed into *E. coli* strain DH5α and recombinants were selected by growth in 50μg/ml kanamycin and identified by restriction analysis. The resulting plasmid,

25 "pCMV_{vas}CD163v1", contains the internally deleted porcine CD163 insert described in Example 1 under the transcriptional control of the eukaryotic CMV promoter and

78

the neomycin/kanamycin resistance gene under the control of both eukaryotic and prokaryotic promoters.

Example 3: Construction of the pRSV-Script expression vector and pRSVsusCD163v1

- 5 The plasmid pRc/RSV (Invitrogen) was used as a template for PCR amplification of the RSV promoter. RSV promoter sequence was contained within nucleotides 209 through 604 of pRc/RSV. Forward primer PCIRSVLTR (SEQ ID NO:8) (5'-ACACTCGACATGTCGATGTACGGGCCAGATATAACGCGT-3') and reverse primer VSRRTLSAC (SEQ ID NO: 9)
- 10 (5'TTCCTTACAGAGCTCGAGGTGCACACCAATGTGGTGAA -3') were synthesized. Restriction endonuclease *Pci* I and *Sac* I recognition sites (underlined) were incorporated into the 5' and 3' primers, respectively, for future cloning. PCR was performed using the HotMaster Taq DNA Polymerase kit (Eppendorf) following the manufacturer's instructions. The reactions contained 0.9ng of pRc/RSV plasmid
- 15 template and 0.3μM of each primer described above. The reactions were heated to 94° for 2 minutes then cycled 30 times through 94° for 20 seconds, 52° for 10 seconds, and 65° for 1 minute. The resulting PCR fragment was digested with restriction enzymes *Pci* I and *Sac* I, gel purified, and cloned into the plasmid pCMV-Script (Stratagene) that had been similarly digested to remove the CMV promoter
- 20 sequence. The final construct placed the RSV promoter immediately upstream of the multiple cloning site, and was named "pRSV-Script".

- The susCD163v1 insert was cloned behind the RSV promoter as follows. The susCD163v1 sequence was excised from plasmid pCMVsusCD163v1 by restriction digestion (*Kpn* I and *Sac* II) and gel purified. This fragment was ligated into pRSV-
- 25 Script which had also been digested with the same enzymes and gel purified. The ligation mixture was transformed into DH5α *E. coli* and transformants selected using kanamycin at 50μg/ml. The clone contained the correct insert was designed "pRSVsusCD163v1".

- Example 4: Cloning and characterization of a longer variant of porcine CD163**
- 30 cDNA

Based on the porcine CD163v1 sequence, a forward primer 5'CD163NotIlong (SEQ ID NO:10) (5'CGGTCCGGAGCGGCCGCGATGTAATAATACAAGAAGATTAAATGG-3') and a reverse primer 3'CD163KpnI (SEQ ID NO:11)

(5'-CGGTTGGTACCCAGCAATATTCCTTTTATTTAATGCC-3') were designed using the Lasergene PrimerSelect program (DNASTAR Inc., Madison WI) for amplification of a full-length porcine CD163 gene. Restriction endonuclease sites for *Not* I and *Kpn* I (underlined) were included in 5' and 3' primers, respectively, to allow for convenient cloning. Total cellular RNA was prepared from primary alveolar macrophages (PAM) harvested from lung lavages of healthy pigs. RNA preparation was done using the RNeasy mini kit (Qiagen, Valencia, CA). RT-PCR reactions were prepared using the SuperScript one-step RT-PCR for Long Templates kit (Invitrogen, Carlsbad, CA) and RT-PCR parameters were set as follows: 50°C for 30 min, 94°C for 2 min, (94°C 30 sec, 55°C 30 sec and 68°C 4 min) for 35 cycles, 72°C for 10 min. PCR products were analyzed on 0.8% SeaKem GTG agarose gels. RT-PCR products of various sizes were cut from agarose gels and DNA was extracted using the GeneClean kit (QBiogene). These RT-PCR products were cloned into the pCR2.1-TOPO cloning vector (Invitrogen). Clones were analyzed by restriction enzyme digestion for the presence of an insert. Colonies containing inserts were sequenced using Big Dye Terminator Version 1.0 Sequence Reaction kit (Applied Biosystems, Foster City, CA) and Applied Biosystems 3730 DNA Analyzer (Applied Biosystems) to confirm sequence authenticity. Sequences were edited and assembled using the Lasergene EditSeq and SeqMan programs (DNASTAR Inc., Madison WI). One plasmid with a large insert was designated "pCRsusCD163v2" (pCR2.1 containing porcine CD163 variant 2 which we have designated SEQ ID NO:12). The coding sequence contained within SEQ ID NO:12 is reproduced below and is designated SEQ ID NO:13. Sequence analysis showed that this porcine CD163 encodes an amino acid sequence of 1115 amino acids which we have designated SEQ ID NO:14. When compared to the porcine CD163 sequence in GenBank (Accession No. AJ311716), our CD163v2 sequence is 98.9% identical at the amino acid level. CD163v2 also has an additional 5 amino acid residues at the extreme 5' end, extending the open reading frame to an in-frame upstream ATG initiation codon (as in the porcine CD163v1 sequence described in example 1). Porcine CD163 is 84.3% identical to human CD163 (GenBank Accession No. Z22968), and 73.7% identical to mouse CD163 (GenBank Accession No. AF274883) at the amino acid level. The predicted signal sequence and transmembrane region of SEQ ID NO:14 are indicated by underlining

86

and holding respectively. To determine whether other CD163 sequences contain similar sequence features is easily determined by inspection of the sequence.

SEQUENCE			ID NO
gtantatca aagaagattt aattggcata amoottggc atggacaaa taaataggt	60	SEQ ID NO:12	
gotaatgaa aactatggat ctgaagattt taaaagatgt totgaacatt taagttaatt	120		
caattttgat gtagtagatg ttatongtgc ctgattggta aatagttata ctggaggaaa	180		
agacaggag ctgaggatca cgggtggta amcaagtcg tatggagag tggagtgaa	240		
agtgaagag gaggaggaa ctgtgtgtaa taatggatgg gaattggatg tggatctgtg	300		
tgtttgtag cagatggat gtcaaatgc tatcaagac aatggatgg ctattttag	360		
tgaagttct gaaagattt ggtggatca tgtttttgt cgaaggatg agtongtat	420		
ctgggaatgc aaactgatg gatgggaaa gataaatgt acaaacaaa aggatgatg	480		
agtaaatgc taagatggat ctgatttga gatggggtg gtgaatggg gaaacgggtg	540		
cttaggaaga atagaagta aatttaagg aggtgggga aagtgtgtg atgataatt	600		
caactaaat atgtttctg tggtttgta aaacttgaa tgtggagtg ctgtatgtt	660		
ctatggtaa gataatttg gagaagttc tggacatac tggtttgat abotttatg	720		
caatggaaat ggtatagtc tatggaaatg caaatgaa ggtgggga agcaaatg	780		
cgatctgtg gggatgtg ggtgatttg attaatgga gaaatctga aatgagatg	840		
gtagatgga gtaactgat gttaaggag attggagtg aattcaag gagaatggg	900		
aaactatgt gatgatggt gggatagta tgaagcgtg gtgaatgta agaaatggg	960		
atgaacaaat gttgtaatg caattggag agttaagac agtgaaggaa ctggacaaat	1020		
ttagcttga agtgtttct gaaatggaa agatctgtg ctatggagt gtagaaca	1080		
tgaatggga aagatttat gaaatctga tgaatgtg ggtgtgaat gttatgatg	1140		
atagatctg gaattgaga ttaaggttg aggaagcaa tgtgtgga agtggaggt	1200		
ggaattcag aaactgtg gaaagtgtg tgaagaga tgggaatga aagaatgga	1260		
tgtgtttg aggaatgtg gatgtgata tgaatcaa aatattata agttttata	1320		
caaaacaa gaaacaaa atgtgtgtt tgaagaga tgaatgga atgaatctc	1380		
tatttggga tgaagaaat ggaatggg tgaattagt tgtgaat atgaagaga	1440		
caaatatac tgaagaaa aaggaacac aggtgtgtt ggaaggaa ttaattgta	1500		
tgtgtgtt gaataaaa atgaagaa gtgggaaa gtgtgtat ctgaattata	1560		
tatggagg gaaagctga tgtgagga aatagatg gaaatgtg tttaattat	1620		
ggaagagat caattttag aaggaatg aagatctg gtaagaaat taagtgtg	1680		
gggaagag taacaaatt caatctgaa agtaagaaa agaatgag ggaatgtg	1740		
caagagagg gaatggag tagtctgtc aagtaaaa caaatcgt tggtaatg	1800		
caagacaaa tgaagaaa ggtgagat caaatattt ggttaatg gtaaatctg	1860		
caactatac tggaaatg aagatgaaa tttttatg aagaatgta aatgtggat	1920		
tgaatttt atcaaggag gaaacattt tggaaagg agtgaagag tatggagaa	1980		
atgtttta tgaatgga ctgaagaa atggagat ttttaagta atgtatgg	2040		
agaaatac tgtttctag ggaatggg ctatgata tgaagaaa aagaatgta	2100		
gaactatat cgtgaatt caatatac ggaacata agtatatta tttaagaa	2160		
aaatgtgt gctgaatg ggaatgta atctgagt gtaatggg gtaatgtg	2220		
tgaagaaa atgaatgt ataatgag ctatgaaa aactatgt atgaatgt	2280		

81

ggacotgaat gatgacatg tgggtgana aagatgaga tgggtatggg aattantga 2340	
aatgtgtttot gatatttttg gggaggaad agggacatt tgggtatgag agtanaatg 2400	
taattganaa gattotonta ttgggaatg aattatant ggttggggg ggaacattg 2460	
caggatag gaggtgag gagtatatg atagagttt atgtatata gattgatag 2520	
tgaanaaga agagagat gtgagggag atggaggtt ttttaaaag gatttggg 2580	
caggttggg agaataga tgtataaga aagatggg gtgtatga ggaatggg 2640	
atgtgagag agaggggaa tangaatga atattagag aagaggtt caggacatt 2700	
gtgggtgga atgttgaat gtataaag aattgaaa atattgagt gacatata 2760	
tattggag agagatgg aagacatt agaggaag ttgtacatt gtgacaaa 2820	
aatagatt aagagga aattattt ttatgaat gtggagat gtaagggg 2880	
ttatgggg atgtgtgt agaatatg ggaattga gatgatag tgggtgag 2940	
aagatggg tgggtatg atttgggg aggaagag ggaattt ggaagggg 3000	
tgggaata ttgtatag aatgaatg aaggggaat gaaacatt tgggtatt 3060	
tattgaga tattgggg aagatgag tgggaag gaggtatg atgtatag 3120	
ataggaat gaaagag gagatatt aattgaaa gttatatt atttgttg 3180	
aattgaaa ttgggtga ttatgttg atgtatata gattatata ttgggaat 3240	
gaagaga agaggaag ggtatatt ttatagga ggaagatt atgtatata 3300	
aattatag agaggaat attttgaat gaaagat gaaagata ttatata 3360	
ataggaag atgtatag taattgaa aggaatgg gattatag atgtatag 3420	
cagattta gatattga tgaagatg gattatga tgaagaa totgatt 3480	
aattgaga ttatata gtattatg tattgtat aagagat atgtatag 3540	
tattgaat agttatga atgtatag taattgt atgtatag ttatagga 3600	
taattaaa agattatg atg 3660	
1 N D E L R N V L E E N S G S A D F R R C	SEQ ID NO:13 and14
1 atggcaaatatgaggtgtatgacatgaaactctgggtatgagacttttagaggt	
21 S A E L S E F T F A V V A V L S A C L V	
41 T S S L G G X D K E L E L T G G E E K C	
121 atagtttatttggggaaagaaagagaggtgaggtataggggtggaacaggtg	
61 S G R V N V E V Q E E W G T V C E N G W	
181 tttgagaggtgaggtgaaagtgaagggaggtgaggaactgtgtatantatggtg	
81 D N D V V S V V C R Q L G C P T A I K A	
241 gaactgt	
101 T G W A N F S A G S G R I W N D E V S C	
301 atgtatgaggtatatttttagtgaaggtttatgaaggttttagatgaggtatgtgtgt	
121 R G E E S A L W D C E H D G W G K E E C	
361 aggggaatgagtcaggtttatgaggtgaaactgaggtgaggtgaggtgaggtgaggt	
141 T H Q Q D A G V T C S D G S D L E N G L	
421 actonaaacaggtgtgtgagtaaatgtatgaggtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgt	
161 V H G G E R C L G R I E V E F Q G R W G	
481 gtgaatgaggaacaggtgtgttaggaagatgaggtgaacttttgaagaggtgagga	
181 T V C D D N F N I N E A S V V C K Q L E	
541 aaggt	
201 C G S A V S F S G S A N F G E G S G P I	
601 tttgaggt	
221 W F D D L V C E E E S A L W H C K E E	
661 tttgt	
341 G W G E E E C D E A E D A G V I C L N G	
721 ggtatggaagaaacattggtatgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgt	
261 A D L K L R V V D G V T E C S G R L E V	
781 ggaacatgaactgaggt	
381 E F Q G E W G T I C D D G W D S D D A A	
841 aaattcaggaagatgaggaacattgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgt	
401 V A C K Q L G C P T A V T A I G R V N A	
901 gt	
421 S E G T G E I W L D S V S C E G K E S A	
961 atgt	

101	TOBETPBAH	QUTVWVVC	KHMMALMFC	SHDQWJMC	THQDQWVC
151	EDGDLGHL	WQOQCLAR	LEVQFQHS	TVCLMRLH	HAQVWCHL
201	QWQVTPHS	AMHQAQPT	WFLQVCHW	SHALMCHH	QWQWCHH
251	HDQVWCLH	ADQLAYVS	VTHCMHLY	THQWQWTC	LDQWQWHA
301	VACQCLQPT	AVQLAYWA	SHQWQWLD	SVQWQHHA	LQWQHCHH
351	KHCHQWHA	QVQWQHHL	HLAQWQH	CHQVWVHQ	KLQWVQCH
401	WHLQWVVC	HLQWQHAK	TQWVTHHX	AMHQLAVS	QWQHWHLD
451	CHQWQHLS	CHQWQWKT	CHQWQHLY	QWQLCHQV	QWQHCHWT
501	VQWQHHLA	AMVCHHLQ	QVWQHHLA	SHQWQHLY	AMHQAQHS
551	SHLQCPWA	HDQWCHHA	DQWVCHHT	QWLVCHHT	CHQVWCHL
601	QWQHCHHL	WQWQHVLQ	QQLQWVLS	THQWQHVS	SHQWQHCH
651	CHQWQHCH	QVQLQWAL	CHQWQHLY	CHQWQHLY	THQWQHCH
701	SHQWQHLY	ACTQWQHLY	VQWQHCHH	VQWQHCHH	THQWQHCH
751	DAQVWCHL	QWQHLYVS	AMHQAQPT	WFLQVCHW	SHQWQHCH
801	QWQHCHHL	HDQVWCHH	WHLQWVLS	KHCHQWHA	THQWQHCH
851	SHQWQHLY	VQWQHCHH	WHLQWVLS	SHQWQHCH	THQWQHCH
901	LQWQHCHH	HLQWQHCH	KHCHQWHA	CHQWQHCH	VQWQHCHH
951	TVQWQHCH	DQWVWCHL	QWQHCHHL	AMHQAQPT	WHLQWVLS
1001	SHQWQHCH	SHQWQHCH	HDQVWCHH	AMHQAQPT	CHQWQHCH
1051	THQWQHCH	AMHQAQPT	QWQHCHHL	CHQWQHCH	THQWQHCH
1101	SHQWQHCH	SHQWQHCH	SHQWQHCH	SHQWQHCH	SHQWQHCH

Sus CD163 v2 in pCRsusCD163v2 was liberated from pCR2.1 vector after restriction enzymes *Kpn* I and *Not* I digestion and gel purification. Recipient vector pCMV-script was also cut with the same restriction enzyme pair and allowed for directional cloning of susCD163v2 into the pCMV-script. After ligation of susCD163 v2 with pCMV-script, the ligated mixture was used to transform STBL 2 *E. coli* cells (Invitrogen). One transformant was found to contain the CD163 gene by restriction enzyme digestion analysis and was designed pCMV-script susCD163v2 clone#3.

Example 5: Preparation of a RSV promoter based expression system by direct transfection and transfection method.

10 A non-cloning based procedure to generate microgram quantities of linear DNA suitable for use in generating stable cell lines expressing CD163 from an RSV promoter was developed (figure 4). The procedure involves the isolation and ligation of two pieces of DNA, one containing the neomycin gene and RSV promoter cassette
15 derived from pRSV-script, and the other containing the susCD163v2 coding sequence from pCMVsusCD163v2. Vector plasmid pRSV-Script was linearized with *DraIII* upstream of the neomycin gene, and bunted with the Klenow fragment of *E. coli* DNA polymerase. This plasmid was then digested with *NcoI* immediately downstream of the RSV promoter. The pCMVsusCD163v2 clone was digested in the vector
20 sequence downstream of the CD163 insert with *DraII*, and blunted with Klenow fragment of DNA polymerase. The CD163 coding sequence was liberated from the vector with a *NcoI* located immediately upstream of the CD163 coding sequence. For each plasmid digestion the appropriate fragments were purified from agarose gels. A large-scale ligation reaction was performed as follows. Approximately 20 μ g of each

24

DNA fragment was incubated in a volume of 600 μ L with 15 units of T4 DNA ligase. The reaction was incubated at room temperature for 20 minutes, at which time an aliquot was removed and the reaction frozen on dry ice. Agarose gel analysis of the aliquot revealed that a significant amount of non-ligated DNA remained, so another 15 units of ligase was added and incubated for another 10 minutes at room temperature. Following ligation, a linear piece of DNA containing all of the appropriate elements was purified by agarose gel electrophoresis. Ligation of the two DNA fragments via the cohesive *Not* I termini resulted in the placement of the 5' sequences of the CD163 gene downstream of the RSV promoter, allowing for directed expression of CD163 in mammalian cells. Once isolated, the purified DNA was used to transfect various mammalian cell lines.

Example 6: Cloning and characterization of human CD163 cDNA

Based on a known human CD163 cDNA sequence (GenBank Accession No. BC051281), a forward primer Hu3'*Not* (SEQ ID NO: 15) (5'-CACCGGCGCGCGGAAGTTATAAATGCCACCATGAGCAAACCTCAGAATGG-3') and a reverse primer Hu3'*Kpn* (SEQ ID NO: 16) (5'-TGCTCCGGTACCTAGTCCAGGTCTTCATCAAGGTATCTTA-3') were designed using the PrimerSelect program. Restriction sites for *Not*I and *Kpn*I (underlined) were incorporated into the 5' and 3' primers, respectively, to facilitate cloning into expression vectors. The sequence CACC was added to the 5' end of the 5' primer to allow directional cloning into the pCDNA3.1D/V5/His/TOPO vector (Cat. No. K49001, Invitrogen, see figure 6). Human CD163 cDNAs were amplified from RNA extracted from the U937 cell line after stimulated with phorbol 12-myristate 13-acetate (100ng/ml) for 3 days. Total cellular RNA was prepared using the RNeasy kit (Qiagen). RT-PCR reactions and sequencing methods were the same as described in Example 4. PCR products were separated on 0.8% SeaKem agarose gel and extracted from the gel using the GeneClean kit. PCR products were cloned directionally into the pCDNA3.1D/V5/His/TOPO vector following the manufacturer's instructions. Two clones with large inserts were sequenced. Sequencing and sequence analysis methods were described in Example 4. A clone with a correct insert was designed "pcDNA3.1D-humCD163v2" and we have designated the sequence of the insert SEQ ID NO: 17

The CD163 open reading frame in pCDNA3.1D-humCD163v2 is 1121 residues in length (designated SEQ ID NO: 18 which encodes SEQ ID NO:19 disclosed below), and is 100% identical to Genbank Z22968 (a human CD163 cDNA of the same length). Our human CD163v2 sequence is also 100% identical to

5 Genbank BC051281 and Z22969 (splice variants of human CD163) except that 42 nonhomologous residues in the two Genbank sequences replace the seven carboxy-terminal residues of our sequence. This difference is due to the presence of an 83-nucleotide exon in BC051281 and Z22969, and the resulting frame shift at the 3' end of the exon. (Law, S.K., Micklem, K.J., Shaw, J.M., Zhang, X.P., Dong, Y., Willis,

10 A.C. and Mason, D.Y. (1993) A new macrophage differentiation antigen which is a member of the scavenger receptor superfamily. European Journal of Immunology 23 (9), 2320-2325).

SEQUENCE	ID NO
atgagcaaac tggatgggt gatacttga gactotgat ctgctgactt cagagcaact 60	SEQ ID NO:17
ttttgcaaac tggatcactt caacttact gtgtcttac ttctongtga ctgttttga 120	
aactgttctt ttggaggaa agcaaggag ctgaggtag tggatgtga aaacaggtg 180	
agggggag ttgaagtga agtcaggag ggtgggaa cgtgtgtga taatggotg 240	
agctggag cgtctctgt gatttgtaa cagtgggt gtccactga tatcaagaa 300	
actggatgg ctattccag tgaagttat ggaagattt ggtggatga tgtttctgt 360	
ctggagatg agtcgtctt ttggattgc aaactgatg gatgggaa gactgttaa 420	
tgtactaac acaagatga ttggtgaa tctongatg gatcaattt ggaatgag 480	
ctgaagatg gaggatct gtgtctga agatagaa caattcaa aggaagttg 540	
ggaagatgt gtgtgtga ctcaacta gactgtgat ctgtatttg tagcaactt 600	
gaatgtgaa gtgtgtgag ttctctgtt taatctaat ttggagagg ctatggaaa 660	
atctgtttg atgtcttat agcaagga atgagtgag ctctctgaa ctgaacat 720	
caaggtatg gaagctaa ctgtgaact gtaggagt ctgagtgat ttgtcaag 780	
ggagagatc tgaagtag actgtgat ggtgactg atgtttag agattaga 840	
gtgacttca agggagatg gggcaacta tgtgtgag gtagggag ttacatgat 900	
gtgtgtgat gaagcaact gggatgtaa actgactga cagacttgg taggttaa 960	
gacgttagg gatttgaa catctggtt gaaggttt ctgcaagg aatgaact 1020	
gtgtctgga aatgaaca catgattg ggaagctt ctgcaact caatgaat 1080	
gtgtctgga catgtctga ttgtcagat ctgagctaa gactagag ttgaggag 1140	
cgctgtgtg ggaagttga ggtggagct cagagctgt tgggaagt gtgtgaag 1200	
ggtgggaa tgaagaga tcatgtgt tgaaggcag tggatgtg atctgaact 1260	
aaactctt atcaagtga ctcaactc aggaacaa caactggt gttctaat 1320	
agctgaag gaactgaac ttctcttgg gactgaag actggagt agtggact 1380	
actgtgat actagaga agcaactt actgttag ccaaggga aacagactg 1440	
gttgaggag aattcact ttctgagt gtgaagtga agctgtga actgagg 1500	
tcatctgt attgactt ctctctga gctgagg ttctatgag caattacg 1560	

361	D	D	A	A	Q	V	V	C	Q	Q	L	C	G	P	A	L	K	A	V	F	X
3681	g	a	e	t	a	t	a	t	a	t	a	t	a	t	a	t	a	t	a	t	a
981	Z	A	N	F	C	Q	Q	T	C	P	I	W	L	N	V	I	C	K	C		
3641	g	a	e	a	t	a	t	a	t	a	t	a	t	a	t	a	t	a	t	a	
1001	N	S	S	L	N	D	C	P	A	R	R	W	G	E	S	E	C	G			
3001	a	n	t	a	t	a	t	a	t	a	t	a	t	a	t	a	t	a	t	a	
1021	X	E	D	A	A	V	E	C	T	D	I	S	V	O	R	T	P	O	K	A	
3061	a	n	a	n	a	n	a	n	a	n	a	n	a	n	a	n	a	n	a	n	
1041	T	T	C	E	S	S	R	Q	S	S	F	I	A	V	G	I	L	G	V		
3111	a	n	a	n	a	n	a	n	a	n	a	n	a	n	a	n	a	n	a	n	
1061	L	A	L	A	L	V	V	L	V	F	L	T	E	R	R	Q	R				
3181	e	t	a	t	a	t	a	t	a	t	a	t	a	t	a	t	a	t	a	t	
1081	L	A	V	S	S	R	G	N	N	L	V	E	Q	I	Q	T	E	N			
3241	e	t	a	t	a	t	a	t	a	t	a	t	a	t	a	t	a	t	a	t	
1101	S	C	L	N	A	D	D	L	D	L	N	S	S	G	E	S	F				
3261	t	a	t	a	t	a	t	a	t	a	t	a	t	a	t	a	t	a	t	a	
1121	X																				
3281	o	n	e																		

1	HELENAVILLE	DELAWARE	WILLIAMSVILLE	WILLIAMSVILLE	WILLIAMSVILLE
81	LEWISVILLE	DELAWARE	WILLIAMSVILLE	WILLIAMSVILLE	WILLIAMSVILLE
161	LEWISVILLE	DELAWARE	WILLIAMSVILLE	WILLIAMSVILLE	WILLIAMSVILLE
241	LEWISVILLE	DELAWARE	WILLIAMSVILLE	WILLIAMSVILLE	WILLIAMSVILLE
321	LEWISVILLE	DELAWARE	WILLIAMSVILLE	WILLIAMSVILLE	WILLIAMSVILLE
401	LEWISVILLE	DELAWARE	WILLIAMSVILLE	WILLIAMSVILLE	WILLIAMSVILLE
481	LEWISVILLE	DELAWARE	WILLIAMSVILLE	WILLIAMSVILLE	WILLIAMSVILLE
561	LEWISVILLE	DELAWARE	WILLIAMSVILLE	WILLIAMSVILLE	WILLIAMSVILLE
641	LEWISVILLE	DELAWARE	WILLIAMSVILLE	WILLIAMSVILLE	WILLIAMSVILLE
721	LEWISVILLE	DELAWARE	WILLIAMSVILLE	WILLIAMSVILLE	WILLIAMSVILLE
801	LEWISVILLE	DELAWARE	WILLIAMSVILLE	WILLIAMSVILLE	WILLIAMSVILLE
881	LEWISVILLE	DELAWARE	WILLIAMSVILLE	WILLIAMSVILLE	WILLIAMSVILLE
961	LEWISVILLE	DELAWARE	WILLIAMSVILLE	WILLIAMSVILLE	WILLIAMSVILLE
1041	LEWISVILLE	DELAWARE	WILLIAMSVILLE	WILLIAMSVILLE	WILLIAMSVILLE
1121	LEWISVILLE	DELAWARE	WILLIAMSVILLE	WILLIAMSVILLE	WILLIAMSVILLE

SEQ ID
NO:19

Example 7: Cloning and characterization of murine CD163

Based on the murine CD163 sequence in GenBank (AF274883), a forward primer Mns-new5' (SEQ ID NO: 20) (5'-

5 CACCGCGGCGCCACACGGAGCCATCAAAATCATCAA-3') and a reverse primer Mns-new3' (SEQ ID NO:21) (5'-GGTACCGCGAACAAGCAAACCAATAGCAATATTGTTTAATTCCCTC-3') were designed using the PrimerSelect program. Restriction endonuclease sites for *NofI* and *KpnI* were included in 5' and 3' primers, respectively, to allow future cloning into other expression vectors. Mouse peritoneal macrophages were harvested from mice 2 days after injecting thioglycollate medium into the peritoneal cavity. Total cellular RNA was prepared from peritoneal macrophages using the RNeasy kit. RT-PCR reactions and RT-PCR parameters were the same as described in Example 4, except the annealing temperature was increased to 60°C and extension temperature increased to 72°C. The PCR product was purified on a 0.8% SeaKem agarose gel and directionally cloned into pCDNA3.1D/V5/His/TOPO according to the manufacturer's instructions. Several

97

89

clones with large inserts were identified for further analysis. A plasmid containing an insert (SEQ ID NO: 22) with a murine CD163 that encodes a protein of the same length as (1121 amino acids SEQ ID NO:24) and differs from Genbank AF274883 by only two amino acids (99.8% identity) was designated "pCDNA3.1D-murCD163v2".

- 5 Another plasmid, "pCDNA3.1D-murCD163v3 was generated which contained an insert (SEQ ID NO: 25) containing a murine CD163 coding sequence (SEQ ID NO: 26) which encodes a protein of 1159 amino acids in length (SEQ ID NO: 27). It differs from AF274883 by only 3 amino acids within the first 1107 residues (99.7% identity), but the sequences diverge completely beginning at residue 1108. This is due to an
- 10 insertion of 82 nucleotides in the cDNA, and a concomitant shift in reading frame downstream of the insertion. As a result, murine CD163v3 contains 52 amino acids at its carboxy-terminus that are not homologous to the 14 carboxy-terminal residues of murine CD163v2. These two alternative versions of "full length" murine CD163 are most likely splice variant of the same gene, as has been described for human CD163
- 15 (Law, S.K., Micklem, K.J., Shaw, J.M., Zhang, X.P., Dong, Y., Willis, A.C. and Mason, D.Y. (1993) A new macrophage differentiation antigen which is a member of the scavenger receptor superfamily. European Journal of Immunology 23 (9), 2320-2325).

SEQUENCE	ID NO
gotttggant ggttggacaa agaatggttc ttottggagg tgotggatct catggttcta 60	SEQ ID NO:22
aaaggtttgt catotaggt ttotttgttg tgotgtgag ctactttct agtguctctg 120	
ctgtactaa cgtcttga gaattgaa agaatgag actgggggt gttgaaaca 180	
actgtagtgg gaggtgga cttaagatcc atgaaagtg gggaaagtg tgggtaaag 240	
gctggagct gattgaagt togtgtttt gaaagagct ggtatgaaa acttctatta 300	
aaagccttgg atgggtaaa tccagagag gttttgata tatctggtg gaaagttt 360	
cttgtacagg gattggtca gtttttggg actgaaaca tgaagggtg gaaagata 420	
actgtacaa taaaaagt gttgggtga cttgtcaga tgggttaat ttgagatga 480	
gattgtgaa cgtgagga caagatgtt taggaaggt agaaataag ttccaggga 540	
agtggggac ggtgtgtac gaaacttca gaagatcc opotttgtg attgtaaa 600	
agotttgat tgaagtga attagttct ctggctcgc taatttggg gttgtttct 660	
gaactatct gttgtgac ctgggtgca atggaatga gtaagatcc tgggaatga 720	
aaacagggg atgggtcag cataatgtg aaatgtga ggtgttgtt gttattgt 780	
taggggag agtttgtga ctgagctag tgggtgggt gtacaggtt tgggaagt 840	
tgaagtga attcaaga gattggga cgtgtgtga tgaacttg gttctcgg 900	
atgttttgt ggtgtgaa caactggat gtcaactga catcagttc attgttag 960	
ttatgcag tgggtgtt ggaagttt gtttgaaa catttcctg gaaggaatg 1020	
aggaaact ttgggtgt aaacaaa agtgggaaa gattactgt actatagag 1080	
aaagatct cttactgt tctgtgag agttctaa attgaatt ctactgag 1140	

42

90

gagtgatg	tgatggatt	gtggagtg	agattagaa	gatgatgg	agatgtga	1200
gagggatg	gagatgga	gatggatg	tggtttgag	agatgtga	tgatgtatg	1260
agattagaa	agggatag	atataatga	aatggagg	aaatagag	tgatgtatg	1320
atggatgtg	tatggagat	gagatatt	ttggagag	aaatagag	agatggag	1380
gagttatg	tgatattg	gagagagat	agttatgt	atagggag	agggagag	1440
gagttatg	agggagag	aatgtatg	gtatgtga	agtgagag	ggagagatg	1500
ggggatag	atgtattt	gattgtat	tgagagat	agtgatg	tgagggag	1560
tatgtatg	agatgtat	tatatatg	ggggagag	ttttgag	ggagtgag	1620
agatgtgg	tgagagat	agtgatg	ggatgtat	aatattat	atgtatg	1680
tgagggag	gatagag	atgtatg	agagag	tgatgtat	gtatgtat	1740
gatagatg	tattgtat	gagggag	agttatgt	tgagggag	gtatgtat	1800
agagatg	agatggat	aatatgt	gttatgt	ggagag	gatgtatg	1860
tattgtat	gagatgag	tgatggat	aatatgt	tatagag	gagattt	1920
ggagggag	tgatgtat	tgatagat	tgatagat	aatatgt	ggagagat	1980
tgagggat	aatatgt	gatgtat	agagag	tgatagat	ggatggat	2040
atgtatgt	atagggag	aatatgt	aatatgt	atgtatgt	ttgtatgt	2100
tatagag	agatgtat	atagag	agatgtat	tatgtat	gagatgg	2160
agatgtat	ggatgtat	ggatgtat	ggatgtat	agatgtat	tatagag	2220
gatgtatg	aatatgt	gatgtat	ggatgtat	tgatgtat	gtatgtat	2280
agatgtat	atgtatgt	gagatgt	aatatgt	tgatgtat	ggagag	2340
agatgtat	atgtatgt	gagatgt	aatatgt	atgtatgt	atgtatgt	2400
gagatgtat	tgatgtat	agatgtat	gagatgtat	atgtatgt	atgtatgt	2460
gagatgtat	atgtatgt	agatgtat	gagatgtat	atgtatgt	atgtatgt	2520
gagatgtat	atgtatgt	agatgtat	gagatgtat	atgtatgt	atgtatgt	2580
gagatgtat	atgtatgt	agatgtat	gagatgtat	atgtatgt	atgtatgt	2640
gagatgtat	atgtatgt	agatgtat	gagatgtat	atgtatgt	atgtatgt	2700
gagatgtat	atgtatgt	agatgtat	gagatgtat	atgtatgt	atgtatgt	2760
gagatgtat	atgtatgt	agatgtat	gagatgtat	atgtatgt	atgtatgt	2820
gagatgtat	atgtatgt	agatgtat	gagatgtat	atgtatgt	atgtatgt	2880
gagatgtat	atgtatgt	agatgtat	gagatgtat	atgtatgt	atgtatgt	2940
gagatgtat	atgtatgt	agatgtat	gagatgtat	atgtatgt	atgtatgt	3000
gagatgtat	atgtatgt	agatgtat	gagatgtat	atgtatgt	atgtatgt	3060
gagatgtat	atgtatgt	agatgtat	gagatgtat	atgtatgt	atgtatgt	3120
gagatgtat	atgtatgt	agatgtat	gagatgtat	atgtatgt	atgtatgt	3180
gagatgtat	atgtatgt	agatgtat	gagatgtat	atgtatgt	atgtatgt	3240
gagatgtat	atgtatgt	agatgtat	gagatgtat	atgtatgt	atgtatgt	3300
gagatgtat	atgtatgt	agatgtat	gagatgtat	atgtatgt	atgtatgt	3360
gagatgtat	atgtatgt	agatgtat	gagatgtat	atgtatgt	atgtatgt	3420
gagatgtat	atgtatgt	agatgtat	gagatgtat	atgtatgt	atgtatgt	3480
gagatgtat	atgtatgt	agatgtat	gagatgtat	atgtatgt	atgtatgt	3540
gagatgtat	atgtatgt	agatgtat	gagatgtat	atgtatgt	atgtatgt	3600

48.

46

Example 8: Cloning and characterization of MARC-145 CD163

A forward primer 5'similarCD163 (SEQ ID NO: 28) (5'-

CACCGGAATGAGCAAACCTCAGAATGG-3' based on human CD163) and a reverse

5 primer HsCD163-3'Kpn (SEQ ID NO:29) (5'-

TGCTCCGGTACCTAGTCCAGGTCCTTCATCAAGGTATCTTA-3') were used to

amplify CD163 cDNA from MARC-145 African Green Monkey kidney cells. Total

cellular RNA was prepared from MARC-145 cells using the RNeasy kit. RT-PCR

parameters were the same as described in Example 4. RT-PCR products were cloned

10 directionally into the pCDNA3.1D/V5/His/TOPO vector according to the

manufacturer's instruction. Several clones containing large inserts were analyzed.

Clone #25 was designated "pCDNA3.1D-MARC-CD163v2". This novel CD163

cDNA from MARC-145 cells is 1116 amino acids in length. When compared to the

sequences in GenBank database, the MARC-145 CD163 amino acid sequence is 96.3%

15 identical to human CD163 (Genbank Z22968), 84.7% identical to pig CD163 (Genbank

AJ311716), and 73.9% identical to mouse CD163 (Genbank AF274883).

SEQUENCE	ID NO
atggcgaaac tggagatggt gctacttgaa gactctggt atgtgaggt cagagacgt 60	SEQ ID NO: 30
tttgttaact tggatgactt caatattggt gtggtcttac ttctcagtc ctgttttgtc 120	
accagttctt ttggaggaac aaccaggag ctgaggttag tggatggtga aaccagtggt 180	
agtggagag tggagtgaa aaccaggag gctggagaa cgtgtgtga taatgggtgg 240	
agcatggag cagtcttgtt gttttgtaa cagtgggtt gtcaactga tatcaagaa 300	
actggatgg caatttcag tggagttct ggcagcttt ggtgagtaa tgtttcttgt 360	
cgtggagtg agtctgtct ttggagctg aacatggtg gatggagaa gctagttaa 420	
tgtactaac aaccagtggt tggagtgat tggcagtg gatcagattt ggaatggag 480	
ctgacagtg gaggagat gtgtcttgga agatagaga taaattcca agcagctgg 540	
ggaaagtggt gtgtgttaa ottcaactc aatctgact ctgtgtttt taacaactt 600	
gactgtgaa gtgtgttag ttctcttgt tggatgact ttggagagg ctctggagaa 660	
atctgtttt gtgtcttat atgcaaggg aatgagtag ctctctgaa ctgcaactt 720	
caaggatgg gaaagctaa ctgtgtctt gctggagtg ctggagtgat ttgtctaa 780	
ggagcagtc tggagtgag aatgtgagt ggtctctg atgtctcag agatttaga 840	
gtgagttcc aaggagatg gggagcact tgtgtgag gctggagag taatgtgtgt 900	
gctgtggat gaaagcaat ggtgtgtaa actgtatca cagcatttg tagagttac 960	
gcaagttag gttttgaa caatctggtt gcaagtgtt ctgcaaggg aatgaactt 1020	
gggtctgga atgttaaaa caatgagtg ggaagctt attgcaact caatgaagt 1080	
gctggagta atgttttga tggatcagt atgagctaa gatttagag tggagagag 1140	
cgtgtgtg ggaagctga ggtggagatt cagagctgt taggaaggt gtgtgaga 1200	
ggtggagag tgaagagag tgtgtggtt tgcaggaga tggatgtg atctgactc 1260	

[illegible]

Example 9. Cloning and characterization of simian CD163 from Vero cells.

A forward primer 5' similar CD163 (SBQ ID NO: 28) (5'-

CACCGGAATGAGCAAACCTCAGAATGG-3' based on human CD163) and a reverse primer HsCD163-3'Kpn (SBQ ID NO:29) (5'-

5 TGCTCCGGTACCTAGTCCAGGTCTTCATCAAGGTATCTTA-3') were used to amplify CD163 cDNA from Vero cells. Total cellular RNA was prepared from Vero cells using the RNeasy kit. RT-PCR parameters were the same as described in Example 4. RT-PCR products were cloned directionally into the pCDNA3.1D/V5/His/TOPO vector according to the manufacturer's instruction. Eight clones containing large inserts were sequenced, and six discreet splicing patterns were found. These patterns are depicted graphically in Figure 17.

The six splicing variants differ in the presence or absence of three exons, designated E6, E105, and E83. Omissions of E6 or E105 do not change the reading

107

105

241 Q S W G E H H C D H A N D A N V I C E E
 721 C A G G E T G G A A M C A A C T G T G T C A G T C T G A G G E C T G A G T G A T T G C T C A A M
 261 G A D L S L R L V D G V T E C S R L E
 781 G G G C M G T C T G G C T G A G T G T G H A G G A T C T C T A A T T T C M G A A T T A G A
 281 V R F Q S E W G T I C D D G W D S E D A
 841 G T G A T T C A G G A A T G G G A C A T T G T G T G A C C T G G A C T C A G T C T G A T C T
 301 A V A C K Q L G C F T A I T A I G R V H
 901 G C T G T G C T G C A A C A C T G G T G C A C T C T A F C C C C A T T G T G C T T A C
 321 A S E G F G H I W L D S V E C Q S E E P
 961 G C C M T G A G G A T T G A C C A C T G C T G A C M T T T C T G C C A G G A C S A A C T
 341 A V W Q C E H H H W G K H Y C H E E E D
 1021 G C C T G T G C A A T G A A C C C A A G G G G A A A C T T A T T C A A C C A A G A A M T
 361 A G V T C S D S D L E L R L R G G S
 1081 G C T G G T A A C G T T C A T G G T G C G T G A C T A A C T T A G G T G C C C C
 381 R C A G T V E V E I Q R L L G E V C D E
 1141 G C T G T G T G C C A C T T G A G T G A T T C A A C T T T A G A A G T T G T G A C A
 401 G W G L K E A D V V C R Q L G C S A L
 1201 G C T G G G A C T G A A A A C T G A T T T T C M G C A C T G G A T T G A C T G C A C C
 421 K T S Y Q V Y S K I Q A T H N W L F L S
 1261 A A A C T G C C T C A A T T A C T C A A A C C C A A C A A C A A C T G T G T T C A A G T
 441 S C H G H E T S L W D C K H W Q W G G L
 1321 A C T G T A A C G A A A A A C T T C T T T G A C T G C A A C T G C A A G G G T G A C T T
 461 T C D E Y E H A K I T C S A E H E F R L
 1381 A C C T G T G T C A C T A T A A G A A C C A A A T T A C T G C C C C C A G G A A C C G A C T G
 481 V G G D I F C S G E V E V X H G D T W G
 1441 G T T G A G G A C A T T C C T T T C T G A C C C T T G A G T G A A C A T T G T A C A C T G G G C
 501 S V C D S D F S L E A A S V L C E E L Q
 1501 T G C T G T G A T T G A T T C T C T G A A C C C C A C C T T C A T G C C G A T T A C G
 521 C G T V V S I L G G A H F G E G H G Q I
 1561 T G T G C A C T G C T C T A T C T G G G G G A C T C A C T T T G G G G G A A A T G G C M G T C
 541 W T E E F Q C H G E E S H L S L C P V A
 1621 T G A C T G A A A T T C A T T G T G A G G A C A T T G T G C A C T T C A C T G C C G T A C A
 561 F R F E G T C S E S R D V G V V C S R Y
 1681 C C C C C C C A A A A C T T T A C C A C C C C C A A T T T G G G T G T C T C A A G H T C
 581 T E I R L V N G K T P C H G E V E L E T
 1741 A C H A A T T C C T T G T A A T G C A A G C C C C T T G A G G C A G T G G C T C A A A C
 601 L H A G S L C H S E W D I E D A H V L
 1801 C T A A T G C C T G G G A T C C T C T C A A C T C T C A C T G G A C A G A A T G C C A C T T C T T
 621 C Q Q L K C G V A L S T P G G A H F G E
 1861 T G C A A C A C T A A A T T G G A T T G C C T T C A C C C C A G G G C C A T T T T G A A A
 641 G H G Q V W E H H F H C T G T E Q H N G
 1921 G A A A T G T C A G T C T G A G C A T A T T T C A C T C A C T G G A C T G A C C C A G G A
 661 D C P V T A L G A E L C P S G Q V A S V
 1981 G A T T G T G T A C T C T C T G T G T C A C T A T T G C T C A G G C A A T G G C T C T A
 681 I C S G H Q S Q T L S C H S S L G P
 2041 A T T G C T C A G A A C A T T C C A A C A C T G T C T G T G A A T T C A C A C C T G G G C A
 701 T R F T I P E E S A V A C I E S G Q L E
 2101 A C A G G C T A C C A T T C C A A G A A G T G C T T G G C C T G C A T G A G A T T G C A C T G C
 721 L V H G G G R C A G E V E I Y H E G S W
 2161 T T G A A T G G A G G T C C T G T G T G G A A T A G A T T A T C A A A G G C T G C G
 741 G T I C D D S W D L S D A E V V C R Q L
 2221 G C C A C A C T G T G A T A C A C T G G A C C T A G G A T G C C A C T T G T G C A C C T G
 761 G C G E A I N A T G S A H F G E G T G P
 2281 G C T G T G A A G G C A T A A T G C C A C T G T T C T G C A T T T G A A G A A C C G G C C
 781 I W L D E H K C H G E S R I W Q C E S

127

581	INCPHATK	QVAVGKNT	WTCANKE	QVAVGKNT	VEAVGKNT	VEAVGKNT
582	INCPHATK	QVAVGKNT	WTCANKE	QVAVGKNT	VEAVGKNT	VEAVGKNT
1081	INCPHATK	QVAVGKNT	WTCANKE	QVAVGKNT	VEAVGKNT	VEAVGKNT
1082	INCPHATK	QVAVGKNT	WTCANKE	QVAVGKNT	VEAVGKNT	VEAVGKNT

119

Example 11. Various cell lines are rendered permissive to North American PRRSV infection following transient transfection with pCMV-susCD163v1

Porcine Kidney (PK032495), Norden Labs Swine Testicular (NLST-1), Norden Labs Dog Kidney (NLDK-1) were obtained from Pfizer Inc. and were grown at 37° C and 5% CO₂ in growth media consisting of Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM, Invitrogen catalog number 11965) supplemented with 5% fetal bovine serum (FBS), 1mM sodium pyruvate, 2mM L-glutamine and antibiotics. Cell lines Baby Hamster Kidney (BHK21), Norden Labs Feline Kidney (NLFK-1), and Rabbit Lung (RL) were obtained from Pfizer Inc. and were grown at 37° C and 5% CO₂ in growth media consisting of Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM, Invitrogen catalog number 11965) supplemented with 10% fetal bovine serum (FBS), 1mM sodium pyruvate, 2mM L-glutamine and antibiotics. Vero cells were obtained from Pfizer Inc. and were grown at 37° C and 5% CO₂ in growth media consisting of Minimum Essential Medium Alpha (MEM, Pfizer Inc. formulation) supplemented with 10% fetal bovine serum (FBS), 2mM L-glutamine and Gentamicin at 20 micrograms per mL. Cell culture wells (35 mm) containing approximately 1x10⁶ cells were transfected with 2 micrograms per well of plasmid pCMV-susCD163v1, in DMEM without FBS or antibiotics, using Lipofectamine 2000 (Invitrogen catalog number 11668-027) according to the manufacturer's instructions. Cell line RL was transfected with 1.0 micrograms per well of plasmid pCMV-susCD163v1. A member of the PAM cell cDNA library without an insert, designated pPAMB (essentially and empty pSport plasmid vector), was used as a negative control plasmid. At 24 hours post transfection wells were aspirated and washed twice with DMEM/5% FBS followed by infection with North American PRRSV isolate P129. Virus was allowed to adsorb in 0.5 ml growth media for a minimum of two hours, after which additional media was added to a final volume of 2.0ml and incubated overnight. The virus was then removed, wells washed twice with growth media, and fresh growth media added (2.0 ml per well). A time zero sample of culture fluid was immediately taken in order to determine the background level of infectious virus from the inoculum. At a minimum of 48 hours post infection cultures were screened for permissivity by removing culture fluids in order to assay viable virus, and permissive cells in the

monolayer were detected by fluorescent antibody assay (FA). The FA was completed by fixing the monolayer with 80% acetone and stained with FITC-conjugated monoclonal antibody SDOW17 (Rural Technologies Inc), which is specific for the PRRSV nucleocapsid protein. Viable virus was titrated by inoculating dilutions of culture fluids onto MARC-145 cells. Table 5 shows the results of virus infection by FA and the presence of progeny virus for each cell line tested.

Failure to detect progeny virus from some cell lines may be the result of low virus titer in the cell culture fluids, below the assay's limit of detection. Permissivity of Vero cells to PRRSV infection was augmented by the expression of susCD163v1. Compared to the time zero measurement of background virus, there was nearly a two-log increase in virus titers in Vero cells transfected with pCMV-susCD163v1, whereas there was less than a one-log in titer increase in cells transfected with negative control plasmid pPAMB. All cell lines except NLDK-1 were positive by FA for permissivity to North American PRRSV isolate P129 infection after transfection with pCMV-susCD163v1.

Table 5

Screening of various cell lines for permissivity to NA PRRSV isolate P129 following transient transfection with pCMV-susCD163v1 or pPAMB				
Transfected cell line	Fluorescent Antibody assay		Progeny virus produced	
	pCMV-susCD163v1	pPAMB	pCMV-susCD163v1	pPAMB
BHK21	+++	-	+++	-
PK032493	+	-	+	-
NKFK-1	+	-	+	-
NLST-1	+	-	-	-
NLDK-1	-	-	NT	NT
RL	+	-	-	-
Vero	++	+	++	+

+++ = Highly positive

++ = Moderately positive

+ = Slightly positive

- = Not detectible

NT = Not tested

Example 12. BHK21 cells are rendered permissive to European PRRSV infection following transient transfection with pCMV-susCD163v1

Cell line Baby Hamster Kidney (BHK21) was obtained from Pfizer Inc. and grown at 37° C and 5% CO₂ in growth media consisting of Dulbecco's Modified Eagle Medium

123

121
(DMEM, Invitrogen catalog number 11965) supplemented with 10% fetal bovine serum (FBS), 1mM sodium pyruvate, 2mM L-glutamine and antibiotics. Cell culture wells (35 mm) containing approximately 1×10^6 cells were transfected with 2 micrograms per well of plasmid pCMV-susCD163v1, in DMEM without FBS or antibiotics, using Lipofectamine 2000 (Invitrogen catalog number 11668-027) according to the manufacturer's instructions. At 24 hours post transfection wells were aspirated and washed twice with DMEM/5% FBS followed by infection with European PRRSV isolate 96V198. Virus was allowed to adsorb for a minimum of 2 hours. The virus was then removed, wells washed twice with growth media, and fresh growth media added (2.0 ml per well). A time zero sample of culture fluid was immediately taken in order to determine the background level of infectious virus from the inoculum. At a minimum of 48 hours post infection cultures were screened for permissivity by removing culture fluids in order to assay viable virus, and permissive cells in the monolayer were detected by fluorescent antibody assay (FA). The FA was completed by fixing the monolayer with 80% acetone and stained with FITC-conjugated monoclonal antibody SDOW17 (Rural Technologies Inc), which is specific for the PRRSV nucleocapsid protein. Viable virus was titrated by inoculating dilutions of culture fluids onto MARC-145 cells. As a result of the transient transfection of BHK21 with pCMV-susCD163v1, cells were rendered permissive to European PRRSV isolate 96V198 infection and yielded progeny virus.

Example 13: CD163 genes from multiple animal species render BHK21 cells permissive to PRRS virus infection

BHK21 cells grown in DMEM (Invitrogen catalog number 11965) supplemented with 10% fetal bovine serum, 1mM sodium pyruvate, and antibiotics, were used in transient transfection experiments. Before transfection cells were washed once with OptiMEM (Invitrogen) without serum or other additives. Lipofectamine 2000 (Invitrogen) was used in all transfection experiments according to the protocol provided by the manufacturer. The transfection mixture consisted of 10 microliters of Lipofectamine 2000 and 2-3 micrograms of DNA per 35 mm well. After overnight incubation, transfection medium was removed and cells were infected with PRRSV isolate P129. Infection was allowed to progress for 24-48 hours, when cells were fixed with 80% acetone and stained with monoclonal antibody SDOW17 conjugated

124

with FITC (Rural Technology Inc., Brookings, SD). Staining of the nucleocapsid protein was visualized under a fluorescence microscope.

1.2.2

Table 6. Transient transfection of BHK21 cells with various CD163 genes renders them permissive to PRRS virus infection

5

Table 6

Plasmid backbone	CD163 gene	PRRSV infection (FA)
pCMV-Script	Swine CD163v1	+++
pRSV-Script	Swine CD163v1	+++
pcDNA3.1D	Swine CD163v2	++
pcDNA3.1D	Human CD163v2	++
pcDNA3.1D	Mouse CD163v3	+
pcDNA3.1D	African green monkey (MARC-145 cell) CD163v2	+++
pcDNA3.1D	Vero cells CD163v7	+++
pcDNA3.1D	DHE2 cell CD163v2	+++

+++ = Highly positive
 ++ = Moderately positive
 + = Slightly positive

- 10 **Example 14. Generation of PRRSV-permissive BHK21 stable cell lines using pCMV-susCD163v1**
 BHK-21 cells were grown in Dulbecco's Modified Eagle Media (DMEM) supplemented with 10% fetal bovine serum, 1mM sodium pyruvate, and antibiotics. For transfection, cells were seeded at approximately 90% confluency in 6 well plates and incubated over night at 37°C in 5% CO₂. Cells were transfected with pCMV-susCD163v1 DNA using Lipofectamine 2000 (Invitrogen) according to the manufacturer's instructions. One day after transfection the cells were trypsinized and re-seeded in 96 well plates in a dilution series. To select for stable transfectants, the media was supplemented with 1 mg/ml Geneticin (G418 sulfate, Invitrogen catalog number 10131-027) from this point forward. Medium was changed every 3-5 days. Plates were cultured until those wells with colonies derived from single cells reached confluency, at which point the plates were trypsinized and seeded into duplicate 96 well plates. One of the duplicate 96 well plates was infected with PRRSV isolate P129 and clones permissive to infection were identified by staining with FITC conjugated monoclonal antibody SDOW17. Positive clones were then expanded from the second duplicate plate. To ensure homogeneity the positive cultures were single-cell cloned by limiting dilution. At each cloning the subclones that displayed robust
- 15
 20
 25

125
123

growth and high PRRSV permissivity were chosen for expansion. Three clones designated BHK/CMV/v1 #3, BHK/CMV/v1 #5, and BHK/CMV/v1 #12 (Figure 6) were selected. These cell lines have maintained the permissive phenotype through 20 passages.

5 Example 15. Generation of PRRSV-permissive BHK21 stable cell lines using pRSV-susCD163v1

BHK-21 cells were cultured as described in Example 14. BHK-21 cells were transfected with pRSV-susCD163v1 using Lipofectamine 2000 as described in Example 14. Cloning of transfected cells and screening for permissive clones was performed essentially as described in Example 14. From the original cloning 3 single cell clones were identified as permissive and were subsequently recloned two more times to ensure homogeneity and to attempt to isolate subclones of higher permissivity (see Figure 7). The resulting cell lines were named BHK/RSV/v1, #2, #3, and #4. All of these clones have maintained the permissive phenotype through the highest passage tested (passage 11 for clone #2, passage 7 for clone #3, and passage 5 for clone #4).

15 Example 16. Generation of PRRSV-permissive feline kidney stable cell lines using pCMV-susCD163v1

Parental Norden Labs Feline Kidney (NLFK) cells were grown at 37 degrees C and 5% CO₂ in Dulbecco's Modified Eagle Medium (Invitrogen catalog number 11965-092) supplemented with 10% fetal bovine serum, 1 mM sodium pyruvate, and antibiotics. Several 35 mm wells containing approximately 2×10^6 cells each were transfected with 4 micrograms per well of pCMV-susCD163v1, in OptiMEM, using Lipofectamine 2000 (Invitrogen catalog number 11668-027) according to the manufacturer's instructions. After overnight incubation, cells were removed from the substrate using Accutase (Innovative Cell Technologies, catalog number AT104) diluted in medium, and seeded into three 96-well plates at three densities (approximately 2×10^2 , 2×10^3 , and 2×10^4 cells per well). The cells were allowed to settle overnight at 37 degrees C before beginning selection of stable transformants. The next morning medium was replaced with 100 microliters / well fresh medium containing 500 micrograms / ml Geneticin (G418 sulfate, Invitrogen catalog number 10131-027) to select for cells expressing the neomycin resistance gene. Medium was changed every 2 or 3 days to maintain Geneticin potency. After 19 days of selection, the 96-well plate with the lowest initial cell density (approximately 200-cells / well) yielded 70 empty wells and 26 wells with one or more colonies of G418-resistant cells

126
124

(calculated number of resistant cells / well is 0.3, using the Poisson distribution).

These 26 wells were split into duplicate wells and allowed to settle overnight. One set of wells was infected with PRRSV isolate P129, incubated for 24 hours, then fixed with 80% acetone and stained with FITC-conjugated monoclonal antibody SDOW17 (Rural Technologies Inc), which is specific for PRRSV nucleocapsid. Of the 26 clones, 8 contained some cells that were infected by PRRSV. One of these, designated "NLFK-CMV-susCD163v1-G4", was clearly more permissive than the others with nearly 100% of the cells staining positive for viral antigen.

By cell passage number 5, there was some evidence of phenotypic heterogeneity in the NLFK-CMV-susCD163v1-G4 cell line. Therefore, the cells were single-cell cloned by limiting dilution in G418-containing medium, starting with frozen stocks of NLFK-CMV-susCD163v1-G4 passage 4. Twelve such clones ("A" - "L") were expanded for study. Of these, clones NLFK-CMV-susCD163v1-G4F and NLFK-CMV-susCD163v1-G4L were notable for their ability to form discrete plaques (localized areas of CPE) when infected with PRRSV isolate P129 (see Figure 8).

Example 17. Generation of PRRSV-permissive feline kidney stable cell lines using pRSV-susCD163v1

Norden Labs Feline Kidney (NLFK) cells were grown at 37° C and 5% CO₂ in Minimal Essential Medium Alpha Medium (Invitrogen catalog number 12571-071) supplemented with 10% fetal bovine serum and antibiotics. NLFK cells were seeded in 6 well plates at approximately 90% confluency and allowed to attach overnight. The cells were then transfected with plasmid pRSV-susCD163v1 using Lipofectamine 2000 (Invitrogen) following the manufacturer's instructions. After 24 hours the cells were cloned as described in Example 14. Screening for PRRSV permissive cell clones was performed as described in Example 14. Four clones were selected from the screening and were single cell cloned by limiting dilution two more times. Four clones named FK/RSV/v1 #1, FK/RSV/v1 #2, FK/RSV/v1 #3, and FK/RSV/v1 #4 were selected. These cell lines have maintained the PRRSV permissive phenotype through at least 8 passages (see Figure 9).

Example 18. Generation of PRRSV-permissive porcine kidney stable cell lines using pCMV-susCD163v1

Parental Porcine Kidney (PK032495) cells were obtained from Pfizer Inc. and were grown at 37 degrees C and 5% CO₂ in growth media consisting of Dulbecco's

127

125

Modified Eagle Medium (DMEM, Invitrogen catalog number 11965) supplemented with 5% fetal bovine serum (FBS), 1mM sodium pyruvate, 2mM L-glutamine and antibiotics. Tissue culture wells (35 mm) containing approximately 1×10^6 cells each were transfected with 2 micrograms per well of plasmid pCMV-susCD163v1, in DMEM without FBS or antibiotics, using Lipofectamine 2000 (Invitrogen catalog number 11668-027) according to the manufacturer's instructions. After overnight incubation, cells were washed with PBS and removed from the substrate using Accutase (Innovative Cells Technologies, catalog number AT104) and diluted in growth medium containing Geneticin (G418 sulfate, Invitrogen catalog number 10131-027) at 1.0 milligram per ml and seeded into 96-well plates at various densities to ensure recovery of single cell clones after Geneticin selection. Throughout Geneticin selection, media was changed approximately every 3 to 5 days. After selection, wells containing single cell clones were expanded into duplicate 96-well plates and allowed to incubate until 100% confluency was achieved. One set of wells was screened for PRRSV-permissivity by infecting with PRRSV isolate P129 for a minimum of 48 hours. Eleven clones were found to be permissive for PRRSV. One of these, designated "PK-CMV-susCD163v1-A10", clearly retained the permissive phenotype after numerous passages (see Figure 10).

Example 19. Generation of PRRSV-permissive BHK21 stable cell lines using pCMVScript-susCD163v2

Parental Baby Hamster Kidney (BHK21) cells were obtained from Pfizer Inc. and were grown at 37 degrees C and 5% CO₂ in growth media consisting of Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM, Invitrogen catalog number 11965) supplemented with 10% fetal bovine serum (FBS), 1mM sodium pyruvate, 2mM L-glutamine and antibiotics. Tissue culture wells (35 mm) containing approximately 1×10^6 cells each were transfected with 2 micrograms per well of pCMVScript-susCD163v2, in DMEM without FBS or antibiotics, using Lipofectamine 2000 (Invitrogen catalog number 11668-027) according to the manufacturer's instructions. After overnight incubation, cells were washed with PBS and removed from the substrate using Accutase (Innovative Cells Technologies, catalog number AT104) and diluted in growth medium containing Geneticin (G418 sulfate, Invitrogen catalog number 10131-027) at 1.0 milligram per ml and seeded into 96-well plates at various densities to ensure recovery of single cell clones after Geneticin selection.

128
126

Throughout Geneticin selection, media was changed approximately every 3 to 5 days. After selection, wells containing single cell clones were expanded into duplicate 96-well plates and incubated until 100% confluency was achieved. One set of wells was screened for permissivity by infecting with PRRSV isolate P129 and incubating for a minimum of 48 hours. Three clones were found to be PRRSV-permissive, and one of these, designated "BHK-CMVScript-susCD163v2-A9", was chosen for further study (see Figure 11).

Example 20. Generation of PRRSV-permissive BHK-21 stable cell lines using pRSV-susCD163v2

10 BHK-21 cells were cultured as described in Example 14. BHK-21 cells were transfected with the ligated pRSV-susCD163v2 DNA construct described in Example 5 using Lipofectamine 2000 (Invitrogen) following manufacture's instructions. Subsequent cloning and selection of PRRSV permissive cell lines was performed as described in Example 14. Of 336 single cell clones screened, 129 were positive. 15 Several of these cell clones have been passed up to 7 times and they have maintained the PRRSV permissive phenotype (see Figure 12). These cell lines have been named BHK/RSV/v2, followed by a numerical clone number.

Example 21. Generation of PRRSV-permissive porcine kidney stable cell lines using pCMVScript-susCD163v2

20 Parental Porcine Kidney (PK032495) cells were obtained from Pfizer Inc. and were grown at 37 degrees C and 5% CO₂ in growth media consisting of Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM, Invitrogen catalog number 11965) supplemented with 5% fetal bovine serum (FBS), 1mM sodium pyruvate, 2mM L-glutamine and antibiotics. Tissue culture wells (35 mm) containing approximately 1×10^5 cells each 25 were transfected with 2 micrograms per well of pCMVScript-susCD163v2 in DMEM without FBS or antibiotics, using Lipofectamine 2000 (Invitrogen catalog number 11668-027) according to the manufacturer's instructions. After overnight incubation, cells were washed with PBS and removed from the substrate using Accutase (Innovative Cells Technologies, catalog number AT104) and diluted in growth 30 medium containing Geneticin (G418 sulfate, Invitrogen catalog number 10131-027) at 1.0 milligram per ml and seeded into 96-well plates at various densities to ensure recovery of single cell clones after Geneticin selection. Throughout Geneticin selection, media was changed approximately every 3 to 5 days. After selection, wells

128
127

containing single cell clones were expanded into duplicate 96-well plates and incubated until 100% confluency was achieved. One set of wells was screened for permissivity by infecting with PRRSV isolate P129 and incubating for a minimum 48 hours. One clone designated "PK-CMVScript-rusCD163v2-D1" showed the PRRSV-permissive phenotype.

Example 22. Generation of PRRSV-permissive BHK21 stable cell lines using pcDNA3.1D-humCD163v2

Parental Baby Hamster Kidney (BHK21) cells were obtained from Pfizer Inc. and were grown at 37 degrees C and 5% CO₂ in growth media consisting of Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM, Invitrogen catalog number 11965) supplemented with 10% fetal bovine serum (FBS), 1mM sodium pyruvate, 2mM L-glutamine and antibiotics. Tissue culture wells (35 mm) containing approximately 1x10⁶ cells each were transfected with 2 micrograms per well of pcDNA3.1D-humCD163v2, in DMEM without FBS or antibiotics, using Lipofectamine 2000 (Invitrogen catalog number 11668-027) according to the manufacturer's instructions. After overnight incubation, cells were washed with PBS and removed from the substrate using Accutase (Innovative Cells Technologies, catalog number AT104) and diluted in growth medium containing Geneticin (G418 sulfate, Invitrogen catalog number 10131-027) at 1.0 milligram per ml and seeded into 96-well plates at various densities to ensure recovery of single cell clones after Geneticin selection. Throughout Geneticin selection, media was changed approximately every 3 to 5 days. After selection, wells containing single cell clones were expanded into duplicate 96-well plates and incubated until 100% confluency was achieved. One set of wells was screened for permissivity by infecting with PRRSV isolate P129, incubated for a minimum 48 hours. Seven candidate clones were found to be PRRSV-permissive. There was some evidence of phenotypic heterogeneity in each of the seven candidate clones, likely because they were not clonal. Therefore, the candidate clones were single-cell cloned by limiting dilution in G418 containing medium. One single cell clone with clear PRRS-permissivity was obtained and designated BHK-cDNA3.1D-humCD163v2-H9.

Example 23. Generation of PRRSV-permissive feline kidney stable cell lines using pcDNA3.1D-humCD163v2

130.
128

Parental Norden Labs Feline Kidney (NLFK) cells were grown at 37 degrees C and 5% CO₂ in growth media consisting of Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM, Invitrogen catalog number 11965) supplemented with 10% fetal bovine serum (FBS), 1mM sodium pyruvate, 2mM L-glutamine and antibiotics. Tissue culture wells (35 mm) containing approximately 1x10⁶ cells each were transfected with 2 micrograms per well of pcDNA3.1D-humCD163v2 in DMEM without FBS or antibiotics, using Lipofectamine 2000 (Invitrogen catalog number 11668-027) according to the manufacturer's instructions. After overnight incubation, cells were washed with PBS, removed from the substrate using Accutase (Innovative Cells Technologies, catalog number AT104), diluted in growth medium containing Geneticin (G418 sulfate, Invitrogen catalog number 10131-027) at 500 micrograms per ml, and seeded into 96-well plates at various densities to ensure recovery of single cell clones after Geneticin selection. Throughout Geneticin selection, media was changed approximately every 3 to 5 days. After selection, wells containing single cell clones were expanded into duplicate 96-well plates and incubated until 100% confluency was achieved. One set of wells was screened for PRRSV-permissivity by infecting with PRRSV isolate P129 for a minimum 48 hours. Five clones were found to be permissive. One of these, designated "FK-cDNA3.1D-humCD163v2-A6", clearly displayed the permissive phenotype (see Figure 13).

NLFK parent cells and one subclone of FK-cDNA3.1D-humCD163v2-A6 were examined for the CD163 expression. Cells were fixed in 80% acetone and reacted with Goat anti-human CD163 (R&D System at 1:200) for one hour following by washing with PBS. For visualization, donkey anti-Goat IgG conjugated with FITC (Bioscience Inc at 1:100) were used. No specific fluorescence was detected in the NLFK parent cells as shown in Figure 21A. The majority of the FK-A6.A2 subclone showed good fluorescent staining indicating the presence of CD163 (Figure 21B).

Example 24. Generation of PRRSV-permissive porcine kidney stable cell lines using pcDNA3.1D-humCD163v2

Parental Porcine Kidney (PK032495) cells were obtained from Pfizer Inc. and were grown at 37 degrees C and 5% CO₂ in growth media consisting of Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM, Invitrogen catalog number 11965) supplemented with 5% fetal bovine serum (FBS), 1mM sodium pyruvate, 2mM L-glutamine and antibiotics. Tissue culture wells (35 mm) containing approximately 1x10⁶ cells each

131
129

were transfected with 2 micrograms per well of pcDNA3.1D-humCD163v2, in DMEM without FBS or antibiotics, using Lipofectamine 2000 (Invitrogen catalog number 11668-027) according to the manufacturer's instructions. After overnight incubation, cells were washed with PBS, removed from the substrate using Accutase (Innovative Cells Technologies, catalog number AT104), diluted in growth medium containing Geneticin (G418 sulfate, Invitrogen catalog number 10131-027) at 1.0 milligram per ml, and seeded into 96-well plates at various densities to ensure recovery of single cell clones after Geneticin selection. Throughout Geneticin selection, media was changed approximately every 3 to 5 days. After selection, wells containing single cell clones were expanded into duplicate 96-well plates and incubated until 100% confluency was achieved. One set of wells was screened for PRRSV-permissivity by infecting with PRRSV isolate P129 for a minimum 48 hours. Two clones were found to be permissive. One of these, designated "PK-cDNA3.1D-humCD163v2-B11" clearly showed the PRRSV-permissive phenotype.

Example 25 Generation of PRRSV-permissive feline kidney stable cell line using ligated pRSV-Script MARC CD163v2

A non-cloning based procedure to generate microgram quantities of linear DNA suitable for use in generating stable cell lines expressing CD163 from an RSV promoter was developed (Figure 4). A similar process was adapted to place simian CD163v2 from MARC-145 cells behind the RSV promoter. The procedure involves the isolation and ligation of two pieces of DNA, one containing the neomycin gene and RSV promoter cassette derived from pRSV-script, and the other containing the MARC CD163v2 coding sequence from pcDNA3.1D MARC CD163v2. Vector plasmid pRSV-Script was linearized with *Hind* III and *Kpn* I. Plasmid was first digested with *Kpn* I and was bunted with the Klenow fragment of *E. coli* DNA polymerase. This plasmid was then digested with *Hind* III immediately downstream of the RSV promoter. The pcDNA3.1D MARC CD163v2 clone was digested in the vector sequence downstream of the CD163 insert with *EcoRV*, and *Hind* III upstream of CD163. The CD163 coding sequence was liberated from the vector. For each plasmid digestion the appropriate fragments were purified from agarose gels. A large-scale ligation reaction was performed as follows. Approximately 20 µg of each DNA fragment was incubated in a volume of 500 µL with 15 units of T4 DNA ligase. The reaction was incubated at room temperature for 1 hour. Following ligation, a linear

132

130

piece of DNA containing all of the appropriate elements was purified by agarose gel electrophoresis. Restriction enzyme digestion analysis was performed to confirm the authenticity of each ligated fragment. Ligation of the two DNA fragments via the cohesive *Hind* III termini resulted in the placement of the 5' sequences of the MARC CD163 gene downstream of the RSV promoter, allowing for directed expression of CD163 in mammalian cells. Once isolated, the purified DNA was used to transfect selected mammalian cell lines.

Norden Labs Feline Kidney (NLFK) cells were grown at 37° C and 5% CO₂ in DMEM supplemented with 5% fetal bovine serum and antibiotics. NLFK cells were seeded in 6 well plates at approximately 90% confluency and allowed to attach overnight. The cells were then transfected with ligated plasmid pRSV-MARC CD163v2 using Lipofectamine 2000 following the manufacturer's instructions. After 24 hours the cells were cloned as described in Example 12. Screening for PRRSV permissive cell clones was performed as described in Example 12. One clone was positive for PRRSV infection and designated NLFK-MARC CD163 D4. This D4 clone has maintained the PRRSV permissive phenotype through 9 passages.

Example 26. Growth kinetics of PRRSV isolates NVSL 94-3 in recombinant BHK-21 and NLFK cells stably expressing susCD163v1 from the CMV promoter.

The amounts of progeny virus produced by PRRSV-infected BHK-21 or NLFK cells stably engineered to express susCD163v1 were quantitated. Four cell lines expressing susCD163v1, BHK/CMV/susv1 #3, BHK/CMV/susv1 #5, BHK/CMV/susv1 #12, and FK/CMV/susv1 G4 were seeded at sub confluency in 6 well plates and, after overnight incubation, were infected with the NVSL 94-3 isolate of PRRSV. MARC-145 cells were included in the experiment for comparison. The cells were infected with virus at an m.o.i. of approximately 0.1. Virus was adsorbed for 60-90 minutes and was removed. Cells were washed three times with PBS to remove residual virus. One-milliliter aliquots were harvested from the cultures at 12-hour intervals starting immediately after infection and continued through 96 hrs. Fresh culture media was added to the cells at various time points to maintain a culture volume sufficient to prevent the cell monolayer from drying out. Culture supernatants were stored at -80° until all samples were collected. The amount of PRRSV present in the culture supernatants was determined by plaque assay on MARC-145 cells. Figure

131

14 shows that all CD163 expressing recombinant cell lines tested were able to produce progeny PRRSV.

Example 27. Blocking PRRSV infection with anti-CD163 antibody: Transiently transfected cells.

5 BHK-21 cells, seeded in 24 well plates, were transiently transfected with the plasmid pCDNA3.1D-MARC-CD163v2 described in example 8, using Lipofectamine 2000 as described in example 14. After overnight incubation to allow expression of CD163, a titration of goat polyclonal antibody specific for human CD163 (R&D Systems, cat # AF1607) in PBS was added to the cells in a volume of 100 μ l. As a
10 control, equivalent amounts of normal goat IgG (R&D Systems, cat # AB-108-C) were used. Following a one-hour incubation at 37°C, the monolayers were infected with approximately 1×10^7 pfu of a recombinant P129 strain of PRRSV that expresses GFP. The cell monolayers, with anti-CD163 antibody and PRRSV, were incubated at 37°C for one hour at which time the virus inoculum/antibody mixture was aspirated,
15 the cell monolayer washed once with PBS, and 1ml of growth medium added to the wells. The cells were incubated for 24 hours at 37°C to allow PRRSV directed GFP expression. For analysis, the cells were trypsinized, resuspended in 500 μ l of PBS and analyzed by flow cytometry to enumerate the PRRSV infected cells via GFP expression. For flow cytometry, uninfected BHK-21 cells were used to set the
20 baseline for fluorescence detection, and approximately 100,000 cells were analysed from each subsequent sample. The results of this analysis, shown in Figure 15, show that the CD163 specific antibody was able to significantly reduce the number of infected cells when compared to cells incubated with normal goat IgG.

Example 28: Blocking PRRSV infection by anti CD163 antibody: Stably
25 **transfected cells.**

The NLFK cells that stably express human CD163 (FK-cDNA3.1D-humCD163v2-A6), described in Example 23, were seeded into 24 wells plates. After allowing the cells to attach overnight, a titration of goat polyclonal antibody specific for human CD163 (R&D Systems, cat # AF1607) in PBS was added to the cells in a
30 volume of 100 μ l. As a control, equivalent amounts of normal goat IgG (R&D Systems, cat # AB-108-C) were used. Following a one-hour incubation at 37°C, the monolayers were infected with approximately 1×10^7 pfu of a recombinant P129 strain of PRRSV that expresses GFP. The cell monolayers, with anti-CD163 antibody and

134
132

PRRSV, were incubated at 37°C for one hour at which time the virus inoculum/antibody mixture was aspirated, the cell monolayer washed once with PBS, and 1ml of growth medium added to the wells. The cells were incubated for 24 hours at 37°C to allow PRRSV directed GFP expression. For analysis, the cells were

5 trypsinized, resuspended in 500µl of PBS, and analyzed by flow cytometry to immunerate the PRRSV infected cells via GFP expression. Approximately 100,000 cells were analyzed from each sample. The results of this analysis, shown in Figure 16, show that the CD163 specific antibody was able to significantly reduce the number of infected cells when compared to cells incubated with normal goat IgG.

10 **Example 29. Generation of PRRSV-permissive porcine kidney stable cell lines using pRSV-susCD163v2.**

Porcine kidney cells (PK032495) were cultured as described in Example 21. For transfection, cells were seeded in a 24 well plate at 80% confluency and allowed to recover overnight. Transfection of ligated pRSV-susCD163v2 DNA described in

15 Example 5 was performed using Lipofectamine 2000 (Invitrogen) following the manufacturer's instructions. Subsequent cloning and selection of PRRSV permissive cells was performed essentially as described in Example 14. The initial cloning by limiting dilution failed to yield single cell derived clones, so 5 wells with PRRSV permissive cells were recloned by limiting dilution to yield clonal cell lines. 10 clones

20 were selected for further study and one of these clones, PK-RSVScript-susCD163v2 #9 showed the ability to support foci growth of PRRSV early after infection (see Figure 18).

Example 30. Generation of PRRSV-permissive feline kidney stable cell lines using pRSV-susCD163v2.

25 NLFK feline kidney cells were cultured as described in Example 17. For transfection, cells were seeded at approximately 80% of maximal density in 24 well plates. After overnight incubation the monolayers were transfected with ligation derived RSV/susCD163v2 (see example 5) using Lipofectamine following the manufacturer's instructions. Cloning of the transfected cells and selection of PRRSV

30 permissive cell clones was performed essentially as described in Example 14. Of the 67 cell clones tested for PRRSV permissivity, 20 were found to be positive. An example of the staining observed is shown in Figure 19.

Example 31. Passage of PRRSV isolate P201 in PK-RSVScript-susCD163v2 cells
Amplification of a PRRSV clinical isolate was performed as follows. Peripheral

35 alveolar macrophage (PAM) cells were seeded at 5.4E6 cells per 10cm² in a 6 well

135

133

dish using OptiMEM media supplemented with 2% FBS. After 6 hours the media was aspirated and a 2 ml aliquot of serum harvested from a PRRSV infected pig was added to the cells. Following a 90 minute adsorption, the serum inoculum was removed and replaced with OptiMEM. At approximately 40 post infection the supernatant was harvested and clarified with a 10 minute centrifugation. The supernatant was directly used to infect PK-RSVScript-susCD163v2 clone #9 cells using a 6 hour adsorption. After removal of the inoculum the cells were refed with D-MEM. The P201 virus was serially passaged on the PK-RSVScript-susCD163v2 #9 cell line using alternating infected cell and cell free supernatant passes. We observed that for efficient spread of the virus, the cells should be seeded at 50-70 % confluency the day before infection, using flasks of cells that were kept at sub-confluency. To follow the progression of infection, each passage was replicated in multiple wells of identically infected cells and at each day one of the wells was acetone fixed and stained with the FITC labeled monoclonal antibody SDOW17. If the percentage of infected cells was not greater than 50% and significant progression of foci development over the prior days observations were not seen, the cells in an equivalent well were trypsinized and passed to multiple fresh wells. These infected cell passages were typically at a 1:4 split and sometimes included the addition of an equivalent number of cells from an uninfected culture. Alternatively, if the SDOW17 staining revealed that the infected cell foci had spread sufficiently to account for greater than 50% of the total cells, cell free supernatant was harvested and used to infect multiple wells of freshly seeded cells (Figure 20). After 11 passages the intervening cell passages were not necessary as the virus was able to grow to sufficient titer to allow consecutive cell free supernatant passaging of the virus.

Example 32. Screening various CD163 cell lines for permissivity to various European and North American PRRSV isolates

Various CD163 transgenic cell lines were assessed for permissivity to low passage European and North American PRRSV isolates (see Table 7). Transgenic CD163 cell lines as described in earlier examples included NLFK-MARC CD163 D4, PK-RSVScript-susCD163v2 clone #9 and PK-CMV-susCD163v1-A10. Each CD163 cell line along with cell lines MARC-145, parental feline kidney, parental porcine kidney cell lines (serving as controls) were planted onto 96-well tissue culture plates. Growth media was removed from monolayers and inoculated with 0.1 mL per well of each PRRSV isolate. At day 3 post infection, the plates were fixed with 80% acetone and

136
134

stained with FITC-conjugated monoclonal antibody SDOW17 (Rural Technologies Inc.) which is specific for the nucleocapsid. Results of the fluorescent antibody (FA) assay are in Table 7. Table 7

FA results of screening of various CD163 cell lines for permissivity to European and North American PRRSV isolates						
CD163 Cell Line	PRRSV Isolates ^a					
	EU98V226	P129	P201	1101	94-3	IND8
NLFE-MARC CD163 D4	++	+	+++	+++	++	++++
PK-RSV/ectat- <i>gag</i> CD163v2 clone #9	+	+	++	+	+	++
PK-CMV- <i>gag</i> CD163v1-A10	+	+	++	++	++	++
MARC-145	++	+	+++	+	++++	+++
Porcine Kidney (unsorted)	-	-	-	-	-	-
Feline Kidney (sorted)	-	-	-	-	-	-

5 ^a All PRRSV isolates are North American except EU98V226 is a European isolate.

Example 33. Phorbol 12-myristate 13-acetate (PMA) induction of CD163 renders human U937 cells permissive to PRRSV infection.

10 Human U937 cells obtained from ATCC (CRL-1593.2) were propagated in RPMI medium containing serum and additives according to ATCC specifications. These cells are known to express CD163 when activated by PMA treatment (Gronlund et al., 2000). U937 cells were seeded in duplicate in wells of a 6-well plate. One set of wells was treated with 100 ng/ml of PMA and the other set was left
15 untreated. Three days after PMA stimulation, one well from each set was infected with the P129 isolate of PRRSV. The other well from each set was fixed and stained for expression of CD163 in an indirect immunofluorescent antibody assay using goat-anti human CD163 (R&D System) and donkey anti-goat IgG conjugated with FITC (BioDesign International).

20 Untreated U937 cells continued propagation to high density 3 days after initial planting. PMA-treated U937 cells stopped propagating, became enlarged, and attached to the surface of the culture wells. A small fraction of untreated U937 were positive for CD163 staining, whereas almost all PMA-treated U937 were positive for CD163 staining. In untreated U937 no PRRSV infected cells were observed.
25 However, hundreds of PMA treated U937 cells became infected by PRRSV. This demonstrates that non-permissive cells can be rendered permissive for PRRSV infection following chemical induction of CD163 expression.

137

135

Additional features and variations of the invention will be apparent to those skilled in the art from the entirety of this application, including the detailed description, and all such features are intended as aspects of the invention. Likewise, features of the invention described herein can be re-combined into additional
5 embodiments that also are intended as aspects of the invention, irrespective of whether the combination of features is specifically mentioned above as an aspect or embodiment of the invention. Also, only such limitations that are described herein as critical to the invention should be viewed as such; variations of the invention lacking limitations that have not been described herein as critical are intended as aspects of
10 the invention.

It will be clear that the invention may be practiced otherwise than as particularly described in the foregoing description and examples.

Numerous modifications and variations of the present invention are possible in light of the above teachings and, therefore, are within the scope of the invention.

15 The entire disclosure of all publications cited herein are hereby incorporated by reference to the extent they are not inconsistent to the disclosure herein.

138
136

What is claimed is:

1. A method of facilitating infection of a vertebrate cell by PRRSV that comprises the step of

(a) directing increased expression of a CD163 polypeptide by said vertebrate cell.

5

2. The method of claim 1 that further comprises infecting said cell with PRRSV.

3. The method of claim 1 that further comprises producing a culture of PRRSV.

10 4. The method of claim 1 in which said cell is mammalian.

5. The method of claim 1 wherein said CD163 polypeptide comprises a transmembrane domain.

15 6. The method of claim 1 wherein said increased expression is accomplished by introduction of exogenous nucleic acid.

7. The method of claim 1 wherein said increased expression is accomplished by chemical treatment.

20

8. The method of claim 1 wherein said cell was PRRSV non-permissive and is rendered PRRSV permissive by step (a).

9. The method of claim 2 in which the PRRSV is of the European genotype.

25

10. The method of claim 2 in which the PRRSV is of the North American genotype.

11. The method of any of claims 2-10 further comprising the step of producing a PRRSV vaccine.

30

12. The method of claims 11 wherein the vaccine is killed.

13. The method of claim 11 wherein the vaccine is live attenuated.

137

137

14. A method for measuring the propensity of a test cell line to allow infection by PRRSV comprising:

- a) providing a sample containing nucleic acids from the test cell line;
b) determining the amount of polynucleotide encoding a CD163 polypeptide or its complement in said sample;

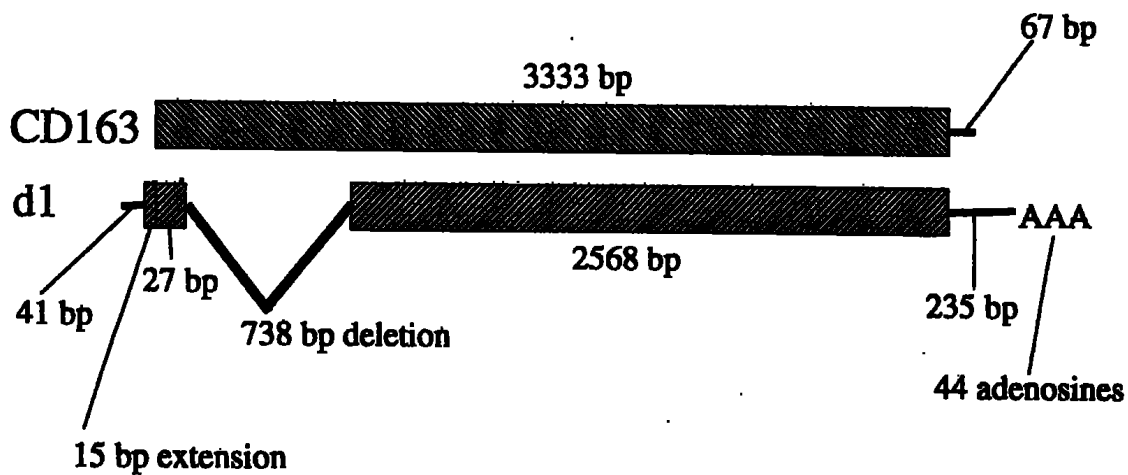
wherein an increased amount of polynucleotide encoding a CD163 polypeptide relative to a control sample derived from a control cell line known not to support the growth of said PRRSV indicates a propensity of the test cell line to support the replication of said PRRSV.

15 A method for measuring the propensity of a test cell line to allow infection by PRRSV comprising:

- (a) providing a sample containing polypeptides from the test cell line;
(b) determining the amount of CD163 polypeptide in said sample;

wherein an increased amount of a CD163 polypeptide relative to a control sample derived from a control cell line known not to support the growth of said PRRSV indicates a propensity of the test cell line to support the replication of said PRRSV.

Figure 1



1/24

1

1/24

Figure 2A

	1	60
AJ311716 (porcine)	NVLLKDSGGADFTKCSANLSSFTTAVVAVLSACLVTSLGGGDKKRLTGGHRC	
Pfizer_susCD163v1	NDKLSSVLEKSGGAD.....	
	61	120
AJ311716 (porcine)	SGKVEVYVQKHWGTVCNKNWMDVVSVCRLQCFIAKATQWAEVAGSGRIWDEVSC	
Pfizer_susCD163v1		
	121	180
AJ311716 (porcine)	RGHESALNDCKEDGNGKEDCTGQDAGVTCHDGDLEHLVHSGHRCLEGLHVIQKNG	
Pfizer_susCD163v1		
	181	240
AJ311716 (porcine)	TVCDNPFHDEASVVCRLQCSASVPSGSANFGSSGFVWFDLVCHESALWNCHE	
Pfizer_susCD163v1		
	241	300
AJ311716 (porcine)	GWGKECDHAEAGVICLNGADLELVVDGLTCSGRLEVPQGGWTICDGGDSDEAA	
Pfizer_susCD163v1	LKLGVVDGVTFCSGRLEVPQGGWTICDGGDSDEAA	
	301	360
AJ311716 (porcine)	VACKQLGCFIATVADGRVFASSGTCHILDSVSCHEESALWQCHNNGWDTCHNDA	
Pfizer_susCD163v1	VACKQLGCFIATVADGRVFASSGTCHILDSVSCHEESALWQCHNNGWDTCHNDA	
	361	420
AJ311716 (porcine)	GVTCSDGDLLELLDGGSEHCAGTVEVLIQKLVGKVCDSWGLKADVVCRLQCSALE	
Pfizer_susCD163v1	GVTCSDGDLLELLDGGSEHCAGTVEVLIQKLVGKVCDSWGLKADVVCRLQCSALE	
	421	480
AJ311716 (porcine)	TSTQVYSKIAITNLVFSCHGNETSLNDCHWQWGLSCDYDEAKITCSANIKPLV	
Pfizer_susCD163v1	TSTQVYSKIAITNLVFSCHGNETSLNDCHWQWGLSCDYDEAKITCSANIKPLV	
	481	540
AJ311716 (porcine)	GGDIPCSGRVGVQSDTWGTVCDDPFLHAAVLCRLQCTVVLLOGAEFGSSQIIV	
Pfizer_susCD163v1	GGDIPCSGRVGVQSDTWGTVCDDPFLHAAVLCRLQCTVVLLOGAEFGSSQIIV	

2/24

WO 2006/07736

PC/US2006/01582

Figure 2B

	541	600
AJ311716 (porcine)	AEEFQCEGHESHLSLCPVAPRPDGTCSHSRDVGVCSTRYTQIRLVNGKTPCEGRVLEML	
Pfizer_susCD163v1	AEEFQCEGHESHLSLCPVAPRPDGTCSHSRDVGVCSTRYTQIRLVNGKTPCEGRVLEML	
	601	660
AJ311716 (porcine)	GSWGSILCNSHWMEDAHVLCQQLKCGVALSIPGGAPFGKGSSEQVVRHMFHCTGTGTEKHMGD	
Pfizer_susCD163v1	GSWGSILCNSHWMEDAHVLCQQLKCGVALSIPGGAPFGKGSSEQVVRHMFHCTGTGTEKHMGD	
	661	720
AJ311716 (porcine)	CSVTALGASLCSSGQVASVICSGNQSQLSPCNSSSDPSSSIISSESGVACIGSGQLRL	
Pfizer_susCD163v1	CSVTALGASLCSSGQVASVICSGNQSQLSPCNSSSDPSSSIISSESGVACIGSGQLRL	
	721	780
AJ311716 (porcine)	VDGGRCAGRVEVYPGASWGTICDDSWDLNDAHVVCKQLSCGHAINATGSAHFGEGTGPI	
Pfizer_susCD163v1	VDGGRCAGRVEVYHEGSWGTICDDSWDLNDAHVVCKQLSCGHAINATGSAHFGEGTGPI	
	781	840
AJ311716 (porcine)	WLDEINCNGKESHIWQCHSHGWGRHNCRHKKDAGVICSEFMSLRLISENSRETCAGRLEV	
Pfizer_susCD163v1	WLDEINCNGKESHIWQCHSHGWGRHNCRHKKDAGVICSEFMSLRLISENSRETCAGRLEV	
	841	900
AJ311716 (porcine)	FYNGAWGSVGRNSMSPATVGVCRLGCADRGDISPASSDKTVSRHNVVDNWQCPKGPDT	
Pfizer_susCD163v1	FYNGAWGSVGRNSMSPATVGVCRLGCADRGDISPASSDKTVSRHNVVDNWQCPKGPDT	
	901	960
AJ311716 (porcine)	LWQCPSSPWKKRLASPSEETWITCANKIRLQEGNTNCSGRVEIYGGSWGTVCDDSWDLR	
Pfizer_susCD163v1	LWQCPSSPWKKRLASPSEETWITCANKIRLQEGNTNCSGRVEIYGGSWGTVCDDSWDLR	
	961	1020
AJ311716 (porcine)	DAQVVCRLGCGSALEAGKEPAFGQGTGPIWLNEVKCKGNEPSLWDCPARSWGHSDCGHK	
Pfizer_susCD163v1	DAQVVCRLGCGSALEAGKEAFAFGQGTGPIWLNEVKCKGNETSLWDCPARSWGHSDCGHK	
	1021	1080
AJ311716 (porcine)	EDAAVTCSEIAKSRESLHATGRSSFVALAIFGVILLACLIAFLIWTQRRRQRLSVFSG	
Pfizer_susCD163v1	EDAAVTCSEIAKSRESLHATGRSSFVALAIFGVILLACLIAFLIWTQRRRQRLSVFSG	
	1081	1116
AJ311716 (porcine)	GENSVHQIQYREMNCLKADETDMLNPSGDHSEVQ.	
Pfizer_susCD163v1	GENSVHQIQYREMNCLKADETDMLNPSGDHSEVQ.	

Figure 3A

Martinez/Needleman-Wunsch DNA Alignment
Minimum Match: 9; Gap Penalty: 1.10; Gap Length Penalty: 0.33.

Genbank AJ311716 porcine CD163 cDNA
Insert from plasmid pSport-susCD163d1

GTAATAATACAAGAAGATTAAATGGGCATAAACCTTGGATGGACAAACTCAGA

ATGGTGCTACTTGAAGACTCTGGATCTGCAGACTTTAGAAGATGTTCTGCCCATTAAGTCCCTTCACTTGGCTAGTGGCTGTTCTCAGTGCTGCT
ATGGTGCTACATGAAACTCTGGATCT-----

TGGTCACTAGTTCCTTGGAGGAAAGACAAAGAGCTGAGGCTAACGGGTGGTGAAGAACAGTGCTCTGGAGAGTGGAGGTGAAGTGCAGGAGGAGTG

GOGAACTGTGTGTAATAATGGCTGGGACATGGATGTGTCTCTGTGTGTTGTAGGCAGCTGGGATGCCAACTGCTATCAAGGCCACTGGATGGCTAAT

TTTAGTGCAGGTTCTGGACGCAATTGGATGGATCATGTTCTGTGTGGAGGGAATGAGTCAGCTCTCTGGGACTGCCAACTGATGGATGGGGAAGCATA

ACTGTACTCACCACAGGATGCTGGAGTAACCTGCTCAGATGGATCTGATTAGAGATGAGGCTGGTGAATGGAGGAAACGGTGTCTAGGAGGATAGA

AGTCGAATTTCAAGAGCGGTGGGGACAGTGTGTGATGATACTTCAACATAAATCATGCTTCTGTGTTTGTAAACCACTTGAATGTGGAGTGTCTGTC

AGTTTCTCTGTTTCACTTAATTTTGGAGAGGTTCTGGACCAATCTGGTTTGTATGATCTTGTATGCAATGGAAATGAGTCACTCTCTGGAGCTGCAAC

ATGAAGGATGGGGAAGCACAATTGGATCATGCTGAGGATGCTGGAGTGATTTCCTTAAATGGAGCAGACCTGAAACTGAGAGTGGTAGATGGACTAC
-----GCAGACCTGAAACTGAGAGTGGTAGATGGAGTCAC-----

TGAATGTTCAAGAGATTGGAGTGAATTCAGAGGAGAAATGGGGAACAATCTGTGATGATGGCTGGGATAGTATGATGCCCTGTGGCATGTAAAGCAA
TGAATGTTCAAGAGATTGGAGTGAATTCAGAGGAGAAATGGGGAACAATCTGTGATGATGGCTGGGATAGTATGATGCCCTGTGGCATGTAAAGCAA

CTGGAGTGTCCAACCTGCTGCTCACTGCCATTGGTGGAGTTAACGCCAGTGAAGGAACCTGGACACATTGGCTTGACAGTGTCTTGGCATGGACAGAGT
CTGGAGTGTCCAACCTGCTGCTCACTGCCATTGGTGGAGTTAACGCCAGTGAAGGAACCTGGACACATTGGCTTGACAGTGTCTTGGCATGGACAGAGT

CTGCTCTCTGGCAGTGTAGACACCATGAATGGGGAAGCATTATTGCAATCATAATGAAGATGCTGGTGTGACATGTTCTGATGGATCAGATCTGGAACT
CTGCTCTCTGGCAGTGTAGACACCATGAATGGGGAAGCATTATTGCAATCATAATGAAGATGCTGGTGTGACATGTTCTGATGGATCAGATCTGGAACT

4/24

Figure 3B

GAGACTTAAAGGTGGAGGCAGCCACTGTGCTGGGACAGTGGAGGTGGAAATTCAGAACTGGTAGGAAAAGTGTGTATAGAAAGCTGGGGCTGAAAGAA
GAGACTTAAAGGTGGAGGCAGCCACTGTGCTGGGACAGTGGAGGTGGAAATTCAGAACTGGTAGGAAAAGTGTGTATAGAAAGCTGGGGCTGAAAGAA
GCTGATGTGTTTGCAGGCAGCTGGGATGTGGATCTGCACTCAAAACATCATATCAAGTTTATTCCAAAACCAAGGCAACAAACACATGGCTGTTGTAA
GCTGATGTGTTTGCAGGCAGCTGGGATGTGGATCTGCACTCAAAACATCATATCAAGTTTATTCCAAAACCAAGGCAACAAACACATGGCTGTTGTAA
GCAGCTGTAAATGGAAATGAAACTTCTCTTTGGGACTGCAAGAAATGGCAGTGGGTGGACTTAGTGTGTATCACTATGACGAAGCCAAAATTACCTGCTC
GCAGCTGTAAATGGAAATGAAACTTCTCTTTGGGACTGCAAGAAATGGCAGTGGGTGGACTTAGTGTGTATCACTATGACGAAGCCAAAATTACCTGCTC
AGCCCAAGGAAACCCAGGCTGGTGGAGGGGACATTCCCTGCTCTGGTCTGTGTGAAGTACAACATGGAGACACGTGGGGCACCGTCTGTGATTCTGAC
AGCCCAAGGAAACCCAGGCTGGTGGAGGGGACATTCCCTGCTCTGGTCTGTGTGAAGTACAACATGGAGACACGTGGGGCACCGTCTGTGATTCTGAC
TTCTCTCTGGAGGCGGCCAGGTGCTGTGCAAGGAACTACAGTGGGCACTGTGTTTCCCTCTGGGGGAGCTCACTTTGGAGAGGAAGTGGACGA
TTCTCTCTGGAGGCGGCCAGGTGCTGTGCAAGGAACTACAGTGGGCACTGTGTTTCCCTCTGGGGGAGCTCACTTTGGAGAGGAAGTGGACGA
TCTGGGCTGAAGAATTCAGTGTGAGGGGCAGGAGTCCCACTTTCACTCTGCCAGTAGCACCCCGCCCTGACGGGACATGTAGCCACAGCAGGAGCT
TCTGGGCTGAAGAATTCAGTGTGAGGGGCAGGAGTCCCACTTTCACTCTGCCAGTAGCACCCCGCCCTGACGGGACATGTAGCCACAGCAGGAGCT
CGGCTAGTCTGCTCAAGATACACAAATCCGCTGGTGAATGGCAAGACCCCATGTGAAGGAAGAGTGGAGCTCAACTTCTTGGGTCTGGGGTCC
CGGCTAGTCTGCTCAAGATACACAAATCCGCTGGTGAATGGCAAGACCCCATGTGAAGGAAGAGTGGAGCTCAACTTCTTGGGTCTGGGGTCC
CTCTGCACTCTCACTGGGACATGGAAGATGCCATGTTTATGCCAGCAGCTTAAATGTGGAGTTGCCCTTCTATCCCGGAGGAGCACCTTTGGGA
CTCTGCACTCTCACTGGGACATGGAAGATGCCATGTTTATGCCAGCAGCTTAAATGTGGAGTTGCCCTTCTATCCCGGAGGAGCACCTTTGGGA
AAGGAAGTGAGCAGGCTCGAGGCACATGTTTCACTGCACTGGGACTGAGAGCACATGGGAGATTGTTCCGTCACTGCTCTGGGGCATCACTGTGTTT
AAGGAAGTGAGCAGGCTCGAGGCACATGTTTCACTGCACTGGGACTGAGAGCACATGGGAGATTGTTCCGTCACTGCTCTGGGGCATCACTGTGTTT
TTCAGGCAAGTGGCTCTGTAACTGCTCAAGGAAACCGAGTCAAGCACTATCCCGTCAATTATCATCTCTGGGACCCATCAAGCTCTATTATTCA
TTCAGGCAAGTGGCTCTGTAACTGCTCAAGGAAACCGAGTCAAGCACTATCCCGTCAATTATCATCTCTGGGACCCATCAAGCTCTATTATTCA
GAAGAAATGTGTTGCTGCAATAGGAGTGGTCAACTTCCCTGGTGGATGGAGGTGGTGGTGTGCTGGGAGAGTAGAGGTCTATCTGGGGCATCTT
GAAGAAATGTGTTGCTGCAATAGGAGTGGTCAACTTCCCTGGTGGATGGAGGTGGTGGTGTGCTGGGAGAGTAGAGGTCTATCTGGGGCATCTT
GGGGACCATCTGTGATGACAGCTGGGACCTGAATGATGCCATGTGTTGTGCAAAACAGCTGAGCTGTGGATGGGGCAATTAAATGCCATGGTTCTGCTCA
GGGGACCATCTGTGATGACAGCTGGGACCTGAATGATGCCATGTGTTGTGCAAAACAGCTGAGCTGTGGATGGGGCAATTAAATGCCATGGTTCTGCTCA
TTTTGGGGAAGGAACAGGGCCCAATTGGCTGGATGAGATAAATCTGTAATGGAAAGAATCTCATATTGGCAATGCCACTCATATGGTTGGGGCGGCAC
TTTTGGGGAAGGAACAGGGCCCAATTGGCTGGATGAGATAAATCTGTAATGGAAAGAATCTCATATTGGCAATGCCACTCATATGGTTGGGGCGGCAC

5/24

Figure 3C

AAATTGCAGGCATAAGGAGGATGCAGGAGTCATCTGCTCAGAGTTTCATGTCTCTGAGACTGATCAGTGAAAAACAGCAGAGAGACCTGTGCAAGGCGGCTGG
AAATTGCAGGCATAAGGAGGATGCAGGAGTCATCTGCTCAGAGTTTCATGTCTCTCAGACTGATCAGTGAAAAACAGCAGAGAGACCTGTGCAAGGCGGCTGG
AAAGTTTTTACAAAGGAGCTTGGGGCAGCGTTGGCAGGAATAGCATGTCTCCAGCCACAGTGGGGGTGGTATGCAGGCGAGCTGGGCTGTGCAGACAGAGG
AAAGTTTTTACAAAGGAGCTTGGGGCAGCGTTGGCAGGAATAGCATGTCTCCAGCCACAGTGGGGGTGGTATGCAGGCGAGCTGGGCTGTGCAGACAGAGG
GGACATCAGCCCTGCATCTTCAGACAGACAGTGTCTCAGGCACATGTGGGTGGACAATGTTCAAGTGTCTTAAGGACCTGACACACTATGGCAGTGGCCCC
GGACATCAGCCCTGCATCTTCAGACAGACAGTGTCTCAGGCACATGTGGGTGGACAATGTTCAAGTGTCTTAAGGACCTGACACACTATGGCAGTGGCCCC
TCATCTCCATGGAAGAGAGACTGGCCAGCCCTCAGAGGAGACATGATCACATGTGCCAACAAAATAAGACTTCAAGAGGAAACACTAATTGTTCTG
TCATCTCCATGGAAGAGAGACTGGCCAGCCCTCAGAGGAGACATGATCACATGTGCCAACAAAATAAGACTTCAAGAGGAAACACTAATTGTTCTG
GACGTGTGGAGATCTGGTACGGAGGTTCTTGGGGCACTGTGTGTGAAGACTCTGGGACCTTGAAGATGCTCAGGTGGTGTGGCGACAGCTGGGCTGTGG
GACGTGTGGAGATCTGGTACGGAGGTTCTTGGGGCACTGTGTGTGAAGACTCTGGGACCTTGAAGATGCTCAGGTGGTGTGGCGACAGCTGGGCTGTGG
CTCAGCTTTGGAGGCGAGAAAGAGCCCGCATTGGCCAGGGGACTGGGCCCATATGGCTCAATGAAGTGAAGTGCAAGGGGAATGAACCTCTCTTGTGG
CTCAGCTTTGGAGGCGAGAAAGAGCCCGCATTGGCCAGGGGACTGGGCCCATATGGCTCAATGAAGTGAAGTGCAAGGGGAATGAACCTCTCTTGTGG
GATTGTCTGCCAGATCTTGGGGCCACAGTGACTGTGGAACAAGGAGGATGCTGCTGTGAAGTGTCTCAGAAATTGCAAGAGCGCGAGATCCCTACATG
GATTGTCTGCCAGATCTTGGGGCCACAGTGACTGTGGAACAAGGAGGATGCTGCTGTGAAGTGTCTCAGAAATTGCAAGAGCGCGAGATCCCTACATG
CCACAGGTGCTCATCTTTGTTGCACTTGCAATCTTTGGGGTCAATCTGTGTGGCTGTCTCATGCGATTCTCTCAATTTGGACTCAGAGAGCGAGACAGAG
CCACAGGTGCTCATCTTTGTTGCACTTGCAATCTTTGGGGTCAATCTGTGTGGCTGTCTCATGCGATTCTCTCAATTTGGACTCAGAGAGCGAGACAGAG
GCAGCGGCTCTCAGTTTTCTCAGGAGGAGAGAATTCTGTCCATCAAAATTCATACCGGGAGATGAATCTTGCCCTGAAGGAGATGAACCGGATATGCTA
GCAGCGGCTCTCAGTTTTCTCAGGAGGAGAGAATTCTGTCCATCAAAATTCATACCGGGAGATGAATCTTGCCCTGAAGGAGATGAACCGGATATGCTA
AATCCCTCAGGAGACCACTCTGAAGTACAATGAAGAGGAAATGGGAATTATAACCTGGTGAGTTCAAGCTTTAAGATACCTTGATGAAGACCTGGACTA
AATCCCTCAGGAGACCACTCTGAAGTACAATGAAGAGGAAATGGGAATTATAACCTGGTGAGTTCAAGCTTTAAGATACCTTGATGAAGACCTGGACTA

TTGAATGAGCAAGATCTGCTCTTACACTGAAGATTACAATACAGTCTCTGTCTCTGTGATTCCAAAGACTGCTGTGTGAATTTCTAAAAAATGATT

GGTGAATGAGACTACTCAAGTTGTATGTAAGACTTTCAGGGGATTAAATAAAAAAGGATATTGCTGAAAAA

AAAAAAAAAA

147

Figure 4

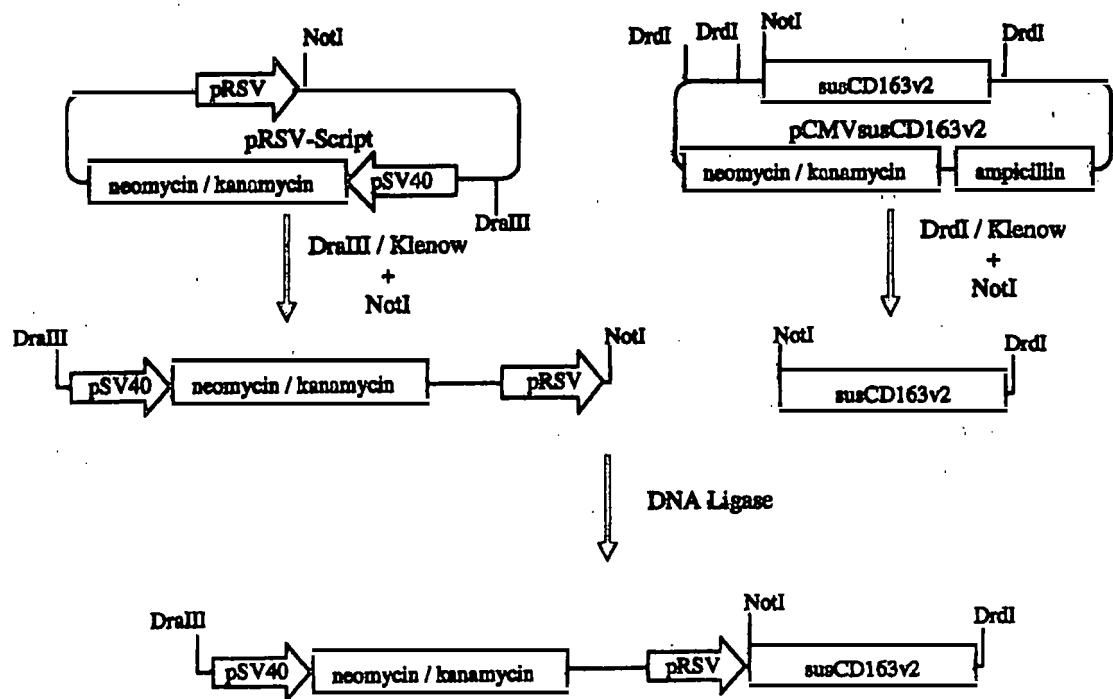


Figure 6

146

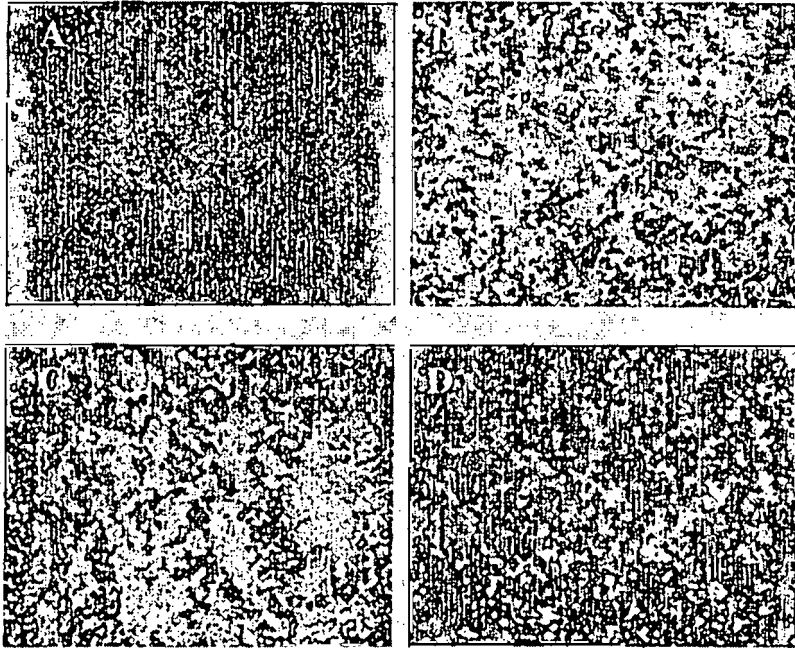


Figure 7

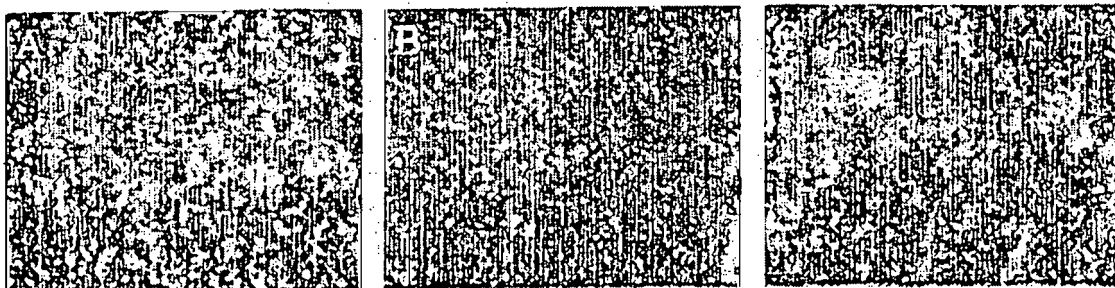


Figure 8

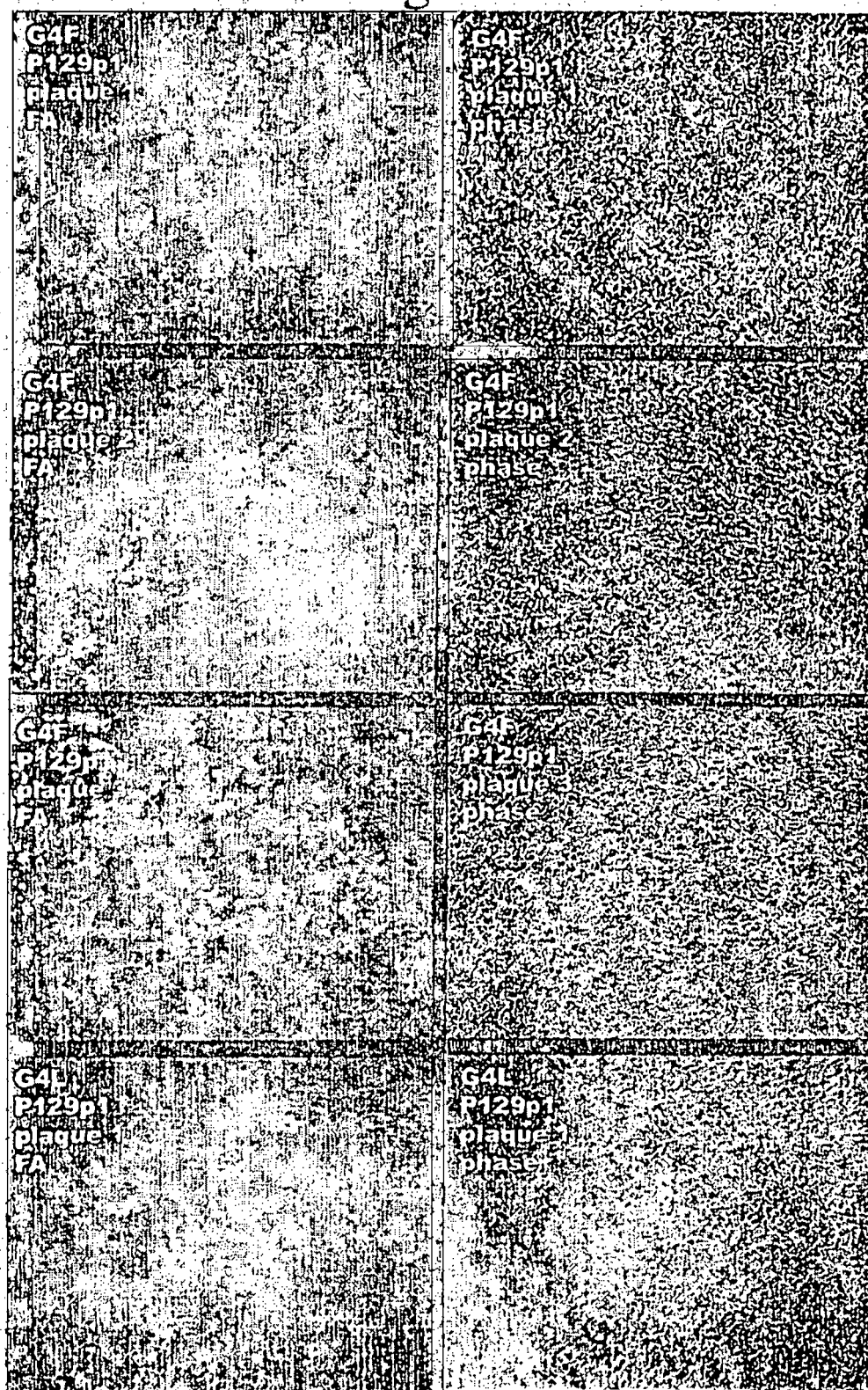
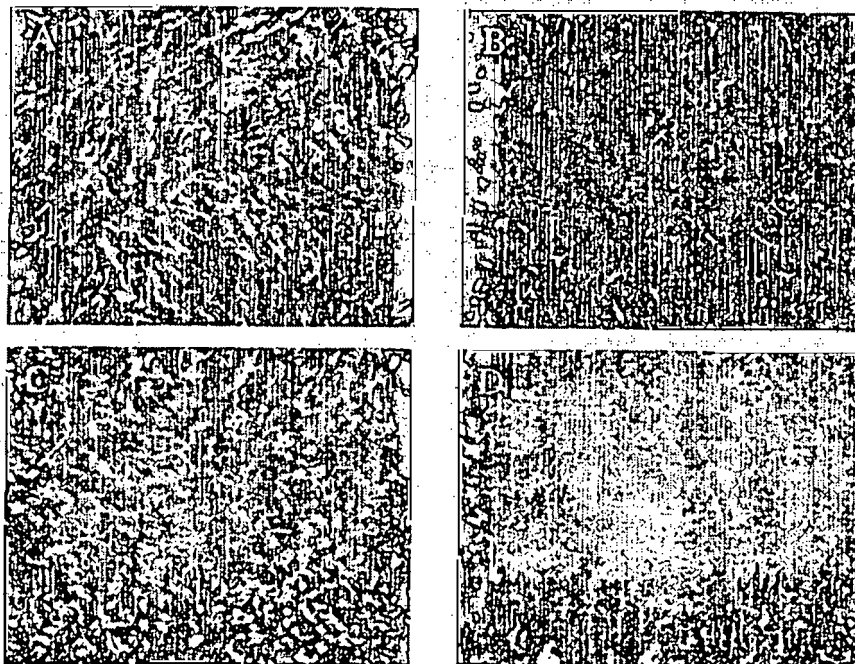


Figure 9



150

Figure 10

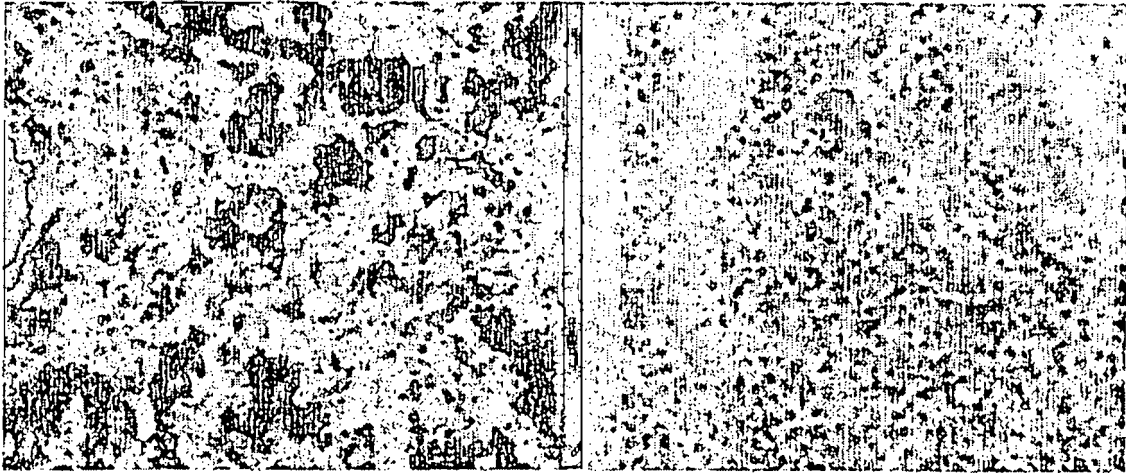
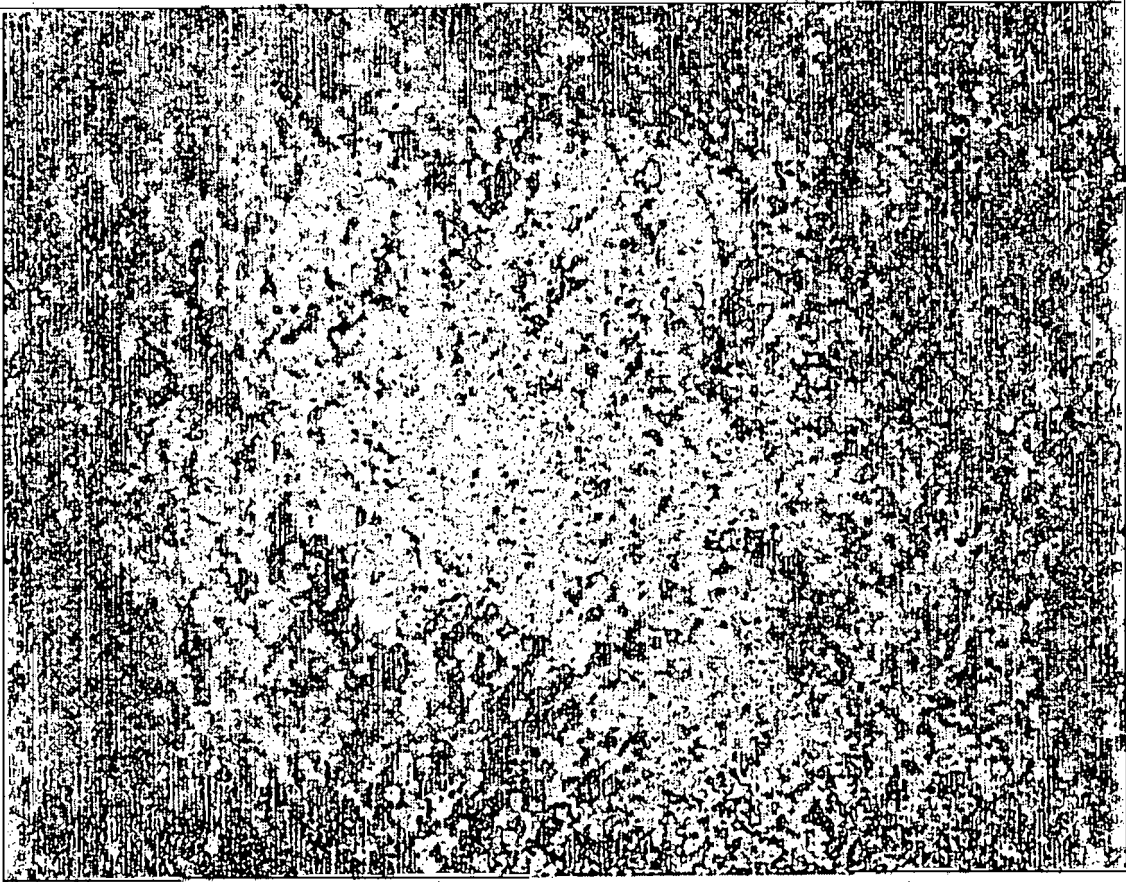
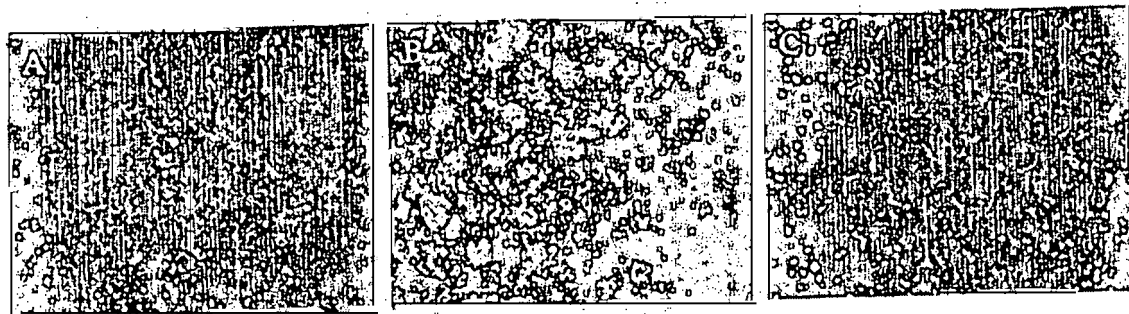


Figure 11



152

Figure 12



154

153

Figure 13

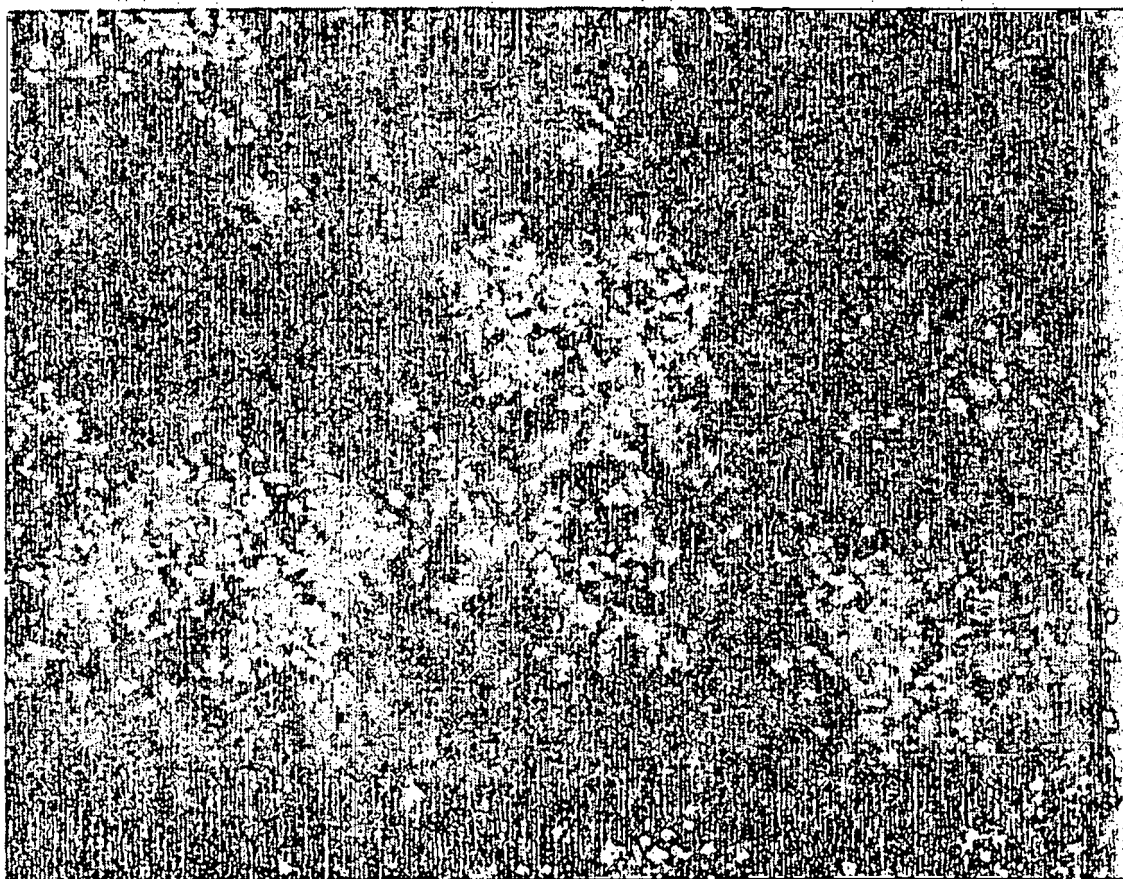
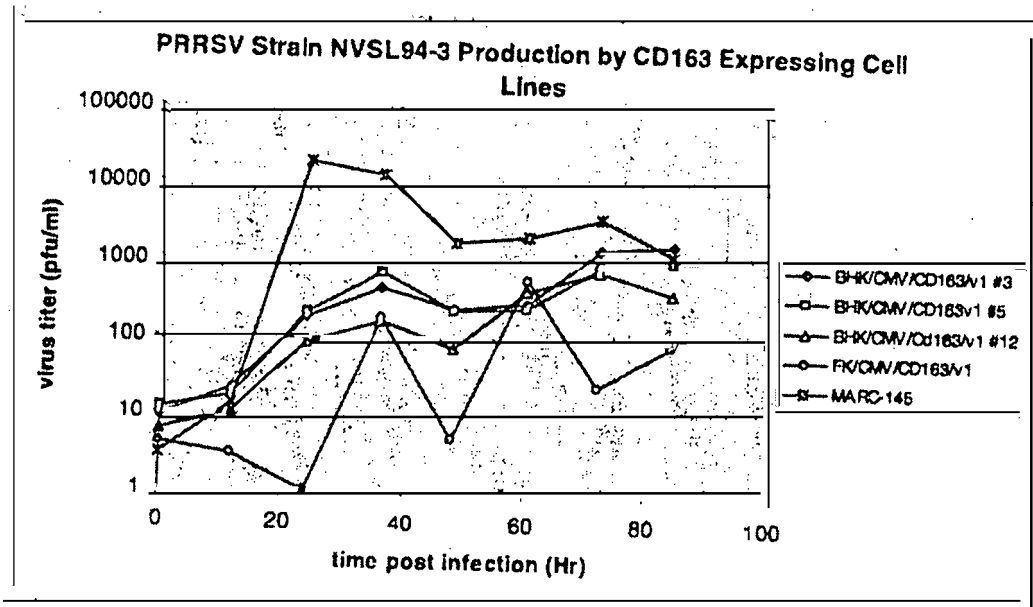


Figure 14

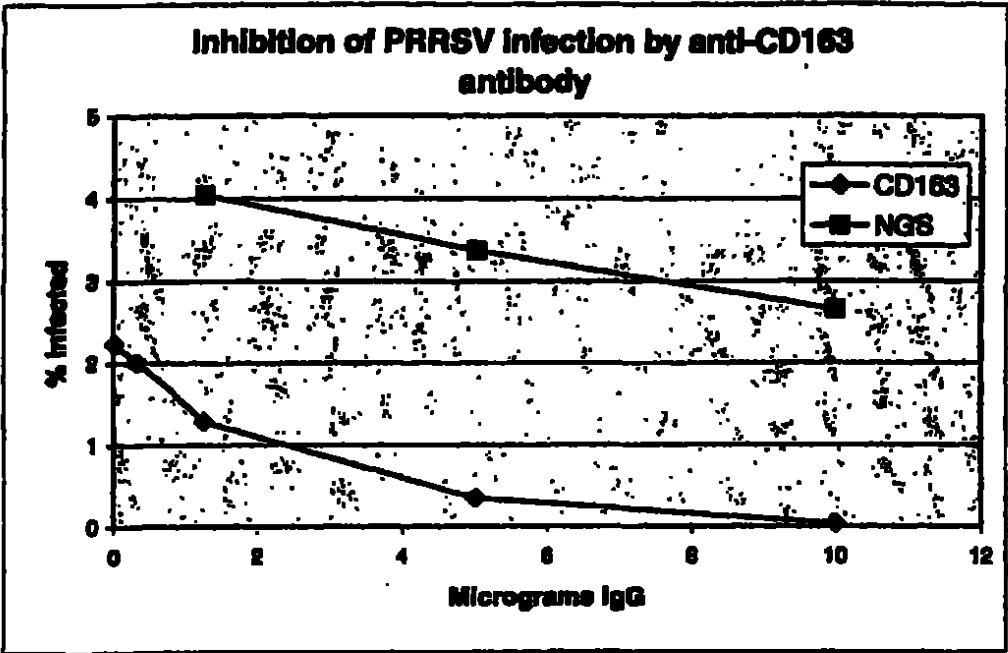
154



156

155

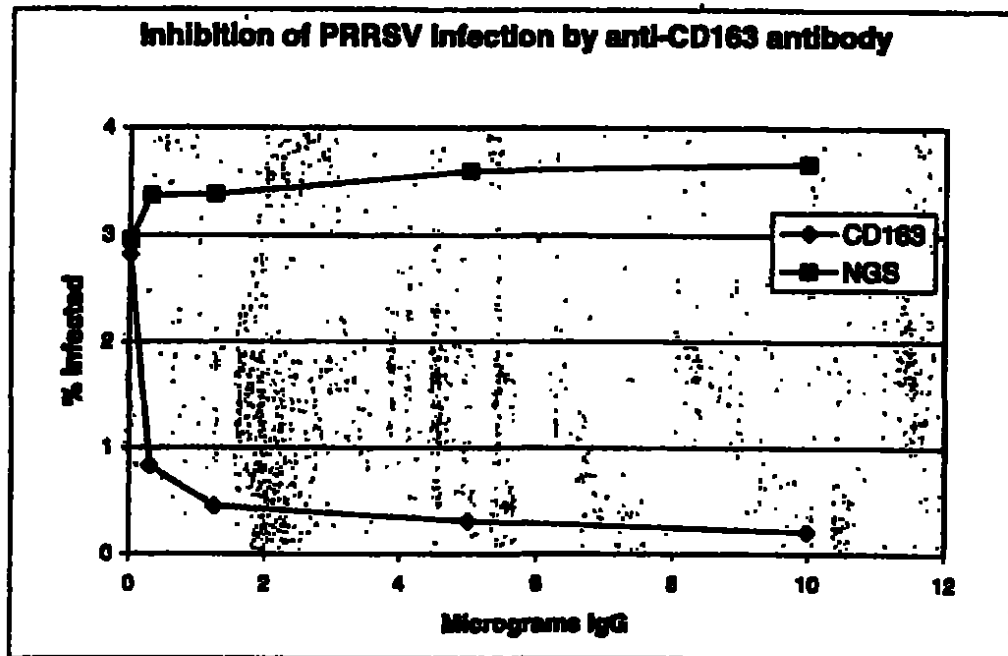
Figure 15



157

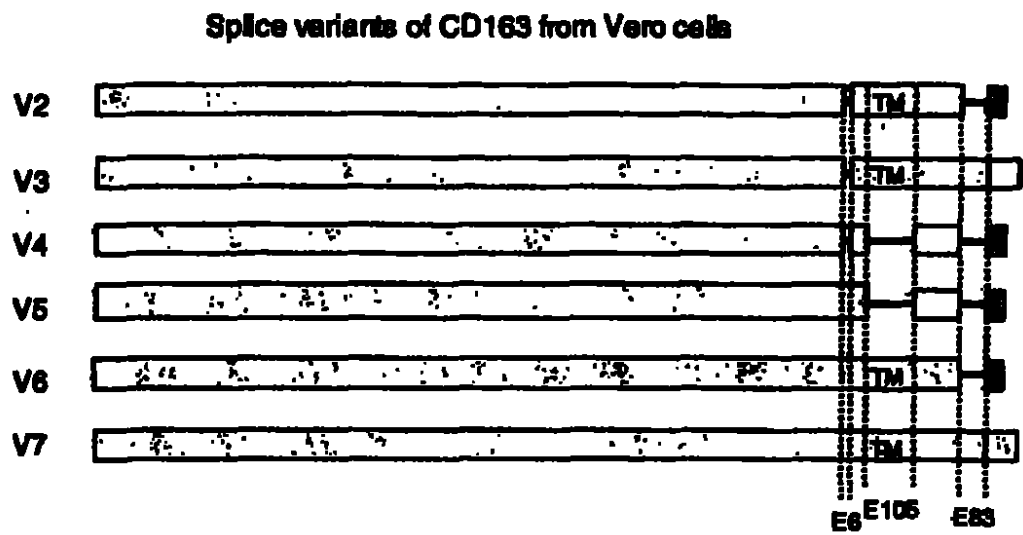
Figure 16

156



157

Figure 17



159

Figure 18

158

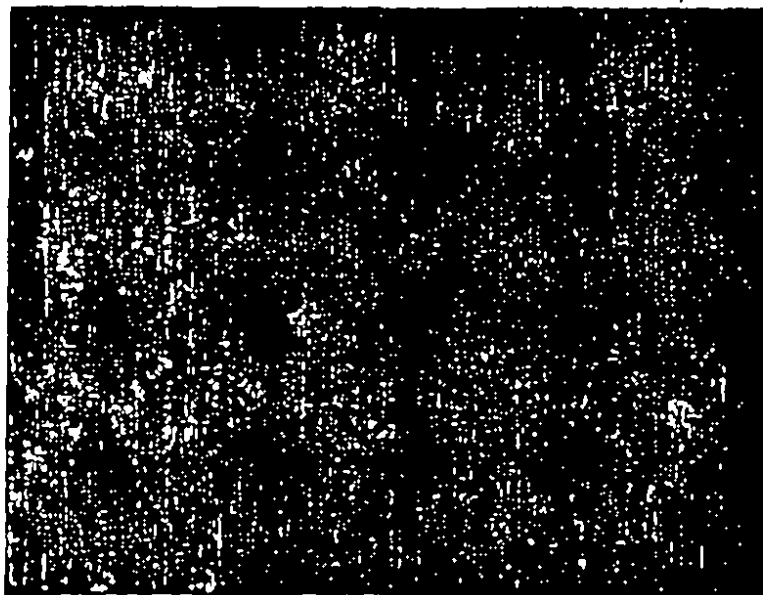
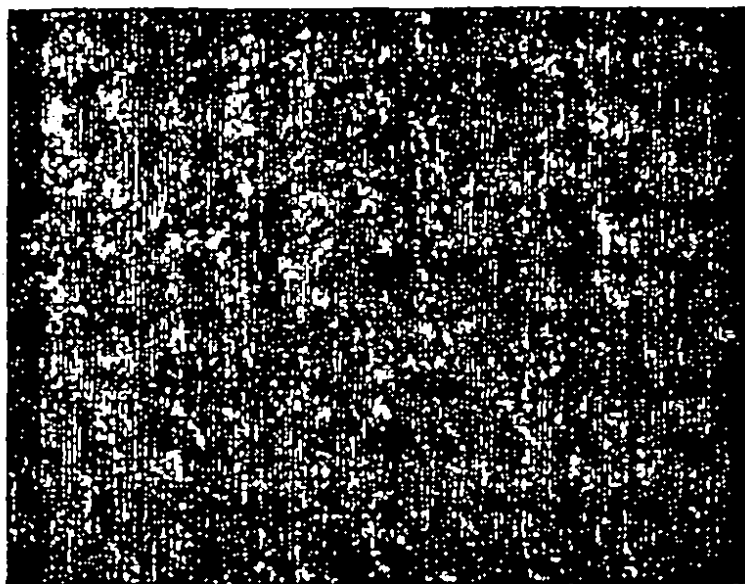


Figure 19

159



16f

Figure 20A

160

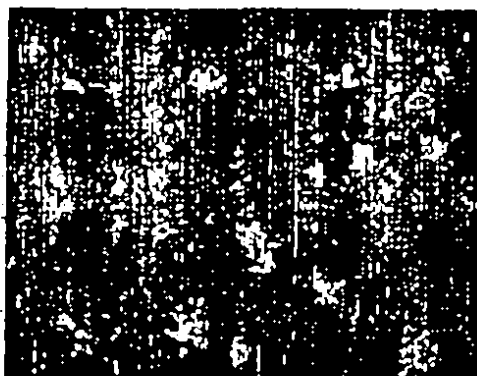


Figure 20B

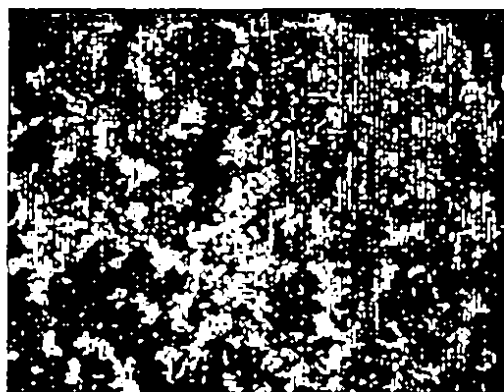


Figure 21A

161

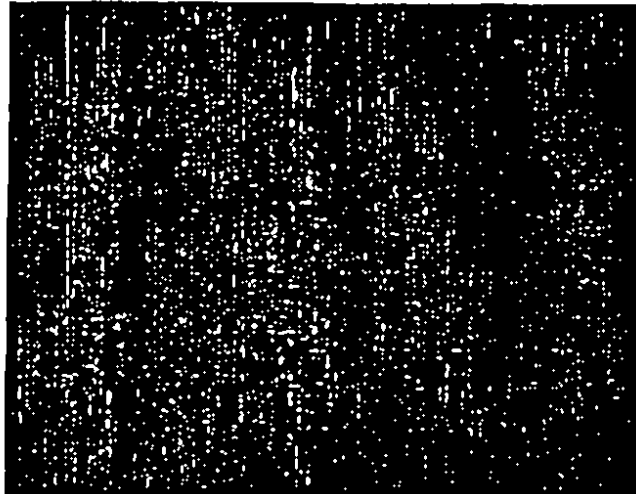
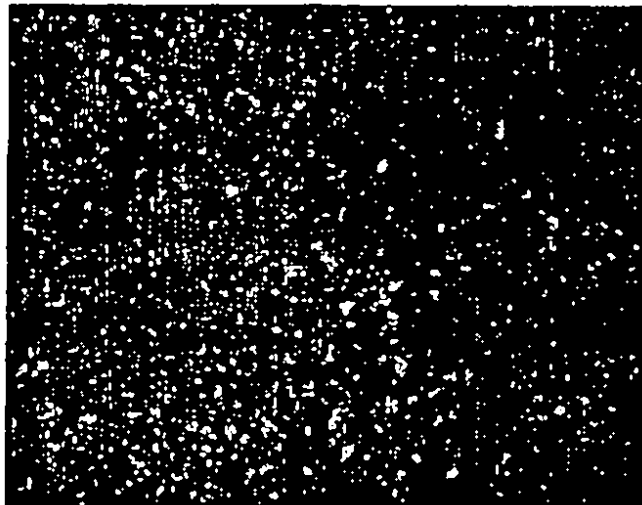


Figure 21B



163

162

SEQUENCE LISTING

<110> Calvert, Jay
Slade, David
Shields, Shelly
Welch, Jenny

<120> Cellular Permissivity Factor for Viruses, and Uses Thereof

<130> PC2202

<160> 40

<170> PatentIn version 3.2

<210> 1

<211> 2607

<212> DNA

<213> Sus scrofa

<400> 1

```

atggacaac tcgaatggt gtaaatgaa aactotggat ctgaagaact gaaactgaga      60
gtggtagatg gagtcactga atgttcagga agattggaag tgaattcca aggagaatgg      120
ggaacaatct gtgatgatgg ctgggatagt gatgatgcg ctgtggcatg taagaactg      180
ggatgtccaa ctgctgtcac tgccattggt cgagttaag ccagtggggg aactggacac      240
atttggcttg acagtgtttc ttgccatgga cccaggtctg ctctctggca gtgtagaaac      300
catgaatggg gaaagcatta ttgcaatcat aatgaagatg ctggtgtgac atgttctgat      360
ggatcagatc tggaaactgag acttaaaagt ggaaggagcc actgtgctgg gacagtggag      420
gtgguaattc agaaactggt aggaanaagt tgtgatagaa gctggggact gaaagaagct      480
gatgtggttt gcaggcagct gggatgtgga tctgcactca aaacatcata tcaagtttat      540
tccaaaacca aggcacaaa cacatggctg ttgttaagca gctgtaatgg aatgaaact      600
tctctttggg actgcaagaa ttggcagtgg ggtggactta gttgtgatca ctatgacgaa      660
gccaaaatta cctgtcagc ccacaggaaa ccagggtgg ttggggggg cattccctgc      720
tctggtcgtg ttgaagtaca acatggagac acgtggggca ccgtctgtga ttctgacttc      780
tctctggagg cggccagcgt gctgtgcagg gaactacagt gggcactgt ggtttccctc      840
ctggggggag ctcaatttgg agaaggaaat ggacagatct gggctgaaga attccagtgt      900
gaggggcaog agtccacct ttaactctgc ccagtagcac ccgcccctga cgggacatgt      960
agccacagca ggaactcgg cgtagtctgc tcaagataca cacaattccg ctggtgaaat      1020
ggcaagacc catgtgaagg aagagtggag ctcaacattc ttgggtctcg ggggtccctc      1080
tgcaactctc actgggacat ggaagatgcc catgttttat gccagcagct taatgtgga      1140
gttgoccttt ctatcccggg aggagcacct tttgggaaag gaagtgaaga ggtctggagg      1200

