

„Genomische Analyse von Natürlichen Killerzell-Rezeptorgenen  
in nicht-humanen Primaten“

D i s s e r t a t i o n  
Zur Erlangung des Grades  
„Doktor der  
Naturwissenschaften“

am Fachbereich Biologie  
der Johannes Gutenberg-Universität  
in Mainz

Anne Averdam  
geb. in Vechta

Mainz, 2008

Tag der mündlichen Prüfung: 18.04.2008

**Teile dieser Dissertation wurden bereits veröffentlicht:**

**Publikation:**

**Averdam A**, Kuhl H, Sontag M, Becker T, Hughes AL, Reinhardt R, Walter L. 2007. Genomics and diversity of the common marmoset monkey NK complex. *J Immunol* 178(11):7151-7161.

**Kongressbeiträge:**

**Averdam A**, Sontag M, Reinhardt R, Walter L. 2005. Genomics of the NKC in a new world monkey and a prosimian species. 21.-24.09.05, Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Immunologie, Kiel.

**Averdam A**, Sontag M, Reinhardt R, Walter L. 2006. Diversity of the natural killer complex in two distantly related non-human primates. 06.-09.09.2006, 16th European Congress of Immunology, Paris.

**Averdam A**. 2007. The NKC in a prosimian species. 26.-28.02.07, 2. Göttingen Workshop on Immunogenetics, Göttingen.

## Inhaltsverzeichnis

<b>Abkürzungsverzeichnis</b>	<b>VII</b>
<b>Abbildungsverzeichnis</b>	<b>XI</b>
<b>Tabellenverzeichnis</b>	<b>XIII</b>
<b>1 Einleitung</b>	<b>1</b>
1.1 NK-Zellen	1
1.2 Signaltransduktion in NK-Zell-Rezeptoren	3
1.3 MHC-Klasse-I-spezifische NK-Zell-Rezeptoren	5
1.3.1 Immunglobulin-Superfamilie	6
1.3.2 C-Typ Lektin-ähnliche Superfamilie	7
1.3.2.1 Ly49	7
1.3.2.2 CD94/NKG2	8
1.3.2.3 NKG2D	10
1.4 Natürlicher Killer Komplex (NKC)	11
1.5 MHC-Klasse-I-spezifische NK-Zell-Rezeptoren in nicht-humanen Primaten	12
1.6 Fragestellung der Arbeit	14
<b>2 Material und Methoden</b>	<b>15</b>
2.1 Material	15
2.1.1 Versuchstiere	15
2.1.1.1 Systematik	15
2.1.1.2 Weißbüschelaffe ( <i>Callithrix jacchus</i> )	17
2.1.1.3 Philippinen-Koboldmaki ( <i>Tarsius syrichta</i> )	18
2.1.1.4 Grauer Mausmaki ( <i>Microcebus murinus</i> )	19
2.1.1.5 Schwarzweißer Vari ( <i>Varecia variegata</i> )	20
2.1.1.6 Potto ( <i>Perodicticus potto</i> )	21
2.1.2 Probenmaterial	21
2.1.3 Geräte	24

---

2.1.4	Verbrauchsmaterialien, Chemikalien und Enzyme	25
2.1.5	Kits	28
2.1.6	Längenstandards	28
2.1.7	Primer	29
2.1.8	Datenbank-Zugangsnummern	32
2.1.9	Vektoren	34
2.1.10	BAC-Banken	34
2.1.11	Bestellte BAC-Klone der BAC-Bank „CHORI-257“	34
2.1.12	Bestellte BAC-Klone der BAC-Bank „CHORI-259“	35
2.1.13	Stammlösungen und Puffer	35
2.1.14	Bakterienstämme	37
2.1.15	Nährmedien und Agarplatten	37
2.1.16	Bakterienkulturen	38
2.1.16.1	Glycerinkulturen	38
2.1.16.2	Plattenkulturen	38
2.1.16.3	Flüssigkulturen	38
2.1.17	Computerprogramme	38
2.1.18	Phylogenetische Analysen	40
<b>2.2</b>	<b>Methoden</b>	<b>41</b>
2.2.1	Polymerasekettenreaktion (PCR)	41
2.2.2	Agarose-Gelelektrophorese	45
2.2.3	Isolierung von DNA aus Agarosegelen	46
2.2.4	Konzentrationsbestimmung von Nukleinsäuren mittels Agarosegelen	46
2.2.5	Isolierung von DNA aus Mundschleimhautzellen	46
2.2.6	Klonierung von PCR-Fragmenten	47
2.2.7	Herstellung „elektrokompetenter“ <i>E. coli</i> -Zellen	48
2.2.8	Isolierung von Plasmid-DNA	48
2.2.9	Isolierung von BAC-DNA	49
2.2.10	Restriktionsanalyse von DNA	49
2.2.11	Southern-Blot	50
2.2.12	Herstellung radioaktiv markierter Sonden	51
2.2.13	Hybridisierung membrangebundener DNA	51
2.2.14	Autoradiographie	52
2.2.15	Screening von BAC-Banken	52
2.2.16	Gesamt-RNA-Extraktion	53

2.2.17	Reverse Transkription _____	54
2.2.18	5'- und 3'-RACE ( <i>rapid amplification of cDNA ends</i> ) _____	55
2.2.19	DNA-Sequenzierung _____	56
<b>3</b>	<b>Ergebnisse _____</b>	<b>58</b>
<b>3.1</b>	<b>C-Typ Lektin-ähnliche NK-Zell-Rezeptoren im Weißbüschelaffen _____</b>	<b>58</b>
3.1.1	Genomische Organisation des CD94-Ly49L-Intervalls im Weißbüschelaffen _____	58
3.1.2	Expression der NKC-Gene im Weißbüschelaffen _____	63
3.1.3	Diversitätsanalyse der NKC-Gene im Weißbüschelaffen _____	68
3.1.4	5'-RACE-PCR-Analyse der NKC-Gene im Weißbüschelaffen _____	70
<b>3.2</b>	<b>C-Typ Lektin-ähnliche NK-Zell-Rezeptoren im Mausmaki _____</b>	<b>72</b>
3.2.1	Genomische Organisation des CD94-Ly49L-Intervalls im Mausmaki _____	72
3.2.2	Expression der NKC-Gene im Mausmaki _____	78
3.2.2.1	Expression von CD94 im Mausmaki _____	81
3.2.2.2	Expression von NKG2D im Mausmaki _____	82
3.2.2.3	Expression von NKG2 im Mausmaki _____	84
3.2.2.4	Expression von Ly49L im Mausmaki _____	86
3.2.2.5	Alternative Spleißprodukte der NKC-Gene im Mausmaki _____	87
3.2.3	Diversitätsanalyse der NKC-Gene im Mausmaki _____	91
3.2.3.1	Allele von CD94, NKG2D, NKG2 und Ly49L im Mausmaki _____	91
3.2.3.2	Diversitätsanalyse der CTLD von CD94-(1-3) im Mausmaki _____	97
<b>3.3</b>	<b>C-Typ Lektin-ähnliche NK-Zell-Rezeptoren im Vari _____</b>	<b>100</b>
3.3.1	Expression der NKC-Gene im Vari _____	100
3.3.1.1	Expression von CD94 im Vari _____	103
3.3.1.2	Expression von NKG2D im Vari _____	103
3.3.1.3	Expression von NKG2 im Vari _____	105
3.3.1.4	Expression von Ly49L im Vari _____	107
3.3.2	Diversitätsanalyse der NKC-Gene im Vari _____	110
<b>3.4</b>	<b>Vergleich der C-Typ Lektin-ähnlichen NK-Zell-Rezeptoren _____</b>	<b>112</b>
3.4.1	CD94-Aminosäurevergleich _____	112
3.4.2	NKG2D-Aminosäurevergleich _____	115
3.4.3	NKG2-Aminosäurevergleich _____	116
3.4.4	Ly49-Aminosäurevergleich _____	123
<b>3.5</b>	<b>Phylogenetische Analyse der C-Typ Lektin-ähnlichen NK-Zell-Rezeptoren _____</b>	<b>125</b>

3.5.1	Stammbaum der CD94-Sequenzen der Primaten _____	126
3.5.2	Stammbaum der NKG2D-Sequenzen der Primaten _____	127
3.5.3	Stammbaum der NKG2-Sequenzen der Primaten _____	128
3.5.4	Stammbaum der Ly49-Sequenzen der Säugetiere _____	134
<b>3.6</b>	<b>CD94-Gene im Potto _____</b>	<b>136</b>
<b>3.7</b>	<b>CD94-Gene im Koboldmaki _____</b>	<b>140</b>
<b>3.8</b>	<b>Phylogenetische Analyse der Exon 4-Sequenzen von CD94 _____</b>	<b>144</b>
<b>4</b>	<b>Diskussion _____</b>	<b>146</b>
<b>4.1</b>	<b>NKC des Weißbüschelaffen _____</b>	<b>146</b>
4.1.1	Reduziertes C-Typ Lektin-ähnliches Rezeptor-Repertoire im Weißbüschelaffen ____	146
4.1.2	Diversitätsanalyse im Weißbüschelaffen _____	147
4.1.3	Alternatives Spleißen der NKC-Gene im Weißbüschelaffen _____	148
4.1.4	5'-RACE-PCR-Analyse im Weißbüschelaffen _____	149
<b>4.2</b>	<b>NKC der Lemuren _____</b>	<b>152</b>
4.2.1	Erweitertes C-Typ Lektin-ähnliches Rezeptor-Repertoire in Lemuren _____	152
4.2.1.1	Diverse CD94/NKG2-Rezeptoren der Lemuren _____	152
4.2.1.2	NKG2D der Lemuren _____	160
4.2.1.3	Ly49L der Lemuren _____	161
4.2.2	Alternatives Spleißen der NKC-Gene in Lemuren _____	162
<b>4.3</b>	<b>CD94 im Potto und im Koboldmaki _____</b>	<b>163</b>
<b>4.4</b>	<b>Evolution der MHC-Klasse-I-spezifischen NK-Zell-Rezeptoren in Säugetieren ____</b>	<b>164</b>
<b>4.5</b>	<b>Ausblick _____</b>	<b>165</b>
<b>5</b>	<b>Zusammenfassung _____</b>	<b>167</b>
<b>6</b>	<b>Literatur _____</b>	<b>169</b>
<b>7</b>	<b>Anhang _____</b>	<b>185</b>
<b>7.1</b>	<b>Nukleotidsequenzen der verwendeten Sonden _____</b>	<b>185</b>
<b>7.2</b>	<b>Aminosäure- und Nukleotidsequenzidentitäten _____</b>	<b>186</b>
7.2.1	CD94-Aminosäure- und -Nukleotidsequenzidentitäten _____	186
7.2.2	NKG2-Aminosäuresequenzidentitäten zwischen Mausmaki, Vari und Mensch ____	187

7.2.3	NKG2-Aminosäure- und -Nukleotidsequenzidentitäten des Mausmakis _____	187
7.2.4	NKG2-Aminosäure- und -Nukleotidsequenzidentitäten des Varis _____	188
<b>7.3</b>	<b>Genotypisierung der NKC-Gene von neun Weißbüschelaffen _____</b>	<b>188</b>
7.3.1	CD94-Genotypen der Weißbüschelaffen _____	188
7.3.2	NKG2CE-Genotypen der Weißbüschelaffen _____	189
7.3.3	NKG2A-Genotypen der Weißbüschelaffen _____	189
<b>7.4</b>	<b>Genotypisierung der CD94-CTLD von 46 Mausmakis _____</b>	<b>189</b>
7.4.1	CD94-1-Genotypen der Mausmakis _____	190
7.4.2	CD94-2-Genotypen der Mausmakis _____	191
7.4.3	CD94-3-Genotypen der Mausmakis _____	192
<b>7.5</b>	<b>Exon 4-Nukleotidvergleich von CD94 _____</b>	<b>193</b>
<b>7.6</b>	<b>cDNA-Sequenzen der NKC-Gene des Mausmakis _____</b>	<b>194</b>
7.6.1	Nukleotidvergleich der CD94-Sequenzen des Mausmakis _____	194
7.6.2	Nukleotidvergleich der NKG2D-Sequenzen des Mausmakis _____	197
7.6.3	Nukleotidvergleich der NKG2-Sequenzen des Mausmakis _____	199
7.6.4	Nukleotidvergleich der Ly49L-Sequenzen des Mausmakis _____	203
<b>7.7</b>	<b>cDNA-Sequenzen der NKC-Gene des Varis _____</b>	<b>204</b>
7.7.1	Vava-CD94-1 _____	204
7.7.2	Vava-CD94-2 _____	205
7.7.3	Vava-CD94-3 _____	206
7.7.4	Vava-NKG2D _____	208
7.7.5	Vava-NKG2-1 _____	209
7.7.6	Vava-NKG2-2 _____	210
7.7.7	Vava-NKG2-3 _____	212
7.7.8	Vava-NKG2-4 _____	214
7.7.9	Vava-NKG2-5 _____	215
7.7.10	Vava-NKG2-6 _____	216
7.7.11	Vava NKG2-7 _____	217
7.7.12	Vava-NKG2-8 _____	219
7.7.13	Vava-Ly49L _____	220
<b>7.8</b>	<b>Genomische Sequenzen der NKC-Gene des Weißbüschelaffen _____</b>	<b>222</b>
7.8.1	Caja-CD94 _____	222
7.8.2	Caja-NKG2D _____	224

---

7.8.3	Caja-NKG2F	228
7.8.4	Caja-NKG2CE	230
7.8.5	Caja-NKG2A	232
7.8.6	Caja-Ly49L	235
<b>7.9</b>	<b>Genomische Sequenzen der NKC-Gene des Mausmakis</b>	<b>236</b>
7.9.1	Mimu-CD94-1	236
7.9.2	Mimu-CD94-2	237
7.9.3	Mimu-CD94-3	239
7.9.4	Mimu-NKG2D	240
7.9.5	Mimu-NKG2-1	244
7.9.6	Mimu-NKG2-2	246
7.9.7	Mimu-NKG2-3	247
7.9.8	Mimu-NKG2-4	248
7.9.9	Mimu-NKG2-5	249
7.9.10	Mimu-NKG2-6	250
7.9.11	Mimu-NKG2-7	251
7.9.12	Mimu-NKG2-8	252
7.9.13	Mimu-Ly49L	253

## Abkürzungsverzeichnis

<b>Abb.</b>	Abbildung
<b>Amp</b>	Ampicillin
<b>AS</b>	Aminosäure
<b>BAC</b>	<i>bacterial artificial chromosome</i>
<b>bp</b>	Basenpaar(e)
<b>BSA</b>	Bovines Serumalbumin
<b>Caja</b>	<i>Callithrix jacchus</i>
<b>cDNA</b>	komplementäre DNA ( <i>complementary DNA</i> )
<b>CLEC1A</b>	<i>C-type lectin domain family 1, member A</i>
<b>CLEC7A</b>	<i>C-type lectin domain family 7, member A</i>
<b>CTLA4</b>	<i>cytotoxic T lymphocyte-associated 4</i>
<b>CTLD</b>	C-Typ Lektin-ähnliche Domäne ( <i>C-type lectin-like domain</i> )
<b>DAP10</b>	<i>DNAX-activation protein 10</i>
<b>DAP12</b>	<i>DNAX-activation protein 12</i>
<b>dCTP</b>	Desoxy-Cytidintriphosphat
<b>DDBJ</b>	<i>DNA Data Bank of Japan</i>
<b>ddNTP</b>	Didesoxy-Nukleosidtriphosphat
<b>DEPC</b>	Diethylpyrocarbonat
<b>DNA</b>	Desoxyribonukleinsäure
<b>dNTP</b>	Desoxy-Nukleosidtriphosphat
<b>DPZ</b>	Deutsches Primatenzentrum
<b>dT</b>	Desoxy-Thymidin
<b><i>E. coli</i></b>	<i>Escherichia coli</i>
<b>EDTA</b>	Ethylendiamintetraessigsäure
<b>EMBL</b>	<i>European Molecular Biology Laboratory</i>
<b>EtBr</b>	Ethidiumbromid (3,8-Diamino-5-ethyl-6-phenylphenanthridiniumbromid)
<b>EtOH</b>	Ethanol
<b>GABARAPL1</b>	<i>GABA(A) receptor-associated protein-like 1</i>
<b>GITC</b>	Guanidinthiocyanat
<b>h</b>	Stunde(n)
<b>H<sub>2</sub>O</b>	Wasser
<b>ha</b>	Hektar

---

<b>HCl</b>	Salzsäure
<b>HLA</b>	humanes Leukozytenantigen ( <i>human leukocyte antigen</i> )
<b>HPLC</b>	Hochleistungsflüssigkeitschromatographie ( <i>high performance liquid chromatography</i> )
<b>ICOS</b>	<i>inducible T-cell costimulator</i>
<b>Ig</b>	Immunglobulin
<b>Indel</b>	Insertions- bzw. Deletionspolymorphismus
<b>IPTG</b>	Isopropyl-1-Thio- $\beta$ -D-Galactopyranosid
<b>ITAM</b>	<i>immunoreceptor tyrosine-based activation motif</i>
<b>ITIM</b>	<i>immunoreceptor tyrosine-based inhibitory motif</i>
<b>JTT</b>	Jones-Taylor-Thornton
<b>K2P</b>	Kimura-2-Parameter
<b>KAc</b>	Kaliumacetat
<b>kb</b>	Kilobasenpaar(e)
<b>KCl</b>	Kaliumchlorid
<b>KHCO<sub>3</sub></b>	Kaliumhydrogencarbonat
<b>KIR</b>	<i>killer cell immunoglobulin-like receptors</i>
<b>kV</b>	Kilovolt
<b>LB</b>	Luria-Bertani
<b>LRC</b>	Leukozyten Rezeptor Komplex ( <i>leukocyte receptor complex</i> )
<b>M</b>	Molarität
<b>MB</b>	Megabasenpaar(e)
<b>MCMV</b>	Maus-Cytomegalievirus
<b>MgCl<sub>2</sub></b>	Magnesiumchlorid
<b>MgSO<sub>4</sub></b>	Magnesiumsulfat
<b>MHC</b>	Haupthistokompatibilitätskomplex ( <i>major histocompatibility complex</i> )
<b>MIC</b>	<i>MHC class I chain related</i>
<b><math>\mu</math>F</b>	Mikrofarad
<b>Mimu</b>	<i>Microcebus murinus</i>
<b>min</b>	Minute(n)
<b>M-MLV RT</b>	<i>Moloney Murine Leukemia Virus Reverse Transcriptase</i>
<b>MPI</b>	Max-Planck-Institut
<b>mRNA</b>	messenger RNA
<b>MULT-1</b>	<i>murine UL-16-binding protein like transcript 1</i>
<b>NaAc</b>	Natriumacetat

---

<b>NaCl</b>	Natriumchlorid
<b>NaJ</b>	Natriumjodid
<b>NaOH</b>	Natriumhydroxid
<b>NH<sub>4</sub>Cl</b>	Ammoniumchlorid
<b>NKC</b>	Natürlicher Killer Komplex ( <i>natural killer complex</i> )
<b>NKG</b>	<i>natural killer group</i>
<b>NK-Zellen</b>	Natürliche Killerzellen
<b>nm</b>	Nanometer
<b>Ω</b>	Ohm
<b>OD</b>	optische Dichte
<b>OLR1</b>	<i>oxidized low density lipoprotein receptor 1</i>
<b>ORF</b>	offener Leserahmen ( <i>open reading frame</i> )
<b>PCR</b>	Polymerasekettenreaktion ( <i>polymerase chain reaction</i> )
<b>Pepo</b>	<i>Perodicticus potto</i>
<b>PI3K</b>	Phosphatidylinositol-3-Kinase
<b>RACE</b>	<i>rapid amplification of cDNA ends</i>
<b>Rae-1</b>	<i>retinoic acid early inducible-1</i>
<b>RNA</b>	Ribonukleinsäure
<b>Rnase</b>	Ribonuklease
<b>Rnasin</b>	Ribonuklease-Inhibitor
<b>RT</b>	Raumtemperatur
<b>RT-PCR</b>	Reverse Transkriptase-Polymerasekettenreaktion
<b>s</b>	Sekunde(n)
<b>SDS</b>	Natriumdodecylsulfat
<b>SHP1/SHP2</b>	<i>SH2-containing protein-tyrosine phosphatase1/2</i>
<b>Src</b>	<i>steroid receptor coactivator</i>
<b>SSC</b>	Natriumchlorid-Natriumcitrat-Puffer
<b>STYK1</b>	<i>serine/threonine/tyrosine kinase 1</i>
<b>Sv</b>	Spleißvariante
<b>Syk</b>	<i>spleen tyrosine kinase</i>
<b>Tab.</b>	Tabelle
<b>Taq</b>	<i>Thermus aquaticus</i>
<b>Tasy</b>	<i>Tarsius syrichta</i>
<b>TBE</b>	Tris-Borat-EDTA-Puffer
<b>TM</b>	Transmembranregion

<b>TPE</b>	Tris-Phosphat-EDTA-Puffer
<b>Tris</b>	Trishydroxymethylaminomethan
<b>U</b>	Unit
<b>ü. N.</b>	über Nacht
<b>U/min</b>	Umdrehungen pro Minute
<b>ULBP</b>	<i>UL-16 binding protein</i>
<b>UTR</b>	untranslatierter Bereich ( <i>untranslated region</i> )
<b>UV</b>	Ultraviolett
<b>V</b>	Volt
<b>v/v</b>	Volumen pro Volumen ( <i>volume/volume</i> )
<b>Vava</b>	<i>Varecia variegata</i>
<b>x g</b>	Erdbeschleunigung
<b>X-Gal</b>	5-Brom-4-Chlor-3-Indolyl- $\beta$ -D-Galactosid
<b>ZAP70</b>	<i><math>\zeta</math>-chain-associated protein of 70 kDa</i>
<b>ZY</b>	Zytoplasmaregion

### Abkürzungscodes der Aminosäuren

<b>A</b>	Ala	Alanin	<b>M</b>	Met	Methionin
<b>C</b>	Cys	Cystein	<b>N</b>	Asn	Asparagin
<b>D</b>	Asp	Aspartat	<b>P</b>	Pro	Prolin
<b>E</b>	Glu	Glutamat	<b>Q</b>	Gln	Glutamin
<b>F</b>	Phe	Phenylalanin	<b>R</b>	Arg	Arginin
<b>G</b>	Gly	Glycin	<b>S</b>	Ser	Serin
<b>H</b>	His	Histidin	<b>T</b>	Thr	Threonin
<b>I</b>	Ile	Isoleucin	<b>V</b>	Val	Valin
<b>K</b>	Lys	Lysin	<b>W</b>	Trp	Tryptophan
<b>L</b>	Leu	Leucin	<b>Y</b>	Tyr	Tyrosin

## Abbildungsverzeichnis

Abb. 1	NK-Zell-Aktivierung (verändert nach Raulet und Vance, 2006)	3
Abb. 2	Signaltransduktion von inhibierenden und aktivierenden NK-Zell-Rezeptoren (verändert nach Yokoyama und Plougastel, 2003)	4
Abb. 3	C-Typ Lektin-ähnliche MHC-Klasse-I-spezifische NK-Zell-Rezeptoren (verändert nach Yokoyama und Plougastel, 2003)	6
Abb. 4	CD94-Ly49-Intervall des Menschen und der Maus (verändert nach Hao und Nei, 2004)	12
Abb. 5	Stammbaum der Primaten (verändert nach Geissmann, 2003)	16
Abb. 6	<i>Callithrix jacchus</i>	17
Abb. 7	<i>Tarsius syrichta</i>	18
Abb. 8	<i>Microcebus murinus</i>	19
Abb. 9	<i>Varecia variegata variegata</i>	20
Abb. 10	<i>Perodicticus potto</i>	21
Abb. 11	positive Hybridisierungssignale auf einem BAC-Filter (entnommen aus der Hybridisierungsanleitung des BACPAC Resources Centers)	53
Abb. 12	Southern-Blot-Analyse von 12 BAC-Klonen der BAC-Bank „CHORI-259“ ( <i>Callithrix jacchus</i> ) mit der humanen NKG2A-Sonde	60
Abb. 13	Schematische Darstellung des CD94-Ly49L-Intervalls im Weißbüschelaffen mit den analysierten BAC-Klonen	62
Abb. 14	Aminosäuresequenzen der NKC-Gene des Weißbüschelaffen	64
Abb. 15	Expressionsanalyse der NKC-Gene im Weißbüschelaffen	68
Abb. 16	Analyse der Transkriptions- und Translationsstartpunkte der Gene CD94, NKG2D und NKG2 des Weißbüschelaffen durch 5'-RACE	71
Abb. 17	Southern-Blot-Analyse von 12 BAC-Klonen der BAC-Bank „CHORI-257“ ( <i>Microcebus murinus</i> ) mit der humanen NKG2A-Sonde	73
Abb. 18	Schematische Darstellung des CD94-Ly49L-Intervalls im Mausmaki mit den analysierten BAC-Klonen	76
Abb. 19	Aminosäuresequenzen der NKC-Gene des Mausmakis	80
Abb. 20	Nukleotidsequenzen von Exon 6 der drei CD94-Gene des Mausmakis	81
Abb. 21	NKG2D-Spleißprodukte des Mausmakis im Vergleich zur Maus (verändert nach Diefenbach et al., 2002)	83
Abb. 22	Transmembranregion von NKG2D in verschiedenen Primatenspezies und der Maus	84

---

Abb. 23	Expressionsanalyse der NKC-Gene im Mausmaki	91
Abb. 24	Aminosäurevergleich der Mausmaki-CD94-CTLD und Lage der polymorphen Positionen	100
Abb. 25	Aminosäuresequenzen der NKC-Gene des Varis	103
Abb. 26	NKG2D-Spleißprodukte des Varis und der Maus (verändert nach Diefenbach et al., 2002)	104
Abb. 27	Vergleich der Transmembranregion von NKG2-3 des Varis mit NKG2C und NKG2E der Maus	106
Abb. 28	Schematische Darstellung der kompletten und alternativ gespleißten CD94-, NKG2D-, NKG2- und Ly49L-cDNA-Sequenzen im Vari	110
Abb. 29	Aminosäurevergleich der CD94-Sequenzen	114
Abb. 30	Aminosäurevergleich der NKG2D-Sequenzen	116
Abb. 31	Aminosäurevergleich der NKG2-Sequenzen	122
Abb. 32	Aminosäurevergleich der Ly49-Sequenzen	125
Abb. 33	Phylogenetische Analyse der CD94-Aminosäuresequenzen verschiedener Primaten	126
Abb. 34	Phylogenetische Analyse der NKG2D-Aminosäuresequenzen verschiedener Primaten	127
Abb. 35	Phylogenetische Analyse der NKG2-Aminosäuresequenzen verschiedener Primaten (komplette Proteinsequenz)	129
Abb. 36	Phylogenetische Analyse der NKG2-Aminosäuresequenzen verschiedener Primaten (Zytoplasma-, Transmembran- und Halsregion)	131
Abb. 37	Phylogenetische Analyse der NKG2-Aminosäuresequenzen verschiedener Primaten (CTLD)	133
Abb. 38	Phylogenetische Analyse der Ly49-Aminosäuresequenzen verschiedener Säugetiere	135
Abb. 39	Vergleich der CD94-Sequenzen (Exon 4-5) im Potto	139
Abb. 40	Vergleich der CD94-Sequenzen (Exon 4-5) im Koboldmaki	142
Abb. 41	Phylogenetische Analyse der Exon 4-Nukleotidsequenzen von CD94 in verschiedenen Primaten	145

## Tabellenverzeichnis

Tab. 1	Liste der verwendeten Proben	21
Tab. 2	Primersequenzen	29
Tab. 3	Zugangsnummern	32
Tab. 4	Computerprogramme	39
Tab. 5	Amplifikation und Sequenzierung der als Sonden verwendeten NKC-Sequenzen des Menschen	43
Tab. 6	Amplifikation und Sequenzierung der NKC-Gene des Weißbüschelaffen	43
Tab. 7	PCR zur Amplifikation der NKC-Gene des Mausmakis	44
Tab. 8	PCR zur Amplifikation der CD94-Sequenzen des Pottos und des Koboldmakis	44
Tab. 9	Amplifikation und Sequenzierung von CD94-(1-3) (Exon 4, 5 und 6) des Mausmakis	45
Tab. 10	Übersicht der Southern-Blot-Hybridisierungsergebnisse von 12 BAC-Klonen der BAC-Bank „CHORI-259“ ( <i>Callithrix jacchus</i> ) mit den Sonden NKG2A, CD94, NKG2D und Ly49L	61
Tab. 11	Synonyme und nicht-synonyme SNP in den CD94-, NKG2D- und NKG2-Sequenzen von insgesamt zehn Weißbüschelaffen-Individuen	69
Tab. 12	Übersicht der Southern-Blot-Hybridisierungsergebnisse von 22 BAC-Klonen der BAC-Bank „CHORI-257“ ( <i>Microcebus murinus</i> ) mit den Sonden NKG2A, CD94, NKG2D und Ly49L	74
Tab. 13	Signalmotive in den NKG2-Sequenzen des Mausmakis	86
Tab. 14	Synonyme und nicht-synonyme SNP zwischen den CD94-, NKG2D-, NKG2- und Ly49L-Allelen von je zwei Mausmaki-Individuen	94
Tab. 15	Synonyme und nicht-synonyme SNP in der CTLD von CD94-(1-3) in 46 Mausmaki-Individuen	99
Tab. 16	Signalmotive in den NKG2-Sequenzen des Varis	106
Tab. 17	Synonyme und nicht-synonyme SNP zwischen CD94-, NKG2- und Ly49L-Allelen von einem Vari-Individuum	111
Tab. 18	Nukleotidsequenzidentitäten der Potto-CD94-Sequenzen (in %)	140
Tab. 19	Nukleotidsequenzidentitäten der Koboldmaki-CD94-Sequenzen (in %)	143

# 1 Einleitung

## 1.1 NK-Zellen

Natürliche Killerzellen (NK-Zellen) gehören zum angeborenen Immunsystem und machen etwa 10 % der Lymphozyten im peripheren Blut aus. Sie spielen eine wichtige Rolle bei der Tumorabwehr (Cerwenka und Lanier, 2001; Herberman et al., 1975a; Herberman et al., 1975b; Kiessling et al., 1975a; Kiessling et al., 1975b) sowie bei der Abwehr von bestimmten Viren, Parasiten und intrazellulären Bakterien (Biron et al., 1999; Scott und Trinchieri, 1995; Unanue, 1997). Im Gegensatz zu T- und B-Lymphozyten sind NK-Zellen in der Lage, Zielzellen spontan, ohne vorherige Sensibilisierung zu lysieren. Zudem können sie Zytokine freisetzen und dadurch die erworbene Immunabwehr regulieren (Biron et al., 1999; Shi et al., 2001).

NK-Zellen benutzen verschiedene Strategien, um infizierte oder transformierte Zellen zu erkennen. Die Entdeckung von Kärre und Mitarbeitern, dass NK-Zellen bestimmte Tumorzellen töten können, obwohl sie keine oder eine geringe MHC-Klasse-I-Expression zeigen (Kärre et al., 1986), bildete die Grundlage für die *missing self*-Hypothese, die Ljunggren und Kärre (1990) formulierten. Diese besagt, dass NK-Zellen gezielt Zellen erkennen und töten, weil sie geringe Mengen an „selbst“-MHC-Klasse-I-Molekülen exprimieren (Ljunggren und Kärre, 1990).

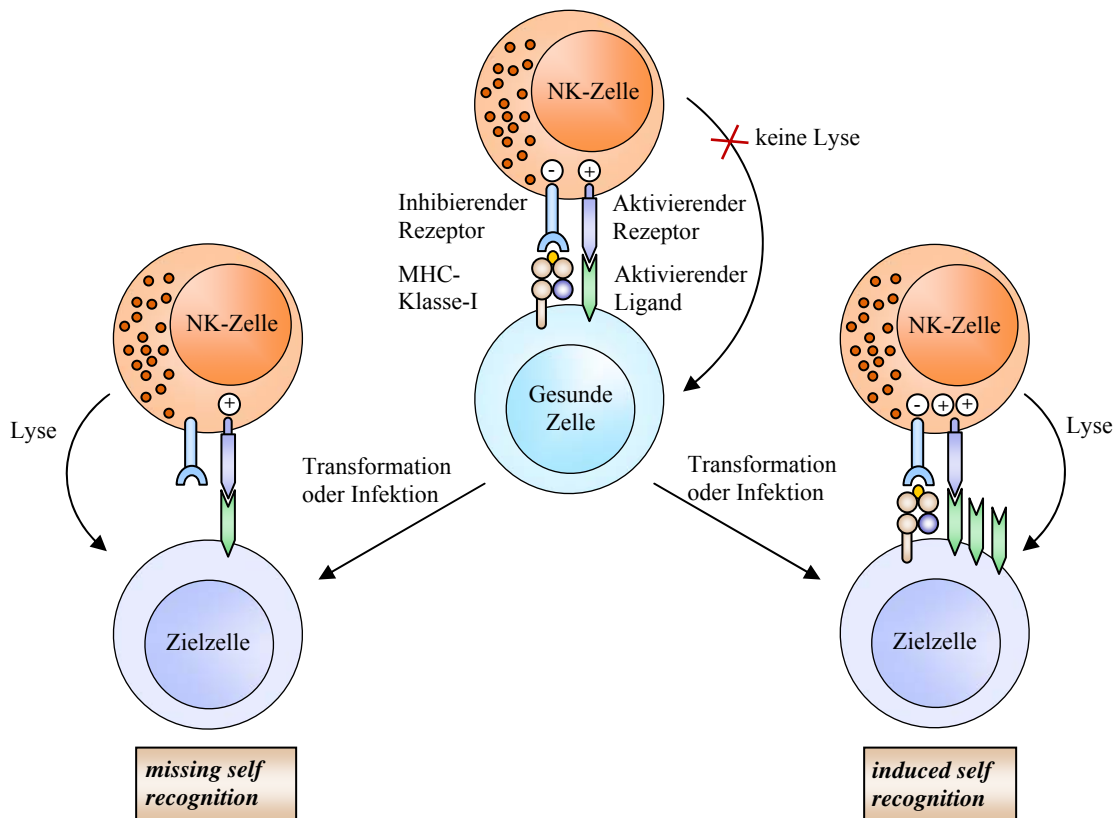
MHC-Klasse-I-Moleküle werden von fast allen kernhaltigen Zellen auf der Zelloberfläche exprimiert und präsentieren intrazellulär prozessierte Peptide an zytotoxische T-Zellen. Der MHC-Peptidkomplex wird allerdings nicht nur von T-Lymphozyten erkannt, sondern auch von inhibierenden MHC-Klasse-I-spezifischen NK-Zell-Rezeptoren, was ein Abtöten der Zelle verhindert (Abb. 1) (Karlhofer et al., 1992; Yokoyama, 2002). In virusinfizierten Zellen oder in Tumorzellen wird die MHC-Klasse-I-Expression häufig herunterreguliert (Garcia-Lora et al., 2003; Orange et al., 2002). Dies schützt sie zwar vor einem Angriff durch zytotoxische T-Zellen, jedoch nicht vor der Erkennung und Lyse durch NK-Zellen. In NK-Zellen führt die reduzierte MHC-Klasse-I-Expression auf den Zielzellen zu einem Verlust der inhibierenden Signale. Durch stimulierende Signale, vermittelt durch aktivierende Rezeptoren (z.B. 2B4, Yokoyama et al., 1991), deren Liganden konstitutiv exprimiert werden, wird die

Lyse der Zielzelle ausgelöst (Abb. 1) (Held et al., 2005; Moretta et al., 2001; Watzl und Long, 2000).

Alternativ wird durch Infektionen, Tumorentstehung oder Stress die Expression von endogenen „selbst“-Molekülen (z.B. Rae-1, H60 oder MICA/B) induziert, die ebenfalls als Liganden für einen aktivierenden NK-Zell-Rezeptor (NKG2D, siehe 1.3.2.3) fungieren (Abb. 1). Diese Strategie wird auch als *induced self recognition* bezeichnet (Gasser et al., 2005; Held et al., 2005; Raulet und Vance, 2006).

Eine weitere von NK-Zellen verwendete Strategie, infizierte Zellen ausfindig zu machen, ist die Erkennung von „nicht-selbst“-Liganden, die von Pathogenen exprimiert werden (Held et al., 2005). So erkennt z.B. der murine aktivierende NK-Zell-Rezeptor Ly49h das vom Maus-Cytomegalievirus (MCMV) kodierte Protein m157 auf der Oberfläche von infizierten Zellen (Arase et al., 2002).

Letztendlich wird die Aktivität der NK-Zelle über ein Gleichgewicht von aktivierenden und inhibierenden Signalen reguliert (Abb. 1). Dominieren inhibierende Signale wird die NK-Zelle nicht aktiviert, überwiegen aktivierende Signale kommt es zur Zellyse (Bakker et al., 2000; Lanier, 1997; MacDonald, 2005).



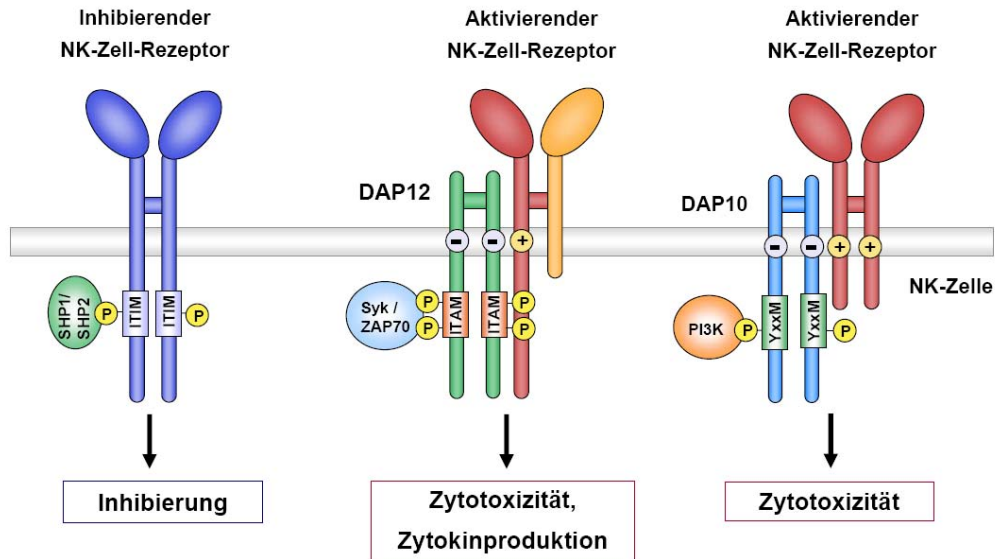
**Abb. 1 NK-Zell-Aktivierung (verändert nach Raulet und Vance, 2006)**

Gesunde Zellen sind durch den Angriff von NK-Zellen geschützt, da hemmende Signale, vermittelt durch inhibierende Rezeptoren, die MHC-Klasse-I-Moleküle binden, aktivierende Signale unterbinden. Während einer Infektion oder Transformation, wenn die Expression von MHC-Klasse-I-Molekülen auf den Zielzellen herunterreguliert wird (*missing self recognition*) oder die Expression von Liganden für aktivierende Rezeptoren induziert wird (*induced self recognition*), verschiebt sich das Gleichgewicht in Richtung aktivierende Signale, was zur Zelllyse führt.

## 1.2 Signaltransduktion in NK-Zell-Rezeptoren

Aktivierende und inhibierende NK-Zell-Rezeptoren unterscheiden sich grundlegend in ihrer Zytoplasma- und Transmembranenregion (Abb. 2). Inhibierende Rezeptoren besitzen ein oder mehrere inhibitorische Signalmotive in ihrer Zytoplasmaregion, so genannte ITIM (*immunoreceptor tyrosine-based inhibitory motif*), mit folgender Konsensussequenz: S/I/V/LxYxxI/V/L, wobei x für jede beliebige Aminosäure steht (Ravetch und Lanier, 2000; Vivier und Daeron, 1997). Nach Ligandenbindung kommt es zur Phosphorylierung des Tyrosin-Restes im ITIM durch eine Src-Familie-Tyrosinkinase, was zur Rekrutierung und

Aktivierung von Protein-Tyrosinphosphatasen wie SHP1 und SHP2 führt (Abb. 2) (Borrego et al., 2002; Burshtyn et al., 1996). Diese wiederum unterbrechen den Signalweg der NK-Zell-Aktivierung, indem sie essentielle Proteine dieses Signalwegs dephosphorylieren, wie z.B. Vav1 (Stebbins et al., 2003).



**Abb. 2 Signaltransduktion von inhibierenden und aktivierenden NK-Zell-Rezeptoren (verändert nach Yokoyama und Plougastel, 2003)**

Inhibierende NK-Zell-Rezeptoren besitzen ITIM-Sequenzen in der Zytosolregion, deren Phosphorylierung zur Rekrutierung der Tyrosinphosphatasen SHP1 und SHP2 führt. Aktivierende NK-Zell-Rezeptoren assoziieren mit Hilfe einer positiv geladenen Aminosäure in der Transmembranregion mit Adaptermolekülen wie z.B. DAP12 oder DAP10, die über den Phosphatidylinositol-3-Kinase (PI3K)-vermittelten Signalweg Zytotoxizität (DAP10) oder über den Syk/ZAP70-vermittelten Signalweg Zytotoxizität und Zytokinproduktion (DAP12) hervorrufen.

Im Gegensatz zu den inhibierenden NK-Zell-Rezeptoren besitzen die aktivierenden NK-Zell-Rezeptoren keine Signalmotive in ihrer Zytosolregion (Abb. 2). Mit Hilfe einer positiv geladenen Aminosäure in der Transmembranregion (Lysin oder Arginin) assoziieren sie mit Adaptermolekülen, die eine negativ geladene Aminosäure in ihrer Transmembranregion aufweisen (Abb. 2). Adaptermoleküle von aktivierenden NK-Zell-Rezeptoren sind DAP12, DAP10, FcεRIγ und CD3ζ (Lanier, 2003). Mit Ausnahme von DAP10 besitzen die Adaptermoleküle aktivierende Signalmotive, so genannte ITAM (*immunoreceptor tyrosine-based activation motif*) in der Zytosolregion mit der Konsensussequenz: YxxI/L<sub>(6-12)</sub>YxxI/L, wobei x für jede beliebige Aminosäure steht (Barrow und Trowsdale, 2006; Billadeau und Leibson, 2002). DAP10 verfügt über ein YxxM-Motiv (Chang et al., 1999).