```

CGA

163

caaatgttcc actgaactgg gaatgagaag cacatgggag attgttccgt caatgctctg 1260
 ggogcatcac tctgtttcttc agggcaagtg gootctgtaa totgtctagg gaacacagat 1320
 cagacaatat cooogtguu ttcctcatcc tcggacccat caagctctat tatttcagaa 1380
 gaaatggtg ttgctgcat agggagtggc caacttggc tggctgatgg aggtggctgt 1440
 tgtgctggga gagttagagt ctatcatgag ggtctctggg gaacatctg tgatgaagc 1500
 tgggacctga atgatgccc tgtggtgtgc aaacagctga gctgtggatg ggcattaat 1560
 ggcactggtt ctgctcattt tgggaagga acagggcccc tttggctgga tgagataaac 1620
 tgtaantgaa aagaatctca tatttggcaa tgcacatcac atggttgggg ggggacaaat 1680
 tgcaggcata agggagatgc aggagtcato tgcctggagt tcatgtctct cagactgac 1740
 agtgaataca gaagagagac ctgtgcaggg cgtctgggaag ttttttaca cggagcttgg 1800
 ggcagcgttg gcaagaatag catgtctcca ggcacagtgg ggtggttatg caggcagctg 1860
 ggtgtgtag aagaggggga catcagccct gcatcttcag acagacagt gtccaggcac 1920
 atgtgggtgg acaatgttca gtgtcctaaa ggacctgaca ccctatggca gtgcccata 1980
 tctccatgga agaagagact ggcagcccc tcagaggaga catggatcac atgtgcaac 2040
 aaataagac ttaagaagg aaacataat tgttctggac gtgtggagat ctggtacgga 2100
 ggttcctggg gcaactgtgtg tgacgactcc tgggaacctg aagatgtca ggtggtgtgc 2160
 cgacagctgg gctgtggctc agctttggag gcaggaaaag aggcgcatt tggcagggg 2220
 actgggcoca tatggctcaa tgaagtgaag tgcaagggga atgaaactc cttgtgggat 2280
 tgtcctgcca gactctgggg ccacagtgac tgtggacaca aggagatgc tgcgtgacg 2340
 tgttcagaa ttgcaagag ccgagaatcc ctacatgoca caggtogctc atcttttgtt 2400
 gcaattgcaa tctttgggt cattctgttg gcctgtctca tgcattcct catttggact 2460
 cagaagcga gacagaggca gggctctca gttttctcag gaggagaga ttctgtccat 2520
 caattcaat accgggagat gaattcttgc ctgaagcag atgaacgga tatgctaat 2580
 cctcaggag accactctga agtaca 2607

<210> 2
 <211> 869
 <212> PRT
 <213> Sus scrofa

<400> 2

Met Asp Lys Leu Arg Met Val Leu His Glu Asn Ser Gly Ser Ala Asp
 1 5 10 15

Leu Lys Leu Arg Val Val Asp Gly Val Thr Glu Cys Ser Gly Arg Leu

165

164

20

25

30

Glu Val Lys Phe Gln Gly Glu Trp Gly Thr Ile Cys Asp Asp Gly Trp
35 40 45

Asp Ser Asp Asp Ala Ala Val Ala Cys Lys Gln Leu Gly Cys Pro Thr
50 55 60

Ala Val Thr Ala Ile Gly Arg Val Asn Ala Ser Glu Gly Thr Gly His
65 70 75 80

Ile Trp Leu Asp Ser Val Ser Cys His Gly His Glu Ser Ala Leu Trp
85 90 95

Gln Cys Arg His His Gln Trp Gly Lys His Tyr Cys Asn His Asn Glu
100 105 110

Asp Ala Gly Val Thr Cys Ser Asp Gly Ser Asp Leu Glu Leu Arg Leu
115 120 125

Lys Gly Gly Gly Ser His Cys Ala Gly Thr Val Glu Val Glu Ile Gln
130 135 140

Lys Leu Val Gly Lys Val Cys Asp Arg Ser Trp Gly Leu Lys Glu Ala
145 150 155 160

Asp Val Val Cys Arg Gln Leu Gly Cys Gly Ser Ala Leu Lys Thr Ser
165 170 175

Tyr Gln Val Tyr Ser Lys Thr Lys Ala Thr Asn Thr Trp Leu Phe Val
180 185 190

Ser Ser Cys Asn Gly Asn Glu Thr Ser Leu Trp Asp Cys Lys Asn Trp
195 200 205

Gln Trp Gly Gly Leu Ser Cys Asp His Tyr Asp Glu Ala Lys Ile Thr
210 215 220

Cys Ser Ala His Arg Lys Pro Arg Leu Val Gly Gly Asp Ile Pro Cys
225 230 235 240

Ser Gly Arg Val Glu Val Gln His Gly Asp Thr Trp Gly Thr Val Cys
245 250 255

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

165

Gln Cys Gly Thr Val Val Ser Leu Leu Gly Gly Ala His Phe Gly Glu
275 280 285

Gly Ser Gly Gln Ile Trp Ala Glu Glu Phe Gln Cys Glu Gly His Glu
290 295 300

Ser His Leu Ser Leu Cys Pro Val Ala Pro Arg Pro Asp Gly Thr Cys
305 310 315 320

Ser His Ser Arg Asp Val Gly Val Val Cys Ser Arg Tyr Thr Gln Ile
325 330 335

Arg Leu Val Asn Gly Lys Thr Pro Cys Glu Gly Arg Val Glu Leu Asn
340 345 350

Ile Leu Gly Ser Trp Gly Ser Leu Cys Asn Ser His Trp Asp Met Glu
355 360 365

Asp Ala His Val Leu Cys Gln Gln Leu Lys Cys Gly Val Ala Leu Ser
370 375 380

Ile Pro Gly Gly Ala Pro Phe Gly Lys Gly Ser Glu Gln Val Trp Arg
385 390 395 400

His Met Phe His Cys Thr Gly Thr Glu Lys His Met Gly Asp Cys Ser
405 410 415

Val Thr Ala Leu Gly Ala Ser Leu Cys Ser Ser Gly Gln Val Ala Ser
420 425 430

Val Ile Cys Ser Gly Asn Gln Ser Gln Thr Leu Ser Pro Cys Asn Ser
435 440 445

Ser Ser Ser Asp Pro Ser Ser Ser Ile Ile Ser Glu Glu Asn Gly Val
450 455 460

Ala Cys Ile Gly Ser Gly Gln Leu Arg Leu Val Asp Gly Gly Gly Arg
465 470 475 480

Cys Ala Gly Arg Val Glu Val Tyr His Glu Gly Ser Trp Gly Thr Ile
485 490 495

Cys Asp Asp Ser Trp Asp Leu Asn Asp Ala His Val Val Cys Lys Gln
500 505 510

167

166

Leu Ser Cys Gly Trp Ala Ile Asn Ala Thr Gly Ser Ala His Phe Gly
515 520 525

Glu Gly Thr Gly Pro Ile Trp Leu Asp Glu Ile Asn Cys Asn Gly Lys
530 535 540

Glu Ser His Ile Trp Gln Cys His Ser His Gly Trp Gly Arg His Asn
545 550 555 560

Cys Arg His Lys Glu Asp Ala Gly Val Ile Cys Ser Glu Phe Met Ser
565 570 575

Leu Arg Leu Ile Ser Glu Asn Ser Arg Glu Thr Cys Ala Gly Arg Leu
580 585 590

Glu Val Phe Tyr Asn Gly Ala Trp Gly Ser Val Gly Lys Asn Ser Met
595 600 605

Ser Pro Ala Thr Val Gly Val Val Cys Arg Gln Leu Gly Cys Ala Asp
610 615 620

Arg Gly Asp Ile Ser Pro Ala Ser Ser Asp Lys Thr Val Ser Arg His
625 630 635 640

Met Trp Val Asp Asn Val Gln Cys Pro Lys Gly Pro Asp Thr Leu Trp
645 650 655

Gln Cys Pro Ser Ser Pro Trp Lys Lys Arg Leu Ala Ser Pro Ser Glu
660 665 670

Glu Thr Trp Ile Thr Cys Ala Asn Lys Ile Arg Leu Gln Glu Gly Asn
675 680 685

Thr Asn Cys Ser Gly Arg Val Glu Ile Trp Tyr Gly Gly Ser Trp Gly
690 695 700

Thr Val Cys Asp Asp Ser Trp Asp Leu Glu Asp Ala Gln Val Val Cys
705 710 715 720

Arg Gln Leu Gly Cys Gly Ser Ala Leu Glu Ala Gly Lys Glu Ala Ala
725 730 735

Phe Gly Gln Gly Thr Gly Pro Ile Trp Leu Asn Glu Val Lys Cys Lys
740 745 750

168

167

Gly Asn Glu Thr Ser Leu Trp Asp Cys Pro Ala Arg Ser Trp Gly His
755 760 765

Ser Asp Cys Gly His Lys Glu Asp Ala Ala Val Thr Cys Ser Glu Ile
770 775 780

Ala Lys Ser Arg Glu Ser Leu His Ala Thr Gly Arg Ser Ser Phe Val
785 790 795 800

Ala Leu Ala Ile Phe Gly Val Ile Leu Leu Ala Cys Leu Ile Ala Phe
805 810 815

Leu Ile Trp Thr Gln Lys Arg Arg Gln Arg Gln Arg Leu Ser Val Phe
820 825 830

Ser Gly Gly Glu Asn Ser Val His Gln Ile Gln Tyr Arg Glu Met Asn
835 840 845

Ser Cys Leu Lys Ala Asp Glu Thr Asp Met Leu Asn Pro Ser Gly Asp
850 855 860

His Ser Glu Val Gln
865

<210> 3
<211> 3400
<212> DNA
<213> Bus scrofa

<400> 3
atggtgctac ttgaagactc tggatctgca gaatttagaa gatgttctgc ocatttaagt 50
tacttcactt ttgctgtagt cgtgtttctc agtgcctgct tggtcactag ttctcttgga 120
ggaaaagaca aggagctgag gctaaccggt ggtgaaaaca agtgcctctg agagctggag 180
gtgaaagtgc aggaggagtg gggnaactgt tgtaataatg gotgggacat ggtgtggtc 240
tctgttgttt gtaggcagct gggatgtcca actgctatca aagccactgg atgggctaat 300
tttagtgcag gttctggacg catttggtat gatcatgttt cttgtogagg gaatgagtca 360
gctctctggg actgcaaca tgatggatgg ggaagcata actgtactca ocacaggat 420
gctggagtaa cctgctcaga tggatctgat ttagagatga ggtggtgaa tggaggaaac 480
cgtgcttag gaagaataga agtcaattt caagagcgtt ggggaacagt gtgtgatgat 540
aacttcaaca taatcatgc ttctgtggtt tgtaaacac ttgaatgtg agtgcctgc 600
agttctctg gttcagctaa ttttgagaa gttctggac caatctggtt tgatgatctt 660
gtatgcaatg gaatgagtc agctctctg aactgcaac atgaaggatg gggaaagcac 720

169

168

aattgogato atgotgagga tgotggagt atttgottan atggagoga ootgaaactg	780
agagtggtag atggactcac tgaatgttca ggaagattgg aagtgaatt ocaaggagaa	840
tggggaacaa totgtgatga tggctgggat agtgatgatg oegotgtggo atgtaagcaa	900
ctgggatgtc caactgtgt caotgocatt ggtogagtta aogocagtga gggaaotgga	960
cacatttggc ttgacagtgt ttottgocat ggaacogagt otgotctotg gcagtgtaga	1020
cacatgnaat ggggaagcaa ttattgocat cataatgaag atgotggtgt gacatgttct	1080
gatggatcag atotggaaot gagacttana ggtggaggca gccactgtgc tgggaacagt	1140
gaggtggaaa ttacagaact ggtaggaaaa gtgtgtgata gaagctgggg actgaagaa	1200
gctgatgtgg tttgcaggca gctgggatgt ggtctgcac tcaaaacatc atatcaagtt	1260
tattocaaa ccaaggcaac aaacacatgg otgtttgtan gcagctgtan tggaaatgaa	1320
acttctcttt gggactgcaa gaattggcag tgggtggac ttagttgtga tcaactatgac	1380
gaagccaaa ttacctgtc agccacaggg aaacccaggg tggttggagg ggaattccc	1440
tgotctgtgc gtgttgaaat acaaatgga gacactggg gcacgtctg tgattctgac	1500
ttctctctgg aggcggccag ogtgctgtgc aggaactac agtgoggcac tgtggtttoc	1560
ctctggggg gagctcactt tggagaagga agtggacaga tctgggctga agaattccag	1620
tgtgaggggo acgagtcoca cctttcactc tgcccagtag caccocgcc tgacgggaca	1680
tgtagccaca gcaggagct cggcgtagt tgctcaagat acacacaaat coctttgggt	1740
aatggcaaga ccccatgtga aggaagagt gagctcaaca ttcttgggtc ctgggggtcc	1800
ctctgaaact ctoactggga catggaagat gcccatgttt tatgocagca gcttaantgt	1860
ggagttgcc tttctatccc gggaggagca cttttggga aaggaaatga gcaggctctg	1920
aggcacatgt ttactgcac tgggactgag aagcacatgg gagattgttc ogtcaotgct	1980
ctgggogcat oactctgtt ttoagggcaa gtggootctg taatctgtc agggaaocag	2040
agtcagacac tatcccggt caattcatca tctcggacc catcaagctc tattatttca	2100
gaagaaagt gtgttgctg catagggagt ggtcaactc gootggtcga tggaggtggt	2160
cgttgtgctg ggagagtaga ggtctatcct ggggcacoc tgggcaocat ctgtgatgac	2220
agctgggaco tgaatgatgc ccctgtgtg tgcaaacagc tgagctgtgg atgggccatt	2280
aatgccactg gttctgtca ttttgggaa ggaacagggc ccatttggct ggaagagata	2340
aactgtaatg gaaagaatc tcatatttgg caatgccact cacatggtt ggggoggcac	2400
aattgcaggc aaaggagga tgcaggagtc atctgtcag agttcatgtc tctgagactg	2460
atcagtgaan acagcagaga gacctgtca gggcgctag aagtttttta caacggagct	2520

170

169

tggggcagcg ttggcaggaa tagcatgtct ccagccacag tgggggtggt atgcaggcag 2580
 ctgggtctgt cagacagagg ggacatcagc octgcatctt cagacaagac agtgtccagg 2640
 cacatgtggg tggacaatgt tcagtgtcct aaaggacctg acacactatg gcagtgcacc 2700
 tcatctccat ggaagaagag actggccagc cccctcaggg agcactggat cacatgtgac 2760
 aacaaataa gacttcaaa aggaacact aattgtttct gcagtgtgga gatctggtaa 2820
 ggaggttctt ggggcactgt gtgtgacgac tccctgggac ttgaagatgc tcaggtgggt 2880
 tggccacagc tgggtctgtg ctacgtcttg gaggcaggaa aagagccgcg atttggccag 2940
 gggactgggc ccatatggct caatgaagt aagtgcaggg ggaatgaac ctccctgtgt 3000
 gattgtcttg ccagatcttg gggccacagt gactgtggac acaaggagga tgcgtctgtg 3060
 acgtgtcag aaattgcaa gagccagaa tccctacatg ccacaggtcg ctcatctttt 3120
 gttgcacttg caattcttgg ggtcattctg ttggcctgtc tcatcgcatt cctcatttgg 3180
 actcagagc gaagacagag gcagggctc tcagttttct caggaggaga gaattctgtc 3240
 catcaattc aatccggga gatgaattct tgcctgaag cagatgaac ggaatatgca 3300
 aatccctcag gagaccactc tgaagtaca tgaagaggaa aatgggaatt ataacctgtt 3360
 gatttcagcc tttgaagata ctgtatgaag aactggata 3400

<210> 4
 <211> 1110
 <212> PRT
 <213> Sus scrofa

<400> 4

Met Val Leu Leu Glu Asp Ser Gly Ser Ala Asp Phe Arg Arg Cys Ser
1 5 10 15

Ala His Leu Ser Ser Phe Thr Phe Ala Val Val Ala Val Leu Ser Ala
20 25 30

Cys Leu Val Thr Ser Ser Leu Gly Gly Lys Asp Lys Glu Leu Arg Leu
35 40 45

Thr Gly Gly Glu Asn Lys Cys Ser Gly Arg Val Glu Val Lys Val Gln
50 55 60

Glu Glu Trp Gly Thr Val Cys Asn Asn Gly Trp Asp Met Asp Val Val
65 70 75 80

Ser Val Val Cys Arg Gln Leu Gly Cys Pro Thr Ala Ile Lys Ala Thr
85 90 95

177

170

Gly Trp Ala Asn Phe Ser Ala Gly Ser Gly Arg Ile Trp Met Asp His
100 105 110

Val Ser Cys Arg Gly Asn Glu Ser Ala Leu Trp Asp Cys Lys His Asp
115 120 125

Gly Trp Gly Lys His Asn Cys Thr His Gln Gln Asp Ala Gly Val Thr
130 135 140

Cys Ser Asp Gly Ser Asp Leu Glu Met Arg Leu Val Asn Gly Gly Asn
145 150 155 160

Arg Cys Leu Gly Arg Ile Glu Val Lys Phe Gln Gln Arg Trp Gly Thr
165 170 175

Val Cys Asp Asp Asn Phe Asn Ile Asn His Ala Ser Val Val Cys Lys
180 185 190

Gln Leu Glu Cys Gly Ser Ala Val Ser Phe Ser Gly Ser Ala Asn Phe
195 200 205

Gly Glu Gly Ser Gly Pro Ile Trp Phe Asp Asp Leu Val Cys Asn Gly
210 215 220

Asn Glu Ser Ala Leu Trp Asn Cys Lys His Glu Gly Trp Gly Lys His
225 230 235 240

Asn Cys Asp His Ala Glu Asp Ala Gly Val Ile Cys Leu Asn Gly Ala
245 250 255

Asp Leu Lys Leu Arg Val Val Asp Gly Leu Thr Glu Cys Ser Gly Arg
260 265 270

Leu Glu Val Lys Phe Gln Gly Glu Trp Gly Thr Ile Cys Asp Asp Gly
275 280 285

Trp Asp Ser Asp Asp Ala Ala Val Ala Cys Lys Gln Leu Gly Cys Pro
290 295 300

Thr Ala Val Thr Ala Ile Gly Arg Val Asn Ala Ser Glu Gly Thr Gly
305 310 315 320

His Ile Trp Leu Asp Ser Val Ser Cys His Gly His Glu Ser Ala Leu
325 330 335

126

171

Trp Gln Cys Arg His His Glu Trp Gly Lys His Tyr Cys Asn His Asn
340 345 350

Glu Asp Ala Gly Val Thr Cys Ser Asp Gly Ser Asp Leu Glu Leu Arg
355 360 365

Leu Lys Gly Gly Gly Ser His Cys Ala Gly Thr Val Glu Val Glu Ile
370 375 380

Gln Lys Leu Val Gly Lys Val Cys Asp Arg Ser Trp Gly Leu Lys Glu
385 390 395 400

Ala Asp Val Val Cys Arg Gln Leu Gly Cys Gly Ser Ala Leu Lys Thr
405 410 415

Ser Tyr Gln Val Tyr Ser Lys Thr Lys Ala Thr Asn Thr Trp Leu Phe
420 425 430

Val Ser Ser Cys Asn Gly Asn Glu Thr Ser Leu Trp Asp Cys Lys Asn
435 440 445

Trp Gln Trp Gly Gly Leu Ser Cys Asp His Tyr Asp Glu Ala Lys Ile
450 455 460

Thr Cys Ser Ala His Arg Lys Pro Arg Leu Val Gly Gly Asp Ile Pro
465 470 475 480

Cys Ser Gly Arg Val Glu Val Gln His Gly Asp Thr Trp Gly Thr Val
485 490 495

Cys Asp Ser Asp Phe Ser Leu Glu Ala Ala Ser Val Leu Cys Arg Glu
500 505 510

Leu Gln Cys Gly Thr Val Val Ser Leu Leu Gly Gly Ala His Phe Gly
515 520 525

Glu Gly Ser Gly Gln Ile Trp Ala Glu Glu Phe Gln Cys Glu Gly His
530 535 540

Glu Ser His Leu Ser Leu Cys Pro Val Ala Pro Arg Pro Asp Gly Thr
545 550 555 560

Cys Ser His Ser Arg Asp Val Gly Val Val Cys Ser Arg Tyr Thr Gln
565 570 575

Ile Arg Leu Val Asn Gly Lys Thr Pro Cys Glu Gly Arg Val Glu Leu

123

172

580

585

590

Asn Ile Leu Gly Ser Trp Gly Ser Leu Cys Asn Ser His Trp Asp Met
595 600 605

Glu Asp Ala His Val Leu Cys Gln Gln Leu Lys Cys Gly Val Ala Leu
610 615 620

Ser Ile Pro Gly Gly Ala Pro Phe Gly Lys Gly Ser Glu Gln Val Trp
625 630 635 640

Arg His Met Phe His Cys Thr Gly Thr Glu Lys His Met Gly Asp Cys
645 650 655

Ser Val Thr Ala Leu Gly Ala Ser Leu Cys Ser Ser Gly Gln Val Ala
660 665 670

Ser Val Ile Cys Ser Gly Asn Gln Ser Gln Thr Leu Ser Pro Cys Asn
675 680 685

Ser Ser Ser Ser Asp Pro Ser Ser Ser Ile Ile Ser Glu Glu Ser Gly
690 695 700

Val Ala Cys Ile Gly Ser Gly Gln Leu Arg Leu Val Asp Gly Gly Gly
705 710 715 720

Arg Cys Ala Gly Arg Val Glu Val Tyr Pro Gly Ala Ser Trp Gly Thr
725 730 735

Ile Cys Asp Asp Ser Trp Asp Leu Asn Asp Ala His Val Val Cys Lys
740 745 750

Gln Leu Ser Cys Gly Trp Ala Ile Asn Ala Thr Gly Ser Ala His Phe
755 760 765

Gly Glu Gly Thr Gly Pro Ile Trp Leu Asp Glu Ile Asn Cys Asn Gly
770 775 780

Lys Glu Ser His Ile Trp Gln Cys His Ser His Gly Trp Gly Arg His
785 790 795 800

Asn Cys Arg His Lys Glu Asp Ala Gly Val Ile Cys Ser Glu Phe Met
805 810 815

Ser Leu Arg Leu Ile Ser Glu Asn Ser Arg Glu Thr Cys Ala Gly Arg
820 825 830

124

A3

Leu Glu Val Phe Tyr Asn Gly Ala Trp Gly Ser Val Gly Arg Asn Ser
838 840 845

Met Ser Pro Ala Thr Val Gly Val Val Cys Arg Gln Leu Gly Cys Ala
850 855 860

Asp Arg Gly Asp Ile Ser Pro Ala Ser Ser Asp Lys Thr Val Ser Arg
865 870 875 880

His Met Trp Val Asp Asn Val Gln Cys Pro Lys Gly Pro Asp Thr Leu
885 890 895

Trp Gln Cys Pro Ser Ser Pro Trp Lys Lys Arg Leu Ala Ser Pro Ser
900 905 910

Glu Glu Thr Trp Ile Thr Cys Ala Asn Lys Ile Arg Leu Gln Glu Gly
915 920 925

Asn Thr Asn Cys Ser Gly Arg Val Glu Ile Trp Tyr Gly Gly Ser Trp
930 935 940

Gly Thr Val Cys Asp Asp Ser Trp Asp Leu Glu Asp Ala Gln Val Val
945 950 955 960

Cys Arg Gln Leu Gly Cys Gly Ser Ala Leu Glu Ala Gly Lys Glu Pro
965 970 975

Ala Phe Gly Gln Gly Thr Gly Pro Ile Trp Leu Asn Glu Val Lys Cys
980 985 990

Lys Gly Asn Glu Pro Ser Leu Trp Asp Cys Pro Ala Arg Ser Trp Gly
995 1000 1005

His Ser Asp Cys Gly His Lys Glu Asp Ala Ala Val Thr Cys Ser
1010 1015 1020

Glu Ile Ala Lys Ser Arg Gln Ser Leu His Ala Thr Gly Arg Ser
1025 1030 1035

Ser Phe Val Ala Leu Ala Ile Phe Gly Val Ile Leu Leu Ala Cys
1040 1045 1050

Leu Ile Ala Phe Leu Ile Trp Thr Gln Lys Arg Arg Gln Arg Gln
1055 1060 1065

175

174

Arg Leu Ser Val Phe Ser Gly Gly Glu Asn Ser Val His Gln Ile
1070 1075 1080

Gln Tyr Arg Glu Met Asn Ser Cys Leu Lys Ala Asp Glu Thr Asp
1085 1090 1095

Met Leu Asn Pro Ser Gly Asp His Ser Glu Val Gln
1100 1105 1110

<210> 5
<211> 2930
<212> DNA
<213> Sus scrofa

<400> 5
gtantaatcac aagaagattt aatgggcat aaaaacttgg atggacaaa ctcaaatgg 60
tgctacatga aaactctgga tctgcagacc tgaactgg agtggtagat ggagtcactg 120
aatgttcagg aagattggaa gtgaattcc aaggagaatg ggaacaaac tgtgatgatg 180
gctgggatag tgatgatgcc gctgtggcat gtaagcaact gggatgtcca actgctgtca 240
ctgccattgg tcaagttaac gccagtggg gaactggaca catttggctt gacagtgttt 300
cttgccatgg acacgagtct gctctctggc agtgtagaca coactgaatgg ggaagcatt 360
attgaantca taatgaagat gctgggtgtg catgtttctg tggabcagat ctggaactga 420
gacttaaggg tggaggcagc cactgtgctg ggaactggga ggtggaaatt cagaactgg 480
taggaaaagt gtgtgataga agctggggac tgaagaagc tgatgtggtt tgcaggcago 540
tgggatgtgg atctgcactc aaacatcat atcaagttta ttocaaaacc aaggcaacaa 600
acacatggct gtttgtangc agctgtaatg gaantgaac ttctcttttg gactgcaaga 660
attggcagtg ggggtggactt agttgtgatc actatgaaga agccaaaatt adctgctcag 720
cccacaggaa acccaggctg gttggagggg acattccctg ctctggtcgt gttgaagtac 780
aacatggaga cactggggc accgtctgtg atctgactt ctctctggag ggggcagcg 840
tgctgtgcag ggaactacag tgcggcactg tggtttccct cctgggggga gctcaatttg 900
gagaaggaa tggacagatc tgggctgaag aattccagt tggggggcac gactccacc 960
tttcaactctg ccagtagca cccgcctctg accggacatg tagccacagc agggacgtcg 1020
gcgtagtctg ctcaagatac acacaaatcc gcttgggtga tggcaagacc ccatgtgaag 1080
gaagagtggg gctcaacatt cttgggtcct gggggtccct ctgcaactct caatgggaca 1140
tggaaagtgc ccatgtttta tgcagcagc ttaaatgtgg agttgcctt tctatccggg 1200
gaggagcacc ttttgggaaa ggaagtggc aggtctggag gcacatgttt cactgcactg 1260

ggactgagaa gcaaatggga gattgtttoo toaatgotot gggggatca ototgttctt 1380
 cagggcaagt ggoototgta atotgotoa ggaacagag toagaaacta toooootgca 1380
 attaatcatis otoggaaocaa toaagctota ttatttoaga agaaaatggg gttgootgca 1440
 tagggagtgg toaacttogo otggtoaatg gaggtggto gttgtgtggg agagttaggg 1500
 totatcatga gggctoctgg ggcacaaat otgtatgaag otgggaactg aatgatgccc 1560
 atgtgggtgt caaacagotg agctgtggat gggccattaa tgcacactgg tctgtotcatt 1620
 ttgggggaagg aaacagggccc atttggctgg atgagataaa ctgtaatgga aaagaatctc 1680
 atatttggca atgcaactca catggttggg ggcggcaca ttgcaggcat aaggaggatg 1740
 caggagtcat ctgtctggag ttcatgtctc tcagactgat cagtgaanaa agcagagaga 1800
 octgtgcagg ggcctggaa gttttttaca aaggagctt ggcagagctt ggcagaata 1860
 gcatgtctcc agccacagt ggggtggat gcaggagct gggctgtgca gacagagggg 1920
 acatagccc tgcattctca gacaagaaag tgtocaggca catgtgggtg gcaatgttc 1980
 agtgtcctaa aggaactgac aacctatggc agtgcacac atotocatgg aagaagagac 2040
 tggccagccc ctacagaggag acatggatca catgtgocaa caaatataga cttaagaag 2100
 gaaacactaa ttgttctgga cgtgtggaga tctgttacgg aggttctctg ggcactgtgt 2160
 gtgacgactc ctgggaact gaagatgtc aggtgtgtg ccagacagct ggcctgtgct 2220
 cagctttgga ggcaggnaaa gaggcagcat ttggccaggg gactgggccc atatggctca 2280
 atgaagtga gtgcagggg aatgaacct ccttgtggga ttgtctgcc agatpctggg 2340
 gacacagtga ctgtggacac aaggaggatg ctgtgtgac gtgttcagaa attgcaaga 2400
 gccagaaac cctacatgcc acaggtoct catcttttgt tgcacttga atctttggg 2460
 tcaattctgt ggctgtctc atgcattcc tcaattggac tcagaagoga agacagaggc 2520
 agggctctc agttttctca ggaggagaga attctgtcca tcaaatcca taccgggaga 2580
 tgaattctt cctgaagca gatgaacgg atatgtcaa tccctcagga gacacotctg 2640
 aagtacatg aaaggaaaa tgggaattat aaactgtga gttcagocct taagatacct 2700
 tgatgaagac ctggactatt gaatgagca gaactgtcct cttaactga agattacat 2760
 acagtcctct gtctctggg attocaaaga ctgtgttga atttotaana aatagattgg 2820
 tgaatgtgac tactcaagt tgtatgtaag actttcagg gcatttaata aaagaata 2880
 ttgtgaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 2930

<210> 6
 <211> 32
 <212> DNA
 <213> Artificial

177

176

<220>

<223> PCR primer

<400> 6

oggaattcog oggatgtaat aatacanga ga

32

<210> 7

<211> 36

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> PCR Primer

<400> 7

ocgctogagt agtcaggtc ttctcaagg tatctt

36

<210> 8

<211> 38

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> PCR Primer

<400> 8

acactogaca tctgatgta cgggcagat atacpgt

38

<210> 9

<211> 38

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> PCR Primer

<400> 9

ttccttacag agctcaggt gcacaccaat gtggtga

38

<210> 10

<211> 46

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> PCR Primer

<400> 10

cgtccggag cggccgat gtaataac aagaagattt aatgg

46

<210> 11

<211> 38

<212> DNA

<213> Artificial

170
177

<220>

<223> PCR Primer

<400> 11

cgggttggtac ccagcaatat ttttttttat ttaatgoc

38

<210> 12

<211> 3623

<212> DNA

<213> Sus scrofa

<400> 12

gtantaatas aagaagattt aaatggcata aaacttggg atggacaaac tcagantggg	60
gtacatgaa aactctggat ctgcagaatt tagaagatgt totgocatt taagttoctt	120
cacttttgot gtagtogatg ttctcagtgc ctgcttgggc actagttoto ttggaggaaa	180
agacaaggag ctgaggctaa cgggtgggga aaacaaagtc totggagag tggagggtga	240
agtgcaggag gagtggggaa ctgtgtgtaa taatggctgg gacatggatg tggctctctg	300
tgtttgtagg cagctgggat gtccaactgc tatcaaaagc actggatggg ctaattttag	360
tgcaggttct ggaagcattt ggtatggatc tgtttcttgt cgggggaatg agtcagctot	420
ctgggactgc aaacatgatg gatggggaaa gcataactgt aotcaocaaac aggatgctgg	480
agtaacctgc tcagatggat ctgatttaga gatggggctg gtgaatggag gaaaccgggtg	540
cttaggaaga atagaagtc aatttcaagg acgggtggga acagtgtgtg atgataactt	600
caacataaat catgcttctg tggtttgtaa acaacttgaa tgtggaaagtg ctgtcagttt	660
ctctgggtca gtaattttg gagaagggtc tggacaaac tggtttgtatg atcttgtatg	720
caatggaaat ggtcagctc totggaaactg caaacatgaa ggtatgggaa agcacaattg	780
ogatcatgct gaggatgctg gagtgtattg cttaaattga gcagacctga aactgagagt	840
ggtagatgga gtcaactgaat gttcaggaag attggaaagt aaattccaag gagaatgggg	900
aaacatctgt gatgatggct gggatagtga tgatgccgt gtggcatgta agcaactggg	960
atgtccaaact gctgtcaactg ccattggctg agttaacgcc agtgaggga ctggacacat	1020
ttggottgac agtgtttctt gccatggaca cagctctgt ctotggcagt gtagacaoca	1080
tgaatgggga aagcattatt gcaatcatga tgaagatgct ggtgtgacat gttctgatgg	1140
atcagatctg gaactgagac ttaaagggtg aggcagccac tgtgctggga cagtggaggt	1200
ggaattcag aaactggtag gaaaagtgtg tgatagaagc tggggactga aagaagctga	1260
tgtggtttgc aggcagctgg gatgtggatc tgcactcaa acatcatatc aagtttattc	1320
caaaaccaag gcaacaaaca catggctgtt tgtaagcagc tgtaatggaa atgaacttc	1380
tctttgggac tgcaagatt ggcagtggg tggacttagt tgtgatcact atgacgaagc	1440

179

178

caaaattacc tgcctcagccc aacggaaaaa caggctgggt ggaggggaca tccctcgctc 1500
 tggctgtgtt gaagtacaa atggagacac gtggggcaac gtctgtgatt ctgactcttc 1550
 tctggaggcg gccagcgtgc tctgcaggga actacagtgc ggcactgtgg ttccctctct 1620
 gggggagct caatttggag aagggaagtgc acagatctgg gctgaagaat tccagtgtga 1680
 ggggacagag tcccaacctt cactctgcc agtagcaaac cgcctcgacg ggacatgtag 1740
 ccacagcagg gacgtggcg tagctgtctc aagatacaaa caaatccgct tggtagaagg 1800
 caagaccca tgtgaaggaa gactggagct caacattctt gggctctggg ggtccctctg 1860
 caactctcac tgggacatgg aagatgocca tgttttatgc cagcagctta aatgtggagt 1920
 tgccctttct atccggggag gaggaccttt tgggaaggga agtgagcagg tctggaggca 1980
 catgtttcac tgcactggga ctgagaagca catgggagat tgttcgta ctgctctggg 2040
 cgcacactc tgtttctcag ggaagtggc ctctgtatc tgcctcaggga accagagta 2100
 gacactatct ccgtgcaatt catcactctc ggaoccatca agctctatta ttccagaaga 2160
 aatgggtgtt gcttgcatag ggagtggta acttcgctg gctgatggag gtggtcgttg 2220
 tgcctggaga gttagaggtt atcatgaggg ctctggggc accatctgtg atgacagctg 2280
 ggaactgaat gatgccatg tgggtgtcaa acagctgagc tctggatgg ccattaatgc 2340
 cactggttct gctcattttg ggggaaggaa agggcccaatt tggctggatg agataaactg 2400
 taatggaaa gaattctata ttggcaatg ccactcactt ggttggggc ggcacattg 2460
 caggcataag gaggatgcag gactcatctg ctccagagtc atgtctctga gactgatcag 2520
 tgaaaacagc agagagacct gtgcaggcg cctggaagtt tttacaaag gagcttgggg 2580
 cagcgttggc aggaatagca tgtctccagc cagagtggg gtggtatgca ggcagctgg 2640
 ctgtgcagac agaggggaca tcagccctgc atcttcagac aagacagtgt ccaggcacat 2700
 gtgggtggac aatgttcagt gtcctaaagg acctgacaa ctatggcagt gccatcctc 2760
 tccatggag aagagactgg ccagccctc agaggagaca tggatccat gtgcaacaa 2820
 aataagactt caagaaggaa acactaattg ttctggagct gtggagatct ggtacggagg 2880
 ttctggggc actgtgtgtg acaactctg ggacctgaa gatgctcagg tgggtgtccg 2940
 acagctgggc tgtggctcag ctttggaggc aggaagagag gcgcatttg gccaggggac 3000
 tgggccata tggctcaatg aagtgaagt caaggggaat gaacctctt tgtgggattg 3060
 tctgcaga tctggggcc acagtgactg tggacacaa gaggatgctg ctgtgaagtg 3120
 ctcaaaatt gcaagagcc gagaatcct acatgcaca ggtogctcat cttttgttg 3180
 acttgcaatc ttgggggtca ttctgttggc ctgtctcctc gcattctca tttggactca 3240
 gaagcaga cagaggcagc ggtctcagt ttctcagga ggagagaatt ctgtccatca 3300

180
179

aattcaatac ogggagatga attottgoot gaaagcagat gaaaggata tgotaaatoc 3360
 otcaggagac oactotgaag tacaatgaa aggaatatgg gaattataac ctggtaggtt 3420
 cagcotttaa gataoottga tgaagaoctg gactattgaa tgaagaaaga totgootett 3480
 acaotgaaga ttacaataca gtccctctgtc toctggtatt ocaagactg ctggtgaatt 3540
 totaagaat agattggtga atgtgactac toaagttgt atgtaagact ttcaagggca 3600
 ttaataaaa aagaatattg ctg 3623

<210> 13
 <211> 3348
 <212> DNA
 <213> Sun scrofa

<400> 13
 atggacaaa toagaatggt gotaatgaa aactotggat ctgcagactt tagaagatgt 60
 tctgccoatt taagtteott oacttttgot gtagtogatg ttctcagtc ctgottggtc 120
 actagttctc ttggaggaaa agacaaggag ctgaggotaa ogggtggtga aaacaagtgc 180
 tctggaagag tggaggtgaa agtcaggag gagtgggaa ctgtgtgaa taatggctgg 240
 gacatggatg tggctctctgt tgtttgtagg cagctgggat gtocaaactgc tatcaagoc 300
 actggatggg ctatttttag tgcaggttct ggaagcattt ggaatggatca tgtttcttct 360
 cgagggaatg agtcagctct ctgggactgc aaacatgatg gatggggaaa gcataactgt 420
 actcaacaac aggatgctgg agtaaootgc tcagatggat ctgattttag gatggggctg 480
 gtgaatggag gaaacgggtg cttaggaaga atagaagtca aatttcaagg acggtgggga 540
 acagtgtgtg atgataactt caacataaat catgcttctg tggtttgtaa acaacttga 600
 tgtggaagtg ctgtcagttt ctctggttca gctaattttg gagaaggttc tggaccaatc 660
 tggtttgatg atcttgatg caatggmaat gagtcaactc tctggaaactg caaacatgaa 720
 ggaatgggaa agcaaatg ctatcatgct gaggatgctg gagtgatttg cttaantgga 780
 gcagacotga aactgagagt ggtagatgga gtcactgaat gttcaggaaag attggaagtg 840
 aaattccaag gagaatgggg acaatctgt gatgatggct gggatagtga tgaatccgct 900
 gtggcatgta agcaactggg atgtocaaact gctgtcaactg ccattggctg agttaacgoc 960
 agtgagggaa ctggacacat ttggottgac agtgtttctt gocatggaca cgaatctgct 1020
 ctctggcagt gtagacacca tgaatgggga aagcattatt gcaatcatga tgaagatgct 1080
 ggtgtgacat gttctgatgg atcagatctg gaactgagac ttanaggtgg aggcagccac 1140
 tgtgctggga cagtggaggt ggaattcag aaactggtag gaaaagtgtg tgaatgaagc 1200
 tggggaotga aagaagctga tbtggtttgc aggcagctgg gatgtggatc tgcactcaa 1260

181
180

acatcatatc aagtttattc aaaaacacag gcaacaaaca catgggtgtt tgtaaagcagc 1380
 tgtantggaa atgaaacttc tctttgggac tgcagaattt ggcagtgagg tggacttagt 1380
 tgtgatcaat atgacgaagc aaaaattaac tgcacagccc acaggaacac cagggtgttt 1440
 ggaggggaca ttccctgtgc tggctgtgtt gaagtacaa acaggaacac gtggggcacc 1500
 gtctgtgatt atgaattctc tctggaggag gccagcgtgc tgtgaaggga actacagbga 1560
 ggcactgttg ttccctctct ggggggagct cactttggag aaggaaatgg acagatctgg 1620
 gctgaagaat tccagtgtga ggggcacgag tcccaacttt cactctgccc agtagcaacc 1680
 ogccctgacg ggcactgtag ccacagcagg gacgtcggcg tagtctgctc aagatacaca 1740
 caaatccgct tgggtgaatgg caagacccca tgtgaaggaa gactggagct caacattctt 1800
 ggtctctggg ggtccctctg caactctcac tgggacatgg aagatgccc tgttttatgc 1860
 cagcagctta aatgtggagt tgccctttct atccggggag gagaaccttt tgggaaggga 1920
 agtgaagcag totggaggca catgtttcac tgcactggga ctgagaagca catgggagat 1980
 tgttcgptca ctgtctctgg ogcatcactc tgttcttcag ggcagtgagg ctctgtaatc 2040
 tgcacaggga accagagtca gacactatct ccgtgcaatt catcatctct ggaacctca 2100
 agctctatta ttccagaaga aatgggtgtt gactgcatag ggagtggtoa acttcgctg 2160
 gtogatggag gtggtcgttg tgcctggaga gttaggtctt atcatgagg ctctctgggc 2220
 accatctgtg atgacagctg ggaactgaat gatgccatg tgggtgtcaa acagctgagc 2280
 tgtggatggg ccattaatgc cactggttct gctcattttg ggggaaggac agggccatt 2340
 tggctggatg agataaactg taatggaaa gaattctata tttggcaatg ccaotccat 2400
 ggttgggggc ggcacaaattg caggcataag gaggatgcag gactcatctg ctcaagttc 2460
 atgtctctga gactgatcag tgaacacagc agagagacct gtgcagggcg octggaagtt 2520
 ttttacaacg gagcttgggg cagcgttggc aggaatagca tgtctccagc cactgtggg 2580
 gtggtatgca ggcagctggg ctgtgcagac agaggggaca tcagocctgc atctccagac 2640
 aagacagtgt ccaggcacat gtgggtggac aatgttcagt gtccaaagg acctgaacca 2700
 ctatggcagt gcccacatc tccatggaag aagagactgg ccagccctc agaggagaca 2760
 tggatcacat gtgccaaca aataagactt caagaaggaa aactaattg ttctggagct 2820
 gtggagatct ggtacggagg ttccctgggc actgtgtgtg acgactctg ggaactgaa 2880
 gatgctcagg tgggtgtcgg acagctgggc tgtggctcag ctttggaggc aggaagag 2940
 gccgcatttg gccaggggac tgggcccata tggctcaatg aagtgaagt caaggggaat 3000
 gaaactctct tgtgggattg tctgcccaga tccctggggc acagtgaact tggacacaag 3060

182
181

gaggatgctg ctgtgaogtg otcagaatt gonaagagcc gagantcoot acatgocaca 3120
 ggtogotoot ottttgttgc aottgoato tttgggtca ttotgttgc otgtotato 3130
 goattoctoa tttggactoa gaagogaaga cagaggtagc ggototcagt tttctcagga 3140
 ggagagaatt ctgtocatoa anttoantac cyggagatga attottgoct gaagacagat 3150
 gaaacggata tgotaatcc otcaggagac caototgaag taca 3160

<210> 14
 <211> 1115
 <212> FRT
 <213> Sus scrofa

<400> 14

Met Asp Lys Leu Arg Met Val Leu His Glu Asn Ser Gly Ser Ala Asp
 1 5 10 15

Phe Arg Arg Cys Ser Ala His Leu Ser Ser Phe Thr Phe Ala Val Val
 20 25 30

Ala Val Leu Ser Ala Cys Leu Val Thr Ser Ser Leu Gly Gly Lys Asp
 35 40 45

Lys Glu Leu Arg Leu Thr Gly Gly Glu Asn Lys Cys Ser Gly Arg Val
 50 55 60

Glu Val Lys Val Gln Glu Glu Trp Gly Thr Val Cys Asn Asn Gly Trp
 65 70 75 80

Asp Met Asp Val Val Ser Val Val Cys Arg Gln Leu Gly Cys Pro Thr
 85 90 95

Ala Ile Lys Ala Thr Gly Trp Ala Asn Phe Ser Ala Gly Ser Gly Arg
 100 105 110

Ile Trp Met Asp His Val Ser Cys Arg Gly Asn Glu Ser Ala Leu Trp
 115 120 125

Asp Cys Lys His Asp Gly Trp Gly Lys His Asn Cys Thr His Gln Gln
 130 135 140

Asp Ala Gly Val Thr Cys Ser Asp Gly Ser Asp Leu Glu Met Gly Leu
 145 150 155 160

Val Asn Gly Gly Asn Arg Cys Leu Gly Arg Ile Glu Val Lys Phe Gln
 165 170 175

181

182

Gly Arg Trp Gly Thr Val Cys Asp Asp Asn Phe Asn Ile Asn His Ala
 180 185 190

Ser Val Val Cys Lys Gln Leu Glu Cys Gly Ser Ala Val Ser Phe Ser
 195 200 205

Gly Ser Ala Asn Phe Gly Glu Gly Ser Gly Pro Ile Trp Phe Asp Asp
 210 215 220

Leu Val Cys Asn Gly Asn Glu Ser Ala Leu Trp Asn Cys Lys His Glu
 225 230 235 240

Gly Trp Gly Lys His Asn Cys Asp His Ala Glu Asp Ala Gly Val Ile
 245 250 255

Cys Leu Asn Gly Ala Asp Leu Lys Leu Arg Val Val Asp Gly Val Thr
 260 265 270

Glu Cys Ser Gly Arg Leu Glu Val Lys Phe Gln Gly Glu Trp Gly Thr
 275 280 285

Ile Cys Asp Asp Gly Trp Asp Ser Asp Asp Ala Ala Val Ala Cys Lys
 290 295 300

Gln Leu Gly Cys Pro Thr Ala Val Thr Ala Ile Gly Arg Val Asn Ala
 305 310 315 320

Ser Glu Gly Thr Gly His Ile Trp Leu Asp Ser Val Ser Cys His Gly
 325 330 335

His Glu Ser Ala Leu Trp Gln Cys Arg His His Glu Trp Gly Lys His
 340 345 350

Tyr Cys Asn His Asp Glu Asp Ala Gly Val Thr Cys Ser Asp Gly Ser
 355 360 365

Asp Leu Glu Leu Arg Leu Lys Gly Gly Gly Ser His Cys Ala Gly Thr
 370 375 380

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

Trp Gly Leu Lys Glu Ala Asp Val Val Cys Arg Gln Leu Gly Cys Gly
 405 410 415

184

183

Ser Ala Leu Lys Thr Ser Tyr Gln Val Tyr Ser Lys Thr Lys Ala Thr
420 425 430

Asn Thr Trp Leu Phe Val Ser Ser Cys Asn Gly Asn Glu Thr Ser Leu
435 440 445

Trp Asp Cys Lys Asn Trp Gln Trp Gly Gly Leu Ser Cys Asp His Tyr
450 455 460

Asp Glu Ala Lys Ile Thr Cys Ser Ala His Arg Lys Pro Arg Leu Val
465 470 475 480

Gly Gly Asp Ile Pro Cys Ser Gly Arg Val Glu Val Gln His Gly Asp
485 490 495

Thr Trp Gly Thr Val Cys Asp Ser Asp Phe Ser Leu Glu Ala Ala Ser
500 505 510

Val Leu Cys Arg Glu Leu Gln Cys Gly Thr Val Val Ser Leu Leu Gly
515 520 525

Gly Ala His Phe Gly Glu Gly Ser Gly Gln Ile Trp Ala Glu Glu Phe
530 535 540

Gln Cys Glu Gly His Glu Ser His Leu Ser Leu Cys Pro Val Ala Pro
545 550 555 560

Arg Pro Asp Gly Thr Cys Ser His Ser Arg Asp Val Gly Val Val Cys
565 570 575

Ser Arg Tyr Thr Gln Ile Arg Leu Val Asn Gly Lys Thr Pro Cys Glu
580 585 590

Gly Arg Val Glu Leu Asn Ile Leu Gly Ser Trp Gly Ser Leu Cys Asn
595 600 605

Ser His Trp Asp Met Glu Asp Ala His Val Leu Cys Gln Gln Leu Lys
610 615 620

Cys Gly Val Ala Leu Ser Ile Pro Gly Gly Ala Pro Phe Gly Lys Gly
625 630 635 640

Ser Glu Gln Val Trp Arg His Met Phe His Cys Thr Gly Thr Glu Lys
645 650 655

His Met Gly Asp Cys Ser Val Thr Ala Leu Gly Ala Ser Leu Cys Ser

183

184

660

665

670

Ser Gly Gln Val Ala Ser Val Ile Cys Ser Gly Asn Gln Ser Gln Thr
675 680 685

Leu Ser Pro Cys Asn Ser Ser Ser Ser Asp Pro Ser Ser Ser Ile Ile
690 695 700

Ser Glu Glu Asn Gly Val Ala Cys Ile Gly Ser Gly Gln Leu Arg Leu
705 710 715 720

Val Asp Gly Gly Gly Arg Cys Ala Gly Arg Val Glu Val Tyr His Glu
725 730 735

Gly Ser Trp Gly Thr Ile Cys Asp Asp Ser Trp Asp Leu Asn Asp Ala
740 745 750

His Val Val Cys Lys Gln Leu Ser Cys Gly Trp Ala Ile Asn Ala Thr
755 760 765

Gly Ser Ala His Phe Gly Glu Gly Thr Gly Pro Ile Trp Leu Asp Glu
770 775 780

Ile Asn Cys Asn Gly Lys Glu Ser His Ile Trp Gln Cys His Ser His
785 790 795 800

Gly Trp Gly Arg His Asn Cys Arg His Lys Glu Asp Ala Gly Val Ile
805 810 815

Cys Ser Glu Phe Met Ser Leu Arg Leu Ile Ser Glu Asn Ser Arg Glu
820 825 830

Thr Cys Ala Gly Arg Leu Glu Val Phe Tyr Asn Gly Ala Trp Gly Ser
835 840 845

Val Gly Arg Asn Ser Met Ser Pro Ala Thr Val Gly Val Val Cys Arg
850 855 860

Gln Leu Gly Cys Ala Asp Arg Gly Asp Ile Ser Pro Ala Ser Ser Asp
865 870 875 880

Lys Thr Val Ser Arg His Met Trp Val Asp Asn Val Gln Cys Pro Lys
885 890 895

Gly Pro Asp Thr Leu Trp Gln Cys Pro Ser Ser Pro Trp Lys Lys Arg
900 905 910

t86

185

Leu Ala Ser Pro Ser Glu Glu Thr Trp Ile Thr Cys Ala Asn Lys Ile
915 920 925

Arg Leu Gln Glu Gly Asn Thr Asn Cys Ser Gly Arg Val Glu Ile Trp
930 935 940

Tyr Gly Gly Ser Trp Gly Thr Val Cys Asp Asp Ser Trp Asp Leu Glu
945 950 955 960

Asp Ala Gln Val Val Cys Arg Gln Leu Gly Cys Gly Ser Ala Leu Glu
965 970 975

Ala Gly Lys Glu Ala Ala Phe Gly Gln Gly Thr Gly Pro Ile Trp Leu
980 985 990

Asn Glu Val Lys Cys Lys Gly Asn Glu Thr Ser Leu Trp Asp Cys Pro
995 1000 1005

Ala Arg Ser Trp Gly His Ser Asp Cys Gly His Lys Glu Asp Ala
1010 1015 1020

Ala Val Thr Cys Ser Glu Ile Ala Lys Ser Arg Glu Ser Leu His
1025 1030 1035

Ala Thr Gly Arg Ser Ser Phe Val Ala Leu Ala Ile Phe Gly Val
1040 1045 1050

Ile Leu Leu Ala Cys Leu Ile Ala Phe Leu Ile Trp Thr Gln Lys
1055 1060 1065

Arg Arg Gln Arg Gln Arg Leu Ser Val Phe Ser Gly Gly Glu Asn
1070 1075 1080

Ser Val His Gln Ile Gln Tyr Arg Glu Met Asn Ser Cys Leu Lys
1085 1090 1095

Ala Asp Gln Thr Asp Met Leu Asn Pro Ser Gly Asp His Ser Glu
1100 1105 1110

Val Gln
1115

<210> 15
<211> 50
<212> DNA

187

186

<211> Artificial

<220>

<223> PCR Primer

<400> 15

cacccggggc gggagttat aatgggcac catgagcaaa ctggaatgg

50

<210> 16

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> PCR Primer

<400> 16

tgctccgga cctagtcag gtcttcata aggtatctta

40

<210> 17

<211> 3434

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 17

atgagcaaac tcagaatggt gctacttga gactctggat ctgctgactt cagaagacat	60
tttgtcaacc tgagtcctt caacattaot gtggtottac ttotcagtgc ctgttttgtc	120
accagttctc ttggagggaac agacaaggag ctgaggctag tggatggtga aaacaagtgt	180
agcgggagag tggaaatgaa agtccaggag gagtgggaa cgggtgtgaa taatggctgg	240
agcatggaa cggctctctgt gatttgtaac cagctgggat gtccaactgc tatcaagoc	300
cctggatggg ctaattccag tgcaggttct ggacgcattt ggatggatca tgtttcttgt	360
cgtgggaatg agtcagctct ttgggattgc aaacatgatg gatggggaaa gcatagtaac	420
tgtactcacc aacaagatgc tggagtgaac tgctcagatg gatcaattt ggaatggag	480
ctgacgcgtg gagggaaatg gtgttcttga agaatagaga tcaattcca aggaagggtg	540
ggaacagtgt gtgatgataa cttaacata gatcatgcat ctgtcatttg tagacaactt	600
gaatgtggaa gtgctgtoag ttototgggt tcatctaatt ttggagaagg ctotggaca	660
atctggtttg atgatcttat atgcaacgga aatgagtcag ctctctggaa ctgcaaacat	720
caaggatggg gaaagcataa ctgtgacctat gotgaggatg ctggagtgat ttgctcaag	780
ggagcagatc tgagcctgag actggttagat ggagtcactg aatgttcagg aagattagaa	840
gtgagattcc aaggggaatg ggggacaata tgtgatgacg gctgggacag ttaogatgct	900
gctgtggcat gcaagcaact gggatgtcca actgcogtca cagocattgg togagttaac	960
gccagtaagg gatttggaca catctggctt gacagcgttt cttagcaggg acatgaacct	1020

488

187

gctgtctggc aatgtaaaca caatgaatgg ggaagcatt attgcaatca caatgaatg 1080
 gctggcgtga catgtttotga tggatcagat ctggagotaa gacttagiag tggaggcagc 1140
 cgctgtgctg ggacagttag ggtggagatt cagagactgt tagggaaggt gtgtgacaga 1200
 ggctggggac tgaagaago tgatgtggtt tgcaggcago tgggatgtgg atctgcaactc 1260
 aaaaatcttt atcaagtgtc ctcaaaatc caggcaaaa acaatctggt gtttttaagt 1320
 agctgtaaag gaattgaac ttctcttttg gactgcaaga actggcaatg ggtgggaatt 1380
 acctgtgac actatgaaga agcaaaaatt acctgtcag cccacaggga accagactg 1440
 gttggagggg acattcctg ttctggact gttagagga agaatgtga caagtggggc 1500
 tccatctgtg attcggact ctctctggaa gctgcagag ttctatgag ggaattcag 1560
 tgtggcagc ttgtctctat cctggggga gctcactttg gagagggaaa tggacagatc 1620
 tgggctgaag aattccagt tggggacat ggtccatc tttaactctg cccagttagc 1680
 ccccgccag aaggaaactg tagccacagc aggtatgtg gactagtctg ctcaagatc 1740
 acagaaatc gcttggtag tggcaagacc cctgtgagg gcagagtga gtcacaaag 1800
 cttggtgctt ggggatoct ctgttaact cactgggaca tagaagatg ccatgttctt 1860
 tgccagcagc ttaaatgtgg agttgocct tctacccag gaggagcag ttttggaaa 1920
 ggaatgtg agatctggag gcatatgtt cactgcactg ggactgagc gcacatggga 1980
 gattgtctg taactgtct aggtgcttc ttatgtctt cagagcaagt ggcctctga 2040
 atctgtcag gaaccagt ccaaacactg tctcgtgca attcctgtc tttgggcca 2100
 acaaggcta ccatccaga agaaagtgt gtggcctgca tagagagtg tcaacttgc 2160
 ctggtaaatg gaggaggtg ctgtgtggg agagttaga tctatcatga ggcctcctg 2220
 ggcaccatc gtgatgacg ctgggacctg agtgatgcc agtggttg cagacagtg 2280
 ggtgtggag aggcattaa tgcactggt tctgtcatt ttggggagg aacagggccc 2340
 atctggctg atgagatga atgaatgga aaagaatccc gcatttggc gtgccattc 2400
 cagggtggg ggcagcaaaa ttgcaggcac aaggaggatg cgggagttat ctgtcagaa 2460
 ttcattgtc tgagactgac cagtgaagc agcagagagg cctgtgcagg gcgtotgaa 2520
 gttttttaca atggagcttg gggcactgtt ggcaagagta gcatgtotga aacactgtg 2580
 ggtgtggtg gcaggcagct gggctgtgca gacaaggga aatcaaac tgcacttta 2640
 gacaaggcca tgcattcc catgtgggtg gacaatgtc agtgtocaa aggaectgac 2700
 acgtgtggc agtgcctac atctcatgg gagaagagc tggccagccc ctggaggag 2760
 acctggatc catgtgcaa caagataga cttcaggag gacocacttc ctgtttotga 2820
 cgtgtggga tctggcatg aggttctg gggcagtgt gtgatgactc ttgggactg 2880

189

188

gaagatgctc aggtgggtgtg tcaacaaatt ggtgtgtgtc cagctttgaa agcattcaaa 2940
gaagcagagt ttggtcaggg gactggacog atatggotca atgaagtga gtgcacaggg 3000
aatgagtcct ccttgtggga ttgtcctgcc agaogotggg gocatagtga gtgtgggocac 3060
aaggaaagag ctgcagtga ttgcacagat atttcagtgc agaaaaoccc acaaaaagcc 3120
acaacaggtc gctcctccog tcaatctcc tttattgacg tggggtctct tgggtgtgtt 3180
ctgttggcca ttttctctgc attattcttc ttgaataaaa agogaagaca gagacagogg 3240
cttgcagttt cctcaagagg agagaactta gtcaacaaa ttcaataocg ggagatgaat 3300
tcttgctga atgcagatga tctggacota atgaattcct caggaggcca ttctgagoca 3360
cactgaaaag gaaaatggga atttataacc cagtgtgttc agcctttaag ataacttgat 3420
gaagacctgg acta 3484

<210> 18
<211> 3363
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 18
atgagcaaac tcagaatggt gctacttgaa gactctggat ctgctgactt cagaagacat 60
tttgcaccc tgaagcctt caccattact gtggtcttac ttctcagtgc ctgttttctc 120
accagttctc ttggagggaac agacaaggag ctgaggctag tggatggtga aaacaagtgt 180
agcgggagag tggaaagtga agtcaggag gactgggga oggtgtgtaa taatggctgg 240
agcatggaag cggctctctgt gatttgtaac cagctgggat gtcaactgc tatcaagcc 300
octggatggg ctaattccag tgcaggttct ggaogcattt ggatggatca tgtttcttgt 360
cgtgggaatg agtcagctct ttgggattgc aaacatgatg gatggggaaa gcatagtaac 420
tgtactcacc aacaagatgc tggagtgaac tgctcagatg gatcaattt ggaatgagg 480
ctgacgogtg gaggaatat gtgttctgga agaatagaga tcaattcca aggaoggtgg 540
ggaacagtgt gtgatgataa ctcaacata gatcatgcat ctgtcatttg tagacaactt 600
gaatgtgga gtgctgtcag tttctctggt tcatotaatt ttggagaagg ctctggaoca 660
atctggtttg atgactttat atgcaacgga aatgagtcag ctctctggaa ctgcaaacat 720
caaggatggg gaaagcataa ctgtgacct gctgaggatg ctggagtgat ttgctcaag 780
ggagcagatc tgagcttgag actggtagat ggagtcactg aatgttcagg aagattagaa 840
gtgagattcc aaggggaatg ggggacaata tgtgatgacg gctgggacag ttacgatgct 900
gctgtggcat gcaagcaact gggatgtcca actgacctca cagccattgg togagttaac 960
gocagtaagg gatttggaca catctggctt gacagogttt cttgccaggg acatgaacct 1020

gctgtotggc aatgtaaaca oaatgaatgg ggaagacatt attgcaatca caatgaagat 1080
 gctggogtga catgtttotga tggatcaagt ctggagotaa gacttagagg tggaggcagc 1140
 cgtgtgctg ggacagtta ggtggagatt cagagactgt tagggaaggt gtgtgacaga 1200
 ggctggggac tgaagaagc tgatgtggtt tgcaggcagc tgggatgtgg atotgcaoto 1260
 aaaacatott atcaagtga otcaaaatc caggcaacaa acaatgggt gtttotangt 1320
 agotgtaaag gaattgaac ttotctttgg gactgaaga actggcaatg ggtggactt 1380
 acctgtgac actatgaag agcaaaatt aactgtcag cccacagga aocagactg 1440
 gttggagggg acattocctg ttctggact gttagagtga agaatggtga cactggggc 1500
 tcaatctgtg attoggact ctctctggaa gctgocagcg ttotatgag ggaattacag 1560
 tgtggcagc ttgtctctat cctgggggga gtcactttg gagagggaa tggacagato 1620
 tgggtgaag aattocagt tgggggacat ggtcccatc ttcaotctg cccagttaga 1680
 cccgcccag aaggaactg tagccacagc agggatgttg gagtgtctg ctcaagatac 1740
 acagaattc gcttgggtga tggcaagacc cgtgtgagg gcagagtga gtcanaaag 1800
 cttggtgcot ggggatcct ctgtactct cactgggaca tagaagatgc ocatgttctt 1860
 tgccagcagc ttaaatgtgg agttgccctt tctacccag gaggagcag ttttggaaaa 1920
 ggaaatggtc agatctggag gcatatgttt cactgcactg ggaactgagc gcacatggga 1980
 gattgtctg taactgotct aggtgcttca ttatgtcctt cagagcaagt ggcotctgta 2040
 atctgctcag gaaaccagt ccaaacactg tctcgtgca attcatctc tttgggcoca 2100
 acaaggocca ccatccaga agaaagtgt gtggocctga tagagagtgg taaacttgc 2160
 ctggtaaatg gaggaggtcg ctgtgctggg agagttaga tctatcatga gggctcctgg 2220
 ggcaccatct gtgatgacag ctgggaacctg agtgatgccc acgtggtttg cagacagctg 2280
 ggctgtggag aggcattaa tgcactggt totgctoatt ttggggaagg aacagggccc 2340
 atotggctgg atgagatga atgcaatgga aaagaatccc gaatttggca gtgocattca 2400
 cagggtggg ggaagcaaaa ttgcaggcac aaggaggatg ogggagtta ctgctcagaa 2460
 tteatgtctc tgagactgac cagtgaagcc agcagagagg cctgtgcagg gcgtctggaa 2520
 gttttttaca atggagcttg gggcactgtt ggcaagagta gcatgtctga aaccaotgtg 2580
 ggtgtggtgt gcaggcagct gggctgtgca gacaagggga aatcaacc tgcacttta 2640
 gacaaggcca tgtccattcc catgtgggtg gcaatgttc agtgtocaa aggaactgac 2700
 acgtgtggc agtgccatc atctccatgg gagaagagac tggocagccc ctggaggag 2760
 aactggatca catgtgaca caagataaga cttcaggag gacocacttc ctgttctgga 2820

191

190

cgtgtggaga tctggcatgg aggttcootgg gggacagtgt gtgatgactc ttgggaottg 2880
 gacgatgcto aggtgggtgtg toaacaactt ggtgtgtgtc cagotttgaa agoattoaaa 2940
 gaagcagagt ttgttoaggg gactggacog atatggtca atgaagtga gtgaaaggg 3000
 aatgagtctt ccttgtggga ttgtcotgoc agaogotggg gocatagtga gtgtgggac 3060
 aaggaagacy ctgcagtga ttgcacagat atttcagtgc agaaaacccc acaaaagoc 3120
 acaacaggtc gtcacatocg tcaatcatoc tttattgacg togggatcot tgggttgg 3180
 ctgttgcca ttttgtcgc attattotte ttgaataaaa agagaagaca gagacagogg 3240
 cttgcagttt ootcaagagg agagaactta gtcaaaaaa ttaataacog ggagatgaat 3300
 tottgctga atgaagatga tctggaccta atgaattcot caggaggcca ttotpagoca 3360
 cac 3363

<210> 19
 <211> 1121
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 19

Met Ser Lys Leu Arg Met Val Leu Leu Glu Asp Ser Gly Ser Ala Asp
1 5 10 15

Phe Arg Arg His Phe Val Asn Leu Ser Pro Phe Thr Ile Thr Val Val
20 25 30

Leu Leu Leu Ser Ala Cys Phe Val Thr Ser Ser Leu Gly Gly Thr Asp
35 40 45

Lys Glu Leu Arg Leu Val Asp Gly Glu Asn Lys Cys Ser Gly Arg Val
50 55 60

Glu Val Lys Val Gln Glu Glu Trp Gly Thr Val Cys Asn Asn Gly Trp
65 70 75 80

Ser Met Glu Ala Val Ser Val Ile Cys Asn Gln Leu Gly Cys Pro Thr
85 90 95

Ala Ile Lys Ala Pro Gly Trp Ala Asn Ser Ser Ala Gly Ser Gly Arg
100 105 110

Ile Trp Met Asp His Val Ser Cys Arg Gly Asn Glu Ser Ala Leu Trp
115 120 125

Asp Cys Lys His Asp Gly Trp Gly Lys His Ser Asn Cys Thr His Gln

442

191

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

493

192

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

Gly Trp Gly Leu Lys Glu Ala Asp Val Val Cys Arg Gln Leu Gly Cys
405 410 415

Gly Ser Ala Leu Lys Thr Ser Tyr Gln Val Tyr Ser Lys Ile Gln Ala
420 425 430

Thr Asn Thr Trp Leu Phe Leu Ser Ser Cys Asn Gly Asn Glu Thr Ser
435 440 445

Leu Trp Asp Cys Lys Asn Trp Gln Trp Gly Gly Leu Thr Cys Asp His
450 455 460

Tyr Glu Glu Ala Lys Ile Thr Cys Ser Ala His Arg Glu Pro Arg Leu
465 470 475 480

Val Gly Gly Asp Ile Pro Cys Ser Gly Arg Val Glu Val Lys His Gly
485 490 495

Asp Thr Trp Gly Ser Ile Cys Asp Ser Asp Phe Ser Leu Glu Ala Ala
500 505 510

Ser Val Leu Cys Arg Glu Leu Gln Cys Gly Thr Val Val Ser Ile Leu
515 520 525

Gly Gly Ala His Phe Gly Glu Gly Asn Gly Gln Ile Trp Ala Glu Glu
530 535 540

Phe Gln Cys Glu Gly His Glu Ser His Leu Ser Leu Cys Pro Val Ala
545 550 555 560

Pro Arg Pro Glu Gly Thr Cys Ser His Ser Arg Asp Val Gly Val Val
565 570 575

Cys Ser Arg Tyr Thr Glu Ile Arg Leu Val Asn Gly Lys Thr Pro Cys
580 585 590

Glu Gly Arg Val Glu Leu Lys Thr Leu Gly Ala Trp Gly Ser Leu Cys
595 600 605

Asn Ser His Trp Asp Ile Glu Asp Ala His Val Leu Cys Gln Gln Leu
610 615 620

194
193

Lys Cys Gly Val Ala Leu Ser Thr Pro Gly Gly Ala Arg Phe Gly Lys
625 630 635 640

Gly Asn Gly Gln Ile Trp Arg His Met Phe His Cys Thr Gly Thr Glu
645 650 655

Gln His Met Gly Asp Cys Pro Val Thr Ala Leu Gly Ala Ser Leu Cys
660 665 670

Pro Ser Glu Gln Val Ala Ser Val Ile Cys Ser Gly Asn Gln Ser Gln
675 680 685

Thr Leu Ser Ser Cys Asn Ser Ser Ser Leu Gly Pro Thr Arg Pro Thr
690 695 700

Ile Pro Glu Gln Ser Ala Val Ala Cys Ile Glu Ser Gly Gln Leu Arg
705 710 715 720

Leu Val Asn Gly Gly Gly Arg Cys Ala Gly Arg Val Glu Ile Tyr His
725 730 735

Glu Gly Ser Trp Gly Thr Ile Cys Asp Asp Ser Trp Asp Leu Ser Asp
740 745 750

Ala His Val Val Cys Arg Gln Leu Gly Cys Gly Glu Ala Ile Asn Ala
755 760 765

Thr Gly Ser Ala His Phe Gly Glu Gly Thr Gly Pro Ile Trp Leu Asp
770 775 780

Glu Met Lys Cys Asn Gly Lys Glu Ser Arg Ile Trp Gln Cys His Ser
785 790 795 800

His Gly Trp Gly Gln Gln Asn Cys Arg His Lys Glu Asp Ala Gly Val
805 810 815

Ile Cys Ser Glu Phe Met Ser Leu Arg Leu Thr Ser Glu Ala Ser Arg
820 825 830

Glu Ala Cys Ala Gly Arg Leu Glu Val Phe Tyr Asn Gly Ala Trp Gly
835 840 845

Thr Val Gly Lys Ser Ser Met Ser Glu Thr Thr Val Gly Val Val Cys
850 855 860

195
194

Arg Gln Leu Gly Cys Ala Asp Lys Gly Lys Ile Asn Pro Ala Ser Leu
865 870 875 880

Asp Lys Ala Met Ser Ile Pro Met Trp Val Asp Asn Val Gln Cys Pro
885 890 895

Lys Gly Pro Asp Thr Leu Trp Gln Cys Pro Ser Ser Pro Trp Glu Lys
900 905 910

Arg Leu Ala Ser Pro Ser Glu Glu Thr Trp Ile Thr Cys Asp Asn Lys
915 920 925

Ile Arg Leu Gln Glu Gly Pro Thr Ser Cys Ser Gly Arg Val Glu Ile
930 935 940

Trp His Gly Gly Ser Trp Gly Thr Val Cys Asp Asp Ser Trp Asp Leu
945 950 955 960

Asp Asp Ala Gln Val Val Cys Gln Gln Leu Gly Cys Gly Pro Ala Leu
965 970 975

Lys Ala Phe Lys Glu Ala Glu Phe Gly Gln Gly Thr Gly Pro Ile Trp
980 985 990

Leu Asn Glu Val Lys Cys Lys Gly Asn Glu Ser Ser Leu Trp Asp Cys
995 1000 1005

Pro Ala Arg Arg Trp Gly His Ser Glu Cys Gly His Lys Glu Asp
1010 1015 1020

Ala Ala Val Asn Cys Thr Asp Ile Ser Val Gln Lys Thr Pro Gln
1025 1030 1035

Lys Ala Thr Thr Gly Arg Ser Ser Arg Gln Ser Ser Phe Ile Ala
1040 1045 1050

Val Gly Ile Leu Gly Val Val Leu Leu Ala Ile Phe Val Ala Leu
1055 1060 1065

Phe Phe Leu Thr Lys Lys Arg Arg Gln Arg Gln Arg Leu Ala Val
1070 1075 1080

Ser Ser Arg Gly Glu Asn Leu Val His Gln Ile Gln Tyr Arg Glu
1085 1090 1095

Met Asn Ser Cys Leu Asn Ala Asp Asp Leu Asp Leu Met Asn Ser

168
195

1100

1105

1110

Ser Gly Gly His Ser Glu Pro His
1115 1120

<210> 20
<211> 37
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> PCR Primer

<400> 20
caccggggcc gccacaagga gocatcaaaa tcacaaa

37

<210> 21
<211> 46
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> PCR Primer

<400> 21
ggtaacggga acaagcaaac caatagcaat attgtttaat tooctc

46

<210> 22
<211> 3556
<212> DNA
<213> Mus musculus

<400> 22
gcttttgaat gggtagacac agaatggttc ttcttggagg tgctggatct octggttcta 60
aaaggtttgt ccatctaggt ttctttgttg tggctgtgag ctoacttctc agtgccctctg 120
ctgtcactaa cgtccctgga gaagtgaaga aggaactgag actggcgggt ggtgaaaaca 180
actgtagtgg gagagtggaa cttaagatoc atgacaagtg gggcacagtg tgcagttaag 240
gotggagcat gaatgaagtg toctggtttt gacagcagct gggatgocca acttctatta 300
aagcccttgg atgggctaac tocagggccg gctctggata tatctggatg gacaaagttt 360
cttgtacagg gaatgagtcg gctctttggg actgcaaaac tgatgggttg ggaagcata 420
actgtacoca tgaanaagat gctggagtga cctgctcaga tggatctaat ttggagatga 480
gactggtgaa cagtgcgggc caccgatgct taggaagagt agaantaag ttccggggaa 540
agtgggggac ggtgtgtgac gacaacttca gcaagatca cgttctctgtg atttgtaaac 600
agcttggatg tgaagtgc attagtttct ctggctcagc taatttggga gctggttctg 660
gaocaatctg gctcagtgac ctggcatgca atggaantga gtcagctctc tgggactgca 720

196

aacacogggg atggggcaag cataactgtg accatgctga ggatgtgggt gtgatttgot	780
tagagggagc agatctgagc ctgagactag tggatggagt gtccagatgt tcaggaaagt	840
tggaaagtgag attccaaagg aaatggggga ccgtgtgtga tgataactgg gatctccggg	900
atgcttctgt ggtgtgcaag caactgggat gtccaaactgc catcagtgcc attggtogag	960
ttantgocag tgagggatct ggacagattt ggcttgacaa catttcatgc gaaggacatg	1020
aggcaactct ttgggagtgt aaacaccaag agtgggaaa gcattactgt catcatagag	1080
aagacpctgg cgtgacatgt tctgatggag cagatctgga aottagactt gtaggtggag	1140
gcagtogetg tgctggcatt gtggaggtgg agattcagaa gctgactggg aagatgtgta	1200
gocgaggtct gacactggca gatggggatg tggtttgacg acagcttggg tgtggatctg	1260
cgttcacaa acaggttaag atctactcta aaactggggc aacaaatacg tggctcttcc	1320
ctggatcttg taatggaaat gaactactt ttggcaatg caaaaactgg cagtggggcg	1380
gccttctctg tgataatttc gaagaagcca aagttacctg ctcaaggccac agggaaocca	1440
gactggttgg agggagaatc ccatgctctg gtctgttggg agtgaacac ggagaogtgt	1500
ggggctccgt ctgtgatttt gacttgtctc tggaaactgc cagtgtggtg tgcaaggaaat	1560
tacaatgtgg aacagtcgtc tctatcctag ggggagocaa ttttgagaa ggaagtggac	1620
agatctgggg tgaagaattc cagtgtagtg gggatgagtc ccattcttba ctatgobcag	1680
tggcgccccc gctagacaga acttgtaccc acagcagggg tgtcagogta gtctgtcac	1740
gatacataga tattogtctg gcaggcggcg agtctctctg tgagggaaga gtggagctca	1800
agacactcgg agcctggggt ccctctctga gttctcattg ggacatggaa gatgtctcat	1860
tcttatgtca gcagctgaag tgtggggttg cccaatctat tccagaagga gcacattttg	1920
ggaaaggagc tggtcaggtc tggagtcaca tgttccactg cactggaaact gaggaacata	1980
taggagattg cctcatgact gctctgggtg cgcagacgtg ttccgaagga caggtggcct	2040
ctgtcatctg ctcaaggaaac caatcccaga cactattgoc atgtagttca ttgtctocag	2100
tcacaaacac aagctctaca attocaaagg agagtgaagt tccctgcata gcaagtggoc	2160
agcttcgctt ggtaggtgga ggtggtcgtt ggcctggaag agtggaggtc taocacgagg	2220
gctcttgggg caccgtctgt gatgcaatt gggatatgac tgatgcaant gtggtgtgca	2280
agcagctgga ctgtggcgtg gcaattaacg ccactgggtc tgcttacttc ggggaaggag	2340
caggagctat ctggctagac gaagtcatct gcactgggaa agagtctcat atttggcagt	2400
gccattcaca tggctgggga cgcataact gcaggcacia agaagatgca ggtgttatct	2460
gtcccgagtt catgtctctg aggtgacca acgaagocca caaagaaaac tgcacaggtc	2520
gccttgaagt gttttcaat ggtacatggg gcagtattgg cagtacaaat atgtctocaa	2580

148

197

ccactgtggg ggtgggtgtg ogtangotgg gotgtgaga caaogggact gtgaaaccca 2640
 taacttcaga caagacacca tccaggccca tgtgggtaga togtgtgag tgtccaaaag 2700
 gagttgacac tttgtggcag tgcocctogt caacttggaa acagagacag gccagccct 2760
 cctccaggga gtccctggatc atctgtgaca acaaaataag actccaggaa gggcatcacg 2820
 actgttctgg aagtgtggag atctggcaca aaggttoctg gggaaacgtg tgtgatgaat 2880
 cotgggatct taatgatgt aaggttgtat gtaagcagtt gggctgtgg caagotgtga 2940
 aggcactaaa agaagcagca tttgtccag gaactgggca catatggctc aatgaatta 3000
 agtgtagagg gaatgagctc tootgtggg attgttoctc caaaocgtgg agtccaggg 3060
 actgtgggca caaagaagat gcttccatcc agtgcctccc aaaaatgact tcagaatcac 3120
 atcatggcac aggtccccc accctcagg cactcttggg ttgtggagcc attotattgg 3180
 tectectcat tgtottocto ctgtggatc tgaagcgacg acagattcag ogaattacag 3240
 tttctcag agggaggtc ttgatacatc aagttoagta ccaagagatg gattccaaag 3300
 cggatgatct ggacttgotg aaatcctggg gggcattca gaggcacctc gagaaggaaa 3360
 atgataattt ataactcact gaggttggag ttaagaagc cttgacagga cagccagcta 3420
 aatggaaaca ggcocaggc aacgcaagg tgaocacagc tgcattctca tgcagtoott 3480
 tgtttctgg aactctctg aacctgcaa aacctattt gtgaatgtga ccacttaata 3540
 gagatgggag actttt 3586

<210> 23
 <211> 3363
 <212> DNA
 <213> Mus musculus

<400> 23
 atgggtggac acagaatggt tcttcttggg ggtgctggat ctcttggttg taaagggtt 60
 gtccatctag gtttcttctg tgtgggtgtg agtccattc tcagtgcctc tgotgtcact 120
 aacgtcctg gagaaatgaa gaaggaaactg agactggcgg gtggtgaaa caactgtagt 180
 gggagagtgg aacttaagat ccctgacaa tggggcacag tgtgcagtaa cggctggagg 240
 atgaatgaag tgtcgtggt ttgocagcag ctgggatgcc caacttctat taaagccct 300
 ggaatggcta actccagcgc cggctctgga tatatctgga tggacaaagt ttctgtaca 360
 ggaatgagt cagctctttg ggaactgcaa catgatgggt ggggaaagca taactgtacc 420
 catgaaaag atgtggagt gacctgtca gatggatcta atttgagat gagactggtg 480
 aacagtgcgg gccacggatg cttaggaaga gtgaataaa agttccaggg aagtggggg 540
 accgtgtgtg acgacaactt cagcaagat caggctctg tgatttgtaa acagcttggg 600

tgtggaagtg coattagttt ctctggctca gctaaattgg gagctggttc tggacaaatc	660
tggctogatg acctggcatg caatggaaat gactcagctc totgggaatg caaacacccg	720
ggatggggca agcctaaatg tgaacatgct gaggatgctg gtgtgatttg cttagagggg	780
gcagatctga gcttgagact agtggatgga gtgtccagat gttcagggaag attggaaagt	840
agattccaag gagaatgggg gaacctgtgt gatgataaot gggatctccg ggaatgctct	900
gtgtgtgca agcaactggg atgtccaaot gcatcagctg ccattggctg agttaantgc	960
agtgggggat ctggacagat ttggcttgac aacatttcat ggaagggaac tggggcaact	1020
ctttggggagt gtaaacacca agagtgggga aagcattact gtcactatag agaaagcgt	1080
gggtgacat gttctgatgg agcagatctg gaacttagac ttgtaggctg aggcagctgc	1140
tgtgctggca ttgtggaggt ggagattcag aagctgaotg ggaagatgtg tagccagggc	1200
tggacactgg cagatgcgga tgtggtttgc agacagcttg gatgtggatc tgcgttcaa	1260
aaccaggcta agtctactc taaaactggg gcaacaaata cgtggctctt tctggatct	1320
tgtaatgga atgaactac tttttggca tgcanaaot ggcagtgggg cggctttctc	1380
tgtgataatt tgaagaagc caaagtacc tgcacaggcc acagggaacc cagactggtt	1440
ggaggagaaa tccatgctc tggctgtgtg gaagtgaac acggagagct gtgggctcc	1500
gtctgtgatt ttgactgtc tctggaaact gccagtgtgg tgtgcaaggga attacaatgt	1560
ggaacagctg tctctatcct agggggagca cttttggag aaggaaagtg acagatctgg	1620
ggtgaagaat tccagtgtg tgggatgag tccatcttt cactatgctc agtggcgccc	1680
cgcctagaca gaacttgac ccacagcagg gatgtcagcg tagtctgctc acgatacata	1740
gatattctc tggcaggcgg cagctctcc tgtgaggga gagtggagct caagacactc	1800
ggagcctggg gtccctctg cagttctcat tgggaatgg aagatgctca tgtcttatgt	1860
cagcagctga agtgtgggt tgcocaaot attccagaag ggcacattt tgggaaggga	1920
gtggtcagg tctggagta catgttcac tgcactgga ctgagggaaca tataggagat	1980
tgcctcatga ctgtctggg tggcagacg tgttcgaag gacaggtggc ctctgtcatc	2040
tgtcaggaa accaatccca gacactattg ccagttagtt cattgtctcc agtccaaaca	2100
acaagctcta caattccaaa ggagagtga gtccctgca tagcaagtgg ccagcttggc	2160
ttggtagggt gaggtggctg ctgogctgga agagtggagg ctaccacga gggctcttgg	2220
ggcacgtct gtgatgaca ttgggatatg actgatgcca atgtggtgtg caagcagctg	2280
gactgtggcg tggcaattaa cgcactggc tctgcttact tgggggaagg agcaggagct	2340
atctggctag acgaagtcat ctgactggg aagagtctc atatttggca gtgcattca	2400

200

199

catggctggg gaagocataa ctgcaggcac aaagaagatg cagggtttat ctgctcagag 2460
tctatgtctc tggagctgac caaagaagoc cacaagaaa actgcacagg togccttga 2520
gtgttttaca atggtacatg gggcagtatt ggcagtagca atatgtctcc aacacatgtg 2580
ggggtggtgt gcctcagct gggctgtgca gacaacggga ctgtgaaac cctacottoa 2640
gacaagacac catccaggoc catgtgggta gatgtgtgc agtgtccaa aggagttgac 2700
actttgtggc agtgcctctc gtcaacttgg aaacagagac aggcacagoc ctctctcag 2760
gagtcctgga tcatotgtga caaaaaata agactccagg aagggcatac agaotgttct 2820
ggagctgtgg agatctggca caaaggctcc tgggaacag tgtgtgatga ctctgggt 2880
cttaantgatg ctaaggttgt atgtaagcag ttgggtctg gccagctgt gaaggcacta 2940
aaagaagcag catttggctc aggaactggg cccatctggc tcaatgaat taagtgtga 3000
gggaatgagt ctctctgtg ggattgtct gccaaacct ggagtcacag cgaactgtgg 3060
cacaagaag atgcttccat ccagtgcctc ccaaaatga cttcagatc acatcatggc 3120
acaggtoacc ccaacctcag ggcactcttg gtttgtggag ccattctatt ggcctctc 3180
attgtcttc tctgtggac tctgaagcga agacagattc agagcttac agttctcca 3240
agaggagagg tcttgataca tcaagttcag taocaagaga tggattcaai ggaggatgat 3300
ctggacttgc tgaatctc ggggtcatt cagaggcaca ctggaagga aatgataat 3360
tta 3363

<210> 24
<211> 1121
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 24

Met Gly Gly His Arg Met Val Leu Leu Gly Gly Ala Gly Ser Pro Gly
1 5 10 15

Cys Lys Arg Phe Val His Leu Gly Phe Phe Val Val Ala Val Ser Ser
20 25 30

Leu Leu Ser Ala Ser Ala Val Thr Asn Ala Pro Gly Glu Met Lys Lys
35 40 45

Glu Leu Arg Leu Ala Gly Gly Glu Asn Asn Cys Ser Gly Arg Val Glu
50 55 60

Leu Lys Ile His Asp Lys Trp Gly Thr Val Cys Ser Asn Gly Trp Ser
65 70 75 80

~~207~~
200

Met Asn Glu Val Ser Val Val Cys Gln Gln Leu Gly Cys Pro Thr Ser
88 90 95

Ile Lys Ala Leu Gly Trp Ala Asn Ser Ser Ala Gly Ser Gly Tyr Ile
100 105 110

Trp Met Asp Lys Val Ser Cys Thr Gly Asn Glu Ser Ala Leu Trp Asp
115 120 125

Cys Lys His Asp Gly Trp Gly Lys His Asn Cys Thr His Glu Lys Asp
130 135 140

Ala Gly Val Thr Cys Ser Asp Gly Ser Asn Leu Glu Met Arg Leu Val
145 150 155 160

Asn Ser Ala Gly His Arg Cys Leu Gly Arg Val Glu Ile Lys Phe Gln
165 170 175

Gly Lys Trp Gly Thr Val Cys Asp Asp Asn Phe Ser Lys Asp His Ala
180 185 190

Ser Val Ile Cys Lys Gln Leu Gly Cys Gly Ser Ala Ile Ser Phe Ser
195 200 205

Gly Ser Ala Lys Leu Gly Ala Gly Ser Gly Pro Ile Trp Leu Asp Asp
210 215 220

Leu Ala Cys Asn Gly Asn Glu Ser Ala Leu Trp Asp Cys Lys His Arg
225 230 235 240

Gly Trp Gly Lys His Asn Cys Asp His Ala Glu Asp Val Gly Val Ile
245 250 255

Cys Leu Glu Gly Ala Asp Leu Ser Leu Arg Leu Val Asp Gly Val Ser
260 265 270

Arg Cys Ser Gly Arg Leu Glu Val Arg Phe Gln Gly Glu Trp Gly Thr
275 280 285

Val Cys Asp Asp Asn Trp Asp Leu Arg Asp Ala Ser Val Val Cys Lys
290 295 300

Gln Leu Gly Cys Pro Thr Ala Ile Ser Ala Ile Gly Arg Val Asn Ala
305 310 315 320

762

Ser Glu Gly Ser Gly Gln Ile Trp Leu Asp Asn Ile Ser Cys Glu Gly
325 330 335

201

His Glu Ala Thr Leu Trp Glu Cys Lys His Gln Glu Trp Gly Lys His
340 345 350

Tyr Cys His His Arg Glu Asp Ala Gly Val Thr Cys Ser Asp Gly Ala
355 360 365

Asp Leu Glu Leu Arg Leu Val Gly Gly Gly Ser Arg Cys Ala Gly Ile
370 375 380

Val Glu Val Glu Ile Gln Lys Leu Thr Gly Lys Met Cys Ser Arg Gly
385 390 395 400

Trp Thr Leu Ala Asp Ala Asp Val Val Cys Arg Gln Leu Gly Cys Gly
405 410 415

Ser Ala Leu Gln Thr Gln Ala Lys Ile Tyr Ser Lys Thr Gly Ala Thr
420 425 430

Asn Thr Trp Leu Phe Pro Gly Ser Cys Asn Gly Asn Glu Thr Thr Phe
435 440 445

Trp Gln Cys Lys Asn Trp Gln Trp Gly Gly Leu Ser Cys Asp Asn Phe
450 455 460

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

Gly Gly Glu Ile Pro Cys Ser Gly Arg Val Glu Val Lys His Gly Asp
485 490 495

Val Trp Gly Ser Val Cys Asp Phe Asp Leu Ser Leu Glu Ala Ala Ser
500 505 510

Val Val Cys Arg Glu Leu Gln Cys Gly Thr Val Val Ser Ile Leu Gly
515 520 525

Gly Ala His Phe Gly Glu Gly Ser Gly Gln Ile Trp Gly Glu Glu Phe
530 535 540

Gln Cys Ser Gly Asp Glu Ser His Leu Ser Leu Cys Ser Val Ala Pro
545 550 555 560

Pro Leu Asp Arg Thr Cys Thr His Ser Arg Asp Val Ser Val Val Cys

203

202

565

570

575

Ser Arg Tyr Ile Asp Ile Arg Leu Ala Gly Gly Glu Ser Ser Cys Glu
580 585 590

Gly Arg Val Glu Leu Lys Thr Leu Gly Ala Trp Gly Pro Leu Cys Ser
595 600 605

Ser His Trp Asp Met Glu Asp Ala His Val Leu Cys Gln Gln Leu Lys
610 615 620

Cys Gly Val Ala Gln Ser Ile Pro Glu Gly Ala His Phe Gly Lys Gly
625 630 635 640

Ala Gly Gln Val Trp Ser His Met Phe His Cys Thr Gly Thr Glu Glu
645 650 655

His Ile Gly Asp Cys Leu Met Thr Ala Leu Gly Ala Pro Thr Cys Ser
660 665 670

Glu Gly Gln Val Ala Ser Val Ile Cys Ser Gly Asn Gln Ser Gln Thr
675 680 685

Leu Leu Pro Cys Ser Ser Leu Ser Pro Val Gln Thr Thr Ser Ser Thr
690 695 700

Ile Pro Lys Glu Ser Glu Val Pro Cys Ile Ala Ser Gly Gln Leu Arg
705 710 715 720

Leu Val Gly Gly Gly Gly Arg Cys Ala Gly Arg Val Glu Val Tyr His
725 730 735

Glu Gly Ser Trp Gly Thr Val Cys Asp Asp Asn Trp Asp Met Thr Asp
740 745 750

Ala Asn Val Val Cys Lys Gln Leu Asp Cys Gly Val Ala Ile Asn Ala
755 760 765

Thr Gly Ser Ala Tyr Phe Gly Glu Gly Ala Gly Ala Ile Trp Leu Asp
770 775 780

Glu Val Ile Cys Thr Gly Lys Glu Ser His Ile Trp Gln Cys His Ser
785 790 795 800

His Gly Trp Gly Arg His Asn Cys Arg His Lys Glu Asp Ala Gly Val
805 810 815

20A

203

Ile Cys Ser Glu Phe Met Ser Leu Arg Leu Thr Asn Glu Ala His Lys
820 825 830

Glu Asn Cys Thr Gly Arg Leu Glu Val Phe Tyr Asn Gly Thr Trp Gly
835 840 845

Ser Ile Gly Ser Ser Asn Met Ser Pro Thr Thr Val Gly Val Val Cys
850 855 860

Arg Gln Leu Gly Cys Ala Asp Asn Gly Thr Val Lys Pro Ile Pro Ser
865 870 875 880

Asp Lys Thr Pro Ser Arg Pro Met Trp Val Asp Arg Val Gln Cys Pro
885 890 895

Lys Gly Val Asp Thr Leu Trp Gln Cys Pro Ser Ser Pro Trp Lys Gln
900 905 910

Arg Gln Ala Ser Pro Ser Ser Gln Glu Ser Trp Ile Ile Cys Asp Asn
915 920 925

Lys Ile Arg Leu Gln Glu Gly His Thr Asp Cys Ser Gly Arg Val Glu
930 935 940

Ile Trp His Lys Gly Ser Trp Gly Thr Val Cys Asp Asp Ser Trp Asp
945 950 955 960

Leu Asn Asp Ala Lys Val Val Cys Lys Gln Leu Gly Cys Gly Gln Ala
965 970 975

Val Lys Ala Leu Lys Glu Ala Ala Phe Gly Pro Gly Thr Gly Pro Ile
980 985 990

Trp Leu Asn Glu Ile Lys Cys Arg Gly Asn Glu Ser Ser Leu Trp Asp
995 1000 1005

Cys Pro Ala Lys Pro Trp Ser His Ser Asp Cys Gly His Lys Glu
1010 1015 1020

Asp Ala Ser Ile Gln Cys Leu Pro Lys Met Thr Ser Glu Ser His
1025 1030 1035

His Gly Thr Gly His Pro Thr Leu Thr Ala Leu Leu Val Cys Gly
1040 1045 1050

205

204

Ala Ile Leu Leu Val Leu Leu Ile Val Phe Leu Leu Trp Thr Leu
1055 1060 1065

Lys Arg Arg Gln Ile Gln Arg Leu Thr Val Ser Ser Arg Gly Glu
1070 1075 1080

Val Leu Ile His Gln Val Gln Tyr Gln Glu Met Asp Ser Lys Ala
1085 1090 1095

Asp Asp Leu Asp Leu Leu Lys Ser Ser Gly Val Ile Gln Arg His
1100 1105 1110

Thr Glu Lys Glu Asn Asp Asn Leu
1115 1120

<210> 25
<211> 3639
<212> DNA
<213> Mus musculus

<400> 25
gcttttggaaat ggggtggacac agaatgggttc ttcttggagg tgctggatct cctggttgta 60
aaaggtttgt ccactctaggt ttctttgttg tggctgtgag ctactttctc agtgccctctg 120
ctgtcactaa cgctcctgga gaantgaaga aggaactgag actgggggtt ggtgaaaca 180
actgtagtgg gagagtggaa cttaagatcc atgacaagtg gggcacagtg tgcagtaacg 240
gctggagcat gaatgaagtg tccgtggttt gccagcagct gggatgaaa acttctatta 300
aagcccttgg atgggctaac tccagcgcog gctctggata tatctggatg gacaaagttt 360
cttgtacagg gaatgagta gotctttggg aotgcaaca tgatgggttg ggaagcata 420
aotgtacca tgaanaagat gctggagtga cctgctcaga tggatctaat ttggagatga 480
gactggtgaa cagtgcgggc cccgatgct taggaagagt agaatanaag ttccagggaa 540
agtgggggac ggtgtgtgac gacaactta gcaagatca ogottctgtg atttctaanc 600
agcttggatg tggagtgcc attagtttct ctggctcagc taanttgga gctggttctg 660
gaocaatctg gctcgatgac ctggcatgca atggaatga gtcagctctc tgggactgca 720
aacaccgggg atggggcaag cataactgtg accatgotga ggatgtcggg gtgatttgct 780
tagagggagc agatctgagc ctgagactag tggatggagt gtccagatgt tcaggaagat 840
tggagtgag attccaagga gaatggggga ccgtgtgtga tgataactgg gatctccggg 900
atgcttctgt ggtgtgcaag caactgggat gtccaactgc catcagtgcc attggtcag 960
ttaatgccag tgagggatct ggcagatatt ggcttgaca catttcatgc gaaggacatg 1020

206

205

aggcactct ttgggagtgt aaacacaaag agtggggaaa gcattactgt catcatagag 1080
 aagacgtgg ogtgaactgt tctgatggag cagatctgga acttagactt gtaggtggag 1140
 gcagtogotg tgotggcatt gtggagggtg agattcagaa gotgaactgg aagatgtgta 1200
 gcagagggtg gacactggca gatggggatg tggtttgacg acagcttggg tgtggatotg 1260
 cgcttcaaac ccaggctaaag atctactcta aaactggggc aacaaatacg tggctotttc 1320
 ctggatcttg taatggaaat gaaactaott tttggcaatg caaaaactgg cagtggggcg 1380
 gactttcttg tgataatttc gaagaagoca aagttacttg ctacgggcac agggaaacaa 1440
 gactggttgg agggagaatc ccattgctctg gtcgtgtgga aatgaacac ggagacgtgt 1500
 ggggtcogt ctgtgatttt gaottgtctc tggaaactgc cagtgtggtg tgcagggaa 1560
 tacaatgtgg aacagtogto tctatocag ggggagcaca ttttggagaa ggaagtggac 1620
 agatctgggg tgaagaattc cagtgtagtg gggatgagtc ccactcttca ctatgctcag 1680
 tggcgcccco gctagacaga actgtaccc acagcaggga tgcagcgta gtctgctcac 1740
 gatacataga tattogtctg gcaggggcg agtctctctg tgagggaaga gtggagotca 1800
 agacactogg agcctggggt cccctctgca gttctcattg ggacatggaa gatgctcatg 1860
 tcttatgtca gcagctgaag tgtggggttg ccaatctat tcagaagga gcacattttg 1920
 ggaaggagc tggtcaggtc tggagtcaca tgttccactg cactggaaact gaggaaacata 1980
 taggagattg cctcatgact gctctgggtg cgcagacgtg ttcogaagga cagggtggct 2040
 ctgtcatctg ctcaggaaac caatccaga cactattgcc atgtagttoa ttgtctocag 2100
 tcaaacacac aagctctaca attccaaagg agagtgaagt tccctgcata gcaagtggcc 2160
 agcttcgctt ggtagggtgga ggtggctcgt gcgctggaaag agtggagggtc taccacaggg 2220
 gctcttgggg caoogtctgt gatgacaatt gggatatgac tgatgocant gtggtgtgca 2280
 agcagctgga ctgtggogtg gcaattaacg ccactgggtc tgcctacttc ggggaaggag 2340
 caggagctat ctggctagac gaagtcatot gcactgggaa agagtctcat atttggcagt 2400
 gcoattcaca tggctgggga cgcataact gcaggcaca agaagatgca ggtgttatct 2460
 gtcagagtt catgtctctg aggtgacca aogaaagoca caaagaaac tgcacaggtc 2520
 gccttgaagt gtittacaat ggtacatggg gcagtattgg cagtacant atgtctocaa 2580
 ccactgtggg ggtgggtgtg cgtcagctgg gctgtgcaga caacgggact gtgaacoca 2640
 taccttcaga caagacaca tccaggocca tgtgggtaga togtgtgacg tgtccaaag 2700
 gagttgacac tttgtggcag tgcctctcgt cacttggaa acagagacag gccagccct 2760
 cctcccagga gtctggatc atctgtgaca acaaatag actocaggaa gggcatacag 2820
 actgttctgg acgtgtggag atctggcaca aagttctctg gggacagtg tgtgatgact 2880

207
206

ootgggatot taatgatgot aaggttgat gtatgcagtt ggggtgtggc caagotgtga 2940
 aggcactaaa agaagcagca ttgtgtccag gaactgggoc catatgggtc antgaaatta 3000
 agtgtagagg gaatgatgot tccctgtggg attgtctgtc caaacogtgg agtucacagc 3060
 actgtgggca caaagaagat gottcoatcc agtgcotccc caaatgact tcagatccac 3120
 atctgtggac aggtcaoooo acootcaagg caotcttggc ttgtggagoc attctattgg 3180
 tectctcat tgtcttctct ctgtggactc tgaagcgagc acagattcag cgacttacag 3240
 tttctcaag agggagggc ttgtatcctc aagttoagta ccaagagatg gattcaaaag 3300
 oggatgatot ggacttgotg aatcoctggg aaattccaa caattcatat gattttaatg 3360
 atgatggact gaactctttg tctaatatc ttctatttc tggattaaa aaggggtcat 3420
 tcagaggcac actgagaagg aaatgataa tttataatcc actgaggttg gattttaaga 3480
 agccttgaca ggacagccag cttaatgaa caagagocca ggcaagcac ggtgacac 3540
 agctgcctct tcatgcagtc ctttgtttcc tggactctg ctgaactgc aaaaacata 3600
 tttgtgaatg tgaccaatta atagagatgg gagactttt 3639

<210> 26
 <211> 3477
 <212> DNA
 <213> Mus musculus

<400> 26
 atgggtggac acagaatggt tcttcttggg ggtgctggat ctctgggtg taaaagggtt 60
 gtccatctag gtttctttgt tgtggctgtg agctcacttc tcagtgcctc tgotgtcact 120
 aaogctcctg gagaatgaa gaaggaaatg agactggcgg gtggtgaaa caactgtagt 180
 gggagagtgg aacttaagat ccatgacaag tggggcacag tgtgcagtaa cggctggagc 240
 atgaatgaag tgtccgtggt ttgocagcag ctgggatgoc caacttctat taaagccctt 300
 ggatgggcta actccagcgc oggctctgga tatatctgga tggacaaagt ttcttgtaca 360
 gggaaatgagt cagctctttg ggactgcaa catgatgggt ggggaaagca taactgtacc 420
 catgaaaag atgctggagt gacctgctca gatggatcta atttggagat gagactgggt 480
 aacagtgcgg gccaccgatg cttaggaaga gtgaaataa agttccaggg aaagtggggg 540
 accgtgtgtg acgacaactt cagcaagat cagccttctg tgatttgtaa acagcttggg 600
 tgtggaagtg ccattagttt ctctggctca gctaaattgg gagctgggtc tggaccaatc 660
 tggctcgatg aactggcatg caatggaaat gactcagctc tctgggactg caaacacogg 720
 ggatggggca agcataactg tgaocatgct gaggatgtcg gtgtgatttg cttagagggg 780
 gcagatctga gctgagact agtggatgga gtgtccagat gttcaggaa attggaagtg 840

108

207

agattccaaag gagaatgggg gacogtgtgt gatgataaot gggatotoog gpatgottct	900
gtgggtgtga agcaactggg atgtocaaot gocatcagtg ocatgggtog agttaatgco	960
agtgggggat ctggacagat ttgggttgac aacatttcat gogaaggaca tggggcaat	1020
ctttggggagt gtaaacaca agagtggga aagcattact gtatcatag agangaogct	1080
ggogtgacat gttctgatgg agcagatctg gaacttagac ttgtaggtgg aggcagtogc	1140
tgtgtctgga ttgtggaggt ggagattoag aagotgaoty ggaagatgtg tagodgaggo	1200
tggacactgg cagatggga tgtggtttgc agacagottg gatgtggato tggcttcaa	1260
accaggcta agatctactc taaaactggg gcaacaaata cgtggctctt tootggatct	1320
tgtantgga atgaactac tttttggaa tgcaaaaact ggcagtggg cggottttoo	1380
tgtgataatt togaagaagc caagttacc tgctoaggoc acagggaac cagactgggt	1440
ggaggagaaa tocatgtctc tggctgtgtg gaatgaac acggagagct gggggctcc	1500
gtctgtgatt ttgacttgtc tctggaagct gccagtgtgg tgtgcaggga attacaatgt	1560
ggaacagtct tctctatcct agggggagca ctttttggag aaggaaagtgg acagatctgg	1620
ggtgaagaat tocagtgtag tgggatgag tcccatctt cactatgtct agtggogoc	1680
cogctagaca gaacttgta cccagcagg gatgtcagcg tagtotgtct acgatacata	1740
gatattctgc tggcaggcgg ogagtcctcc tgtgaggga gagtggagct caagacactc	1800
ggagcctggg gtccctctg cagttctcat tgggacatgg aagatgctca tgtcttatgt	1860
cagcagctga agtgtgggtg tggcaatct attocagaag gacacattt tgggaagga	1920
gctgtcagg tctggagta catgttocac tgcactgga ctggggaaca tataggagat	1980
tgcctcatga ctgtctcgg tggccgacg tgttccgaag gacagggtgg ctctgtctc	2040
tgtcaggaa accaatccca gacactattg ccatgtagtt cattgtctcc agtoaaaaa	2100
acaagctcta caattocaaa ggagagtga gttccctgca tagcaagtgg ccagcttgc	2160
ttggtaggtg gagggtggog ctgcgctgga agagtggagg totaccacga gggctcttg	2220
ggcacogtct gtgatgaaa ttgggatatg actgatgca atgtggtgtg caagcagctg	2280
gactgtggog tggcaattaa cggcactggc totgcttact toggggaagg agcaggagct	2340
atctggctag aogaagtcat ctgcactggg aaagagtctc atatttggca gtgcattca	2400
catggctggg gacgcataa ctgcaggcac aaagaagatg caggtgttat ctgtccag	2460
ttcatgtctc tgggctgac caacgaagoc cacaagaaa actgcacagg togocttga	2520
gtgttttaca atggtacatg gggcagtatt ggcagttagca atatgtctcc aacctgtg	2580
gggtgtgtgt gcgtcagct gggctgtgca gacaacggga ctgtgaacc cataccttca	2640

209

208

gacaagacac tatocaggoc catgtgggta gatogtgtgc agtgtocaaa agggattgac 2700
actttgtggc agtgcocctc gtcacottgg aaacagagac aggcocagoc ctocococag 2760
gagtcttggc tcatctgtga caacaaaata agactocagg aagggcatat agactgttct 2820
ggactgttgg agatcttggc caaaggttcc tggggaaacag tgtgtgatga ctctgtggat 2880
cttaantgatg otaaggttgt atgtaagcag tgggctgtg gocaagctgt gaaggcaata 2940
aaagaagcag oatttgggtc aggaactggg cccatatggc tcaatgaat taagtgtaga 3000
gggaatgagt ctccctgtg ggattgtcct gcaaaacopt ggagtcacag cgaactgtgg 3060
cacaaagaag atgttccat ccagtgcctc ccaaaaatga ctccagaata acatcatggc 3120
acaggtcacc ccacccctac ggcactcttg gtttgtggag ccattctatt ggtccctc 3180
attgtcttcc tctgttggac tctgaagcga cgacagattc agagacttac agtttccctc 3240
agaggagagg tottgataca tcaagttcag taccagaga tggattcaaa ggaggatgat 3300
ctggacttgc tgaatcctc ggaattctcc acaattcat atgattttan tgaatgtgga 3360
ctgacatctt tgtctaaata tcttctatt tctggaatta aaaaggggtc attcagaggc 3420
acactgagaa ggaattgat aatttataat ccactgaggt tggagtttaa gaagoot 3477

<210> 27
<211> 1159
<212> PRT
<213> M18 misculus

<400> 27

Met Gly Gly His Arg Met Val Leu Leu Gly Gly Ala Gly Ser Pro Gly
1 5 10 15

Cys Lys Arg Phe Val His Leu Gly Phe Phe Val Val Ala Val Ser Ser
20 25 30

Leu Leu Ser Ala Ser Ala Val Thr Asn Ala Pro Gly Glu Met Lys Lys
35 40 45

Glu Leu Arg Leu Ala Gly Gly Glu Asn Asn Cys Ser Gly Arg Val Glu
50 55 60

Leu Lys Ile His Asp Lys Trp Gly Thr Val Cys Ser Asn Gly Trp Ser
65 70 75 80

Met Asn Glu Val Ser Val Val Cys Gln Gln Leu Gly Cys Pro Thr Ser
85 90 95

Ile Lys Ala Leu Gly Trp Ala Asn Ser Ser Ala Gly Ser Gly Tyr Ile

210

209

100	105	110
Trp Met Asp Lys Val Ser Cys Thr Gly Asn Glu Ser Ala Leu Trp Asp 115 120 125		
Cys Lys His Asp Gly Trp Gly Lys His Asn Cys Thr His Glu Lys Asp 130 135 140		
Ala Gly Val Thr Cys Ser Asp Gly Ser Asn Leu Glu Met Arg Leu Val 145 150 155 160		
Asn Ser Ala Gly His Arg Cys Leu Gly Arg Val Glu Ile Lys Phe Gln 165 170 175		
Gly Lys Trp Gly Thr Val Cys Asp Asp Asn Phe Ser Lys Asp His Ala 180 185 190		
Ser Val Ile Cys Lys Gln Leu Gly Cys Gly Ser Ala Ile Ser Phe Ser 195 200 205		
Gly Ser Ala Lys Leu Gly Ala Gly Ser Gly Pro Ile Trp Leu Asp Asp 210 215 220		
Leu Ala Cys Asn Gly Asn Glu Ser Ala Leu Trp Asp Cys Lys His Arg 225 230 235 240		
Gly Trp Gly Lys His Asn Cys Asp His Ala Glu Asp Val Gly Val Ile 245 250 255		
Cys Leu Glu Gly Ala Asp Leu Ser Leu Arg Leu Val Asp Gly Val Ser 260 265 270		
Arg Cys Ser Gly Arg Leu Glu Val Arg Phe Gln Gly Glu Trp Gly Thr 275 280 285		
Val Cys Asp Asp Asn Trp Asp Leu Arg Asp Ala Ser Val Val Cys Lys 290 295 300		
Gln Leu Gly Cys Pro Thr Ala Ile Ser Ala Ile Gly Arg Val Asn Ala 305 310 315 320		
Ser Glu Gly Ser Gly Gln Ile Trp Leu Asp Asn Ile Ser Cys Glu Gly 325 330 335		
His Glu Ala Thr Leu Trp Glu Cys Lys His Gln Glu Trp Gly Lys His 340 345 350		

ET

210

Tyr Cys His His Arg Glu Asp Ala Gly Val Thr Cys Ser Asp Gly Ala
355 360 365

Asp Leu Glu Leu Arg Leu Val Gly Gly Gly Ser Arg Cys Ala Gly Ile
370 375 380

Val Glu Val Glu Ile Gln Lys Leu Thr Gly Lys Met Cys Ser Arg Gly
385 390 395 400

Trp Thr Leu Ala Asp Ala Asp Val Val Cys Arg Gln Leu Gly Cys Gly
405 410 415

Ser Ala Leu Gln Thr Gln Ala Lys Ile Tyr Ser Lys Thr Gly Ala Thr
420 425 430

Asn Thr Trp Leu Phe Pro Gly Ser Cys Asn Gly Asn Glu Thr Thr Phe
435 440 445

Trp Gln Cys Lys Asn Trp Gln Trp Gly Gly Leu Ser Cys Asp Asn Phe
450 455 460

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

Gly Gly Glu Ile Pro Cys Ser Gly Arg Val Glu Met Lys His Gly Asp
485 490 495

Val Trp Gly Ser Val Cys Asp Phe Asp Leu Ser Leu Glu Ala Ala Ser
500 505 510

Val Val Cys Arg Glu Leu Gln Cys Gly Thr Val Val Ser Ile Leu Gly
515 520 525

Gly Ala His Phe Gly Glu Gly Ser Gly Gln Ile Trp Gly Glu Glu Phe
530 535 540

Gln Cys Ser Gly Asp Glu Ser His Leu Ser Leu Cys Ser Val Ala Pro
545 550 555 560

Pro Leu Asp Arg Thr Cys Thr His Ser Arg Asp Val Ser Val Val Cys
565 570 575

Ser Arg Tyr Ile Asp Ile Arg Leu Ala Gly Gly Glu Ser Ser Cys Glu
580 585 590

212

211

Gly Arg Val Glu Leu Lys Thr Leu Gly Ala Trp Gly Pro Leu Cys Ser
595 600 605

Ser His Trp Asp Met Glu Asp Ala His Val Leu Cys Gln Gln Leu Lys
610 615 620

Cys Gly Val Ala Gln Ser Ile Pro Glu Gly Ala His Phe Gly Lys Gly
625 630 635 640

Ala Gly Gln Val Trp Ser His Met Phe His Cys Thr Gly Thr Glu Gln
645 650 655

His Ile Gly Asp Cys Leu Met Thr Ala Leu Gly Ala Pro Thr Cys Ser
660 665 670

Glu Gly Gln Val Ala Ser Val Ile Cys Ser Gly Asn Gln Ser Gln Thr
675 680 685

Leu Leu Pro Cys Ser Ser Leu Ser Pro Val Gln Thr Thr Ser Ser Thr
690 695 700

Ile Pro Lys Glu Ser Glu Val Pro Cys Ile Ala Ser Gly Gln Leu Arg
705 710 715 720

Leu Val Gly Gly Gly Gly Arg Cys Ala Gly Arg Val Glu Val Tyr His
725 730 735

Glu Gly Ser Trp Gly Thr Val Cys Asp Asp Asn Trp Asp Met Thr Asp
740 745 750

Ala Asn Val Val Cys Lys Gln Leu Asp Cys Gly Val Ala Ile Asn Ala
755 760 765

Thr Gly Ser Ala Tyr Phe Gly Glu Gly Ala Gly Ala Ile Trp Leu Asp
770 775 780

Glu Val Ile Cys Thr Gly Lys Glu Ser His Ile Trp Gln Cys His Ser
785 790 795 800

His Gly Trp Gly Arg His Asn Cys Arg His Lys Glu Asp Ala Gly Val
805 810 815

Ile Cys Ser Glu Phe Met Ser Leu Arg Leu Thr Asn Glu Ala His Lys
820 825 830

212

Glu Asn Cys Thr Gly Arg Leu Glu Val Phe Tyr Asn Gly Thr Trp Gly
835 840 845

Ser Ile Gly Ser Ser Asn Met Ser Pro Thr Thr Val Gly Val Val Cys
850 855 860

Arg Gln Leu Gly Cys Ala Asp Asn Gly Thr Val Lys Pro Ile Pro Ser
865 870 875 880

Asp Lys Thr Pro Ser Arg Pro Met Trp Val Asp Arg Val Gln Cys Pro
885 890 895

Lys Gly Val Asp Thr Leu Trp Gln Cys Pro Ser Ser Pro Trp Lys Gln
900 905 910

Arg Gln Ala Ser Pro Ser Ser Gln Glu Ser Trp Ile Ile Cys Asp Asn
915 920 925

Lys Ile Arg Leu Gln Glu Gly His Thr Asp Cys Ser Gly Arg Val Glu
930 935 940

Ile Trp His Lys Gly Ser Trp Gly Thr Val Cys Asp Asp Ser Trp Asp
945 950 955 960

Leu Asn Asp Ala Lys Val Val Cys Lys Gln Leu Gly Cys Gly Gln Ala
965 970 975

Val Lys Ala Leu Lys Glu Ala Ala Phe Gly Pro Gly Thr Gly Pro Ile
980 985 990

Trp Leu Asn Glu Ile Lys Cys Arg Gly Asn Glu Ser Ser Leu Trp Asp
995 1000 1005

Cys Pro Ala Lys Pro Trp Ser His Ser Asp Cys Gly His Lys Glu
1010 1015 1020

Asp Ala Ser Ile Gln Cys Leu Pro Lys Met Thr Ser Glu Ser His
1025 1030 1035

His Gly Thr Gly His Pro Thr Leu Thr Ala Leu Leu Val Cys Gly
1040 1045 1050

Ala Ile Leu Leu Val Leu Leu Ile Val Phe Leu Leu Trp Thr Leu
1055 1060 1065

Lys Arg Arg Gln Ile Gln Arg Leu Thr Val Ser Ser Arg Gly Glu

214
213

1070

1075

1080

Val Leu Ile His Gln Val Gln Tyr Gln Glu Met Asp Ser Lys Ala
1085 1090 1095

Asp Asp Leu Asp Leu Leu Lys Ser Ser Glu Asn Ser Asn Asn Ser
1100 1105 1110

Tyr Asp Phe Asn Asp Asp Gly Leu Thr Ser Leu Ser Lys Tyr Leu
1115 1120 1125

Pro Ile Ser Gly Ile Lys Lys Gly Ser Phe Arg Gly Thr Leu Arg
1130 1135 1140

Arg Lys Met Ile Ile Tyr Asn Pro Leu Arg Leu Glu Phe Lys Lys
1145 1150 1155

Pro

<210> 28
<211> 26
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> PCR Primer

<400> 28
caccggaatg agcaactca gaatgg

26

<210> 29
<211> 40
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> PCR Primer

<400> 29
tgctccgga cctagtcag gtcttcacaa aggtatctta

40

<210> 30
<211> 3414
<212> DNA
<213> African green monkey

<400> 30
atgagcaaac tcagaatggt gctacttga gactctggat ctgctgacgt cagaagacat
tttgtcaact tgagtcocct cactattgct gtggtcttac ttctccgtgc ctgttttgtc

60
120

215

214

accagttctc ttggagggaac aaccaaggag ctgagggtag tggatggtga aaacaagtgt 180
 agtgggagag tggaaagtga aatccaggag gagtgggga ogtgtgtga taatgggtgg 240
 agcatggaaag cagtctctgt gatttgtaac cagctgggat gtccaaactgc tatcaaaagoc 300
 aotggatggg ctaattccag tgcaggttct ggaagcattt ggatggatca tgtttcttgt 360
 ogtgggaatg agtcagctct ttgggaactgc aaacatgatg gatggggaaa gcatagttaac 420
 tgtactonoc aaacaagtgc tggagtgaat tgcacagatg gacccgattt ggaatgagg 480
 ctgacgaatg gagggaaatg gtgttctgga agaatagaga tcaaatcca aggaacagtgg 540
 ggaacagtgt gtgatgataa ottcaacatc aatcatgcac ctgtggtttg taanaaactt 600
 gaatgtggaa gtgtgtcag tttctctggt tcagctaatt ttggagaagg ctctggacca 660
 atctggtttg atgatcttat atgcaacgga aatgagtcag ctctctggaa ctgcaaacat 720
 caaggatggg gaaagcataa ctgtgatcat gctgaggatg ctggagtgt ttgtcaang 780
 ggagcagatc tgagcctgag actggttagat ggagtcactg aatgttcagg aagattagaa 840
 gtgagattcc aaggagaatg ggggacaata tgtgatgacg gctgggacag caatgatgt 900
 gctgtggcat gcaagcaact gggatgtcca actgctatca ccgccattgg togagttaac 960
 gocagtgagg gatttggaac catctggctt gacagtgttt cttgccaggg acatgaaoct 1020
 gccgtctggc aatgtaaca ccatgaatgg ggaagcatt attgcaatca caatgaagat 1080
 gctggogtaa catgttctga tggatcagat ctggagctaa gacttagagg tggaggcagc 1140
 cgttgtgtgt ggacagttga ggtggagatt cagagactgt tagggaaggt gtgtgacaga 1200
 ggctggggac tgaagaagc tgatgtggtt tgcaggcagc tgggatgtgg atctgcactc 1260
 aaacatcct atcaagtata ctccaaatc caggcaaca aatgtgtggt gtttotaagt 1320
 agctgtaacg gaaatgaac ttctctttgg gactgcaaga actggcaatg ggttggaact 1380
 acctgtgatc actatgaaga agccaaatt acctgctcag oocacagggg aocagactg 1440
 gttggaggag acattccctg ttctggacgc gttgaagtga agcatggtga caoatggggc 1500
 tcogtctgtg attcggattt ctctctggaa gctgcagcgt ttctatgcag ggaattacag 1560
 tgtggcacag tegtctctat cctgggggga gctcactttg gagagggaaa tggacagatc 1620
 tgggctgaag aattccagt tggggacat ggtccatc tttcactctg cocagtagca 1680
 ccccgccag aggaacttg tagccacagc agggatgttg gagtgtctg ctcaagatac 1740
 acagaaattc gcttggatga tggcaagacc caatgtgagg gcagagtga gctcaaaacg 1800
 cttaatgcct gggatccct ctgcaactct cactgggaca tagaagatgc ccacgttctt 1860
 tgccaacac ttaaatgtgg agttgccctt tctaocccag gaggagcaaa ttttggaaa 1920
 ggaatggtc aggtctggag gcatatgttt caotgcactg ggaotgaga gcacatggga 1980

216
215

gattgttootg taactgotct ggggtgottca ctatgttoott caggggaagt ggcctotgta 2040
 atttgtctag gaaacagtc ocaaacactg tootcgtgca attcatcctc totggggcca 2100
 acaaggccta coattocaga agaaagtgt gtggcctgca tagagagtgg tcaacttgc 2160
 ttggtaaatg gaggaggtog ctgtgtgtgg agagttagaga tttatcatga gggctootgg 2220
 ggcacatct gtgatgacag ctgggacotg agogatgccc acgtgggtgt cagacagctg 2280
 ggtgtggag aggcattaa tgcactgtt totgtcatt ttggagaagg aaacggggccc 2340
 atctggctgg atgagatgaa atgcactgga aaagaatccc gaatttggca gtgcattca 2400
 catggctggg ggcagcaaaa ctgcaggcac aaggaggatg caggagtat ctgtccagag 2460
 ttcattgtctc tgagactgac cagtgaagcc agcagagagg ootgtgcagg gcgtotagaa 2520
 gttttttaca acggagcttg gggcagtgtt ggcaggagta acatgtctga aaocactgtg 2580
 ggtgtgggtg gcaggcagct gggctgtgca gacaaagggg aatcaacccc tgcactctta 2640
 gacaaggcca tgtocattcc catgtgggtg gcaactgttc agtgtccaa aggcctgac 2700
 acgtgtggc agtgcctcct atctccatgg gagaagagac tggccaggcc ctoggaggag 2760
 acctggatca catgtgacaa caagatgaga ctacaagaag gacccacttc ctgttctgga 2820
 cgtgtggaga tctggcagg aggttctctg gggacagtgt gtgatgactc ctgggaactg 2880
 aacgatgtct aggtgggtgt tcaacaactt ggtgtgggtc cagctttgaa agcattcaaa 2940
 gaagcagagt ttggtcaggg gactggaccc atatggctca atgaagtga gtgcaaggg 3000
 aatgagtctt ccttgtggga ttgtctgcc agacgtggg gacacagtga gtgtggacac 3060
 aaggaagacg ctgcagtga ttgcacagat atttcaacga acaaaaacccc acaaaaagcc 3120
 acaacaggtc agtcatcctt tattgcagtc ggaatccttg gattgttct cttggtcatt 3180
 ttctgtgat tattcttgac tcaaaagoga agacagagac agcggcttac agtttctca 3240
 agaggagaga acttagtcca ccaattcaa taocgggaga tgaattottg cctgaatgca 3300
 gatgatctgg aactaatgaa ttcttcagga ggcattctg aggcacactg aaagggaaa 3360
 tgggaattta taaccagtg agoottgag atacottgat gaagacotgg acta 3414

<210> 31
 <211> 3348
 <212> DNA
 <213> African green monkey

<400> 31
 atgagcaaac tcagaatggt gctacttga gactctggat ctgctgacgt cagaagacat 60
 tttgttaact tgagtcoctt cactattgct gtggtcttac ttctcctgac ctgttttgc 120
 accagttctc ttggagggaac aaocaaggag ctgaggctag tggatggtga aaacaagtgt 180

216

agtgggagag tgggaagtga aatccaggag gagtgggaa oggtgtgtaa taatgggtgg 240
 agcatggaag cagtctctgt gatttgtaac cagotgggat gtccaaotgc tatcaagoc 300
 actggatggg ctattccag tgcaggtctt ggaogcattt ggaatggatca tgtttcttgt 360
 ogtgggaatg agtoagctct ttgggaotgc aaacatgatg gatggggaaa goatagtaac 420
 tgtactcacc aacaagatgc tggagtgaot tgcacagatg gataogattt ggaatgagg 480
 ctgacgaatg gagggaatat gtgtttotgga agaantagaga tcaaatcca aggcaggtgg 540
 ggaacagtgt gtgatgataa cttaaacato aatcatgoat ctgtggtttg taanacanctt 600
 gaatgtggaa gtgctgtcag tttctctggt tcagotaatt ttggagaagg ctctggacaa 660
 atctggtttg atgatcttat atgcaacgga aatgagtcaag ctctctggaa ctgcaaacat 720
 caaggatggg gaaagcataa ctgtgatcat gctgaggatg ctggagtgat ttgctcaag 780
 ggaacagato tgagcctgag actggttagat ggaatcactg aatgttcagg aagattgaa 840
 gtgagattcc aaggagaatg ggggacaata tgtgatgacg gctgggacag tcagtatgct 900
 gctgtggcat gcaagcaact gggatgtcaa actgctatca ccgocattgg toagttaac 960
 gacagtggg gatttggaca catctggctt gacagtgttt ctggocaggg acatgaact 1020
 ggggtctggc aatgtaaaca ccatgaatgg ggaagcatt attgcaatca caatgaatg 1080
 gctggcgtaa catgttctga tggatcagat ctggagctaa gaattagagg tggaggcagc 1140
 cgctgtgctg ggaagttga ggtggagatt cagagactgt tagggaaagt gtgtgacaga 1200
 ggctggggac tgaagaagc tgatgtggtt tgcaggcagc tgggatgtgg atctgcactc 1260
 aaacatcct atcaagtata ctocaaatc caggcaacaa acatgtggct gtttctaagt 1320
 agctgtaacg gaattgaac ttctctttgg gactgcaaga actggcaatg ggttggaact 1380
 acctgtgatc actatgaaga agccaaatt acctgctcag ccacaggga accagactg 1440
 gttggaggag acattocctg ttctggacgc gttgaagtga agcatggtga cacatgggc 1500
 togtctgtg attoggattt ctctctggaa gctgocagcg ttctatgaag ggaattacag 1560
 tgtggcacag tctctctat cctgggggga gctcaacttg gaggggaaa tggacagatc 1620
 tgggtgaag aattccagt tggggatcat ggtccatc tttcactctg ccagtagca 1680
 cccgcccag aaggaaactg tagccacagc agggatgttg gagtgtctg ctcaagatac 1740
 acagaattc gcttgggtga tggcaagacc ccatgtgagg gcagagtga gctcaaacg 1800
 cttaatgctt ggggatccct ctgcaactct cactgggaca tagaatgac ccaogttctt 1860
 tgccaacac ttaaatgtgg agttgacctt tctaccocag gaggagcaca ttttggaaa 1920
 ggaatggtc aggtctggag gcatatgtt cactgcactg ggaatgagca gcacatggga 1980

217

gattgtcttg taactgtctt ggggtcttca ctatgtcttt cagggcaagt gggctctgta 2040
 atttgcctag gaaacagtc ccaaacactg tctctgtgca attctctc tcctgggccc 2100
 acaaggccta ccattccaga agaaagtgt gtggctgca tagagagtgg tcaacttgc 2160
 ttggtaaatg gaggaggttg ctgtgtctgg agagttaga tttatcatga gggctctgta 2220
 ggcacctct gtgtgacag ctgggacctg agctatgcc aagtgtgtg cagcagctg 2280
 ggtgtgtgg aggcattaa tgcactgtt tctgtctatt ttggagaggg aacagggccc 2340
 atctggctgg atgagatgaa atgaatgga aaagaatccc gcatttggca gtgcattca 2400
 catggtctgg ggcagcaaaa ctgcaggtac aaggaggtg caggagtat ctgtctagag 2460
 ttcatgtctc tgagactgac cagtgaagcc agcagagagg octgtgctgg ggtcttagaa 2520
 gttttttaca aaggagcttg gggcagtgtt ggcaggagta acatgtctga aacacgtgtg 2580
 ggtgtgtgtg gcaggcagct gggctgtgca gacaagggga aaatcaatcc tgcattctta 2640
 gacaaggcca tgtccattcc catgtgggtg gacaatgtt agtgtcaaa aggcctgac 2700
 acgtgtgtgc agtgccatc atctccatgg gagaagagac tggcaggcc ctgggaggag 2760
 acctggatca catgtgaca caagatgaga ctacaagaag gacccaatto ctgttctgga 2820
 cgtgtggaga tctggcagg aggttctctg gggacagtgt gtgtgactc ctgggacttg 2880
 aacgatgtc aggtgtgtg tcaacaactt ggtgtgtgtc cagctttgaa agcattcaaa 2940
 gaagcagagt ttgttcaggg gactggacc atatggctca atgaagtga gtgcaagggg 3000
 aatgagtctt ccttgtggga ttgtctgccc agacgtggg gccacagtga gtgtggacac 3060
 aaggaagaag ctgcagtga ttgcacagat atttcaaga acaaaacccc acaaaagcc 3120
 acaacaggtc agtcatcct tattgcagtc ggaatccttg gagtgtttct ctgtgtcatt 3180
 ttctgtgcat tattcttgac tcaaaagcga agacagagac agcggcttac agtttctca 3240
 agagggagga acttagtoca ccaattcaa taocgggaga tgaattcttg cctgaatgca 3300
 gatgatctgg acctaatgaa ttctcagga ggcattctg aggcacac 3360

<210> 32
 <211> 1116
 <212> PRT
 <213> African green monkey

<400> 32

Met Ser Lys Leu Arg Met Val Leu Leu Glu Asp Ser Gly Ser Ala Asp
 1 5 10 15

Val Arg Arg His Phe Val Asn Leu Ser Pro Phe Thr Ile Ala Val Val
 20 25 30

219
218

Leu Leu Leu Arg Ala Cys Phe Val Thr Ser Ser Leu Gly Gly Thr Thr
35 40 45

Lys Glu Leu Arg Leu Val Asp Gly Glu Asn Lys Cys Ser Gly Arg Val
50 55 60

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

Ser Met Glu Ala Val Ser Val Ile Cys Asn Gln Leu Gly Cys Pro Thr
85 90 95

Ala Ile Lys Ala Thr Gly Trp Ala Asn Ser Ser Ala Gly Ser Gly Arg
100 105 110

Ile Trp Met Asp His Val Ser Cys Arg Gly Asn Glu Ser Ala Leu Trp
115 120 125

Asp Cys Lys His Asp Gly Trp Gly Lys His Ser Asn Cys Thr His Gln
130 135 140

Gln Asp Ala Gly Val Thr Cys Ser Asp Gly Ser Asp Leu Glu Met Arg
145 150 155 160

Leu Thr Asn Gly Gly Asn Met Cys Ser Gly Arg Ile Glu Ile Lys Phe
165 170 175

Gln Gly Gln Trp Gly Thr Val Cys Asp Asp Asn Phe Asn Ile Asn His
180 185 190

Ala Ser Val Val Cys Lys Gln Leu Glu Cys Gly Ser Ala Val Ser Phe
195 200 205

Ser Gly Ser Ala Asn Phe Gly Glu Gly Ser Gly Pro Ile Trp Phe Asp
210 215 220

Asp Leu Ile Cys Asn Gly Asn Glu Ser Ala Leu Trp Asn Cys Lys His
225 230 235 240

Gln Gly Trp Gly Lys His Asn Cys Asp His Ala Glu Asp Ala Gly Val
245 250 255

Ile Cys Ser Lys Gly Ala Asp Leu Ser Leu Arg Leu Val Asp Gly Val
260 265 270

220
219

Thr Glu Cys Ser Gly Arg Leu Glu Val Arg Phe Gln Gly Glu Trp Gly
275 280 285

Thr Ile Cys Asp Asp Gly Trp Asp Ser His Asp Ala Ala Val Ala Cys
290 295 300

Lys Gln Leu Gly Cys Pro Thr Ala Ile Thr Ala Ile Gly Arg Val Asn
305 310 315 320

Ala Ser Glu Gly Phe Gly His Ile Trp Leu Asp Ser Val Ser Cys Gln
325 330 335

Gly His Glu Pro Ala Val Trp Gln Cys Lys His His Glu Trp Gly Lys
340 345 350

His Tyr Cys Asn His Asn Glu Asp Ala Gly Val Thr Cys Ser Asp Gly
355 360 365

Ser Asp Leu Glu Leu Arg Leu Arg Gly Gly Gly Ser Arg Cys Ala Gly
370 375 380

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

Gly Trp Gly Leu Lys Glu Ala Asp Val Val Cys Arg Gln Leu Gly Cys
405 410 415

Gly Ser Ala Leu Lys Thr Ser Tyr Gln Val Tyr Ser Lys Ile Gln Ala
420 425 430

Thr Asn Met Trp Leu Phe Leu Ser Ser Cys Asn Gly Asn Glu Thr Ser
435 440 445

Leu Trp Asp Cys Lys Asn Trp Gln Trp Gly Gly Leu Thr Cys Asp His
450 455 460

Tyr Glu Glu Ala Lys Ile Thr Cys Ser Ala His Arg Glu Pro Arg Leu
465 470 475 480

Val Gly Gly Asp Ile Pro Cys Ser Gly Arg Val Glu Val Lys His Gly
485 490 495

Asp Thr Trp Gly Ser Val Cys Asp Ser Asp Phe Ser Leu Glu Ala Ala
500 505 510

Ser Val Leu Cys Arg Glu Leu Gln Cys Gly Thr Val Val Ser Ile Leu

221

220

515

520

525

Gly Gly Ala His Phe Gly Glu Gly Asn Gly Gln Ile Trp Ala Glu Glu
530 535 540

Phe Gln Cys Glu Gly His Glu Ser His Leu Ser Leu Cys Pro Val Ala
545 550 555 560

Pro Arg Pro Glu Gly Thr Cys Ser His Ser Arg Asp Val Gly Val Val
565 570 575

Cys Ser Arg Tyr Thr Glu Ile Arg Leu Val Asn Gly Lys Thr Pro Cys
580 585 590

Glu Gly Arg Val Glu Leu Lys Thr Leu Asn Ala Trp Gly Ser Leu Cys
595 600 605

Asn Ser His Trp Asp Ile Glu Asp Ala His Val Leu Cys Gln Gln Leu
610 615 620

Lys Cys Gly Val Ala Leu Ser Thr Pro Gly Gly Ala His Phe Gly Lys
625 630 635 640

Gly Asn Gly Gln Val Trp Arg His Met Phe His Cys Thr Gly Thr Glu
645 650 655

Gln His Met Gly Asp Cys Pro Val Thr Ala Leu Gly Ala Ser Leu Cys
660 665 670

Pro Ser Gly Gln Val Ala Ser Val Ile Cys Ser Gly Asn Gln Ser Gln
675 680 685

Thr Leu Ser Ser Cys Asn Ser Ser Ser Leu Gly Pro Thr Arg Pro Thr
690 695 700

Ile Pro Glu Glu Ser Ala Val Ala Cys Ile Glu Ser Gly Gln Leu Arg
705 710 715 720

Leu Val Asn Gly Gly Gly Arg Cys Ala Gly Arg Val Glu Ile Tyr His
725 730 735

Glu Gly Ser Trp Gly Thr Ile Cys Asp Asp Ser Trp Asp Leu Ser Asp
740 745 750

Ala His Val Val Cys Arg Gln Leu Gly Cys Gly Glu Ala Ile Asn Ala
755 760 765

222
221

Thr Gly Ser Ala His Phe Gly Glu Gly Thr Gly Pro Ile Trp Leu Asp
770 775 780

Glu Met Lys Cys Asn Gly Lys Glu Ser Arg Ile Trp Gln Cys His Ser
785 790 795 800

His Gly Trp Gly Gln Gln Asn Cys Arg His Lys Glu Asp Ala Gly Val
805 810 815

Ile Cys Ser Glu Phe Met Ser Leu Arg Leu Thr Ser Glu Ala Ser Arg
820 825 830

Glu Ala Cys Ala Gly Arg Leu Glu Val Phe Tyr Asn Gly Ala Trp Gly
835 840 845

Ser Val Gly Arg Ser Asn Met Ser Glu Thr Thr Val Gly Val Val Cys
850 855 860

Arg Gln Leu Gly Cys Ala Asp Lys Gly Lys Ile Asn Pro Ala Ser Leu
865 870 875 880

Asp Lys Ala Met Ser Ile Pro Met Trp Val Asp Asn Val Gln Cys Pro
885 890 895

Lys Gly Pro Asp Thr Leu Trp Gln Cys Pro Ser Ser Pro Trp Glu Lys
900 905 910

Arg Leu Ala Arg Pro Ser Glu Glu Thr Trp Ile Thr Cys Asp Asn Lys
915 920 925

Met Arg Leu Gln Glu Gly Pro Thr Ser Cys Ser Gly Arg Val Glu Ile
930 935 940

Trp His Gly Gly Ser Trp Gly Thr Val Cys Asp Asp Ser Trp Asp Leu
945 950 955 960

Asn Asp Ala Gln Val Val Cys Gln Gln Leu Gly Cys Gly Pro Ala Leu
965 970 975

Lys Ala Phe Lys Glu Ala Glu Phe Gly Gln Gly Thr Gly Pro Ile Trp
980 985 990

Leu Asn Glu Val Lys Cys Lys Gly Asn Glu Ser Ser Leu Trp Asp Cys
995 1000 1005

223
222

Pro Ala Arg Arg Trp Gly His Ser Glu Cys Gly His Lys Glu Asp
1010 1015 1020

Ala Ala Val Asn Cys Thr Asp Ile Ser Thr Asn Lys Thr Pro Gln
1025 1030 1035

Lys Ala Thr Thr Gly Gln Ser Ser Leu Ile Ala Val Gly Ile Leu
1040 1045 1050

Gly Val Val Leu Leu Val Ile Phe Val Ala Leu Phe Leu Thr Gln
1055 1060 1065

Lys Arg Arg Gln Arg Gln Arg Leu Thr Val Ser Ser Arg Gly Glu
1070 1075 1080

Asn Leu Val His Gln Ile Gln Tyr Arg Glu Met Asn Ser Cys Leu
1085 1090 1095

Asn Ala Asp Asp Leu Asp Leu Met Asn Ser Ser Gly Gly His Ser
1100 1105 1110

Glu Ala His
1115

<210> 33
<211> 3348
<212> DNA
<213> African green monkey

<400> 33
atgagcaaac tcagaatggt gctacttgaa gactctggtat ctgctgaagt cagaagacat 60
tttgtcaact tgagtccttt cactattgct gtggtcttac ttctccgtgc ctgttttgc 120
accagttctc ttggaggaaac aaccaaggag ctgggctag tggatggtga aaacaagtgt 180
agtgggagag tggaaagtga aatccaggag gagtgggaa cgtgtgtga taatggctgg 240
agcatggaag cagtctctgt gatttgaac cagctgggtat gtccaactgc tatcaagcc 300
actggatggg cttaattccag tgcagttct ggaagcattt gcatggtca tgtttcttgt 360
cgtgggaatg agtcagctct ttgggactgc aaacatgatg gatggggaaa gcatagtaac 420
tgtactcacc aacaagatgc tggagtaact tgctcagatg gatccgattt ggaatgag 480
ctgacgaatg gagggaaatat gtgttctgga agaatagaga tcaattoca aggcagtg 540
ggaacagtgt gtgatgataa cttcaacatc aatcatgcat ctgtggtttg taacaactt 600
gaatgtgga gtgctgtcag tttctctggt tcagctaatt ttggagaagg ctctggaoca 660

224
223

atotggtttg atgatottat atgaaogga aatgagtcag otototggaa otgaaacat 720
 aaaggatggg gaaagcctaa otgtgatcat gotgaggatg otggagtgt ttgctaaaag 780
 ggagcagatc tgagootgag actggttagat ggagtcactg aatgttcagg aagattagaa 840
 gtgagattoc aaggagaatg .ggggacaata tgtgatgag gotgggacag tcatgatgct 900
 gctgtggcat gaaagaaact gggatgtoca actgctatca oagcatttg togagttaac 960
 gccagtggg gatttggaca catctggctt gacagtgtt ctggccaggg acatgaact 1020
 ggggtctggc aatgtaaaac caatgaatgg gaaagcatt attgaaatca caatgaagat 1080
 gctggcgtaa catgttctga tggatcaggt otggagctaa gacttagagg tggaggcaga 1140
 cgctgtgctg ggacagtga ggtggagatt cagagactgt tagggaaagt gtgtgacaga 1200
 ggtggggac tgaagaagc tgatgtggtt tgcaggcaga tgggatgtg atotgaactc 1260
 aaacatcct atcagata ctccaaatc caggcaaca acatgtggct gtttctaatg 1320
 agctgtaaag gaaatgaac ttctcttttg gactgcaaga actggcaatg ggtggactt 1380
 aactgtgac actatgaaga agccaaaatt aactgctcag ctccacaggg acccagactg 1440
 gttggaggag acattccctg ttctggacgc gttgaagtga agcatggtga cacatggggc 1500
 togtctgtg attcggattt ctctotggaa gctgocagcg ttctatgag ggaattacag 1560
 tgtggcacag togtctctat cctgggggga gctcacttg gagagggaaa tggacagatc 1620
 tggactgag aattccagtg tgaggacat gactccatc ttccactctg cccagtacga 1680
 ccccgccag aaggaaactg tagccacagc agggatgtg gagtatctg ctcaagatac 1740
 acagaaatc gottggtga tggcaagacc ccatgtgagg gcagagtga gctcaaaag 1800
 cttaatgctt ggggatcct ctgcaactct cactgggaca tagaagatgc ccacgttctt 1860
 tgccaaacac ttaaatgtgg agttgocctt ttaocccag gaggagcaca ttttggaaaa 1920
 ggaatggto aggtctggag gcatatgtt cactgcactg ggactgagca gcacatggga 1980
 gattgtcctg taactgctt ggtgtctca ctatgtcctt cagggcaagt ggcctotgta 2040
 attgtctag gaaacagtc ccaaacactg toctgcgca attcatcctc tctgggocca 2100
 acaaggcta ccattccaga agaaagtgt gtggcctgca tagagagtgg tcaacttcgc 2160
 ttggtaaatg gaggaggtcg ctgtgtggg agagtacaga tttatcatga gggctcctgg 2220
 ggcaccatct gtgatgacag ctgggacctg agcagtccc acgtggtgtg cagacagctg 2280
 ggtgtggag aggcattaa tgccactgt tctgtcatt ttggagaagg aacagggccc 2340
 atctggctgg atgagatga atgaatgga aaagaatccc gcatttggca gtgocattca 2400
 catggctggg ggcagcaaaa ctgcaggcac aaggaggatg caggagtat ctgctcagag 2460
 tcatgtctc tgagactgac cagtgaagc agcagagagg cctgtgcagg gcgtctagaa 2520