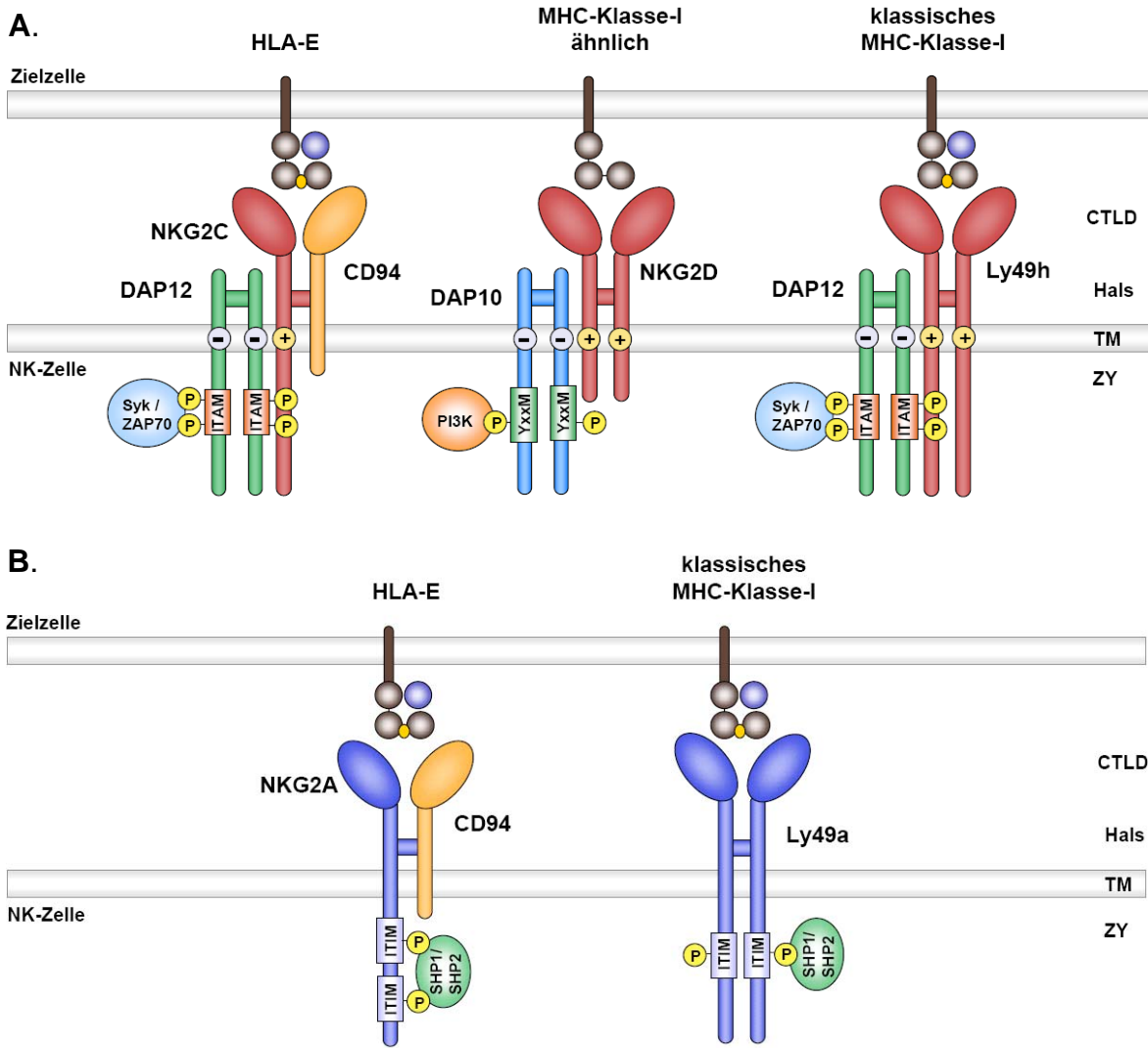
Nach Bindung eines Liganden an den aktivierenden Rezeptor kommt es zur Phosphorylierung der beiden Tyrosin-Reste im ITAM des Adaptermoleküls durch Src-Familie-Tyrosinkinase. Dies führt zur Rekrutierung der Protein-Tyrosinkinase Syk und ZAP70 (Abb. 2), die wiederum eine Vielzahl von Signalmolekülen phosphorylieren, was letztendlich die Freisetzung von zytotoxischen Granula und Zytokinen bewirkt (Colucci et al., 2002; Lanier, 2003; Zompi et al., 2003). Die Phosphorylierung des Tyrosinrestes im YxxM-Motiv von DAP10 bewirkt die Rekrutierung der p85 Untereinheit der Phosphatidylinositol-3-Kinase (PI3K) (Abb. 2) (Chang et al., 1999; Wu et al., 1999). Dies führt im weiteren Verlauf zur Lyse der Zielzelle, nicht aber zur Freisetzung von Zytokinen (Trinchieri, 2003).

### 1.3 MHC-Klasse-I-spezifische NK-Zell-Rezeptoren

NK-Zell-Rezeptoren, die klassische und nicht-klassische MHC-Klasse-I-Moleküle binden, gehören zwei strukturell verschiedenen Familien an: der Immunglobulin-Superfamilie, sowie der C-Typ Lektin-ähnlichen Superfamilie (Lanier, 1998).

Mitglieder der Immunglobulin-Superfamilie sind im Leukozyten Rezeptor Komplex (LRC) auf dem humanen Chromosom 19q13.4 kodiert und besitzen eine unterschiedliche Anzahl an extrazellulären Immunglobulin (Ig)-ähnlichen Domänen (Kelley et al., 2005; Martin et al., 2002). Zu dieser Familie zählen die humanen KIR (*killer cell immunoglobulin-like receptors*) und LILR (*leucocyte immunoglobulin-like receptors*) (Lanier, 2005).

Die in dieser Arbeit untersuchten NK-Zell-Rezeptoren gehören zur C-Typ Lektin-ähnlichen Superfamilie und sind im Natürlichen Killer Komplex (NKC) auf dem humanen Chromosom 12p13.1 kodiert (Kelley et al., 2005; Renedo et al., 1997). Mitglieder dieser Familie besitzen C-Typ Lektin-ähnliche Domänen (CTLD) (Zelensky und Gready, 2005) und umfassen die Ly49-Rezeptoren der Nagetiere sowie die CD94/NKG2- und NKG2D-Rezeptoren, die in Nagetieren und Menschen vorkommen (Abb. 3) (Lanier, 2005; Yokoyama und Plougastel, 2003). Obwohl diese Rezeptoren eine CTLD besitzen, binden sie nicht wie C-Typ Lektine  $\text{Ca}^{2+}$ -abhängig Kohlenhydrate (Radaev und Sun, 2003; Weis et al., 1998). Ferner handelt es sich um transmembrane Glykoproteine vom Typ II, deren N-Terminus sich intrazellulär befindet. Die extrazelluläre CTLD ist an der Ligandenbindung beteiligt und über eine Halsregion mit der Transmembran- und Zytoplasmaregion verbunden (Abb. 3) (Yokoyama und Plougastel, 2003).



**Abb. 3 C-Typ Lektin-ähnliche MHC-Klasse-I-spezifische NK-Zell-Rezeptoren (verändert nach Yokoyama und Plougastel, 2003)**

A. aktivierende Rezeptoren: humaner CD94/NKG2C- und NKG2D-Rezeptor sowie muriner Ly49h-Rezeptor.  
 B. inhibierende Rezeptoren: humaner CD94/NKG2A-Rezeptor und muriner Ly49a-Rezeptor. CTLD, C-Typ Lektin-ähnliche-Domäne; TM, Transmembranregion; ZY, Zytoplasmaregion.

**1.3.1 Immunglobulin-Superfamilie**

Die humane KIR-Genfamilie besteht aus 15 Genen und 2 Pseudogenen (Lanier, 2005), wobei sich verschiedene Haplotypen in der Anzahl und Zusammensetzung der KIR-Gene unterscheiden (Uhrberg et al., 2002; Wilson et al., 2000). Zudem weisen die KIR-Gene einen ausgeprägten Grad an allelischem Polymorphismus auf (Garcia et al., 2003; Rajalingam et al., 2001a). Allelische Polymorphismen und haplotypspezifische Unterschiede führen dazu, dass

nicht-verwandte Individuen in der Regel ein unterschiedliches Repertoire an KIR aufweisen (Rajalingam et al., 2002; Shilling et al., 2002).

KIR werden auf NK-Zellen und einigen T-Zellen als Monomere exprimiert und besitzen zwei oder drei extrazelluläre Ig-ähnliche Domänen (Lanier, 2005). Aktivierende KIR-Moleküle weisen eine kurze Zytoplasmaregion auf und assoziieren in der Regel mit dem Adaptermolekül DAP12 (Bianconi et al., 1996; Lanier et al., 1998b; Olcese et al., 1997), während inhibierende KIR-Moleküle eine längere Zytoplasmaregion besitzen, die ein oder zwei ITIM beinhaltet (Bianconi et al., 1996; Fry et al., 1996). Als Liganden wurden für die meisten KIR die ebenfalls polymorphen klassischen MHC-Klasse-I-Moleküle HLA-A, -B und -C nachgewiesen, wobei insbesondere für viele aktivierende Rezeptoren die Liganden noch unbekannt sind (Lanier, 2005).

Im Gegensatz zu den extrem polymorphen KIR im Menschen wurden in der Maus nur zwei KIR-ähnliche Gene auf Chromosom X gefunden, deren Funktion bisher unbekannt ist (Hoelsbrekken et al., 2003; Welch et al., 2003). In der Maus übernimmt die Ly49-Rezeptorfamilie die Funktion der KIR (1.3.2.1).

Innerhalb der humanen LILR-Genfamilie ist nur von dem inhibierenden Rezeptor LILRB1 bekannt, dass er von NK-Zellen exprimiert wird und MHC-Klasse-I-Moleküle bindet (Colonna et al., 1997). Da LILRB1 auch auf B-Zellen, Monozyten, Makrophagen und dendritischen Zellen vorkommt, wird angenommen, dass LILRB1 im Vergleich zu den anderen MHC-Klasse-I-Rezeptoren, die vorwiegend von NK-Zellen exprimiert werden, eine untergeordnete Rolle als NK-Zell-Rezeptor spielt (Lanier, 2005).

## **1.3.2 C-Typ Lektin-ähnliche Superfamilie**

### **1.3.2.1 Ly49**

Die Ly49-Genfamilie ist das funktionelle Analog der Nagetiere zu den humanen KIR. Ähnlich wie bei den KIR handelt es sich um eine hoch polymorphe Multigenfamilie in Maus und Ratte (Hao und Nei, 2004), während der Mensch nur ein Ly49L (*like*)-Gen besitzt (Barten und Trowsdale, 1999).

In der Maus umfasst die Ly49-Genfamilie mindestens 23 Mitglieder (Dimasi und Bianconi, 2005). Wie bei den KIR unterscheiden sich verschiedene Haplotypen in der Anzahl und der

Zusammensetzung an Ly49-Genen (Anderson et al., 2005). Zudem sind die einzelnen Ly49-Gene wie die KIR-Gene sehr polymorph (Makrigiannis et al., 2002; Mehta et al., 2001).

Auf der Zelloberfläche von NK-Zellen und einigen T-Zellen werden Ly49-Rezeptoren als Homodimere exprimiert (Brennan et al., 1996; Dimasi und Biassoni, 2005). Die meisten Rezeptoren sind inhibierend und besitzen ein ITIM in ihrer Zytoplasmaregion, während aktivierende Ly49-Rezeptoren eine positiv geladene Aminosäure (Arginin) in ihrer Transmembranregion aufweisen, was ihnen eine Bindung an das Adaptermolekül DAP12 ermöglicht (Abb. 3) (Anderson et al., 2001; Smith et al., 1998).

Liganden der Ly49-Rezeptoren in der Maus sind die klassischen MHC-Klasse-I-Moleküle H2-K, H2-D und H2-L (Hanke et al., 1999; Makrigiannis et al., 2001).

Neben MHC-Klasse-I-Molekülen wurde auch das vom Maus-Cytomegalievirus (MCMV) kodierte, MHC-ähnliche Protein m157 als Ligand des inhibierenden Rezeptors Ly49i sowie des aktivierenden Rezeptors Ly49h nachgewiesen (Arase et al., 2002). In Mausstämmen, die den aktivierenden Ly49h-Rezeptor exprimieren, führt dies zu Resistenz gegen MCMV, während Mausstämme, die den inhibierenden Ly49i-Rezeptor exprimieren, empfänglich für MCMV sind.

Das Ly49L-Transkript im Menschen weist ein frühzeitiges Stopkodon auf und kodiert für einen Rezeptor mit stark verkürzter CTLD (Westgaard et al., 1998). Daher wird angenommen, dass Ly49L im Menschen nicht funktionell ist oder zumindest eine andere Funktion hat als Ly49 in Nagetieren.

### 1.3.2.2 CD94/NKG2

CD94 und die NKG (*natural killer group*) 2-Familie sind gleichermaßen im Menschen und in Nagetieren verbreitet und werden neben NK-Zellen von einer Subpopulation von T-Zellen exprimiert (Lanier, 2005). In der humanen NKC-Region gibt es ein CD94-Gen sowie vier Gene, die für Mitglieder der NKG2-Familie kodieren: NKG2A, -C, -E und -F (Glienke et al., 1998; Plougastel et al., 1996; Sobanov et al., 1999; Yabe et al., 1993). Auf der Zelloberfläche werden NKG2A, -C und -E jeweils als Heterodimere mit CD94 exprimiert, mit dem sie über eine Disulfidbrücke in der Halsregion verbunden sind (Abb. 3) (Boyington et al., 1999; Carretero et al., 1997; Lazetic et al., 1996). CD94/NKG2A bildet einen inhibierenden Rezeptor, während CD94/NKG2C und vermutlich auch CD94/NKG2E aktivierende

Rezeptoren darstellen (Abb. 3) (Cantoni et al., 1998; Houchins et al., 1997; Kaiser et al., 2005). NKG2A besitzt zur Signaltransduktion zwei ITIM in der Zytoplasmaregion, während NKG2C und NKG2E die positiv geladene Aminosäure Lysin in der Transmembranregion aufweisen (Lanier, 2005). Für den CD94/NKG2C-Rezeptor konnte eine Assoziation mit dem Adaptermolekül DAP12 nachgewiesen werden (Lanier et al., 1998a). CD94 besitzt eine stark verkürzte Zytoplasmaregion ohne Signalmotive. Ebenso fehlt eine positiv geladene Aminosäure in der Transmembranregion (Abb. 3) (Chang et al., 1995).

NKG2F weist aufgrund einer Leserasterverschiebung in Exon 4, die zum frühzeitigen Abbruch der Translation führt, eine stark verkürzte CTLD auf (Glienke et al., 1998). Das NKG2F-Protein wird nicht mit CD94 an der Zelloberfläche exprimiert, kann aber mit Hilfe einer positiv geladenen Aminosäure (Lysin) in der Transmembranregion intrazellulär an DAP12 binden (Kim et al., 2004). Ob NKG2F ein evolutionäres Relikt darstellt oder eine Rolle bei der Regulation der NK-Zell-Aktivität spielt, ist bislang unklar (Kim et al., 2004).

Der Ligand für die CD94/NKG2-Moleküle ist das nicht-klassische, nicht-polymorphe MHC-Klasse-I-Molekül HLA-E im Menschen (Braud et al., 1998) bzw. Qa-1 in der Maus (Vance et al., 1998). HLA-E und Qa-1 präsentieren gewöhnlich Nonapeptide, die von den Signalpeptiden anderer MHC-Klasse-I-Moleküle stammen (O'Callaghan, 2000). Auf diese Weise kontrollieren die CD94/NKG2-Rezeptoren indirekt die Expression von MHC-Klasse-I-Molekülen auf den Zielzellen. Neben Signalpeptiden von MHC-Klasse-I-Molekülen werden auch einige andere Peptide, wie z.B. das stressinduzierte Hitzeschockprotein 60 (Hsp60), von HLA-E gebunden (Michaelsson et al., 2002). HLA-E, das Hsp60-Peptide präsentiert, wird nicht vom inhibierenden CD94/NKG2A-Rezeptor erkannt (Michaelsson et al., 2002).

Der aktivierende CD94/NKG2C-Rezeptor bindet HLA-E mit niedrigerer Affinität als der inhibierende CD94/NKG2A-Rezeptor (Vales-Gomez et al., 1999). Ebenso beeinflussen die von HLA-E gebundenen Peptide die Affinität der Rezeptoren (Kaiser et al., 2005; Llano et al., 1998; Vales-Gomez et al., 1999).

Im Gegensatz zu den Ly49-Rezeptoren der Nagetiere und den humanen KIR sind die CD94/NKG2-Rezeptoren wenig polymorph (Hikami et al., 2003; Shum et al., 2002). Ein An-/Abwesenheits-Polymorphismus wurde für NKG2C gefunden (Hikami et al., 2003). Etwa 4 % der japanischen und holländischen Bevölkerung besitzen eine homozygote NKG2C-Deletion (Miyashita et al., 2004).

Alternative Spleißprodukte wurden im Menschen für CD94, NKG2A und NKG2E beschrieben (Bellon et al., 1999; Furukawa et al., 1998; Plougastel et al., 1996; Shum et al., 2002). Für Isoformen von CD94 (CD94-T4) und NKG2A (NKG2B), denen die Halsregion des Rezeptors fehlt, wurde gezeigt, dass sie gemeinsam auf der Zelloberfläche exprimiert werden und inhibierende Signale weiterleiten können (Lieto et al., 2006).

### 1.3.2.3 NKG2D

Der NK-Zell-Rezeptor NKG2D ist wie die CD94/NKG2-Rezeptoren sowohl im Menschen als auch in Nagetieren verbreitet (Ho et al., 1998; Houchins et al., 1991) und wie diese wenig polymorph (Shum et al., 2002). Trotz seiner ähnlichen Bezeichnung ist NKG2D allerdings nur entfernt mit den anderen NKG2-Molekülen verwandt (~ 21 % Aminosäureidentität) und bindet nicht an CD94 (Houchins et al., 1991). Stattdessen wird NKG2D als Homodimer (Abb. 3) von NK-Zellen und einer Subpopulation von T-Zellen exprimiert (Bauer et al., 1999; Li et al., 2001; Yabe et al., 1993).

Bei dem NKG2D-Rezeptor handelt es sich um einen aktivierenden NK-Zell-Rezeptor, der in seiner Transmembranregion die positiv geladene Aminosäure Arginin aufweist (Abb. 3) (Bauer et al., 1999; Houchins et al., 1991; Wu et al., 1999). In der Maus assoziiert NKG2D mit den Adaptermolekülen DAP10 und DAP12 (Gilfillan et al., 2002; Rabinovich et al., 2006), während NKG2D im Menschen nur mit DAP10 assoziiert (Abb. 3) (Billadeau et al., 2003; Wu et al., 1999). Ferner wird NKG2D in der Maus am 5'-Ende differentiell gespleißt (Diefenbach et al., 2002). Die NKG2D-L (*long*)-Isoform besitzt eine um 13 Aminosäuren längere Zytoplasmaregion als die NKG2D-S (*short*)-Isoform. Im Menschen existiert nur die längere NKG2D-L-Isoform (Houchins et al., 1991).

Liganden für NKG2D sind MHC-Klasse-I-ähnliche Moleküle, die weder Antigene präsentieren, noch mit Beta-2-Mikroglobulin assoziieren (Yokoyama und Plougastel, 2003). Dies sind MICA, MICB und ULBP (ULBP1-4) im Menschen (Bauer et al., 1999; Chalupny et al., 2003; Cosman et al., 2001; Kubin et al., 2001) sowie Mitglieder der Rae-1-Familie, H60 und MULT1 in der Maus (Carayannopoulos et al., 2002; Cerwenka et al., 2000; Diefenbach et al., 2000). Die Expression dieser Liganden wird durch Zellstress, Infektionen oder in Tumorzellen induziert (*induced self recognition*, Abb. 1) (Groh et al., 1996; Groh et al., 2001; Groh et al., 1999; Tieng et al., 2002). Die Bindung von NKG2D an seine Liganden führt zur

Lyse der Zielzelle, auch wenn diese klassische MHC-Klasse-I-Moleküle exprimiert, an die inhibierende NK-Zell-Rezeptoren binden (Bauer et al., 1999).

#### **1.4 Natürlicher Killer Komplex (NKC)**

Die NKC-Region auf dem humanen Chromosom 12 umfasst etwa 2,5 Mb (Borrego et al., 2002). Gene in dieser Region kodieren zum großen Teil für Proteine der C-Typ Lektin-ähnlichen Superfamilie, aber auch für einige andere Proteine, die nicht dieser Familie angehören. Zu den Proteinen mit CTLD-Sequenzen gehören die bereits beschriebenen MHC-Klasse-I-spezifischen NK-Zell-Rezeptoren CD94/NKG2, NKG2D und Ly49L (Yokoyama und Plougastel, 2003).

Abbildung 4 zeigt das CD94-Ly49L-Intervall der NKC-Region des Menschen auf Chromosom 12 und der Maus auf Chromosom 6. Im Menschen beträgt die Länge dieses Intervalls 274 kb und im Maus-Inzuchtstamm C57BL/6 beträgt die Distanz zwischen CD94 und Ly49a 798 kb (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>). Das murine Ly49b-Gen liegt abseits von den anderen Ly49-Genen (Abb. 4), 832 kb distal von Ly49a. Die Reihenfolge der Gene im Menschen ist CD94, NKG2D, NKG2 (-F, -E, -C, -A) und Ly49L (Sobanov et al., 1999). In der Maus ist die Genreihenfolge identisch, allerdings fehlt ein NKG2F-Gen (Hao und Nei, 2004). Trotz der gleichen Bezeichnung sind die NKG2-Gene der Maus nicht ortholog zu den humanen NKG2-Genen (Takei et al., 2001; Vance et al., 1999).

Während in der NKC-Region des Menschen nur ein Ly49L-Gen existiert (Barten und Trowsdale, 1999), wurden in verschiedenen Haplotypen der Maus zwischen acht und neunzehn verschiedene Ly49-Gene gefunden (Anderson et al., 2005).

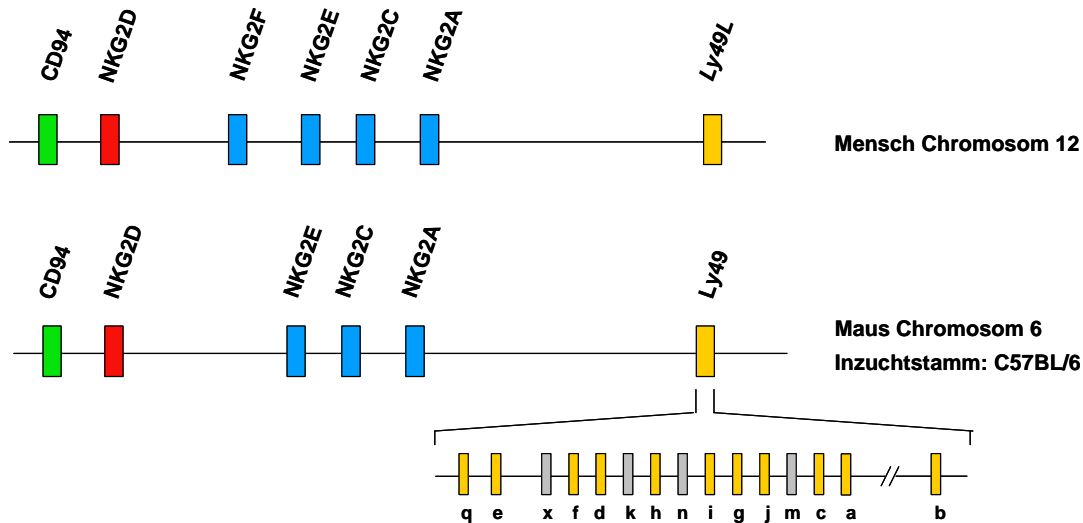


Abb. 4 CD94-Ly49-Intervall des Menschen und der Maus (verändert nach Hao und Nei, 2004)

Dargestellt ist die genomische Organisation des CD94-Ly49-Intervalls im Menschen und der Maus (Inzuchtstamm: C57BL/6). Distanzen zwischen den NKC-Genen sind nicht maßstabsgetreu. Gelbe Kästen zeigen putative funktionelle Ly49-Gene an und graue Kästen Ly49-Pseudogene. Die Anzahl der Ly49-Gene variiert zwischen verschiedenen Mausstämmen.

## 1.5 MHC-Klasse-I-spezifische NK-Zell-Rezeptoren in nicht-humanen Primaten

Analog zum Menschen treten in den Altweltaffen-Spezies Schimpanse (*Pan troglodytes*) (Khakoo et al., 2000; Shum et al., 2002), Orang-Utan (*Pongo pygmaeus*) (Guethlein et al., 2002) und Rhesusaffe (*Macaca mulatta*) (LaBonte et al., 2001) ein CD94- und ein NKG2D-Gen auf, während sich die Anzahl der übrigen NKG2-Gene in den einzelnen Spezies unterscheidet. Im Schimpansen existieren neben den Genen NKG2A, -E und -F zwei NKG2C-Gene (NKG2CI und NKG2CII), die paralog zum humanen NKG2C sind (Shum et al., 2002). NKG2CII kodiert wie NKG2F für einen Rezeptor mit stark verkürzter CTLD. Im Orang-Utan wurde eine NKG2A- und NKG2F-Sequenz gefunden sowie eine Sequenz, die gleich weit entfernt verwandt vom humanen NKG2C und NKG2E ist und als NKG2CE bezeichnet wird (Guethlein et al., 2002). Für den Rhesusaffen wurden mehrere NKG2A-, -C- und -F-Sequenzen beschrieben (Kravitz et al., 2001; LaBonte et al., 2001; LaBonte et al., 2000). Allerdings ist unklar, ob es sich hierbei um verschiedene Gene oder aber um Allele eines Gens handelt.

Vergleichbar zum Menschen sind die CD94-, NKG2D- und NKG2-Gene der untersuchten nicht-humanen Primaten wenig polymorph (Hikami et al., 2003; Shum et al., 2002). Eine

Ausnahme stellen möglicherweise die NKG2-Gene des Rhesusaffen dar (LaBonte et al., 2001; Shum et al., 2002).

Ein Ly49L-Gen existiert in den Altweltaffen-Spezies Schimpanse (*Pan troglodytes*), Gorilla (*Gorilla gorilla*), Orang-Utan (*Pongo pygmaeus*), Gibbon (*Hylobates lar*), Mantelpavian (*Papio hamadryas*) und der afrikanischen grünen Meerkatze (*Chlorocebus aethiops*) (Guethlein et al., 2002; Mager et al., 2001). Im Orang-Utan und Mantelpavian wurden Ly49L-Transkripte nachgewiesen, die kein vorzeitiges Stopkodon wie im Menschen aufweisen und für einen Ly49L-Rezeptor mit vollständiger CTLD kodieren (Guethlein et al., 2002; Mager et al., 2001).

Polymorphe KIR existieren in den Altweltaffen-Spezies Schimpanse (*Pan troglodytes*) (Khakoo et al., 2000), Bonobo (*Pan paniscus*) (Rajalingam et al., 2001b), Gorilla (*Gorilla gorilla*) (Rajalingam et al., 2004), Orang-Utan (*Pongo pygmaeus*) (Guethlein et al., 2002), Rhesusaffe (*Macaca mulatta*) (Hershberger et al., 2001; Sambrook et al., 2005), Mantelpavian (*Papio hamadryas*) (Mager et al., 2001) und der Grünen Meerkatze (*Chlorocebus sabaesus*) (Hershberger et al., 2005). In einer Neuweltaffen-Spezies, dem Weißbüschelaffen (*Callithrix jacchus*), wurden bis jetzt erst zwei KIR-Gene (KIR3DL01 und KIR3DL02) identifiziert (Sambrook et al., 2006a).

Allgemein ähnelt in den analysierten Altweltaffen-Spezies das MHC-Klasse-I-spezifische NK-Zell-Rezeptor-Repertoire (konservierte C-Typ Lektin-ähnliche Rezeptoren, polymorphe KIR) dem des Menschen und unterscheidet sich damit stark von den Nagetieren, wo die Ly49-Rezeptorfamilie die vorherrschenden NK-Zell-Rezeptoren darstellt.

## 1.6 Fragestellung der Arbeit

MHC-Klasse-I-spezifische NK-Zell-Rezeptoren wurden bereits in mehreren Altweltaffenspezies analysiert. Da Altweltaffen und Nagetiere ein sehr unterschiedliches MHC-Klasse-I-spezifisches NK-Zell-Rezeptor-Repertoire aufweisen, war es von Interesse, das Rezeptor-Repertoire in von den Altweltaffen weiter entfernt verwandten Primatenspezies zu untersuchen und dabei neue Erkenntnisse über die Evolution dieser Rezeptoren zu gewinnen. Hierbei wurde sich auf die in der NKC-Region kodierten MHC-Klasse-I-spezifischen NK-Zell-Rezeptoren beschränkt.

Als Versuchstiere dienten der Weißbüschelaffe als Vertreter der Neuweltaffen, welche die nächsten Verwandten der Altweltaffen darstellen sowie ein weiter entfernt verwandter Feuchtnasenne, der Graue Mausmaki, bei dem es sich um einen Lemuren aus Madagaskar handelt. Sowohl vom Weißbüschelaffen als auch vom Grauen Mausmaki existieren kommerzielle BAC-Banken, die zur Analyse der genomischen Organisation des CD94-Ly49L-Intervalls in diesen Spezies genutzt werden sollten.

Infolge der Entdeckung mehrerer CD94- und NKG2-Gene im Grauen Mausmaki sollte untersucht werden, ob diese Gene sowie die Gene NKG2D und Ly49L in einem weiteren Lemuren, dem Schwarzweißen Vari, konserviert sind. Ferner ergab sich die Fragestellung, ob CD94, welches in anderen Primatenspezies ein einzelnes Gen darstellt, nur in den madagassischen Feuchtnasenneffern dupliziert ist oder auch in Primatenspezies außerhalb Madagaskars. Dahingehend sollte CD94 in einem weiteren Feuchtnasenneffern aus Äquatorialafrika, dem Potto, sowie einem der ursprünglichsten Trockennasenneffern, dem Philippinen-Koboldmaki, untersucht werden.

## **2 Material und Methoden**

### **2.1 Material**

#### **2.1.1 Versuchstiere**

Als Versuchstiere dienten fünf Primatenspezies: der Weißbüschelaffe (*Callithrix jacchus*), der Philippinen-Koboldmaki (*Tarsius syrichta*), der Potto (*Perodicticus potto ibeanus*), der Graue Mausmaki (*Microcebus murinus*) sowie der Schwarzweiße Vari (*Varecia variegata variegata*).

##### **2.1.1.1 Systematik**

Der Weißbüschelaffe sowie der Philippinen-Koboldmaki gehören zur Unterordnung Trockennasenaffen (Haplorrhini), während der Potto, der Graue Mausmaki sowie der Schwarzweiße Vari zur Unterordnung Feuchtnasenaffen (Strepsirrhini) zählen (Abb. 5) (Geissmann, 2003). Die Unterordnung Trockennasenaffen wird unterteilt in die Infraordnungen Koboldmakis (Tarsiiformes) und höhere Primaten (Anthropoidea). Alle Koboldmakis, wie der in dieser Arbeit untersuchte Philippinen-Koboldmaki, gehören zur Gattung *Tarsius*. Das Verbreitungsgebiet der Koboldmakis stellen die südostasiatischen Sundainseln, Sulawesi und die Philippinen dar.

Teilgruppen der höheren Primaten sind die Neuweltaffen (Platyrrhini) aus Zentral- und Südamerika sowie die Altweltaffen (Catarrhini), deren Verbreitung sich mit Ausnahme des Menschen auf Afrika und Asien erstreckt. Zu den Altweltaffen zählen die beiden Überfamilien Geschwänzte Altweltaffen (Cercopithecoidea) sowie Menschenaffen und Mensch (Hominoidea). Letztere umfassen die Familien Gibbons (Hylobatidae) sowie große Menschenaffen und Mensch (Hominidae). Zu den Neuweltaffen zählen fünf verschiedene Familien: Greifschwanzaffen (Atelidae), Sakiartige (Pitheciidae), Krallenaffen (Callitrichidae), Kapuzinerartige (Cebidae) und Nachtaffen (Aotidae). Der untersuchte Weißbüschelaffe gehört zur Familie der Krallenaffen.

Die Unterordnung Feuchtnasenaffen wird unterteilt in die Infraordnungen Loriartige (Lorisiformes) und Lemurenartige (Lemuriformes). Die Lemurenartigen sind nur auf Madagaskar verbreitet, während die Loriartigen in Afrika und Asien vorkommen. Die

Lemurenartigen umfassen fünf Familien: Fingertiere (Daubentoniidae), Maus- und Katzenmakis (Cheirogaleidae), Wieselmakis (Lepilemuridae), Indriartige (Indriidae) und „echte Lemuren“ (Lemuridae). Der Graue Mausmaki gehört zur Familie der Maus- und Katzenmakis, während der Schwarzweiße Vari zur Familie der „echten Lemuren“ zählt. Madagaskar trennte sich vor etwa 170 Millionen Jahren vom afrikanischen Festland ab und vor etwa 83 Millionen Jahren von Indien (Masters et al., 2006). Es existieren verschiedene Hypothesen, wie die Besiedlung Madagaskars durch Primaten erfolgte. Als wahrscheinlichste gilt die Besiedlung von Afrika über den Mozambique-Kanal auf treibender Vegetation (*rafting*) (Kappeler, 2000; Roos et al., 2004).

Zu den Loriartigen zählen zwei Familien: die in Afrika und Asien lebenden Loris (Lorisidae) sowie die in Afrika beheimateten Galagos (Galagidae). Der Potto gehört zur Familie der Lorisidae.

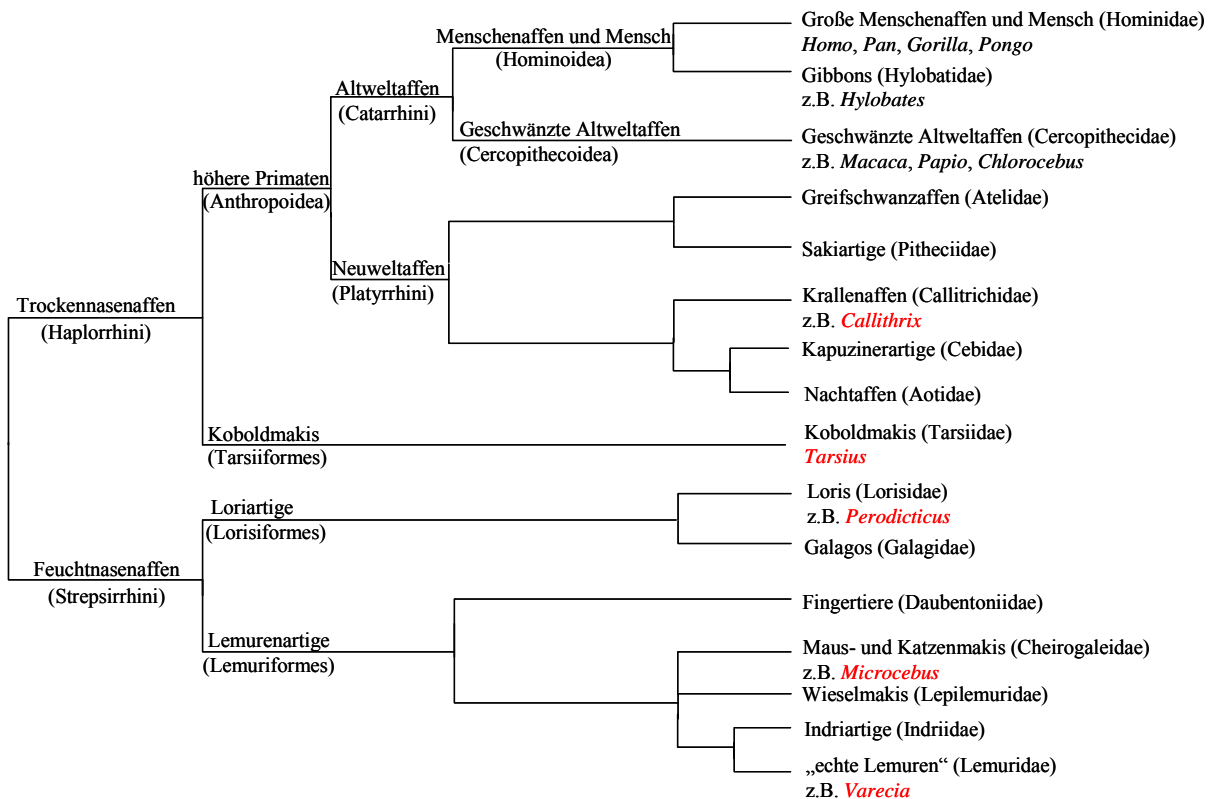


Abb. 5 Stammbaum der Primaten (verändert nach Geissmann, 2003)

In dieser Arbeit untersuchte Gattungen sind rot dargestellt.

### 2.1.1.2 Weißbüschelaffe (*Callithrix jacchus*)

Klasse: Mammalia (Säugetiere)

Ordnung: Primates (Primaten)

Unterordnung: Haplorrhini (Trockennasaffen)

Infraordnung: Anthroidea (höhere Primaten)

Namenloser Rang: Platyrrhini (Neuweltaffen)

Überfamilie: Ceboidea (Neuweltaffen)

Familie: Callitrichidae (Krallenaffen)

Gattung: *Callithrix* (Büschelaffen)

Art: *Callithrix jacchus* (Weißbüschelaffe)



**Abb. 6** *Callithrix jacchus*

Quelle: Raimond Spekking/Wikipedia

Der Weißbüschelaffe ist in Südost-Brasilien verbreitet und gehört zur artenreichsten Familie der Neuweltaffen, den Krallenaffen (Schröpel, 2007). Die Gattung *Callithrix* umfasst sechs Arten (Schröpel, 2007). Namensgebend für den Weißbüschelaffen sind seine abstehenden, weißen Ohrbüschel. Aufgrund seiner geringen Größe (310-470 g) (Geissmann, 2003), seiner hohen Geburtenrate (i.d.R. Zwillinge) und seiner frühen Geschlechtsreife von etwa 13 Monaten (Digby et al., 2007) eignet er sich besonders gut als Tiermodell und spielt eine wichtige Rolle in der medizinischen Forschung (Eichler und DeJong, 2002). Krallenaffen (mit Ausnahme von Springtamarinen) stellen die einzigen höheren Primaten mit Zwillingsgeburten dar (Geissmann, 2003). Die Zwillinge sind zweieiig, haben aber eine gemeinsame plazentale Durchblutung. Hierdurch kommt es zum Zellaustausch (Chimärismus), so dass jedes Individuum die blutbildenden Zellen beider Zwillinge und einen identischen genetischen Fingerabdruck aufweist (Haig, 1999).

### 2.1.1.3 Philippinen-Koboldmaki (*Tarsius syrichta*)

Klasse: Mammalia (Säugetiere)

Ordnung: Primates (Primaten)

Unterordnung: Haplorrhini (Trockennasenaffen)

Infraordnung: Tarsiiformes (Koboldmakis)

Überfamilie: Tarsioidea (Koboldmakis)

Familie: Tarsiidae (Koboldmakis)

Gattung: *Tarsius* (Koboldmakis)

Art: *Tarsius syrichta* (Philippinen-Koboldmaki)



**Abb. 7** *Tarsius syrichta*

Quelle: [http://commons.wikimedia.org/wiki/Image:Tarsius\\_syrichta.jpg](http://commons.wikimedia.org/wiki/Image:Tarsius_syrichta.jpg)

Die Gattung *Tarsius* umfasst vier bis sieben Arten (Wright et al., 2003). Der Philippinen-Koboldmaki kommt auf den mittleren und südlichen Philippinen vor (Neri-Arboleda et al., 2002). Alle Koboldmakis sind von kleiner Körpergröße (80-150 g) (Wright et al., 2003) und besitzen Ähnlichkeiten mit Vertretern der Feuchtnasenaffen, weshalb sie früher fälschlicherweise zu diesen gezählt wurden. SINE-Integrationen (*short interspersed nucleotide element*) belegen jedoch das Schwesterngruppenverhältnis der Koboldmakis zu den höheren Primaten (Schmitz et al., 2005).

Das auffälligste Merkmal der Koboldmakis sind die großen Augen, relativ zur Körpergröße. Sie stellen einige der wenigen nachtaktiven Formen unter den Trockennasenaffen dar und ernähren sich ausschließlich fleischfressend (carnivor) (Geissmann, 2003).

#### 2.1.1.4 Grauer Mausmaki (*Microcebus murinus*)

Klasse: Mammalia (Säugetiere)

Ordnung: Primates (Primaten)

Unterordnung: Strepsirrhini (Feuchtnasennaffen)

Infraordnung: Lemurenartige (Lemuriformes)

Überfamilie: Lemuroidea (madagassische Lemuren)

Familie: Cheirogaleidae (Maus- und Katzenmakis)

Gattung: *Microcebus* (Mausmakis)

Art: *Microcebus murinus* (Grauer Mausmaki)



**Abb. 8** *Microcebus murinus*

Quelle: Manfred Eberle, DPZ

Die Gattung *Microcebus* umfasst 16 Arten, welche zu den kleinsten Primaten der Welt gehören (Olivieri et al., 2007). Der Graue Mausmaki hat ein Körpergewicht von 58-67 g und kommt im Westen und Südosten Madagaskars vor (Mittermeier et al., 2006). Die DNA-Proben von Dr. Manfred Eberle (DPZ) (Tab. 1) stammen von männlichen Tieren aus einer etwa 30 ha großen Region des Kirindy-Waldes im Westen Madagaskars. Mausmakis sind wie die meisten Feuchtnasennaffen nachtaktiv und ernähren sich von Früchten und Insekten (Geissmann, 2003).

### 2.1.1.5 Schwarzweißer Vari (*Varecia variegata*)

Klasse: Mammalia (Säugetiere)

Ordnung: Primates (Primaten)

Unterordnung: Strepsirrhini (Feuchtnasennaffen)

Infraordnung: Lemurenartige (Lemuriformes)

Überfamilie: Lemuroidea (madagassische Lemuren)

Familie: Lemuridae („echte Lemuren“)

Gattung: *Varecia* (Varis)

Art: *Varecia variegata* (Schwarzweißer Vari)

Unterart: *Varecia variegata variegata*



**Abb. 9** *Varecia variegata variegata*

Quelle: Melanie Dörfer, DPZ

Die Gattung *Varecia* umfasst zwei Arten, die im Osten Madagaskars verbreitet sind und zu den bedrohten Arten zählen (Mittermeier et al., 2006). Der Schwarzweiße Vari gliedert sich in drei weitere Unterarten (Mittermeier et al., 2006). Mit 3,5-3,6 kg sind die Varis die größten Vertreter der „echten Lemuren“ (Geissmann, 2003). Im Gegensatz zu den Mausmakis sind sie tagaktiv und ernähren sich vorwiegend von Früchten (Geissmann, 2003). Der Schwarzweiße Vari besitzt ein weiches schwarzweiß gemustertes Fell.