225
224

gtttttttaca accgagottg gggcagtggtt ggcaggagta acatgtctga aactaatgtg 2560
 ggtgtagtgt gcaggcagct ggggtgtgca gacaaagggg aatcaactc tgcattctta 2640
 gacaaggcca tgtocattcc catgtgggtg gacatgttc agtgtccaa aggaootgac 2700
 acgtgtgtgg agtgcccatc atctccatgg gagaagagac tggccaggcc ctggaggagg 2760
 acctggatca catgtgacaa caagatgaga ctacaagaag gacccacttc ctgtttctga 2820
 cgtgtggaga totggcaagg aggttcootg gggacagtg gtgatgaotc ctgggaottg 2880
 aacgatgctc aggtgggtgtg tcaacaactt ggtgtgtgtc cagctttgaa agcattccaa 2940
 gaagcagagt ttggtcaggg gactggacc atatggotca atgaagtga gtgcgaaggg 3000
 aatgagtctt ccttgtggga ttgtcotgoc agaogotggg gacacagtga gtgtggacac 3060
 aaggaagaag ctgcagtga ttgcacagat atttcaagc gcaaaacccc acaaaaagcc 3120
 acaacaggtc agtcatcct tattgcagtc ggaatccttg gagtgttct ctgggccatt 3180
 ttogtgcct tattcttgac tcaaaagoga agacagagac agoggttac agtttcooa 3240
 agaggagaga acttagtcca ccaaatccaa taocgggaga tgaattcttg cctgaatgca 3300
 gatgatctgg acotantga ttctcagga ggcattctg aggcacac 3360

<210> 34
 <211> 1116
 <212> FMT
 <213> African Green Monkey

<400> 34

Met Ser Lys Leu Arg Met Val Leu Leu Glu Asp Ser Gly Ser Ala Asp
 1 5 10 15

Val Arg Arg His Phe Val Asn Leu Ser Pro Phe Thr Ile Ala Val Val
 20 25 30

Leu Leu Leu Arg Ala Cys Phe Val Thr Ser Ser Leu Gly Gly Thr Thr
 35 40 45

Lys Glu Leu Arg Leu Val Asp Gly Glu Asn Lys Cys Ser Gly Arg Val
 50 55 60

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

Ser Met Glu Ala Val Ser Val Ile Cys Asn Gln Leu Gly Cys Pro Thr
 85 90 95

226
225

Ala Ile Lys Ala Thr Gly Trp Ala Asn Ser Ser Ala Gly Ser Gly Arg
100 105 110

Ile Trp Met Asp His Val Ser Cys Arg Gly Asn Glu Ser Ala Leu Trp
115 120 125

Asp Cys Lys His Asp Gly Trp Gly Lys His Ser Asn Cys Thr His Gln
130 135 140

Gln Asp Ala Gly Val Thr Cys Ser Asp Gly Ser Asp Leu Glu Met Arg
145 150 155 160

Leu Thr Asn Gly Gly Asn Met Cys Ser Gly Arg Ile Glu Ile Lys Phe
165 170 175

Gln Gly Gln Trp Gly Thr Val Cys Asp Asp Asn Phe Asn Ile Asn His
180 185 190

Ala Ser Val Val Cys Lys Gln Leu Glu Cys Gly Ser Ala Val Ser Phe
195 200 205

Ser Gly Ser Ala Asn Phe Gly Glu Gly Ser Gly Pro Ile Trp Phe Asp
210 215 220

Asp Leu Ile Cys Asn Gly Asn Glu Ser Ala Leu Trp Asn Cys Lys His
225 230 235 240

Gln Gly Trp Gly Lys His Asn Cys Asp His Ala Glu Asp Ala Gly Val
245 250 255

Ile Cys Ser Lys Gly Ala Asp Leu Ser Leu Arg Leu Val Asp Gly Val
260 265 270

Thr Glu Cys Ser Gly Arg Leu Glu Val Arg Phe Gln Gly Glu Trp Gly
275 280 285

Thr Ile Cys Asp Asp Gly Trp Asp Ser His Asp Ala Ala Val Ala Cys
290 295 300

Lys Gln Leu Gly Cys Pro Thr Ala Ile Thr Ala Ile Gly Arg Val Asn
305 310 315 320

Ala Ser Glu Gly Phe Gly His Ile Trp Leu Asp Ser Val Ser Cys Gln
325 330 335

Gly His Glu Pro Ala Val Trp Gln Cys Lys His His Glu Trp Gly Lys

226

340

345

350

His Tyr Cys Asn His Asn Glu Asp Ala Gly Val Thr Cys Ser Asp Gly
355 360 365

Ser Gly Leu Glu Leu Arg Leu Arg Gly Gly Gly Ser Arg Cys Ala Gly
370 375 380

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

Gly Trp Gly Leu Lys Glu Ala Asp Val Val Cys Arg Gln Leu Gly Cys
405 410 415

Gly Ser Ala Leu Lys Thr Ser Tyr Gln Val Tyr Ser Lys Ile Gln Ala
420 425 430

Thr Asn Met Trp Leu Phe Leu Ser Ser Cys Asn Gly Asn Glu Thr Ser
435 440 445

Leu Trp Asp Cys Lys Asn Trp Gln Trp Gly Gly Leu Thr Cys Asp His
450 455 460

Tyr Gln Glu Ala Lys Ile Thr Cys Ser Ala His Arg Glu Pro Arg Leu
465 470 475 480

Val Gly Gly Asp Ile Pro Cys Ser Gly Arg Val Glu Val Lys His Gly
485 490 495

Asp Thr Trp Gly Ser Val Cys Asp Ser Asp Phe Ser Leu Glu Ala Ala
500 505 510

Ser Val Leu Cys Arg Glu Leu Gln Cys Gly Thr Val Val Ser Ile Leu
515 520 525

Gly Gly Ala His Phe Gly Glu Gly Asn Gly Gln Ile Trp Thr Glu Glu
530 535 540

Phe Gln Cys Glu Gly His Glu Ser His Leu Ser Leu Cys Pro Val Ala
545 550 555 560

Pro Arg Pro Glu Gly Thr Cys Ser His Ser Arg Asp Val Gly Val Val
565 570 575

Cys Ser Arg Tyr Thr Glu Ile Arg Leu Val Asn Gly Lys Thr Pro Cys
580 585 590

65/115

228
227

Glu Gly Arg Val Glu Leu Lys Thr Leu Asn Ala Trp Gly Ser Leu Cys
595 600 605

Asn Ser His Trp Asp Ile Glu Asp Ala His Val Leu Cys Gln Gln Leu
610 615 620

Lys Cys Gly Val Ala Leu Ser Thr Pro Gly Gly Ala His Phe Gly Lys
625 630 635 640

Gly Asn Gly Gln Val Trp Arg His Met Phe His Cys Thr Gly Thr Glu
645 650 655

Gln His Met Gly Asp Cys Pro Val Thr Ala Leu Gly Ala Ser Leu Cys
660 665 670

Pro Ser Gly Gln Val Ala Ser Val Ile Cys Ser Gly Asn Gln Ser Gln
675 680 685

Thr Leu Ser Ser Arg Asn Ser Ser Ser Leu Gly Pro Thr Arg Pro Thr
690 695 700

Ile Pro Glu Glu Ser Ala Val Ala Cys Ile Glu Ser Gly Gln Leu Arg
705 710 715 720

Leu Val Asn Gly Gly Gly Arg Cys Ala Gly Arg Val Glu Ile Tyr His
725 730 735

Glu Gly Ser Trp Gly Thr Ile Cys Asp Asp Ser Trp Asp Leu Ser Asp
740 745 750

Ala His Val Val Cys Arg Gln Leu Gly Cys Gly Glu Ala Ile Asn Ala
755 760 765

Thr Gly Ser Ala His Phe Gly Glu Gly Thr Gly Pro Ile Trp Leu Asp
770 775 780

Glu Met Lys Cys Asn Gly Lys Glu Ser Arg Ile Trp Gln Cys His Ser
785 790 795 800

His Gly Trp Gly Gln Gln Asn Cys Arg His Lys Glu Asp Ala Gly Val
805 810 815

Ile Cys Ser Glu Phe Met Ser Leu Arg Leu Thr Ser Glu Ala Ser Arg
820 825 830

229
228

Glu Ala Cys Ala Gly Arg Leu Glu Val Phe Tyr Asn Gly Ala Trp Gly
835 840 845

Ser Val Gly Arg Ser Asn Met Ser Glu Thr Thr Val Gly Val Val Cys
850 855 860

Arg Gln Leu Gly Cys Ala Asp Lys Gly Lys Ile Asn Ser Ala Ser Leu
865 870 875 880

Asp Lys Ala Met Ser Ile Pro Met Trp Val Asp Asn Val Gln Cys Pro
885 890 895

Lys Gly Pro Asp Thr Leu Trp Gln Cys Pro Ser Ser Pro Trp Glu Lys
900 905 910

Arg Leu Ala Arg Pro Ser Glu Glu Thr Trp Ile Thr Cys Asp Asn Lys
915 920 925

Met Arg Leu Gln Glu Gly Pro Thr Ser Cys Ser Gly Arg Val Glu Ile
930 935 940

Trp His Gly Gly Ser Trp Gly Thr Val Cys Asp Asp Ser Trp Asp Leu
945 950 955 960

Asn Asp Ala Gln Val Val Cys Gln Gln Leu Gly Cys Gly Pro Ala Leu
965 970 975

Lys Ala Phe Lys Glu Ala Glu Phe Gly Gln Gly Thr Gly Pro Ile Trp
980 985 990

Leu Asn Glu Val Lys Cys Glu Gly Asn Glu Ser Ser Leu Trp Asp Cys
995 1000 1005

Pro Ala Arg Arg Trp Gly His Ser Glu Cys Gly His Lys Glu Asp
1010 1015 1020

Ala Ala Val Asn Cys Thr Asp Ile Ser Thr Arg Lys Thr Pro Gln
1025 1030 1035

Lys Ala Thr Thr Gly Gln Ser Ser Leu Ile Ala Val Gly Ile Leu
1040 1045 1050

Gly Val Val Leu Leu Ala Ile Phe Val Ala Leu Phe Leu Thr Gln
1055 1060 1065

229

229

Lys Arg Arg Gln Arg Gln Arg Leu Thr Val Ser Ser Arg Gly Glu
1070 1075 1080

Asn Leu Val His Gln Ile Gln Tyr Arg Glu Met Asn Ser Cys Leu
1085 1090 1095

Asn Ala Asp Asp Leu Asp Leu Met Asn Ser Ser Gly Gly His Ser
1100 1105 1110

Glu Ala His
1115

<210> 35
<211> 3453
<212> DNA
<213> African Green Monkey

<400> 35
atgagcaaac tcagaatggt gctacttgaa gactotggat ctgotgaagt cagaagaact 60
tttgtcaact tgagtccctt caotattgct gtggtcttac ttctcoogtc ctgtttttgtc 120
accagttctc ttggaggaaac aaocaaggag ctgaggctag tggatggtga aaacaagtgt 180
agtgggagag tggaaagtga aatocaggag gagtggggaa cgggtgtgaa taatggctgg 240
agcatggaag cagtctctgt gatttgtaac cagctgggat gtccaactgc tatcaagacc 300
actggatggg ctaattocag tgcaggttct ggaagcattt ggaaggatca tgtttcttgt 360
cgtgggaatg agtcagctct ttgggactgc aaacatgatg gatggggaaa gcatagtaac 420
tgtactcaac aacaagatgc tggagtaact tgctcagatg gatccgattt ggaantgagg 480
ctgacgaatg gagggaatat gtgttctgga agantagaga tcaaattoa aggacagtgg 540
ggaacagtgt gtgatgataa cttcaacatc aatcatgcat ctgtggtttg taacaactt 600
gaatgtggaa gtgctgtcag tttctctggt tcagctaatt ttggagaagg ctctggaaoca 660
atctggtttg atgatcttat atgcaacgga aatgagtcag ctctctggaa ctgcaaacat 720
caaggatggg gaaagcataa ctgtgatcat gctgaggatg ctggagtgtt ttgctcaag 780
ggagcagatc tgagocctgag actggtatgt ggaagcactg aatgttcagg aagattagaa 840
gtgagattcc aaggagaatg ggggacaata tgtgatgacg gctgggacag tcatgatgct 900
gctgtggcat gcaagcaact gggatgtoca actgctatca ccgocatttg togagttaac 960
gccagtgagg gatttggaca catctggctt gacagtgttt ctgocaggg acatgaacct 1020
gggtctggc aatgtaaca ccatgaatgg ggaagcatt attgcaatca caatgaagat 1080
gctggcgtaa catgttctga tggatcagat ctggagctaa gaottagagg tggaggcagc 1140
cgctgtgctg ggacagtga ggtggagatt cagagactgt tagggaaggt gtgtgacaga 1200

25

230

ggctggggac tgaagaagc tgatgtggtt tgcaggcagc tgggatgtgg atotgcactc 1260
 aaacatctct atcaagtata ctccaaaato caggcaaaa acatgtgggt gttcttaagt 1320
 agctgtaacg gaattgaac ttctcttttg gaotgaaga actggcaatg ggggtgactt 1380
 acctgtgato actatgaaga agccaaaatt acctgtctag cccacagggg acccagactg 1440
 gttggaggag acattccttg ttctggacgc gttgaagtga agcatgttga cccatggggc 1500
 tccgtctgtg attgggattt ctctctggaa gctgcaagcg ttctatgaag ggaattacag 1560
 tgtggcacag tegtctctat cctgggggga gctcaatttg gagagggaaa tggacagatc 1620
 tggactgaag aattccagtg tggaggcaat gactccatc ttctactctg cccagttagc 1680
 ccccgccag aaggaaattg tagccacagc agggatgttg gactagtctg ctcaagatac 1740
 acagaatttc gcttggtga tggcaagacc ccatgtgagg gcagagtga gctcaaaacg 1800
 cttaatgcct ggggatccct ctgcaactct cactgggaca tagaagatgc ccaagttctt 1860
 tgccaacaac ttaantgttg agttgocctt totaccccag gaggagcaca ttttggaaaa 1920
 ggaantggtc aggtctggag gcatatgttt cactgcaactg ggaactgagc gccatggga 1980
 gattgtcttg taactgtctt ggggtgttca ctatgtcctt cagggaaggt ggcctctgta 2040
 attgtctcag gaaccagtc ccaaacactg tcttgtga attcatcctc tctgggacca 2100
 accaggccta ccattccaga agaaagtgt gggcctgca tagagagtgg tcaacttcgc 2160
 ttggtaaatg gaggggtctg ctgtgtctgg agagttaga tttatcatga gggctcctgg 2220
 ggcaccatct gtgatgacag ctgggaactg agcagtgcc accgtgtgtg cagacagctg 2280
 ggctgtggag agggcattaa tgcactggtt tctgtcatt ttggagaagg aacaggggcc 2340
 atctggctgg atgagatga atgcaatgga aaagaatccc gcatttggca gtgcattca 2400
 catggctggg ggcagcaaaa ctgcaggcac aaggaggatg caggagtat ctgtccagag 2460
 ttcattgtct tgagactgac cagtgaagcc agcagagagg cctgtgcagg gcgtctaga 2520
 gttttttaca accgagcttg gggcagtgtt ggcaggagta acatgtctga aaccactgtg 2580
 ggtgtagtgt gcaggcagct gggctgtgca gacaaggga aaatcactc tgcattttta 2640
 gacaaggcca tgtccattcc catgtgggtg gacaatgttc agtgtccaa aggaactgac 2700
 accgtgtggc agtgccatc atctccatgg gagaagagac tggccaggcc ctggaggag 2760
 acctggatca catgtgaaa caagatgaga ctcaagaag gaocacttc ctgttctgga 2820
 cgtgtggaga tctggcagcg aggttcttg gggacagtgt gtgatgactc ctgggacttg 2880
 aacgatgtc aggtgggtgt tcaacaactt ggctgtgttc cagctttgaa agcattcaaa 2940
 gaagcagagt ttggtcaggg gactggaccc atatggctca atgaagtga gtgcaaggg 3000

231

aatgagtott outtgtggga ttgttootgoc agacgtotggg gacacagtga gtgtggacac 3060
 aaggaagaog otgoagtga ttgoacagat atttcaacgc gaaaaacccc acaaaaagoo 3120
 acaacaggtc agtoatooct tattgoagtc ggaatoottg gattgtttot ottggocatt 3180
 ttotgtgoat tattottgac tcaaaagoga agacagagac agcggottac agtttootca 3240
 agaggagaga aottagtooa coaattooa taccgggaga tgaattcttg ootgaatgca 3300
 gatgatctgy aocaaatga tttootcaga antboaatg agtoagctga tttoaatgct 3360
 gctgaactaa tttotgtgtc taattttctt octattttctg gaatggaaaa ggaggocatt 3420
 ctgaggcaca ctgaaaagga aattgggaat tta 3483

<210> 36
 <211> 1151
 <212> PRT
 <213> African Green Monkey
 <400> 36

Met Ser Lys Leu Arg Met Val Leu Leu Glu Asp Ser Gly Ser Ala Asp
 1 5 10 15

Val Arg Arg His Phe Val Asn Leu Ser Pro Phe Thr Ile Ala Val Val
 20 25 30

Leu Leu Leu Arg Ala Cys Phe Val Thr Ser Ser Leu Gly Gly Thr Thr
 35 40 45

Lys Glu Leu Arg Leu Val Asp Gly Glu Asn Lys Cys Ser Gly Arg Val
 50 55 60

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

Ser Met Glu Ala Val Ser Val Ile Cys Asn Gln Leu Gly Cys Pro Thr
 85 90 95

Ala Ile Lys Ala Thr Gly Trp Ala Asn Ser Ser Ala Gly Ser Gly Arg
 100 105 110

Ile Trp Met Asp His Val Ser Cys Arg Gly Asn Glu Ser Ala Leu Trp
 115 120 125

Asp Cys Lys His Asp Gly Trp Gly Lys His Ser Asn Cys Thr His Gln
 130 135 140

Gln Asp Ala Gly Val Thr Cys Ser Asp Gly Ser Asp Leu Glu Met Arg

232

145 150 155 160
 Leu Thr Asn Gly Gly Asn Met Cys Ser Gly Arg Ile Glu Ile Lys Phe
 165 170 175
 Gln Gly Gln Trp Gly Thr Val Cys Asp Asp Asn Phe Asn Ile Asn His
 180 185 190
 Ala Ser Val Val Cys Lys Gln Leu Glu Cys Gly Ser Ala Val Ser Phe
 195 200 205
 Ser Gly Ser Ala Asn Phe Gly Glu Gly Ser Gly Pro Ile Trp Phe Asp
 210 215 220
 Asp Leu Ile Cys Asn Gly Asn Glu Ser Ala Leu Trp Asn Cys Lys His
 225 230 235 240
 Gln Gly Trp Gly Lys His Asn Cys Asp His Ala Glu Asp Ala Gly Val
 245 250 255
 Ile Cys Ser Lys Gly Ala Asp Leu Ser Leu Arg Leu Val Asp Gly Val
 260 265 270
 Thr Glu Cys Ser Gly Arg Leu Glu Val Arg Phe Gln Gly Glu Trp Gly
 275 280 285
 Thr Ile Cys Asp Asp Gly Trp Asp Ser His Asp Ala Ala Val Ala Cys
 290 295 300
 Lys Gln Leu Gly Cys Pro Thr Ala Ile Thr Ala Ile Gly Arg Val Asn
 305 310 315 320
 Ala Ser Glu Gly Phe Gly His Ile Trp Leu Asp Ser Val Ser Cys Gln
 325 330 335
 Gly His Glu Pro Ala Val Trp Gln Cys Lys His His Glu Trp Gly Lys
 340 345 350
 His Tyr Cys Asn His Asn Glu Asp Ala Gly Val Thr Cys Ser Asp Gly
 355 360 365
 Ser Asp Leu Glu Leu Arg Leu Arg Gly Gly Gly Ser Arg Cys Ala Gly
 370 375 380
 Thr Val Glu Val Glu Ile Gln Arg Leu Leu Gly Lys Val Cys Asp Arg
 385 390 395 400

Gly Trp Gly Leu Lys Glu Ala Asp Val Val Cys Arg Gln Leu Gly Cys
 405 410 415

Gly Ser Ala Leu Lys Thr Ser Tyr Gln Val Tyr Ser Lys Ile Gln Ala
 420 425 430

Thr Asn Met Trp Leu Phe Leu Ser Ser Cys Asn Gly Asn Glu Thr Ser
 435 440 445

Leu Trp Asp Cys Lys Asn Trp Gln Trp Gly Gly Leu Thr Cys Asp His
 450 455 460

Tyr Glu Glu Ala Lys Ile Thr Cys Ser Ala His Arg Glu Pro Arg Leu
 465 470 475 480

Val Gly Gly Asp Ile Pro Cys Ser Gly Arg Val Glu Val Lys His Gly
 485 490 495

Asp Thr Trp Gly Ser Val Cys Asp Ser Asp Phe Ser Leu Glu Ala Ala
 500 505 510

Ser Val Leu Cys Arg Glu Leu Gln Cys Gly Thr Val Val Ser Ile Leu
 515 520 525

Gly Gly Ala His Phe Gly Glu Gly Asn Gly Gln Ile Trp Thr Glu Glu
 530 535 540

Phe Gln Cys Glu Gly His Glu Ser His Leu Ser Leu Cys Pro Val Ala
 545 550 555 560

Pro Arg Pro Gln Gly Thr Cys Ser His Ser Arg Asp Val Gly Val Val
 565 570 575

Cys Ser Arg Tyr Thr Glu Ile Arg Leu Val Asn Gly Lys Thr Pro Cys
 580 585 590

Glu Gly Arg Val Glu Leu Lys Thr Leu Asn Ala Trp Gly Ser Leu Cys
 595 600 605

Asn Ser His Trp Asp Ile Glu Asp Ala His Val Leu Cys Gln Gln Leu
 610 615 620

Lys Cys Gly Val Ala Leu Ser Thr Pro Gly Gly Ala His Phe Gly Lys
 625 630 635 640

225
234

Gly Asn Gly Gln Val Trp Arg His Met Phe His Cys Thr Gly Thr Glu
645 650 655

Gln His Met Gly Asp Cys Pro Val Thr Ala Leu Gly Ala Ser Leu Cys
660 665 670

Pro Ser Gly Gln Val Ala Ser Val Ile Cys Ser Gly Asn Gln Ser Gln
675 680 685

Thr Leu Ser Ser Cys Asn Ser Ser Ser Leu Gly Pro Thr Arg Pro Thr
690 695 700

Ile Pro Glu Glu Ser Ala Val Ala Cys Ile Glu Ser Gly Gln Leu Arg
705 710 715 720

Leu Val Asn Gly Gly Gly Arg Cys Ala Gly Arg Val Glu Ile Tyr His
725 730 735

Glu Gly Ser Trp Gly Thr Ile Cys Asp Asp Ser Trp Asp Leu Ser Asp
740 745 750

Ala His Val Val Cys Arg Gln Leu Gly Cys Gly Glu Ala Ile Asn Ala
755 760 765

Thr Gly Ser Ala His Phe Gly Glu Gly Thr Gly Pro Ile Trp Leu Asp
770 775 780

Glu Met Lys Cys Asn Gly Lys Glu Ser Arg Ile Trp Gln Cys His Ser
785 790 795 800

His Gly Trp Gly Gln Gln Asn Cys Arg His Lys Glu Asp Ala Gly Val
805 810 815

Ile Cys Ser Glu Phe Met Ser Leu Arg Leu Thr Ser Glu Ala Ser Arg
820 825 830

Glu Ala Cys Ala Gly Arg Leu Glu Val Phe Tyr Asn Gly Ala Trp Gly
835 840 845

Ser Val Gly Arg Ser Asn Met Ser Glu Thr Thr Val Gly Val Val Cys
850 855 860

Arg Gln Leu Gly Cys Ala Asp Lys Gly Lys Ile Asn Ser Ala Ser Leu
865 870 875 880

235

Asp Lys Ala Met Ser Ile Pro Met Trp Val Asp Asn Val Gln Cys Pro
885 890 895

Lys Gly Pro Asp Thr Leu Trp Gln Cys Pro Ser Ser Pro Trp Glu Lys
900 905 910

Arg Leu Ala Arg Pro Ser Glu Glu Thr Trp Ile Thr Cys Asp Asn Lys
915 920 925

Met Arg Leu Gln Glu Gly Pro Thr Ser Cys Ser Gly Arg Val Glu Ile
930 935 940

Trp His Gly Gly Ser Trp Gly Thr Val Cys Asp Asp Ser Trp Asp Leu
945 950 955 960

Asn Asp Ala Gln Val Val Cys Gln Gln Leu Gly Cys Gly Pro Ala Leu
965 970 975

Lys Ala Phe Lys Glu Ala Glu Phe Gly Gln Gly Thr Gly Pro Ile Trp
980 985 990

Leu Asn Glu Val Lys Cys Lys Gly Asn Glu Ser Ser Leu Trp Asp Cys
995 1000 1005

Pro Ala Arg Arg Trp Gly His Ser Glu Cys Gly His Lys Glu Asp
1010 1015 1020

Ala Ala Val Asn Cys Thr Asp Ile Ser Thr Arg Lys Thr Pro Gln
1025 1030 1035

Lys Ala Thr Thr Gly Gln Ser Ser Leu Ile Ala Val Gly Ile Leu
1040 1045 1050

Gly Val Val Leu Leu Ala Ile Phe Val Ala Leu Phe Leu Thr Gln
1055 1060 1065

Lys Arg Arg Gln Arg Gln Arg Leu Thr Val Ser Ser Arg Gly Glu
1070 1075 1080

Asn Leu Val His Gln Ile Gln Tyr Arg Glu Met Asn Ser Cys Leu
1085 1090 1095

Asn Ala Asp Asp Leu Asp Leu Met Asn Ser Ser Glu Asn Ser Asn
1100 1105 1110

Glu Ser Ala Asp Phe Asn Ala Ala Glu Leu Ile Ser Val Ser Lys

227
236

1115	1120	1125
Phe Leu Pro Ile Ser Gly Met Glu Lys Glu Ala Ile Leu Arg His		
1130	1135	1140
Thr Glu Lys Glu Asn Gly Asn Leu		
1145	1150	

<210> 37
 <211> 3273
 <212> DNA
 <213> African Green Monkey

<400> 37
 atgagcnaac tcagaatggt gctacttgaa gactctggat ctgctgacgt cagaagacat 60
 tttgtcaact tgagtcocct cactattgct gtggtcttac ttctccgtgc ctgttttgtc 120
 accagttctc ttggaggnaa aaccaaggag ctgaggctag tggatggtga aaacaagtgt 180
 agtgggagag tggaaagtga aatccaggag gagtgggaa oggtgtgtaa taatggctgg 240
 agcatggaag cagtctctgt gatttgtaac cagctgggat gtccaactgc tatcaagacc 300
 actggatggg ctattccag tgcaggttct ggacgcattt ggaaggatca tgtttcttgt 360
 ogtgggaatg agtcagctct ttgggactgc aaacatgatg gatggggaaa gcatagtacc 420
 tgtactcacc aacaagatgc tggagtaact tgcacagatg gatccgattt ggaatgagg 480
 ctgacgaatg gagggaatat gtgttctgga agaatagaga tcaattcca aggcagtg 540
 ggaacagtgt gtgatgataa ctccaacatc aatcatgcat ctgtggtttg taacaactt 600
 gaatgtgga gtgctgtcag tttctctggt tcagctaatt ttggagaagg ctctggaoca 660
 atctggtttg atgatcttat atgcaacgga aatgagtoag ctctctgga ctgcaaacat 720
 caaggatggg gaaagcataa ctgtgatcat gctgaggatg ctggagtgat ttgctcaag 780
 ggagcagatc tgagctgag actggttagat ggagtcactg aatgttcagg aagattagaa 840
 gtgagattcc aaggagaatg ggggacaata tgtgatgaag gctgggaacg tcatgatgot 900
 gctgtggcat gcaagcaact gggatgtoca aotgctatca ccgcattgg tepagttaac 960
 gacagtgagg gatttgga caatctggctt gacagtgttt ctgcccaggg acatgaaact 1020
 gccgtctggc aatgtaaca ccatgaatgg ggaagcatt attgcaatca caatgaat 1080
 gctggcgtaa catgttctga tggatcagat ctggagctaa gacttagagg tggaggcagc 1140
 cgctgtgctg ggacagttga ggtggagatt cagagactgt tagggaaggt gtgtgacaga 1200
 ggctggggac tgaagaagc tgatgtggtt tgcaggcagc tgggatgtgg atctgcactc 1260
 aaacatcct atcaagtata ctccaacatc caggcaacaa acatgtggct gtttctaagt 1320

228

237

agctgtaaag gaaatgaanc ttctcttttg gactgcaaga actggcaatg ggttggactt 1380
 acctgtgato actatgaaga agocaaaatt aortgotong oocaaagggg acccagactg 1440
 gttggaggag acaattootg ttctggaggg gttgaagtga agcatgggtg cactatggggc 1500
 tccgtctgtg attcggattt ctctctggaa gctgocaggg ttctatgcaag ggaattacag 1560
 tgtggcacag tegtctctat cctggggggg gctcactttg gagagggaaa tggacagatc 1620
 tggactgaag aattocagtg tgggggacat gactcaccatc tttaactctg oocagtagca 1680
 ccccgcccag aaggaaactg tagccacagc agggatgttg gactagtctg ctchagatac 1740
 acagaattc gcttgggtga tggcaagacc ccatgtgagg gcagagtggg gctcaaaacg 1800
 cttaantgct ggggatccct ctgcaactct caotgggaca tagaagatgc ocaagttctt 1860
 tgcacacanc ttaantgttg agttgocctt tctacccag gaggagcaca ttttggaaaa 1920
 ggaantggtc aggtctggag gcatatgttt cactgcaatg ggaactgagc gcacatggga 1980
 gattgtcctg taactgctct ggggtcttoa ctatgtcctt caggggcaagt ggctctgtg 2040
 atttgcctag gaaaccagtc ccaaacactg tctctgtgca attcatcctc tctggggcca 2100
 acaaggccta ccattccaga agaaagtgt gtggcctgca tagagagtgg tcaacttcgc 2160
 ttggtaaatg gaggaggttg ctgtgtctgg agagttagga tttatcatga gggctcctgg 2220
 ggcaccatct gtgatgacag ctgggacctg agcgtatgcc aogtgggtgt cagacagctg 2280
 ggtgtgtgag aggcattaa tgcactgggt tctgtcatt ttggagagg aacagggccc 2340
 atctggctgg atgagatga atgcaatgga aaagaatccc gaatttggca gtgocattca 2400
 catggctggg ggcagcaaaa ctgcaggcac aaggaggatg caggagttaa ctgtcagag 2460
 ttcattgtctc tgagactgac cagtgaagcc agcagagagg cctgtgcagg ggtctagaa 2520
 gttttttaca acggagcttg gggcagtgtt ggcaggagta acatgtctga aaccactgtg 2580
 ggtgtagtgt gcaggcagct gggctgtgca gcaaaagggg aatcaactc tgcacttta 2640
 gacaaggcca tgtccattcc catgtgggtg gcaaatgttc agtgtccaa aggaectgac 2700
 acgtgtggc agtgccatc atctccatgg gagaagagac tggccaggcc ctoggaggag 2760
 acctggatca catgtgaca caagatgaga ctacaagaag gaocacttc ctgttctgga 2820
 cgtgtggaga tctggcagg aggttcctgg gggacagtgt gtgatgactc ctgggacttg 2880
 aaogatgtc aggtgggtgt tcaacaactt ggtgtgtgtc cagctttgaa agcattcaaa 2940
 gaagcagagt ttggtcaggg gactggacc atatggtcca atgaagtga gtgcaaggg 3000
 aatgagtctt ccttgtggga ttgtctgcc agacgtctgg gccacagtga gtgtggacac 3060
 aaggaagacg ctgggtgaa ttgcacagat atttcaacgc gcaaaaoccc acaaaagcc 3120
 acaacggtt cctcaagagg agagaactta gtcaacaaa ttcaataocg ggagatgaat 3180

238

tattgactga atgagatga totganoota atgaattoct caggaggoca ttotgagga 3240

cactgaaag gaaatggga atttataac cag 3273

<210> 38

<211> 1081

<212> PRT

<213> African Green Monkey

<400> 38

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

40
239

Ala Ser Val Val Cys Lys Gln Leu Glu Cys Gly Ser Ala Val Ser Phe
195 200 205

Ser Gly Ser Ala Asn Phe Gly Glu Gly Ser Gly Pro Ile Trp Phe Asp
210 215 220

Asp Leu Ile Cys Asn Gly Asn Glu Ser Ala Leu Trp Asn Cys Lys His
225 230 235 240

Gln Gly Trp Gly Lys His Asn Cys Asp His Ala Glu Asp Ala Gly Val
245 250 255

Ile Cys Ser Lys Gly Ala Asp Leu Ser Leu Arg Leu Val Asp Gly Val
260 265 270

Thr Glu Cys Ser Gly Arg Leu Glu Val Arg Phe Gln Gly Glu Trp Gly
275 280 285

Thr Ile Cys Asp Asp Gly Trp Asp Ser His Asp Ala Ala Val Ala Cys
290 295 300

Lys Gln Leu Gly Cys Pro Thr Ala Ile Thr Ala Ile Gly Arg Val Asn
305 310 315 320

Ala Ser Glu Gly Phe Gly His Ile Trp Leu Asp Ser Val Ser Cys Gln
325 330 335

Gly His Glu Pro Ala Val Trp Gln Cys Lys His His Glu Trp Gly Lys
340 345 350

His Tyr Cys Asn His Asn Glu Asp Ala Gly Val Thr Cys Ser Asp Gly
355 360 365

Ser Asp Leu Glu Leu Arg Leu Arg Gly Gly Gly Ser Arg Cys Ala Gly
370 375 380

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

Gly Trp Gly Leu Lys Glu Ala Asp Val Val Cys Arg Gln Leu Gly Cys
405 410 415

Gly Ser Ala Leu Lys Thr Ser Tyr Gln Val Tyr Ser Lys Ile Gln Ala
420 425 430

Thr Asn Met Trp Leu Phe Leu Ser Ser Cys Asn Gly Asn Glu Thr Ser

240

435 440 445
 Leu Trp Asp Cys Lys Asn Trp Gln Trp Gly Gly Leu Thr Cys Asp His
 450 455 460
 Tyr Glu Glu Ala Lys Ile Thr Cys Ser Ala His Arg Glu Pro Arg Leu
 465 470 475 480
 Val Gly Gly Asp Ile Pro Cys Ser Gly Arg Val Glu Val Lys His Gly
 485 490 495
 Asp Thr Trp Gly Ser Val Cys Asp Ser Asp Phe Ser Leu Glu Ala Ala
 500 505 510
 Ser Val Leu Cys Arg Glu Leu Gln Cys Gly Thr Val Val Ser Ile Leu
 515 520 525
 Gly Gly Ala His Phe Gly Glu Gly Asn Gly Gln Ile Trp Thr Glu Glu
 530 535 540
 Phe Gln Cys Glu Gly His Glu Ser His Leu Ser Leu Cys Pro Val Ala
 545 550 555 560
 Pro Arg Pro Glu Gly Thr Cys Ser His Ser Arg Asp Val Gly Val Val
 565 570 575
 Cys Ser Arg Tyr Thr Glu Ile Arg Leu Val Asn Gly Lys Thr Pro Cys
 580 585 590
 Glu Gly Arg Val Glu Leu Lys Thr Leu Asn Ala Trp Gly Ser Leu Cys
 595 600 605
 Asn Ser His Trp Asp Ile Glu Asp Ala His Val Leu Cys Gln Gln Leu
 610 615 620
 Lys Lys Gly Val Ala Leu Ser Thr Pro Gly Gly Ala His Phe Gly Lys
 625 630 635 640
 Gly Asn Gly Gln Val Trp Arg His Met Phe His Cys Thr Gly Thr Glu
 645 650 655
 Gln His Met Gly Asp Cys Pro Val Thr Ala Leu Gly Ala Ser Leu Cys
 660 665 670
 Pro Ser Gly Gln Val Ala Ser Val Ile Cys Ser Gly Asn Gln Ser Gln
 675 680 685

241

Thr Leu Ser Ser Cys Asn Ser Ser Ser Leu Gly Pro Thr Arg Pro Thr
690 695 700

Ile Pro Glu Glu Ser Ala Val Ala Cys Ile Glu Ser Gly Gln Leu Arg
705 710 715 720

Leu Val Asn Gly Gly Gly Arg Cys Ala Gly Arg Val Glu Ile Tyr His
725 730 735

Glu Gly Ser Trp Gly Thr Ile Cys Asp Asp Ser Trp Asp Leu Ser Asp
740 745 750

Ala His Val Val Cys Arg Gln Leu Gly Cys Gly Glu Ala Ile Asn Ala
755 760 765

Thr Gly Ser Ala His Phe Gly Glu Gly Thr Gly Pro Ile Trp Leu Asp
770 775 780

Glu Met Lys Cys Asn Gly Lys Glu Ser Arg Ile Trp Gln Cys His Ser
785 790 795 800

His Gly Trp Gly Gln Gln Asn Cys Arg His Lys Glu Asp Ala Gly Val
805 810 815

Ile Cys Ser Glu Phe Met Ser Leu Arg Leu Thr Ser Glu Ala Ser Arg
820 825 830

Glu Ala Cys Ala Gly Arg Leu Glu Val Phe Tyr Asn Gly Ala Trp Gly
835 840 845

Ser Val Gly Arg Ser Asn Met Ser Glu Thr Thr Val Gly Val Val Cys
850 855 860

Arg Gln Leu Gly Cys Ala Asp Lys Gly Lys Ile Asn Ser Ala Ser Leu
865 870 875 880

Asp Lys Ala Met Ser Ile Pro Met Trp Val Asp Asn Val Gln Cys Pro
885 890 895

Lys Gly Pro Asp Thr Leu Trp Gln Cys Pro Ser Ser Pro Trp Glu Lys
900 905 910

Arg Leu Ala Arg Pro Ser Glu Glu Thr Trp Ile Thr Cys Asp Asn Lys
915 920 925

242

Met Arg Leu Gln Glu Gly Pro Thr Ser Cys Ser Gly Arg Val Glu Ile
930 935 940

Trp His Gly Gly Ser Trp Gly Thr Val Cys Asp Asp Ser Trp Asp Leu
945 950 955 960

Asn Asp Ala Gln Val Val Cys Gln Gln Leu Gly Cys Gly Pro Ala Leu
965 970 975

Lys Ala Phe Lys Glu Ala Glu Phe Gly Gln Gly Thr Gly Pro Ile Trp
980 985 990

Leu Asn Glu Val Lys Cys Lys Gly Asn Glu Ser Ser Leu Trp Asp Cys
995 1000 1005

Pro Ala Arg Arg Trp Gly His Ser Glu Cys Gly His Lys Glu Asp
1010 1015 1020

Ala Ala Val Asn Cys Thr Asp Ile Ser Thr Arg Lys Thr Pro Gln
1025 1030 1035

Lys Ala Thr Thr Val Ser Ser Arg Gly Glu Asn Leu Val His Gln
1040 1045 1050

Ile Gln Tyr Arg Glu Met Asn Ser Cys Leu Asn Ala Asp Asp Leu
1055 1060 1065

Asn Leu Met Asn Ser Ser Gly Gly His Ser Glu Ala His
1070 1075 1080

<210> 39
<211> 3279
<212> DNA
<213> African Green Monkey

<400> 39
atgagcaaac tcagaatggt gctacttgaa gactctggat ctgctgacgt cagaagacat 60
tttgtcaact tgagtcocctt cactattgct gtggtcttac ttctcogtgc ctgttttctc 120
accagttctc ttggagggaac aaocaaggag ctgaggctag tggatggtga aaacaagtgt 180
agtgggagag tggaaagtga antocaggag gagtggggaa cggtgtgtaa taatggctgg 240
agcatggaag cagtctctgt gatttgtaac cagctgggat gtccaactgc tatcaagcc 300
actggatggg ctaattccag tgcaggttct ggacgcattt ggaatggatca tgtttcttgt 360
cgtgggaatg agtcagctct ttgggaactgc aaacatgatg gatggggaaa gcatagtaac 420

243

243

tgtactcaac aadaagatgc tggagtgaat tgcotagatg gataogattt ggaantgagg 480
 ctgaogantg gagggantat gtgtttctga agaatagaga tcaaattoa aggaacagtgg 540
 ggaacagtgt gtgatgataa ottoaaogtc antaatgaat ctgtggtttg taanaaactt 600
 gaatgtggaa gtgctgtcag tttctctggt taagataatt ttggagaagg ctctggaaoca 660
 atctggtttg atgatcttat atgcaagga aatgagtcaag obototggaa ctgcaaacat 720
 caaggatggg gaagacataa ctgtgatcat gctgaggatg ctggagtgtt ttgctonaag 780
 ggagcagato tgagocagag actggttagat ggagtcaatg aatgttcagg aagattagaa 840
 gtgagattoc aaggagaatg ggggacaata tgtgatgacg gctgggacag tcatgatgct 900
 gctgtggcat gcaagcaact gggatgtoca actgotatca oopocattgg toaggttaac 960
 gccagtgagg gatttggaca oactctggtt gacagtgttt ctggocaggy acatgaacot 1020
 goggtctggc aatgtaaaca ocatgaatgg ggaagocatt attgcaatca caatgaagat 1080
 gctggcgtaa catgttctga tggatcagat ctggagotaa gacttagagg tggaggcagc 1140
 ogctgtgtgt ggaacagttga ggtggagatt cagagaotgt tagggaaagt gtgtgacaga 1200
 ggcctggggac tgaagaagc tgatgtggtt tgcaggcagc tgggatgtg atctgcactc 1260
 aaacatcot atcaagtata ctocaaaato caggcaaaa acatgtggct gtttctaagt 1320
 agctgtaacg gaantgaac ttctcttttg gactgcagga actggcaatg gggtagactt 1380
 acctgtgac actatgaaga agccaaaatt acctgctcag oocacaggya aocagactg 1440
 gttggaggag acattccctg ttctggacgc gttgaagtga agcatggtga cacatggggc 1500
 tcogtctgtg attcggattt ctctctggaa gctgocagcg ttotatgag ggaattacag 1560
 tgtggcagag tctctctat cctgggggga gctcaotttg gagagggaaa tggacagatc 1620
 tgggctgaag aattccagtg tgagggaat gagtoocatc tttoaactctg cccagtagca 1680
 cccgcccag aaggaaottg tagocaaagc agggatgttg gagtagtctg otcaagatac 1740
 acagaanttc gcttgggtga tggcaagacc ocatgtgagg gcagagtggg gctcaaaaag 1800
 cttaatgctt ggggatcct ctgcaactct cactgggaca tagaagatgc ccacgttctt 1860
 tgccaacaa ttaantgtgg agttgcctt totacocag gagggacaca ttttggaaa 1920
 ggaantggtc aggtctggag gcatatgttt cactgcactg ggactgagca gcacatggga 1980
 gattgtctg taactgtctt ggggtcttca ctatgtcctt cagggcaagt ggcctctgta 2040
 atttgetcag gaacocagtc ocaaacactg tctcgtgca attaatcctc tctgggcoca 2100
 acaaggcta ccattocaga agaaagtgtt gtggcctgca tagagagtgg tcaacttcgc 2160
 ttggtaaatg gaggaggtcg ctgtgctggg agagttaga tttatcatga gggctcctgg 2220
 ggcaccatct gtgatgacag ctgggaootg agcagtgccc acgtggtgtg cagacagctg 2280

245
244

gggtgtggag agggcattaa tgcactggt totgctoatt ttggagaagg aacaggggccc 2340
 atctggctgg atgagatgaa atgcaatgga aaagaatccc gtatttggca gtgcattca 2400
 catggctggg ggcagcaaaa ctgcaggcac aaggaggatg caggagtat ctgtcagag 2460
 ttcatgtctc tgagactgac cagtgaagcc agcagagagg cotgtgcagg gogtctagaa 2520
 gttttttaca acggagcttg gggcagtgtt ggcaggagta acatgtctga aacaaatgtg 2580
 ggtgtggtgt gcaggcagct gggctgtgca gacaagggga aaatcaactc tgcattctta 2640
 gacaaggcca tgtcaattcc catgtgggtg gacaatgttc agtgtcaaaa aggaactgac 2700
 acgtgtggc agtgcctatc atotcaatgg gagaagagac tggccaggcc ctggaggag 2760
 acotggatca catgtgaca caagatgaga ctacagaag gaoccatctc ctgttctgga 2820
 cgtgtggaga tctggcacgg agttctctgg gggacagtgt gtgatgactc ctgggacttg 2880
 aaogatgtct aggtgggtgt tcaaaaactt ggotgtggtc cagctttgaa agcattcaaa 2940
 gaagcagagt ttggtcaggg gaotggacc atatggotca atgaagtga gtgcaaggg 3000
 aatgagtctt ccttgtggga ttgtctgcc agacgtggg gccacagtga gtgtggacac 3060
 aaggaagacg ctgcagtga ttgcacagca caaaaattt caacgcacaa aacccacaa 3120
 aaagccacaa cagtttctc aagaggagag aacttagtcc accaaattca ataccgggag 3180
 atgaattctt gctgaatgc agatgatctg gacctaata attcctcagg aggccattct 3240
 gaggcacact gaaaaggaaa atgggaattt aaaccag 3279

<210> 40
 <211> 1083
 <212> PRT
 <213> African Green Monkey

<400> 40

Met Ser Lys Leu Arg Met Val Leu Leu Glu Asp Ser Gly Ser Ala Asp
1 5 10 15

Val Arg Arg His Phe Val Asn Leu Ser Pro Phe Thr Ile Ala Val Val
20 25 30

Leu Leu Leu Arg Ala Cys Phe Val Thr Ser Ser Leu Gly Gly Thr Thr
35 40 45

Lys Glu Leu Arg Leu Val Asp Gly Glu Asn Lys Cys Ser Gly Arg Val
50 55 60

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

226
245

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

Ala Ile Lys Ala Thr Gly Trp Ala Asn Ser Ser Ala Gly Ser Gly Arg
100 105 110

Ile Trp Met Asp His Val Ser Cys Arg Gly Asn Glu Ser Ala Leu Trp
115 120 125

Asp Cys Lys His Asp Gly Trp Gly Lys His Ser Asn Cys Thr His Gln
130 135 140

Gln Asp Ala Gly Val Thr Cys Ser Asp Gly Ser Asp Leu Glu Met Arg
145 150 155 160

Leu Thr Asn Gly Gly Asn Met Cys Ser Gly Arg Ile Glu Ile Lys Phe
165 170 175

Gln Gly Gln Trp Gly Thr Val Cys Asp Asp Asn Phe Asn Val Asn His
180 185 190

Ala Ser Val Val Cys Lys Gln Leu Glu Cys Gly Ser Ala Val Ser Phe
195 200 205

Ser Gly Ser Ala Asn Phe Gly Glu Gly Ser Gly Pro Ile Trp Phe Asp
210 215 220

Asp Leu Ile Cys Asn Gly Asn Glu Ser Ala Leu Trp Asn Cys Lys His
225 230 235 240

Gln Gly Trp Gly Lys His Asn Cys Asp His Ala Glu Asp Ala Gly Val
245 250 255

Ile Cys Ser Lys Gly Ala Asp Leu Ser Leu Arg Leu Val Asp Gly Val
260 265 270

Thr Glu Cys Ser Gly Arg Leu Glu Val Arg Phe Gln Gly Glu Trp Gly
275 280 285

Thr Ile Cys Asp Asp Gly Trp Asp Ser His Asp Ala Ala Val Ala Cys
290 295 300

Lys Gln Leu Gly Cys Pro Thr Ala Ile Thr Ala Ile Gly Arg Val Asn
305 310 315 320

248

246

Ala Ser Glu Gly Phe Gly His Ile Trp Leu Asp Ser Val Ser Cys Gln
325 330 335

Gly His Glu Pro Ala Val Trp Gln Cys Lys His His Glu Trp Gly Lys
340 345 350

His Tyr Cys Asn His Asn Glu Asp Ala Gly Val Thr Cys Ser Asp Gly
355 360 365

Ser Asp Leu Glu Leu Arg Leu Arg Gly Gly Gly Ser Arg Cys Ala Gly
370 375 380

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

Gly Trp Gly Leu Lys Glu Ala Asp Val Val Cys Arg Gln Leu Gly Cys
405 410 415

Gly Ser Ala Leu Lys Thr Ser Tyr Gln Val Tyr Ser Lys Ile Gln Ala
420 425 430

Thr Asn Met Trp Leu Phe Leu Ser Ser Cys Asn Gly Asn Glu Thr Ser
435 440 445

Leu Trp Asp Cys Lys Asn Trp Gln Trp Gly Gly Leu Thr Cys Asp His
450 455 460

Tyr Glu Glu Ala Lys Ile Thr Cys Ser Ala His Arg Glu Pro Arg Leu
465 470 475 480

Val Gly Gly Asp Ile Pro Cys Ser Gly Arg Val Glu Val Lys His Gly
485 490 495

Asp Thr Trp Gly Ser Val Cys Asp Ser Asp Phe Ser Leu Glu Ala Ala
500 505 510

Ser Val Leu Cys Arg Glu Leu Gln Cys Gly Thr Val Val Ser Ile Leu
515 520 525

Gly Gly Ala His Phe Gly Glu Gly Asn Gly Gln Ile Trp Ala Glu Glu
530 535 540

Phe Gln Cys Glu Gly His Glu Ser His Leu Ser Leu Cys Pro Val Ala
545 550 555 560

247

Pro Arg Pro Glu Gly Thr Cys Ser His Ser Arg Asp Val Gly Val Val
565 570 575

Cys Ser Arg Tyr Thr Glu Ile Arg Leu Val Asn Gly Lys Thr Pro Cys
580 585 590

Glu Gly Arg Val Glu Leu Lys Thr Leu Asn Ala Trp Gly Ser Leu Cys
595 600 605

Asn Ser His Trp Asp Ile Glu Asp Ala His Val Leu Cys Gln Gln Leu
610 615 620

Lys Cys Gly Val Ala Leu Ser Thr Pro Gly Gly Ala His Phe Gly Lys
625 630 635 640

Gly Asn Gly Gln Val Trp Arg His Met Phe His Cys Thr Gly Thr Glu
645 650 655

Gln His Met Gly Asp Cys Pro Val Thr Ala Leu Gly Ala Ser Leu Cys
660 665 670

Pro Ser Gly Gln Val Ala Ser Val Ile Cys Ser Gly Asn Gln Ser Gln
675 680 685

Thr Leu Ser Ser Cys Asn Ser Ser Ser Leu Gly Pro Thr Arg Pro Thr
690 695 700

Ile Pro Glu Gln Ser Ala Val Ala Cys Ile Glu Ser Gly Gln Leu Arg
705 710 715 720

Leu Val Asn Gly Gly Gly Arg Cys Ala Gly Arg Val Glu Ile Tyr His
725 730 735

Glu Gly Ser Trp Gly Thr Ile Cys Asp Asp Ser Trp Asp Leu Ser Asp
740 745 750

Ala His Val Val Cys Arg Gln Leu Gly Cys Gly Glu Ala Ile Asn Ala
755 760 765

Thr Gly Ser Ala His Phe Gly Glu Gly Thr Gly Pro Ile Trp Leu Asp
770 775 780

Glu Met Lys Cys Asn Gly Lys Glu Ser Arg Ile Trp Gln Cys His Ser
785 790 795 800

His Gly Trp Gly Gln Gln Asn Cys Arg His Lys Glu Asp Ala Gly Val

249
248

808

810

818

Ile Cys Ser Glu Phe Met Ser Leu Arg Leu Thr Ser Glu Ala Ser Arg
820 825 830

Glu Ala Cys Ala Gly Arg Leu Glu Val Phe Tyr Asn Gly Ala Trp Gly
835 840 845

Ser Val Gly Arg Ser Asn Met Ser Glu Thr Thr Val Gly Val Val Cys
850 855 860

Arg Gln Leu Gly Cys Ala Asp Lys Gly Lys Ile Asn Ser Ala Ser Leu
865 870 875 880

Asp Lys Ala Met Ser Ile Pro Met Trp Val Asp Asn Val Gln Cys Pro
885 890 895

Lys Gly Pro Asp Thr Leu Trp Gln Cys Pro Ser Ser Pro Trp Glu Lys
900 905 910

Arg Leu Ala Arg Pro Ser Glu Glu Thr Trp Ile Thr Cys Asp Asn Lys
915 920 925

Met Arg Leu Gln Glu Gly Pro Thr Ser Cys Ser Gly Arg Val Glu Ile
930 935 940

Trp His Gly Gly Ser Trp Gly Thr Val Cys Asp Asp Ser Trp Asp Leu
945 950 955 960

Asn Asp Ala Gln Val Val Cys Gln Gln Leu Gly Cys Gly Pro Ala Leu
965 970 975

Lys Ala Phe Lys Glu Ala Glu Phe Gly Gln Gly Thr Gly Pro Ile Trp
980 985 990

Leu Asn Glu Val Lys Cys Lys Gly Asn Glu Ser Ser Leu Trp Asp Cys
995 1000 1005

Pro Ala Arg Arg Trp Gly His Ser Glu Cys Gly His Lys Glu Asp
1010 1015 1020

Ala Ala Val Asn Cys Thr Ala Gln Lys Ile Ser Thr His Lys Thr
1025 1030 1035

Pro Gln Lys Ala Thr Thr Val Ser Ser Arg Gly Glu Asn Leu Val
1040 1045 1050

250
249

His Gln Ile Gln Tyr Arg Glu Met Asn Ser Cys Leu Asn Ala Asp
1055 1060 1065

Asp Leu Asp Leu Met Asn Ser Ser Gly Gly His Ser Glu Ala His
1070 1075 1080

<210> 41
<211> 3354
<212> DNA
<213> African Green Monkey

<400> 41
atgagcaaac tcagaatggt gctacttgaa gactctggat ctgctgacgt cagaagacat 60
tttgtoaact tgagtccctt cactattgct gtggtcttaa ttctccgtgc ctgttttgtc 120
accagtctct tggagggaac aaccaaggag ctgaggctag tggatggtga aaccaagtgt 180
agtgggagag tggaaagtga aatccaggag gagtgggga cgtgtgtga taatgggtgg 240
agcatggaag cagtctctgt gatttgtaac cagotggat gtccaactgc tatcaagcc 300
aotggatggg ctaattccag tgcaggttct ggacgcattt ggtggatca tgtttcttgt 360
cgtgggaatg agtcagctct ttgggaotgc aaacatgatg gatggggaan gcatagtaac 420
tgtactcacc aacaagatgc tggagtgaat tgcctcagat gatccgattt ggaatgagg 480
ctgaogaatg gagggaatat gtgttctgga agaatagaga tcaaatcca aggacagtgg 540
ggaacagtgt gtgatgataa ctccaacatc aatcatgcat ctgtggtttg taacaacctt 600
gaaatgtgga gtgctgtcag tttctctggt tcagotaatt ttggagaagg ctctggacca 660
atctggtttg atgatcttat atgcaacgga aatgagtcag ctctctgga ctgcaaacat 720
caaggatggg gaaagcataa ctgtgatcat gctgaggatg ctggagtgat ttgtcnaag 780
ggagcagatc tgagcctgag actggtagat ggtgtaotg aatgttcagg aagattgaa 840
gtgagattcc aaggagaatg ggggacaata tgtgatgacg gctgggacag tcatgatgct 900
gctgtggcat gcaagcaact gggatgtcca actgctatca cggcattgg tcaggttaac 960
gccagtggg gatttggaac catctggctt gacagtgttt ctggccaggg acatgaacct 1020
gggtctggc aatgtanaca ccatgaatgg ggaagcatt attgcaatca caatgaagat 1080
gctggogtaa catgttctga tggatcagat ctggagctaa gacttagagg tggaggcagc 1140
cgctgtgctg ggacagttag ggtggagatt cagagactgt tagggaaggt gtgtgacaga 1200
ggctggggac tgaagaagc tgatgtggtt tgcaggcagc tgggatgtgg atctgcactc 1260
aaacatcct atcaagtata ctccaaatc caggcaacaa acatgtggct gtttotangt 1320
agotgtaacg gaaatgaac ttctcttttg gactgcaaga actggcaatg ggtggactt 1380

251
250

aactgtgato actatgaaga agccaaaatt aactgtotag oocacagggg aocdagaactg 1440
 gttggaggag acattccoctg ttotggacgc gttgaagtga agcatggtga cacatggggc 1500
 tccgtctgtg attcggattt ctctotggaa gotgocagcg ttctatgocg ggaattacag 1560
 tgtggcacag tegtctctat cctgggggga gtoactttg gagggggaaa tggacagatc 1620
 tgggctgaag aattccagtg tgagggacat gagtcccatc tttoactctg oocagtagca 1680
 oocgcocoag aaggaaacttg tagccacagc agggatggtg gagttagtctg ctcaagatac 1740
 aagaaattc gottggtga tggaaagac ocatgtggg gcagagtga gctcaaaag 1800
 ottaatgoot ggggatccct ctgcaactct cactgggaca tagaagatgc ocaogttott 1860
 tgccaacaa ttaaatgtgg agttgcoctt totaocccag gaggagocaa ttttggaaaa 1920
 ggaatggtc aggtctggag gaatatgttt cactgcaactg ggaotgagca gcacatggga 1980
 gattgtcctg taactgctct ggggtgcttca ctatgtcctt cagggcaggt ggcctotgta 2040
 atttgcctag gaaacagctc ocaaacactg tctotgtgca attcatcctc tctgggocaa 2100
 acaaggoota coattccaga agaaagtgtc gtggcctgca tagagagtgg tcaacttcgc 2160
 ttggtaaatg gaggaggtcg ctgtgctggg agagttaga tttatcatga gggctcctgg 2220
 ggcacatct gtgatgacag ctgggaocctg agogatgccc acgtgggtgtg cagacagctg 2280
 ggctgtggag aggcattaa tgccactggt tctgtcctt ttggagaagg aacagggccc 2340
 atctggctgg atgagatga atgcantgga aaagaatcgc gtatttggca gtgocattca 2400
 catggctggg ggcagcaaaa ctgcaggcac aaggaggtg caggagtta ctgctcagag 2460
 ttcattgtctc tgagactgac cagtgaagcc agcagagagg octgtgcagg ggtctagaa 2520
 gttttttaca acggagcttg gggcagtgtt ggcaggagta acatgtctga aaocactgtg 2580
 ggtgtggtgt gcaggcagct gggctgtgca gacaaagggg aaatoaactc tgcatcttta 2640
 gacaaggoca tgtocattcc catgtgggtg gacaatgttc agtgtccaa aggaocagac 2700
 acgtgtggc agtgccatc atctocatg gagaagagac tggccaggcc ctggaggag 2760
 acctggatca catgtgacaa caagatgaga ctacaagaag gaocacttc ctgttotgga 2820
 cgtgtggaga tctggcacgg aggttccctg gggacagtgt gtgatgactc ctgggacttg 2880
 aacgatgtc aggtggtgtg tcaacaactt ggcgtgtgtc cagctttgaa agcattcaaa 2940
 gaagcagagt ttggtcaggg gactggacc atattggtca atgaagtga gtgcaaggg 3000
 aatgagtctt ccttgtggga ttgtcctgac agaogctggg gacacagtga gtgtggaac 3060
 aaggaagac ctgcagtga ttgcacagca caaaaattt caacgcaca aacccacaa 3120
 aagccaca caggctggtc attccttatt gcattcggaa tcttggagt tgttctctg 3180

251

gcacattttog tgcacattatt ctgacacaa agagacagac agagacagag gottacagtt 3240
 tctcagag gagagaatt agtccacaa attcaaac gggagatga ttcttgctg 3300
 aatgcagtg atctggacot aatgaattcc toaggaggoc attctgagpc acac 3354

<210> 42
 <211> 1110
 <212> PRT
 <213> African Green Monkey
 <400> 42

Met Ser Lys Leu Arg Met Val Leu Leu Glu Asp Ser Gly Ser Ala Asp
 1 5 10 15

Val Arg Arg His Phe Val Asn Leu Ser Pro Phe Thr Ile Ala Val Val
 20 25 30

Leu Leu Leu Arg Ala Cys Phe Val Thr Ser Ser Leu Gly Gly Thr Thr
 35 40 45

Lys Glu Leu Arg Leu Val Asp Gly Glu Asn Lys Cys Ser Gly Arg Val
 50 55 60

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

Ser Met Glu Ala Val Ser Val Ile Cys Asn Gln Leu Gly Cys Pro Thr
 85 90 95

Ala Ile Lys Ala Thr Gly Trp Ala Asn Ser Ser Ala Gly Ser Gly Arg
 100 105 110

Ile Trp Met Asp His Val Ser Cys Arg Gly Asn Glu Ser Ala Leu Trp
 115 120 125

Asp Cys Lys His Asp Gly Trp Gly Lys His Ser Asn Cys Thr His Gln
 130 135 140

Gln Asp Ala Gly Val Thr Cys Ser Asp Gly Ser Asp Leu Glu Met Arg
 145 150 155 160

Leu Thr Asn Gly Gly Asn Met Cys Ser Gly Arg Ile Glu Ile Lys Phe
 165 170 175

Gln Gly Gln Trp Gly Thr Val Cys Asp Asp Asn Phe Asn Ile Asn His
 180 185 190

1255
252

Ala Ser Val Val Cys Lys Gln Leu Glu Cys Gly Ser Ala Val Ser Phe
195 200 205

Ser Gly Ser Ala Asn Phe Gly Glu Gly Ser Gly Pro Ile Trp Phe Asp
210 215 220

Asp Leu Ile Cys Asn Gly Asn Glu Ser Ala Leu Trp Asn Cys Lys His
225 230 235 240

Gln Gly Trp Gly Lys His Asn Cys Asp His Ala Glu Asp Ala Gly Val
245 250 255

Ile Cys Ser Lys Gly Ala Asp Leu Ser Leu Arg Leu Val Asp Gly Val
260 265 270

Thr Glu Cys Ser Gly Arg Leu Glu Val Arg Phe Gln Gly Glu Trp Gly
275 280 285

Thr Ile Cys Asp Asp Gly Trp Asp Ser His Asp Ala Ala Val Ala Cys
290 295 300

Lys Gln Leu Gly Cys Pro Thr Ala Ile Thr Ala Ile Gly Arg Val Asn
305 310 315 320

Ala Ser Glu Gly Phe Gly His Ile Trp Leu Asp Ser Val Ser Cys Gln
325 330 335

Gly His Glu Pro Ala Val Trp Gln Cys Lys His His Glu Trp Gly Lys
340 345 350

His Tyr Cys Asn His Asn Glu Asp Ala Gly Val Thr Cys Ser Asp Gly
355 360 365

Ser Asp Leu Glu Leu Arg Leu Arg Gly Gly Gly Ser Arg Cys Ala Gly
370 375 380

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

Gly Trp Gly Leu Lys Glu Ala Asp Val Val Cys Arg Gln Leu Gly Cys
405 410 415

Gly Ser Ala Leu Lys Thr Ser Tyr Gln Val Tyr Ser Lys Ile Gln Ala
420 425 430

253

Thr Asn Met Trp Leu Phe Leu Ser Ser Cys Asn Gly Asn Glu Thr Ser
435 440 445

Leu Trp Asp Cys Lys Asn Trp Gln Trp Gly Gly Leu Thr Cys Asp His
450 455 460

Tyr Glu Glu Ala Lys Ile Thr Cys Ser Ala His Arg Glu Pro Arg Leu
465 470 475 480

Val Gly Gly Asp Ile Pro Cys Ser Gly Arg Val Glu Val Lys His Gly
485 490 495

Asp Thr Trp Gly Ser Val Cys Asp Ser Asp Phe Ser Leu Glu Ala Ala
500 505 510

Ser Val Leu Cys Arg Glu Leu Gln Cys Gly Thr Val Val Ser Ile Leu
515 520 525

Gly Gly Ala His Phe Gly Glu Gly Asn Gly Gln Ile Trp Ala Glu Glu
530 535 540

Phe Gln Cys Glu Gly His Glu Ser His Leu Ser Leu Cys Pro Val Ala
545 550 555 560

Pro Arg Pro Glu Gly Thr Cys Ser His Ser Arg Asp Val Gly Val Val
565 570 575

Cys Ser Arg Tyr Thr Glu Ile Arg Leu Val Asn Gly Lys Thr Pro Cys
580 585 590

Glu Gly Arg Val Glu Leu Lys Thr Leu Asn Ala Trp Gly Ser Leu Cys
595 600 605

Asn Ser His Trp Asp Ile Glu Asp Ala His Val Leu Cys Gln Gln Leu
610 615 620

Lys Cys Gly Val Ala Leu Ser Thr Pro Gly Gly Ala His Phe Gly Lys
625 630 635 640

Gly Asn Gly Gln Val Trp Arg His Met Phe His Cys Thr Gly Thr Glu
645 650 655

Gln His Met Gly Asp Cys Pro Val Thr Ala Leu Gly Ala Ser Leu Cys
660 665 670

Pro Ser Gly Gln Val Ala Ser Val Ile Cys Ser Gly Asn Gln Ser Gln

675

680

685

Thr Leu Ser Ser Cys Asn Ser Ser Ser Leu Gly Pro Thr Arg Pro Thr
690 695 700

Ile Pro Glu Glu Ser Ala Val Ala Cys Ile Glu Ser Gly Gln Leu Arg
705 710 715 720

Leu Val Asn Gly Gly Gly Arg Cys Ala Gly Arg Val Glu Ile Tyr His
725 730 735

Glu Gly Ser Trp Gly Thr Ile Cys Asp Asp Ser Trp Asp Leu Ser Asp
740 745 750

Ala His Val Val Cys Arg Gln Leu Gly Cys Gly Glu Ala Ile Asn Ala
755 760 765

Thr Gly Ser Ala His Phe Gly Glu Gly Thr Gly Pro Ile Trp Leu Asp
770 775 780

Glu Met Lys Cys Asn Gly Lys Glu Ser Arg Ile Trp Gln Cys His Ser
785 790 795 800

His Gly Trp Gly Gln Gln Asn Cys Arg His Lys Glu Asp Ala Gly Val
805 810 815

Ile Cys Ser Glu Phe Met Ser Leu Arg Leu Thr Ser Glu Ala Ser Arg
820 825 830

Glu Ala Cys Ala Gly Arg Leu Glu Val Phe Tyr Asn Gly Ala Trp Gly
835 840 845

Ser Val Gly Arg Ser Asn Met Ser Glu Thr Thr Val Gly Val Val Cys
850 855 860

Arg Gln Leu Gly Cys Ala Asp Lys Gly Lys Ile Asn Ser Ala Ser Leu
865 870 875 880

Asp Lys Ala Met Ser Ile Pro Met Trp Val Asp Asn Val Gln Cys Pro
885 890 895

Lys Gly Pro Asp Thr Leu Trp Gln Cys Pro Ser Ser Pro Trp Glu Lys
900 905 910

Arg Leu Ala Arg Pro Ser Glu Glu Thr Trp Ile Thr Cys Asp Asn Lys
915 920 925

256
255

Met Arg Leu Gln Glu Gly Pro Thr Ser Cys Ser Gly Arg Val Glu Ile
930 935 940

Trp His Gly Gly Ser Trp Gly Thr Val Cys Asp Asp Ser Trp Asp Leu
945 950 955 960

Asn Asp Ala Gln Val Val Cys Gln Gln Leu Gly Cys Gly Pro Ala Leu
965 970 975

Lys Ala Phe Lys Glu Ala Glu Phe Gly Gln Gly Thr Gly Pro Ile Trp
980 985 990

Leu Asn Glu Val Lys Cys Lys Gly Asn Glu Ser Ser Leu Trp Asp Cys
995 1000 1005

Pro Ala Arg Arg Trp Gly His Ser Glu Cys Gly His Lys Glu Asp
1010 1015 1020

Ala Ala Val Asn Cys Thr Ala Gln Lys Ile Ser Thr His Lys Thr
1025 1030 1035

Pro Gln Lys Ala Thr Thr Gly Arg Ser Phe Leu Ile Ala Phe Gly
1040 1045 1050

Ile Leu Gly Val Val Leu Leu Ala Ile Phe Val Ala Leu Phe Leu
1055 1060 1065

Thr Gln Lys Arg Arg Gln Arg Gln Arg Leu Thr Val Ser Ser Arg
1070 1075 1080

Gly Glu Asn Leu Val His Gln Ile Gln Tyr Arg Glu Met Asn Ser
1085 1090 1095

Cys Leu Asn Ala Asp Asp Leu Asp Leu Met Asn Ser Ser Gly Gly
1100 1105 1110

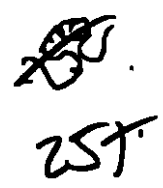
His Ser Glu Ala His
1115

<210> 43
<211> 3459
<212> DNA
<213> African Green Monkey

<400> 43
atgagcaaac tcagaatggt gctacttgaa gactotggat ctgctgacgt cagaagacat 60

256

tttgtcaact tggagtcocct cactattgct gtggtottac ttctocgtgc ctgttttctc 120
 accagttctc ttggaggaaac aaccaaaggag ctgaggotag tggatggtga aaacaagtgt 180
 agtgggagag tgggaagtga aatccaggag gagtgggaa oggtgtgtaa taatggotgg 240
 agcatggaag cagtctctgt gattttgaa cagotgggat gtccaaatgc tatcaaaagcc 300
 actggatggg ctattocag tgcaggttct ggaagcattt ggtatggatca tgtttcttgt 360
 ogtgggaatg agtcagctct ttgggaatgc aaacatgatg gatggggaaa gcatagttaa 420
 tgtactcaco aacaaagtgc tggagtgaot tgotcagatg gacocattt ggaatgagg 480
 ctgacgaatg gagggaatat gtgttctgga agaatagaga taaaattoca aggcagtggt 540
 ggaacagtgt gtgatgataa ottcaaatc aatcatgcat ctgtggtttg taacaacott 600
 gaatgtgga gtgtgtcag ttctctgtgt tcagctaatt ttggagaagg ctctggacca 660
 atctggtttg atgatcttat atgcaacgga aatgagtoag ctctctggaa ctgcaaacat 720
 caaggatggg gaagcataa ctgtgatcat gctgaggatg ctggagtgt ttgtcaaaag 780
 ggagcagatc tgagcctgag actggtagat gtagtcaactg aatgttcagg aagattagaa 840
 gtgagattcc aaggagaatg ggggacaata tgtgatgaag gctgggacag tcatgatgct 900
 gctgtggcat gcaagaaact gggatgtcca aotgctatca oagocattgg toaggttaa 960
 gacagtgagg gatttgga caatctggtt gacagtgttt ctggocaggg acatgaacot 1020
 gcggtctggc aatgtaaaca ccatgaatgg ggaagcatt attgcaatca caatgaagat 1080
 gctggogtaa catgttctga tggatcagat ctggagctaa gacttagagg tggagggcgc 1140
 cgtgtgtctg ggaacgttga ggtggagatt cagagactgt tagggaaggt gtgtgacaga 1200
 ggtggggac tgaagaagc tgatgtggtt tgcaggcagc tgggatgtgg atctgaactc 1260
 aaacatcct atcaagtata ctcaaatc caggcaaca aatgtgtggt gtttctaagt 1320
 agctgtaacg gaatgaac ttctctttgg gactgaaga actggcaatg ggtgtgactt 1380
 aactgtatc actatgaaga agccaaatt acctgtcag ccaaaaggga aocagactg 1440
 gttggaggag acattocctg ttctggacgc gttgaagtga agcatggtga cacatggggc 1500
 tcogtctgtg attoggattt ctctctggaa gctgocagcg ttctatgag ggaattacag 1560
 tgtggcaag tegtctctat cctgggggga gtcactttg gagagggaat tggacagatc 1620
 tgggtgaag aattocagt tggggacat ggtccatc tttcaactct cccagttagca 1680
 cccgcctag aaggaaattg tagccacagc aggtatgttg gagtgtctg ctcaagatac 1740
 acagaattc gcttggtga tggcaagac ccatgtgagg gcagagtga gctcaaaacg 1800
 cttaatgctt gggatocct ctgcaactct cactgggaca tagaagatgc ccaogttctt 1860



tgcacacac ttaaatgtgg agttgcoott totacccag gaggagaca ttttggaaaa 1920
 ggaatgttc aggtctggag gcataatgtt caotgcaatg ggaotgaga gcacatggga 1980
 gattgtcctg taactgtctt ggtgtcttca ctatgtcoott cagggcaagt ggootctgta 2040
 atttgcctag gaaacacgtc ccaaacactg tccctgtgca attcatcatt totgggcaca 2100
 acaaggccta ccattccaga agaaagtgtt gtggcctgca tagagagtgg tcaacttogo 2160
 ttggtaaatg gaggaggttg ctgtgtgtgg agagttaga tttatcatga ggtctcctgg 2220
 ggcacacatc gtgatgacag ctgggaactg agogatgccc aagtgtgtgt cagacagctg 2280
 ggtgtgtggg aggcattaa tgcactgtt totgtcatt ttggagagg aacagggccc 2340
 atctggtctg atgagatgaa atgcaatgga aaagaatccc gtatttggca gtgcattca 2400
 catggtgtgg ggcagacaaa ctgcaggcac aaggaggtg caggagtta ctgtcagag 2460
 ttcattgttc tgagactgac cagtgaagcc agcagagagg cctgtgacgg ggtctagaa 2520
 gttttttaca aaggagcttg gggcagtgtt ggcaggagta acatgtctga aacacatgtg 2580
 ggtgtgtgtg gcaggcagct ggtgtgtgca gacaaagggg aatcaactc tgcattctta 2640
 gacaaggcca tgcattcc catgtgtgtg gacaatgttc agtgtccaaa aggacctgac 2700
 acgtgtgtgc agtgcacac atctccatgg gagaagagac tggccaggcc ctggaggag 2760
 aactggatca catgtgacaa caagatgaga ctcaagaag gacccacttc ctgtcttgga 2820
 cgtgtggaga totggcagg aggttccctg ggcagctgt gtgatgactc ctgggaattg 2880
 aacgatgttc aggtgtgtg tcaacaactt ggtgtgtgtc cagctttgaa agcattcaaa 2940
 gaagcagagt ttggtcaggg gactggccc atatggttca atgaagtga gtgcaagggg 3000
 aatgagtctt ccttgtggga ttgtcctgcc agacgtgtgg gacacagtga gtgtggacac 3060
 aaggagacg ctgcagtga ttgcacagca caaaaattt caacgcacaa aacccacaa 3120
 aaagccacaa caggtcagtc attccttatt gcattoggaa tcttggagt tgttctcttg 3180
 gccattttog tgcattatt ctgactcaa aagcgaagac agagacagcg gcttacagtt 3240
 tctcaagag gagagaactt agtccacaaa attcaatacc gggagatgaa ttcttgootg 3300
 aatgcagatg atctggacct aatgaattcc tcagaaaatt ccaatgagtc agctgatttc 3360
 aatgtgtctg aactaatttc tgtgtctaaa tttcttcta tttctggant ggaaggagg 3420
 gccattctga ggcacactga aaaggaaat gggattta 3480

<210> 44
 <211> 1153
 <212> PRT
 <213> African Green Monkey

<400> 44

258
258

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

268

259

Gln Gly Trp Gly Lys His Asn Cys Asp His Ala Glu Asp Ala Gly Val
245 250 255

Ile Cys Ser Lys Gly Ala Asp Leu Ser Leu Arg Leu Val Asp Gly Val
260 265 270

Thr Glu Cys Ser Gly Arg Leu Glu Val Arg Phe Gln Gly Glu Trp Gly
275 280 285

Thr Ile Cys Asp Asp Gly Trp Asp Ser His Asp Ala Ala Val Ala Cys
290 295 300

Lys Gln Leu Gly Cys Pro Thr Ala Ile Thr Ala Ile Gly Arg Val Asn
305 310 315 320

Ala Ser Glu Gly Phe Gly His Ile Trp Leu Asp Ser Val Ser Cys Gln
325 330 335

Gly His Glu Pro Ala Val Trp Gln Cys Lys His His Glu Trp Gly Lys
340 345 350

His Tyr Cys Asn His Asn Glu Asp Ala Gly Val Thr Cys Ser Asp Gly
355 360 365

Ser Asp Leu Glu Leu Arg Leu Arg Gly Gly Gly Ser Arg Cys Ala Gly
370 375 380

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

Gly Trp Gly Leu Lys Glu Ala Asp Val Val Cys Arg Gln Leu Gly Cys
405 410 415

Gly Ser Ala Leu Lys Thr Ser Tyr Gln Val Tyr Ser Lys Ile Gln Ala
420 425 430

Thr Asn Met Trp Leu Phe Leu Ser Ser Cys Asn Gly Asn Gln Thr Ser
435 440 445

Leu Trp Asp Cys Lys Asn Trp Gln Trp Gly Gly Leu Thr Cys Asp His
450 455 460

Tyr Glu Glu Ala Lys Ile Thr Cys Ser Ala His Arg Glu Pro Arg Leu
465 470 475 480

Val Gly Gly Asp Ile Pro Cys Ser Gly Arg Val Glu Val Lys His Gly

26X
260

485

490

495

Asp Thr Trp Gly Ser Val Cys Asp Ser Asp Phe Ser Leu Glu Ala Ala
500 505 510

Ser Val Leu Cys Arg Glu Leu Gln Cys Gly Thr Val Val Ser Ile Leu
515 520 525

Gly Gly Ala His Phe Gly Glu Gly Asn Gly Gln Ile Trp Ala Glu Glu
530 535 540

Phe Gln Cys Glu Gly His Glu Ser His Leu Ser Leu Cys Pro Val Ala
545 550 555 560

Pro Arg Pro Glu Gly Thr Cys Ser His Ser Arg Asp Val Gly Val Val
565 570 575

Cys Ser Arg Tyr Thr Glu Ile Arg Leu Val Asn Gly Lys Thr Pro Cys
580 585 590

Glu Gly Arg Val Glu Leu Lys Thr Leu Asn Ala Trp Gly Ser Leu Cys
595 600 605

Asn Ser His Trp Asp Ile Glu Asp Ala His Val Leu Cys Gln Gln Leu
610 615 620

Lys Cys Gly Val Ala Leu Ser Thr Pro Gly Gly Ala His Phe Gly Lys
625 630 635 640

Gly Asn Gly Gln Val Trp Arg His Met Phe His Cys Thr Gly Thr Glu
645 650 655

Gln His Met Gly Asp Cys Pro Val Thr Ala Leu Gly Ala Ser Leu Cys
660 665 670

Pro Ser Gly Gln Val Ala Ser Val Ile Cys Ser Gly Asn Gln Ser Gln
675 680 685

Thr Leu Ser Ser Cys Asn Ser Ser Ser Leu Gly Pro Thr Arg Pro Thr
690 695 700

Ile Pro Glu Glu Ser Ala Val Ala Cys Ile Glu Ser Gly Gln Leu Arg
705 710 715 720

Leu Val Asn Gly Gly Gly Arg Cys Ala Gly Arg Val Glu Ile Tyr His
725 730 735

267
261

Glu Gly Ser Trp Gly Thr Ile Cys Asp Asp Ser Trp Asp Leu Ser Asp
740 745 750

Ala His Val Val Cys Arg Gln Leu Gly Cys Gly Glu Ala Ile Asn Ala
755 760 765

Thr Gly Ser Ala His Phe Gly Glu Gly Thr Gly Pro Ile Trp Leu Asp
770 775 780

Glu Met Lys Cys Asn Gly Lys Glu Ser Arg Ile Trp Gln Cys His Ser
785 790 795 800

His Gly Trp Gly Gln Gln Asn Cys Arg His Lys Glu Asp Ala Gly Val
805 810 815

Ile Cys Ser Glu Phe Met Ser Leu Arg Leu Thr Ser Glu Ala Ser Arg
820 825 830

Glu Ala Cys Ala Gly Arg Leu Glu Val Phe Tyr Asn Gly Ala Trp Gly
835 840 845

Ser Val Gly Arg Ser Asn Met Ser Glu Thr Thr Val Gly Val Val Cys
850 855 860

Arg Gln Leu Gly Cys Ala Asp Lys Gly Lys Ile Asn Ser Ala Ser Leu
865 870 875 880

Asp Lys Ala Met Ser Ile Pro Met Trp Val Asp Asn Val Gln Cys Pro
885 890 895

Lys Gly Pro Asp Thr Leu Trp Gln Cys Pro Ser Ser Pro Trp Glu Lys
900 905 910

Arg Leu Ala Arg Pro Ser Glu Glu Thr Trp Ile Thr Cys Asp Asn Lys
915 920 925

Met Arg Leu Gln Glu Gly Pro Thr Ser Cys Ser Gly Arg Val Gln Ile
930 935 940

Trp His Gly Gly Ser Trp Gly Thr Val Cys Asp Asp Ser Trp Asp Leu
945 950 955 960

Asn Asp Ala Gln Val Val Cys Gln Gln Leu Gly Cys Gly Pro Ala Leu
965 970 975

263
262

Lys Ala Phe Lys Glu Ala Glu Phe Gly Gln Gly Thr Gly Pro Ile Trp
980 985 990

Leu Asn Glu Val Lys Cys Lys Gly Asn Glu Ser Ser Leu Trp Asp Cys
995 1000 1005

Pro Ala Arg Arg Trp Gly His Ser Glu Cys Gly His Lys Glu Asp
1010 1015 1020

Ala Ala Val Asn Cys Thr Ala Gln Lys Ile Ser Thr His Lys Thr
1025 1030 1035

Pro Gln Lys Ala Thr Thr Gly Gln Ser Phe Leu Ile Ala Phe Gly
1040 1045 1050

Ile Leu Gly Val Val Leu Leu Ala Ile Phe Val Ala Leu Phe Leu
1055 1060 1065

Thr Gln Lys Arg Arg Gln Arg Gln Arg Leu Thr Val Ser Ser Arg
1070 1075 1080

Gly Glu Asn Leu Val His Gln Ile Gln Tyr Arg Glu Met Asn Ser
1085 1090 1095

Cys Leu Asn Ala Asp Asp Leu Asp Leu Met Asn Ser Ser Glu Asn
1100 1105 1110

Ser Asn Glu Ser Ala Asp Phe Asn Ala Ala Glu Leu Ile Ser Val
1115 1120 1125

Ser Lys Phe Leu Pro Ile Ser Gly Met Glu Lys Glu Ala Ile Leu
1130 1135 1140

Arg His Thr Glu Lys Glu Asn Gly Asn Leu
1145 1150

<210> 45
<211> 3345
<212> DNA
<213> Canis familiaris

<400> 45
atgagcaaac tcagaatggt cocacatgga aactctggat ctgctgactt tagaagatgt 60
tttgacctct tctgtcoctc tctgttggct gtggtctcca ttctcagtac ctgtttgatg 120
accaattctc ttgggagagc agataaagag atgaggctaa cggatggtga agacaattgc 180

263

tocgggagag tggaaagtga agtccaggag gagtgggaa ogtgtgtaa taatgggtgg 340
 ggcattggatg aagtctctgt gatttgcagg cagotgggat gtccactgc tatcaagoc 360
 gctggatggg ocaattooag ggaaggctct ggaagaatct ggtggatca tgtttcttgt 380
 cgaggggatg aatctgtct ctgggaactgc aaactgatg gatggggaa gcacaaactgc 400
 agtcataca aggtatgttg agtaactgt toagatggat ccagtttgg gatgaggttg 420
 atgaacggcg gaacaaagt ttctggcaga atagaagta agttocagg acagtgggga 440
 aagtggttg atgacaact caactatgat catgctctg tggttttaa acagctogaa 460
 tgtggaagt ctgtcagtt ctctggttca gctaatttg gagaaggtc tgggcaactc 480
 tggtttgatg atcttgttg cagtggaaat gagtcagtc totggaactg caagcatgaa 500
 ggtggggaa agcataactg tgatcaact gaggtgttg gagtgatttg cttggatgga 520
 gcagatctga gctgagact ggtagatgga gtcaactgaat gttcaggag attagaagta 540
 aaattccaag ggaatgggg gacagtgtg gatgatggct gggatagta tgatgtgct 560
 gtggtatga acaactggg atgocaaact gctgtcaact caattggtg agttaacgoc 580
 agtgaggga gtggacacat ttggttgac aatcttctt gccaggaga ogaatctgct 600
 ctctggcagt gtgacacca tgaatgggga agcattatt gcaatcataa tgaagatgct 620
 ggtgtgacat gttctgatg atcagacct gagctgagac ttgtcgttg aggcagocgc 640
 tgtgctggga cagtggaggt tgaattcag aaactgctag ggaagtatg tgatagaggc 660
 tggggactga aagaagcga tgtggttgc aagcagttg gatgtggatc tgcctctcaa 680
 acgtcctatc agcgttatc caaagttaag gaacaaaca catggtgtt ttttagocgc 700
 tgtagtggca atgaacttc ctttgggac tgcaagaact ggcagtggg tggactgagc 720
 tgtgatcact atgaagaagc taagttaac tgcacagoc acagggaacc cagactagtt 740
 ggaggagata ttcctgtct tggctgtgt gaagtgaac atggtgacac atggggcacc 760
 gtctgtgatt ccgacttct tttggaagct gccagtgtg tgtgcagaga gttacagtgt 780
 ggcacagtca tctccatct agggggagct cactttggag aaggaaatgg acagatctgg 800
 gctgaagaat tcaagtgtg ggggcaggag tccatcttt cactctgttc agtagootct 820
 cgccagatg ggacctgtg ccacagcagg gatgttggag tctctgtct aagatacag 840
 gaatccgct tggtaatgg ccagtcccg tgtgaaggaa gagtggagct caagatactt 860
 ggaactggg gatccctct caactctac tgggacatg aagatgocca tgtttctgt 880
 cagcagctca aatgtggagt tgcctttct attccgggag gagcacattt tgggaaggga 900
 agtggcaga tctggaggca catgtttcac tgcactggga ctgagcagca catggagat 920
 tgcctgtaa ctgctctgg ogagcgtg tgttctgtg ggaagtggc ctctgtatc 940

265
264

tgctcaggaa atcagagaca gaagotatoc ocatgcaatt caacatctct ggacccaaac 2100
agatctacca cttcgggaaga aagtgotgtt gttgtattg agagtggga acttcgootg 2160
gtaaatggag goggtogctg tgotgggaga atagaggtct aacatgaggg ctctggggc 2220
aacatctgtg atgacagctg ggaootgagt gatgoccatg tgggtgtcag acagctgggc 2280
tgtggagtgg coattantgc cactggctct gctcatttg gggagggaa agggccatc 2340
tggctggaag aggtgaactg taatggaaag gaatctcata totggcaatg oagctacac 2400
ggctggggg aaacaaactg cagacataag gaggatgcag gatttatctg ctacaggttc 2460
atgtctctca gactgattga tgaacacag agagacatct gtgagggggt tottgagtt 2520
ttttacaatg gagcttgggg cagcgttggg aagagtata tgtctgcac caotgtggag 2580
gtgtatgca ggaactggg ttgtgcagac aaggggagca tcaacootgc atcttcagac 2640
aagcccatgt coaggacat gtgggtggac aatgtccagt gtccaaagg aotgaaccc 2700
ttatggcagt gccatcttc tccatggaa cagagagtgg coagttctc agaggagac 2760
tggatcacat gtgccaaca gataagactt caagaaggaa cctctaattg ttctggcgt 2820
gtggagctct ggcacggagg ttctggggg acagtgtcg atgactctg ggaottgaa 2880
gatgcacaag tgggtgtctg acagotggg tgtggccag cattagaagc aotaaagag 2940
gcagcatttg gtcaggggac tgggctata tggctcaatg acgtgaagt caaagggat 3000
gagtcttct tgtgggattg tctgtctaga cctgggggc acagtactg tggocacaag 3060
gaagatgctg ctgtgaggtg ctcaaaatt gcaatggccc aagatcctc aaatctaga 3120
ggcactcat ccttgttgc attggggatc ttgtgtctca ttctcttgc ottctctc 3180
gtctctctt tgtggactca aaggcgaaga cagcaacagc ggcttacagt ttcttgaga 3240
ggagagaatt ctgtccacca aattcaatac cgggaatga attcttctt gaaagcagt 3300
gatctggag tgotgacttc otagaagac oattttgagg tacac 3345

<210> 46
<211> 1115
<212> PRT
<213> Canis familiaris

<400> 46

Met Ser Lys Leu Arg Met Val Pro His Gly Asn Ser Gly Ser Ala Asp
1 5 10 15

Phe Arg Arg Cys Phe Ala Leu Leu Cys Pro Ser Ala Val Ala Val Val
20 25 30

265

Ser Ile Leu Ser Thr Cys Leu Met Thr Asn Ser Leu Gly Arg Ala Asp
35 40 45

Lys Glu Met Arg Leu Thr Asp Gly Glu Asn Asn Cys Ser Gly Arg Val
50 55 60

Glu Val Lys Val Gln Glu Glu Trp Gly Thr Val Cys Asn Asn Gly Trp
65 70 75 80

Gly Met Asp Glu Val Ser Val Ile Cys Arg Gln Leu Gly Cys Pro Thr
85 90 95

Ala Ile Lys Ala Ala Gly Trp Ala Asn Ser Arg Ala Gly Ser Gly Arg
100 105 110

Ile Trp Met Asp His Val Ser Cys Arg Gly Asn Glu Ser Ala Leu Trp
115 120 125

Asp Cys Lys His Asp Gly Trp Gly Lys His Asn Cys Ser His Gln Gln
130 135 140

Asp Ala Gly Val Thr Cys Ser Asp Gly Ser Ser Leu Glu Met Arg Leu
145 150 155 160

Met Asn Gly Gly Asn Gln Cys Ser Gly Arg Ile Gln Val Lys Phe Gln
165 170 175

Gly Gln Trp Gly Thr Val Cys Asp Asp Asn Phe Asn Ile Asp His Ala
180 185 190

Ser Val Val Cys Lys Gln Leu Glu Cys Gly Ser Ala Val Ser Phe Ser
195 200 205

Gly Ser Ala Asn Phe Gly Glu Gly Ser Gly Pro Ile Trp Phe Asp Asp
210 215 220

Leu Val Cys Ser Gly Asn Glu Ser Ala Leu Trp Asn Cys Lys His Glu
225 230 235 240

Gly Trp Gly Lys His Asn Cys Asp His Ala Glu Asp Val Gly Val Ile
245 250 255

Cys Leu Asp Gly Ala Asp Leu Ser Leu Arg Leu Val Asp Gly Val Thr
260 265 270

Glu Cys Ser Gly Arg Leu Glu Val Lys Phe Gln Gly Glu Trp Gly Thr

267
266

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

260
267

Gly Ala His Phe Gly Glu Gly Asn Gly Gln Ile Trp Ala Glu Glu Phe
530 535 540

Gln Cys Glu Gly Gln Glu Ser His Leu Ser Leu Cys Ser Val Ala Ser
545 550 555 560

Arg Pro Asp Gly Thr Cys Ser His Ser Arg Asp Val Gly Val Val Cys
565 570 575

Ser Arg Tyr Thr Glu Ile Arg Leu Val Asn Gly Gln Ser Pro Cys Glu
580 585 590

Gly Arg Val Glu Leu Lys Ile Leu Gly Asn Trp Gly Ser Leu Cys Asn
595 600 605

Ser His Trp Asp Ile Glu Asp Ala His Val Phe Cys Gln Gln Leu Lys
610 615 620

Cys Gly Val Ala Leu Ser Ile Pro Gly Gly Ala His Phe Gly Lys Gly
625 630 635 640

Ser Gly Gln Ile Trp Arg His Met Phe His Cys Thr Gly Thr Glu Gln
645 650 655

His Met Gly Asp Cys Pro Val Thr Ala Leu Gly Ala Thr Leu Cys Ser
660 665 670

Ala Gly Gln Val Ala Ser Val Ile Cys Ser Gly Asn Gln Ser Gln Thr
675 680 685

Leu Ser Pro Cys Asn Ser Thr Ser Leu Asp Pro Thr Arg Ser Thr Thr
690 695 700

Ser Gln Glu Ser Ala Val Ala Cys Ile Ala Ser Gly Gln Leu Arg Leu
705 710 715 720

Val Asn Gly Gly Gly Arg Cys Ala Gly Arg Ile Glu Val Tyr His Glu
725 730 735

Gly Ser Trp Gly Thr Ile Cys Asp Asp Ser Trp Asp Leu Ser Asp Ala
740 745 750

His Val Val Cys Arg Gln Leu Gly Cys Gly Val Ala Ile Asn Ala Thr
755 760 765

269
268

Gly Ser Ala His Phe Gly Glu Gly Thr Gly Pro Ile Trp Leu Asp Glu
770 775 780

Val Asn Cys Asn Gly Lys Glu Ser His Ile Trp Gln Cys Arg Ser His
785 790 795 800

Gly Trp Gly Gln His Asn Cys Arg His Lys Glu Asp Ala Gly Val Ile
805 810 815

Cys Ser Glu Phe Met Ser Leu Arg Leu Ile Asp Glu Thr Ser Arg Asp
820 825 830

Ile Cys Ala Gly Arg Leu Glu Val Phe Tyr Asn Gly Ala Trp Gly Ser
835 840 845

Val Gly Lys Ser Asn Met Ser Ala Thr Thr Val Glu Val Val Cys Arg
850 855 860

Gln Leu Gly Cys Ala Asp Lys Gly Ser Ile Asn Pro Ala Ser Ser Asp
865 870 875 880

Lys Pro Met Ser Arg His Met Trp Val Asp Asn Val Gln Cys Pro Lys
885 890 895

Gly Pro Asp Thr Leu Trp Gln Cys Pro Ser Ser Pro Trp Lys Gln Arg
900 905 910

Val Ala Ser Ser Ser Glu Glu Thr Trp Ile Thr Cys Ala Asn Lys Ile
915 920 925

Arg Leu Gln Glu Gly Thr Ser Asn Cys Ser Gly Arg Val Glu Leu Trp
930 935 940

His Gly Gly Ser Trp Gly Thr Val Cys Asp Asp Ser Trp Asp Leu Glu
945 950 955 960

Asp Ala Gln Val Val Cys Arg Gln Leu Gly Cys Gly Pro Ala Leu Glu
965 970 975

Ala Leu Lys Glu Ala Ala Phe Gly Gln Gly Thr Gly Pro Ile Trp Leu
980 985 990

Asn Asp Val Lys Cys Lys Gly Asn Glu Ser Ser Leu Trp Asp Cys Pro
995 1000 1005

228
269

Ala Arg Pro Trp Gly His Ser Asp Cys Gly His Lys Glu Asp Ala
1010 1015 1020

Ala Val Arg Cys Ser Glu Ile Ala Met Ala Gln Arg Ser Ser Asn
1025 1030 1035

Pro Arg Gly His Ser Ser Leu Val Ala Leu Gly Ile Phe Gly Val
1040 1045 1050

Ile Leu Leu Ala Phe Leu Ile Ala Leu Leu Leu Trp Thr Gln Arg
1055 1060 1065

Arg Arg Gln Gln Gln Arg Leu Thr Val Ser Leu Arg Gly Glu Asn
1070 1075 1080

Ser Val His Gln Ile Gln Tyr Arg Glu Met Asn Ser Ser Leu Lys
1085 1090 1095

Ala Asp Asp Leu Asp Val Leu Thr Ser Ser Glu Asp His Phe Glu
1100 1105 1110

Val His
1115

<210> 47
<211> 3399
<212> DNA
<213> Canis familiaris

<400> 47
atgagcaaac tcagaatggt cccacatgga aactctggat ctgctgactt tagaagatgt 60
tttgcctct tgtgtccctc tgctgtggct gtggtctcaa ttctcagtac ctgtttgatg 120
accattctc ttgggagagc agataaagag atgaggctaa cggatggtag agacaattgc 180
tcggggagag tggaaagtga agtccaggag gagtggggaa cgggtgtgtaa taatggctgg 240
ggcatggatg aagtctctgt gatttgacag cagctgggat gtccactgc tatcaagoc 300
gctggatggg ccattccag ggcaggctct ggcgaactct gcatggatca tgtttcttgt 360
cgagggaatg aatctgtctc ctgggactgc aacatgatg gatggggaaa gcacaactgc 420
agtcatcaac aggatgctgg agtaacctgt tcagatggat ccagttbga gatgaggtg 480
atgaacggcg gaaccagtg ttctggcaga atagaagtca agttccaggy acagtgggga 540
acagtgtgtg atgacaactt caacatagat catgcttctg tggtttgtaa acagctogaa 600
tgtggaagtg ctgtcagttt ctctggttca gctaattttg gagaaggttc tgggccaato 660
tggtttgatg atcttgtgtg cagtggaaat ggtcagotc tctggaaactg caagcatgaa 720

28
270

ggatggggaa agcataactg tgatcaogct gaggatgttg gagtgatttg ottggatgga 780
 gcagatctga gcoctgagact ggtagatgga gtoactgaat gttoaggaaag attagaagta 840
 aaattcoaaag gggantgggg gacagtgtgt gatgatggct gggatagtaa tgatgotgct 900
 gtggtatgta aacaaotggg atgocaaact gctgtcaocg ccattggctg agttaaogoc 960
 agtgagggaa gtggacacat ttggottgac aatotttctct gocaaggaga ogaatbtgct 1020
 ctctggcagt gtagacaoca tgaatgggga aagcattatt gcaatcaata tgaagatgct 1080
 ggtgtgacat gttotgatgg atcagacctg gagctgagac ttgtoggtgg aggcagocgc 1140
 tgtgctggga cagtggaggt tgaattcag aaatgctag ggaagtatg tgatagaggg 1200
 tggggactga aagaagccga tgtggtttgc aagcagttgg gatgtggatc tgctctbana 1260
 acgtcetate agogttatc caaagttaag gcaacaaaca catggctgtt tttangocgc 1320
 tgtagtggca atgaacttc ctttggggac tgcagaact ggcagtggg tggactgagc 1380
 tgtgatcact atgaagaagc taaagttacc tgcctagcc acagggaaoc cagactagtt 1440
 ggaggagata ttccctgctc tggctgtgtt gaagtgaac atggtgacac atggggcacc 1500
 gtctgtgatt ccgacttctc tttggaagct gccagtgtgc tgtgcagaga gttacagtgt 1560
 ggcacagtca tctccatcct agggggagct cactttggag aaggaaatgg acagatctgg 1620
 gctgaagaat tccagtgtga ggggcaggag tccatcttt caotctgttc agtagcctct 1680
 cggccagatg ggcctgtag ccacagcagg gatgttggag togtctgctc aagatacag 1740
 gaaatccgct tggtagatgg ccagtcccg tgtgaaggaa gagtggagct caagatactt 1800
 gggaaactggg gatccctctg caactctcac tgggacatag aagatgocca tgttttctgt 1860
 cagcagctca aatgtggagt tgccctttct attccggag gagcacattt tgggaaggga 1920
 agtggtcaga tctggaggca catgtttcac tgcactggga ctgagcagca catgggagat 1980
 tgccctgtaa ctgctctggg cggagaogctg tgttctgctg ggcagtggc ctctgtaatc 2040
 tgctcaggaa atcagagoca gaogctatcc ccattgaatt caacatctct ggacocaaac 2100
 agatctacca ctteggaaag aagtgtgtt gcttgattg cgagtgggca acttggcctg 2160
 gtaaatggag gggctgctg tgctgggaga atagaggtct accatgaggg ctctggggc 2220
 aacatctgtg atgacagctg ggaactgagt gatgcocatg tgggtgtgag aagctgggc 2280
 tgtggagtgg ccattaatgc cactggctct gctcattttg gggaaaggac agggccatc 2340
 tggctggagc aggtgaactg taatggaaag gaatctcata totggcaatg ccgtccacac 2400
 ggtgggggc aacacaactg cagacataag gaggatgcag gagtatatctg ctccaggttc 2460
 atgtctctca gactgattga tgaaccagc agagacatct gtgcaggggc tcttgaagtt 2520

272
271

ttttacaatg gagottgggg cagogttggc aagagtaata tgtotgoaac cactgtggag 2580
 gtggtatgca ggaactggg ttgtgcagac aaggggagca tcaacootgc atottcagac 2640
 aagoccatgt ccaggaacat gtgggtggac aatgtocagt gtocaaagg scotgacac 2700
 ttatggcagt gccatcttc tccatggaa cagagagtgg ccagttcttc agaggagacc 2760
 tggatcacat gtgcaacaa gataagactt caagaggaa cctctaatg ttctggagct 2820
 gtggagctct ggaacggagg ttctggggg acagtgtgag atgactcotg ggaoottgaa 2880
 gatgcacaag tgggtgtgag acagctgggc tgtgggocag cattagaagc actaaagag 2940
 gacgcatttg gtcaggggac tgggctata tgggtcaatg acgtgaagt caaagggat 3000
 gagtcttctt tgtgggattg tctgtctaga cctggggggc acagtgaatg tgggcacag 3060
 gaagatgctg ctgtgaggtg ctccagaatt gaattggoc aagatcctc aatctctaga 3120
 ggtcactcat ccottgttgc attggggatc ttgtgtgton ttctcttggc cttctctc 3180
 gctctctctt tgtggactca aaggggaaga cagcaacagc ggttacagt ttcttggaga 3240
 ggagagaatt ctgtccacca aattcaatc cgggaaatga attcttcoot gaagcagat 3300
 gatctggagc tgcctgacttc ctccagaatc cccatgagt cagatgattt taatgatgt 3360
 gggctaattt ctgtgtctaa atctcttctt atttctgga 3399

<210> 48
 <211> 1133
 <212> PRT
 <213> Canis familiaris

<400> 48

Met Ser Lys Leu Arg Met Val Pro His Gly Asn Ser Gly Ser Ala Asp
1 5 10 15

Phe Arg Arg Cys Phe Ala Leu Leu Cys Pro Ser Ala Val Ala Val Val
20 25 30

Ser Ile Leu Ser Thr Cys Leu Met Thr Asn Ser Leu Gly Arg Ala Asp
35 40 45

Lys Glu Met Arg Leu Thr Asp Gly Glu Asp Asn Cys Ser Gly Arg Val
50 55 60

Glu Val Lys Val Gln Glu Glu Trp Gly Thr Val Cys Asn Asn Gly Trp
65 70 75 80

Gly Met Asp Glu Val Ser Val Ile Cys Arg Gln Leu Gly Cys Pro Thr
85 90 95

273
272

Ala Ile Lys Ala Ala Gly Trp Ala Asn Ser Arg Ala Gly Ser Gly Arg
100 105 110

Ile Trp Met Asp His Val Ser Cys Arg Gly Asn Glu Ser Ala Leu Trp
115 120 125

Asp Cys Lys His Asp Gly Trp Gly Lys His Asn Cys Ser His Gln Gln
130 135 140

Asp Ala Gly Val Thr Cys Ser Asp Gly Ser Ser Leu Glu Met Arg Leu
145 150 155 160

Met Asn Gly Gly Asn Gln Cys Ser Gly Arg Ile Glu Val Lys Phe Gln
165 170 175

Gly Gln Trp Gly Thr Val Cys Asp Asp Asn Phe Asn Ile Asp His Ala
180 185 190

Ser Val Val Cys Lys Gln Leu Glu Cys Gly Ser Ala Val Ser Phe Ser
195 200 205

Gly Ser Ala Asn Phe Gly Glu Gly Ser Gly Pro Ile Trp Phe Asp Asp
210 215 220

Leu Val Cys Ser Gly Asn Glu Ser Ala Leu Trp Asn Cys Lys His Glu
225 230 235 240

Gly Trp Gly Lys His Asn Cys Asp His Ala Glu Asp Val Gly Val Ile
245 250 255

Cys Leu Asp Gly Ala Asp Leu Ser Leu Arg Leu Val Asp Gly Val Thr
260 265 270

Glu Cys Ser Gly Arg Leu Glu Val Lys Phe Gln Gly Glu Trp Gly Thr
275 280 285

Val Cys Asp Asp Gly Trp Asp Ser Asn Asp Ala Ala Val Val Cys Lys
290 295 300

Gln Leu Gly Cys Pro Thr Ala Val Thr Ala Ile Gly Arg Val Asn Ala
305 310 315 320

Ser Glu Gly Ser Gly His Ile Trp Leu Asp Asn Leu Ser Cys Gln Gly
325 330 335

27*
273

Asp Glu Ser Ala Leu Trp Gln Cys Arg His His Glu Trp Gly Lys His
340 345 350

Tyr Cys Asn His Asn Glu Asp Ala Gly Val Thr Cys Ser Asp Gly Ser
355 360 365

Asp Leu Glu Leu Arg Leu Val Gly Gly Gly Ser Arg Cys Ala Gly Thr
370 375 380

Val Gln Val Glu Ile Gln Lys Leu Leu Gly Lys Val Cys Asp Arg Gly
385 390 395 400

Trp Gly Leu Lys Glu Ala Asp Val Val Cys Lys Gln Leu Gly Cys Gly
405 410 415

Ser Ala Leu Lys Thr Ser Tyr Gln Arg Tyr Ser Lys Val Lys Ala Thr
420 425 430

Asn Thr Trp Leu Phe Leu Ser Arg Cys Ser Gly Asn Glu Thr Ser Leu
435 440 445

Trp Asp Cys Lys Asn Trp Gln Trp Gly Gly Leu Ser Cys Asp His Tyr
450 455 460

Glu Glu Ala Lys Val Thr Cys Ser Ala His Arg Glu Pro Arg Leu Val
465 470 475 480

Gly Gly Asp Ile Pro Cys Ser Gly Arg Val Glu Val Lys His Gly Asp
485 490 495

Thr Trp Gly Thr Val Cys Asp Ser Asp Phe Ser Leu Glu Ala Ala Ser
500 505 510

Val Leu Cys Arg Glu Leu Gln Cys Gly Thr Val Ile Ser Ile Leu Gly
515 520 525

Gly Ala His Phe Gly Glu Gly Asn Gly Gln Ile Trp Ala Glu Glu Phe
530 535 540

Gln Cys Glu Gly Gln Glu Ser His Leu Ser Leu Cys Ser Val Ala Ser
545 550 555 560

Arg Pro Asp Gly Thr Cys Ser His Ser Arg Asp Val Gly Val Val Cys
565 570 575

Ser Arg Tyr Thr Glu Ile Arg Leu Val Asn Gly Gln Ser Pro Cys Glu

274

580

585

590

Gly Arg Val Glu Leu Lys Ile Leu Gly Asn Trp Gly Ser Leu Cys Asn
595 600 605

Ser His Trp Asp Ile Glu Asp Ala His Val Phe Cys Gln Gln Leu Lys
610 615 620

Cys Gly Val Ala Leu Ser Ile Pro Gly Gly Ala His Phe Gly Lys Gly
625 630 635 640

Ser Gly Gln Ile Trp Arg His Met Phe His Cys Thr Gly Thr Glu Gln
645 650 655

His Met Gly Asp Cys Pro Val Thr Ala Leu Gly Ala Thr Leu Cys Ser
660 665 670

Ala Gly Gln Val Ala Ser Val Ile Cys Ser Gly Asn Gln Ser Gln Thr
675 680 685

Leu Ser Pro Cys Asn Ser Thr Ser Leu Asp Pro Thr Arg Ser Thr Thr
690 695 700

Ser Glu Glu Ser Ala Val Ala Cys Ile Ala Ser Gly Gln Leu Arg Leu
705 710 715 720

Val Asn Gly Gly Gly Arg Cys Ala Gly Arg Ile Glu Val Tyr His Glu
725 730 735

Gly Ser Trp Gly Thr Ile Cys Asp Asp Ser Trp Asp Leu Ser Asp Ala
740 745 750

His Val Val Cys Arg Gln Leu Gly Cys Gly Val Ala Ile Asn Ala Thr
755 760 765

Gly Ser Ala His Phe Gly Glu Gly Thr Gly Pro Ile Trp Leu Asp Glu
770 775 780

Val Asn Cys Asn Gly Lys Glu Ser His Ile Trp Gln Cys Arg Ser His
785 790 795 800

Gly Trp Gly Gln His Asn Cys Arg His Lys Glu Asp Ala Gly Val Ile
805 810 815

Cys Ser Glu Phe Met Ser Leu Arg Leu Ile Asp Glu Thr Ser Arg Asp
820 825 830

276
275

Ile Cys Ala Gly Arg Leu Glu Val Phe Tyr Asn Gly Ala Trp Gly Ser
838 840 845

Val Gly Lys Ser Asn Met Ser Ala Thr Thr Val Glu Val Val Cys Arg
850 855 860

Gln Leu Gly Cys Ala Asp Lys Gly Ser Ile Asn Pro Ala Ser Ser Asp
865 870 875 880

Lys Pro Met Ser Arg His Met Trp Val Asp Asn Val Gln Cys Pro Lys
885 890 895

Gly Pro Asp Thr Leu Trp Gln Cys Pro Ser Ser Pro Trp Lys Gln Arg
900 905 910

Val Ala Ser Ser Ser Glu Glu Thr Trp Ile Thr Cys Ala Asn Lys Ile
915 920 925

Arg Leu Gln Glu Gly Thr Ser Asn Cys Ser Gly Arg Val Glu Leu Trp
930 935 940

His Gly Gly Ser Trp Gly Thr Val Cys Asp Asp Ser Trp Asp Leu Glu
945 950 955 960

Asp Ala Gln Val Val Cys Arg Gln Leu Gly Cys Gly Pro Ala Leu Glu
965 970 975

Ala Leu Lys Glu Ala Ala Phe Gly Gln Gly Thr Gly Pro Ile Trp Leu
980 985 990

Asn Asp Val Lys Cys Lys Gly Asn Glu Ser Ser Leu Trp Asp Cys Pro
995 1000 1005

Ala Arg Pro Trp Gly His Ser Asp Cys Gly His Lys Glu Asp Ala
1010 1015 1020

Ala Val Arg Cys Ser Glu Ile Ala Met Ala Gln Arg Ser Ser Asn
1025 1030 1035

Pro Arg Gly His Ser Ser Leu Val Ala Leu Gly Ile Phe Gly Val
1040 1045 1050

Ile Leu Leu Ala Phe Leu Ile Ala Leu Leu Leu Trp Thr Gln Arg
1055 1060 1065

277
276

Arg Arg Gln Gln Gln Arg Leu Thr Val Ser Leu Arg Gly Glu Asn
1070 1075 1080

Ser Val His Gln Ile Gln Tyr Arg Glu Met Asn Ser Ser Leu Lys
1085 1090 1095

Ala Asp Asp Leu Asp Val Leu Thr Ser Ser Glu Tyr Pro Asn Glu
1100 1105 1110

Ser Asp Asp Phe Asn Asp Ala Gly Leu Ile Ser Val Ser Lys Ser
1115 1120 1125

Leu Pro Ile Ser Gly
1130

Factor de Permisividad Celular para Virus, y Usos del Mismo

CAMPO DEL INVENTO

El presente invento proporciona composiciones relacionadas con la generación de células huéspedes permisibles para el crecimiento viral para virus de la familia *asfarviridae* y *arterviridae*.

FUNDAMENTO DEL INVENTO

Asfarviridae

Asfarviridae es una familia de virus envueltos icosaédricos cuyo genoma consta de una única molécula de ADN lineal de doble hebra con longitud entre 150000 y 190000 nucleótidos aproximadamente. El nombre de la familia se deriva del Virus de la Fiebre Porcina Africana y virus relacionados. El Virus de la Fiebre Porcina Africana (ASFV *por su sigla en inglés*) es una especie tipo del género Asfivirus y es el único miembro de la familia. Recientemente, se ha presumido el polipéptido CD163 porcino mediante implicación como el receptor celular para el virus de la fiebre porcina africana (ASFV) (Sanchez- Torres, 2003)

Arterviridae

Los virus de la familia *Arterviridae* incluyen virus de arteritis equina (EAV), virus elevador de la lactato deshidrogenasa (LDV) y virus de la fiebre hemorrágica simiana (SHFV). El Arterivirus con la mayor importancia económica es el Virus de Síndrome Respiratorio y Reproductivo Porcino (PRRSV).

PRRSV

El síndrome respiratorio y reproductivo porcino (PRRS) es una de las enfermedades económicamente más importantes de los cerdos. El síndrome apareció casi simultáneamente en Norteamérica y en Europa occidental a finales de los años 1980s, y se ha diseminado para volverse endémico en las principales naciones productoras de cerdos de Europa, Asia, y las Américas. El agente etiológico de PRRS es un virus que se ha designado virus PRRS o PRRSV. Para PRRS Europeo y Norteamericano, la enfermedad se caracteriza por la falla reproductiva en cerdas y marranas (abortos tardíos, mortinato, y momificaciones), alta mortalidad entre cerdos en

278

278

criadero, y enfermedad respiratoria en cerdos de todas las edades. La enfermedad ha sido tema de recientes reseñas (Mengeling y Lager, 2000; Murtaugh, 2002; Nodelijk, 2002; Plagemann, 2003).

En los cerdos, la infección por PRRSV está limitada a un subgrupo de células del linaje monocitos/macrófagos. Las células macrófagas alveolares porcinas completamente diferenciadas (PAM) son las células objetivo primarias para duplicación viral (Duan, 1997a; Duan, 1997b). La immortalización de células PAM es técnicamente desafiante, y cuando es exitosa, ha resultado en líneas celulares que no son permisibles para crecimiento de virus PRRS (Weingartl, 2002). Los viriones PRRS son específicamente ligados por macrófagos e internados en hoyos recubiertos con clatrina mediante endocitosis. La liberación de las vesículas endocíticas requiere pH ácido (Nauwynck, 1999). La fijación inicial de viriones es mediada por interacción de la proteína de matriz viral con glicosaminoglicanos como el sulfato de heparina (Delputte, 2002). La internalización se puede facilitar por una glicoproteína de membrana de 210 o 220 kDa, como incubación de células PAM con anticuerpos monoclonales a esta infección de bloque de polipéptido con virus PRRS (Duan, 1998; Wissink, 2003). La glicoproteína de 210 kDa recientemente se ha identificado como sialoadhesina, un miembro de la familia siglec de lectinas tipo inmunoglobulina que fijan ácido siálico (Pensaert, 2003). La transfección de la línea celular PK- 15 (riñón porcino) no permisible con sialoadhesina porcina confirió la capacidad para internalizar partículas de PRRSV, pero hubo un bloque aparente en la fase de desvestimiento, a medida que los viriones entraron en las vesículas celulares pero no realizaron una desintegración de la nucleocápside y fusión vesícula membrana. Los genes virales no fueron expresados, y las células PK- 15 transfectadas no fueron hechas permisibles para el virus PRRS (Vanderheijden, 2003). Para nuestro conocimiento, la transfección con sialoadhesina no ha sido mostrada como suficiente para convertir cualquier línea celular no permisible PRRSV a un fenotipo PRRSV-permisivo.

Aparte de las células porcinas primarias del linaje monocito/macrófago, el otro tipo celular único conocido como permisivo para el crecimiento de PRRSV en cultivo celular es la línea celular de riñón de mono immortalizada MA- 104 (Chladek, 1998) y derivados tales como MARC- 145 (Kim, 1993) Y cl- 2621. No se sabe porque esta línea celular particular es permisible, sin embargo otras líneas celulares mamíferas no lo son. El virus PRRS se fija específicamente a un número de tipos celulares diferentes, pero no inicia infección (Kreutz, 1998; Therrien, 2000). En células MARC- 145, la internalización del virus mediante endocitosis y

desrevestimiento subsecuente en vesículas de pH bajo parece imitar eventos similares en células PAM (Kreutz y Ackermann, 1996). Sin embargo, un número de anticuerpos monoclonales que se fijan a sialoadhesina porcina fallan para detectar una proteína homóloga sobre la superficie de células MARC- 145 (Duan, 1998; Wissink, 2003), indicando que las células MARC- 145 pueden utilizar un miembro divergente de la misma familia de proteínas o un receptor diferente por completo.

Vacunas actuales de PRRSV son propagadas sobre líneas celulares simianas, la cual es una actividad potencialmente peligrosa. El uso de líneas celulares simias para producción de vacunas tiene el potencial de introducir virus de primates de significado en líneas porcinas diseñadas para propósitos de xinotransplantes. Puesto que los cerdos están siendo crecientemente explorados como una fuente de órganos xenotrasplantados para humanos, la introducción de líneas celulares primates en poblaciones de cerdos finalmente puede poseer un riesgo a humanos que reciben órganos xenotrasplantados. Por lo tanto, sería prudente evitar el uso de líneas celulares simias en preparaciones de vacunas para cerdos. Por lo tanto, sería deseable identificar o generar células o líneas celulares no simias capaces de soportar duplicación de PRRSV. Hacia esta meta, es esencial identificar el producto genético que puede ser responsable de conferir la permisividad para duplicación PRRSV como se observa en ciertas líneas celulares simias así como también células PAM. Una vez identificados tales productos genéticos, las células no permisibles pueden ser hechas permisibles mediante transfección del gen esencial hacia las mismas, proporcionando así un arreglo más amplio de líneas de producción para una vacuna.

Un laboratorio ha reportado que la proteína de tetraspanina CD151 de células MARC- 145, cuando es transfectada a células BHK- 21 no permisibles, confiere permisividad al virus PRRS (Kapil y Shanmukhappa, 2003; Shanmukhappa y Kapil, 2001). Esta observación aún se debe confirmar por un laboratorio independiente. Se describe en la presente un polipéptido no relacionado, el cual cuando se transfecta a células no permisibles, confiere permisividad al virus PRRS.

Referencias Citadas

Chladek, D. W., Harris, L. L., y Gorcyca, D.E. Método de crecimiento y atenuación de un agente viral asociado con enfermedad porcina misteriosa. Boehringer Ingelheim Animal Health, Inc., 677.585[US 5.840.563], 1- 24- 1998. USA. 7- 9- 1996.

287
280

Tipo de referencia: Patente

Dea, S., Gagnon, C.A., Mardassi, H., Pirzadeh, B, y Rogan, D. (2000). Conocimiento actual sobre las proteínas estructurales de virus de síndrome de reproductividad porcina y respiratorio (PRRS); comparación de los aislados norteamericanos y Europeos [Reseña]. Arch. Virol. 145, 659- 688.

Delputte, P.L., Venderheijden, N., Nauwynck, H.J., y Pensaert, M.B. (2002). Relación de la proteína de matriz en fijación del virus de síndrome reproductivo y respiratorio porcino a un receptor tipo heparina sobre macrófagos alveolares porcinos. J. Virol. 76, 4312- 4320.

Duan, X., Nauwynck, H. J., y Pensaert, M.B. (1997a). Efectos de origen y estado de diferenciación y activación de monocitos/macrófagos sobre su susceptibilidad al virus de síndrome reproductivo y respiratorio porcino (PRRSV). Arch. Virol. 142, 2483- 2497.

Duan, X., Nauwynck, H.J., y Pensaert, M.B. (1997b). Cuantificación e identificación de virus de blancos celulares en los pulmones y tejidos linfoides de cerdos en diferentes intervalos de tiempo después de inoculación con el virus del síndrome reproductivo y respiratorio porcino (PRRSV). Vet. Microbiol. 56, 9- 19.

Duan, X. B., Nauwynck, H.J., Favoreel, H. W., y Pensaert, M.B. (1998). Identificación de un receptor putativo para el virus del síndrome reproductivo y respiratorio porcino sobre macrófagos alveolares porcinos, J. Virol. 72, 4520- 4523.

Graversen, J.H., Madsen, M., Moestrup, S.K. (2002). DC163: un receptor de señal depurando (*scavenging*) complejos de haptoglobina- hemoglobina a partir del plasma. [Reseña] [19 refs]. Diario Internacional de Bioquímica & Biología Celular 34, 309- 314.

Gronlund J. Vitved L. Lausen M. Skjodt K. Holmskov U. Clonación de una molécula novedosa de transmembrana tipo I rica en cisteína, receptora y barredora de radicales libres (*scavenger*)

(M160) expresada mediante macrófagos humanos. *Diario de Inmunología* 165(11): 6406- 6415, 2000.

Kapil, S. y Shanmukhappa, K. Factor de susceptibilidad de huésped para virus del síndrome reproductivo y respiratorio porcino y usos en cría de cerdos, como un objetivo para compuestos antivirales, y desarrollo de una línea celular recombinante no simia para propagación del virus. ninguna. US 2003/0186236 A1, 1- 45. 10- 2- 2003, USA. 1- 28- 2002.

Tipo de Referencia: Patente.

Kim, H.S., Kwang, J., Yoon, I.J., Joo, H.S., y Frey, M.L. (1993). Duplicación aumentada de virus de síndrome reproductivo y respiratorio porcino (PRRS) en una subpoblación homogénea de la línea celular MA- 104. *Arch. Virol.* 133, 477- 483.

Kreutz, L.C. (1998). Los factores de membrana celular son los principales determinantes de tropismo de virus de síndrome reproductivo y respiratorio porcino. *Virus Res.* 53, 121- 128.

Kreutz, L. C. y Ackermann, M.R. (1996). El virus de síndrome reproductivo y respiratorio porcino entra células a través de una endocítica dependiente de pH bajo. *Virus Res.* 42, 137- 147.

Mengeling, W. L. y Lager, K.M. (2000). Una breve reseña de procedimientos y problemas potenciales asociados con la diagnosis de síndrome reproductivo y respiratorio porcino. *Investigación Veterinaria* 31, 61- 69.

Meulenberg, J.J.M. (2000). PRRSV, el virus. *Investigación Veterinaria* 31, 11- 21.

Murtaugh, M.P., Xiao, Z.G., y Zuckerman, F. (2002). Respuestas inmunológicas de cerdos a infección de virus de síndrome reproductivo y respiratorio porcino [Reseña]. *Inmunología Viral* 15, 533- 547.

Nauwynck, H.J., Duan, X., Favoreel, H.W., Van Oostveldt, P. y Pensaert, M.B. (1999). Entrada de virus de síndrome reproductivo y respiratorio porcino en macrófagos alveolares porcinos vía endocitosis mediada por receptores. *J. Gen. Virol.* 80, 297- 305.

Nodelijk, G. (2002). Síndrome Reproductivo y Respiratorio Porcino (PRRS) con referencia especial a aspectos clínicos y diagnosis - Una reseña [Reseña]. *Vet. Quart.* 24, 95- 100.

Pensaert, M., Nauwynck, H., y Vanderheijden, N. Polipéptido codificador de ácido nucleico involucrado en entrada celular del virus PRRS. Akzo Nobel N.V. y Universiteit Gent. WO 03/010200 A2, 1- 24. 2- 6- 2003. 7- 18- 2002.

Tipo de Referencia: Patente

Philippidis, P., Mason, J.C., Evans, B.J., Nadra, I., Taylor, K.M., Haskard, D.O., y Landis, R.C. (2004). Receptor *scavenger* de hemoglobina CD163 media liberación de interleucina- 10 y síntesis de heme oxigenasa- 1 - Respuestas antiinflamatorias de monocitos- macrófagos in vitro, para resolver ampollas de piel in vivo, y después de cirugía de desviación cardiopulmonar. *Investigación de circulación* 94, 119- 126.

Plagemmann, P.G.W. (2003). Virus de síndrome reproductivo y respiratorio porcino: Hipótesis de origen. *Enfermedades infecciosas emergentes*, 9, 903- 908.

RESUMEN DEL INVENTO

El invento incluye un método para facilitar infección de una o más células mediante un virus que es seleccionado del grupo que consta de arteriviridae y asfarviridae, el cual comprende el paso de dirigir expresión aumentada de un polipéptido CD163 dentro de dicha célula. En una realización preferida el CD163 está fijado a la membrana. En una realización el virus es seleccionado del grupo que consta de arteriviridae. En una realización preferida el virus es PRRSV. En otra realización dicho virus es virus de arteritis equina (EAV). En aún otra realización dicho virus es el Virus de la Fiebre de Porcina Africana (ASFV).

La expresión aumentada de un polipéptido CD163 se puede lograr mediante métodos tales como introducción de ácidos nucleicos exógenos que codifican polipéptidos CD163, tales

284
283

métodos incluyen pero no están limitados a transfección, electroporación y fusión con un vehículo de un polinucleótido comprendiendo un polinucleótido que codifica un polipéptido CD163. La expresión aumentada también se puede lograr mediante inducción de expresión de CD163 endógeno mediante tratamiento químico.

El método puede convertir previamente células permisibles no PRRSV en células PRRS permisibles. El método también puede incluir convertir una o más células que previamente no expresaron un polipéptido CD163 en células que son inducidas a expresar un polipéptido CD163.

Las células en una realización preferida son células animales. Estas pueden ser células vertebradas o invertebradas. Las células pueden ser mamíferas. Las células o línea celular puede ser una línea celular de insectos. Las células pueden ser células BHK21. Las células se pueden derivar a partir de células de riñón porcino. Las células o línea celular se pueden derivar a partir de células de riñón felino. Las células o línea celular pueden pero no están limitadas a BHK- 21, NLST- 1, NLFK- 1, células Vero o RL. El PRRSV puede ser el genotipo Europeo o Norteamericano.

Como se anotó anteriormente, la expresión aumentada de un polipéptido CD163 se puede lograr mediante métodos que incluyen pero no están limitados a: transfección, electroporación y fusión con un vehículo comprendiendo un polinucleótido que codifica un polipéptido CD163. Cualquier polipéptido CD163 es contemplado. Se prefieren aquellos que contienen una región de transmembrana. Polipéptidos CD163 de ejemplo son seleccionados del grupo que consta de los polipéptidos listados a continuación.

Uno de tales polinucleótidos comprende un polinucleótido que codifica un polipéptido con al menos 70%, 71%, 72%, 73%, 74%, 75%, 76%, 77%, 78%, 79%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% de identidad con la SEQ ID NO:2.

Uno de tales polinucleótidos comprende un polinucleótido que codifica un polipéptido que difiere de la SEQ ID NO:2 en no más de 20 sustituciones aminoácidas conservativas.

Uno de tales polinucleótidos comprende un polinucleótido que codifica un polipéptido que difiere de la SEQ ID NO:2 en no más de 10 sustituciones aminoácidas conservativas.

Uno de tales polinucleótidos comprende un polinucleótido que codifica con polipéptido comprendiendo SEQ ID NO:2.

285
284

Uno de tales polinucleótidos comprende un polinucleótido con la secuencia establecida en la SEQ ID NO:1.

Uno de tales polinucleótidos comprende un polinucleótido que codifica un polipéptido que tiene al menos 99% de identidad con un polipéptido divulgado en la SEQ ID NO: 14

Uno de tales polinucleótidos comprende un polinucleótido que codifica un polipéptido que difiere de SEQ ID NO:14 en no más de 15 sustituciones aminoácidas conservativas.

Uno de tales polinucleótidos comprende un polinucleótido que codifica un polipéptido que difiere de la SEQ ID NO: 14 en no más de 10 sustituciones aminoácidas conservativas.

Uno de tales polinucleótidos comprende un polinucleótido que codifica un polipéptido que comprende la SEQ ID NO: 14.

Uno de tales polinucleótidos comprende un polinucleótido con la secuencia divulgada en SEQ ID NO:13.

Uno de tales polinucleótidos comprende un polinucleótido que codifica un polipéptido que difiere de la SEQ ID NO: 24 en no más de 2 sustituciones aminoácidas conservativas.

Uno de tales polinucleótidos comprende un polinucleótido que codifica un polipéptido comprendiendo SEQ ID NO:24.

Uno de tales polinucleótidos comprende un polinucleótido con la secuencia divulgada en SEQ ID NO: 23.

Uno de tales polinucleótidos comprende un polinucleótido que codifica un polipéptido con al menos 96% 97% 98%, o 99% de identidad con un polipéptido divulgado en SEQ ID NO:27.

Uno de tales polinucleótidos comprende un polinucleótido que codifica un polipéptido que difiere de SEQ ID NO: 27 en no más de 20 sustituciones aminoácidas conservativas.

Uno de tales polinucleótidos comprende un polinucleótido que codifica un polipéptido que difiere de la SEQ ID NO: 27 en no más de 10 sustituciones aminoácidas conservativas.

Uno de tales polinucleótidos comprende un polinucleótido que codifica un polipéptido que comprende SEQ ID NO: 27.

Uno de tales polinucleótidos comprende un polinucleótido con la secuencia divulgada en SEQ ID NO:26.

Uno de tales polinucleótidos comprende un polinucleótido que codifica un polipéptido que tiene al menos 98%, 99% de identidad con un polipéptido divulgado en la SEQ ID NO: 32.

Uno de tales polinucleótidos comprende un polinucleótido que codifica un polipéptido que difiere de la SEQ ID NO: 32 en no más de 15 sustituciones aminoácidas conservativas.

Uno de tales polinucleótidos comprende un polinucleótido que codifica un polipéptido que difiere de la SEQ ID NO:32 en no mas de 10 sustituciones aminoácidas conservativas.

Uno de tales polinucleótidos comprende un polinucleótido que codifica un polipéptido que comprende la SEQ ID NO:32.

Uno de tales polinucleótidos comprende un polinucleótido con la secuencia divulgada en SEQ ID NO: 31.

Uno de tales polinucleótidos comprende un polinucleótido que codifica un polipéptido que tiene al menos 95%, 96%, 97%, 98%, 99% de identidad con un polipéptido divulgado en SEQ ID NO:34

Uno de tales polinucleótidos comprende un polinucleótido que codifica un polipéptido que difiere de la SEQ ID NO:34 en no mas de 15 sustituciones aminoácidas conservativas.

Uno de tales polinucleótidos comprende un polinucleótido que codifica un polipéptido que difiere de la SEQ ID NO:34 en no mas de 10 sustituciones aminoácidas conservativas.

Uno de tales polinucleótidos comprende un polinucleótido que codifica un polipéptido que comprende la SEQ ID NO: 34.

Uno de tales polinucleótidos comprende un polinucleótido con la secuencia divulgada en SEQ ID NO: 33.

Uno de tales polinucleótidos comprende un polinucleótido que codifica un polipéptido que tiene al menos 95%, 96%, 97%, 98%, 99% de identidad con un polipéptido divulgado en la SEQ ID NO: 36

Uno de tales polinucleótidos comprende un polinucleótido que codifica un polipéptido que difiere de la SEQ ID NO: 36 en no más de 15 sustituciones aminoácidas conservativas.

Uno de tales polinucleótidos comprende un polinucleótido y codifica un polipéptido que difiere de la SEQ ID NO: 36 en no más de 10 sustituciones aminoácidas conservativas.

Uno de tales polinucleótidos comprende un polinucleótido que codifica un polipéptido que comprende la SEQ ID NO: 36.

Uno de tales polinucleótidos comprende un polinucleótido con la secuencia divulgada en la SEQ ID NO:35.

287
286

Uno de tales polinucleótidos comprende un polinucleótido que codifica un polipéptido que tiene al menos 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% de identidad con un polipéptido divulgado en la SEQ ID NO: 42.

Uno de tales polinucleótidos comprende un polinucleótido que codifica un polipéptido que difiere de la SEQ ID NO: 42 en no más de 15 sustituciones aminoácidas conservativas.

Uno de tales polinucleótidos comprende un polinucleótido que codifica un polipéptido que difiere de la SEQ ID NO: 42 en no más de 10 sustituciones aminoácidas conservativas

Uno de tales polinucleótidos comprende un polinucleótido que codifica un polipéptido que comprende la SEQ ID NO: 42.

Uno de tales polinucleótidos comprende un polinucleótido con la secuencia divulgada en SEQ ID NO: 41.

Uno de tales polinucleótidos comprende un polinucleótido que codifica un polipéptido que tiene al menos 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% de identidad con un polipéptido divulgado en SEQ ID NO:44.

Uno de tales polinucleótidos comprende un polinucleótido que codifica un polipéptido que difiere de SEQ ID NO: 44 en no más de 15 sustituciones aminoácidas conservativas.

Uno de tales polinucleótidos comprende un polinucleótido que codifica un polipéptido que difiere de la SEQ ID NO: 44 en no más de 10 sustituciones aminoácidas conservativas.

Uno de tales polinucleótidos comprende un polinucleótido que codifica un polipéptido que comprende la SEQ ID NO: 44.

Uno de tales polinucleótidos comprende un polinucleótido con la secuencia divulgada en la SEQ ID NO: 43.

Uno de tales polinucleótidos comprende un polinucleótido que codifica un polipéptido que tiene al menos 95%, 96%, 97%, 98%, 99% de identidad con un polipéptido divulgado en SEQ ID NO: 46.

Uno de tales polinucleótidos comprende un polinucleótido que codifica un polipéptido que difiere de la SEQ ID NO: 46 en no más de 15 sustituciones aminoácidas conservativas.

Uno de tales polinucleótidos comprende un polinucleótido que codifica un polipéptido que difiere de la SEQ ID NO: 46 en no más de 10 sustituciones aminoácidas conservativas.

Uno de tales polinucleótidos comprende un polinucleótido que codifica un polipéptido que comprende la SEQ ID NO: 46.

288
287

Uno de tales polinucleótidos comprende un polinucleótido con la secuencia divulgada en SEQ ID NO:45.

Uno de tales polinucleótidos comprende un polinucleótido que codifica un polipéptido que tiene al menos 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% de identidad con un polipéptido divulgado en SEQ ID NO: 48.

Uno de tales polinucleótidos comprende un polinucleótido que codifica un polipéptido que difiere de la SEQ ID NO: 48 en no más de 15 sustituciones aminoácidas conservativas.

Uno de tales polinucleótidos comprende un polinucleótido que codifica un polipéptido que difiere de la SEQ ID NO: 48 en no más de 10 sustituciones aminoácidas conservativas.

Uno de tales polinucleótidos comprende un polinucleótido que codifica un polipéptido que comprende la SEQ ID NO: 48.

Uno de tales polinucleótidos comprende un polinucleótido con la secuencia divulgada en SEQ ID NO: 47.

El método para facilitar infección descrito anteriormente puede además comprender el paso de producir un cultivo de virus.

El invento además comprende el cultivo aislado por el método descrito anteriormente.

Cualquiera de los métodos descritos anteriormente puede además comprender el paso de producir un PRRS u otra vacuna viral. La vacuna puede estar muerta (inactivada) o estar atenuada viva.

El invento también comprende una célula o línea celular en donde la capacidad de una o más células para ser infectadas por un virus seleccionado del grupo que consta de arteriviridae y asfarviridae ha sido modificada al dirigir la expresión aumentada de un polipéptido CD163 dentro de dichas células.

En una realización preferida el polipéptido CD163 comprende una región de transmembrana. En una realización el virus es seleccionado del grupo que consta de *arteriviridae*. En una realización preferida el virus es PRRSV. En otra realización dicho virus es virus de arteritis equina (EAV). En aún otra realización dicho virus es el virus de la Fiebre Porcina Africana (ASFV).

La célula o línea celular del invento puede haber sido previamente PRRSV no permisible y es convertida en PRRSV permisible al dirigir la expresión aumentada de un polipéptido CD163 dentro de dicha célula o línea celular.

289
288
La célula o línea celular del invento incluye células con líneas celulares que no expresaron un polipéptido CD163 y es inducida para expresar un polipéptido CD 163.

La células en una realización preferida son células animales. Estas pueden ser células vertebradas o invertebradas. Las células pueden ser mamíferas. La célula o línea celular puede ser una célula o línea celular de insectos. Las células pueden ser células BHK21. Las células se pueden derivar a partir de células de riñón porcino. La célula o línea celular se pueden derivar a partir de células de riñón felino. Las células pueden ser, pero no están limitadas a BHK- 21, NLST- 1, NLFK- 1, Vero o células RL. El PRRSV puede ser Norteamericano o Europeo.

El invento incluye un método para medir la predisposición de una célula o línea celular para permitir infección mediante un virus seleccionado del grupo que consta de arteriviridae y asfarviridae comprendiendo:

a) proporcionar una muestra que contiene ácidos nucleicos a partir de la célula o línea celular de prueba; b) determinar la cantidad de polinucleótido que codifica un polipéptido CD163 o su complemento en dicha muestra;

en donde una cantidad aumentada de polinucleótido que codifica un polipéptido CD163 relativa a una muestra de control derivada de una célula o línea celular de control conocida no soporta el crecimiento del dicho virus indica una predisposición de la célula o línea celular de prueba para soportar la duplicación de dicho virus.

En una realización, el virus es seleccionado del grupo que consta de *arteriviridae*. En una realización preferida el virus es PRRSV. En otra realización dicho virus es el virus de arteritis equina (EAV). En aún otra realización dicho virus es el virus de la Fiebre Porcina Africana (ASFV).

La cantidad de polinucleótido codifica un polipéptido cd CD163 se puede determinar mediante hibridización.

La cantidad de polinucleótido que codifica un polipéptido CD163 se puede determinar mediante PCR.

El invento también incluye un método para medir la predisposición de una célula o línea celular de prueba para permitir infección mediante un virus seleccionado del grupo que consta de *arteriviridae* y *asfarviridae*.comprendiendo:

(a) proporcionar una muestra que contiene polipéptidos de la célula o línea celular de prueba; (b) determinar la cantidad de polipéptido CD163 en dicha muestra; en donde una cantidad aumentada

de un polipéptido CD163 relativa a una muestra de control derivada de una célula o línea celular de control conocida no para soportar el crecimiento de dicho virus indica una predisposición de la célula o línea celular de prueba para soportar la duplicación de dicho virus.

En una realización el virus es seleccionado del grupo que consta de *Arteriviridae*. En una realización preferida el virus es PRRSV. En otra realización dicho virus es el virus de arteritis equina (EAV). En aún otra realización dicho virus es el virus de la Fiebre Porcina Africana (ASFV).

En una realización la determinación se logra al poner en contacto un polipéptido CD163 con un anticuerpo específico para el polipéptido CD163, bajo condiciones en donde el anticuerpo fija el polipéptido CD163.

El invento incluye un método para medir la predisposición de un cerdo a ser infectado por un virus seleccionado del grupo que consta de *arteriviridae* y *asfarviridae* comprendiendo:

a) proporcionar una muestra que contiene ácidos nucleicos del cerdo a ser probado; b) determinar la cantidad de polinucleótido que codifica un polipéptido CD163 o su complemento en dicha muestra;

en donde una cantidad aumentada de polinucleótido que codifica un polipéptido CD163 relativa a una muestra de control derivada a partir de un cerdo conocido como resistente a dicha infección viral indica una predisposición del cerdo evaluado a ser infectado por dicho virus.

En una realización el virus es seleccionado del grupo que consta que *Arteriviridae*. En una realización preferida el virus es PRRSV. En otra realización dicho virus es el virus de arteritis equina (EAV). En aún otra realización dicho virus es el virus de arteritis equina (EAV). En aún otra realización dicho virus es el virus de la Fiebre Porcina Africana (ASFV).

En una realización la determinación se logra mediante hibridización. En otra realización la determinación se logra mediante PCR.

El invento también incluye un método para medir la predisposición de un cerdo a ser infectado por un virus seleccionado del grupo que consta de *arteriviridae* y *asfarviridae* comprendiendo:

(a) proporcionar una muestra que contiene polipéptidos del cerdo a ser probado; (b) determinar la cantidad de polipéptido CD163 en dicha muestra;

297

290

en donde una cantidad creciente de un polipéptido CD163 relativa a una muestra de control derivada de un cerdo conocido como resistente a dicha infección viral indica un predisposición del cerdo a ser probado para ser infectado por dicho virus.

En una realización el virus es seleccionado del grupo que consta de *Arteriviridae*. En una realización preferida el virus es PRRSV. En otra realización dicho virus es el virus de arteritis equina (EAV). En aún otra realización dicho virus es el virus de la fiebre porcina africana (ASFV).

En una realización la determinación se logra al poner en contacto un polipéptido CD163 con un anticuerpo específico para el polipéptido CD163, bajo condiciones en donde el anticuerpo fija el polipéptido CD163.

El invento también incluye un polipéptido aislado en donde el polipéptido es seleccionado del grupo que consta de los polipéptidos descritos a continuación.

Por lo tanto el invento también incluye un polipéptido aislado que tiene al menos 70%, 71%, 72%, 73%, 74%, 75%, 76%, 77%, 78%, 79%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% de identidad con la SEQ ID NO:2.

Uno de tales polipéptidos es un polipéptido que difiere de la SEQ ID NO: 2 en no más de 20 sustituciones aminoácidas conservativas.

Uno de tales polipéptidos es un polipéptido que difiere de la SEQ ID NO: 2 en no más de 10 sustituciones aminoácidas conservativas.

Uno de tales polipéptidos comprende la SEQ ID NO: 2.

Por lo tanto el invento también incluye un polipéptido aislado que tiene al menos 99% de identidad con un polipéptido divulgado en la SEQ ID NO: 14.

Uno de tales polipéptidos es un polipéptido que difiere de la SEQ ID NO: 14 en no más de 15 sustituciones aminoácidas conservativas.

Uno de tales polipéptidos es un polipéptido que difiere de la SEQ ID NO: 14 en no más de 10 sustituciones aminoácidas conservativas.