### 2.1.1.6 Potto (*Perodicticus potto*)

Klasse: Mammalia (Säugetiere)

Ordnung: Primates (Primaten)

Unterordnung: Strepsirrhini (Feuchtnasennaffen)

Infraordnung: Lorisiformes (Loriartige)

Überfamilie: Lorioidea

Familie: Lorisidae (Loris)

Gattung: *Perodicticus* (Pottos)

Art: *Perodicticus potto* (Potto)

Unterart: *Perodicticus potto ibeanus*



Abb. 10 *Perodicticus potto*

Quelle: <http://www.apus.ru/im.xp/049056054124052057051056053056.jpg>

Der Potto ist die einzige Art der Gattung *Perodicticus* und umfasst drei Unterarten (Ravosa, 2007). Pottos sind in Äquatorialafrika von Liberia bis West-Kenia verbreitet (Geissmann, 2003). Es handelt sich um nachtaktive Tiere, die relativ kräftig sind (850-1600 g), verglichen mit anderen Vertretern der Familie Lorisidae (Nowak, 1999). Ihre Ernährung besteht hauptsächlich aus Früchten oder Baumsäften (Geissmann, 2003). Die Bewegungen der Pottos sind sehr langsam.

## 2.1.2 Probenmaterial

Tab. 1 Liste der verwendeten Proben

<sup>1</sup> DPZ-Nummer; <sup>2</sup> Gene Bank of Primates; <sup>3</sup> EDTA-behandelt; <sup>4</sup> Heparin-behandelt; <sup>5</sup> Département d'Ecologie et Gestion de la Biodiversité, Brunoy, CNRS/MNHN, France; DPZ, Deutsches Primatenzentrum.

Spezies	Bezeichnung	Nr.	Art der Probe	Herkunft der Probe
<i>Callithrix jacchus</i>	nightfire	12013 <sup>1</sup>	Vollblut <sup>3</sup>	Dr. Tamara Becker (DPZ)
<i>Callithrix jacchus</i>	piroschka	11076 <sup>1</sup>	Vollblut <sup>3</sup>	Dr. Tamara Becker (DPZ)
<i>Callithrix jacchus</i>	orla	12003 <sup>1</sup>	Vollblut <sup>3</sup>	Dr. Tamara Becker (DPZ)
<i>Callithrix jacchus</i>	iringa	12182 <sup>1</sup>	Vollblut <sup>3</sup>	Dr. Tamara Becker (DPZ)
<i>Callithrix jacchus</i>	ohara	12360 <sup>1</sup>	Vollblut <sup>3</sup>	Dr. Tamara Becker (DPZ)
<i>Callithrix jacchus</i>	obelisk	11598 <sup>1</sup>	Vollblut <sup>3</sup>	Dr. Tamara Becker (DPZ)

Spezies	Bezeichnung	Nr.	Art der Probe	Herkunft der Probe
<i>Callithrix jacchus</i>	aschenputel	12385 <sup>1</sup>	Vollblut <sup>3</sup>	Dr. Tamara Becker (DPZ)
<i>Callithrix jacchus</i>	blanche	10157 <sup>1</sup>	Vollblut <sup>3</sup>	Dr. Tamara Becker (DPZ)
<i>Callithrix jacchus</i>	wonny	12111 <sup>1</sup>	Vollblut <sup>3</sup>	Dr. Tamara Becker (DPZ)
<i>Microcebus murinus</i>	-	-	Leber	Dr. Martine Perret <sup>5</sup>
<i>Microcebus murinus</i>	-	-	Leukozyten	Dr. Martine Perret <sup>5</sup>
<i>Varecia variegata variegata</i>	-	12934 <sup>1</sup>	Vollblut <sup>4</sup>	DPZ
<i>Perodicticus potto ibeanus</i>	-	-	DNA	Dr. Christian Roos (DPZ)
<i>Tarsius syrichta</i>	-	1017 <sup>2</sup>	DNA	Dr. Christian Roos (DPZ)
<i>Microcebus murinus</i>	L_3	-	DNA	Dr. Manfred Eberle (DPZ)
<i>Microcebus murinus</i>	L_5	-	DNA	Dr. Manfred Eberle (DPZ)
<i>Microcebus murinus</i>	L_19	-	DNA	Dr. Manfred Eberle (DPZ)
<i>Microcebus murinus</i>	L_27	-	DNA	Dr. Manfred Eberle (DPZ)
<i>Microcebus murinus</i>	L_28	-	DNA	Dr. Manfred Eberle (DPZ)
<i>Microcebus murinus</i>	L_39	-	DNA	Dr. Manfred Eberle (DPZ)
<i>Microcebus murinus</i>	L_46	-	DNA	Dr. Manfred Eberle (DPZ)
<i>Microcebus murinus</i>	L_48	-	DNA	Dr. Manfred Eberle (DPZ)
<i>Microcebus murinus</i>	L_49	-	DNA	Dr. Manfred Eberle (DPZ)
<i>Microcebus murinus</i>	L_51	-	DNA	Dr. Manfred Eberle (DPZ)
<i>Microcebus murinus</i>	L_54	-	DNA	Dr. Manfred Eberle (DPZ)
<i>Microcebus murinus</i>	L_57	-	DNA	Dr. Manfred Eberle (DPZ)
<i>Microcebus murinus</i>	L_58	-	DNA	Dr. Manfred Eberle (DPZ)
<i>Microcebus murinus</i>	L_61	-	DNA	Dr. Manfred Eberle (DPZ)
<i>Microcebus murinus</i>	L_64	-	DNA	Dr. Manfred Eberle (DPZ)
<i>Microcebus murinus</i>	L_74	-	DNA	Dr. Manfred Eberle (DPZ)
<i>Microcebus murinus</i>	L_75	-	DNA	Dr. Manfred Eberle (DPZ)
<i>Microcebus murinus</i>	L_80	-	DNA	Dr. Manfred Eberle (DPZ)
<i>Microcebus murinus</i>	L_85	-	DNA	Dr. Manfred Eberle (DPZ)

<b>Spezies</b>	<b>Bezeichnung</b>	<b>Nr.</b>	<b>Art der Probe</b>	<b>Herkunft der Probe</b>
<i>Microcebus murinus</i>	L_90	-	DNA	Dr. Manfred Eberle (DPZ)
<i>Microcebus murinus</i>	L_101	-	DNA	Dr. Manfred Eberle (DPZ)
<i>Microcebus murinus</i>	L_102	-	DNA	Dr. Manfred Eberle (DPZ)
<i>Microcebus murinus</i>	L_123	-	DNA	Dr. Manfred Eberle (DPZ)
<i>Microcebus murinus</i>	L_133	-	DNA	Dr. Manfred Eberle (DPZ)
<i>Microcebus murinus</i>	L_140	-	DNA	Dr. Manfred Eberle (DPZ)
<i>Microcebus murinus</i>	L_141	-	DNA	Dr. Manfred Eberle (DPZ)
<i>Microcebus murinus</i>	L_158	-	DNA	Dr. Manfred Eberle (DPZ)
<i>Microcebus murinus</i>	L_161	-	DNA	Dr. Manfred Eberle (DPZ)
<i>Microcebus murinus</i>	L_179	-	DNA	Dr. Manfred Eberle (DPZ)
<i>Microcebus murinus</i>	L_181	-	DNA	Dr. Manfred Eberle (DPZ)
<i>Microcebus murinus</i>	L_189	-	DNA	Dr. Manfred Eberle (DPZ)
<i>Microcebus murinus</i>	L_212	-	DNA	Dr. Manfred Eberle (DPZ)
<i>Microcebus murinus</i>	L_224	-	DNA	Dr. Manfred Eberle (DPZ)
<i>Microcebus murinus</i>	L_228	-	DNA	Dr. Manfred Eberle (DPZ)
<i>Microcebus murinus</i>	L_240	-	DNA	Dr. Manfred Eberle (DPZ)
<i>Microcebus murinus</i>	L_244	-	DNA	Dr. Manfred Eberle (DPZ)
<i>Microcebus murinus</i>	L_245	-	DNA	Dr. Manfred Eberle (DPZ)
<i>Microcebus murinus</i>	L_248	-	DNA	Dr. Manfred Eberle (DPZ)
<i>Microcebus murinus</i>	L_254	-	DNA	Dr. Manfred Eberle (DPZ)
<i>Microcebus murinus</i>	L_258	-	DNA	Dr. Manfred Eberle (DPZ)
<i>Microcebus murinus</i>	L_268	-	DNA	Dr. Manfred Eberle (DPZ)
<i>Microcebus murinus</i>	L_302	-	DNA	Dr. Manfred Eberle (DPZ)
<i>Microcebus murinus</i>	L_304	-	DNA	Dr. Manfred Eberle (DPZ)
<i>Microcebus murinus</i>	L_316	-	DNA	Dr. Manfred Eberle (DPZ)
<i>Microcebus murinus</i>	L_320	-	DNA	Dr. Manfred Eberle (DPZ)
<i>Microcebus murinus</i>	L_322	-	DNA	Dr. Manfred Eberle (DPZ)

### 2.1.3 Geräte

Gerät	Typ	Hersteller
Autoklav	Varioklav <sup>®</sup> 400E	H+P Labortechnik
Autoradiographie- kassetten	Cronex-Kassetten	DuPont de Nemours
Brutschrank	B6060	Heraeus
Elektrophoresekammer (groß)	HU25	Roth
Elektrophoresekammer (klein)	Horizon 58	Gibco BRL
Elektroporationsgerät	Gene Pulser II	Bio Rad
Entwicklermaschine	Kodak M35 X-Omat Processor	Kodak
Geigerzähler	LB 122	Berthold
Gel-Dokumentationsanlage	Gel Jet Imager 2000	Intas
Hybridisierungssofen	HY-ST-1	H. Saur
Hybridisierungsröhrchen	GL45	Ochs
Kühlschrank (4 °C)	Profi Line	Liebherr
Magnetrührer	M32	GLW
Mikrowelle	Micromat	AEG
Netzteile	Power Pack P25 Etron-S	Biometra Etron
pH-Meter	HI 221	HANNA instruments
Photometer	Gene Quant II	Pharmacia Biotech
Pipetten	Reference 10 µl Reference 100 µl Reference 1000 µl	Eppendorf Eppendorf Eppendorf
Schüttelinkubator	3033	GFL
Sequenziergerät	ABI3100avant	Applied Biosystem
Sterilbank	KR-125 Safety	Bio-Flow

Thermocycler	PTC-200	Biozym
	GeneAmp (2700)	Applied Biosystems
Thermomixer	comfort	Eppendorf
Tiefkühlschrank (-20 °C)	Premium	Liebherr
Tiefkühlschrank (-80 °C)	U 725	NB Scientific
Vakuumanlage	Speedvac	H. Saur
Vortexer	L46	GLW
Waage	BP 310 s	Sartorius
Wasserbad	1083	GFL
Zentrifugen	Centrifuge 5810 R	Eppendorf
	Centrifuge 5415 D	Eppendorf
	Centrifuge 5415 R	Eppendorf
Zentrifugenrotoren	A-4-62	Eppendorf
	F-45-24-11	Eppendorf

#### 2.1.4 Verbrauchsmaterialien, Chemikalien und Enzyme

Materialien	Hersteller
[ $\alpha$ - <sup>32</sup> P]dCTP	Amersham
2-Propanol	Roth
Agar-Agar	Roth
Agarose	Cambrex (Biozym)
Ampicillin	Sigma
BioTherm™ 10 x Reaction Buffer	Genecraft
BioTherm™ Taq DNA Polymerase	Genecraft
Borsäure	Roth
Bromphenolblau	Sigma
BSA (10 x)	New England Biolabs
Chloramphenicol	Sigma
Chloroform	J. T. Baker
DEPC	Roth

---

Dextransulfat	Pharmacia
Dimethylformamid	Roth
dNTP	Invitrogen
<i>Eco</i> RI	Promega
EDTA	Sigma
Elektroporationsküvette	Biozym
EtBr	Roth
Ethanol, rein	Roth
Ethanol, vergällt	Roth
Falconröhrchen (15 ml)	Greiner
Falconröhrchen (50 ml)	Greiner
Ficoll 400	Serva
Fixierer Polymax	Kodak
Formamid deionisiert	Roth
Fotoemulsion NTB2	Kodak
Glucose	Sigma
Glycerin	J. T. Baker
Glykogen	Biozym
Guanidin-Thiocyanat	Roth
H <sub>2</sub> O (HPLC-Qualität)	Merck
HCl	Roth
Hefeextrakt	Roth
Heringsspermien-DNA	Roche
Hi-Di™ Formamid	Applied Biosystems
<i>Hind</i> III	New England Biolabs
Hyperfilm MP	Amersham Biosciences
IPTG	Roth
Isoamylalkohol	Merck
KAc	Roth
KCl	Merck
KHCO <sub>3</sub>	Merck
Lambda DNA	Fermentas

---

MgCl <sub>2</sub>	Roth
M-MLV 5 x Puffer	Promega
M-MLV RT	Promega
NaAc	Roth
NaCl	Roth
NaJ	Roth
NaOH	Roth
Natriumcitrat	Roth
NH <sub>4</sub> Cl	Merck
N-Lauroylsarcosine	Sigma
Nylonmembran	Amersham
Oligo(dT) <sub>15</sub> -Primer	Promega
Petrischalen	Greiner
Phenol	Roth
Phosphorsäure	Roth
Pipettenspitzen (1000 µl)	Sarstedt
Pipettenspitzen (100 µl)	Sarstedt
Pipettenspitzen (20 µl)	Biozym
Pipettenspitzen (2,5 µl)	Biozym
Polyvinylpyrrolidon	Sigma
Puffer H	Promega
Reaktionsgefäß (2,0 ml)	Eppendorf
Reaktionsgefäß (1,5 ml)	Sarstedt
Reaktionsgefäß (0,5 ml)	Sarstedt
Reaktionsgefäß (0,2 ml)	Sarstedt
Rnase A	Sigma
RNasin	Promega
Saccharose	Merck
SDS	Roth
Silica-Glasmilch	Sigma
Stickstoff, flüssig	Vesper
Streptomycin	Sigma

Suprasil® Präzisions-Küvette aus Quarzglas	Hellma
Tris	Roth
Trypton/Pepton	Roth
Wachs	
Whatman-Papier GB002	Schleicher & Schuell
X-Gal	Roth
β-Mercaptoethanol	Sigma

### 2.1.5 Kits

Kit	Hersteller
BigDye® Terminator v1.1 Cycle Sequencing Kit	Applied Biosystems
GeneRacer™ Kit with SuperScript™ III RT	Invitrogen
pGEM®-T Easy Vector System	Promega
Prime-a-Gene® Labeling System	Promega
QIAGEN PCR Cloning Kit	Qiagen
RNeasy Mini Kit	Qiagen
TOPO TA Cloning® Kit	Invitrogen

### 2.1.6 Längenstandards

Längenstandard	Hersteller
GeneRuler™ 100bp DNA Ladder Plus	Fermentas
Lambda DNA/ <i>EcoR</i> I+ <i>Hind</i> III Marker	Fermentas
Lambda DNA/ <i>Hind</i> III	eigene Präparation

### 2.1.7 Primer

Primer wurden von den Firmen Invitrogen und Metabion bezogen. Lyophilisierte Primer wurden nach Angaben des Herstellers in HPLC-H<sub>2</sub>O in einer Konzentration von 100 pmol/μl gelöst und bei -20 °C gelagert. *Forward*-Primer initiieren die Synthese eines Stranges in 5'-3'-Richtung und *reverse*-Primer in 3'-5'-Richtung.

**Tab. 2 Primersequenzen**

Bezeichnung	Sequenz (5'-3'-Orientierung)
G23	GTTTTCCCAGTCACGAC
G24	GGATAACAATTTTCACACAGG
GeneRacer™ 5' Primer	CGACTGGAGCACGAGGACACTGA
GeneRacer™ 3' Primer	GCTGTCAACGATACGCTACGTAACG
GeneRacer™ Oligo dT	GCTGTCAACGATACGCTACGTAACGGCATGACAGTG (T) <sub>18/24</sub>
GeneRacer™ RNA Oligo	CGACUGGAGCACGAGGACACUGACAUGGACUGAAGGAGUAGAAA
M13F	GTAAAACGACGGCCAGT
M13R	AACAGCTATGACCATG
2368	TCTCTATGACATCTGTTCTT
2369	TGTTTAAGACCACTCTGTGG
2370	CTTCTGGAGTTCATGTTG
2371	AGTACAGTCCCTGACATCAC
2372	AGGGAATAACAACATATCGTT
2373	CAGTGCCCTGGCACCTCATT
2697	GACTCGAGTCGACATCGA
2698	GACTCGAGTCGACATCGATTTTTTTTTTTTTTTTTTTTT
2861	ACTAACCTGGCCTCTCCACTA
2862	ATGTGCTGCCAACTCAGATGC
2863	CAGTTATCACAGAGCACAGTC
2864	TGTCAGACTGCAAACCAAATG
2865	AGTCCCTGACATCACACAG
2866	TCAGAATTCTTCAAAGCACAGG
2867	CTACATGAGCACTGGAGCAC
2868	TCTCTACATTGCTCTTGGAAC
2869	TCTACTCTCCACCTTCTCTG
2870	GTGGATTGAAGACTTCAGATTC
2871	CAGTGTTCCGCTGGTATAG
2882	GCACAACAATTCTCCCTGAA
2883	GGAGTTTTTCGAAGCACAGG
2895	TCCTGCAGTTCATCTCTGCTT
2896	TCCAGTTCATCTCTGCTTTGAA
2957	GTTACTGTGGCCCATGTCCCT
2958	AAGAAGCCTGGCTCTCATACC
2960	GATTTTATGAGCTCCAGTCAAC
2968	GTGACCATTGTCCAGAGGAG
2969	GACTGGAGTTCCTTTGAAGCAC
3020	TCTCTGAATCACACAGCTGCA
3021	GACTCCAAAATCAGGTGCTTTA
3022	TCTGAGTCACACAGCTGCC
3023	TCAACTCCAAACTCAGGTGCT
3024	GTCTGACATCACACAGTTGCA

Bezeichnung	Sequenz (5'-3'-Orientierung)
3025	GCTCCAAACTCAGGTGCTTTT
3026	TCCCTGACATCACACAGCTGT
3027	ACTCCCAACTCAGGTGCTTTC
3028	CCTGACATTACACAGCAGCG
3029	CCAACTCCAAAGTCAGACACT
3030	ATAGTAACAGAGAAGCAGAGC
3031	CTACTCCAAACTCAGATGCAT
3032	CCGTCTCTTTGTTCCAATAAAC
3033	GACCTTGGAACATCGGTTCA
3034	CACCTCTCTGACCCAAGG
3035	GACCTTGGAACATCGGTTCT
3037	TGGCCTTGGAACATCAGTTCT
3038	TCTGGTGGATGTGTAGTCAC
3039	TGGCTTTTGTGAGATGGTTG
3040	CAACAATGGACTAAGTCCTGC
3047	AAGATGAGTGATCAGGGAGTG
3215	AGTGGGAGGATGGCTCTAAT
3217	AGACAGTTTGACACATTTTACAG
3280	GTAATCTACTCTGAAATGAATCTG
3282	CGGAGGGCTCATCACAGTT
3289	ACAGGCCGTCACACTCTCAT
3329	AGGCTCGTGCTTACAAATATATG
3330	CAGTTGCAGAGATGGATAATCAA
3361	GAAATTTCTGAGCTCCCTTTCA
3399	GCAGCAGCAAAGGGAAACG
3404	TTAGGTCTCCTTTGCTGCCTCTTTGG
3405	CTTGATTGAAGTCTGAGTGAGTC
3410	TGTTGGGTCCTGGAGTAAATGCTGAC
3411	CTTAGGTGTTTCGTTGCTGCCTCTTTG
3412	TGCCATCGTGTGCGAAAAGTCACCT
3414	AAGATGTGTCATCCCCTCGAAGATCC
3417	GGAGTCTCTCGTAAAAGCCATCGTCA
3418	CCCAGCAATGAGCTTTTCTGGAGGTA
3461	GAGCTATAGCAATGGAACGGCAGAGA
3462	CCAGTCTTCCCAGGCCTCTGAGT
3464	TCTGAGTGAGTCTAGTGCAGCACAGTGA
3465	GGAGCTTTTCCCGCCCTTAGATTTTG
3466	ATTGCTGGGCTCTCTGTCACTTCTGT
3467	GCTCCCTTTCAGGGAAAACATGGA
3471	CCCAATGTCATATGCAATGTTTTA
3472	CATGGAATTGATCGGTCATTAG
3478	TCATTTGTTCAAAAATAACTGTCCAT
3479	TTGTATGATGAGCAGGCTGAAT
3480	TTCATGACCACAAGCTCACC
3483	CATGATTACGCCAAGCTCAG
3484	GTAAAACGACGGCCAGTGAA
3485	ACTTCTCTGGGCAAGAACAGCAGTCA
3524	TGATCAGGGAGAGATTTATTCAAC
3526	CACCAACATTGTGACTATCATCAG
3625	GAGAGTCCAATCCAGTAAAA
3626	CTGACTGCTGTTCTTGCC
3627	TCATCTCTGTTTTGAAGCTGAAG
3628	CTCTGACTGCTGTTCTTGCC
3656	GAAGTATGGTATACGCAGAATAG

Bezeichnung	Sequenz (5'-3'-Orientierung)
3657	TTGTATCATAAGACAGTTTGACAC
3658	TCCAATGTCATTTGTGATATTTTATT
3659	TCCCTGTGATGTAAATCTTGAA
3662	CTTCAGAAAAGTTCTAACTGCCT
3664	CTGTAGGAAGCCACAAATAAGTA
3668	TCGTGCACTTTATAATTTTCAGATG
3758	GATGACAAAAGTTACAAGAGAAATTC
3759	GTTTCTTGTTTCGTTTAAATACGTGAG
3760	TTGTTATTTTGCCGCACCTTCTC
3761	ACATGAGATCTGTGTTTATTGAAAG
3762	GCACTTTATAATTTTCAGATGTACATG
3854	GGAGCTAATATCCTCTCCAGGACTCA
3856	ATCACTCCAAACATCTCACTTTG
3857	CCTGTTACATTAATAGCCACTG
3884	CAGAGATGAAGAACCAGAAAGT
3885	CACAAGCATCCAGATCTTCC
3887	TCAGTACACGTCTGCATTTTCT
3920	TCCAATGTCATTTGTGATGTTTATT
4125	CCTGAGGATCTCTTCCCTT
4126	CCCCGTCTCTTTGTTCCAAT
4128	TATGGCACCTGGCTAACTCC
4129	TGACATCACACAGCTGCAAAG
4130	GCTACAGGACGTTCTGGGGACAG
4187	CCTTACACAATCCTCCGCATA
4360	TCCATGTTTACAGGGAGATTC
4361	AGAGTTGTTAGAAGCACAGGCCGTCA
4406	CATCATCCATGGGTGTCAAG
4758	GGGTGTGGTAGCATGCAC
4932	ATTCC TTCACATCCAGCTCAG
4934	CCACTTTTCTGTCCAAGAAG
4937	TATTCTGAGCACTGATGTTCTCA
4938	TCTGTGTTCTCAAGCCCTAAG
4939	CTACTGATGAGTAAGGGAATAAC
4940	CTATTCGGAGTAATCCTGGATC
4941	CTCAGTTTAATCTGTTTATCTCTG
4942	TTTAAAACCTCCCTTGGCAGATC
4945	TACTTTATTTGGTGCCTATCTGAG
5026	TCCAGGGTTATAACCTACTCA
5027	CAGAGAAGTGGGTGGGTAC

### 2.1.8 Datenbank-Zugangsnummern

Die in dieser Arbeit ermittelten Sequenzen des Weißbüschelaffen wurden in die Datenbanken GenBank, EMBL und DDBJ gestellt. Zugangsnummern dieser sowie anderer in dieser Arbeit verwendeten Sequenzen sind in Tab. 3 angegeben.

**Tab. 3 Zugangsnummern**

Caja, *Callithrix jacchus*; Hosa, *Homo sapiens*; Patr, *Pan troglodytes*, Popy, *Pongo pygmaeus*; Paha, *Papio hamadryas*; Mamu, *Macaca mulatta*; Mus, *Mus musculus*; Feca, *Felis catus*; Cafa, *Canis familiaris*; Eqca, *Equus caballus*; Susc, *Sus scrofa*; Bota, *Bos taurus*; sv, Spleißvariante.

<b>Weißbüschelaffe (<i>Callithrix jacchus</i>)</b>	<b>Zugangsnummer</b>	<b>Rhesusaffe (<i>Macaca mulatta</i>)</b>	<b>Zugangsnummer</b>
Caja-NKG2CE	EF050434	Mamu-CD94	AJ585527
Caja-NKG2A	EF050432	Mamu-NKG2A	AF395618
Caja-NKG2A sv2	EF050433	Mamu-NKG2C	AJ585531
Caja-CD94*01	EF050438	Mamu-NKG2D	AF190943
Caja-CD94*02	EF050439	Mamu-NKG2F2	AF190945
Caja-CD94B sv1	EF050440	<b>Maus (<i>Mus musculus</i>)</b>	<b>Zugangsnummer</b>
Caja-CD94 sv2	EF050441	Mus-CD94	NM_010654
Caja-CD94 sv3	EF050442	Mus-NKG2A	NM_010652
Caja-CD94 sv4	EF050443	Mus-NKG2C	NM_010653
Caja-CD94 sv5	EF050444	Mus-NKG2D-L	AF054819
Caja-CD94 sv6	EF050445	Mus-NKG2E	NM_021378
Caja-CD94 sv7	EF050446	Mus-Ly49a	M25812
Caja-CD94 sv8	EF050447	Mus-Ly49b	AF253057
Caja-CD94 sv9	EF050448	Mus-Ly49c	U56404
Caja-CD94 sv10	EF050449	Mus-Ly49d	U10090
Caja-CD94 sv11	EF050450	Mus-Ly49e	U10091
Caja-NKG2D	EF050435	Mus-Ly49f	U10092
Caja-NKG2D sv1	EF050436	Mus-Ly49g	AF074457
Caja-NKG2D sv2	EF050437	Mus-Ly49h	U12889
<b>Mensch (<i>Homo sapiens</i>)</b>	<b>Zugangsnummer</b>	Mus-Ly49i	AF237686
Hosa-CD94	NM_002262	Mus-Ly49j	AF110492
Hosa-NKG2A	NM_002259	Mus-Ly49l	AF307948

<b>Mensch</b> <i>(Homo sapiens)</i>	<b>Zugangsnummer</b>	<b>Maus</b> <i>(Mus musculus)</i>	<b>Zugangsnummer</b>
Hosa-NKG2C	BC112039	Mus-Ly49m	AF283252
Hosa-NKG2D	AF461811	Mus-Ly49o	AF146571
Hosa-NKG2E	L14542	Mus-Ly49p	AF146570
Hosa-NKG2F	U96845	Mus-Ly49q	AB033769
Hosa-Ly49L	NM_006611	Mus-Ly49r	AF288377
<b>Schimpanse</b> <i>(Pan troglodytes)</i>	<b>Zugangsnummer</b>	Mus-Ly49s	AF288378
Patr-CD94	AF259054	Mus-Ly49t	AF288379
Patr-NKG2A	AF259055	Mus-Ly49u	AF288380
Patr-NKG2CI	AF259057	Mus-Ly49v	AF288381
Patr-NKG2CII	AF259061	Mus-Ly49w	AF074459
Patr-NKG2D	AF259063	<b>Hund</b> <i>(Canis familiaris)</i>	<b>Zugangsnummer</b>
Patr-NKG2E	AF350006	Cafa-Ly49	AY191818
Patr-NKG2F	AF350011	<b>Schwein (Sus scrofa)</b>	<b>Zugangsnummer</b>
<b>Orang-Utan</b> <i>(Pongo pygmaeus)</i>	<b>Zugangsnummer</b>	Susc-Ly49	AY191819
Popy-CD94	AF470385	<b>Rind (Bos taurus)</b>	<b>Zugangsnummer</b>
Popy-NKG2A	AF470391	Bota-Ly49	AY075101
Popy-NKG2CE	AF470398	<b>Katze (Felis catus)</b>	<b>Zugangsnummer</b>
Popy-NKG2D	AF470404	Feca-Ly49	AY191817
Popy-NKG2F	AF470405	<b>Pferd</b> <i>(Equus caballus)</i>	<b>Zugangsnummer</b>
Popy-Ly49L	AF470390	Eqca-Ly49A	AB120378
<b>Mantelpavian</b> <i>(Papio hamadryas)</i>	<b>Zugangsnummer</b>	Eqca-Ly49F	AB120393
Paha-Ly49L	AY028399	Eqca-Ly49C	AB120385
		Eqca-Ly49E	AB120390
		Eqca-Ly49D	AB120387
		Eqca-Ly49B	AB120381

### 2.1.9 Vektoren

Vektor	Hersteller
pCR <sup>®</sup> 4-TOPO <sup>®</sup>	Invitrogen
pGEM <sup>®</sup> -T Easy	Promega
pDrive Qiagen	Qiagen
pTARBAC2.1	BACPAC Resources Center
pUC19	Fermentas

### 2.1.10 BAC-Banken

Die BAC-Banken „CHORI-257“ des Grauen Mausmakis (*Microcebus murinus*) und „CHORI-259“ des Weißbüschelaffen (*Callithrix jacchus*) wurden vom BACPAC Resources Center des Children's Hospital Oakland Research Institute in Oakland, Kalifornien, bezogen (<http://bacpac.chori.org>). Die Konstruktion der BAC-Bank erfolgte dort nach Osoegawa und Mitarbeitern (1998). Es wurde genomische DNA aus Nierengewebe eines weiblichen Individuums im Fall des Mausmakis und eines männlichen Individuums im Fall des Weißbüschelaffen verwendet (<http://bacpac.chori.org>). Die DNA wurde mit einem Gemisch aus *EcoRI*-Restriktionsenzym und *EcoRI*-Methylase partiell gespalten und größenfraktioniert. Fragmente geeigneter Größe wurden in den Vektor pTARBAC2.1 ligiert und in DH10B-Zellen transformiert. Die BAC-Bank wurde auf zwölf (Mausmaki) bzw. elf (Weißbüschelaffe) 22 x 22 cm großen Nylon high-density Filter aufgetragen. Auf jedem Filter befinden sich etwa 18000 Klone in doppelter Ausführung. Die BAC-Bank „CHORI-259“ wurde von Dorian Miscio sowie Dr. Baoli Zhu (BACPAC Resources Center) erstellt und die BAC-Bank „CHORI-257“ wurde von Michael Nefedov (BACPAC Resources Center) angefertigt.

### 2.1.11 Bestellte BAC-Klone der BAC-Bank „CHORI-257“

1E15	77H4	60P11	50I2	64G21	96C7	386G21	494J1
481C2	348N6	498E15	481J13	158H2	489H5	492D19	146L20
125J5	1O10	234L23	222F7	382B22	429H5		

### 2.1.12 Bestellte BAC-Klone der BAC-Bank „CHORI-259“

44K16    61L5    162P15    188C15    166N11    191M1    196P12    206C19  
 209K11    264K10    316N15    467G5

### 2.1.13 Stammlösungen und Puffer

Lösung/Puffer	Zusammensetzung
Denhardts-Lösung (50x)	1 % Ficoll 400 1 % Polyvinylpyrrolidon 1% BSA (Fraktion V)
Denaturierungslösung	1,5 M NaCl 0,5 M NaOH
DEPC-H <sub>2</sub> O	0,1 % DEPC ü. N. stehen lassen autoklavieren
DNA-Auftragspuffer	0,25 % Bromphenolblau 0,25 % Xylencyanol 15 % Ficoll 400 50 mM EDTA, pH 8,0
Ery-Lyse-Puffer	155 mM NH <sub>4</sub> Cl 10 mM KHCO <sub>3</sub> 0,1 mM EDTA, pH 8,0
GITC-Puffer	4 M Guanidin-Thiocyanat 25 mM 1 M Natriumcitrat, pH 7,0 0,5 % N-Lauroylsarcosine sodium salt 0,1 M β-Mercaptoethanol

---

Hybridisierungspuffer	6 x SSC 5 x Denhardts-Lösung 10 % Dextransulfat 0,5 % SDS
Lysepuffer	50 mM Tris-HCl pH 8,0 100 mM EDTA pH 8,0 50 mM NaCl
Neutralisierungslösung	3 M NaAc pH 5,5
P1-Lösung	50 mM Glucose 25 mM Tris-HCl, pH 8,0 10 mM EDTA, pH 8,0 vor Gebrauch 100 µg/ml RNase A zugeben
P2-Lösung	Lösung P2A: 400 mM NaOH Lösung P2B: 2 % SDS vor Gebrauch 1:1 mischen
P3-Lösung	3 M KAc pH 4,8
SSC (20x)	3 M NaCl 0,3 M Natriumcitrat, pH 7,0
TBE-Puffer (10 x)	1 M Tris 0,8 M Borsäure 10 mM EDTA, pH 8,0
TPE-Puffer (20 x)	1,75 M Tris-Phosphat, pH 7,8 40 mM EDTA

### 2.1.14 Bakterienstämme

*Escherichia coli* TOP10 (Invitrogen)

F<sup>-</sup> mcrAΔ (mrr-hsdRMS-mcrBC) Φ80lacZΔM15 ΔlacX74 recA1 deoR araD139 Δ(ara, leu)7697 galK rpsL (StrR) end A1 nupG

### 2.1.15 Nährmedien und Agarplatten

LB-Medium            1 % Trypton  
                              0,5 % Hefeextrakt  
                              1 % NaCl

LB-Agar                LB-Medium  
                              1,5 % Agar-Agar

SOC-Medium        2 % Trypton  
                              0,5 % Hefeextrakt  
                              10 mM NaCl  
                              2,5 mM KCl  
                              10 mM MgCl<sub>2</sub>  
                              10 mM MgSO<sub>4</sub>  
                              20 mM Glucose

Medien und Agar wurden direkt nach ihrer Herstellung bei 121 °C (1,0 bar Druck) für 30 min autoklaviert, auf ca. 55 °C abgekühlt und mit verschiedenen Antibiotika versetzt. Es wurden folgende Antibiotikakonzentrationen verwendet:

Ampicillin: 100 mg/l

Chloramphenicol: 20 mg/l

Streptomycin: 100 mg/l

Zur Blau-Weiß-Selektion, der so genannten  $\alpha$ -Komplementation (Langley et al., 1975), wurde 1 l LB-Agar mit 1 ml IPTG (24 mg/ml) und 2 ml X-Gal (2 % in Dimethylformamid) versetzt. Der Agar wurde anschließend etwa 5 mm hoch in Petrischalen ( $\varnothing$  85 mm) gegossen.

### **2.1.16 Bakterienkulturen**

#### **2.1.16.1 Glycerinkulturen**

Zur Aufbewahrung von Bakterien wurden diese bei  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$  als Glycerinkultur gelagert. Dazu wurde 1 ml einer Übernachtskultur mit 1 ml einer sterilen 40 %igen Glycerinlösung vermischt.

#### **2.1.16.2 Plattenkulturen**

Zur Herstellung von Plattenkulturen wurden Bakterien einer Flüssigkultur mit einem Spatel auf Agar-Platten ausgestrichen und bei  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  über Nacht inkubiert.

#### **2.1.16.3 Flüssigkulturen**

Zur Herstellung einer Flüssigkultur wurde eine Bakterienkolonie mit Hilfe eines sterilen Zahnstochers von einer Agarplatte gepickt oder 1  $\mu\text{l}$  einer Glycerinkultur in LB-Medium (2.1.15) überführt. Die Inkubation erfolgte ü. N. bei  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  und 245 U/min im Schüttelinkubator. Die Menge des Mediums sowie der Zusatz von Antibiotika richteten sich nach der Bakterienart und dem Verwendungszweck der Kultur:

Flüssigkulturen für Plasmid-Präparationen wurden in 3 ml LB-Medium, versetzt mit Ampicillin und Flüssigkulturen für BAC-Präparationen in 10 ml LB-Medium unter Zusatz von Chloramphenicol, hergestellt.

### **2.1.17 Computerprogramme**

Die Analyse von Sequenzdaten erfolgte unter Anwendung verschiedener Computerprogramme. Zur Identifizierung von Genen in BAC-Sequenzen wurden mit Hilfe des Programms „BLAST 2 SEQUENCES“ (BLAST, NCBI) die BAC-Sequenzen mit den Sequenzen der humanen NKC-Gene verglichen. Für die Übersetzung der proteinkodierenden Exonsequenzen in Proteinsequenzen wurde das Programm „Translate“ von ExPASy verwendet.

Eigene Sequenzierdaten wurden mit dem Programmpaket Bioedit v7.0.4 editiert. Das Programmpaket wurde ebenfalls zum Erstellen von Nukleotid- und Aminosäurevergleichen sowie zur Berechnung von Sequenzidentitäten verwendet.

Zur Identifizierung potentieller Transmembranregionen fanden folgende Programme Anwendung: „DAS“, „HMMTOP v. 2.0“, „TMpred“, „TMHMM v. 2.0“ und „SPLIT 4.0“.

Das Programm „MEGA 3.1“ diente der Erstellung von Stammbäumen.

Zum Nachweis repetitiver Elemente wurden DNA-Sequenzen mit dem Programm „Censor“ (GIRI) analysiert.

Mit Hilfe der Programme „Primer 3“ und „Oligonucleotide Properties Calculator“ konnten geeignete PCR- und Sequenzierprimer ausgewählt werden.

Internetadressen der Programme sind in Tab. 4 aufgeführt.

**Tab. 4 Computerprogramme**

<b>Programm</b>	<b>Internetadresse</b>
BLAST, NCBI	<a href="http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast/Blast.cgi">http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast/Blast.cgi</a>
ExpASy	<a href="http://www.expasy.ch/tools/">http://www.expasy.ch/tools/</a>
DAS	<a href="http://mendel.imp.ac.at/sat/DAS/DAS.html">http://mendel.imp.ac.at/sat/DAS/DAS.html</a>
HMMTOP v. 2.0	<a href="http://www.enzim.hu/hmmtop/html/submit.html">http://www.enzim.hu/hmmtop/html/submit.html</a>
TMpred	<a href="http://www.ch.embnet.org/software/TMPRED_form.html">http://www.ch.embnet.org/software/TMPRED_form.html</a>
TMHMM v. 2.0	<a href="http://www.cbs.dtu.dk/services/TMHMM/">http://www.cbs.dtu.dk/services/TMHMM/</a>
SPLIT 4.0	<a href="http://split.pmfst.hr/split/4/">http://split.pmfst.hr/split/4/</a>
Primer 3	<a href="http://frodo.wi.mit.edu/">http://frodo.wi.mit.edu/</a>
Oligonucleotide Properties Calculator	<a href="http://www.basic.northwestern.edu/biotools/oligocalc.html">http://www.basic.northwestern.edu/biotools/oligocalc.html</a>
Bioedit	<a href="http://www.mbio.ncsu.edu/BioEdit/bioedit.html">http://www.mbio.ncsu.edu/BioEdit/bioedit.html</a>
MEGA	<a href="http://www.megasoftware.net/">http://www.megasoftware.net/</a>
Censor	<a href="http://www.girinst.org/censor/index.php">http://www.girinst.org/censor/index.php</a>

### 2.1.18 Phylogenetische Analysen

Für phylogenetische Analysen wurden multiple Nukleotid- oder Aminosäuresequenzvergleiche verwendet, die mit dem Programm „Bioedit“ erstellt worden sind. Stammbäume wurden basierend auf Distanzmatrix-orientierten Methoden mit dem Programm „MEGA 3.1“ erstellt.

Die Distanzmatrices wurden nach dem „Jones-Taylor-Thornton-Modell“ (JTT) (Jones et al., 1992) aus Aminosäurevergleichen und nach dem „Kimura-2-Parameter-Modell“ (K2P) (Kimura, 1980) aus Nukleotidvergleichen berechnet. Phylogenetische Bäume wurden nach der „Neighbor-Joining“-Methode (Saitou und Nei, 1987) erstellt. Diese Methode entwirft Abstammungslinien und Verzweigungspunkte anhand der Distanzmatrix.

Die Verlässlichkeit einzelner Verzweigungen im Stammbaum wurde mit der „Bootstrapping“-Methode (Felsenstein, 1985) berechnet. Dabei werden zufallsmäßig einzelne Positionen innerhalb des Sequenzvergleichs verdoppelt und andere deletiert, wobei die Gesamtlänge der Teildatensätze erhalten bleibt. Es wurden 1000 Teildatensätze erstellt und nach den beschriebenen Methoden Stammbäume berechnet. Die Häufigkeit mit der eine Verzweigung in den Teildatensätzen auftritt, wird als „Bootstrap-Wert“ bezeichnet.

## 2.2 Methoden

### 2.2.1 Polymerasekettenreaktion (PCR)

Mit Hilfe der PCR kann ein DNA-Abschnitt selektiv amplifiziert werden, der zwischen zwei, zumindest teilweise bekannten, Sequenzabschnitten liegt. Der Reaktionsansatz enthält eine thermostabile DNA-Polymerase, zwei Primer und dNTP. Als Primer werden komplementäre, einzelsträngige Oligonukleotid-Moleküle (i.d.R. 18-30 Basenpaare) verwendet, die den zu vermehrenden DNA-Abschnitt in gegenläufiger Orientierung einrahmen.

Die PCR erfolgt in drei Schritten, die 30-40-mal wiederholt werden und zu einer exponentiellen Vermehrung des von den Primern flankierten DNA-Abschnitts führen.

- 1) Denaturierung: die DNA wird auf 94 °C erhitzt, wobei sich die Einzelstränge trennen.
- 2) Annealing: die Primer binden an komplementäre Abschnitte der einzelsträngigen DNA. Die Annealing-Temperatur ist abhängig von der Schmelztemperatur der Primer.
- 3) Elongation: DNA-Synthese in 5'-3'-Richtung ausgehend von den 3'-Enden der Primer. Die Elongation erfolgt durch die DNA-Polymerase des hitzestabilen Bakteriums *Thermophilus aquaticus* (Taq-DNA-Polymerase), deren Temperaturoptimum bei 68 °C bis 72 °C liegt. Die Elongationszeit richtet sich nach der Länge des erwarteten PCR-Produktes (etwa 1 min pro kb).