Uno de tales polipéptidos comprende la SEQ ID NO: 14.

Por lo tanto el invento también incluye un polipéptido aislado que difiere de la SEQ ID NO: 24 en no más de 2 sustituciones aminoácidas conservativas.

Tal polinucleótido comprende la SEQ ID NO:24.

292
291

Por lo tanto el invento también incluye un polipéptido aislado que tiene al menos 96%, 97%, 98%, o 99% de identidad con un polipéptido que tiene al menos 96%, 97%, 98%, o 99% de identidad con un polipéptido divulgado en SEQ ID NO: 27.

Tal polipéptido es un polipéptido que difiere de la SEQ ID NO:27 en no más de 27 sustituciones aminoácidas conservativas.

Tal polipéptido es un polipéptido que difiere de la SEQ ID NO:27 en no más de 10 sustituciones aminoácidas conservativas.

Tal polipéptido es un polipéptido que comprende la SEQ ID NO:27.

Por lo tanto el invento también incluye un polipéptido aislado que tiene al menos 98%, 99% de identidad con un polipéptido divulgado en SEQ ID NO: 32.

Tal polipéptido es un polipéptido que difiere de SEQ ID NO: 32 en no mas de 15 sustituciones aminoácidas conservativas.

Tal polipéptido es un polipéptido que difiere de la SEQ ID NO:32 en no más de 10 sustituciones aminoácidas conservativas.

Uno de tales polipéptidos es un polipéptido que comprende la SEQ ID NO: 32.

Por lo tanto el invento también incluye un polipéptido aislado que tiene al menos 95%, 96%, 97%,98%, 99% de identidad con un polipéptido divulgado en SEQ ID NO: 34.

Tal polipéptido es un polipéptido que difiere de la SEQ ID NO:34 en no más de 15 sustituciones aminoácidas conservativas.

Tal polipéptido es un polipéptido que difiere de la SEQ ID NO:34 en no más de 10 sustituciones aminoácidas conservativas.

Tal polipéptido un es polipéptido que comprende SEQ ID NO: 34.

Por lo tanto el invento también incluye un polipéptido aislado que tiene al menos 95%, 96%, 97%,98%, 99% de identidad con un polipéptido divulgado en SEQ ID NO: 36.

Tal polipéptido es un polipéptido que difiere de la SEQ ID NO:36 en no más de 15 sustituciones aminoácidas conservativas.

Tal polipéptido es un polipéptido que difiere de la SEQ ID NO:36 en no más de 10 sustituciones aminoácidas conservativas.

Tal polipéptido un es polipéptido que comprende SEQ ID NO: 36.

El invento también incluye un polipéptido aislado que tiene al menos 95%, 96%, 97%,98%, 99% de identidad con un polipéptido divulgado en SEQ ID NO: 38.

292

Tal polipéptido es un polipéptido que difiere de la SEQ ID NO:38 en no más de 15 sustituciones aminoácidas conservativas.

Tal polipéptido es un polipéptido que difiere de la SEQ ID NO:38 en no más de 10 sustituciones aminoácidas conservativas.

Tal polipéptido un es polipéptido que comprende SEQ ID NO: 40.

Por lo tanto el invento también incluye un polipéptido aislado que tiene al menos 95%, 96%, 97%,98%, 99% de identidad con un polipéptido divulgado en SEQ ID NO: 40.

Tal polipéptido es un polipéptido que difiere de la SEQ ID NO:40 en no más de 15 sustituciones aminoácidas conservativas.

Tal polipéptido es un polipéptido que difiere de la SEQ ID NO:40 en no más de 10 sustituciones aminoácidas conservativas.

Tal polipéptido un es polipéptido que comprende SEQ ID NO: 40.

Por lo tanto el invento también incluye un polipéptido aislado que tiene al menos 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%,98%, 99% de identidad con un polipéptido divulgado en SEQ ID NO: 42.

Tal polipéptido es un polipéptido que difiere de la SEQ ID NO:42 en no más de 15 sustituciones aminoácidas conservativas.

Tal polipéptido es un polipéptido que difiere de la SEQ ID NO:42 en no más de 10 sustituciones aminoácidas conservativas.

Tal polipéptido un es polipéptido que comprende SEQ ID NO: 42.

Por lo tanto el invento también incluye un polipéptido aislado que tiene al menos 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%,98%, 99% de identidad con un polipéptido divulgado en SEQ ID NO: 44.

Tal polipéptido es un polipéptido que difiere de la SEQ ID NO:44 en no más de 15 sustituciones aminoácidas conservativas.

Tal polipéptido es un polipéptido que difiere de la SEQ ID NO:44 en no más de 10 sustituciones aminoácidas conservativas.

Tal polipéptido un es polipéptido que comprende SEQ ID NO: 44.

Por lo tanto el invento también incluye un polipéptido aislado que tiene al menos 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%,98%, 99% de identidad con un polipéptido divulgado en SEQ ID NO: 46.

291

293

Tal polipéptido es un polipéptido que difiere de la SEQ ID NO:46 en no más de 15 sustituciones aminoácidas conservativas.

Tal polipéptido es un polipéptido que difiere de la SEQ ID NO:46 en no más de 10 sustituciones aminoácidas conservativas.

Tal polipéptido un es polipéptido que comprende la SEQ ID NO: 46.

Por lo tanto el invento también incluye un polipéptido aislado que tiene al menos 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% de identidad con un polipéptido divulgado en SEQ ID NO: 48.

Tal polipéptido es un polipéptido que difiere de la SEQ ID NO:48 en no más de 15 sustituciones aminoácidas conservativas.

Tal polipéptido es un polipéptido que difiere de la SEQ ID NO:48 en no más de 10 sustituciones aminoácidas conservativas.

Tal polipéptido un es polipéptido que comprende SEQ ID NO: 48.

El invento también incluye un polinucleótido CD163 aislado en donde dicho polinucleótido es seleccionado del grupo que consta de los polinucleótidos enumerados a continuación.

Por lo tanto el invento también incluye un polinucleótido aislado que comprende:

- (a) un secuencia polinucleotida divulgada en SEQ ID NOs: 1 o 5
- (b) un polinucleótido que codifica un polipéptido que tiene al menos 70%, 71%, 72%, 73%, 74%, 75%, 76%, 77%, 78%, 79%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% de identidad y o similitud con un polipéptido divulgado en SEQ ID NO:2.
- (c) un polinucleótido que codifica un polipéptido de la SEQ ID:2,
- (d) un polinucleótido el cual es el complemento de cualquiera entre (a), (b) o (c).

Por lo tanto el invento también incluye un polinucleótido aislado que comprende:

- (a) una secuencia polinucleótido divulgada en SEQ ID NOs: 12 y 13
- (b) un polinucleótido que codifica un polipéptido que tiene al menos 99% de identidad o similitud con un polipéptido divulgado en SEQ ID NO: 14.
- (c) un polinucleótido que codifica un polipéptido de la SEQ ID: 14,
- (d) un polinucleótido el cual es el complemento de cualquiera entre (a), (b) o (c).

Por lo tanto el invento también incluye un polinucleótido aislado que comprende:

295

294

- (a) una secuencia polinucleotida divulgada en SEQ ID NOs: 22 y 23
- (b) un polinucleótido que codifica un polipéptido de SEQ ID:24,
- (c) un polinucleótido el cual es el complemento de cualquiera entre (a) o (b).

Por lo tanto el invento también incluye un polinucleótido aislado que comprende:

- (a) una secuencia polinucleotida divulgada en SEQ ID NOs: 25 y 26
- (b) un polinucleótido que codifica un polipéptido que tiene al menos 96%, 97%, 98% o 99% de identidad o similitud con un polipéptido divulgado en SEQ ID NO: 27,
- (c) un polinucleótido que codifica un polipéptido de la SEQ ID: 27,
- (d) un polinucleótido el cual es el complemento de cualquiera entre (a), (b) o (c).

Por lo tanto el invento también incluye un polinucleótido aislado que comprende:

- (a) una secuencia polinucleotida divulgada en SEQ ID NOs: 30 o 31
- (b) un polinucleótido que codifica un polipéptido que tiene al menos 98% o 99% de identidad o similitud con un polipéptido divulgado en SEQ ID NO: 32.
- (c) un polinucleótido que codifica un polipéptido de la SEQ ID: 32,
- (d) un polinucleótido el cual es el complemento de cualquiera entre (a), (b) o (c).

Por lo tanto el invento también incluye un polinucleótido aislado que comprende:

- (a) una secuencia polinucleótido divulgada en SEQ ID NOs: 33
- (b) un polinucleótido que codifica un polipéptido que tiene al menos 95% 96%, 97% 98% o 99% de identidad o similitud con un polipéptido divulgado en SEQ ID NO: 34.
- (c) un polinucleótido que codifica un polipéptido de la SEQ ID: 34,
- (d) un polinucleótido el cual es el complemento de cualquiera entre (a), (b) o (c).

Por lo tanto el invento también incluye un polinucleótido aislado que comprende:

- (a) una secuencia polinucleotida divulgada en SEQ ID NOs: 35.
- (b) un polinucleótido que codifica un polipéptido que tiene al menos 95% 96%, 97%, 98% 99% de identidad o similitud con un polipéptido divulgado en SEQ ID NO: 36.
- (c) un polinucleótido que codifica un polipéptido de la SEQ ID: 36,
- (d) un polinucleótido el cual es el complemento de cualquiera entre (a), (b) o (c).

Por lo tanto el invento también incluye un polinucleótido aislado que comprende:

- (a) una secuencia polinucleotida divulgada en SEQ ID NOs: 37
- (b) un polinucleótido que codifica un polipéptido que tiene al menos 95%, 96%, 97%, 98% 99% de identidad o similitud con un polipéptido divulgado en SEQ ID NO: 38.

296

295

- (c) un polinucleótido que codifica un polipéptido de la SEQ ID: 38,
- (d) un polinucleótido el cual es el complemento de cualquiera entre (a), (b) o (c).

Por lo tanto el invento también incluye un polinucleótido aislado que comprende:

- (a) una secuencia polinucleotida divulgada en SEQ ID NOs: 39
- (b) un polinucleótido que codifica un polipéptido que tiene al menos 95%, 96%, 97%, 98% o 99% de identidad o similitud con un polipéptido divulgado en SEQ ID NO: 40.
- (c) un polinucleótido que codifica un polipéptido de la SEQ ID: 40,
- (d) un polinucleótido el cual es el complemento de cualquiera entre (a), (b) o (c).

Por lo tanto el invento también incluye un polinucleótido aislado que comprende:

- (a) una secuencia polinucleotida divulgada en SEQ ID NOs: 41
- (b) un polinucleótido que codifica un polipéptido que tiene al menos 95%, 96%, 97%, 98% o 99% de identidad o similitud con un polipéptido divulgado en SEQ ID NO: 42,
- (c) un polinucleótido que codifica un polipéptido de la SEQ ID: 42,
- (d) un polinucleótido el cual es el complemento de cualquiera entre (a), (b) o (c).

Por lo tanto el invento también incluye un polinucleótido aislado que comprende:

- (a) una secuencia polinucleotida divulgada en SEQ ID NOs: 43
- (b) un polinucleótido que codifica un polipéptido que tiene al menos 95%, 96%, 97%, 98% o 99% de identidad o similitud con un polipéptido divulgado en SEQ ID NO: 44,
- (c) un polinucleótido que codifica un polipéptido de la SEQ ID: 44,
- (d) un polinucleótido el cual es el complemento de cualquiera entre (a), (b) o (c).

Por lo tanto el invento también incluye un polinucleótido aislado que comprende:

- (a) una secuencia polinucleotida divulgada en SEQ ID NOs: 45
- (b) un polinucleótido que codifica un polipéptido que tiene al menos 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% o 99% de identidad o similitud con un polipéptido divulgado en SEQ ID NO: 46,
- (c) un polinucleótido que codifica un polipéptido de la SEQ ID: 46,
- (d) un polinucleótido el cual es el complemento de cualquiera entre (a), (b) o (c).

El invento también incluye un polinucleótido aislado que comprende:

- (a) una secuencia polinucleotida divulgada en SEQ ID NOs: 47

297
296
(b) un polinucleótido que codifica un polipéptido que tiene al menos 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% o 99% de identidad o similitud con un polipéptido divulgado en SEQ ID NO: 48,

(c) un polinucleótido que codifica un polipéptido de la SEQ ID: 49,

(d) un polinucleótido el cual es el complemento de cualquiera entre (a), (b) o (c).

Por lo tanto el invento también incluye un polipéptido de CD163 en el cual la región de transmembrana es suprimida.

Por lo tanto el invento también incluye un polinucleótido que codifica un polipéptido CD163 en el cual la región de transmembrana es suprimida.

Además de lo anterior, el invento incluye, como un aspecto adicional, todas las realizaciones del invento mas ajustadas en alcance en cualquier forma que las variaciones específicamente mencionadas anteriormente.

Breve Descripción de los Listados de Secuencias

SEQ ID NO:1- Secuencia de ADNc que codifica susCD163v1 porcino

SEQ ID NO:2- Secuencia pronosticada de aminoácidos de susCD163v1 porcino

SEQ ID NO:3- Secuencia de ADNc, número de acceso Genbank AJ311716

SEQ ID NO:4- Secuencia pronosticada de aminoácidos derivada del numero de acceso Genbank AJ211716

SEQ ID NO: 5- Secuencia de ADNc de susCD163v1 que contiene secuencia flanqueadora (no codificadora).

SEQ ID NO: 6- 11- secuencias cebadoras

SEQ ID NO:12- Secuencia de ADNc que codifica susCD163v2 porcino que contiene secuencia flanqueadora (no codificadora).

SEQ ID NO: 13- Secuencia de ADNc que codifica susCD163v2 porcino

SEQ ID NO: 14 - Secuencia pronosticada de aminoácidos de susCD163v2 porcino

SEQ ID NO: 15- 16- secuencias cebadoras

SEQ ID NO: 17- Secuencia de ADNc que codifica CD163v2 humano que contiene la secuencia flanqueadora (no codificadora).

SEQ ID NO: 18- Secuencia de ADNc que codifica CD163v2 humano

298
297

- SEQ ID NO: 19 - Secuencia pronosticada de aminoácidos de CD163v2 humano**
- SEQ ID NO: 20 - 21 - Secuencias cebadoras**
- SEQ ID NO: 22 - Secuencia de ADNc que codifica CD163v2 murino que contiene la secuencia flanqueadora (no codificadora).**
- SEQ ID NO: 23- Secuencia de ADNc que codifica CD163v2 murino**
- SEQ ID NO: 24- Secuencia pronosticada de aminoácidos de CD163v2 murino**
- SEQ ID NO: 25- Secuencia de ADNc que codifica CD163v3 murino que contiene la secuencia flanqueadora (no codificadora).**
- SEQ ID NO: 26- Secuencia de ADNc que codifica CD163v3 murino**
- SEQ ID NO: 27- Secuencia pronosticada de aminoácidos de CD163v3 murino**
- SEQ ID NO: 28- 29 - Secuencias cebadoras**
- SEQ ID NO: 30 - Secuencia de ADNc que codifica CD163v3 MARC- 145 que contiene secuencia flanqueadora (no codificadora).**
- SEQ ID NO: 31- Secuencia de ADNc que codifica CD163v3 MARC- 145**
- SEQ ID NO: 32- Secuencia pronosticada de aminoácidos de CD163v3 de MARC- 145**
- SEQ ID NO: 33- Secuencia de ADNc que codifica el transcripto CD163v2 de célula Vero**
- SEQ ID NO: 34- Secuencia pronosticada de aminoácidos de CD163v2 de célula Vero**
- SEQ ID NO: 35- Secuencia de ADNc que codifica el transcripto de CD163v3 de célula Vero**
- SEQ ID NO: 36- Secuencia pronosticada de aminoácidos de CD163v3 de células Vero**
- SEQ ID NO: 37- Secuencia de ADNc que codifica el transcripto de CD163v4 de célula Vero**
- SEQ ID NO: 38- Secuencia pronosticada de aminoácidos de CD163v4 de célula Vero**
- SEQ ID NO: 39- Secuencia de ADNc que codifica el transcripto de CD163v5 de célula Vero**
- SEQ ID NO: 40- Secuencia pronosticada de aminoácidos de CD163v5 de célula Vero**
- SEQ ID NO: 41- Secuencia de ADNc que codifica el transcripto de CD163v6 de célula Vero**
- SEQ ID NO: 42- Secuencia pronosticada de aminoácidos de CD163v6 de célula Vero**
- SEQ ID NO: 43- Secuencia de ADNc que codifica el transcripto de CD163v7 de célula Vero**
- SEQ ID NO: 44- Secuencia pronosticada de aminoácidos de CD163v7 de célula Vero**
- SEQ ID NO: 45- Secuencia de ADNc que codifica el transcripto CD163v2 canino.**
- SEQ ID NO: 46- Secuencia pronosticada de aminoácidos de CD163v2 canino**
- SEQ ID NO: 47- Secuencia de ADNc que codifica el transcripto de CD163v3 canino.**
- SEQ ID NO: 48- Secuencia pronosticada aminoácida de CD163v3 canino**

Breve Descripción de las Ilustraciones

Figura 1 Comparación esquemática de susCD163v1 con AJ311716

Figura 2 Alineación de Secuencia de aminoácidos de susCD163v1 (SEQ ID NO: 2) con AJ311716 (SEQ NO: 4)

Figura 3 Alineación de secuencias nucleótidas de susCD163v1 con AJ311716

Figura 4 Generación de fragmentos de ADN y ligación para colocar CD163 directamente detrás del promotor RSV. Los plásmidos fueron digeridos con *DraIII* o *DrdI*, seguido por una reacción de despuntamiento (*blunting*) con la enzima Klenow. Después de limpiar, los plásmidos fueron digeridos con *NotI*. La purificación en gel proporcionó fragmentos de ADN que fueron subsecuentemente ligados utilizando los términos *NotI* cohesivos. Los promotores de RSV (pRSV) y SV40 (pSV40) se indican con flechas.

Figura 5 Mapa de Vector de Clonación de pADNc3.1Direccional V5/His/TOPO

Figura 6 Tres líneas celulares BHK/CMV/v1, #3, #5, y #12 y una línea celular BHK no permisible fueron infectadas con el aislado de PRRSV P129 y teñidas con SDOW17- FITC. El panel A muestra un clon celular BHK21 no permisivo. El panel B muestra el clon BHK/CMV/v1 #3. El panel C muestra el clon BHK/CMV/v1 #5. El panel D muestra el clon BHK/CMV/v1 #12.

Figura 7 Tres líneas celulares BHK/RSV/v1, #2, #3, y #4 fueron infectadas con el aislado de PRRSV P129 y teñidas con SDOW17- FITC. El panel A muestra el clon BHK/RSV/v1 #2. El panel B muestra el clon BHK/RSV/v1 #3. El panel C muestra el clon BHK/RSV/v1 #4.

Figura 8 Las líneas celulares de riñón felino establemente expresan CD163v1 porcino, mostrando placas PRRSV. Las líneas celulares NLFK- CMV- susCD163v1- G4F y NLFK- CMV- susCD163v1- G4L, ambas en el pasaje 4, fueron infectadas con el aislado P129 de PRRSV norteamericano e incubadas durante 6 días. Las monocapas se fijaron con acetona al 80% y se tiñeron con anticuerpo monoclonal SDOW17- FITC. La microscopía por contraste de fases (derecha) muestra regiones localizadas de CPE viral (placas), mientras la detección FA (izquierda) muestra antígeno de nucleocápside viral co- localizado.

Figura 9 Cuatro líneas celulares FK/RSV/v1, #1, #2, #3, y #4 fueron infectadas con aislado PRRSV P129 y teñidas con anticuerpo monoclonal SDOW17- FITC. El panel A muestra el clon celular FK/RSV/v1 #1. El panel B muestra el clon FK/RSV/v1 #2. El panel C muestra el clon FK/RSV/v1 #3. El panel D muestra FK/RSV/v1 #4.

299
299

Figura 10 Células PK- CMV- susCD163v1- A10 en el pasaje 19, infectadas con el aislado PRRSV P129. Izquierda: La monocapa se fijó con acetona al 80% y se tiñó con anticuerpo monoclonal FITC- conjugado SDOW17 (Rural Technologies Inc.) el cual es específico para nucleocápside PRRSV. Derecha: El mismo pozo bajo un fuerte campo de iluminación, mostrando distribución celular.

Figura 11 BHK- CMVScript- susCD163v2- A9 en el pasaje 17 infectado con aislado PRRSV P129. La monocapa se fijó con acetona al 80% y se tiñó con anticuerpo monoclonal FITC- conjugado SDOW17 (Rural Techonogies Inc.), el cual es específico para la nucleocápside PRRSV.

Figura 12 Tres ejemplos representativos de las líneas celulares BHK/RSV/v2. Las líneas fueron infectadas con el aislado PRRSV P129 y luego teñidas con SDOW17- FITC. El panel A muestra la línea celular BHK/RSV/v2 #1, el panel B muestra la línea celular BHK/RSV/v2 #34, y el panel C muestra la línea celular BHK/RSV/v2 #47.

Figura 13 FK- ADNc3.1D- humCD163v2- A6 en el pasaje 15 infectada con el aislado PRRSV P129. Luego la monocapa es fijada con acetona al 80% y teñida con anticuerpo monoclonal FITC conjugado SDOW17 (Rural Technologies Inc), el cual es específico para la nucleocápside PRRSV.

Figura 14 La cantidad de progenie de PRRSV producida por cuatro líneas celulares recombinantes expresando establemente susCD163v1, y por células MARC- 145, se determinó en un experimento de curva de crecimiento utilizando el aislado NVSL 94- 3 de PRRSV. Las muestras cosechadas a intervalos de 12 horas fueron tituladas sobre monocapas de células MARC- 145..

Figura 15 Análisis de citometría de flujo de infección por PRRSV en presencia de anticuerpo específico CD163. Las células BHK- 21 expresando CD163 MARC- 145 a partir de transfección temporal fueron incubadas con anticuerpo específico CD163 o IgG de cabra normal (NGS) e infectadas con un PRRSV de expresión de GFP. Cada punto de datos representa los resultados de pozos triplicados.

Figura 16 Análisis de citometría de flujo de infección por PRRSV en presencia de anticuerpo específico CD163. Las células NLFK expresando establemente CD163 fueron incubadas con anticuerpo específico CD163 o IgG de cabra normal (NGS) e infectadas con un GFP expresando

PRRSV. A las 24 horas después de la infección se determinó el porcentaje de GFP expresando las células infectadas. Cada punto de datos representa el resultado de un único pozo de células.

Figura 17 Representación grafica de seis variantes de empalme alterno de ARNm de CD163 recuperado a partir de células Vero. Los seis variantes difieren en la presencia o ausencia de tres exones, designados E6, E105, y E83. Los exones E6 y E105 tienen longitudes que son múltiplos de 3, y por lo tanto no producen un cambio en marco de lectura cuando están ausentes. En contraste, la ausencia de E83 resulta en un marco de lectura cambiado y una secuencia de aminoácidos alternativa en el extremo carboxilo de la proteína (indicado por un patrón sombreado en la figura). La región de transmembrana hidrofóbica (TM) es codificada dentro de E105.

Figura 18. Células PK- RSVScript- susCD163v2 #9 infectadas con aislado PRRSV P129. Sobrenadante sin diluir de PAMs infectadas con aislado PRRSV P201 se utilizó para infectar células PK- RSVScript- susCD163v2 #9. Después de dos días de incubación las células se fijaron y tiñeron con anticuerpo monoclonal SDOW 17 como se describió en el Ejemplo 11.

Figura 19. Células FK- RSVScript- susCD163v2 #51 infectadas con aislado PRRSV P129. Sobrenadante sin diluir a partir de PAMs infectadas con aislado PRRSV P201 se utilizó para infectar células FK- RSVScript- susCD163v2 #51. Dos días después de la infección las células fueron fijadas con acetona y teñidas con anticuerpo monoclonal SDOW17 como se describió en el Ejemplo 11.

Figura 20. Infección de células de clon PK- RSVScript- susCD163v2 clon #9 con aislado PRRSV P201. El panel A muestra una monocapa de células infectadas con PRRSV P201 en el pasaje 1, 24 horas después de la infección. El panel B muestra una monocapa de células dos días después de la infección con sobrenadante libre de células PRRSV P201 en el pasaje 10.

Figura 21. Células precursoras NLFK y un subclón de FK- ADNc3.1D- humCD163v2- A6 fueron examinadas para la expresión de CD163. Las células fueron fijadas en acetona al 80% y se hicieron reaccionar con CD163 anti- humano de Cabra (R&D System a 1:200) durante una hora después de lavar con PBS. Para visualización, se utilizó IgG anti- cabra de asno conjugado con FITC (Biodesign Inc 1:100). Se detectó fluorescencia no específica en las células precursoras NLFK como se muestra en la Figura 21A. La mayoría del subclón FK.A6.A2 mostró buen tinte fluorescente indicando la presencia de CD163 (Figura 21B).

DESCRIPCION DETALLADA DEL INVENTO

Definiciones Generales

Las células y líneas celulares pueden ser "virus permisivas" o "no virus permisivas". Por ejemplo, una célula o línea celular que es permisible a virus es capaz de permitir infección de virus, duplicación subsecuente y producción de virus. Una línea celular que ya es algo permisible puede ser hecha más permisible mediante los métodos del invento.

Arteriviridae se refiere a una familia de virus ARN envueltos de hebra positiva que pertenecen al orden *Nidovirales*. La familia incluye virus elevador de la lactato deshidrogenada (LDV) de ratones, virus de arteritis equina (EAV), virus de la fiebre hemorrágica simiana (SHFV), y PRRSV.

Asfarviridae es una familia de virus envueltos icosaédricos cuyos genomas constan de moléculas simples de ADN lineal de hebra doble con longitud de 150000 - 190000 nucleótidos aproximadamente. El nombre de la familia se deriva de virus de Virus de Fiebre Porcina Africana y Relacionados. El Virus de la Fiebre Porcina Africana (ASFV) es de la especie tipo del genero *Asivirus* y es el único miembro de la familia.

El término "PRRSV" o virus PRRS se refiere a ambos genotipos del virus PRRS Europeo y Norteamericano. Dentro de cada genotipo, los aislados típicamente comparten 85% o mas de la identidad nucleotida. Sin embargo, entre genotipos, el nivel de identidad de secuencia es sólo 60% aproximadamente.

El virus PRRS es un miembro de la familia *Arteriviridae*. El genoma de los arterivirus es ARN de hebra sencilla de polaridad positiva entre 12 y 15 kb de longitud, taponada en el extremo 5' y poliadenilado en el extremo 3'. Más de dos tercios del genoma está dedicado a marcos de lectura abiertos (ORFs) 1a y 1b, los cuales codifican las funciones no estructurales del virus. ORF1b es una extensión de ORF1a, y es el resultado de un desplazamiento de marco ribosomal. ORFs 1a y 1b son traducidos directamente desde el ARN genómico. Estos productos polipéptidos grandes son escindidos mediante proteasas virales para proporcionar 12 o 13 péptidos más pequeños discretos. Los restantes ORFs, los cuales codifican proteínas virales estructurales, son expresados a partir de una serie de ARNs subgenómicos co- terminales 3' (sARNs). Los sgARNs son producidos mediante transcripción discontinua de ARN de hebra negativa, tal que una secuencia guía común se fusiona a cada transcripto. Las proteínas estructurales principales son la nucleocápside (N, codificada por ORF7), la proteína de matriz (M, codificada por ORF6), y la

glicoproteína envuelta mayor (GP5, codificada por ORF5). Las proteínas restantes, GP4 (ORF4), GP3 (ORF3), GP2 (ORF2a), y E (ORF2b) son componentes estructurales menores del virion, cuyas funciones aún no se han discernido. La biología molecular de PRRSV ha sido el tema de artículos de reseña recientes (Dea, 2000; Meulenberg, 2000; Snijder y Meulenberg, 2001).

Como se utiliza en la presente, el término "péptido CD163" significa una proteína codificada mediante un gen CD163 mamífero, incluyendo variantes alélicas que contienen cambios conservativos o no conservativos. Una secuencia de cDNA que codifica un polipéptido CD163 porcino ha sido reportada (número de acceso GenBank AJ311716). Un polipéptido CD163 murino también ha sido reportado (número de acceso GenBank AAH51281 y CAA80543). Se reportan en la presente polinucleótidos que codifican polipéptidos CD163 porcinos, murinos, caninos, y de mono verde africano y los cuales comprenden las secuencias divulgadas en SEQ ID NO: 1, 5, 12, 13, 17, 18, 22, 23, 25, 26, 30, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 42, 43, 45 y 47. Un "polipéptido CD163" es un miembro de la familia de receptores *scavenger* ricos en cisteína (SRCR) de *glicoproteínas transmembrana*, y se considera expresado exclusivamente sobre monocitos y macrófagos. Un rol identificado de CD163 es inhibir daño tisular oxidativo después de hemólisis al consumir complejos de hemoglobina:haptoglobina mediante endocitosis. La liberación subsecuente de interleucina- 10 y síntesis de heme oxigenasa- 1 resulta en efectos antiinflamatorios y citoprotectores (Philippidis, 2004; Graversen, 2002). El gen CD163 humano abarca 35 kb sobre el cromosoma 12, y consta de 17 exones y 16 intrones. Un número de isoformas del polipéptido CD163, incluyendo tipos fijados a membrana, citoplásmicos y secretados, son conocidos como generados mediante empalme alterno (Ritter, 1999). Las isoformas que comprenden un dominio de transmembrana son particularmente preferidas.

Un dominio de transmembrana se caracteriza por un segmento polipéptido de una secuencia mayor que es expuesta sobre ambos lados de una membrana. Los dominios citoplásmicos y extracelulares son separados por al menos un segmento abarcador de membrana que cruza el ambiente hidrofóbico de la bicapa lipídica. El segmento abarcador de membrana está compuesto de residuos aminoácidos con cadenas laterales no polares, usualmente en la forma de una alfa hélice. Los segmentos que contienen aproximadamente 20- 30 residuos hidrofóbicos son suficientemente largos para abarcar una membrana como una alfa hélice, y a menudo se pueden identificar por medio de una grafica de hidropatía. El domino de transmembrana pronosticado de SEQ ID NO:2 y 14 se indica en negrilla en la especificación. Determinar si otras secuencias

CD163 contienen una característica de secuencia similar se puede determinar fácilmente mediante inspección de la secuencia o gráficos de hidropatía. Las SEQ ID NOs: 37- 40 son representativas de proteínas CD163 variantes las cuales no contienen un dominio de transmembrana y sus ácidos nucleicos codificadores.

Como se utiliza de aquí en adelante, "polinucleótido" generalmente se refiere a cualquier poliribonucleotido o polideoxribonucleotido, el cual puede ser ARN o ADN sin modificar o ARN o ADN modificado. "Polinucleótidos" incluyen, sin limitación, ADN de hebra sencilla o doble, ADN que es una mezcla de regiones de hebra sencilla o doble, ARN de hebra sencilla o doble, ARN que es una mezcla de regiones de hebra sencilla o doble, y moléculas híbridas comprendiendo ADN y ARN que pueden ser de hebra sencilla o, más típicamente, hebra doble o una mezcla de regiones de hebra sencilla o doble. Además, "polinucleótido" se refiere a regiones de hebra triple comprendiendo ARN o ADN o ambos ARN y ADN. El término "polinucleótido" también incluye ADNs o ARNs que contienen una o más bases modificadas y ADNs o ARNs con esqueletos modificados por estabilidad o por otras razones. Bases "modificadas" incluyen, por ejemplo, bases tritiladas y bases inusuales tal como inosina. Se pueden realizar una variedad de modificaciones a ADN y ARN; así, "polinucleótido" abarca formas químicamente, enzimáticamente, o metabólicamente modificadas de polinucleótidos como se encuentran típicamente en la naturaleza, así como también las formas químicas de ADN o ARN características de virus y células. "Polinucleótido" también incluye polinucleótidos relativamente cortos, a menudo denominados oligonucleotidos.

Como se utiliza en la presente, "polipéptido" se refiere a cualquier péptido o proteína que comprende aminoácidos unidos entre si mediante enlaces peptídicos o enlaces peptídicos modificados. "Polipéptido" se refiere a ambas cadenas cortas, comúnmente conocidas como péptidos, oligopéptidos o oligómeros, y a cadenas más largas, generalmente conocidas como proteínas. Los polipéptidos pueden contener aminoácidos diferentes a los aminoácidos codificados por 20 genes. "Polipéptidos" incluyen secuencias de aminoácidos modificadas por procesos naturales, tal como procesamiento post- translacional, o por técnicas de modificación química. Las cuales son bien conocidas en el estado de la técnica. Tales modificaciones son bien descritas en textos básicos y en monografías más detalladas, así como también en una literatura de investigación más voluminosa. Las modificaciones pueden ocurrir en cualquier parte en un polipéptido, incluyendo el esqueleto del polipéptido, las cadenas laterales de aminoácidos y los

extremos amino o carboxilo. Se apreciará que el mismo tipo de modificación puede estar presente en grados iguales o variables en varios sitios en un polipéptido dado. También, un polipéptido dado puede contener muchos tipos de modificaciones. Los polipéptidos pueden ser ramificados como resultado de ubiquitinación, y pueden ser cíclicos, con o sin ramificación. Polipéptidos cíclicos, ramificados y cíclicos ramificados pueden resultar a partir de procesos naturales de post-traslación o se pueden preparar mediante métodos sintéticos. Las modificaciones o formas modificadas incluyen acetilación, acilación, ADP- ribosilación, amidación, unión covalente de flavina, unión covalente de una fracción heme, unión covalente de un nucleótido o derivado nucleótido, unión covalente de un lípido o derivado lípido, unión covalente de fosfatidilinositol, eslabonamiento, ciclización, formación de enlaces de disulfuro, desmetilación, formación de eslabones covalentes, formación de cisteína, formación de piroglutamato, formilación, carboxilación gama, glicosilación, formación de anclajes GPI, hidroxilación, iodinación, metilación, miristoilación, oxidación, procesamiento proteolítico, fosforilación, prenilación, racemización, selenoilación, sulfatación, adición de aminoácidos mediada por ARN de transferencia a proteínas tal como arginilación, y ubiquitinación (ver, por ejemplo, *Proteins-Structure and Molecular Properties*, Segunda Edición, T. E. Creighton, W. H. Freeman and Company, New York, 1993; Wold, F. *Modificaciones de Proteínas Post- traslaciones: Perspectivas y Prospectos*, pgs 1- 12 en *Modificación Covalente Postranslacional de Proteínas*, B.C. Johnson, Ed., Academic Press, New York, 1983; Seifter, "Análisis para modificaciones proteicas y cofactores no proteicos", *Meth Enzymol* (1990) 182:626- 646 y Rattan, "Síntesis de Proteínas: Modificaciones Post- traslaciones y Envejecimiento", *Ann NY Acad Sci* (1992) 663:4842).

Como se utiliza de aquí en adelante, "aislado" significa alterado por el hombre desde el estado natural. Si una composición o sustancia "aislada" ocurre en la naturaleza, está ha sido cambiada o retirada de su ambiente original, o ambas. Por ejemplo, un polinucleótido o un polipéptido naturalmente presente en un animal vivo no es "aislado", pero el mismo polinucleótido o polipéptido separado de materiales coexistentes de su estado natural es "aislado", como el término se emplea en la presente. Por lo tanto "aislado" como se utiliza en la presente y como se entiende en el estado de la técnica, si se refiere a polinucleótidos "aislados" o polipéptidos, es tomado para significar separado del ambiente celular original en el cual el polipéptido o ácido nucleico normalmente se encuentra. Por lo tanto, como se utiliza en la

presente a manera de ejemplo solamente, un animal transgénico o una línea celular recombinante construida con un polinucleótido del invento hace uso del ácido nucleico "aislado".

Específicamente excluido de la definición de polinucleótidos aislados del invento están los cromosomas enteros aislados desde células huésped nativas a partir de las cuales el polinucleótido originalmente se derivó.

En la divulgación a menudo se utiliza el término "identidad" o similitud como se aplica a las secuencias de aminoácidos de polipéptidos. Porcentaje de "identidad" de la secuencia de aminoácidos con respecto a polipéptidos se define en la presente como el porcentaje de residuos de aminoácidos en la secuencia candidato que son idénticos con los residuos en las secuencias objetivo después de alinear ambas secuencias e introducir brechas, si es necesario, para lograr el máximo porcentaje de identidad de secuencia, y sin considerar cualquier sustitución no conservativa como parte de la identidad de secuencia. El porcentaje de identidad de secuencia se determina mediante métodos convencionales. Por ejemplo, BLASTP 2.2.6 [Tatusova TA y TL Madden, "Secuencias BLAST 2- una nueva herramienta para comparar secuencias proteicas y nucleótidas." (1999) FEMS Microbiol Lett. 174:247- 250.]

Brevemente, como se anotó anteriormente, dos secuencias de aminoácidos están alineadas para optimizar los puntajes de alineación utilizando una penalización por apertura de gap de 10, una penalización por extensión de gap de 0.1, y la matriz de puntuación "blosum62" de Henikoff y Henikoff (Proc. Nat. Acad. Sci. USA 89: 10915- 10919. 1992).

El porcentaje de identidad luego se calcula como:

$$\frac{\text{número total de correspondencias idénticas}}{[\text{longitud de la secuencia más larga} + \text{número de brechas introducidas en la secuencia más larga para alinear las dos secuencias}]} \times 100$$

La "similitud" de secuencia promedio (a menudo se conoce como "homología") con respecto a un polipéptido del invento se define en la presente como el porcentaje de residuos aminoácidos en la secuencia candidata que son idénticas con los residuos en las secuencias objetivo después de alinear las secuencias e introducir las brechas, si es necesario, para lograr el máximo porcentaje de identidad de secuencia (como se describió anteriormente), y también considerando cualquier sustitución conservativa como parte de la identidad de secuencia.

Número total de correspondencias idénticas y sustituciones conservativas x 100

[longitud de la secuencia más larga + número de brechas introducidas en la secuencia más larga para alinear las dos secuencias]

Los aminoácidos se pueden clasificar según las propiedades físicas y contribución a estructura de proteínas secundarias y terciarias. Una sustitución conservadora se reconoce en el estado de la técnica como una sustitución de un aminoácido por otro aminoácido que tiene propiedades similares.

Sustituciones conservadoras de ejemplo son divulgadas en la Tabla 1, 2, y 3 a continuación.

Tabla 1

Sustituciones Conservadoras I

CADENA LATERAL CARACTERISTICA	AMINO ACIDO
Alifática	
No- polar	G A P
	I L V
Polar- no cargada	C S T M
	N Q
Polar- cargada	D E
	K R
Aromática	H F W Y
Otras	N Q D E

Alternativamente, los amino ácidos conservativos se pueden agrupar como se describió en Lehniger, [Bioquímica, Segunda Edición; Worth Publishers, Inc. NY:NY (1975), pp. 71- 77] como se divulga en la Tabla 2, a continuación.

Tabla 2

Sustituciones Conservadoras II

CADENA LATERAL CARACTERISTICA	AMINO ACIDO
No- polar (hidrofóbico)	
A. Alifática:	A L I V P
B. Aromática:	F V
C. Contiene azufre:	M
D. Límite (<i>borderline</i>):	G
Polar- no cargada	
A. Hidroxilo:	S T Y
B. Amidas:	N Q
C. Sulfidrilo:	C
D. Límite (<i>borderline</i>):	G
Cargada de manera positiva (Básica):	K R H
Cargada de manera positiva (Ácida):	D E

Como aún otra alternativa, sustituciones conservadoras de ejemplo se divulgan en la Tabla 3 a continuación.

Tabla 3
Sustituciones Conservadoras III

<u>Residuo Original</u>	<u>Substitución de Ejemplo</u>
Ala (A)	Val, Leu, Ile
Arg (R)	Lys, Gln, Asn
Asn (N)	Gln, His, Lys, Arg
Asp (D)	Glu
Cys (C)	Ser
Glu (E)	Asp
His (H)	Asn, Gln, Lys, Arg
Ile (I)	Leu, Val, Met, Ala, Phe
Lys (K)	Arg Gln, Asn
Met (M)	Leu, Phe, Ile

Phe (F)	Leu, Val, Ile, Ala
Pro (P)	Gly
Ser (S)	Thr
Thr (T)	Ser
Trp (W)	Tyr
Tyr (Y)	Trp, Phe, Thr, Ser
Val (V)	Ile, Leu, Met, Phe, Ala

Métodos Dirigidos a la Producción de Virus y Células Huesped del Invento

El invento proporciona un método para modificar la producción de un virus que es un miembro de la familia *Arteriviridae* y *Asfarviridae* en una célula comprendiendo el paso de dirigir dicha célula para expresar un polipéptido CD163. Este puede incluir convertir una célula no permisible a virus en una célula permisible a virus, o puede involucrar hacer una célula más permisible al virus.

En una realización, el virus que es un miembro de la familia *Arteriviridae* o *Asfarviridae* es seleccionado del grupo que consta de LDV de ratones, virus de arteritis equina (EAV), virus de la fiebre hemorrágica simia (SHFV), PRRSV de cerdos y ASFV de cerdos.

En una realización preferida el virus es PPRSV.

El invento además proporciona un método para preparar un cultivo de un virus que es un miembro de la familia *Arteriviridae* o *Asfarviridae* que comprende los pasos de: suministrar una línea celular; dirigir dicha línea celular para expresar un polipéptido CD163; infectar dicha línea celular con el virus; y hacer que dicha línea celular produzca progenie viral.

En una realización, el virus que es un miembro de la familia *Arteriviridae* es seleccionado del grupo que consta de LDV de ratones, virus de arteritis equina (EAV), virus de la fiebre hemorrágica simia (SHFV), PRRSV de cerdos y ASFV de cerdos.

En una realización preferida el virus es PRRSV.

Todos los anteriores métodos utilizan células y líneas celulares que expresan un polipéptido CD163. CD163 puede ser facilitado o aumentado mediante métodos que involucran

la introducción de ácido nucleico exógeno en la célula. Tal célula puede comprender un polinucleótido o vector en una forma que permita expresión de un polipéptido CD163 codificado.

Los polinucleótidos que codifican CD163 se pueden introducir en una célula huésped como parte de un plásmido circular, o como ADN lineal comprendiendo una región codificadora de proteínas aislada, o en un vector viral. Los métodos para introducir ácido nucleico exógeno en la célula huésped bien conocidos y practicados de manera común en el estado de la técnica incluyen transformación, transfección, electroporación, inyección nuclear, o fusión con vehículos tales como liposomas, micelas, células fantasma, y protoplastos. Los sistemas de células huésped del invento incluyen sistemas de células de invertebrados y vertebrados. Los huéspedes pueden incluir, pero no están limitados a: células de insectos, células de riñón porcino (PK), células de riñón felino (FK), células testiculares porcinas (ST), células de riñón de mono verde africano (células MA- 104, MARC- 145, VERO, y COS), células de ovario de hamster chino (CHO), células de riñón de hamster bebé, células humanas 293, y fibroblastos murinos 3T3. Los sistemas de cultivo de células huésped de insectos también se pueden utilizar para la expresión de polipéptidos CD163. En otra realización, los polipéptidos CD163 son expresados utilizando un sistema de expresión de drosófila.

La elección de un vector de expresión apropiado para expresión de los polipéptidos CD163 naturalmente dependerá de la célula huésped específica a ser utilizada, e incluyen pSport y pcDNA3 (Invitrogen), pCMV- Script (Stratagene), y pSVL (Pharmacia Biotech). Los vectores de expresión para utilizar en células huésped mamíferas pueden incluir secuencias de control transcripcional y translacional derivadas de genomas virales. Las secuencias promotoras y secuencias modificadoras comúnmente utilizadas que se pueden utilizar en el presente invento incluyen, pero no están limitadas a aquellas derivadas a partir de citomegalovirus (CMV), virus de sarcoma Rous (RSV), Adenovirus 2, poliomavirus, y virus simiano 40 (SV40). Los métodos para la construcción de vectores de expresión mamífera se divulgan, por ejemplo, en Okayama y Berg (*Mol. Cell. Biol.* 3:280 (1983)); Cosman (*Mol. Immunol.* 23:935 (1986)); Cosman (*Nature* 312:768 (1984)); EP- A- 0367566; y WO 91/18982.

Puesto que las secuencias CD163 son conocidas por existir en células de varias especies, el gen endógeno se puede modificar para permitir, o aumentar, expresión del polipéptido CD163. Las células se pueden modificar (ej., mediante recombinación homologa) para proporcionar expresión aumentada al reemplazar, total o parcialmente, el promotor CD163 de ocurrencia

natural con todo o parte de un promotor heterólogo, de manera que las células expresan el polipéptido CD163 a niveles mayores. El promotor heterólogo es insertado en forma tal que éste es operativamente ligado a secuencias codificadoras CD163 endógenas. [ver, por ejemplo, Publicación Internacional PCT No. WO 94/12650, Publicación Internacional PCT No. WO 92/20808, y Publicación Internacional PCT No. WO 91/09955.] También se contempla que, además del promotor de ADN heterólogo, marcador de ADN amplificable (ej., *ada*, *dhfr*, y el gen multifuncional *cad*, el cual codifica carbamilo fosfato sintasa, transcarbamilasa de aspartato, y dihidroorotasa) y/o Intrón de ADN se puede insertar junto con el promotor de ADN heterólogo. Si está enlazado a la secuencia codificadora CD163, la amplificación del marcador de ADN mediante métodos de selección estándar resulta en co- amplificación de las secuencias codificadoras CD163 en las células.

La expresión de CD163 también se puede inducir mediante tratamiento químico. Los ésteres de forbol especialmente acetato de forbol miristilo (PMA), activan una o más isozimas del receptor de membrana ubicua, proteinquinasa C (PKC) y son medios particularmente preferidos de aumentar expresión de CD163. También se contemplan otros métodos de movilización de calcio intracelular.

Producción de Vacunas

Los métodos descritos anteriormente se pueden utilizar para producir cualquier virus que es un miembro de la familia *Arteriviridae* o *Asfaviridae* para el propósito de producción de vacunas o diagnósticos.

En una realización el virus que es un miembro de la familia *Arteriviridae* es seleccionado del grupo que consta de LDV de ratones, virus de arteritis equina (EAV), virus de la fiebre hemorrágica simia (SHFV), y PRRSV de cerdos.

En una realización preferida el virus es PRRSV.

Producción de Vacunas

Los métodos descritos anteriormente se pueden utilizar para producir virus para el propósito de producción de vacunas o diagnósticos.

Se pueden producir vacunas muertas (inactivadas) o vivas. Por lo tanto, para hacer una vacuna viva, un aislado viral, o un variante atenuado o mutado del mismo, se desarrolla en

cultivo celular. El virus es cosechado según métodos bien conocidos en el estado de la técnica. Luego el virus puede ser concentrado, congelado, y almacenado a - 70°C, o secado por congelamiento y almacenado a 4°C. Antes de vacunación el virus es mezclado a una dosificación adecuada, la cual está entre 10^3 y 10^8 dosis infecciosas de cultivo de tejidos por ml (TCID₅₀/ml)), con un vehículo farmacéuticamente aceptable tal como solución salina, y opcionalmente un coadyuvante.

La vacuna producida también puede comprender una vacuna inactivada o muerta que comprende un virus cultivado mediante los métodos del invento. La vacuna inactivada es hecha mediante métodos bien conocidos en el estado de la técnica. Por ejemplo, una vez el virus es propagado a títulos mayores, sería fácilmente manifiesto a aquellos con experiencia en el estado de la técnica que la masa antigénica de virus podría ser obtenida mediante métodos bien conocidos en el estado de la técnica. Por ejemplo, la masa antigénica de virus se puede obtener mediante dilución, concentración, o extracción. Todos estos métodos se han empleado para obtener masa antigénica viral apropiada para producir vacunas. Luego el virus es inactivado mediante tratamiento con formalina, betapropriolactona (BPL), etilenimina binaria (BEI), u otros métodos conocidos por aquellos con experiencia en el estado de la técnica. Luego el virus inactivado es mezclado con un vehículo farmacéuticamente aceptable tal como una solución salina, y opcionalmente un adyuvante. Ejemplos de adyuvantes incluyen, pero no están limitados a, hidróxido de aluminio, emulsiones de aceite en agua y agua en aceite, AMPHIGEN, saponinas tales como QuilA, y adyuvantes polipéptidos incluyendo interleucinas, interferonas, y otras citoquinas.

La inactivación por formalina es realizada al mezclar la suspensión viral con formaldehído al 37% a una concentración de formaldehído final de 0.05%. La mezcla virus-formaldehído se mezcla mediante agitación constante durante aproximadamente 24 horas a temperatura ambiente. Luego la mezcla de virus inactivado se prueba para virus vivo residual al evaluar el crecimiento sobre una línea celular apropiada.

La inactivación mediante BEI se realiza al mezclar la suspensión viral del presente invento con 0.1 M BEI (2- bromo- etilamina en 1.175 N NaOH) a una concentración final BEI de 1 mM. La mezcla virus- BEI se mezcla mediante agitación constante durante aproximadamente 48 horas a temperatura ambiente, seguido por la adición de 1.0 M tiosulfato de sodio a una concentración final de 0.1 M. El mezclado se continúa durante dos horas adicionales. La mezcla

de virus inactivado es probada para virus vivo residual al evaluar el crecimiento sobre una línea celular apropiada.

Las células virus permisivas que se han dirigido para expresar CD163 también se pueden utilizar para cuantificar virus vivo. Dos métodos comunes, los cuales son bien conocidos por aquellos con experiencia en el estado de la técnica, son el ensayo de placa y el ensayo de dilución limitante.

Las líneas celulares que expresan CD163 del presente invento se pueden utilizar para desarrollar virus para el propósito de producir antígeno viral para kits diagnósticos. Por ejemplo los lisados de células infectadas (con purificación opcional de partículas virales o extracción de proteínas virales seleccionadas) pueden ser revestidos sobre placas ELISA con el objeto de detectar y cuantificar anticuerpos al virus en sueros porcinos.

El virus vivo o inactivado cultivado en células de expresión de CD163 se puede utilizar después de separación opcional de las proteínas virales para inmunizar animales con el objeto de generar anticuerpos policlonales, monoespecíficos o monoclonales. Estos a su vez se pueden utilizar como la base de ensayos diagnósticos para la detección y cuantificación de virus en suero porcino y otras muestras biológicas.

Ensayos del Invento

El invento proporciona métodos para determinar la predisposición de un animal a ser infectado por un virus que es un miembro de la familia *Arteriviridae* o *Asfarviridae* de una línea celular para soportar la duplicación de un virus que es un miembro de la familia *Arteriviridae* o *Asfarviridae*. Las muestras de una u otra fuente son obtenidas y evaluadas para expresión de CD163. El nivel de expresión del gen CD163 se puede comparar con niveles de controles conocidos por no soportar replicación del virus.

En el caso de un animal, las muestras pueden ser cualquier muestra que comprende proteínas o moléculas de ácidos nucleicos de muestra, y se obtienen a partir de cualquier tejido corporal que expresa CD163, incluyendo, pero sin limitar a macrófagos alveolares, células cultivadas, biopsias, u otras preparaciones de tejidos. El nivel de expresión se puede evaluar a nivel de ARN mensajero o proteína producida. En una realización preferida el miembro del virus de la familia *Arteriviridae* o *Afarviridae* es seleccionado del grupo que consta de LDV de

ratones, virus de arteritis equina (EAV), virus de fiebre hemorrágica simia (SHFV), PRRSV de cerdos, y ASFV de cerdos.

Ensayos Basados en Acido Nucleico

Los métodos para determinar niveles de CD163 se pueden basar en ácido nucleico como se anotó anteriormente. Los ácidos nucleicos derivados de CD- 163 pueden estar en solución o sobre un soporte sólido. En algunas realizaciones, estos se pueden emplear como elementos de conjunto en microconjuntos solos o en combinación con otras moléculas de elementos de conjunto. Los métodos basados en ácidos nucleicos requieren el aislamiento de ADN o ARN a partir de la muestra o subsecuente hibridización o amplificación PCR utilizando cebadores específicos derivados a partir de cualquier secuencia codificadora de cD163 conocida en el estado de la técnica o aquellas específicamente divulgadas como SEA ID NO: 1, 5, 12, 13, 17, 18, 22, 23, 25, 26, 30, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, y 47. El ADN o ARN se pueden aislar a partir de la muestra según cualquiera de un número de métodos bien conocidos por aquellos con experiencia en el estado de la técnica. Por ejemplo, los métodos de purificación de ácidos nucleicos se describen en Tijssen, P. (1993) Técnicas de Laboratorio en Bioquímica y Biología Molecular: Hibridización con Sondas de Acido Nucleico, Parte I. Teoría y Preparación de Acidos Nucleicos, Elsevier, New York, N.Y. En una realización preferida, el ARN total es aislado utilizando TRIZOL reactivo de aislamiento de ARN total (Life Technologies, Inc., Gaithersburg Md.) y ARNm se aísla utilizando cromatografía de afinidad en columnas de oligo d(T) o perlas de vidrio. Cuando las moléculas de ácido nucleico de muestra son amplificadas es deseable amplificar las moléculas de ácido nucleico de muestra y mantener las abundancias relativas de la muestra original, incluyendo transcritos de baja abundancia. ARN se puede amplificar in vitro, en situ, o in vivo (Ver Ebewine Patente Americana No. 5.514.545).

También es ventajoso incluir controles dentro de la muestra para asegurar que los procedimientos de amplificación y rotulación no cambian la distribución verdadera de moléculas de ácido nucleico en una muestra. Para este propósito, se añade a la muestra una cantidad de una molécula de ácido nucleico de control predeterminada para ser detectable ante hibridización a su molécula de ácido nucleico configurada complementaria y la composición de moléculas de ácido nucleico incluye moléculas de ácido nucleico de referencia las cuales específicamente hibridizan con las moléculas de ácido nucleico configuradas de control. Después de hibridización y

procesamiento, las señales de hibridización obtenidas deben reflejar con exactitud las cantidades de moléculas de ácido nucleico configuradas de control agregadas a la muestra.

Antes de hibridización, puede ser deseable fragmentar las moléculas de ácido nucleico de muestra. La fragmentación mejora la hibridización al minimizar estructura secundaria e hibridización cruzada a otras moléculas de ácido nucleico de muestra en la muestra o moléculas de ácido nucleico no complementarias. La fragmentación se puede realizar por medios mecánicos o químicos.

Rotulación

Las moléculas de ácido nucleico de muestra o sondas se pueden rotular con una o más fracciones de rotulación para permitir la detección de complejos hibridizados de moléculas de ácidos nucleicos configuradas/de muestra. Las fracciones de rotulación pueden incluir composiciones que se pueden detectar mediante medios espectroscópicos, fotoquímicos, bioquímicos, bioelectrónicos, inmunoquímicos, eléctricos, ópticos o químicos. Las fracciones de rotulación incluyen radioisótopos, tales como (32)P, (33)P o (35)S, compuestos quimioluminiscientes, proteínas de fijación rotuladas, átomos metálicos pesados, marcadores espectroscópicos, tales como marcadores fluorescentes y tintes, rótulos magnéticos, enzimas enlazadas, marcadores de espectrometría de masas, rótulos de giro, donantes y receptores de transferencia de electrones, y similares. Los marcadores fluorescentes preferidos incluyen fluoróforos Cy3 y Cy5 (Amersham Pharmacia Biotech, Piscataway N.J.).

Hibridización

La secuencia de moléculas de ácido nucleico de SEQ ID MO: 1, 3, 5, 12, 13, 17, 18, 22, 23, 25, 26, 30, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45 y 47 u otras secuencias codificadoras de CD164 en el estado de la técnica y fragmentos de las mismas se pueden utilizar en varias tecnologías de hibridización para varios propósitos. Las sondas de hibridización se pueden diseñar o derivar a partir de cualquier de secuencia CD163 mamífera pero puede hacer uso de aquellas secuencias divulgadas en SEQ ID NO: 1, 3, 5, 12, 13, 17, 18, 22, 23, 25, 26, 30, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45 y 47. Tales sondas pueden ser hechas a partir de cualquier región altamente específica o a partir de un motivo (*motif*) conservado, y utilizadas en protocolos para cuantificar mensaje Cd163, variantes alélicas, o secuencias relacionadas. Las sondas de hibridización del invento en

cuestión pueden ser ADN o ARN y se pueden derivar a partir cualquier secuencia CD163 mamífera conocida en el estado de la técnica o a partir de aquellas secuencias divulgadas en la presente como SEQ ID NO: 1, 3, 5, 12, 13, 17, 18, 22, 23, 25, 26, 30 o a partir de secuencias genómicas incluyendo promotores, mejoradores, e intrones del gen mamífero. La hibridización o sondas PCR se pueden producir utilizando oligorotulación, traducción por muesca, rotulación de extremos, o amplificación PCR en la presencia del nucleótido rotulado. Se puede utilizar un vector que contiene la secuencia de aminoácidos para producir una sonda de ARNm in vitro mediante la adición de una polimerasa de ARN y moléculas de ácido nucleico rotulado. Estos procedimientos se pueden realizar utilizando kits comercialmente disponibles tales como aquellos proporcionados por Amersham Pharmacia Biotech.

El rigor de hibridización se determina mediante el contenido G- C de la sonda, concentración de sal, y temperatura. En particular, el rigor se puede aumentar al reducir la concentración de sal o elevar la temperatura de hibridización. En soluciones utilizadas para algunas hibridizaciones basadas en membrana, las adiciones de un solvente orgánico tal como formamida permiten que la reacción ocurra a menor temperatura. La hibridización se puede realizar a baja temperatura con buffers, tales como 5xSSC con decilsulfato sódico (SDS) a 60°C, lo cual permite la formación de un complejo de hibridización entre secuencias nucleótidas que contienen algunas inadaptaciones. Los lavados subsiguientes son realizados a mayor rigor con buffers tales como 0.2xSSC con SDS al 0.1% a 45°C (rigor medio) o 68°C (rigor alto). A rigor alto, los complejos de hibridización permanecerán estables solamente donde las secuencias de ácidos nucleicos son casi completamente complementarias. En algunas hibridizaciones basadas en membrana, preferiblemente 35% o más preferiblemente 50% de formamida se puede agregar a la solución de hibridización para reducir la temperatura a la cual la hibridización es realizada, y las señales de entorno se pueden reducir mediante el uso de otros detergentes tales como Sarkosyl o Triton X- 100 y un agente bloqueador tal como ADN de esperma de salmón. La selección de componentes y condiciones para hibridización son bien conocidas por aquellos con experiencia en el estado de la técnica y se revisan en Ausubel (antes) y Sambrook (1989) Clonación Molecular, Un Manual de Laboratorio, Cold Spring Harbor Press, Plainview N.Y.

Las condiciones de hibridización altamente severas de ejemplo son como sigue: hibridización a 42°C en una solución de hibridización comprendiendo formamida al 50% SDS al 1%, NaCl 1M, Sulfato de Dextrana al 10%, y lavando dos veces durante 30 minutos a 60°C en

una solución de lavado comprendiendo 0.1 X SSC y SDS al 1%. Se entiende en el estado de la técnica que condiciones de rigor equivalente se pueden lograr a través de variación de temperatura y buffer, o concentración de sal como se describió en Ausubel, (Eds.), *Protocolos En Biología Molecular*, John Wiley & Sons (1994), pp. 6.0.3 a 6.4.10. Las modificaciones en condiciones de hibridización se pueden determinar empíricamente o calcular de manera precisa con base en la longitud y el porcentaje del emparejamiento de bases entre guanosina y citosina (GC) de la sonda. Las condiciones de hibridización se pueden calcular como se describió en Sambrook, (Eds.), *Clonación Molecular: Un Manual de Laboratorio*, Cold Spring Harbor Laboratory Press: Cold Spring Harbor, New York (1989), pp. 9.47 a 9.51.

La especificidad de hibridización se puede evaluar al comparar la hibridización de moléculas de ácido nucleico de control de especificidad con moléculas de ácido nucleico de muestra de control de especificidad que son agregadas a una muestra en una cantidad conocida. Las moléculas de ácido nucleico configuradas de control de especificidad pueden tener una o más inadaptaciones de secuencia en comparación con las moléculas de ácido nucleico configuradas correspondientes. En esta forma, es posible determinar si solamente las moléculas de ácido nucleico configuradas complementarias están hibridizando a las moléculas de ácido nucleico de muestra o si se están formando dupletas híbridas inadaptadas.

Las reacciones de hibridización se pueden realizar en formatos de hibridización absoluta o diferencial. En el formato de hibridización absoluta, las moléculas de ácido nucleico a partir de una muestra son hibridizadas a las moléculas en un formato de microconjunto y las señales detectadas después de formación de complejos de hibridización se correlacionan con niveles de moléculas de ácido nucleico en una muestra. En el formato de hibridización diferencial, se analiza la expresión diferencial de un grupo de genes en dos muestras biológicas. Para hibridización diferencial, las moléculas de ácido nucleico de ambas muestras biológicas son preparadas y rotuladas con fracciones de rotulación diferentes. Una mezcla de las dos moléculas de ácido nucleico rotuladas es agregada a un microconjunto. Luego el microconjunto es examinado bajo condiciones en las cuales las emisiones a partir de los dos rótulos diferentes son individualmente detectables. Las moléculas en el microconjunto que son hibridizadas a números sustancialmente iguales de moléculas de ácido nucleico derivadas a partir de ambas muestras biológicas proporcionan una fluorescencia combinada distinta (Shalon; Publicación PCT

WO95/35505). En una realización preferida, los rótulos son marcadores fluorescentes con espectros de emisión distinguibles, tales como fluoróforos Cy3 y Cy5.

Después de hibridización, el microconjunto es lavado para retirar moléculas de ácido nucleico no hibridizadas y se detecta la formación de complejos entre los elementos de conjunto hibridizables y las moléculas de ácido nucleico. Los métodos para detectar la formación de complejos son bien conocidos por aquellos con experiencia en el estado de la técnica. En una realización preferida, las moléculas de ácido nucleico son rotuladas con un rótulo fluorescente y la medición de niveles y patrones de fluorescencia indicativos de formación de complejos es realizada mediante microscopia de fluorescencia, preferiblemente microscopia de fluorescencia confocal.

En un experimento de hibridización diferencial, las moléculas de ácido nucleico a partir de dos o más muestras biológicas diferentes son rotuladas con dos o más rótulos fluorescentes diferentes con diferentes longitudes de onda de emisión. Las señales fluorescentes son detectadas de manera separada con diferentes fotomultiplicadores colocados para detectar longitudes de onda específicas. Los niveles relativos de abundancia/expresión de las moléculas de ácido nucleico en dos o más muestras son obtenidos.

Típicamente, las intensidades de fluorescencia de microconjunto se pueden normalizar para tomar en cuenta variaciones en intensidades de hibridización cuando se utiliza más de un microconjunto bajo condiciones de prueba similares. En una realización preferida, las intensidades de hibridización de complejos individuales de moléculas de ácido nucleico configuradas- de muestra son normalizadas utilizando las intensidades derivadas a partir de controles de normalización internos contenidos en cada microconjunto.

Ensayos Basados en Polipéptidos

El presente invento proporciona métodos y reactivos para detectar y cuantificar polipéptidos CD163. Estos métodos incluyen métodos bioquímicos analíticos tales como electroforesis, espectrometría de masas, métodos cromatográficos y similares, o varios métodos inmunológicos tales como radioinmunoensayo (RIA), ensayos inmunsorbentes ligados a enzimas (ELISAs), ensayos inmunofluorescentes, western blotting, espectrometría de masas de captura de afinidad, actividad biológica, y otros descritos más adelante y aparentes a aquellos con experiencia en el estado de la técnica ante revisión de esta evaluación.

Inmunoensayos

El presente invento también proporciona métodos para detectar polipéptidos CD163 empleando uno o más reactivos de anticuerpos anti- CD163 (es decir, inmunoensayos). Como se utiliza en la presente, un inmunoensayo es un ensayo que utiliza un anticuerpo (como se definió ampliamente en la presente y específicamente incluyen fragmentos, quimeras y otros agentes de fijación) que específicamente fija un epítipo o polipéptido CD163.

Un número de formatos de evaluación de fijación inmunológica bastante establecidos los cuales son apropiados para la práctica del invento son conocidos (ver, ej., Patente Americana No. 4.366.241; 4.376.110; 4.517.288; y 4.837.168). Ver, ej., Métodos en Biología Molecular Volumen 37: Anticuerpos en Biología Celular, Asai, ed. Academic Press, Inc. New York (1993); Basic and Clinical Immunology Septima Edición, Stites & Terr, eds (1991); Harlow and Lane, supra [ej., Capítulo 14], y Ausubel, supra, [ej., Capítulo 11]. Típicamente, los ensayos de unión inmunológica (o inmunoensayos) utilizan un "agente de captura" para específicamente fijar y a menudo, inmovilizar el analito a una fase sólida. En una realización, el agente de captura es una fracción que específicamente se fija a un polipéptido CD163 o subsecuencia, tal como un anticuerpo anti- CD163.

Usualmente, el producto genético CD163 evaluado es detectado directa o indirectamente utilizando un rotulo detectable. El rotulo particular o grupo detectable utilizado en el ensayo usualmente no es un aspecto crítico del invento, siempre y cuando éste no interfiera significativamente con la fijación específica del anticuerpo o anticuerpos utilizados en el ensayo. El rotulo puede estar covalentemente fijado al agente de captura (ej., un anticuerpo anti- CD163), o puede estar fijado a una tercera fracción, tal como otro anticuerpo, que específicamente se fija al polipéptido CD163.

El presente invento proporciona métodos y reactivos para inmunoensayos competitivos y no competitivos para detectar polipéptidos CD163. Los inmunoensayos no competitivos son ensayos en los cuales la cantidad de analito capturado (en este caso CD 163) es medida de manera directa. Tal ensayo es un inmunoensayo de base monoclonal de dos sitios que utiliza anticuerpos monoclonales reactivos a dos epítopos de no interferencia sobre el polipéptido CD163. Ver, ej., Maddox, 1983, J. Exp. Med., 158:1211 para información de fundamento. En una evaluación o prueba "sandwich", el agente de captura (ej., un anticuerpo anti CD163) es

ligado directamente a un sustrato sólido donde es inmovilizado. Estos anticuerpos inmovilizados luego capturan cualquier polipéptido presente en la muestra de prueba. El polipéptido CD163 así inmovilizado luego puede ser rotulado, es decir, al fijarse a un segundo anticuerpo anti- CD163 que lleva un rótulo. Alternativamente, el segundo anticuerpo CD163 puede carecer de rótulo, pero estar ligado por un tercer anticuerpo rotulado específico a anticuerpos de especies partir de los cuales el segundo anticuerpo es derivado. El segundo anticuerpo alternativamente se puede modificar con una fracción detectable, tal como biotina, a la cual una tercera molécula rotulada específicamente se puede fijar, tal como estreptavidina rotulada por enzimas.

En ensayos competitivos, la cantidad de polipéptido CD163 presente en la muestra es medida indirectamente al medir la cantidad de un polipéptido CD163 (exógeno) desplazado (o sacado por competencia) desde un agente de captura (ej., anticuerpo CD163) por el polipéptido CD163 presente en la muestra. Un ensayo de inhibición de hapteno es otro ejemplo de un ensayo competitivo. En este ensayo el polipéptido CD163 es inmovilizado sobre un sustrato sólido. Una cantidad conocida de anticuerpo CD163 es agregada a la muestra, y luego la muestra se coloca en contacto con el polipéptido CD163 inmovilizado. En este caso, la cantidad de anticuerpo anti-CD163 fijada al polipéptido CD163 inmovilizado es inversamente proporcional a la cantidad de polipéptido CD163 presente en la muestra. La cantidad de anticuerpo inmovilizado se puede detectar al detectar ya sea la fracción inmovilizada de anticuerpo o la fracción del anticuerpo que permanece en la solución. En este aspecto, la detección puede ser directa, donde el anticuerpo es rotulado, o indirecta donde el rótulo está ligado a una molécula que específicamente se fija al anticuerpo como se describió anteriormente.

Otros Formatos de Ensayos Basados en Anticuerpos

El invento también proporciona reactivos y métodos para detectar y cuantificar la presencia de polipéptido CD163 en la muestra mediante el uso de un formato inmunosorbente. Otro inmunoensayo es la conocida "cromatografía de flujo lateral". En una versión no competitiva de cromatografía de flujo lateral, una muestra se mueve a través de un sustrato mediante ej., acción capilar, y encuentra un anticuerpo rotulado con móvil que fija el analito formando un conjugado. Luego el conjugado se mueve a través del sustrato y encuentra un segundo anticuerpo inmovilizado que fija el analito. Por lo tanto, el analito inmovilizado es detectado al detectar el anticuerpo rotulado. En una versión competitiva de cromatografía de flujo

lateral una versión rotulada del analito se mueve a través del vehículo y compete con analito sin rotular para fijarse con el anticuerpo inmovilizado. Entre mayor es la cantidad del analito en la muestra, menor la fijación mediante el analito rotulado y, por lo tanto, más débil la señal. Ver, ej., May Patente Americana No. 5.622.871 y Rosenstein, Patente Americana No. 5.591.645.

Dependiendo del ensayo, varios componentes, incluyendo el antígeno, anticuerpo objetivo, o anticuerpo anti- catepsina S, pueden ser ligados a una superficie sólida o soporte (es decir, un sustrato, membrana, o papel de filtro). Muchos métodos para inmovilizar biomoléculas a una variedad de superficies sólidas son conocidos en el estado de la técnica. Por ejemplo, la superficie sólida puede ser una membrana (ej., nitrocelulosa), un plato de microtítulos (ej., PVC, polipropileno, poliestireno), un tubo de ensayo (de vidrio o plástico), una varilla de nivel (ej., de vidrio, PVC, polipropileno, poliestireno, látex, y similares), un tubo de microcentrifuga, o una perla vítrea o plástica. El componente deseado puede ser covalentemente ligado o no covalentemente fijado a través de enlace no específico.

Una amplia variedad de polímeros orgánicos e inorgánicos, tanto naturales como sintéticos se pueden emplear como el material para la superficie sólida. Polímeros ilustrativos incluyen polietileno, polipropileno, poli(4- metilbuteno), poliestireno, polimetacrilato, poli(tereftalato de etileno), rayón, nailon, poli(vinilbutirato), difluoruro de polivinilideno (PVDF); siliconas, poliformaldehído, celulosa, acetato de celulosa, nitrocelulosa, y similares. Otros materiales que se pueden emplear, incluyen papel, vidrios, cerámicas, metales, metaloides, materiales semiconductores, cementos o similares. Además, se pueden utilizar sustancias que forman geles, tales como proteínas (ej., gelatinas), lipopolisacaridos, silicatos, agarosa y poliacrilamidas. Los polímeros que forman varias fases acuosas, tales como dextranas, glicoles de polialquileño o surfactantes, tales como fosfolípidos, sales de amonio de alquilo de cadena larga (12- 24 átomos de carbono) y similares también son apropiados. Donde la superficie sólida es porosa, varios tamaños de poros se pueden emplear dependiendo de la naturaleza del sistema.

Espectrometría de masas

La masa de una molécula frecuentemente se puede utilizar como un identificador de la molécula. Por lo tanto, los métodos de espectrometría de masas se pueden utilizar para identificar un analito. Los espectrometros de masa pueden medir masa al determinar el tiempo requerido para que un analito ionizado viaje a través de un tubo de vuelo y sea detectado por un detector de

iones. Un método de espectrometría de masas para proteínas es la espectrometría de masas con ionización por desorción láser asistida por matriz ("MALDI"). En MALDI el analito se mezcla con un material de matriz absorbente de energía que absorbe energía de la longitud de onda de un láser y se coloca sobre la superficie de una sonda. Al golpear la matriz con el láser, el analito es desorbido de la superficie de la sonda, ionizado y detectado por el detector de iones. Ver, por ejemplo, Hillenkamp Patente Americana No. 5.118937.

Otros métodos de espectrometría de masas para proteínas son descritos en Hutchens y Yip, Patente Americana No. 5.719.060. En tal método citado como Superficies Mejoradas para Captura de Afinidad ("SEAC" por su sigla en inglés) un reactivo de afinidad de fase sólida que fija el analito específicamente o no específicamente, tal como un anticuerpo o un ión metálico, se utiliza para separar el analito de otros materiales en una muestra. Luego el analito capturado es desorbido de la fase sólida mediante, ej., energía láser, ionizado, y detectado mediante el detector.

Ácidos Nucleicos del Invento

Los ejemplos divulgan nuestro descubrimiento de varios polinucleótidos CD163 novedosos. El invento incluye estos polinucleótidos CD163 novedosos. El presente invento proporciona varios polinucleótidos novedosos aislados (ej., secuencias de ADN y transcritos de ARN, tanto hebras sentido como antisentido complementarias, tanto de hebra doble como hebra sencilla, incluyendo variantes de empalme de los mismos, que codifican polipéptidos CD163 novedosos. En la presente se reportan polinucleótidos novedosos aislados que codifican polipéptidos CD163 porcinos, murinos, humanos, caninos, y de mono verde africano y los cuales comprenden las secuencias divulgadas en SEQ ID NO: 1, 5, 12, 13, 22, 23, 25, 26, 30, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, y 47.

Se debe reconocer que al divulgar SEQ ID NOs: 1, 5, 12, 13, 22, 23, 25, 26, 30, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, y 47 se proporciona a alguien con experiencia en el estado de la técnica una multitud de métodos para obtener estas secuencias. A manera de ejemplo, sería posible generar sondas a partir de la secuencia divulgada en SEQ ID NOs: 1, 5, 12, 13, 22, 23, 25, 26, 30, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, y 47 y ADNc porcino, murino, humano, canino, y de mono verde africano o bibliotecas genómicas y así obtener la SEQ ID entera NO: 1, 5, 12, 13, 17, 18, 22, 23, 25, 26, 30, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, y 47 o su equivalente genómico. Sambrook, (Eds.), *Clonación*

Molecular: Un Manual de Laboratorio, Cold Spring Harbor Laboratory Press: Cold Spring Harbor, New York (1989). También a manera de ejemplo, alguien con experiencia en el estado de la técnica reconocería inmediatamente que dada la secuencia divulgada en SEQ ID NO: 5, 12, 13, 22, 23, 25, 26, 30, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, y 47 entonces es posible generar los cebadores apropiados para amplificación PCR para obtener la secuencia entera representada por estas secuencias. (Ver, ej., *Tecnología PCR*, H. A. Erlich, ed., Stockton Press, New York, 1989; *Protocolos PCR: Una Guía para Métodos y Aplicaciones*, M. A. Innis, Davis H. Gelfand, John J. Snisky, y Thomas J. White, eds., Academic Press, Inc., New York, 1990).

Los polinucleótidos de ADN del invento incluyen ADNc, y ADN que ha sido químicamente sintetizado total o parcialmente y también pretende incluir variantes alélicas del mismo. Los variantes alélicos son formas modificadas de una secuencia genética de tipo silvestre, la modificación resultando de la recombinación durante segregación cromosomal, o exposición a condiciones que dan origen a mutación genética. Los variantes alélicos, como genes de tipo silvestre, son secuencias de ocurrencia natural (opuestas a variantes de ocurrencia no natural que se originan a partir de manipulación in vitro).

Las secuencias de ADN que codifican los polipéptidos CD163 novedosos son divulgadas en SEQ ID NOs: 5, 12, 13, 22, 23, 25, 26, 30, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, y 47. El trabajador con experiencia en el estado de la técnica fácilmente apreciará que el ADN del invento comprende una molécula de doble hebra, por ejemplo la molécula que tiene la secuencia divulgada en SEQ ID NO: 5, 12, 13, 22, 23, 25, 26, 30, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, y 47 junto con la molécula complementaria (la "hebra no codificadora" o "complemento") que tiene una secuencia deducible a partir de la secuencia de SEQ ID NOs: 5, 12, 13, 22, 23, 25, 26, 30, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, y 47 según las reglas de apareamiento base de Watson- Crick para ADN. También contemplados por el invento están otros polinucleótidos que codifican los polipéptidos CD163 porcinos, murinos, y de mono verde africano de SEQ ID NO: 2, 14, 24, 27 y 32, 34, 36, 38, 40 42, 44, 46, 48 los cuales difieren en secuencia del polipéptido de SEQ ID Nos: 1, 3, 5, 12, 13, 17, 18, 22, 23, 25, 26, 30, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, y 47 por virtud de la degeneración bien conocida del cógigo genético universal, como se conoce bien en el estado de la técnica. El presente invento, por lo tanto, contempla aquellas otras moléculas de ADN y ARN que, sobre expresión, codifican los polipéptidos de SEQ ID NO: 2, 14, 24, 27 y 32. Habiendo identificado la secuencia de residuos aminoácidos que codificó el polipéptido Cd163 porcino, y con el

324
323

conocimiento de todos los codones triples para cada residuo aminoácido particular, es posible describir todas estas secuencias codificadoras de ARN y ADN. Las moléculas de ADN y ARN diferentes a aquellas específicamente divulgadas en la presente caracterizadas simplemente por un cambio en un codón para un aminoácido particular, por lo tanto, están dentro del alcance de este invento.

Una tabla de aminoácidos y sus abreviaturas representativas, símbolos y codones se divulga a continuación.

Tabla 4

Amino ácido	Abreviatura	Símbolo	Codones					
Alanina	Ala	A	GCA	GCC	GCG	GCU		
Cisteína	Cys	C	UGC	UGU				
Ácido aspártico	Asp	D	GAC	GAU				
Ácido glutámico	Glu	E	GAA	GAG				
Fenilalanina	Phe	F	UUC	UUU				
Glicina	Gly	G	GGA	GGC	GGG	GGU		
Histidina	His	H	CAC	CAU				
Isoleucina	Ile	I	AUA	AUC	AUU			
Lisina	Lys	K	AAA	AAG				
Leucina	Leu	L	UUA	UUG	CUA	CUC	CUG	CUU
Metionina	Met	M	AUG					
Asparagina	Asn	N	AAC	AAU				
Prolina	Pro	P	CCA	CCC	CCG	CCU		
Glutamina	Gln	Q	CAA	CAG				
Arginina	Arg	R	AGA	AGG	CGA	CGC	CGG	CGU
Serina	Ser	S	AGC	AGU	UCA	UCC	UCG	UCU
Treonina	Thr	T	ACA	ACC	ACG	ACU		
Valina	Val	V	GUA	GUC	GUG	GUU		

Triptofan	Trp	W	UGG					
Tirosina	Tyr	Y	UAC	UAU				

Como se sabe bien en el estado de la técnica, los codones constituyen secuencias triples de nucleótidos en ARNm y sus correspondientes moléculas de ADNc. Los codones son caracterizados por el uracilo base(U) cuando está presente en una molécula de ARNm pero están caracterizados por la timidina base (T) cuando están presentes en ADN. Un cambio simple en un codón por el mismo residuo aminoácido dentro de un polinucleótido no cambiará la secuencia o estructura del polipéptido codificado. Es aparente que cuando una frase que afirma que una secuencia nucleótida particular 3 "codifica" cualquier aminoácido particular, el artesano de habilidad común reconocerá que la tabla anterior proporciona un medio para identificar los nucleótidos particulares en cuestión. A manera de ejemplo, si una secuencia particular de tres nucleótidos codifica teonina la tabla anterior divulga que las secuencias triples posibles son ACA, ACG, ACC y ACU (ACT si es en ADN).

- Por lo tanto el invento incluye, un polinucleótido aislado que comprende:
- (a) una secuencia polinucleotida susCD163v1 divulgada en SEQ ID NOs: 1 y 5
 - (b) un polinucleótido que codifica un polipéptido que tiene al menos 70%, 71%, 72%, 73%, 74%, 76%, 77%, 78%, 79%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% de identidad y/o similitud con un polipéptido divulgado en SEQ ID NO:2
 - (c) un polinucleótido que codifica un polipéptido de SEQ ID:2,
 - (d) un polinucleótido el cual es el complemento de cualquiera entre (a), (b) o (c).

- El invento también incluye un polinucleótido aislado que comprende:
- (a) una secuencia polinucleotida susCD163v2 divulgada en SEQ ID NOs: 12 o 13
 - (b) un polinucleótido que codifica un polinucleótido que tiene al menos 99% de identidad o similitud con un polipéptido divulgado en SEQ ID NO:14
 - (c) un polinucleótido que codifica un polipéptido de SEQ ID: 14,
 - (d) un polinucleótido el cual es el complemento de cualquiera entre (a), (b) o (c).

- El invento también incluye un polinucleótido aislado que comprende:
- (a) una secuencia polinucleotida CD62v2 murina divulgada en SEQ ID NO:s 22 o 23
 - (b) un polinucleótido que codifica un polipéptido de SEQ ID:24,

327

325

(c) un polinucleótido el cual es el complemento de cualquiera entre (a) o (b).

El invento también incluye un polinucleótido aislado que comprende:

(a) una secuencia polinucleotida CD163v3 murina divulgada en SEQ ID NO:s 25 o 26

(b) un polinucleótido que codifica un polipéptido que tiene al menos 96%, 97%, 98%, o 99% de identidad y/o similitud con un polipéptido divulgado en SEQ ID:27

(c) un polinucleótido que codifica un polipéptido de SEQ ID:27,

(d) un polinucleótido el cual es el complemento de cualquiera entre (a), (b) o (c).

El invento también incluye un polinucleótido aislado que comprende:

(a) una secuencia polinucleotida CD163v2 de mono verde africano divulgada en SEQ ID NOs: 30 y 31.

(b) un polinucleótido que codifica un polipéptido que tiene al menos 98% o 99% de identidad y/o similitud con un polipéptido divulgado en SEQ ID NO: 32

(c) un polinucleótido que codifica un polipéptido de SEQ ID:32,

(d) un polinucleótido el cual es el complemento de cualquiera entre (a), (b) o (c).

El invento también incluye un polinucleótido aislado que comprende:

(a) una secuencia polinucleotida divulgada en SEQ ID NO:33

(b) un polinucleótido que codifica un polipéptido que tiene al menos 95%, 96%, 97%, 98% o 99% de identidad y/o similitud con un polipéptido divulgado en SEQ ID NO:34,

(c) un polinucleótido que codifica un polipéptido de SEQ ID:34.

(d) un polinucleótido el cual es el complemento de cualquiera entre (a), (b) o (c).

El invento también incluye un polinucleótido aislado que comprende:

(a) una secuencia polinucleotida divulgada en SEQ ID NO: 35

(b) un polinucleótido que codifica un polipéptido que tiene al menos 95%, 96%, 97%, 98% o 99% de identidad y/o similitud con un polipéptido divulgado en SEQ ID NO:36,

(c) un polinucleótido que codifica un polipéptido de SEQ ID:36.

(d) un polinucleótido el cual es el complemento de cualquiera entre (a), (b) o (c).

El invento también incluye un polinucleótido aislado que comprende:

(a) una secuencia polinucleotida divulgada en SEQ ID NO:37

(b) un polinucleótido que codifica un polipéptido que tiene al menos 95%, 96%, 97%, 98% o 99% de identidad y/o similitud con un polipéptido divulgado en SEQ ID NO:38,

328

326

- (c) un polinucleótido que codifica un polipéptido de SEQ ID:38.
- (d) un polinucleótido el cual es el complemento de cualquiera entre (a), (b) o (c).

El invento también incluye un polinucleótido aislado que comprende:

- (a) una secuencia polinucleotida divulgada en SEQ ID NO:39
- (b) un polinucleótido que codifica un polipéptido que tiene al menos 95%, 96%, 97%, 98% o 99% de identidad y/o similitud con un polipéptido divulgado en SEQ ID NO:40,
- (c) un polinucleótido que codifica un polipéptido de SEQ ID:40.
- (d) un polinucleótido el cual es el complemento de cualquiera entre (a), (b) o (c).

El invento también incluye un polinucleótido aislado que comprende:

- (a) una secuencia polinucleotida divulgada en SEQ ID NO:41
- (b) un polinucleótido que codifica un polipéptido que tiene al menos 95%, 96%, 97%, 98% o 99% de identidad y/o similitud con un polipéptido divulgado en SEQ ID NO:42,
- (c) un polinucleótido que codifica un polipéptido de SEQ ID:42,
- (d) un polinucleótido el cual es el complemento de cualquiera entre (a), (b) o (c).

El invento también incluye un polinucleótido aislado que comprende:

- (a) una secuencia polinucleotida divulgada en SEQ ID NO:43
- (b) un polinucleótido que codifica un polipéptido que tiene al menos 95%, 96%, 97%, 98% o 99% de identidad y/o similitud con un polipéptido divulgado en SEQ ID NO:44,
- (c) un polinucleótido que codifica un polipéptido de SEQ ID:44.
- (d) un polinucleótido el cual es el complemento de cualquiera entre (a), (b) o (c).

El invento también incluye un polinucleótido aislado que comprende:

- (a) una secuencia polinucleotida divulgada en SEQ ID NO:45
- (b) un polinucleótido que codifica un polipéptido que tiene al menos 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% o 99% de identidad y/o similitud con un polipéptido divulgado en SEQ ID NO:46,
- (c) un polinucleótido que codifica un polipéptido de SEQ ID:46.
- (d) un polinucleótido el cual es el complemento de cualquiera entre (a), (b) o (c).

El invento también incluye un polinucleótido aislado que comprende:

- (a) una secuencia polinucleotida divulgada en SEQ ID NO:47

(b) un polinucleótido que codifica un polipéptido que tiene al menos 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% o 99% de identidad y/o similitud con un polipéptido divulgado en SEQ ID NO:48,

(c) un polinucleótido que codifica un polipéptido de SEQ ID:49,

(d) un polinucleótido el cual es el complemento de cualquiera entre (a), (b) o (c).

La información de secuencia polinucleótido proporcionada por el invento hace posible expresión a gran escala del polipéptido codificado mediante técnicas bien conocidas y comúnmente practicadas en el estado de la técnica. Los polinucleótidos del invento también permiten identificación y aislamiento de polinucleótidos que codifican polipéptidos CD163v1 porcinos relacionados, y homólogos de especies, mediante técnicas bien conocidas incluyendo hibridización Southern y/o Northern, y la reacción de cadena de polimerasa (PCR).

El conocimiento de la secuencia de cualquiera de las secuencias CD163 divulgadas en la presente hace posible a través del uso de hibridización Southern o reacción de cadena de polimerasa (PCR), la identificación de secuencias de ADN genómico que codifican secuencias reguladoras CD163, tales como promotores, operadores, mejoradores, represores, y similares.

Como se anotó en la sección anterior titulada "Ensayos del Invento" los polinucleótidos del invento también son útiles en ensayos de hibridización para detectar la capacidad de las células para expresar CD163, o para medir niveles de expresión de CD163. Los polinucleótidos del invento también pueden ser la base para métodos de diagnóstico útiles para determinar la susceptibilidad de un animal a infección viral como se describió anteriormente.

La divulgación en la presente de polinucleótidos de longitud total que codifican un polipéptido CD163 facilita la disponibilidad al trabajador de habilidad común en el estado de la técnica de fragmentos del polinucleótido de longitud total. Por lo tanto el invento proporciona fragmentos únicos del CD163 que codifica polinucleótidos que comprende al menos 15 nucleótidos consecutivos a través de la longitud de la secuencia de longitud total (incluyendo cada valor entero en dicho rango) de un polinucleótido que codifica un Cd163 divulgado en la presente. Puesto que los polinucleótidos del invento (incluyendo fragmentos) comprenden secuencias únicas a la secuencia polinucleótida que codifica CD163, por lo tanto estos hibridarían bajo condiciones altamente severas o moderadamente severas solamente (es decir, "específicamente") a polinucleótidos que codifican los diferentes polipéptidos CD163. Las secuencias únicas a polinucleótidos del invento son reconocibles a través de comparación de

secuencias con otros polinucleótidos conocidos, y se pueden identificar a través del uso de programas de alineación comúnmente utilizados en el estado de la técnica, ej., aquellos hechos disponibles en bases de datos de secuencias públicas. Tales secuencias también son reconocibles a partir de análisis de hibridización Southern para determinar el número de fragmentos de ADN genómico al cual un polinucleótido hibridizará. Los polinucleótidos del invento pueden ser rotulados en una forma que permita su detección, incluyendo rotulación radioactiva, fluorescente, y enzimática.

Uno o más polinucleótidos de fragmentos únicos (u otros polinucleótidos CD163 como se discutió anteriormente) se pueden incluir en kits que se utilizan para detectar la presencia de un polinucleótido que codifica CD163, o se utilizan para detectar variaciones en una secuencia polinucleotida que codifica CD163. También disponibles por el invento están los polinucleótidos anti- sentido que reconocen e hibridizan a polinucleótidos que codifican CD163. Se suministran polinucleótidos anti- sentido en fragmentos y de longitud completa. Las moléculas anti- sentido en fragmentos del invento incluyen (i) aquellas que específicamente reconocen e hibridizan a los variantes de CD163 divulgadas en la presente (como se determinó mediante comparación de secuencias de ADN que codifica CD163s con ADN que codifica otras moléculas conocidas). La identificación de secuencias únicas a los polinucleótidos novedosos que codifican CD163 se puede deducir a través del uso de cualquier base de datos de secuencias disponible de manera pública, y/o a través del uso de programas de comparación de secuencias comercialmente disponibles. La singularidad de las secuencias seleccionadas en un genoma entero puede ser adicionalmente verificada mediante análisis de hibridización. Después de identificar las secuencias deseadas, se puede efectuar aislamiento a través de digestión o amplificación restrictiva utilizando cualquiera de las diferentes técnicas de reacción de cadena de polimerasa bien conocidas en el estado de la técnica. Los polinucleótidos antisentido son particularmente relevantes para regular expresión de CD163 mediante aquellas células que expresan ARNm de CD163.

Ácidos nucleicos antisentido (preferiblemente oligonucleótidos de 10 a 20 pares base) capaces de fijarse específicamente a secuencias de control de expresión de CD163 o ARN de CD163 son introducidos en las células (ej., mediante un vector viral o sistema de dispersión coloidal tal como un liposoma). El ácido nucleico antisentido se fija a la secuencia nucleotida objetivo CD163 porcina en la célula y evita la transcripción o traducción de la secuencia objetivo.

337
329

Los oligonucleótidos antisentido de fosforotioato y metilfosfonato son específicamente contemplados para uso terapéutico por el invento. Los oligonucleótidos antisentido se pueden modificar adicionalmente mediante fracciones de poli- L- lisina, transferían polilisina, o colesterol en su extremo 5'. La supresión de expresión de CD163 porcino, a nivel transcripcional o traslacional es útil para generar modelos celulares o animales para enfermedades caracterizadas por expresión aberrante de CD163 o como una modalidad terapéutica.

Como se anotó anteriormente en detalle, los ácidos nucleicos del invento incluyen vectores que comprenden un polinucleótido del invento. Tales vectores son útiles, ej., para amplificar los polinucleótidos en células huésped para crear cantidades útiles de los mismos. En otras realizaciones, el vector es un vector de expresión en donde el polinucleótido del invento está operativamente enlazado a un polinucleótido que comprende una secuencia de control de expresión. Tales vectores son útiles para producción recombinante de polipéptidos del invento.

Como se anotó anteriormente el invento proporciona células huésped que son transformadas o transfectadas (establemente o temporalmente) con polinucleótidos del invento o vectores del invento. Como se afirmó anteriormente, tales células huésped son útiles para la producción de virus y la producción de vacunas.

El invento también proporciona polipéptidos CD163 aislados codificados por un polinucleótido novedoso del invento.

Polipéptidos del Invento

Los ejemplos divulgan nuestro descubrimiento de varios polipéptidos CD163 novedosos. El invento incluye estos polipéptidos CD163 novedosos los cuales son divulgados en SEQ ID NOs: 2, 14, 19, 24, 27, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, y 48.

Por lo tanto, el invento incluye un polinucleótido aislado que comprende un polipéptido susCD163v1 con la secuencia divulgada en SEQ ID NO:2.

El invento también incluye un polipéptido que tiene al menos 70%, 71%, 72%, 73%, 74%, 75%, 76%, 77%, 78%, 79%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% de identidad y/o similitud con un polipéptido divulgado en SEQ ID NO:2.

El invento incluye por lo tanto, un polinucleótido aislado que comprende un polipéptido susCD163v2 con la secuencia divulgada en SEQ ID NO:14.

332
330

El invento también incluye un polipéptido que tiene al menos 99% de identidad o similitud con un polipéptido sus CD163v2 divulgado en SEQ ID NO: 14.

El invento también incluye un polipéptido CD163v2 murino que tiene la secuencia divulgada en SEQ ID: 24.

El invento también incluye un polipéptido CD163v3 murino que tiene la secuencia divulgada en SEQ ID: 27.

El invento también incluye al menos un polipéptido que tiene 96%, 97%, 98%, 99% de identidad o similitud con un polipéptido divulgado en SEQ ID NO: 27.

El invento también incluye un polipéptido que tiene la secuencia divulgada en SEQ ID:32.

El invento también incluye un polipéptido que tiene al menos 98% o 99% de identidad o similitud con un polipéptido divulgado en SEQ ID NO:32.

El invento también incluye un polipéptido que tiene la secuencia divulgada en SEQ ID:34.

El invento también incluye un polipéptido que tiene al menos 95%, 96%, 97%, 98%, 99% de identidad y/o similitud con un polipéptido divulgado en SEQ ID NO: 34.

El invento también incluye un polipéptido que tiene la secuencia divulgada en SEQ ID: 36.

El invento también incluye un polipéptido que tiene al menos 95%, 96%, 97%, 98%, 99% de identidad y/o similitud con un polipéptido divulgado en SEQ ID NO:36.

El invento también incluye un polipéptido que tiene la secuencia divulgada en SEQ ID: 38.

El invento también incluye un polipéptido que tiene al menos 95, 96%, 97%, 98%, 99% de identidad y/o similitud con un polipéptido divulgado en SEQ ID NO:39.

El invento también incluye un polipéptido que tiene la secuencia divulgada en SEQ ID: 40.

El invento también incluye un polipéptido que tiene al menos 95%, 96%, 97%, 98%, 99% de identidad y/o similitud con un polipéptido divulgado en SEQ ID NO: 40.

El invento también incluye un polipéptido que tiene la secuencia divulgada en SEQ ID: 42.

El invento también incluye un polipéptido que tiene al menos 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 99% de identidad y/o similitud con un polipéptido divulgado en SEQ ID NO: 42.

339
331

El invento también incluye un polipéptido que tiene la secuencia divulgada en SEQ ID:
44.

El invento también incluye un polipéptido que tiene al menos 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% de identidad y/o similitud con un polipéptido divulgado en SEQ ID NO: 44.

El invento también incluye un polipéptido que tiene la secuencia divulgada en SEQ ID:
46.

El invento también incluye un polipéptido que tiene al menos 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% de identidad y/o similitud con un polipéptido divulgado en SEQ ID NO: 46.

El invento también incluye un polipéptido que tiene la secuencia divulgada en SEQ ID:
48.

El invento también incluye un polipéptido que tiene al menos 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% de identidad y/o similitud con un polipéptido divulgado en SEQ ID NO: 48.

Los polipéptidos del invento se pueden aislar a partir de fuentes de células naturales o se pueden sintetizar de manera química, pero preferiblemente son producidos mediante procedimientos recombinantes que involucran células huésped del invento. Se espera que utilizar células huésped mamíferas proporciona tales modificaciones post- traslacionales (ej., glicosilación, truncación, lipidación, y fosforilación) según pueda ser necesario para conferir actividad biológica óptima sobre productos de expresión recombinante del invento. Las formas glicosiladas y no glicosiladas de los polipéptidos CD163 novedosos son incluidas.

La sobreexpresión de huéspedes eucarióticos y procarióticos como se describió anteriormente facilita el aislamiento de polipéptidos CD163. Por lo tanto el invento incluye polipéptidos CD163 aislados como se divulga en SEQ ID NO: 2, 14, 19, 24, 27, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48 y variantes y sustituciones aminoácidas conservadoras incluyendo polipéptidos rotulados y marcados.

El invento incluye polipéptidos CD163 novedosos que son "rotulados". El termino "rotulado" se utiliza en la presente para referirse a la conjugación o unión covalente de cualquier grupo detectable apropiado, incluyendo enzimas (ej., peroxidasa de rábano, beta- glucuronidasa, fosfatasa alcalina, y beta- D- galactosidasa), rótulos fluorescentes (ej., fluoresceína, luciferasa), y

334
332

radiorótulos (ej., ^{14}C , ^{125}I , ^3H , ^{32}P , ^{35}S) al compuesto siendo rotulado. Las técnicas para rotular varios compuestos, incluyendo proteínas, polipéptidos, y anticuerpos, son bien conocidas, Ver, ej., Morrison, Métodos en Enzimología 32b, 103 (1974); Syvanen, J. Biol. Chem. 284, 3763 (1973); Bolton y Hunter, Biochem. J. 133, 529 (1973). El término rotulado también puede incluir un polipéptido que tiene covalentemente fijada un marcador aminoácido como se discutió anteriormente.

Además, los polipéptidos CD163 novedosos del invento se pueden rotular indirectamente. Esto involucra la adición covalente de una fracción del polipéptido y acoplamiento subsiguiente de la fracción agregada a un rotulo o compuesto rotulado que exhibe unión específica a la fracción rotulada. Las posibilidades para rotulación indirecta incluyen biotinylation del polipéptido seguido por unión a avidina acoplada a uno de los anteriores grupos rotulados. Otro ejemplo sería incubar un anticuerpo radiorotulado específico para un marcador de histidina con un polipéptido CD163s comprendiendo un marcador de polihistidina. El efecto neto es fijar el anticuerpo radioactivo al polipéptido debido a la considerable afinidad del anticuerpo para el marcador.

El invento también incluye variantes (o análogos) de la proteína CD163 novedosa. En un ejemplo, los variantes de inserción son proporcionados en donde uno o más residuos aminoácidos suplementan una secuencia de aminoácidos CD163 novedosa. Las inserciones se pueden localizar en cualquiera o ambos términos de la proteína, o se pueden colocar dentro de las regiones internas de la secuencia de aminoácidos de proteína CD163 novedosa. Los variantes insercionales con residuos adicionales en cualquiera o ambos términos pueden incluir por ejemplo, proteínas de fusión y proteínas incluyendo rótulos o marcadores aminoácidos. Los variantes de inserción incluyen polipéptidos CD163 novedosos en donde uno o más residuos aminoácidos son agregados a una secuencia ácida CD163, o a un fragmento biológicamente activo de la misma.

Por lo tanto los variantes insercionales también pueden incluir proteínas de fusión en donde los términos amino y/o carboxilo del polipéptido CD163 novedoso es fusionado a otro polipéptido. Varios polipéptidos marcadores y sus respectivos anticuerpos son bien conocidos en el estado de la técnica. Ejemplos incluyen poli- histidina (poly- his) o marcadores de poly- histidina- glicina (poly- his- gly); el polipéptido marcador HA de influenza y su anticuerpo 12CA5 [Field, Mol. Cell. Biol., 8:2159- 2165 (1988)]; el marcador c- myc y los anticuerpos 8F9, 3C7, 6E10, G4, B7 y 9E10 de los mismos [Evan., Biología Molecular y Celular, 5:3610- 3616

(1985)], y el marcador de glicoproteína D (gD) del virus Simplex Herpes y su anticuerpo [Paborsky, Protein Engineering, 3(6):547- 553 (1990)]. Otros polipéptidos marcadores incluyen el péptido señal (Flag) [Hopp, BioTechnology, 6:1204- 1210 (1988)]; el péptido de epítipo KT3 [Martin, Science, 255:192- 194 (1992)]; un péptido epítipo de alfa- tubulina [Skinner, J. Biol. Chem., 266:15163- 15166 (1991)]; y el marcador peptídico del bacteriófago T7 gen proteína 10 [Lutz- Freyermuth, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 87:6393- 6397 (1990)]. Además, el polipéptido CD163 puede ser marcado con proteínas enzimáticas tales como peroxidasa y fosfatasa alcalina.

En otro aspecto, el invento proporciona variantes de supresión en donde uno o más residuos aminoácidos en un polipéptido CD163 novedosos es retirado. Las supresiones se pueden realizar en uno o ambos términos del polipéptido CD163 novedoso, o con la remoción de uno o más residuos dentro de la secuencia de aminoácidos CD163 novedosa. Por lo tanto, los variantes de supresión incluyen todos los fragmentos del polipéptido CD163 novedoso.

Los polipéptidos CD163 contienen una región de anclaje de transmembrana o membrana. Se debe reconocer que tales dominios de transmembrana son útiles cuando son expresados en el contexto de una proteína heteróloga para ayudar en la dirección de la proteína heteróloga hacia las membranas. También se debe reconocer que puede ser ventajoso suprimir algunos dominios de transmembrana para mejorar la purificación o solubilidad de la proteína. Variantes suprimidos de transmembrana de CD163 y polinucleótidos que los codifican son de valor potencial como terapéuticos antivirales. Tales variantes son específicamente divulgados en la presente como SEQ ID NOs: 37- 40.

El presente invento también incluye variantes de los polipéptidos antes mencionados, es decir, polipéptidos que varían a partir de la secuencia de referencia mediante sustituciones aminoácidas conservadoras.

La sustituciones conservadoras de ejemplo son divulgadas en las Tablas 1, 2 y 3 en la sección anterior titulada "definiciones".

En aquellas situaciones donde es preferible aislar total o parcialmente los polipéptidos CD163 novedosos, la purificación se puede lograr utilizando métodos estándares bien conocidos por aquellos con experiencia en el estado de la técnica. Tales métodos incluyen, varios tipos de cromatografía (inmunoafinidad, tamiz molecular, y/o intercambio iónico), y/o cromatografía líquida de alta presión. En algunos casos, puede ser preferible utilizar más de uno de estos métodos para completar la purificación.

La purificación de polipéptidos CD163 novedosos se puede realizar utilizando una variedad de técnicas. Si el polipéptido ha sido sintetizado tal que contiene un marcador tal como hexahistidina (CD163/hexaHis) u otro péptido pequeño tal como FLAG (Eastman Kodak Co., New Haven, Conn.) o myc (Invitrogen, Carlsbad, Calif.) ya sea en su término carboxilo o amino, esencialmente se puede purificar en un proceso de un paso al pasar la solución a través de una columna de afinidad donde la matriz de columna tiene una alta afinidad para el marcador o para el polipéptido directamente (es decir, un anticuerpo monoclonal que reconoce específicamente CD163). Por ejemplo, la polihistidina se fija con gran afinidad y especificidad al nickel, por lo tanto se puede utilizar una columna de afinidad de nickel (tal como las columnas de nickel Qiagen TM) para purificación de CD163/polyHis. (Ver por ejemplo, Ausubel, eds., *Protocolos Actuales en Biología Molecular*, Sección 10.11.8, John Wiley & Sons, New York [1993]).

Aún si el polipéptido CD163 novedoso es preparado sin un rótulo o marcador para facilitar purificación, el CD163 novedoso de este invento puede ser purificado mediante cromatografía de inmunoafinidad. Para lograr esto, los anticuerpos específicos para polipéptidos CD163 se deben preparar por medios bien conocidos en el estado de la técnica.

Los anticuerpos generados contra los polipéptidos CD163 novedosos del invento se pueden obtener al administrar los polipéptidos o fragmentos que contengan los epítopos, análogos, o células a un animal, preferiblemente no humano, utilizando protocolos de rutina. Para la preparación de anticuerpos monoclonales, se puede utilizar cualquier técnica conocida en el estado de la técnica que proporcione anticuerpos producidos por cultivos de líneas celulares continuas. Ejemplos incluyen varias técnicas, tales como aquellas en Kohler, G. y Milstein, C, *Nature* 256: 495- 497 (1975); Kozbor, *Immunology Today* 4: 72 (1983); Cole, pg. 77- 96 en *Anticuerpos Monoclonales y Terapia de Cancer*, Alan R. Liss, Inc. (1985).

Donde los polipéptidos CD163 novedosos son preparados sin un marcador fijado, y no hay anticuerpos disponibles, se pueden utilizar otros procedimientos bien conocidos para purificación. Tales procedimiento incluyen, sin limitación, cromatografía de intercambio iónico, cromatografía de tamiz molecular, HPLC, electroforesis nativa en gel en combinación con elución en gel, enfoque preparativo isoelectrico (maquina/técnica "Isoprime", Hoefer Scientific). En algunos casos, dos o mas de estas técnicas se pueden combinar para lograr pureza aumentada.

Se debe entender que la definición de polipéptidos del invento pretende incluir polipéptidos que llevan modificaciones diferentes a inserción; supresión, o sustitución de

residuos aminoácidos. A manera de ejemplo, las modificaciones pueden ser de naturaleza covalente, e incluyen por ejemplo, unión química con polímeros, lípidos, otras fracciones orgánicas e inorgánicas.

Anticuerpos

También contemplados por el presente invento están los anticuerpos (ej., anticuerpos monoclonales y policlonales, anticuerpos de cadena simple, anticuerpos quiméricos, anticuerpos bifuncionales/biespecíficos, anticuerpos humanizados, anticuerpos humanos, y anticuerpos injertados de regiones determinantes complementarias (CDR), incluyendo compuestos los cuales incluyen secuencia CDR que específicamente reconocen un polipéptido del invento) específicos para CD163 novedoso o fragmentos del mismo.

El término "específico para," cuando se utiliza para describir anticuerpos del invento, indica que las regiones variables de los anticuerpos del invento reconocen y fijan polipéptidos CD163s exclusivamente (es decir, capaces de distinguir polipéptidos CD163s de otros polipéptidos conocidos en virtud de diferencias medibles en afinidad de fijación, a pesar de la existencia posible de identidad de secuencia localizada, homología, o similitud entre el CD163 novedoso y tales polipéptidos). Se debe entender que los anticuerpos específicos también pueden interactuar con otras proteínas (por ejemplo, S. aureus proteína A u otros anticuerpos en técnicas ELISA) a través de interacciones con secuencias fuera de la región variable de los anticuerpos, y en particular, en la región constante de la molécula. Los ensayos de clasificación para determinar especificidad de fijación de un anticuerpo del invento son bien conocidos y rutinariamente practicados en el estado de la técnica. Para una discusión completa de tales ensayos, ver Harlow (Eds), Anticuerpos Un Manual de Laboratorio; Cold Spring Harbor Laboratory; Cold Spring Harbor, NY (1988), Capítulo 6. Los anticuerpos que reconocen y fijan fragmentos de los polipéptidos CD163 del invento también son contemplados, siempre y cuando los anticuerpos sean ante todo específicos para polipéptidos CD163 novedosos. Los anticuerpos del invento se pueden producir utilizando cualquier método bien conocido y rutinariamente practicado en el estado de la técnica. Los anticuerpos no humanos se pueden humanizar mediante cualquier método conocido en el estado de la técnica. En un método los CDRs no humanos son insertados en una secuencia de anticuerpos humanos o secuencia de anticuerpos *consensus*. Luego se

358
336
pueden introducir cambios adicionales en el marco del anticuerpo para modular afinidad o inmunogenicidad.

Los anticuerpos del invento son útiles para, propósitos de diagnóstico para detectar o cuantificar CD163s, así como también purificación de CD163s. Los kits que comprenden un anticuerpo del invento para cualquiera de los propósitos también son incluidos. En general, un kit del invento también incluye un antígeno de control para el cual el anticuerpo es inmuno específico.

El presente invento es adicionalmente ilustrado, pero no limitado, por los siguientes ejemplos.

Ejemplo 1: La Transfección Temporal con CD163 porcino confiere permisividad a infección de virus PRRS a una línea celular no permisible. ARNm total a partir de células macrófagas alveolares porcinas se utilizó para construir una biblioteca de ADNc en el plásmido pCMV- Sport6.1 (Invitrogen), con el ADNc clonado entre los sitios *EcoRV* y *NotI*. Un miembro de esta biblioteca, cuando se aísla y temporalmente se transfecta en la línea celular BHK- 21 (riñón de hamster bebé), confirió un fenotipo PRRS- permisivo. Las células fueron cultivadas en medio Eagle modificado de Dulbecco (DMEM) suplementado con suero bovino fetal al 5% (FBS) en una atmósfera de CO₂ al 5% a 37°C. Los cultivos celulares fueron temporalmente transfectados utilizando 10.0 uL de Lipofectamina 2000 (Invitrogen) y 2.0 ug de plásmido. Una monocapa duplicada fue transfectada con plásmido de control negativo pPAMB. Este plásmido es pCMV- Sport6.1 que carece de un inserto. La eficiencia de transfección fue monitoreada con un plásmido que expresa proteína fluorescente verde (GFP). Aproximadamente 24 horas después de la transfección, las monocapas fueron infectadas con genotipos ya sea Norteamericano (aislado P129) o Europeo (aislado 96V198) de virus PRRS. Para detección de replicación PRRS, las monocapas fueron fijadas utilizando acetona al 80% aproximadamente 24 horas después de la infección e incubadas durante aproximadamente 1 hora con anticuerpo monoclonal FITC-conjugado SDOW17 (Tecnologías Rurales Inc.). Este anticuerpo monoclonal es específico para un nucleocápside viral PRRS expresado a partir del marco de lectura 7 abierto. Un microscopio fluorescente invertido Nikon TE 300 con un objetivo 10x se utilizó para fotografiar una monocapa conteniendo células FITC positivas y una monocapa de control negativo.

Se confirmó que las células transfectadas se volvieron permisibles a ambos genotipos Norteamericano (aislado P129) y Europeo (aislado 96V198) de PRRSV. La expresión de los

339
337

genes virales se podría detectar en muchas de las células BHK transfectadas, y el virus de progenie fue fácilmente detectable en el sobrenadante. Las transfecciones de control utilizando vector sin inserto o plásmidos irrelevantes no confirieron permisividad.

El secuenciamiento del inserto en el plásmido funcional, utilizando el kit de Reacción de Secuencias Big Dye Terminator Versión 1.0 (Biosystems Aplicados, Foster City, CA) y el Analizador de ADN de Applied Biosystems 3730 (Applied Biosystems), reveló un gen que fue altamente homólogo al ADNc del gen CD163 porcino publicado (número de acceso Genbank AJ311716). El ADNc identificado contenía regiones sin traducir 5' y 3' adicionales relativas a AJ311716, y el marco de lectura abierto difirió en tres formas: (1) una supresión interna bp 738 cerca del extremo 5', (2) una extensión 15 bp del extremo 5' a un codón ATG corriente arriba, y (3) dieciséis cambios nucleótidos pronosticados para producir 10 cambios de aminoácidos. La identidad de secuencias nucleótidas entre las secuencias fue 99.4%. Las alineaciones con la secuencia CD163 porcina recién descubierta con la secuencia previamente reportada Aj311716 son mostradas en las figuras 1 y 2. El variante CD163 porcino novedoso fue designado "susCD163v1".

SECUENCIAS							ID NO
gtaataatac aagaagattt aaatgggcat aaaaccttgg aatggacaaa ctcagaatgg 60							SEQ ID NO:5
tgctacatga aaactctgga tctgcagacc tgaaactgag agtggtagat ggagtcactg 120							
aatgttcagg aagattggaa gtgaaattcc aaggagaatg gggaacaatc tgtgatgatg 180							
gctgggatag tgatgatgcc gctgtggcat gtaagcaact gggatgtcca actgctgtca 240							
ctgccattgg tcgagttaac gccagtgagg gaactggaca catttggett gacagtgttt 300							
cttgccatgg acacgagtct gctctctggc agtgtagaca ccatgaatgg ggaaagcatt 360							
attgcaatca taatgaagat gctgggtgtga catgttctga tggatcagat ctggaactga 420							
gacttaaagg tggaggcagc cactgtgtctg ggacagtgga ggtggaaatt cagaaactgg 480							
taggaaaagt gtgtgataga agctggggac tgaaagaagc tgatgtggtt tgcaggcagc 540							
tgggatgtgg atctgcactc aaaacatcat atcaagttta ttccaaaacc aaggcaacaa 600							
acacatggct gtttgtaagc agctgtaatg gaaatgaaac ttctcttttg gactgcaaga 660							
attggcagtg gggtggaactt agttgtgata actatgacga agccaaaatt acctgctcag 720							
cccacaggaa acccaggctg gttggagggg acattccctg ctctggtcgt gttgaagtac 780							
aacatggaga cacgtggggc accgtctgtg attctgactt ctctctggag gcggccagcg 840							
tgctgtgcag ggaactacag tgcggcactg tggtttccct cctgggggga gctcactttg 900							
gagaaggaag tggacagatc tgggctgaag aattccagtg tgagggggac gagtcccacc 960							

3A0

338

tttcaactctg cccagtagca ccccgccctg acgggacatg tagccacagc agggacgtcg	1020	
gcgtagtctg ctcaagatac acacaaatcc gcttggtgaa tggcaagacc ccatgtgaag	1080	
gaagagtggg gctcaacatt ctgggtccct gggggtcctt ctgcaactct cactgggaca	1140	
tggaaagtgc ccatgtttta tgccagcagc ttaaattgtg agttgccctt tctatcccgg	1200	
gaggagcacc ttttgggaaa ggaagtgagc aggtctggag gcacatgttt cactgcactg	1260	
ggactgagaa gcacatggga gattgttccg tcaactgctt gggcgcatca ctctgttctt	1320	
cagggcaagt ggcctctgta atctgctcag ggaaccagag tcagacacta tccccgtgca	1380	
attcatcatc ctgggaccca tcaagctcta ttatttcaga agaaaatggt gttgcctgca	1440	
tagggagtgg tcaacttcgc ctggctgatg gaggtggctg ttgtgctggg agagtagagg	1500	
tctatcatga gggctcctgg ggcacatct gtgatgacag ctgggacctg aatgatgcc	1560	
atgtgggtg caaacagctg agctgtggat gggccattaa tgccactggt tctgctcatt	1620	
ttggggaagg aacagggccc atttggctgg atgagataaa ctgtaatgga aaagaatctc	1680	
atatttggca atgccactca catggttggg ggcggcaca ttgcaggcat aaggaggatg	1740	
caggagtcac ctgctcggag ttcattgtctc tcagactgat cagtgaanaa agcagagaga	1800	
cctgtgcagg ggccttgaa gttttttaca acggagcttg gggcagcgtt ggcaagaata	1860	
gcattgtctc agccacagtg ggggtggtat gcaggcagct gggctgtgca gacagagggg	1920	
acatcagccc tgcatcttca gacaagacag tgtccaggca catgtgggtg gacaatgttc	1980	
agtgtcctaa aggacctgac accctatggc agtgccatc atctccatgg aagaagagac	2040	
tggccagccc ctgagaggag acatggatca catgtgcaa caaataaga cttcaagaag	2100	
gaaacactaa ttgttctgga cgtgtggaga tctgttacgg aggttcctgg ggcactgtgt	2160	
gtgacgactc ctgggacctt gaagatgctc aggtgtgtg ccgacagctg ggctgtggct	2220	
cagctttgga ggcaggaaaa gaggcgcac ttggccaggg gactgggccc atatggctca	2280	
atgaagtga gtgcaagggg aatgaaacct ccttgtggga ttgtcctgcc agatcctggg	2340	
gccacagtga ctgtggacac aaggaggatg ctgctgtgac gtgttcagaa attgcaaga	2400	
gccgagaatc cctacatgcc acaggtcgct catcttttgt tgcaacttgc atctttggg	2460	
tcattctgtt ggcctgtctc atcgcatccc tcatttggac tcagaagcga agacagaggc	2520	
agcggtcttc agttttctca ggaggagaga attctgtcca tcaattcaa taccgggaga	2580	
tgaattcttg cctgaaagca gatgaaacgg atatgctaaa tccctcagga gaccactctg	2640	
aagtacaatg aaaaggaaaa tgggaattat aacctggtga gttcagcctt taagatacct	2700	
tgatgaagac ctggactatt gaatgagcaa gaatctgcct cttacactga agattacaat	2760	
acagtccctc gtctcctggt attccaaaga ctgctgttga atttctaaa aatagattgg	2820	
tgaatgtgac tactcaaatg tgtatgtaag actttcaagg gcattaaata aaaaagaata	2880	
ttgctgaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa	2930	
1 M D K L R M V L H E F S G S A D L R L R		SEQ ID
1 atggacaaactcagaatgggtgctacatgaaaactctggatctgcagacctgaaactgaga		
21 V V D G V T E C S G R L E V K F Q G E W		
61 gtggtagatggagtcactgaatgttcaggaaagattggaagtgaattccaaggagaatgg		

34

339

41	G T I C D D G W D S D D A A V A C K Q L	NO:1 and 2
121	ggaaacatctgtgatgctgggtagtgatgacccgtgtggcatgtaagcaactg	
61	G C P T A V T A I G R V N A S E G T G H	
181	ggatgtccaactgctgtcactgccattgggtcgagttacgccagtgagggaactggacac	
81	I W L D S V S C H G H E S A L W Q C R H	
241	atttggttgacagtgtttcttggcatggacacagtgctgtctctggcagtgtagacac	
101	H E W G K H Y C N H N E D A G V T C S D	
301	catgaatggggaaagcattattgcaatcataatgaagatgctggtgtgacatgttctgat	
121	G S D L E L R L X G G G S H C A G T V E	
361	ggatcagatctggaactgagacttaagggtggaggcagccactgtgctgggacagtggag	
141	V E I Q K L V G X V C D R S W G L K E A	
421	gtggaaattcagaactggttaggaaaagtgtgtgatagaagctggggactgaaagaagct	
161	D V V C R Q L G C G S A L K T S Y Q V Y	
481	gatgtggtttgcaggcagctgggatgtggatctgcactcaaacatcatatcaagtttat	
181	S K T K L F V S S C N G N E T	
541	tccaaaaccaaggcaacaacacatggctgtttgtaagcagctgtaatggaatgaaact	
201	S L W D C K N W Q W G G L S C D H Y D E	
601	tctctttgggactgcaagaattggcagtggtggacttagttgtgatcactatgacgaa	
221	A K I T C S A H R K P R L V G G D I P C	
661	gccaaaattacctgtcagccacaggaacccaggctgggtggggggacattccctgc	
241	S G R V E V Q H G D T W G T V C D S D F	
721	tctggtcgtgttgagtagaacatggagacacgtggggcaccgtctgtgattctgacttc	
261	S L E A A S V L C R E L Q C G T V V S L	
781	tctctggaggcgccagcgtgctgtgcagggaactacagtgggcactgtggtttccctc	
281	L G G A H F G E G S G Q I W A E E F Q C	
841	ctggggggagctcactttggagaaggaagtgagacagatctgggctgagaattccagtg	
301	E G H E L S L C P V A P R P D G T C	
901	gaggggcacagagtcaccactttcactctgccagtagcaccgccctgacgggacatgt	
321	S H S R D V G V V C S R Y T Q I R L V N	
961	agccacagcaggagcgtgcggtagtctgtcaagatacacacaaatccgcttggtgaat	
341	G K T P C E G R V E L N I L G S W G S L	
1021	ggcaagaccccatgtgaaggaagagtgagctcaacattcttgggtcctgggggtccctc	
361	C N S H W D M E D A H V L C Q Q L K C G	
1081	tgcaactctcactgggacatggaagatgcccatgtttatgccagcagcttaaatgtgga	
381	V A L S I P G G A P F G K G S E Q V W R	
1141	gttgcctttctatcccgaggagcacttttgggaaaggaagtgagcaggtctggagg	
401	H M F H C T G T E K H M G D C S V T A L	
1201	cacatgtttcactgcaactgggactgagaagcacatgggagattgttccgtcactgctctg	
421	G A S L S S G Q V A S V I C S G N Q S	
1261	ggcgcatcactctgttcttcagggaagtggcctctgtaatctgtcagggaaccagagt	
441	Q T L S P C N S S S S D P S S S I I S E	
1321	cagacactatccccgtgcaattcatcatcctcgacccatcaagctctattatttcagaa	
461	E N G V A C I G S G Q L R L V D G G G R	
1381	gaaatgtgtgttcctgcatagggagtggtcaacttcgctggtcgatggaggtggtcgt	
481	C A G R V E V Y H E G S W G T I C D D S	
1441	tgtgtgggagagtagaggtctatcatgagggctcctggggcaccatctgtgatgacagc	
501	W D L N D A H V V C K Q L S C G W A I N	
1501	tgggacctgaatgatgcccatgtggtgtgcaaacagctgagctgtggatgggccattaat	
521	A T G S A H F G E G T G P I W L D E I N	
1561	gccactggttctgctcattttggggaaggaacaggggccatttggctggatgagataaac	
541	C N G K E S H I W Q C H S H G W G R H N	
1621	tgtaatggaaaagaatctcatatttggcaatgccactcacatggttggggggcgacacat	
561	C R H K E D A G V I C S E F M S L R L I	
1681	tgaggcataaggaggatgcaggagtcactgtcggagttcatgtctctcagactgatc	
581	S E N S R E T C A G R L E V F Y N G A W	
1741	agtgaacacagcagagagacctgtgcaggggcctggaagtttttacaacggagcttgg	
601	G S V G K N S M S P A T V G V V C R Q L	
1801	ggcagcgttggcaagaatagcatgtctccagccacagtgggggtggtatgcaggcagctg	
621	G C A D R G D I S P A S S D K T V S R H	
1861	ggctgtgcagacagaggggacatcagccctgcactcttcagacaagacagtgctccaggcac	
641	M W V D N V Q C P K G P D T L W Q C P S	
1921	atgtgggtggacaatgttccagtgtcctaaaggacctgacacccctatggcagtgcccatca	
661	S P W K K R L A S P S E E T W I T C A N	
1981	tctccatggaagaagagactggccagccctcagaggagacatggatcacatgtgccaac	
681	K I R L Q E G N T N C S G R V E I W Y G	
2041	aaaataagacttcaagaaggaaacactaattgttctggacgtgtggagatctggtacgga	
701	G S W G T V C D D S W D L E D A Q V V C	
2101	ggttcctggggcactgtgtgtgacgactcctgggaccttgaagatgctcaggtggtgtgc	
721	R Q L G C G S A L E A G K E A A F G Q G	
2161	cgacagctgggctgtggtcagcttggaggcaggaaaagaggccgcatgtggccagggg	
741	T G P I W L N E V K C K G N E T S L W D	

342
340

2221	actgggccc	atatgggtc	aatgaagt	gaagtgc	aaagggga	atgaaac	ctcctt	gtgggat	
761	C P A R S	W G H S	D C G H	K E D A	A V T				
2281	tgtcctg	ccagatc	ctggggc	ccacagt	gactgtg	gacaca	aggaggat	gctgctg	gacg
781	C S E I A	K S R E	S L H A	T G R S	S F V				
2341	tgttcaga	aattgca	agagccg	agagaat	ccctaca	tgcacag	gtcgctc	atctttt	gtt
801	A L A I F	G V I L	L A C L	I A F L	I W T				
2401	gcacttg	caatctt	ttgggtc	attctgt	tggcctg	tctcatc	gcattctc	atttgga	ct
821	Q K R R Q	R Q R L	S V F S	G G E N	S V H				
2461	cagaagc	gaagaca	gagggcg	gcgtctc	agttttc	tccaggag	agagaa	ttctgtcc	at
841	Q I Q Y R	E M N S	C L K A	D E T D	M L N				
2521	caaattc	aataccg	ggagatg	aattctt	gcctgaa	agcagat	gaaacg	gatatg	ctaaat
861	P S G D H	S E V Q							
2581	ccctcagg	agaccact	ctgaag	tacaa					
1	MDKLRMVLHE	NSGSADLKLR	VVDGVTECSG	RLEVRFQGEW	GTICDDGWDS				
51	DDAAVACKQL	GCPTAVTAIG	RVNASEGTGH	IWLDSVBCNG	HESALWQCRH				
101	HEWGHYCNH	WEDAGVTCSD	GSDLELRKLG	GGSHCAGTVE	VEIQKLVGKV				
151	CDRSWGLKEA	DVVCRLGCG	SALKTSYQVY	SKTKATNTWL	FVSSCNGNET				
201	SLWDCKNWQM	GGLSCDHYDE	AKITCSAHRK	PRLVGGDIPC	SGRVEVQHGQ				
251	TWGTVCDSDF	SLEAASVLCR	ELQCGTVVSL	LGGAHFEGGS	GQIWAKEPQC				
301	EGHESHLSLC	PVAPRPDGTG	SHSRDVGVC	SRYTQIRLVN	GKTPCEGRVE				
351	LNILGSWGLS	CNSHWDNEDA	HVLCQQLKCG	VALSIPGGAP	FGRGSEQVWR				
401	HMFHCTGTET	HMGDCSVTAL	GASLCSSGQV	ASVICSGNQS	QTLSPCNSSS				
451	SDPSSSIISE	ENGVACIGSG	QLRLVDGGGA	CAGRVEVYHE	GSWGTICDDS				
501	WDLNDAHVVC	KQLSCGNAIN	ATGSAHFEGG	TGPIWLDEIN	CNGKESHIWQ				
551	CHSHGWGRHN	CRHKEDAGVI	CSEFMSLRLI	SENSRETCAG	RLEVIFYNGAN				
601	GSVGNKNSMP	ATVGVCRCQL	GCADRGDISP	ABSDKTVSRH	MWVDWVQCPK				
651	GPOTLWQCPS	SPWKKRLASP	SEETWITCAN	KIRLQEGNTN	CSGRVEIWIYG				
701	GSWGTVCDDS	WDLEDAQVVC	RQLGCGSALE	AGKEAAFGGQ	TGPIWLNEVK				
751	CKGNETSLWD	CPARSWGHSQ	CGHKEDAAVT	CSEIAKSRES	LHATGRSSFP				
801	ALATFGVYLL	ACLIATFLIWT	QKRRQRQLS	VFSGGENSVH	QIQYREMNSC				
851	LKADETDMLN	PSGDHSEVQ							

Ejemplo 2: Construcción de plásmido pCMVsusCD163v1

La construcción del plásmido pCMVsusCD163v1 se realizo como sigue. El clon funcional identificado en la biblioteca de ADNc macrófago porcino primario confiriendo permisividad PRRSV sirvió como modelo para amplificación PCR del inserto CD163, incluyendo las regiones no traducidas 5' y 3', utilizando los cebadores 5'DS- CD 163 (SEQ ID NO:6) (5'-CGGAATTCCGCGGATGTAATAATAACAAGAAGAAGA- 3') Y 3'CD163 (SEQ ID NO:7) (5'CCGCTCGAGTGTCCAGGTCTTCATCATCAAGGTYATCTT- 3'). El cebador 5'ds- cd163 incorpora un sitio de restricción *SacII* en el extremo 5' del inserto CD163, mientras el cebador 3'CD163 incorpora un sitio de restricción *XhoI* en el extremo 3' del inserto (subrayado). Las reacciones que contienen 190 ng de plantilla de plásmido fueron amplificadas utilizando Platinum *Pfx* ADN polimerasa (Invitrogen cat # 11708- 013) siguiendo las instrucciones del fabricante. Las reacciones fueron calentadas a 94° durante 2 minutos luego pasadas 35 veces a través de 94°C durante 20 segundos, 55° durante 30 segundos, y 68° durante 3.5 minutos seguido por una extensión terminal a 72° durante 7 minutos. Los productos PCr resultantes fueron purificados utilizando el kit de purificación PCR Qiaquick (Qiagen cat #28104), digeridos con enzimas de restricción *SacII* y *XhoI*, y los fragmentos resultantes fueron purificados con gel

343
341

utilizando el kit de Extracción de Gel Qiaquick (Qiagen cat #28704). Luego el fragmento PCR CD163 fue ligado al plásmido pCMV- Scrip (Stratagene cat # 212220) preparado para aceptar el fragmento PCR digerido mediante digestión con *SacII* y *XhoI* seguido por la purificación en gel descrita anteriormente. El material ligado fue transformado en la cepa *E. coli* DH5alfa y los recombinantes fueron seleccionados mediante crecimiento en 50 µg/ml de canamicina e identificados mediante análisis de restricción. El plásmido resultante, "pCMVsusCD163v1" contiene el inserto CD163 porcino internamente suprimido descrito en el Ejemplo 1 bajo el control transcripcional del promotor CMV eucariótico y el gen de resistencia de neomicina/canamicina bajo el control ambos promotores eucariótico y procariótico.

Ejemplo 3: Construcción del vector de expresión pRSV- Scrip y pRSVsusCD163v1

El plásmido pRc/RSV (Invitrogen) se utilizó como un modelo para amplificación PCR del promotor RSV. La secuencia promotora RSV fue contenida dentro de los nucleótidos 209 a 604 de pRc/RSV. Cebador delantero PCIRSVLTR(SEQ ID NO:8)(5'-

ACACTCGACATGTCGATGTACGGGCCAGATATACGCGT- 3') y cebador inverso VSRRTLSAC (SEQ ID NO:9) fueron sintetizados. Los sitios de reconocimiento *Pci I* y *Sac I* de endonucleasa de restricción (subrayados) fueron incorporados en los cebadores 5' y 3', respectivamente, para clonación futura. PCR se realizó utilizando el kit HotMaster Taq Polimerase (Eppendorf) siguiendo las instrucciones del fabricante. Las reacciones contuvieron 0.9 ng de plásmido modelo pRc/RSV y 0.3µM de cada cebador descrito anteriormente. Las reacciones fueron calentadas a 94° durante 2 minutos luego pasadas 30 veces a través de 94° durante 20 segundos, 52° durante 10 segundos, y 65° durante 1 minuto. El fragmento PCR resultante fue digerido con enzimas de restricción *Pci I* y *Sac I*, purificado con gel, y clonado en el plásmido pCMV- Scrip (Stratagene) que se ha digerido de manera similar para retirar la secuencia promotora CMV. El constructo final colocó el promotor RSV inmediatamente corriente arriba del multiple sitio de clonación, y se denominó "pRSV- Script".

El inserto susCD163v1 fue clonado detrás del promotor RSV como sigue. La secuencia susCD163v1 fue escindida del plásmido pCMVsusCD163v1 mediante digestión restrictiva (*kpn I* y *Sac II*) y purificada por gel. Este fragmento fue ligado a pRSV- Scrip el cual también ha sido digerido con las mismas enzimas y purificado con gel. La mezcla de ligación fue transformada en

344
342

DH5alfa *E. coli* y los transformantes seleccionados utilizando canamicina a 50 ug/ml. El clon con el inserto correcto fue designado "pRSVsusCD163v1".

Ejemplo 4: La clonación y caracterización de un variante más largo de ADNc de CD163 porcino

Con base en la secuencia CD163v1 porcina, un cebador delantero 5'CD163NotIlong (SEQ ID NO:10) (5'-CGGTCCGGAGCGGCCGCGATGTAATAATAACAAGAAGATTTAAATGG-3') y un cebador inverso 3'CD163KpnI (SEQ ID NO:11) (5'-CGGTTGGTACCCAGCAATATTCTTTTTTATTTAATGCC-3') fueron diseñados utilizando el programa Lasergene PrimerSelect (DNASTAR Inc., Madison WI) para amplificación de un gen CD163 porcino de longitud completa. Los sitios de endonucleasa de restricción para *Not* I y *Kpn* I (subrayados) fueron incluidos en los cebadores 5' y 3', respectivamente, para permitir clonación conveniente. El ARN celular total se preparó a partir de macrófagos alveolares primarios (PAM) cosechados a partir de lavados de pulmón de cerdos saludables. La preparación de ARN se realizó utilizando el mini kit RNeasy (Qiagen, Valencia, Ca). Las reacciones RT-PCR fueron preparadas utilizando RT-PCR de un paso SuperScript para kit Long Templates (Invitrogen, Carlsbad, CA) y los parámetros RT-PCR fueron configurados como sigue: 50°C durante 30 min, 94°C durante 2 minutos, (94°C 30 seg, 55°C 30 seg, y 68°C 4 min) para 35 ciclos, 72°C durante 10 min. Los productos PCR fueron analizados sobre geles de agarosa GTG SeaKem al 0.8%. Los productos RT-PCR de varios tamaños fueron cortados a partir de geles de agarosa y el ADN fue extraído utilizando el kit GeneClean (QBiogene). Estos productos RT-PCR fueron clonados en el vector de clonación pCR2.1-TOPO (Invitrogen). Los clones fueron analizados mediante digestión de enzimas de restricción para la presencia de un inserto. Las colonias conteniendo insertos fueron secuenciados utilizando el kit de Reacción de Secuencias Big Dye Terminator Versión 1.0 (Applied Biosystems, Foster City, CA) y el analizador de ADN Applied Biosystems 3730 para confirmar la autenticidad de secuencias. Las secuencias fueron editadas y ensambladas utilizando los programas Lasergene EditSeq y SeqMan (DNASTAR Inc., Madison WI). Un plásmido con un inserto grande fue designado "pCRsusCD163v2" (pCR2.1 conteniendo el variante CD163 porcino 2 el cual ha sido designado SEQ ID NO:12). La secuencia codificadora contenida dentro de SEQ ID NO:12 es reproducida a

245
343

continuación y es designada SEQ ID:13. El análisis de secuencia mostró que este CD163 codifica una secuencia de aminoácidos de 1115 aminoácidos los cuales hemos designado SEQ ID NO:14. Cuando se compara con la secuencia CD163 porcina en GenBank (No. de Acceso AJ311716), nuestra secuencia CD163v2 es 98.9% idéntica al nivel aminoácido. CD163v2 también tiene 5 residuos aminoácidos adicionales en el extremo 5', extendiendo el marco de lectura abierto a un codón de iniciación ATG de no corrimiento (in- frame) corriente arriba (como en la secuencia CD163v1 porcina descrita en el ejemplo 1). El CD163 porcino es 84.3% idéntico al CD163 humano (Número de Acceso GenBank Z22968), y 73.7% idéntico al CD163 de ratón (Número de Acceso GenBank AF274883) al nivel aminoácido. La secuencia de señal pronosticada y la región de transmembrana de SEQ ID NO:14 son indicadas por subrayado y negrilla respectivamente. Determinar si otras secuencias de CD163 contienen características de secuencia similares es fácil mediante inspección de la secuencia.