Nach dem letzten Zyklus erfolgt ein längerer Elongationsschritt, der dafür sorgt, dass alle amplifizierten Stränge vollständig sind.

Die Taq-DNA-Polymerase fügt zusätzlich an das 3'-Ende jedes synthetisierten Stranges einen einzelnen, überhängenden Adenosinrest an. Hierdurch können PCR-Produkte in Vektoren mit einem Thymidin-Überhang kloniert werden.

Für die PCR wurde folgender Reaktionsansatz verwendet:

Ansatz 1 (10 µl):

1 µl BioTherm™ 10 x Reaction Buffer  
0,2 µl dNTP-Mix (je 25 mM)  
1 µl *forward*-Primer (10 µM)  
1 µl *reverse*-Primer (10 µM)  
6,8 µl HPLC-H<sub>2</sub>O

Ansatz 2 (20 µl):

2 µl BioTherm™ 10 x Reaction Buffer  
0,2 µl BioTherm™ Taq-DNA Polymerase (5 U/µl)  
1 µl DNA  
mit HPLC-H<sub>2</sub>O auf 20 µl auffüllen

Der Ansatz 1 wurde in ein Reaktionsgefäß pipettiert und mit Wachs überschichtet, das durch Erwärmen verflüssigt wurde. Nach Erkalten der Wachsschicht wurde der Ansatz 2 über die Wachsschicht gegeben. Hierdurch kommen Primer und DNA erst im ersten Denaturierungsschritt in Kontakt, bei dem die Wachsschicht flüssig wird. Auf diese Weise wird eine unspezifische Bindung der Primer an die DNA verhindert.

Reaktionsbedingungen:

1	Aufheizen	94 °C	2 min
2	Denaturierung	94 °C	1 min
3	Annealing	x °C	1 min
4	Elongation	72 °C	1-2 min
Schritte 2-4 wurden 30-40-mal wiederholt			
5	Terminale Extention	72 °C	10 min

PCR-Produkte wurden anschließend in Agarosegelen analysiert (2.2.2).

### **PCR zur Amplifikation der NKC-Gene**

In den nachfolgenden Tabellen sind Primer und Annealing-Temperaturen aufgeführt, die zur Amplifikation der NKC-Gene verwendet wurden. Die zur Amplifikation der NKC-Gene des Varis verwendeten Primer sind zusammen mit den einzelnen Vari-Sequenzen im Anhang (7.7) dargestellt.

**Tab. 5 Amplifikation und Sequenzierung der als Sonden verwendeten NKC-Sequenzen des Menschen**

Hosa, *Homo sapiens*.

PCR-Produkt	<i>forward</i> -Primer	<i>reverse</i> -Primer	Annealing-Temp. (°C)	Sequenzier-primer
Hosa-CD94-Sonde	2369	2370	51	2369, 2370
Hosa-NKG2A-Sonde	2371	2372	51	2371, 2372
Hosa-Ly49L-Sonde	2373	2368	51	2373, 2368

**Tab. 6 Amplifikation und Sequenzierung der NKC-Gene des Weißbüschelaffen**

Die 5'-RACE-PCR-Produkte wurden kloniert und mit Vektorprimern sequenziert (daher sind Sequenzierprimer in der Tabelle nicht angegeben). kds, kodierende Sequenz; Caja, *Callithrix jacchus*.

PCR-Produkt	<i>forward</i> -Primer	<i>reverse</i> -Primer	Annealing-Temp. (°C)	Sequenzier-primer
Caja-CD94 (kds)	2868	2869	54	2868, 2869, 2895, 2896, 2960
Caja-NKG2D (kds)	2870	2871	54	2870, 2871, 2957, 2958
Caja-NKG2CE (kds)	2863	2864	56	2863, 2864, 2968, 2969
Caja-NKG2A (kds)	2861	2862	58	2882, 2861, 2862, 2883
Caja-CD94 (5'-RACE)	GeneRacer™ 5'Primer	3410	63	
Caja-NKG2D (5'-RACE)	GeneRacer™ 5'Primer	3412	63	
Caja-NKG2CE (5'-RACE)	GeneRacer™ 5'Primer	3404	63	
Caja-NKG2A (5'-RACE)	GeneRacer™ 5'Primer	3411	63	

**Tab. 7 PCR zur Amplifikation der NKC-Gene des Mausmakis**

Die PCR-Produkte wurden kloniert und mit Vektorprimern sequenziert. kds, kodierende Sequenz; Mimu, *Microcebus murinus*.

PCR-Produkt	<i>forward-Primer</i>	<i>reverse-Primer</i>	Annealing-Temp. (°C)
Mimu-CD94-1 (kds)	3033	3032	53
Mimu-CD94-2 (3'-RACE)	3215	2697	55
Mimu-CD94-2 (kds)	3037	3217	57
Mimu-CD94-3 (kds)	3035	3034	53
Mimu-NKG2D (kds)	3885	3039	53
Mimu-NKG2-1 (kds)	3026	3027	56
Mimu-NKG2-2 (kds)	3884	3021	53
Mimu-NKG2-3 (kds)	3024	3025	55
Mimu-NKG2-5 (kds)	3022	3023	55
Mimu-NKG2-8 (kds)	3028	3029	55
Mimu-Ly49L (kds)	3047	3040	55

**Tab. 8 PCR zur Amplifikation der CD94-Sequenzen des Pottos und des Koboldmakis**

Die PCR-Produkte wurden kloniert und mit Vektorprimern sequenziert. Pepo, *Perodicticus potto*; Tasy, *Tarsius syrichta*.

PCR-Produkt	<i>forward-Primer</i>	<i>reverse-Primer</i>	Annealing-Temp. (°C)
Pepo-CD94a	3626	3625	50
Pepo-CD94b	3626	3625	50
Pepo-CD94c	3626	3625	50
Pepo-CD94d	3628	5026	55
Pepo-CD94e	3628	5026	55
Pepo-CD94f	5027	5026	55
Pepo-CD94g	5027	5026	55
Pepo-CD94h	3628	3627	55
Tasy-CD94a	3626	3625	48
Tasy-CD94b	3626	3625	48
Tasy-CD94c	3626	4758	50
Tasy-CD94d	3626	4758	50
Tasy-CD94e	3626	4758	50
Tasy-CD94f	3626	4758	50
Tasy-CD94g	3626	4758	50
Tasy-CD94h	3626	4758	50
Tasy-CD94i	3626	4758	53
Tasy-CD94j	3628	3627	53

**Tab. 9 Amplifikation und Sequenzierung von CD94-(1-3) (Exon 4, 5 und 6) des Mausmakis**

Einige Exons wurden mit zwei verschiedenen Primerpaaren amplifiziert (PCR 1, PCR 2). Bei CD94-3 Exon 4 (PCR 2) handelt es sich um eine *nested*-PCR, bei der Mimu-CD94-3 Exon 4 (PCR 1) als *template* diente. Mimu, *Microcebus murinus*.

PCR-Produkt	<i>forward</i> -Primer	<i>reverse</i> -Primer	Annealing-Temp. (°C)	Sequenzier-primer
Mimu-CD94-1 Exon 4	3658	3659	53	3658, 3659, 3478
Mimu-CD94-1 Exon 5 (PCR 1)	3479	3480	53	3479, 3480
Mimu-CD94-1 Exon 5 (PCR 2)	4937	4938	55	4937, 4938
Mimu-CD94-1 Exon 6 (PCR 1)	4125	4126	53	4125, 4126
Mimu-CD94-1 Exon 6 (PCR 2)	4939	4940	55	4939, 4940
Mimu-CD94-2 Exon 4	3471	3472	53	3471, 3472, 3664
Mimu-CD94-2 Exon 5-6 (PCR 1)	3656	3657	53	3656, 3657
Mimu-CD94-2 Exon 5 (PCR 2)	4941	4942	53	4941, 4942
Mimu-CD94-3 Exon 4 (PCR 1)	3662	3758	55	3920, 3664
Mimu-CD94-3 Exon 4 (PCR 2 <i>nested</i> )	3857	4945	55	4945, 3857
Mimu-CD94-3 Exon 5	3759	3760	55	3759, 3760
Mimu-CD94-3 Exon 6	3761	3668	54	3761, 3668, 3856, 3762

### 2.2.2 Agarose-Gelelektrophorese

Mit Hilfe der Agarose-Gelelektrophorese können DNA-Fragmente entsprechend ihrer Größe im elektrischen Feld aufgetrennt und durch den Farbstoff Ethidiumbromid, welches in die DNA interkaliert, im UV-Licht sichtbar gemacht werden.

Zur Größenbestimmung oder Aufreinigung von PCR-Produkten wurden 1 %ige horizontale Agarosegele verwendet. Die Agarose wurde in 1 x TBE-Puffer durch Aufkochen gelöst und nach Abkühlen auf etwa 55 °C mit Ethidiumbromid (Endkonzentration: 0,05 ng/ml) versetzt und in eine Gelkammer gegossen. Nach 30-40 min kam es zur Polymerisierung der Agarose und das Gel wurde mit 1 x TBE als Elektrophoresepuffer überschichtet. Für Southern-Blots wurden 0,8 %ige Agarosegele verwendet sowie 1 x TPE-Puffer.

Die DNA-Proben wurden mit Auftragspuffer versetzt und in die Taschen des Agarosegels gefüllt. Zur Größenbestimmung wurden verschiedene Längenstandards (2.1.6) mit auf das Gel aufgetragen. Die Elektrophorese erfolgte bei konstanter Stromstärke und 120 V. Bei Gelen, die für Southern-Blots verwendet wurden, erfolgte die Trennung ü. N. bei 50 V.

Die Auswertung der Gele erfolgte im UV-Licht (312 nm) und wurde mit einem digitalen Bildverarbeitungssystem dokumentiert.

### 2.2.3 Isolierung von DNA aus Agarosegelen

Zur Aufreinigung von PCR-Produkten wurden diese mit einem sterilen Skalpell unter UV-Licht aus dem Gel isoliert. Das Gelstück wurde in 300 µl 6 M NaJ aufgenommen und 10 min auf einem Thermomixer bei 800 U/min und 55 °C gelöst. Anschließend wurden 10 µl Silica-Glasmilch zugegeben und der Ansatz weitere 10 min (800 U/min, 55 °C) geschüttelt. Im nächsten Schritt wurde die Silica-Matrix mit der daran gebundenen DNA herunterzentrifugiert (20 s, 16000 x g, RT) und das Pellet mit 500 µl 6 M NaJ für 20 s bei 16000 x g und RT gewaschen. Es folgte ein weiterer Waschschrift mit 250 µl 70 %igem EtOH (20 s, 16000 x g, RT). Nach vollständiger Abnahme des Überstandes wurde das Pellet für 1 min auf einem Thermomixer getrocknet (800 U/min, 55 °C) und anschließend in 15 µl HPLC-H<sub>2</sub>O gelöst. Es folgte ein Zentrifugationsschritt (1 min, 16000 x g, RT) nach dem der Überstand, mit der darin gelösten DNA, in ein neues Reaktionsgefäß überführt wurde. Die DNA wurde bis zur weiteren Verwendung bei -20 °C aufbewahrt.

### 2.2.4 Konzentrationsbestimmung von Nukleinsäuren mittels Agarosegelen

Zur Bestimmung von Nukleinsäurekonzentrationen wurde auf Agarosegelen neben der DNA-Probe unbekannter Konzentration ein pUC19-Standard (50 ng/µl) aufgetragen. Nach kurzer elektrophoretischer Auftrennung der DNA im Agarosegel wurden die DNA-Konzentrationen anhand des pUC19-Standards unter UV-Licht abgeschätzt.

### 2.2.5 Isolierung von DNA aus Mundschleimhautzellen

Zur Isolation von DNA aus Mundschleimhautzellen wurde der Mund mit 30 ml Leitungswasser ausgespült und die Flüssigkeit in ein 50-ml-Falconröhrchen gegeben. Die Mundschleimhautzellen wurden abzentrifugiert (10 min, 200 x g, RT) und der Überstand verworfen. Das Pellet wurde in 600 µl Lysepuffer resuspendiert und in ein Reaktionsgefäß überführt. Die Zelllyse erfolgte 5 min lang bei 65 °C im Thermomixer (850 U/min). Anschließend wurden 200 µl 5 M NaCl zugegeben und gevortext. Nach einem Zentrifugationsschritt (2 min, 16000 x g, RT) wurde der Überstand mit der DNA in ein neues Reaktionsgefäß überführt und durch Mischen mit 800 µl Isopropanol und Zentrifugation (15 min, 16000 x g, 4 °C) gefällt und pelletiert. Das DNA-Pellet wurde mit 800 µl 70 %igem

EtOH gewaschen (5 min, 16000 x g, RT), in der Speedvac getrocknet und in 30 µl HPLC-H<sub>2</sub>O für 10 min bei 55 °C gelöst.

### 2.2.6 Klonierung von PCR-Fragmenten

PCR-Fragmente wurden zur Sequenzierung in Plasmide ligiert und anschließend in Wirtszellen transformiert. Es wurden folgende Kits hierfür verwendet:

- pGEM<sup>®</sup>-T Easy Vector System mit dem Vektor pGEM<sup>®</sup>-T Easy
- TOPO TA Cloning<sup>®</sup> Kit mit dem Vektor pCR<sup>®</sup>4-TOPO<sup>®</sup>
- QIAGEN PCR Cloning Kit mit dem Vektor pDrive

Die Ligation erfolgte nach Herstellerangaben.

Die für die Ligation einzusetzende DNA-Menge wurde nach folgender Formel berechnet:

Menge *Insert*-DNA(ng) = [Menge Vektor(ng) x Größe *Insert*-DNA(bp) x 3] / Größe Vektor(bp).

Vor der Transformation wurde der Ligationsansatz zur Entfernung von Salzresten gefällt. Dazu wurde der Ansatz mit HPLC-H<sub>2</sub>O auf 100 µl aufgefüllt sowie 250 µl 100 %iges EtOH, 10 µl 3 M NaAc (pH 4,8) und 2 µl Glykogen (1 µg/µl) zugegeben. Es folgte eine Inkubation für 5 min bei -80 °C. Im Anschluss wurde der Ansatz zentrifugiert (15 min, 16000 x g, 4 °C) und das Pellet mit 70 %igem EtOH gewaschen (5 min, 16000 x g, RT). Das Pellet wurde in der Speedvac getrocknet und in 16 µl HPLC-H<sub>2</sub>O gelöst.

Zur Transformation wurden elektrokompetente *E. coli* TOP10-Zellen (2.2.7) verwendet. Diese wurden zunächst 3 min auf Eis aufgetaut und dann mit 8 µl des gefällten Ligationsansatzes vorsichtig gemischt. Das Gemisch wurde luftblasenfrei in eine vorgekühlte Elektroporationsküvette überführt. Die Transformation erfolgte in einem Elektroporationsgerät bei einer Spannung von 1,6 kV, einer Kapazität von 25 µF und einem Widerstand von 200 Ω. Im Anschluss wurden 700 µl SOC-Medium zügig zu den Bakterien gegeben, der Ansatz in ein 15-ml-Falconröhrchen überführt und für 1 h bei 37 °C (170 U/min) geschüttelt. Danach

wurden die transformierten Bakterien auf IPTG/X-Gal-haltigen LB-Amp-Agarplatten (2.1.15) ausplattiert. Transformierte Bakterienklone wurden über Blau-Weiß-Selektion identifiziert: Bakterienklone, die ein Plasmid ohne *Insert* aufgenommen haben, sind blau gefärbt, während Bakterienklone, die ein Plasmid mit *Insert* tragen, weiß gefärbt sind. Von den weißen Kolonien wurden Flüssigkulturen (2.1.16.3) für Plasmidpräparationen (2.2.8) angesetzt. Die Länge des *Inserts* wurde durch Restriktionsverdau (2.2.10) bestimmt. Entsprach das *Insert* der erwarteten Größe wurde das entsprechende Plasmid mit vektorspezifischen Primern sequenziert (2.2.19).

### 2.2.7 Herstellung „elektrokompetenter“ *E. coli*-Zellen

Elektrokompetente *E. coli*-Zellen wurden für die Transformation von Plasmid-DNA in Bakterien verwendet. Zur Herstellung dieser Zellen wurden 5 ml LB-Medium mit 5 µl Streptomycin (100 mg/ml) versetzt und mit *E. coli* TOP10-Zellen angeimpft. Die Kultur wurde ü. N. bei 37 °C geschüttelt (245 U/min). Von dieser Vorkultur wurden am nächsten Tag 4,5 ml in 450 ml vorgewärmtes LB-Medium (mit Streptomycin) überführt. Die Zellen wurden im 37 °C-Schüttelinkubator (170 U/min) bis zum Erreichen einer OD<sub>605</sub> von 0,5 angezüchtet und anschließend 30 min auf Eis inkubiert. Alle nachfolgenden Schritte wurden auf Eis durchgeführt. Die Zellsuspension wurde in 50-ml-Falconröhrchen aliquotiert, pelletiert (15 min, 1500 x g, 4 °C) und der Überstand verworfen. Zum Zellpellet wurden 30 ml 10 %iges Glycerin zugegeben und zentrifugiert (15 min, 1000 x g, 4 °C). Der Überstand wurde wieder verworfen und die Zellen in 2 ml 10 %iges Glycerin aufgenommen. Es wurden Aliquots à 50 µl bei -80 °C gelagert.

### 2.2.8 Isolierung von Plasmid-DNA

Für die Plasmidpräparation wurden zunächst 3 ml Flüssigkultur (2.1.16.3) mit dem ausgewählten Bakterienklon angeimpft und ü. N. bei 37 °C herangezogen. 1,5 ml dieser Bakterienkultur wurden am folgenden Tag pelletiert (20 s, 16000 x g, RT) und die Bakterienzellen in 150 µl P1-Lösung resuspendiert. Unter alkalischen Bedingungen erfolgte die Lyse der Zellen. Hierzu wurden der Zellsuspension 150 µl P2-Lösung zugegeben und mehrmals invertiert. Durch Zugabe von 150 µl P3-Lösung wurde der Ansatz neutralisiert und an Hochsalzbedingungen angeglichen. Dies hatte zur Folge, dass denaturierte Proteine,

Zelltrümmer und membrangebundene chromosomale DNA präzipitierten und abzentrifugiert werden konnten. Es wurden zwei Zentrifugationsschritte (15 min, 16000 x g, RT) durchgeführt, nach denen jeweils der Überstand mit der Plasmid-DNA in ein neues Reaktionsgefäß überführt wurde. Die Plasmid-DNA wurde mit 1 Volumen Isopropanol für 5 min auf Eis gefällt und pelletiert (15 min, 16000 x g, 4 °C). Es folgte ein Waschschriff mit 500 µl 70 %igem EtOH (5 min, 16000 x g, RT). Nach der Trocknung der Plasmid-DNA in der Speedvac wurde sie in 40 µl HPLC-H<sub>2</sub>O gelöst und bei -20 °C aufbewahrt.

### 2.2.9 Isolierung von BAC-DNA

Die Isolierung von BAC-DNA wurde nach dem gleichen Prinzip wie die Isolierung von Plasmid-DNA (2.2.8) durchgeführt. Um eine größere Ausbeute an BAC-DNA zu erhalten, wurde eine 10-ml-Flüssigkultur mit dem gewünschten BAC-Klon angeimpft und am nächsten Tag bei 3200 x g für 5 min pelletiert. Alle übrigen Schritte wurden analog zur Plasmidpräparation durchgeführt. Aufgrund der größeren Zell-Ausgangsmenge wurden 200 µl P1-Lösung, 400 µl P2-Lösung und 300 µl P3-Lösung verwendet. Die gewonnene BAC-DNA wurde in 40 µl HPLC-H<sub>2</sub>O gelöst.

### 2.2.10 Restriktionsanalyse von DNA

Mit Hilfe von Restriktionsenzymen des Typs II können DNA-Moleküle spezifisch geschnitten werden. Diese Enzyme erkennen und schneiden palindromische Sequenzen aus 4 bis 8 Nukleotiden. Dabei sind die entstehenden Enden entweder glatt und doppelsträngig oder einzelsträngig und überhängend. Zum Ausschneiden von DNA-Inserts aus den Plasmiden sowie zur Analyse von BAC-Klonen wurde das Restriktionsenzym *EcoRI* verwendet.

#### Verdau von Plasmid-DNA:

Volumen: 20 µl

400 ng bis 1 µg Plasmid-DNA

1 U *EcoRI* /µg DNA

2 µl 10x Puffer H

mit HPLC-H<sub>2</sub>O auf ein Volumen von 20 µl auffüllen

Der Ansatz wurde 1,5 h bei 37 °C inkubiert und die Fragmente anschließend durch DNA-Gelelektrophorese analysiert (2.2.2). Plasmide mit *Inserts*, die der erwarteten Größe entsprachen, wurden sequenziert (2.2.19).

#### Verdau von BAC-DNA:

Volumen: 20 µl

10 µl BAC-Präparation (siehe 2.2.9)

3,3 µl *Eco*RI (12 U/µl)

2 µl 10x Puffer H

4,7 µl HPLC-H<sub>2</sub>O

Der Ansatz wurde 2 h bei 37 °C inkubiert und anschließend auf einem großen Agarosegel ü. N. aufgetrennt (2.2.2), welches für einen Southern-Blot (2.2.11) verwendet wurde.

#### **2.2.11 Southern-Blot**

Mit Hilfe des Southern-Blots wurde BAC-DNA, die zuvor präpariert (2.2.9), *Eco*RI-restringiert (2.2.10) und gelelektrophoretisch aufgetrennt worden ist (2.2.2), aus dem Agarosegel auf eine Nylonmembran transferiert.

Zunächst wurde das Gel unter UV-Licht mit einem Skalpell zurechtgeschnitten und auf einer Folie, die auf das Gel gelegt wurde, der Längenstandard sowie die Geltaschen markiert. Zur Entfernung von Ethidiumbromid aus dem Gel wurde es 20 min in destilliertem Wasser gewaschen. Im Anschluss wurde das Gel in verschiedenen Lösungen inkubiert. Durch Inkubation in 0,25 M HCL für 20 min wurde die DNA teilweise depuriniert, wodurch sie in kleine Fragmente zerbricht. Durch Denaturierungslösung (25 min Inkubation) wurde die DNA in Einzelstränge getrennt und durch Neutralisierungslösung (30 min Inkubation) neutralisiert.

Zum Aufbau des Southern-Blots wurde zunächst eine Wanne mit 20 x SSC-Lösung befüllt und eine Glasplatte über den mittleren Teil der Wanne gelegt. Die Glasplatte wurde mit Whatman-Papier bedeckt, welches zuvor in 20 x SSC-Lösung getränkt wurde. Die Enden des Whatman-Papiers traten in Kontakt mit der in der Wanne befindlichen 20 x SSC-Lösung. Auf das Whatman-Papier wurde der Reihenfolge nach das Gel, die Nylonmembran, drei Lagen Whatman-Papier sowie eine dicke Schicht Papiertücher gelegt. Die Membran sowie das Whatman-Papier wurden mit 2 x SSC angefeuchtet und auf Gelgröße zurechtgeschnitten. Der

Blot wurde luftblasenfrei aufgebaut. Auf den Blot wurde zum Beschweren eine Glasplatte gelegt. Damit keine Transferlösung am Gel vorbeiläuft, wurde der Gelbereich mit Haushaltsfolie seitlich abgedichtet.

Die Transferdauer betrug mindestens 12 h. Bei diesem so genannten Kapillarblot wird der Puffer durch das Gel und durch die Membran in die Papiertücher gesogen, wobei die DNA mitwandert und auf der Membran hängen bleibt.

Nach dem Abbau des Blots wurde die Membran mit 2 x SSC gespült und getrocknet. Eine Fixierung der DNA auf die Membran erfolgte durch Bestrahlung mit UV-Licht.

Die Membran wurde zum Nachweis bestimmter NKC-Gene auf den jeweiligen BAC-Klonen mit radioaktiv markierten Sonden hybridisiert (2.2.13).

### **2.2.12 Herstellung radioaktiv markierter Sonden**

BAC-Banken sowie Southern-Blots wurden mit radioaktiv markierten Sonden hybridisiert. Zur Sondenherstellung wurde das Prime-a-Gene<sup>®</sup> Labeling System von Promega verwendet. In diesem System erfolgt die Synthese radioaktiv markierter DNA mit Hilfe des Klenow-Fragmentes, der großen Untereinheit der DNA-Polymerase I von *E. coli* unter Verwendung von Zufallshexameren (*random primer*) und radioaktiv markierten Nukleotiden (Feinberg und Vogelstein, 1983). Die Sonde wurde nach Angaben des Herstellers mit 25 ng Ausgangs-DNA und radioaktiv markiertem [ $\alpha$ -<sup>32</sup>P]dCTP hergestellt.

### **2.2.13 Hybridisierung membrangebundener DNA**

Zur Hybridisierung membrangebundener DNA mit radioaktiv markierten Sonden wurden die Membranen (BAC-Banken Filter, Southern-Blots) in Glasröhrchen zusammen mit 20 ml vorgewärmter Hybridisierungslösung und 600  $\mu$ l Heringsspermien-DNA (10 mg/ml) gegeben. Die Heringsspermien-DNA wurde zuvor für 5 min bei 95 °C denaturiert. Die Membranen wurden mit dieser Lösung für 2 h bei 60 °C im Drehofen inkubiert. Diese so genannte Prähybridisierung diente der Absättigung freier Bindungsstellen. Im Anschluss wurde die radioaktiv markierte Sonde (2.2.12) zur Hybridisierungslösung zugegeben und für weitere 16-18 h bei 60 °C im Drehofen inkubiert. Um unspezifisch gebundene Sonden-DNA zu entfernen, wurden die Membranen dann 2 x 30 min mit 2 x SSC/0,1 % SDS bei 60 °C im

Drehofen gewaschen und anschließend in Frischhaltefolie eingelegt. Mittels Autoradiographie wurde die gebundene DNA-Sonde sichtbar gemacht.

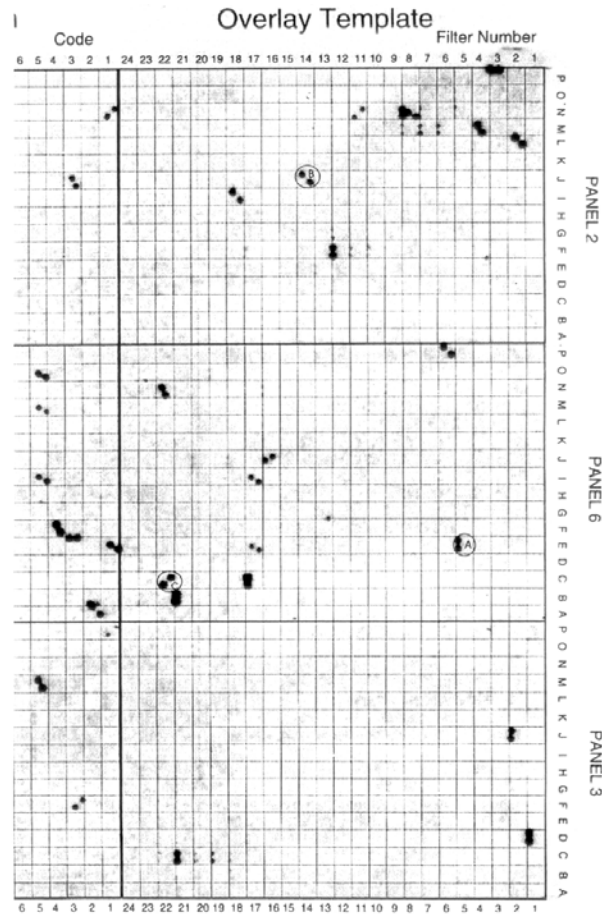
Dehybridisierung der Membranen erfolgte in aufgekochter 0,1 %iger SDS-Lösung und wurde so oft wiederholt, bis keine Radioaktivität mehr auf den Membranen zu messen war.

#### **2.2.14 Autoradiographie**

Die mit einer radioaktiv markierten Sonde hybridisierten Membranen wurden in der Dunkelkammer in eine Autoradiographiekassette gelegt und mit einem Röntgenfilm bedeckt. Je nach Strahlungsintensität der Membranen wurde der Film zwischen 2-25 h bei -80 °C exponiert und anschließend in der Entwicklermaschine entwickelt.

#### **2.2.15 Screening von BAC-Banken**

Die Filter der BAC-Banken „CHORI-257“ (*Microcebus murinus*) und „CHORI-259“ (*Callithrix jacchus*) (2.1.10) wurden mit radioaktiv markierten Sonden (2.2.12), wie in 2.2.13 beschrieben, hybridisiert. Positive Klone (Beispiel in Abb. 11) konnten mit Hilfe eines Koordinatensystems bestimmten Klon-Nummern zugeordnet werden und wurden beim BACPAC Resources Center bestellt.



**Abb. 11** positive Hybridisierungssignale auf einem BAC-Filter (entnommen aus der Hybridisierungsanleitung des BACPAC Resources Centers)

### 2.2.16 Gesamt-RNA-Extraktion

Zur Isolation von Gesamt-RNA wurden Vollblut, Leukozyten sowie Lebergewebe als Ausgangsmaterial verwendet (Tab. 1).

Lebergewebe eines Mausmakis wurde in flüssigem Stickstoff homogenisiert und in 4 ml GITC-Puffer aufgenommen. Zur RNA-Isolation aus Leukozyten von neun Weißbüschelaffen-Individuen sowie eines Varis wurde Vollblut verwendet. Dieses wurde zur Lyse der Erythrozyten mit Ery-Lyse-Puffer auf ein Gesamtvolumen von 15 ml gebracht und 20 min bei RT inkubiert. Im Anschluss wurden die übrigen Blutzellen (Leukozyten, Thrombozyten) abzentrifugiert (200 x g, 7 °C, 10 min) und der Überstand verworfen. Das Pellet wurde mit 15 ml Ery-Lyse-Puffer gewaschen (200 x g, 7 °C, 10 min) und in 4 ml GITC-Puffer gelöst.

Zu den in GITC-Puffer gelösten Blut- und Gewebezellen wurden 400 µl 2M NaAc (pH 4,0), 4 ml saures Phenol und 800 µl Chloroform/Isoamylalkohol (49:1, v/v) zugegeben und

geschüttelt. Das Gemisch wurde für 15 min auf Eis inkubiert und anschließend zentrifugiert (3200 x g, 4 °C, 20 min).

Die obere wässrige Phase wurde vorsichtig, ohne Teile der Interphase, abgenommen und auf 6-7 Reaktionsgefäße verteilt. Die darin enthaltene RNA wurde mit 1 Volumen Isopropanol gemischt und 1 h bei -20 °C präzipitiert. Das Präzipitat wurde abzentrifugiert (16000 x g, 4 °C, 30 min) und 2 x mit 800 µl 75 %igem EtOH gewaschen. Die RNA wurde bei RT getrocknet und je nach Pelletgröße in 10-40 µl DEPC-H<sub>2</sub>O für 20 min bei 55°C gelöst. Alternativ wurde die RNA zur längeren Aufbewahrung in Formamid ü. N. bei 4 °C gelöst. RNA in Formamid und DEPC-H<sub>2</sub>O wurde bei -20 °C gelagert.

Die Ausbeute der RNA-Präparation wurde in einem Photometer bestimmt.

Es gilt:  $OD_{260} = 1 \approx 40 \mu\text{g RNA/ml}$

Der Grad der Verunreinigung der RNA mit Proteinen wurde anhand des Quotienten  $OD_{260}/OD_{280}$  berechnet.

$OD_{260}/OD_{280} = 1,7 - 2,0$  saubere RNA.

$OD_{260}/OD_{280} < 1,7$  mit Proteinen verunreinigte RNA.

Zum Schutz der RNA vor RNasen wurden bei der Präparation Handschuhe getragen, sterile Falcons, Reaktionsgefäße, Skalpelle sowie gestopfte Spitzen benutzt und alle Puffer und Lösungen mit DEPC-H<sub>2</sub>O angesetzt und autoklaviert. Für die Homogenisierung verwendete Mörser und Pistill wurden vor dem Gebrauch mit Isopropanol abgeflammt.

Die Isolierung von Gesamt-RNA aus Leukozyten eines Mausmakis erfolgte mit dem RNeasy Mini Kit der Firma Qiagen nach Angaben des Herstellers.

### **2.2.17 Reverse Transkription**

Gesamt-RNA wurde mit Hilfe der Reversen Transkriptase M-MLV RT (Moloney Murine Leukemia Virus Reverse Transcriptase) in cDNA umgeschrieben. Zu 2,5 µg Gesamt-RNA wurden 1 µl Oligo(dT)<sub>15</sub>-Primer (0,5 µg/µl) gegeben und mit DEPC-H<sub>2</sub>O auf ein Volumen von 15 µl gebracht. Durch eine Inkubation für 5 min bei 70 °C wurden die Sekundärstrukturen der RNA aufgehoben. Anschließend wurde der Ansatz direkt auf Eis gestellt und 5 µl M-MLV

5 x Puffer, 0,5 µl dNTP-Mix (25 mM je dNTP), 0,7 µl RNasin (40 U/µl), 1 µl M-MLV RT (200 U/µl) sowie 2,8 µl DEPC-H<sub>2</sub>O zugegeben.

Der Ansatz wurde vorsichtig gemischt, kurz abzentrifugiert und für 1 h bei 42 °C inkubiert. Anschließend wurde das Enzym 15 min bei 70 °C deaktiviert. Die cDNA wurde aliquotiert und bei -20 °C aufbewahrt.

### 2.2.18 5'- und 3'-RACE (*rapid amplification of cDNA ends*)

5'- und 3'-RACE im Weißbüschelaffen und im Vari wurden mit dem GeneRacer™ Kit von Invitrogen nach Angaben des Herstellers durchgeführt. Bei der 5'-RACE wird zunächst das 5'-Phosphat von verkürzten RNAs ohne Cap-Struktur abgespalten, damit diese nicht mit dem GeneRacer™ RNA Oligo ligieren. Anschließend wird die Cap-Struktur von den vollständigen RNAs entfernt und an die 5'-Phosphatenden der GeneRacer™ RNA Oligo ligiert, der als Bindestelle für den GeneRacer™ 5'Primer fungiert. Zur Synthese von cDNA wurden die im Kit enthaltenen Random Primer (N6) und die Reverse Transkriptase SuperScript™ III RT verwendet. Mit genspezifischen *reverse*-Primern und dem GeneRacer™ 5'Primer wurden 5'-Enden amplifiziert und mit Hilfe des TOPO TA Cloning® Kits von Invitrogen kloniert und anschließend sequenziert.

Für 3'-RACE wurde unbehandelte RNA mit der Reversen Transkriptase SuperScript™ III RT und dem GeneRacer™ Oligo dT Primer in cDNA umgeschrieben. Mit genspezifischen *forward*-Primern und dem GeneRacer™ 3' Primer wurden 3'-Enden amplifiziert und ebenfalls kloniert und sequenziert.

Für die 3'-RACE von CD94-2 im Mausmaki wurde cDNA wie in 2.2.17 hergestellt, außer dass anstelle des Oligo(dT)<sub>15</sub>-Primers 14 µl des Oligo-dT-Adapterprimers 2698 (100 µM) verwendet wurden. Das 3'-Ende wurde mit einem genspezifischen *forward*-Primer und dem Adapterprimer 2697 amplifiziert (Tab. 7).

### 2.2.19 DNA-Sequenzierung

Sequenzierungen wurden nach dem „Taq Dye Terminator Cycle Sequencing“-Prinzip durchgeführt, welches eine Modifikation der Kettenabbruchmethode nach Sanger und Mitarbeiter darstellt (Sanger et al., 1977). In der Sequenz-PCR werden neben einer DNA-Polymerase, einem Primer sowie Desoxynukleotiden (dNTP) auch Didesoxynukleotide (ddNTP) verwendet, die mit vier verschiedenen Fluoreszenzfarbstoffen markiert sind („Dye-Terminatoren“). Der Einbau eines ddNTP führt zum Kettenabbruch, da die für die Phosphordiesterbindung benötigte 3'-OH-Gruppe fehlt. Durch den zufälligen Einbau der ddNTP in den wachsenden DNA-Strang entstehen unterschiedlich lange Fragmente, mit einem durch den Primer festgelegten 5'-Ende und einem variablen fluoreszenzmarkierten 3'-Ende. Die Fragmente werden der Größe nach im Sequenziergerät kapillarelektrophoretisch aufgetrennt und durch einen Laserstrahl zur Fluoreszenz angeregt. Die dadurch entstehenden Lichtsignale werden durch ein Detektorsystem gelesen und in digitale Signale umgewandelt. Für die Sequenzreaktion wurde das BigDye<sup>®</sup> Terminator v1.1 Cycle Sequencing Kit der Firma Applied Biosystems eingesetzt.

Folgender Reaktionsansatz wurde für die Sequenz-PCR verwendet:

#### Volumen 10 µl

x µl DNA (Plasmid-DNA 250 ng, PCR-Produkt 25 ng)

1 µl Primer (3,3 µM)

1,5 µl 5 x Sequencing Buffer

1 µl Big Dye<sup>®</sup>

mit HPLC-H<sub>2</sub>O auf ein Volumen von 10 µl auffüllen.

Die Sequenz-PCR wurde im PCR-Cycler unter folgenden Reaktionsbedingungen durchgeführt:

1	Denaturierung	96 °C	30 s
2	Annealing	50 °C	15 s
3	Elongation	60 °C	4 min

Schritte 1-3 wurden 25-mal wiederholt

Im Anschluss an die Sequenz-PCR wurde die DNA gefällt. Dazu wurden dem Ansatz 90  $\mu$ l HPLC-H<sub>2</sub>O, 250  $\mu$ l 100 %iges EtOH und 10  $\mu$ l 3 M NaAc (pH 4,8) zugegeben. Durch Zentrifugation (15 min, 16000 x g, RT) wurde die DNA sedimentiert und mit 250  $\mu$ l 70 %igem EtOH gewaschen (5 min, 16000 x g, RT). Anschließend wurde das Pellet in der Speedvac getrocknet, in 10  $\mu$ l Hi-Di<sup>TM</sup> Formamid aufgenommen und ins Sequenziergerät geladen.

Für die Sequenzierung von cDNA-*Inserts* in Plasmiden wurden folgende Primer verwendet:

pCR<sup>®</sup>4-TOPO<sup>®</sup>: 3483 und 3484

pDrive: M13F und M13R

pGEM<sup>®</sup>-T Easy: G23 und G24

### **3 Ergebnisse**

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurde für einen Neuweltaffen, dem Weißbüschelaffen (*Callithrix jacchus*), sowie einem Lemuren, dem Grauen Mausmaki (*Microcebus murinus*), mittels *Screening* entsprechender BAC (*bacterial artificial chromosome*)-Banken und Sequenzierung ausgewählter BAC-Klone von Dr. Richard Reinhardt (Max-Planck-Institut für Molekulare Genetik in Berlin) die komplette genomische Sequenz des CD94-Ly49L-Intervalls der NKC-Region bestimmt. Über RT-PCR-Analyse wurden die cDNA-Sequenzen der für die NK-Zell-Rezeptoren kodierenden Gene im Weißbüschelaffen und im Mausmaki ermittelt. Aufgrund des überraschenden Befundes der Vervielfachung der NKC-Gene im Mausmaki, es wurden drei CD94- und acht NKG2-Gene gefunden, wurde in einem weiteren Lemuren, dem Schwarzweißen Vari (*Varecia variegata*), die Expression von NK-Zell-Rezeptoren untersucht. Eine Vervielfachung der NKC-Gene wurde auch hier gefunden. Um zu klären, ob das NK-Zell-Rezeptor-Repertoire, welches die beiden untersuchten Lemuren aufweisen, sich einzigartig auf Madagaskar entwickelt hat oder auch bei anderen Primaten außerhalb Madagaskars auftritt, wurde bei einem weiteren Feuchtnasenaffen aus West/Zentral-Afrika, dem Potto (*Perodicticus potto*) sowie einem Vertreter der ursprünglichsten Trockennasenaffen, dem Philippinen-Koboldmaki (*Tarsius syrichta*), mittels PCR mit genomischer DNA untersucht, ob auch hier mehrere CD94-Gene vorhanden sind.

#### **3.1 C-Typ Lektin-ähnliche NK-Zell-Rezeptoren im Weißbüschelaffen**

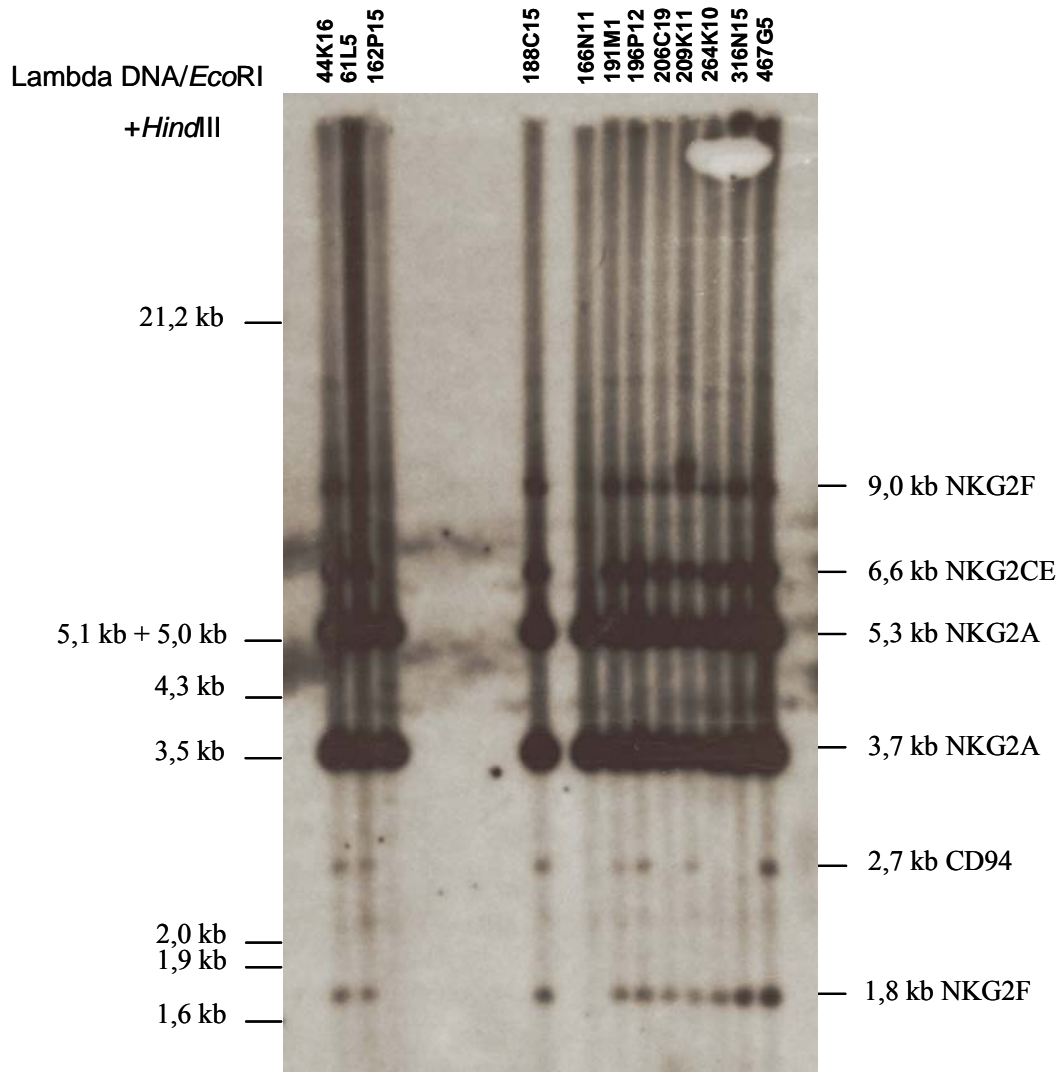
##### **3.1.1 Genomische Organisation des CD94-Ly49L-Intervalls im Weißbüschelaffen**

Zur genomischen Analyse der NKC-Region des Weißbüschelaffen wurde die BAC-Bank „CHORI-259“ (*Callithrix jacchus*), die vom Children's Hospital Oakland Research Institute bezogen wurde, mit DNA-Sonden der humanen CD94-, NKG2A- und Ly49L-Gene sowie dem murinen NKG2D-Gen durchsucht. Die CD94-, NKG2A- und Ly49L-Sonden wurden aus DNA humaner Mundschleimhautzellen amplifiziert (verwendete Primer siehe Tab. 5 in Material und Methoden) und die murine NKG2D-Sonde wurde von PD Dr. Lutz Walter (DPZ)

zur Verfügung gestellt. Die CD94- und NKG2A-Sonden umfassen Exon 2-3<sup>1</sup>, die Ly49L-Sonde Exon 3-4<sup>1</sup> und die NKG2D-Sonde den kompletten kodierenden Bereich (die Sequenzen der Sonden sind im Anhang unter 7.1 aufgeführt). Es wurden 12 Klone ausgewählt, die mit mehr als einer Sonde reagierten und beim BACPAC Resources Center bestellt. Zur Überprüfung der BAC-Klone wurden diese zunächst präpariert, mit dem Restriktionsenzym *EcoRI* verdaut und gelelektrophoretisch aufgetrennt. Anschließend wurde ein Southern-Blot erstellt, der mit den oben genannten Sonden hybridisiert wurde. In Abb. 12 ist als Beispiel die Hybridisierung des Southern-Blots mit der NKG2A-Sonde dargestellt. Das Ergebnis dieser Hybridisierung sowie die Hybridisierung mit den CD94-, NKG2D- und Ly49L-Sonden ist zur besseren Übersicht in Tab. 10 zusammengefasst.

---

<sup>1</sup> In den humanen NKG2A- und Ly49L-Genen enthält Exon 2 und im humanen CD94-Gen Exon 1 das Startkodon für die Translation.



**Abb. 12** Southern-Blot-Analyse von 12 BAC-Klonen der BAC-Bank „CHORI-259“ (*Callithrix jacchus*) mit der humanen NKG2A-Sonde

Links ist der Längenstandard angegeben und rechts die Länge der hybridisierenden Restriktionsfragmente. Die BAC-Klone wurden mit dem Restriktionsenzym *EcoRI* geschnitten. Mit Hilfe von Sequenzdaten konnten die Restriktionsfragmente verschiedenen Genen zugeordnet werden.

**Tab. 10 Übersicht der Southern-Blot-Hybridisierungsergebnisse von 12 BAC-Klonen der BAC-Bank „CHORI-259“ (*Callithrix jacchus*) mit den Sonden NKG2A, CD94, NKG2D und Ly49L**

Es sind die untersuchten BAC-Klone angegeben und die Länge der hybridisierenden Restriktionsfragmente (RFL, Restriktionsfragmentlängen). Positive Hybridisierungsergebnisse der BAC-Klone mit den verschiedenen Sonden sind mit einem „+“ gekennzeichnet.

Sonde: Mensch-NKG2A

Klon \ RFL	44 K16	61 L5	162 P15	188 C15	166 N11	191 M1	196 P12	206 C19	209 K11	264 K10	316 N15	467 G5
9,0 kb	+	+		+		+	+	+	+	+	+	+
6,6 kb	+	+		+		+	+	+	+	+	+	+
5,3 kb	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
3,7 kb	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2,7 kb	+	+		+		+	+		+			+
1,8 kb	+	+		+		+	+	+	+	+	+	+

Sonde: Mensch-CD94

Klon \ RFL	44 K16	61 L5	162 P15	188 C15	166 N11	191 M1	196 P12	206 C19	209 K11	264 K10	316 N15	467 G5
2,7 kb	+	+		+		+	+		+			+

Sonde: Maus-NKG2D

Klon \ RFL	44 K16	61 L5	162 P15	188 C15	166 N11	191 M1	196 P12	206 C19	209 K11	264 K10	316 N15	467 G5
16,1 kb	+	+		+		+	+	+	+		+	+

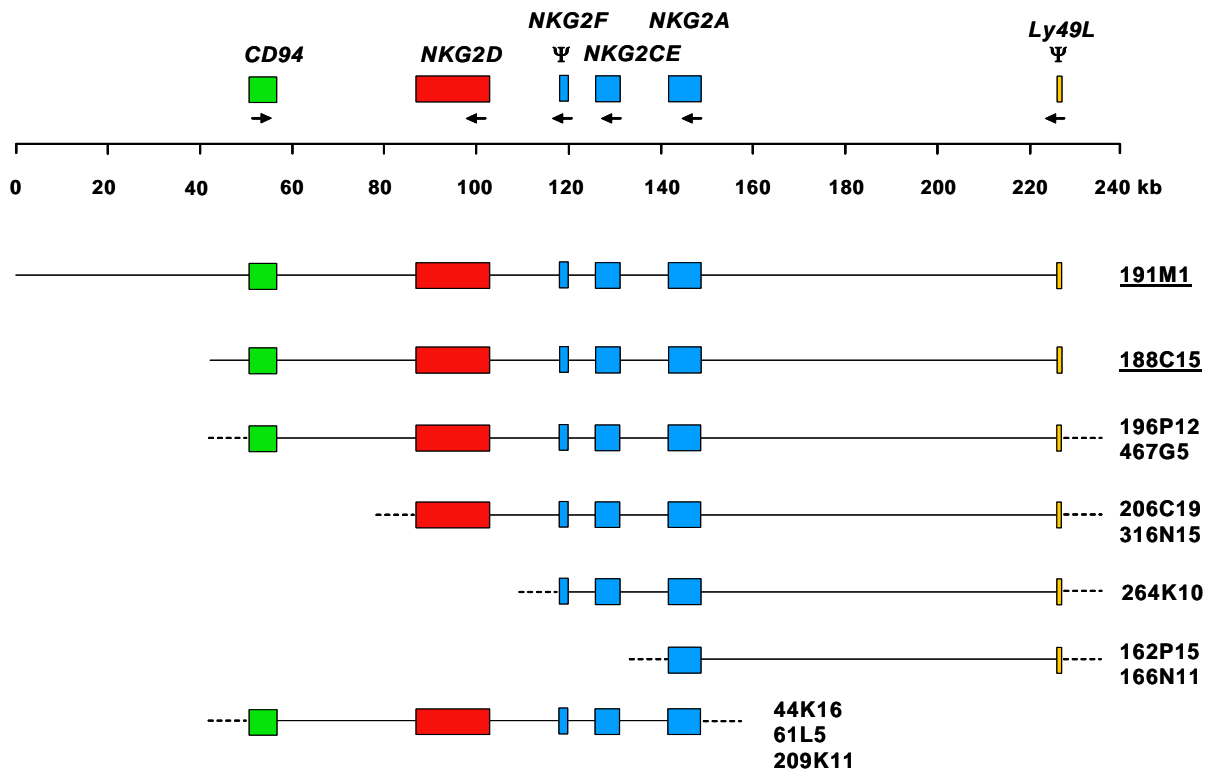
Sonde: Mensch-Ly49L

Klon \ RFL	44 K16	61 L5	162 P15	188 C15	166 N11	191 M1	196 P12	206 C19	209 K11	264 K10	316 N15	467 G5
1,4 kb			+	+	+	+	+	+		+	+	+
0,8 kb			+	+	+	+	+	+		+	+	+

Alle BAC-Klone reagierten mit mindestens zwei verschiedenen Sonden. Die BAC-Klone 188C15, 191M1, 196P12 sowie 467G5 reagierten mit allen vier Sonden (Tab. 10).

Klone, die mit der humanen CD94-Sonde hybridisierten, konnten mittels PCR mit den zur Sondenherstellung verwendeten humanen CD94-Primern (siehe Tab. 5 in Material und Methoden) und anschließender Sequenzierung der PCR-Produkte verschiedenen Haplotypen zugeordnet werden. Demzufolge gehören die BAC-Klone 188C15, 196P12, 209K11, 467G5 und 44K16 zu einem Haplotyp, der das Caja-CD94\*01-Allel (Zugangsnummer: EF050438) aufweist, und die BAC-Klone 191M1 und 61L5 zu einem anderen Haplotyp, der das Caja-CD94\*02-Allel (Zugangsnummer: EF050439) beinhaltet. Von jedem der beiden Haplotypen wurde jeweils ein Klon ausgewählt, der mit allen vier Sonden positiv reagiert hat. Die ausgewählten BAC-Klone, 188C15 und 191M1, wurden von Dr. Richard Reinhardt (MPI für Molekulare Genetik) komplett sequenziert und die Sequenzen im Rahmen dieser Arbeit ausgewertet. Klon 188C15 umfasst 186.125 bp und Klon 191M1 228.774 bp. Auf beiden

Haplotypen konnten orthologe Gene zu den humanen Genen CD94, NKG2D, NKG2F, NKG2A sowie Ly49L identifiziert werden (Abb. 13). Die aktivierenden Rezeptoren NKG2C und NKG2E des Menschen werden im Weißbüschelaffen nur von einem Gen repräsentiert, welches entsprechend phylogenetischer Analysen (siehe 3.5.3) als NKG2CE bezeichnet wurde. Die genomischen Sequenzen der NKC-Gene des Weißbüschelaffen sind im Anhang unter 7.8 abgebildet.



**Abb. 13 Schematische Darstellung des CD94-Ly49L-Intervalls im Weißbüschelaffen mit den analysierten BAC-Klonen**

Die BAC-Klone 191M1 sowie 188C15 wurden komplett sequenziert. Die genauen Enden der übrigen BAC-Klone sind unbekannt und durch eine gestrichelte Linie gekennzeichnet. Die Pfeile zeigen die 5'-3'-Orientierung der Gene an. Bei NKG2F und Ly49L handelt es sich um Pseudogene ( $\Psi$ ).

Das komplette CD94-Ly49L-Intervall des Weißbüschelaffen beträgt 171 kb. Die Anordnung der Gene sowie deren 5'-3'-Orientierung entspricht der in der menschlichen NKC-Region (Sobanov et al., 1999). NKG2F und Ly49L repräsentieren Pseudogene. Das NKG2F-Gen besitzt ein Stopkodon in Exon 1 (siehe genomische Sequenz von NKG2F im Anhang unter 7.8.3). Die *Insert*-Sequenzen der BAC-Klone 191M1 und 188C15 enden an derselben Position in Intron 2 des Ly49L-Gens. Exon 3 des Ly49L-Gens ist auf beiden BAC-Klonen vorhanden,

jedoch fehlen Exon 4-7, die offensichtlich deletiert sind (für Exon-Bezeichnung siehe Barten und Trowsdale, 1999). Das 3'-Ende von Exon 2 (erstes proteinkodierendes Exon) konnte mittels PCR von dem mit den BAC-Klonen 191M1 und 188C15 überlappenden BAC-Klon 162P15 amplifiziert werden. Der verwendete *forward*-Primer (3524) wurde anhand von konservierten Bereichen im Exon 2 des Ly49L-Gens anderer Primaten ausgewählt und der *reverse*-Primer (3526) anhand der Exon 3-Sequenz des Weißbüschelaffen. Die Sequenzierung des PCR-Produktes zeigte eine Leserasterverschiebung in Exon 2 des Ly49L-Gens, wodurch es zum frühzeitigen Abbruch der Translation in Exon 2 kommt (siehe genomische Sequenz von Ly49L im Anhang unter 7.8.6). Im humanen Ly49L-Gen tritt keine Leserasterverschiebung in Exon 2 auf und es sind keine Exons deletiert wie im Weißbüschelaffen. Allerdings führt bei der Transkription die Verwendung einer alternativen, strangabwärts gelegenen, Spleißdonorstelle im Intron 5, zum Einfügen eines Stopkodons in das verlängerte Exon 5 und damit zum frühzeitigen Abbruch der Translation (Westgaard et al., 1998).

### 3.1.2 Expression der NKC-Gene im Weißbüschelaffen

Zur Analyse der Expression der NKC-Gene im Weißbüschelaffen wurde aus neun nicht verwandten Individuen RNA aus Leukozyten isoliert. Über RT-PCR mit Primern, die anhand der genomischen Sequenz des Weißbüschelaffen ausgewählt wurden (siehe Tab. 6 in Material und Methoden), und anschließender Sequenzierung der PCR-Produkte, konnten die vollständigen cDNA-Sequenzen von CD94, NKG2A, NKG2CE und NKG2D ermittelt werden. Die Sequenzen wurden in die Datenbanken GenBank, EMBL und DDBJ gestellt (Zugangsnummern siehe Tab. 3 in Material und Methoden). NKG2F konnte mit dem Primerpaar 2865/2866 nicht amplifiziert werden.

Die abgeleiteten Aminosäuresequenzen der NKC-Gene sind in Abb. 14 dargestellt. In Abb. 29-31 sind die Aminosäuresequenzen im Vergleich mit den Sequenzen anderer Primaten abgebildet.

	<b>ZY</b>		
Caja-NKG2CE	MNKQRETISGMSLAQHPKRQRRPKGNKSSISGTEQEIFQEELNLRNASPNHQIDKTYDCKGLLPPPER	70	
Caja-NKG2A	.DH.GVIY.DLN.PPK.....T..SKE...LV....TYA...QT..QDF..N....H..D.PSA..K	70	
Caja-CD94*01		MAVFKATFWR	10
Caja-CD94*02		.....	10
Caja-NKG2D	MGWIRGRRPRHSLAMSEFRNYNLELAKGDFSTRWQKQRCFVSKSCREN	49	
	<b>TM</b>		
Caja-NKG2CE	LTAEVLGIICIVLMATVLRITIVLI		
Caja-NKG2A	VIIGI.....LL...S.I-...V.		
Caja-CD94*01	LISGTLGIICLSMATLGILL		
Caja-CD94*02	.....V.....R.....		
Caja-NKG2D	FTPLFCCFIAMVAMGIRFIVMVTIW		
	<b>Hals</b>		
			<b>‡</b>
Caja-NKG2CE	P---FLEQNCSSPNTRTQKAHCDH	116	
Caja-NKG2A	.STLTQKH.N.L.....YR...	118	
Caja-CD94*01	KNSFTKLSIESAFTPGPNIELQKSDCCS	60	
Caja-CD94*02	.....T.....	61	
Caja-NKG2D	TAVFLNSLNFQEVQVPLIESYCGP	98	
	<b>CTLD</b>		
Caja-NKG2CE	CPPEWIMYSNSCYITGKERGTWEESLLACASKNSSLVSLDNEEEMRFLATISPFVSWIGVFRNSSHHPWVS	186	
Caja-NKG2A	.....R.....L.I.....KV..A..SP.....R.....	188	
Caja-CD94*01	CQEKWIGYRCNCYFISSESRWTWNESRHLCASQKSSLLQLQSRDELDFMSSSQQFYWIGLSYSEEQNAWLW	130	
Caja-CD94*02	.....K.....	131	
Caja-NKG2D	CPKNWICHRRNCYQFFNENKNWYESQASCMSQNASLLKVYSKAEQDFLKLKLVKSYHWMGLVYIPTNGSWQW	168	
	<b>CTLD</b>		
Caja-NKG2CE	IDSLSLTFKYYIIKDSNNAEHNCAVLHVNGLIAKPCGSSITYHCKHKL*	232	
Caja-NKG2A	..G..LN-.T.....E.R...M...D.FKSE.....IH...C..QN*	235	
Caja-CD94*01	ESGSVLSQDLFPLFGTSSNRKNCIAYNPKNNAVDEPCEIKNRFICKQQVI*	179	
Caja-CD94*02	.....*	180	
Caja-NKG2D	EDGTILSPNLLTIEMQKGDCAVYASSFKGYTENCSTPNTYICMQKTV*	216	

**Abb. 14 Aminosäuresequenzen der NKC-Gene des Weißbüschelaffen**

Die Aminosäuresequenzen sind unterteilt in Zytoplasmaregion (ZY), Transmembranregion (TM), Hals und C-Typ Lektin-ähnliche Domäne (CTLD). Punkte zeigen identische Aminosäuren von NKG2A zu NKG2CE sowie von dem Allel CD94\*02 zu dem Allel CD94\*01 an. Striche kennzeichnen Deletionen. ITIM-Sequenzen sind grün markiert und positiv geladene Aminosäuren in der Transmembranregion rot hinterlegt. Die putativen Liganden-bindebereiche von CD94 und NKG2 sind orange markiert (Sullivan et al., 2007). Heterodimerkontakte zwischen CD94 und NKG2 (blaue Balken oberhalb der Sequenz) basieren auf der Kristallstruktur von CD94-NKG2A des Menschen (Sullivan et al., 2007). Ein Aminosäureaustausch und ein Indel zwischen den Allelen CD94\*01 und CD94\*02 sind grau hervorgehoben. Sternchen (\*) zeigen Stopkodons. Zugangsnummern der verwendeten Sequenzen siehe Tab. 3 in Material und Methoden. Caja, *Callithrix jacchus*.

NKG2A besitzt entsprechend inhibierender Rezeptoren zwei ITIM (*immunoreceptor tyrosine-based inhibitory motif*) in der Zytoplasmaregion, während NKG2CE und NKG2D analog zu aktivierenden Rezeptoren keine ITIM besitzen, sondern stattdessen jeweils eine positiv geladene Aminosäure in der Transmembranregion aufweisen (Abb. 14). NKG2CE trägt in der

Transmembranregion die positiv geladene Aminosäure Lysin und NKG2D die Aminosäure Arginin. CD94 weist keine Signalmotive auf und hat eine verkürzte Zytoplasmaregion analog zu CD94 in anderen Primaten. Somit kodiert der Weißbüschelaffe in der NKC-Region voraussichtlich einen inhibierenden NK-Zell-Rezeptor (CD94/NKG2A-Heterodimer) sowie zwei aktivierende NK-Zell-Rezeptoren (CD94/NKG2CE-Heterodimer und NKG2D-Homodimer).

Neben den kompletten cDNA-Sequenzen wurden über Klonierung und anschließender Sequenzierung der PCR-Produkte auch alternative Spleißprodukte von CD94, NKG2A und NKG2D gefunden (Abb. 15A, B) (Zugangsnummern der Sequenzen siehe Tab. 3 in Material und Methoden). Von CD94 wurden 11 verschiedene alternative Spleißprodukte identifiziert (Abb. 15B). Bei der ersten Spleißvariante (Sv1) wird eine alternative Spleißakzeptorstelle am 5'-Ende von Exon 5 genutzt, so dass diese Variante ein zusätzliches Kodon (CAG) besitzt. Diese Spleißvariante wurde auch im Menschen, Schimpansen und Rhesusaffen beschrieben und wird als CD94B bezeichnet (LaBonte et al., 2001; Shum et al., 2002). Es wurden weitere Spleißvarianten gefunden, denen Exon 3, 4 oder 5 fehlen. Bei den Spleißvarianten 6, 7 und 8 ist aufgrund einer alternativen Spleißdonorstelle in Exon 4 die Länge von Exon 4 von 152 bp auf 90 bp verkürzt. Auch bei diesen Spleißvarianten wird zum Teil zusätzlich die alternative Spleißakzeptorstelle am 5'-Ende von Exon 5 genutzt. Bei der Spleißvariante CD94B (Sv1) sowie bei zwei weiteren Spleißvarianten, denen das für die Halsregion kodierende Exon 3 fehlt (Sv2 und Sv3), ändert sich der offene Leserahmen nicht. Bei den übrigen Spleißvarianten führen Leserasterverschiebungen zum frühzeitigen Abbruch der Translation. Den entsprechenden Proteinen fehlt ein großer Teil oder sogar die vollständige C-Typ Lektin-ähnliche Domäne.

Für NKG2A wurden zwei verschiedene Spleißvarianten gefunden (Abb. 15B). In der ersten Spleißvariante (Sv1) wird der 5'-UTR aufgrund einer alternativen Spleißakzeptorstelle am 5'-Ende von Exon 2 alternativ gespleißt. In der zweiten Spleißvariante (Sv2) fehlt das für die Transmembranregion kodierende Exon 3. Der offene Leserahmen wird dadurch nicht verändert. Die in Mensch, Schimpanse und Rhesusaffe beschriebene NKG2A-Isoform ohne Halsregion (NKG2B) wurde im Weißbüschelaffen nicht gefunden.

Eine Spleißvariante, bei der das für die Transmembranregion kodierende Exon fehlt, wurde auch für NKG2D nachgewiesen (Sv1, Abb. 15B). Entsprechende Isoformen von NKG2A und NKG2D, ohne Transmembranregion, existieren ebenfalls im Rhesusaffen (LaBonte et al.,

2001). Bei einer weiteren Spleißvariante von NKG2D des Weißbüschelaffen (Sv2) fehlen Exon 3-7.

Für NKG2CE wurde keine Spleißvariante im Weißbüschelaffen gefunden. Ein *AluJb*-Element, welches im humanen NKG2E-Gen partiell als Exon 7 genutzt wird (Glienke et al., 1998), wurde in der genomischen Sequenz des Weißbüschelaffen etwa 3,1 kb strangabwärts von Exon 6 des NKG2CE-Gens gefunden (siehe Anhang unter 7.8.4). Um zu testen, ob es eine NKG2CE-Spleißvariante gibt, die dieses Exon enthält, wurde eine RT-PCR mit Leukozyten-RNA eines Weißbüschelaffen-Individuums durchgeführt. Der verwendete *forward*-Primer (2863) bindet an Exon 1 (5'-UTR) des NKG2CE-Gens und der *reverse*-Primer (2867) an die zum Exon 7 (3'-UTR) des humanen NKG2E-Gens homologe Sequenz (siehe Anhang unter 7.8.4). Die PCR lieferte keinen Nachweis einer Expression. Ein Grund dafür, dass dieses „Exon 7“ im Weißbüschelaffen nicht transkribiert wird, könnte die vom Menschen abweichende Spleißakzeptorsequenz (GG) sein, die nicht der Konsensus-Spleißakzeptorsequenz (AG) entspricht (siehe Anhang unter 7.8.4).

A.

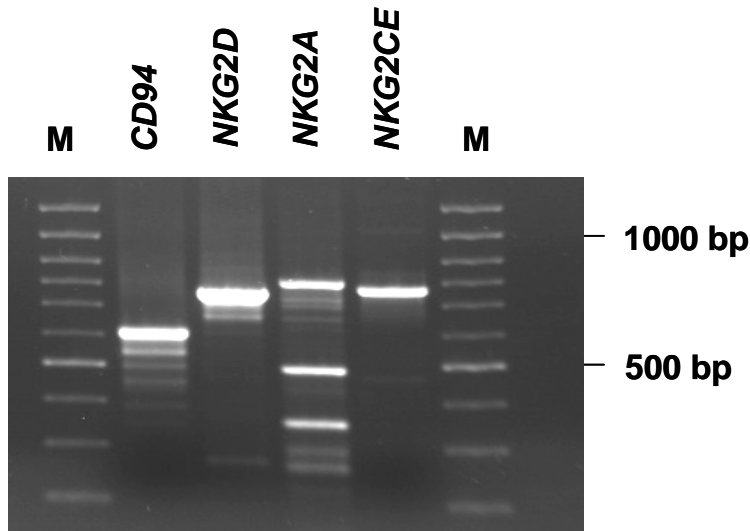
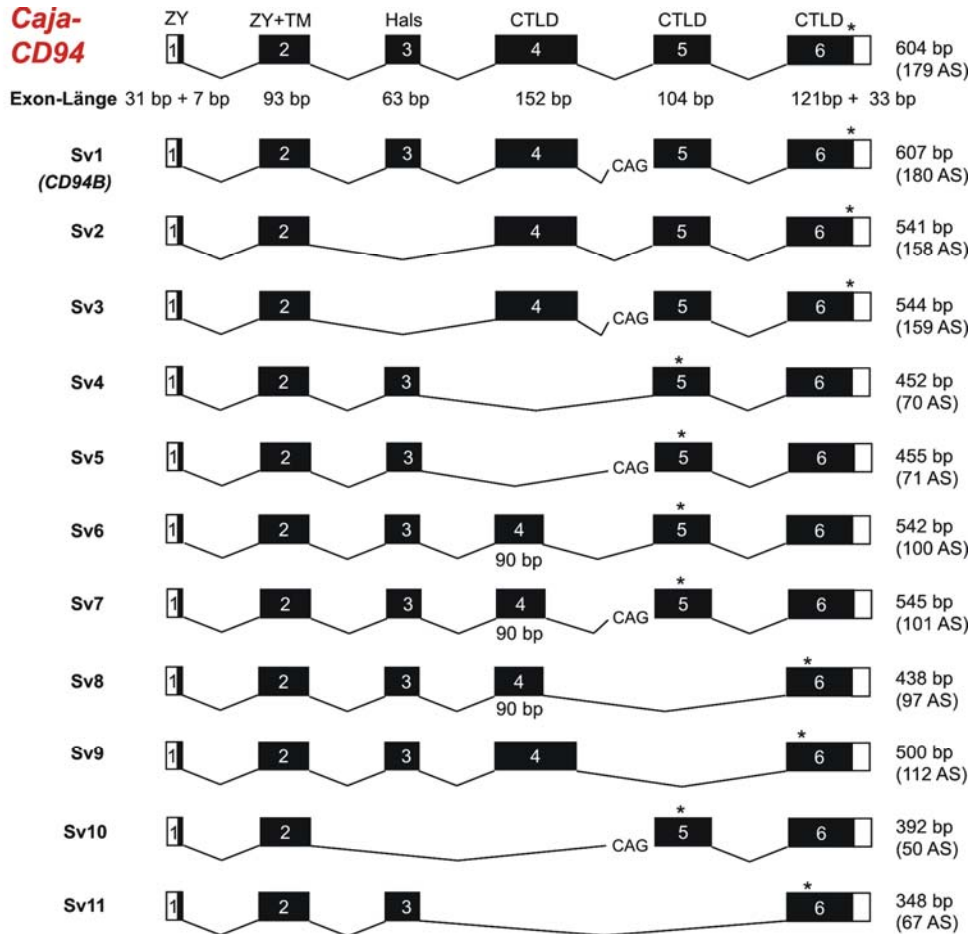


Abb. 15 Expressionsanalyse der NKC-Gene im Weißbüschelaffen

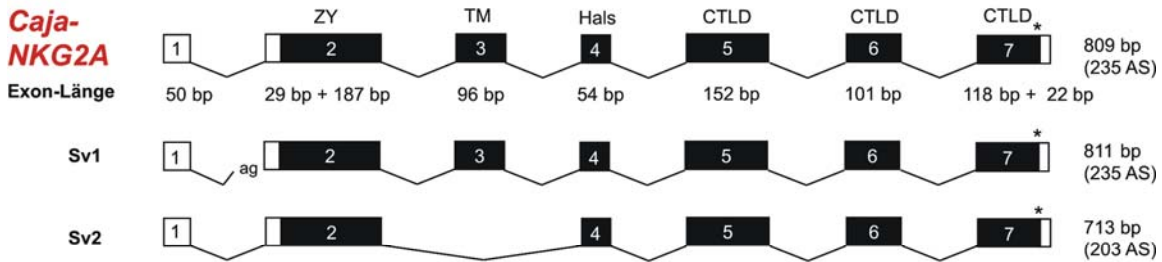
Legende siehe Seite 68.

B.

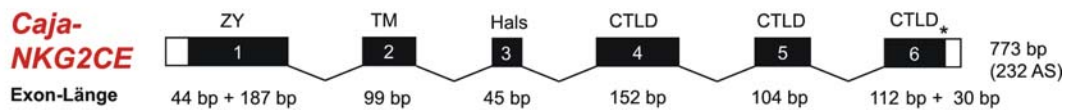
**Caja-  
CD94**



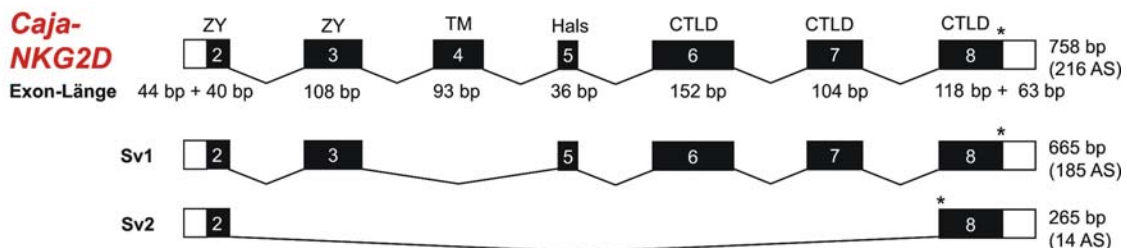
**Caja-  
NKG2A**



**Caja-  
NKG2CE**



**Caja-  
NKG2D**



**Abb. 15 Expressionsanalyse der NKC-Gene im Weißbüschelaffen**

A. RT-PCR der CD94-, NKG2D- und NKG2-Gene aus Leukozyten-RNA. Sowohl die stärkeren als auch die schwächeren Banden wurden aus dem Gel isoliert und sequenziert. Die Sequenzierung der starken Banden unterhalb 600 bp bei NKG2A ergaben keine Ähnlichkeiten zur NKG2A-Sequenz. Als Längenstandard diente GeneRuler™ 100bp DNA Ladder Plus. B. Schematische Darstellung der kompletten und alternativ gespleißten CD94-, NKG2D- und NKG2-cDNA-Sequenzen. Rechts ist die Länge der sequenzierten PCR-Produkte (entspricht der Bandenlänge in A.) sowie der abgeleiteten Aminosäuresequenzen angegeben. Die Exongrenzen wurden anhand der genomischen Sequenz des Weißbüschelaffen bestimmt. Nicht-kodierende Bereiche sind durch einen weißen Kasten und kodierende Bereiche durch einen schwarzen Kasten dargestellt. Von den Exons kodierte Proteindomänen sind ebenfalls aufgeführt: ZY, Zytoplasmaregion; TM, Transmembranregion; CTLD, C-Typ Lektin-ähnliche Domäne. Sternchen (\*) stellen Stopkodons dar. Die Exonlänge von CD94 bezieht sich auf das Allel Caja-CD94\*01, welches ein Kodon weniger in Exon 3 aufweist im Vergleich zu Caja-CD94\*02. Zugangsnummern der Sequenzen siehe Tab. 3 in Material und Methoden. Caja, *Callithrix jacchus*.

**3.1.3 Diversitätsanalyse der NKC-Gene im Weißbüschelaffen**

Die beiden analysierten BAC-Klone 191M1 und 188C15 stammen von unterschiedlichen Haplotypen und zeigen allelische Unterschiede im proteinkodierenden Bereich des CD94-Gens (Caja-CD94\*01, Caja-CD94\*02, Abb. 14), aber nicht in den proteinkodierenden Bereichen der Gene NKG2D, NKG2CE sowie NKG2A. Die Sequenzierung der entsprechenden cDNA-Sequenzen in neun weiteren, nicht verwandten, Weißbüschelaffen-Individuen lieferte weitere polymorphe Positionen für CD94, NKG2A und NKG2CE (SNP-Positionen siehe Tab. 11; Genotypen der einzelnen Individuen siehe Anhang unter 7.3). NKG2D erwies sich auch in diesen Tieren als monomorph.

Für CD94 wurden fünf SNP (*single nucleotide polymorphism*) gefunden, wovon zwei synonym und drei nicht-synonym sind (Tab. 11). Die nicht-synonymen Austausche befinden sich in der CTLD und die synonymen in der Zytoplasma- und Transmembranregion. Ein nicht-synonymer Austausch in Kodon 72 betrifft den vermutlichen Heterodimerkontaktbereich von CD94 mit NKG2 (Sullivan et al., 2007). Eine zusätzliche Aminosäure Threonin wurde in der Halsregion (Position 46) der CD94-Sequenz von BAC-Klon 191M1 (Caja-CD94\*02) (Abb. 14) und einem weiteren Weißbüschelaffen-Individuum gefunden (siehe Anhang unter 7.3.1). Somit ist CD94 im Weißbüschelaffen, ähnlich wie CD94 im Orang-Utan (Guethlein et al., 2002), polymorpher als CD94 im Menschen und im Schimpansen (Hikami et al., 2003; Shum et al., 2002), wo keine Austausche gefunden wurden.

Für NKG2A wurden fünf SNP identifiziert, die alle nicht-synonym sind und die Zytoplasmaregion, Halsregion sowie die CTLD betreffen (Tab. 11). Ein nicht-synonymer Austausch in Kodon 118 (Halsregion) betrifft den vermutlichen Heterodimerkontaktbereich (Sullivan et al., 2007). NKG2A im Schimpansen und im Orang-Utan ist ebenfalls moderat

polymorph (Guethlein et al., 2002; Shum et al., 2002). Im Menschen wurde nur ein nicht-synonymer Austausch für NKG2A beschrieben (Hikami et al., 2003).

In den NKG2CE-Sequenzen treten insgesamt vier SNP auf, von denen drei nicht-synonym sind, sowie einer synonym ist (Tab. 11). Die nicht-synonymen Austausche befinden sich in der Halsregion und der CTLD und der synonyme Austausch in der CTLD. Mäßig polymorph sind auch NKG2C und NKG2E im Menschen, NKG2CI, NKG2CII und NKG2E im Schimpansen sowie NKG2CE im Orang-Utan (Guethlein et al., 2002; Hikami et al., 2003; Shum et al., 2002).

Für NKG2D wurden im Weißbüschelaffen keine Austausche gefunden. Im Menschen und Orang-Utan wurde ein geringer Grad an Polymorphismus für NKG2D beschrieben und im Schimpansen erwies sich NKG2D als monomorph (Guethlein et al., 2002; Shum et al., 2002).

**Tab. 11 Synonyme und nicht-synonyme SNP in den CD94-, NKG2D- und NKG2-Sequenzen von insgesamt zehn Weißbüschelaffen-Individuen**

Caja, *Callithrix jacchus*; ZY, Zytoplasmaregion; TM, Transmembranregion; CTLD, C-Typ Lektin-ähnliche Domäne; Del., Deletion. Die angegebenen Nukleotid- und Aminosäurepositionen in CD94 beziehen sich auf das Allel Caja-CD94\*02 (Zugangsnummer: EF050439), welches ein zusätzliches Kodon im Vergleich zu Caja-CD94\*01 (Zugangsnummer: EF050438) aufweist.

Gen	Nukleotid-position (bp)	Nukleotid-austausch	Aminosäure-position	Aminosäure-austausch	Region/ Domäne
<i>Caja-CD94</i>	21	C/T	7	-	ZY
	66	G/A	22	-	TM
	136-138	Del./ACT	46	Del./T	Hals
	215	A/G	72	N/S	CTLD
	235	G/A	79	E/K	CTLD
	368	G/A	123	S/N	CTLD
<i>Caja-NKG2CE</i>	301	T/G	101	C/G	Hals
	463	C/A	155	L/I	CTLD
	550	T/C	184	W/R	CTLD
	567	C/T	189	-	CTLD
<i>Caja-NKG2A</i>	43	C/A	15	P/T	ZY
	176	A/G	59	Y/C	ZY
	353	A/G	118	H/R	Hals
	474	T/A	158	D/E	CTLD
	597	C/A	199	N/K	CTLD
<i>Caja-NKG2D</i>	-	-	-	-	-

### 3.1.4 5'-RACE-PCR-Analyse der NKC-Gene im Weißbüschelaffen

Für die CD94-, NKG2D- und NKG2-Gene im Weißbüschelaffen wurde über 5'-RACE-PCR und anschließender Klonierung sowie Sequenzierung der PCR-Produkte untersucht, ob es mögliche alternative Transkriptions- und Translationsstartpunkte für diese Gene gibt. So wird z.B. NKG2D in der Maus am 5'-Ende differentiell gespleißt. Das längere Spleißprodukt NKG2D-L (NKG2D *long*) besitzt ein zusätzliches strangaufwärts gelegenes Startkodon im Vergleich zum kürzeren Spleißprodukt NKG2D-S (NKG2D *short*) (Abb. 21) (Diefenbach et al., 2002). Im Menschen existiert nur die längere Spleißvariante.

Die 5'-RACE-PCR für NKG2D ergab verschiedene Transkriptionsstartpunkte (Abb. 16). Es wurden allerdings nur Spleißprodukte äquivalent zur murinen NKG2D-L Form gefunden, die das zusätzliche strangaufwärts gelegene Startkodon (Startkodon 4 in Abb. 16) besitzen. Translation von weiteren strangaufwärts gelegenen Startkodons (Startkodons 1-3 in Abb. 16) führt zum frühzeitigen Abbruch der Translation (Abb. 16).

Auch für CD94 und NKG2CE wurden verschiedene Transkriptionsstartpunkte gefunden, die allerdings keine alternativen Translationsstartpunkte liefern (Abb. 16). Ein möglicher alternativer Translationsstartpunkt wurde für NKG2A gefunden. Translation von Startkodon 3 (Abb. 16) führt zu einem NKG2A-Protein, welches 18 zusätzliche Aminosäuren am N-Terminus aufweist. Das Startkodon entspricht an Position -3 der Kozak-Konsensussequenz ((A/G)xxATGG) (Kozak, 1999), weicht allerdings an Position +4, an der sich ein Thyminrest befindet, von der Konsensussequenz ab. Ein NKG2A-Transkript startet strangabwärts vom Startkodon 3 in Intron 1 (Abb. 16), so dass für NKG2A möglicherweise, wie beim murinen NKG2D, verschiedene Transkripte mit unterschiedlichen Translationsstartpunkten existieren.