SECUENCIA	ID NO
<u>gtaataatac</u> <u>aagaagattt</u> <u>aaatggcata</u> <u>aaaccttggg</u> <u>atggacaaac</u> <u>tcagaatggt</u> 60	SEQ ID NO:12
<u>gctacatgaa</u> <u>aactctggat</u> <u>ctgcagactt</u> <u>tagaagatgt</u> <u>tctgcccatt</u> <u>taagttcctt</u> 120	
<u>cacttttgct</u> <u>gtagtgcgtg</u> <u>ttctcagtgc</u> <u>ctgcttggtc</u> <u>actagttctc</u> <u>ttggaggaaa</u> 180	
<u>agacaaggag</u> <u>ctgaggctaa</u> <u>cgggtggtga</u> <u>aaacaagtgc</u> <u>tctggaagag</u> <u>tggagggtgaa</u> 240	
<u>agtgcaggag</u> <u>gagtggggaa</u> <u>ctgtgtgtaa</u> <u>taatggctgg</u> <u>gacatggatg</u> <u>tggctctctgt</u> 300	
<u>tgtttgtagg</u> <u>cagctgggat</u> <u>gtccaactgc</u> <u>tatcaaagcc</u> <u>actggatggg</u> <u>ctaattttag</u> 360	
<u>tgcaggttct</u> <u>ggagcgattt</u> <u>ggatggatca</u> <u>tgtttcttgt</u> <u>cgagggaatg</u> <u>agtcagctct</u> 420	
<u>ctgggactgc</u> <u>aaacatgatg</u> <u>gatggggaaa</u> <u>gcataactgt</u> <u>actcaccaac</u> <u>aggatgctgg</u> 480	
<u>agtaacctgc</u> <u>tcagatggat</u> <u>ctgattttag</u> <u>gatggggctg</u> <u>gtgaatggag</u> <u>gaaaccgggtg</u> 540	
<u>cttaggaaga</u> <u>atagaagtca</u> <u>aatttcaagg</u> <u>acggtgggga</u> <u>acagtgtgtg</u> <u>atgataactt</u> 600	
<u>caacataaat</u> <u>catgcttctg</u> <u>tggtttgtaa</u> <u>acaacttgaa</u> <u>tgtggaagtg</u> <u>ctgtcagttt</u> 660	
<u>ctctggttca</u> <u>gctaattttg</u> <u>gagaagggtc</u> <u>tggaccaatc</u> <u>tggtttgatg</u> <u>atcttgtatg</u> 720	
<u>caatggaaat</u> <u>gagtcagctc</u> <u>tctggaactg</u> <u>caaacatgaa</u> <u>ggatggggaa</u> <u>agcacaattg</u> 780	
<u>cgatcatgct</u> <u>gaggatgctg</u> <u>gagtgatttg</u> <u>cttaaattgga</u> <u>gcagacctga</u> <u>aactgagagt</u> 840	
<u>ggtagatgga</u> <u>gtcactgaat</u> <u>gttcaggaag</u> <u>attggaagtg</u> <u>aaattccaag</u> <u>gagaatgggg</u> 900	
<u>aacaatctgt</u> <u>gatgatggct</u> <u>gggatatgta</u> <u>tgatgccgct</u> <u>gtggcatgta</u> <u>agcaactggg</u> 960	
<u>atgtccaact</u> <u>gctgtcactg</u> <u>ccattggctg</u> <u>agttaacgcc</u> <u>agtgagggaa</u> <u>ctggacacat</u> 1020	
<u>ttggcttgac</u> <u>agtgtttctt</u> <u>gccatggaca</u> <u>cgagtctgct</u> <u>ctctggcagt</u> <u>gtagacacca</u> 1080	
<u>tgaatgggga</u> <u>aagcattatt</u> <u>gcaatcatga</u> <u>tgaagatgct</u> <u>ggtgtgacat</u> <u>gttctgatgg</u> 1140	
<u>atcagatctg</u> <u>gaactgagac</u> <u>ttaaagggtg</u> <u>aggcagccac</u> <u>tgtgctggga</u> <u>cagtggagggt</u> 1200	

346
344

ggaaattcag aaactggtag gaaaagtgtg tgatagaagc tggggactga aagaagctga	1260
tgtggtttgc aggcagctgg gatgtggatc tgcactcaaa acatcatatc aagtttattc	1320
caaaaccaag gcaacaaaca catggctgtt tgtaagcagc tgtaatggaa atgaaaectc	1380
tctttgggac tgcaagaatt ggcagtgggg tggacttagt tgtgatcact atgacgaagc	1440
caaaattacc tgctcagccc acaggaaacc caggctgggt ggaggggaca ttcctgctc	1500
tggctgtgtt gaagtacaac atggagacac gtggggcacc gtctgtgatt ctgacttctc	1560
tctggaggcg gccagcgtgc tgtgcaggga actacagtgc ggcactgtgg tttccctcct	1620
ggggggagct cactttggag aaggaagtgg acagatctgg gctgaagaat tccagtgtga	1680
ggggcacgag toccaccttt cactctgccc agtagcacc cgccctgacg ggacatgtag	1740
ccacagcagg gacgtcggcg tagtctgctc aagatacaca caaatccgct tggtgaaatgg	1800
caagacccca tgtgaaggaa gagtggagct caacattctt gggtcctggg ggtccctctg	1860
caactctcac tgggacatgg aagatgcccc tgttttatgc cagcagctta aatgtggagt	1920
tgccctttct atccccggag gagcaccttt tgggaaagga agtgagcagg tctggaggca	1980
catgtttcac tgcactggga ctgagaagca catgggagat tgttccgtca ctgctctggg	2040
cgcacactc tgttcttcag ggcaagtggc ctctgtaatc tgctcaggga accagagtca	2100
gacactatct ccgtgcaatt catcatctc ggacccatca agctctatta tttcagaaga	2160
aaatggtgtt gcctgcatag ggagtggta acttcgcctg gtcgatggag gtggtcgttg	2220
tgctgggaga gtagaggtct atcatgaggg ctccctgggg accatctgtg atgacagctg	2280
ggacctgaat gatgcccag tgggtgtgaa acagctgagc tgtggatggg ccattaatgc	2340
cactggttct gtcattttt gggaaggaa agggccatt tggctggatg agataaactg	2400
taatggaaaa gaatctcata tttggcaatg ccactcacat ggttgggggc ggcacaattg	2460
caggcataag gaggatgcag gagtcatctg ctgagagttc atgtctctga gactgatcag	2520
tgaaaacagc agagagacct gtgcagggcg cctggaagtt ttttacaacg gagcttgggg	2580
cagcgttggc aggaatagca tgtctccagc cacagtgggg gtggtatgca ggcagctggg	2640
ctgtgcagac agaggggaca tcagccctgc atcttcagac aagacagtgt ccaggcacat	2700
gtgggtggac aatgttcagt gtcctaaagg acctgacaca ctatggcagt gccatcatc	2760
tccatggaag aagagactgg ccagcccctc agaggagaca tggatcacat gtgccaacaa	2820
aataagactt caagaaggaa acactaattg ttctggacgt gtggagatct ggtacggagg	2880
ttctggggc actgtgtgtg acgactcctg ggaccttgaa gatgtcagg tgggtgtccg	2940
acagctgggc tgtggctcag ctttggaggc aggaaaagag gccgcatttg gccaggggac	3000
tggggccata tggctcaatg aagtgaagt caaggggaat gaaacctcct tgtgggattg	3060
tcctgccaga tcctggggcc acagtgactg tggacacaag gaggatgctg ctgtgacgtg	3120
ctcagaaatt gcaaagagcc gagaatccct acatgccaca ggtcgtcat cttttgttgc	3180
acttgcaatc tttgggttca ttctgttggc ctgtctcat gcattcctca tttggactca	3240
gaagcgaaga cagaggcagc ggctctcagt tttctcagga ggagagaatt ctgtccatca	3300

347
345

aattcaatac cgggagatga attcttgccct gaaagcagat gaaacggata tgctaaatcc	3360	SEQ ID NO:13 and14
ctcaggagac cactctgaag tacaatgaaa aggaaaatgg gaattataac ctggtgagtt	3420	
cagccttttaa gataccttga tgaagacctg gactattgaa tgagcaagaa tctgcctctt	3480	
acactgaaga ttacaataca gtccctctgtc tcctggtatt ccaaagactg ctgctgaatt	3540	
tctaaagaat agattggtga atgtgactac tcaaagttgt atgtaagact ttcaagggca	3600	
ttaaataaaa aagaatattg ctg	3623	
1 M D K L R M V L H E N S G S A D F R R C 1 atggacaaactcagaatgggtgctacatgaaaactctggatctgcagactttagaagatgt 21 S A H L S S F T F A V V A V L S A C L V 61 tctgccctttaaagtctccttcaacttttctgtgtagtcgctgttctcagtgccctgcttggtc 41 T S S L G G K D K E L R L T G G E N R C 121 actgattctcttggaggaaaagacaaggagctgaggctaacgggtggtgaaaacaagtgc 61 S G R V E V K V Q E E W G T V C N N G W 181 tctggaagagtgagggtgaaagtgcaggaggagtggggaactgtgtgtaataatggctgg 81 D M D V V S V V C R Q L G C P T A I K A 241 gacatggatgtggtctctgtgtgtttgttaggcagctgggatgtccaactgctatcaaagcc 101 T G W A N F S A G S G R I W M D H V S C 301 actggatgggctaatttttagtgcaggttctggacgcatttggatggatcatgtttcttctgt 121 R G N E S A L W D C K H D G W G K H N C 361 cgagggaatgagtcagctctctgggactgcaaactgatggatggggaagcataactgt 141 T H Q Q D D A G V T C S D G S D L E M G L 421 actcaccaacaggatgctggagtaacctgctcagatggatctgatttagagatggggctg 161 V N G G G W R C L G R I E V K F Q G R W G 481 gtgaatggaggaaaccgggtgcttaggaagaatagaagtcaaatttcaaggacgggtggga 181 T V C D D M F N I N H A S V V C K Q L E 541 acagtgtgtgatgataacttcaacataaatcatgcttctgtggtttgttaacaaacttgaa 201 C G S A V S F S G S A N F G E G S G P I 601 tgtggaagtgtctcagtttctctgttctcagctaattttggagaaggttctggaccaatc 221 W F D D L V C N G N E S A L W M C K H E 661 tggtttgatgatcttctgtatgcaatggaatgagtcagctctctggaactgcaaacatgaa 241 G W G K H N C D H A E D A G V I C L N G 721 ggatggggaagcacaattgcgatcatgctgaggatgctggagtgtattgcttaaatgga 261 A D L K L R V V D G V T E C S G R L E V 781 gcagacctgaaactgagagtggttagatggagtcactgaatgttcaggaagattggaagtg 281 K F Q G E W G T I C D D G W D S D D A A 841 aaattccaaggagaatggggaacaatctgtgatgtggctgggatagtgatgatgccgct 301 V A C K Q L G C P T A V T A I G R V N A 901 gtggcatgtaagcaactgggatgtccaactgctgtcactgccattggtcgagttaacgcc 321 S E G T G H I W L D S V S C H G H E S A 961 agtgagggaactggacacatttggcttgacagtgttcttggccatggacacagagtctgct 341 L W Q C R H H E W G K H Y C W H D E D A 1021 ctctggcagtgtagacaccatgaatggggaagcattattgcaatcatgatgaagatgct 361 G V T C S D G S D L E L R L K G G G S H 1081 ggtgtgacatgttctgtggtggtgacatctggaactgagacttaaggtggaggcagccac 381 C A G T V E V E I Q K L V G K V C D R S 1141 tgtgctgggacagtggaggtggaattcagaactggtaggaaaagtgtgtgtagagaagc 401 W G L K E A D V V C R Q L G C G S A L K 1201 tggggactgaaagaagctgatgtggtttgcaggcagctgggatgtggatctgcactcaaa 421 T S Y Q V Y S K T K A T N T W L F V S S 1261 acatcatatcaaagtttattccaaaaccaaggcaacaacacatggctgtttgttaagcagc 441 C N G N E T S L W D C K N W Q W G G L S 1321 tgtaaatggaatgaaacttctcttgggactgcaagaattggcagtggggtggacttagt 461 C D H Y D E A K I T C S A H R K P R L V 1381 tgtgatcactatgacgaagccaaattacctgtcagcccacaggaaccaggctggtt 481 G G D I P C S G R V E V Q H G D T W G T 1441 ggaggggacattccctgctctgtgtgttgaagtacaacatggagacacgtggggcacc 501 V C D S D F S L E A A S V L C R E L Q C 1501 gtctgtgattctgacttctcttggaggcggccagcgtgctgtgcagggaactacagtgc 521 G T V V S L L G G A H F G E G S G Q I W 1561 ggcactgtggtttccctcctgggggagctcactttggagaagggaagtggacagatctgg 541 A E E F Q C E G H E S H L S L C P V A P 1621 gctgaagaattccagtgtagggggcacgagtcacacctttcactctgccagtagcaccc 561 R P D G T C S H S R D V G V V C S R Y T 1681 cgccttgacgggacatgtagccacagcaggagcgtcggcgtagtctgctcaagatacaca		

348
346

581 Q I R L V N G K T P C E G R V E L N I L 1741 caaatccgcttggtgaatggcaagaccccatgtgaaggaagagtggagctcaacattctt 601 G S W G S L C N S H W D M E D A H V L C 1801 gggtcctgggggtccctctgcaactctcactgggacatggaagatgccatgttttatgc 621 Q Q L K C G V A L S I P G G A P F G X G 1861 cagcagcttaaatgtggagttgcctttctatcccgggaggagcaccttttgggaaagga 641 S E Q V W R H M F H C T G T E K H M G D 1921 agtgagcaggtctggaggcacatgtttcactgcactgggactgagaagcacatgggagat 661 C S V T A L G A S L C S S G Q V A S V I 1981 tgttccgtcactgctctgggcgcacactctgttcttcagggaagtggcctctgtaatc 681 C S G W Q S Q T L S P C N S S S S D P S 2041 tgctcagggaaaccagagtgcagacactatctccgtgcaattcatcctcggacccatca 701 S S I I S E E N G V A C I G S G Q L R L 2101 agctctattatttcagaagaaaatgggtgttcctgcatagggagtggtcaacttcgctg 721 V D G W R C A G R V E V Y H E G S W G 2161 gtcgatggaggtggtcgttctgtctgggagagtagaggtctatcatgagggtcctggggc 741 T I C D D S W D L N D A H V V C K Q L S 2221 accatctgtgatgacagctgggacctgaatgatgcccatgtggtgtgcaaacagctgagc 761 C G W A T G S A H F G E G T G P I 2281 tgtggatgggccattaatgccactggttctgtctatcttggggaaggaacagggccatt 781 W L D E I N C N G K E S H I W Q C H S H 2341 tggctggatgagataaactgtaatggaaaagaatctcatatttggcaatgccactcacat 801 G W G A W C R H K E D A G V I C S E F 2401 ggttggggcggcacaaattgcaggcataaggaggatgcaggagtcatctgctcagagttc 821 M S L R L I S E N S R E T C A G R L E V 2461 atgtctctgagactgatcagtgaanaacagcagagagacctgtgcaggggcgctggaagt 841 F Y N G S V G R N S M S P A T V G 2521 ttttacaacggagcttggggcagcgttggcaggaatagcatgtctccagccacagtgggg 861 V V C R Q L G C A D R G D I S P A S S D 2581 gtggtatgcaggcagctgggctgtgcagacagaggggacatcagccctgcattctcagac 881 K T V S R H M W V D N V Q C P K G P D T 2641 aagacagtgtccaggcacatgtgggtggacaatgttcagtgtcctaaaggacctgacaca 901 L W Q C P S S P W K K R L A S P S E E T 2701 ctatggcagtgcccatcatctccatggagaagagactggccagcccctcagaggagaca 921 W I T C A N K I R L Q E G N T N C S G R 2761 tggatcacatgtgccaaacaaaataagacttcaagaaggaacactaattgttctggacgt 941 V E I W Y G G S W G T V C D D S W D L E 2821 gtggagatctggtacggaggttcttggggcactgtgtgtgacgactcctgggacottgaa 961 D A Q V C R Q L G C G S A L E A G R E 2881 gatgctcaggtggtgtgccgacagctgggctgtggtcagctttggaggcaggaaaagag 981 A A F G Q G T G P I W L N E V K C K G N 2941 gccgcatttggcaggggactgggcccataatggctcaatgaagtgaagtgaagggggaat 1001 E T S L W D C P A R S W G H S D C G H X 3001 gaaacctccttgtgggattgtcctgccagatcctggggccacagtgactgtggacacaag 1021 E D A A V T C S E I A K S R E S L H A T 3061 gaggatgctgctgtgacgtgctcagaanaattgcaagagccgagaatccctacatgccaca 1041 G R S S V A L A I F G V I L L A C L I 3121 ggtcgtctcatcttttggcttgcacttgaactcttggggtcattctgttggcctgtctcctc 1061 A F L I W T Q K R R Q R Q R L S V F S G 3181 gcattcctcatttggactcagaagcgaagacagaggcagcggtctcagttttctcagga 1081 G E N S V H Q I Q Y R E M N S C L K A D 3241 ggagagaattctgtccatcaaattcaataccggggagatgaattcttgcctgaaagcagat 1101 E T D N L N P S G D H S E V Q 3301 gaaacggatatgctaaatccctcaggagaccactctgaagtacaa		SEQ ID NO:14
1	MDKLRMVLHE NSGSADFRRC SAHLSSFTFA VVAVLSACLV TSSLGCKDKE	
51	LRLTGGENKC SGRVEVKVQE EWGTVCNNGW DNDVVSVVC R QLGCPTAIKA	
101	TGNAMFSAGS GRIMMDHVSC RGNESALWDC KHDGNGKHNC THQQDAGVTC	
151	SDGSDLEMGL VWGGNRCLGR IEVKFQGRWG TVCDDNFNIN HASVVCKOLE	
201	CGSAVSFSGS ANFGEGSGPI WFDDLVCNGN EBALMNCKHE GWGKHNCDDHA	
251	EDAGVICLNG ADLKL RVVDG VTECSGRLEV KFGQEWGTIC DDGWNDDAA	
301	VACKQLGCPT AVTAIGRVNA SEGTGHIWLD SVSCHGHESA LWQCRHHENG	
351	KHYCNHDEDA GVTCSDGSDL ELRLKGGGSH CAGTVEVEIQ KLVGRVCDRS	
401	WGLKEADVVC RQLCGGSALK TSYQVYSRTK ATNTWLFVSS CNGNETSLND	
451	CKNWQWGGLS CDHYDEAKIT CSAHRKPRLV GGDIPCSGRV EVQHGDTWGT	
501	VCDSDFSLEA ASVLCRELQC GTVVSLGGA HFGEGSGQIW AEEFQCEGHE	
551	SHLSLCPVAP RPDGTCSESR DVGVCSERYT QIRLVNGKTP CEGRVELNIL	
601	GSWGSILCNH WDMEDAHVLC QQLKCGVALS IPGGAPFGKG SEQVWRHNFH	
651	CTGTEKHMGD CSVTALGSEL CSBGQVBSVI CSGNQSQTL S PCNSSSSDPS	
701	SSIISEENGV ACIGSGQLRL VDGGGRCAGR VEVYHEGSWG TICDDSWDLN	

349
347

751	DAHVVKQLS	CGWAINATGS	AHFGEGTGPI	WLDEINCNGK	ESHIWQCHSH
801	GWGRHNCRHK	EDAGVICSEF	MSLRLISENS	RETCAGALEV	FYNGANGSVG
851	RNSHSPATVG	VVCRQLGCAD	RGDISPASSD	KTVSRHMWVD	NVQCPKGPDT
901	LWQCPSSPWK	KRLASPSEET	WITCANKIRL	QEGWNCSSGR	VEIWIYGGSWG
951	TVCDDSDWLE	DAQVVCRLG	CGSALEAGKE	AAFQGGTGPI	WLNEVKCKGN
1001	ETSLWDCPAR	SWGHSDCGHK	EDAAVTCSEI	AKSRESLHAT	GRSSFVALAI
1051	FGVILLACLI	AFLIWTQKRR	QRQLSVFSG	GENSVHQIQY	REMNSCLKAD
1101	ETDMLNP8GD	HSEVQ			

SusCd163v2 en pCRsusCD163v2 se liberó a partir del vector pCR2.1 después de digestión y purificación en gel de enzimas de restricción *Kpn* I y *Not* I. El vector receptor pCMC-script también fue cortado con el mismo par de enzimas de restricción y dejado para clonación direccional de susCD163v2 en el pCMV- script. Después de ligación de susCD163v2 con pCMV- script, la mezcla ligada se utilizo para transformar células de *E. coli* STBL (Invitrogen). Se encontró que un transformante contenía el gen CD163 mediante análisis de digestión de enzimas de restricción y se designó pCMV- script susCD163v2 clon#3.

Ejemplo 5: Preparación de un sistema de expresión basado en el promotor RSV mediante método de ligación directa y transfección.

Se desarrolló un procedimiento no basado en clonación para generar cantidades en microgramos de ADN lineal apropiado para utilizar en generación de líneas celulares estables expresando CD163 a partir de un promotor RSV (Figura 4). El procedimiento involucra el aislamiento y ligación de dos piezas de ADN, una conteniendo el gen de neomicina y casete de promotor RSV derivado de pRSC- script, y la otra conteniendo la secuencia codificadora susCD163v2 a partir de pCMVsusCD163v2. El plásmido vector pRSV- Script fue linearizado con *Dra*III corriente arriba del gen de neomicina, y despuntado con el fragmento Klenow de ADN polimerasa de *E. coli*. Luego este plásmido fue digerido con *Not*I inmediatamente corriente abajo del promotor RSV. El clon pCMVsusCD163v2 fue digerido en la secuencia de vectores corriente abajo del inserto CD163 con *Dra*II, y despuntado el fragmento Klenow de polimerasa de ADN. La secuencia codificadora CD163 fue liberada del vector con un *Not*I localizado inmediatamente corriente arriba de la secuencia codificadora CD163. Para cada digestión de plásmido los fragmentos apropiados fueron purificados a partir de geles de agarosa. Se realizó una reacción de ligación a gran escala como sigue. Aproximadamente 20 ug de cada fragmento de ADN fue incubado en un volumen de 600 uL con 15 unidades de ADN ligasa de T4. La

reacción se incubó a temperatura ambiente durante 20 minutos, tiempo en el cual una alícuota fue retirada y la reacción congelada sobre hielo seco. El análisis de gel de agarosa de la alícuota reveló que una cantidad significativa de ADN no ligado permaneció, de manera que otras 15 unidades de ligasa fueron agregadas e incubadas durante otros 10 minutos a temperatura ambiente. Después de ligación, una pieza lineal de ADN conteniendo todos los elementos apropiados fue purificada mediante electroforesis de gel de agarosa. La ligación de los dos fragmentos de ADN a través de los términos *Not* I cohesivos resultó en la colocación de las secuencias 5' del gen CD163 corriente abajo del promotor RSV, permitiendo expresión dirigida de CD163 en células mamíferas. Una vez aislado, el ADN purificado se utilizó para transfectar varias líneas celulares mamíferas.

Ejemplo 6: Clonación y caracterización de ADNc de CD163 humano

Con base en la secuencia de ADNc de CD163 humano conocida (Número de Acceso GenBank No. BC051281), un cebador delantero Hu 5' *Not* (SEQ ID NO:15) (5'-CACCGCGGCCGCGAAGTATAAATCGCCACCATGAGCAAACTCAGAATGG- 3') y un cebador inverso Hu3' *Kpn* (SEQ ID NO:16) fueron diseñados utilizando el programa PrimerSelect. Sitios de restricción para *Not*I y *Kpn*I (subrayados) fueron incorporados en los cebadores 5' y 3', respectivamente, para facilitar la clonación en vectores de expresión. La secuencia CACC fue agregada al extremo 5' del cebador 5' para permitir clonación direccional al vector pCDNA3.1D/V5/His/TOPO (Cat. No. K49001, Invitrogen, ver figura 6). Los ADNcs de CD163 humano fueron amplificados a partir de ARN extraído de la línea celular u937 después de estimular con forbol 12- miristato 13- acetato (100ng/ml) durante 3 días. El ARN celular total se preparó utilizando el kit RNeasy (Qiagen). Las reacciones RT- PCR y métodos de secuenciamiento fueron los mismos descritos en el Ejemplo 4. Los productos PCR fueron separados sobre gel de agarosa SeaKem al 0.8% y extraídos del gel utilizando el kit GeneClean. Los productos PCR fueron clonados direccionalmente al vector pCDNA3.1D/V5/His/TOPO siguiendo las instrucciones del fabricante. Dos clones con grandes insertos fueron secuenciados. Los métodos de secuenciamiento y análisis de secuencias fueron descritos en el Ejemplo 4. Un clon con un inserto correcto fue designado 2pcANA3.1- humCD163v2" y se ha designado la secuencia del inserto SEQ ID NO: 17.

351
349

El marco de lectura abierto de CD163 en pCDNA3.1D- humCD163v2 tiene 1121 residuos de longitud (designado SEQ ID NO:18 el cual codifica SEQ ID NO:19 divulgado a continuación), y es 100% identico a Z22968 Genbank (unADNc CD163 humano de la misma longitud). Nuestra secuencia CD163v2 humana también es 100% idéntica a BC051281 Genbank y Z22969 (variantes de empalme de CD163 humano) excepto que 42 residuos no homólogos en las dos secuencias GenBank reemplazan los siete residuos carboxi- terminales de nuestra secuencia. Esta diferencia se debe a la presencia de un exón de 83 nucleótidos en BC051281 y Z22969, y el cambio de marco resultante en el extremo 3' del exon. (Law, S.K., Micklem, K.J., Shaw, J.M., Zhang, X.P., Dong, Y., Willis, A.C. y Mason, D.Y. (1993) Un nuevo antígeno de diferenciación de macrófagos el cual es un miembro de la superfamilia de receptores *scavenger*. Diario Europeo de Inmunología 23 (9), 2320- 2325).

SECUENCIA			ID NO
atgagcaaac tcagaatggt gctacttgaa gactctggat ctgctgactt cagaagacat	60	SEQ ID NO:17	
tttgtcaacc tgagtcctt caccattact gtggtcttac ttctcagtgc ctgttttgtc	120		
accagttctc ttggaggaa agacaaggag ctgaggctag tggatggtga aaacaagtgt	180		
agcggggagag tggaaagtga agtcacaggag gagtggggaa cgggtgtgta taatggctgg	240		
agcatggaag cggctctctgt gattttgtaac cagctgggat gtccaactgc tatcaaagcc	300		
cctggatggg ctaattccag tgcaggttct ggacgcattt ggatggatca tgtttcttgt	360		
cgtgggaatg agtcagctct ttgggattgc aaacatgatg gatggggaaa gcatagtaac	420		
tgtactcacc aacaagatgc tggagtgacc tgctcagatg gatccaattt ggaaatgagg	480		
ctgacgcgtg gagggaaatg gtgttcttga agaatagaga tcaaattcca aggacggtgg	540		
ggaacagtgt gtgatgataa cttcaacata gatcatgcat ctgtcatttg tagacaactt	600		
gaatgtggaa gtgtgttcag tttctctggt tcatctaatt ttggagaagg ctctggacca	660		
atctggtttg atgatcttat atgcaacgga aatgagtcag ctctctggaa ctgcaaacat	720		
caaggatggg gaaagcataa ctgtgaccat gctgaggatg ctggagtgat ttgctcaaag	780		
ggagcagatc tgagcctgag actggttagat ggagtcactg aatgttcagg aagattagaa	840		
gtgagattcc aaggggaatg ggggacaata tgtgatgacg gctgggacag ttacgatgct	900		
gctgtggcat gcaagcaact gggatgtcca actgccgtca cagccattgg tcgagttaac	960		
gccagtaagg gatttggaca catctggctt gacagcgttt cttgccaggg acatgaacct	1020		
gctgtctggc aatgtaacaa ccatgaatgg ggaaagcatt attgcaatca caatgaagat	1080		
gctggcgtga catgttctga tggatcagat ctggagctaa gacttagagg tggaggcagc	1140		
cgctgtgctg ggacagttga ggtggagatt cagagactgt tagggaaggt gtgtgacaga	1200		
ggctggggac tgaagaagc tgatgtggtt tgcaggcagc tgggatgtgg atctgcactc	1260		

352
350

aaaacatctt atcaagtgtc ctccaaaatc caggcaacaa acacatggct gtttctaagt	1320
agctgtaacg gaaatgaaac ttctcttttg gactgcaaga actggcaatg gggtaggactt	1380
acctgtgatc actatgaaga agccaaaatt acctgtctag cccacaggga acccagactg	1440
gttgaggagg acattccctg ttctggacgt gttgaagtga agcatgggtga cacgtggggc	1500
tccatctgtg attcggactt ctctctggaa gctgccagcg ttctatgcag ggaattacag	1560
tgtggcacag ttgtctctat cctgggggga gctcactttg gagagggaaa tggacagatc	1620
tgggctgaag aattccagtg tgagggacat gagtcccatc ttctactctg cccagtagca	1680
cccccccg aaggaaactg tagccacagc agggatgttg gagtgtctg ctcaagatac	1740
acagaaatc gcttgggtga tggcaagacc ccgtgtgagg gcagagtga gctcaaacg	1800
cttgggtcct ggggatccct ctgtaactct cactgggaca tagaagatgc ccatgttctt	1860
tgccagcagc ttaaatgttg agttgccctt tctacccag gaggagcacg ttttgaaaa	1920
ggaaatggtc agatctggag gcataatgtt cactgcactg ggactgagca gcacatggga	1980
gattgtctg taactgtctt aggtgcttca ttatgtcctt cagagcaagt ggcctctgta	2040
atctgtctag gaaaccagtc ccaaacactg tcctcgtgca attcatcgtc tttgggcca	2100
acaaggccta ccattccaga agaaagtgtc gtggcctgca tagagagtgg tcaacttcgc	2160
ctggtaaatg gaggaggtcg ctgtgctggg agagttaga tctatcatga gggctcctg	2220
ggcaccatct gtgatgacag ctgggacctg agtgatgcc acgtggtttg cagacagctg	2280
ggctgtggag aggccattaa tgccactggt tctgtcatt ttggggaagg aacagggccc	2340
atctggctgg atgagatgaa atgcaatgga aaagaatccc gcatttggca gtgccattca	2400
cacggctggg ggcagcaaaa ttgcaggcac aaggaggatg cgggagttat ctgctcagaa	2460
ttcatgtctc tgagactgac cagtgaagcc agcagagagg cctgtgcagg gcgtctggaa	2520
gttttttaca atggagcttg gggcactgtt ggcaagagta gcattgtctga aacctgtg	2580
gggtgtgtgt gcaggcagct gggctgtgca gacaaagga aaatcaacc tgcatcttta	2640
gacaaaggca tgtccattcc catgtgggtg gacaatgttc agtgtccaaa aggacctgac	2700
acgtgtggc agtgccatc atctccatgg gagaagagac tggccagccc ctcgaggag	2760
acctggatca catgtgacaa caagataaga cttcaggaag gacccacttc ctgttctgga	2820
cgtgtggaga tctggcatgg aggttctctg gggacagtgt gtgatgactc ttgggacttg	2880
gacgtgctc aggtgggtgt tcaacaactt ggctgtggtc cagctttgaa agcattcaaa	2940
gaagcagagt ttggtcaggg gactggaccg atatggctca atgaagtga gtgcaagg	3000
aatgagtctt ccttgtggga ttgtctgcc agacgtggg gccatagtga gtgtgggac	3060
aaggaaagc ctgcagtga ttgcacagat atttcagtgc agaaaacccc aaaaaagcc	3120
acaacagtc gtcaccccg tcagtcatcc ttatttcag tcgggatcct tggggtgtt	3180
ctgttggcca ttttcgtcgc attattcttc ttgactaaa agcgaagaca gagacagcg	3240
cttgcagttt cctcaagagg agagaactta gtccacaaa ttcaataacc ggagatgaat	3300
tcttgctga atgcagatga tctggacctt atgaattcct caggaggcca ttctgagcca	3360

353
351

cactgaaaag gaaaatggga atttataacc cagtgagttc agcctttaag ataccttgat 3420	
gaagacctgg acta 3434	
1 M S K L R M V L L E D S G S A D F R R R H 1 atgagcaaaactcagaatgggtgctacttgaagactctggatctgctgacttcagaagacat 21 F V N L S P F T I T V V L L L S A C F V 61 tttgtcaacctgagtcaccttcaccattactgtggtcttacttctcagtgccgtgtttgtc 41 T S S L G G T D K E L R L V D G E N K C 121 accagttctcttggaggaacagacaaggagctgaggctagtggtggtgaaaacaagtgt 61 S G R V E V K V Q E E W G T V C N N G W 181 agcgggagagtggaagtgaagtcaggagtgaggagtgaggaaacgggtgtgtaataatggctgg 81 S M E A V S V I C N Q L G C P T A I K A 241 agcatggaaagcgggtctctgtgatttgaaccagctgggagtgccaactgctatcaaagcc 101 P G W A N S S A G S G R I W M D H V S C 301 cctggatggactaatctccagtgagggtctggacgcatttggatggatcatgtttctgt 121 R G N E S A L W D C K H D G W G K H S N 361 cgtgggaatgagtcagctcttctgggattgcaaacatgagtggtgggaaagcatagtaac 141 C T H Q Q D A G V T C S D G S W L E M R 421 tgtactcaccaacaagatgctggagtgacctgctcagatggatccaatttggaaatgagg 161 L T R G G N M C S G R I E I K F Q G R W 481 ctgacgcgtggagggaaatagtgttctgggaagaatagagatcaaattccaaggacgggtgg 181 G T V C D D M F N I D H A S V I C R Q L 541 ggaacagtgctgtgatataactcaacatagatcatgcatctgtcatttgtagacaactt 201 E C G S A V S F S G S S N F G E G S G P 601 gaatgtggaagtgtgtcagtttctctggttcattctaatatttggagaaggtctctggacca 221 I W F D D L I C N G M E S A L W N C K H 661 atctggtttgatgatcttataatgcaacggaaatgagtcagctctctggaactgcaaacat 241 Q G W G K H N C D H A E D A G V I C S K 721 caaggatggggaagcataactgtgacctgctgaggatgctggagtgatttggctcaaag 261 G A D L S L R L V D G V T E C S G R L E 781 ggagcagatctgagcctgagactggtagatggagtcactgaatgttcagggaagattagaa 281 V R F Q G E W G T I C D D G W D S Y D A 841 gtgagattccaaggggaatgggggacaatatgtgatgacggctgggacagttacgatgct 301 A V A C K Q L G C P T A V T A I G R V N 901 gctgtggcagtgcaactgggatgtccaactgcccagcagcatttggctcgagttaac 321 A S K G F G H I W L D S V S C Q G H E P 961 gccagtaagggatttggacacatctggttgacagcgtttcttggcagggaacatgaacct 341 A V W Q C K H H E W G K H Y C M H N E D 1021 gctgtctggaatgaaacacccatgaatggggaagcattattgcaatcacaatgaagat 361 A G V T C S D G S D L E L R L R G G G S 1081 gctggcgtgacatgttctgtatggatcagatctggagctaagacttagaggtggaggcagc 381 R C A G T V E V E I Q R L L G K V C D R 1141 cgctgtgtctgggacagttgaggtggagattcagagactgttaggggaaggtgtgtgacaga 401 G W G L K E A A D V V C R Q L G C G S A L 1201 ggctggggactgaaagaagctgatgtggttgcaggcagctgggatgtggatctgcactc 421 K T S Y Q V Y S K I Q A T N T W L F L S 1261 aaaacatcttatcaagtgtactccaataatccaggcaacaacacatggctgtttctaagt 441 S C N G N E T S L W D C K N W Q W G G L 1321 agctgtaacggaaatgaaacttctcttgggactgcaagaactggcaatgggtggactt 461 T C D H Y E E A K I T C S A H R E P R L 1381 acctgtgatcactatgaagaagccaaaattacctgctcagccacagggaacccagactg 481 V G G G D I P C S G R V E V K H G D T W G 1441 gttggaggggacattccctgttctgacgtgttgagtgaaagcatggtgacacgtggggc 501 S I C D S D F S L E A A S V L C R E L Q 1501 tccatctgtgattcggacttctcttgggaagctgccagcgttctatgcagggaattacag 521 C G T V V S I L G G A H F G E G N G Q I 1561 tgtggcacagttgtctctatcctgggggagctcactttggagagggaatggacagatc 541 W A E E F Q C E G H E S H L S L C P V A 1621 tgggctgaagaattccagtgtagggacatgagtcacatctttcactctgccagtagca 561 P R P E G T C S H S R D V G V V C S R Y 1681 ccccgccagaaggaactttagccacagcagggatgttgagtagtctgctcaagatac 581 T E I R L V N G K T P C E G R V E L K T 1741 acagaanaatcgttggatggcaagaccccggtgtgagggcagagtgaggctcaaacg 601 L G A W G S L C N S H W D I E D A H V L 1801 cttgtgcctggggatccctctgtaactctcactgggacatagaagatgccatgttctt 621 C Q Q L K C G V A L S T P G G A R F G K	SEQ ID NO:18 y 19

359
352

1861	tgccagcagcttaaatgtggagttgccctttctaccccaggaggagcacgttttggaaaa	
641	G N G Q I W R H M F H C T G T E Q H M G	
1921	ggaatgggtcagatctggaggcatatgtttcactgcactgggactgagcagcacatggga	
661	D C P V T A L G A S L C P S E Q V A S V	
1981	gattgtcctgttaactgctctaggtgcttcattatgtccttcagagcaagtggcctctgta	
681	I C S G N Q S Q T L S S C M S S S L G P	
2041	atctgtctcaggaaccagtcaccaacactgtcctcgtgcaattcatcgtctttgggcccc	
701	T R P T I P E E S A V A C I E S G Q L R	
2101	acaaggcctaccattccagaagaaagtgtgtggcctgcatagagagtggtcaacttcgc	
721	L V N G G G R C A G R V E I Y H E G S W	
2161	ctggtaaatggaggaggtcgctgtgctgggagagtagagatctatcatgagggtcctgg	
741	G T I C D D S W D L S D A H V V C R Q L	
2221	ggcaccatctgtgatgacagctgggacctgagtgatgccacgtgggttgacagacgtg	
761	G C G E A I N A T G S A H F G E G T G P	
2281	ggctgtcaggaagccattaatgccactggttctgctcattttggggaagggaacagggccc	
781	I W L D E M K C N G K E S R I W Q C H S	
2341	atctggctggatgagatgaatgcaatggaaaagaatcccgcatgttgagtgccattca	
801	H G W G Q Q N C R H K E D A G V I C S E	
2401	cacggctgggggagcaaaatgcaggcacaaggaggatgcgggagttatctgctcagaa	
821	F M S L R L T S E A S R E A C A G R L E	
2461	ttcatgtctctgagactgaccagtggaagccagcagagagcctgtgcagggcgtctgaa	
841	V F Y N G A W G T V G K S S M S E T T V	
2521	gttttttacaatgtgggacactgttggcaagagtagcatgtctgaaaccactgtg	
861	G V V C R Q L G C A D K G K I N P A S L	
2581	ggtgtggtgtgcaggcagctgggctgtgcagacaaagggaaaatcaacctgtcatcttta	
881	D K A M S I P M W V D N V Q C P K G P D	
2641	gacaaggtcctgtccattcccatgtgggtggacaatgttcagtgccaaaaggacctgac	
901	T L W Q C P S S P W E K R L A S P S E E	
2701	acgtgtgtggcagtgcccatcatctccatgggagaagagactggccagcccctcgaggag	
921	T W I T C D N K I R L Q E G P T S C S G	
2761	acctggatcacatgtgacaacaagataagacttcaggaaggaccacttcctgttctgga	
941	R V E I W H G G S W G T V C D D S W D L	
2821	cgtgtggagatctggcatggaggttcctgggggacagtggtgtgatgactcttgggacttg	
961	D D A Q V V C Q Q L G C G P A L K A F K	
2881	gacgatgctcaggtgtgtgtgcaacaactggctgtggtccagctttgaaagcattcaaa	
981	E A E F G Q G T G P I W L N E V K C K G	
2941	gaagcagagtttggtcaggggactggaccgatatggctcaatgaagtgaagtgcagggg	
1001	N E S S L W D C P A R R W G H S E C G H	
3001	aatgagttcttcttgggtgttctcctgccagacgtggggccatagtgagtggtgggcac	
1021	K E D A A V N C T D I S V Q K T P Q K A	
3061	aaggagacgtgcagtgcaattgcacagatatttcagtgccagaaaacccccacaaaagcc	
1041	T T G R S S R Q S S F I A V G I L G V V	
3121	acaacaggctcgtcctcccgtcagtcacctttattgcagtcgggatccttggggtgtt	
1061	L L A I F V A L F F L T K K R R Q R Q R	
3181	ctgttggccattttcgtcgcattattcttcttgactaaaaagcggaagacagagacagcgg	
1081	L A V S S R G E N L V H Q I Q Y R E M N	
3241	cttgagtttctcagaggagagaacttagtccaccaaatcaataccgggagatgaat	
1101	S C L N A D D L D L M N S S G G H S E P	
3301	tcttgctgaatgcagatgatctggacctaatgaattcctcaggaggccattctgagcca	
1121	H	
3361	cac	

1	MSKLRNVLE	DSGSADFRH	FVNLSPFIT	VVLLSACFV	TSSLGGTDKE	SEQ ID NO:19
51	LRLVDGENKC	SGRVEVKVQE	EWGTVCNWGN	SMEAVSVICN	QLGCPTAIKA	
101	PGWANSSAGS	GRIWMDHVSC	RGWESALWDC	KHDGMGKHSN	CTHQQDAGVT	
151	CSDGSNLEMR	LTRGGNMCSS	RIEIKFQGRW	GTVCDDNFNI	DHASVICRQL	
201	ECGSAVSFSG	SSNFGEGSGP	INFDDLICNG	NESALWNCKH	QGWGKHNCBH	
251	AEDAGVICSK	GADLSLRLVD	GVTECSGRLE	VRFOGEMGTI	CDDGWDSYDA	
301	AVACKQLGCP	TAVTAIGRYN	ASKGFGHIWL	DSVSCQGHPE	AVWQCKHHEW	
351	GKHYCNHNE	AGVTCSDGSD	LELRLAGGGS	NCAGTVEVEI	QRLLGKVCOR	
401	GNGLKEADV	CRLGCGSAL	KTSYQVYSKI	QATNTWLFLS	SCNGNETSLW	
451	DCKNWQNGGL	TCOHYEAKI	TCSAHREPR	VGGDIPCSGR	VEVKHGDITG	
501	SICSDSFSLE	AASVLCRELQ	CGTVVSILGG	AHFGEGNGQI	WAEFQCEGH	
551	ESHLSLCPVA	PRPEGTCSHS	RDVGVCSSRY	TEIRLVNGKT	PCEGRVELKT	
601	LGANGSLCNS	HWDIEDAHVL	CQQLKCGVAL	STPGGARFGK	GNGQIWRHMF	
651	HCTGTQEHNG	DCPVTALGAS	LCPSEQVASV	ICSGNQSQTL	SSCNSSSLGP	
701	TRPTIPEESA	VACIESGQLR	LVNGGGRCAG	RVEIYHEGSW	GTICDDSWDL	
751	SDAHVVCROL	GCGEAINATG	SAHFGEGTGP	IWLDENKCN	KESRIWQCHS	
801	HGNGQONCRH	KEDAGVICSE	FMSLRILTSEA	SREACAGRL	VFYNGANGTV	
851	GKSSMSETTV	GVVCRQLGCA	DKGKINPABL	DKAMSIWMV	DNVQCPKGP	
901	TLWQCPSSPW	EKRLASPEE	TWITCDNKIR	LQEGPTSCSG	RVEIWHGGSW	

355
353

951	GTVCDSDWL	DDAQVVCQQL	GCGPALKAFK	EAEFGQGTGP	IWLNEVKCKG
1001	NESSLWDCPA	RRNGHSECGH	KEDAAVNCTD	ISVQKTPQKA	TTGRSSRQSS
1051	FIAVGILGVV	LLAIFVALFF	LTKRRRQRQR	LAVSSRGEWL	VHOIQYRENN
1101	SCLNADDLDL	MNSSGGHSEP	H		

Ejemplo 7: Clonación y caracterización de CD163 murino

Con base en la secuencia CD163 murina en GenBank (AF274883), un cebador delantero Mus- new5'(SEQ ID NO:20) (5'- CACCGCGGCCGCCACACGGAGCCATCAAAATCATCAA- 3') y un cebador inverso Mus- new3' (SEQ ID NO:21) (5'- GGTACCGCGAACAAGCAAACCAATAGCAATATTGTTTAATTCCCTC- 3') fueron diseñados utilizando el programa PrimerSelect. Los sitios de endonucleasas de restricción para *NotI* y *KpnI* fueron incluidos en los cebadores 5' y 3', respectivamente, para permitir clonación futura en otros vectores de expresión. Macrófagos peritoneales de ratón fueron cosechados de ratones 2 días después de inyectar medio de tioglicolato en la cavidad peritoneal. El ARN celular total fue preparado a partir de macrófagos peritoneales utilizando el kit RNeasy. Las reacciones RT- PCR y los parámetros RT- PCR fueron los mismos descritos en el Ejemplo 4, excepto que la temperatura de recocido fue aumentada a 60°C y la temperatura de extensión aumentó a 72°C. El producto PCR fue purificado sobre un gel de agarosa SeaKem al 0.8% y se clonó direccionalmente en pCDNA3.1D/V5/His/TOPO según las instrucciones del fabricante. Varios clones con grandes insertos fueron identificados para análisis adicionales. Un plásmido conteniendo un inserto (SEQ ID NO:22) con un CD163 murino que codifica una proteína de la misma longitud (1121 aminoácidos SEQ ID NO:24) y difiere de AF274883 Genbank por solamente dos aminoácidos (99.8% de identidad) se designó 2pCDNA3.3D- murCD163v2".

Otro plásmido, "pCDNA3.1D- murCD163v3 fue generado el cual contenía un inserto (SEQ ID NO:25) conteniendo una secuencia codificadora CD163 murina (SEQ ID NO:26) la cual codifica una proteína de 1159 aminoácidos de longitud (SEQ ID NO:27). Esta difiere de AF274883 en solamente 3 aminoácidos dentro de los primeros 1107 residuos (99.7% de identidad), pero las secuencias divergen completamente comenzando en el residuo 1108. Esto se debe a una inserción de 82 nucleótidos en el ADNc, y un cambio recombinante en marco de lectura corriente abajo de la inserción. Como resultado, el CD163v3 murino contiene 52 aminoácidos en su terminal carboxilo que no son homólogos a los 14 residuos de terminal

354

carboxilo de CD163v2 murino. Estas dos versiones alternativas de CD163 murino de "longitud completa" más probablemente son el variante de unión del mismo gen, como se ha descrito pra CD163 humano (Law, S.K., Micklem, K.J., Shaw, J.M., Zhang, X.P., Dong, Y., Willis, A.C. y Mason, D.Y. (1993). Un nuevo antígeno de diferenciación de macrófagos el cual es un miembro de la superfamilia de receptores *scavenger*. Diario Europeo de Inmunología 23 (9), 2320- 2325).

SECUENCIA			ID NO
			SEQ ID
			NO:22
gcttttgaat ggggtggacac agaatggttc ttctttggagg tgctggatct cctggttgta	60		
aaaggtttgt ccatctaggt ttctttgttg tggctgtgag ctcacttctc agtgccctctg	120		
ctgtcactaa cgctcctgga gaaatgaaga aggaactgag actggcgggt ggtgaaaaca	180		
actgtagtgg gagagtggaa cttaagatcc atgacaagtg gggcacagtg tgcagtaacg	240		
gctggagcat gaatgaagtg tccgtgggtt gccagcagct gggatgccca acttctatta	300		
aagcccttgg atgggctaac tccagcgccg gctctggata tatctggatg gacaaagttt	360		
cttgtagagg gaatgagtca gctctttggg actgcaaaca tgatgggttg ggaagcata	420		
actgtaccca tgaaaaagat gctggagtga cctgctcaga tggatctaata ttggagatga	480		
gactggtgaa cagtgcgggc caccgatgct taggaagagt agaaataaag ttccagggaa	540		
agtgggggac ggtgtgtgac gacaacttca gcaaagatca cgcttctgtg atttgtaaac	600		
agcttggatg tggaaagtgc attagtttct ctggctcagc taaattggga gctggttctg	660		
gaccaatctg gctcgatgac ctggcatgca atggaaatga gtcagctctc tgggactgca	720		
aacaccgggg atggggcaag cataactgtg accatgctga ggatgtcggg gtgatttgct	780		
tagagggagc agatctgagc ctgagactag tggatggagt gtccagatgt tcaggagat	840		
tggaaagtga attccaagga gaatggggga ccgtgtgtga tgataactgg gatctccggg	900		
atgcttctgt ggtgtgcaag caactgggat gtccaactgc catcagtgcc attggtcgag	960		
ttaatgccag tgagggatct ggacagattt ggcttgacaa catttcatgc gaaggacatg	1020		
aggcaactct ttgggagtgt aaacaccaag agtggggaaa gcattactgt catcatagag	1080		
aagacgctgg cgtgacatgt tctgatggag cagatctgga acttagactt gtaggtggag	1140		
gcagtcgctg tgctggcatt gtggagggtg agattcagaa gctgactggg aagatgtgta	1200		
gccgaggctg gacactggca gatcggtatg tggtttgcag acagcttggg tgtggatctg	1260		
cgcttcaaac ccaggctaag atctactcta aaactggggc aacaaatacg tggctctttc	1320		
ctggatcttg taatggaaat gaaactactt tttagcaatg caaaaactgg cagtggggcg	1380		
gcctttcctg tgataatttc gaagaagcca aagttacctg ctgagccac agggaaacca	1440		
gactggttgg aggagaaatc ccatgctctg gtcgtgtgga agtgaacac ggagacgtgt	1500		
ggggctccgt ctgtgatttt gacttgtctc tggagctgc cagtgtggtg tgcagggaa	1560		

257
355

tacaatgtgg aacagtcgtc tctatcctag ggggagcaca ttttggagaa ggaagtggac	1620
agatctgggg tgaagaattc cagtgtagtg gggatgagtc ccatctttca ctatgctcag	1680
tggcgccccc gctagacaga acttgtaccc acagcagggg tgtcagcgta gtctgctcac	1740
gatacataga tattcgtctg gcaggcggcg agtcctcctg tgagggaaaga gtggagctca	1800
agacactcgg agcctggggg cccctctgca gttctcattg ggacatggaa gatgctcatg	1860
tcttatgtca gcagctgaag tgtgggggtg cccaatctat tccagaagga gcacattttg	1920
ggaaaggagc tggtcagggtc tggagtcaca tgttccactg cactggaact gaggaacata	1980
taggagattg cctcatgact gctctgggtg cgccgacgtg ttccgaagga cagggtgcct	2040
ctgtcatctg ctcaggaaac caatcccaga cactattgac atgtagtcca ttgtctccag	2100
tcctaaacaac aagctctaca attccaaagg agagtgaagt tccctgcata gcaagtggcc	2160
agcttcgctt ggtagggtga ggtggtcgct gcgctggaag agtggagggtc taccacgagg	2220
gctcttgggg caccgtctgt gatgacaatt gggatattgac tgatgccaat gtgggtgtga	2280
agcagctgga ctgtggcggt gcaattaacg ccactgggtc tgcttacttc ggggaaggag	2340
caggagctat ctggctagac gaagtcactc gcactgggaa agagtctcat atttggcagt	2400
gccattcaca tggctgggga cgccataact gcaggcaca aagaagatga ggtgttatct	2460
gctccgagtt catgtctctg aggtcgacca acgaagccca caaagaaac tgcacaggtc	2520
gccttgaagt gttttacaat ggtacatggg gcagttattg cagtagcaat atgtctccaa	2580
ccactgtggg ggtggtgtgc cgtcagctgg gctgtgcaga caacgggact gtgaaaccca	2640
taccttcaga caagacacca tccaggccca tgtgggtaga tcgtgtgcag tgtccaaaag	2700
gagttgacac tttgtggcag tgcccctcgt caccttggaa acagagacag gccagcccct	2760
cctcccagga gtcctggatc atctgtgaca acaaaataag actccaggaa gggcatacag	2820
actgttctgg acgtgtggag atctggcaca aagggtcctg gggaaacagt tgtgatgact	2880
cctgggatct taatgatgct aagggtgtat gtaagcagtt gggctgtggc caagctgtga	2940
aggcactaaa agaagcagca tttggtccag gaactgggac catatgggtc aatgaaatta	3000
agtgtagagg gaatgagtct tccctgtggg attgtcctgc caaaccgtgg agtcacagcg	3060
actgtgggca caaagaagat gcttccatcc agtgccctcc aaaaatgact tcagaatcac	3120
atcatggcac aggtcaccac accctcacgg cactcttggg ttgtggagcc attctattgg	3180
tcctctcat tgtcttcctc ctgtggactc tgaagcgacg acagattcag cgacttacag	3240
tttctcaag aggagagggt ttgatacatc aagttcagta ccaagagatg gattcaaagg	3300
cggtatgctt ggacttgctg aaatcctcgg gggtcattca gaggcacact gagaaggaaa	3360
atgataatct ataatccact gaggttggag ttttaagaagc cttgacagga cagccagcta	3420
aatggaacaa gagcccaggc aacgcacgga tgaccacagc tgcatcttca tgcagtcctt	3480
tgtttcctgg aactctgctg aacctgcaaa aacctatctt gtgaatgtga ccacttaata	3540
gagatgggag actttt	3556

358
356

1 M G G H R M V L L G G A G S P G C R R F 1 atgggtggacacagaatgggtcttcttggaggtgctggatctcctggttgtaaagggtt 21 V H L G F F V V A V S S L L S A S A V T 61 gtccatctaggtttcttgttggctgtgagctcacttctcagtgctctgtctcact 41 N A P G E M K K E L R L A G G E N N C S 121 aacgctcctggagaatgaagaaggaactgagactggcgggtgggtgaaacaactgtagt 61 G R V E L K I H D K W G T V C S N G W S 181 gggagagtggaaacttaagatccatgacaagtggggcacagtgtgcagtaacggctggagc 81 M N E V S V V C Q Q L G C P T S I K A L 241 atgaatgaagtgtccgtgggttggcagcagctgggatggcgaacttctattaaagccctt 101 G W A N S S A G S G Y I W M D K V S C T 301 ggatgggctaactccagcgccggtcttgatatactggatggacaagtttcttgtaca 121 G N E S A L W D C K H D G W G K H M C T 361 ggggaatgagtcacttcttgggactgcaaacatgatgggtggggaagcataactgtacc 141 H E K D A G V T C S D G S N L E M R L V 421 catgaaaagatgctggagtgaactgtcagatggatctaatttggagatgagactggg 161 N S A G H R C L G R V E I K F Q G G K W G 481 aacagtcggggcaccgtatcttaggaagagtagaataaagttccagggaaagtgggg 181 T V C D D N F S K D H A S V I C K Q L G 541 acggtgtgtgacgacaacttcagcaagatcacgcttctgtgatttgaacagcttgg 201 C G S A I S F S G S A K L G A G S G P I 601 tgtggaagtgccattagtcttctggtcagctaaattgggagctggttctggaccaatc 221 W L D D L A C M G N E S A L W D C K H R 661 tggctcagtgacctggcatgcaatggaaatgagtcagctctctgggactgcaaacacgg 241 G W G K H N C D H A E D V G V I C L E G 721 ggatggggcaagcataactgtgacctgtgaggatgtcggtgtgatttgccttagaggga 261 A D L S L R L V D G V S R C S G R L E V 781 gcagatctgagcctgagactagtggatggagtgtccagatgttcaggaagattggaagt 281 R F Q G E W G T V C D D N W D L R D A S 841 agattccaaggagaatgggggaccgtgtgtgatgataactgggatctccgggagcttct 301 V V C K Q L G C P T A I S A I G R V N A 901 gtggtgtgcaagcaactgggatgtccaactgccatcagtgccattggtcagttaatgcc 321 S E G S G Q I W L D N I S C E G H E A T 961 agtgagggtatcggacagatttggcttgacaacatttcatgcgaaggacatgaggcaact 341 L W E C K H Q E W G K H Y C H H R E D A 1021 ctttgggagtgtaaacaccaagagtggggaagcattactgtcatcatagagaagacgct 361 G V T C S D G A D L E L R L V G G G S R 1081 ggcgtgacatgttctgatggagcagatctggaacttagactttagtgaggaggcagtcgc 381 C A G I V E V E I Q K L T G K M C S R G 1141 tgtgctggcattgtggagggtgagattcagaagctgactgggaagatgtgtgagccgaggc 401 W T L A D A D V V C R Q L G C G S A L Q 1201 tggacactggcagatcgggatgtggttgcagacagcttggatgtgagatctgcgcttcaa 421 T Q A K I Y S K T G A T N T W L F P G S 1261 acccaggtcaagatctactctaaaactggggcaacaaatacgtggctcttctctggatct 441 C N G N E T T F W Q C K N W Q W G G L S 1321 tgaatggaaatgaaactacttcttggcaatgcaaaaactggcagtgggcggccttcc 461 C D N F E E A K V T C S G H R E P R L V 1381 tgtgataatttcgaagaagccaaagttacctgtcagggccacaggggaaccagactggtt 481 G G E I P C S G R V E V K H G D V W G S 1441 ggaggagaaatcccatgctctggtcgtgtggaagtgaacacggagacgtgtgggctcc 501 V C D F D L S L E A A S V V C R E L Q C 1501 gtctgtgattttgacttgtctctggaagctgccagtggtgtgtgcaggggaattacaatgt 521 G T V V S I L G G A H F G E G S G Q I W 1561 ggaacagtcgtctctatccctagggggagcacattttggagaagggaagtggacagatctgg 541 G E E F Q C S G D E S H L S L C S V A P 1621 ggtgaagaattccagtgtagtgggatgagtcacatctttcactatgctcagtgggcccc 561 P L D R T C T H S R D V S V V C S R Y I 1681 ccgctagacagaacttgaccacagcagggatgtcagcgtagtctgctcacgatacata 581 D I R L A G G E S S C E G R V E L K T L 1741 gatattcgtctggcagggcgagtcctcctgtgaggggaagagtggagctcaagacactc 601 G A W G P L C S S H W D M E D A H V L C 1801 ggagcctggggtccctctcagattctcattgggacatggaagatgctcatgtcttatgt 621 Q Q L K C G V A Q S I P E G A H F G K G 1861 cagcagctgaagtgtgggttggccaatctattccagaaggagcacattttgggaaagga 641 A G Q V W S H M F H C T G T E E H I G D 1921 gctggtcaggtctggagtcacatgttccactgcactggaactgaggaacatataggagat 661 C L M T A L G A P T C S E G Q V A S V I 1981 tgctcatgactgctctgggtgcgcccagctgttccgaaggacaggtggcctctgtcatc 681 C S G N Q S Q T L L P C S S L S P V Q T	SEQ ID NO:23 y 24
---	-------------------------

SEQ ID
NO:23 y
24

357

357

2041 tgctcaggaacccaatcccagacactattgccatgtagttcattgtctccagtcacaaca 701 T S S T I P K E S E V P C I A S G Q L R 2101 acaagctctacaattccaaaggagagtgaaagttccctgcatagcaagtggccagcttcgc 721 L V G G G G R C A G R V E V Y H E G S W 2161 ttggttaggtggaggtggctcgctgcgctggaaagagtggaggtctaccacgagggctcttg 741 G T V C D D N W D M T D A N V V C K Q L 2221 ggcaccgtctgtgatgacaattgggatatgactgatgccaatgtggtgtgcaagcagctg 761 D C G V A I N A T G S A Y P G E G A G A 2281 gactgtggcgtggcaattaacgccactggctctgcttacttcggggaaggagcaggagct 781 I W L D E V I C T G K E S H I W Q C H S 2341 atctggctagacgaagtcactctgcactgggaagagtctcatatttggcagtgccattca 801 H G W G R H M C R H K E D A G V I C S E 2401 catgctggggacgccataactgcaggcacaaagaagatgcaggtgttatctgctccgag 821 F M S L R L T N E A H K E N C T G R L E 2461 ttactgtgtcaggtgaccaaagccacaaagaaaactgcacaggtcgccctgaa 841 V F Y W G T W G S I G S S N M S P T T V 2521 gtgttttacaaatgtacatggggcagtatattggcagtagcaatatgtctccaaccactgtg 861 G V V C R Q L G C A D N G T V K P I P S 2581 ggggtgtgtgcccagctgggctgtgcagacaaagggaactgtgaaaccataccttca 881 D K T P S R P M W V D R V Q C P K G V D 2641 gacaagacaccatccaggcccatgtgggttagatcgtgtgcagtgccaaaggagttgac 901 T L W Q C P S S P W K Q R Q A S P S S Q 2701 actttgtggcctccctcgctcaccttggaaacagagacaggccagccctcctccag 921 E S W I I C D N R I R L Q E G H T D C S 2761 gagtcctggatcatctgtgacacaaaataagactccaggaagggcatacagactgttct 941 G R V E I W H K G S W G T V C D D S W D 2821 ggagctgtgtgagcttggcacaaggttccctggggaacagctgtgtgatgactcctgggat 961 L N D A K V V C K Q L G C G Q A V K A L 2881 cttaatgatgctaagggttgtatgtaagcagttgggctgtggccaagctgtgaagccacta 981 K E A A F G P G T G P I W L N E I K C R 2941 aaagaagcagcatttgggtccaggaactgggcccatatggctcaatgaaattaaagtgtaga 1001 G N E S S L W D C P A K P W S H S D C G 3001 gggaatgagtccttccctgtgggattgtcctgccaaaccgtggagtcacagcgactgtggg 1021 H K E D A S I Q C L P K M T S E S H H G 3061 cacaagaagagcttccatccagtcgctcccaaaatgacttcagaatcacatcatggc 1041 T G H P T L T A L L V C G A I L L V L L 3121 acaggtcacccacccctcacggcactcttggtttggtagccattctattggctcctcctc 1061 I V F L L W T L K R R Q I Q R L T V S S 3181 attgtcttctcctctgtgactctgaagcgacgacagattcagcgacttacagtttctccta 1081 R G E V L I H Q V Q Y Q E M D S K A D D 3241 agagagagaggtcttgatacatcaagttcagttaccaagagatggattcaaaggcgatgat 1101 L D L L K S S G V I Q R H T E K E N D N 3301 ctggacttgcgtgaaatcctcgggggtcattcagaggcacactgagaaggaaaatgataat 1121 L 3361 tta					SEQ ID NO:24
1	MGGHRMVLIG	GAGSPGCKRF	VHLGFFVVAV	SBLLSASAVT	NAPGEMKKEL
51	RLAGGENWCS	GRVELKIHDK	WGTVCSSWGS	MNEVSVVCOQ	LGCPTSIAL
101	GWANSSAGSG	YIWMKVSCT	GWESALWDCK	HDGNGKHNC	HEKDAGVICS
151	DGSHLENRLV	NSAGHRCCLR	VEIKFQGWG	TVCDNFSKD	HASVICKQLG
201	CGSAISFSGS	AKLGAGSGPI	WLDDLACNGM	EBALWDCKHR	GWGKHNCDA
251	EDVGVICLEG	ADLSRLVDG	VSRCSGRLEV	RFOGNGTVC	DDNWDLRDAS
301	VVCQKLGCP	AISAIGRVNA	SESGQIWL	NISCEGHEAT	LWECKHQENG
351	KHYCHHREDA	GVTCSGDADL	ELRLVGGGSR	CAGIVEVEIQ	KLTKMCSRG
401	WTLADADVVC	RQLGCGSALQ	TOAKIYSKTG	ATNTWLFPGS	CNGNETTFWQ
451	CKNWQWGLS	CDNFEEARVT	CSGHREPALV	GGEIPCSGRV	EVKHGDVWGS
501	VCDLFLSLEA	ASVVCRELQC	GTVVSIILGA	HFEGSGQIIN	GEEFQCSGDE
551	SHLSLCSVAP	PLDRTCTHSR	DVSVVCSRYI	DIRLAGGESS	CEGRVELKTL
601	GAMGFLCSSH	WMEDAHVLC	QQLKCGVAQS	IPEGARFGKG	AGQVWSRMFH
651	CTGTEEHIGD	CLMTALGAPT	CSEGGVASVI	CSGNQBQTL	PCSSLSFPVT
701	TSSTIPKESE	VPCIASGQLR	LVGGGGRCAG	RVEVYHEGSN	GTVCDDNWDN
751	TDANVVCQQL	DCGVAINATG	SAYFGEAGAG	IWLDEVICTG	KESHINQCHS
801	HGWGRHNCRH	KEDAGVICSE	FMSLALTNEA	HKENCFTGRLE	VFYNGTWGSI
851	GSSNMSPTTV	GVVCRQLGCA	DNGTVKPIPS	DKTPSRPMWV	DRVQCPRGVD
901	TLWQCPSSPW	KORQASPSBQ	ESWIICDNKI	RLQEGHTDCS	GRVEIWHXGS
951	NGTVCDSDSD	LNDKRVVCKQ	LGCGOAVKAL	KEAAFPGPTG	PIWLNEIKCR
1001	GNESLNDP	AKPWSHSDCG	HKEDASIQCL	PRMTSESHNG	TGNPTLTALL
1051	VCGAILLVLL	IVFLLWTLKR	RQIQRLTVSS	RGEVLHQQVQ	YQEMDSKADD
1101	LDLLKSSGVI	QRHTEKENDN	L		

360

358

gcttttgaat ggggtggacac agaattggttc ttctttggagg tgctggatct cctggttgta	60	ID
aaaggtttgt ccatctaggt ttctttgttg tggctgtgag ctcaettctc agtgcctctg	120	NO:25
ctgtcactaa cgctcctgga gaaatgaaga aggaactgag actggcgggt ggtgaaaaca	180	
actgtagtgg gagagtggaa cttaagatcc atgacaagtg gggcacagtg tgcagtaacg	240	
gctggagcat gaatgaagtg tccgtgggtt gccagcagct gggatgccc aattctatta	300	
aagcccttgg atgggctaac tccagcgccg gctctggata tatctggatg gacaaagttt	360	
cttgtacagg gaatgagtca gctctttggg actgcaaaca tgatgggtgg ggaagcata	420	
actgtacca tgaanaagat gctggagtga cctgctcaga tggatctaatt ttggagatga	480	
gactgggtga cagtgcgggc caccgatgct taggaagagt agaaataaag ttccagggaa	540	
agtgggggac ggtgtgtgac gacaacttca gcaaagatca cgcttctgtg atttghtaac	600	
agcttggatg tggaaagtgc attagtctct ctggctcagc taaattggga gctggttctg	660	
gaccaatctg gctcgatgac ctggcatgca atggaaatga gtcagctctc tgggactgca	720	
aacaccgggg atggggcaag cataactgtg accatgctga ggatgtcggg gtgatttgc	780	
tagagggagc agatctgagc ctgagactag tggatggagt gtccagatgt tcaggaaagat	840	
tggaaagtga attccaagga gaatggggga ccgtgtgtga tgataactgg gatctccggg	900	
atgcttctgt ggtgtgcaag caactgggat gtccaactgc catcagtgcc attggtcgag	960	
ttaatgccag tgaggatct ggacagattt ggcttgacaa catttcatgc gaaggacatg	1020	
aggcaactct ttgggagtgt aaacaccaag agtggggaaa gcattactgt catcatagag	1080	
aagacgctgg cgtgacatgt tctgatggag cagatctgga acttagactt gtagggtggag	1140	
gcagtcgctg tgctggcatt gtggagggtg agattcagaa gctgactggg aagatgtgta	1200	
gccgaggctg gacactggca gatgcggatg tggtttgcag acagcttggg tgtggatctg	1260	
cgcttcaaac ccaggctaag atctactcta aaactggggc aacaaatacg tggtcttttc	1320	
ctggatcttg taatggaaat gaaactactt tttggcaatg caaaaactgg cagtggggcg	1380	
gcctttcctg tgataatttc gaagaagcca aagttacctg ctgagccac agggaaacca	1440	
gactggttgg aggagaaatc ccatgctctg gtcgtgtgga aatgaaacac ggagacgtgt	1500	
ggggctccgt ctgtgatttt gacttgtctc tggaaagtgc cagtgtggtg tgcagggaat	1560	
tacaatgtgg aacagtcgtc tctatcctag ggggagcaca ttttgagaa ggaagtggac	1620	
agatctgggg tgaagaattc cagtgtagtg gggatgagtc ccatctttca ctatgctcag	1680	
tggcgccccc gctagacaga acttgtaccc acagcagga tgtagcgtg gtctgctcac	1740	
gatacataga tattcgtctg gcaggcggcg agtcctctg tgagggaaga gtggagctca	1800	
agacactcgg agcctggggt cccctctgca gttctcattg ggacatggaa gatgctcatg	1860	
tcttatgtca gcagctgaag tgtgggggtg cccaatctat tccagaagga gcacattttg	1920	
ggaaaggagc tggtcaggtc tggagtcaca tgttccactg cactggaact gaggaacata	1980	
taggagattg cctcatgact gctctgggtg cgccgacgtg ttccgaagga caggtggcct	2040	
ctgtcatctg ctgaggaac caatcccaga cactattgcc atgtagttca ttgtctccag	2100	

tccaaacaac aagctctaca attccaaagg agagtgaagt tccctgcata gcaagtggcc 2160	
agcttcgctt ggtaggtgga ggtggtcgct gcgctggaag agtggagggtc taccacgagg 2220	
gctcttgggg caccgtctgt gatgacaatt gggatatgac tgatgccaat gtggtgtgca 2280	
agcagctgga ctgtggcggtg gcaattaacg ccactggctc tgcttacttc ggggaaggag 2340	
caggagctat ctggctagac gaagtcattct gcactgggaa agagtctcat atttggcagt 2400	
gccattcaca tggctgggga cgccataact gcaggcacaa agaagatgca ggtgttatct 2460	
gctccgagtt catgtctctg aggctgacca acgaagccca caaagaaaac tgcacaggtc 2520	
gccttgaagt gttttacaat ggtacatggg gcagtattgg cagtagcaat atgtctccaa 2580	
ccactgtggg ggtggtgtgc cgtcagctgg gctgtgcaga caacgggact gtgaaaccca 2640	
taccttcaga caagacacca tccaggccca tgtgggtaga tcgtgtgcag tgtccaaaag 2700	
gagttgacac tttgtggcag tgccccctgt cacttggaa acagagacag gccagcccct 2760	
cctcccagga gtcttgatc atctgtgaca acaaaataag actccaggaa gggcatacag 2820	
actgttcttg acgtgtggag atctggcaca aaggttcctg gggaacagtg tgtgatgact 2880	
cctgggatct taatgatgct aaggttgtat gtaagcagtt gggctgtggc caagctgtga 2940	
aggcactaaa agaagcgca tttggtccag gaactgggac catatggctc aatgaaatta 3000	
agtgtagagg gaatgagtct tccctgtggg attgtcctgc caaacctgg agtcacagcg 3060	
actgtgggca caaagaagat gcttccatcc agtgcctccc caaatgact tcagaatcac 3120	
atcatggcac aggtcacccc accctcacgg cactcttggg ttgtggagcc attctattgg 3180	
tcctctcat tgtcttctc ctgtggactc tgaagcgacg acagattcag cgacttacag 3240	
tttctcaag aggagaggtc ttgatacatc aagttcagta ccaagagatg gattcaaagg 3300	
cggatgatct ggacttgctg aaatcctcgg aaaattccaa caattcatat gattttaatg 3360	
atgatggact gacatctttg tctaatatc ttcctatttc tggaattaaa aaggggtcat 3420	
tcagaggcac actgagaagg aaaatgataa ttataatcc actgaggttg gagttaaga 3480	
agccttgaca ggacagccag ctaaatggaa caagagccca ggcaacgcac ggatgaccac 3540	
agctgcattc tcatgcagtc ctttgtttcc tggaactctg ctgaacctgc aaaaaccata 3600	
tttgtgaatg tgaccactta atagagatgg gagactttt 3639	
1 M G G H R M V L L G G A G S P G C K R F 1 atgggtggacacagaatggttcttcttggagggtgctggatctcctgggtgtgaaagggtt 21 V H L G F F V V A V S S L L S A S A V T 61 gtccatctagggtttcttttgggtgtgagctcacttctcagtgccctctgctgtcact 41 N A P G E M K K E L R L A G G E N N C S 121 aacgctcctggagaaatgaagaaggaaactgagactggcgggtgtgaaacaactgtagt 61 G R V E L K I H D K W G T V C S N G W S 181 gggagagtggaaacttaagatccatgacaagtggggcacagtgtgcagtaacggctggagc 81 M N E V S V V C Q Q L G C P T S I K A L 241 atgaatgaagtgtccgtggtttgcccagcagctgggatgcccaacttctattaaagccctt 101 G W A N S S A G S G Y I W M D K V S C T 301 ggatgggctaactccagcgccggtcttgatatacttgatggacaaagtcttctgtaca 121 G N E S A L W D C K H D G W G K H M C T 361 gggaaatgagtcagctcttttggactgcaaacatgatgggtgggaaagcataactgtacc 141 H E K D A G V T C S D G S N L E M R L V 421 catgaaaaagatgctggagtgcctgctcagatggatctaatttggagatgagactggtg 161 N S A G H R C L G R V E I K F Q G K W G 481 aacagtgcgggccaccgatgcttaggaagagttagaataaagtccagggaagtggggg	ID NO:26 y 27

181 T V C D D W F S K D H A S V I C K Q L G
 541 acggtgtgtgacgacaacttcagcaaatcagcgttctgtgattttaaacagcttga
 201 C G S A I S F S G S A K L G A G S G P I
 601 tgtggaagtccattagtttctctggtcagctaaattggagctggttctggaccaatc
 221 W L D D L A C N G N E S A L W D C K H R
 661 tggctcgatgacctggcatgcaatggaatgagtcagctctctgggactgcaaacaccgg
 241 G W G K H N C D H A E D V G V I C L E G
 721 ggatggggcaagcataactgtgaccatgctgaggatgtcgggtgtgatttgccttagagggg
 261 A D L S L R L V D G V S R C S G R L E V
 781 gcagatctgagcctgagactagtggtgagtgccagatgttcagggaagattggaagtg
 281 R F Q G E W G T V C D D N W D L R D A S
 841 agattccaaggagaatgggggaccgtgtgtgatgataactgggactctccgggatgcttct
 301 V V C K Q L G C P T A I S A I G R V N A
 901 gtggtgtgcaagcaactgggatgtccaactgccatcagtgccattggtcgagttaatgcc
 321 S E G S G I W L D N I S C E G H E A T
 961 agtgaggatctggacagatttggcttgacaacatttcatgccaaggacatgaggcaact
 341 L W E C K H Q E W G K H Y C H H R E D A
 1021 ctttgggagtgtaaacaccaagagtggggaaagcattactgtcatcatagagaagacgct
 361 G V T G S D G A D L E L R L V G G G S R
 1081 ggcgtgacatgttctgatggagcagatctggaacttagactttaggtggaggcagtcgc
 381 C A G I V E V E I Q K L T G K M C S R G
 1141 tgtgctggcatttggagggtggagattcagaagctgactgggaagatgtgtagccgagggc
 401 W T L A D A D V V C R Q L G C G S A L Q
 1201 tggacactggcagatgggatgtggtttgcagacagcttggatgtggatctgcgcttcaa
 421 T Q A K I Y S K T G A T N T W L F P G S
 1261 acccaggctaagatctactctaaaactggggcaacaatacgtggtcttctctggtatct
 441 C N G N E T T F W Q C K N W Q W G G L S
 1321 tgtaantggaatgaaactacttttggcaatgcaaaaactggcagtgggcgcccttcc
 461 C D N F E E A K V T C S G H R E P R L V
 1381 tgtgataatttcgaagaagccaaagtacctgtcaggccacagggaaaccagactggtt
 481 G G E I P C S G R V E M K H G D V W G S
 1441 ggaggagaaatcccatgctctggtcgtgtggaatgaaacacggagacgtgtggggctcc
 501 V C D F D L S L E A A S V V C R E L Q C
 1501 gtctgtgattttgacttgtctctggaagctgcccagtggtgtgaggggaattacaatgt
 521 G T V I L G G A H F G E G S G Q I W
 1561 ggaacagctcgtctctatctagggggagcacattttggagaagggaagtgacagatctgg
 541 G E E F Q C S G D E S H L S L C S V A P
 1621 ggtgaagaattccagtgtagtgggatgagtccttcttactatgctcagtgggcgccc
 561 P L D R T H S R D V S V V C S R Y I
 1681 ccgctagacagaactgtaccacagcagggatgtcagcgtagtctgctcacgatacata
 581 D I R L A G G E S S C E G R V E L K T L
 1741 gatattcgtctgpcaggcgccgagtcctcctgtgaggggaagagtggagctcaagacactc
 601 G A W G L C S S H W D M E D A H V L C
 1801 ggagcctgggggtccctctgagttctcattgggacatggaagatgctcatgtcttatgt
 621 Q Q L R C G V A Q S I P E G A H F G K G
 1861 cagcagctgaagtgtgggttggccaatctattccagaaggagcacattttgggaaagga
 641 A G Q V W S H M F H C T G T E E H I G D
 1921 gctggctcaggtctgagtcacatgttccactgcactggaactgaggaacatataggagat
 661 C L M T A L G A P T C S E G Q V A S V I
 1981 tgcctcatgactctggtggtgcgcgacgtgttccgaaggacaggtggcctctgtcatc
 681 C S G N Q S Q T L L P C S S L S P V Q T
 2041 tgcctcaggaaccaatcccgacactattgccatgtagtctcattgtctccagtccttca
 701 T S S T I P K E S E V P C I A S G Q L R
 2101 acaagctctacaattccaaaggagagtgaagtccctgcatagcaagtggccagcttcgc
 721 L V G G G G R C A G R V E V Y H E G S W
 2161 ttggtaggtggaggtggtcgtgcgtggaagagtggaggtctaccacgagggctcttgg
 741 G T V C D D W W D M T D A N V V C K Q L
 2221 ggcaccgtctgtgatgacaattgggatatgactgatgccaatgtggtgtgcaagcagctg
 761 D C G V A I N A T G S A Y F G E G A G A
 2281 gactgtggcgtggcaattaacgccactggctctgcttacttcggggaaggagcaggagct
 781 I W L D E V I C T G K E S H I W Q C H S
 2341 atctggctagacgaagtcatctgcactgggaagagtctcatatttggcagtgccattca
 801 H G W G R H N C R H K E D A G V I C S E
 2401 catggctggggacgccataactgcaggcacaaagaagatgcaggtgttatctgctccgag
 821 F M S L R L T N E A H K E N C T G R L E
 2461 ttcattgtctctgaggtgaccaacgaagcccaaaagaaaactgcacaggtcgccctgaa
 841 V F Y N G T W G S I G S S N M S P T T V
 2521 gtgttttacaatggtacatggggcagttattggcagtagcaatatgtctccaaccactgtg
 861 G V V C R Q L G C A D N G T V K P I P S
 2581 ggggtggtgtgcgtcagctgggtgtgcagacaacgggactgtgaacccataccttca
 881 D K T P S R P M W V D R V Q C P K G V D

2641	gacaagacaccatccaggcccatgtgggtagatcgtgtgcagtgtccaaaaggagttgac	
901	T L W Q C P S S P W K Q R Q A S P S S Q	
2701	actttgtggcagtgccccctcgtcaccttggaaacagagacaggccagccccctcctccag	
921	E S W I I C D N K I R L Q E G H T D C S	
2761	gagtcctggatcatctgtgacaacaaaataagactccaggaaggccatcacagactgttct	
941	G R V E I W H K G S W G T V C D D S W D	
2821	ggacgtgtggagatcttggcacaaagggttcctggggaaacagtgtgtgatgactcctgggat	
961	L N D A K V V C K Q L G C G Q A V K A L	
2881	cttaatgatgctaagggttgtatgtaagcagttgggtgtggccaagctgtgaaggcacta	
981	K E A A F G P G T G P I W L N E I K C R	
2941	aaagaagcagcatttgggtccaggaaactgggccccatattggctcaatgaaattaagtgtaga	
1001	G N E S S L W D C P A K P W S H S D C G	
3001	gggaatgagttcttccctgtgggattgtcctgccaaaccgtggagtcacagcgactgtggg	
1021	H K E D A S I Q C L P K M T S E S H H G	
3061	cacaaagaagatgaaatccatccagtgccctcccaaatgacttcagaatcacatcatggc	
1041	T G H P T L T A L L V C G A I L L V L L	
3121	acaggtcacccccaccctcagggcactcttgggttggaggccattctattggctcctcctc	
1061	I V F L L W T L K R R Q I Q R L T V S S	
3181	attgtcttctcctcctgtggactctgaagcgacgacagattcagcgacttacagttcctca	
1081	R G E V L I H Q V Q Y Q E M D S K A D D	
3241	agagagagaggtcttgatacatcaagttcagttaccaagagatggattcaaggcggatgat	
1101	L D L L K S S E M S N N S Y D F N D D G	
3301	ctggacttggatgaaatccggaattcccaaatcatatgatttttaatgatgatgga	
1121	L T S L S K Y L P I S G I K K G S F R G	
3361	ctgacatctttgtctaaatatcttctctatttctggaattaaaaaggggtcattcagaggc	
1141	T L R R K M I I Y N P L R L E F K K P	
3421	acactgagaaggaaatgataatttataatccactgagggttgaggtttaagaagcct	
1	MGGHRMVLIG GAGSPGCKRF VHLGFFVAV SLLSASAVT NAPGEMKKEL	ID NO:27
51	RLAGGENNCS GRVELKIHDK WGTVCSWGWS MNEVSVVCQQ LGCPTSIRAL	
101	GWANSSAGSG YIWMKVSTCT GNESALWDCK HDGWGKHNCST HEKDAGVTCB	
151	DGSNLEMLRV NSAGHRCLEGR VEIKFQGWG TVCDDNFSKD HASVICKQLG	
201	CGSAISFSGS AKLGAGSGPI WLDDLACNGN ESALWDCKHR GWGKHNCDA	
251	EDVGVICLEG ADLSLRLVDG VSRCSGRLEV RFQGEWGTVC DDNWDLRDAS	
301	VVCKQLGQPT AISAIGRVNA SEGSGQIWL D NISCEGHEAT LWECKHOEWG	
351	KHYCHHREDA GVTCSDGADL ELRLVGGGSR CAGIVEVEIQ KLTGRMCSR	
401	WTLADADVVC ROLGCGBALQ TOAKIYSKTG ATNTWLFPGS CNGNETTFWQ	
451	CKNWQWGLB CWFEEAKVT CSGRHREPLV GGEIPCSGRV EMKHGDVWGS	
501	VCDFDLGLEA ASVVCRELQC GTVVSILGGA HFGEBSGQIW GEEFQCSGDE	
551	SHLSLCSVAP PLDRCTHRS DSVVCSRYI DIRLAGGESS CEGRVELKTL	
601	GANGPLCSSH WDMEDAHVLC QQLKCGVAQS IPEGARHFGK AGQVWSHMFH	
651	CTGTEENIGD CLMTALGAPT CSEGQVASVI CSGNQSQTL PCBSLSPVQT	
701	TSSTIPKESE VPCIASGQLR LVGGGGRCAG RVEVYHEGSW GTVCDNWDN	
751	TDANVVCQL DCGVAINATG SAYFGEAGAGA IWLDEVICTG KESHIWQCHS	
801	HGNGRHNCRH KEDAGVICSE FMSLRILTNEA HKENCTGRLE VFYNGTWGSI	
851	GSENMSFTTV GVVCRLGCA DMGTVRPIPS DKTPSRPMWV DRVQCFKQVD	
901	TLWQCFSPSPW KQQAASPSQ ESWIICDNKI RLQEGHTDCS GRVEIWHKGS	
951	WGTVCDDSWD LNDKVVCKQ LGCGQAVKAL KEAAGFGPTG PIWLNEIKR	
1001	GNESSLWDCP AKPWSRSDCG HKEDASIQCL PMNTSESHHG TGHPTLTALL	
1051	VCGAILLVLL IVFLLWTLAR RQIQLTVSS AGEVLINQVQ YQENDSKADD	
1101	LDLLKSSENS NWSYDFNDG LTSLSKYLPI SGIKKGSFRG TLRRKMIIYW	
1151	PLRLEFKKP	

Ejemplo 8: Clonación y Caracterización de CD163 MARC- 145

Un cebador delantero CD163 simiano 5' (SEQ ID NO: 28) (5'-CACCGGAATGAGCAAACCTCAGAATGG- 3' con base en CD163 humano) y un cebador inverso HuCD163- 3'Kpn (SEQ ID NO:29)(5'-TGCTCCGGTACCTAGTCCAGGTCTTCATCATCAAGGTATCTTA- 3') fueron utilizados para amplificar ADNc de CD163 a partir de células de riñón de Mono Verde Africano MARC- 145. El ARN celular total se preparó a partir de células MARC- 145 utilizando el kit RNeasy.

362

Los parámetros RT- PCR fueron los mismos descritos en el Ejemplo 4. Los productos RT- PCR fueron clonados direccionalmente en el vector pCDNA3.1D/V5/His/TOPO según instrucciones del fabricante. Se analizaron varios clones que contenían grandes insertos. El clon #25 fue designado "pCDNA3.1D- MARC- CD163V2". Este ADNc de CD163 a partir de células MARC- 145 tiene 1116 aminoácidos de longitud. Cuando se compara con las secuencias en la base de datos GenBank, la secuencia de aminoácidos MARC- 145 CD163 es 96.3% idéntica a CD163 humano (Genbank Z22968), 84.7% idéntica al CD163 (Genbank AJ311716), 73.9% idéntica a CD163 de ratón (Genbank AF274883).

SECUENCIA		ID NO
atgagcaaac tcagaatggt gctacttgaa gactctggat ctgctgacgt cagaagacat	60	SEQ ID NO: 30
tttgtcaact tgagtccctt cactattgct gtggtctttac ttctccgtgc ctgttttgtc	120	
accagttctc ttggaggaaac aaccaaggag ctgaggctag tggatggtga aaacaagtgt	180	
agtgggagag tggaaagtga aatccaggag gagtggggaa cggtgtgtaa taatggctgg	240	
agcatggaag cagtctctgt gatttgtaac cagctgggat gtccaactgc tatcaaagcc	300	
actggatggg ctaattccag tgcaggttct ggacgcattt ggatggatca tgtttcttgt	360	
cgtgggaatg agtcagctct ttgggactgc aaacatgatg gatggggaaa gcatagtaac	420	
tgtactcacc aacaagatgc tggagtgact tgctcagatg gatccgattt ggaatgagg	480	
ctgacgaatg gagggaatat gtgttctgga agaatagaga tcaaattcca aggacagtgg	540	
ggaacagtgt gtgatgataa cttcaacatc aatcatgcat ctgtggtttg taaacaactt	600	
gaatgtggaa gtgctgtcag ttctcttgtt tcagctaatt ttggagaagg ctctggacca	660	
atctggtttg atgatcttat atgcaacgga aatgagtcag ctctctggaa ctgcaaacat	720	
caaggatggg gaaagcataa ctgtgatcat gctgaggatg ctggagtgat ttgctcaaag	780	
ggagcagatc tgagcctgag actggtagat ggagtcactg aatgttcagg aagattagaa	840	
gtgagattcc aaggagaatg ggggacaata tgtgatgacg gctgggacag tcatgatgct	900	
gctgtggcat gcaagcaact gggatgtcca actgctatca ccgccattgg tcgagttaac	960	
gccagtgagg gatttggaca catctggctt gacagtgttt cttgccaggg acatgaacct	1020	
gcggtctggc aatgtaaaca ccatgaatgg ggaaagcatt attgcaatca caatgaagat	1080	
gctggcgtaa catgttctga tggatcagat ctggagctaa gacttagagg tggaggcagc	1140	
cgctgtgctg ggacagtga ggtggagatt cagagactgt tagggaaggt gtgtgacaga	1200	
ggctggggac tgaagaagc tgatgtggtt tgcaggcagc tgggatgtgg atctgcactc	1260	
aaaacatcct atcaagtata ctccaaaac caggcaacaa acatgtggct gtttctaagt	1320	
agctgtaacg gaaatgaaac ttctctttgg gactgcaaga actggcaatg gggtggaatt	1380	
acctgtgatc actatgaaga agccaaaatt acctgctcag cccacaggga acccagactg	1440	

365
363

gttggaggag acattccctg ttctggacgc gttgaagtga agcatggtga cacatggggc 1500	
tccgtctgtg attcggatth ctctctggaa gctgccagcg ttctatgcag ggaattacag 1560	
tgtggcacag tcttctctat cctgggggga gctcactttg gagagggaaa tggacagatc 1620	
tgggctgaag aattccagtg tgagggacat ggtcccatc ttctactctg cccagtagca 1680	
ccccgcccag aaggaaactg tagccacagc agggatgttg gagtagtctg ctcaagatac 1740	
acagaaattc gcttgggtga tggcaagacc ccatgtgagg gcagagtgga gctcaaaacg 1800	
cttaatgcct ggggatccct ctgcaactct cactgggaca tagaagatgc ccacgttctt 1860	
tgccacaac ttaaatgtgg agttgccctt tctacccag gaggagcaca ttttggaaaa 1920	
ggaaatggtc aggtctggag gcatatgttt cactgcactg ggactgagca gcacatggga 1980	
gattgtcctg taactgtctt ggtgtcttca ctatgtcctt cagggcaagt ggcctctgta 2040	
atttgcctag gaaaccagt ccaaacactg tcctcgtgca attcatcatc tctgggccc 2100	
acaaggccta ccattccaga agaaagtgt gtggcctgca tagagagtgg tcaacttcgc 2160	
ttgttaaag gaggggtcg ctgtgctggg agagttagaga tttatcatga gggctcctgg 2220	
ggcaccatct gtgatgacag ctgggacctg agcgtgccc acgtggtgtg cagacagctg 2280	
ggctgtggag aggccattaa tgccactggt tctgtcatt ttggagaagg aacagggccc 2340	
atctggctgg atgagatgaa atgcaatgga aaagaatccc gcatttggca gtgccattca 2400	
catggctggg ggcagcaaaa ctgcaggcac aaggaggatg caggagtatt ctgctcagag 2460	
ttcatgtctc tgagactgac cagtgaagcc agcagagagg cctgtgcagg gcgtctagaa 2520	
gttttttaca acggagcttg gggcagtgtt ggcaggagta acatgtctga aaccactgtg 2580	
ggtgtggtgt gcaggcagct gggctgtgca gacaaaggga aaatcaaccc tgcatcttta 2640	
gacaaggcca tgtccattcc catgtgggtg gacaatgttc agtgtccaaa aggacctgac 2700	
acgctgtggc agtgcctatc atctccatgg gagaagagac tggccaggcc ctcgaggag 2760	
acctggatca catgtgacaa caagatgaga ctacaagaag gaccacttc ctgttctgga 2820	
cgtgtggaga tctggcacgg aggttccttg gggacagtgt gtgatgactc ctgggacttg 2880	
aacgatgtc aggtggtgtg tcaacaactt ggctgtggtc cagctttgaa agcattcaaa 2940	
gaagcagagt ttggtcaggg gactggacct atatggctca atgaagtga gtgcaaaggg 3000	
aatgagtctt ccttgtggga ttgtcctgcc agacgctggg gccacagtga gtgtggacac 3060	
aaggaagacg ctgcagtga ttgcacagat attcaacga acaaaacccc acaaaaagcc 3120	
acaacaggtc agtcatccct tattgcagtc ggaatccttg gagtgttct cttggtcatt 3180	
ttcgtcgcat tattcttgac tcaaaagcga agacagagac agcggcttac agtttcctca 3240	
agaggagaga acttagtcca ccaaatcaa taccgggaga tgaattcttg cctgaatgca 3300	
gatgatctgg acctaatgaa ttccctagga ggccattctg aggcacactg aaaaggaaaa 3360	
tgggaattta taaccagtg agccttgaag ataccttgat gaagacctgg acta 3414	
1 M S K L R M V L L E D S G S A D V R R H 1 atgagcaactcagaatggtgctacttgaagactctggtctgtgacgtcagaagacat	SEQ ID

365
364

21 F V N L S P F T I A V V L L L R A C F V	NO: 31 y
61 tttgtcaacttgagtccttctactattgctgtggtcttacttctccgtgectgttttgtc	32
41 T S S L G G T T K E L R L V D G E N K C	
121 accagttctcttggaggaacaaccaaggagctgaggctagtggtggtgaaaacaagtgt	
61 S G R V E V K I Q E E W G T V C M N G W	
181 agtgggagagtggaagtgaataccaggaggagtggggaacggtgtgtataatggctgg	
81 S M E A V S V I C N Q L G C P T A I K A	
241 agcatggaagcagtcctctgtgatttgaaccagctgggatgtccaactgctatcaaagcc	
101 T G W A N S S A G S G R I W M D H V S C	
301 actggatgggctaattccagtgaggttctggacgcatttggatggatcatgtttcttgt	
121 R G N E S A L W D C K H D G W G K H S N	
361 cgtgggaatgagtcagctcttgggactgcaacatgatggatggggaagcatagtaac	
141 C T H Q Q D A G V T C S D G S D L E M R	
421 tgtactaccaacaagatgctggagtgacttgcagatggatccgatttggaaatgagg	
161 L T N G G K H N M C S G R I E I K F Q G Q W	
481 ctgacgaatggagggaatattgttcttgaagaatagagatcaaattccaaggacagtgg	
181 G T V C D D N F W I N H A S V V C K Q L	
541 ggaacagtgtgtgatgataacttcaacatcaatcatgcatctgtggttgaacaactt	
201 E C G S A F S G S A N F G E G S G P	
601 gaatgtggaagtgtgtcagtttcttctggttcagctaatttggagaaggctctggacca	
221 I W F D D L I C M G N E S A L W M C K H	
661 atctggttggatgatcttatatgcaacggaaatgagtcagctctctggaactgcaacat	
241 Q G W G K H N C D H A E D A G V I C S K	
721 caaggatggggaagcataactgtgatcatgctgaggatgctggagtgatttgcctaaag	
261 G A D L S L R L V D G V T E C S G R L E	
781 ggagcagatctgagcctgagactggtagatggagtcactgaatgttcaggaagattagaa	
281 V R F G G E W G T I C D D G W D S H D A	
841 gtgagattccaaggagaatgggggacaatatgtgatgacggctgggacagtcagtgct	
301 A V A C K Q L G C P T A I T A I G R V N	
901 gctgtggcagcaactgggatgtccaactgctatcaccgccattggtcaggttaac	
321 A S E G F G H I W L D S V S C Q G H E P	
961 gccagtggggatttggacacatctggcttgacagtgttcttccagggaacatgaacct	
341 A V W Q C K H H E W G K H Y C N H N E D	
1021 gcggtctggcaatgtaaacaccatgaatggggaagcattattgcaatcacaatgaagat	
361 A G V T C S D G S D L E L R L R G G G S	
1081 gctggcgtaaacatgttctgatggatcagatctggagctaagacttagaggtggaggcagc	
381 R C A G T V E V E I Q R L L G K V C D R	
1141 cgctgtgctgggacagttgaggtggagattcagagactgttagggaaggtgtgtgacaga	
401 G W G L K E A D V V C R Q L G C G S A L	
1201 ggctggggactgaaagaagctgatgtgttggcaggcagctgggatgtggatctgcactc	
421 K T S Y Q V Y S K I Q A T N M W L F L S	
1261 aaaacatcctatcaagtatactccaaaatccaggcaacaacatgtggctgttcttaagt	
441 S C N E T S L W D C K N W Q W G G L	
1321 agctgtaacggaatgaaacttctcttgggactgcaagaactggcaatggggtggactt	
461 T C D H Y E E A K I T C S A H R E P R L	
1381 acctgtgtcactatgaagaagccaaaattacctgctcagcccacagggaaaccagatg	
481 V G G D I P C S G R V E V K H G D T W G	
1441 gttggaggagacattccctgttctggacgcgttgaagtgaagcatggtgacacatggggc	
501 S V C D S D F S L E A A S V L C R E L Q	
1501 tccgtctgtgattcggatttctctctggaagctgccagcgttctatgcaggggaattacag	
521 C G T V V S I L G G A H F G E G M G Q I	
1561 tgtggcacagtcgtctctatcctggggggagctcacttggagagggaaatggacagatc	
541 W A E E F Q C E G H E S H L S L C P V A	
1621 tgggctgaagaattccagtgtagggacatgagtccttcttactctgcccagtagca	
561 P R P E G T C S H S R D V G V V C S R Y	
1681 ccccgccagagaaggaactttagccacagcagggatgttggagtagtctgctcaagatac	
581 T E I R L V N G K T P C E G R V E L K T	
1741 acagaaattcgcttggtgaatggcaagaccccatgtgagggcagagtgagctcaaaacg	
601 L N A W G S L C N S H W D I E D A H V L	
1801 cttaatgctggggatccctctgcaactctcactgggacatagaagatgccacgttctt	
621 C Q Q L K C G V A L S T P G G A H F G K	
1861 tgccaacaacttaastgtggagttgcccttctacccagaggagcacatttggaaaa	
641 G N G Q V W R H M F H C T G T E Q H M G	
1921 ggaaatggtcaggtctggaggcatatgtttcactgcactgggactgagcagcacatggga	
661 D C P V T A L G A S L C P S G Q V A S V	
1981 gattgtcctgtaactgctctgggtgcttctactatgtccttcagggaagtgccctctgta	
681 I C S G N Q S Q T L S S C N S S S L G P	
2041 atttgctcaggaaccagtcaccaacactgtcctcgtgcaattcatcatctctgggccca	
701 T R P T I P E E S A V A C I E S G Q L R	
2101 acaaggcctaccattccagaagaaagtgtgtggcctgcatagagagtggtcaacttcgc	
721 L V N G G G R C A G R V E I Y H E G S W	

365

2161 ttggtaaatggaggaggtcgctgtgctgggagagtagagatttatcatgagggctcctgg 741 G T I C D D S W D L S D A H V V C R Q L 2221 ggcaccatctgtgatgacagctgggacctgagcgatgccacgtggtgtgcagacagctg 761 G C G E A I N A T G S A H F G E G T G P 2281 ggctgtggagaggccattaatgccactggttctgtctcattttggagaaggaacagggccc 781 I W L D E M K C W G K E S R I W Q C H S 2341 atctggctgggatgagatgaaatgcaatggaaaagaatcccgcatattggcagtgccattca 801 H G W G Q Q N C R H K E D A G V I C S E 2401 catggctgggggcagcaaaactgcaggcacaaggaggatgcaggagttatctgtctcagag 821 F M S L R L T S E A S R E A C A G R L E 2461 ttcattgtctctgagactgaccagtgaagccagcagagaggcctgtgcaggggcgtctagaa 841 V F Y N G A W G S V G R S W M S E T T V 2521 gttttttacacggagcttggggcagtggtggcaggagttaacatgtctgaaaccactgtg 861 G V V C R Q L G C A D K G K I W P A S L 2581 ggtgtgggtgcagctgggctgtgcagacaaagggaaaatcaaccctgcattcttta 881 D K A M S I P M W V D N V Q C P K G P D 2641 gacaaggccatgtccattcccatgtgggtggacaatgttcagtgccaaaaggacctgac 901 T L W Q C P S S P W E K R L A R P S E E 2701 acgtgtgtctctgagactgaccagtgaagccagcagagaggcctgtgcaggggcctcggaggag 921 T W I T C D N K M R L Q E G P T S C S G 2761 acctggatcacatgtgacaacaagatgagactacaagaaggaccacttctgttctgga 941 R V E I W H G G S W G T V C D D S W D L 2821 cgtgtggagattctggcaggttccctgggggacagtggtgtgatgactcctgggacttg 961 W D A Q V V C Q Q L G C G P A L K A F K 2881 aacgatgctcaggtggtgtgtcaacaactggctgtggtccagctttgaaagcattcaaa 981 E A E F G Q G T G P I W L N E V K C K G 2941 gaagcagagtggttcaggggactggacctatattggtcaatgaagtgaagtgcaaaaggg 1001 N E S S L W D C P A R R W G H S E C G H 3001 aatgagttctccttgggtgattgtcctgcagacgctggggccacagtgaagtgtggacac 1021 K E D A A V N C T D I S T N K T P Q K A 3061 aaggagacgctgacgtgaattgcacagatatttcaacgaacaaaacccacaaaaagcc 1041 T T G Q S S L I A V G I L G V V L L V I 3121 acaacaggtcagtcaccccttattgcagtcgggaatccttggagtgttctcttgggtcatt 1061 F V A L F L T Q K R R Q R Q R L T V S S 3181 ttcctgcgcatatttctgactcaaaagcgaagacagagacagcggttacagtttctca 1081 R G E N L V H Q I Q Y R E M N S C L N A 3241 agaggagagaaacttagtccaccaaatccaataccgggagatgaattcttgcctgaatgca 1101 D D L D L M N S S G G H S E A H 3301 gatgatctggacctaatgaattcctcaggaggccattctgaggcacac		
51 1 MSKLRMVLLE DSGSADVRRH FVNLSPTTIA VVLLLRACFV TSSLGGTTKE 101 LRLVDGENKC SGRVEVKIQE EWGTVCNNGW SMEAVSVICH QLGCPATAKA 151 TGNWSSSAGS GRIWMDHVSC RGNESALWDC KHDGNGKHSN CTHQQDAGVT 201 CSDGSDLENR LTNGGWMCSG RIEIKFQQQW GTVCCDNFNI NHASVVCKQL 251 ECGSAVBFSG SANFGEGSGP IWFDDLICNG NESALWCKH QGWGKHNCBH 301 AEDAGVICSX GADLSLRLVD GVTECSGRLE VRFQEWGTI CDDGWDSDHA 351 AVACKQLGCP TAITAIGRVN ASEGFHGIWL DSVSCQGHEP AVWQCKHHEW 401 GKHYCNHNEB AGVTCSDGSD LELRLRGGSB RCAGTVEVEI QRLLGKVCDB 451 GWGLKEADV CRQLGCGSAL KTSYQVYSKI QATNMWFLS SCNGNETSLW 501 DCKNWQMGGL TCDHYEAKI TCSAHREPR L VGGDIPCSGR VEVKHGDTWG 551 SVCDSDFSLE AASVLCRELO CGTVVSILGG AHFGEENGQI WAEFQCEGH 601 ESHLSLCFVA PRPEGTCSHS RDVGVCBRY TEIRLVNGKT PCEGRVELKT 651 LNANGSLCHS HWDIEDAHLV CQQLKCGVAL STPGGAHFGK GNGQVWRHMF 701 HCTGTQHMNG DCPVTALGAS LCPBGQVABV ICSGNQSQTL SSCNSSSLGP 751 TRPTIPEESA VACIESGQLR LVNGGGRCAG RVEIYHEGSW GTICDDSDWL 801 SDAHVVCRQL GCGEAINATG SAHFGEGTGP IWLDEKNCNG KESRIWQCHS 851 HGWGQQNCRH KEDAGVICSE FMSLRLTSEA SREACAGRLE VFFYNGANGSV 901 GRBNMSETTV GVVCRLGCA DRGXINPABL DRAMSIPIWV DNVQCPKGPB 951 TLWQCPSSPW EKRLARPSEE TWITCDNEMR LQEGPTSCSG RVEIWHGGSW 1001 GTVCDDSDWL NDAQVVCQQL GCGPALKAFK EAEFGQGTGP IWLNEVKCKG 1051 NESSLWDCPA RRMGHSECGH KEDAAVNCTD ISTNKTPOKA TTGQSSLIAB 1101 GILGVVLLVI FVALFLTQKR RQRQLTVSS RGENLVHQIQ YREMNCLNA DDLDLMNSSG GHSEAH		SEQ ID NO: 32

Ejemplo 9. Clonación y caracterización de CD163 simiano a partir de células Vero.

Un cebador delantero CD163 simiano 5' (SEQ ID NO:28) (5'-CACCGGAATGAGCAAACCTCAGAATGG- 3' basado en CD163 humano) y un cebador inverso HuCD163- 3' Kpn (SEQ ID NO:29)(5'-TGCTCCGGTACCTAGTCCAGGTCTTCATCAAGGTATCTTA- 3') fueron utilizados para amplificar ADNc de CD163 a partir de células Vero. El ARN celular total se preparó a partir de células Vero utilizando el kit RNeasy. Los parámetros RT- PCR fueron los mismos descritos en el Ejemplo 4. Los productos RT- PCR fueron clonados direccionalmente en el vector pCDB₂NA3.1D/V5/His/TOPO según instrucciones del fabricante. Se secuenciaron ocho clones que contenían insertos grandes, y se encontraron seis patrones de empalme discretos. Estos patrones son ilustrados gráficamente en la Figura 17.

Los seis variantes de empalme difieren en la presencia o ausencia de tres axones, designados E6, E105, y E83. Las omisiones de E6 o E105 no cambian el marco de lectura, mientras la omisión de E83 si lo hace. Patrones similares a v2 y/o v3 también fueron observados en células porcinas, murinas, humanas, y de mono MARC- 145. Los patrones v4 y v5 carecen del exon nucleotido 105 que codifica la región de transmembrana hidrofóbica. Estos ADNcs fueron incapaces para volver células BHK permisibles a infección por PRRSV en un ensayo de transfección temporal, probablemente puesto que el CD163 es secretado en lugar de permanecer fijado a la membrana. Aunque las moléculas de CD163 que carecen de una región de transmembrana parecen ser no funcionales como factores de permisividad celular, es posible que estas pueden tener utilidad ya sea en neutralización directa de virus (similar a anticuerpos neutralizantes), o como un inmunogeno para la inducción de anticuerpos anti- CD163 los cuales bloquearían la infección viral en el animal huésped.

El variante de empalme más largo, v7, contiene tres de los exones E6, E105, y E83. Este ADNc de CD163 novedoso de células Vero codifica un polipéptido que tiene 1153 aminoácidos de longitud. Cuando se compara con las secuencias en la base de datos Genbank, la secuencia de aminoácidos Vero CD163v7 es 95.4% idéntica a CD163 humano (Genbank Z22968), 83.7% idéntica a CD163 porcino (Genbank AJ311716), y 72.1% idéntica a CD163 de ratón (Genbank AF274883). Las secuencias nucleótidas y aminoácidas de los seis variantes de unión encontrados en las células Vero son proporcionadas a continuación (SEQ ID NOs:33- 44).

367

SEQUENCIA	ID NO
1 M S K L R M V L L E D S G S A D V R R H	SEQ ID NO:33 y 34
1 ATGAGCAAACCTCAGAATGGTGCTACTTGAAGACTCTGGATCTGCTGACGTCAGAAGACAT	
21 F V N L S P F T I A V V L L L R A C F V	
61 TTTGTCAACTTGAGTCCCTTCACTATTGCTGTGGTCTTACTTCTCCGTGCCTGTTTGTG	
41 T S S L G G T T R E L R L V D G E W K C	
121 ACCAGTTCTCTTGGAGGAACAACCAAGGAGCTGAGGCTAGTGGATGGTGAACAAGTGT	
61 S G R V E V K I Q E E W G T V C N N G W	
181 AGTGGGAGAGTGGAAGTGAAAATCCAGGAGGAGTGGGGAACGGTGTGTAATAATGGCTGG	
81 S N E A V S V I C N Q L G C P T A I K A	
241 AGCATGGAAGCAGTCTCTGTGATTGTAAACCAGCTGGGATGTCCAAGTCTATCAAAGCC	
101 T G W A N S S A G S G R I W M D H V S C	
301 ACTGGATGGGCTAATTCCAGTGCAGGTTCTGGACGCATTGGATGGATCATGTTTCTTGT	
121 R G N E S A L W D C K H D G W G K H S N	
361 CGTGGGAATGAGTCAGCTCTTTGGGACTGCAACATGATGGATGGGGAAGCATAGTAAC	
141 C T H Q Q D A G V T C S D G S D L E M R	
421 TGTACTCACCACAAGATGCTGGAGTAACCTGCTCAGATGGATCCGATTGGAAATGAGG	
161 L T N G G N M C S G R I E I K F Q G Q W	
481 CTGACGAATGGAGGGAATATGTGTTCTGGAAGAATAGAGATCAAATCCAAGGACAGTGG	
181 G T V C D D N F N I N H A S V V C K Q L	
541 GGAACAGTGTGTGATGATAACTTCAACATCAATCATGCATCTGTGGTTTGTAAACAACCT	
201 E C G S A V S F S G S A N F G E G S G P	
601 GAATGTGGAAGTGTCTCAGTTTCTCTGGTTTCTAGCTAATTTGGAGAAGGCTCTGGACCA	
221 I W F D D L I C N G N E S A L W N C K H	
661 ATCTGGTTTGTATGATCTTATATGCAACGGAAATGAGTCAGCTCTCTGGAACCTGCAACAT	
241 Q G W G K H N C D H A E D A G V I C S K	
721 CAAGGATGGGGAAGCATAACTGTGATCATGCTGAGGATGCTGGAGTGATTGTCTCAAG	
261 G A D L S L R L V D G V T E C S G R L E	
781 GGAGCAGATCTGAGCCTGAGACTGGTAGATGGAGTCACTGAATGTTTCAAGGAAGATTAGAA	
281 V R F Q G E W G T I C D D G W D S H D A	
841 GTGAGATTTCAAGGAGAATGGGGACAATATGTGATGACGGCTGGGACAGTCATGATGCT	
301 A V A C K Q L G C P T A I T A I G R V N	
901 GCTGTGGCATGCAAGCAACTGGGATGTCCAAGTCTATCACCGCCATTGGTCGAGTTAAC	
321 A S E G F G H I W L D S V S C Q G H E P	
961 GCCAGTGAGGGAATTTGGACACATCTGGCTTGACAGTGTTTCTTGCCAGGGACATGAACCT	
341 A V W Q C K H H E W G K H Y C N H N E D	
1021 GCGGTCTGGCAATGTAAACACCATGAATGGGGAAAGCATTATTGCAATCACAATGAAGAT	
361 A G V T C S D G S G L E L R L R G G G S	
1081 GCTGGCGTAACATGTTCTGATGGATCAGGTCTGGAGCTAAGACTTAGAGGTGGAGGCAGC	
381 R C A G T V E V E I Q R L L G K V C D R	
1141 CGCTGTGCTGGGACAGTTGAGGTGGAGATTGAGAGACTGTTAGGGAAGGTGTGTGACAGA	
401 G W G L K E A D V V C R Q L G C G S A L	
1201 GGCTGGGGACTGAAAGAAGCTGATGTGGTTTGCAGGCAGCTGGGATGTGGATCTGCACTC	
421 K T S Y Q V Y S K I Q A T N M W L F L S	
1261 AAAACATCCTATCAAGTATACTCCAAAATCCAGGCAACAACATGTGGCTGTTTCTAAGT	
441 S C N G N E T S L W D C K N W Q W G G L	
1321 AGCTGTAACGGAAATGAAACTTCTCTTTGGGACTGCAAGAAGTGGCAATGGGGTGGACTT	

37

368

461	T C D H Y E E A K I T C S A H R E P R L
1381	ACCTGTGATCACTATGAAGAAGCCAAAATTACCTGCTCAGCCCACAGGGAACCCAGACTG
481	V G G D I P C S G R V E V K H G D T W G
1441	GTTGGAGGAGACATTCCCTGTTCTGGACGCGTTGAAGTGAAGCATGGTGACACATGGGGC
501	S V C D S D F S L E A A S V L C R E L Q
1501	TCCGTCTGTGATTCCGATTCTCTCTGGAAGCTGCCAGCGTTCTATGCAGGGAATTACAG
521	C G T V V S I L G G A H F G E G N G Q I
1561	TGTGGCACAGTCGTCTCTATCCTGGGGGGAGCTCACTTTGGAGAGGGAAATGGACAGATC
541	W T E E F Q C E G H E S H L S L C P V A
1621	TGGACTGAAGAATTCCAGTGTGAGGGACATGAGTCCCATCTTTCACTCTGCCCAGTAGCA
561	P R P E G T C S H S R D V G V V C S R Y
1681	CCCCGCCCAGAAGGAACCTGTAGCCACAGCAGGGATGTTGGAGTAGTCTGCTCAAGATAC
581	T E I R L V N G K T P C E G R V E L K T
1741	ACAGAAATTCGCTTGGTGAATGGCAAGACCCCATGTGAGGGCAGAGTGGAGCTCAAAACG
601	L N A W G S L C N S H W D I E D A H V L
1801	CTTAATGCCTGGGGATCCCTCTGCAACTCTCACTGGGACATAGAAGATGCCACGTTCTT
621	C Q Q L K C G V A L S T P G G A H F G K
1861	TGCCAACAACTTAAATGTGGAGTTGCCCTTTCTACCCAGGAGGAGCACATTTTGGAAAA
641	G N G Q V W R H M F H C T G T E Q H M G
1921	GGAAATGGTCAGGTCTGGAGGCATATGTTTCACTGCACTGGGACTGAGCAGCACATGGGA
661	D C P V T A L G A S L C P S G Q V A S V
1981	GATTGTCTGTAACTGCTCTGGGTGCTTCACTATGTCTTCAGGGCAAGTGGCCTCTGTA
681	I C S G N Q S Q T L S S R N S S S L G P
2041	ATTTGCTCAGGAAACCAGTCCCAACACTGTCTCGCGCAATTCATCATCTCTGGGCCCA
701	T R P T I P E E S A V A C I E S G Q L R
2101	ACAAGGCCCTACCATTCCAGAAGAAAGTGTGTGGCCTGCATAGAGAGTGGTCAACTTCGC
721	L V N G G G R C A G R V E I Y H E G S W
2161	TTGGTAATGGAGGAGGTCTGTCTGGGAGAGTAGAGATTTATCATGAGGGCTCTTGG
741	G T I C D D S W D L S D A H V V C R Q L
2221	GGCACCATCTGTGATGACAGCTGGGACCTGAGCGATGCCACGTTGGTGTGCAGACAGCTG
761	G C G E A I N A T G S A H F G E G T G P
2281	GGCTGTGGAGAGGCCATTAATGCCACTGGTTCTGCTCATTTTGGAGAAGGAACAGGGCCC
781	I W L D E M K C N G K E S R I W Q C H S
2341	ATCTGGCTGGATGAGATGAAATGCAATGGAAAAGAATCCCGCATTTGGCAGTGCCATTCA
801	H G W G Q Q N C R H K E D A G V I C S E
2401	CATGGCTGGGGGCAGCAAAACTGCAGGCACAAGGAGGATGCAGGAGTTATCTGCTCAGAG
821	F M S L R L T S E A S R E A C A G R L E
2461	TTCATGTCTCTGAGACTGACCACTGAAGCCAGCAGAGAGGCCTGTGCAGGGCGTCTAGAA
841	V F Y N G A W G S V G R S N M S E T T V
2521	GTTTTTTACAACGGAGCTTGGGGCAGTGTGGCAGGAGTAACATGTCTGAAACCACTGTG
861	G V V C R Q L G C A D K G K I N S A S L
2581	GGTGTAGTGTGCAGGCAGCTGGGCTGTGCAGACAAAGGGAAAATCAACTCTGCATCTTTA
881	D K A M S I P M W V D N V Q C P K G P D
2641	GACAAGGCCATGTCCATTCCCATGTGGGTGGACAATGTTCAGTGTCCAAAGGACCTGAC
901	T L W Q C P S S P W E K R L A R P S E E
2701	ACGCTGTGGCAGTGCCCATCATCTCCATGGGAGAAGAGACTGGCCAGGCCCTCGGAGGAG
921	T W I T C D N K M R L Q E G P T S C S G

369

2761 ACCTGGATCACATGTGACAACAAGATGAGACTACAAGAAGGACCCACTTCCTGTTCTGGA 941 R V E I W H G G S W G T V C D D S W D L 2821 CGTGTGGAGATCTGGCACGGAGGTTCTCTGGGGGACAGTGTGTGATGACTCCTGGGACTTG 961 N D A Q V V C Q Q L G C G P A L K A F K 2881 AACGATGCTCAGGTGGTGTGTCAACAACCTGGCTGTGGTCCAGCTTTGAAAGCATTCAAA 981 E A E F G Q G T G P I W L N E V K C E G 2941 GAAGCAGAGTTTGGTCAGGGGACTGGACCCATATGGCTCAATGAAGTGAAGTGGGAAGGG 1001 N E S S L W D C P A R R W G H S E C G H 3001 AATGAGTCTTCCTTGTGGGATTGTCTGCCAGACGCTGGGGCCACAGTGAAGTGTGGACAC 1021 K E D A A V N C T D I S T R K T P Q K A 3061 AAGGAAGACGCTGCAGTGAATTGCACAGATATTTCAACGCGCAAAACCCACAAAAAGCC 1041 T T G Q S S L I A V G I L G V V L L A I 3121 ACAACAGGTCAGTCATCCCTTATTGCAGTCGGAATCCTTGGAGTTGTTCTCTTGGCCATT 1061 F V A L F L T Q K R R Q R Q R L T V S S 3181 TTCGTGCGATTATTCTTGAAGCTCAAAAGCGAAGACAGAGACAGCGGCTTACAGTTTCTCTCA 1081 R G E N L V H Q I Q Y R E M N S C L N A 3241 AGAGGAGAGAACTTAGTCCACCAATTCAATACGGGAGATGAATTCTTGCCTGAATGCA 1101 D D L D L M N S S G G H S E A H 3301 GATGATCTGGACCTAATGAATTCTCAGGAGGCCATTCTGAGGCACAC	
1 MSKLRNVLE DSGSADVRH FVNLSPTTIA VVLLLRACFV TSSLGGTTKE LRLVDGENKC 61 SGRVEVKIQE EMGTVCNMGW SMEAVSVICN QLGCPAIIKA TGWANSAGE GRIWMDHVSC 121 RGNESALWDC KHDGNGKHSN CTHQDAGVT CSDGSDLEMR LTNGGNNCSG RIEIKFQGGW 181 GTVCDNFNI NHASVVCQL ECGSAVSFSG SANFGEGBGP IWFDDLICNG NESALWNCKH 241 QGNGKHNCDH AEDAGVICS KADLSRLVD GVTECSGRLE VRFQEWGTI CDDGWDSHDA 301 AVACKQLGCP TAITAIGRVN ASEGFGHIWL DSVSCQGHEP AVWQCKHHEW GKHYCNHNE 361 AGVTCSDGSG LELRLRGGGS RAGTVEVEI QRLLGKVCDR GWGLKADVV CRQLGCGSAL 421 KTSYQVYSKI QATNMWFLS SCNGNETSLW DCKNWQNGGL TCDHYEEAKI TCSAHREPRAL 481 VGGDIPCSGR VEVKHGDTWG SUCDSDFSLE AASVLCRELQ CGTVVBTLGG AHFGEGNGOI 541 WTEEFQCEGH ESHLSLCPVA PRPEGTCSHS RDVGVCVSRV TEIRLVNGKT PCEGRVELKT 601 LNWGSLCNS HWDIEDAHL COQLKCGVAL STPGGAHFGK GNGQVWRHMF HCTGTGEQHM 661 DCPVTALGAS LCPBGQVAV ICSGNQSQTL SBRNSSSLGP TRPTIPEESA VACIESGQLR 721 LVNGGRCAG RVEIYHEGSW GTICDDSDWL SDAHVVCRL GCGEAINATG SAHFGEGTGP 781 IWLDEKNCNG KESRINQCHS HGWGQONCRH KEDAGVICSE FMSLRILTSEA SREACAGRL 841 VFYNGAWGSV GRNNSETTV GVVCRLGCA DKGKINSASL DKAMSTPMV DNVQCPKGP 901 TLWQCPSSPW EKRLARPSEE TWITCDNKR LQEGPTSCSG RVEIWHGGSW GTVCDSDWL 961 NDAQVVCQL GCGPALKAFK EAEPGQGTGP IWLNEVKEG NESSLWDCPA RRGHSECGH 1021 KEDAAVNCTD ISTRTPTQRA TTQSSLIIV GILGVLLAI FVALFLTQK RQRQLTVSS 1081 RGENLVHQIQ YREMNCLNA DDLDMNSSG GHSEAH	SEQ ID NO:34
1 M S K L R N V L L E D S G S A D V R R H 1 ATGAGCAAACTCAGATGGTGCTACTTGAAGACTCTGGATCTGCTGACGTCAGAAGACAT 21 F V N L S P F T I A V V L L L R A C F V 61 TTTGTCAACTTGAGTCCCTTCACTATTGCTGTGGTCTTACTTCTCCGTGCCTGTTTGTG 41 T S S L G G G T T K E L R L V D G E N K C 121 ACCAGTTCTCTTGGAGGAACAACCAAGGAGCTGAGGCTAGTGGATGGTGAACAAAGTGT 61 S G R V E V K I Q E E W G T V C N N G W 181 AGTGGGAGAGTGAAGTGAATCCAGGAGGAGTGGGGAACGGTGTGTAATAATGGCTGG 81 S M E A V S V I C N Q L G C P T A I K A 241 AGCATGGAAGCAGTCTCTGTGATTGTAAACAGCTGGGATGTCCAACTGCTATCAAAGCC 101 T G W A N S S A G S G R I W M D H V S C 301 ACTGGATGGGCTAATCCAGTGCAGGTTCTGGACGATTGGATGGATCATGTTTCTTGT 121 R G N E S A L W D C K H D G W G K H S N 361 CGTGGGAATGAGTCAGCTCTTGGGACTGCAACATGATGGATGGGGAAGCATAGTAAC 141 C T H Q O D A G V T C S D G S D L E M R 421 TGTACTACCAACAAGATGCTGGAGTAACCTGCTCAGATGGATCCGATTGGAAATGAGG 161 L T N G G M M C S G R I E I K F Q G Q W 481 CTGACCAATGGAGGGAATATGTGTTCTGGAAGATAGAGATCAAAATCCAGGACAGTGG	SEQ ID NO:35 y 36

2565
370

181 G T V C D D N F N I N H A S V V C K Q L
541 GGAACAGTGTGTGATGATAACTTCAACATCAATCATGCATCTGTGGTTTGTAAACAACTT
201 E C G S A V S F S G S A N F G E G S G P
601 GAATGTGGAAGTGTCTCAGTTTCTCTGGTTTCTAGCTAATTTTGGAGAAGGCTCTGGACCA
221 I W F D D L I C N G N E S A L W N C K H
661 ATCTGGTTTGATGATCTTATATGCAACGGAAATGAGTCAGCTCTCTGGAAGTCAAAACAT
241 Q G W G K H N C D H A E D A G V I C S K
721 CAAGGATGGGGAAGCATAACTGTGATCATGCTGAGGATGCTGGAGTGATTTGCTCAAAG
261 G A D L S L R L V D G V T E C S G R L E
781 GGAGCAGATCTGAGCCTGAGACTGGTAGATGGAGTCACTGAATGTTCAGGAAGATTAGAA
281 V R F Q G E W G T I C D D G W D S H D A
841 GTGAGATTCCAAGGAGAATGGGGACAATATGTGATGACGGCTGGGACAGTCATGATGCT
301 A V A C K Q L G C P T A I T A I G R V N
901 GCTGTGGCTCAAGCAACTGGGATGTCCAACCTGCTATCACCGCCATTGGTCGAGTTAAC
321 A S E G F G H I W L D S V S C Q G H E P
961 GCCAGTGAGGGATTGGACACATCTGGCTTGACAGTGTCTTCCAGGGACATGAACCT
341 A V W Q C K H H E W G R H Y C N H N E D
1021 GCGGTCTGGCAATGTAACACCATGAATGGGGAAGCATTATTGCAATCACAATGAAGAT
361 A G V T C S D L G S D L E L R L R G G G S
1081 GCTGGCCTAACATGTTCTGATGGATCAGATCTGGAGCTAAGACTTAGAGGTGGAGGCAGC
381 R C A G T V E V E I Q R L L G K V C D R
1141 CGCTGTGCTGGGACAGTTGAGGTGAGAGTTCAGAGACTGTTAGGGAAGGTGTGTGACAGA
401 G W G L K E A D V V C R Q L G C G S A L
1201 GGCTGGGGACTGAAAGAAGCTGATGTGGTTTGCAGGCAGCTGGGATGTGGATCTGCACTC
421 K T S Y Q V Y S K I Q A T N M W L F L S
1261 AAAACATCTTCAAGTATCTCCAAAATCCAGGCAACAAACATGTGGCTGTTCTTAAGT
441 S C N G N E T S L W D C K N W Q W G G L
1321 AGCTGTAAACGGAATGAAACTTCTCTTTGGGACTGCAAGAACTGGCAATGGGGTGGACTT
461 T C D H Y E E A K I T C S A H R E P R L
1381 ACCTGTGATCAGTGAAGAAGCCAAAATTACCTGCTCAGCCACAGGGAACCCAGACTG
481 V G G D I P C S G R V E V K H G D T W G
1441 GTTGGAGGAGACATTCCCTGTTCTGGACCGCTTGAAGTGAAGCATGGTGACACATGGGGC
501 S V C D S D F S L E A A S V L C R E L Q
1501 TCCGTCTGTGATTCCGATTCTCTCTGGAAGCTGCCAGCTTCTATGAGGGAATTACAG
521 C G T V V S I L G G A H F G E G N G Q I
1561 TGTGGCACAGTCGCTCTATCTCTGGGGGAGCTCACTTTGGAGAGGGAAATGGACAGATC
541 W T E E F Q C E G H E S H L S L C P V A
1621 TGGACTGAAGAATTCCAGTGTGAGGACATGAGTCCCATCTTCACTCTGCCAGTAGCA
561 P R P E G T C S H S R D V G V V C S R Y
1681 CCCC GCCAGAGAACTTGTAGCCACAGCAGGGATGTTGGAGTAGTCTGCTCAAGATAC
581 T E I R L V N G K T P C E G R V E L K T
1741 ACAGAAATTCGCTGGTGAATGGCAAGACCCCATGTGAGGGCAGAGTGGAGCTCAAAACG
601 L N A W G S L C N S H W D I E D A H V L
1801 CTTAATGCCTGGGATCCCTCTGCAACTCTCACTGGGACATAGAAGATGCCACGTTCTT
621 C Q Q L K C G V A L S T P G G A H F G K
1861 TGCCAACAGTTTAAATGTGGAGTTGCCCTTTCTACCCACAGGAGGACATTTTGGAAAA
641 G N G Q V W R H M F H C T G T E Q H M G
1921 GGAATGGTCAGGTCTGGAGGCATATGTTTCACTGCACTGGGACTGAGCAGCACATGGGA
661 D C P C V T A L G A S L C P S G Q V A S V
1981 GATTGCTCTGATGCTCTGGGTGCTTCACTATGTCCTTCAAGGCAAGTGGCCTCTGTA
681 I C S G N Q S Q T L S S C N S S S L G P
2041 ATTTGCTCAGGAAACAGTCCCAACACTGTCTCTGTCGAATTATCATCTCTGGGCCCA
701 T R P T I P E E S A V A C I E S G Q L R
2101 ACAAGGCCCTACCATTCAGAAGAAAGTGTGTGGCCTGCATAGAGAGTGGTCAACTTCGC
721 L V N G G G R C A G R V E I Y H E G S W
2161 TTGGTAAATGGAGGAGTCTGCTGTGCTGGGAGATAGAGATTTATCATGAGGCTCCTGG
741 G T I C D D S W D L S D A H V V C R Q L
2221 GGCACCATCTGTGATGACAGCTGGGACCTGAGCGATGCCACGTTGGTGTGACAGCAGCTG
761 G C G E A I N A T G S A H F G E G T G P
2281 GGCTGTGGAGAGGCCATTATGCCACTGGTTCTGCTCATTTTGGAGAAGGAACAGGGCCC
781 I W L D E M K C N G K E S R I W Q C H S
2341 ATCTGGCTGGATGAGATGAAATGCAATGGAAAAGATCCCGCATTTGGCAGTGCCATTCA
801 H G W G Q Q N C R H K E D A G V I C S E
2401 CATGGCTGGGGCAGCAAACTGCAGGCACAAGGAGGATGCAGGAGTTATCTGCTCAGAG
821 F M S L R L T S E A S R E A C A G R L E
2461 TTCATGCTCTGAGACTGACCACTGAAGCCAGCAGAGAGCCCTGTGAGGGCGTCTAGAA
841 V F Y N G A W G S V G R S N M S E T T V
2521 GTTTTTTACAACGGAGCTTGGGGCAGTGTGGCAGGAGTAACATGTCTGAAACCACTGTG
861 G V V C R Q L G C A D K G K I N S A S L
2581 GGTGTAGTGTGAGGCAGCTGGGCTGTGACAGACAAAGGGAAAATCAACTCTGCATCTTA
881 D K A M S I P M W V D N V Q C P K G P D

371

2641 GACAAGGCCATGTCCATTCCCATGTGGGTGGACAATGTTTCAGTGTCCAAAAGGACCTGAC 901 T L W Q C P S S P W E K R L A R P S E E 2701 ACGCTGTGGCAGTGGCCATCATCTCCATGGGAGAAGAGACTGGCCAGGCCCTCGGAGGAG 921 T W I T C D N K M R L Q E G P T S C S G 2761 ACCTGGATCACATGTGACAACAAGATGAGACTACAAGAAGGACCCACTTCCTGTCTGGA 941 R V E I W H G G S W G T V C D D S W D L 2821 CGTGTGGAGATCTGGCACGGAGGTTCTGGGGGACAGTGTGTGATGACTCCTGGGACTTG 961 N D A Q V V C Q Q L G C G P A L K A F K 2881 AACGATGCTCAGGTGGTGTGTCAACAACCTGGCTGTGGTCCAGCTTTGAAAGCATTCAAA 981 E A E F G Q G T G P I W L N E V K C R G 2941 GAAGCAGAGTTTGGTCAGGGGACTGGACCCATATGGCTCAATGAAGTGAAGTGCAAAGGG 1001 N E S S L W D C P A R R W G H S E C G H 3001 AATGAGTCTTCCTTGTGGGATTGTCTGCCAGACGCTGGGGCCACAGTGAGTGTGGACAC 1021 K E D A A V N C T D I S T R K T P Q K A 3061 AAGGAAGACTGCGAGTGAATTGCACAGATATTTCAACGCGCAAAACCCACAAAAAGCC 1041 T T G Q S S L I A V G I L G V V L L A I 3121 ACAACAGGTGAGTCATCCCTTATTGCAGTCGGAATCCTTGGAGTTGTTCTCTTGCCCAT 1061 F V A L F L T Q K R R Q R Q R L T V S S 3181 TTCGTGCGATTTATTCTTGACTCAAAAGCGAAGACAGAGACAGCGGCTTACAGTTTCTCTCA 1081 R G E N L V H Q I Q Y R E M N S C L N A 3241 AGAGGAGAGAACTTAGTCCACCAAAATCAATACCGGGAGATGAATTCTTGCTGTAATGCA 1101 D D L D L M N S S E N S W E S A D F N A 3301 GATGATCTGGACCTAATGAATTCTCAGAAAATTCGAATGAGTCAGCTGATTTCGAATGCT 1121 A E L I S V S K F L P I S G M E K E A I 3361 GCTGAATAATTTCTGTGTCTAATTTCTTCTATTTCTGGAATGGAAAGGAGGCCATT 1141 L R H T E K E N G N L 3421 CTGAGGCACACTGAAAAGGAAAATGGGAATTTA	
1 MSKLRMVLE DSGSADVRRH FVNLSPFTIA VVLLLRACFV TSSLGGTTKE LRLVDGENKC 61 SGRVEVKIQE ENGTVCMNGW SMEAVSVICN QLGCPTAICA TGWANSSAGS GRIWMDHVSC 121 RGNESALWDC KHDGNGKHSN CTHQQDAGVT CSDGSDLEMR LTNGGNMCSG RIEIKFQGGW 181 GTVCDNDFNI NHASVVCNQL ECGSAVSFBG SANFGEGSGP IWFDLILCNG NESALWNCRH 241 QGNGKHNCNH AEDAGVICS KADLSRLVD GVTECSGRLE VRFQGENGTI CDDGWDSDHA 301 AVACKQLGCP TAITAIGRVN ASEGFGHIWL DSVSCQGHEP AVWQCKHHEW GKHYCNHNE 361 AGVTCSDGSD LELRLGGGS RCAGTVEVEI QRLLGKVCDR GWGLKEADV CRQLGCGSAL 421 KTSYQVYSKI QATNMWLFSL SCNGNETSLW DCKNWQWGL TCDHYEEAKI TCSAHREPR 481 VGGDIPCSGR VEVKHGDTWG SVCSDSFLS AASVLCRELQ CGTVVSILGG AHFGEGNGQI 541 WTEEFQCEGH ESHLSLCPVA PRPEGTCSHS RDVGVCBRY TEIRLVNGKT PCEGRVELNT 601 LNANGSLCNS HWDIEDAHLV CQQLKCGVAL STPGGAHFGK GNGQVVRHMF HCTGTQOHMG 661 DCPVTALGAS LCPSGQVASV ICSGNQSQTL BSCNSSLGP TRPTIPEESA VACIESGQLR 721 LVNGGGRCAG RVEIYHGSW GTICDDSDWL SDAHVVCRQL CGGEAINATG SAHFGEGTGP 781 IWLDEMKNCG KESRIWQCHS HGWGQONCRH KEDAGVICSE FMSLRILTSEA SREACAGRL 841 VFYNGANGSV GRSMHSETTV GVVCRLGCA DKGKINSASL DKAMSIPMV DNVQCPKGP 901 TLWQCPSSPW EKRLARPSEE TWITCDNKM LQEGPTSCSG RVEIWHGGSW GTVCDSDWL 961 NDAQVVCQQL GCGPALKAFAEAEFGGTGP IWLNEVKCKG NESSLWDCPA RRNGHSECGH 1021 KEDAAVNCID ISTRKTPQKA TTGQSSLIIV GILGVVLLAI FVALFLTQKR RQRRLTVSS 1081 RGENLVHQIQ YREMNCLNA DDLDMNSSE NSNESADPNA AELISVSKFL PISGMEKEAI 1141 LRHTEKENG L	SEQ ID NO:36
1 M S K L R M V L L E D S G S A D V R R H 1 ATGAGCAAACCTCAGATGGTGCTACTTGAAGACTCTGGATCTGCTGACGTCAGAAGACAT 21 F V N L S P F T I A V V L L L R A C F V 61 TTTGTCAAACCTGAGTCCCTTCACTATTGCTGTGGTCTTACTTCTCCGTGCTGTTTTGT 41 T S S L G G T T K E L R L V D G E N K C 121 ACCAGTTCTCTTGGAGGAACAACCAAGGAGCTGAGGCTAGTGGATGGTGAAACAGTGT 61 S G R V E V K I Q E E W G T V C N N G W 181 AGTGGGAGAGTGAAGTGAATAATCCAGGAGGAGTGGGGAACGGTGTGTAATAATGGCTGG 81 S M E A V S V I C N Q L G C P T A I K A 241 AGCATGGAAGCAGTCTCTGTGATTTGTAACCAGCTGGGATGTCCAACCTGCTATCAAAGCC 101 T G W A N S S A G S G R I W M D H V S C 301 ACTGGATGGGCTAATTCAGTGCAGGTTCTGGACGCATTTGGATGGATCATGTTTCTTGT 121 R G N E S A L W D C K H D G W G K H S N 361 CGTGGGAATGAGTCAGCTCTTTGGGACTGCAACATGATGGATGGGGAAGCATAGTAAC 141 C T H Q Q D A G V T C S D G S D L E N R	SEQ ID NO:37 y 38

372

421 TGTACTCACCAACAAGATGCTGGAGTAACTTGCTCAGATGGATCCGATTGGAAATGAGG
161 L T N G G N M C S G R I E I K F Q G Q W
481 CTGACGAATGGAGGAATATGTGTTCTGGAAGAATAGAGATCAAATCCAAGGACAGTGG
181 G T V C D D N F N I N H A S V V C K Q L
541 GGAACAGTGTGTGATGATAACTTCAACATCAATCATGCATCTGTGGTTTGTAAACAACCTT
201 E C G S A V S F S G S A N F G E G S G P
601 GAATGTGGAAGTGCTGTCAGTTTCTCTGGTTGAGCTAATTTTGGAGAAGGCTCTGGACCA
221 I W F D D L I C N G N E S A L W N C K H
661 ATCTGGTTTGATGATCTTATATGCAACGGAAATGAGTCAGCTCTCTGGAACTGCAAACAT
241 Q G W G K H N C D H A E D A G V I C S K
721 CAAGGATGGGGAAGCATAACTGTGATCATGCTGAGGATGCTGGAGTGATTTGCTCAAAG
261 G A D L S L R L V D G V T E C S G R L E
781 GGAGCAGATCTGAGCCTGAGACTGGTAGATGGAGTCACTGAATGTTGAGGAAGATTAGAA
281 V R F Q G E W G T I C D D G W D S H D A
841 GTGAGATCCAAGGAGAATGGGGACAAATATGTGATGACGGCTGGGACAGTCATGATGCT
301 A V A C K Q L G C P T A I T A I G R V N
901 GCTGTGGCATGCAAGCAACTGGGATGTCCAACCTGCTATCACCGCCATTGGTCGAGTTAAC
321 A S E G F G H I W L D S V S C Q G H E P
961 GCCAGTGAGGGATTGGACACATCTGGCTTGACAGTGTTTCTTGCCAGGGACATGAACCT
341 A V W Q C K H H E W G K H Y C N H N E D
1021 GCGGTCTGGCAATGTAAACACCATGAATGGGGAAGCATTATTGCAATCACAATGAAGAT
361 A G V T C S D G S D L E L R L R G G G S
1081 GCTGGCGTAACATGTTCTGATGGATCAGATCTGGAGCTAAGACTTAGAGGTGGAGGCAGC
381 R C A G T V E V E I Q R L L G K V C D R
1141 CGCTGTGCTGGGACAGTTGAGGTGGAGATTGAGAGACTGTTAGGGAAGGTGTGTGACAGA
401 G W G L K E A D V V C R Q L G C G S A L
1201 GGCTGGGGACTGAAGAAGCTGATGTGGTTTGACGGCAGCTGGGATGTGGATCTGCACTC
421 K T S Y Q V Y S K I Q A T N M W L F L S
1261 AAAACATCTATCAAGTATACTCCAAAATCCAGGCAACAAACATGTGGCTGTTTCTAAGT
441 S C N G N E T S L W D C K N W Q W G G L
1321 AGCTGTAAACGGAATGAACTTCTCTTTGGGACTGCAAGAACTGGCAATGGGGTGGACTT
461 T C D H Y E E A K I T C S A H R E P R L
1381 ACCTGTGATCACTATGAAGAAGCCAAAATTACCTGCTCAGCCCACAGGGAACCCAGACTG
481 V G G D I P C S G R V E V K H G D T W G
1441 GTTGGAGGAGACATTCCCTGTTCTGGACGCGTTGAAGTGAAGCATGGTGACACATGGGGC
501 S V C D S D F S L E A A S V L C R E L Q
1501 TCCGTCTGTGATTGCGATTCTCTCTGGAAGCTGCCAGCGTTCTATGCAGGGAATTACAG
521 C G T V V S I L G G A H F G E G N G Q I
1561 TGTGGCACAGTCGTCTCTATCCTGGGGGAGCTCACTTTGGAGAGGGAAATGGACAGATC
541 W T E E F Q C E G H E S H L S L C P V A
1621 TGGACTGAAGAATTCCAGTGTGAGGGACATGAGTCCCATCTTTCACTCTGCCCAGTAGCA
561 P R P E G T C S H S R D V G V V C S R Y
1681 CCCC GCCCAGAAGGAACCTGTAGCCACAGCAGGGATGTTGGAGTAGTCTGCTCAAGATAC
581 T E I R L V N G K T P C E G R V E L K T
1741 ACAGAAATTCGCTTGGTGAATGGCAAGACCCCATGTGAGGGCAGAGTGGAGCTCAAAACG
601 L N A W G S L C N S H W D I E D A H V L
1801 CTTAATGCCTGGGGATCCCTCTGCAACTCTCACTGGGACATAGAAGATGCCACGTTCTT

258

373

621 C Q Q L K C G V A L S T P G G A H F G K
1861 TGCCAACAACTTAAATGTGGAGTTGCCCTTTCTACCCCAGGAGGAGCACATTTTGGAAAA
641 G N G Q V W R H M F H C T G T E Q H M G
1921 GGAAATGGTCAGGTCTGGAGGCATATGTTTCACTGCACCTGGGACTGAGCAGCACATGGGA
661 D C P V T A L G A S L C P S G Q V A S V
1981 GATTGTCCTGTAACGTCTCTGGGTGCTTCACTATGTCTTCAGGGCAAGTGGCCTCTGTA
681 I C S G N Q S Q T L S S C N S S S L G P
2041 ATTTGCTCAGGAAACCAGTCCCAACACTGTCTCGTGCAATTCATCATCTCTGGGCCCA
701 T R P T I P E E S A V A C I E S G Q L R
2101 ACAAGGCCCTACCATTCCAGAAGAAAGTGCTGTGGCCTGCATAGAGAGTGGTCAACTTCGC
721 L V W G G G R C A G R V E I Y H E G S W
2161 TTGGTAAATGGAGGAGGTGCTGTGCTGGGAGAGTAGAGATTTATCATGAGGGCTCTGG
741 G T I C D D S W D L S D A H V V C R Q L
2221 GGCACCATCTGTGATGACAGCTGGGACCTGAGCGATGCCACGTTGGTGTGCAGACAGCTG
761 G C G E A I N A T G S A H F G E G T G P
2281 GGCTGTGGAGAGGCCATTAAATGCCACTGGTTCTGCTCATTTTGGAGAAGGAACAGGGCCC
781 I W L D E M K C N G K E S R I W Q C H S
2341 ATCTGGCTGGATGAGATGAAATGCAATGGAAAAGAATCCCGCATTTGGCAGTGCCATTCA
801 H G W G Q Q N C R H K E D A G V I C S E
2401 CATGGCTGGGGGCAGCAAACTGCAGGCACAAGGAGGATGCAGGAGTTATCTGCTCAGAG
821 F M S L R L T S E A S R E A C A G R L E
2461 TTCATGTCTCTGAGACTGACCAGTGAAGCCAGCAGAGAGGCCTGTGCAGGGCGTCTAGAA
841 V F Y N G A W G S V G R S N M S E T T V
2521 GTTTTTTACAACGGAGCTTGGGGCAGTGTGGCAGGAGTAACATGTCTGAAACCACTGTG
861 G V V C R Q L G C A D K G K I N S A S L
2581 GGTGTAGTGTGCAGGCAGCTGGGCTGTGCAGACAAAGGGAAAATCAACTCTGCATCTTTA
881 D K A M S I P M W V D N V Q C P R G P D
2641 GACAAGGCCATGTCCATTCCCATGTGGGTGGACAATGTTCAGTGTCCAAAAGGACCTGAC
901 T L W Q C P S S P W E K R L A R P S E E
2701 ACGCTGTGGCAGTGCCCATCATCTCCATGGGAGAAGAGACTGGCCAGGCCCTCGGAGGAG
921 T W I T C D N K M R L Q E G P T S C S G
2761 ACCTGGATCACATGTGACAACAAGATGAGACTACAAGAAGGACCCACTTCCTGTTCTGGA
941 R V E I W H G G S W G T V C D D S W D L
2821 CGTGTGGAGATCTGGCAGGAGGTTTCCTGGGGGACAGTGTGTGATGACTCCTGGGACTTG
961 N D A Q V V C Q Q L G C G P A L K A F K
2881 AACGATGCTCAGGTGGTGTGTCAACAACCTTGGCTGTGGTCCAGCTTTGAAAGCATTCAAA
981 E A E F G Q G T G P I W L N E V K C K G
2941 GAAGCAGAGTTTGGTCAGGGGACTGGACCCATATGGCTCAATGAAGTGAAGTCAAAGGG
1001 N E S S L W D C P A R R W G H S E C G H
3001 AATGAGTCTTCCTTGTGGGATTGTCTGCCAGACGCTGGGGCCACAGTGAGTGTGGACAC
1021 R E D A A V N C T D I S T R K T F Q K A
3061 AAGGAAGACGCTGCCGTGAATTGCACAGATATTTCAACGCGCAAAACCCCAAAAAAGCC
1041 T T V S S R G E N L V H Q I Q Y R E M N
3121 ACAACGGTTTCCTCAAGAGGAGAGAACTTAGTCCACCAATTCATACCGGGAGATGAAT
1061 S C L N A D D L N L M N S S G G H S E A
3181 TCTTGCCCTGAATGCAGATGATCTGAACCTAATGAATTCCTCAGGAGGCCATTCTGAGGCA
1081 H * K G K W E F I T Q

387
374

3241 CACTGAAAAGGAAAATGGGAATTTATAACCCAG							SEQ ID NO: 38
1	MSKLRLNVLE	DSGSADVRRH	FVNLSPTTIA	VVLLLRACFV	TSSLGGTTKE	LRLVDGENKC	
61	SGRVEVKIQE	EWGTVCNNGW	SNEAVSVICN	QLGCPATAKA	TGWANSSAGS	GRIMMDHVSC	
121	RGNESALWDC	KHDGWGKHNS	CTHQODAGVT	CSDGSDLENR	LTNGGMMCSG	RIEIKFOGQW	
181	GTVCDDNFNI	NHASVVCQOL	ECGSAVSFSG	SANFGEESGP	IWFDDLICNG	NESALWCKH	
241	QGWGRHNCBH	AEDAGVICSK	GADLSLRLVD	GVTECSGRLE	VRFQGENGTI	CDDGWDSHDA	
301	AVACKQLGCP	TAITAIGRVN	ASEGFGHIWL	DSVSCQGHF	AVWQCKHHEW	GKHYCNHNEO	
361	AGVTCSDGSD	LELRLRGGS	RCAGTVEVEI	QRLLGKVCDR	GWGLKEADV	CRQLGCGSAL	
421	KTSYQVYSKI	QATNMWLFSL	SCNGNETSLW	DCKNWQWGL	TCDHYEEAKI	TCSAHREPRL	
481	VGGDIPCSGR	VEVKHGDWTG	SVCDSDFSLE	AASVLCRELQ	CGTVVSIILGG	AHFGEENGQI	
541	WTEEFQCEGH	ESHLSLCPVA	PRPEGTCSHS	RDVGVCVSRV	FEIRLVNGKT	PCEGRVELKT	
601	LNAWGLCNS	HWDIEDAHL	COQLKCGVAL	STPGGAHFGK	GNGQVWRHMF	HCTGTQOHMG	
661	DCPVTALGAS	LCPSGQVASV	ICSGNQSQTL	SSCNSSSLGP	TRPTIPEESA	VACIESGQLR	
721	LVNNGGRCAG	RVEIYHEGSW	GTICDDSDWL	SDAHVVCRQL	GCGEAINATG	SAHFGEGTGP	
781	IWLDEMKCNG	KESRIWQCHS	HGWGQWCRH	KEDAGVICSE	FMSLRITSEA	SREACAGRL	
841	VFYNGANGSV	GRSMSETTV	GVVCRQLGCA	DKGKINSASL	DKANSIPMWV	DNVCPCPKPD	
901	TLWQCPSSPW	EKRLARPSEE	TWITCDNMR	LQEGPTSCSG	RVEIWHGGSW	GTVCCDSWDL	
961	NDAQVVCQOL	GCGPALKAFK	EAEFGQGTGP	IWLNEVKCKG	NESSLWDCPA	RRMGHSECGH	
1021	KEDAAVNCTD	ISTRKTPQKA	TTVSSRGENL	VHOIYREMN	SCLNADDLNL	MNSSGGHSEA	
1081	H						