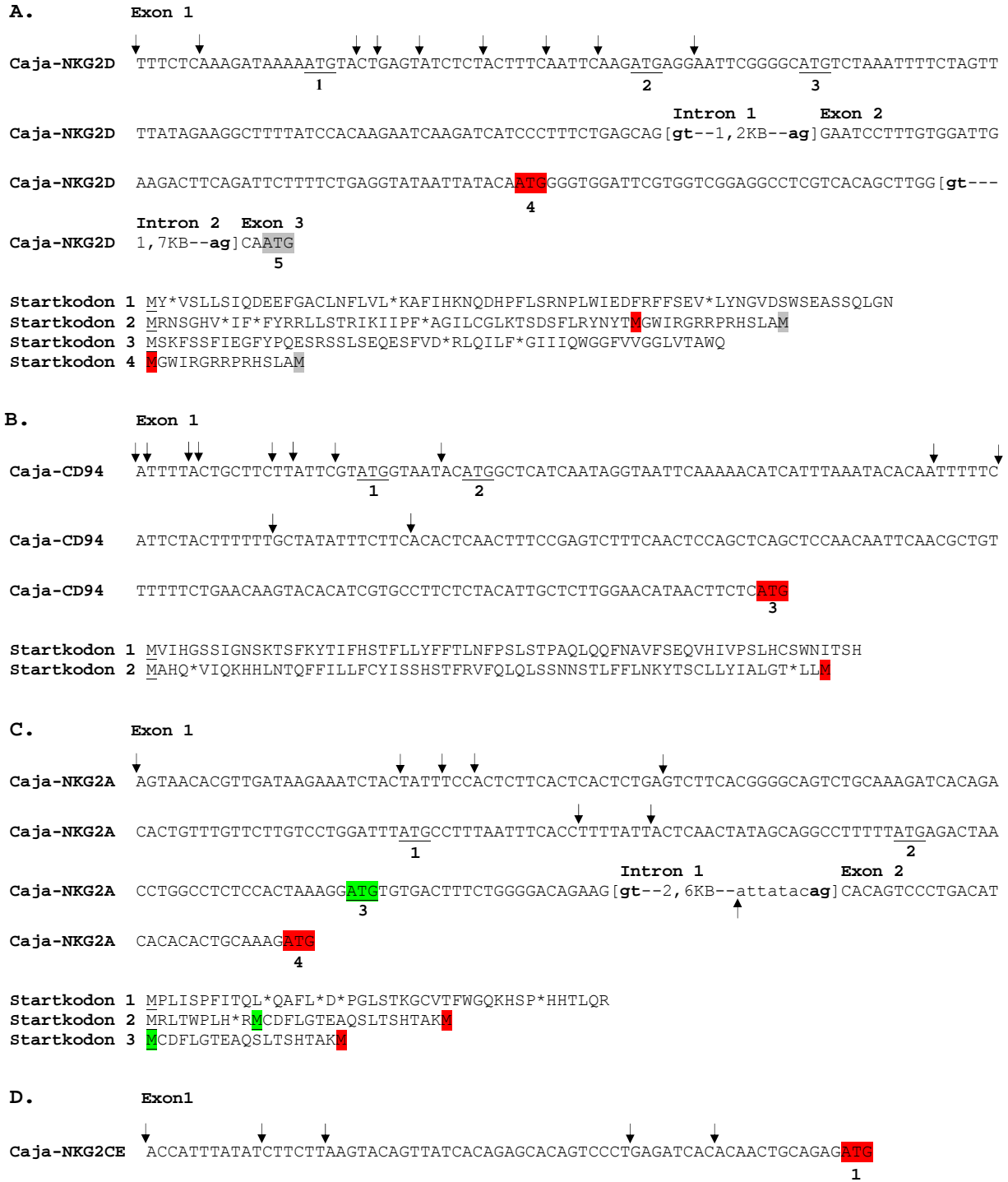


Abb. 16 Analyse der Transkriptions- und Translationsstartpunkte der Gene CD94, NKG2D und NKG2 des Weißbüschelaffen durch 5'-RACE

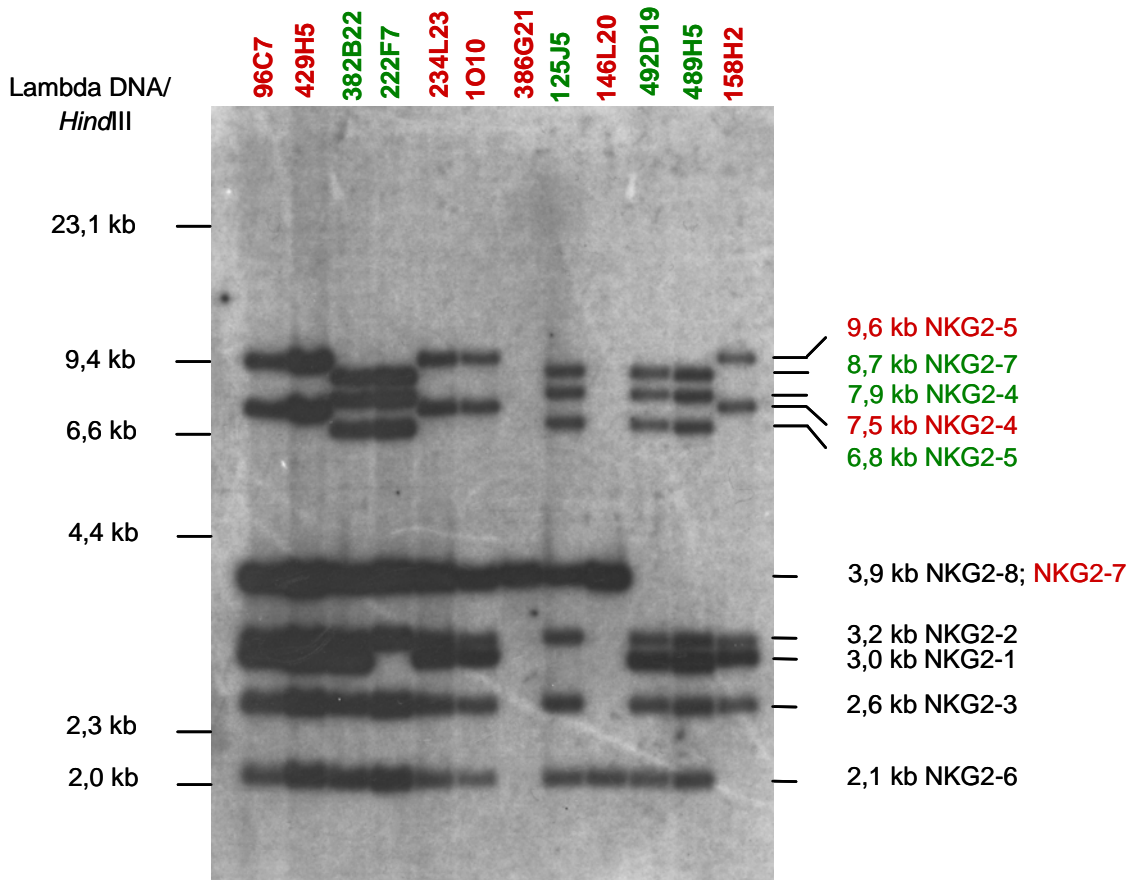
Verschiedene Transkriptionsstartpunkte (als Pfeil dargestellt) von NKG2D (A.), CD94 (B.), NKG2A (C.) und NKG2CE (D.) wurden über 5'-RACE-PCR ermittelt. Alle Startkodons sind durchnummeriert und die Aminosäuresequenz der theoretischen Translation von diesen Startkodons ist unterhalb der Nukleotidsequenzen angezeigt. Wahrscheinliche Translationsstartpunkte sind rot markiert und alle weiteren Startkodons unterstrichen. Das zur murinen NKG2D-S-Form homologe Startkodon in NKG2D (Startkodon 5) ist ebenfalls angegeben und grau markiert. Der alternative Translationsstartpunkt in NKG2A (Startkodon 3) ist grün markiert. Sternchen (\*) repräsentieren Stopkodons. Caja, *Callithrix jacchus*.

## 3.2 C-Typ Lektin-ähnliche NK-Zell-Rezeptoren im Mausmaki

### 3.2.1 Genomische Organisation des CD94-Ly49L-Intervalls im Mausmaki

Analog zum Weißbüschelaffen wurde eine BAC-Bank „CHORI-257“ des Grauen Mausmakis (*Microcebus murinus*), die vom Children's Hospital Oakland Research Institute bezogen wurde, mit den in 3.1.1 beschriebenen CD94-, NKG2D-, NKG2A- und Ly49L-Sonden durchsucht. 22 BAC-Klone, die mit mindestens einer Sonde eine Reaktion zeigten, wurden beim BACPAC Resources Center bestellt. Es wurde kein Klon gefunden, der mit mehr als zwei Sonden positiv reagiert hat, was darauf hindeutet, dass das CD94-Ly49L-Intervall des Mausmakis größer ist als das des Weißbüschelaffen. Die bestellten BAC-Klone wurden präpariert, mit dem Restriktionsenzym *EcoRI* geschnitten und auf Agarosegelen elektrophoretisch aufgetrennt. Es wurden entsprechende Southern-Blots erstellt, die mit den verschiedenen DNA-Sonden hybridisiert wurden. In Abb. 17 ist als Beispiel die Hybridisierung eines Southern-Blots von 12 BAC-Klonen mit der NKG2A-Sonde dargestellt. Die gesamten Hybridisierungsergebnisse sind in Tab. 12 zusammengefasst. Mit Ausnahme der Klone 64G21, 348N6 und 498E15 erwiesen sich alle BAC-Klone im Southern-Blot als positiv. Überraschenderweise reagierte die CD94-Sonde mit drei Restriktionsfragmenten von 19,5 kb, 11,9 kb und 10,2 kb (Tab. 12), was darauf hindeutet, dass es mehr als ein CD94-Gen gibt. In den bisher untersuchten Primaten Mensch (Sobanov et al., 1999), Schimpanse (Shum et al., 2002), Orang-Utan (Guethlein et al., 2002) und Rhesusaffe (LaBonte et al., 2000) sowie dem in dieser Arbeit untersuchten Weißbüschelaffen, ist CD94 ein einzelnes, stark konserviertes Gen.

Der mit der NKG2A-Sonde hybridisierte Southern-Blot zeigte Restriktionsfragmentlängenpolymorphismen (RFLP) für einige BAC-Klone (Abb. 17). Dementsprechend konnten die BAC-Klone 96C7, 429H5, 234L23, 1O10 sowie 158H2 einem Haplotyp zugeordnet werden (Haplotyp 1) und die BAC-Klone 382B22, 222F7, 125J5, 492D19 sowie 489H5 einem weiteren Haplotyp (Haplotyp 2) (Abb. 17).



**Abb. 17 Southern-Blot-Analyse von 12 BAC-Klonen der BAC-Bank „CHORI-257“ (*Microcebus murinus*) mit der humanen NKG2A-Sonde**

Links ist der Längenstandard angegeben und rechts die Länge der hybridisierenden Restriktionsfragmente. Die BAC-Klone wurden mit dem Restriktionsenzym *EcoRI* geschnitten. Mit Hilfe von Sequenzdaten und aufgrund von Restriktionsfragmentlängenpolymorphismen (RFLP) konnten die Restriktionsfragmente verschiedenen Genen und Haplotypen zugeordnet werden. BAC-Klone, die zum Haplotyp 1 gehören, sind rot gekennzeichnet und BAC-Klone, die zum Haplotyp 2 gehören, grün. Die Restriktionsfragmentlängen, in denen sich die beiden Haplotypen unterscheiden, sind entsprechend rot für Haplotyp 1, bzw. grün für Haplotyp 2 markiert.

**Tab. 12 Übersicht der Southern-Blot-Hybridisierungsergebnisse von 22 BAC-Klonen der BAC-Bank „CHORI-257“ (*Microcebus murinus*) mit den Sonden NKG2A, CD94, NKG2D und Ly49L**

Es sind die untersuchten BAC-Klone angegeben und die Länge der hybridisierenden Restriktionsfragmente (RFL, Restriktionsfragmentlängen). Positive Hybridisierungsergebnisse der BAC-Klone mit den verschiedenen Sonden sind mit einem „+“ gekennzeichnet.

Sonde: Mensch-NKG2A

RFL \ Klon	1E 15	77 H4	60 P11	50 I2	64 G21	96 C7	386 G21	494 J1	481 C2	348 N6	498 E15
9,6 kb						+					
8,7 kb											
7,9 kb											
7,5 kb						+					
6,8 kb											
3,9 kb	+	+				+	+	+			
3,2 kb						+					
3,0 kb						+					
2,6 kb						+					
2,1 kb						+					

RFL \ Klon	481 J13	158 H2	489 H5	492 D19	146 L20	125 J5	10 10	234 L23	222 F7	382 B22	429 H5
9,6 kb		+					+	+			+
8,7 kb			+	+		+			+	+	
7,9 kb			+	+		+			+	+	
7,5 kb		+					+	+			+
6,8 kb			+	+		+			+	+	
3,9 kb	+				+	+	+	+	+	+	+
3,2 kb		+	+	+		+	+	+	+	+	+
3,0 kb		+	+	+			+	+		+	+
2,6 kb		+	+	+		+	+	+	+	+	+
2,1 kb			+	+	+	+	+	+	+	+	+

Sonde: Mensch-CD94

RFL \ Klon	1E 15	77 H4	60 P11	50 I2	64 G21	96 C7	386 G21	494 J1	481 C2	348 N6	498 E15
19,5 kb			+	+					+		
11,9 kb			+	+					+		
10,2 kb			+	+					+		

RFL \ Klon	481 J13	158 H2	489 H5	492 D19	146 L20	125 J5	10 10	234 L23	222 F7	382 B22	429 H5
19,5 kb											
11,9 kb											
10,2 kb											

Sonde: Maus-NKG2D

RFL \ Klon	1E 15	77 H4	60 P11	50 I2	64 G21	96 C7	386 G21	494 J1	481 C2	348 N6	498 E15
7,6 kb			+	+							

RFL \ Klon	481 J13	158 H2	489 H5	492 D19	146 L20	125 J5	10 10	234 L23	222 F7	382 B22	429 H5
19,5 kb		+	+	+							

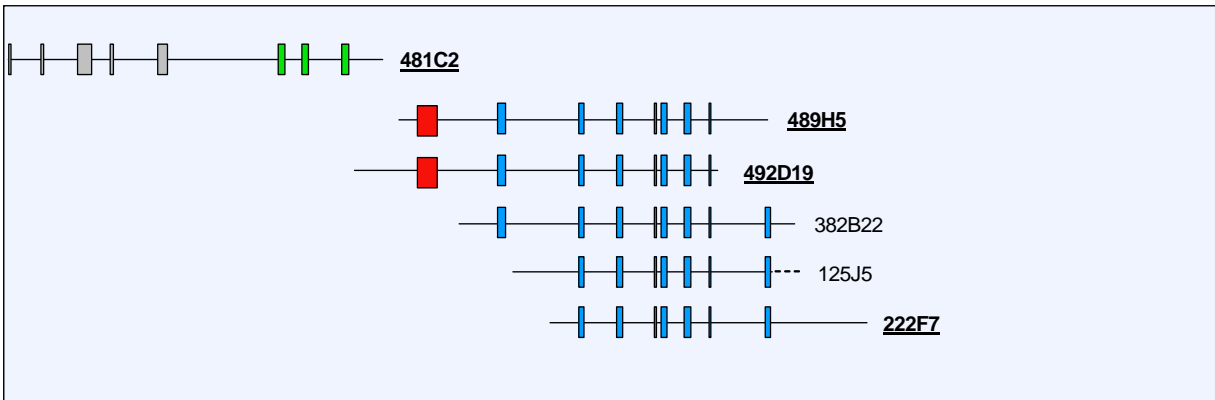
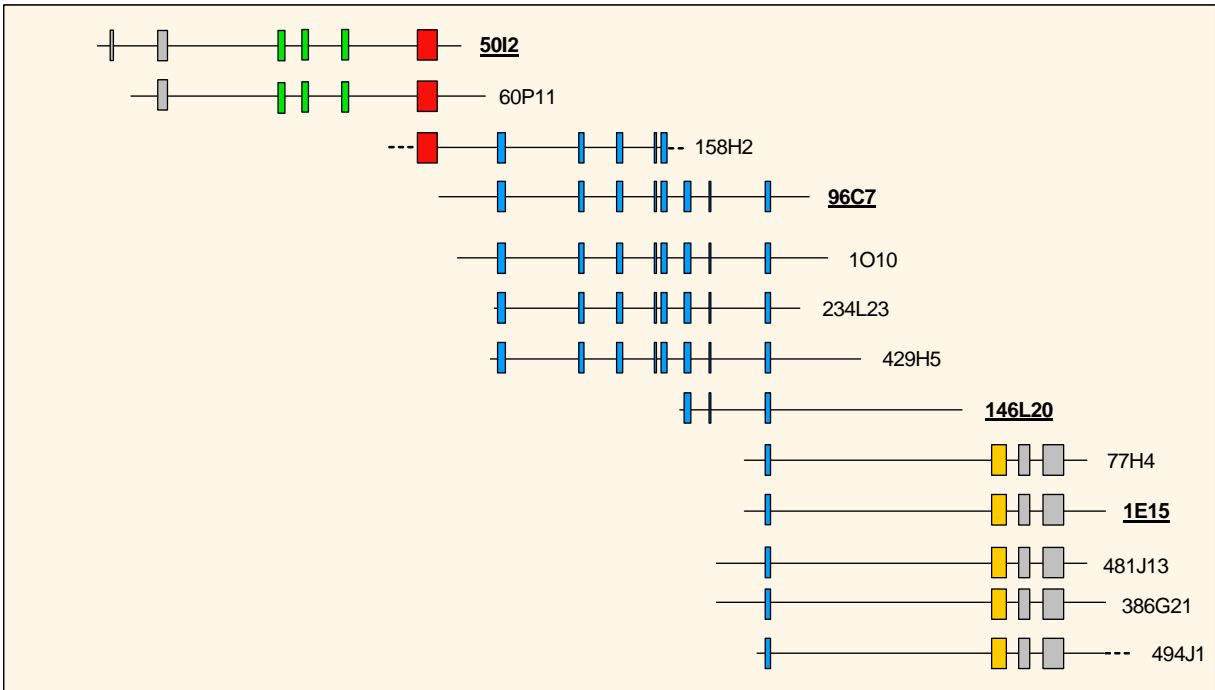
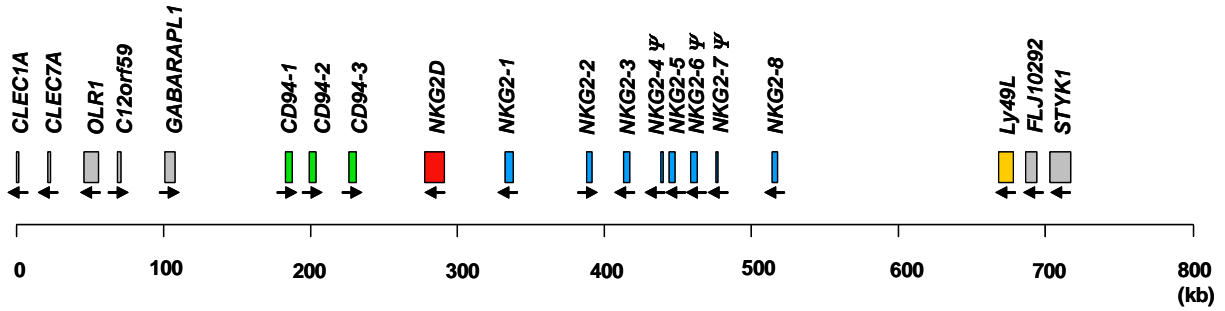
Sonde: Mensch-Ly49L

Klon \ RFL	1E 15	77 H4	60 P11	50 I2	64 G21	96 C7	386 G21	494 J1	481 C2	348 N6	498 E15
5,2 kb	+	+					+	+			
3,8 kb	+	+					+	+			

Klon \ RFL	481 J13	158 H2	489 H5	492 D19	146 L20	125 J5	10 10	234 L23	222 F7	382 B22	429 H5
5,2 kb	+										
3,8 kb	+										

Zur kompletten Sequenzierung wurde ein Klon ausgewählt, der nur mit der CD94-Sonde reagierte (481C2), ein Klon, der mit der CD94- und NKG2D-Sonde reagierte (50I2), zwei Klone, die mit der NKG2D- und NKG2A-Sonde reagierten (489H5, 492D19), drei Klone, die nur mit der NKG2A-Sonde reagierten (96C7, 146L20, 222F7), sowie ein Klon der mit der NKG2A- und Ly49L-Sonde reagierte (1E15). Die Sequenzierungen wurden von Dr. Richard Reinhardt (MPI für Molekulare Genetik in Berlin) durchgeführt. Anhand der überlappenden BAC-Sequenzen konnten die Klone 50I2, 96C7, 146L20 sowie 1E15 dem Haplotyp 1 zugeordnet werden und die Klone 481C2, 489H5, 492D19 sowie 222F7 dem Haplotyp 2 (Abb. 18). Vom Haplotyp 1 konnte die durchgängige Sequenz des CD94-Ly49L-Intervalls ermittelt werden, die mit 489 kb deutlich länger ist als die des Menschen oder des Weißbüschelaffen. Die von Dr. Richard Reinhardt zur Verfügung gestellten BAC-Sequenzen wurden im Rahmen dieser Arbeit auf das Vorhandensein von NKC-Genen hin untersucht.

Die genomischen Sequenzen der NKC-Gene des Mausmakis sind im Anhang unter 7.9 abgebildet und die genomische Organisation des CD94-Ly49L-Intervalls ist in Abb. 18 dargestellt. Unterhalb der Genkarte in Abb. 18 sind die überlappenden BAC-Klone gezeigt. Die Informationen über die exakten 5'- und 3'-Enden der BAC-Sequenzen stammen von Endsequenzierungen der BAC-Klone. Testsequenzierungen von den Klonen 60P11, 77H4, 481J13, 386G21 sowie 494J1 ermöglichten die Zuordnung dieser Klone zu den verschiedenen Haplotypen. Sowohl die End- als auch Testsequenzierungen der BAC-Klone wurden von Dr. Richard Reinhardt (MPI für Molekulare Genetik) durchgeführt und zur Analyse zur Verfügung gestellt.



**Abb. 18** Schematische Darstellung des CD94-Ly49L-Intervalls im Mausmaki mit den analysierten BAC-Klonen

BAC-Klone, die zum Haplotyp 1 gehören, sind mit einem gelben Kasten hinterlegt und BAC-Klone, die zum Haplotyp 2 gehören, mit einem blauen Kasten. Unterstrichene BAC-Klone wurden komplett sequenziert. Unbekannte Enden der BAC-Klone sind durch eine gestrichelte Linie gekennzeichnet. Die Pfeile geben die 5'-3'-Orientierung der Gene an. Bei NKG2-4, NKG2-6 und NKG2-7 handelt es sich um Pseudogene (Ψ). Die ebenfalls im NKC gelegenen Gene CLEC1A, CLEC7A, OLR1, C12orf59, GABARAPL1, FLJ10292 und STYK1 kodieren nicht für NK-Zell-Rezeptoren.

Wie bereits die Hybridisierung des Southern-Blots mit der CD94-Sonde andeutete, existieren im Mausmaki mehrere CD94-Gene. Es wurden insgesamt drei verschiedene Gene identifiziert, die als CD94-1, CD94-2 und CD94-3 bezeichnet wurden (Abb. 18). Benachbart zu den drei CD94-Genen befindet sich ein NKG2D-Gen (Abb. 18), welches ortholog zu NKG2D im Menschen ist (3.5.2). Ferner wurden acht Sequenzen identifiziert, die Ähnlichkeiten zu den humanen Genen NKG2A, -C, -E und -F zeigen. Jedoch konnten keine orthologen Beziehungen zwischen einzelnen NKG2-Sequenzen des Mausmakis zu bestimmten NKG2-Sequenzen des Menschen festgestellt werden (3.5.3). Aufgrund dessen wurden die NKG2-Gene des Mausmakis entsprechend ihrer genomischen Organisation (Abb. 18) als NKG2-1 bis NKG2-8 bezeichnet. Bei den Genen NKG2-4, NKG2-6 und NKG2-7 handelt es sich um Pseudogene. NKG2-4 umfasst lediglich zwei Exons (siehe Anhang unter 7.9.8), die Ähnlichkeiten zu Exon 1<sup>2</sup> und Exon 5<sup>2</sup> der humanen NKG2-Gene zeigen. NKG2-6 besteht aus sechs Exons (siehe Anhang unter 7.9.10), die gewisse Übereinstimmungen zu den Exons der humanen NKG2-Gene zeigen. Exon 1 zeigt nur am 3'-Ende geringfügig Homologien zu Exon 1<sup>2</sup> der NKG2-Gene des Menschen, ein potentiell Startkodon fehlt. Das Pseudogen NKG2-7 umfasst drei Exons (siehe Anhang unter 7.9.11), die Homologien zu Exon 1<sup>2</sup>, Exon 3<sup>2</sup> und Exon 4<sup>2</sup> der NKG2-Gene des Menschen zeigen.

Neben drei CD94-Genen, einem NKG2D-Gen sowie acht NKG2-Genen wurde ein Ly49L-Gen gefunden. Im Gegensatz zum Weißbüschelaffen sind im Mausmaki keine Exons des Ly49L-Gens deletiert. 5'-wärts von CD94-1 liegen die Gene GABARAPL1, C12orf59, OLR1, CLEC7A und CLEC1A und 5'-wärts von Ly49L die Gene FLJ10292 und STYK1. Diese Gene sind auch in der humanen NKC-Region vorhanden (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>), kodieren aber nicht für NK-Zell-Rezeptoren. Die Anordnung der NKC-Gene sowie deren 5'-3'-Orientierung sind identisch zum Menschen (Sobanov et al., 1999) und Weißbüschelaffen (Abb. 13). Eine Ausnahme stellt das Gen NKG2-2 dar, welches gegenläufig zu den anderen NKG2-Genen orientiert ist (Abb. 18).

---

<sup>2</sup> Als Exon 1 wird hier vereinfacht das erste proteinkodierende Exon der humanen NKG2-Gene bezeichnet. Die weiteren Exons sind fortlaufend nummeriert.

### 3.2.2 Expression der NKC-Gene im Mausmaki

Zur Analyse der Expression der NKC-Gene wurde RNA aus Lebergewebe, das üblicherweise reich an NK-Zellen ist, von einem Mausmaki-Individuum isoliert. Es wurden RT-PCR-Experimente mit Primern durchgeführt, die anhand der genomischen DNA-Sequenz des Mausmakis ausgewählt wurden (siehe Tab. 7 in Material und Methoden). Die PCR-Produkte wurden kloniert und sequenziert. Auf diese Weise konnten die kompletten cDNA-Sequenzen der drei CD94-Gene und der Gene NKG2D, NKG2-2, NKG2-3, NKG2-5, NKG2-8 sowie Ly49L ermittelt werden. Das Gen NKG2-6 konnte mit dem Primerpaar 3030/3031 nicht aus Lebergewebe amplifiziert werden, was das Ergebnis der genomischen Sequenzanalyse untermauert, dass es sich bei diesem Gen um ein Pseudogen handelt. Ebenso konnte das Gen NKG2-1 mit verschiedenen Primerpaaren nicht aus Lebergewebe amplifiziert werden. Da die genomische Sequenz keinerlei Anzeichen darauf lieferte, dass es sich hierbei um ein Pseudogen handelt, wurde RNA aus Leukozyten eines weiteren Mausmaki-Individuums isoliert. Über RT-PCR mit den NKG2-1-spezifischen Primern (siehe Tab. 7 in Material und Methoden) konnte nun die komplette cDNA-Sequenz von NKG2-1 ermittelt werden. Die cDNA-Sequenzen der NKC-Gene sind im Anhang unter 7.6 und die abgeleiteten Aminosäuresequenzen in Abb. 19 abgebildet. In Abb. 29-32 sind die Aminosäuresequenzen im Vergleich mit den Sequenzen anderer Primaten dargestellt.

	ZY		
Mimu-NKG2-1*01	MDNQRV	YSEM	NLAKNPKRQQRKSKDTKSSISKTEQE
Mimu-NKG2-2*01	.K..K.T..G	.....	F.GD.....V.....QV.....TSG...KEK 58
Mimu-NKG2-2*02	.K..K.T..G	.....	.....GD.....V.....QV.....H..TSG...KEK 58
Mimu-NKG2-3*01	...T.....I	L...T...K...T...E.D.	.....-...RV.. 57
Mimu-NKG2-3*02	...T.....I	L...T...K...T...E.D.	.....-...RV.. 57
Mimu-NKG2-5*02	.K.....	.....D.....GG.....V.....AQV.....TL-.S.KEK 52	
Mimu-NKG2-5A*03	.K.....	.....D.....GG.....V.....AQV.....TL-.S.KEK 52	
Mimu-NKG2-5B*03	.K.....	.....D.....GG.....V.....AQV.....TL-.S.KEK 52	
Mimu-NKG2-8*01	.....	.....Q.S.....E.K.....	.....-..... 57
	Position 1		Position 2
Mimu-CD94-1			
Mimu-CD94-2*01			
Mimu-CD94-3A*01			
Mimu-CD94-3B*01			
Mimu-Ly49L*01			MSDQGV
			IYSTV
			RFLQSSSESESGRSPDVTLRP 32
Mimu-NKG2D*01			MNEFHNYNWKLAKRDTSTQWKKQRS 25

	<b>ZY</b>	<b>TM</b>
Mimu-NKG2-1*01	SYHCKDLLLPPEK	LIAGILGIICLILMPM-VI---LVI 92
Mimu-NKG2-2*01	TCYYQFS.....	.T.E..AV..TV.VSS-.L MI-.LA 95
Mimu-NKG2-2*02	TCYYQFS.....	.T.E..A...TV.VGS-.L MI-.IA 95
Mimu-NKG2-3*01	...Y.....Q..	.....L..V.IMST.V-TS-..- 93
Mimu-NKG2-3*02	...Y.....Q..	.....L..V.IMST.V-TS-..- 93
Mimu-NKG2-5*02	ICYYNVS.....	.T.E..AV..VV.VGS-.L M-V.IA 89
Mimu-NKG2-5A*03	ICYY.LS.....	.T.E..AV..VV.VGS-.L M-V.IA 89
Mimu-NKG2-5B*03	ICYY.LS.....	.T.E..AV..VV.VGS-.L M-V.IA 89
Mimu-NKG2-8*01	.....	.....V.IMST.V-TS-..- 93
	Position 3	
Mimu-CD94-1	MAVSQTRWR	LISGTLGVICLLLMVTLGMLL 31
Mimu-CD94-2*01	.....	.....I.. 31
Mimu-CD94-3A*01	.....	..... 31
Mimu-CD94-3B*01	.....	..... 31
Mimu-Ly49L*01	EKTDDKEFSVSWR	LIAVSLGILCLVLLVIVTVLVT 67
Mimu-NKG2D*01	TLITSRCTENSSP	FFLC SIAIAMGIHFIMVTIL 60
	<b>Hals</b>	<b>‡</b>
Mimu-NKG2-1*01	--PS--RLMQNNSLQNMRTQKDS DSSAYHCAH 120	
Mimu-NKG2-2*01	HI.CTLTQKP.I.F.TI.....G.GR 122	
Mimu-NKG2-2*02	HI.CTLTQKP.I.F.AI.....G.GR 122	
Mimu-NKG2-3*01	-NS.RVPQE...FS.TT.....CN.GR 119	
Mimu-NKG2-3*02	-NS.RVPQE...FS.TT.....CN.GR 119	
Mimu-NKG2-5*02	LI.FTVIKK.D..F..VK.....D.GR 116	
Mimu-NKG2-5A*03	LI.FTVIKK.D..F..VK.....D.GR 116	
Mimu-NKG2-5B*03	LI.--LIKK.D..F..VK.....D.GR 114	
Mimu-NKG2-8*01	-Y..TETKK...T..TV.....GR 119	
		<b>‡</b>
Mimu-CD94-1	KSL-----PNEIDIKPTSSSLPNKELQEGSDCCS 60	
Mimu-CD94-2*01	..-----ILQTSTEA.H.PRL----- 58	
Mimu-CD94-3A*01	..SNFESFLMAHTKT.VES...PG.DR....P.... 68	
Mimu-CD94-3B*01	..Y-----VES...PG.DR....P.... 55	
Mimu-Ly49L*01	KIFQCIQERHQQEILGHLSQKDNYLKEQLLINKTLEYDILKNESLQQKKLDSLFLKNN 127	
Mimu-NKG2D*01	SAIFINSLFNQGVPISEGSYCGP 84	
	<b>Hals</b>	<b>CTLD</b>
Mimu-NKG2-1*01		CPEEWFTYSTNCYYIGKELKTWDESVTACAS 151
Mimu-NKG2-2*01		....LA.....S..T....D.... 153
Mimu-NKG2-2*02		....LA.....S..T....D..K... 153
Mimu-NKG2-3*01		....L.....S..T....D..K... 150
Mimu-NKG2-3*02		....L.....S..T....D..K... 150
Mimu-NKG2-5*02		.....S..F.....LI... 147
Mimu-NKG2-5A*03		.....S..F.....LI... 147
Mimu-NKG2-5B*03		.....S..F.....LI... 145
Mimu-NKG2-8*01		.....S.S..F..... 150
Mimu-CD94-1		CPEKWVGYRCNCYFISLEMKTWNESRNFCVS 91
Mimu-CD94-2*01		.....G.V...E...I..I. 89
Mimu-CD94-3A*01		..K.....W.....S.....A. 99
Mimu-CD94-3B*01		..K.....W.....S.....A. 86
Mimu-Ly49L*01	ICHIKNEIFSKSLENT	GKRYEAHWTCCLGLSCYFAMENKNWKGCKQT 174
Mimu-NKG2D*01		CPKNWLCYRNNCYQFFNESKNWYESQASCMS 115

CTLD	
Mimu-NKG2-1*01	NNSNLFYTENEEEMKFLGSLSLLSWFGVSRNSSDHPWVLRDGSTFKLNI IET EYGNRNCA 211
Mimu-NKG2-2*01	K...L.ID.....S...KKA.I..F...EQ...S.N.....K.E.SIP.RH... 213
Mimu-NKG2-2*02	K...L.ID.....S...KKA.I..F...EQ...S.N.....K.E.SIP.KH... 213
Mimu-NKG2-3*01	K...L.ID.....S...KKA.I..F...EQ..IS.N.....K.E.VS.RH... 210
Mimu-NKG2-3*02	K...L.ID.....S...KKA.I..F...EQ..IS.N.....K.E.VS.RH... 210
Mimu-NKG2-5*02	KS.S.L.IDD.....NQA.I..F..G..R...SIN...N.K.E.I.L..RNH.. 207
Mimu-NKG2-5A*03	KS.S.L.IDD.....NQA.I..F..G..R...SIN...N.K.E.I.L..RNH.. 207
Mimu-NKG2-5B*03	KS.S.L.IDD.....NQA.I..F..G..R...SIN...N.K.E.I.L..RNH.. 205
Mimu-NKG2-8*01	.....L.ID.A.II.....LRQ..I..F...H...SIN.....Q.V..AT.K... 210
Mimu-CD94-1	QNSSLQQLQNRDELPMHSNTKFFYWIGLSYNTERGVWQWENGSAQSQNLFSSFETPDPEN 151
Mimu-CD94-2*01	.....A.Y..QY.....D...D..NF.R.....K. 149
Mimu-CD94-3A*01	.....N..NFSQR.....E..A.L.....F.WD...L...TK. 159
Mimu-CD94-3B*01	.....N..NFSQR.....E..A.L.....F.WD...L...TK. 146
Mimu-Ly49L*01	CQSYKSSLLKIDDEDELTFVQLQIYKNNYWIGLSYDERESKWKWVDSGSSPGINVGIMNS 234
Mimu-NKG2D*01	QNSSLKIKYSRVDQDFLKLKVSYHWMGLVQMSTNGSWQWDDGTILSPNQTLVIEMQRGSC 175
CTLD	
Mimu-NKG2-1*01	VLYKYRLQSDECRSSKLYICKHKR* 235
Mimu-NKG2-2*01	..QSPS.H.GG.E.T.T....EF* 237
Mimu-NKG2-2*02	..QSPS.H.GG.E.T.T....EF* 237
Mimu-NKG2-3*01	..QSPS.H.GG.E.T.T....EP* 234
Mimu-NKG2-3*02	..QSPS.H.GG.E.T.T....EP* 234
Mimu-NKG2-5*02	...SSS.H.SG...P.T.....L* 231
Mimu-NKG2-5A*03	...SSS.H.SG...P.T.....L* 231
Mimu-NKG2-5B*03	...SSS.H.SG...P.T.....L* 229
Mimu-NKG2-8*01	I.HSDG....G.E.L.R.H....L* 234
Mimu-CD94-1	CILYDLTNNMTMDEPCERKNHYICILQLI* 179
Mimu-CD94-2*01	..V..AMKSAV.....Q..F..KKS.FKCFLGQRGGDNQSSITTNSIFTPHYCY* 204
Mimu-CD94-3A*01	..V.KPM.SA.....E.....KQ...* 187
Mimu-CD94-3B*01	..V.KPM.SA.....E.....KQ...* 174
Mimu-Ly49L*01	SSGRGKCGFLSSTRVAAIDCIQTYNCICEKRIGCSIFSASACTEKKR* 281
Mimu-NKG2D*01	VVYGSSFKGYTENCSTPYMYICMRRIM* 202

**Abb. 19 Aminosäuresequenzen der NKC-Gene des Mausmakis**

Die Aminosäuresequenzen sind unterteilt in Zytoplasmaregion (ZY), Transmembranregion (TM), Hals und C-Typ Lektin-ähnliche Domäne (CTLD). Punkte zeigen identische Aminosäuren der NKG2-Sequenzen zu NKG2-1\*01 sowie der CD94-Sequenzen zu CD94-1 an. Striche kennzeichnen Deletionen. ITIM-Sequenzen an den Positionen 1, 2 und 3 sind grün und YxxM-Motive gelb markiert. Positiv geladene Arginin- und Lysinreste in der Transmembranregion sind rot hinterlegt. Zwei Allele von NKG2-2, -3 und -5, die Aminosäureaustausche in den Signalmotiven aufweisen, wurden mit in den Vergleich aufgenommen sowie zwei verschiedene Isoformen von NKG2-5 (NKG2-5A/B) und CD94-3 (CD94-3A/B). In dem von der genomischen Sequenz abgeleiteten Allel Mimiu-NKG2-5\*02 ist der differentiell gespleißte Bereich durch eine eckige Klammer gekennzeichnet. Aminosäureaustausche zwischen den Allelen sind grau und Sequenzunterschiede zwischen den verschiedenen Isoformen hellbraun markiert. Eine Darstellung der gesamten identifizierten Allele der NKC-Gene befindet sich in Abb. 29-32. Putative Ligandenbindebereiche von CD94 und NKG2 sind orange hinterlegt (Sullivan et al., 2007). Heterodimerkontakte zwischen CD94 und NKG2 (blaue Balken oberhalb der Sequenz) basieren auf der Kristallstruktur von CD94-NKG2A des Menschen (Sullivan et al., 2007). Sternchen (\*) zeigen Stopkodons. Mimiu, *Microcebus murinus*.

### 3.2.2.1 Expression von CD94 im Mausmaki

Die proteinkodierenden Bereiche der drei CD94-Sequenzen weisen auf Nukleotidebene eine Identität von 88,4-88,7 % auf und auf Aminosäureebene eine Identität von 76,8-77,1 % (siehe Anhang unter 7.2.1). Die cDNA-Sequenz von CD94-2 besitzt im Vergleich zu CD94-1 und CD94-3 ein um 81 bp verlängertes Exon 6 (Abb. 20). Aufgrund einer Deletion in Exon 6 von CD94-2 kommt es zur Leserasterverschiebung und zum Abbruch der Translation durch ein weiter strangabwärts gelegenes Stopkodon (Abb. 20). Das 3'-Ende von CD94-2 wurde experimentell über 3'-RACE-PCR ermittelt (siehe Tab. 7 in Material und Methoden).

```
Mimu-CD94-1  ATTTTCATCATTGAAACTCCAGATCCAGAAAAGTGCATATTGTATGATCTAACGAACAATACTATGGAT 70
Mimu-CD94-2  ATTTTCATCATTGAAACTCCAGACCCAAAGAAGTGCATAGTGTATGACGCAATGAAAAGTGCTGTGGAT 70
Mimu-CD94-3  ATTTTCATCATTGAAACTCCAGATACAAAGAAGTGCATAGTGTATAAGCCAATGAACAGTGCTATGGAT 70

Mimu-CD94-1  GAACCGTGTGAAAGAAAGAATCATTACATCTGTATACTACAGCTTATT TAA GTGTTTATTGGAACAAAGA 140
Mimu-CD94-2  GAACCGTGTGAAAGACAGAATCATTTCATCTGTAAAAA AGCTTATTTAAGTGCTTCTTAGGACAGAGA 139
Mimu-CD94-3  GAACCATGTGAAAGAGAGAATCATTACATCTGTAAACAACAGCTCATT TAA GTGCCCTTGGGTCAGAGA 140

Mimu-CD94-1  GACGGGGGCTACAGATCCAGGATTACTCCGAATAGTATTTTACCTCATATTATTGCTATTTTC 203
Mimu-CD94-2  GGTGGGGACACCAATCCAGTATTACTACAATAGTATTTTACCCACATTATTGCTAT TAA 202
Mimu-CD94-3  GGTGGAGACTACAGAGCCAGGATTACTCCAATAGTATTTTACCTCATATTATTACTATTAA 203
```

**Abb. 20 Nukleotidsequenzen von Exon 6 der drei CD94-Gene des Mausmakis**

Dargestellt ist der proteinkodierende Bereich der Exon 6-Sequenzen von CD94-(1-3). Die Deletion in CD94-2 ist blau und Stopkodons sind rot markiert. Von der BAC-Sequenz abgeleiteter 3'-UTR von CD94-1 und CD94-3 wurde mit in den Vergleich übernommen (grün markiert). Mimu, *Microcebus murinus*.

Die Proteinsequenzen der drei CD94-Gene besitzen wie CD94 in anderen Primaten eine verkürzte Zytoplasmaregion, die keine Signalmotive aufweist. Auch eine positiv geladene Aminosäure in der Transmembranregion fehlt (Abb. 19).

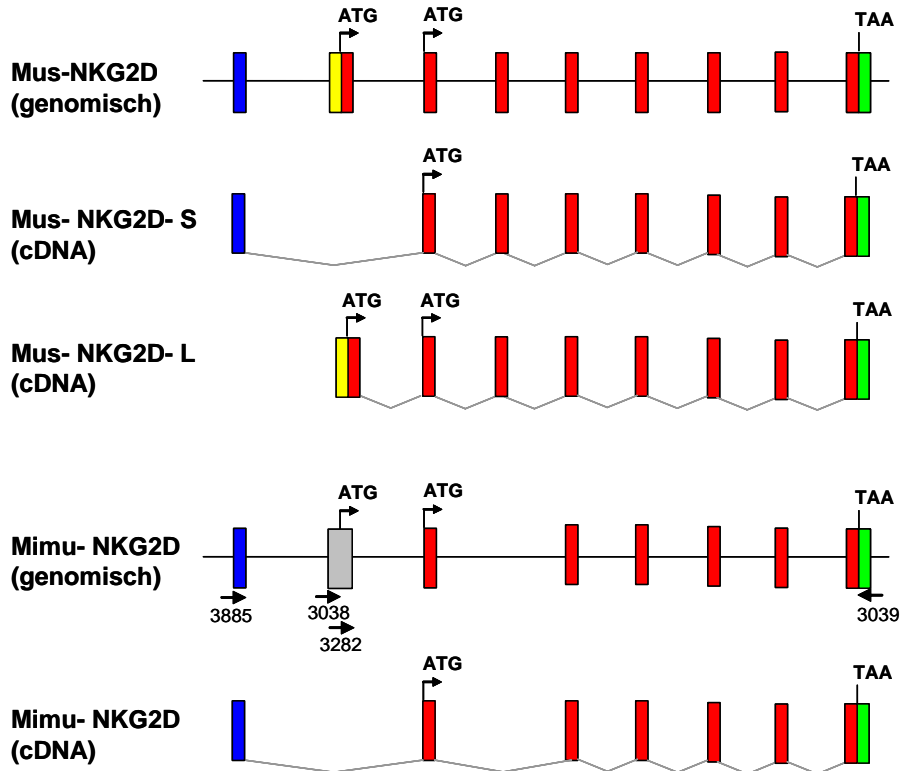
Während die Zytoplasma- und Transmembranregionen der drei CD94-Moleküle stark konserviert sind, treten Sequenzunterschiede verstärkt in der Halsregion und der CTLD auf (Abb. 19). Insbesondere die Halsregion erwies sich zwischen den drei Rezeptoren als sehr divers. Hier treten gehäuft Aminosäureaustausche sowie Insertionen und Deletionen auf. Die Länge von Exon 3, welches für die Halsregion kodiert, variiert zwischen allen drei CD94-Genen. Für CD94-1 beträgt sie 63 bp und 57 bp für CD94-2 (Abb. 23B). Für CD94-3 wurden zwei verschiedene Transkripte gefunden. In CD94-3A wird eine weiter strangaufwärts gelegene Spleißakzeptorstelle im Intron 2 genutzt, so dass diese Variante, im Vergleich zu CD94-3B, 39 zusätzliche Nukleotide am 5'-Ende von Exon 3 aufweist (Abb. 23B). Die Länge von Exon 3 in CD94-3A beträgt 87 bp und in CD94-3B 48 bp. Beide Transkripte besitzen

einen intakten offenen Leserahmen. In den CD94-Genen von Mensch, Schimpanse, Orang-Utan, Rhesusaffe und Weißbüschelaffe ist die Länge von Exon 3 identisch und entspricht mit 63 bp der Länge von CD94-1 im Mausmaki.