1 M S R L R M V L L E D S G S A D V R R H							SEQ ID NO: 39 y 40
1	ATGAGCAAACCTCa	GAATGGTGCTACTT	GAAAGACTCTGGATCTGCTG	ACGTCAGAAGACAT			
21	F V N L S P F T I A V V L L L R A C F V						
61	TTTGTCAACTTGAGTCCCTTCACTATTGCTGTGGTCTTACTTCTCCGTGCCTGTTTTGTC						
41	T S S L G G T T K E L R L V D G E N K C						
121	ACCAGTTCTCTTGGAGGAACAACCAAGGAGCTGAGGCTAGTGGATGGTGAACAAGTGT						
61	S G R V E V K I Q E E W G T V C N N G W						
181	AGTGGGAGAGTGGAAGTGAAAATCCAGGAGGAGTGGGGAACGGTGTGTAATAATGGCTGG						
81	S M E A V S V I C N Q L G C P T A I K A						
241	AGCATGGAAGCAGTCTCTGTGATTTGTAACCAGCTGGGATGTCCAACGCTATCAAAGCC						
101	T G W A N S S A G S G R I W M D H V S C						
301	ACTGGATGGGCTAATTCAGTGCAAGTTCTGGACGCATTTGGATGGATCATGTTTCTTGT						
121	R G N E S A L W D C K H D G W G K H S N						
361	CGTGGGAATGAGTCAGCTCTTTGGGACTGCAAACATGATGGATGGGGAAGCATACTAAC						
141	C T H Q Q D A G V T C S D G S D L E M R						
421	TGTACTCACCACAAGATGCTGGAGTGACTTGCTCAGATGGATCCGATTGGAAATGAGG						
161	L T N G G N M C S G R I E I K F Q G Q W						
481	CTGACGAATGGAGGGAATATGTGTTCTGGAAGAATAGAGATCAAATTCAGGACAGTGG						
181	G T V C D D N F N V N H A S V V C K Q L						
541	GGAACAGTGTGTATGATAACTTCAACGTCAATCATGCATCTGTGGTTTGTAACAACCTT						
201	E C G S A V S F S G S A N F G E G S G P						
601	GAATGTGGAAGTGCTGTCACTTTCTCTGGTTCACTAATTTTGGAGAAGGCTCTGGACCA						
221	I W F D D L I C N G N E S A L W N C K H						
661	ATCTGGTTTGATGATCTTATATGCAACGGAAATGAGTCAGCTCTCTGGAACGCAACAT						
241	Q G W G K H N C D H A E D A G V I C S K						
721	CAAGGATGGGGAAGCATAACTGTGATCATGCTGAGGATGCTGGAGTGATTGCTCAAAG						
261	G A D L S L R L V D G V T E C S G R L E						
781	GGAGCAGATCTGAGCCTGAGACTGGTAGATGGAGTCACTGAATGTTCAAGGAAGATTAGAA						
281	V R F Q G E W G T I C D D G W D S H D A						
841	GTGAGATTCGAAGGAGAATGGGGACAATATGTGATGACGGCTGGGACAGTCATGATGCT						
301	A V A C K Q L G C P T A I T A I G R V N						
901	GCTGTGGCATGCAAGCAACTGGGATGTCCAACGCTATCACCGCCATTGGTCGAGTTAAC						

380
375

321	A S E G F G H I W L D S V S C Q G H E P	
961	GCCAGTGAGGGATTTGGACACATCTGGCTTGACAGTGTTCCTTGCCAGGGACATGAACCT	
341	A V W Q C K H H E W G X H Y C M H N E D	
1021	GCGGTCTGGCAATGTAAACACCATGAATGGGGAAGCATTATTGCAATCACAATGAAGaT	
361	A G V T C S D G S D L E L R L R G G G S	
1081	GCTGGCGTAACATGTTCTGATGGATCAGATCTGGAGCTAAGACTTAGAGGTGGAGGCAGC	
381	R C A G T V E V E I Q R L L G K V C D R	
1141	CGCTGTGCTGGGACAGTTGAGGTGGAGATtCAGAGACTGTTAGGGAAGGTGTGTGACAGA	
401	G W G L K E A D V V C R Q L G C G S A L	
1201	GGCTGGGACTGAAAGAAGCTGATGTGGTTTGCAGGCAGCTGGGATGTGGATCTGCACTC	
421	K T S Y Q V Y S K I Q A T M M W L F L S	
1261	AAACATCCTATCAAGTATACTCCAAAATCCAGGCAACAAACATGTGGCTGTTTCTAAGT	
441	S C N G M E T S L W D C K N W Q W G G L	
1321	AGCTGTAACGGAAATGAAACTTCTCTTTGGACTGCAAGAACTGGCAATGGGGTGGACTT	
461	T C D H Y E E A K I T C S A H R E P R L	
1381	ACCTGTGATCACTATGAAGAAGCCAAAATTACCTGCTCAGCCCACAGGGAACCCAGACTG	
481	V G G D I P C S G R V E V K H G D T W G	
1441	GTTGGAGGAGACATTCCCTGTTCTGGACGCGTTGAAGTGAAGCATGGTGACACATGGGGC	
501	S V C D S D F S L E A A S V L C R E L Q	
1501	TCCGTCTGTGATTCCGATTCTCTCTGGAAGCTGCCAGCGTTCTATGCAGGGAATTACAG	
521	C G T V V S I L G G A H F G E G N G Q I	
1561	TGTGGCACAGTCGTCTCTATCCTGGGGGAGCTCACTTTGGAGAGGGAAATGGACAGATC	
541	W A E E F Q C E G H E S H L S L C P V A	
1621	TGGGCTGAAGAATTCCAGTGTGAGGGACATGAGTCCCATCTTTCACCTGCCCAGTAGCA	
561	P R P E G T C S H S R D V G V V C S R Y	
1681	CCCCGCCCAGAAGGAACCTGTAGCCACAGCAGGGATGTTGGAGTAGTCTGCTCAAGATAC	
581	T E I R L V N G K T P C E G R V E L X T	
1741	ACAGAAATTCGCTTGGTGAATGGCAAGACCCCATGTGAGGGCAGAGTGGAGCTCAAAACG	
601	L N A W G S L C N S H W D I E D A H V L	
1801	CTTAATGCCTGGGGATCCCTCTGCAACTCTCACTGGGACATAGAAGATGCCACGTTCTT	
621	C Q Q L R C G V A L S T P G G A H F G K	
1861	TGCCAACAACTTAAATGTGGAGTTGCCCTTTCTACCCCAGGAGGAGCACATTTTGGAAAA	
641	G N G Q V W R H M F H C T G T E Q H M G	
1921	GGAAATGGTCAGGTCTGGAGGCATATGTTTCACTGCACTGGGACTGAGCAGGCATGGGA	
661	D C P V T A L G A S L C P S G Q V A S V	
1981	GATTGTCCTGTAACCTGCTCTGGGTGCTTCACTATGTCTTCAGGGCAAGTGGCCTCTGTA	
681	I C S G N Q S Q T L S S C N S S S L G P	
2041	ATTTGCTCAGGAACCACTGCCAAACACTGTCTCGTGCAATTCATCATCTCTGGGCCCA	
701	T R P T I P E E S A V A C I E S G Q L R	
2101	ACAAGGCCCTACCATTCAGAAGAAAGTGTGTGGCCTGCATAGAGAGTGGTCAACTTCGC	
721	L V N G G G R C A G R V E I Y H E G S W	
2161	TTGGTAAATGGAGGAGGTCGCTGTGCTGGGAGAGTAGAGATTTATCATGAGGGCTCCTGG	
741	G T I C D D S W D L S D A H V V C R Q L	
2221	GGCACCATCTGTGATGACAGCTGGGACCTGAGCGATGCCACGTTGGTGTGCAGACAGCTG	
761	G C G E A I N A T G S A H F G E G T G P	
2281	GGCTGTGGAGAGGCCATTAAATGCCACTGGTTCTGCTCATTTTGGAGAAGGAACAGGGCCC	
781	I W L D E M K C N G K E S R I W Q C H S	

237
376

2341 ATCTGGCTGGATGAGATGAAATGCAATGGAAGAAATCCCGTATTGGCAGTGCCATTCA 801 H G W G Q Q N C R H K E D A G V I C S E 2401 CATGGCTGGGGGCAGCAAACTGCAGGCACAGGAGGATGCAGGAGTTATCTGCTCAGAG 821 F M S L R L T S E A S R E A C A G R L E 2461 TTCATGTCTCTGAGACTGACCACTGAAGCCAGCAGAGAGGCCTGTGCAGGGCGTCTAGAA 841 V F Y N G A W G S V G R S N M S E T T V 2521 GTTTTTTACACGGAGCTTGGGGCAGTGTGGCAGGAGTAACATGTCTGAAACCACTGTG 861 G V V C R Q L G C A D K G K I N S A S L 2581 GGTGTGGTGTGCAGGCAGCTGGGCTGTGCAGACAAAGGGAAAATCAACTCTGCATCTTTA 881 D K A M S I P M W V D N V Q C P K G P D 2641 GACAAGGCCATGTCCATTCCCATGTGGGTGGACAATGTTCACTGTCCAAAAGGACCTGAC 901 T L W Q C P S S P W E K R L A R P S E E 2701 ACGCTGTGGCAGTGCCCATCATCTCCATGGGAGAAGAGACTGGCCAGGCCCTCGGAGGAG 921 T W I T C D N K M R L Q E G P T S C S G 2761 ACCTGGATCACATGTGACAACAAGATGAGACTACAAGAAGGACCCACTTCCTGTTCTGGA 941 R V E I W H G G S W G T V C D D S W D L 2821 CGTGTGGAGATCTGGCAGGAGGTTCTGGGGGACAGTGTGTGATGACTCCTGGGACTTG 961 N D A Q V V C Q Q L G C G P A L K A F K 2881 AACGATGCTCAGGTGGTGTGTCAACAACCTGGCTGTGGTCCAGCTTTGAAAGCATTCAAA 981 E A E F G Q G T G P I W L N E V K C K G 2941 GAAGCAGAGTTTGGTCAGGGGACTGGACCCATATGGCTCAATGAAGTGAAGTGCAAAGGG 1001 N E S S L W D C P A R R W G H S E C G H 3001 AATGAGTCTTCTTGTGGGATTGTCTGCCAGACGCTGGGGCCACAGTGAGTGTGGACAC 1021 K E D A A V N C T A Q K I S T H K T P Q 3061 AAGGAAGACGCTGCAGTGAATTGCACAGCACAAAAATTTCAACGCACAAAACCCACAA 1041 K A T T V S S R G E N L V H Q I Q Y R E 3121 AAAGCCACAACAGTTTCTCAAGAGGAGAGAACTTAGTCCACCAAAATTCATACCGGAG 1061 M W S C L N A D D L D L M N S S G G H S 3181 ATGAATTCTTGCCTGAATGCAGATGATCTGGACCTAATGAATTCCTCAGGAGGCCATTCT 1081 E A H * K G K W E F I T Q 3241 GAGGCACACTGAAAAGGAAAATGGGAATTTATAACCCAG	
1 MSKLRMVLE DSGSADVRH FVNLSPFTIA VVLLLRACFV TSSLGGTTKE LRLVDGENKC 61 SGRVEVKIQE EWGTVCNNGW SNEAVSVICN QLGCPTAIIA TGMANSSAGS GRIMNDHVSC 121 RGNESALWDC KHDGNGKHSN CTHQQDAGVT CSDGSDLEMR LTNGGNMCSG RIEIKFQGCW 181 GTVCDDNFMV NHASVVCQQL ECGSAVSFSG SANFGEESGP IWFDLILCNG NESALWNCKH 241 QGMGKHNCBH AEDAGVICBK GADLSLRLVD GYTECSGRLE VRFQGEWGTI CDDGWDSDHA 301 AVACKQLGCP TAITAIGRVN ASEGFGHIWL DSVSCQGHEP AVWQCKHHEW GKHYCNHNEH 361 AGVTCSDGSD LELRLRGGGS RCAGTVEVEI QRLLGKVCDR GWGLKEADV CRQLGCGSAL 421 KTSYQVYSKI QATNMWLFSL SCNGNETSLW DCKNWQWGL TCDHYEAKI TCSAHREPR 481 VGGDIPCSGR VEVKHGDTWG SVCDSDFSLE AASVLCRELQ CGTVVSILGG AHFGEENGQI 541 WAEFQCEGH ESHLSLCPVA PRPEGTCSHS RDVGVVCSRY TEIRLVNGKT PCEGRVELKT 601 LNANGSLCNS HWDIEDAHLV CQQLKCGVAL STPGGAHFGK GNGQVWRHMF HCTGTEQHNG 661 DCPVTALGAS LCPSGQVASV ICSGNQSQTL SSCNSSLGTP TRPTIPEESA VACIESGQLR 721 LVWGGGRGAG RVEIYHEGSW GTICDDSWDL SDAHVVCRQL GCGEAINATG SAHFEGGTGP 781 IWLDEMCKMG KESRIWQCHS HGNGQONCRH KEDAGVICSE FMSLRILTSEA BREACAGRL 841 VFYNGANGSV GRSNMSETTV GVVCRLGCA DKGKINSASL DKANSIPMWV DNVQCPRGPD 901 TLWQCPSSPW EKRLARPSEE TWITCDNMR LQEGPTSCSG RVEIWHGGSW GTVCDDSWDL 961 NDAQVVCQQL GCGPALKAFK EAEFGQGTGP IWLNEVRCKG NESSLWDCPA RRMHSECGH 1021 KEDAAVNCTA QKISTHKTPO KATTVSBRGE NLVHQIQYRE MNSCLNADDL DLMNSSGGHS 1081 EAH	SEQ ID NO:40
1 M S K L R M V L L E D S G S A D V R R H 1 ATGAGCAAACCTCAGAATGGTGTCTACTGAAGACTCTGGATCTGCTGACGTCAGAAGACAT	SEQ ID NO:41 y

22
37

21 F V N L S P F T I A V V L L L R A C F V	42
61 TTTGTCAACTTGAGTCCCTTCACTATTGCTGTGGTCTTACTTCTCCGTGCCTGTTTGTGTC	
41 T S S L G G T T K E L R L V D G E N K C	
121 ACCAGTTCTCTTGGAGGAACAACCAAGGAGCTGAGGCTAGTGGATGGTGAACAAGTGT	
61 S G R V E V K I Q E E W G T V C N N G W	
181 AGTGGGAGAGTGAAGTGAAAATCCAGGAGGAGTGGGAACGGTGTGTAATAATGGCTGG	
81 S M E A V S V I C N Q L G C P T A I K A	
241 AGCATGGAAGCAGTCTCTGTGATTTGTAACCAGCTGGGATGTCCAAGTCTATCAAAGCC	
101 T G W A N S S A G S G R I W M D H V S C	
301 ACTGGATGGGCTAATTCAGTGAGGTTCTGGACGCATTTGGATGGATCATGTTTCTTGT	
121 R G N E S A L W D C K H D G W G K H S N	
361 CGTGGGAATGAGTCAGTCTTTGGGACTGCAACATGATGGATGGGGAAGCATAGTAAC	
141 C T H Q Q D A G V T C S D G S D L E M R	
421 TGTA CTACCAACAAGATGCTGGAGTGACTTGCTCAGATGGATCCGATTTGGAAATGAGG	
161 L T N G G N M C S G R I E I K F Q G Q W	
481 CTGACGAATGGAGGGAATATGTGTTCTGGAAGATAGAGATCAAATTCGAAGGACAGTGG	
181 G T V C D D N F N I N H A S V V C K Q L	
541 GGAACAGTGTGTGATGATAACTCAACATCAATCATGCATCTGTGGTTTGTAAACAACCTT	
201 E C G S A V S F S G S A N F G E G S G P	
601 GAATGTGGAAGTCTGTGAGTTTCTCTGGTTCAGCTAATTTTGGAGAAGGCTCTGGACCA	
221 I W F D D L I C N G N E S A L W N C K H	
661 ATCTGGTTTGATGATCTTATATGCAACGGAAATGAGTCAGCTCTCTGGAAGTCAACAT	
241 Q G W G K H N C D H A E D A G V I C S K	
721 CAAGGATGGGGAAGCATAACTGTGATCATGCTGAGGATGCTGGAGTGATTTGCTCAAAG	
261 G A D L S L R L V D G V T E C S G R L E	
781 GGAGCAGATCTGAGCCTGAGACTGGTAGATGGAGTCACTGAATGTTTCAGGAAGATTAGAA	
281 V R F Q G E W G T I C D D G W D S H D A	
841 GTGAGATTCCAAGGAGAATGGGGACAATATGTGATGACGGCTGGGACAGTCATGATGCT	
301 A V A C K Q L G C P T A I T A I G R V N	
901 GCTGTGGCATGCAAGCAACTGGGATGTCCAAGTCTATCACCGCCATTGGTGGAGTTAAC	
321 A S E G F G H I W L D S V S C Q G H E P	
961 GCCAGTGAGGGATTGGACACATCTGGCTTGACAGTGTTCCTTGCCAGGGACATGAACCT	
341 A V W Q C K H H E W G K H Y C N H N E D	
1021 GCGGTCTGGCAATGTAACACCATGAATGGGGAAGCATTATTGCAATCACAATGAAGAT	
361 A G V T C S D G S D L E L R L R G G G S	
1081 GCTGGCGTAACATGTTCTGATGGATCAGATCTGGAGCTAAGACTTAGAGGTGGAGGCAGC	
381 R C A G T V E V E I Q R L L G K V C D R	
1141 CGCTGTGCTGGGACAGTTGAGGTGGAGATTGAGAGACTGTTAGGGAAGGTGTGTGACAGA	
401 G W G L K E A D V V C R Q L G C G S A L	
1201 GGCTGGGACTGAAAGAAGCTGATGTGGTTTGCAGGCAGCTGGGATGTGGATCTGCACTC	
421 K T S Y Q V Y S K I Q A T N M W L F L S	
1261 AAAACATCCTATCAAGTATACTCCAAAATCCAGGCAACAAACATGTGGCTGTTTCTAAGT	
441 S C N G N E T S L W D C K N W Q W G G L	
1321 AGCTGTAAACGGAAATGAAACTTCTCTTTGGGACTGCAAGAACTGGCAATGGGGTGGACTT	
461 T C D H Y E E A K I T C S A H R E P R L	
1381 ACCTGTGATCACTATGAAGAAGCCAAAATTACCTGCTCAGCCCACAGGGAACCCAGACTG	
481 V G G D I P C S G R V E V K H G D T W G	

373
378

1441 GTTGGAGGAGACATTCCCTGTTCTGGACGCGTTGAAGTGAAGCATGGTGACACATGGGGC	
501 S V C D S D F S L E A A S V L C R E L Q	
1501 TCCGCTCTGTGATTCCGATTTCTCTCTGGAAGCTGCCAGCGTTCTATGCAGGGAATTACAG	
521 C G T V V S I L G G A H F G E G N G Q I	
1561 TGTGGCACAGTCGTCTCTATCCTGGGGGGAGCTCACTTTGGAGAGGGAATGGACAGATC	
541 W A E E F Q C E G H E S H L S L C P V A	
1621 TGGGCTGAAGAATCCAGTGTGAGGGACATGAGTCCCATCTTCACTCTGCCCAGTAGCA	
561 P R P E G T C S H S R D V G V V C S R Y	
1681 CCCCCCCCAGAAGGAACCTTGTAGCCACAGCAGGGATGTTGGAGTAGTCTGCTCAAGATAC	
581 T E I R L V N G K T P C E G R V E L K T	
1741 ACAGAAATTCGCTTGGTGAATGGCAAGACCCCATGTGAGGGCAGAGTGGAGCTCAAAACG	
601 L N A W G S L C N S H W D I E D A H V L	
1801 CTTAATGCCTGGGGATCCCTCTGCAACTCTCACTGGGACATAGAAGATGCCACGTTCTT	
621 C Q Q L K C G V A L S T P G G A H F G K	
1861 TGCCAACAACTTAAATGTGGAGTTGCCCTTTCTACCCAGGAGGAGCACATTTTGAAAA	
641 G N G Q V W R H M F H C T G T E Q H M G	
1921 GGAAATGGTCAGGTCTGGAGGCATATGTTTCACTGCACTGGGACTGAGCAGCACATGGGA	
661 D C P V T A L G A S L C P S G Q V A S V	
1981 GATTGTCTGTAACTGCTCTGGGTGCTTCACTATGTCTTCAGGGCAAGTGGCCTCTGTA	
681 I C S G N Q S Q T L S S C N S S S L G P	
2041 ATTTGCTCAGGAAACCAGTCCCAACACTGTCTCGTGCAATTCATCATCTCTGGGCCCA	
701 T R P T I P E E S A V A C I E S G Q L R	
2101 ACAAGGCCTACCATTCCAGAAGAAAGTGCTGTGGCCTGCATAGAGAGTGGTCAACTTCGC	
721 L V N G G G R C A G R V E I Y H E G S W	
2161 TTGGTAAATGGAGGAGGTGCTGTGTGGGAGAGTAGAGATTTATCATGAGGGCTCCTGG	
741 G T I C D D S W D L S D A H V V C R Q L	
2221 GGCACCATCTGTGATGACAGCTGGGACCTGAGCGATGCCACGTGGTGTGCAGACAGCTG	
761 G C G E A I N A T G S A H F G E G T G P	
2281 GGCTGTGGAGAGGCCATTAATGCCACTGGTTCTGCTCATTTTGGAGAAGGAACAGGGCCC	
781 I W L D E M K C M G K E S R I W Q C H S	
2341 ATCTGGCTGGATGAGATGAAATGCAATGGAAAAGAAATCCCGTATTTGGCAGTGCCATTCA	
801 H G W G Q Q N C R H K E D A G V I C S E	
2401 CATGGCTGGGGGCAGCAAACTGCAGGCACAAGGAGGATGCAGGAGTTATCTGCTCAGAG	
821 F M S L R L T S E A S R E A C A G R L E	
2461 TTCATGTCTCTGAGACTGACCAGTGAAGCCAGCAGAGAGGCCTGTGCAGGGCGTCTAGAA	
841 V F Y N G A W G S V G R S N M S E T T V	
2521 GTTTTTTACAACGGAGCTTGGGGCAGTGTGGCAGGAGTAACATGTCTGAAACCACTGTG	
861 G V V C R Q L G C A D K G K I N S A S L	
2581 GGTGTGGTGTGCAGGCAGCTGGGCTGTGCAGACAAAGGGAAAATCAACTCTGCATCTTTA	
881 D K A M S I P M W V D M V Q C P K G P D	
2641 GACAAGGCCATGTCCATTCCCATGTGGGTGGACAATGTTCACTGTCCAAAAGGACCTGAC	
901 T L W Q C P S S P W E K R L A R P S E E	
2701 ACGCTGTGGCAGTGCCCATCATCTCCATGGGAGAAGAGACTGGCCAGGCCCTCGGAGGAG	
921 T W I T C D N K M R L Q E G P T S C S G	
2761 ACCTGGATCACATGTGACAACAAGATGAGACTACAAGAAGGACCCACTTCTGTTCTGGA	
941 R V E I W H G G S W G T V C D D S W D L	
2821 CGTGTGGAGATCTGGCACGGAGGTTCTGGGGGACAGTGTGTGATGACTCCTGGGACTTG	

374
379

961 N D A Q V V C Q Q L G C G P A L K A F K 2881 AACGATGCTCAGGTGGTGTGTCAACAACCTTGGCTGTGGTCCAGCTTTGAAAGCATTCAAA 981 E A E F G Q G T G P I W L N E V K C K G 2941 GAAGCAGAGTTTGGTCAGGGGACTGGACCCATATGGCTCAATGAAGTGAAGTCAAAGGG 1001 N E S S L W D C P A R R W G H S E C G H 3001 AATGAGTCTTCTTGTGGGATTGTCTGCCAGACGCTGGGGCCACAGTGAGTGTGGACAC 1021 K E D A A V N C T A Q K I S T H K T P Q 3061 AAGGAAGACGCTGCAGTGAATTGCACAGCACAAAAAATTCACGCACAAAACCCACAA 1041 K A T T G R S F L I A F G I L G V V L L 3121 AAAGCCACAACAGGTGGTCAATTCCTTATTGCATTCCGAATCCTTGGAGTTGTTCTCTTG 1061 A I F V A L F L T Q K R R R Q R Q R L T V 3181 GCCATTTTCGTGCGATTATTCTTGACTCAAAAGCGAAGACAGAGACAGCGGCTTACAGTT 1081 S S R G E N L V H Q I Q Y R E M N S C L 3241 TCCTCAAGAGGAGAGAACTTAGTCCACCAAATTCATACCGGGAGATGAATTCCTTGCCTG 1101 N A D D L D L M N S S G G H S E A H 3301 AATGCAGATGATCTGGACCTAATGAATTCCTCAGGAGGCCATTCTGAGGCACAC	
1 MSKLRNVLE DSGSADVRRH FVNLSFFTIA VVLLLRACFV TSSLGGTTKE LRLVDGENKC 61 SGRVEVKIQE EWGTVCNNGW SMEAVSVICN QLGCPATAKA TGMANSSAGS GRIMMDHVSC 121 RGNESALWDC KHDGNGKHSN CTHQQDAGVT CSDGSDLENR LTNGGNMCSG RIEIKFQGW 181 GTVCDDMFNI NHASVVCKQL ECGSAVSFSG SANFGEESGP IWFDLLICNG NESALWNCKH 241 QGWGKHNCBH AEDAGVICSK GADLSLRDVD GVTECSGRLE VRFQGEWGTI CDDGWDSDHA 301 AVACKQLGCP TAITAIGRVN ASEGFQHIWL DSVSCQHEP AVWQCKHHEW GKHYCNHNE 361 AGVTCSGSDS LELRLRGGS RCAGTVEVEI QRLGKVCDR GNLKKEADV CRQLGCGSAL 421 KTSYQVYSKI QATNMWLFSL SCNGNETSLW DCKHWONGGL TCDHYEEAKI TCSAHREPR 481 VGGDIPCSGR VEVKHGDTWG SVCDSDFSLE AASVLCRELQ CGTVVSILGG AHFGEENGQI 541 WAEFQCEGH ESHLSLCPVA PRPEGTCSHS RDVGVCBRY TEIRLVNGKT PCEGRVELKT 601 LNAWGLCNS HWDIEDAHVL CQQLKCGVAL STPGGAHFGR GNCQVWRHMF HCTGTQEHNG 661 DCPVTALGAS LCPSGQVASV ICSGNQSOTL SSCN8SSSLGP TRPTIPEESA VACIESGQLR 721 LVNGGGRCAG AVEIYHEGSW GTICDDSWDL SDAHVVCRQL GCGEAINATG SAHFGEETGP 781 IWLDEMKCNH KESRIWQCHS HGWGQCNCRH KEDAGVICSE FMSLRLTSEA SREACAGRLE 841 VFYNGAWGSV GRSNMSETTV GVVCRLGCA DRGKINSASL DKAMSIPMWV DNVQCPKPGD 901 TLWQCPSSPW EKRLARPSEE TWITCDNMR LQEGFTCSG RVEIWHGGSW GTVCDDSWDL 961 NDAQVVCQQL CGCPALRAFK EAEFGQGTGP IWLNEVKCKG NESSLWDCPA RRMGHSECGH 1021 KEDAAVNCTA QKISTHKTPQ KATTGRSFLI AFGILGVVLL AIFVALFLTQ KRRQRQLTV 1081 SSRGENLVHQ IQYRENNCL NADDLDLMNS SGGHSEAH	SEQ ID NO: 42
1 M S K L R M V L L E D S G S A D V R R H 1 ATGAGCAAACCTCAGAATGGTGCTACTTGAAGACTCTGGATCTGCTGACGTCAGAAGACAT 21 F V N L S P F T I A V V L L L R A C F V 61 TTTGTCAACTTGAGTCCCTTCACTATTGCTGTGGTCTTACTTCTCCGTGCCTGTTTTGTC 41 T S S L G G T T K E L R L V D G E N K C 121 ACCAGTTCTCTTGGAGGAACAACCAAGGAGCTGAGGCTAGTGGATGGTGAAACAAGTGT 61 S G R V E V K I Q E E W G T V C N N G W 181 AGTGGGAGAGTGGAAGTGAAAAATCCAGGAGGAGTGGGGAACGGTGTGTAATAATGGCTGG 81 S M E A V S V I C N Q L G C P T A I K A 241 AGCATGGAAGCAGTCTCTGTGATTTGTAACCAGCTGGGATGTCCAACGCTATCAAAGCC 101 T G W A N S S A G S G R I W M D H V S C 301 ACTGGATGGGCTAATTCAGTGCAAGTTCTGGACGCATTGGATGGATCATGTTCTTGT 121 R G N E S A L W D C K H D G W G K H S N 361 CGTGGGAATGAGTCAGCTCTTTGGGACTGCAACATGATGGATGGGGAAGCATAGTAAC 141 C T H Q Q D A G V T C S D G S D L E M R 421 TGTACTACCAACAAGATGCTGGAGTGACTTGCTCAGATGGATCCGATTGGAAATGAGG	SEQ ID NO: 43 y 44

375
380

161	L T N G G N M C S G R I E I K F Q G Q W	
481	CTGACGAATGGAGGGAATATGTGTTCTGGAAGAATAGAGATCAAATTCGAAGGACAGTGG	
181	G T V C D D N F N I N H A S V V C K Q L	
541	GGAACAGTGTGTGATGATAACTTCAACATCAATCATGCATCTGTGGTTTGTAAACAACCTT	
201	E C G S A V S F S G S A N F G E G S G P	
601	GAATGTGGAAGTGTCTGTCAGTTTCTCTGGTTCTGAGCTAATTTTGGAGAAGGCTCTGGACCA	
221	I W F D D L I C Y G N E S A L W N C K H	
661	ATCTGGTTTGTATGATCTTATATGCAACGGAAATGAGTCAGCTCTCTGGAACCTGCAACAT	
241	Q G W G K H N C D H A E D A G V I C S K	
721	CAAGGATGGGGAAAGCATAACTGTGATCATGCTGAGGATGCTGGAGTGATTGCTCAAAG	
261	G A D L S L R L V D G V T E C S G R L E	
781	GGAGCAGATCTGAGCCTGAGACTGGTAGATGGAGTCACTGAATGTTGAGGAAGATTAGAA	
281	V R F Q G E W G T I C D D G W D S H D A	
841	GTGAGATTCCAAGGAGAATGGGGACAATATGTGATGACGGCTGGGACAGTCATGATGCT	
301	A V A C K Q L G C P T A I T A I G R V N	
901	GCTGTGGCATGCAAGCAACTGGGATGTCCAACCTGCTATCACCGCCATTGGTCGAGTTAAC	
321	A S E G F G H I W L D S V S C Q G H E P	
961	GCCAGTGAGGGATTGGACACATCTGGCTTGACAGTGTCTTGGCAGGGACATGAACCT	
341	A V W Q C K H H E W G K H Y C N H N E D	
1021	GCGGTCTGGCAATGTAACACCATGAATGGGGAAAGCATTATTGCAATCACAATGAAGAT	
361	A G V T C S D G S D L E L R L R G G G S	
1081	GCTGGCGTAACATGTTCTGATGGATCAGATCTGGAGCTAAGACTTAGAGGTGGAGGCAGC	
381	R C A G T V E V E I Q R L L G K V C D R	
1141	CGCTGTGCTGGGACAGTTGAGGTGGAGATTGAGAGCTGTTAGGGAAAGGTGTGTGACAGA	
401	G W G L K E A D V V C R Q L G C G S A L	
1201	GGCTGGGACTGAAAGAAGCTGATGTGGTTTGCAGGCAGCTGGGATGTGGATCTGCACTC	
421	K T S Y Q V Y S K I Q A T N M W L F L S	
1261	AAAACATCCTATCAAGTATACTCCAAAATCCAGGCAACAAACATGTGGCTGTTTCTAAGT	
441	S C N G N E T S L W D C K N W Q W G G L	
1321	AGCTGTAACGGAAATGAAACTTCTCTTTGGGACTGCAAGAACTGGCAATGGGGTGGACTT	
461	T C D H Y E E A K I T C S A H R E P R L	
1381	ACCTGTGATCACTATGAAGAAGCCAAAATTACCTGCTCAGCCACAGGGAACCCAGACTG	
481	V G G D I F C S G R V E V K H G D T W G	
1441	GTTGGAGGAGACATTCCCTGTTCTGACGCGTTGAAGTGAAGCATGGTGACACATGGGGC	
501	S V C D S D F S L E A A S V L C R E L Q	
1501	TCCGTCTGTGATTCCGGATTTCTCTCTGGAAGCTGCCAGCGTTCTATGCAGGGAATTACAG	
521	C G T V V S I L G G A H F G E G N G Q I	
1561	TGTGGCACAGTCGTCTCTATCCTGGGGGAGCTCACTTTGGAGAGGAAATGGACAGATC	
541	N A E E F Q C E G H E S H L S L C P V A	
1621	TGGGCTGAAGAATTCAGTGTGAGGGACATGAGTCCCATCTTCACTCTGCCCAGTAGCA	
561	P R F E G T C S H S R D V G V V C S R Y	
1681	CCCCGCCAGAAGGAACCTTGAGCCACAGCAGGGATGTTGGAGTAGTCTGCTCAAGATAC	
581	T E I R L V M G K T P C E G R V E L K T	
1741	ACAGAAATTCGCTTGGTGAATGGCAAGACCCCATGTGAGGGCAGAGTGGAGCTCAAAACG	
601	L N A W G S L C N S H W D I E D A H V L	
1801	CTTAATGCCTGGGGATCCCTCTGCAACTCTCACTGGGACATAGAAGATGCCACGTTCTT	
621	C Q Q L K C G V A L S T P G G A H F G K	

378
381

1861	TGCCAACAACTTAAATGTGGAGTTGCCCTTTCTACCCCAGGAGGAGCACATTTTGGAAAA	
641	G N G Q V W R H M F H C T G T E Q H M G	
1921	GGAAATGGTCAGGTCTGGAGGCATATGTTTCACTGCCTGGGACTGAGCAGCACATGGGA	
661	D C P V T A L G A S L C P S G Q V A S V	
1981	GATTGTCCTGTAACCTGCTCTGGGTGCTTCACTATGTCCTTCAGGGCAAGTGGCCTCTGTA	
681	I C S G N Q S Q T L S S C N S S S L G P	
2041	ATTTGCTCAGGAAACCAGTCCCAAACACTGTCCTCGTGCAATTCATCATCTCTGGGCCCA	
701	T R P T I P E E S A V A C I E S G Q L R	
2101	ACAAGGCCTACCATTCAGAGAAAGTGTGTGGCCTGCATAGAGAGTGGTCAACTTCGC	
721	L V N G G G R C A G R V E I Y H E G S W	
2161	TTGGTAAATGGAGGAGGTGCTGTGCTGGGAGAGTAGAGATTATCATGAGGGCTCTGG	
741	G T I C D D S W D L S D A H V V C R Q L	
2221	GGCACCATCTGTGATGACAGCTGGGACCTGAGCGATGCCACGTGGTGTGCAGACAGCTG	
761	G C G E A I N A T G S A H F G E G T G P	
2281	GGCTGTGGAGAGGCCATTAAATGCCACTGGTTCTGCTCATTTTGGAGAAGGAACAGGGCCC	
781	I W L D E M K C N G K E S R I W Q C H S	
2341	ATCTGGCTGGATGAGATGAAATGCAATGGAAAAGAAATCCCGTATTTGGCAGTGCCATTCA	
801	H G W G Q Q N C R H K E D A G V I C S E	
2401	CATGGCTGGGGGAGCAAACTGCAGGCACAAGGAGGATGCAGGAGTTATCTGCTCAGAG	
821	F M S L R L T S E A S R E A C A G R L E	
2461	TTCATGTCTCTGAGACTGACCAGTGAAGCCAGCAGAGAGGCCTGTGCAGGGCGTCTAGAA	
841	V F Y N G A W G S V G R S N M S E T T V	
2521	GTTTTTTACACGGAGCTTGGGGCAGTGTGGCAGGAGTAACATGTCTGAAACCACTGTG	
861	G V V C R Q L G C A D K G K I N S A S L	
2581	GGTGTGTGTGCAGGCAGCTGGGCTGTGCAGACAAAGGGAAAATCAACTCTGCATCTTTA	
881	D K A M S I P M W V D N V Q C P K G P D	
2641	GACAAGGCCATGTCCATTCCCATGTGGGTGGACAATGTTCACTGTCCAAAAGGACCTGAC	
901	T L W Q C P S S P W E K R L A R P S E E	
2701	ACGCTGTGGCAGTGCCCATCATCTCCATGGGAGAAGAGACTGGCCAGGCCCTCGGAGGAG	
921	T W I T C D N K M R L Q E G P T S C S G	
2761	ACCTGGATCACATGTGACAACAAGATGAGACTACAAGAAGGACCCACTTCCTGTTCTGGA	
941	R V E I W H G G S W G T V C D D S W D L	
2821	CGTGTGAGATCTGGCAGCGAGGTTCTCTGGGGACAGTGTGTGATGACTCCTGGGACTTG	
961	N D A Q V V C Q Q L G C G P A L K A F R	
2881	AACGATGCTCAGGTGGTGTGTCAACAACCTTGGCTGTGGTCCAGCTTTGAAAGCATTCAAA	
981	E A E F G Q G T G P I W L N E V K C K G	
2941	GAAGCAGAGTTTGGTCAGGGGACTGGACCCATATGGCTCAATGAAGTGAAGTGCAAAGGG	
1001	N E S S L W D C P A R R W G H S E C G H	
3001	AATGAGTCTTCCTTGTGGGATGTCTCTGCCAGACGCTGGGGCCACAGTGAGTGTGGACAC	
1021	K E D A A V N C T A Q K I S T H K T P Q	
3061	AAGGAAGACGCTGCAGTGAATTGCACAGCACAAAAATTTCAACGCACAAAACCCACAA	
1041	K A T T G Q S F L I A F G I L G V V L L	
3121	AAAGCCACAACAGGTCACTTCCTTATTGCATTGGAATCCTTGGAGTTGTTCTCTTG	
1061	A I F V A L F L T Q K R R Q R Q R L T V	
3181	GCCATTTTCGTGCTATTATTCTTGACTCAAAAGCGAAGACAGAGACAGCGGCTTACAGTT	
1081	S S R G E N L V H Q I Q Y R E M N S C L	
3241	TCCTCAAGAGGAGAGAACTTAGTCCACCAATTCAATACCGGGAGATGAATCTTGCCTG	

377
382

1101 N A D D L D L M N S S E N S W E S A D F	
3301 AATGCAGATGATCTGGACCTAATGAATTCCTCAGAAAATCCAATGAGTCAGCTGATTTTC	
1121 N A A E L I S V S K F L P I S G M E K E	
3361 AATGCTGCTGAACTAATTTCTGTGTCTAAATTTCTTCTATTCTGGAATGGAAGGAG	
1141 A I L R H T E K E M G N L	
3421 GCCATTCTGAGGCACACTGAAAAGGAAAATGGGAATTTA	
1 MSKLRMVLLE DSGSADVRRH FVNLSPTTIA VVLLLRACFV TSSLGGTTKE LRLVDGENRC	SEQ ID NO: 44
61 SGRVEVKIQE EWGTVCNNGW SMEAVSVICM QLGCPATAKA TGMANSSAGS GRIWMDHVSC	
121 RGNESALWDC KHDGNGKHSN CTHQQDAGVT CSDGSDLEMR LTNGGWMCSG RIEIKFQGM	
181 GTVCDDNFNI NHASVVCQQL ECGSAVSFSG SANFGECSGP INFDOLICNG NESALWNCKH	
241 QGNGKHNCDH AEDAGVICSM GADLSRLRVD GVTECSGRLE VRFQGENGTI CDDGWDSDHA	
301 AVACKQLGCP TAITAIGRVN ASEGFGHIWL DSVBCQGHEP AVWQCKHHEW GKHYCNHNED	
361 AGVTCSDGSD LELRLRGGGS RCAGTVEVEI QRLLGKVCDR GWGLKEADV CRQLGCGSAL	
421 KTSYQVYSKI QATNMWFLS SCNGNETSLW DCKNWQMGGL TCDHYEEAKI TCSAHREPR	
481 VGGDIPCSGR VEVKHGDTWG SVCDSDFSLE AASVLCRELQ CGTVVSIILGG AHFGEENGQI	
541 WAEEFQCEGH ESHLSLCFVA PRPEGTCSHS RDVGVCBSRY TEIRLVNGKT PCEGRVELKT	
601 LNANGSLCNS HWDIEDAHLV CQQLKCGVAL STPGGARHFGK GNGQVVRHMF HCTGTGQHM	
661 DCFVTALGAS LCPSGQVASV ICSGNQSQTL SSCNSSLGFP TRPTIPEESA VACIESGQLR	
721 LVNNGGRCAG RVEIYHEGSW GTICDDSWDL SDAHVVCRQL GCGEAINATG SAHPGEGTGP	
781 IWLDEMKCHG KESRIWQCHS HGWGQONCRH KEDAGVICSE FMSLRLTSEA SREACAGRLE	
841 VFYNGANGSV GRNMSETTV GVVCRLGCA DKGKINSASL DKAMSIPIWV DNVQCPKGP	
901 TLWQCPSSPW EKRLARPSEE TWITCDNKMR LQEGPTSCSG RVEIWHGGSW GTVCDDSWDL	
961 NDAQVVCQQL GCGPALKAFK EAEFGQGTGP IWLNEVKCKG NESSLWDCPA RRWGHSECGH	
1021 KEDAAVNCTA OKISTHKTPO KATTGQSLI AFGILGVVLL AIFVALFLTQ KRRQRRLTV	
1081 SSRGENLVHQ IQYREMNACL NADDLDLMNS SENSNESADF NAAELISVSK FLPISGNEKE	
1141 AILRHITEKEN GNL	

Ejemplo 10. Clonación y caracterización de CD163 canino a partir de células DH82.

Un cebador delantero CD163 simiano 5' (SEQ ID NO:28) (5'- CACCGGAATGAGCAAACCTCAGAATGG- 3' basado en CD163 humano) y un cebador inverso HuCD163- 3'Kpm (SEQ ID NO:29) (5'- GCTCCGGTACCTACCTAGTCCAGGTCTTCATCAAGGTATCTTA- 3') fueron utilizados para amplificar ADNc CD163 a partir de células DH82. El ARN celular total se preparó a partir de células DH82 utilizando el kit RNeasy. Los parámetros RT- PCR fueron iguales a los descritos en el Ejemplo 4. Los productos RT- PCR fueron clonados direccionalmente en el vector pCDNA3.1D/V5/His/TOPO según instrucciones del fabricante. Se analizaron varios clones que contenían insertos grandes. Se analizaron varios clones con insertos grandes, y estos cayeron en los patrones de unión v2 o v3 observados en otras especies. El variante v2 carece de un exon nucleótido 81 (E81) con relación al variante v3, lo cual resulta en un cambio de marco de lectura y secuencias de aminoácidos terminales carboxilo alternativos. El ADNc de CD163v2 canino a partir de células DH82 codifica un péptido de 1115 aminoácidos. Cuando se compara con las secuencias en la base de datos Genbank, está es 83.8% idéntica a CD163 humana (Genbank Z22968), 85.1% idéntica a CD163 porcino (Genbank AJ311716), y 74.3% idéntica a CD163 de

ratón (Genbank AF274883). Las secuencias nucleotida y aminoácida de los dos variantes de unión encontrados en las células DH82 son proporcionadas a continuación (SEQ ID NOs:45- 48).

373
383

SECUENCIA	ID NO
1 M S K L R M V P H G N S G S A D F R R C	SEQ ID NO: 45 y 46
1 ATGAGCAAACTCAGAATGGTCCCACATGGAAACTCTGGATCTGCTGACTTTAGAAGATGT	
21 F A L L C P S A V A V V S I L S T C L M	
61 TTGCCCCCTCTGTGTCCCTCTGCTGTGGCTGTGGTCTCCATTCTCAGTACCTGTTTGATG	
41 T N S L G R A D K E M R L T D G E D N C	
121 ACCAATTCTCTTGGGAGAGCAGATAAAGAGATGAGGCTAACGGATGGTGAAGACAATTGC	
61 S G R V E V K V Q E E W G T V C N N G W	
181 TCCGGGAGAGTGGAAGTGAAAGTCCAGGAGGAGTGGGGAACGGTGTGTAATAATGGCTGG	
81 G M D E V S V I C R Q L G C P T A I K A	
241 GGCATGGATGAAGTCTCTGTGATTTGCAGGCAGCTGGGATGTCCCACTGCTATCAAAGCC	
101 A G W A N S R A G S G R I W M D H V S C	
301 GCTGGATGGGCCAATTCAGGGCAGGCTCTGGACGAATCTGGATGGATCATGTTTCTTGT	
121 R G W E S A L W D C K H D G W G R H N C	
361 CGAGGGAATGAATCTGCTCTCTGGGACTGCAAACATGATGGATGGGGAAGCACAACTGC	
141 S H Q Q D A G V T C S D G S S L E M R L	
421 AGTCATCAACAGGATGCTGGAGTAACCTGTTTCAGATGGATCCAGTTTGGAGATGAGGTTG	
161 M N G G N Q C S G R I E V K F Q G Q W G	
481 ATGAACGGCGGAAACCAAGTGTCTGGCAGAATAGAAGTCAAGTTCCAGGGACAGTGGGGA	
181 T V C D D N F N I D H A S V V C K Q L E	
541 ACAGTGTGTGATGACAACTTCAACATAGATCATGCTTCTGTGGTTTGTAAACAGCTCGAA	
201 C G S A V S F S G S A N F G E G S G P I	
601 TGTGGAAGTCTGTTCAGTTTCTCTGGTTTCAGCTAATTTTGGAGAAGGTTCTGGGCCAATC	
221 W F D D L V C S G M E S A L W N C K H E	
661 TGGTTTGATGATCTTGTGTGCAGTGGAAATGAGTCAGCTCTCTGGAAGTCAAGCATGAA	
241 G W G K H N C D H A E D V G V I C L D G	
721 GGATGGGGAAGCATAACTGTGATCACGCTGAGGATGTTGGAGTGATTGCTTGGATGGA	
261 A D L S L R L V D G V T E C S G R L E V	
781 GCAGATCTGAGCCTGAGACTGGTAGATGGAGTCACTGAATGTTTCAGGAAGATTAGAAGTA	
281 K F Q G E W G T V C D D G W D S N D A A	
841 AAATTCCAAGGGGAATGGGGGACAGTGTGTGATGATGGCTGGGATAGTAATGATGCTGCT	
301 V V C K Q L G C P T A V T A I G R V N A	
901 GTGGTATGTAACAACCTGGGATGCCCAACTGCTGTACCGCCATTGGTCGAGTTAACGCC	
321 S E G S G H I W L D N L S C Q G D E S A	
961 AGTGAGGGAAGTGGACACATTTGGCTTGACAATCTTTCCTGCCAAGGAGACGAATCTGCT	
341 L W Q C R H H E W G K H Y C N H N E D A	
1021 CTCTGGCAGTGTAGACACCATGAATGGGGAAGCATTATTGCAATCATAATGAAGATGCT	
361 G V T C S D G S D L E L R L V G G G S R	
1081 GGTGTGACATGTTCTGATGGATCAGACCTGGAGCTGAGACTTGTGGTGGAGGCAGCCGC	
381 C A G T V E V E I Q K L L G K V C D R G	
1141 TGTGCTGGGACAGTGGAGGTTGAAATTCAGAACTGCTAGGGAAAGTATGTGATAGAGGC	
401 W G L K E A D V V C K Q L G C G S A L K	

384

384

1201	TGGGGACTGAAAGAAGCCGATGTGGTTTGCAAGCAGTTGGGATGTGGATCTGCTCTCAAA
421	T S Y Q R Y S K V K A T N T W L F L S R
1261	ACGTCCTATCAGCGTTATTCCAAAGTTAAGGCAACAAACACATGGCTGTTTTTAAGCCGC
441	C S G N E T S L W D C K N W Q W G G L S
1321	TGTAGTGGCAATGAAACTTCCCTTTGGGACTGCAAGAAGTGGCAGTGGGGTGGACTGAGC
461	C D H Y E E A K V T C S A H R E P R L V
1381	TGTGATCACTATGAAGAAGCTAAAGTTACCTGCTCAGCCACAGGGAACCCAGACTAGTT
481	G G D I P C S G R V E V K H G D T W G T
1441	GGAGGAGATATTCCTGCTCTGGTCTGTGTTGAAGTGAACATGGTGACACATGGGGCACC
501	V C D S D F S L E A A S V L C R E L Q C
1501	GTCTGTGATTCCGACTTCTCTTTGGAAGCTGCCAGTGTGCTGTGCAGAGATTACAGTGT
521	G T V I S I L G G A H F G E G N G Q I W
1561	GGCACAGTCACTCTCCATCCTAGGGGGAGCTCACTTTGGAGAAGGAAATGGACAGATCTGG
541	A E E F Q C E G Q E S H L S L C S V A S
1621	GCTGAAGAATTCCAGTGTGAGGGGCAGGAGTCCCATCTTTCACTCTGTTCACTAGCCTCT
561	R P D G T C S H S R D V G V V C S R Y T
1681	CGCCACAGATGGGACCTGTAGCCACAGCAGGGATGTTGGAGTCGTCTGCTCAAGATACACG
581	E I R L V N G Q S P C E G R V E L K I L
1741	GAAATCCGCTTGGTGAATGGCCAGTCCCCGTGTGAAGGAAGAGTGGAGCTCAAGATACTT
601	G N W G S L C N S H W D I E D A H V F C
1801	GGGAAGTGGGGATCCCTCTGCAACTCTCACTGGGACATAGAAGATGCCCATGTTTTCTGT
621	Q Q L K C G V A L S I P G G A H F G K G
1861	CAGCAGCTCAATGTGGAGTTGCCCTTTCTATTCCGGGAGGAGCACATTTGGGAAGGA
641	S G Q I W R H M F H C T G T E Q H M G D
1921	AGTGGTCAGATCTGGAGGCACATGTTTCACTGCACTGGGACTGAGCAGCAGATGGGAGAT
661	C P V T A L G A T L C S A G Q V A S V I
1981	TGCCCTGTAACTGCTCTGGGCGGACGCTGTGTTCTGCTGGGCAAGTGGCCTCTGTAATC
681	C S G N Q S Q T L S P C N S T S L D P T
2041	TGCTCAGGAATCAGAGCCAGACGCTATCCCCATGCAATTCAACATCTCTGGACCCAACA
701	R S T T S E E S A V A C I A S G Q L R L
2101	AGATCTACCACTTCGGAAGAAGTGCTGTTGCTTGTATTGCGAGTGGGCAACTTCGCCTG
721	V N G G G R C A G R I E V Y H E G S W G
2161	GTAATGGAGGCGGTGCTGTGCTGGGAGAATAGAGTCTACCATGAGGGCTCCTGGGGC
741	T I C D D S W D L S D A H V V C R Q L G
2221	ACCATCTGTGATGACAGCTGGGACCTGAGTGTATGCCATGTGGTGTGCAGACAGCTGGGC
761	C G V A I N A T G S A H F G E G T G P I
2281	TGTGGAGTGGCCATTAAATGCCACTGGCTCTGCTCATTTTGGGGAAGGAACAGGGCCCATC
781	W L D E V N C W G K E S H I W Q C R S H
2341	TGGCTGGACGAGGTGAAGTGAATGGAAAGGAATCTCATATCTGGCAATGCCGCTCACAC
801	G W G Q H N C R H K E D A G V I C S E F
2401	GGCTGGGGGCAACACAAGTGCAGACATAAGGAGGATGCAGGAGTTATCTGCTCAGAGTTC
821	M S L R L I D E T S R D I C A G R L E V
2461	ATGTCTCTCAGACTGATTGATGAAACCAGCAGAGACATCTGTGCAGGGCGTCTTGAAGTT
841	F Y N G A W G S V G K S N M S A T T V E
2521	TTTACAATGGAGCTTGGGGCAGCGTTGGCAAGAGTAATATGTCTGCAACCACTGTGGAG
861	V V C R Q L G C A D K G S I N P A S S D
2581	GTGGTATGCAGGCAACTGGGTTGTGCAGACAAGGGGAGCATCAACCCTGCATCTTCAGAC

380
385

881 K P M S R H M W V D N V Q C P K G P D T 2641 AAGCCCATGTCCAGGCACATGTGGGTGGACAATGTCCAGTGTCCAAAAGGACCTGACACC 901 L W Q C P S S P W K Q R V A S S S E E T 2701 TTATGGCAGTGGCCATCTTCTCCATGGAACAGAGAGTGGCCAGTTCTTCAGAGGAGACC 921 W I T C A N K I R L Q E G T S N C S G R 2761 TGGATCACATGTGCCAACAAGATAAGACTTCAAGAAGGAACCTCTAATTGTTCTGGACGT 941 V E L W H G G S W G T V C D D S W D L E 2821 GTGGAGCTCTGGCACGGAGGTTCTGGGGGACAGTGTGCGATGACTCCTGGGACCTTGAA 961 D A Q V V C R Q L G C G P A L E A L K E 2881 GATGCACAAGTGGTGTGTGCGACAGTGGGCTGTGGCCAGCATTAGAAGCACTAAAAGAG 981 A A F G Q G T G P I W L N D V K C K G N 2941 GCAGCATTTGGTCAGGGGACTGGGCTATATGGCTCAATGACGTGAAGTGCAAAGGGAAT 1001 E S S L W D C P A R P W G H S D C G H K 3001 GAGTCTTCTGTGGGATTGTCTGCTAGACCCTGGGGGCACAGTGAAGTGTGGCCACAAG 1021 E D A A V R C S E I A M A Q R S S N P R 3061 GAAGATGCTGCTGTGAGGTGCTCAGAAATTGCAATGGCCCAAAGATCATCAAATCCTAGA 1041 G H S S L V A L G I F G V I L L A F L I 3121 GGTCACTCATCCCTTGTGTCATTGGGGATCTTTGGTGTCAATCTTCTGGCCTTTCTCATC 1061 A L L L W T Q R R R Q Q Q R L T V S L R 3181 GCTCTCTCTGTGGACTCAAAGGCGAAGACAGCAACAGCGGCTTACAGTTTCTTGAGA 1081 G E N S V H Q I Q Y R E M N S S L K A D 3241 GGAGAGAATTCTGTCCACCAAAATTCATACCGGGAAATGAATTCTTCCCTGAAAGCAGAT 1101 D L D V L T S S E D H F E V H 3301 GATCTGGACGTGCTGACTTCCTCAGAAGACCATTTTGAGGTACAC	
1 M S K L R M V P H G N S G S A D F R R C 61 SGRVEVKVQE EWGTVCNNGW GMDEVSVICR QLGCPAIAKA AGWANSRAGS GRINMDHVSC 121 RGNESALWDC KHDGNGKHNC SHQDAGVTC SDGSSLEMLR MNGGNQCSGR IEVKFQGGWG 181 TVCDDNFNID HASVVCKQLE CGSAVSTFSGS ANFEGSGPI WFDDLVCNGN ESALWNCKHE 241 GWGKHNCDHA EDVGVICLOG ADLSRLVDG VTECSGRLEV KFGGEMGTVC DDGWDSDNDA 301 VVCKQLGCPT AVTAIGRVNA SEGSGHIWLD NLSCQGDSEA LWQCRHHEWG KHYCNHNEDA 361 GVTCSGSDSL ELRLVGGGSR CAGTVEVEIQ KLLGKVCDRG WGLKEADVVC KQLGCGSALK 421 TSYQRYSKVK ATNTWLFLSR CSGNETSLND CKNWQWGLS CDHYEAKVT CSAHREPRLV 481 GGDIPCSGRV EVKHGDTWGT VCDSDFSLEA ASVLCRELQC GTVISILGGA HFGEGNGQIW 541 AEEFQCEGQE SHLSLCSVAS RPDGTCBHSR DVGVCSSRYT EIRLVNGQSP CEGRVELKIL 601 GNWGSCLNSH WDIEDAHVFC QQLKCGVALS IPGGAHFGKG SGQIWRHMFH CTGTEQMMGD 661 CPVTALGATL CSAGQVASVI CSGNQSQTLS PCNSTSLDPT RSTTSEESAV ACIABGQLRL 721 VNGGGRCAGR IEVYHEGSWG TICDDSDWLS DAHVVCRLQG CGVAINATGS AHFGEGTGPI 781 WLDEVNCGNK ESHIWQCRSH GWGQHMCRRK EDAGVICSEF MSLRLIDETS RDICAGRLEV 841 FYNGAWGSVG KSNMSATTVE VVCRQLGCAD KGSINPASSD KPNRHRMWD NVQCPKGPDT 901 LWQCPSSPWK QRVASSSEET WITCANKIRL QEGTSNCSGR VELWEGGSWG TVCDDSDWLE 961 DAQVVCRLQG CGPALEALKE AAFQGTGPI WLNDVRCKGN ESSLWDCPAR FWGHSDCGKH 1021 EDAAVRCSEI ANAQRSSNPR GHSSLVALGI FGVILLAFIL ALLLWTQRRR QOQRLTVSLR 1081 GENSVHQIQY REMNSSLKAD DLDVLTSSD HFEVH	SEQ ID NO: 46
1 M S K L R M V P H G N S G S A D F R R C 1 ATGAGCAAACCTCAGAATGGTCCCATGTGGAACCTCTGGATCTGCTGACTTTAGAAGATGT 21 F A L L C P S A V A V V S I L S T C L M 61 TTTGCCCTCTTGTGTCCCTCTGCTGTGGCTGTGGTCTCCATTCTCAGTACCTGTTTGATG 41 T N S L G R A D K E M R L T D G E D N C 121 ACCAATTCTCTTGGGAGAGCAGATAAAGAGATGAGGCTAACGGATGGTGAAGACAATTGC 61 S G R V E V K V Q E E W G T V C N N G W 181 TCCGGGAGAGTGAAGTGAAGTCCAGGAGGAGTGGGGAACGGTGTGTAATAATGGCTGG	SEQ ID NO: 47

287
386

81	G M D E V S V I C R Q L G C P T A I K A	
241	GGCATGGATGAAGTCTCTGTGATTTGCAGGCAGCTGGGATGTCCCACTGCTATCAAAGCC	
101	A G W A N S R A G S G R I W M D H V S C	
301	GCTGGATGGGCCAATTCCAGGECAGGCTCTGGACGAATCTGGATGGATCATGTTTCTTGT	
121	R G N E S A L W D C K H D G W G K H N C	
361	CGAGGGAATGAATCTGCTCTCTGGGACTGCAAACATGATGGATGGGGAAGCACAACTGC	
141	S H Q Q D A G V T C S D G S S L E M R L	
421	AGTCATCAACAGGATGCTGGAGTAACCTGTTTCAGATGGATCCAGTTTGGAGATGAGGTTG	
161	M N G G W Q C S G R I E V K F Q G Q W G	
481	ATGAACGGCGGAAACAGTGTCTCTGGCAGAATAGAAGTCAAGTTCCAGGGACAGTGGGGA	
181	T V C D D N F N I D H A S V V C K Q L E	
541	ACAGTGTGTGATGACAACTTCAACATAGATCATGCTTCTGTGGTTTGTAAACAGCTCGAA	
201	C G S A V S F S G S A N F G E G S G P I	
601	TGTGGAGTGTCTGTCTAGTTTCTCTGGTTTCAGCTAATTTTGGAGAAGGTTCTGGGCCAATC	
221	W F D D L V C S G N E S A L W N C K H E	
661	TGGTTTGATGATCTTGTGTGCAGTGGAAATGAGTCAGCTCTCTGGAAGTCAAGCATGAA	
241	G W G K H N C D H A E D V G V I C L D G	
721	GGATGGGGAAGCATAACTGTGATCACGCTGAGGATGTTGGAGTGATTTGCTTGGATGGA	
261	A D L S L R L V D G V T E C S G R L E V	
781	GCAGATCTGAGCCTGAGACTGGTAGATGGAGTCACTGAATGTTTCAGGAAGATTAGAAGTA	
281	K F Q G E W G T V C D D G W D S N D A A	
841	AAATTCCAAGGGGAATGGGGGACAGTGTGTGATGATGGCTGGGATAGTAATGATGCTGCT	
301	V V C K Q L G C P T A V T A I G R V N A	
901	GTGGTATGTAACAACCTGGGATGCCCAACTGCTGTACCGCCATTGGTCGAGTTAACGCC	
321	S E G S G H I W L D N L S C Q G D E S A	
961	AGTGAGGGAAGTGGACACATTTGGCTTGACAACTTTCTCTGCCAAGGAGACGAATCTGCT	
341	L W Q C R H H E W G R H Y C N H N E D A	
1021	CTCTGGCAGTGTAGACACCATGAATGGGGAAGCATTATTGCAATCATAATGAAGATGCT	
361	G V T C S D G S D L E L R L V G G G S R	
1081	GGTGTGACATGTTCTGATGGATCAGACCTGGAGCTGAGACTGTGCGGTGGAGGCAGCCGC	
381	C A G T V E V E I Q K L L G K V C D R G	
1141	TGTGCTGGGACAGTGGAGGTTGAAATTCAGAACTGCTAGGGAAAGTATGTGATAGAGGC	
401	W G L K E A D V V C K Q L G C G S A L K	
1201	TGGGGACTGAAAGAAGCCGATGTGGTTTGCAAGCAGTTGGGATGTGGATCTGCTCTCAA	
421	T S Y Q R Y S K V K A T N T W L F L S R	
1261	ACGTCTATCAGCGTTATTCCAAAGTTAAGGCAACAAACACATGGCTGTTTTTAAGCCGC	
441	C S G N E T S L W D C K N W Q W G G L S	
1321	TGTAGTGGCAATGAAACTTCCCTTTGGGACTGCAAGAACTGGCAGTGGGGTGGACTGAGC	
461	C D H Y E E A K V T C S A H R E P R L V	
1381	TGTGATCACTATGAAGAAGCTAAAGTTACCTGCTCAGCCACAGGGAACCCAGACTAGTT	
481	G G D I P C S G R V E V K H G D T W G T	
1441	GGAGGAGATATCCCTGCTCTGGTCGTGTTGAAGTGAACATGGTGACACATGGGGCACC	
501	V C D S D F S L E A A S V L C R E L Q C	
1501	GTCTGTGATTCCGACTTCTCTTGGAAAGCTGCCAGTGTGCTGTGCAGAGAGTTACAGTGT	
521	G T V I S I L G G A H F G E G N G Q I W	
1561	GGCACAGTCATCTCCATCCTAGGGGGAGCTCACTTTGGAGAAGGAAATGGACAGATCTGG	
541	A E E F Q C E G Q E S H L S L C S V A S	

381

387

1621	GCTGAAGAATTCCAGTGTGAGGGGCAGGAGTCCCATCTTTCACTCTGTTCAGTAGCCTCT	
561	R P D G T C S H S R D V G V V C S R Y T	
1681	CGCCCAGATGGGACCTGTAGCCACAGCAGGGATGTTGGAGTCGTCTGCTCAAGATACACG	
581	E I R L V N G Q S P C E G R V E L K I L	
1741	GAAATCCGCTTGGTGAATGGCCAGTCCCCGTGTGAAGGAAGAGTGGAGCTCAAGATACTT	
601	G N W G S L C N S H W D I E D A H V F C	
1801	GGGAAGTGGGGATCCCTCTGCAACTCTCACTGGGACATAGAAGATGCCCATGTTTTCTGT	
621	Q Q L K C G V A L S I P G G A H F G K G	
1861	CAGCAGCTCAAAATGTGGAGTGGCCCTTTCTATTCCGGGAGGAGCACATTTTGGGAAAGGA	
641	S G Q I W R H M F H C T G T E Q H M G D	
1921	AGTGGTCAGATCTGGAGGCACATGTTTCACTGCACTGGGACTGAGCAGCACATGGGAGAT	
661	C P V T A L G A T L C S A G Q V A S V I	
1981	TGCCCTGTAACTGCTCTGGGCGCGACGCTGTGTTCTGCTGGGCAAGTGGCCTCTGTAATC	
681	C S G N Q S Q T L S P C W S T S L D P T	
2041	TGCTCAGGAAATCAGAGCCAGACGCTATCCCCATGCAATTCAACATCTCTGGACCCAACA	
701	R S T T S E E S A V A C I A S G Q L R L	
2101	AGATCTACCACCTTCGGAAGAAAGTGTGTTGCTTGTATTGCGAGTGGGCAACTTCGCCTG	
721	V N G G G R C A G R I E V Y H E G S W G	
2161	GTAATGGAGGCGGTGCTGTGCTGGGAGAATAGAGGTCTACCATGAGGGCTCCTGGGGC	
741	T I C D D S W D L S D A H V V C R Q L G	
2221	ACCATCTGTGATGACAGCTGGGACCTGAGTGATGCCCATGTGGTGTGCAGACAGCTGGGC	
761	C G V A I N A T G S A H F G E G T G P I	
2281	TGTGGAGTGGCCATTAAATGCCACTGGCTCTGCTCATTTTGGGGAAGGAACAGGGCCCATC	
781	W L D E V N C N G K E S H I W Q C R S H	
2341	TGGCTGGACGAGGTGAACCTGTAATGGAAAGGAATCTCATATCTGGCAATGCCGCTCACAC	
801	G W G Q H N C R H K E D A G V I C S E F	
2401	GGCTGGGGGCAACACAAGTGCAGACATAAGGAGGATGCAGGAGTTATCTGCTCAGAGTTC	
821	M S L R L I D E T S R D I C A G R L E V	
2461	ATGTCTCTCAGACTGATTGATGAAACCAGCAGAGACATCTGTGCAGGGCGTCTTGAAGTT	
841	F Y N G A W G S V G K S N M S A T T V E	
2521	TTTTACAATGGAGCTTGGGGCAGCGTTGGCAAGAGTAATATGTCTGCAACCACTGTGGAG	
861	V V C R Q L G C A D K G S I N P A S S D	
2581	GTGGTATGCAGGCAACTGGGTTGTGCAGACAAGGGGAGCATCAACCCTGCATCTTCAGAC	
881	K P M S R H M W V D N V Q C P K G P D T	
2641	AAGCCCATGTCCAGGCACATGTGGGTGGACAATGTCCAGTGTCCAAAAGGACCTGACACC	
901	L W Q C P S S P W K Q R V A S S S E E T	
2701	TTATGGCAGTGCCCATCTTCTCCATGGAAACAGAGAGTGGCCAGTTCTTCAGAGGAGACC	
921	W I T C A N K I R L Q E G T S N C S G R	
2761	TGGATCACATGTGCCAACAAGATAAGACTTCAAGAAGGAACCTCTAATTGTTCTGGACGT	
941	V E L W H G G S W G T V C D D S W D L E	
2821	GTGGAGCTCTGGCACGAGGTTCTGGGGGACAGTGTGCGATGACTCCTGGGACCTTGAA	
961	D A Q V V C R Q L G C G P A L E A L K E	
2881	GATGCACAAGTGGTGTGTCGACAGCTGGGCTGTGGCCCAGCATTAGAAGCACTAAAAGAG	
981	A A F G Q G T G P I W L N D V K C K G N	
2941	GCAGCATTTGGTCAGGGGACTGGGCCTATATGGCTCAATGACGTGAAGTGCAAAGGGAAT	
1001	E S S L W D C P A R P W G H S D C G H K	
3001	GAGTCTTCCTTGTGGGATTGTCTGCTAGACCCTGGGGGCACAGTGACTGTGGCCACAAG	

382
388

1021 E D A A V R C S E I A M A Q R S S N P R 3061 GAAGATGCTGCTGTGAGGTGCTCAGAAATTGCAATGGCCCAAGATCATCAAATCCTAGA 1041 G H S S L V A L G I F G V I L L A F L I 3121 GGTCACTCATCCCTTGTTCATTGGGGATCTTTGGTGTCAITCTTCTGGCCTTTCTCATC 1061 A L L L W T Q R R R Q Q Q R L T V S L R 3181 GCTCTCTCTTGTGGACTCAAAGGCGAAGACAGCAACAGCGCTTACAGTTTCCTTGAGA 1081 G E N S V H Q I Q Y R E M N S S L K A D 3241 GGAGAGAATTCTGTCCACCAAATTCATACCGGGAAATGAATTCTTCCCTGAAAGCAGAT 1101 D L D V L T S S E Y F N E S D D F N D A 3301 GATCTGGACGTGCTGACTTCCTCAGAATATCCCAATGAGTCAGATGATTTTAATGATGCT 1121 G L I S V S K S L P I S G 3361 GGGCTAATTTCTGTGTCTAAATCTCTTCTATTCTGGA	
1 MSKLRNVPHG NSGSADFRC FALLCPSAVA VVSILSTCLM TNSLGRADKE MRLTDGEDNC 61 SGRVEVKVQE EWGTVCMNGW GMDEVSVICR QLGCPATAKA AGWANSRAGS GRIWMDHVSC 121 RGNESALWDC KHDGWGKHWK SHQQDAGVTC SDGSSLENRL MNGGNQCSGR IEVRFGQGWG 181 TVCDDNFNID HASVVCKQLE CGSAVSFSGS ANFGEGSGPI WFDOLVCSGN ESALWCKHE 241 GWKRNCDHA EDVGVICLDG ADLSRLVDG VTECSGRLEV KFGEGWTVK DDGWDSDNDA 301 VVKQLGCPT AVTAIGRVNA SEGSGHIWLD NLSCQGDSEA LMQCRHHEWG KHYCNHNEDA 361 GVTCSDGSDL ELRLVGGGSR CAGTVEVEIQ KLLGKVCDRG WGLKEADVVC KQLGCGSALK 421 TSYQRYSKVK ATNTWLFLSR CSGNETSLWD CKWQWGGLS CDHYEEAKVT CSAHREPRLV 481 GGDIPCSGRV EVKHGDTWGT VCDSDFSLEA ASVLCRELQC GTVISILGGA HFGEGWQIHW 541 AEEFQCEGQE SHLSLCSVAS RPDGTCSESR DVGVCSEYR EIRLVNGQSP CEGRVELKIL 601 GNVGSLCNSH WDIEDAHVFC QQLKCGVALS IPGGAHFGKG SGQIWRHMFH CTGTEQHMGD 661 CPVTALGATL CSAGQVASVI CSGNQSQTLS PCNBTSLDPT RSTTSEESAV ACTASGQLRL 721 VMGGGRCAGR IEVYHEGSWG TICDDSDWLS DARVVCRQLG CGVAINATGS AHFGEGTGPI 781 WLDEVNCNGK ESHIWQCRSH GWGQHNCRHK EDAGVICSEF MSLRLIDETS RDICAGNLEV 841 FYNGANGSVG KSNMSATTVE VVCRQLGCAD KGSINPASSD KPMRHRMVD NVQCPKGPDT 901 LMQCPSSPWK QRVASSSEET WITCANKIRL QEGTSNCSGR VELWHGGSWG TVCDDSDWLE 961 DAQVVCRLG CGPALEALKE AAFGQGTGPI WLNDVCKGN ESSLWDCPAR FMGHSDCGHK 1021 EDAAVRCSEI AMAQRSSNPR GHSSILVALGI FGVILLAFLL ALLLWQRRR QQRLTVSLR 1081 GENSVHQIQY REMNSSLKAD DLDVLTSEY PNEBDDFNDA GLISVSKSLP ISG	SEQ ID NO: 48

Ejemplo 11. Varias líneas celulares son hechas permisibles a infección por PRRSV Norte Americana después de transfección temporal con pCMV- susCD163v1

Se obtuvieron células de riñón porcino (PK032495), testículos porcinos Norden Labs (NLST- 1), Riñón Canino Norden Labs (NLDK- 1) en Pfizer Inc. y se cultivaron a 37°C y CO2 al 5% en medio de crecimiento constando de Medio Eagle Modificado de Dulbecco (DMEM, número de catalogo Invitrogen 11965) suplementado con suero bovino fetal al 5% (FBS), piruvato de sodio 1mM, L- glutamina 2mM y antibióticos. Líneas celulares de Riñón de Hamster Bebé (BHK21), Riñón Felino Norden Labs (NLFK- 1), y Pulmón de Conejo (RL) fueron obtenidas en Pfizer Inc. y cultivadas a 37°C y CO2 al 5% en medio de crecimiento que consta de Medio Eagle Modificado de Dulbecco (DMEM, número de catálogo Invitrogen 11965) suplementado con suero bovino fetal al 10% (FBS), piruvato de sodio 1mM, L- glutamina 2mM y antibióticos. Las células Vero fueron obtenidas en Pfizer Inc. y cultivadas a 37°C y CO2 al 5%

38

389

en medio de crecimiento constando de Medio Esencial Mínimo Alfa (MEM, Pfizer Inc. formulación) suplementado con suero bovino fetal al 10% (FBS), L- glutamina 2 mM y Gentamicina a 20 microgramos por mL. Los pozos de cultivo celular (35 mm) conteniendo aproximadamente 1×10^6 células fueron transfectados con 2 microgramos por pozo de plásmido pCMV- susCD163v1, en DMEM sin FBS o antibióticos, utilizando Lipofectamina 2000 (número de catálogo Invitrogen 11668- 027) según instrucciones del fabricante. La línea celular RL fue transfectada con 1.0 microgramos por pozo de plásmido pCMV- susCD163v1. Un miembro de la biblioteca ADNc de células PAM sin un inserto, designado pPAMB (básicamente un vector plásmido pSport vacío), se utilizó como un plásmido de control negativo. Veinticuatro horas después de la transfección los pozos fueron aspirados y lavados dos veces con DMEM/FBS al 5% seguido por infección con aislado PRRSV Norteamericano P129. El virus fue dejado absorber en 0.5 ml de medio de crecimiento durante un mínimo de dos horas, después de lo cual se agregó medio adicional hasta un volumen final de 2.0 ml y se incubó durante la noche. Luego el virus fue retirado, los pozos se lavaron dos veces con medio de crecimiento, y medio de crecimiento fresco agregado (2.0 ml por pozo). Una muestra a tiempo cero de fluido de cultivo fue inmediatamente tomada con el objeto de determinar el nivel de entorno de virus infeccioso a partir del inóculo. A un mínimo de 48 horas después de la infección, los virus fueron clasificados para permisividad al retirar los fluidos de cultivo para evaluar virus viable, y células permisibles en la monocapa fueron detectadas mediante ensayo fluorescente de anticuerpos (FA). El FA fue completado al fijar la monocapa con acetona al 80% y tefir con anticuerpo monoclonal FITC-conjugado SDOW17 (Rural Technologies Inc), el cual es específico para la proteína de la nucleocápside del PRRSV. El virus viable fue titulado al inocular diluciones de fluidos de cultivo sobre células MARC- 145. La Tabla 5 muestra los resultados de infección de virus por FA y la presencia de virus de progenie para cada línea celular probada.

La falla para detectar virus de progenie a partir de algunas líneas celulares puede ser el resultado de baja concentración de virus en los fluidos de cultivo celular, por debajo del límite de detección del ensayo. La permisividad de células Vero a infección por PRRSV fue aumentada por la expresión de susCD163v1. Comparada con la medición a tiempo cero de virus de fondo, hubo un aumento cercano a dos logaritmo en concentración de virus virus en células Vero transfectadas con pCMV- susCD163v1, mientras hubo un aumento menor que un logaritmo en concentración de células transfectadas con plásmido de control negativo pPaMB. Todas las líneas

celulares excepto NLDK- 1 fueron positivas por FA para permisividad a infección de aislado PRRSV Norteamericano P129 con pCMV- susCD163v1.

Tabla 5

Clasificación de varias líneas celulares para permisividad a aislado PRRSV NA P129 después de transfección temporal con pCMV- susCD163v1 o pPAMB				
Línea celular transfectada	Ensayo de anticuerpos fluorescentes		Virus de progenie producido	
	pCMV- susCD163v1	pPAMB	pCMV- susCD163v1	pPAMB
BHK21	+++	-	+++	-
PK032495	+	-	+	-
NKFK- 1	+	-	+	-
NLST- 1	+	-	-	-
NLDK- 1	-	-	NT	NT
RL	+	-	-	-
Vero	++	+	++	+

- +++= altamente positivo
- ++= moderadamente positivo
- + = levemente positivo
- = no detectable
- NT = no probado

Ejemplo 12. Las células BHK21 son hechas permisibles a infección por PRRSV Europea después de transfección temporal con pCMV- susCD163v1

Se obtuvo línea celular de Riñón de Hamster Bebé (BHK21) en Pfizer Inc. y se cultivó a 37°C y CO2 al 5% en medio de crecimiento constando de Medio Eagle Modificado de Dulbecco (DMEM, número de catalogo Invitrogen 11965) suplementado con suero bovino fetal al 10% (FBS), piruvirato de sódio 1 mM, L- glutamina 2mM y antibióticos. Los pozos de cultivo celular (35 mm) conteniendo aproximadamente 1x10⁶ células fueron transfectados con 2 microgramos por pozo de plásmido pCMV- susCD163v1, en DMEM sin FBS o antibióticos, utilizando

Lipofectamina 2000 (Número de catálogo Invitrogen 11668- 027) según instrucciones del fabricante. A 24 horas después de la transfección, los pozos fueron aspirados y lavados dos veces con DMEM/FBS al 5% seguido por infección con aislado PRRSV Europeo 96V198. El virus fue dejado absorber por un mínimo de 2 horas. Luego el virus fue retirado, los pozos lavados dos veces con medio de crecimiento, y se agregó medio de crecimiento fresco (2.0 ml por pozo). Una muestra a tiempo cero de fluido de cultivo fue inmediatamente tomada para determinar el nivel de entorno de virus infeccioso a partir del inoculo. A un mínimo de 48 horas después de la infección, los cultivos fueron clasificados para permisividad al remover fluidos de cultivo para evaluar virus viable, y células permisibles en la monocapa fueron detectadas mediante ensayo de anticuerpos fluorescentes (FA). El FA fue completado al fijar la monocapa con acetona al 80% y se tiñó con anticuerpo monoclonal FITC- conjugado SDOW17 (Rural Technologies Inc), el cual es específico para la proteína nucleocápside PRRSV. El virus viable fue titulado mediante inoculación de dilución de fluidos de cultivo sobre células MARC- 145. Como resultado de la transfección temporal de BKH21 con pCMV- susCD163v1, las células fueron hechas permisibles a infección de aislado PRRSV Europeo 96V198 y proporcionaron virus de progenie.

Ejemplo 13: Los genes CD163 de múltiples especies animales vuelven permisibles las células BHK21 a infección de virus PRRS

Las células BHK21 desarrolladas en DMEM (número de catálogo Invitrogen 11965) suplementado con suero bovino fetal al 10%, piruvato de sodio 1mM, y antibióticos, se utilizaron en experimentos de transfección temporal. Antes de la transfección las células fueron lavadas una vez con OpIMEM (Invitrogen) sin suero u otros aditivos. Se utilizó lipofectamina 2000 (Invitrogen) en todos los experimentos de transfección según el protocolo proporcionado por el fabricante. La mezcla de transfección constó de 10 microlitros de Lipofectamina 2000 y 2- 3 microgramos de ADN por pozo de 35 mm. Después de incubación durante la noche, el medio de transfección fue retirado y las células fueron infectadas con aislado PRRSV P129. La infección fue dejada progresar durante 24- 48 horas, luego las células fueron fijadas con acetona al 80% y teñidas con anticuerpo monoclonal SDOW17 conjugado con FITC (Rural Technology, Brookings, SD). El teñido de la proteína nucleocápside fue visualizado bajo un microscopio de fluorescencia.

Tabla 6. La transfección temporal de células BHK21 con varios genes CD163 las hace permisibles a infección de virus PRRS

Tabla 6

Esqueleto Plásmido	Gen CD163	Infección por PRRSV (FA)
pCMV- Script	CD163V1 Porcino	+++
pRSV- Script	CD163v1 Porcino	+++
pcDNA3.1D	CD163v2 Porcino	++
pcDNA3.1D	CD163v2 Humano	++
pcDNA3.1D	CD163v3 de Ratón	+
pcDNA3.1D	Mono verde africano (célula MARC- 145) CD163V2	+++
PCdna3.1d	Células Vero CD163n7	+++
pcDNA3.1D	Célula DH82 CD163v2	+++

+++ = Altamente positivo

++= Moderadamente positivo

+= Levemente positivo

Ejemplo 14. Generación de líneas celulares estables BHK21 permisibles a PRRSV utilizando pCMV- susCD163v1

Células BHK- 21 fueron desarrolladas en Medio Eagle Modificado de Dulbecco (DMEM) suplementado con suero bovino fetal al 10%, piruvato de sodio 1 mM, y antibióticos. Para transfección, las células fueron sembradas a confluencia de 90% aproximadamente en 6 placas de pozos e incubadas durante la noche a 37°C en CO2 al 5%. Las células fueron transfectadas con ADN de pCMV- susCD163v1 utilizando Lipofectamina 2000 (Invitrogen) según las instrucciones del fabricante. Un día después de la transfección las células fueron triptinizadas y re- sembradas en placas de 96 pozos en una serie de dilución. Para seleccionar transfectantes estables, el medio fue suplementado con 1 mg/ml de Geneticina (sulfato G418, número de catálogo Invitrogen 10131- 027) desde este punto hacia adelante. El medio fue cambiado cada 3- 5 días. Las placas fueron cultivadas hasta que aquellos pozos con colonias derivadas a partir de célula única alcanzaron confluencia, en tal punto las placas fueron triptinizadas y sembradas en

placas de 96 pozos duplicadas. Una de las placas de 96 pozos duplicadas fue infectada con el aislado PRRSV P129 y los clones permisivos a infección fueron identificados mediante tñido con anticuerpo monoclonal conjugado FITC SDOW17. Luego los clones positivos fueron expandidos desde la segunda placa duplicada. Para asegurar homogeneidad los cultivos positivos fueron clonados mediante células únicas al lmitar la dilución. En cada clonación los subclones que mostraron crecimiento robusto y alta permisividad PRRSV fueron elegidos para expansión. Se seleccionaron tres clones designados BHK/CMV/v1 #3, BHK/CMV/v1 #5, y BHK/CMV/v1 #12 (Figura 6). Estas líneas celulares han mantenido el fenotipo permisivo a través de 20 pasajes.

Ejemplo 15. Generación de líneas celulares estables BHK21 permisibles a PRRSV utilizando pRSV- susCD163v1

Las células BHK- 21 fueron cultivadas como se describió en el Ejemplo 14. Las células BHK- 21 fueron transfectadas con pRSVsusCD163v1 utilizando Lipfectamina 2000 como se describió en el Ejemplo 14. La clonación de células transfectadas y clasificación de clones permisivos fue realizada esencialmente como se describió en el Ejemplo 14. A partir de la clonación original se identificaron 3 clones de célula única como permisivos y fueron subsiguientemente reclonados dos o más veces para asegurar homogeneidad y para intentar aislar subclones de mayor permisividad (ver Figura 7). Las líneas celulares resultantes fueron denominadas BHK/RSV/v1, #2, #3, y #4. Todos estos clones han mantenido el fenotipo permisivo a través del pasaje más alto (pasaje 11 para el clon #2, pasaje 7 para el clon #3, y pasaje 5 para el clon #4).

Ejemplo 16. Generación de líneas celulares estables de riñón felino permisibles a PRRSV utilizando pCMV- susCD163v1

Células parentales de Riñón Felino de Norden Labs (NKFK) fueron cultivadas a 37 grados C y CO2 al 5% en Medio Eagle Modificado de Dulbecco (Número de catálogo invitrogen 11965- 092) suplementado con suero bovino fetal al 10%, piruvato de sódio 1 mM, y antibioticos. Varios pozos de 35 mm conteniendo aproximadamente 2×10^6 células cada uno fueron transfectados con 4 microgramos por pozo de pCMV- susCD163v1, en OptiMEM, utilizando Lipofectamina 2000 (número de catalogo Invitrogen 11668- 027) según las instrucciones del fabricante. Después de incubación durante la noche, las células fueron retiradas

del sustrato utilizando Accutase (Innovative Cell Technologies, número de catálogo AT104) diluidas en medio, y sembradas en tres placas de 96 pozos a tres densidades (aproximadamente 2×10^2 , 2×10^3 , y 2×10^4 células por pozo). Las células fueron dejadas sentar durante la noche a 37 grados C antes de comenzar la selección de transformantes estables. La mañana siguiente el medio fue reemplazado con 100 microlitros/pozo de medio fresco conteniendo 500 microgramos/ml de Geneticina (sulfato G418, número de catálogo Invitrogen 10131- 027) para seleccionar células que expresan el gen de resistencia a la neomicina. El medio se cambió cada 2 a 3 días para mantener la potencia de Geneticina. Después de 19 días de selección, la placa de 96 pozos con la densidad celular inicial menor (aproximadamente 200 células/pozo) proporcionó 70 pozos vacíos y 26 pozos con una o más colonias de células G418- resistentes (número calculado de células resistentes/pozo es 0.3, utilizando la distribución de Poisson). Estos 26 pozos fueron divididos en pozos duplicados y dejados sentar durante la noche. Un grupo de pozos fue infectado con aislado PRRSV P129, incubado durante 24 horas, luego fijado con acetona al 80% y teñido con anticuerpo monoclonal FITC- conjugado SDOW17 (Rural Technologies Inc), el cual fue específico para nucleocápside del PRRSV. De los 26 clones, 8 tuvieron algunas células que fueron infectadas por PRRSV. Uno de estos, designado "NLFK- CMV- susCD163v1- G4", claramente fue más permisivos que los demás con casi 100% de las células con teñido positivo para antígeno viral.

Por el número de pasaje celular 5, hubo alguna evidencia de heterogeneidad fenotípica en la línea celular NLFK- CMV- susCD163v1- G4. Por lo tanto, las células fueron clonadas por células simples mediante dilución limitante en medio conteniendo G418, arrancando con concentraciones congeladas de NLFK- CMV- susCD163v1- G4 pasaje 4. Doce de tales clones ("A" - "L") fueron expandidos para estudio. De estos, los clones NLFK- CMV- susCD163v1- G4F y NLFK- CMV- susCD163v1- G4L fueron notables por su capacidad para formar placas discretas (áreas localizadas de CPE) cuando se infectan con el aislado PRRSV P129 (ver Figura 8).

Ejemplo 17. Generación de líneas células estables de riñón felino permisivo a PRRSV utilizando pRSV- susCD163v1

Las células de Riñón Felino de Norden Labs (NLFK) fueron desarrolladas a 37°C y CO₂ al 5% en Medio Esencial Mínimo Alfa Medium (número de catálogo Invitrogen 12571- 071)

suplementado con suero bovino fetal al 10% y antibióticos. Las células NLFK fueron sembradas en placas de 6 pozos a confluencia de aproximadamente 90% y dejadas fijar durante la noche. Luego las células fueron transfectadas con plásmido pRSV- susCD163v1 utilizando Lipofectamina 2000 (Invitrogen) siguiendo las instrucciones del fabricante. Después de 24 horas las células fueron clonadas como se describió en el Ejemplo 14. Se seleccionaron cuatro clones a partir de la clasificación y se clonaron mediante célula única al limitar la dilución dos veces más. Se seleccionaron cuatro clones denominados FK/RSV/v1 #1, FK/RSV/v1 #2, FK/RSV/v1 #3, y FK/RSV/v1 #4. Estas líneas celulares han mantenido el fenotipo permisivo PRRSV a través de al menos 8 pasajes (ver Figura 9).

Ejemplo 18. Generación de líneas celulares estables de riñón porcino permisibles a PRRSV utilizando pCMV- susCD163v1

Se obtuvieron células de Riñón Porcino Parenteral (PK032495) en Pfizer Inc. y se desarrollaron a 37 °C y CO₂ al 5% en medio de crecimiento constando de Medio Eagle Modificado (DMEM, número de catálogo Invitrogen 11965) suplementado con suero bovino fetal al 5% (FBS), piruvato de sodio 1 mM, L- glutamina 2mM y antibióticos. Pozos de cultivos de tejidos (35 mm) conteniendo aproximadamente 1×10^6 células cada uno fueron transfectados con 2 microgramos por pozo de plásmido pCMV- susCD163v1, en DMEM son FBS o antibióticos, utilizando Lipofectamina 2000 (número de catálogo Invitrogen 11668- 027) según las instrucciones del fabricante. Después de incubación durante la noche, las células fueron lavadas con PBS y retiradas del sustrato utilizando Accutase (Innovative Cells Technologies, número de catálogo AT104) y se diluyeron en medio de crecimiento conteniendo Geneticina (sulfato G418, número de catálogo Invitrogen 10131- 027) a 1.0 miligramos por ml y se sembraron en placas de 96 pozo a varias densidades para asegurar recuperación de clones de célula única después de selección de Geneticina. A través de selección de Geneticina, el medio se cambió aproximadamente cada 3 a 5 días. Después de selección, los pozos conteniendo clones de célula única fueron expandidos a placas de 96 pozos duplicadas y dejadas incubar hasta lograr confluencia de 100%. Un grupo de pozos fue clasificado para permisividad a PRRSV al infectar con aislado PRRSV P129 durante un mínimo de 48 horas. Se encontraron once clones como permisivos para PRRSV. Uno de estos, designado "PK- CMV- susCD163v1- A10", claramente retuvo el fenotipo permisivo después de numerosos pasajes (ver Figura 10).

390

396

Ejemplo 19. Generación de líneas celulares estables BHK21 permisibles a PRRSV utilizando pCMVScript- susCD163v2

Se obtuvieron células de Riñón de Hamster Bebé Parenteral (BHK21) en Pfizer Inc. y se desarrollaron a 37°C y CO₂ al 5% en medio de crecimiento constando de Medio Eagle Modificado de Dulbecco (DMEM, número de catálogo Invitrogen 11965) suplementado con suero bovino fetal al 10% (FBS), piruvato de sodio 1 mM, L- glutamina 2mM y antibióticos. Pozos de cultivo de tejidos (35 mm) conteniendo aproximadamente 1×10^6 cada uno fueron transfectados con 2 microgramos por pozo de pCMVScript- susCD163v2, en DMEM sin FBS o antibióticos, utilizando Lipofectamina 2000 (número de catálogo Invitrogen 11668- 027) según las instrucciones del fabricante. Después de incubación durante la noche, las células fueron lavadas con PBS y retiradas del sustrato utilizando Accutase (Innovative Cells Technologies, número de catálogo AT104) y diluidas en medio de crecimiento conteniendo Geneticina (sulfato G418, número de catálogo Invitrogen 10131- 027) a 1.0 miligramos por ml y sembradas en placas de 96 pozos a varias densidades para asegurar recuperación de clones de célula única después de selección de Geneticina. A través de toda la selección de Geneticina, el medio fue cambiado aproximadamente cada 3 a 5 días. Después de la sección, los pozos conteniendo clones de célula única fueron expandidos en placas de 96 pozos duplicadas e incubadas hasta lograr confluencia de 100%. Un grupo de pozos fue clasificado para permisividad al infectar con aislado PRRSV P129 e incubar durante un mínimo de 48 horas. Tres clones fueron encontrados como permisivos a PRRSV, y uno de estos, designado "BHK- CMVScript- susCD163v2- A9" fue elegido para estudio adicional (ver Figura 11).

Ejemplo 20. Generación de líneas celulares estables BHK- 21 permisibles a PRRSV utilizando pRSV- susCd163v2

Se cultivaron células BHK- 21 como se describió en el Ejemplo 14. Las células BHK- 21 fueron transfectadas con el constructo de ADN de pRSV- susCD163v2 descrito en el Ejemplo 5 utilizando Lipofectamina 2000 (Invitrogen) siguiendo las instrucciones del fabricante. La selección y clonación subsiguiente de líneas celulares permisibles PRRSV fue realizada como se describió en el Ejemplo 14. De 336 clones de célula única clasificados, 129 fueron positivos.

397

Varios de estos clones celulares han pasado hasta 7 veces y han mantenido el fenotipo permisivo a PRRSV (ver Figura 12). Estas líneas celulares han sido denominadas BHK/RSV/v2, seguido por un número de clon numérico.

Ejemplo 21. Generación de líneas celulares estables de riñón porcino permisibles a PRRSV utilizando pCMVScript- susCD163v2

Se obtuvieron células de Riñón Porcino Parenteral (PK032495) en Pfizer Inc. y se desarrollaron a 37°C y CO₂ al 5% en medio de crecimiento constando de Medio Eagle Modificado de Dulbecco (DMEM, número de catálogo Invitrogen 11965) suplementado con suero bovino fetal al 5% (FBS), piruvato de sodio 1 mM, L- glutamina 2mM y antibióticos. Pozos de cultivos de tejidos (35 mm) conteniendo aproximadamente 1×10^6 células cada uno fueron transfectados con 2 microgramos por pozo de pCMVScript- susCD163v2 en DMEM sin FBS o antibióticos, utilizando Lipofectamina 2000 (número de catálogo Invitrogen 11668- 027) según las instrucciones del fabricante. Después de incubación durante la noche, las células fueron lavadas con PBS y retiradas del sustrato utilizando Accutase (Innovative Cells Technologies, número de catálogo AT104) y diluidas en medio de crecimiento conteniendo Geneticina (sulfato G418, número de catálogo invitrogen 10131- 027) a 1.0 miligramos por ml y sembradas en placas de 96 pozos a varias densidades para asegurar recuperación de clones de célula única después de selección de la Geneticina. Durante toda la selección de Geneticina, el medio cambió aproximadamente cada 3 a 5 días. Después de selección, los pozos conteniendo clones de célula única fueron expandidos en placas de 96 pozos duplicadas e incubadas hasta lograr confluencia de 100%. Un grupo de pozos fue clasificado para permisividad al infectar con el aislado PRRSV P129 e incubar durante un mínimo de 48 horas. Un clon designado "PK- CMVScript- susCD163v2- D1" mostró el fenotipo permisivo a PRRSV.

Ejemplo 22. Generación de líneas celulares estables BHK21 permisibles a PRRSV utilizando pcDNA3.1D- humCD163v2

Se obtuvieron células de Riñón de Hamster Bebé Parenteral (BHK21) en Pfizer Inc. y se desarrollaron a 37°C y CO₂ al 5% en medio de crecimiento constando de Medio Eagle Modificado de Dulbecco (DMEM, número de catalogo Invitrogen 11965) suplementado con suero bovino fetal al 10% (FBS), piruvato de sodio 1mM, L- glutamina 2mM y antibióticos. Los

392

398

pozos de cultivo de tejidos (35 mm) conteniendo aproximadamente 1×10^6 cada uno fueron transfectados con 2 microgramos por pozo de pcDNA3.1D- humCD163v2, en DMEM sin FBS o antibióticos, utilizando Lipofectamina 2000 (Número de catálogo Invitrogen 11668- 027) según instrucciones del fabricante. Después de incubación durante la noche, las células fueron lavadas con PBS y removidas del sustrato utilizando Accutase (Innovative Cells Technologies, número de catálogo AT104) y diluidas en medio de crecimiento conteniendo Geneticina (sulfato G418, numero de catálogo Invitrogen 10131- 027) a 1.0 miligramos por ml y sembradas en placas de 96 pozos a varias densidades para asegurar recuperación de clones de célula única después de selección de Geneticina. A través de toda la selección de Geneticina, el medio fue cambiado aproximadamente cada 3 a 5 días. Después de la sección, los pozos conteniendo clones de célula única fueron expandidos en placas de 96 pozos duplicadas e incubadas hasta lograr confluencia de 100%. Un grupo de pozos fue clasificado para permisividad al infectar con aislado PRRSV P129 e incubar durante un mínimo de 48 horas. Siete clones fueron encontrados como permisivos a PRRSV. Hubo alguna evidencia de heterogeneidad fenotípica en cada uno de los siete clones candidatos, probablemente puesto que estos fueron de no clonación. Por lo tanto, los clones candidatos fueron clonados mediante célula única al limitar la dilución en medio conteniendo G418. Un clón de célula única con clara permisividad- PRRS se obtuvo y se designó BHJ-cDNA3.1D- humCD163v2- H9.

Ejemplo 23. Generación de líneas celulares estables de riñón felino permisibles a PRRSV utilizando pcDNA3.1D- humCD163v2

Células de Riñón Felino Norden Labs Parenteral (NLFK) fueron desarrolladas a 37°C y CO2 al 5% en medio de crecimiento constando de Medio Eagle Modificado de Dulbecco (DMEM, número de catalogo Invitrogen 11965) suplementado con suero bovino fetal al 10% (FBS), piruvato de sodio 1 mM, L- glutamina 2mM y antibióticos. Los pozos de cultivo de tejidos (35 mm) conteniendo aproximadamente 1×10^6 cada uno fueron transfectados con 2 microgramos por pozo de pcDNA3.1D- humCD163v2 en DMEM son FBS o antibióticos, utilizando Lipofectamina 2000 (número de catálogo Invitrogen 11668- 027) según instrucciones del fabricante. Después de incubación durante la noche, las células fueron lavadas con PBS, retiradas del sustrato utilizando Accutase (Innovative Cells Technologies, diluidas en medio de crecimiento conteniendo Geneticina (sulfato G418, número de catálogo Invitrogen 10131- 027) a

393

399

500 microgramos por ml, y sembradas en placas de 96 pozos a varias densidades para asegurar recuperación de clones de célula única después de selección de Geneticina. Durante toda la selección de Geneticina, el medio se cambió aproximadamente cada 3 a 5 días. Después de selección, los pozos conteniendo clones de célula única fueron expandidos a placas de 96 pozos duplicadas e incubadas hasta lograr una confluencia de 100%. Un grupo de pozos fue clasificado para permisividad a PRRSV al infectar con aislado PRRSV P129 durante un mínimo de 48 horas. Se encontraron cinco clones como permisivos. Uno de estos, denominado "FK- cDNA3.1D- humCD163v2- A6", claramente mostró el fenotipo permisivo (ver Figura 13).

Las células NLFK precursoras y un subclon de FK- cDNA3.1- humCD163v2- A6 fueron examinadas para la expresión de CD163. Las células fueron fijadas en acetona al 80% y hechas reaccionar con CD163 anti- humano de Cabra (R&D System a 1:200) durante una hora siguiendo por lavado con PBS. Para visualización, se utilizó IgG anti- cabra de asno conjugado con FITC (Bioscience Inc a 1:100). No se detectó fluorescencia específica en las células NLFK precursoras como se muestra en la Figura 21A. La mayoría del subclon FK.A6.A2 mostró buen tefido fluorescente indicando la presencia de CD163 (Figura 21B).

Ejemplo 24. Generación de líneas celulares estables de riñón porcino permisibles a PRRSV utilizando pcDNA3.1D- humCD163v2

Las células de Riñón Porcino Parenteral (PK032495) fueron obtenidas en Pfizer Inc. y fueron desarrolladas a 37 °C y CO₂ al 5% en medio de crecimiento constando de Medio Eagle Modificado de Dulbecco (DMEM, número de catálogo Invitrogen 11965) suplementado con suero bovino fetal al 5% (FBS), piruvato de sodio 1 mM, L- glutamina 2mM y antibióticos. Los pozos de cultivo de tejidos (35 mm) conteniendo aproximadamente 1×10^6 células cada uno fueron transfectados con 2 microgramos por pozo de pcDNA3.1D- humCD163v2, en DMEM son FBS o antibióticos, utilizando Lipofectamina 2000 (número de catálogo Invitrogen 11668- 027) según instrucciones del fabricante. Después de incubación durante la noche, las células fueron lavadas con PBS, retiradas del sustrato utilizando Accutase (Innovative Cells Technologies, número de catálogo AT104), diluidas en medio de crecimiento conteniendo Geneticina (sulfato G418, número de catálogo Invitrogen 10131- 027) a 1.0 miligramos por ml, y sembradas en placas de 96 pozos a varias densidades para asegurar recuperación de clones de célula única después de selección de Geneticina. Durante toda la selección de Geneticina, el medio se cambió

aproximadamente 3 a 5 días. Después de la selección, los pozos conteniendo clones de célula única fueron expandidos a placas de 96 pozos duplicadas e incubadas hasta lograr confluencia de 100%. Un grupo de pozos fue clasificado para permisividad a PRRSV al infectar con el aislado PRRSV P129 durante un mínimo de 48 horas. Dos clones se encontraron como permisivos. Uno de estos, denominado "PK- cDNA3.1D- humCD163v2- B11" claramente mostró el fenotipo PRRSV- permisivo.

Ejemplo 25. Generación de líneas celulares estables de riñón felino permisibles a PRRSV utilizando pRSV- Script MARC CD163v2 ligado

Se desarrollo un procedimiento basado en no clonación para generar cantidades en microgramos de ADN lineal apropiado para utilizar en la generación de líneas celulares estables expresando CD163 a partir de un promotor RSV (Figura 4). Se adaptó un proceso similar para colocar CD163v2 simiano a partir de células MARC- 145 detrás del promotor RSV. El procedimiento involucra el aislamiento y ligación de dos piezas de ADN, una conteniendo el gen de neomicina y el casete promotor RSV derivado de pRSV- script, y la otra conteniendo la secuencia codificadora MARC CD163v2 a partir de pCDNA3.1D MARC CD163v2. El plásmido vector pRSV- Scrip fue linealizado con *Hind* III y *Kpn* I. El plásmido fue primero digerido con *Kpn* I y fue despuntado con el fragmento Klenow de ADN polimerasa de *E.coli*. Luego este plásmido fue digerido con *Hind* III inmediatamente corriente abajo del promotor RSV. El clón pCDNA3.1D MARC CD163V2 fue digerido en la secuencia de vectores corriente abajo del inserto CD163 con *EcoRV*, y *Hind* III corriente arriba de CD163. La secuencia codificadora CD163 fue liberada del vector. Para cada digestión de plásmidos, los fragmentos apropiados fueron purificados a partir de geles de agarosa. Una reacción de ligación a gran escala fue realizada como sigue. Aproximadamente 20 ug de cada fragmento de ADN fue incubado en un volumen de 600 uL con 15 unidades de ADN ligasa de T4. La reacción fue incubada a temperatura ambiente durante 1 hora. Después de ligación, una pieza lineal de ADN conteniendo todos los elementos apropiados fue purificada mediante electroforesis de gel de agarosa. El análisis de digestión de enzimas de restricción fue realizado para confirmar la autenticidad de cada fragmento ligado. La ligación de dos fragmentos de ADN a través de términos *Hind* III cohesivos resultó en la colocación de las secuencias 5' del gen MARC CD163 corriente abajo del

395
401

promotor RSV, permitiendo expresión dirigida de CD163 en células mamíferas. Una vez aislado, el ADN purificado se utilizó para transfectar líneas celulares mamíferas seleccionadas.

Las células de Rifón Felino Norden Labs (NLFK) fueron desarrolladas a 37°C y CO₂ al 5% en DMEM suplementado con suero bovino fetal al 5% y antibióticos. Las células NLFK fueron sembradas en placas de 6 pozos a confluencia de 90% aproximadamente y dejadas fijar durante la noche. Luego las células fueron transfectadas con plásmido pRSV- MARC CD163v2 ligado utilizando Lipofectamina 2000 siguiendo las instrucciones del fabricante. Después de 24 horas las células fueron clonadas como se describió en el Ejemplo 12. La clasificación de clones de células permisibles a PRRSV fue realizada como se describió en el Ejemplo 12. Un clón fue positivo para infección por PRRSV y se denominó NLFK- MARC VD163 D4. Este clón D4 ha mantenido el fenotipo PRRSV- permisivo a través de 9 pasajes.

Ejemplo 26. Cinética de crecimiento de aislado PRRSV NVSL 94- 3 en células BHK- 21 y NLFK recombinantes que expresan de manera estable susCD163v1 a partir del promotor CMV.

Se cuantificaron las cantidades de virus de progenie producidas por células BHK- 21 o NLFK infectadas con PRRSV modificadas de manera estable para expresar susCD163v1. Cuatro líneas celulares que expresan, susCD163v1, BHK/CMV/susv1 #3, BHK/CMV/susv1 #5, BHK/CMV/susv1 #12, y FK/CMV/susv1 G4 fueron sembradas a sub confluencia en placas de 6 pozos y, después de incubación durante la noche, fueron infectadas con el aislado NVSL 94- 3 de PRRSV. Las células MARC- 145 fueron incubadas en el experimento para comparación. Las células fueron infectadas con virus a un m.o.i. de aproximadamente 0.1. El virus fue absorbido durante 60- 90 minutos y fue removido. Las células fueron lavadas tres veces con PBS para retirar virus residual. Se cosecharon alicuotas de un milímetro a partir de cultivos a intervalos de 12 horas comenzando inmediatamente después de infección y continuando durante 96 horas. Se agregó medio de cultivo fresco a las células en varios puntos de tiempo para mantener un volumen de cultivo suficiente para evitar el secado de la monocapa celular. Los sobrenadantes de cultivo fueron almacenados a - 80°C hasta que todas las muestras fueron recolectadas. La cantidad de PRRSV presente en los sobrenadantes de cultivo fue determinada por ensayo de placa sobre células MARC- 145. La Figura 14 muestra que todas las líneas celulares recombinantes de expresión de CD163 fueron capaces de producir progenie de PRRSV.

296

402

Ejemplo 27. Bloqueo de infección de PRRSV con anticuerpo anti- CD163: Células temporalmente transfectadas.

Células BHK- 21, sembradas en placas de 24 pozos, fueron temporalmente transfectadas con el plásmido pCDNA3.1D- MARC- CD163v2 descrito en el ejemplo 8, utilizando Lipofectamina 2000 como se describió en el ejemplo 14. Después de incubación durante la noche para permitir expresión de CD163, se agregó una titulación de anticuerpo policlonal de cabra específico para CD163 humano (R&D Systems, Cat # AF1607) en PBS a las células en un volumen de 100 ul. Como un control, se utilizaron cantidades equivalentes de IgG de cabra normal (R&D Systems, cat # AB- 108- C). Después de incubación de una hora a 37°C, las monocapas fueron infectadas con aproximadamente 1×10^7 pfu de una cepa P129 recombinante de PRRSV que expresa GFP. Las monocapas celulares, con anticuerpo anti- CD163 y PRRSV, fueron incubadas a 37°C durante una hora tiempo en el cual la mezcla inóculo de virus/anticuerpo fue aspirado, la monocapa celular se lavó una vez con PBS, y se agregó 1 ml de medio de crecimiento a los pozos. Las células fueron incubadas durante 24 horas a 37°C para permitir expresión de GFP PRRSV dirigida. Para análisis, las células fueron triptinizadas, resuspendidas en 500 ul de PBS y analizadas mediante citometría de flujo para enumerar las células PRRSV- infectadas a través de expresión GFP. Para citometría de flujo, se utilizaron células BHK- 21 sin infectar para establecer la base para detección de fluorescencia, y se analizaron aproximadamente 100.000 células a partir de cada muestra subsiguiente. Los resultados de este análisis, mostrados en la Figura 15, muestran que el anticuerpo CD163 específico fue capaz de reducir significativamente el número de células infectadas cuando se comparó con células incubadas con IgG de cabra normal.

Ejemplo 28: Bloqueo de infección por PRRSV mediante anticuerpo anti CD163: Células establemente transfectadas.

Las células NLFK que expresan establemente CD163 humano (FK- cDNA3.1D- humCD163v2- A6), descritas en el Ejemplo 23, fueron sembradas en placas de 24 pozos. Después de dejar las células fijar durante la noche, se agregó una titulación de anticuerpo policlonal de cabra específico para CD163 humano (R&D Systems, cat #AF1607) en PBS a las células en un volumen de 100µl. Como un control, se utilizaron cantidades equivalentes de IgG

de cabra normal (R&D Systems, cat # AB- 108- C). Después de 1 hora de incubación a 37°C, las monocapas fueron infectadas con aproximadamente 1×10^7 pfu de una cepa P129 recombinante de PRRSV que expresa GFP. Las monocapas celulares, con anticuerpo anti- CD163 y PRRSV, fueron incubadas a 37°C tiempo en el cual la mezcla inóculo de virus/mezcla de anticuerpo fue aspirada, la monocapa se lavó una vez con PBS, y se agregó 1 ml de medio de crecimiento a los pozos. Las células fueron incubadas durante 24 horas a 37°C para permitir la expresión GFP dirigida por el PRRSV. Para análisis, las células fueron tripsinizadas, resuspendidas en 500 µl de PBS, y analizadas mediante citometría de flujo para enumerar las células PRRSV- infectadas a través de expresión GFP. Aproximadamente 100.000 células fueron analizadas a partir de cada muestra. Los resultados de este análisis, mostrados en la Figura 16 muestra que el anticuerpo Cd163 específico fue capaz de reducir significativamente el número de células infectadas cuando se comparó con células incubadas con IgG de cabra normal.

Ejemplo 29. Generación de líneas celulares estables de riñón porcino permisibles a PRRSV utilizando pRSV- susCD163v2.

Células de riñón porcino (PK032495) fueron cultivadas como se describió en el Ejemplo 21. Para transfección, las células fueron sembradas en una placa de 24 pozos a confluencia de 80% y dejadas recuperar durante la noche. La transfección de ADN de pRSV- susCD163v2 ligado descrita en el ejemplo 5 fue realizada utilizando Lipofectamina 2000 (Invitrogen) siguiendo las instrucciones del fabricante. La clonación subsiguiente y selección de células PRRSV permisibles fue realizada esencialmente como se describió en el Ejemplo 14. La clonación inicial mediante dilución limitante falló para proporcionar clones derivados de célula única, de manera que 5 pozos con células PRRSV permisibles fueron reclonados mediante dilución limitante para proporcionar líneas celulares de clonación. Se seleccionaron 10 clones para estudio adicional y uno de estos clones, PK_RSVScript- susCD163v2 #9 mostró la capacidad para soportar crecimiento localizado de PRRSV temprano después de la infección (ver Figura 18).

Ejemplo 30. Generación de líneas celulares estables de riñón felino permisibles a PRRSV utilizando pRSV- susCD163v2.

398

404

Células de riñón felino NLFK fueron cultivadas como se describió en el Ejemplo 17. Para transfección, las células fueron sembradas a aproximadamente 80% de densidad máxima en placas de 24 pozos. Después de incubación durante la noche las monocapas fueron transfectadas con RSV/susCD163v2 derivado de ligación (ver Ejemplo 5) utilizando Lipofectamina siguiendo las instrucciones del fabricante. La clonación de las células transfectadas y selección de clones de células permisibles a PRRSV se realizó esencialmente como se describió en el Ejemplo 14. De los 67 clones celulares probados para permisividad de PRRSV, 20 fueron encontrados como positivos. Un ejemplo del teñido observado es mostrado en la Figura 19.

Ejemplo 31. Pasaje de aislado PRRSV P201 en células PK- RSVScript- susCD163v2

La amplificación de un aislado clínico PRRSV fue realizada como sigue. Células macrofagas alveolares periféricas (PAM) fueron sembradas a 5.4×10^6 células por 10 cm^2 en un plato de 6 pozos utilizando medio OptiMEM suplementado con FBS al 2%. Después de 6 horas el medio fue aspirado y una alícuota de suero cosechada a partir de un cerdo infectado con PRRSV fue agregada a las células. Después de una adsorción de 90 minutos, el inoculo de suero fue retirado y reemplazado con OptiMEM. A aproximadamente 40 min después de la infección el sobrenadante fue cosechado y clarificado con una centrifugación de 10 min. El sobrenadante se utilizó directamente para infectar células del clón #9 PK- RSVScript- susCD163v2 utilizando una adsorción de 6 horas. Después de retirar el inoculo, las células fueron realimentadas con D-MEM. El virus P201 fue pasado de manera serial sobre la línea celular PK- RSVScript- susCD163v2 #9 utilizando pasadas alternantes de células infectadas y sobrenadante libre de células. Se observó que para diseminación eficiente del virus, las células se deben sembrar a 50-70% de confluencia el día antes de infección, utilizando frascos de células que fueron mantenidos a sub- confluencia. Para seguir la progresión de infección, cada pasaje fue replicado en múltiples pozos de células idénticamente infectadas y cada día uno de los pozos fue fijado con acetona y teñido con anticuerpo monoclonal FITC- rotulado SDOW17. Si el porcentaje de células infectadas no fue mayor que 50% y la progresión significativa de desarrollo de focos sobre observaciones de días anteriores no se observaron, las células en un pozo equivalente fueron tripsinizadas y pasadas a múltiples pozos frescos. Estos pasajes de células infectadas típicamente estuvieron a un división 1:4 y algunas veces incluyeron la adición de un número equivalente de células desde un cultivo sin infectar. Alternativamente, si el teñido SDOW17 reveló que los focos

de células infectadas se habían diseminado suficientemente para responder por más de 50% de las células totales, sobrenadante libre de células fue cosechado y utilizado para infectar múltiples pozos de células recién sembradas (Figura 20). Luego de 11 pasajes, no fueron necesarios los pasajes de la célula intermedia puesto que el virus era capaz de crecer a concentraciones suficiente para permitir el paso consecutivo de sobrenadante libre de células del virus.

298
405

Ejemplo 32. Clasificación de varias líneas celulares CD163 para permisividad a varios aislados Europeos y Norteamericanos de PRRSV

Varias líneas celulares transgénicas CD163 fueron evaluadas para permisividad a bajo pasaje de aislados Europeo y Norteamericano PRRSV (ver Tabla 7). Las líneas celulares CD163 transgénicas como se describieron en ejemplos anteriores incluyeron NLFK- MARC CD163 D4, clón #9 PK- RSVScript- susCD163v2 y PK- CMV- susCD163v1- A10. Cada línea celular CD163 junto con las líneas celulares MARC- 145, líneas celulares de riñón felino parenteral, riñón porcino parenteral (sirviendo como controles) fueron sembradas sobre platos de cultivo de tejidos de 96 pozos. El medio de crecimiento fue retirado de las monocapas e inoculado con 0.1 mL por pozo de cada aislado PRRSV. El día 3 después de la infección, las placas fueron fijadas con acetona al 80% y teñidas con anticuerpo monoclonal FITC- conjugado SDOW17 (Rural Technologies Inc.) El cual es específico para la nucleocápside. Los resultados del ensayo de anticuerpo fluorescente (FA) están en la Tabla 7.

Tabla 7

Resultados FA de clasificación de varias líneas celulares CD163 para permisividad a aislados Europeos y Norteamericanos PRRSV						
Línea celular CD163	Aislado PRRSV*					
	EU98V226	P129	P201	1151	94- 3	IND5
NLFK- MARC CD163 D4	++	+	+++	+++	++	++++
PK- RSVScript- susCD163v2 clón #9	+	+	++	+	+	++
PK- CMV-	+	+	++	++	++	++

400
406

susCD163v1- A10						
MARC- 145	++	+	+++	+	++++	+++
Riñón Porcino (parental)	-	-	-	-	-	-
Riñón Felino (parental)	-	-	-	-	-	-

* Todos los aislados PRRSV son norteamericanos excepto EU98V226 que es un aislado Europeo.

Ejemplo 33. Inducción del CD163 a forbol 12- miristato 13- acetato (PMA) convierte células U937 humanas permisivas a infección por PRRSV.

Las células U937 humanas obtenidas en ATCC (CRL- 1593.2) fueron propagadas en medio RPMI conteniendo suero y aditivos según especificaciones ATCC. Estas células son conocidas para expresar CD163 cuando se activan mediante tratamiento PMA (Gronlund, 2000). Las células U937 fueron sembradas en duplicado en pozos de un plato de 6 pozos. Un grupo de pozos fue tratado con 100 ng/ml de PMA y el otro grupo fue dejado sin tratar. Tres días después de estimulación PMA, un pozo de cada grupo fue infectado con el aislado P129 de PRRSV. El otro pozo de cada grupo fue fijado y teñido para expresión de CD163 en ensayo de anticuerpo inmunofluorescente indirecto utilizando CD163 anti humano de cabra (R&D System) y IgG anti-cabra de asno conjugado con FITC (BioDesign International).

Las células U937 sin tratar continuaron propagación a alta densidad 3 días después de la siembra inicial. Células U937 tratadas con PMA detuvieron la propagación, se volvieron agrandadas, y se fijaron a la superficie de pozos de cultivo. Una pequeña fracción de células U937 sin tratar fueron positivas para teñido CD163, mientras casi todas las células U937 tratadas con PMA fueron positivas para teñido CD163. En células U937 tratadas con PMA no se observaron células infectadas con PRRSV. Sin embargo, cientos de células U937 tratadas con PMA se infectaron con PRRSV. Esto demuestra que las células no permisibles se pueden volver permisibles para infección por PRRSV después de inducción química de expresión de CD163.

Características y variaciones adicionales del invento serán manifiestas a aquellos con experiencia en el estado de la técnica a partir de la totalidad de esta solicitud, incluyendo la

~~407~~
407
descripción detallada, y todas estas características son propuestas como aspectos del invento. Igualmente, las características del invento descrito en la presente se pueden recombinar en realizaciones adicionales que también son propuestas como aspectos del invento, sin tener en cuenta si la combinación de características es específicamente mencionada anteriormente como un aspecto o realización del invento. También, solamente tales limitaciones que son descritas en la presente como críticas al invento deben ser consideradas como tal; variaciones del invento que carecen de limitaciones que no han sido descritas en la presente como críticas son propuestas como aspectos del invento.

Será claro que el invento se puede practicar de otra forma a la particularmente descrita en la anterior descripción y ejemplos.

Numerosas modificaciones y variaciones del presente invento son posibles a la luz de las anteriores enseñanzas y, por lo tanto, están dentro del alcance del invento.

La divulgación de todas las publicaciones citadas en la presente son incorporadas como referencia en la medida que no son inconsistentes con la divulgación en la presente.

~~402~~
408

REIVINDICACIONES

1. Un método para facilitar infección de una célula de vertebrados mediante PRRSV que comprende el paso de

(a) dirigir una expresión aumentada de un polipéptido CD163 mediante dicha célula de vertebrados.

2. El método de la reivindicación 1 que comprende además la infección de dicha célula con PRRSV.

3. El método de la reivindicación 1 que comprende además la producción de un cultivo del PRRSV.

4. El método de la reivindicación 1 en el cual dicha célula es mamífera.

5. El método de la reivindicación 1 en donde dicho polipéptido CD163 comprende un dominio de transmembrana.

6. El método de la reivindicación 1 en donde dicha expresión aumentada es realizada mediante introducción de ácido nucleico exógeno.

7. El método de la reivindicación 1 en donde dicha expresión aumentada es realizada mediante tratamiento químico.

8. El método de la reivindicación 1 en donde dicha célula no fue permisible al PRRSV y es convertida en permisible al PRRSV mediante el paso (a).

9. El método de la reivindicación 2 en el cual PRRSV es del genotipo Europeo.

10. El método de la reivindicación 2 en el cual el PRRSV es del genotipo Norteamericano.

203

409

11. El método de cualquiera de las reivindicaciones 2- 10 que comprende además el paso de producir una vacuna PRRSV.

12. El método de las reivindicación 11 en donde la vacuna puede estar muerta (inactivada).

13. El método de la reivindicación 11 en donde la vacuna puede estar atenuada viva.

14. Un método para medir la predisposición de una línea celular de prueba para permitir infección por PRRSV, el cual comprende:

a) proporcionar una muestra que contiene ácidos nucleicos a partir de la línea celular de prueba;

b) determinar la cantidad de polinucleótido que codifica un polipéptido CD163 o su complemento en dicha muestra;

en donde una cantidad aumentada de polinucleótido que codifica un polipéptido CD163 relativa a una muestra de control derivada de una línea celular de control conocida por no soportar el crecimiento de dicho PRRSV, indica una predisposición de la línea celular de prueba para soportar la replicación de dicho PRRSV.

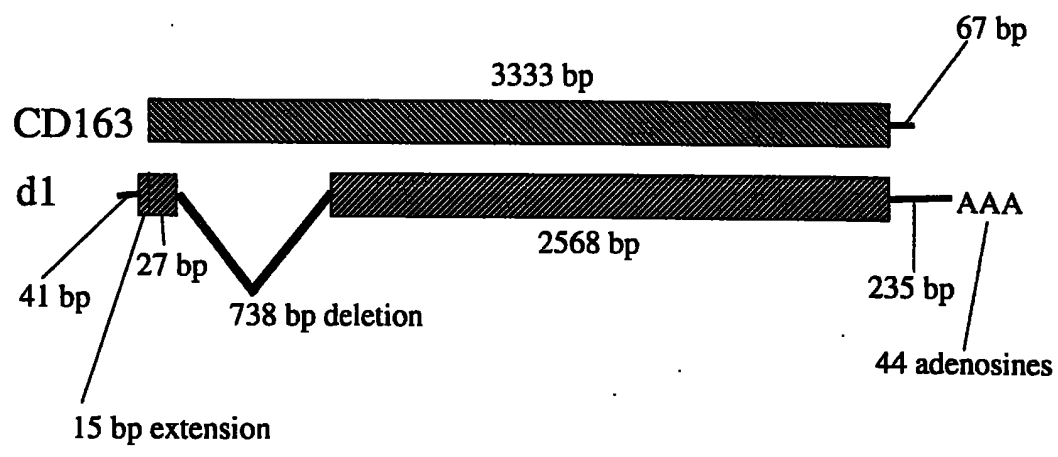
15. Un método que mide la predisposición de una línea celular de prueba para permitir la infección mediante PRRSV, el cual comprende:

(a) proporcionar una muestra que contiene polipéptidos a partir de la línea celular de prueba;

(b) determinar la cantidad de polipéptido CD163 en dicha muestra;

en donde la cantidad aumentada de un polipéptido CD163 relativa a una muestra de control derivada a partir de una línea celular de control conocida por no soportar el crecimiento de dicho PRRSV, indica una predisposición de la línea celular de prueba para soportar la replicación de dicho PRRSV.

Figure 1



Handwritten signature or mark.

Figure 2A

	1	60
AJ311716 (porcine)	MVLLEDGGADFERCSAHLSSFTFAVVAVLSACLVTSSLOGNDKELRLTGGEKNC	
Pfizer_susCD163v1	NDKLENVLEHESGSAD.....	
	61	120
AJ311716 (porcine)	SGRVEVIVQKEKGTVCNKGNDNDVVSVVCRQLGCPALIAATWANFSAQSGRIWMDVSC	
Pfizer_susCD163v1		
	121	180
AJ311716 (porcine)	RGHESALNDCKHDGNGKNCSTHQDAGVTCSDGSDLEHRLVNGGHRCLGRLEVKPQKENG	
Pfizer_susCD163v1		
	181	240
AJ311716 (porcine)	TVCDNFTNIEASVVCQLECGSAVSPSGSANTPGSGGPIWFDLVCNHEGALNHCHE	
Pfizer_susCD163v1		
	241	300
AJ311716 (porcine)	GWGKHNCDAEDAGVICLNGADLKLKVVDGLTECSGRLEVKPQKENGTCIDGWDSDAA	
Pfizer_susCD163v1	LKLKVVDGVTCSGRLEVKPQKENGTCIDGWDSDAA	
	301	360
AJ311716 (porcine)	VACEQLGCPAVTAIGRVMASEGTHIWLDSVSCHEGHSALNQCRHEWNGKRYCHNEDA	
Pfizer_susCD163v1	VACEQLGCPAVTAIGRVMASEGTHIWLDSVSCHEGHSALNQCRHEWNGKRYCHNEDA	
	361	420
AJ311716 (porcine)	GVTCSGSDLEKLRLKGGGSHCAGTVEVEIQKLVGKVCDSWGLKEADVVCRLGCGSALK	
Pfizer_susCD163v1	GVTCSGSDLEKLRLKGGGSHCAGTVEVEIQKLVGKVCDSWGLKEADVVCRLGCGSALK	
	421	480
AJ311716 (porcine)	TSYQVYSKTKATFTWLFVSSCNGNETSLNDCKNQNGGLSCDHYDEAKITCSAHRKPLV	
Pfizer_susCD163v1	TSYQVYSKTKATFTWLFVSSCNGNETSLNDCKNQNGGLSCDHYDEAKITCSAHRKPLV	
	481	540
AJ311716 (porcine)	GGDIPCSGRVEVQHGDWTGTVCDSDFSLEAASVLCRELQCGTVVSLGGAHFPGSGGQIW	
Pfizer_susCD163v1	GGDIPCSGRVEVQHGDWTGTVCDSDFSLEAASVLCRELQCGTVVSLGGAHFPGSGGQIW	

Handwritten signature or initials.

Figure 2B

	541	600
AJ311716 (porcine)	AEKFQCEGHSEHLSLCFVAFRFDGTCSEHSDVGVVCSRYTQIRLVHGCTPCBGRVKLNTL	
Pfizer_susCD163v1	AEKFQCEGHSEHLSLCFVAFRFDGTCSEHSDVGVVCSRYTQIRLVHGCTPCBGRVKLNTL	
	601	660
AJ311716 (porcine)	GSWGSLCHSHMDMDARVLCQQQLKCGVALSIPGGAPFGKGSBQVVRHDPFCTGTETKEMGD	
Pfizer_susCD163v1	GSWGSLCHSHMDMDARVLCQQQLKCGVALSIPGGAPFGKGSBQVVRHDPFCTGTETKEMGD	
	661	720
AJ311716 (porcine)	CSVTALGASLCSSQQVASVICSGNQSQTLSPCNSSSDPSSSIISKESGVACIGSQQLRL	
Pfizer_susCD163v1	CSVTALGASLCSSQQVASVICSGNQSQTLSPCNSSSDPSSSIISKESGVACIGSQQLRL	
	721	780
AJ311716 (porcine)	VDGGRCAGRVVYPQASWGTICDDSWDLMDARVVCQQLSCGWAINDATGSAHFQSGTGP	
Pfizer_susCD163v1	VDGGRCAGRVVYPQASWGTICDDSWDLMDARVVCQQLSCGWAINDATGSAHFQSGTGP	
	781	840
AJ311716 (porcine)	WLDEINCHGKESHIWQCHSBGWGRHNCREKRDAGVICSEFMSLRLISENSRFTCAGRLFV	
Pfizer_susCD163v1	WLDEINCHGKESHIWQCHSBGWGRHNCREKRDAGVICSEFMSLRLISENSRFTCAGRLFV	
	841	900
AJ311716 (porcine)	FYNGANGSVGRHNSPATVGVVCRQLGCADRGDISPASSDKTVERHNVDRVQCPRGPD	
Pfizer_susCD163v1	FYNGANGSVGRHNSPATVGVVCRQLGCADRGDISPASSDKTVERHNVDRVQCPRGPD	
	901	960
AJ311716 (porcine)	LNQCPSSPWKKRLASPSKWTWITCANKIELQSGTWCGRVRIWYGGSGTVCDDSWDLE	
Pfizer_susCD163v1	LNQCPSSPWKKRLASPSKWTWITCANKIELQSGTWCGRVRIWYGGSGTVCDDSWDLE	
	961	1020
AJ311716 (porcine)	DAQVVCRLGCGSBALEAGKEPAFQQTGPINLNEVKCKGNEPSLNDPCPARSWGSDCGEK	
Pfizer_susCD163v1	DAQVVCRLGCGSBALEAGKEPAFQQTGPINLNEVKCKGNEPSLNDPCPARSWGSDCGEK	
	1021	1080
AJ311716 (porcine)	EDAAVTCSEIAKSRBSLHATGRSSFVALAIFGVILLACLIAPLIWTQKRQRQLSVFSG	
Pfizer_susCD163v1	EDAAVTCSEIAKSRBSLHATGRSSFVALAIFGVILLACLIAPLIWTQKRQRQLSVFSG	
	1081	1116
AJ311716 (porcine)	GENSVHQIQYREHNSCLKADFTDMLNPSGDHSEVQ.	
Pfizer_susCD163v1	GENSVHQIQYREHNSCLKADFTDMLNPSGDHSEVQ.	