Diversität innerhalb der CTLD der drei CD94-Moleküle tritt verstärkt in den C-terminal gelegenen Resten des putativen Heterodimerkontaktbereichs zwischen CD94 und NKG2 auf (siehe Aminosäurepositionen 106-111 von CD94-1 und entsprechende Reste in CD94-2 und CD94-3 in Abb. 19). Im Menschen wurden Interaktionen zwischen CD94 und NKG2A in zwei verschiedenen Bereichen nachgewiesen: der Kontaktbereich 1 umfasst hauptsächlich in der CTLD N-terminal gelegene Reste von CD94 und NKG2A und der Kontaktbereich 2 in der CTLD weiter C-terminal gelegene Reste von CD94 und NKG2A (Sullivan et al., 2007). Die Sequenzunterschiede der CD94-Moleküle des Mausmakis befinden sich hauptsächlich im Kontaktbereich 2.

### 3.2.2.2 Expression von NKG2D im Mausmaki

Die Expressionsanalyse von NKG2D im Mausmaki ergab, dass das NKG2D-Transkript äquivalent zur NKG2D-S-Variante der Maus gespleißt wird. Der NKG2D-S-Variante der Maus fehlt das erste proteinkodierende Exon der längeren NKG2D-L-Variante (Abb. 21) (Diefenbach et al., 2002). Das hat zur Folge, dass die NKG2D-S-Isoform der Maus am N-Terminus 13 Aminosäuren kürzer ist als die NKG2D-L-Isoform. In den bisher untersuchten höheren Primaten wird NKG2D analog zu NKG2D-L der Maus gespleißt. Um festzustellen, welche der beiden NKG2D-Spleißvarianten im Mausmaki exprimiert werden, wurden RT-PCR-Experimente mit unterschiedlichen Primerkombinationen durchgeführt. Es wurden drei verschiedene *forward*-Primer, die an homologe Bereiche zur murinen NKG2D-S- (3885) bzw. NKG2D-L-Form (3038, 3282) binden, mit einem *reverse*-Primer (3039), der im 3'-UTR bindet, kombiniert (Abb. 21). Lediglich mit dem *forward*-Primer (3885), der an homologe Bereiche zur murinen NKG2D-S-Form bindet, konnte NKG2D im Mausmaki amplifiziert werden. Das NKG2D-Protein des Mausmakis ist am N-Terminus 14 Aminosäuren kürzer als NKG2D-L der Maus und NKG2D der höheren Primaten.



**Abb. 21 NKG2D-Spleißprodukte des Mausmakis im Vergleich zur Maus (verändert nach Diefenbach et al., 2002)**

Proteinkodierende Exons sind rot markiert. Der 5'-UTR der murinen NKG2D-L-Form ist durch ein gelbes Kästchen dargestellt und der NKG2D-S-Form durch ein blaues Kästchen. Ein grünes Kästchen signalisiert den 3'-UTR. Das NKG2D-Transkript des Mausmakis wird äquivalent zur murinen NKG2D-S-Form gespleißt. Startkodons (ATG) und Stopkodons (TAA) sowie die Lage der zur Amplifikation des Mausmaki-NKG2D-Transkriptes verwendeten Primer sind eingezeichnet. Mit den Primerpaaren 3038/3039 und 3282/3039 wurde kein PCR-Produkt erhalten. Mus, *Mus musculus*; Mimiu, *Microcebus murinus*.

Der NKG2D-Rezeptor im Mausmaki besitzt analog zu aktivierenden Rezeptoren eine positiv geladene Aminosäure (Arginin) in der Transmembranregion (Abb. 22). Der Argininrest befindet sich allerdings an Aminosäureposition 5 in der Transmembranregion, während er sich in der NKG2D-Sequenz anderer Primaten an Aminosäureposition 14 befindet (Abb. 22). An dieser Position weist der Mausmaki eine weitere leicht positiv geladene Aminosäure (Histidin) auf. Vergleichbar dazu besitzt NKG2D in der Maus an Position 5 und Position 14 einen Argininrest (Abb. 22).

	TM
Hosa-NKG2D	FFFCFFIAVAMGIRFIIMVAIW
Patr-NKG2D	.....T..
Popy-NKG2D	L.....I.....V..T..
Mamu-NKG2D	L.....T..
Caja-NKG2D	L.....V..T..
Mimu-NKG2D	..LRS..I...H...T..L
Mus-NKG2D	M.VVIVL.I.LA..TLNTLM.
	Pos. 5            Pos. 14

**Abb. 22 Transmembranregion von NKG2D in verschiedenen Primatenspezies und der Maus**

Hosa, *Homo sapiens*; Patr, *Pan troglodytes*; Popy, *Pongo pygmaeus*; Mamu, *Macaca mulatta*, Caja, *Callithrix jacchus*, Mimu, *Microcebus murinus*, Mus, *Mus musculus*. Punkte zeigen identische Aminosäuren zur humanen Referenzsequenz an. Positiv geladene Argininreste sind rot hinterlegt. Zugangsnummern der Sequenzen siehe Tab. 3 in Material und Methoden.

### 3.2.2.3 Expression von NKG2 im Mausmaki

Ein Vergleich der im Mausmaki exprimierten NKG2-1-, -2-, -3-, -5- und -8-Sequenzen untereinander ergab auf Nukleotidebene eine Sequenzidentität von 77,2-87,1 % (proteinkodierender Bereich) und auf Aminosäureebene von 62,7-77,0 % (siehe Anhang unter 7.2.3). Wie die drei CD94-Moleküle unterscheiden sich die fünf NKG2-Moleküle stark in der Halsregion (Abb. 19). Für NKG2-5 wurden analog zu CD94-3 zwei verschiedene Transkripte gefunden, die sich in der Länge des für die Halsregion kodierenden Exons 3 unterscheiden (Abb. 23B). Die Variante NKG2-5A besitzt sechs zusätzliche Nukleotide am 5'-Ende von Exon 3 im Vergleich zu NKG2-5B. Im Gegensatz zu CD94 unterscheiden sich die NKG2-Moleküle auch deutlich in der Zytoplasma- und Transmembranregion (Abb. 19), die für die Funktion des Rezeptors verantwortlich sind. Die Längen von Exon 1, 2 und 3, welche für die Zytoplasma-, Transmembran- und Halsregion kodieren, sind zwischen den NKG2-Rezeptoren sehr variabel, während Exon 4, 5 und 6, die für die CTLD kodieren (mit Ausnahme von Exon 4 in NKG2-1), eine identische Länge aufweisen (Abb. 23B). NKG2-1 besitzt im Vergleich zu den anderen NKG2-Genen 15 zusätzliche Nukleotide am 5'-Ende von Exon 4, die ebenfalls für die Halsregion kodieren. Obwohl die erwartete Spleißakzeptorstelle intakt ist, wird offensichtlich eine weiter strangaufwärts gelegene Spleißakzeptorstelle in Intron 3 genutzt.

Innerhalb der CTLD zeigen die NKG2-Moleküle starke Sequenzunterschiede im potentiellen Ligandenbindebereich (Abb. 19). Im putativen Heterodimerkontaktbereich (Sullivan et al., 2007) ist der am weitesten C-terminal gelegene Aminosäurerest (Aminosäureposition 173 von NKG2-1 und entsprechende Reste der anderen NKG2-Moleküle) sehr divers (Abb. 19). An

dieser Position treten in den NKG2-Molekülen vier verschiedene Aminosäuren auf (Leucin, Lysin, Asparagin und Arginin).

Die Zytoplasma- und Transmembranregion der NKG2-Proteinsequenzen wurde auf das Vorhandensein von Signalmotiven hin untersucht (Abb. 19; Tab. 13). Die Rezeptoren NKG2-3 und NKG2-8 besitzen wie inhibierende NK-Zell-Rezeptoren in der Zytoplasmaregion ein C-terminal gelegenes ITIM (Position 2 in Abb. 19; Tab. 13), welches der Konsensussequenz (S/I/V/LxYxxI/V/L, x = jegliche Aminosäure) entspricht. Darüber hinaus haben sie ein N-terminal gelegenes YxxM-Motiv (Position 1 in Abb. 19; Tab. 13), welches die Aminosäure Methionin an Position Y+3 aufweist. Dieses Motiv, welches auch im aktivierenden Adaptermolekül DAP10 auftritt, stellt eine Erkennungssequenz der p85-Untereinheit der Phosphatidylinositol-3-Kinase (PI3K) dar (Songyang et al., 1993; Wu et al., 1999), deren Signalweg zur Zellaktivierung führt (Deane und Fruman, 2004). Eine Ausnahme bildet das Allel *Mimu-NKG2-3\*01*, welches, aufgrund eines Aminosäureaustausches (Methionin versus Isoleucin) an der Y+3 Position des YxxM-Motivs, zwei ITIM besitzt (Abb. 19). Die Position des YxxM-Motivs und des ITIM in NKG2-3 und NKG2-8 entspricht der Position der beiden ITIM in den NKG2A-Sequenzen der höheren Primaten (Abb. 31). Eine positiv geladene Aminosäure in der Transmembranregion, analog zu aktivierenden NK-Zell-Rezeptoren, fehlt sowohl in NKG2-3 als auch in NKG2-8 (Abb. 19; Tab. 13).

Die Rezeptoren NKG2-1, NKG2-2 sowie NKG2-5 besitzen sowohl je ein ITIM in der Zytoplasmaregion als auch eine positiv geladene Aminosäure Lysin in der Transmembranregion (Abb. 19; Tab. 13). Das ITIM im *Mimu-NKG2-2\*01*-Allel ist aufgrund eines Aminosäureaustausches (Leucin versus Methionin) an der Y+3 Position in ein YxxM-Motiv umgewandelt (Abb. 19). Das ITIM von NKG2-5 befindet sich an einer anderen Position als die ITIM der NKG2-1-, -2-, -3- und -8-Sequenzen (Position 3 in Abb. 19). Bei dem Allel *Mimu-NKG2-5\*02* ist das ITIM von zwei Aminosäureaustauschen betroffen, entspricht aber nach wie vor der Konsensussequenz (Abb. 19). Der NKG2-1-Rezeptor besitzt neben einem ITIM an Position 2 noch ein YxxM-Motiv an Position 1 (Abb. 19; Tab. 13).

Somit gibt es Rezeptoren, die sowohl ein YxxM-Motiv, ein ITIM als auch eine positiv geladene Aminosäure in der Transmembranregion aufweisen (NKG2-1), Rezeptoren, die ein YxxM-Motiv und ein ITIM besitzen, aber keine positiv geladene Aminosäure in der Transmembranregion (NKG2-8, NKG2-3\*02, NKG2-3\*03), Rezeptoren, die zwei ITIM aufweisen, aber keine positiv geladene Aminosäure in der Transmembranregion und kein

YxxM-Motiv (NKG2-3\*01), Rezeptoren, die ein ITIM haben und eine positiv geladene Aminosäure in der Transmembranregion, aber kein YxxM-Motiv (NKG2-2\*02, NKG2-2\*03, NKG2-2\*04, NKG2-5) sowie Rezeptoren, die ein YxxM-Motiv und eine positiv geladene Aminosäure in der Transmembranregion vorweisen, aber kein ITIM (NKG2-2\*01) (Tab. 13).

**Tab. 13 Signalmotive in den NKG2-Sequenzen des Mausmakis**

ITIM-Sequenzen und YxxM-Motive treten an drei verschiedenen Positionen innerhalb der Zytoplasmaregion auf. Für NKG2-2 und NKG2-3 wurden verschiedene Allele gefunden, die unterschiedliche Signalmotive an Position 1 aufweisen. AS, Aminosäure; TM, Transmembranregion; K, Lysin; Mimu, *Microcebus murinus*.

Protein	Position 1	Position 2	Position 3	positiv geladene AS in der TM-Region
<b>Mimu-NKG2-1</b>	YxxM	ITIM	-	<b>K</b>
<b>Mimu-NKG2-2</b>	YxxM/ITIM	-	-	<b>K</b>
<b>Mimu-NKG2-3</b>	YxxM/ITIM	ITIM	-	-
<b>Mimu-NKG2-5</b>	-	-	ITIM	<b>K</b>
<b>Mimu-NKG2-8</b>	YxxM	ITIM	-	-

### 3.2.2.4 Expression von Ly49L im Mausmaki

Die Expressionsanalyse des Ly49L-Gens ergab, dass Ly49L im Mausmaki im Gegensatz zu Ly49L im Menschen für einen Rezeptor mit vollständiger CTLD kodiert. Während die Spleißdonorstelle im Intron 5<sup>3</sup> des humanen Ly49L-Gens mutiert ist (C/GT) (Westgaard et al., 1998), ist die entsprechende Spleißdonorstelle im Ly49L-Gen des Mausmakis intakt (G/GT) (siehe Anhang unter 7.9.13). Eine intakte Spleißdonorstelle wurde auch im Gorilla, Orang-Utan, Gibbon, Mantelpavian und der afrikanischen grünen Meerkatze beschrieben und die Expression von Ly49L-Transkripten, die für eine vollständige CTLD kodieren, wurden im Orang-Utan und Mantelpavian nachgewiesen (Guethlein et al., 2002; Mager et al., 2001). Während in den Ly49L-Proteinsequenzen des Menschen, Orang-Utans sowie Mantelpavians nur eine ITIM-ähnliche Sequenz (ExYxxL) in der Zytoplasmaregion auftritt, besitzt das Ly49L-Protein im Mausmaki ein ITIM, welches der Konsensussequenz entspricht (Abb. 19). Dieses ITIM befindet sich an gleicher Position wie in den inhibierenden Ly49-Rezeptoren der Maus (Abb. 32). Eine positiv geladene Aminosäure in der Transmembranregion besitzt der Ly49L-Rezeptor des Mausmakis nicht. Da Ly49L im Mausmaki eine vollständige CTLD und ein ITIM aufweist, handelt es sich möglicherweise um einen funktionellen inhibierenden Rezeptor.

<sup>3</sup> Im Ly49L-Gen des Menschen enthält Exon 2 das Startkodon für die Translation.

### 3.2.2.5 Alternative Spleißprodukte der NKC-Gene im Mausmaki

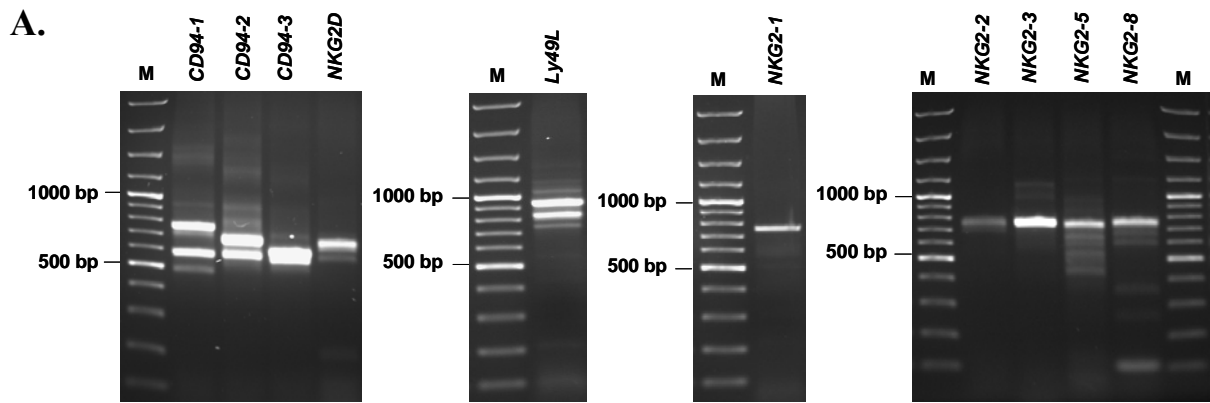
Neben den PCR-Produkten, die der erwarteten Länge der NKC-Gene entsprachen, traten auch Nebenbanden auf (Abb. 23A), die über Klonierung und anschließender Sequenzierung zum Teil alternativen Spleißprodukten der NKC-Gene zugeordnet werden konnten. Alternative Spleißprodukte wurden für alle drei CD94-Gene sowie für NKG2-2, NKG2-5, NKG2-8 und NKG2D gefunden. Die Exon-Struktur der vollständigen cDNA-Sequenzen und der alternativen Spleißprodukte ist schematisch in Abb. 23B dargestellt.

Bei CD94-1 und CD94-2 treten Spleißvarianten auf, die wie im Weißbüschelaffen das zusätzliche Kodon CAG am 5'-Ende von Exon 5 aufweisen (Abb. 23B). Eine Spleißvariante von CD94-1 (Sv4) besitzt zusätzlich vier weitere Nukleotide am 3'-Ende von Exon 4, wodurch es zu einer Leserasterverschiebung und zum frühzeitigen Abbruch der Translation kommt. Zum frühzeitigen Abbruch der Translation kommt es auch in der Spleißvariante Sv5 von CD94-1, die ein zusätzliches Exon (2a) besitzt, sowie in der Spleißvariante Sv3 von CD94-2, die 25 zusätzliche Nukleotide am 5'-Ende von Exon 3 aufweist. Weiteren Spleißvarianten von CD94-1 (Sv2, Sv3) und CD94-2 (Sv2) fehlt Exon 2, welches für die Zytoplasma- und Transmembranregion kodiert. Der offene Leserahmen der Halsregion und der CTLD wird in diesen Spleißvarianten nicht verändert. Für CD94-3 wurden die bereits beschriebenen Transkripte CD94-3A und CD94-3B gefunden, die am 5'-Ende von Exon 3 differentiell gespleißt werden.

Einer Spleißvariante von NKG2-2 fehlt das für die Halsregion kodierende Exon 3 (Abb. 23B). Der offene Leserahmen verändert sich dadurch nicht. Wie bereits erwähnt, wurden auch für NKG2-5 zwei verschiedene Transkripte identifiziert, die als NKG2-5A und NKG2-5B bezeichnet wurden und sich wie bei CD94-3 in der Länge des für die Halsregion kodierenden Exons 3 unterscheiden (Abb. 23B). Es existieren weitere Spleißvarianten für NKG2-5, wovon eine (Sv2) das längere Exon 3 aufweist und zwei andere (Sv1, Sv3) das kürzere. Zusätzlich fehlt in der Spleißvariante 1 Exon 4, in der Spleißvariante 2 fehlen Exon 4 und 5 und die Spleißvariante 3 besitzt 11 zusätzliche Nukleotide am 5'-Ende von Exon 4. Der offene Leserahmen ändert sich in allen drei Spleißvarianten, so dass es zum frühzeitigen Abbruch der Translation kommt. Für NKG2-8 existiert eine Spleißvariante, die 14 zusätzliche Nukleotide am 3'-Ende von Exon 4 aufweist (Abb. 23B). Auch hier kommt es zum frühzeitigen Abbruch der Translation.

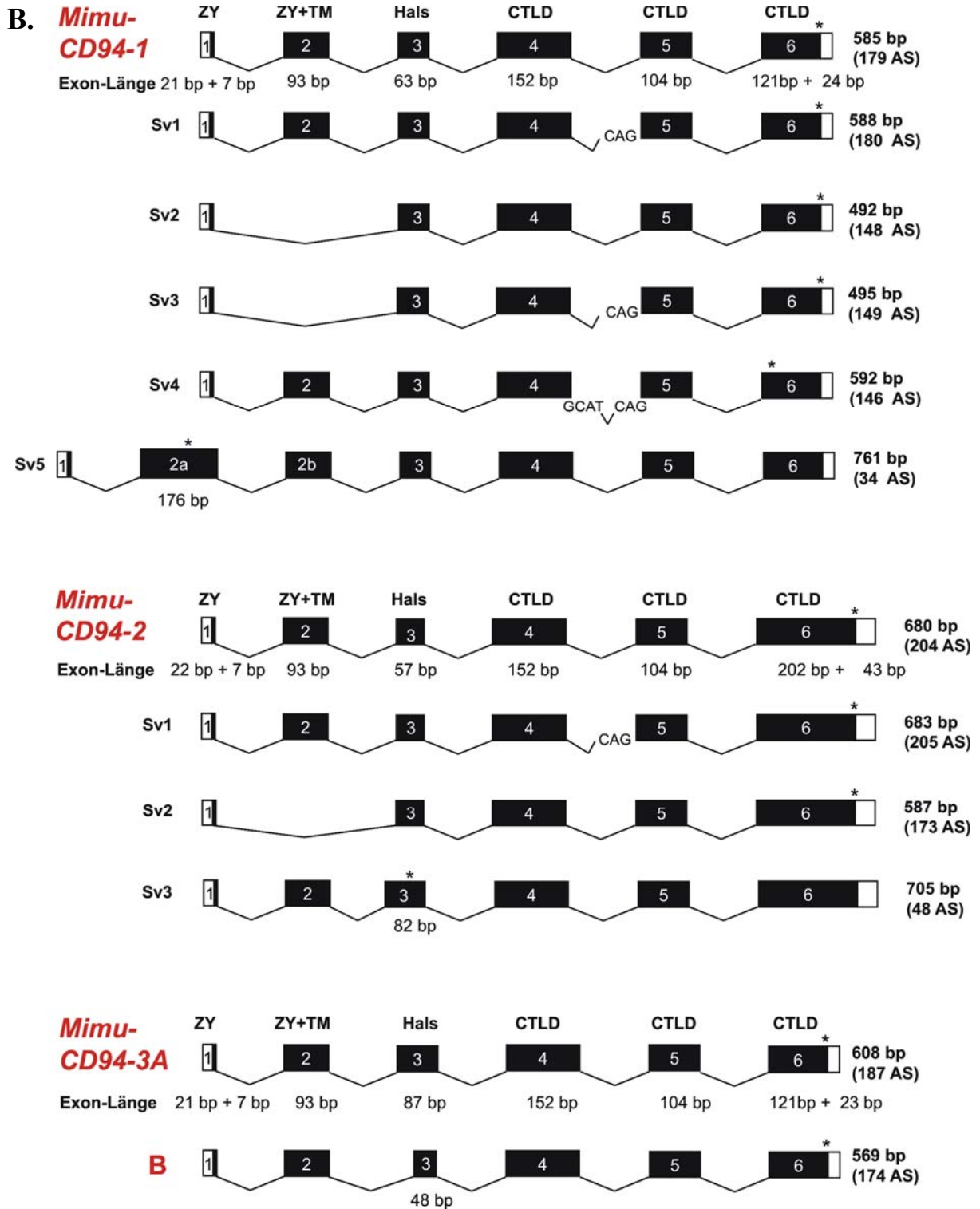
Einer Spleißvariante von NKG2D fehlt Exon 3, welches für die Transmembranregion kodiert (Abb. 23B). Diese Spleißvariante, die auch im Weißbüschelaffen existiert, besitzt einen intakten offenen Leserahmen. Einer zweiten Spleißvariante fehlt Exon 4 und einer dritten Spleißvariante fehlen 31 bp am 3'-Ende von Exon 3. In beiden Spleißvarianten führt eine Leserasterverschiebung zum frühzeitigen Abbruch der Translation.

Für das Ly49L-Transkript des Mausmakis wurden keine alternativen Spleißprodukte gefunden.

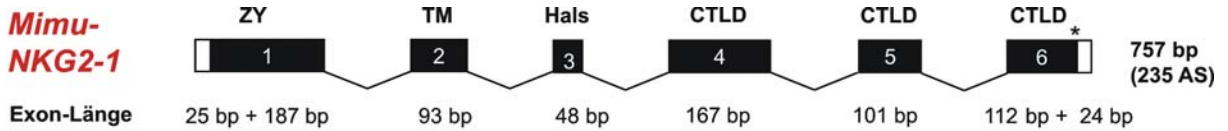


**Abb. 23 Expressionsanalyse der NKC-Gene im Mausmaki**

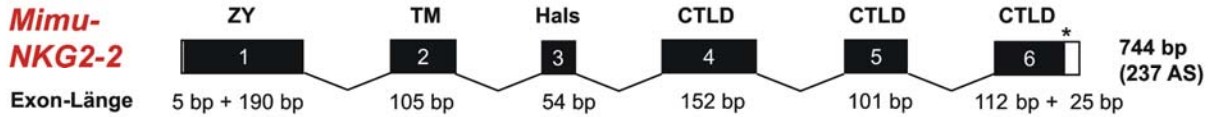
Legende siehe Seite 91.



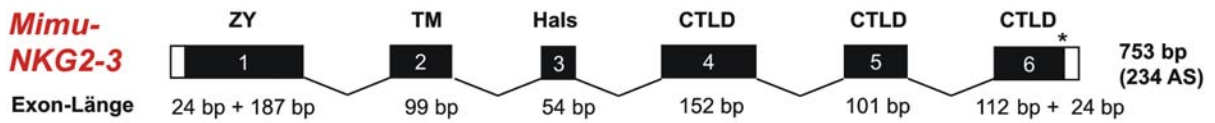
**Mimu-NKG2-1**



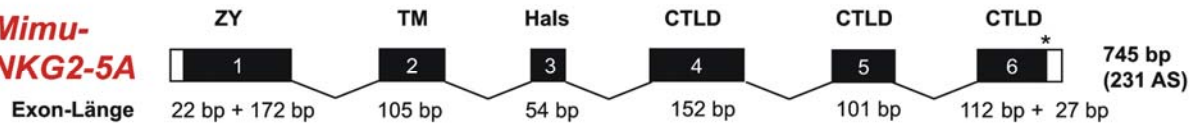
**Mimu-NKG2-2**



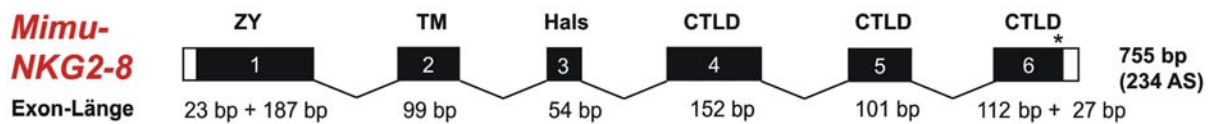
**Mimu-NKG2-3**

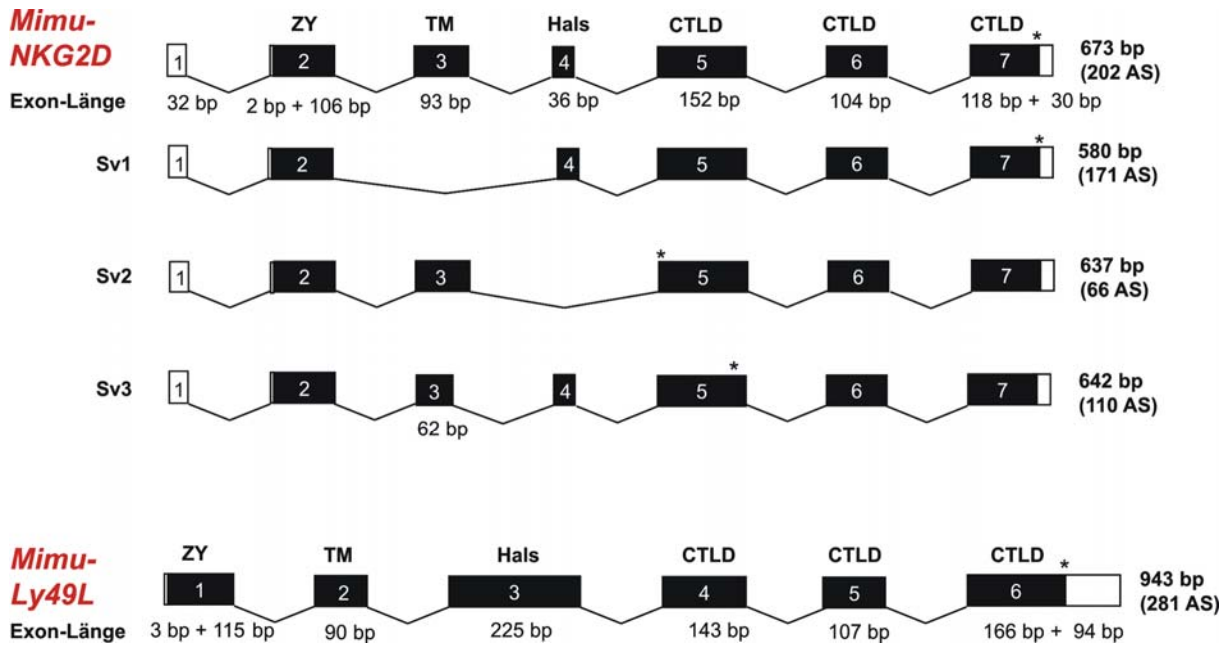


**Mimu-NKG2-5A**



**Mimu-NKG2-8**





**Abb. 23 Expressionsanalyse der NKC-Gene im Mausmaki**

A. RT-PCR von CD94, NKG2D, NKG2-2, -3, -5, -8 und Ly49L aus Lebergewebe sowie von NKG2-1 aus Leukozyten. Sowohl die stärkeren als auch die schwächeren Banden wurden aus dem Gel isoliert und sequenziert. Die Sequenzierung der Banden unterhalb 900 bp bei Ly49L ergaben keine Ähnlichkeiten zur Ly49L-Sequenz. Als Längenstandard diente GeneRuler™ 100bp DNA Ladder Plus. B. Schematische Darstellung der kompletten und alternativ gespleißten CD94-, NKG2D-, NKG2- und Ly49L-cDNA-Sequenzen. Rechts angegeben ist die Länge der sequenzierten PCR-Produkte (entspricht der Bandenlänge in A.) sowie der abgeleiteten Aminosäuresequenzen. Die Exongrenzen wurden anhand der genomischen Sequenz des Mausmakis bestimmt. Nicht-kodierende Bereiche sind durch einen weißen Kasten und kodierende Bereiche durch einen schwarzen Kasten dargestellt. Von den Exons kodierte Proteindomänen sind ebenfalls aufgeführt: ZY, Zytoplasmaregion; TM, Transmembranregion; CTLD, C-Typ Lektin-ähnliche Domäne. Sternchen (\*) stellen Stopkodons dar. Mimu, *Microcebus murinus*.

### 3.2.3 Diversitätsanalyse der NKC-Gene im Mausmaki

#### 3.2.3.1 Allele von CD94, NKG2D, NKG2 und Ly49L im Mausmaki

Zur Polymorphismenanalyse der NK-Zell-Rezeptoren wurden zum einen die BAC-Sequenzen herangezogen, die von einem Mausmaki-Individuum stammen. Mit Ausnahme des Ly49L-Gens sind die Sequenzen der C-Typ Lektin-ähnlichen Rezeptorgene von beiden Haplotypen dieses Individuums bekannt. Zum anderen wurden die aus Lebergewebe eines zweiten Mausmaki-Individuums amplifizierte cDNA-Sequenzen analysiert. Da NKG2-1 im Lebergewebe nicht nachgewiesen werden konnte, wurde es aus Leukozyten-RNA eines dritten Mausmaki-Individuums amplifiziert.

In den BAC-Sequenzen und der aus Lebergewebe amplifizierte cDNA erwies sich CD94-1 als monomorph, während für CD94-2 und CD94-3 je zwei verschiedene Allele gefunden

wurden (Tab. 14). Die beiden Allele von CD94-2 weisen fünf SNP auf, von denen drei synonym und zwei nicht-synonym sind. Ein synonymes und ein nicht-synonymes SNP treten in der Transmembranregion auf, und ein nicht-synonymes und zwei synonyme SNP befinden sich in der CTLD. Ein Austausch der positiv geladenen Aminosäure Lysin gegen die negativ geladene Aminosäure Glutamat in Kodon 62 (CTLD) betrifft den vermutlichen Heterodimerkontaktbereich mit NKG2 (Abb. 29) (Sullivan et al., 2007). Die beiden Allele von CD94-3 unterscheiden sich durch einen SNP, der zu einem Aminosäureaustausch in der Halsregion des Rezeptors führt.

Während sich NKG2D in zehn analysierten Weißbüschelaffen als monomorph erwies, wurden in drei verschiedenen Allelen von zwei Mausmaki-Individuen fünf SNP gefunden, von denen drei synonym und zwei nicht-synonym sind (Tab. 14). Der Aminosäureaustausch an Position 181 befindet sich im potentiellen Ligandenbindebereich des NKG2D-Rezeptors (Abb. 30) (Li et al., 2001; Radaev et al., 2001).

Im Vergleich zu den NKG2-Sequenzen höherer Primaten, wie z.B. dem in dieser Arbeit untersuchten Weißbüschelaffen, erwiesen sich die NKG2-Sequenzen des Mausmakis als auffällig polymorph. Außer für NKG2-3 und NKG2-8 wurden mehr nicht-synonyme als synonyme Austausche gefunden (Tab. 14). Die Austausche scheinen sich über das gesamte Protein zu verteilen und treten nicht verstärkt in bestimmten Regionen auf.

Für NKG2-1 wurden zwei verschiedene Allele nachgewiesen, die sechs SNP aufweisen, davon sind fünf nicht-synonym und einer synonym (Tab. 14).

In vier verschiedenen Allelen von NKG2-2 wurden insgesamt 20 Nukleotidaustausche gefunden (Tab. 14). In Kodon 149 und Kodon 209 des NKG2-2-Proteins treten jeweils zwei Nukleotidsubstitutionen pro Kodon auf. Zwei verschiedene Basentriplets (**ACA** und **AAG**) kodieren für zwei verschiedene Aminosäuren (Threonin und Lysin) an Kodon-Position 149 und drei verschiedene Basentriplets (**AGA**, **AAA**, **GAA**) kodieren für drei verschiedene Aminosäuren (Arginin, Lysin und Glutamat) an Kodon-Position 209. Von den übrigen 16 Nukleotidaustauschen sind acht synonym und acht nicht-synonym. Ein nicht-synonymer Austausch in Kodon 11 (Leucin versus Methionin) im NKG2-2\*01-Allel ändert, wie bereits in 3.2.2.3 beschrieben, das ITIM in ein YxxM-Motiv um.

Für NKG2-3 wurden drei Allele gefunden, die neun SNP aufweisen (Tab. 14). Nur zwei SNP führen zum Aminosäureaustausch. Ein nicht-synonymer Austausch im NKG2-3\*01-Allel

---

(Methionin versus Isoleucin) betrifft ebenfalls Kodon 11 und ändert das YxxM-Motiv in ein ITIM um (Abb. 19).

In drei Allelen von NKG2-5 wurden vier SNP gefunden, die alle nicht-synonym sind (Tab. 14). Ein Austausch an Kodon-Position 57 (Lysin versus Asparagin) und ein Austausch an Kodon-Position 58 (Leucin versus Valin) im NKG2-5\*02-Allel betreffen das ITIM (Abb. 19). Die ITIM-Konsensussequenz ändert sich dadurch jedoch nicht.

Drei Allele von NKG2-8 weisen elf Nukleotidsubstitutionen auf, von denen drei nicht-synonym und acht synonym sind (Tab. 14).

Für Ly49L wurden zwei verschiedene Allele identifiziert, die sich ebenfalls als ziemlich polymorph erwiesen und deutlich mehr nicht-synonyme als synonyme Austausche aufweisen. Von neun SNP sind sieben nicht-synonym und zwei synonym (Tab. 14). Die Aminosäureaustausche treten in der Zytoplasma- und Halsregion sowie in der CTLD auf.

**Tab. 14 Synonyme und nicht-synonyme SNP zwischen den CD94-, NKG2D-, NKG2- und Ly49L-Allelen von je zwei Mausmaki-Individuen**

ZY, Zytoplasmaregion; TM, Transmembranregion; CTLD, C-Typ Lektin-ähnliche Domäne; Mimu, *Microcebus murinus*. Die angegebenen Nukleotid- und Aminosäurepositionen in CD94-3 beziehen sich auf das längere CD94-3A-Transkript und in NKG2-5 auf das längere NKG2-5A-Transkript.

Gen	Nukleotid-position (bp)	Nukleotid-austausch	Aminosäure-position	Aminosäure-austausch	Region/Domäne
<i>Mimu-CD94-1</i>	-	-	-	-	-
<i>Mimu-CD94-2</i>	66	*01 A G *02	22	-	TM
	87	A G	29	I/M	TM
	184	A G	62	K/E	CTLTD
	222	T C	74	-	CTLTD
	267	T G	89	-	CTLTD
<i>Mimu-CD94-3</i>	151	*01 A G *02	51	T/A	Hals
<i>Mimu-NKG2D</i>	6	*01 T C T *02 *03	2	-	ZY
	77	C A C	26	T/K	ZY
	459	G G A	153	-	CTLTD
	501	G A G	167	-	CTLTD
	542	G A G	181	S/N	CTLTD
<i>Mimu-NKG2-1</i>	162	*01 C T *02	54	-	ZY
	253	C T	85	P/S	TM
	297	T G	101	N/K	Hals
	440	C T	144	T/M	CTLTD
	617	G A	203	G/D	CTLTD
	634	G C	209	V/L	CTLTD

Gen	Nukleotid- position (bp)	Nukleotid- austausch	Aminosäure- position	Aminosäure- austausch	Region/ Domäne
<b>Mimu- NKG2-2</b>		<b>*01 *02 *03 *04</b>			
	18	G A G G	6	-	ZY
	31	A C C C	11	M/L	ZY
	71	T C C C	24	F/S	ZY
	138	A C C C	46	Q/H	ZY
	168	G A G G	56	-	ZY
	235	G A A A	79	V/I	TM
	256	A G G A	86	S/G	TM
	280	C A C C	94	L/I	TM
	309	G G G C	103	Q/H	Hals
	331	A G A A	111	T/A	Hals
	354	T C C T	118	-	Hals
	375	G A G G	125	-	CTLTD
	384	T C C T	128	-	CTLTD
	446-447	CA AG AG CA	149	T/K	CTLTD
	531	A G G G	177	-	CTLTD
	585	C G C G	195	-	CTLTD
594	T C C C	198	-	CTLTD	
625-626	AG AA GA AA	209	R/K/E	CTLTD	
<b>Mimu- NKG2-3</b>		<b>*01 *02 *03</b>			
	33	C G G	11	I/M	ZY
	54	G A A	18	-	ZY
	108	A G G	36	-	ZY
	477	T C C	159	-	CTLTD
	558	A A C	186	-	CTLTD
	562	A A G	188	I/V	CTLTD
	576	T T C	192	-	CTLTD
	657	A A G	219	-	CTLTD
	696	C C T	232	-	CTLTD

Gen	Nukleotid- position (bp)	Nukleotid- austausch	Aminosäure- position	Aminosäure- austausch	Region/ Domäne
<i>Mimu- NKG2-5</i>		<b>*01 *02 *03</b>			
	171	A C A	57	K/N	ZY
	172	C G C	58	L/V	ZY
	353	T C C	118	L/P	CTLD
	429	G A A	143	M/I	CTLD
<i>Mimu- NKG2-8</i>		<b>*01 *02 *03</b>			
	103	A A G	35	K/E	ZY
	123	G A A	41	-	ZY
	177	T T C	59	-	ZY
	335	A C A	112	Q/P	Hals
	386	C G G	129	T/S	CTLD
	450	A T T	150	-	CTLD
	495	T A A	165	-	CTLD
	537	C T T	179	-	CTLD
	612	C T T	204	-	CTLD
	654	A A G	218	-	CTLD
	687	T C T	229	-	CTLD
<i>Mimu- Ly49L</i>		<b>*01 *02</b>			
	30	G C	10	-	ZY
	71	G A	24	R/Q	ZY
	92	G A	31	R/K	ZY
	98	A G	33	E/G	ZY
	234	G T	78	Q/H	Hals
	487	A G	163	M/V	CTLD
	527	A G	176	Q/R	CTLD
	725	G C	242	G/A	CTLD
825	A G	275	-	CTLD	

### 3.2.3.2 Diversitätsanalyse der CTLD von CD94-(1-3) im Mausmaki

Neben der Analyse der kompletten proteinkodierenden Bereiche aller NKC-Gene in zwei verschiedenen Mausmaki-Individuen pro Gen, wurde in Zusammenarbeit mit Dr. Richard Reinhardt (MPI für Molekulare Genetik) die CTLD der drei CD94-Gene in 46 weiteren Mausmaki-Individuen untersucht. Die CTLD von NKG2D, NKG2 und Ly49L wurde in 12 weiteren Mausmaki-Individuen von Beatrix Petersen (DPZ) im Rahmen ihrer Diplomarbeit analysiert (Petersen, 2007). Dabei wurden ausschließlich die für die CTLD kodierenden Exons untersucht, da es von besonderem Interesse war, ob Austausche verstärkt im putativen Ligandenbindebereich auftreten.

Mit genspezifischen Primern, die anhand der BAC-Sequenzen ausgewählt wurden, konnten Exon 4, 5 und 6 der drei CD94-Gene aus genomischer DNA von 46 verschiedenen Mausmaki-Individuen amplifiziert werden. Primerdesign und PCR wurden im Rahmen dieser Arbeit durchgeführt, während die Aufreinigung der PCR-Produkte, Sequenzierung und Analyse der Sequenzen von Dr. Richard Reinhardt erfolgte. Die zur Amplifikation und Sequenzierung der Exons verwendeten Primer sind in Tab. 9 (Material und Methoden) dargestellt.

Mit Ausnahme von Tier L\_258 konnten alle Exons aus allen Tieren amplifiziert werden. Bei dem Tier L\_258 konnten mit verschiedenen Primerpaaren Exon 4 und Exon 5 von CD94-1 sowie Exon 5 und Exon 6 von CD94-2 nicht amplifiziert werden. Einige PCR-Produkte konnten am MPI für Molekulare Genetik im ersten Durchgang nicht sequenziert werden. In diesen Fällen wurde die Sequenzierung mit internen Sequenzierprimern wiederholt oder neue PCR-Ansätze mit anderen Primern durchgeführt (siehe Tab. 9 in Material und Methoden). Dennoch konnten nicht alle Exons bei allen Tieren sequenziert werden (siehe Anhang unter 7.4). Bei der Analyse der Exonsequenzen diente die BAC-Sequenz der drei CD94-Gene (Klon 50I2) als Referenzsequenz.

In der CTLD von CD94-1 wurden acht SNP gefunden, wovon sieben nicht-synonym sind und einer synonym ist (Tab. 15). Zwei der nicht-synonymen SNP liegen in Exon 4, vier in Exon 5 und einer in Exon 6. Der synonyme SNP befindet sich in Exon 6. Zwei SNP an den Nukleotidpositionen 332 und 394 treten nur in Tier L\_322 auf und ein SNP an Position 403 wurde lediglich in Tier L\_3 gefunden (siehe Anhang unter 7.4.1). Der nicht-synonyme Basenaustausch an Position 332 (Aminosäureposition 111) betrifft den potentiellen Heterodimerkontaktbereich mit NKG2 (Abb. 24) (Sullivan et al., 2007).