QPR

Figure 3A

Martinez/Needleman-Wunsch DNA Alignment
Minimum Match: 9; Gap Penalty: 1.10; Gap Length Penalty: 0.33

[illegible]

202

416

Figure 4

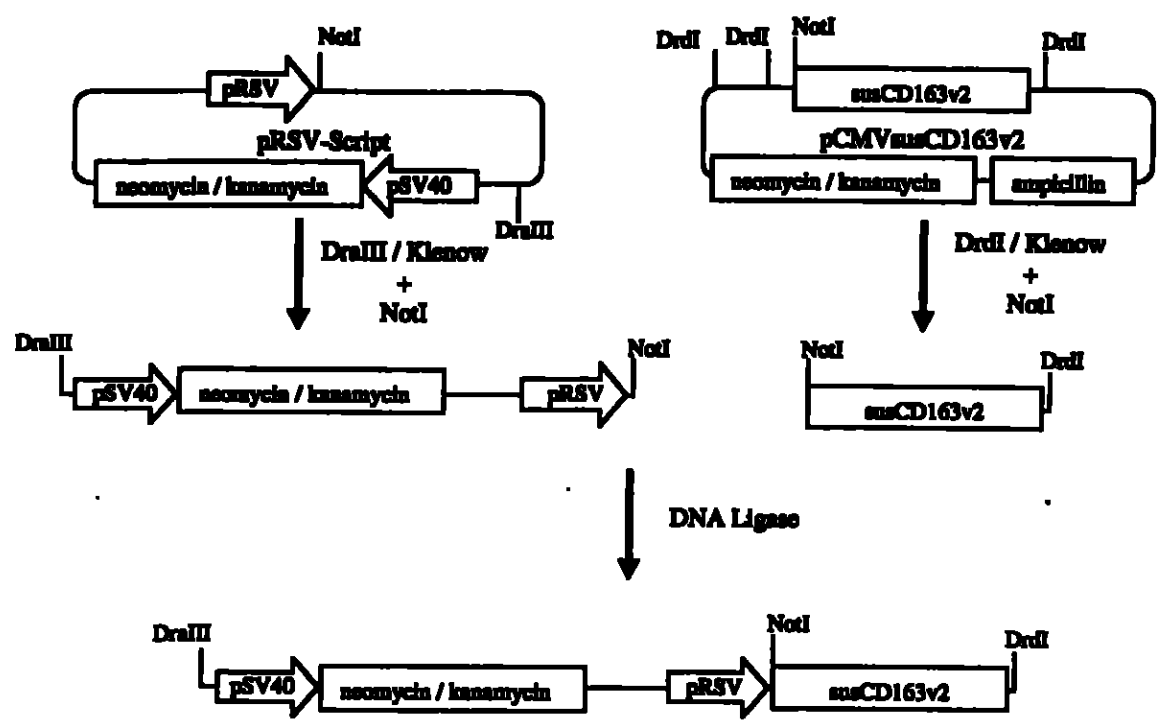
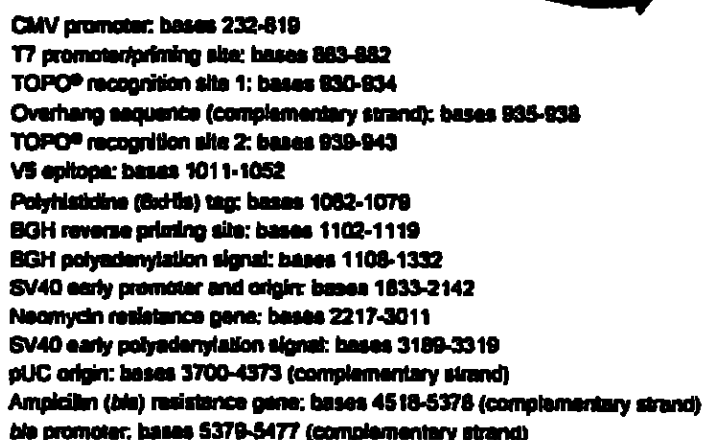


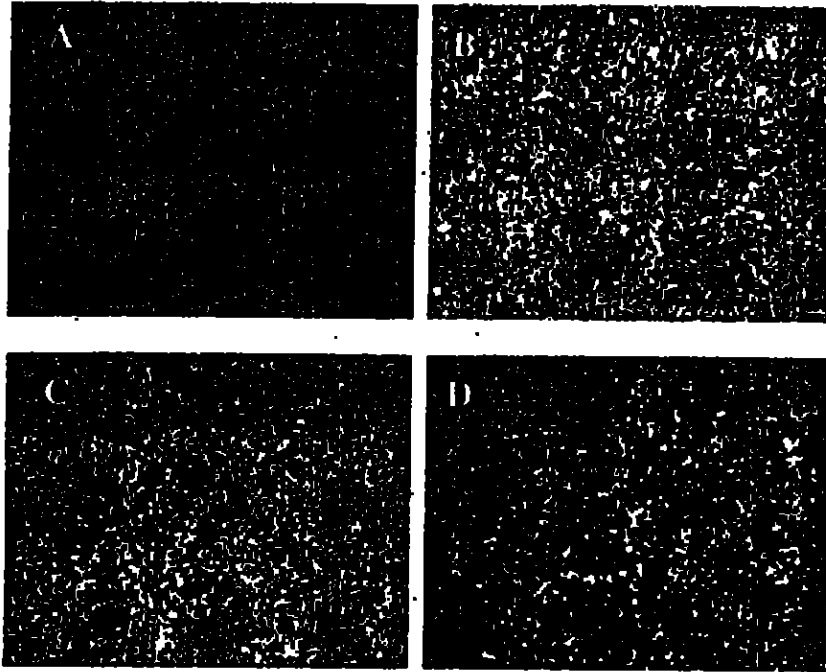
Figure 5



412

418

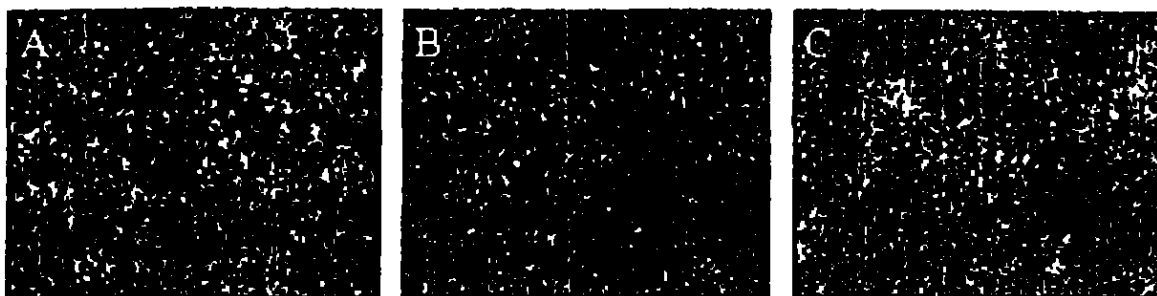
Figure 6



2/25

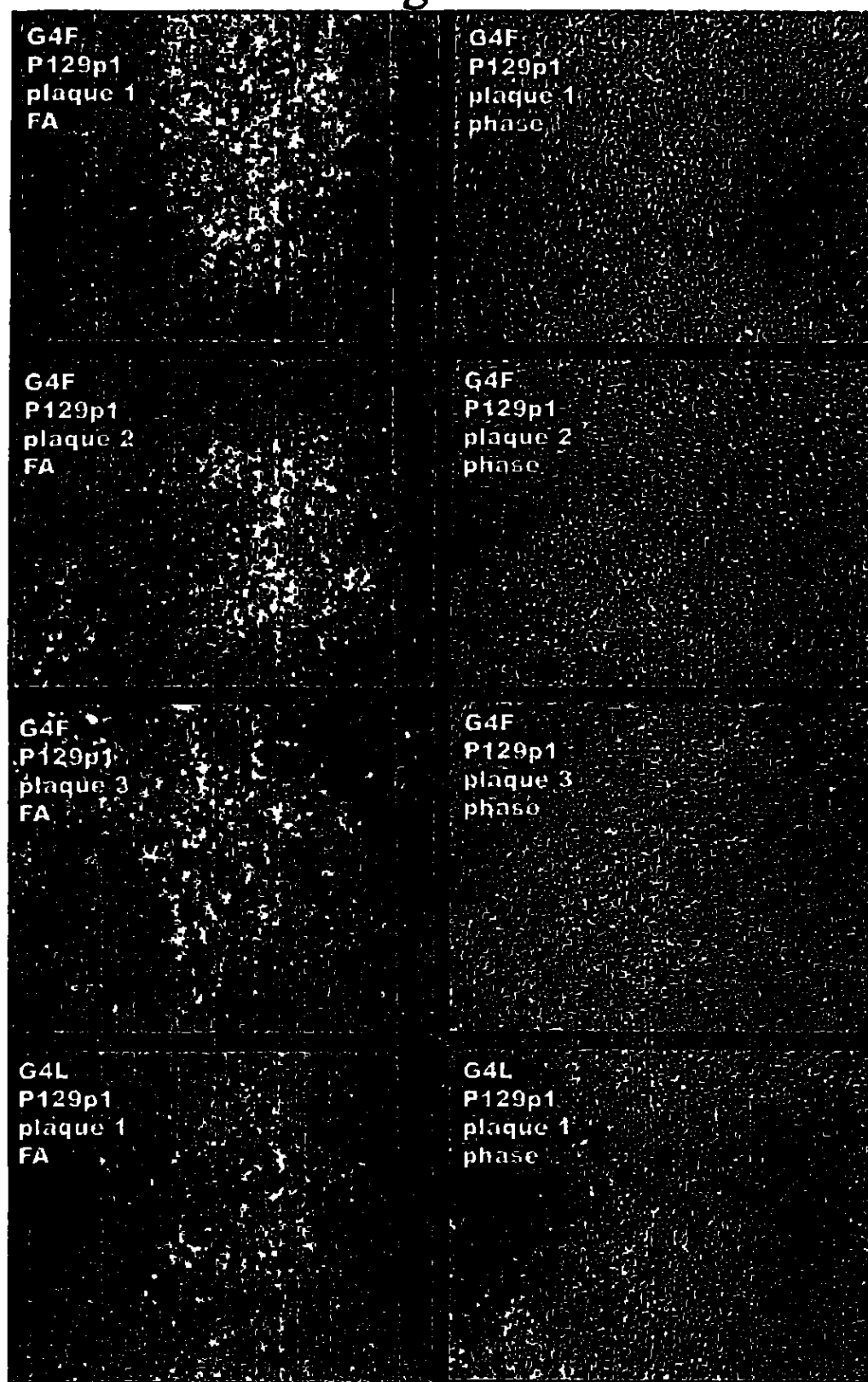
419

Figure 7



~~418~~
420

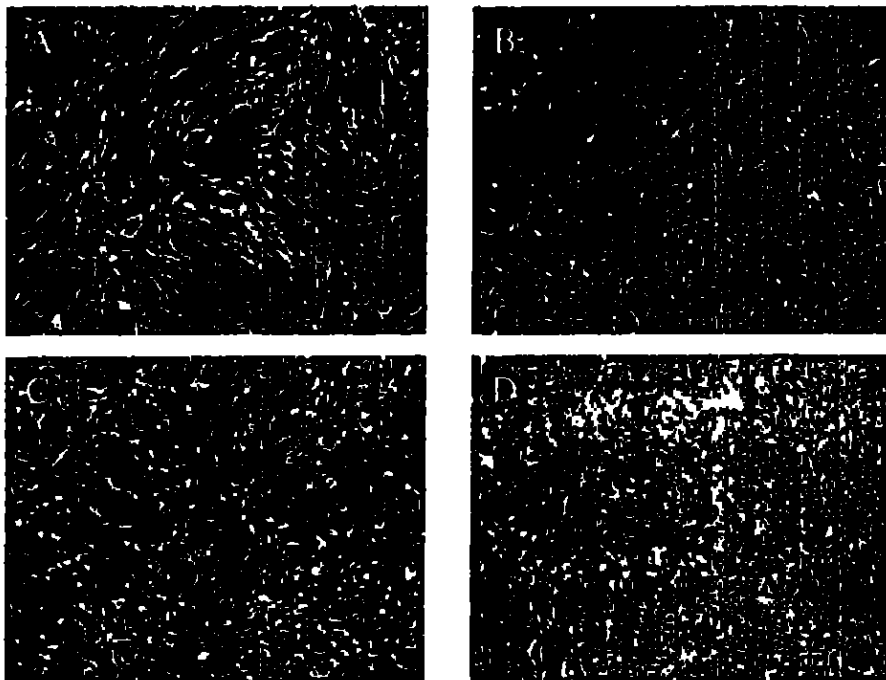
Figure 8



215

421

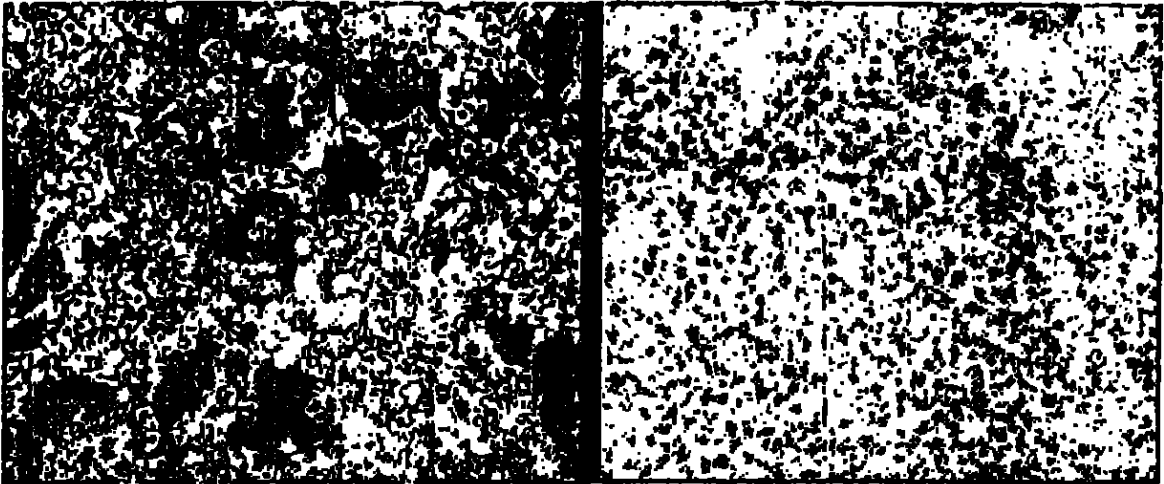
Figure 9



776

422

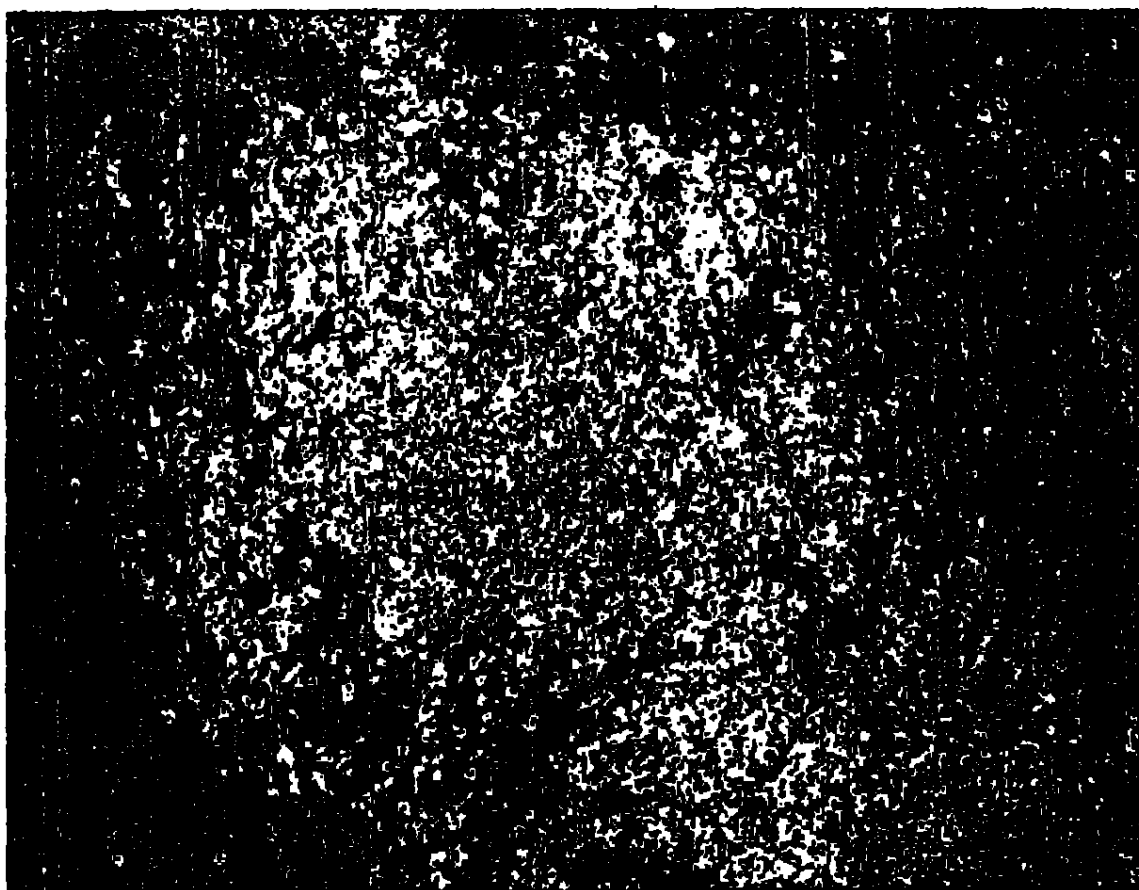
Figure 10



277

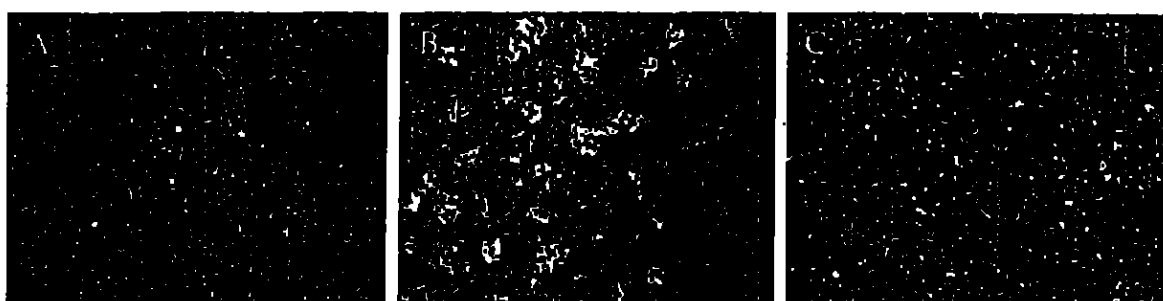
423

Figure 11



7/18
424

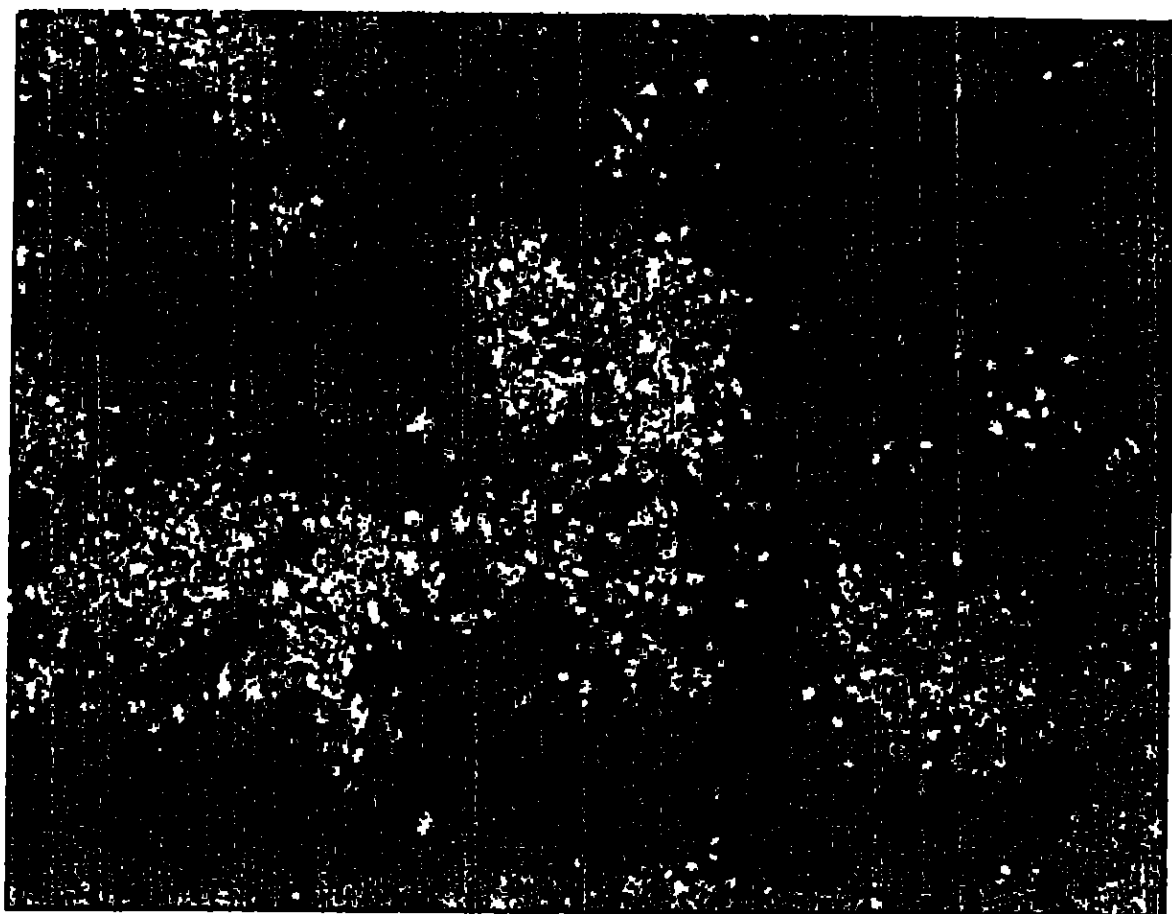
Figure 12



~~A 5~~

425

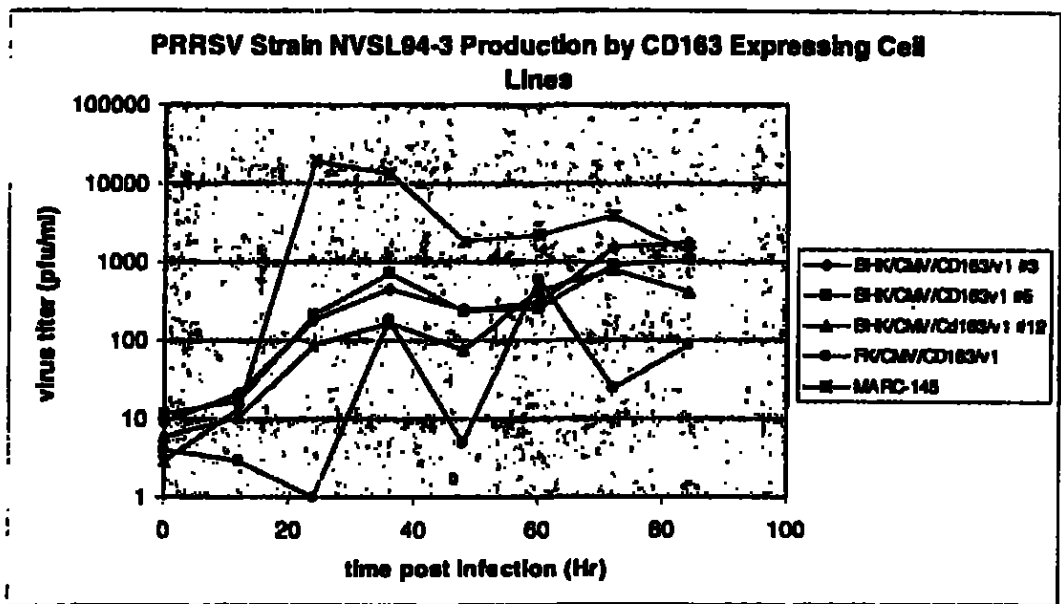
Figure 13



420

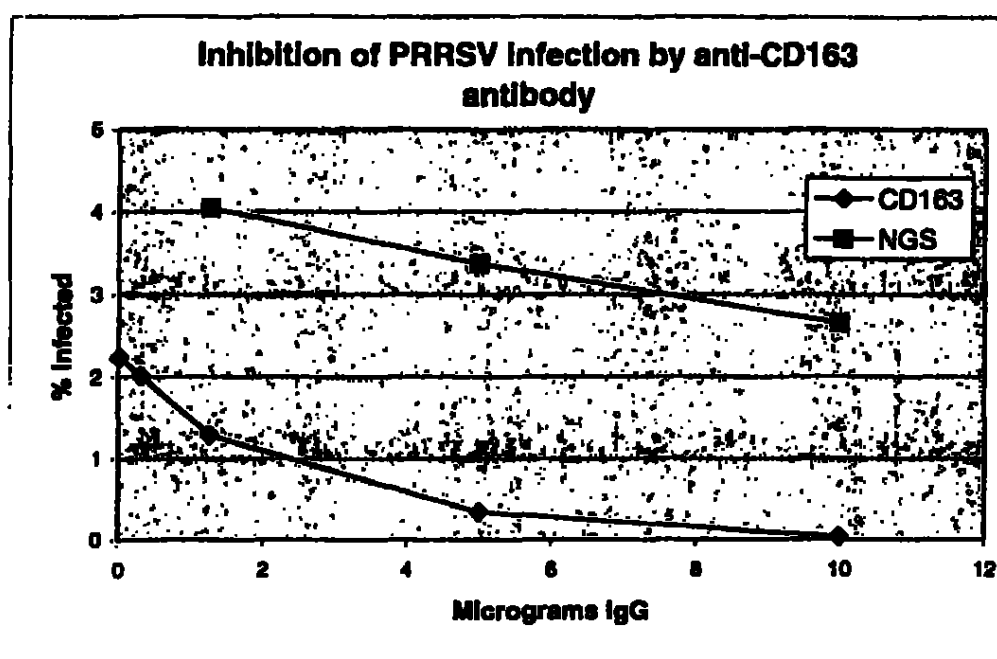
426

Figure 14



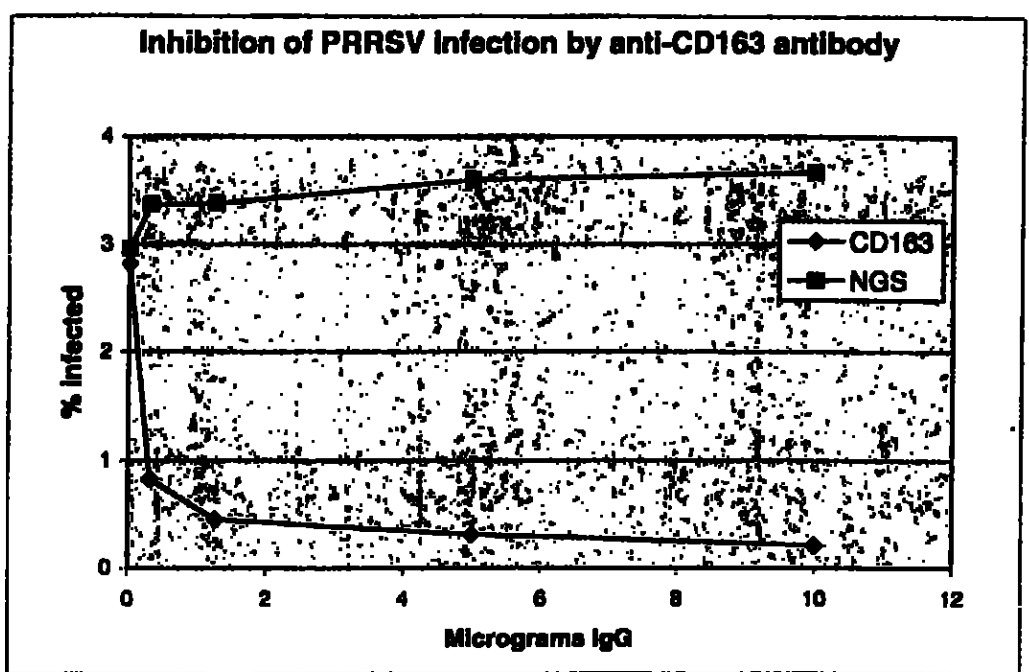
421
427

Figure 15



722
428

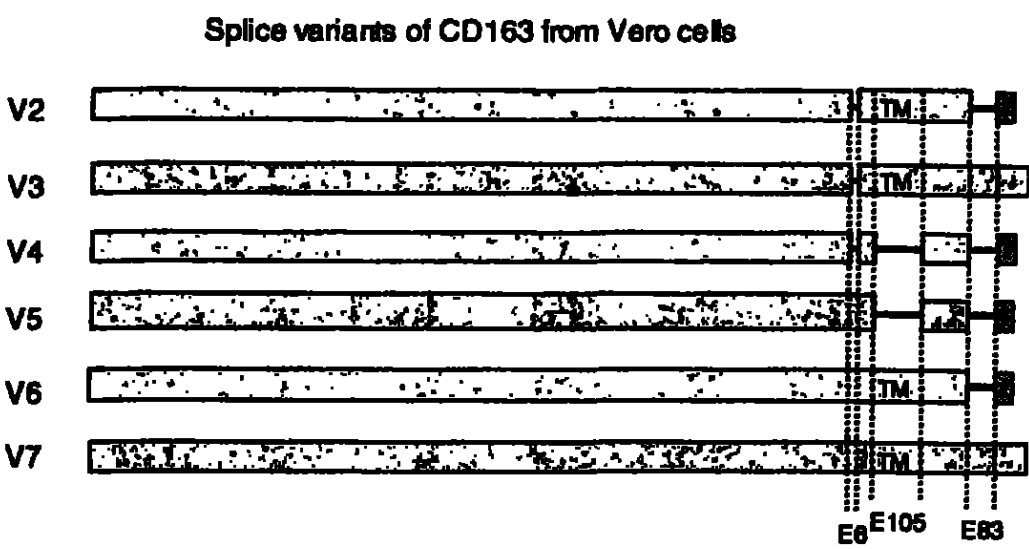
Figure 16



423

429

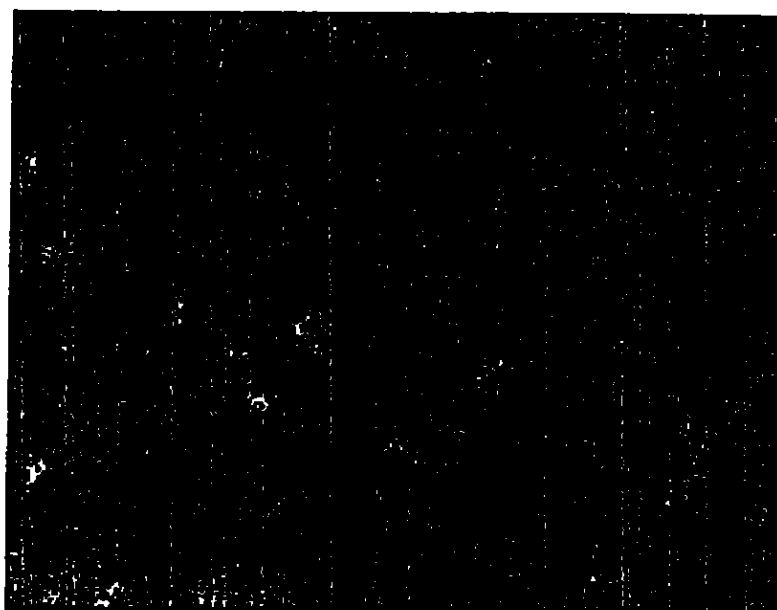
Figure 17



~~172~~

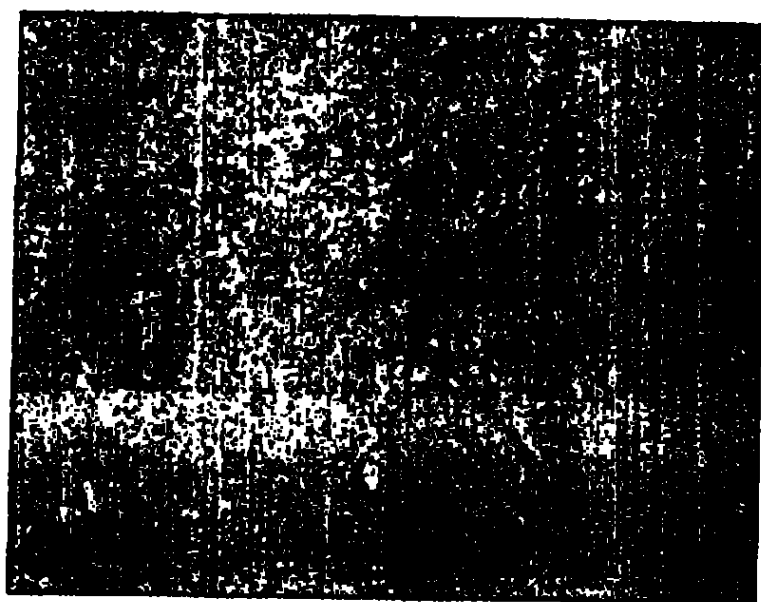
430

Figure 18



ACE
431

Figure 19



426

432

Figure 20A

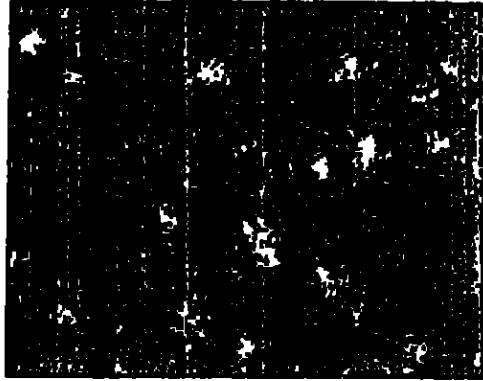
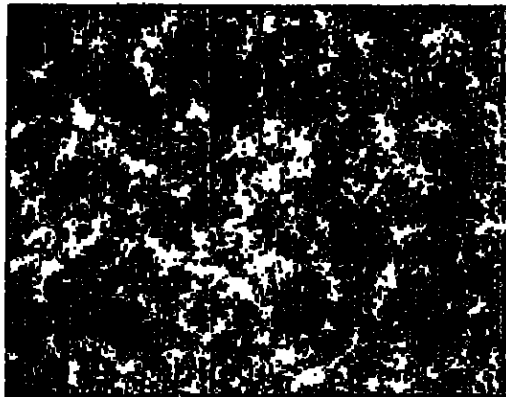


Figure 20B



~~427~~

433

Figure 21A

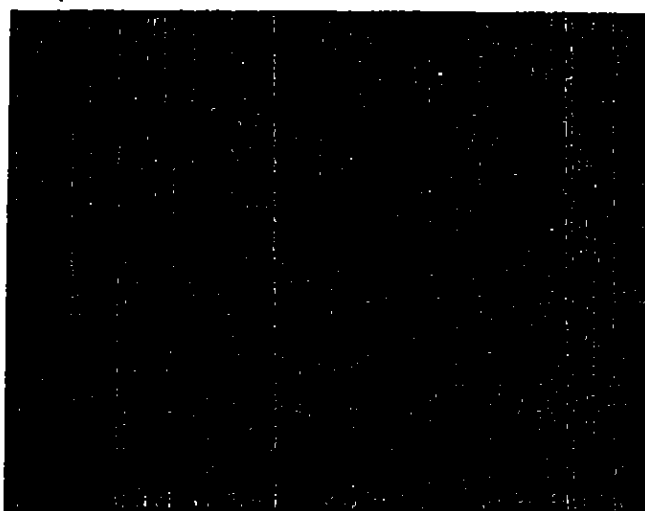
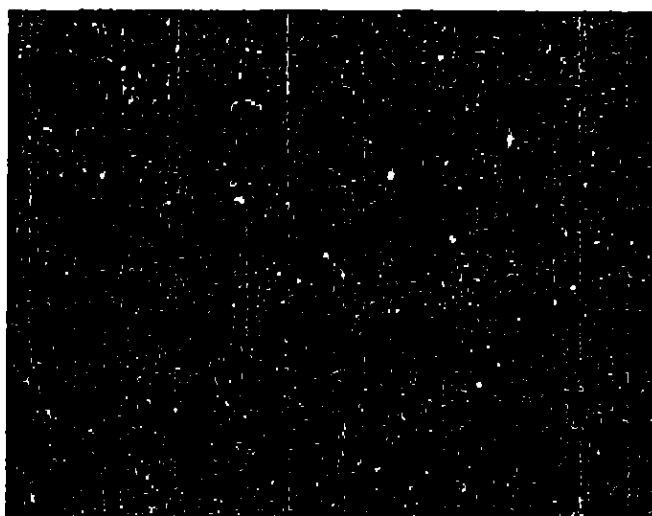


Figure 21B



SEQUENCE LISTING

628

434

<110> Calvert, Jay
Slade, David
Shields, Shelly
Welch, Jenny

<120> Cellular Permissivity Factor for Viruses, and Uses Thereof

<130> PC32282

<160> 48

<170> PatentIn version 3.2

<210> 1
<211> 2607
<212> DNA
<213> Sus scrofa

<400> 1
atggacaaac tcagaatggt gctacatgaa aactctggat ctgcagacct gaaactgaga 60
gtggtagatg gagtcactga atgttcagga agattggaag tgaaattcca aggagaatgg 120
ggaacaatct gtgatgatgg ctgggatagt gatgatgccg ctgtggcatg taagcaactg 180
ggatgtccaa ctgctgtcac tgccattggt cgagttaacg ccagtgaggg aactggacac 240
atttggcttg acagtgtttc ttgccatgga cagcagctctg ctctctggca gtgtagacac 300
catgaatggg gaaagcatta ttgcaatcat aatgaagatg ctgggtgtgac atgttctgat 360
ggatcagatc tggaactgag acttaaagggt ggaggcagcc actgtgctgg gacagtggag 420
gtggaaattc agaaactggt aggaaaagtg tgtgatagaa gctggggact gaaagaagct 480
gatgtggttt gcaggcagct gggatgtgga tctgcaactca aaacatcata tcaagtttat 540
tccaaaacca aggcaacaaa cacatggctg tttgtaagca gctgtaatgg aaatgaaact 600
tctctttggg actgcaagaa ttggcagtggt ggtggactta gttgtgatca ctatgacgaa 660
gccaaaatta cctgctcagc ccacaggaaa cccaggctgg ttggagggga cattccctgc 720
tctggtcgtg ttgaagtaca acatggagac acgtggggca ccgtctgtga ttctgacttc 780
tctctggagg cggccagcgt gctgtgcagg gaactacagt gcggcactgt ggtttccctc 840
ctggggggag ctcaactttg agaaggaagt ggacagatct gggctgaaga attccagtgt 900
gaggggcacg agtcccacct ttcaactctgc ccagtagcac cccgccctga cgggacatgt 960
agccacagca gggacgtcgg cgtagtctgc tcaagataca cacaaatccg cttggtgaat 1020
ggcaagaccc catgtgaagg aagagtggag ctcaacattc ttgggtcctg ggggtccctc 1080
tgcaactctc actgggacat ggaagatgcc catgttttat gccagcagct taaatgtgga 1140
gttgcctttt ctatcccggt aggagcacct tttgggaaag gaagtgagca ggtctggagg 1200

428
435

cacatgtttc actgcactgg gactgagaag cacatgggag attgttccgt cactgctctg 1260
ggcgcatcac totgtttcttc agggcaagtg gcctctgtaa tctgctcagg gaaccagagt 1320
cagacactat ccccggtgcaa ttcacatccc tcggacccat caagctctat tatttcagaa 1380
gaaaatggtg ttgcctgcat agggagtggg caacttcgcc tggtcgatgg aggtgggtcgt 1440
tgtgctggga gagtagaggt ctatcatgag ggctcctggg gcaccatctg tgatgacagc 1500
tgggacctga atgatgccca tgtggtgtgc aaacagctga gctgtggatg ggccattaat 1560
gccactggtt ctgctcattt tggggaagga acagggccca tttggctgga tgagataaac 1620
tgtaatggaa aagaatctca tttttggcaa tgccactcac atgggtgggg gcggcacaat 1680
tgcaggcata aggaggatgc aggagtcac tcgctcggagt tcatgtctct cagactgac 1740
agtgaaaaca gcagagagac ctgtgcaggg cgcctggaag ttttttaca cggagcttgg 1800
ggcagcgttg gcaagaatag catgtctcca gccacagtgg ggggtggatg caggcagctg 1860
ggctgtgcag acagagggga catcagccct gcactcttcag acaagacagt gtccaggcac 1920
atgtgggtgg acaatgttca gtgtcctaaa ggacctgaca ccctatggca gtgcccatca 1980
tctccatgga agaagagact ggccagcccc tcagaggaga catggatcac atgtgccaac 2040
aaaataagac ttcaagaagg aaacactaat tgttctggac gtgtggagat ctggtacgga 2100
ggttcctggg gcactgtgtg tgacgactcc tgggaccttg aagatgctca ggtggtgtgc 2160
cgacagctgg gctgtggctc agctttggag gcaggaaaag aggccgcatt tggccagggg 2220
actgggcca tatggctcaa tgaagtgaag tgcaagggga atgaaacctc cttgtgggat 2280
tgtcctgcca gatcctgggg ccacagtgc tgtggacaca aggaggatgc tgctgtgacg 2340
tgttcagaaa ttgcaaagag ccgagaatcc ctacatgcca caggctcgtc atcttttgtt 2400
gcacttgcaa tctttggggg cattctgttg gcctgtctca tcgcattcct catttggact 2460
cagaagcgaa gacagaggca gcggctctca gttttctcag gaggagagaa ttctgtccat 2520
caaattcaat accgggagat gaattcttgc ctgaaagcag atgaaacgga tatgctaaat 2580
ccctcaggag accactctga agtacaa 2607

<210> 2
<211> 869
<212> PRT
<213> Sus scrofa

<400> 2

Met Asp Lys Leu Arg Met Val Leu His Glu Asn Ser Gly Ser Ala Asp
1 5 10 15

Leu Lys Leu Arg Val Val Asp Gly Val Thr Glu Cys Ser Gly Arg Leu

430
436

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

437

437

Gln Cys Gly Thr Val Val Ser Leu Leu Gly Gly Ala His Phe Gly Glu
275 280 285

Gly Ser Gly Gln Ile Trp Ala Glu Glu Phe Gln Cys Glu Gly His Glu
290 295 300

Ser His Leu Ser Leu Cys Pro Val Ala Pro Arg Pro Asp Gly Thr Cys
305 310 315 320

Ser His Ser Arg Asp Val Gly Val Val Cys Ser Arg Tyr Thr Gln Ile
325 330 335

Arg Leu Val Asn Gly Lys Thr Pro Cys Glu Gly Arg Val Glu Leu Asn
340 345 350

Ile Leu Gly Ser Trp Gly Ser Leu Cys Asn Ser His Trp Asp Met Glu
355 360 365

Asp Ala His Val Leu Cys Gln Gln Leu Lys Cys Gly Val Ala Leu Ser
370 375 380

Ile Pro Gly Gly Ala Pro Phe Gly Lys Gly Ser Glu Gln Val Trp Arg
385 390 395 400

His Met Phe His Cys Thr Gly Thr Glu Lys His Met Gly Asp Cys Ser
405 410 415

Val Thr Ala Leu Gly Ala Ser Leu Cys Ser Ser Gly Gln Val Ala Ser
420 425 430

Val Ile Cys Ser Gly Asn Gln Ser Gln Thr Leu Ser Pro Cys Asn Ser
435 440 445

Ser Ser Ser Asp Pro Ser Ser Ser Ile Ile Ser Glu Glu Asn Gly Val
450 455 460

Ala Cys Ile Gly Ser Gly Gln Leu Arg Leu Val Asp Gly Gly Gly Arg
465 470 475 480

Cys Ala Gly Arg Val Glu Val Tyr His Glu Gly Ser Trp Gly Thr Ile
485 490 495

Cys Asp Asp Ser Trp Asp Leu Asn Asp Ala His Val Val Cys Lys Gln
500 505 510

438

438

Leu Ser Cys Gly Trp Ala Ile Asn Ala Thr Gly Ser Ala His Phe Gly
515 520 525

Glu Gly Thr Gly Pro Ile Trp Leu Asp Glu Ile Asn Cys Asn Gly Lys
530 535 540

Glu Ser His Ile Trp Gln Cys His Ser His Gly Trp Gly Arg His Asn
545 550 555 560

Cys Arg His Lys Glu Asp Ala Gly Val Ile Cys Ser Glu Phe Met Ser
565 570 575

Leu Arg Leu Ile Ser Glu Asn Ser Arg Glu Thr Cys Ala Gly Arg Leu
580 585 590

Glu Val Phe Tyr Asn Gly Ala Trp Gly Ser Val Gly Lys Asn Ser Met
595 600 605

Ser Pro Ala Thr Val Gly Val Val Cys Arg Gln Leu Gly Cys Ala Asp
610 615 620

Arg Gly Asp Ile Ser Pro Ala Ser Ser Asp Lys Thr Val Ser Arg His
625 630 635 640

Met Trp Val Asp Asn Val Gln Cys Pro Lys Gly Pro Asp Thr Leu Trp
645 650 655

Gln Cys Pro Ser Ser Pro Trp Lys Lys Arg Leu Ala Ser Pro Ser Glu
660 665 670

Glu Thr Trp Ile Thr Cys Ala Asn Lys Ile Arg Leu Gln Glu Gly Asn
675 680 685

Thr Asn Cys Ser Gly Arg Val Glu Ile Trp Tyr Gly Gly Ser Trp Gly
690 695 700

Thr Val Cys Asp Asp Ser Trp Asp Leu Glu Asp Ala Gln Val Val Cys
705 710 715 720

Arg Gln Leu Gly Cys Gly Ser Ala Leu Glu Ala Gly Lys Glu Ala Ala
725 730 735

Phe Gly Gln Gly Thr Gly Pro Ile Trp Leu Asn Glu Val Lys Cys Lys
740 745 750

433
439

Gly Asn Glu Thr Ser Leu Trp Asp Cys Pro Ala Arg Ser Trp Gly His
755 760 765

Ser Asp Cys Gly His Lys Glu Asp Ala Ala Val Thr Cys Ser Glu Ile
770 775 780

Ala Lys Ser Arg Glu Ser Leu His Ala Thr Gly Arg Ser Ser Phe Val
785 790 795 800

Ala Leu Ala Ile Phe Gly Val Ile Leu Leu Ala Cys Leu Ile Ala Phe
805 810 815

Leu Ile Trp Thr Gln Lys Arg Arg Gln Arg Gln Arg Leu Ser Val Phe
820 825 830

Ser Gly Gly Glu Asn Ser Val His Gln Ile Gln Tyr Arg Glu Met Asn
835 840 845

Ser Cys Leu Lys Ala Asp Glu Thr Asp Met Leu Asn Pro Ser Gly Asp
850 855 860

His Ser Glu Val Gln
865

<210> 3
<211> 3400
<212> DNA
<213> Sus scrofa

<400> 3
atggtgctac ttgaagactc tggatctgca gactttagaa gatgttctgc ccattttaagt 60
tccttcactt ttgctgtagt cgctgttctc agtgcctgct tggtcactag ttctcttgga 120
ggaaaagaca aggagctgag gctaacgggt ggtgaaaaca agtgctctgg aagagtggag 180
gtgaaagtgc aggaggagtg gggaactgtg tgtaataatg gctgggacat ggatgtggtc 240
tctgttgttt gtaggcagct gggatgtcca actgctatca aagccactgg atgggctaata 300
tttagtgcag gttctggacg catttgatg gatcatgttt cttgtcgagg gaatgagtca 360
gctctctggg actgcaaaca tgatggatgg ggaaagcata actgtactca ccaacaggat 420
gctggagtaa cctgctcaga tggatctgat ttagagatga ggctggtgaa tggaggaaac 480
cgggtgcttag gaagaataga agtcaaattt caagagcggg ggggaacagt gtgtgatgat 540
aacttcaaca taaatcatgc ttctgtggtt tgtaacaac ttgaatgtgg aagtgtgtgc 600
agtttctctg gttcagctaa ttttgagaa ggttctggac caatctggtt tgatgatctt 660
gtatgcaatg gaaatgagtc agctctctgg aactgcaaac atgaaggatg gggaaagcac 720

938

440

aattgcgatac atgctgagga tgctggagtg atttgcttaa atggagcaga cctgaaactg 780
agagtggtag atggactcac tgaatgttca ggaagattgg aagtgaaatt ccaaggagaa 840
tggggaacaa tctgtgatga tggctgggat agtgatgatg ccgctgtggc atgtaagcaa 900
ctgggatgtc caactgctgt cactgccatt ggtcgagtta acgccagtga gggaaactgga 960
cacatttggc ttgacagtgt ttcttgccat ggacacgagt ctgctctctg gcagtgtaga 1020
caccatgaat ggggaaagca ttattgcaat cataatgaag atgctgggtg gacatgttct 1080
gatggatcag atctggaact gagacttaaa ggtggaggca gccactgtgc tgggacagtg 1140
gaggtggaaa ttcagaaact ggtaggaaaa gtgtgtgata gaagctgggg actgaaagaa 1200
gctgatgtgg tttgcaggca gctgggatgt ggatctgcac tcaaaacatc atatcaagtt 1260
tattccaaaa ccaaggcaac aaacacatgg ctgtttgtaa gcagctgtaa tggaaatgaa 1320
acttctcttt gggactgcaa gaattggcag tggggtggac ttagttgtga tcaactatgac 1380
gaagccaaaa ttacctgtc agccacaggg aaaccaggc tggttggagg ggacattccc 1440
tgctctggtc gtgttgaagt acaacatgga gacacgtggg gcaccgtctg tgattctgac 1500
ttctctctgg aggcggccag cgtgctgtgc agggaaactac agtgcggcac tgtggtttcc 1560
ctcctggggg gagctcactt tggagaagga agtgagacaga tctgggctga agaattccag 1620
tgtgaggggc acgagtccca cctttcactc tgcccagtag cccccgccc tgacgggaca 1680
tgtagccaca gcaggacgt cggcgtagtc tgctcaagat acacacaaat ccgcttggtg 1740
aatggcaaga ccccatgtga aggaagagtg gagctcaaca ttcttggtc ctgggggtcc 1800
ctctgcaact ctcaactgga catggaagat gcccatgttt tatgccagca gcttaaatgt 1860
ggagttgcc tttctatccc gggaggagca cttttggga aaggaaagtga gcaggctctg 1920
aggcacatgt ttcaactgcac tgggactgag aagcacatgg gagattgttc cgtcaactgt 1980
ctgggcgcac cactctgttc ttcagggcaa gtggcctctg taatctgtc aggggaaccag 2040
agtcagacac tatccccgtg caattcatca tcctcgacc catcaagctc tattatttca 2100
gaagaaagtg gtgttgccct catagggagt ggtcaacttc gcctggtcga tggaggtggt 2160
cgttggtctg ggagagtaga ggtctatcct ggggcatcct ggggcacacat ctgtgatgac 2220
agctgggacc tgaatgatgc ccatgtggtg tgcaaacagc tgagctgtgg atgggccatt 2280
aatgccactg gttctgtcct ttttggggaa ggaacagggc ccatttggtt ggatgagata 2340
aactgtaatg gaaaagaatc tcatatttgg caatgccact cacatggtt ggggcggcac 2400
aattgcaggc ataaggagga tgcaggagtc atctgctcag agttcatgtc tctgagactg 2460
atcagtgaac acagcagaga gacctgtgca gggcgcttg aagtttttta caacggagct 2520

25

441

tggggcagcg ttggcaggaa tagcatgtct ccagccacag tgggggtggt atgcaggcag 2580
ctgggctgtg cagacagagg ggacatcagc cctgcatctt cagacaagac agtgtccagg 2640
cacatgtggg tggacaatgt tcagtgtcct aaaggacctg acacactatg gcagtgtccc 2700
tcatctccat ggaagaagag actggccagc ccctcagagg agacatggat cacatgtgcc 2760
aacaaaataa gacttcaaga aggaaacact aattgttctg gacgtgtgga gatctggtac 2820
ggaggttcct ggggcactgt gtgtgacgac tcctgggacc ttgaagatgc tcagggtggtg 2880
tgccgacagc tgggctgtgg ctgagctttg gaggcaggaa aagagcccgc atttggccag 2940
gggactgggc ccatatggct caatgaagtg aagtgcaggg ggaatgaacc ctcttctgtg 3000
gattgtcctg ccagatcctg gggccacagt gactgtggac acaaggagga tgctgctgtg 3060
acgtgtctcag aaattgcaaa gagccgagaa tccctacatg ccacaggtcg ctcatctttt 3120
gttgcaactg caatcttttg ggtcattctg ttggcctgtc tcatcgcatt cctcatttgg 3180
actcagaagc gaagacagag gcagcggctc tcagttttct caggaggaga gaattctgtc 3240
catcaaattc aataccggga gatgaattct tgcctgaaag cagatgaaac ggatatgcta 3300
aatccctcag gagaccactc tgaagtacaa tgaaaaggaa aatgggaatt ataacctgtt 3360
gagttcagcc ttttaagatac cttgatgaag acctggacta 3400

<210> 4
<211> 1110
<212> PRT
<213> Sus scrofa

<400> 4

Met Val Leu Leu Glu Asp Ser Gly Ser Ala Asp Phe Arg Arg Cys Ser
1 5 10 15

Ala His Leu Ser Ser Phe Thr Phe Ala Val Val Ala Val Leu Ser Ala
20 25 30

Cys Leu Val Thr Ser Ser Leu Gly Gly Lys Asp Lys Glu Leu Arg Leu
35 40 45

Thr Gly Gly Glu Asn Lys Cys Ser Gly Arg Val Glu Val Lys Val Gln
50 55 60

Glu Glu Trp Gly Thr Val Cys Asn Asn Gly Trp Asp Met Asp Val Val
65 70 75 80

Ser Val Val Cys Arg Gln Leu Gly Cys Pro Thr Ala Ile Lys Ala Thr
85 90 95

437

442

Gly Trp Ala Asn Phe Ser Ala Gly Ser Gly Arg Ile Trp Met Asp His
100 105 110

Val Ser Cys Arg Gly Asn Glu Ser Ala Leu Trp Asp Cys Lys His Asp
115 120 125

Gly Trp Gly Lys His Asn Cys Thr His Gln Gln Asp Ala Gly Val Thr
130 135 140

Cys Ser Asp Gly Ser Asp Leu Glu Met Arg Leu Val Asn Gly Gly Asn
145 150 155 160

Arg Cys Leu Gly Arg Ile Glu Val Lys Phe Gln Glu Arg Trp Gly Thr
165 170 175

Val Cys Asp Asp Asn Phe Asn Ile Asn His Ala Ser Val Val Cys Lys
180 185 190

Gln Leu Glu Cys Gly Ser Ala Val Ser Phe Ser Gly Ser Ala Asn Phe
195 200 205

Gly Glu Gly Ser Gly Pro Ile Trp Phe Asp Asp Leu Val Cys Asn Gly
210 215 220

Asn Glu Ser Ala Leu Trp Asn Cys Lys His Glu Gly Trp Gly Lys His
225 230 235 240

Asn Cys Asp His Ala Glu Asp Ala Gly Val Ile Cys Leu Asn Gly Ala
245 250 255

Asp Leu Lys Leu Arg Val Val Asp Gly Leu Thr Glu Cys Ser Gly Arg
260 265 270

Leu Glu Val Lys Phe Gln Gly Glu Trp Gly Thr Ile Cys Asp Asp Gly
275 280 285

Trp Asp Ser Asp Asp Ala Ala Val Ala Cys Lys Gln Leu Gly Cys Pro
290 295 300

Thr Ala Val Thr Ala Ile Gly Arg Val Asn Ala Ser Glu Gly Thr Gly
305 310 315 320

His Ile Trp Leu Asp Ser Val Ser Cys His Gly His Glu Ser Ala Leu
325 330 335

238

443

Trp Gln Cys Arg His His Glu Trp Gly Lys His Tyr Cys Asn His Asn
340 345 350

Glu Asp Ala Gly Val Thr Cys Ser Asp Gly Ser Asp Leu Glu Leu Arg
355 360 365

Leu Lys Gly Gly Gly Ser His Cys Ala Gly Thr Val Glu Val Glu Ile
370 375 380

Gln Lys Leu Val Gly Lys Val Cys Asp Arg Ser Trp Gly Leu Lys Glu
385 390 395 400

Ala Asp Val Val Cys Arg Gln Leu Gly Cys Gly Ser Ala Leu Lys Thr
405 410 415

Ser Tyr Gln Val Tyr Ser Lys Thr Lys Ala Thr Asn Thr Trp Leu Phe
420 425 430

Val Ser Ser Cys Asn Gly Asn Glu Thr Ser Leu Trp Asp Cys Lys Asn
435 440 445

Trp Gln Trp Gly Gly Leu Ser Cys Asp His Tyr Asp Glu Ala Lys Ile
450 455 460

Thr Cys Ser Ala His Arg Lys Pro Arg Leu Val Gly Gly Asp Ile Pro
465 470 475 480

Cys Ser Gly Arg Val Glu Val Gln His Gly Asp Thr Trp Gly Thr Val
485 490 495

Cys Asp Ser Asp Phe Ser Leu Glu Ala Ala Ser Val Leu Cys Arg Glu
500 505 510

Leu Gln Cys Gly Thr Val Val Ser Leu Leu Gly Gly Ala His Phe Gly
515 520 525

Glu Gly Ser Gly Gln Ile Trp Ala Glu Glu Phe Gln Cys Glu Gly His
530 535 540

Glu Ser His Leu Ser Leu Cys Pro Val Ala Pro Arg Pro Asp Gly Thr
545 550 555 560

Cys Ser His Ser Arg Asp Val Gly Val Val Cys Ser Arg Tyr Thr Gln
565 570 575

Ile Arg Leu Val Asn Gly Lys Thr Pro Cys Glu Gly Arg Val Glu Leu

ASR

444

580					585					590						
Asn	Ile	Leu	Gly	Ser	Trp	Gly	Ser	Leu	Cys	Asn	Ser	His	Trp	Asp	Met	
595					600					605						
Glu	Asp	Ala	His	Val	Leu	Cys	Gln	Gln	Leu	Lys	Cys	Gly	Val	Ala	Leu	
610					615					620						
Ser	Ile	Pro	Gly	Gly	Ala	Pro	Phe	Gly	Lys	Gly	Ser	Glu	Gln	Val	Trp	
625					630					635					640	
Arg	His	Met	Phe	His	Cys	Thr	Gly	Thr	Glu	Lys	His	Met	Gly	Asp	Cys	
645					650					655						
Ser	Val	Thr	Ala	Leu	Gly	Ala	Ser	Leu	Cys	Ser	Ser	Gly	Gln	Val	Ala	
660					665					670						
Ser	Val	Ile	Cys	Ser	Gly	Asn	Gln	Ser	Gln	Thr	Leu	Ser	Pro	Cys	Asn	
675					680					685						
Ser	Ser	Ser	Ser	Asp	Pro	Ser	Ser	Ser	Ile	Ile	Ser	Glu	Glu	Ser	Gly	
690					695					700						
Val	Ala	Cys	Ile	Gly	Ser	Gly	Gln	Leu	Arg	Leu	Val	Asp	Gly	Gly	Gly	
705					710					715					720	
Arg	Cys	Ala	Gly	Arg	Val	Glu	Val	Tyr	Pro	Gly	Ala	Ser	Trp	Gly	Thr	
725					730					735						
Ile	Cys	Asp	Asp	Ser	Trp	Asp	Leu	Asn	Asp	Ala	His	Val	Val	Cys	Lys	
740					745					750						
Gln	Leu	Ser	Cys	Gly	Trp	Ala	Ile	Asn	Ala	Thr	Gly	Ser	Ala	His	Phe	
755					760					765						
Gly	Glu	Gly	Thr	Gly	Pro	Ile	Trp	Leu	Asp	Glu	Ile	Asn	Cys	Asn	Gly	
770					775					780						
Lys	Glu	Ser	His	Ile	Trp	Gln	Cys	His	Ser	His	Gly	Trp	Gly	Arg	His	
785					790					795					800	
Asn	Cys	Arg	His	Lys	Glu	Asp	Ala	Gly	Val	Ile	Cys	Ser	Glu	Phe	Met	
805					810					815						
Ser	Leu	Arg	Leu	Ile	Ser	Glu	Asn	Ser	Arg	Glu	Thr	Cys	Ala	Gly	Arg	
820					825					830						

1240

445

Leu Glu Val Phe Tyr Asn Gly Ala Trp Gly Ser Val Gly Arg Asn Ser
835 840 845

Met Ser Pro Ala Thr Val Gly Val Val Cys Arg Gln Leu Gly Cys Ala
850 855 860

Asp Arg Gly Asp Ile Ser Pro Ala Ser Ser Asp Lys Thr Val Ser Arg
865 870 875 880

His Met Trp Val Asp Asn Val Gln Cys Pro Lys Gly Pro Asp Thr Leu
885 890 895

Trp Gln Cys Pro Ser Ser Pro Trp Lys Lys Arg Leu Ala Ser Pro Ser
900 905 910

Glu Glu Thr Trp Ile Thr Cys Ala Asn Lys Ile Arg Leu Gln Glu Gly
915 920 925

Asn Thr Asn Cys Ser Gly Arg Val Glu Ile Trp Tyr Gly Gly Ser Trp
930 935 940

Gly Thr Val Cys Asp Asp Ser Trp Asp Leu Glu Asp Ala Gln Val Val
945 950 955 960

Cys Arg Gln Leu Gly Cys Gly Ser Ala Leu Glu Ala Gly Lys Glu Pro
965 970 975

Ala Phe Gly Gln Gly Thr Gly Pro Ile Trp Leu Asn Glu Val Lys Cys
980 985 990

Lys Gly Asn Glu Pro Ser Leu Trp Asp Cys Pro Ala Arg Ser Trp Gly
995 1000 1005

His Ser Asp Cys Gly His Lys Glu Asp Ala Ala Val Thr Cys Ser
1010 1015 1020

Glu Ile Ala Lys Ser Arg Glu Ser Leu His Ala Thr Gly Arg Ser
1025 1030 1035

Ser Phe Val Ala Leu Ala Ile Phe Gly Val Ile Leu Leu Ala Cys
1040 1045 1050

Leu Ile Ala Phe Leu Ile Trp Thr Gln Lys Arg Arg Gln Arg Gln
1055 1060 1065

241

446

Arg Leu Ser Val Phe Ser Gly Gly Glu Asn Ser Val His Gln Ile
1070 1075 1080

Gln Tyr Arg Glu Met Asn Ser Cys Leu Lys Ala Asp Glu Thr Asp
1085 1090 1095

Met Leu Asn Pro Ser Gly Asp His Ser Glu Val Gln
1100 1105 1110

<210> 5
<211> 2930
<212> DNA
<213> Sus scrofa

<400> 5

gtaataatac aagaagattt aaatgggcat aaaaccttgg aatggacaaa ctcagaatgg	60
tgctacatga aaactctgga tctgcagacc tgaaactgag agtggtagat ggagtcactg	120
aatgttcagg aagattggaa gtgaaattcc aaggagaatg gggaacaatc tgtgatgatg	180
gctgggtag tagatgatgcc gctgtggcat gtaagcaact gggatgtcca actgctgtca	240
ctgccattgg tcgagttaac gccagtgagg gaactggaca catttggctt gacagtgttt	300
cttgccatgg acacgagtct gctctctggc agtgtagaca ccatgaatgg ggaaagcatt	360
attgcaatca taatgaagat gctggtgtga catgtttctga tggatcagat ctggaactga	420
gacttaaagg tggaggcagc cactgtgctg ggacagtga ggtggaaatt cagaaactgg	480
taggaaaagt gtgtgataga agctggggac tgaaagaagc tgatgtggtt tgcaggcagc	540
tgggatgtgg atctgcactc aaaacatcat atcaagttta ttccaaaacc aaggcaacaa	600
acacatggct gtttgtaagc agctgtaatg gaaatgaaac ttctctttgg gactgcaaga	660
attggcagtg ggggtggactt agttgtgatc actatgacga agccaaaatt acctgctcag	720
cccacaggaa acccaggctg gttggagggg acattccctg ctctggtcgt gttgaagtac	780
aacatggaga cacgtggggc accgtctgtg attctgactt ctctctggag gcggccagcg	840
tgctgtgcag ggaactacag tgcggcactg tggtttccct cctgggggga gctcactttg	900
gagaaggaag tggacagatc tgggctgaag aattccagtg tgaggggcac gagtcccacc	960
tttactctg ccagtagca ccccgccctg acgggacatg tagccacagc agggacgtcg	1020
gcgtagtctg ctcaagatac acacaaatcc gcttggtgaa tggcaagacc ccatgtgaag	1080
gaagagtga gctcaacatt cttgggtcct gggggtccct ctgcaactct cactgggaca	1140
tggaagatgc ccatgtttta tgccagcagc ttaaagtgtg agttgccctt totatcccg	1200
gaggagcacc ttttgggaaa ggaagtgagc aggtctggag gcacatgttt cactgcactg	1260

422

447

ggactgagaa gcacatggga gattgttccg tcactgctct gggcgcatca ctctgttctt 1320
cagggcaagt ggcctctgta atctgctcag ggaaccagag tcagacacta tccccgtgca 1380
attcatcatc ctcggaacca tcaagctcta ttatttcaga agaaaatggt gttgcctgca 1440
tagggagtgg tcaacttcgc ctggtcgatg gaggtggtcg ttgtgctggg agagtagagg 1500
tctatcatga gggctcctgg ggcaccatct gtgatgacag ctgggacctg aatgatgcc 1560
atgtggtgtg caaacagctg agctgtggat gggccattaa tgccactggt tctgctcatt 1620
ttggggaagg aacagggccc atttggctgg atgagataaa ctgtaatgga aaagaatctc 1680
atatattggca atgccactca catggttggg ggcggcacia ttgcaggcat aaggaggatg 1740
caggagtcat ctgctcggag ttcatgtctc tcagactgat cagtgaanaac agcagagaga 1800
cctgtgcagg ggccttgga gttttttaca acggagcttg gggcagcgtt ggcaagaata 1860
gcattgtctc agccacagtg ggggtgggat gcaggcagct gggctgtgca gacagagggg 1920
acatcagccc tgcattctca gacaagacag tgtccaggca catgtgggtg gacaatgttc 1980
agtgtcctaa aggacctgac accctatggc agtgcctatc atctccatgg aagaagagac 2040
tgccagccc ctgagaggag acatggatca catgtgcaa caaataaga cttcaagaag 2100
gaaacactaa ttgttctgga cgtgtggaga tctggtacgg aggttcctgg ggcactgtgt 2160
gtgacgactc ctgggacctt gaagatgctc aggtgtgtg ccgacagctg ggctgtggct 2220
cagctttgga ggcaggaaaa gaggccgcat ttggccaggg gactgggccc atatggctca 2280
atgaagtga gtgcaagggg aatgaaacct ccttgtggga ttgtcctgcc agatcctggg 2340
gccacagtga ctgtggacac aaggaggatg ctgctgtgac gtgttcagaa attgcaaaga 2400
gccgagaatc cctacatgcc acaggctcgt catcttttgt tgcacttgca atctttgggg 2460
tcattctgtt ggcctgtctc atcgattcc tcatttggac tcagaagcga agacagaggc 2520
agcggctctc agttttctca ggaggagaga attctgtcca tcaaattcaa taccgggaga 2580
tgaattcttg cctgaaagca gatgaaacgg atatgctaaa tccctcagga gaccactctg 2640
aagtacaatg aaaaggaaaa tgggaattat aacctgtgta gttcagcctt taagatacct 2700
tgatgaagac ctggactatt gaatgagcaa gaatctgcct cttacactga agattacaat 2760
acagtcctct gtctcctggg attccaaaga ctgctgttga atttctaaaa aatagattgg 2820
tgaatgtgac tactcaaagt tgtatgtaag actttcaagg gcattaaata aaaaagaata 2880
ttgctgaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 2930

<210> 6
<211> 32
<212> DNA
<213> Artificial

43
448

<220>
<223> PCR primer

<400> 6
cggaattccg cggatgtaat aatacaagaa ga 32

<210> 7
<211> 36
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> PCR Primer

<400> 7
ccgctcgagt agtccaggtc ttcatacaagg tatctt 36

<210> 8
<211> 38
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> PCR Primer

<400> 8
acactcgaca tgtcgatgta cgggccagat atacgcgt 38

<210> 9
<211> 38
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> PCR Primer

<400> 9
ttccttacag agctcgaggt gcacaccaat gtggtgaa 38

<210> 10
<211> 46
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> PCR Primer

<400> 10
cggtcggag cggccgcgat gtaataatac aagaagattt aaatgg 46

<210> 11
<211> 38
<212> DNA
<213> Artificial

449

<220>
<223> PCR Primer

<400> 11
cggttggtac ccagcaatat tcttttttat ttaatgcc 38

<210> 12
<211> 3623
<212> DNA
<213> Sus scrofa

<400> 12
gtaataatac aagaagattt aaatggcata aaaccttggg atggacaaac tcagaatggt 60
gctacatgaa aactctggat ctgcagactt tagaagatgt tctgcccatt taagttcctt 120
cacttttgct gtagtcgctg ttctcagtcg ctgcttggtc actagttctc ttggaggaaa 180
agacaaggag ctgaggctaa cgggtggtga aaacaagtgc tctggaagag tggagggtgaa 240
agtgcaggag gagtggggaa ctgtgtgtaa taatggctgg gacatggatg tggctctctg 300
tgttttagg cagctgggat gtccaactgc tatcaaagcc actggatggg ctaattttag 360
tgcaggttct ggacgcattt ggatggatca tgtttcttgt cgagggaatg agtcagctct 420
ctgggactgc aaacatgatg gatggggaaa gcataactgt actcaccaac aggatgctgg 480
agtaacctgc tcagatggat ctgatttaga gatggggctg gtgaatggag gaaaccggtg 540
cttaggaaga atagaagtca aatttcaagg acggtgggga acagtgtgtg atgataactt 600
caacataaat catgcttctg tggtttgtaa acaacttgaa tgtggaagtg ctgtcagttt 660
ctctggttca gctaattttg gagaagggtc tggaccaatc tggtttgatg atcttgtatg 720
caatggaaat gagtcaagtc tctggaactg caaacatgaa ggatggggaa agcacaattg 780
cgatcatgct gaggatgctg gagtgatttg cttaaattgga gcagacctga aactgagagt 840
ggtagatgga gtcactgaat gttcaggaag attggaagtg aaattccaag gagaatgggg 900
aacaatctgt gatgatggct gggatagtga tgatgccgct gtggcatgta agcaactggg 960
atgtccaact gctgtcactg ccattggtcg agttaacgcc agtgagggaa ctggacacat 1020
ttggcttgac agtgtttctt gccatggaca cgagtctgct ctctggcagt gtagacacca 1080
tgaatgggga aagcattatt gcaatcatga tgaagatgct ggtgtgacat gttctgatgg 1140
atcagatctg gaactgagac ttaaagggtg aggcagccac tgtgctggga cagtggaggt 1200
ggaaattcag aaactggtag gaaaagtgtg tgatagaagc tggggactga aagaagctga 1260
tgtggtttgc aggcagctgg gatgtggatc tgcactcaa acatcatatc aagttttattc 1320
caaaaccaag gcaacaaaca catggctggt tgtaagcagc tgtaatggaa atgaaacttc 1380
tctttgggac tgcaagaatt ggcagtgggg tggacttagt tgtgatcact atgacgaagc 1440

42*

450

caaaattacc tgctcagccc acaggaaacc caggctggtt ggaggggaca ttccttgctc 1500
tggctcgtgtt gaagtacaac atggagacac gtggggcacc gtctgtgatt ctgacttctc 1560
tctggaggcg gccagcgtgc tgtgcaggga actacagtgc ggcactgtgg tttccctcct 1620
ggggggagct cactttggag aaggaaagtgg acagatctgg gctgaagaat tccagtgtga 1680
ggggcacgag tcccaccttt cactctgccc agtagcacco cgccctgacg ggacatgtag 1740
ccacagcagg gacgtcggcg tagtctgctc aagatacaca caaatccgct tgggtgaatgg 1800
caagacccca tgtgaaggaa gagtggagct caacattctt gggctctggg ggtccctctg 1860
caactctcac tgggacatgg aagatgcca tgttttatgc cagcagctta aatgtggagt 1920
tgccctttct atcccgggag gagcaccttt tgggaaagga agtgagcagg tctggaggca 1980
catgtttcac tgcactggga ctgagaagca catgggagat tgttccgtca ctgctctggg 2040
cgcatcactc tgttcttcag ggcaagtggc ctctgtaatc tgctcaggga accagagtca 2100
gacactatct cctgtcaatt catcatctc ggacccatca agctctatta tttcagaaga 2160
aaatggtgtt gcctgcatag ggagtggta acttcgcctg gtcgatggag gtggtcgttg 2220
tgctgggaga gtagaggtct atcatgaggg ctctggggc accatctgtg atgacagctg 2280
ggacctgaat gatgcccatg tgggtgtgaa acagctgagc tgtggatggg ccattaatgc 2340
cactggttct gctcattttg gggaaaggaa agggccatt tggctggatg agataaactg 2400
taatggaaa gaatctcata tttggcaatg ccactcacat ggttgggggc ggcacaattg 2460
caggcataag gaggatgcag gagtcatctg ctcagagttc atgtctctga gactgatcag 2520
tgaaaacagc agagagacct gtgcagggcg cctggaagtt ttttacaacg gagcttgggg 2580
cagcgttggc aggaatagca tgtctccagc cacagtgggg gtggtatgca ggcagctggg 2640
ctgtgcagac agaggggaca tcagccctgc atcttcagac aagacagtgt ccaggcacat 2700
gtgggtggac aatgttcagt gtcctaaagg acctgacaca ctatggcagt gccatcatc 2760
tccatggaag aagagactgg ccagcccctc agaggagaca tggatcacat gtgccaacaa 2820
aataagactt caagaaggaa acactaattg ttctggacgt gtggagatct ggtacggagg 2880
ttcctggggc actgtgtgtg acgactcctg ggacctgaa gatgctcagg tgggtgtgccg 2940
acagctgggc tgtggctcag ctttggaggc aggaaaagag gccgcatttg gccaggggac 3000
tggggccata tggctcaatg aagtgaagtg caaggggaat gaaacctcct tgtgggattg 3060
tcctgccaga tcctggggcc acagtgactg tggacacaag gaggatgctg ctgtgacgtg 3120
ctcagaaatt gcaaagagcc gagaatccct acatgccaca ggtcgctcat cttttgttgc 3180
acttgcaatc tttgggggtca ttctgttggc ctgtctcatc gcattcctca tttggactca 3240
gaagcgaaga cagaggcagc ggctctcagt tttctcagga ggagagaatt ctgtccatca 3300

346

451

aattcaatac cgggagatga attcttgcct gaaagcagat gaaacggata tgctaaatcc 3360
ctcaggagac cactctgaag tacaatgaaa agggaaatgg gaattataac ctggtgagtt 3420
cagcctttta gataccttga tgaagacctg gactattgaa tgagcaagaa tctgcctctt 3480
acactgaaga ttacaataca gtcctctgtc tcctgggtatt ccaaagactg ctgctgaatt 3540
tctaaagaat agattggtga atgtgactac tcaaagttgt atgtaagact ttcaagggca 3600
ttaaataaaa aagaatattg ctg 3623

<210> 13
<211> 3345
<212> DNA
<213> Sus scrofa

<400> 13
atggacaaac tcagaatggt gctacatgaa aactctggat ctgcagactt tagaagatgt 60
tctgccatt taagttcctt cacttttgct gtagtcgctg ttctcagtgc ctgcttggtc 120
actagttctc ttggaggaaa agacaaggag ctgaggctaa cgggtggtga aaacaagtgc 180
tctggaagag tggaggtgaa agtgcaggag gagtggggaa ctgtgtgtaa taatggctgg 240
gacatggatg tggctctctgt tgtttgtagg cagctgggat gtccaactgc tatcaaagcc 300
actggatggg ctaatttttag tgcaggttct ggacgcattt ggatggatca tgtttcttgt 360
cgagggaatg agtcagctct ctgggactgc aaacatgatg gatggggaaa gcataactgt 420
actcaccaac aggatgctgg agtaacctgc tcagatggat ctgatttaga gatggggctg 480
gtgaatggag gaaaccggtg cttaggaaga atagaagtca aatttcaagg acggtgggga 540
acagtgtgtg atgataactt caacataaat catgcttctg tggtttgtaa acaacttgaa 600
tgtggaagtg ctgtcagttt ctctggttca gctaattttg gagaagggtc tggaccaatc 660
tggtttgatg atcttgtatg caatggaaat ggtcagctc tctggaactg caaacatgaa 720
ggatggggaa agcacaattg cgatcatgct gaggatgctg gagtgatttg cttaaattga 780
gcagacctga aactgagagt ggtagatgga gtactgaat gttcaggaag attggaagtg 840
aaattccaag gagaatgggg aacaatctgt gatgatggct gggatagtga tgatgccgct 900
gtggcatgta agcaactggg atgtccaact gctgtcactg ccattgggtc agttaacgcc 960
agtgagggaa ctggacacat ttggcttgac agtgtttctt gccatggaca cgagtctgct 1020
ctctggcagt gtagacacca tgaatgggga aagcattatt gcaatcatga tgaagatgct 1080
ggtgtgacat gttctgatgg atcagatctg gaactgagac ttaaagggtg aggcagccac 1140
tgtgctggga cagtggaggt ggaaattcag aaactggtag gaaaagtggt tgatagaagc 1200
tggggactga aagaagctga tgtggtttgc aggcagctgg gatgtggatc tgcactcaa 1260

447

452

acatcatatc	aagtttattc	caaaaccaag	gcaacaaaca	catggctggt	tgtaagcagc	1320
tgtaatggaa	atgaaacttc	tctttgggac	tgcaagaatt	ggcagtgggg	tggaacttagt	1380
tgtgatcact	atgacgaagc	caaaattacc	tgctcagccc	acaggaacc	caggctggtt	1440
ggaggggaca	ttccctgctc	tggtcgtgtt	gaagtacaac	atggagacac	gtggggcacc	1500
gtctgtgatt	ctgacttctc	tctggaggcg	gccagcgtgc	tgtgcaggga	actacagtgc	1560
ggcactgtgg	ttccctcct	ggggggagct	cactttggag	aaggaagtgg	acagatctgg	1620
gctgaagaat	tccagtgtga	ggggcacgag	ccccaccttt	cactctgccc	agtagcaccc	1680
cgccttgacg	ggacatgtag	ccacagcagg	gacgtcggcg	tagtctgctc	aagatacaca	1740
caaatccgct	tggatgaatg	caagacccca	tgtgaaggaa	gagtggagct	caacattctt	1800
gggtcctggg	ggtccctctg	caactctcac	tgggacatgg	aagatgccc	tgttttatgc	1860
cagcagctta	aatgtggagt	tgccctttct	atcccgagg	gagcaccttt	tggaaggga	1920
agtgagcagg	tctggaggca	catgtttcac	tgactggga	ctgagaagca	catgggagat	1980
tgttccgtca	ctgctctggg	cgcactctc	tgctctcag	ggcaagtggc	ctctgtaatc	2040
tgctcaggga	accagagtca	gacactatct	ccgtgcaatt	catcatcctc	ggacccatca	2100
agctctatta	tttcagaaga	aaatggtgtt	gcctgcatag	ggagtgggtca	acttcgcctg	2160
gtcgatggag	gtggtcgttg	tgctgggaga	gtagagggtct	atcatgaggg	ctcctggggc	2220
accatctgtg	atgacagctg	ggacctgaat	gatgcccatt	tggtgtgcaa	acagctgagc	2280
tgtggatggg	ccattaatgc	cactggttct	gctcattttg	gggaagggaac	agggcccat	2340
tggtcggatg	agataaactg	taatggaaaa	gaatctcata	tttggcaatg	ccactcacat	2400
ggttgggggc	ggcacaattg	caggcataag	gaggatgcag	gagtcactctg	ctcagagttc	2460
atgtctctga	gactgatcag	tgaaaacagc	agagagacct	gtgcagggcg	cctggaagtt	2520
ttttacaacg	gagcttgggg	cagcgttggc	aggaatagca	tgtctccagc	cacagtgggg	2580
gtggtatgca	ggcagctggg	ctgtgcagac	agaggggaca	tcagccctgc	atcttcagac	2640
aagacagtgt	ccaggcacat	gtgggtggac	aatgttcagt	gtcctaagg	acctgacaca	2700
ctatggcagt	gcccattcatc	tccatggaag	aagagactgg	ccagcccctc	agaggagaca	2760
tggtacacat	gtgccaacaa	aataagactt	caagaaggaa	acactaattg	ttctggacgt	2820
gtggagatct	ggtacggagg	ttcctggggc	actgtgtgtg	acgactcctg	ggaccttgaa	2880
gatgctcagg	tggtgtgccg	acagctgggc	tgtggctcag	ctttggaggc	aggaaaagag	2940
gccgcatttg	gccaggggac	tgggcccata	tggtcaatg	aagtgaagtg	caaggggaat	3000
gaaacctcct	tgtgggattg	tcctgccaga	tcctggggcc	acagtgactg	tggaacacaag	3060

248

453

gaggatgctg ctgtgacgtg ctcagaaatt gcaaagagcc gagaatccct acatgccaca 3120
 ggtcgctcat cttttgttgc acttgcaatc tttgggggtca ttctgttggc ctgtctcatc 3180
 gcattcctca tttggactca gaagcgaaga cagaggcagc ggctctcagt tttctcagga 3240
 ggagagaatt ctgtccatca aattcaatac cgggagatga attcttgcct gaaagcagat 3300
 gaaacggata tgctaaatcc ctcaggagac cactctgaag tacaa 3345

<210> 14
 <211> 1115
 <212> PRT
 <213> Sus scrofa

<400> 14

Met Asp Lys Leu Arg Met Val Leu His Glu Asn Ser Gly Ser Ala Asp
 1 5 10 15

Phe Arg Arg Cys Ser Ala His Leu Ser Ser Phe Thr Phe Ala Val Val
 20 25 30

Ala Val Leu Ser Ala Cys Leu Val Thr Ser Ser Leu Gly Gly Lys Asp
 35 40 45

Lys Glu Leu Arg Leu Thr Gly Gly Glu Asn Lys Cys Ser Gly Arg Val
 50 55 60

Glu Val Lys Val Gln Glu Glu Trp Gly Thr Val Cys Asn Asn Gly Trp
 65 70 75 80

Asp Met Asp Val Val Ser Val Val Cys Arg Gln Leu Gly Cys Pro Thr
 85 90 95

Ala Ile Lys Ala Thr Gly Trp Ala Asn Phe Ser Ala Gly Ser Gly Arg
 100 105 110

Ile Trp Met Asp His Val Ser Cys Arg Gly Asn Glu Ser Ala Leu Trp
 115 120 125

Asp Cys Lys His Asp Gly Trp Gly Lys His Asn Cys Thr His Gln Gln
 130 135 140

Asp Ala Gly Val Thr Cys Ser Asp Gly Ser Asp Leu Glu Met Gly Leu
 145 150 155 160

Val Asn Gly Gly Asn Arg Cys Leu Gly Arg Ile Glu Val Lys Phe Gln
 165 170 175

454

Gly Arg Trp Gly Thr Val Cys Asp Asp Asn Phe Asn Ile Asn His Ala
180 185 190

Ser Val Val Cys Lys Gln Leu Glu Cys Gly Ser Ala Val Ser Phe Ser
195 200 205

Gly Ser Ala Asn Phe Gly Glu Gly Ser Gly Pro Ile Trp Phe Asp Asp
210 215 220

Leu Val Cys Asn Gly Asn Glu Ser Ala Leu Trp Asn Cys Lys His Glu
225 230 235 240

Gly Trp Gly Lys His Asn Cys Asp His Ala Glu Asp Ala Gly Val Ile
245 250 255

Cys Leu Asn Gly Ala Asp Leu Lys Leu Arg Val Val Asp Gly Val Thr
260 265 270

Glu Cys Ser Gly Arg Leu Glu Val Lys Phe Gln Gly Glu Trp Gly Thr
275 280 285

Ile Cys Asp Asp Gly Trp Asp Ser Asp Asp Ala Ala Val Ala Cys Lys
290 295 300

Gln Leu Gly Cys Pro Thr Ala Val Thr Ala Ile Gly Arg Val Asn Ala
305 310 315 320

Ser Glu Gly Thr Gly His Ile Trp Leu Asp Ser Val Ser Cys His Gly
325 330 335

His Glu Ser Ala Leu Trp Gln Cys Arg His His Glu Trp Gly Lys His
340 345 350

Tyr Cys Asn His Asp Glu Asp Ala Gly Val Thr Cys Ser Asp Gly Ser
355 360 365

Asp Leu Glu Leu Arg Leu Lys Gly Gly Gly Ser His Cys Ala Gly Thr
370 375 380

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

Trp Gly Leu Lys Glu Ala Asp Val Val Cys Arg Gln Leu Gly Cys Gly
405 410 415

Ser Ala Leu Lys Thr Ser Tyr Gln Val Tyr Ser Lys Thr Lys Ala Thr
420 425 430

Asn Thr Trp Leu Phe Val Ser Ser Cys Asn Gly Asn Glu Thr Ser Leu
435 440 445

Trp Asp Cys Lys Asn Trp Gln Trp Gly Gly Leu Ser Cys Asp His Tyr
450 455 460

Asp Glu Ala Lys Ile Thr Cys Ser Ala His Arg Lys Pro Arg Leu Val
465 470 475 480

Gly Gly Asp Ile Pro Cys Ser Gly Arg Val Glu Val Gln His Gly Asp
485 490 495

Thr Trp Gly Thr Val Cys Asp Ser Asp Phe Ser Leu Glu Ala Ala Ser
500 505 510

Val Leu Cys Arg Glu Leu Gln Cys Gly Thr Val Val Ser Leu Leu Gly
515 520 525

Gly Ala His Phe Gly Glu Gly Ser Gly Gln Ile Trp Ala Glu Glu Phe
530 535 540

Gln Cys Glu Gly His Glu Ser His Leu Ser Leu Cys Pro Val Ala Pro
545 550 555 560

Arg Pro Asp Gly Thr Cys Ser His Ser Arg Asp Val Gly Val Val Cys
565 570 575

Ser Arg Tyr Thr Gln Ile Arg Leu Val Asn Gly Lys Thr Pro Cys Glu
580 585 590

Gly Arg Val Glu Leu Asn Ile Leu Gly Ser Trp Gly Ser Leu Cys Asn
595 600 605

Ser His Trp Asp Met Glu Asp Ala His Val Leu Cys Gln Gln Leu Lys
610 615 620

Cys Gly Val Ala Leu Ser Ile Pro Gly Gly Ala Pro Phe Gly Lys Gly
625 630 635 640

Ser Glu Gln Val Trp Arg His Met Phe His Cys Thr Gly Thr Glu Lys
645 650 655

His Met Gly Asp Cys Ser Val Thr Ala Leu Gly Ala Ser Leu Cys Ser

450

455

451

456

660	665	670
Ser Gly Gln Val Ala Ser Val Ile Cys Ser Gly Asn Gln Ser Gln Thr 675 680 685		
Leu Ser Pro Cys Asn Ser Ser Ser Ser Asp Pro Ser Ser Ser Ile Ile 690 695 700		
Ser Glu Glu Asn Gly Val Ala Cys Ile Gly Ser Gly Gln Leu Arg Leu 705 710 715 720		
Val Asp Gly Gly Gly Arg Cys Ala Gly Arg Val Glu Val Tyr His Glu 725 730 735		
Gly Ser Trp Gly Thr Ile Cys Asp Asp Ser Trp Asp Leu Asn Asp Ala 740 745 750		
His Val Val Cys Lys Gln Leu Ser Cys Gly Trp Ala Ile Asn Ala Thr 755 760 765		
Gly Ser Ala His Phe Gly Glu Gly Thr Gly Pro Ile Trp Leu Asp Glu 770 775 780		
Ile Asn Cys Asn Gly Lys Glu Ser His Ile Trp Gln Cys His Ser His 785 790 795 800		
Gly Trp Gly Arg His Asn Cys Arg His Lys Glu Asp Ala Gly Val Ile 805 810 815		
Cys Ser Glu Phe Met Ser Leu Arg Leu Ile Ser Glu Asn Ser Arg Glu 820 825 830		
Thr Cys Ala Gly Arg Leu Glu Val Phe Tyr Asn Gly Ala Trp Gly Ser 835 840 845		
Val Gly Arg Asn Ser Met Ser Pro Ala Thr Val Gly Val Val Cys Arg 850 855 860		
Gln Leu Gly Cys Ala Asp Arg Gly Asp Ile Ser Pro Ala Ser Ser Asp 865 870 875 880		
Lys Thr Val Ser Arg His Met Trp Val Asp Asn Val Gln Cys Pro Lys 885 890 895		
Gly Pro Asp Thr Leu Trp Gln Cys Pro Ser Ser Pro Trp Lys Lys Arg 900 905 910		

45

457

Leu Ala Ser Pro Ser Glu Glu Thr Trp Ile Thr Cys Ala Asn Lys Ile
915 920 925

Arg Leu Gln Glu Gly Asn Thr Asn Cys Ser Gly Arg Val Glu Ile Trp
930 935 940

Tyr Gly Gly Ser Trp Gly Thr Val Cys Asp Asp Ser Trp Asp Leu Glu
945 950 955 960

Asp Ala Gln Val Val Cys Arg Gln Leu Gly Cys Gly Ser Ala Leu Glu
965 970 975

Ala Gly Lys Glu Ala Ala Phe Gly Gln Gly Thr Gly Pro Ile Trp Leu
980 985 990

Asn Glu Val Lys Cys Lys Gly Asn Glu Thr Ser Leu Trp Asp Cys Pro
995 1000 1005

Ala Arg Ser Trp Gly His Ser Asp Cys Gly His Lys Glu Asp Ala
1010 1015 1020

Ala Val Thr Cys Ser Glu Ile Ala Lys Ser Arg Glu Ser Leu His
1025 1030 1035

Ala Thr Gly Arg Ser Ser Phe Val Ala Leu Ala Ile Phe Gly Val
1040 1045 1050

Ile Leu Leu Ala Cys Leu Ile Ala Phe Leu Ile Trp Thr Gln Lys
1055 1060 1065

Arg Arg Gln Arg Gln Arg Leu Ser Val Phe Ser Gly Gly Glu Asn
1070 1075 1080

Ser Val His Gln Ile Gln Tyr Arg Glu Met Asn Ser Cys Leu Lys
1085 1090 1095

Ala Asp Glu Thr Asp Met Leu Asn Pro Ser Gly Asp His Ser Glu
1100 1105 1110

Val Gln
1115

<210> 15
<211> 50
<212> DNA

213

458

<213> Artificial

<220>

<223> PCR Primer

<400> 15

caccgcggcc gcgaagttat aaatcgccac catgagcaaa ctcagaatgg

50

<210> 16

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> PCR Primer

<400> 16

tgctccggta cctagtccag gtcttcatca aggtatctta

40

<210> 17

<211> 3434

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 17

atgagcaaac tcagaatggt gctacttgaa gactctggat ctgctgactt cagaagacat

60

tttgtcaacc tgagtccctt caccattact gtggtcttac ttctcagtgc ctgttttgtc

120

accagttctc ttggaggaac agacaaggag ctgaggctag tggatggtga aaacaagtgt

180

agcgggagag tggaagtga agtccaggag gagtggggaa cgggtgtgtaa taatggctgg

240

agcatggaag cggctctctgt gatttgtaac cagctgggat gtccaactgc tatcaaagcc

300

cctggatggg ctaattccag tgcaggttct ggacgcattt ggatggatca tgtttcttgt

360

cgtgggaatg agtcagctct ttgggattgc aaacatgatg gatggggaaa gcatagtaac

420

tgtactcacc aacaagatgc tggagtgacc tgctcagatg gatccaattt ggaaatgagg

480

ctgacgcgtg gagggaaatg gtgttctgga agaatagaga tcaaattcca aggacggtgg

540

ggaacagtgt gtgatgataa cttcaacata gatcatgcat ctgtcatttg tagacaactt

600

gaatgtggaa gtgctgtcag tttctctggt tcatctaatt ttggagaagg ctctggacca

660

atctggtttg atgatcttat atgcaacgga aatgagtcag ctctctggaa ctgcaaact

720

caaggatggg gaaagcataa ctgtgaccat gctgaggatg ctggagtgat ttgctcaaag

780

ggagcagatc tgagcctgag actggtagat ggagtcactg aatgttcagg aagattagaa

840

gtgagattcc aaggggaatg ggggacaata tgtgatgacg gctgggacag ttacgatgct

900

gctgtggcat gcaagcaact gggatgtcca actgccgtca cagccattgg tcgagttaac

960

gccagtaagg gatttggaca catctggctt gacagcggtt cttgccaggg acatgaacct

1020

459

459

gctgtctggc	aatgtaaaca	ccatgaatgg	ggaaagcatt	attgcaatca	caatgaagat	1080
gctggcgtga	catgttctga	tggatcagat	ctggagctaa	gacttagagg	tggaggcagc	1140
cgctgtgctg	ggacagttga	ggtggagatt	cagagactgt	tagggaaggt	gtgtgacaga	1200
ggctggggac	tgaagaagc	tgatgtggtt	tgcaggcagc	tgggatgtgg	atctgcactc	1260
aaaacatcct	atcaagtgtg	ctccaaaatc	caggcaacaa	acacatggct	gtttctaagt	1320
agctgtaacg	gaaatgaaac	ttctcttttg	gactgcaaga	actggcaatg	gggtggactt	1380
acctgtgatc	actatgaaga	agccaaaatt	acctgtcag	cccacaggga	accagactg	1440
gttggagggg	acattccctg	ttctggacgt	gttgaagtga	agcatggtga	cacgtggggc	1500
tccatctgtg	attcggactt	ctctctggaa	gctgccagcg	ttctatgcag	ggaattacag	1560
tgtggcacag	ttgtctctat	cctgggggga	gctcactttg	gagagggaaa	tggacagatc	1620
tgggctgaag	aattccagtg	tgagggacat	gagtcccatc	tttactctg	cccagtagca	1680
ccccgcccag	aaggaacttg	tagccacagc	agggatgttg	gagtagtctg	ctcaagatac	1740
acagaaattc	gcttggtgaa	tggcaagacc	ccgtgtgagg	gcagagtgga	gctcaaaacg	1800
cttggtgccct	ggggatccct	ctgtaactct	cactgggaca	tagaagatgc	ccatgttctt	1860
tgccagcagc	ttaaattgtg	agttgccctt	tctaccccag	gaggagcacg	ttttggaaaa	1920
ggaaatggtc	agatctggag	gcatatgttt	cactgcactg	ggactgagca	gcacatggga	1980
gattgtcctg	taactgctct	aggtgcttca	ttatgtcctt	cagagcaagt	ggcctctgta	2040
atctgctcag	gaaaccagtc	ccaaacactg	tcctcgtgca	attcatcgtc	tttgggccc	2100
acaaggccta	ccattccaga	agaaagtgtc	gtggcctgca	tagagagtgg	tcaacttcgc	2160
ctggtaaatg	gaggaggtcg	ctgtgctggg	agagtagaga	tctatcatga	gggctcctgg	2220
ggcaccatct	gtgatgacag	ctgggacctg	agtgtgccc	acgtggtttg	cagacagctg	2280
ggctgtggag	aggccattaa	tgccactggt	tctgctcatt	ttggggaagg	aacagggccc	2340
atctggctgg	atgagatgaa	atgcaatgga	aaagaatccc	gcatttgga	gtgccattca	2400
cacggctggg	ggcagcaaaa	ttgcaggcac	aaggaggatg	cgggagttat	ctgctcagaa	2460
ttcatgtctc	tgagactgac	cagtgaagcc	agcagagagg	cctgtgcagg	gcgtctggaa	2520
gttttttaca	atggagcttg	gggcactgtt	ggcaagagta	gcatgtctga	aaccactgtg	2580
ggtgtggtgt	gcaggcagct	gggctgtgca	gacaaaggga	aaatcaaccc	tgcattctta	2640
gacaaggcca	tgtccattcc	catgtgggtg	gacaatgttc	agtgtccaaa	aggacctgac	2700
acgtgtggc	agtgcccatc	atctccatgg	gagaagagac	tggccagccc	ctcggaggag	2760
acctggatca	catgtgacaa	caagataaga	cttcaggaag	gaccacttc	ctgttctgga	2820
cggtgtggaga	tctggcatgg	aggttcctgg	gggacagtgt	gtgatgactc	ttgggacttg	2880

453

460

```

gacgatgctc aggtggtgtg tcaacaactt ggctgtggtc cagctttgaa agcattcaaa 2940
gaagcagagt ttggtcaggg gactggaccg atatggctca atgaagtgaa gtgcaaaggg 3000
aatgagtctt ccttgtggga ttgtcctgcc agacgctggg gccatagtga gtgtgggcac 3060
aaggaagacg ctgcagtgaa ttgcacagat atttcagtgc agaaaacccc acaaaaagcc 3120
acaacaggtc gctcatcccc tcagtcatcc tttattgcag tcgggatcct tggggttgtt 3180
ctgtttggcca ttttcgtcgc attattcttc ttgactaaaa agcgaagaca gagacagcgg 3240
cttgacgttt cctcaagagg agagaactta gtccaccaa ttcaataacc ggagatgaat 3300
tcttgacctg atgcagatga tctggacctt atgaattcct caggaggcca ttctgagcca 3360
cactgaaaag gaaaatggga atttataacc cagtgaagtc agcctttaag ataccttgat 3420
gaagacctgg acta 3434

```

```

<210> 18
<211> 3363
<212> DNA
<213> Homo sapiens

```

```

<400> 18
atgagcaaac tcagaatggg gctacttgaa gactctggat ctgctgactt cagaagacat 60
tttgtcaacc tgagtccctt caccattact gtggtcttac ttctcagtgc ctgttttgtc 120
accagttctc ttggagggaac agacaaggag ctgaggctag tggatggtga aaacaagtgt 180
agcgggagag tggaagtgaa agtccaggag gagtggggaa cgggtgtgta taatggctgg 240
agcatggaag cggctctctgt gatttgtaac cagctgggat gtccaactgc tatcaaagcc 300
cctggatggg ctaattccag tgcaggttct ggacgcattt ggatggatca tgtttcttgt 360
cgtgggaatg agtcagctct ttgggattgc aaacatgatg gatggggaaa gcatagtaac 420
tgtactcacc aacaagatgc tggagtgacc tgctcagatg gatccaattt ggaaatgagg 480
ctgacgcgtg gaggggaatat gtgttctgga agaatagaga tcaaattcca aggacggtgg 540
ggaacagtgt gtgatgataa cttcaacata gatcatgcat ctgtcatttg tagacaactt 600
aatgtggaa gtgctgtcag tttctctggt tcatctaatt ttggagaagg ctctggacca 660
atctggtttg atgatcttat atgcaacgga aatgagtcag ctctctggaa ctgcaaacat 720
caaggatggg gaaagcataa ctgtgaccat gctgaggatg ctggagtgat ttgctcaaag 780
ggagcagatc tgagcctgag actggtagat ggagtcactg aatgttcagg aagattagaa 840
gtgagattcc aaggggaatg ggggacaata tgtgatgacg gctgggacag ttacgatgct 900
gctgtggcat gcaagcaact gggatgtcca actgccgtca cagccattgg tcgagttaac 960
gccagtaagg gatttggaca catctggctt gacagcgttt cttgccaggg acatgaacct 1020

```

456

461

gctgtctggc aatgtaaaca ccatgaatgg ggaaagcatt attgcaatca caatgaagat	1080
gctggcgtga catgttctga tggatcagat ctggagctaa gacttagagg tggaggcagc	1140
cgctgtgctg ggacagttga ggtggagatt cagagactgt tagggaaggt gtgtgacaga	1200
ggctggggac tgaaagaagc tgatgtggtt tgcaggcagc tgggatgtgg atctgcactc	1260
aaaacatctt atcaagtgtg ctccaaaatc caggcaacaa acacatggct gtttctaagt	1320
agctgtaacg gaaatgaaac ttctcttttg gactgcaaga actggcaatg ggggtggactt	1380
acctgtgata actatgaaga agccaaaatt acctgctcag cccacaggga acccagactg	1440
gttggagggg acattccctg ttctggacgt gttgaagtga agcatggtga cacgtggggc	1500
tccatctgtg attcggactt ctctctggaa gctgccagcg ttctatgcag ggaattacag	1560
tgtggcacag ttgtctctat cctgggggga gctcactttg gagagggaaa tggacagatc	1620
tgggctgaag aattccagtg tgagggacat gagtcccatc tttcactctg cccagtagca	1680
ccccgccag aaggaacttg tagccacagc agggatgttg gagtagtctg ctcaagatac	1740
acagaaattc gcttggtgaa tggcaagacc cctgttgagg gcagagtga gctcaaacg	1800
cttggtgcc tgggatccct ctgtaactct cactgggaca tagaagatgc ccatgttctt	1860
tgccagcagc ttaaagtgtg agttgccctt tctaccccag gaggagcacg ttttgaaaaa	1920
ggaaatggtc agatctggag gcatatgttt cactgcactg ggactgagca gcacatggga	1980
gattgtcctg taactgctct aggtgcttca ttatgtcctt cagagcaagt ggcctctgta	2040
atctgctcag gaaaccagtc ccaaacactg tcctcgtgca attcatcgtc tttgggccc	2100
acaaggccta ccattccaga agaaagtgtc gtggcctgca tagagagtgg tcaacttcgc	2160
ctggtaaatg gaggaggtcg ctgtgctggg agagtagaga tctatcatga gggctcctgg	2220
ggcaccatct gtgatgacag ctgggacctg agtgatgcc acgtggtttg cagacagctg	2280
ggctgtggag aggccattaa tgccactggt tctgctcatt ttggggaagg aacagggccc	2340
atctggctgg atgagatgaa atgcaatgga aaagaatccc gcatttgga gtgccattca	2400
cacggctggg ggcagcaaaa ttgcaggcac aaggaggatg cgggagttat ctgctcagaa	2460
ttcatgtctc tgagactgac cagtgaagcc agcagagagg cctgtgcagg gcgtctggaa	2520
gttttttaca atggagcttg gggcactgtt ggcaagagta gcatgtctga aaccactgtg	2580
ggtgtggtgt gcaggcagct gggctgtgca gacaaaggga aaatcaaccc tgcattctta	2640
gacaaggcca tgtccattcc catgtgggtg gacaatgttc agtgtccaaa aggacctgac	2700
acgctgtggc agtgcccatc atctocatgg gagaagagac tggccagccc ctcgaggag	2760
acctggatca catgtgacaa caagataaga cttcaggaag gaccacttc ctgttctgga	2820

457

462

cgtgtggaga tctggcatgg aggttcctgg gggacagtgt gtgatgactc ttgggacttg 2880
gacgatgctc aggtggtgtg tcaacaactt ggctgtggtc cagctttgaa agcattcaaa 2940
gaagcagagt ttggtcaggg gactggaccg atatggctca atgaagtga gtgcaaaggg 3000
aatgagtctt ccttgtggga ttgtcctgcc agacgctggg gccatagtga gtgtgggcac 3060
aaggaagacg ctgcagtga ttgcacagat atttcagtgc agaaaacccc aaaaaagcc 3120
acaacaggtc gctcatcccg tcagtcatcc tttattgcag tcgggatcct tggggttgtt 3180
ctgttggcca ttttcgtcgc attattcttc ttgactaaaa agcgaagaca gagacagcgg 3240
cttgcagttt cctcaagagg agagaactta gtccaccaa ttcaataccg ggagatgaat 3300
tcttgctga atgcagatga tctggaccta atgaattcct caggaggcca ttctgagcca 3360
cac 3363

<210> 19
<211> 1121
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 19

Met Ser Lys Leu Arg Met Val Leu Leu Glu Asp Ser Gly Ser Ala Asp
1 5 10 15

Phe Arg Arg His Phe Val Asn Leu Ser Pro Phe Thr Ile Thr Val Val
20 25 30

Leu Leu Leu Ser Ala Cys Phe Val Thr Ser Ser Leu Gly Gly Thr Asp
35 40 45

Lys Glu Leu Arg Leu Val Asp Gly Glu Asn Lys Cys Ser Gly Arg Val
50 55 60

Glu Val Lys Val Gln Glu Glu Trp Gly Thr Val Cys Asn Asn Gly Trp
65 70 75 80

Ser Met Glu Ala Val Ser Val Ile Cys Asn Gln Leu Gly Cys Pro Thr
85 90 95

Ala Ile Lys Ala Pro Gly Trp Ala Asn Ser Ser Ala Gly Ser Gly Arg
100 105 110

Ile Trp Met Asp His Val Ser Cys Arg Gly Asn Glu Ser Ala Leu Trp
115 120 125

Asp Cys Lys His Asp Gly Trp Gly Lys His Ser Asn Cys Thr His Gln

758

463

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

459

464

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

Gly Trp Gly Leu Lys Glu Ala Asp Val Val Cys Arg Gln Leu Gly Cys
405 410 415

Gly Ser Ala Leu Lys Thr Ser Tyr Gln Val Tyr Ser Lys Ile Gln Ala
420 425 430

Thr Asn Thr Trp Leu Phe Leu Ser Ser Cys Asn Gly Asn Glu Thr Ser
435 440 445

Leu Trp Asp Cys Lys Asn Trp Gln Trp Gly Gly Leu Thr Cys Asp His
450 455 460

Tyr Glu Glu Ala Lys Ile Thr Cys Ser Ala His Arg Glu Pro Arg Leu
465 470 475 480

Val Gly Gly Asp Ile Pro Cys Ser Gly Arg Val Glu Val Lys His Gly
485 490 495

Asp Thr Trp Gly Ser Ile Cys Asp Ser Asp Phe Ser Leu Glu Ala Ala
500 505 510

Ser Val Leu Cys Arg Glu Leu Gln Cys Gly Thr Val Val Ser Ile Leu
515 520 525

Gly Gly Ala His Phe Gly Glu Gly Asn Gly Gln Ile Trp Ala Glu Glu
530 535 540

Phe Gln Cys Glu Gly His Glu Ser His Leu Ser Leu Cys Pro Val Ala
545 550 555 560

Pro Arg Pro Glu Gly Thr Cys Ser His Ser Arg Asp Val Gly Val Val
565 570 575

Cys Ser Arg Tyr Thr Glu Ile Arg Leu Val Asn Gly Lys Thr Pro Cys
580 585 590

Glu Gly Arg Val Glu Leu Lys Thr Leu Gly Ala Trp Gly Ser Leu Cys
595 600 605

Asn Ser His Trp Asp Ile Glu Asp Ala His Val Leu Cys Gln Gln Leu
610 615 620

280

465

Lys Cys Gly Val Ala Leu Ser Thr Pro Gly Gly Ala Arg Phe Gly Lys
625 630 635 640

Gly Asn Gly Gln Ile Trp Arg His Met Phe His Cys Thr Gly Thr Glu
645 650 655

Gln His Met Gly Asp Cys Pro Val Thr Ala Leu Gly Ala Ser Leu Cys
660 665 670

Pro Ser Glu Gln Val Ala Ser Val Ile Cys Ser Gly Asn Gln Ser Gln
675 680 685

Thr Leu Ser Ser Cys Asn Ser Ser Ser Leu Gly Pro Thr Arg Pro Thr
690 695 700

Ile Pro Glu Glu Ser Ala Val Ala Cys Ile Glu Ser Gly Gln Leu Arg
705 710 715 720

Leu Val Asn Gly Gly Gly Arg Cys Ala Gly Arg Val Glu Ile Tyr His
725 730 735

Glu Gly Ser Trp Gly Thr Ile Cys Asp Asp Ser Trp Asp Leu Ser Asp
740 745 750

Ala His Val Val Cys Arg Gln Leu Gly Cys Gly Glu Ala Ile Asn Ala
755 760 765

Thr Gly Ser Ala His Phe Gly Glu Gly Thr Gly Pro Ile Trp Leu Asp
770 775 780

Glu Met Lys Cys Asn Gly Lys Glu Ser Arg Ile Trp Gln Cys His Ser
785 790 795 800

His Gly Trp Gly Gln Gln Asn Cys Arg His Lys Glu Asp Ala Gly Val
805 810 815

Ile Cys Ser Glu Phe Met Ser Leu Arg Leu Thr Ser Glu Ala Ser Arg
820 825 830

Glu Ala Cys Ala Gly Arg Leu Glu Val Phe Tyr Asn Gly Ala Trp Gly
835 840 845

Thr Val Gly Lys Ser Ser Met Ser Glu Thr Thr Val Gly Val Val Cys
850 855 860

871

466

Arg Gln Leu Gly Cys Ala Asp Lys Gly Lys Ile Asn Pro Ala Ser Leu
865 870 875 880

Asp Lys Ala Met Ser Ile Pro Met Trp Val Asp Asn Val Gln Cys Pro
885 890 895

Lys Gly Pro Asp Thr Leu Trp Gln Cys Pro Ser Ser Pro Trp Glu Lys
900 905 910

Arg Leu Ala Ser Pro Ser Glu Glu Thr Trp Ile Thr Cys Asp Asn Lys
915 920 925

Ile Arg Leu Gln Glu Gly Pro Thr Ser Cys Ser Gly Arg Val Glu Ile
930 935 940

Trp His Gly Gly Ser Trp Gly Thr Val Cys Asp Asp Ser Trp Asp Leu
945 950 955 960

Asp Asp Ala Gln Val Val Cys Gln Gln Leu Gly Cys Gly Pro Ala Leu
965 970 975

Lys Ala Phe Lys Glu Ala Glu Phe Gly Gln Gly Thr Gly Pro Ile Trp
980 985 990

Leu Asn Glu Val Lys Cys Lys Gly Asn Glu Ser Ser Leu Trp Asp Cys
995 1000 1005

Pro Ala Arg Arg Trp Gly His Ser Glu Cys Gly His Lys Glu Asp
1010 1015 1020

Ala Ala Val Asn Cys Thr Asp Ile Ser Val Gln Lys Thr Pro Gln
1025 1030 1035

Lys Ala Thr Thr Gly Arg Ser Ser Arg Gln Ser Ser Phe Ile Ala
1040 1045 1050

Val Gly Ile Leu Gly Val Val Leu Leu Ala Ile Phe Val Ala Leu
1055 1060 1065

Phe Phe Leu Thr Lys Lys Arg Arg Gln Arg Gln Arg Leu Ala Val
1070 1075 1080

Ser Ser Arg Gly Glu Asn Leu Val His Gln Ile Gln Tyr Arg Glu
1085 1090 1095

Met Asn Ser Cys Leu Asn Ala Asp Asp Leu Asp Leu Met Asn Ser

262

467

1100	1105	1110	
Ser Gly Gly His Ser Glu Pro His			
1115	1120		
<210> 20			
<211> 37			
<212> DNA			
<213> Artificial			
<220>			
<223> PCR Primer			
<400> 20			
caccgcggcc gccacacgga gccatcaaaa tcatcaa			37
<210> 21			
<211> 46			
<212> DNA			
<213> Artificial			
<220>			
<223> PCR Primer			
<400> 21			
ggtaccgcga acaagcaaac caatagcaat attgtttaat tccctc			46
<210> 22			
<211> 3556			
<212> DNA			
<213> Mus musculus			
<400> 22			
gcttttgaat ggggtggacac agaatggttc ttcttgaggg tgctggatct cctggttgta			60
aaagggtttgt ccatctaggt ttctttgttg tggctgtgag ctcaattctc agtgcctctg			120
ctgtcactaa cgctcctgga gaaatgaaga aggaactgag actggcgggt ggtgaaaaca			180
actgtagtgg gagagtggaa cttaagatcc atgacaagtg gggcacagtg tgcagtaacg			240
gctggagcat gaatgaagtg tccgtggttt gccagcagct gggatgccca acttctatta			300
aagcccttgg atgggctaac tccagcgccg gctctggata tatctggatg gacaaagttt			360
cttgtagcagg gaatgagtca gctctttggg actgcaaaca tgatgggtgg ggaaagcata			420
actgtaccca tgaaaaagat gctggagtga cctgctcaga tggatctaata ttggagatga			480
gactggtgaa cagtgcgggc caccgatgct taggaagagt agaaataaag ttccagggaa			540
agtgggggac ggtgtgtgac gacaacttca gcaaagatca cgcttctgtg atttgtaaac			600
agcttggatg tggaagtgcc attagtttct ctggctcagc taaattggga gctggttctg			660
gaccaatctg gctcgatgac ctggcatgca atggaaatga gtcagctctc tgggactgca			720

463
468

aacacccggg	atggggcaag	cataactgtg	accatgctga	ggatgtcgg	gtgatttgc	780
tagagggagc	agatctgagc	ctgagactag	tggatggagt	gtccagatgt	tcaggaagat	840
tggaagttag	attccaagga	gaatggggga	ccgtgtgtga	tgataactgg	gatctccggg	900
atgcttctgt	gggtgtcaag	caactgggat	gtccaactgc	catcagtgcc	attggtcgag	960
ttaatgccag	tgagggatct	ggacagattt	ggcttgacaa	catttcacgc	gaaggacatg	1020
aggcaactct	ttgggagtgt	aaacaccaag	agtggggaaa	gcattactgt	catcatagag	1080
aagacgctgg	cgtgacatgt	tctgatggag	cagatctgga	acttagactt	gtaggtggag	1140
gcagtcgctg	tgctggcatt	gtggaggtgg	agattcagaa	gctgactggg	aagatgtgta	1200
gccgaggctg	gacactggca	gatgcggatg	tggtttgacg	acagcttgga	tgtggatctg	1260
cgcttcaaac	ccaggctaag	atctactcta	aaactggggc	aacaaatacg	tggctctttc	1320
ctgggatcttg	taatggaaat	gaaactactt	tttggcaatg	caaaaactgg	cagtggggcg	1380
gcctttcctg	tgataatttc	gaagaagcca	aagttacctg	ctcaggccac	agggaaacca	1440
gactggtttg	aggagaaatc	ccatgctctg	gtcgtgtgga	agtgaacac	ggagacgtgt	1500
ggggctccgt	ctgtgatttt	gaactgtctc	tggaaagctg	cagtgtgggt	tgcaagggaat	1560
tacaatgtgg	aacagtcgtc	tctatcctag	ggggagcaca	ttttggagaa	ggaagtggac	1620
agatctgggg	tgaagaattc	cagtgtagt	gggatgagtc	ccatctttca	ctatgctcag	1680
tggcgcccc	gctagacaga	acttgtaccc	acagcaggga	tgtcagcgta	gtctgctcac	1740
gatacataga	tattcgtctg	gcaggcggcg	agtcctcctg	tgagggaaga	gtggagctca	1800
agacactcgg	agcctgggg	cccctctgca	gttctcattg	ggacatggaa	gatgctcatg	1860
tcttatgtca	gcagctgaag	tgtgggggtg	cccaatctat	tccagaagga	gcacattttg	1920
ggaaaggagc	tggtcaggtc	tggagtcaca	tgttccactg	cactggaact	gaggaacata	1980
taggagattg	cctcatgact	gctctgggtg	cgccgacgtg	ttccgaagga	caggtggcct	2040
ctgtcatctg	ctcaggaaac	caatcccaga	cactattgcc	atgtagtcca	ttgtctccag	2100
tccaaacaac	aagctctaca	attccaaagg	agagtgaagt	tccctgcata	gcaagtggcc	2160
agcttcgctt	ggtaggtgga	ggtaggtcgt	gcgctggaag	agtggaggtc	taccacgagg	2220
gctcttgggg	caccgtctgt	gatgacaatt	gggatatgac	tgatgccaat	gtggtgtgca	2280
agcagctgga	ctgtggcgtg	gcaattaacg	ccactggctc	tgcttacttc	ggggaaggag	2340
caggagctat	ctggctagac	gaagtcattc	gcactgggaa	agagtctcat	atttggcagt	2400
gccattcaca	tggctgggga	cgccataact	gcaggcacia	agaagatgca	gggtgttatct	2460
gctccgagtt	catgtctctg	aggctgacca	acgaagccca	caaagaaaac	tgacacaggtc	2520
gccttgaagt	gttttacaat	ggtacatggg	gcagtattgg	cagtagcaat	atgtctccaa	2580

268
469

ccactgtggg ggtggtgtgc cgtcagctgg gctgtgcaga caacgggact gtgaaaccca 2640
taccttcaga caagacacca tccaggccca tgtgggtaga tcgtgtgcag tgtccaaaag 2700
gagttgacac tttgtggcag tgcccctcgt caccttgga acagagacag gccagcccct 2760
cctcccagga gtccctggatc atctgtgaca acaaaataag actccaggaa gggcatacag 2820
actgttcttg acgtgtggag atctggcaca aaggttcctg ggaacagtg tgtgatgact 2880
cctgggatct taatgatgct aaggttgtat gtaagcagtt gggctgtggc caagctgtga 2940
aggcactaaa agaagcagca tttggtccag gaactgggcc catatggctc aatgaaatta 3000
agtgtagagg gaatgagtct tccctgtggg attgtcctgc caaacctgg agtcacagcg 3060
actgtgggca caaagaagat gcttccatcc agtgccctcc aaaaatgact tcagaatcac 3120
atcatggcac aggtcacccc accctcacgg cactcttggg ttgtggagcc attctattgg 3180
tcctectcat tgtcttcctc ctgtggactc tgaagcgacg acagattcag cgacttacag 3240
tttctcaag aggagaggtc ttgatacatc aagttcagta ccaagagatg gattcaaagg 3300
cggtatgatc ggacttgctg aaatcctcgg gggtcattca gaggcacact gagaaggaaa 3360
atgataatct ataatccact gaggttgagg tttaagaagc cttgacagga cagccagcta 3420
aatggaacaa gagcccaggc aacgcacgga tgaccacagc tgcattctca tgcagtctct 3480
tgtttcctgg aactctgctg aacctgcaa aaccatattt gtgaatgtga ccacttaata 3540
gagatgggag actttt 3556

<210> 23
<211> 3363
<212> DNA
<213> Mus musculus

<400> 23
atgggtggac acagaatggt tcttcttggg ggtgctggat ctcttggtt taaaaggttt 60
gtccatctag gtttctttgt tgtggctgtg agctcacttc tcagtgcctc tgctgtcact 120
aacgctcctg gagaaatgaa gaaggaactg agactggcgg gtggtgaaa caactgtagt 180
gggagagtgg aacttaagat ccatgacaag tggggcacag tgtgcagtaa cggctggagc 240
atgaatgaag tgtccgtggg ttgccagcag ctgggatgcc caacttctat taaagccctt 300
ggatgggcta actccagcgc cggctctgga tatatctgga tggacaaagt ttcttgtaga 360
gggaatgagt cagctctttg ggactgcaa catgatgggt ggggaaagca taactgtacc 420
catgaaaaag atgctggagt gacctgctca gatggatcta atttggagat gagactgggt 480
aacagtgcgg gccaccgatg cttaggaaga gtagaaataa agttccaggg aaagtggggg 540
acggtgtgtg acgacaactt cagcaaagat cacgcttctg tgatttgtaa acagcttggg 600

85

470

tgtggaagtg	ccattagttt	ctctggctca	gctaaattgg	gagctggttc	tggaaccaatc	660
tggctcgatg	acctggcatg	caatggaaat	gagtcagctc	tctgggactg	caaacaccgg	720
ggatggggca	agcataactg	tgaccatgct	gaggatgtcg	gtgtgatttg	cttagaggga	780
gcagatctga	gcctgagact	agtggatgga	gtgtccagat	gttcaggaag	attggaagtg	840
agattccaag	gagaatgggg	gaccgtgtgt	gatgataact	gggatctccg	ggatgcttct	900
gtggtgtgca	agcaactggg	atgtccaact	gccatcagtg	ccattgggtcg	agttaatgcc	960
agtgagggat	ctggacagat	ttggcttgac	aacatttcat	gcgaaggaca	tgaggcaact	1020
ctttgggagt	gtaaacacca	agagtgggga	aagcattact	gtcatcatag	agaagacgct	1080
ggcgtgacat	gttctgatgg	agcagatctg	gaacttagac	ttgtagggtg	aggcagtcgc	1140
tgtgctggca	ttgtggaggt	ggagattcag	aagctgactg	ggaagatgtg	tagccgaggc	1200
tggacactgg	cagatgcgga	tgtggtttgc	agacagcttg	gatgtggatc	tgcgcttcaa	1260
accagggcta	agatctactc	taaaactggg	gcaacaaata	cgtaggctctt	tcctggatct	1320
tgtaatggaa	atgaaactac	tttttggcaa	tgcaaaaact	ggcagtgggg	cggcctttcc	1380
tgtgataatt	tcgaagaagc	caaagttacc	tgctcaggcc	acaggaacc	cagactgggt	1440
ggaggagaaa	tcccatgctc	tggctgtgtg	gaagtgaac	acggagacgt	gtggggctcc	1500
gtctgtgatt	ttgacttgtc	tctggaagct	gccagtgtgg	tgtgcaggga	attacaatgt	1560
ggaacagtcg	tctctatcct	agggggagca	catttttgag	aaggaagtgg	acagatctgg	1620
ggtgaagaat	tccagtgtag	tggggatgag	tcccatcttt	cactatgctc	agtggcgccc	1680
ccgctagaca	gaacttgtac	ccacagcagg	gatgtcagcg	tagtctgctc	acgatacata	1740
gatattcgtc	tggcaggcgg	cgagtcctcc	tgtgaggga	gagtggagct	caagacactc	1800
ggagcctggg	gtccccctctg	cagttctcat	tgggacatgg	aagatgctca	tgtcttatgt	1860
cagcagctga	agtgtgggg	tgccaatct	attccagaag	gagcacattt	tgggaaagga	1920
gctggtcagg	tctggagtca	catgttcac	tgactggaa	ctgaggaaca	tataggagat	1980
tgcctcatga	ctgctctggg	tgcgccgacg	tgttccgaag	gacaggtggc	ctctgtcatc	2040
tgtcaggaa	accaatccca	gacactattg	ccatgtagtt	cattgtctcc	agtccaaaca	2100
acaagctcta	caattccaaa	ggagagtga	gttccctgca	tagcaagtgg	ccagcttcgc	2160
ttggtaggtg	gaggtggtcg	ctgcgctgga	agagtggagg	tctaccacga	gggctcttgg	2220
ggcaccgtct	gtgatgacaa	ttgggatatg	actgatgcca	atgtggtgtg	caagcagctg	2280
gactgtggcg	tggcaattaa	cgccactggc	tctgcttact	tcggggaagg	agcaggagct	2340
atctggctag	acgaagtcac	ctgcactggg	aaagagtctc	atatttggca	gtgccattca	2400

466
491

catggctggg gacgccataa ctgcaggcac aaagaagatg caggtgttat ctgctccgag 2460
ttcatgtctc tgaggctgac caacgaagcc cacaaagaaa actgcacagg tcgccttgaa 2520
gtgtttttaca atggtacatg gggcagtatt ggcagtagca atatgtctcc aaccactgtg 2580
ggggtggtgt gccgtcagct gggctgtgca gacaacggga ctgtgaaacc cataccttca 2640
gacaagacac catccaggcc catgtgggta gatcgtgtgc agtgtccaaa aggagttgac 2700
actttgtggc agtgcccctc gtcaccttgg aaacagagac aggccagccc ctcctcccag 2760
gagtcctgga tcatctgtga caacaaaata agactccagg aagggcatac agactgttct 2820
ggacgtgtgg agatctggca caaaggttcc tggggaacag tgtgtgatga ctcctgggat 2880
cttaatgatg ctaaggttgt atgtaagcag ttgggctgtg gccaaagctgt gaaggcacta 2940
aaagaagcag catttggtcc aggaactggg cccatatggc tcaatgaaat taagtgtaga 3000
gggaatgagt cttccctgtg ggattgtcct gccaaaccgt ggagtcacag cgactgtggg 3060
cacaaagaag atgcttccat ccagtgcctc ccaaaaatga cttcagaatc acatcatggc 3120
acaggtcacc ccaccctcac ggcactcttg gtttgtggag ccattctatt ggtcctcctc 3180
attgtcttcc tcctgtggac tctgaagcga cgacagattc agcgacttac agtttcctca 3240
agaggagagg tcttgataca tcaagttcag taccaagaga tggattcaaa ggcggatgat 3300
ctggacttgc tgaaatcctc gggggtcatt cagaggcaca ctgagaagga aaatgataat 3360
tta 3363

<210> 24
<211> 1121
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 24

Met Gly Gly His Arg Met Val Leu Leu Gly Gly Ala Gly Ser Pro Gly
1 5 10 15

Cys Lys Arg Phe Val His Leu Gly Phe Phe Val Val Ala Val Ser Ser
20 25 30

Leu Leu Ser Ala Ser Ala Val Thr Asn Ala Pro Gly Glu Met Lys Lys
35 40 45

Glu Leu Arg Leu Ala Gly Gly Glu Asn Asn Cys Ser Gly Arg Val Glu
50 55 60

Leu Lys Ile His Asp Lys Trp Gly Thr Val Cys Ser Asn Gly Trp Ser
65 70 75 80

467

472

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

468

473

Ser Glu Gly Ser Gly Gln Ile Trp Leu Asp Asn Ile Ser Cys Glu Gly
325 330 335

His Glu Ala Thr Leu Trp Glu Cys Lys His Gln Glu Trp Gly Lys His
340 345 350

Tyr Cys His His Arg Glu Asp Ala Gly Val Thr Cys Ser Asp Gly Ala
355 360 365

Asp Leu Glu Leu Arg Leu Val Gly Gly Gly Ser Arg Cys Ala Gly Ile
370 375 380

Val Glu Val Glu Ile Gln Lys Leu Thr Gly Lys Met Cys Ser Arg Gly
385 390 395 400

Trp Thr Leu Ala Asp Ala Asp Val Val Cys Arg Gln Leu Gly Cys Gly
405 410 415

Ser Ala Leu Gln Thr Gln Ala Lys Ile Tyr Ser Lys Thr Gly Ala Thr
420 425 430

Asn Thr Trp Leu Phe Pro Gly Ser Cys Asn Gly Asn Glu Thr Thr Phe
435 440 445

Trp Gln Cys Lys Asn Trp Gln Trp Gly Gly Leu Ser Cys Asp Asn Phe
450 455 460

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

Gly Gly Glu Ile Pro Cys Ser Gly Arg Val Glu Val Lys His Gly Asp
485 490 495

Val Trp Gly Ser Val Cys Asp Phe Asp Leu Ser Leu Glu Ala Ala Ser
500 505 510

Val Val Cys Arg Glu Leu Gln Cys Gly Thr Val Val Ser Ile Leu Gly
515 520 525

Gly Ala His Phe Gly Glu Gly Ser Gly Gln Ile Trp Gly Glu Glu Phe
530 535 540

Gln Cys Ser Gly Asp Glu Ser His Leu Ser Leu Cys Ser Val Ala Pro
545 550 555 560

Pro Leu Asp Arg Thr Cys Thr His Ser Arg Asp Val Ser Val Val Cys

469

474

				565						570									575
Ser	Arg	Tyr	Ile	Asp	Ile	Arg	Leu	Ala	Gly	Gly	Glu	Ser	Ser	Cys	Glu				
			580					585					590						
Gly	Arg	Val	Glu	Leu	Lys	Thr	Leu	Gly	Ala	Trp	Gly	Pro	Leu	Cys	Ser				
		595					600					605							
Ser	His	Trp	Asp	Met	Glu	Asp	Ala	His	Val	Leu	Cys	Gln	Gln	Leu	Lys				
	610					615					620								
Cys	Gly	Val	Ala	Gln	Ser	Ile	Pro	Glu	Gly	Ala	His	Phe	Gly	Lys	Gly				
625					630					635					640				
Ala	Gly	Gln	Val	Trp	Ser	His	Met	Phe	His	Cys	Thr	Gly	Thr	Glu	Glu				
			645						650					655					
His	Ile	Gly	Asp	Cys	Leu	Met	Thr	Ala	Leu	Gly	Ala	Pro	Thr	Cys	Ser				
			660					665					670						
Glu	Gly	Gln	Val	Ala	Ser	Val	Ile	Cys	Ser	Gly	Asn	Gln	Ser	Gln	Thr				
		675					680					685							
Leu	Leu	Pro	Cys	Ser	Ser	Leu	Ser	Pro	Val	Gln	Thr	Thr	Ser	Ser	Thr				
	690					695					700								
Ile	Pro	Lys	Glu	Ser	Glu	Val	Pro	Cys	Ile	Ala	Ser	Gly	Gln	Leu	Arg				
705					710					715					720				
Leu	Val	Gly	Gly	Gly	Gly	Arg	Cys	Ala	Gly	Arg	Val	Glu	Val	Tyr	His				
			725						730					735					
Glu	Gly	Ser	Trp	Gly	Thr	Val	Cys	Asp	Asp	Asn	Trp	Asp	Met	Thr	Asp				
		740						745					750						
Ala	Asn	Val	Val	Cys	Lys	Gln	Leu	Asp	Cys	Gly	Val	Ala	Ile	Asn	Ala				
		755					760					765							
Thr	Gly	Ser	Ala	Tyr	Phe	Gly	Glu	Gly	Ala	Gly	Ala	Ile	Trp	Leu	Asp				
	770				775							780							
Glu	Val	Ile	Cys	Thr	Gly	Lys	Glu	Ser	His	Ile	Trp	Gln	Cys	His	Ser				
785					790					795					800				
His	Gly	Trp	Gly	Arg	His	Asn	Cys	Arg	His	Lys	Glu	Asp	Ala	Gly	Val				
			805						810					815					

470

475

Ile Cys Ser Glu Phe Met Ser Leu Arg Leu Thr Asn Glu Ala His Lys
820 825 830

Glu Asn Cys Thr Gly Arg Leu Glu Val Phe Tyr Asn Gly Thr Trp Gly
835 840 845

Ser Ile Gly Ser Ser Asn Met Ser Pro Thr Thr Val Gly Val Val Cys
850 855 860

Arg Gln Leu Gly Cys Ala Asp Asn Gly Thr Val Lys Pro Ile Pro Ser
865 870 875 880

Asp Lys Thr Pro Ser Arg Pro Met Trp Val Asp Arg Val Gln Cys Pro
885 890 895

Lys Gly Val Asp Thr Leu Trp Gln Cys Pro Ser Ser Pro Trp Lys Gln
900 905 910

Arg Gln Ala Ser Pro Ser Ser Gln Glu Ser Trp Ile Ile Cys Asp Asn
915 920 925

Lys Ile Arg Leu Gln Glu Gly His Thr Asp Cys Ser Gly Arg Val Glu
930 935 940

Ile Trp His Lys Gly Ser Trp Gly Thr Val Cys Asp Asp Ser Trp Asp
945 950 955 960

Leu Asn Asp Ala Lys Val Val Cys Lys Gln Leu Gly Cys Gly Gln Ala
965 970 975

Val Lys Ala Leu Lys Glu Ala Ala Phe Gly Pro Gly Thr Gly Pro Ile
980 985 990

Trp Leu Asn Glu Ile Lys Cys Arg Gly Asn Glu Ser Ser Leu Trp Asp
995 1000 1005

Cys Pro Ala Lys Pro Trp Ser His Ser Asp Cys Gly His Lys Glu
1010 1015 1020

Asp Ala Ser Ile Gln Cys Leu Pro Lys Met Thr Ser Glu Ser His
1025 1030 1035

His Gly Thr Gly His Pro Thr Leu Thr Ala Leu Leu Val Cys Gly
1040 1045 1050

775

476

Ala Ile Leu Leu Val Leu Leu Ile Val Phe Leu Leu Trp Thr Leu
1055 1060 1065

Lys Arg Arg Gln Ile Gln Arg Leu Thr Val Ser Ser Arg Gly Glu
1070 1075 1080

Val Leu Ile His Gln Val Gln Tyr Gln Glu Met Asp Ser Lys Ala
1085 1090 1095

Asp Asp Leu Asp Leu Leu Lys Ser Ser Gly Val Ile Gln Arg His
1100 1105 1110

Thr Glu Lys Glu Asn Asp Asn Leu
1115 1120

<210> 25
<211> 3639
<212> DNA
<213> Mus musculus

<400> 25
gcttttggaaat ggggtggacac agaatgggtc ttcttggagg tgctggatct cctgggttgta 60
aaagggtttgt ccactctagggt ttctttgttg tggctgtgag ctcaacttctc agtgcctctg 120
ctgtcactaa cgctcctgga gaaatgaaga aggaactgag actggcgggt ggtgaaaaca 180
actgtagtgg gagagtggaa cttaatgatcc atgacaagtg gggcacagtg tgcagtaacg 240
gctggagcat gaatgaagtg tccgtgggtt gccagcagct gggatgcca acttctatta 300
aagcccttgg atgggctaac tccagcgccg gctctggata tatctggatg gacaaagttt 360
cttgtacagg gaatgagtca gctctttggg actgcaaaca tgatgggtgg ggaaagcata 420
actgtaccca tgaaaaagat gctggagtga cctgctcaga tggatctaata ttggagatga 480
gactggtgaa cagtgcgggc caccgatgct taggaagagt agaaataaag ttccagggaa 540
agtgggggac ggtgtgtgac gacaacttca gcaaagatca cgcttctgtg atttgtaaac 600
agcttggatg tggaagtgcc attagtttct ctggctcagc taaattggga gctggttctg 660
gaccaatctg gctcgatgac ctggcatgca atggaaatga gtcagctctc tgggactgca 720
aacaccgggg atggggcaag cataactgtg accatgctga ggatgtcggg gtgatttgct 780
tagagggagc agatctgagc ctgagactag tggatggagt gtccagatgt tcaggaagat 840
tggaagtgag attccaagga gaatggggga ccgtgtgtga tgataactgg gatctccggg 900
atgcttctgt ggtgtgcaag caactgggat gtccaactgc catcagtgcc attggtcgag 960
ttaatgccag tgagggatct ggacagattt ggcttgacaa catttcatgc gaaggacatg 1020

A72

477

aggcaactct	ttgggagtg	aaacaccaag	agtggggaaa	gcattactgt	catcatagag	1080
aagacgctgg	cgtgacatgt	tctgatggag	cagatctgga	acttagactt	gtaggtggag	1140
gcagtcgctg	tgctggcatt	gtggaggtgg	agattcagaa	gctgactggg	aagatgtgta	1200
gccgaggctg	gacactggca	gatgcggatg	tggtttgag	acagcttgga	tgtggatctg	1260
cgcttcaaac	ccaggctaag	atctactcta	aaactggggc	aacaaatacg	tggctctttc	1320
ctggatcttg	taatggaaat	gaaactactt	tttggcaatg	caaaaactgg	cagtggggcg	1380
gcctttcctg	tgataatttc	gaagaagcca	aagttacctg	ctcaggccac	agggaaaccca	1440
gactgggttg	aggagaaatc	ccatgctctg	gtcgtgtgga	aatgaaacac	ggagacgtgt	1500
ggggctccgt	ctgtgatttt	gacttgtctc	tggagctgc	cagtgtggtg	tgcagggaat	1560
tacaatgtgg	aacagtcgtc	tctatcctag	ggggagcaca	ttttggagaa	ggaagtggac	1620
agatctgggg	tgaagaattc	cagtgtagtg	gggatgagtc	ccatctttca	ctatgctcag	1680
tggcgcccc	gctagacaga	acttgtaccc	acagcaggga	tgtcagcgta	gtctgctcac	1740
gatacataga	tattcgtctg	gcaggcggcg	agtcctcctg	tgagggaaga	gtggagctca	1800
agacactcgg	agcctgggg	cccctctgca	gttctcattg	ggacatggaa	gatgctcatg	1860
tcctatgtca	gcagctgaag	tgtgggggtg	cccaatctat	tccagaagga	gcacattttg	1920
ggaaaggagc	tggtcaggtc	tggagtcaca	tgttccactg	cactggaact	gaggaacata	1980
taggagattg	cctcatgact	gctctgggtg	cgccgacgtg	ttccgaagga	caggtggcct	2040
ctgtcatctg	ctcaggaaac	caatcccaga	cactattgcc	atgtagttca	ttgtctccag	2100
tccaaacaac	aagctctaca	attccaaagg	agagtgaagt	tccctgcata	gcaagtggcc	2160
agcttcgctt	ggtaggtgga	ggtggctcgt	gcgctggaag	agtggaggtc	taccacgagg	2220
gctcttgggg	caccgtctgt	gatgacaatt	gggatatgac	tgatgccaat	gtggtgtgca	2280
agcagctgga	ctgtggcgtg	gcaattaacg	ccactggctc	tgcttacttc	ggggaaggag	2340
caggagctat	ctggctagac	gaagtcatct	gcactgggaa	agagtctcat	atttggcagt	2400
gccattcaca	tggctgggga	cgccataact	gcaggcacaa	agaagatgca	ggtgttatct	2460
gctccgagtt	catgtctctg	aggctgacca	acgaagccca	caaagaaaac	tgcacaggtc	2520
gccttgaagt	gttttacaat	ggtacatggg	gcagtattgg	cagtagcaat	atgtctccaa	2580
ccactgtggg	ggtggtgtgc	cgtcagctgg	gctgtgcaga	caacgggact	gtgaaaccca	2640
taccttcaga	caagacacca	tccaggccca	tgtgggtaga	tcgtgtgcag	tgtccaaaag	2700
gagttgacac	tttgtggcag	tgcccctcgt	caccttgga	acagagacag	gccagcccct	2760
cctcccagga	gtcctggatc	atctgtgaca	acaaaataag	actccaggaa	gggcatacag	2820
actgttctgg	acgtgtggag	atctggcaca	aaggttcctg	gggaacagtg	tgtgatgact	2880

```
cctgggatct taatgatgct aaggttgtat gtaagcagtt gggctgtggc caagctgtga 2940
aggcactaaa agaagcagca tttgggtccag gaactgggcc catatggctc aatgaaatta 3000
agtgtagagg gaatgagtct tccctgtggg attgtcctgc caaacctggg agtcacagcg 3060
actgtgggca caaagaagat gcttccatcc agtgcctccc caaatgact tcagaatcac 3120
atcatggcac aggtcacccc accctcacgg cactcttggg ttgtggagcc attctattgg 3180
tcctcctcat tgtcttcctc ctgtggactc tgaagcgacg acagattcag cgacttacag 3240
tttctcaag aggagagggtc ttgatacatc aagttcagta ccaagagatg gattcaaagg 3300
cggatgatct ggacttgctg aaatcctcgg aaaattccaa caattcatat gattttaatg 3360
atgatggact gacatctttg tctaaatc ttcctatttc tggaattaaa aaggggtcat 3420
tcagaggcac actgagaagg aaaatgataa ttataatcc actgagggtg gagtttaaga 3480
agccttgaca ggacagccag cttaatggaa caagagccca ggcaacgcac ggatgaccac 3540
agctgcatct tcatgcagtc ctttgtttcc tggaactctg ctgaacctgc aaaaaccata 3600
tttgtgaatg tgaccactta atagagatgg gagactttt 3639
```

```
<210> 26
<211> 3477
<212> DNA
<213> Mus musculus
```

```
<400> 26
atgggtggac acagaatggt tcttcttggg ggtgctggat ctcttggtt taaaaggttt 60
gtccatctag gtttctttgt tgtggctgtg agctcacttc tcagtgcctc tgctgtcact 120
aacgctcctg gagaaatgaa gaaggaactg agactggcgg gtggtgaaaa caactgtagt 180
gggagagtgg aacttaagat ccatgacaag tggggcacag tgtgcagtaa cggctggagc 240
atgaatgaag tgtccgtggg ttgccagcag ctgggatgcc caacttctat taaagccctt 300
ggatgggcta actccagcgc cggctctgga tatatctgga tggacaaagt ttcttgtaca 360
gggaatgagt cagctctttg ggactgcaa catgatgggt ggggaaagca taactgtacc 420
catgaaaaag atgctggagt gacctgctca gatggatcta atttggagat gagactggtg 480
aacagtgcgg gccaccgatg cttaggaaga gtagaaataa agttccaggg aaagtggggg 540
acggtgtgtg acgacaactt cagcaaagat cacgcttctg tgatttgtaa acagcttgga 600
tgtggaagtg ccattagttt ctctggctca gctaaattgg gagctgggtc tggaccaatc 660
tggctcgatg acctggcatg caatggaaat gagtcagctc tctgggactg caaacaccgg 720
ggatggggca agcataactg tgaccatgct gaggatgtcg gtgtgatttg cttagagggg 780
gcagatctga gcctgagact agtggatgga gtgtccagat gttcaggaag attggaagtg 840
```

47A

479

agattccaag	gagaatgggg	gaccgtgtgt	gatgataact	gggatctccg	ggatgcttct	900
gtgggtgtgca	agcaactggg	atgtccaact	gccatcagtg	ccattgggtcg	agttaatgcc	960
agtgagggat	ctggacagat	ttggcttgac	aacatttcat	gcgaaggaca	tgaggcaact	1020
ctttgggagt	gtaaacacca	agagtgggga	aagcattact	gtcatcatag	agaagacgct	1080
ggcgtgacat	gttctgatgg	agcagatctg	gaacttagac	ttgtagggtgg	aggcagtcgc	1140
tgtgctggca	ttgtggaggt	ggagattcag	aagctgactg	ggaagatgtg	tagccgaggc	1200
tggacactgg	cagatgcgga	tgtggtttgc	agacagcttg	gatgtggatc	tgcgcttcaa	1260
accagggcta	agatctactc	taaaactggg	gcaacaaata	cgtggctctt	tcctggatct	1320
tgtaatggaa	atgaaactac	tttttggcaa	tgcaaaaact	ggcagtgggg	cggcctttcc	1380
tgtgataatt	tcgaagaagc	caaagttacc	tgctcaggcc	acagggaaacc	cagactggtt	1440
ggaggagaaa	tcccatgctc	tggtcgtgtg	gaaatgaaac	acgggagacgt	gtggggctcc	1500
gtctgtgatt	ttgacttgtc	tctggaagct	gccagtgtgg	tgtgcaggga	attacaatgt	1560
ggaacagtcg	tctctatcct	agggggagca	cattttggag	aaggaagtgg	acagatctgg	1620
ggtgaagaat	tccagtgtag	tggggatgag	tcccatcttt	cactatgctc	agtggcgccc	1680
ccgctagaca	gaacttgtac	ccacagcagg	gatgtcagcg	tagtctgctc	acgatacata	1740
gatattcgtc	tggcaggcgg	cgagtcctcc	tgtgagggaa	gagtggagct	caagacactc	1800
ggagcctggg	gtcccctctg	cagttctcat	tgggacatgg	aagatgctca	tgtcttatgt	1860
cagcagctga	agtgtggggg	tgcccaatct	attccagaag	gagcacattt	tgggaaagga	1920
gctggtcagg	tctggagtca	catgttccac	tgcaactgga	ctgaggaaca	tataggagat	1980
tgccctcatga	ctgctctggg	tgcgccgacg	tgttccgaag	gacagggtggc	ctctgtcatc	2040
tgctcaggaa	accaatccca	gacactattg	ccatgtagtt	cattgtctcc	agtccaaaca	2100
acaagctcta	caattccaaa	ggagagtga	gttccctgca	tagcaagtgg	ccagcttcgc	2160
ttggtaggtg	gaggtggtcg	ctgcgctgga	agagtggagg	tctaccacga	gggctcttgg	2220
ggcaccgtct	gtgatgacaa	ttgggatatg	actgatgcca	atgtggtgtg	caagcagctg	2280
gactgtggcg	tggcaattaa	cgccactggc	tctgcttact	tcggggaagg	agcaggagct	2340
atctggctag	acgaagtcac	ctgcactggg	aaagagtctc	atatttggca	gtgccattca	2400
catggctggg	gacgccataa	ctgcaggcac	aaagaagatg	caggtgttat	ctgctccgag	2460
ttcatgtctc	tgaggctgac	caacgaagcc	cacaaagaaa	actgcacagg	tcgccttgaa	2520
gtgttttaca	atggtacatg	gggcagtatt	ggcagtagca	atatgtctcc	aaccactgtg	2580
ggggtggtgt	gccgtcagct	gggctgtgca	gacaacggga	ctgtgaaacc	catacettca	2640

gacaagacac catccaggcc catgtgggta gatcgtgtgc agtgtccaaa aggagttgac 2700
actttgtggc agtggccctc gtcaccttgg aaacagagac aggccagccc ctctcccag 2760
gagtctgga tcatctgtga caacaaaata agactccagg aagggcatac agactgttct 2820
ggacgtgtgg agatctggca caaagggtcc tggggaacag tgtgtgatga ctctgggat 2880
cttaatgatg ctaaggttgt atgtaagcag ttgggctgtg gccaagctgt gaaggcacta 2940
aaagaagcag catttgggtcc aggaactggg cccatatggc tcaatgaaat taagtgtaga 3000
gggaatgagt cttccctgtg ggattgtcct gccaaaccgt ggagtcacag cgactgtggg 3060
cacaaagaag atgcttccat ccagtgcctc cccaaaatga cttcagaatc acatcatggc 3120
acaggtcacc ccaccctcac ggcactcttg gtttgtggag ccattctatt ggtcctcctc 3180
attgtcttcc tcctgtggac tctgaagcga cgacagattc agcgacttac agtttcctca 3240
agaggagagg tcttgataca tcaagttcag taccaagaga tggattcaaa ggcggatgat 3300
ctggacttgc tgaatcctc ggaaaattcc aacaattcat atgattttaa tgatgatgga 3360
ctgacatctt tgtctaaata tottctatt tctggaatta aaaaggggtc attcagaggc 3420
aactgagaa ggaaaatgat aatttataat ccactgaggt tggagttaa gaagcct 3477

<210> 27
<211> 1159
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 27

Met Gly Gly His Arg Met Val Leu Leu Gly Gly Ala Gly Ser Pro Gly
1 5 10 15

Cys Lys Arg Phe Val His Leu Gly Phe Phe Val Val Ala Val Ser Ser
20 25 30

Leu Leu Ser Ala Ser Ala Val Thr Asn Ala Pro Gly Glu Met Lys Lys
35 40 45

Glu Leu Arg Leu Ala Gly Gly Glu Asn Asn Cys Ser Gly Arg Val Glu
50 55 60

Leu Lys Ile His Asp Lys Trp Gly Thr Val Cys Ser Asn Gly Trp Ser
65 70 75 80

Met Asn Glu Val Ser Val Val Cys Gln Gln Leu Gly Cys Pro Thr Ser
85 90 95

Ile Lys Ala Leu Gly Trp Ala Asn Ser Ser Ala Gly Ser Gly Tyr Ile

275

480

476

481

100	105	110
Trp Met Asp Lys Val Ser Cys Thr Gly Asn Glu Ser Ala Leu Trp Asp 115 120 125		
Cys Lys His Asp Gly Trp Gly Lys His Asn Cys Thr His Glu Lys Asp 130 135 140		
Ala Gly Val Thr Cys Ser Asp Gly Ser Asn Leu Glu Met Arg Leu Val 145 150 155 160		
Asn Ser Ala Gly His Arg Cys Leu Gly Arg Val Glu Ile Lys Phe Gln 165 170 175		
Gly Lys Trp Gly Thr Val Cys Asp Asp Asn Phe Ser Lys Asp His Ala 180 185 190		
Ser Val Ile Cys Lys Gln Leu Gly Cys Gly Ser Ala Ile Ser Phe Ser 195 200 205		
Gly Ser Ala Lys Leu Gly Ala Gly Ser Gly Pro Ile Trp Leu Asp Asp 210 215 220		
Leu Ala Cys Asn Gly Asn Glu Ser Ala Leu Trp Asp Cys Lys His Arg 225 230 235 240		
Gly Trp Gly Lys His Asn Cys Asp His Ala Glu Asp Val Gly Val Ile 245 250 255		
Cys Leu Glu Gly Ala Asp Leu Ser Leu Arg Leu Val Asp Gly Val Ser 260 265 270		
Arg Cys Ser Gly Arg Leu Glu Val Arg Phe Gln Gly Glu Trp Gly Thr 275 280 285		
Val Cys Asp Asp Asn Trp Asp Leu Arg Asp Ala Ser Val Val Cys Lys 290 295 300		
Gln Leu Gly Cys Pro Thr Ala Ile Ser Ala Ile Gly Arg Val Asn Ala 305 310 315 320		
Ser Glu Gly Ser Gly Gln Ile Trp Leu Asp Asn Ile Ser Cys Glu Gly 325 330 335		
His Glu Ala Thr Leu Trp Glu Cys Lys His Gln Glu Trp Gly Lys His 340 345 350		

477

482

Tyr Cys His His Arg Glu Asp Ala Gly Val Thr Cys Ser Asp Gly Ala
355 360 365

Asp Leu Glu Leu Arg Leu Val Gly Gly Gly Ser Arg Cys Ala Gly Ile
370 375 380

Val Glu Val Glu Ile Gln Lys Leu Thr Gly Lys Met Cys Ser Arg Gly
385 390 395 400

Trp Thr Leu Ala Asp Ala Asp Val Val Cys Arg Gln Leu Gly Cys Gly
405 410 415

Ser Ala Leu Gln Thr Gln Ala Lys Ile Tyr Ser Lys Thr Gly Ala Thr
420 425 430

Asn Thr Trp Leu Phe Pro Gly Ser Cys Asn Gly Asn Glu Thr Thr Phe
435 440 445

Trp Gln Cys Lys Asn Trp Gln Trp Gly Gly Leu Ser Cys Asp Asn Phe
450 455 460

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

Gly Gly Glu Ile Pro Cys Ser Gly Arg Val Glu Met Lys His Gly Asp
485 490 495

Val Trp Gly Ser Val Cys Asp Phe Asp Leu Ser Leu Glu Ala Ala Ser
500 505 510

Val Val Cys Arg Glu Leu Gln Cys Gly Thr Val Val Ser Ile Leu Gly
515 520 525

Gly Ala His Phe Gly Glu Gly Ser Gly Gln Ile Trp Gly Glu Glu Phe
530 535 540

Gln Cys Ser Gly Asp Glu Ser His Leu Ser Leu Cys Ser Val Ala Pro
545 550 555 560

Pro Leu Asp Arg Thr Cys Thr His Ser Arg Asp Val Ser Val Val Cys
565 570 575

Ser Arg Tyr Ile Asp Ile Arg Leu Ala Gly Gly Glu Ser Ser Cys Glu
580 585 590

2978
483

Gly	Arg	Val	Glu	Leu	Lys	Thr	Leu	Gly	Ala	Trp	Gly	Pro	Leu	Cys	Ser		
		595					600					605					
Ser	His	Trp	Asp	Met	Glu	Asp	Ala	His	Val	Leu	Cys	Gln	Gln	Leu	Lys		
		610				615					620						
Cys	Gly	Val	Ala	Gln	Ser	Ile	Pro	Glu	Gly	Ala	His	Phe	Gly	Lys	Gly		
		625			630					635					640		
Ala	Gly	Gln	Val	Trp	Ser	His	Met	Phe	His	Cys	Thr	Gly	Thr	Glu	Glu		
				645					650					655			
His	Ile	Gly	Asp	Cys	Leu	Met	Thr	Ala	Leu	Gly	Ala	Pro	Thr	Cys	Ser		
			660					665					670				
Glu	Gly	Gln	Val	Ala	Ser	Val	Ile	Cys	Ser	Gly	Asn	Gln	Ser	Gln	Thr		
		675					680					685					
Leu	Leu	Pro	Cys	Ser	Ser	Leu	Ser	Pro	Val	Gln	Thr	Thr	Ser	Ser	Thr		
		690				695					700						
Ile	Pro	Lys	Glu	Ser	Glu	Val	Pro	Cys	Ile	Ala	Ser	Gly	Gln	Leu	Arg		
		705			710					715					720		
Leu	Val	Gly	Gly	Gly	Gly	Arg	Cys	Ala	Gly	Arg	Val	Glu	Val	Tyr	His		
			725						730					735			
Glu	Gly	Ser	Trp	Gly	Thr	Val	Cys	Asp	Asp	Asn	Trp	Asp	Met	Thr	Asp		
			740					745					750				
Ala	Asn	Val	Val	Cys	Lys	Gln	Leu	Asp	Cys	Gly	Val	Ala	Ile	Asn	Ala		
		755					760					765					
Thr	Gly	Ser	Ala	Tyr	Phe	Gly	Glu	Gly	Ala	Gly	Ala	Ile	Trp	Leu	Asp		
			770			775					780						
Glu	Val	Ile	Cys	Thr	Gly	Lys	Glu	Ser	His	Ile	Trp	Gln	Cys	His	Ser		
		785			790					795					800		
His	Gly	Trp	Gly	Arg	His	Asn	Cys	Arg	His	Lys	Glu	Asp	Ala	Gly	Val		
			805						810					815			
Ile	Cys	Ser	Glu	Phe	Met	Ser	Leu	Arg	Leu	Thr	Asn	Glu	Ala	His	Lys		
			820					825					830				

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

279

484

~~482~~
485

1070	1075	1080
Val Leu Ile His Gln Val Gln Tyr Gln Glu Met Asp Ser Lys Ala 1085 1090 1095		
Asp Asp Leu Asp Leu Leu Lys Ser Ser Glu Asn Ser Asn Asn Ser 1100 1105 1110		
Tyr Asp Phe Asn Asp Asp Gly Leu Thr Ser Leu Ser Lys Tyr Leu 1115 1120 1125		
Pro Ile Ser Gly Ile Lys Lys Gly Ser Phe Arg Gly Thr Leu Arg 1130 1135 1140		
Arg Lys Met Ile Ile Tyr Asn Pro Leu Arg Leu Glu Phe Lys Lys 1145 1150 1155		

Pro

<210> 28
<211> 26
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> PCR Primer

<400> 28
caccggaatg agcaaactca gaatgg 26

<210> 29
<211> 40
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> PCR Primer

<400> 29
tgctccggta cctagtccag gtcttcatca aggtatctta 40

<210> 30
<211> 3414
<212> DNA
<213> African green monkey

<400> 30
atgagcaaac tcagaatggt gctacttgaa gactctggat ctgctgacgt cagaagacat 60

tttgtcaact tgagtccctt cactattgct gtgggtcttac ttctccgtgc ctgttttgtc 120

485

486

accagttctc ttggaggaac aaccaaggag ctgaggctag tggatggtga aaacaagtgt	180
agtgggagag tggaagtga aatccaggag gagtgggaa cgggtgtgtaa taatggctgg	240
agcatggaag cagtctctgt gatttgtaac cagctgggat gtccaactgc tatcaaagcc	300
actggatggg ctaattccag tgcaggttct ggacgcattt ggatggatca tgtttcttgt	360
cgtgggaatg agtcagctct ttgggactgc aaacatgatg gatggggaaa gcatagtaac	420
tgtactcacc aacaagatgc tggagtgact tgctcagatg gatccgattt ggaaatgagg	480
ctgacgaatg gagggaaat gtgttctgga agaatagaga tcaaattcca aggacagtgg	540
ggaacagtgt gtgatgataa cttcaacatc aatcatgcat ctgtggtttg taaacaactt	600
gaatgtggaa gtgctgtcag tttctctggt tcagctaatt ttggagaagg ctctggacca	660
atctggtttg atgatcttat atgcaacgga aatgagtcag ctctctggaa ctgcaaacat	720
caaggatggg gaaagcataa ctgtgatcat gctgaggatg ctggagtgat ttgctcaaag	780
ggagcagatc tgagcctgag actggtagat ggagtcactg aatgttcagg aagattagaa	840
gtgagattcc aaggagaatg ggggacaata tgtgatgacg gctgggacag tcatgatgct	900
gctgtggcat gcaagcaact gggatgtcca actgctatca ccgccattgg tcgagttaac	960
gccagtgagg gatttggaaca catctggctt gacagtgttt cttgccaggg acatgaacct	1020
gcggtctggc aatgtaaaca ccatgaatgg ggaaagcatt attgcaatca caatgaagat	1080
gctggcgtaa catgttctga tggatcagat ctggagctaa gacttagagg tggaggcagc	1140
cgtgtgtctg ggacagttga ggtggagatt cagagactgt tagggaaggt gtgtgacaga	1200
ggctggggac tgaaagaagc tgatgtggtt tgcaggcagc tgggatgtgg atctgcactc	1260
aaaacatcct atcaagtata ctccaaaatc caggcaacaa acatgtggct gtttctaagt	1320
agctgtaacg gaaatgaaac ttctcttttg gactgcaaga actggcaatg gggaggactt	1380
acctgtgatc actatgaaga agccaaaatt acctgtcag cccacaggga acccagactg	1440
gttggaggag acattccctg ttctggacgc gttgaagtga agcatgggtga cacatggggc	1500
tccgtctgtg attcggattt ctctctggaa gctgccagcg ttctatgcag ggaattacag	1560
tgtggcacag tcgtctctat cctgggggga gctcactttg gagagggaaa tggacagatc	1620
tgggctgaag aattccagtg tgagggacat gagtcccatc tttcactctg cccagtagca	1680
ccccgccag aaggaaactg tagccacagc agggatgttg gagtagtctg ctcaagatac	1740
acagaaattc gcttggtgaa tggcaagacc ccatgtgagg gcagagtgga gctcaaaacg	1800
cttaatgcct ggggatccct ctgcaactct cactgggaca tagaagatgc ccacgttctt	1860
tgccaacaac ttaaagtgg agttgccctt tctaccccag gaggagcaca ttttgaaaaa	1920
ggaaatggtc aggtctggag gcatatgttt cactgcactg ggactgagca gcacatggga	1980

482

487

gattgtcctg taactgctct gggtgcttca ctatgtcctt cagggcaagt ggcctctgta 2040
at ttgtctcag gaaaccagtc ccaaactctg tctctgtgca attcatcatc tctgggcccc 2100
acaaggccta ccattccaga agaaagtgtc gtggcctgca tagagagtgg tcaacttcgc 2160
ttggtaaata gaggaggtcg ctgtgctggg agagtagaga tttatcatga gggctcctgg 2220
ggcaccatct gtgatgacag ctgggacctg agcgatgcc acgtgggtgtg cagacagctg 2280
ggctgtggag aggccattaa tgccactggg tctgtctcatt ttggagaagg aacagggccc 2340
atctggctgg atgagatgaa atgcaatgga aaagaatccc gcatttggca gtgccattca 2400
catggctggg ggcagcaaaa ctgcaggcac aaggaggatg caggagtatt ctgctcagag 2460
ttcatgtctc tgagactgac cagtgaagcc agcagagagg cctgtgcagg gcgtctagaa 2520
gttttttaca acggagcttg gggcagtggt ggcaggagta acatgtctga aaccactgtg 2580
gggtgtggtg gcaggcagct gggctgtgca gacaaagga aaatcaaccc tgcattctta 2640
gacaaggcca tgtccattcc catgtgggtg gacaatgttc agtgtccaaa aggacctgac 2700
acgtgtggc agtgcccatc atctccatgg gagaagagac tggccaggcc ctcgaggag 2760
acctggatca catgtgacaa caagatgaga ctacaagaag gaccacttc ctgttctgga 2820
cgtgtggaga tctggcacgg aggttctctg gggacagtgt gtgatgactc ctgggacttg 2880
aacgatgctc aggtggtgtg tcaacaactt ggctgtggtc cagctttgaa agcattcaaa 2940
gaagcagagt ttggtcaggg gactggacct atatggctca atgaagtga gtgcaaagg 3000
aatgagtctt ccttgtggga ttgtcctgcc agacgtggg gccacagtga gtgtggacac 3060
aaggaagacg ctgcagtga ttgcacagat atttcaacga acaaaacccc acaaaaagcc 3120
acaacaggtc agtcatccct tattgcagtc ggaatccttg gagttgttct cttggtcatt 3180
ttcgtcgcac tattcttgac tcaaaagcga agacagagac agcggcttac agtttcctca 3240
agaggagaga acttagtcca ccaaattcaa taccgggaga tgaattcttg cctgaatgca 3300
gatgatctgg acctaatgaa ttctcagga ggccattctg aggcacactg aaaaggaaaa 3360
tggaatttta taaccagtg agccttgaag ataccttgat gaagacctgg acta 3414

<210> 31
<211> 3348
<212> DNA
<213> African green monkey

<400> 31
atgagcaaac tcagaatggg gctacttgaa gactctggat ctgctgacgt cagaagacat 60
tttgtcaact tgagtccctt cactattgct gtggctttac ttctccgtgc ctgttttctc 120
accagttctc ttggagggaac aaccaaggag ctgaggctag tggatggtga aaacaagtgt 180

483
488

agtgggagag	tggaagtgaa	aatccaggag	gagtggggaa	cggtgtgtaa	taatggctgg	240
agcatggaag	cagtctctgt	gatttgtaac	cagctgggat	gtccaactgc	tatcaaagcc	300
actggátggg	ctaattccag	tgcaggttct	ggacgcattt	ggatggatca	tgtttcttgt	360
cgtgggaatg	agtcagctct	ttgggactgc	aaacatgatg	gatggggaaa	gcatagtaac	420
tgtactcacc	aacaagatgc	tggagtgact	tgctcagatg	gatccgattt	ggaaatgagg	480
ctgacgaatg	gagggaaatat	gtgttctgga	agaatagaga	tcaaattcca	aggacagtgg	540
ggaacagtgt	gtgatgataa	cttcaacatc	aatcatgcat	ctgtggtttg	taaacaactt	600
gaatgtggaa	gtgctgtcag	tttctctggt	tcagctaatt	ttggagaagg	ctctggacca	660
atctggtttg	atgatcttat	atgcaacgga	aatgagtcag	ctctctggaa	ctgcaaacat	720
caaggatggg	gaaagcataa	ctgtgatcat	gctgaggatg	ctggagtgat	ttgctcaaag	780
ggagcagatc	tgagcctgag	actggtagat	ggagtcactg	aatgttcagg	aagattagaa	840
gtgagattcc	aaggagaatg	ggggacaata	tgtgatgacg	gctgggacag	tcatgatgct	900
gctgtggcat	gcaagcaact	gggatgtcca	actgctatca	ccgccattgg	tcgagttaac	960
gccagtgagg	gatttggaac	catctggctt	gacagtgttt	cttgccaggg	acatgaacct	1020
gcggtctggc	aatgtaaaca	ccatgaatgg	ggaaagcatt	attgcaatca	caatgaagat	1080
gctggcgtaa	catgttctga	tggatcagat	ctggagctaa	gacttagagg	tggaggcagc	1140
cgctgtgctg	ggacagttga	ggtggagatt	cagagactgt	tagggaaggt	gtgtgacaga	1200
ggctggggac	tgaagaagc	tgatgtggtt	tgcaggcagc	tgggatgtgg	atctgcactc	1260
aaaacatcct	atcaagtata	ctccaaaatc	caggcaacaa	acatgtggct	gtttctaagt	1320
agctgtaacg	gaaatgaaac	ttctcttttg	gactgcaaga	actggcaatg	gggtggactt	1380
acctgtgatc	actatgaaga	agccaaaatt	acctgctcag	cccacaggga	accagactg	1440
gttggaggag	acattccctg	ttctggacgc	gttgaagtga	agcatggtga	cacatggggc	1500
tccgtctgtg	attcggattt	ctctctggaa	gctgccagcg	ttctatgcag	ggaattacag	1560
tgtggcacag	tcgtctctat	cctgggggga	gctcactttg	gagagggaaa	tggacagatc	1620
tgggctgaag	aattccagtg	tgagggacat	gagtcccatc	tttcactctg	cccagtagca	1680
ccccgcccag	aaggaaactg	tagccacagc	agggatgttg	gagtagtctg	ctcaagatac	1740
acagaaattc	gcttggtgaa	tggcaagacc	ccatgtgagg	gcagagtgga	gctcaaaacg	1800
cttaatgcct	ggggatccct	ctgcaactct	cactgggaca	tagaagatgc	ccacgttctt	1860
tgccaacaac	ttaaagtgtg	agttgccctt	tctaccccag	gaggagcaca	ttttggaaaa	1920
ggaaatggtc	aggtctggag	gcatatgttt	cactgcactg	ggactgagca	gcacatggga	1980

284

4-89

gattgtcctg taactgctct ggggtgcttca ctatgtcctt cagggcaagt ggcctctgta 2040
atttgctcag gaaaccagtc ccaaacactg tcctcgtgca attcatcatc tctgggcccc 2100
acaaggccta ccattccaga agaaagtgtg gtggcctgca tagagagtgg tcaacttcgc 2160
ttggtaaagt gaggagggtcg ctgtgctggg agagtagaga tttatcatga gggctcctgg 2220
ggcaccatct gtgatgacag ctgggacctg agcgatgcc acgtggtgtg cagacagctg 2280
ggctgtggag aggccattaa tgccactggt tctgctcatt ttggagaagg aacagggccc 2340
atctggctgg atgagatgaa atgcaatgga aaagaatccc gcatttgga gtgccattca 2400
catggctggg ggcagcaaaa ctgcaggcac aaggaggatg caggagtatt ctgctcagag 2460
ttcatgtctc tgagactgac cagtgaagcc agcagagagg cctgtgcagg gcgtctagaa 2520
gttttttaca acggagcttg gggcagtggt ggcaggagta acatgtctga aaccactgtg 2580
ggtgtggtgt gcaggcagct gggctgtgca gacaaaggga aatcaaccc tgcattctta 2640
gacaaggcca tgtccattcc catgtgggtg gacaatgttc agtgtccaaa aggacctgac 2700
acgctgtggc agtcccacac atctccatgg gagaagagac tggccaggcc ctcggaggag 2760
acctggatca catgtgacaa caagatgaga ctacaagaag gaccacttc ctgttctgga 2820
cgtgtggaga tctggcacgg aggttcctgg gggacagtgt gtgatgactc ctgggacttg 2880
aacgatgctc aggtggtgtg tcaacaactt ggctgtggtc cagctttgaa agcattcaaa 2940
gaagcagagt ttggtcaggg gactggacct atatggctca atgaagtga gtgcaaaggg 3000
aatgagtctt ccttgtggga ttgtcctgcc agacgctggg gccacagtga gtgtggacac 3060
aaggaagacg ctgcagtga ttgcacagat atttcaacga acaaaaacccc acaaaaagcc 3120
acaacaggtc agtcatccct tattgcagtc ggaatccttg gaggttgtct cttggtcatt 3180
ttcgtcgcat tattcttgac tcaaaagcga agacagagac agcggcttac agtttcctca 3240
agaggagaga acttagtcca ccaaattcaa taccgggaga tgaattcttg cctgaatgca 3300
gatgatctgg acctaataa ttctcagga ggccattctg aggcacac 3348

<210> 32
<211> 1116
<212> PRT
<213> African green monkey

<400> 32

Met Ser Lys Leu Arg Met Val Leu Leu Glu Asp Ser Gly Ser Ala Asp
1 5 10 15

Val Arg Arg His Phe Val Asn Leu Ser Pro Phe Thr Ile Ala Val Val
20 25 30

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

Thr Glu Cys Ser Gly Arg Leu Glu Val Arg Phe Gln Gly Glu Trp Gly
275 280 285

Thr Ile Cys Asp Asp Gly Trp Asp Ser His Asp Ala Ala Val Ala Cys
290 295 300

Lys Gln Leu Gly Cys Pro Thr Ala Ile Thr Ala Ile Gly Arg Val Asn
305 310 315 320

Ala Ser Glu Gly Phe Gly His Ile Trp Leu Asp Ser Val Ser Cys Gln
325 330 335

Gly His Glu Pro Ala Val Trp Gln Cys Lys His His Glu Trp Gly Lys
340 345 350

His Tyr Cys Asn His Asn Glu Asp Ala Gly Val Thr Cys Ser Asp Gly
355 360 365

Ser Asp Leu Glu Leu Arg Leu Arg Gly Gly Gly Ser Arg Cys Ala Gly
370 375 380

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

Gly Trp Gly Leu Lys Glu Ala Asp Val Val Cys Arg Gln Leu Gly Cys
405 410 415

Gly Ser Ala Leu Lys Thr Ser Tyr Gln Val Tyr Ser Lys Ile Gln Ala
420 425 430

Thr Asn Met Trp Leu Phe Leu Ser Ser Cys Asn Gly Asn Glu Thr Ser
435 440 445

Leu Trp Asp Cys Lys Asn Trp Gln Trp Gly Gly Leu Thr Cys Asp His
450 455 460

Tyr Glu Glu Ala Lys Ile Thr Cys Ser Ala His Arg Glu Pro Arg Leu
465 470 475 480

Val Gly Gly Asp Ile Pro Cys Ser Gly Arg Val Glu Val Lys His Gly
485 490 495

Asp Thr Trp Gly Ser Val Cys Asp Ser Asp Phe Ser Leu Glu Ala Ala
500 505 510

Ser Val Leu Cys Arg Glu Leu Gln Cys Gly Thr Val Val Ser Ile Leu

382

492

515					520					525					
Gly	Gly	Ala	His	Phe	Gly	Glu	Gly	Asn	Gly	Gln	Ile	Trp	Ala	Glu	Glu
530						535					540				
Phe	Gln	Cys	Glu	Gly	His	Glu	Ser	His	Leu	Ser	Leu	Cys	Pro	Val	Ala
545					550					555					560
Pro	Arg	Pro	Glu	Gly	Thr	Cys	Ser	His	Ser	Arg	Asp	Val	Gly	Val	Val
				565						570				575	
Cys	Ser	Arg	Tyr	Thr	Glu	Ile	Arg	Leu	Val	Asn	Gly	Lys	Thr	Pro	Cys
			580					585					590		
Glu	Gly	Arg	Val	Glu	Leu	Lys	Thr	Leu	Asn	Ala	Trp	Gly	Ser	Leu	Cys
		595					600					605			
Asn	Ser	His	Trp	Asp	Ile	Glu	Asp	Ala	His	Val	Leu	Cys	Gln	Gln	Leu
	610					615					620				
Lys	Cys	Gly	Val	Ala	Leu	Ser	Thr	Pro	Gly	Gly	Ala	His	Phe	Gly	Lys
625					630					635					640
Gly	Asn	Gly	Gln	Val	Trp	Arg	His	Met	Phe	His	Cys	Thr	Gly	Thr	Glu
				645					650					655	
Gln	His	Met	Gly	Asp	Cys	Pro	Val	Thr	Ala	Leu	Gly	Ala	Ser	Leu	Cys
			660					665					670		
Pro	Ser	Gly	Gln	Val	Ala	Ser	Val	Ile	Cys	Ser	Gly	Asn	Gln	Ser	Gln
		675					680					685			
Thr	Leu	Ser	Ser	Cys	Asn	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Pro	Thr	Arg	Pro	Thr
	690					695					700				
Ile	Pro	Glu	Glu	Ser	Ala	Val	Ala	Cys	Ile	Glu	Ser	Gly	Gln	Leu	Arg
705					710					715					720
Leu	Val	Asn	Gly	Gly	Gly	Arg	Cys	Ala	Gly	Arg	Val	Glu	Ile	Tyr	His
				725					730					735	
Glu	Gly	Ser	Trp	Gly	Thr	Ile	Cys	Asp	Asp	Ser	Trp	Asp	Leu	Ser	Asp
			740					745					750		
Ala	His	Val	Val	Cys	Arg	Gln	Leu	Gly	Cys	Gly	Glu	Ala	Ile	Asn	Ala
		755					760					765			

288

493

Thr Gly Ser Ala His Phe Gly Glu Gly Thr Gly Pro Ile Trp Leu Asp
770 775 780

Glu Met Lys Cys Asn Gly Lys Glu Ser Arg Ile Trp Gln Cys His Ser
785 790 795 800

His Gly Trp Gly Gln Gln Asn Cys Arg His Lys Glu Asp Ala Gly Val
805 810 815

Ile Cys Ser Glu Phe Met Ser Leu Arg Leu Thr Ser Glu Ala Ser Arg
820 825 830

Glu Ala Cys Ala Gly Arg Leu Glu Val Phe Tyr Asn Gly Ala Trp Gly
835 840 845

Ser Val Gly Arg Ser Asn Met Ser Glu Thr Thr Val Gly Val Val Cys
850 855 860

Arg Gln Leu Gly Cys Ala Asp Lys Gly Lys Ile Asn Pro Ala Ser Leu
865 870 875 880

Asp Lys Ala Met Ser Ile Pro Met Trp Val Asp Asn Val Gln Cys Pro
885 890 895

Lys Gly Pro Asp Thr Leu Trp Gln Cys Pro Ser Ser Pro Trp Glu Lys
900 905 910

Arg Leu Ala Arg Pro Ser Glu Glu Thr Trp Ile Thr Cys Asp Asn Lys
915 920 925

Met Arg Leu Gln Glu Gly Pro Thr Ser Cys Ser Gly Arg Val Glu Ile
930 935 940

Trp His Gly Gly Ser Trp Gly Thr Val Cys Asp Asp Ser Trp Asp Leu
945 950 955 960

Asn Asp Ala Gln Val Val Cys Gln Gln Leu Gly Cys Gly Pro Ala Leu
965 970 975

Lys Ala Phe Lys Glu Ala Glu Phe Gly Gln Gly Thr Gly Pro Ile Trp
980 985 990

Leu Asn Glu Val Lys Cys Lys Gly Asn Glu Ser Ser Leu Trp Asp Cys
995 1000 1005

5

489

494

Pro Ala Arg Arg Trp Gly His Ser Glu Cys Gly His Lys Glu Asp
1010 1015 1020

Ala Ala Val Asn Cys Thr Asp Ile Ser Thr Asn Lys Thr Pro Gln
1025 1030 1035

Lys Ala Thr Thr Gly Gln Ser Ser Leu Ile Ala Val Gly Ile Leu
1040 1045 1050

Gly Val Val Leu Leu Val Ile Phe Val Ala Leu Phe Leu Thr Gln
1055 1060 1065

Lys Arg Arg Gln Arg Gln Arg Leu Thr Val Ser Ser Arg Gly Glu
1070 1075 1080

Asn Leu Val His Gln Ile Gln Tyr Arg Glu Met Asn Ser Cys Leu
1085 1090 1095

Asn Ala Asp Asp Leu Asp Leu Met Asn Ser Ser Gly Gly His Ser
1100 1105 1110

Glu Ala His
1115

<210> 33
<211> 3348
<212> DNA
<213> African green monkey

<400> 33
atgagcaaac tcagaatggt gctacttgaa gactctggat ctgctgacgt cagaagacat 60
tttgtcaact tgagtccctt cactattgct gtggtcttac ttctccgtgc ctgttttgtc 120
accagttctc ttggaggaac aaccaaggag ctgaggctag tggatggtga aaacaagtgt 180
agtgggagag tggaagtga aatccaggag gagtggggaa cgggtgtgta taatggctgg 240
agcatggaag cagtctctgt gatttgtaac cagctgggat gtccaactgc tatcaaagcc 300
actggatggg ctaattccag tgcaggttct ggacgcattt ggatggatca tgtttcttgt 360
cgtgggaatg agtcagctct ttgggactgc aaacatgatg gatggggaaa gcatagtaac 420
tgtactcacc aacaagatgc tggagtaact tgctcagatg gatccgattt ggaaatgagg 480
ctgacgaatg gagggaatat gtgttctgga agaatagaga tcaaattcca aggacagtgg 540
ggaacagtgt gtgatgataa cttcaacatc aatcatgcat ctgtggtttg taaacaactt 600
gaatgtggaa gtgctgtcag tttctctggt tcagctaatt ttggagaagg ctctggacca 660

atctggtttg	atgatcttat	atgcaacgga	aatgagtcag	ctctctggaa	ctgcaaacat	720
caaggatggg	gaaagcataa	ctgtgatcat	gctgaggatg	ctggagtgat	ttgctcaaag	780
ggagcagatc	tgagcctgag	actggtagat	ggagtcactg	aatgttcagg	aagattagaa	840
gtgagattcc	aaggagaatg	ggggacaata	tgtgatgacg	gctgggacag	tcattgatgct	900
gctgtggcat	gcaagcaact	gggatgtcca	actgctatca	ccgccattgg	tcgagttaac	960
gccagtgagg	gatttggaca	catctggcct	gacagtgttt	cttgccaggg	acatgaacct	1020
gcggtctggc	aatgtaaaca	ccatgaatgg	ggaaagcatt	attgcaatca	caatgaagat	1080
gctggcgtaa	catgttctga	tggatcaggt	ctggagctaa	gacttagagg	tggaggcagc	1140
cgctgtgctg	ggacagttga	ggtggagatt	cagagactgt	tagggaaggt	gtgtgacaga	1200
ggctggggac	tgaagaagc	tgatgtggtt	tcagggcagc	tgggatgtgg	atctgcactc	1260
aaaacatcct	atcaagtata	ctccaaaatc	caggcaacaa	acatgtggct	gtttctaagt	1320
agctgtaacg	gaaatgaaac	ttctcttttg	gactgcaaga	actggcaatg	gggtggactt	1380
acctgtgatc	actatgaaga	agccaaaatt	acctgctcag	cccacaggga	accagactg	1440
gttggaggag	acattccctg	ttctggacgc	gttgaagtga	agcatggtga	cacatggggc	1500
tccgtctgtg	attcggattt	ctctctggaa	gctgccagcg	ttctatgcag	ggaattacag	1560
tgtggcacag	tcgtctctat	cctgggggga	gctcactttg	gagagggaaa	tggacagatc	1620
tggactgaag	aattccagtg	tgagggacat	gagtcccatc	tttcaactctg	cccagtagca	1680
ccccgccag	aaggaacttg	tagccacagc	agggatgttg	gagtagtctg	ctcaagatac	1740
acagaaattc	gcttggtgaa	tggcaagacc	ccatgtgagg	gcagagtgga	gctcaaaacg	1800
cttaatgcct	ggggatccct	ctgcaactct	cactgggaca	tagaagatgc	ccacgttctt	1860
tgccaacaac	ttaaagtgtg	agttgccctt	tctaccccag	gaggagcaca	ttttggaaaa	1920
ggaaatggtc	aggtctggag	gcatatgttt	cactgcactg	ggactgagca	gcacatggga	1980
gattgtcctg	taactgctct	gggtgcttca	ctatgtcctt	cagggcaagt	ggcctctgta	2040
at ttgctcag	gaaaccagtc	ccaaacactg	tcctcgcgca	attcatcatc	tctgggcccc	2100
acaaggccta	ccattccaga	agaaagtgct	gtggcctgca	tagagagtgg	tcaacttcgc	2160
ttggtaaattg	gaggaggtcg	ctgtgctggg	agagtagaga	tttatcatga	gggctcctgg	2220
ggcaccatct	gtgatgacag	ctgggacctg	agcgatgccc	acgtggtgtg	cagacagctg	2280
ggctgtggag	aggccattaa	tgccactggg	tctgctcatt	ttggagaagg	aacagggccc	2340
atctggctgg	atgagatgaa	atgcaatgga	aaagaatccc	gcatttggca	gtgccattca	2400
catggctggg	ggcagcaaaa	ctgcaggcac	aaggaggatg	caggagtatt	ctgctcagag	2460
ttcatgtctc	tgagactgac	cagtgaagcc	agcagagagg	cctgtgcagg	gcgtctagaa	2520

FAH
yab

```
gttttttaca acggagcttg gggcagtgtt ggcaggagta acatgtctga aaccactgtg 2580
gggtgtagtgt gcaggcagct gggctgtgca gacaaagggg aaatcaactc tgcattctta 2640
gacaaggcca tgtccattcc catgtgggtg gacaatgttc agtgtccaaa aggacctgac 2700
acgctgtggc agtgcccatc atctccatgg gagaagagac tggccaggcc ctgaggaggag 2760
acctggatca catgtgacaa caagatgaga ctacaagaag gacccacttc ctgttctgga 2820
cgtgtggaga tctggcacgg aggttcctgg gggacagtgt gtgatgactc ctgggacttg 2880
aacgatgttc aggtgggtgtg tcaacaactt ggctgtggtc cagctttgaa agcattcaaa 2940
gaagcagagt ttggtcaggg gactggaccc atatggctca atgaagtga gtgcgaaggg 3000
aatgagtctt ccttgtggga ttgtcctgcc agacgctggg gccacagtga gtgtggacac 3060
aaggaagacg ctgcagtga ttgcacagat atttcaacgc gcaaaacccc acaaaaagcc 3120
acaacaggtc agtcatccct tattgcagtc ggaatccttg gagttgttct cttggccatt 3180
ttcgtcgcat tattcttgac tcaaaagcga agacagagac agcgggttac agtttcctca 3240
agaggagaga acttagtcca ccaaattcaa tacogggaga tgaattcttg cctgaatgca 3300
gatgatctgg acctaataa ttcttcagga ggccattctg aggcacac 3348
```

```
<210> 34
<211> 1116
<212> PRT
<213> African Green Monkey
```

```
<400> 34
```

```
Met Ser Lys Leu Arg Met Val Leu Leu Glu Asp Ser Gly Ser Ala Asp
1          5          10          15

Val Arg Arg His Phe Val Asn Leu Ser Pro Phe Thr Ile Ala Val Val
20          25          30

Leu Leu Leu Arg Ala Cys Phe Val Thr Ser Ser Leu Gly Gly Thr Thr
35          40          45

Lys Glu Leu Arg Leu Val Asp Gly Glu Asn Lys Cys Ser Gly Arg Val
50          55          60

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

Ser Met Glu Ala Val Ser Val Ile Cys Asn Gln Leu Gly Cys Pro Thr
85          90          95
```

8742

497

Ala Ile Lys Ala Thr Gly Trp Ala Asn Ser Ser Ala Gly Ser Gly Arg
100 105 110

Ile Trp Met Asp His Val Ser Cys Arg Gly Asn Glu Ser Ala Leu Trp
115 120 125

Asp Cys Lys His Asp Gly Trp Gly Lys His Ser Asn Cys Thr His Gln
130 135 140

Gln Asp Ala Gly Val Thr Cys Ser Asp Gly Ser Asp Leu Glu Met Arg
145 150 155 160

Leu Thr Asn Gly Gly Asn Met Cys Ser Gly Arg Ile Glu Ile Lys Phe
165 170 175

Gln Gly Gln Trp Gly Thr Val Cys Asp Asp Asn Phe Asn Ile Asn His
180 185 190

Ala Ser Val Val Cys Lys Gln Leu Glu Cys Gly Ser Ala Val Ser Phe
195 200 205

Ser Gly Ser Ala Asn Phe Gly Glu Gly Ser Gly Pro Ile Trp Phe Asp
210 215 220

Asp Leu Ile Cys Asn Gly Asn Glu Ser Ala Leu Trp Asn Cys Lys His
225 230 235 240

Gln Gly Trp Gly Lys His Asn Cys Asp His Ala Glu Asp Ala Gly Val
245 250 255

Ile Cys Ser Lys Gly Ala Asp Leu Ser Leu Arg Leu Val Asp Gly Val
260 265 270

Thr Glu Cys Ser Gly Arg Leu Glu Val Arg Phe Gln Gly Glu Trp Gly
275 280 285

Thr Ile Cys Asp Asp Gly Trp Asp Ser His Asp Ala Ala Val Ala Cys
290 295 300

Lys Gln Leu Gly Cys Pro Thr Ala Ile Thr Ala Ile Gly Arg Val Asn
305 310 315 320

Ala Ser Glu Gly Phe Gly His Ile Trp Leu Asp Ser Val Ser Cys Gln
325 330 335

Gly His Glu Pro Ala Val Trp Gln Cys Lys His His Glu Trp Gly Lys

498

340	345	350
His Tyr Cys Asn His Asn Glu Asp Ala Gly Val Thr Cys Ser Asp Gly 355 360 365		
Ser Gly Leu Glu Leu Arg Leu Arg Gly Gly Gly Ser Arg Cys Ala Gly 370 375 380		
Thr Val Glu Val Glu Ile Gln Arg Leu Leu Gly Lys Val Cys Asp Arg 385 390 395 400		
Gly Trp Gly Leu Lys Glu Ala Asp Val Val Cys Arg Gln Leu Gly Cys 405 410 415		
Gly Ser Ala Leu Lys Thr Ser Tyr Gln Val Tyr Ser Lys Ile Gln Ala 420 425 430		
Thr Asn Met Trp Leu Phe Leu Ser Ser Cys Asn Gly Asn Glu Thr Ser 435 440 445		
Leu Trp Asp Cys Lys Asn Trp Gln Trp Gly Gly Leu Thr Cys Asp His 450 455 460		
Tyr Glu Glu Ala Lys Ile Thr Cys Ser Ala His Arg Glu Pro Arg Leu 465 470 475 480		
Val Gly Gly Asp Ile Pro Cys Ser Gly Arg Val Glu Val Lys His Gly 485 490 495		
Asp Thr Trp Gly Ser Val Cys Asp Ser Asp Phe Ser Leu Glu Ala Ala 500 505 510		
Ser Val Leu Cys Arg Glu Leu Gln Cys Gly Thr Val Val Ser Ile Leu 515 520 525		
Gly Gly Ala His Phe Gly Glu Gly Asn Gly Gln Ile Trp Thr Glu Glu 530 535 540		
Phe Gln Cys Glu Gly His Glu Ser His Leu Ser Leu Cys Pro Val Ala 545 550 555 560		
Pro Arg Pro Glu Gly Thr Cys Ser His Ser Arg Asp Val Gly Val Val 565 570 575		
Cys Ser Arg Tyr Thr Glu Ile Arg Leu Val Asn Gly Lys Thr Pro Cys 580 585 590		

895

499

Glu Gly Arg Val Glu Leu Lys Thr Leu Asn Ala Trp Gly Ser Leu Cys
595 600 605

Asn Ser His Trp Asp Ile Glu Asp Ala His Val Leu Cys Gln Gln Leu
610 615 620

Lys Cys Gly Val Ala Leu Ser Thr Pro Gly Gly Ala His Phe Gly Lys
625 630 635 640

Gly Asn Gly Gln Val Trp Arg His Met Phe His Cys Thr Gly Thr Glu
645 650 655

Gln His Met Gly Asp Cys Pro Val Thr Ala Leu Gly Ala Ser Leu Cys
660 665 670

Pro Ser Gly Gln Val Ala Ser Val Ile Cys Ser Gly Asn Gln Ser Gln
675 680 685

Thr Leu Ser Ser Arg Asn Ser Ser Ser Leu Gly Pro Thr Arg Pro Thr
690 695 700

Ile Pro Glu Glu Ser Ala Val Ala Cys Ile Glu Ser Gly Gln Leu Arg
705 710 715 720

Leu Val Asn Gly Gly Gly Arg Cys Ala Gly Arg Val Glu Ile Tyr His
725 730 735

Glu Gly Ser Trp Gly Thr Ile Cys Asp Asp Ser Trp Asp Leu Ser Asp
740 745 750

Ala His Val Val Cys Arg Gln Leu Gly Cys Gly Glu Ala Ile Asn Ala
755 760 765

Thr Gly Ser Ala His Phe Gly Glu Gly Thr Gly Pro Ile Trp Leu Asp
770 775 780

Glu Met Lys Cys Asn Gly Lys Glu Ser Arg Ile Trp Gln Cys His Ser
785 790 795 800

His Gly Trp Gly Gln Gln Asn Cys Arg His Lys Glu Asp Ala Gly Val
805 810 815

Ile Cys Ser Glu Phe Met Ser Leu Arg Leu Thr Ser Glu Ala Ser Arg
820 825 830

496

500

Glu Ala Cys Ala Gly Arg Leu Glu Val Phe Tyr Asn Gly Ala Trp Gly
835 840 845

Ser Val Gly Arg Ser Asn Met Ser Glu Thr Thr Val Gly Val Val Cys
850 855 860

Arg Gln Leu Gly Cys Ala Asp Lys Gly Lys Ile Asn Ser Ala Ser Leu
865 870 875 880

Asp Lys Ala Met Ser Ile Pro Met Trp Val Asp Asn Val Gln Cys Pro
885 890 895

Lys Gly Pro Asp Thr Leu Trp Gln Cys Pro Ser Ser Pro Trp Glu Lys
900 905 910

Arg Leu Ala Arg Pro Ser Glu Glu Thr Trp Ile Thr Cys Asp Asn Lys
915 920 925

Met Arg Leu Gln Glu Gly Pro Thr Ser Cys Ser Gly Arg Val Glu Ile
930 935 940

Trp His Gly Gly Ser Trp Gly Thr Val Cys Asp Asp Ser Trp Asp Leu
945 950 955 960

Asn Asp Ala Gln Val Val Cys Gln Gln Leu Gly Cys Gly Pro Ala Leu
965 970 975

Lys Ala Phe Lys Glu Ala Glu Phe Gly Gln Gly Thr Gly Pro Ile Trp
980 985 990

Leu Asn Glu Val Lys Cys Glu Gly Asn Glu Ser Ser Leu Trp Asp Cys
995 1000 1005

Pro Ala Arg Arg Trp Gly His Ser Glu Cys Gly His Lys Glu Asp
1010 1015 1020

Ala Ala Val Asn Cys Thr Asp Ile Ser Thr Arg Lys Thr Pro Gln
1025 1030 1035

Lys Ala Thr Thr Gly Gln Ser Ser Leu Ile Ala Val Gly Ile Leu
1040 1045 1050

Gly Val Val Leu Leu Ala Ile Phe Val Ala Leu Phe Leu Thr Gln
1055 1060 1065

407

501

Lys Arg Arg Gln Arg Gln Arg Leu Thr Val Ser Ser Arg Gly Glu
1070 1075 1080

Asn Leu Val His Gln Ile Gln Tyr Arg Glu Met Asn Ser Cys Leu
1085 1090 1095

Asn Ala Asp Asp Leu Asp Leu Met Asn Ser Ser Gly Gly His Ser
1100 1105 1110

Glu Ala His
1115

<210> 35
<211> 3453
<212> DNA
<213> African Green Monkey

<400> 35
atgagcaaac tcagaatggt gctacttgaa gactctggat ctgctgacgt cagaagacat 60
tttgtcaact tgagtccctt cactattgct gtggtcttac ttctccgtgc ctgttttgtc 120
accagttctc ttggaggaac aaccaaggag ctgaggctag tggatggtga aaacaagtgt 180
agtgggagag tggaagtga aatccaggag gagtggggaa cgggtgtgta taatggctgg 240
agcatggaag cagtctctgt gatttgtaac cagctgggat gtccaactgc tatcaaagcc 300
actggatggg ctaattccag tgcaggttct ggacgcattt ggatggatca tgtttcttgt 360
cgtgggaatg agtcagctct ttgggactgc aaacatgatg gatggggaaa gcatagtaac 420
tgtactcacc aacaagatgc tggagtaact tgctcagatg gatccgattt ggaaatgagg 480
ctgacgaatg gagggaatat gtgttctgga agaatagaga tcaaattcca aggacagtgg 540
ggaacagtgt gtgatgataa cttcaacatc aatcatgcat ctgtggtttg taaacaactt 600
gaatgtggaa gtgctgtcag tttctctggt tcagctaatt ttggagaagg ctctggacca 660
atctggtttg atgatcttat atgcaacgga aatgagtcag ctctctggaa ctgcaaacet 720
caaggatggg gaaagcataa ctgtgatcat gctgaggatg ctggagtgat ttgctcaaag 780
ggagcagatc tgagcctgag actggtagat ggagtcactg aatgttcagg aagattagaa 840
gtgagattcc aaggagaatg ggggacaata tgtgatgacg gctgggacag tcatgatgct 900
gctgtggcat gcaagcaact gggatgtcca actgctatca ccgccattgg tcgagttaac 960
gccagtgagg gatttggaac catctggctt gacagtgttt cttgccaggg acatgaacct 1020
gcggtctggc aatgtaaaca ccatgaatgg ggaaagcatt attgcaatca caatgaagat 1080
gctggcgtaa catgttctga tggatcagat ctggagctaa gacttagagg tggaggcagc 1140
cgctgtgctg ggacagttga ggtggagatt cagagactgt tagggaaggt gtgtgacaga 1200

498

502

ggctggggac tgaagaagc tgatgtggtt tgcaggcagc tgggatgtgg atctgcactc 1260
aaaacatcct atcaagtata ctccaaaatc caggcaacaa acatgtggct gtttctaagt 1320
agctgtaacg gaaatgaaac ttctcttttg gactgcaaga actggcaatg ggggtggactt 1380
acctgtgatc actatgaaga agccaaaatt acctgctcag cccacaggga acccagactg 1440
gttgaggag acattccctg ttctggacgc gttgaagtga agcatgggtga cacatggggc 1500
tccgtctgtg attcggattt ctctctggaa gctgccagcg ttctatgcag ggaattacag 1560
tgtggcacag tcgtctctat cctgggggga gctcactttg gagagggaaa tggacagatc 1620
tggactgaag aattccagtg tgagggacat gagtcccatc tttcactctg cccagtagca 1680
ccccgccag aaggaacttg tagccacagc agggatgttg gagtagtctg ctcaagatac 1740
acagaaattc gcttgggtgaa tggcaagacc ccatgtgagg gcagagtggg gctcaaaacg 1800
cttaatgcct ggggatccct ctgcaactct cactgggaca tagaagatgc ccacgttctt 1860
tgccaacaac ttaaatgtgg agttgccctt tctaccccag gaggagcaca ttttggaaaa 1920
ggaaatggtc aggtctggag gcatatgttt cactgcactg ggactgagca gcacatggga 1980
gattgtcctg taactgctct ggggtgcttca ctatgtcctt cagggcaagt ggcctctgta 2040
atttgctcag gaaaccagtc ccaaactctg tcctctgtgca attcatcatc tctgggcccc 2100
acaaggccta ccattccaga agaaagtgtc gtggcctgca tagagagtgg tcaacttcgc 2160
ttggtaaatg gaggaggtcg ctgtgctggg agagtagaga tttatcatga gggctcctgg 2220
ggcaccatct gtgatgacag ctgggacctg agcgatgcc acgtgggtgtg cagacagctg 2280
ggctgtggag aggccattaa tgccactggt tctgctcatt ttggagaagg aacaggcccc 2340
atctggctgg atgagatgaa atgcaatgga aaagaatccc gcatttgga gtgccattca 2400
catggctggg ggcagcaaaa ctgcaggcac aaggaggatg caggagtat ctgctcagag 2460
ttcatgtctc tgagactgac cagtgaagcc agcagagagg cctgtgcagg gcgtctagaa 2520
gttttttaca acggagcttg gggcagtgtt ggcaggagta acatgtctga aaccactgtg 2580
gggtgtagtgt gcaggcagct gggctgtgca gacaaaggga aaatcaactc tgcattctta 2640
gacaaggcca tgtccattcc catgtgggtg gacaatgttc agtgtccaaa aggacctgac 2700
acgctgtggc agtgcccatc atctccatgg gagaagagac tggccaggcc ctcgaggag 2760
acctggatca catgtgacaa caagatgaga ctacaagaag gaccacttc ctgttctgga 2820
cgtgtggaga tctggcacgg aggttcctgg gggacagtgt gtgatgactc ctgggacttg 2880
aacgatgctc aggtgggtgtg tcaacaactt ggctgtggtc cagctttgaa agcattcaaa 2940
gaagcagagt ttggtcaggg gactggaccc atatggctca atgaagtga gtgcaaaggg 3000

494

503

aatgagtctt ccttgtggga ttgtcctgcc agacgctggg gccacagtga gtgtggacac 3060
aaggaagacg ctgcagtgaa ttgcacagat atttcaacgc gcaaaacccc acaaaaagcc 3120
acaacaggtc agtcatccct tattgcagtc ggaatccttg gagttgttct cttggccatt 3180
ttcgtcgcac tattcttgac tcaaaagcga agacagagac agcggcttac agtttcctca 3240
agaggagaga acttagtcca ccaaattcaa taccgggaga tgaattcttg cctgaatgca 3300
gatgatctgg acctaataaa ttccctcagaa aattccaatg agtcagctga tttcaatgct 3360
gctgaactaa tttctgtgtc taaatttctt cctatttctg gaatggaaaa ggaggccatt 3420
ctgaggcaca ctgaaaagga aaatgggaat tta 3453

<210> 36
<211> 1151
<212> PRT
<213> African Green Monkey

<400> 36

Met Ser Lys Leu Arg Met Val Leu Leu Glu Asp Ser Gly Ser Ala Asp
1 5 10 15

Val Arg Arg His Phe Val Asn Leu Ser Pro Phe Thr Ile Ala Val Val
20 25 30

Leu Leu Leu Arg Ala Cys Phe Val Thr Ser Ser Leu Gly Gly Thr Thr
35 40 45

Lys Glu Leu Arg Leu Val Asp Gly Glu Asn Lys Cys Ser Gly Arg Val
50 55 60

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

Ser Met Glu Ala Val Ser Val Ile Cys Asn Gln Leu Gly Cys Pro Thr
85 90 95

Ala Ile Lys Ala Thr Gly Trp Ala Asn Ser Ser Ala Gly Ser Gly Arg
100 105 110

Ile Trp Met Asp His Val Ser Cys Arg Gly Asn Glu Ser Ala Leu Trp
115 120 125

Asp Cys Lys His Asp Gly Trp Gly Lys His Ser Asn Cys Thr His Gln
130 135 140

Gln Asp Ala Gly Val Thr Cys Ser Asp Gly Ser Asp Leu Glu Met Arg

466

304

145		150		155		160
Leu Thr Asn Gly Gly Asn Met Cys Ser Gly Arg Ile Glu Ile Lys Phe						
		165		170		175
Gln Gly Gln Trp Gly Thr Val Cys Asp Asp Asn Phe Asn Ile Asn His						
		180		185		190
Ala Ser Val Val Cys Lys Gln Leu Glu Cys Gly Ser Ala Val Ser Phe						
		195		200		205
Ser Gly Ser Ala Asn Phe Gly Glu Gly Ser Gly Pro Ile Trp Phe Asp						
		210		215		220
Asp Leu Ile Cys Asn Gly Asn Glu Ser Ala Leu Trp Asn Cys Lys His						
		225		230		235
Gln Gly Trp Gly Lys His Asn Cys Asp His Ala Glu Asp Ala Gly Val						
		245		250		255
Ile Cys Ser Lys Gly Ala Asp Leu Ser Leu Arg Leu Val Asp Gly Val						
		260		265		270
Thr Glu Cys Ser Gly Arg Leu Glu Val Arg Phe Gln Gly Glu Trp Gly						
		275		280		285
Thr Ile Cys Asp Asp Gly Trp Asp Ser His Asp Ala Ala Val Ala Cys						
		290		295		300
Lys Gln Leu Gly Cys Pro Thr Ala Ile Thr Ala Ile Gly Arg Val Asn						
		305		310		315
Ala Ser Glu Gly Phe Gly His Ile Trp Leu Asp Ser Val Ser Cys Gln						
		325		330		335
Gly His Glu Pro Ala Val Trp Gln Cys Lys His His Glu Trp Gly Lys						
		340		345		350
His Tyr Cys Asn His Asn Glu Asp Ala Gly Val Thr Cys Ser Asp Gly						
		355		360		365
Ser Asp Leu Glu Leu Arg Leu Arg Gly Gly Gly Ser Arg Cys Ala Gly						
		370		375		380
Thr Val Glu Val Glu Ile Gln Arg Leu Leu Gly Lys Val Cys Asp Arg						
		385		390		395
						400

505 451

Gly Trp Gly Leu Lys Glu Ala Asp Val Val Cys Arg Gln Leu Gly Cys
405 410 415

Gly Ser Ala Leu Lys Thr Ser Tyr Gln Val Tyr Ser Lys Ile Gln Ala
420 425 430

Thr Asn Met Trp Leu Phe Leu Ser Ser Cys Asn Gly Asn Glu Thr Ser
435 440 445

Leu Trp Asp Cys Lys Asn Trp Gln Trp Gly Gly Leu Thr Cys Asp His
450 455 460

Tyr Glu Glu Ala Lys Ile Thr Cys Ser Ala His Arg Glu Pro Arg Leu
465 470 475 480

Val Gly Gly Asp Ile Pro Cys Ser Gly Arg Val Glu Val Lys His Gly
485 490 495

Asp Thr Trp Gly Ser Val Cys Asp Ser Asp Phe Ser Leu Glu Ala Ala
500 505 510

Ser Val Leu Cys Arg Glu Leu Gln Cys Gly Thr Val Val Ser Ile Leu
515 520 525

Gly Gly Ala His Phe Gly Glu Gly Asn Gly Gln Ile Trp Thr Glu Glu
530 535 540

Phe Gln Cys Glu Gly His Glu Ser His Leu Ser Leu Cys Pro Val Ala
545 550 555 560

Pro Arg Pro Glu Gly Thr Cys Ser His Ser Arg Asp Val Gly Val Val
565 570 575

Cys Ser Arg Tyr Thr Glu Ile Arg Leu Val Asn Gly Lys Thr Pro Cys
580 585 590

Glu Gly Arg Val Glu Leu Lys Thr Leu Asn Ala Trp Gly Ser Leu Cys
595 600 605

Asn Ser His Trp Asp Ile Glu Asp Ala His Val Leu Cys Gln Gln Leu
610 615 620

Lys Cys Gly Val Ala Leu Ser Thr Pro Gly Gly Ala His Phe Gly Lys
625 630 635 640

452

806

Gly Asn Gly Gln Val Trp Arg His Met Phe His Cys Thr Gly Thr Glu
645 650 655

Gln His Met Gly Asp Cys Pro Val Thr Ala Leu Gly Ala Ser Leu Cys
660 665 670

Pro Ser Gly Gln Val Ala Ser Val Ile Cys Ser Gly Asn Gln Ser Gln
675 680 685

Thr Leu Ser Ser Cys Asn Ser Ser Ser Leu Gly Pro Thr Arg Pro Thr
690 695 700

Ile Pro Glu Glu Ser Ala Val Ala Cys Ile Glu Ser Gly Gln Leu Arg
705 710 715 720

Leu Val Asn Gly Gly Gly Arg Cys Ala Gly Arg Val Glu Ile Tyr His
725 730 735

Glu Gly Ser Trp Gly Thr Ile Cys Asp Asp Ser Trp Asp Leu Ser Asp
740 745 750

Ala His Val Val Cys Arg Gln Leu Gly Cys Gly Glu Ala Ile Asn Ala
755 760 765

Thr Gly Ser Ala His Phe Gly Glu Gly Thr Gly Pro Ile Trp Leu Asp
770 775 780

Glu Met Lys Cys Asn Gly Lys Glu Ser Arg Ile Trp Gln Cys His Ser
785 790 795 800

His Gly Trp Gly Gln Gln Asn Cys Arg His Lys Glu Asp Ala Gly Val
805 810 815

Ile Cys Ser Glu Phe Met Ser Leu Arg Leu Thr Ser Glu Ala Ser Arg
820 825 830

Glu Ala Cys Ala Gly Arg Leu Glu Val Phe Tyr Asn Gly Ala Trp Gly
835 840 845

Ser Val Gly Arg Ser Asn Met Ser Glu Thr Thr Val Gly Val Val Cys
850 855 860

Arg Gln Leu Gly Cys Ala Asp Lys Gly Lys Ile Asn Ser Ala Ser Leu
865 870 875 880

Asp Lys Ala Met Ser Ile Pro Met Trp Val Asp Asn Val Gln Cys Pro
885 890 895

Lys Gly Pro Asp Thr Leu Trp Gln Cys Pro Ser Ser Pro Trp Glu Lys
900 905 910

Arg Leu Ala Arg Pro Ser Glu Glu Thr Trp Ile Thr Cys Asp Asn Lys
915 920 925

Met Arg Leu Gln Glu Gly Pro Thr Ser Cys Ser Gly Arg Val Glu Ile
930 935 940

Trp His Gly Gly Ser Trp Gly Thr Val Cys Asp Asp Ser Trp Asp Leu
945 950 955 960

Asn Asp Ala Gln Val Val Cys Gln Gln Leu Gly Cys Gly Pro Ala Leu
965 970 975

Lys Ala Phe Lys Glu Ala Glu Phe Gly Gln Gly Thr Gly Pro Ile Trp
980 985 990

Leu Asn Glu Val Lys Cys Lys Gly Asn Glu Ser Ser Leu Trp Asp Cys
995 1000 1005

Pro Ala Arg Arg Trp Gly His Ser Glu Cys Gly His Lys Glu Asp
1010 1015 1020

Ala Ala Val Asn Cys Thr Asp Ile Ser Thr Arg Lys Thr Pro Gln
1025 1030 1035

Lys Ala Thr Thr Gly Gln Ser Ser Leu Ile Ala Val Gly Ile Leu
1040 1045 1050

Gly Val Val Leu Leu Ala Ile Phe Val Ala Leu Phe Leu Thr Gln
1055 1060 1065

Lys Arg Arg Gln Arg Gln Arg Leu Thr Val Ser Ser Arg Gly Glu
1070 1075 1080

Asn Leu Val His Gln Ile Gln Tyr Arg Glu Met Asn Ser Cys Leu
1085 1090 1095

Asn Ala Asp Asp Leu Asp Leu Met Asn Ser Ser Glu Asn Ser Asn
1100 1105 1110

Glu Ser Ala Asp Phe Asn Ala Ala Glu Leu Ile Ser Val Ser Lys

157
907

35A
308

1115	1120	1125
Phe Leu Pro Ile Ser Gly Met Glu Lys Glu Ala Ile Leu Arg His		
1130	1135	1140
Thr Glu Lys Glu Asn Gly Asn Leu		
1145	1150	

<210> 37
<211> 3273
<212> DNA
<213> African Green Monkey

<400> 37

atgagcaaac tcagaatggt gctacttgaa gactctggat ctgctgacgt cagaagacat	60
tttgtcaact tgagtcacct cactattgct gtggtcttac ttctccgtgc ctgttttgtc	120
accagttctc ttggaggaac aaccaaggag ctgaggctag tggatggtga aaacaagtgt	180
agtgggagag tggaagtga aatccaggag gagtgggaa cgggtgtgtaa taatggctgg	240
agcatggaag cagtctctgt gatttgtaac cagctgggat gtccaactgc tatcaaagcc	300
actggatggg ctaattccag tgcaggttct ggacgcattt ggatggatca tgtttcttgt	360
cgtgggaatg agtcagctct ttgggactgc aaacatgatg gatggggaaa gcatagtaac	420
tgtactcacc aacaagatgc tggagtaact tgctcagatg gatccgattt ggaaatgagg	480
ctgacgaatg gagggaatat gtgttctgga agaatagaga tcaaattcca aggacagtgg	540
ggaacagtgt gtgatgataa cttcaacatc aatcatgcat ctgtggtttg taaacaactt	600
gaatgtggaa gtgctgtcag tttctctggt tcagctaatt ttggagaagg ctctggacca	660
atctggtttg atgatcttat atgcaacgga aatgagtcag ctctctggaa ctgcaaacat	720
caaggatggg gaaagcataa ctgtgatcat gctgaggatg ctggagtgat ttgctcaaag	780
ggagcagatc tgagcctgag actggtagat ggagtcactg aatgttcagg aagattagaa	840
gtgagattcc aaggagaatg ggggacaata tgtgatgacg gctgggacag tcatgatgct	900
gctgtggcat gcaagcaact gggatgtcca actgctatca ccgccattgg tcgagttaac	960
gccagtgagg gatttggaac catctggctt gacagtgttt cttgccaggg acatgaacct	1020
gcggtctggc aatgtaaaca ccatgaatgg ggaagcatt attgcaatca caatgaagat	1080
gctggcgtaa catgttctga tggatcagat ctggagctaa gacttagagg tggaggcagc	1140
cgctgtgctg ggacagttga ggtggagatt cagagactgt tagggaaggt gtgtgacaga	1200
ggctggggac tgaaagaagc tgatgtggtt tgcaggcagc tgggatgtgg atctgcactc	1260
aaaacatcct atcaagtata ctccaaaatc caggcaacaa acatgtggct gtttctaagt	1320

agctgtaacg gaaatgaaac ttctcttttg gactgcaaga actggcaatg gggaggactt 1380
 acctgtgatc actatgaaga agccaaaatt acctgtcag cccacaggga acccagactg 1440
 gttggaggag acattccctg ttctggacgc gttgaagtga agcatggtga cacatggggc 1500
 tccgtctgtg attcggattt ctctctggaa gctgccagcg ttctatgcag ggaattacag 1560
 tgtggcacag tcgtctctat cctgggggga gctcactttg gagagggaaa tggacagatc 1620
 tggactgaag aattccagtg tgagggacat gagtcccatc tttcactctg cccagtagca 1680
 ccccgcccag aaggaaactg tagccacagc agggatgttg gagtgtctg ctcaagatac 1740
 acagaaattc gcttggtgaa tggcaagacc ccatgtgagg gcagagtga gctcaaacg 1800
 cttaatgcct ggggatccct ctgcaactct cactgggaca tagaagatgc ccacgttctt 1860
 tgccaacaac ttaaattgtg agttgccctt tctaccccag gaggagcaca ttttgaaaa 1920
 ggaaatggtc aggtctggag gcatatgttt cactgcactg ggactgagca gcacatggga 1980
 gattgtcctg taactgctct ggggtgcttca ctatgtcctt cagggaagt ggcctctgta 2040
 atttgtcag gaaaccagt ccaaacactg tctcgtgca attcatcatc tctgggcca 2100
 acaaggccta ccattccaga agaaagtgt gttgacctga tagagagtgg tcaacttcgc 2160
 ttggtaaatg gaggaggtcg ctgtgctggg agagttaga tttatcatga gggctcctgg 2220
 ggcaccatct gtgatgacag ctgggacctg agcgatgcc acgtggtgtg cagacagctg 2280
 ggctgtggag aggccattaa tgccactggg tctgtcatt ttggagaagg aacagggcc 2340
 atctggctgg atgagatgaa atgcaatgga aaagaatccc gcatttggca gtgccattca 2400
 catggctggg ggcagcaaaa ctgcaggcac aaggaggatg caggagtat ctgctcagag 2460
 ttcatgtctc tgagactgac cagtgaagcc agcagagagg cctgtgcagg gcgtctagaa 2520
 gttttttaca acggagcttg gggcagtgtt ggcaggagta acatgtctga aaccactgtg 2580
 ggtgtagtgt gcaggcagct gggctgtgca gacaaaggga aaatcaactc tgcattctta 2640
 gacaaggcca tgtccattcc catgtgggtg gacaatgttc agtgtccaaa aggacctgac 2700
 acgtgtggc agtgcccatc atctccatg gagaaagagac tggccaggcc ctggaggag 2760
 acctggatca catgtgacaa caagatgaga ctacaagaag gaccacttc ctgttctgga 2820
 cgtgtggaga tctggcacgg aggttcctgg gggacagtgt gtgatgactc ctgggacttg 2880
 aacgatgctc aggtggtgtg tcaacaactt ggctgtggtc cagctttgaa agcattcaaa 2940
 gaagcagagt ttggtcaggg gactggacct atatggctca atgaagtga gtgcaaagg 3000
 aatgagtctt ccttgtggga ttgtcctgcc agacgtggg gccacagtga gtgtggacac 3060
 aaggaagacg ctgcggtgaa ttgcacagat atttcaacgc gcaaaacccc acaaaaagcc 3120
 acaacggttt cctcaagagg agagaactta gtccaccaa ttcaataccg ggagatgaat 3180

455

509

156

510

tcttgccctga atgcagatga tctgaacctata atgaattcct caggaggcca ttctgaggca 3240
cactgaaaag gaaaatggga atttataacc cag 3273

<210> 38
<211> 1081
<212> PRT
<213> African Green Monkey

<400> 38

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

43

511

Ala Ser Val Val Cys Lys Gln Leu Glu Cys Gly Ser Ala Val Ser Phe
195 200 205

Ser Gly Ser Ala Asn Phe Gly Glu Gly Ser Gly Pro Ile Trp Phe Asp
210 215 220

Asp Leu Ile Cys Asn Gly Asn Glu Ser Ala Leu Trp Asn Cys Lys His
225 230 235 240

Gln Gly Trp Gly Lys His Asn Cys Asp His Ala Glu Asp Ala Gly Val
245 250 255

Ile Cys Ser Lys Gly Ala Asp Leu Ser Leu Arg Leu Val Asp Gly Val
260 265 270

Thr Glu Cys Ser Gly Arg Leu Glu Val Arg Phe Gln Gly Glu Trp Gly
275 280 285

Thr Ile Cys Asp Asp Gly Trp Asp Ser His Asp Ala Ala Val Ala Cys
290 295 300

Lys Gln Leu Gly Cys Pro Thr Ala Ile Thr Ala Ile Gly Arg Val Asn
305 310 315 320

Ala Ser Glu Gly Phe Gly His Ile Trp Leu Asp Ser Val Ser Cys Gln
325 330 335

Gly His Glu Pro Ala Val Trp Gln Cys Lys His His Glu Trp Gly Lys
340 345 350

His Tyr Cys Asn His Asn Glu Asp Ala Gly Val Thr Cys Ser Asp Gly
355 360 365

Ser Asp Leu Glu Leu Arg Leu Arg Gly Gly Gly Ser Arg Cys Ala Gly
370 375 380

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

Gly Trp Gly Leu Lys Glu Ala Asp Val Val Cys Arg Gln Leu Gly Cys
405 410 415

Gly Ser Ala Leu Lys Thr Ser Tyr Gln Val Tyr Ser Lys Ile Gln Ala
420 425 430

Thr Asn Met Trp Leu Phe Leu Ser Ser Cys Asn Gly Asn Glu Thr Ser

458

512

435	440	445
Leu Trp Asp Cys Lys Asn Trp Gln Trp Gly Gly Leu Thr Cys Asp His 450 455 460		
Tyr Glu Glu Ala Lys Ile Thr Cys Ser Ala His Arg Glu Pro Arg Leu 465 470 475 480		
Val Gly Gly Asp Ile Pro Cys Ser Gly Arg Val Glu Val Lys His Gly 485 490 495		
Asp Thr Trp Gly Ser Val Cys Asp Ser Asp Phe Ser Leu Glu Ala Ala 500 505 510		
Ser Val Leu Cys Arg Glu Leu Gln Cys Gly Thr Val Val Ser Ile Leu 515 520 525		
Gly Gly Ala His Phe Gly Glu Gly Asn Gly Gln Ile Trp Thr Glu Glu 530 535 540		
Phe Gln Cys Glu Gly His Glu Ser His Leu Ser Leu Cys Pro Val Ala 545 550 555 560		
Pro Arg Pro Glu Gly Thr Cys Ser His Ser Arg Asp Val Gly Val Val 565 570 575		
Cys Ser Arg Tyr Thr Glu Ile Arg Leu Val Asn Gly Lys Thr Pro Cys 580 585 590		
Glu Gly Arg Val Glu Leu Lys Thr Leu Asn Ala Trp Gly Ser Leu Cys 595 600 605		
Asn Ser His Trp Asp Ile Glu Asp Ala His Val Leu Cys Gln Gln Leu 610 615 620		
Lys Cys Gly Val Ala Leu Ser Thr Pro Gly Gly Ala His Phe Gly Lys 625 630 635 640		
Gly Asn Gly Gln Val Trp Arg His Met Phe His Cys Thr Gly Thr Glu 645 650 655		
Gln His Met Gly Asp Cys Pro Val Thr Ala Leu Gly Ala Ser Leu Cys 660 665 670		
Pro Ser Gly Gln Val Ala Ser Val Ile Cys Ser Gly Asn Gln Ser Gln 675 680 685		

439
513

Thr Leu Ser Ser Cys Asn Ser Ser Ser Leu Gly Pro Thr Arg Pro Thr
690 695 700

Ile Pro Glu Glu Ser Ala Val Ala Cys Ile Glu Ser Gly Gln Leu Arg
705 710 715 720

Leu Val Asn Gly Gly Gly Arg Cys Ala Gly Arg Val Glu Ile Tyr His
725 730 735

Glu Gly Ser Trp Gly Thr Ile Cys Asp Asp Ser Trp Asp Leu Ser Asp
740 745 750

Ala His Val Val Cys Arg Gln Leu Gly Cys Gly Glu Ala Ile Asn Ala
755 760 765

Thr Gly Ser Ala His Phe Gly Glu Gly Thr Gly Pro Ile Trp Leu Asp
770 775 780

Glu Met Lys Cys Asn Gly Lys Glu Ser Arg Ile Trp Gln Cys His Ser
785 790 795 800

His Gly Trp Gly Gln Gln Asn Cys Arg His Lys Glu Asp Ala Gly Val
805 810 815

Ile Cys Ser Glu Phe Met Ser Leu Arg Leu Thr Ser Glu Ala Ser Arg
820 825 830

Glu Ala Cys Ala Gly Arg Leu Glu Val Phe Tyr Asn Gly Ala Trp Gly
835 840 845

Ser Val Gly Arg Ser Asn Met Ser Glu Thr Thr Val Gly Val Val Cys
850 855 860

Arg Gln Leu Gly Cys Ala Asp Lys Gly Lys Ile Asn Ser Ala Ser Leu
865 870 875 880

Asp Lys Ala Met Ser Ile Pro Met Trp Val Asp Asn Val Gln Cys Pro
885 890 895

Lys Gly Pro Asp Thr Leu Trp Gln Cys Pro Ser Ser Pro Trp Glu Lys
900 905 910

Arg Leu Ala Arg Pro Ser Glu Glu Thr Trp Ile Thr Cys Asp Asn Lys
915 920 925

460

514

Met Arg Leu Gln Glu Gly Pro Thr Ser Cys Ser Gly Arg Val Glu Ile
930 935 940

Trp His Gly Gly Ser Trp Gly Thr Val Cys Asp Asp Ser Trp Asp Leu
945 950 955 960

Asn Asp Ala Gln Val Val Cys Gln Gln Leu Gly Cys Gly Pro Ala Leu
965 970 975

Lys Ala Phe Lys Glu Ala Glu Phe Gly Gln Gly Thr Gly Pro Ile Trp
980 985 990

Leu Asn Glu Val Lys Cys Lys Gly Asn Glu Ser Ser Leu Trp Asp Cys
995 1000 1005

Pro Ala Arg Arg Trp Gly His Ser Glu Cys Gly His Lys Glu Asp
1010 1015 1020

Ala Ala Val Asn Cys Thr Asp Ile Ser Thr Arg Lys Thr Pro Gln
1025 1030 1035

Lys Ala Thr Thr Val Ser Ser Arg Gly Glu Asn Leu Val His Gln
1040 1045 1050

Ile Gln Tyr Arg Glu Met Asn Ser Cys Leu Asn Ala Asp Asp Leu
1055 1060 1065

Asn Leu Met Asn Ser Ser Gly Gly His Ser Glu Ala His
1070 1075 1080

<210> 39
<211> 3279
<212> DNA
<213> African Green Monkey

<400> 39
atgagcaaac tcagaatggt gctacttgaa gactctggat ctgctgacgt cagaagacat 60
tttgtcaact tgagtccctt cactattgct gtggtcttac ttctccgtgc ctgttttgtc 120
accagttctc ttggaggaac aaccaaggag ctgaggctag tggatggtga aaacaagtgt 180
agtgggagag tggaagtga aatccaggag gagtggggaa cgggtgtgtaa taatggctgg 240
agcatggaag cagtctctgt gatttgtaac cagctgggat gtccaactgc tatcaaagcc 300
actggatggg ctaattccag tgcaggttct ggacgcattt ggatggatca tgttttctgt 360
cgtgggaatg agtcagctct ttgggactgc aaacatgatg gatggggaaa gcatagtaac 420

461

515

tgtactcacc aacaagatgc tggagtgact tgctcagatg gatccgattt ggaaatgagg	480
ctgacgaatg gagggaaatat gtgttctgga agaatagaga tcaaattcca aggacagtgg	540
ggaacagtgt gtgatgataa cttcaacgtc aatcatgcat ctgtgggttg taaacaactt	600
gaatgtggaa gtgctgtcag tttctctgggt tcagctaatt ttggagaagg ctctggacca	660
atctgggttg atgatcttat atgcaacgga aatgagtcag ctctctggaa ctgcaaacat	720
caaggatggg gaaagcataa ctgtgatcat gctgaggatg ctggagtgat ttgctcaaag	780
ggagcagatc tgagcctgag actggtagat ggagtcactg aatgttcagg aagattagaa	840
gtgagattcc aaggagaatg ggggacaata tgtgatgacg gctgggacag tcatgatgct	900
gctgtggcat gcaagcaact gggatgtcca actgctatca ccgccattgg tcgagttaac	960
gccagtgagg gatttggaca catctggctt gacagtgttt cttgccaggg acatgaacct	1020
gcggtctggc aatgtaaca ccatgaatgg ggaaagcatt attgcaatca caatgaagat	1080
gctggcgtaa catgttctga tggatcagat ctggagctaa gacttagagg tggaggcagc	1140
cgctgtgctg ggacagttga ggtggagatt cagagactgt tagggaaggt gtgtgacaga	1200
ggctggggac tgaaagaagc tgatgtggtt tgacggcagc tgggatgtgg atctgcactc	1260
aaaacatcct atcaagtata ctccaaaatc caggcaacaa acatgtggct gtttctaagt	1320
agctgtaacg gaaatgaaac ttctcttttg gactgcaaga actggcaatg gggtagactt	1380
acctgtgatc actatgaaga agccaaaatt acctgctcag cccacaggga acccagactg	1440
gttgaggag acattccctg ttctggacgc gttgaagtga agcatggtga cacatggggc	1500
tccgtctgtg attcggattt ctctctggaa gctgccagcg ttctatgcag ggaattacag	1560
tgtggcacag tcgtctctat cctgggggga gctcactttg gagagggaaa tggacagatc	1620
tgggctgaag aattccagtg tgagggacat gagtccatc tttcactctg cccagtagca	1680
ccccgccag aaggaaactg tagccacagc agggatgttg gagtagtctg ctcaagatac	1740
acagaaattc gcttggtgaa tggcaagacc ccatgtgagg gcagagtgga gctcaaaacg	1800
cttaatgcct ggggatccct ctgcaactct cactgggaca tagaagatgc ccacgttctt	1860
tgccaacaac ttaaagtgtg agttgccctt tctacccag gaggagcaca ttttgaaaaa	1920
ggaaatggtc aggtctggag gcatatgttt cactgcactg ggactgagca gcacatggga	1980
gattgtcctg taactgctct ggggtgcttca ctatgtcctt cagggcaagt ggcctctgta	2040
atttgctcag gaaaccagtc ccaaactg tctctgtgca attcatcatc tctgggcccc	2100
acaaggccta ccattccaga agaaagtgtt gtggcctgca tagagagtgg tcaacttcgc	2160
ttggtaaatg gaggaggtcg ctgtgctggg agagtagaga tttatcatga gggctcctgg	2220
ggcaccatct gtgatgacag ctgggacctg agcgatgcc acgtggtgtg cagacagctg	2280

462

516

ggctgtggag aggccattaa tgccactggt tctgctcatt ttggagaagg aacagggccc 2340
atctggctgg atgagatgaa atgcaatgga aaagaatccc gtatttgga gtgccattca 2400
catggctggg ggcagcaaaa ctgcaggcac aaggaggatg caggagttat ctgctcagag 2460
ttcatgtctc tgagactgac cagtgaagcc agcagagagg cctgtgcagg gcgtctagaa 2520
gttttttaca acggagcttg gggcagtgtt ggcaggagta acatgtctga aaccactgtg 2580
ggtgtggtgt gcaggcagct gggctgtgca gacaaaggga aaatcaactc tgcattctta 2640
gacaaaggcca tgtccattcc catgtgggtg gacaatgttc agtgtccaaa aggacctgac 2700
acgtgtggc agtgcccatc atctccatgg gagaagagac tggccaggcc ctcggaggag 2760
acctggatca catgtgacaa caagatgaga ctacaagaag gaccacttc ctgttctgga 2820
cgtgtggaga tctggcacgg aggttcctgg gggacagtgt gtgatgactc ctgggacttg 2880
aacgatgctc aggtgtgtgt tcaacaactt ggctgtggtc cagctttgaa agcattcaaa 2940
gaagcagagt ttggtcaggg gactggaccc atatggctca atgaagtga gtgcaaaggg 3000
aatgagtctt ccttgtggga ttgtcctgcc agacgctggg gccacagtga gtgtggacac 3060
aaggaagacg ctgcagtga ttgcacagca caaaaaattt caacgcacaa aaccacacaa 3120
aaagccacaa cagtttcctc aagaggagag aacttagtcc accaaattca atacgggag 3180
atgaattctt gcctgaatgc agatgatctg gacctaatga attcctcagg aggccattct 3240
gaggcacact gaaaaggaaa atgggaattt ataaccag 3279

<210> 40
<211> 1083
<212> PRT
<213> African Green Monkey

<400> 40

Met Ser Lys Leu Arg Met Val Leu Leu Glu Asp Ser Gly Ser Ala Asp
1 5 10 15

Val Arg Arg His Phe Val Asn Leu Ser Pro Phe Thr Ile Ala Val Val
20 25 30

Leu Leu Leu Arg Ala Cys Phe Val Thr Ser Ser Leu Gly Gly Thr Thr
35 40 45

Lys Glu Leu Arg Leu Val Asp Gly Glu Asn Lys Cys Ser Gly Arg Val
50 55 60

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

469
517

Ser Met Glu Ala Val Ser Val Ile Cys Asn Gln Leu Gly Cys Pro Thr
85 90 95

Ala Ile Lys Ala Thr Gly Trp Ala Asn Ser Ser Ala Gly Ser Gly Arg
100 105 110

Ile Trp Met Asp His Val Ser Cys Arg Gly Asn Glu Ser Ala Leu Trp
115 120 125

Asp Cys Lys His Asp Gly Trp Gly Lys His Ser Asn Cys Thr His Gln
130 135 140

Gln Asp Ala Gly Val Thr Cys Ser Asp Gly Ser Asp Leu Glu Met Arg
145 150 155 160

Leu Thr Asn Gly Gly Asn Met Cys Ser Gly Arg Ile Glu Ile Lys Phe
165 170 175

Gln Gly Gln Trp Gly Thr Val Cys Asp Asp Asn Phe Asn Val Asn His
180 185 190

Ala Ser Val Val Cys Lys Gln Leu Glu Cys Gly Ser Ala Val Ser Phe
195 200 205

Ser Gly Ser Ala Asn Phe Gly Glu Gly Ser Gly Pro Ile Trp Phe Asp
210 215 220

Asp Leu Ile Cys Asn Gly Asn Glu Ser Ala Leu Trp Asn Cys Lys His
225 230 235 240

Gln Gly Trp Gly Lys His Asn Cys Asp His Ala Glu Asp Ala Gly Val
245 250 255

Ile Cys Ser Lys Gly Ala Asp Leu Ser Leu Arg Leu Val Asp Gly Val
260 265 270

Thr Glu Cys Ser Gly Arg Leu Glu Val Arg Phe Gln Gly Glu Trp Gly
275 280 285

Thr Ile Cys Asp Asp Gly Trp Asp Ser His Asp Ala Ala Val Ala Cys
290 295 300

Lys Gln Leu Gly Cys Pro Thr Ala Ile Thr Ala Ile Gly Arg Val Asn
305 310 315 320

264

518

Ala Ser Glu Gly Phe Gly His Ile Trp Leu Asp Ser Val Ser Cys Gln
325 330 335

Gly His Glu Pro Ala Val Trp Gln Cys Lys His His Glu Trp Gly Lys
340 345 350

His Tyr Cys Asn His Asn Glu Asp Ala Gly Val Thr Cys Ser Asp Gly
355 360 365

Ser Asp Leu Glu Leu Arg Leu Arg Gly Gly Gly Ser Arg Cys Ala Gly
370 375 380

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

Gly Trp Gly Leu Lys Glu Ala Asp Val Val Cys Arg Gln Leu Gly Cys
405 410 415

Gly Ser Ala Leu Lys Thr Ser Tyr Gln Val Tyr Ser Lys Ile Gln Ala
420 425 430

Thr Asn Met Trp Leu Phe Leu Ser Ser Cys Asn Gly Asn Glu Thr Ser
435 440 445

Leu Trp Asp Cys Lys Asn Trp Gln Trp Gly Gly Leu Thr Cys Asp His
450 455 460

Tyr Glu Glu Ala Lys Ile Thr Cys Ser Ala His Arg Glu Pro Arg Leu
465 470 475 480

Val Gly Gly Asp Ile Pro Cys Ser Gly Arg Val Glu Val Lys His Gly
485 490 495

Asp Thr Trp Gly Ser Val Cys Asp Ser Asp Phe Ser Leu Glu Ala Ala
500 505 510

Ser Val Leu Cys Arg Glu Leu Gln Cys Gly Thr Val Val Ser Ile Leu
515 520 525

Gly Gly Ala His Phe Gly Glu Gly Asn Gly Gln Ile Trp Ala Glu Glu
530 535 540

Phe Gln Cys Glu Gly His Glu Ser His Leu Ser Leu Cys Pro Val Ala
545 550 555 560

465

519

Pro Arg Pro Glu Gly Thr Cys Ser His Ser Arg Asp Val Gly Val Val
565 570 575

Cys Ser Arg Tyr Thr Glu Ile Arg Leu Val Asn Gly Lys Thr Pro Cys
580 585 590

Glu Gly Arg Val Glu Leu Lys Thr Leu Asn Ala Trp Gly Ser Leu Cys
595 600 605

Asn Ser His Trp Asp Ile Glu Asp Ala His Val Leu Cys Gln Gln Leu
610 615 620

Lys Cys Gly Val Ala Leu Ser Thr Pro Gly Gly Ala His Phe Gly Lys
625 630 635 640

Gly Asn Gly Gln Val Trp Arg His Met Phe His Cys Thr Gly Thr Glu
645 650 655

Gln His Met Gly Asp Cys Pro Val Thr Ala Leu Gly Ala Ser Leu Cys
660 665 670

Pro Ser Gly Gln Val Ala Ser Val Ile Cys Ser Gly Asn Gln Ser Gln
675 680 685

Thr Leu Ser Ser Cys Asn Ser Ser Ser Leu Gly Pro Thr Arg Pro Thr
690 695 700

Ile Pro Glu Glu Ser Ala Val Ala Cys Ile Glu Ser Gly Gln Leu Arg
705 710 715 720

Leu Val Asn Gly Gly Gly Arg Cys Ala Gly Arg Val Glu Ile Tyr His
725 730 735

Glu Gly Ser Trp Gly Thr Ile Cys Asp Asp Ser Trp Asp Leu Ser Asp
740 745 750

Ala His Val Val Cys Arg Gln Leu Gly Cys Gly Glu Ala Ile Asn Ala
755 760 765

Thr Gly Ser Ala His Phe Gly Glu Gly Thr Gly Pro Ile Trp Leu Asp
770 775 780

Glu Met Lys Cys Asn Gly Lys Glu Ser Arg Ile Trp Gln Cys His Ser
785 790 795 800

His Gly Trp Gly Gln Gln Asn Cys Arg His Lys Glu Asp Ala Gly Val

466
520

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

12

SW

His Gln Ile Gln Tyr Arg Glu Met Asn Ser Cys Leu Asn Ala Asp
1055 1060 1065

Asp Leu Asp Leu Met Asn Ser Ser Gly Gly His Ser Glu Ala His
1070 1075 1080

<210> 41
<211> 3354
<212> DNA
<213> African Green Monkey

<400> 41
atgagcaaac tcagaatggt gctacttgaa gactctggat ctgctgacgt cagaagacat 60
tttgtcaact tgagtccctt cactattgct gtggctcttac ttctccgtgc ctgttttgtc 120
accagttctc ttggaggaac aaccaaggag ctgaggctag tggatggtga aaacaagtgt 180
agtgggagag tggaaagtga aatccaggag gagtggggaa cgggtgtgtaa taatggctgg 240
agcatggaag cagtctctgt gatttgtaac cagctgggat gtccaactgc tatcaaagcc 300
actggatggg ctaattccag tgcaggttct ggacgcattt ggatggatca tgtttcttgt 360
cgtgggaatg agtcagctct ttgggactgc aaacatgatg gatggggaaa gcatagtaac 420
tgtactcacc aacaagatgc tggagtgact tgctcagatg gatccgattt ggaaatgagg 480
ctgacgaatg gagggaaatat gtgttctgga agaatagaga tcaaattcca aggacagtgg 540
ggaacagtgt gtgatgataa cttcaacatc aatcatgcat ctgtggtttg taaacaactt 600
gaatgtggaa gtgctgtcag ttctcttggt tcagctaatt ttggagaagg ctctggacca 660
atctggtttg atgatcttat atgcaacgga aatgagtcag ctctctggaa ctgcaaacat 720
caaggatggg gaaagcataa ctgtgatcat gctgaggatg ctggagtgat ttgctcaaag 780
ggagcagatc tgagcctgag actggtagat ggagtcactg aatgttcagg aagattagaa 840
gtgagattcc aaggagaatg ggggacaata tgtgatgacg gctgggacag tcatgatgct 900
gctgtggcat gcaagcaact gggatgtcca actgctatca ccgccattgg tcgagttaac 960
gccagtgagg gatttggaac catctggcctt gacagtgttt cttgccaggg acatgaacct 1020
gcggctctggc aatgtaaaca ccatgaatgg ggaagcatt attgcaatca caatgaagat 1080
gctggcgtaa catgttctga tggatcagat ctggagctaa gacttagagg tggaggcagc 1140
cgctgtgctg ggacagttga ggtggagatt cagagactgt tagggaagggt gtgtgacaga 1200
ggctggggac tgaaagaagc tgatgtggtt tgcaggcagc tgggatgtgg atctgcactc 1260
aaaacatcct atcaagtata ctccaaaatc caggcaacaa acatgtggct gtttctaagt 1320
agctgtaacg gaaatgaaac ttctcttttg gactgcaaga actggcaatg gggaggactt 1380

168

522

acctgtgatc	actatgaaga	agccaaaatt	acctgctcag	cccacagga	acccagactg	1440
gttgaggag	acattccctg	ttctggacgc	gttgaagtga	agcatggtga	cacatggggc	1500
tccgtctgtg	attcggattt	ctctctggaa	gctgccagcg	ttctatgcag	ggaattacag	1560
tgtggcacag	tcgtctctat	cctgggggga	gctcactttg	gagagggaaa	tggacagatc	1620
tgggctgaag	aattccagtg	tgagggacat	gagtcccatc	tttactctg	cccagtagca	1680
ccccgccag	aaggaacttg	tagccacagc	agggatgttg	gagtagtctg	ctcaagatac	1740
acagaaattc	gcttggtgaa	tggcaagacc	ccatgtgagg	gcagagtgga	gctcaaaacg	1800
cttaatgcct	ggggatccct	ctgcaactct	cactgggaca	tagaagatgc	ccacgttctt	1860
tgccaacaac	ttaaattgtg	agttgccctt	tctaccccag	gaggagcaca	ttttggaaaa	1920
ggaaatggtc	aggtctggag	gcatatgttt	cactgcactg	ggactgagca	gcacatggga	1980
gattgtcctg	taactgctct	gggtgcttca	ctatgtcctt	cagggcaagt	ggcctctgta	2040
atttgctcag	gaaaccagtc	ccaaacactg	tcctcgtgca	attcatcatc	tctgggcccc	2100
acaaggccta	ccattccaga	agaaagtgct	gtggcctgca	tagagagtgg	tcaacttcgc	2160
ttggtaaatg	gaggaggtcg	ctgtgctggg	agagtagaga	tttatcatga	gggctcctgg	2220
ggcaccatct	gtgatgacag	ctgggacctg	agcgatgccc	acgtggtgtg	cagacagctg	2280
ggctgtggag	aggccattaa	tgccactggt	tctgctcatt	ttggagaagg	aacagggccc	2340
atctggctgg	atgagatgaa	atgcaatgga	aaagaatccc	gtatttgga	gtgccattca	2400
catggctggg	ggcagcaaaa	ctgcaggcac	aaggaggatg	caggagttaa	ctgctcagag	2460
ttcatgtctc	tgagactgac	cagtgaagcc	agcagagagg	cctgtgcagg	gcgtctagaa	2520
gttttttaca	acggagcttg	gggcagtgtt	ggcaggagta	acatgtctga	aaccactgtg	2580
gggtgtggtg	gcaggcagct	gggctgtgca	gacaaagggg	aaatcaactc	tgcattctta	2640
gacaaggcca	tgtccattcc	catgtgggtg	gacaatgttc	agtgtccaaa	aggacctgac	2700
acgtgtggc	agtgcccatc	atctccatgg	gagaagagac	tggccaggcc	ctcggaggag	2760
acctggatca	catgtgacaa	caagatgaga	ctacaagaag	gaccacttc	ctgttctgga	2820
cgtgtggaga	tctggcacgg	aggttcctgg	gggacagtgt	gtgatgactc	ctgggacttg	2880
aacgatgctc	aggtggtgtg	tcaacaactt	ggctgtggtc	cagctttgaa	agcattcaaa	2940
gaagcagagt	ttggtcaggg	gactggaccc	atatggctca	atgaagtgaa	gtgcaaaggg	3000
aatgagtctt	ccttggtgga	ttgtcctgcc	agacgctggg	gccacagtga	gtgtggacac	3060
aaggaagacg	ctgcagtgaa	ttgcacagca	caaaaaattt	caacgcacaa	aacccacaaa	3120
aaagccacaa	caggtcggtc	attccttatt	gcattcggaa	tccttgaggt	tgttctcttg	3180

48

523

gccattttcg tcgcattatt cttgactcaa aagcgaagac agagacagcg gcttacagtt 3240
tcctcaagag gagagaactt agtccaccaa attcaatacc gggagatgaa ttcttgccctg 3300
aatgcagatg atctggacct aatgaattcc tcaggaggcc attctgagggc acac 3354

<210> 42
<211> 1118
<212> PRT
<213> African Green Monkey

<400> 42

Met Ser Lys Leu Arg Met Val Leu Leu Glu Asp Ser Gly Ser Ala Asp
1 5 10 15

Val Arg Arg His Phe Val Asn Leu Ser Pro Phe Thr Ile Ala Val Val
20 25 30

Leu Leu Leu Arg Ala Cys Phe Val Thr Ser Ser Leu Gly Gly Thr Thr
35 40 45

Lys Glu Leu Arg Leu Val Asp Gly Glu Asn Lys Cys Ser Gly Arg Val
50 55 60

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

Ser Met Glu Ala Val Ser Val Ile Cys Asn Gln Leu Gly Cys Pro Thr
85 90 95

Ala Ile Lys Ala Thr Gly Trp Ala Asn Ser Ser Ala Gly Ser Gly Arg
100 105 110

Ile Trp Met Asp His Val Ser Cys Arg Gly Asn Glu Ser Ala Leu Trp
115 120 125

Asp Cys Lys His Asp Gly Trp Gly Lys His Ser Asn Cys Thr His Gln
130 135 140

Gln Asp Ala Gly Val Thr Cys Ser Asp Gly Ser Asp Leu Glu Met Arg
145 150 155 160

Leu Thr Asn Gly Gly Asn Met Cys Ser Gly Arg Ile Glu Ile Lys Phe
165 170 175

Gln Gly Gln Trp Gly Thr Val Cys Asp Asp Asn Phe Asn Ile Asn His
180 185 190

278

524

Ala Ser Val Val Cys Lys Gln Leu Glu Cys Gly Ser Ala Val Ser Phe
195 200 205

Ser Gly Ser Ala Asn Phe Gly Glu Gly Ser Gly Pro Ile Trp Phe Asp
210 215 220

Asp Leu Ile Cys Asn Gly Asn Glu Ser Ala Leu Trp Asn Cys Lys His
225 230 235 240

Gln Gly Trp Gly Lys His Asn Cys Asp His Ala Glu Asp Ala Gly Val
245 250 255

Ile Cys Ser Lys Gly Ala Asp Leu Ser Leu Arg Leu Val Asp Gly Val
260 265 270

Thr Glu Cys Ser Gly Arg Leu Glu Val Arg Phe Gln Gly Glu Trp Gly
275 280 285

Thr Ile Cys Asp Asp Gly Trp Asp Ser His Asp Ala Ala Val Ala Cys
290 295 300

Lys Gln Leu Gly Cys Pro Thr Ala Ile Thr Ala Ile Gly Arg Val Asn
305 310 315 320

Ala Ser Glu Gly Phe Gly His Ile Trp Leu Asp Ser Val Ser Cys Gln
325 330 335

Gly His Glu Pro Ala Val Trp Gln Cys Lys His His Glu Trp Gly Lys
340 345 350

His Tyr Cys Asn His Asn Glu Asp Ala Gly Val Thr Cys Ser Asp Gly
355 360 365

Ser Asp Leu Glu Leu Arg Leu Arg Gly Gly Gly Ser Arg Cys Ala Gly
370 375 380

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

Gly Trp Gly Leu Lys Glu Ala Asp Val Val Cys Arg Gln Leu Gly Cys
405 410 415

Gly Ser Ala Leu Lys Thr Ser Tyr Gln Val Tyr Ser Lys Ile Gln Ala
420 425 430

47x

525

Thr Asn Met Trp Leu Phe Leu Ser Ser Cys Asn Gly Asn Glu Thr Ser
435 440 445

Leu Trp Asp Cys Lys Asn Trp Gln Trp Gly Gly Leu Thr Cys Asp His
450 455 460

Tyr Glu Glu Ala Lys Ile Thr Cys Ser Ala His Arg Glu Pro Arg Leu
465 470 475 480

Val Gly Gly Asp Ile Pro Cys Ser Gly Arg Val Glu Val Lys His Gly
485 490 495

Asp Thr Trp Gly Ser Val Cys Asp Ser Asp Phe Ser Leu Glu Ala Ala
500 505 510

Ser Val Leu Cys Arg Glu Leu Gln Cys Gly Thr Val Val Ser Ile Leu
515 520 525

Gly Gly Ala His Phe Gly Glu Gly Asn Gly Gln Ile Trp Ala Glu Glu
530 535 540

Phe Gln Cys Glu Gly His Glu Ser His Leu Ser Leu Cys Pro Val Ala
545 550 555 560

Pro Arg Pro Glu Gly Thr Cys Ser His Ser Arg Asp Val Gly Val Val
565 570 575

Cys Ser Arg Tyr Thr Glu Ile Arg Leu Val Asn Gly Lys Thr Pro Cys
580 585 590

Glu Gly Arg Val Glu Leu Lys Thr Leu Asn Ala Trp Gly Ser Leu Cys
595 600 605

Asn Ser His Trp Asp Ile Glu Asp Ala His Val Leu Cys Gln Gln Leu
610 615 620

Lys Cys Gly Val Ala Leu Ser Thr Pro Gly Gly Ala His Phe Gly Lys
625 630 635 640

Gly Asn Gly Gln Val Trp Arg His Met Phe His Cys Thr Gly Thr Glu
645 650 655

Gln His Met Gly Asp Cys Pro Val Thr Ala Leu Gly Ala Ser Leu Cys
660 665 670

Pro Ser Gly Gln Val Ala Ser Val Ile Cys Ser Gly Asn Gln Ser Gln

526 ~~172~~

675					680					685					
Thr	Leu	Ser	Ser	Cys	Asn	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Pro	Thr	Arg	Pro	Thr
690						695					700				
Ile	Pro	Glu	Glu	Ser	Ala	Val	Ala	Cys	Ile	Glu	Ser	Gly	Gln	Leu	Arg
705					710					715					720
Leu	Val	Asn	Gly	Gly	Gly	Arg	Cys	Ala	Gly	Arg	Val	Glu	Ile	Tyr	His
				725					730					735	
Glu	Gly	Ser	Trp	Gly	Thr	Ile	Cys	Asp	Asp	Ser	Trp	Asp	Leu	Ser	Asp
			740					745					750		
Ala	His	Val	Val	Cys	Arg	Gln	Leu	Gly	Cys	Gly	Glu	Ala	Ile	Asn	Ala
		755					760					765			
Thr	Gly	Ser	Ala	His	Phe	Gly	Glu	Gly	Thr	Gly	Pro	Ile	Trp	Leu	Asp
	770					775					780				
Glu	Met	Lys	Cys	Asn	Gly	Lys	Glu	Ser	Arg	Ile	Trp	Gln	Cys	His	Ser
785					790					795					800
His	Gly	Trp	Gly	Gln	Gln	Asn	Cys	Arg	His	Lys	Glu	Asp	Ala	Gly	Val
				805					810					815	
Ile	Cys	Ser	Glu	Phe	Met	Ser	Leu	Arg	Leu	Thr	Ser	Glu	Ala	Ser	Arg
			820					825					830		
Glu	Ala	Cys	Ala	Gly	Arg	Leu	Glu	Val	Phe	Tyr	Asn	Gly	Ala	Trp	Gly
		835					840					845			
Ser	Val	Gly	Arg	Ser	Asn	Met	Ser	Glu	Thr	Thr	Val	Gly	Val	Val	Cys
	850					855					860				
Arg	Gln	Leu	Gly	Cys	Ala	Asp	Lys	Gly	Lys	Ile	Asn	Ser	Ala	Ser	Leu
865					870					875					880
Asp	Lys	Ala	Met	Ser	Ile	Pro	Met	Trp	Val	Asp	Asn	Val	Gln	Cys	Pro
				885					890					895	
Lys	Gly	Pro	Asp	Thr	Leu	Trp	Gln	Cys	Pro	Ser	Ser	Pro	Trp	Glu	Lys
			900					905					910		
Arg	Leu	Ala	Arg	Pro	Ser	Glu	Glu	Thr	Trp	Ile	Thr	Cys	Asp	Asn	Lys
		915					920					925			

527

Met Arg Leu Gln Glu Gly Pro Thr Ser Cys Ser Gly Arg Val Glu Ile
930 935 940

Trp His Gly Gly Ser Trp Gly Thr Val Cys Asp Asp Ser Trp Asp Leu
945 950 955 960

Asn Asp Ala Gln Val Val Cys Gln Gln Leu Gly Cys Gly Pro Ala Leu
965 970 975

Lys Ala Phe Lys Glu Ala Glu Phe Gly Gln Gly Thr Gly Pro Ile Trp
980 985 990

Leu Asn Glu Val Lys Cys Lys Gly Asn Glu Ser Ser Leu Trp Asp Cys
995 1000 1005

Pro Ala Arg Arg Trp Gly His Ser Glu Cys Gly His Lys Glu Asp
1010 1015 1020

Ala Ala Val Asn Cys Thr Ala Gln Lys Ile Ser Thr His Lys Thr
1025 1030 1035

Pro Gln Lys Ala Thr Thr Gly Arg Ser Phe Leu Ile Ala Phe Gly
1040 1045 1050

Ile Leu Gly Val Val Leu Leu Ala Ile Phe Val Ala Leu Phe Leu
1055 1060 1065

Thr Gln Lys Arg Arg Gln Arg Gln Arg Leu Thr Val Ser Ser Arg
1070 1075 1080

Gly Glu Asn Leu Val His Gln Ile Gln Tyr Arg Glu Met Asn Ser
1085 1090 1095

Cys Leu Asn Ala Asp Asp Leu Asp Leu Met Asn Ser Ser Gly Gly
1100 1105 1110

His Ser Glu Ala His
1115

- <210> 43
- <211> 3459
- <212> DNA
- <213> African Green Monkey

<400> 43
atgagcaaac tcagaatggt gctacttgaa gactctggat ctgctgacgt cagaagacat 60

tttgtcaact	tgagtcacct	cactattgct	gtggtcttac	ttctccgtgc	ctgttttgtc	120
accagttctc	ttggaggaac	aaccaaggag	ctgaggctag	tggatgggtg	aaacaagtgt	180
agtgggagag	tggaagtga	aatccaggag	gagtggggaa	cgggtgtgtg	taatggctgg	240
agcatggaag	cagtctctgt	gatttgtaac	cagctgggat	gtccaactgc	tatcaaagcc	300
actggatggg	ctaattccag	tgcaggttct	ggacgcattt	ggatggatca	tgtttcttgt	360
cgtgggaatg	agtcagctct	ttgggactgc	aaacatgatg	gatggggaaa	gcatagtaac	420
tgtactcacc	aacaagatgc	tggagtgact	tgctcagatg	gatccgattt	ggaaatgagg	480
ctgacgaatg	gagggaaatat	gtgttcttga	agaatagaga	tcaaattcca	aggacagtgg	540
ggaacagtgt	gtgatgataa	cttcaacatc	aatcatgcat	ctgtggtttg	taaacaactt	600
gaatgtggaa	gtgctgtcag	tttctctggt	tcagctaatt	ttggagaagg	ctctggacca	660
atctggtttg	atgatcttat	atgcaacgga	aatgagtcag	ctctctggaa	ctgcaaacat	720
caaggatggg	gaaagcataa	ctgtgatcat	gctgaggatg	ctggagtgat	ttgctcaaag	780
ggagcagatc	tgagcctgag	actggtagat	ggagtcactg	aatgttcagg	aagattagaa	840
gtgagattcc	aaggagaatg	ggggacaata	tgtgatgacg	gctgggacag	tcatgatgct	900
gctgtggcat	gcaagcaact	gggatgtcca	actgctatca	cgcgcatttg	tcgagttaac	960
gccagtgagg	gatttggaac	catctggctt	gacagtgttt	cttgccaggg	acatgaacct	1020
gcggtctggc	aatgtaaaca	ccatgaatgg	ggaaagcatt	attgcaatca	caatgaagat	1080
gctggcgtaa	catgttctga	tggatcagat	ctggagctaa	gacttagagg	tggaggcagc	1140
cgctgtgctg	ggacagttga	ggtggagatt	cagagactgt	tagggaagg	gtgtgacaga	1200
ggctggggac	tgaaagaagc	tgatgtggtt	tgcaggcagc	tgggatgtgg	atctgcactc	1260
aaaacatcct	atcaagtata	ctccaaaatc	caggcaacaa	acatgtggct	gtttctaagt	1320
agctgtaacg	gaaatgaaac	ttctcttttg	gactgcaaga	actggcaatg	gggtggactt	1380
acctgtgatc	actatgaaga	agccaaaatt	acctgctcag	cccacaggga	acccagactg	1440
gttgaggag	acattccctg	ttctggacgc	gttgaagtga	agcatggtga	cacatggggc	1500
tccgtctgtg	attcggattt	ctctctggaa	gctgccagcg	ttctatgcag	ggaattacag	1560
tgtggcacag	tcgtctctat	cctgggggga	gctcactttg	gagagggaaa	tggacagatc	1620
tgggctgaag	aattccagtg	tgagggacat	gagtcccatc	tttactctg	cccagtagca	1680
ccccgcccag	aaggaaactg	tagccacagc	agggatgttg	gagtagtctg	ctcaagatac	1740
acagaaattc	gcttggtgaa	tggcaagacc	ccatgtgagg	gcagagtgga	gctcaaaacg	1800
cttaatgcct	ggggatccct	ctgcaactct	cactgggaca	tagaagatgc	ccacgttctt	1860

127
528

tgccaacaac	ttaa	atgtgg	agttgccctt	tctacccag	gaggagcaca	ttttgaaaa	1920
ggaaatggtc	aggtctggag	gcatatgttt	cactgcactg	ggactgagca	gcacatggga		1980
gattgtcctg	taactgctct	gggtgcttca	ctatgtcctt	cagggcaagt	ggcctctgta		2040
atttgctcag	gaaaccagtc	ccaaacactg	tcctcgtgca	attcatcatc	tctgggcca		2100
acaaggccta	ccattccaga	agaaagtgt	gtggcctgca	tagagagtgg	tcaacttcgc		2160
ttggtaaatg	gaggaggtcg	ctgtgctggg	agagtagaga	tttatcatga	gggctcctgg		2220
ggcaccatct	gtgatgacag	ctgggacctg	agcgatgcc	acgtgggtgtg	cagacagctg		2280
ggctgtggag	aggccattaa	tgccactgg	tctgtcatt	ttggagaagg	aacagggccc		2340
atctggctgg	atgagatgaa	atgcaatgga	aaagaatccc	gtatttgga	gtgccattca		2400
catggctggg	ggcagcaaaa	ctgcaggcac	aaggaggatg	caggagttaa	ctgctcagag		2460
ttcatgtctc	tgagactgac	cagtgaagcc	agcagagagg	cctgtgcagg	gcgtctagaa		2520
gttttttaca	acggagcttg	gggcagtgtt	ggcaggagta	acatgtctga	aacctgtgtg		2580
gggtgtgtgt	gcaggcagct	gggctgtgca	gacaaaggga	aaatcaactc	tgcatcttta		2640
gacaaggcca	tgtccattcc	catgtgggtg	gacaatgttc	agtgtccaaa	aggacctgac		2700
acgtgtggc	agtgcccatc	atctccatgg	gagaagagac	tggccaggcc	ctcggaggag		2760
acctggatca	catgtgacaa	caagatgaga	ctacaagaag	gacctacttc	ctgttctgga		2820
cgtgtggaga	tctggcacgg	aggttcctgg	gggacagtgt	gtgatgactc	ctgggacttg		2880
aacgatgctc	aggtgggtgtg	tcaacaactt	ggctgtggtc	cagctttgaa	agcattcaaa		2940
gaagcagagt	ttggtcaggg	gactggacct	atatggctca	atgaagtgaa	gtgcaaaggg		3000
aatgagtctt	ccttgtggga	ttgtcctgcc	agacgctggg	gccacagtga	gtgtggacac		3060
aaggaagacg	ctgcagtga	ttgcacagca	caaaaaattt	caacgcacaa	aacccacaa		3120
aaagccacaa	caggtcagtc	attcattatt	gcattcggaa	tccttgagtg	tggtctcttg		3180
gccattttcg	tgcattatt	cttgactcaa	aagcgaagac	agagacagcg	gcttacagtt		3240
tcctcaagag	gagagaactt	agtccaccaa	attcaatacc	gggagatgaa	ttcttgacctg		3300
aatgcagatg	atctggacct	aatgaattcc	tcagaaaatt	ccaatgagtc	agctgatttc		3360
aatgctgctg	aactaatttc	tgtgtctaaa	tttcttctta	tttctggaat	ggaaaaggag		3420
gccattctga	ggcacactga	aaaggaaaat	gggaattta				3459

<210> 44
 <211> 1153
 <212> PRT
 <213> African Green Monkey
 <400> 44

178
530

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

Gln Gly Trp Gly Lys His Asn Cys Asp His Ala Glu Asp Ala Gly Val
 245 250 255
 Ile Cys Ser Lys Gly Ala Asp Leu Ser Leu Arg Leu Val Asp Gly Val
 260 265 270
 Thr Glu Cys Ser Gly Arg Leu Glu Val Arg Phe Gln Gly Glu Trp Gly
 275 280 285
 Thr Ile Cys Asp Asp Gly Trp Asp Ser His Asp Ala Ala Val Ala Cys
 290 295 300
 Lys Gln Leu Gly Cys Pro Thr Ala Ile Thr Ala Ile Gly Arg Val Asn
 305 310 315 320
 Ala Ser Glu Gly Phe Gly His Ile Trp Leu Asp Ser Val Ser Cys Gln
 325 330 335
 Gly His Glu Pro Ala Val Trp Gln Cys Lys His His Glu Trp Gly Lys
 340 345 350
 His Tyr Cys Asn His Asn Glu Asp Ala Gly Val Thr Cys Ser Asp Gly
 355 360 365
 Ser Asp Leu Glu Leu Arg Leu Arg Gly Gly Gly Ser Arg Cys Ala Gly
 370 375 380
 Thr Val Glu Val Glu Ile Gln Arg Leu Leu Gly Lys Val Cys Asp Arg
 385 390 395 400
 Gly Trp Gly Leu Lys Glu Ala Asp Val Val Cys Arg Gln Leu Gly Cys
 405 410 415
 Gly Ser Ala Leu Lys Thr Ser Tyr Gln Val Tyr Ser Lys Ile Gln Ala
 420 425 430
 Thr Asn Met Trp Leu Phe Leu Ser Ser Cys Asn Gly Asn Glu Thr Ser
 435 440 445
 Leu Trp Asp Cys Lys Asn Trp Gln Trp Gly Gly Leu Thr Cys Asp His
 450 455 460
 Tyr Glu Glu Ala Lys Ile Thr Cys Ser Ala His Arg Glu Pro Arg Leu
 465 470 475 480
 Val Gly Gly Asp Ile Pro Cys Ser Gly Arg Val Glu Val Lys His Gly

53'

485 490 495

Asp Thr Trp Gly Ser Val Cys Asp Ser Asp Phe Ser Leu Glu Ala Ala
500 505 510

Ser Val Leu Cys Arg Glu Leu Gln Cys Gly Thr Val Val Ser Ile Leu
515 520 525

Gly Gly Ala His Phe Gly Glu Gly Asn Gly Gln Ile Trp Ala Glu Glu
530 535 540

Phe Gln Cys Glu Gly His Glu Ser His Leu Ser Leu Cys Pro Val Ala
545 550 555 560

Pro Arg Pro Glu Gly Thr Cys Ser His Ser Arg Asp Val Gly Val Val
565 570 575

Cys Ser Arg Tyr Thr Glu Ile Arg Leu Val Asn Gly Lys Thr Pro Cys
580 585 590

Glu Gly Arg Val Glu Leu Lys Thr Leu Asn Ala Trp Gly Ser Leu Cys
595 600 605

Asn Ser His Trp Asp Ile Glu Asp Ala His Val Leu Cys Gln Gln Leu
610 615 620

Lys Cys Gly Val Ala Leu Ser Thr Pro Gly Gly Ala His Phe Gly Lys
625 630 635 640

Gly Asn Gly Gln Val Trp Arg His Met Phe His Cys Thr Gly Thr Glu
645 650 655

Gln His Met Gly Asp Cys Pro Val Thr Ala Leu Gly Ala Ser Leu Cys
660 665 670

Pro Ser Gly Gln Val Ala Ser Val Ile Cys Ser Gly Asn Gln Ser Gln
675 680 685

Thr Leu Ser Ser Cys Asn Ser Ser Ser Leu Gly Pro Thr Arg Pro Thr
690 695 700

Ile Pro Glu Glu Ser Ala Val Ala Cys Ile Glu Ser Gly Gln Leu Arg
705 710 715 720

Leu Val Asn Gly Gly Gly Arg Cys Ala Gly Arg Val Glu Ile Tyr His
725 730 735

478
532

479

533

Glu Gly Ser Trp Gly Thr Ile Cys Asp Asp Ser Trp Asp Leu Ser Asp
740 745 750

Ala His Val Val Cys Arg Gln Leu Gly Cys Gly Glu Ala Ile Asn Ala
755 760 765

Thr Gly Ser Ala His Phe Gly Glu Gly Thr Gly Pro Ile Trp Leu Asp
770 775 780

Glu Met Lys Cys Asn Gly Lys Glu Ser Arg Ile Trp Gln Cys His Ser
785 790 795 800

His Gly Trp Gly Gln Gln Asn Cys Arg His Lys Glu Asp Ala Gly Val
805 810 815

Ile Cys Ser Glu Phe Met Ser Leu Arg Leu Thr Ser Glu Ala Ser Arg
820 825 830

Glu Ala Cys Ala Gly Arg Leu Glu Val Phe Tyr Asn Gly Ala Trp Gly
835 840 845

Ser Val Gly Arg Ser Asn Met Ser Glu Thr Thr Val Gly Val Val Cys
850 855 860

Arg Gln Leu Gly Cys Ala Asp Lys Gly Lys Ile Asn Ser Ala Ser Leu
865 870 875 880

Asp Lys Ala Met Ser Ile Pro Met Trp Val Asp Asn Val Gln Cys Pro
885 890 895

Lys Gly Pro Asp Thr Leu Trp Gln Cys Pro Ser Ser Pro Trp Glu Lys
900 905 910

Arg Leu Ala Arg Pro Ser Glu Glu Thr Trp Ile Thr Cys Asp Asn Lys
915 920 925

Met Arg Leu Gln Glu Gly Pro Thr Ser Cys Ser Gly Arg Val Glu Ile
930 935 940

Trp His Gly Gly Ser Trp Gly Thr Val Cys Asp Asp Ser Trp Asp Leu
945 950 955 960

Asn Asp Ala Gln Val Val Cys Gln Gln Leu Gly Cys Gly Pro Ala Leu
965 970 975

130

534

Lys Ala Phe Lys Glu Ala Glu Phe Gly Gln Gly Thr Gly Pro Ile Trp
980 985 990

Leu Asn Glu Val Lys Cys Lys Gly Asn Glu Ser Ser Leu Trp Asp Cys
995 1000 1005

Pro Ala Arg Arg Trp Gly His Ser Glu Cys Gly His Lys Glu Asp
1010 1015 1020

Ala Ala Val Asn Cys Thr Ala Gln Lys Ile Ser Thr His Lys Thr
1025 1030 1035

Pro Gln Lys Ala Thr Thr Gly Gln Ser Phe Leu Ile Ala Phe Gly
1040 1045 1050

Ile Leu Gly Val Val Leu Leu Ala Ile Phe Val Ala Leu Phe Leu
1055 1060 1065

Thr Gln Lys Arg Arg Gln Arg Gln Arg Leu Thr Val Ser Ser Arg
1070 1075 1080

Gly Glu Asn Leu Val His Gln Ile Gln Tyr Arg Glu Met Asn Ser
1085 1090 1095

Cys Leu Asn Ala Asp Asp Leu Asp Leu Met Asn Ser Ser Glu Asn
1100 1105 1110

Ser Asn Glu Ser Ala Asp Phe Asn Ala Ala Glu Leu Ile Ser Val
1115 1120 1125

Ser Lys Phe Leu Pro Ile Ser Gly Met Glu Lys Glu Ala Ile Leu
1130 1135 1140

Arg His Thr Glu Lys Glu Asn Gly Asn Leu
1145 1150

<210> 45
<211> 3345
<212> DNA
<213> Canis familiaris

<400> 45
atgagcaaac tcagaatggt cccacatgga aactctggat ctgctgactt tagaagatgt 60
tttgcctct tgtgtccctc tgctgtggct gtgggtctcca ttctcagtac ctgtttgatg 120
accaattctc ttgggagagc agataaagag atgaggctaa cggatgggtga agacaattgc 180

tccgggagag	tggaagtgaa	agtccaggag	gagtggggaa	cgggtgtgtaa	taatggctgg	240
ggcatggatg	aagtctctgt	gatttgcagg	cagctgggat	gtcccactgc	tatcaaagcc	300
gctggatggg	ccaattccag	ggcaggctct	ggacgaatct	ggatggatca	tgtttcttgt	360
cgagggaaatg	aatctgctct	ctgggactgc	aaacatgatg	gatggggaaa	gcacaactgc	420
agtcatcaac	aggatgctgg	agtaacctgt	tcagatggat	ccagtttggg	gatgaggttg	480
atgaacggcg	gaaaccagtg	ttctggcaga	atagaagtca	agttccaggg	acagtgggga	540
acagtgtgtg	atgacaactt	caacatagat	catgcttctg	tggtttgtaa	acagctcgaa	600
tgtggaagtg	ctgtcagttt	ctctggttca	gctaattttg	gagaaggttc	tgggccaatc	660
tggtttgatg	atcttgtgtg	cagtggaaat	gagtcagctc	tctggaactg	caagcatgaa	720
ggatggggaa	agcataactg	tgatcacgct	gaggatgttg	gagtgatttg	cttggatgga	780
gcagatctga	gcctgagact	gtagatgga	gtcactgaat	gttcaggaag	attagaagta	840
aaattccaag	gggaatgggg	gacagtgtgt	gatgatggct	gggatagtaa	tgatgctgct	900
gtggtatgta	aacaactggg	atgccaact	gctgtcaccg	ccattggtcg	agttaacgcc	960
agtgagggaa	gtggacacat	ttggcttgac	aatctttcct	gccaaggaga	cgaatctgct	1020
ctctggcagt	gtagacacca	tgaatgggga	aagcattatt	gcaatcataa	tgaagatgct	1080
ggtgtgacat	gttctgatgg	atcagacctg	gagctgagac	ttgtcggtag	aggcagccgc	1140
tgtgctggga	cagtggaggt	tgaattcag	aaactgctag	ggaaagtatg	tgatagaggg	1200
tggggactga	aagaagccga	tgtggtttgc	aagcagttgg	gatgtggatc	tgctctcaaa	1260
acgtcctatc	agcgttattc	caaagttaag	gcaacaaaca	catggctggt	tttaagccgc	1320
tgtagtggca	atgaaacttc	cctttgggac	tgcaagaact	ggcagtgggg	tggactgagc	1380
tgtgatcact	atgaagaagc	taaagttacc	tgctcagccc	acaggggaacc	cagactagtt	1440
ggaggagata	ttccctgctc	tggtcgtggt	gaagtgaaac	atggtgacac	atggggcacc	1500
gtctgtgatt	ccgacttctc	tttggaaagct	gccagtgtgc	tgtgcagaga	gttacagtgt	1560
ggcacagtca	tctccatcct	agggggagct	cactttggag	aaggaaatgg	acagatctgg	1620
gctgaagaat	tccagtgtga	ggggcaggag	tcccatcttt	cactctgttc	agtagcctct	1680
cgcccagatg	ggacctgtag	ccacagcagg	gatgttggag	tcgtctgctc	aagatacacg	1740
gaaatccgct	tggatgaatgg	ccagtccccg	tgtgaaggaa	gagtggagct	caagatactt	1800
gggaactggg	gatccctctg	caactctcac	tgggacatag	aagatgcccc	tgttttctgt	1860
cagcagctca	aatgtggagt	tgccctttct	attccgggag	gagcacattt	tgggaaagga	1920
agtggtcaga	tctggaggca	catgtttcac	tgactggga	ctgagcagca	catgggagat	1980
tgccctgtaa	ctgctctggg	cgcgacgctg	tgttctgctg	ggcaagtggc	ctctgtaatc	2040

48x
535

536

tgctcaggaa atcagagcca gacgctatcc ccatgcaatt caacatctct ggacccaaca 2100
agatctacca cttcggaaga aagtgtgttt gcttgtattg cgagtgggca acttcgcctg 2160
gtaaatggag gcggtcgctg tgctgggaga atagaggtct accatgaggg ctccctggggc 2220
accatctgtg atgacagctg ggacctgagt gatgcccatt tgggtgtgcag acagctgggc 2280
tgtggagtg ccattaatgc cactggctct gctcattttg ggaaggaac agggcccatc 2340
tggctggacg aggtgaactg taatggaaag gaatctcata tctggcaatg ccgctcacac 2400
ggctgggggc aacacaactg cagacataag gaggatgcag gagttatctg ctccagagttc 2460
atgtctctca gactgattga tgaaccagc agagacatct gtgcagggcg tcttgaagtt 2520
ttttacaatg gagcttgggg cagcgttggc aagagtaata tgtctgcaac cactgtggag 2580
gtggtatgca ggcaactggg ttgtgcagac aaggggagca tcaaccctgc atcttcagac 2640
aagcccatgt ccaggcacat gtgggtggac aatgtccagt gtccaaaagg acctgacacc 2700
ttatggcagt gccatcttc tccatggaaa cagagagtgg ccagttcttc agaggagacc 2760
tggatcacat gtgccaacaa gataagactt caagaaggaa cctctaattg ttctggacgt 2820
gtggagctct ggcacggagg ttcctggggg acagtgtgcg atgactcctg ggaccttgaa 2880
gatgcacaag tgggtgtgtc acagctgggc tgtggcccag cattagaagc actaaaagag 2940
gcagcatttg gtcaggggac tgggcctata tggctcaatg acgtgaagtg caaagggaaat 3000
gagtcttcct tgtgggattg tcctgctaga ccctgggggc acagtgactg tggccacaag 3060
gaagatgctg ctgtgaggtg ctcagaaatt gcaatggccc aaagatcatc aaatcctaga 3120
ggtcactcat ccctgtttgc attggggatc tttggtgtca ttcttctggc ctttctcatc 3180
gctctcctct tgtggactca aaggcgaaga cagcaacagc ggcttacagt ttccttgaga 3240
ggagagaatt ctgtccacca aattcaatac cgggaaatga attcttcctt gaaagcagat 3300
gatctggacg tgctgacttc ctcagaagac cattttgagg tacac 3345

<210> 46
<211> 1115
<212> PRT
<213> Canis familiaris

<400> 46

Met Ser Lys Leu Arg Met Val Pro His Gly Asn Ser Gly Ser Ala Asp
1 5 10 15

Phe Arg Arg Cys Phe Ala Leu Leu Cys Pro Ser Ala Val Ala Val Val
20 25 30

537

Ser Ile Leu Ser Thr Cys Leu Met Thr Asn Ser Leu Gly Arg Ala Asp
35 40 45

Lys Glu Met Arg Leu Thr Asp Gly Glu Asp Asn Cys Ser Gly Arg Val
50 55 60

Glu Val Lys Val Gln Glu Glu Trp Gly Thr Val Cys Asn Asn Gly Trp
65 70 75 80

Gly Met Asp Glu Val Ser Val Ile Cys Arg Gln Leu Gly Cys Pro Thr
85 90 95

Ala Ile Lys Ala Ala Gly Trp Ala Asn Ser Arg Ala Gly Ser Gly Arg
100 105 110

Ile Trp Met Asp His Val Ser Cys Arg Gly Asn Glu Ser Ala Leu Trp
115 120 125

Asp Cys Lys His Asp Gly Trp Gly Lys His Asn Cys Ser His Gln Gln
130 135 140

Asp Ala Gly Val Thr Cys Ser Asp Gly Ser Ser Leu Glu Met Arg Leu
145 150 155 160

Met Asn Gly Gly Asn Gln Cys Ser Gly Arg Ile Glu Val Lys Phe Gln
165 170 175

Gly Gln Trp Gly Thr Val Cys Asp Asp Asn Phe Asn Ile Asp His Ala
180 185 190

Ser Val Val Cys Lys Gln Leu Glu Cys Gly Ser Ala Val Ser Phe Ser
195 200 205

Gly Ser Ala Asn Phe Gly Glu Gly Ser Gly Pro Ile Trp Phe Asp Asp
210 215 220

Leu Val Cys Ser Gly Asn Glu Ser Ala Leu Trp Asn Cys Lys His Glu
225 230 235 240

Gly Trp Gly Lys His Asn Cys Asp His Ala Glu Asp Val Gly Val Ile
245 250 255

Cys Leu Asp Gly Ala Asp Leu Ser Leu Arg Leu Val Asp Gly Val Thr
260 265 270

Glu Cys Ser Gly Arg Leu Glu Val Lys Phe Gln Gly Glu Trp Gly Thr

234

538

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

1285

539

Gly Ala His Phe Gly Glu Gly Asn Gly Gln Ile Trp Ala Glu Glu Phe
530 535 540

Gln Cys Glu Gly Gln Glu Ser His Leu Ser Leu Cys Ser Val Ala Ser
545 550 555 560

Arg Pro Asp Gly Thr Cys Ser His Ser Arg Asp Val Gly Val Val Cys
565 570 575

Ser Arg Tyr Thr Glu Ile Arg Leu Val Asn Gly Gln Ser Pro Cys Glu
580 585 590

Gly Arg Val Glu Leu Lys Ile Leu Gly Asn Trp Gly Ser Leu Cys Asn
595 600 605

Ser His Trp Asp Ile Glu Asp Ala His Val Phe Cys Gln Gln Leu Lys
610 615 620

Cys Gly Val Ala Leu Ser Ile Pro Gly Gly Ala His Phe Gly Lys Gly
625 630 635 640

Ser Gly Gln Ile Trp Arg His Met Phe His Cys Thr Gly Thr Glu Gln
645 650 655

His Met Gly Asp Cys Pro Val Thr Ala Leu Gly Ala Thr Leu Cys Ser
660 665 670

Ala Gly Gln Val Ala Ser Val Ile Cys Ser Gly Asn Gln Ser Gln Thr
675 680 685

Leu Ser Pro Cys Asn Ser Thr Ser Leu Asp Pro Thr Arg Ser Thr Thr
690 695 700

Ser Glu Glu Ser Ala Val Ala Cys Ile Ala Ser Gly Gln Leu Arg Leu
705 710 715 720

Val Asn Gly Gly Gly Arg Cys Ala Gly Arg Ile Glu Val Tyr His Glu
725 730 735

Gly Ser Trp Gly Thr Ile Cys Asp Asp Ser Trp Asp Leu Ser Asp Ala
740 745 750

His Val Val Cys Arg Gln Leu Gly Cys Gly Val Ala Ile Asn Ala Thr
755 760 765

466

540

Gly Ser Ala His Phe Gly Glu Gly Thr Gly Pro Ile Trp Leu Asp Glu
770 775 780

Val Asn Cys Asn Gly Lys Glu Ser His Ile Trp Gln Cys Arg Ser His
785 790 795 800

Gly Trp Gly Gln His Asn Cys Arg His Lys Glu Asp Ala Gly Val Ile
805 810 815

Cys Ser Glu Phe Met Ser Leu Arg Leu Ile Asp Glu Thr Ser Arg Asp
820 825 830

Ile Cys Ala Gly Arg Leu Glu Val Phe Tyr Asn Gly Ala Trp Gly Ser
835 840 845

Val Gly Lys Ser Asn Met Ser Ala Thr Thr Val Glu Val Val Cys Arg
850 855 860

Gln Leu Gly Cys Ala Asp Lys Gly Ser Ile Asn Pro Ala Ser Ser Asp
865 870 875 880

Lys Pro Met Ser Arg His Met Trp Val Asp Asn Val Gln Cys Pro Lys
885 890 895

Gly Pro Asp Thr Leu Trp Gln Cys Pro Ser Ser Pro Trp Lys Gln Arg
900 905 910

Val Ala Ser Ser Ser Glu Glu Thr Trp Ile Thr Cys Ala Asn Lys Ile
915 920 925

Arg Leu Gln Glu Gly Thr Ser Asn Cys Ser Gly Arg Val Glu Leu Trp
930 935 940

His Gly Gly Ser Trp Gly Thr Val Cys Asp Asp Ser Trp Asp Leu Glu
945 950 955 960

Asp Ala Gln Val Val Cys Arg Gln Leu Gly Cys Gly Pro Ala Leu Glu
965 970 975

Ala Leu Lys Glu Ala Ala Phe Gly Gln Gly Thr Gly Pro Ile Trp Leu
980 985 990

Asn Asp Val Lys Cys Lys Gly Asn Glu Ser Ser Leu Trp Asp Cys Pro
995 1000 1005

541

Ala Arg Pro Trp Gly His Ser Asp Cys Gly His Lys Glu Asp Ala
1010 1015 1020

Ala Val Arg Cys Ser Glu Ile Ala Met Ala Gln Arg Ser Ser Asn
1025 1030 1035

Pro Arg Gly His Ser Ser Leu Val Ala Leu Gly Ile Phe Gly Val
1040 1045 1050

Ile Leu Leu Ala Phe Leu Ile Ala Leu Leu Leu Trp Thr Gln Arg
1055 1060 1065

Arg Arg Gln Gln Gln Arg Leu Thr Val Ser Leu Arg Gly Glu Asn
1070 1075 1080

Ser Val His Gln Ile Gln Tyr Arg Glu Met Asn Ser Ser Leu Lys
1085 1090 1095

Ala Asp Asp Leu Asp Val Leu Thr Ser Ser Glu Asp His Phe Glu
1100 1105 1110

Val His
1115

<210> 47
<211> 3399
<212> DNA
<213> Canis familiaris

<400> 47
atgagcaaac tcagaatggt cccacatgga aactctggat ctgctgactt tagaagatgt 60
tttgccctct tgtgtccctc tgctgtggct gtggtctcca ttctcagtac ctgtttgatg 120
accaattctc ttgggagagc agataaagag atgaggctaa cggatggtga agacaattgc 180
tccgggagag tggaaagtga agtccaggag gagtggggaa cgggtgtgtaa taatggctgg 240
ggcatggatg aagtctctgt gatttgcagg cagctgggat gtccactgc tatcaaagcc 300
gctggatggg ccaattccag ggcaggctct ggacgaatct ggatggatca tgtttcttgt 360
cgagggaaatg aatctgctct ctgggactgc aaacatgatg gatggggaaa gcacaactgc 420
agtcatcaac aggatgctgg agtaacctgt tcagatggat ccagtttgga gatgaggttg 480
atgaacggcg gaaaccagtg ttctggcaga atagaagtca agttccaggg acagtgggga 540
acagtgtgtg atgacaactt caacatagat catgcttctg tggtttgtaa acagctcgaa 600
tgtggaagtg ctgtcagttt ctctggttca gctaattttg gagaaggttc tgggccaatc 660
tggtttgatg atcttgtgtg cagtggaaat gagtcaagctc tctggaactg caagcatgaa 720

~~108~~
542

ggatggggaa agcataactg tgatcacgct gaggatgttg gaggatgttg cttggatgga	780
gcagatctga gcctgagact ggtagatgga gtcactgaat gttcaggaag attagaagta	840
aaattccaag gggaatgggg gacagtgtgt gatgatggct gggatagtaa tgatgctgct	900
gtggtatgta aacaactggg atgcccact gctgtcaccg ccattggtcg agttaacgcc	960
agtgagggaa gtggacacat ttggcttgac aatctttcct gccaggaga cgaatctgct	1020
ctctggcagt gtagacacca tgaatgggga aagcattatt gcaatcataa tgaagatgct	1080
ggtgtgacat gttctgatgg atcagacctg gagctgagac ttgtcgggtg aggcagccgc	1140
tgtgctggga cagtggaggt tgaattcag aaactgctag ggaaagtatg tgatagaggc	1200
tggggactga aagaagccga tgtggtttgc aagcagttgg gatgtggatc tgctctcaaa	1260
acgtcctatc agcgttattc caaagttaag gcaacaaaca catggctgtt tttaagccgc	1320
tgtagtggca atgaacttc cctttgggac tgcaagaact ggcagtgggg tggactgagc	1380
tgtgatcact atgaagaagc taaagttacc tgctcagccc acagggaacc cagactagtt	1440
ggaggagata ttccctgctc tggctgtgtt gaagtgaac atggtgacac atggggcacc	1500
gtctgtgatt ccgacttctc tttggaagct gccagtgtgc tgtgcagaga gttacagtgt	1560
ggcacagtca tctccatcct agggggagct cactttggag aaggaaatgg acagatctgg	1620
gctgaagaat tccagtgtga ggggcaggag tcccatcttt cactctgttc agtagcctct	1680
cgcccagatg ggacctgtag ccacagcagg gatgttggag tcgtctgctc aagatacacg	1740
gaaatccgct tggatgaatgg ccagtccccg tgtgaaggaa gaggaggagct caagatactt	1800
gggaactggg gatccctctg caactctcac tgggacatag aagatgccc a tgttttctgt	1860
cagcagctca aatgtggagt tgccctttct attccgggag gagcacattt tgggaaagga	1920
agtggtcaga tctggaggca catgtttcac tgactggga ctgagcagca catgggagat	1980
tgccctgtaa ctgctctggg cgcgacgctg tgttctgctg ggcaagtggc ctctgtaatc	2040
tgctcaggaa atcagagcca gacgctatcc ccatgcaatt caacatctct ggaccaaca	2100
agatctacca cttcggaga aagtgtgtt gcttgtattg cgagtgggca acttcgcctg	2160
gtaaatggag gcggtcgctg tgctgggaga atagaggtct accatgaggg ctcttggggc	2220
accatctgtg atgacagctg ggacctgagt gatgcccatg tgggtgtgag acagctgggc	2280
tgtggagtgg ccattaatgc cactggctct gctcattttg gggaaggaa acgggcccac	2340
tggctggacg aggtgaactg taatggaaag gaatctcata tctggcaatg ccgctcacac	2400
ggctgggggc aacacaactg cagacataag gaggatgcag gagttatctg ctcagagttc	2460
atgtctctca gactgattga tgaaccagc agagacatct gtgcagggcg tcttgaagtt	2520

543

543

ttttacaatg gagcttgggg cagcgttggc aagagtaata tgtctgcaac cactgtggag 2580
gtggtatgca ggcaactggg ttgtgcagac aaggggagca tcaaccctgc atcttcagac 2640
aagcccatgt ccaggcacat gtgggtggac aatgtccagt gtccaaaagg acctgacacc 2700
ttatggcagt gcccatcttc tccatggaaa cagagagtgg ccagttcttc agaggagacc 2760
tggatcacat gtgccaacaa gataagactt caagaaggaa cctctaattg ttctggacgt 2820
gtggagctct ggcacggagg ttcttggggg acagtgtgcg atgactcctg ggaccttgaa 2880
gatgcacaag tgggtgtgtcg acagctgggc tgtggcccag cattagaagc actaaaagag 2940
gcagcatttg gtcagggggac tgggcctata tggctcaatg acgtgaagtg caaaggggaat 3000
gagtcttcct tgtgggattg tcctgctaga ccctgggggc acagtgactg tggccacaag 3060
gaagatgctg ctgtgagggtg ctcagaaatt gcaatggccc aaagatcatc aaatcctaga 3120
ggtcactcat cccttgttgc attggggatc tttggtgtca ttcttctggc ctttctcatc 3180
gctctcctct tgtggactca aaggcgaaga cagcaacagc ggcttacagt ttcttgaga 3240
ggagagaatt ctgtccacca aattcaatac cgggaaatga attcttcctt gaaagcagat 3300
gatctggacg tgctgacttc ctcagaatat cccaatgagt cagatgattt taatgatgct 3360
gggctaattt ctgtgtctaa atctcttctt atttctgga 3399

<210> 48
<211> 1133
<212> PRT
<213> Canis familiaris

<400> 48

Met Ser Lys Leu Arg Met Val Pro His Gly Asn Ser Gly Ser Ala Asp
1 5 10 15

Phe Arg Arg Cys Phe Ala Leu Leu Cys Pro Ser Ala Val Ala Val Val
20 25 30

Ser Ile Leu Ser Thr Cys Leu Met Thr Asn Ser Leu Gly Arg Ala Asp
35 40 45

Lys Glu Met Arg Leu Thr Asp Gly Glu Asp Asn Cys Ser Gly Arg Val
50 55 60

Glu Val Lys Val Gln Glu Glu Trp Gly Thr Val Cys Asn Asn Gly Trp
65 70 75 80

Gly Met Asp Glu Val Ser Val Ile Cys Arg Gln Leu Gly Cys Pro Thr
85 90 95

Ala Ile Lys Ala Ala Gly Trp Ala Asn Ser Arg Ala Gly Ser Gly Arg
100 105 110

Ile Trp Met Asp His Val Ser Cys Arg Gly Asn Glu Ser Ala Leu Trp
115 120 125

Asp Cys Lys His Asp Gly Trp Gly Lys His Asn Cys Ser His Gln Gln
130 135 140

Asp Ala Gly Val Thr Cys Ser Asp Gly Ser Ser Leu Glu Met Arg Leu
145 150 155 160

Met Asn Gly Gly Asn Gln Cys Ser Gly Arg Ile Glu Val Lys Phe Gln
165 170 175

Gly Gln Trp Gly Thr Val Cys Asp Asp Asn Phe Asn Ile Asp His Ala
180 185 190

Ser Val Val Cys Lys Gln Leu Glu Cys Gly Ser Ala Val Ser Phe Ser
195 200 205

Gly Ser Ala Asn Phe Gly Glu Gly Ser Gly Pro Ile Trp Phe Asp Asp
210 215 220

Leu Val Cys Ser Gly Asn Glu Ser Ala Leu Trp Asn Cys Lys His Glu
225 230 235 240

Gly Trp Gly Lys His Asn Cys Asp His Ala Glu Asp Val Gly Val Ile
245 250 255

Cys Leu Asp Gly Ala Asp Leu Ser Leu Arg Leu Val Asp Gly Val Thr
260 265 270

Glu Cys Ser Gly Arg Leu Glu Val Lys Phe Gln Gly Glu Trp Gly Thr
275 280 285

Val Cys Asp Asp Gly Trp Asp Ser Asn Asp Ala Ala Val Val Cys Lys
290 295 300

Gln Leu Gly Cys Pro Thr Ala Val Thr Ala Ile Gly Arg Val Asn Ala
305 310 315 320

Ser Glu Gly Ser Gly His Ile Trp Leu Asp Asn Leu Ser Cys Gln Gly
325 330 335

ACD

544

Asp Glu Ser Ala Leu Trp Gln Cys Arg His His Glu Trp Gly Lys His
 340 345 350

Tyr Cys Asn His Asn Glu Asp Ala Gly Val Thr Cys Ser Asp Gly Ser
 355 360 365

Asp Leu Glu Leu Arg Leu Val Gly Gly Gly Ser Arg Cys Ala Gly Thr
 370 375 380

Val Glu Val Glu Ile Gln Lys Leu Leu Gly Lys Val Cys Asp Arg Gly
 385 390 395 400

Trp Gly Leu Lys Glu Ala Asp Val Val Cys Lys Gln Leu Gly Cys Gly
 405 410 415

Ser Ala Leu Lys Thr Ser Tyr Gln Arg Tyr Ser Lys Val Lys Ala Thr
 420 425 430

Asn Thr Trp Leu Phe Leu Ser Arg Cys Ser Gly Asn Glu Thr Ser Leu
 435 440 445

Trp Asp Cys Lys Asn Trp Gln Trp Gly Gly Leu Ser Cys Asp His Tyr
 450 455 460

Glu Glu Ala Lys Val Thr Cys Ser Ala His Arg Glu Pro Arg Leu Val
 465 470 475 480

Gly Gly Asp Ile Pro Cys Ser Gly Arg Val Glu Val Lys His Gly Asp
 485 490 495

Thr Trp Gly Thr Val Cys Asp Ser Asp Phe Ser Leu Glu Ala Ala Ser
 500 505 510

Val Leu Cys Arg Glu Leu Gln Cys Gly Thr Val Ile Ser Ile Leu Gly
 515 520 525

Gly Ala His Phe Gly Glu Gly Asn Gly Gln Ile Trp Ala Glu Glu Phe
 530 535 540

Gln Cys Glu Gly Gln Glu Ser His Leu Ser Leu Cys Ser Val Ala Ser
 545 550 555 560

Arg Pro Asp Gly Thr Cys Ser His Ser Arg Asp Val Gly Val Val Cys
 565 570 575

Ser Arg Tyr Thr Glu Ile Arg Leu Val Asn Gly Gln Ser Pro Cys Glu

545

492

546

580	585	590
Gly Arg Val Glu Leu Lys Ile Leu Gly Asn Trp Gly Ser Leu Cys Asn 595 600 605		
Ser His Trp Asp Ile Glu Asp Ala His Val Phe Cys Gln Gln Leu Lys 610 615 620		
Cys Gly Val Ala Leu Ser Ile Pro Gly Gly Ala His Phe Gly Lys Gly 625 630 635 640		
Ser Gly Gln Ile Trp Arg His Met Phe His Cys Thr Gly Thr Glu Gln 645 650 655		
His Met Gly Asp Cys Pro Val Thr Ala Leu Gly Ala Thr Leu Cys Ser 660 665 670		
Ala Gly Gln Val Ala Ser Val Ile Cys Ser Gly Asn Gln Ser Gln Thr 675 680 685		
Leu Ser Pro Cys Asn Ser Thr Ser Leu Asp Pro Thr Arg Ser Thr Thr 690 695 700		
Ser Glu Glu Ser Ala Val Ala Cys Ile Ala Ser Gly Gln Leu Arg Leu 705 710 715 720		
Val Asn Gly Gly Gly Arg Cys Ala Gly Arg Ile Glu Val Tyr His Glu 725 730 735		
Gly Ser Trp Gly Thr Ile Cys Asp Asp Ser Trp Asp Leu Ser Asp Ala 740 745 750		
His Val Val Cys Arg Gln Leu Gly Cys Gly Val Ala Ile Asn Ala Thr 755 760 765		
Gly Ser Ala His Phe Gly Glu Gly Thr Gly Pro Ile Trp Leu Asp Glu 770 775 780		
Val Asn Cys Asn Gly Lys Glu Ser His Ile Trp Gln Cys Arg Ser His 785 790 795 800		
Gly Trp Gly Gln His Asn Cys Arg His Lys Glu Asp Ala Gly Val Ile 805 810 815		
Cys Ser Glu Phe Met Ser Leu Arg Leu Ile Asp Glu Thr Ser Arg Asp 820 825 830		

547

547

Ile Cys Ala Gly Arg Leu Glu Val Phe Tyr Asn Gly Ala Trp Gly Ser
835 840 845

Val Gly Lys Ser Asn Met Ser Ala Thr Thr Val Glu Val Val Cys Arg
850 855 860

Gln Leu Gly Cys Ala Asp Lys Gly Ser Ile Asn Pro Ala Ser Ser Asp
865 870 875 880

Lys Pro Met Ser Arg His Met Trp Val Asp Asn Val Gln Cys Pro Lys
885 890 895

Gly Pro Asp Thr Leu Trp Gln Cys Pro Ser Ser Pro Trp Lys Gln Arg
900 905 910

Val Ala Ser Ser Ser Glu Glu Thr Trp Ile Thr Cys Ala Asn Lys Ile
915 920 925

Arg Leu Gln Glu Gly Thr Ser Asn Cys Ser Gly Arg Val Glu Leu Trp
930 935 940

His Gly Gly Ser Trp Gly Thr Val Cys Asp Asp Ser Trp Asp Leu Glu
945 950 955 960

Asp Ala Gln Val Val Cys Arg Gln Leu Gly Cys Gly Pro Ala Leu Glu
965 970 975

Ala Leu Lys Glu Ala Ala Phe Gly Gln Gly Thr Gly Pro Ile Trp Leu
980 985 990

Asn Asp Val Lys Cys Lys Gly Asn Glu Ser Ser Leu Trp Asp Cys Pro
995 1000 1005

Ala Arg Pro Trp Gly His Ser Asp Cys Gly His Lys Glu Asp Ala
1010 1015 1020

Ala Val Arg Cys Ser Glu Ile Ala Met Ala Gln Arg Ser Ser Asn
1025 1030 1035

Pro Arg Gly His Ser Ser Leu Val Ala Leu Gly Ile Phe Gly Val
1040 1045 1050

Ile Leu Leu Ala Phe Leu Ile Ala Leu Leu Leu Trp Thr Gln Arg
1055 1060 1065

548

548

Arg Arg Gln Gln Gln Arg Leu Thr Val Ser Leu Arg Gly Glu Asn
1070 1075 1080

Ser Val His Gln Ile Gln Tyr Arg Glu Met Asn Ser Ser Leu Lys
1085 1090 1095

Ala Asp Asp Leu Asp Val Leu Thr Ser Ser Glu Tyr Pro Asn Glu
1100 1105 1110

Ser Asp Asp Phe Asn Asp Ala Gly Leu Ile Ser Val Ser Lys Ser
1115 1120 1125

Leu Pro Ile Ser Gly
1130

201

**REQUISITOS MINIMOS PARA ADMISION A TRAMITE
PCT**

549

PATENTE DE INVENCION ☒

MODELO DE UTILIDAD ☐

- ◆ Indicación de que se solicita la concesión de una patente ☒
- ◆ Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud ☒
- ◆ Descripción de la Invención ☒
- ◆ Dibujos de ser estos pertinentes ☒
- ◆ Comprobante de pago de las tasas establecidas ☒

COMPLETA ☒

INCOMPLETA ☒

DISEÑO INDUSTRIAL ☐

- ◆ Indicación de que se solicita el registro de Diseño Industrial ☐
- ◆ Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud ☐
- ◆ Representación gráfica y fotográfica del Diseño Industrial o muestra del material que incorpora el diseño ☐
- ◆ Comprobante de pago de las tasas establecidas ☐

COMPLETA ☐

INCOMPLETA ☐

ESQUEMA DE TRAZADO ☐

- ◆ Indicación de que se solicita el registro de un Esquema de Trazado ☐
- ◆ Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud ☐
- ◆ Representación gráfica del esquema trazado ☐
- ◆ Comprobante de pago de las tasas establecidas ☐

COMPLETA ☐

INCOMPLETA ☐

Fdo B
Firma Responsable

Fecha 20-oct-6

Carrera 13 No. 27-00 Piso 5, 7 y 10
Conmutador: 3 82 08 40
Fax: 350 52 20
E-mail: info@slc.gov.co
www.slc.gov.co
Bogotá, D.C., Colombia

OLARTE RAISBECK

550-45

Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
Red: 06-106467-0000-0000
Feb 2005-10-20 17:03:14 Dep 2/20 NUECREACIONE
Tra 11 PATENTEYS
Ene 379 FASENACIONALI
Abr 411 PRESENTACION

PETITORIO - FORMULARIO ÚNICO DE SOLICITUD
PATENTE PCT
ENTRADA EN FASE NACIONAL

23/11/06

SOLICITUD DE:


☒

Patente de Invención.

☐

Patente de Modelo de Utilidad.

☐

Capítulo I.

☒

Capítulo II.



SOLICITANTE
(71)

Nombre: PHARMACIA & UPJOHN COMPANY LLC

Dirección: 7000 Portage Road, Kalamazoo,
Michigan 49001, Estados Unidos

Nacionalidad o Domicilio: ESTADOUNIDENSE

Lugar de Constitución: Delaware, Estados
Unidos de América.

Teléfono:

Fax:

E-mail:

IDENTIFICACIÓN

C.C.

☐

NIT

☐

C.E.

☐

Otro

☐

Cual

Número

REPRESENTANTE
O APODERADO

Nombre: CARLOS R. OLARTE

Dirección: World Trade Center Torre A,
Calle 100 No. 8A-37 Piso 10

Teléfono: 601-7700 **Fax:** 601-7799

E-mail: office@olarteraisbeck.com

IDENTIFICACIÓN

C.C.

☒

NIT

☐

C.E.

☐

Otro

☐

Cual

Número 79782747 Bta
TP 74.295

INVENTOR (ES)
(72)

Nombre: (VER PAGINA ADJUNTA)

Dirección: (VER PAGINA ADJUNTA)

Nacionalidad o Domicilio: (VER PAGINA ADJUNTA)

Jay Gregory CALVERT
Shelly Lynn SHIELDS
David Ewell SLADE
Siao-Kun WAN WELCH

PCT (86)

Solicitud Internacional No. PCT/US2005/011502

Fecha Abril 5, 2005

Publicación Internacional No. WO 2005/107796

Fecha Noviembre 17, 2005

Título (54) FACTOR DE PERMISIVIDAD CELULAR PARA VIRUS, Y USOS
DEL MISMO

Clasificación Internacional (51) A61K 39/12, C12Q 1/68, C12N 7/00, 5/06,
15/56

Prioridad

SI

☒

N

☐

(33) País de Origen

US

US

(32) Fecha

Abril 23, 2004

Diciembre 9, 2004

(31) Número de Solicitud

60/565.214

60/634.736



Comprobante de pago No. 06 - 78.146

Fecha octubre 10, 2006

492
551

INDICACIONES

...todo para facilitar infección de una célula de vertebrados mediante PRRSV que
...el paso de

...firma expresión aumentada de un polipéptido CD163 mediante dicha célula de
...los.

...do de la reivindicación 1 que comprende además la infección de dicha célula con

...do de la reivindicación 1 que comprende además la producción de un cultivo del

...do de la reivindicación 1 en el cual dicha célula es mamífera.

...do de la reivindicación 1 en donde dicho polipéptido CD163 comprende un dominio de
...brana.

...do de la reivindicación 1 en donde dicha expresión aumentada es realizada mediante
...ción de ácido nucleico exógeno.

...do de la reivindicación 1 en donde dicha expresión aumentada es realizada mediante
...químico.

...do de la reivindicación 1 en donde dicha célula no fue permisible al PRRSV y es
...permisible al PRRSV mediante el paso (a).

...do de la reivindicación 2 en el cual PRRSV es del genotipo Europeo.

...do de la reivindicación 2 en el cual el PRRSV es del genotipo Norteamericano.

498
552

REPUBLICA DE COLOMBIA
SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

Bogotá,
2020

Doctor(a)
OLARTE GARCIA CARLOS REINALDO
Apoderado(a) y/o Representante de
PHARMACIA & UPJOHN COMPANY LLC

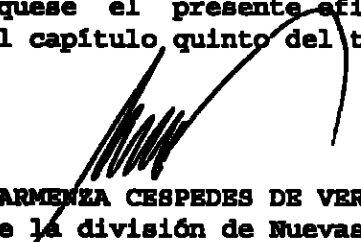
REFERENCIA	Radicación No.	6 106467
	Solicitud internacional	PCT/US2005/011502
	Fecha inicio fase nacional	23/11/2006
	Trámite	11
	Evento	379
	Actuación	430
	Oficio No.	U J ~ 13920

Como resultado del examen de forma, realizado con fundamento en el artículo 38 de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina, artículo 27 del Tratado de Cooperación en Materia de Patentes (PCT), regla 51 bis del Reglamento y Circular Única de la Superintendencia de Industria y Comercio, se le comunica que:

1. Si fuere el caso, el solicitante debe adjuntar la traducción de los anexos del reporte de examen preliminar internacional (Art. 36.2.b) del tratado PCT.

En cumplimiento de lo dispuesto por el artículo 39 de la Decisión 486, se le requiere para que dentro del término de dos meses siguientes a la fecha de notificación del presente oficio, complete los requisitos anteriormente enunciados. En caso de no dar cumplimiento al presente requerimiento, la solicitud se considerará abandonada y perderá su prelación.

Notifíquese el presente oficio conforme a lo dispuesto en el numeral 5.2, literal e), del capítulo quinto del título primero de la Circular Única No.10 de 2001.


ALIX CARMENZA CESPEDES DE VERGEL
Jefe de la división de Nuevas Creaciones

El anterior requerimiento fue notificado por fijación en lista de
fecha _____
salvarado : 01 DIC. 2006