Die CTLD von CD94-2 weist 16 SNP auf, wovon zwölf nicht-synonym und vier synonym sind (Tab. 15). Fünf der nicht-synonymen SNP befinden sich in Exon 4, vier in Exon 5 und drei in Exon 6. Von den synonymen SNP liegen drei in Exon 4 und einer in Exon 6. An Nukleotidposition 267 treten in den 46 untersuchten Individuen drei verschiedene Basen (G/T/A) auf, die allerdings zu keinem Aminosäureaustausch führen. Die Austausche an den Nukleotidpositionen 184, 222 und 267 (G/T) wurden auch in den aus Lebergewebe amplifizierten cDNA-Sequenzen gefunden (Tab. 14).

Drei SNP an den Nukleotidpositionen 213, 262 und 299 treten nur in Tier L\_258 auf und ein SNP an Nukleotidposition 373 wurde ausschließlich in Tier L\_248 gefunden (siehe Anhang unter 7.4.2). Drei nicht-synonyme SNP an den Nukleotidpositionen 184, 190 und 200 (Aminosäurepositionen 62, 64 und 67) betreffen den potentiellen Heterodimerkontaktbereich mit NKG2 (Abb. 24) (Sullivan et al., 2007).

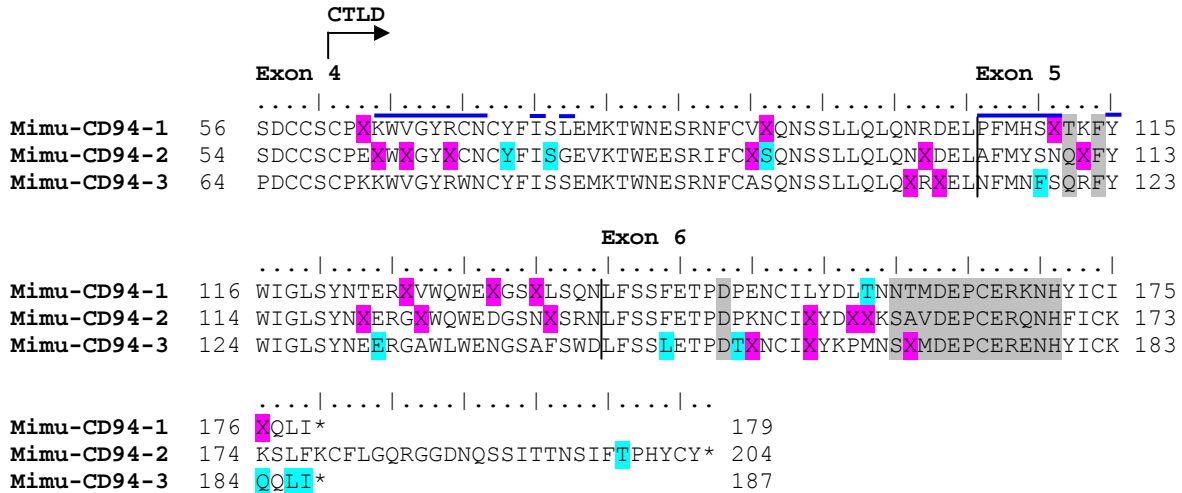
Für CD94-3 wurden insgesamt zwölf SNP gefunden, von denen fünf nicht-synonym und sieben synonym sind (Tab. 15). Zwei nicht-synonyme SNP liegen in Exon 4 und drei in Exon 6. Von den synonymen SNP befinden sich zwei in Exon 5 und fünf in Exon 6. Vier SNP an den Nukleotidpositionen 454, 506, 552 und 558 treten nur in Tier L\_258 auf (siehe Anhang unter 7.4.3). Der Nukleotidaustausch an Position 396 wurde ausschließlich in Tier L\_75 und der Austausch an Position 485 nur in Tier L\_27 gefunden. Ein synonymes SNP an Position 354 (Aminosäureposition 118) liegt im potentiellen Heterodimerkontaktbereich mit NKG2 und ein nicht-synonomes SNP an Position 506 (Aminosäureposition 169) befindet sich im putativen Ligandenbindebereich (Abb. 24) (Sullivan et al., 2007).

Zusammenfassend wurde eine Anhäufung an SNP-Positionen für CD94-2 in Exon 4 und für CD94-3 in Exon 6 gefunden. Einige SNP der drei CD94-Moleküle (insbesondere von CD94-2) betreffen den potentiellen Heterodimerkontaktbereich mit NKG2. Ein SNP im putativen Ligandenbindebereich wurde nur für CD94-3 gefunden. Mit Ausnahme von CD94-3 wurden deutlich mehr nicht-synonyme als synonyme Austausche gefunden, was für eine positive Selektion der CTLD spricht.

**Tab. 15 Synonyme und nicht-synonyme SNP in der CTLD von CD94-(1-3) in 46 Mausmaki-Individuen**

Die angegebenen Nukleotid- und Aminosäurepositionen in CD94-3 beziehen sich auf das längere CD943A-Transkript. *Mimu*, *Microcebus murinus*.

Gen	Nukleotid-position (bp)	Nukleotid-austausch	Aminosäure-position	Aminosäure-austausch	Exon
<b><i>Mimu-CD94-1</i></b> <b>(Exon 4-6)</b>	187	G/C	63	E/Q	4
	272	C/T	91	S/F	4
	332	A/G	111	N/S	5
	376	G/A	126	G/R	5
	394	A/G	132	N/D	5
	403	G/A	135	A/T	5
	474	G/A	158	-	6
	527	T/A	176	L/Q	6
<b><i>Mimu-CD94-2</i></b> <b>(Exon 4-6)</b>	184	A/G	62	K/E	4
	190	G/A	64	V/I	4
	200	G/A	67	R/Q	4
	213	C/T	71	-	4
	222	T/C	74	-	4
	262	A/G	88	I/V	4
	267	G/T/A	89	-	4
	299	G/A	100	R/K	4
	331	T/C	111	Y/H	5
	362	C/G	121	T/R	5
	373	G/A	125	D/N	5
	400	T/C	134	F/L	5
	455	T/C	152	V/A	6
	463	G/A	155	A/T	6
	467	T/C	156	M/T	6
	597	C/G	199	-	6
<b><i>Mimu-CD94-3</i></b> <b>(Exon 4-6)</b>	325	A/T	109	N/Y	4
	331	G/A	111	D/N	4
	354	C/T	118	-	5
	396	A/G	132	-	5
	454	T/C	152	-	6
	471	A/G	157	-	6
	474	G/T	158	K/N	6
	485	T/C	162	V/A	6
	506	C/T	169	A/V	6
	552	A/G	184	-	6
	558	C/T	186	-	6
	561	T/C	187	-	6



**Abb. 24 Aminosäurevergleich der Mausmaki-CD94-CTLD und Lage der polymorphen Positionen**

Synonyme und nicht-synonyme Austausch aus Tab. 15 sind farbig markiert (X, nicht-synonymer Austausch; türkis markierte Aminosäure, synonymer Austausch). Der putative Ligandenbindebereich (Sullivan et al., 2007) ist grau hinterlegt. Heterodimerkontakte zwischen CD94 und NKG2 (blaue Balken oberhalb der Sequenz) basieren auf der Kristallstruktur von CD94-NKG2A des Menschen (Sullivan et al., 2007). Nummerierungen an den Rändern geben die Aminosäurepositionen an. Die Nummerierung für CD94-3 bezieht sich auf die Aminosäuresequenz von CD94-3A. Mimu, *Microcebus murinus*.

### 3.3 C-Typ Lektin-ähnliche NK-Zell-Rezeptoren im Vari

#### 3.3.1 Expression der NKC-Gene im Vari

Die Expression der C-Typ Lektin-ähnlichen NK-Zell-Rezeptoren CD94, NKG2D, NKG2 sowie Ly49L wurde in einem weiteren Lemuren, dem Vari (*Varecia variegata variegata*), untersucht. Hierzu wurde RNA aus Leukozyten eines Vari-Individuums isoliert. Zur Amplifikation der NKC-Gene wurden RT-PCR-Experimente mit Mausmaki-spezifischen Primern durchgeführt. Die erhaltenen PCR-Produkte wurden kloniert und sequenziert. cDNA-Sequenzen, die nicht den kompletten kodierenden Bereich aufwiesen, wurden über 5'- und 3'-RACE-PCR vervollständigt. Auf diese Weise wurden die cDNA-Sequenzen von drei CD94-Genen (CD94-1, -2 und -3), NKG2D und acht NKG2-Genen (NKG2-1 bis NKG2-8) sowie von Ly49L ermittelt. Die Nukleotidsequenzen und eine Übersicht der durchgeführten PCR-Experimente sind im Anhang unter 7.7 und die abgeleiteten Aminosäuresequenzen in Abb. 25 dargestellt. In Abb. 29-32 sind die Aminosäuresequenzen im Vergleich mit den Sequenzen anderer Primaten dargestellt. Obwohl die CD94- und NKG2-Gene im Mausmaki und im Vari gleich benannt sind, weisen die einzelnen Gene keine orthologen Beziehungen zueinander auf (siehe 3.5.1 und 3.5.3).



	Hals	CTLD	
Vava-NKG2-1		CPEEWFTYSTNCYYIGKELKTWDESVTACAS	148
Vava-NKG2-2		.....S.S.....	152
Vava-NKG2-3		.....S.F.....M....	147
Vava-NKG2-4		.....S.....	148
Vava-NKG2-5		.....F.....	148
Vava-NKG2-6*01		...G.....S.....Y.....	152
Vava-NKG2-6*02		...G.....S.....Y.....	152
Vava-NKG2-7		.....S.....	152
Vava-NKG2-8		.....S.....	146
Vava-CD94-1		CPEKWVGYRCNCYFISSEVKTWEESRNFLCF	86
Vava-CD94-2*01		.....M.....VS	86
Vava-CD94-2*02		.....M.....VS	86
Vava-CD94-3*01		.....	94
Vava-CD94-3*02		.....	94
Vava-Ly49L	ICHTKNDIFSKSLENT	GKRYEGHWSCCGLSCYYFTMENKNWKGCKQT	167
Vava-NKG2D		CPKNWVCYRNNCYQFFNESKNWYEQASCVS	115
		<b>CTLD</b>	
Vava-NKG2-1		QNSSLLYIDNEEEMKFLDSLSSLSWIGVSRKSHRHPWVSLRGSTFKLKIAETEYAERNC	208
Vava-NKG2-2		.....L.G.F.KQA....F.T.SH.....RN.....K..I.GTHH..	212
Vava-NKG2-3		...N.....K.....G...GKT...F.NTSHY...RN...Q..VE.II.GKHH..	207
Vava-NKG2-4		N.TN.....R..G...EK...E.FHN.SH....RN.L.....K..I.GKHH..	208
Vava-NKG2-5		N.....R..G...KQA....F.N.SH....RN.....E..I.GKHH..	208
Vava-NKG2-6*01		...N.....I..G..LRQ....F.N.SD.....HS.A..Q...AH.K....	212
Vava-NKG2-6*02		...N.....I..G..LRQ....F.N.SD.....HS.A..Q...AH.K....	212
Vava-NKG2-7		.....S.....L.G.....R.....H.....	212
Vava-NKG2-8		N..N.....L.G...KQA....F.N.SH....IN.....K..I.GKHH..	206
Vava-CD94-1		QNSSLLQLQNRDELAFQTQFSQOIFYWIGLSYNEERGDWLWEDGSAPSWDLFSSLETDPDNN	146
Vava-CD94-2*01		.....R.M.L.RR.....T..R.....V.S..K.	146
Vava-CD94-2*02		.....G.M.L.PR.....T..R.....V.S..K.	146
Vava-CD94-3*01		R.....N.MHSG.H.....TL.QN.....K.	154
Vava-CD94-3*02		R.....N.MHSG.H.....TL.QN.....K.	154
Vava-Ly49L	CRSYRSSLKIDDEDELAFVQLQTYKNYYWIGLSYDEKERKWKWVDSGSSPGLNFAIMNL		227
Vava-NKG2D		QNSSLLKIYSRVDQDFLKLKLSYHWMGLVQMSTNGSWQWEDGTILSPNQLTVIEMQKGT	175
		<b>CTLD</b>	
Vava-NKG2-1		MLYKRRRLQRDECGSSKPYICKHKF*	232
Vava-NKG2-2		A.DSL...STG...N.T....EL*	236
Vava-NKG2-3		V.QSL...SAG....R.....I*	231
Vava-NKG2-4		A.DSL...SS...N.T....EL*	232
Vava-NKG2-5		A.DSLT..SAG....T.....I*	232
Vava-NKG2-6*01		I.HSD...SNG...NR.H....L*	236
Vava-NKG2-6*02		I.HSD...SNG...NR.H....L*	236
Vava-NKG2-7		.....S.....*	236
Vava-NKG2-8		A.DSLN..SAG....A.....EL*	230
Vava-CD94-1		CVAYEPIISAVDEPCERENHYICKQQHI*	174
Vava-CD94-2*01		.I..K.MNGV.....Y....K...*	174
Vava-CD94-2*02		.I..K.MNG.....Y....K...*	174
Vava-CD94-3*01		.IV.K.MK.....K.L.*	182
Vava-CD94-3*02		.IV.K.MK.....K.L.*	182
Vava-Ly49L	TSGRGQCAFLSSTRVAVIDCIKTYNCICEKRIDCIFSASASTKKKR*		273
Vava-NKG2D	VVYGSSFKGYTENCSTPYMYICMRIV*		202

### Abb. 25 Aminosäuresequenzen der NKC-Gene des Varis

Die Aminosäuresequenzen sind unterteilt in Zytoplasmaregion (ZY), Transmembranregion (TM), Hals und C-Typ Lektin-ähnliche Domäne (CTL). Punkte zeigen identische Aminosäuren der NKG2-Sequenzen zu NKG2-1 sowie der CD94-Sequenzen zu CD94-1 an. Striche kennzeichnen Deletionen. ITIM-Sequenzen an den Positionen 1 und 2 sind grün und YxxM-Motive gelb markiert. Positiv geladene Arginin- und Lysinreste in der Transmembranregion sind rot hinterlegt. Aminosäureaustausche zwischen verschiedenen Allelen sind grau dargestellt. Putative Ligandenbindebereiche von CD94 und NKG2 sind orange hinterlegt (Sullivan et al., 2007). Heterodimerkontakte zwischen CD94 und NKG2 (blaue Balken oberhalb der Sequenz) basieren auf der Kristallstruktur von CD94-NKG2A des Menschen (Sullivan et al., 2007). Ly49L ist am N-Terminus unvollständig. Sternchen (\*) zeigen Stopkodons. Vava, *Varecia variegata*.

#### 3.3.1.1 Expression von CD94 im Vari

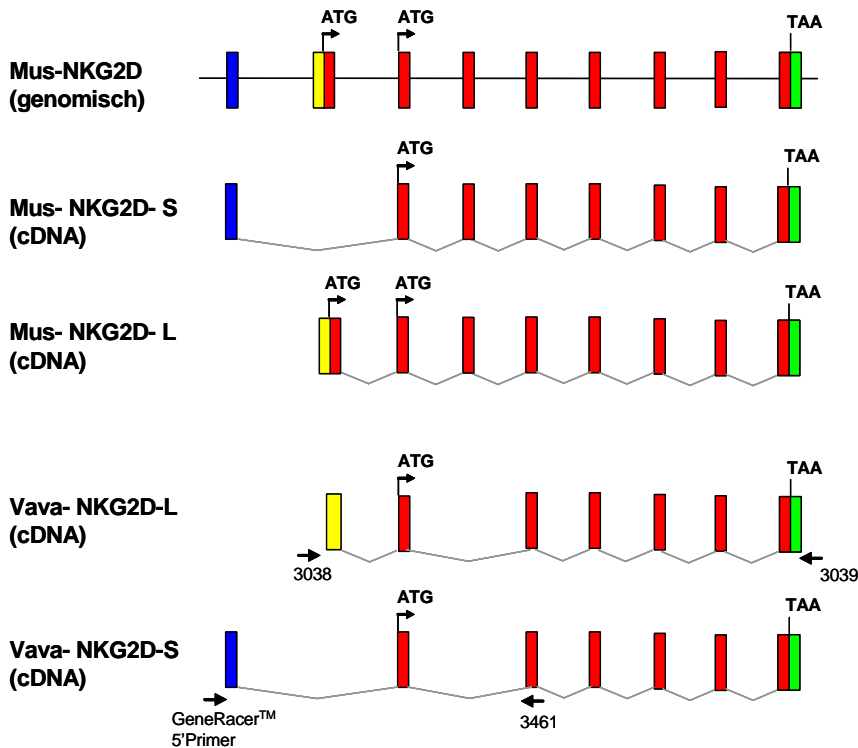
Die Sequenzidentitäten der drei CD94-Gene des Varis betragen auf Nukleotidebene 91,8-92,2 % (proteinkodierender Bereich) und auf Aminosäureebene 80,5-83,3 % (siehe Anhang unter 7.2.1). Wie im Mausmaki sind sowohl die Zytoplasma- als auch die Transmembranregion der drei CD94-Moleküle stark konserviert, während die Halsregion sehr divers ist (Abb. 25). Mit Hilfe der bekannten Exonstrukturen von CD94 im Mausmaki konnten die wahrscheinlichen Exongrenzen für die drei CD94-Sequenzen im Vari bestimmt werden. Dementsprechend beträgt die voraussichtliche Länge von Exon 3, welches für die Halsregion kodiert, in CD94-1 und CD94-2 48 bp und in CD94-3 72 bp (Abb. 28). Diversität tritt außerdem wie im Mausmaki in den C-terminal gelegenen Resten des putativen Heterodimerkontaktbereichs der CTLD auf (siehe Aminosäurepositionen 101-106 von CD94-1 und entsprechenden Positionen in CD94-2 und CD94-3 in Abb. 25). Die N-terminal gelegenen Reste des putativen Heterodimerkontaktbereichs sind dagegen stark konserviert.

Wie in anderen Primaten ist die Zytoplasmaregion der drei CD94-Moleküle im Vari verkürzt und weist keine Signalmotive auf. Ebenso fehlt erwartungsgemäß eine positiv geladene Aminosäure in der Transmembranregion (Abb. 25). Keine der drei CD94-Sequenzen des Varis hat eine verlängerte CTLD wie CD94-2 im Mausmaki. Für CD94-2 im Vari wurde eine Spleißvariante gefunden, die das zusätzliche Kodon CAG am 5'-Ende von Exon 5 aufweist (Abb. 28).

#### 3.3.1.2 Expression von NKG2D im Vari

Bei dem NKG2D-Molekül im Vari handelt es sich um einen aktivierenden Rezeptor, der an gleicher Position wie der NKG2D-Rezeptor des Mausmakis einen Argininrest und einen Histidinrest in der Transmembranregion aufweist (Abb. 25, Abb. 30).

Im Vari wird NKG2D am 5'-Ende entsprechend der NKG2D-S- und NKG2D-L-Variante der Maus gespleißt (Abb. 26). Im Gegensatz zur Maus weisen beide Varianten allerdings nur das weiter strangabwärts gelegene Startkodon auf. Mittels 5'-RACE-PCR mit dem *forward*-Primer GeneRacer™ 5'Primer und dem *reverse*-Primer 3461 wurden lediglich NKG2D-Transkripte gefunden, die wie die murine NKG2D-S-Form gespleißt werden (Abb. 26). Eine RT-PCR mit dem *forward*-Primer 3038, der an homologe Bereiche des Exons 1 der murinen NKG2D-L-Form bindet sowie dem *reverse*-Primer 3039, ergab jedoch, dass eine äquivalent zur murinen NKG2D-L-Form gespleißte Variante ebenfalls existiert (Abb. 26). In der zu Exon 1 der murinen NKG2D-L-Form homologen Sequenz wies der Vari jedoch kein zusätzliches Startkodon auf, sondern stattdessen ein im Leserahmen befindliches Stopkodon (siehe Anhang unter 7.7.4). Demzufolge ist das NKG2D-Protein des Varis, wie im Mausmaki, am N-Terminus 14 Aminosäuren kürzer als NKG2D in den bisher untersuchten höheren Primaten (Abb. 30).



**Abb. 26 NKG2D-Spleißprodukte des Varis und der Maus (verändert nach Diefenbach et al., 2002)**

Proteinkodierende Exons sind rot markiert. Der 5'-UTR der murinen NKG2D-L-Form ist durch ein gelbes Kästchen dargestellt und der NKG2D-S-Form durch ein blaues Kästchen. Ein grünes Kästchen signalisiert den 3'-UTR. Startkodons (ATG) und Stopkodons (TAA) sowie Primer, mit denen der 5'-UTR der Vava-NKG2D-Transkripte amplifiziert wurde, sind eingezeichnet. NKG2D im Vari wird analog zu NKG2D-S und NKG2D-L der Maus gespleißt. Beide Varianten weisen im Vari allerdings nur das weiter strangabwärts gelegene Startkodon auf. Mus, *Mus musculus*; Vava, *Varecia variegata*.

Es wurden drei weitere Spleißvarianten für NKG2D gefunden. In der einen Spleißvariante (Sv1) fehlen 31 bp am 3'-Ende von Exon 2, in der zweiten Spleißvariante (Sv2) fehlt Exon 3 und in der dritten fehlen Exon 3 und Exon 4 (Abb. 28). Alle drei Varianten kodieren für stark verkürzte NKG2D-Proteine, denen die komplette CTLD fehlt.

### 3.3.1.3 Expression von NKG2 im Vari

Die Sequenzidentitäten der NKG2-(1-8)-Sequenzen (proteinkodierender Bereich) betragen auf Nukleotidebene 80,3-93,1 % und auf Aminosäureebene 62,8-88,8 % (siehe Anhang unter 7.2.4). Die NKG2-Moleküle zeigen analog zum Mausmaki eine besonders hohe Diversität in der Halsregion und im putativen Ligandenbindebereich der CTLD (Abb. 25). Wie im Mausmaki ist im putativen Heterodimerkontaktbereich (Sullivan et al., 2007) der am weitesten C-terminal gelegene Aminosäurerest sehr divers (Aminosäureposition 170 von NKG2-1 und entsprechende Reste der anderen NKG2-Moleküle in Abb. 25). An dieser Position treten in den NKG2-Molekülen fünf verschiedene Aminosäuren mit sehr unterschiedlichen Eigenschaften auf (Leucin, Lysin, Glycin, Glutamat und Arginin).

Wie für CD94 wurden mit Hilfe der bekannten Exonstrukturen der NKG2-Gene des Mausmakis die wahrscheinlichen Exongrenzen für die NKG2-Sequenzen im Vari ermittelt. Demnach unterscheiden sich die NKG2-Sequenzen in der Länge von Exon 2 und Exon 3, die für die Transmembran- und Halsregion kodieren, während die Länge der anderen Exons zwischen den verschiedenen NKG2-Sequenzen nicht variiert (Abb. 28). Für NKG2-1, NKG2-2 und NKG2-5 wurden alternative Spleißvarianten gefunden, denen das für die Halsregion kodierende Exon 3 fehlt. Der offene Leserahmen wird dadurch nicht verändert (Abb. 28). Eine Analyse der Zytoplasma- und Transmembranregion der NKG2-Proteine ergab wie beim Mausmaki verschiedene Kombinationen an Signalmotiven in den einzelnen Sequenzen (Abb. 25, Tab. 16). Zwei Rezeptoren, NKG2-3 und NKG2-6, besitzen ein N-terminal gelegenes ITIM (Position 1 in Abb. 25), während alle übrigen Rezeptoren an dieser Position ein YxxM-Motiv aufweisen. Ein zweites weiter C-terminal gelegenes ITIM (Position 2 in Abb. 25) existiert in den Rezeptoren NKG2-1, NKG2-3 und NKG2-8. Bis auf NKG2-1 tragen alle Rezeptoren zusätzlich eine positiv geladene Aminosäure in der Transmembranregion. Dabei handelt es sich um einen Lysinrest in den Rezeptoren NKG2-2, -4, -5, -6, -7 und -8 und um einen Argininrest in dem Rezeptor NKG2-3 (Abb. 25, Tab. 16). Der Argininrest in NKG2-3 liegt weiter C-terminal in der Transmembranregion als der Lysinrest in den anderen NKG2-

Rezeptoren (Abb. 25). Einen Argininrest in der Transmembranregion wie NKG2-3 tragen auch die aktivierenden Rezeptoren NKG2C und NKG2E der Maus (Abb. 27) (Vance et al., 1999).

	TM
Vava-NKG2-3	LIAGILGIICLVF TSAVV--TRLV
Mus-NKG2C	LIAGILGTIWF TLLIALVISTRIV
Mus-NKG2E	LIAGILGTIWF TLLIALVISTRIV

**Abb. 27 Vergleich der Transmembranregion von NKG2-3 des Varis mit NKG2C und NKG2E der Maus**

Die positiv geladene Aminosäure Arginin ist rot hinterlegt. Zugangsnummern der Maus-Sequenzen siehe Tab. 3 in Material und Methoden. TM, Transmembranregion; Vava, *Varecia variegata*; Mus, *Mus musculus*.

Somit gibt es im Vari NKG2-Rezeptoren, die sowohl ein YxxM-Motiv als auch ein ITIM aufweisen, aber keine positiv geladene Aminosäure in der Transmembranregion (NKG2-1), Rezeptoren, die ein YxxM-Motiv und eine positiv geladene Aminosäure in der Transmembranregion besitzen, aber kein ITIM (NKG2-2, -4, -5, -7), Rezeptoren, die ein oder zwei ITIM und eine positiv geladene Aminosäure in der Transmembranregion haben, aber kein YxxM-Motiv (NKG2-3, NKG2-6), sowie Rezeptoren, die sowohl ein YxxM-Motiv, ein ITIM und eine positiv geladene Aminosäure in der Transmembranregion vorweisen (NKG2-8) (Tab. 16).

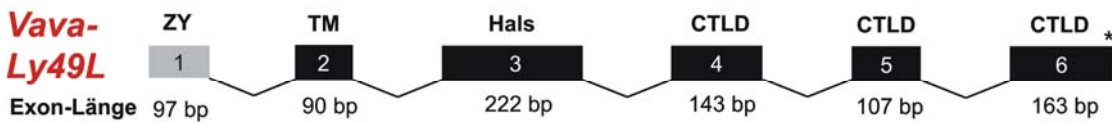
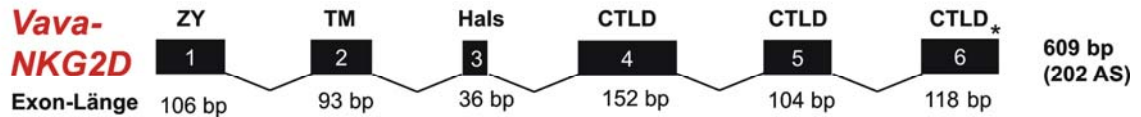
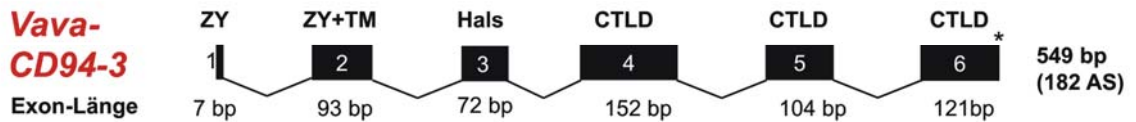
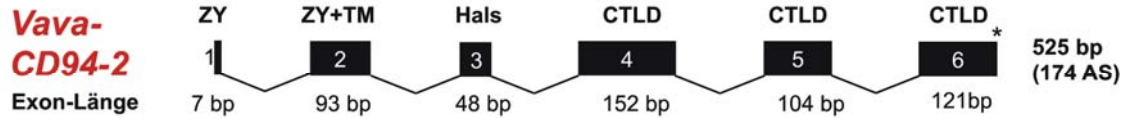
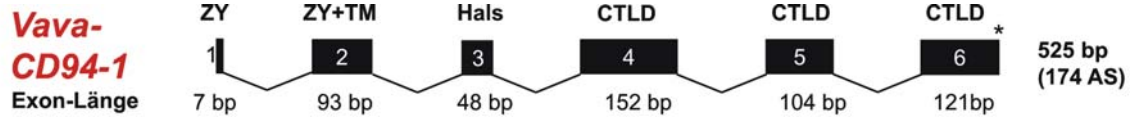
**Tab. 16 Signalmotive in den NKG2-Sequenzen des Varis**

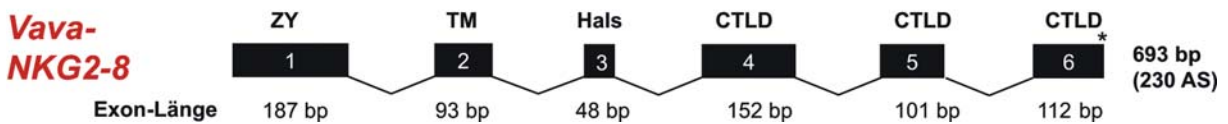
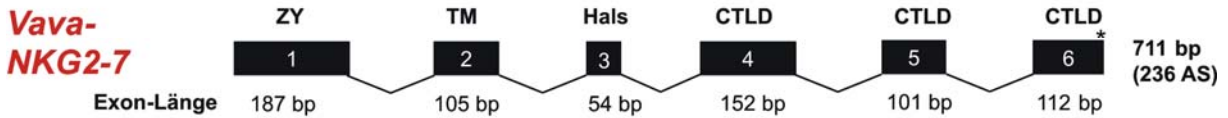
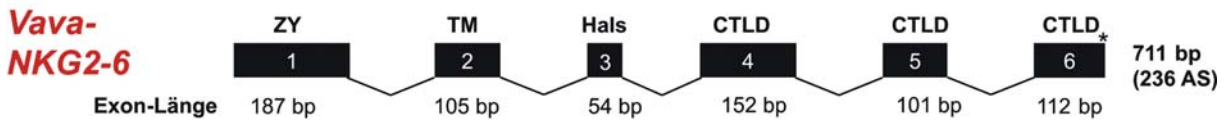
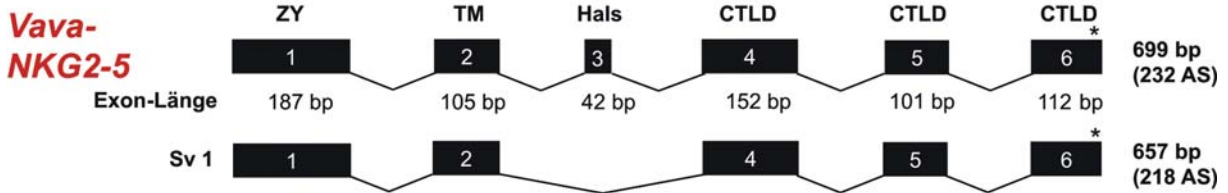
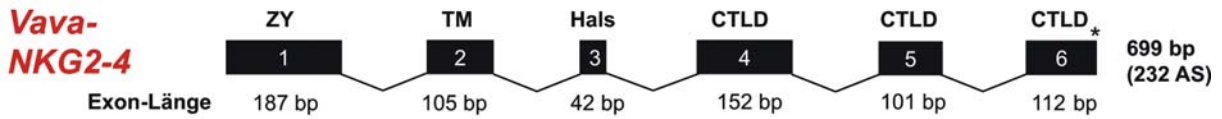
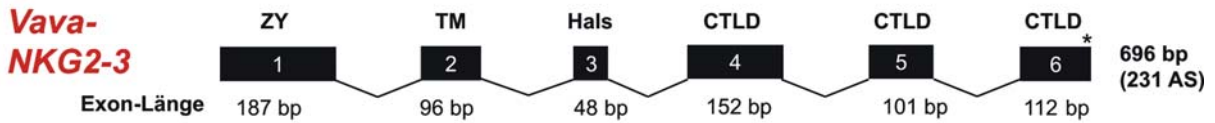
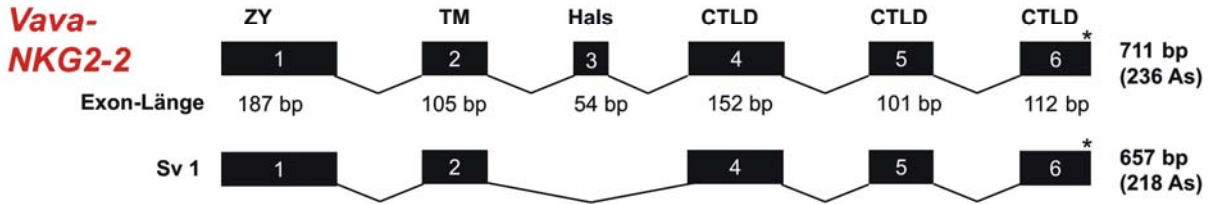
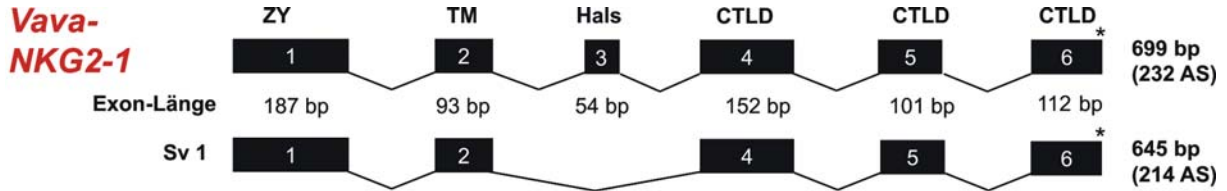
Das YxxM-Motiv und das ITIM treten an zwei verschiedenen Positionen innerhalb der Zytoplasmaregion auf. AS, Aminosäure; TM, Transmembranregion; K, Lysin; R, Arginin; Vava, *Varecia variegata*.

Protein	Position 1	Position 2	positiv geladene AS in der TM-Region
Vava-NKG2-1	YxxM	ITIM	-
Vava-NKG2-2	YxxM	-	K
Vava-NKG2-3	ITIM	ITIM	R
Vava-NKG2-4	YxxM	-	K
Vava-NKG2-5	YxxM	-	K
Vava-NKG2-6	ITIM	-	K
Vava-NKG2-7	YxxM	-	K
Vava-NKG2-8	YxxM	ITIM	K

### 3.3.1.4 Expression von Ly49L im Vari

Das Ly49L-Transkript des Varis wird wie im Mausmaki (3.2.2.4), Orang-Utan (Guethlein et al., 2002) und Mantelpavian (Mager et al., 2001) zum längsten offenen Leserahmen gespleißt und kodiert für einen Rezeptor mit vollständiger CTLD. Analog zum Mausmaki besitzt der Ly49L-Rezeptor des Varis keine positiv geladene Aminosäure in der Transmembranregion, sondern ein ITIM in der Zytoplasmaregion mit einem Tyrosinrest und mit einem Valinrest an Position Y+3 (Abb. 32). Der Aminosäurerest an Position Y-2 ist unbekannt, da an diesen Bereich der für die RT-PCR verwendete Mausmaki-spezifische *forward*-Primer (3047) gebunden hat. Somit kann nicht eindeutig gesagt werden, ob Ly49L im Vari ein „funktionelles“ ITIM besitzt. Bei dem Versuch das 5'-Ende über 5'-RACE-PCR mit dem Primerpaar GeneRacer<sup>TM</sup> 5'Primer/3462 zu amplifizieren, wurde kein PCR-Produkt erhalten. Auch für Ly49L wurden im Vari alternative Spleißprodukte gefunden. Bei einer Spleißvariante (Sv1) fehlen Exon 2, 3 und 4 und bei einer anderen (Sv2) fehlt Exon 5 (Abb. 28); in beiden Fällen ändert sich der offene Leserahmen, was zum frühzeitigen Abbruch der Translation führt.





**Abb. 28 Schematische Darstellung der kompletten und alternativ gespleißten CD94-, NKG2D-, NKG2- und Ly49L-cDNA-Sequenzen im Vari**

Exons sind durch einen schwarzen Kasten dargestellt. Die wahrscheinlichen Exongrenzen wurden anhand der genomischen Sequenz des Mausmakis bestimmt. Auf der rechten Seite ist jeweils die Länge der proteinkodierenden Nukleotidsequenzen sowie der abgeleiteten Aminosäuresequenzen dargestellt, mit Ausnahme der Ly49L-cDNA-Sequenz, die am 5'-Ende unvollständig ist (graues Kästchen). Von den Exons kodierte Proteindomänen sind ebenfalls aufgeführt: ZY, Zytoplasmaregion; TM, Transmembranregion; CTLD, C-Typ Lektin-ähnliche Domäne. Sternchen (\*) stellen Stopkodons dar. Vava, *Varecia variegata*.

**3.3.2 Diversitätsanalyse der NKC-Gene im Vari**

Bei der Sequenzierung der klonierten PCR-Produkte, die von einem Vari-Individuum stammen, wurden für die Gene CD94-2, CD94-3, NKG2-6 und Ly49L verschiedene Allele gefunden. Mit Ausnahme von Ly49L weisen die Gene mehr nicht-synonyme als synonyme Austausche auf (Tab. 17). In den beiden Allelen von CD94-2 treten fünf SNP auf, von denen zwei synonym und drei nicht-synonym sind. Der Aminosäureaustausch an Position 101 (Arginin versus Glycin) betrifft den vermutlichen Heterodimerkontaktbereich mit NKG2 und die Aminosäureaustausche an den Positionen 107 (Arginin versus Prolin) und 156 (Valin versus Alanin) befinden sich im putativen Ligandenbindebereich (Abb. 29) (Sullivan et al., 2007). Für CD94-3 wurden zwei SNP nachgewiesen, die nicht-synonym sind und die Transmembranregion betreffen. Die beiden NKG2-6-Allele unterscheiden sich an zwei Nukleotidpositionen, die jeweils zum Aminosäureaustausch in der Transmembran- und der Halsregion führen. Für Ly49L wurde lediglich ein synonymer Austausch in der Zytoplasmaregion gefunden. Da nur einzelne Klone sequenziert wurden und keine aufgereinigten PCR-Produkte, ist ungewiss, ob verschiedene Allele für die Gene CD94-1, NKG2D, NKG2-1, -2, -3, -4, -5, -7, und -8 im untersuchten Vari existieren. PCR-bedingte Mutationen in den Klonen erschwerten zum Teil die Identifizierung von echten Allelen. Als allelischer Austausch wurde daher nur ein Austausch betrachtet, der in mindestens zwei Klonen auftrat.

**Tab. 17 Synonyme und nicht-synonyme SNP zwischen CD94-, NKG2- und Ly49L-Allelen von einem Vari-Individuum**

Nukleotid- und Aminosäurepositionen für Vava-Ly49L beziehen sich auf die am 5'-Ende unvollständige Sequenz (siehe Anhang unter 7.7.13). ZY, Zytoplasmaregion; TM, Transmembranregion; CTLD, C-Typ Lektin-ähnliche Domäne; Vava, *Varecia variegata*.

Gen	Nukleotid- position (bp)	Nukleotid- austausch	Aminosäure- position	Aminosäure- austausch	Region/ Domäne
<i>Vava- CD94-2</i>		<b>*01 *02</b>			
	117	C G	39	-	Hals
	301	C G	101	R/G	CTLD
	320	G C	107	R/P	CTLD
	403	C T	135	-	CTLD
	467	T C	156	V/A	CTLD
<i>Vava- CD94-3</i>		<b>*01 *02</b>			
	74	C T	25	A/V	TM
	83	G C	28	G/A	TM
<i>Vava- NKG2-6</i>		<b>*01 *02</b>			
	232	G A	78	V/I	TM
	338	C T	113	T/I	Hals
<i>Vava- Ly49L</i>	12	<b>*01 *02</b> C T	4	-	ZY

### 3.4 Vergleich der C-Typ Lektin-ähnlichen NK-Zell-Rezeptoren

Die abgeleiteten Aminosäuresequenzen von CD94, NKG2D, NKG2 und Ly49L vom Weißbüschelaffen, Mausmaki und Vari wurden mit den Aminosäuresequenzen der entsprechenden Rezeptoren anderer Primaten und gegebenenfalls der Maus verglichen.

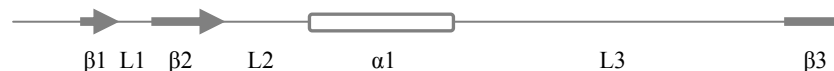
#### 3.4.1 CD94-Aminosäurevergleich

Der CD94-Aminosäurevergleich (Abb. 29) enthält Sequenzen von vier Altweltaffen (Mensch, Schimpanse, Orang-Utan, Rhesusaffe), einem Neuweltaffen (Weißbüschelaffe) und zwei Lemuren (Mausmaki, Vari). Die CD94-Sequenzen der Altweltaffen und des in dieser Arbeit untersuchten Neuweltaffen sind stark konserviert. Die Aminosäuresequenzidentität zwischen der CD94-Sequenz des Weißbüschelaffen und der CD94-Sequenz des Menschen beträgt 87,1 %. CD94 im Mausmaki und im Vari ist weniger stark konserviert als CD94 im Weißbüschelaffen. Die drei CD94-Sequenzen des Mausmakis und des Varis besitzen auf Aminosäureebene Identitäten von 71,8-79,9 % (siehe Anhang unter 7.2.1). Die Identitäten zwischen den drei CD94-Sequenzen des Mausmakis und der humanen CD94-Sequenz betragen 63,8-70,3 % und zwischen den drei CD94-Sequenzen des Varis und der humanen CD94-Sequenz 67,2-68,7 % (siehe Anhang unter 7.2.1). Sowohl im Mausmaki als auch im Vari zeigt CD94-3 die höchste Identität zum humanen CD94. Die CD94-Sequenzen der Lemuren unterscheiden sich untereinander und zu den CD94-Sequenzen der Altweltaffen vor allem in der Halsregion. Die Zytoplasma- und Transmembranregion ist dagegen in allen CD94-Sequenzen stark konserviert (Abb. 29). Im Gegensatz zu den Lemuren sind die C-terminal gelegenen Reste des Heterodimerkontaktbereichs innerhalb der CTLD in den Altweltaffen stark konserviert (siehe Aminosäurepositionen 106-111 von Hosa-CD94 in loop 3 und entsprechende Positionen der anderen CD94-Sequenzen in Abb. 29). Die N-terminal gelegenen Reste des Heterodimerkontaktbereichs sind in allen Primaten konserviert. Sechs Cysteinreste in der CTLD des humanen CD94-Moleküls, die an der Ausbildung von drei intrachenaren Disulfidbrücken beteiligt sind (Boyington et al., 1999; Sullivan et al., 2007), sind in allen CD94-Sequenzen erhalten (Abb. 29). Ebenfalls erhalten ist der Cysteinrest an Aminosäureposition 59 in der Halsregion des humanen CD94-Moleküls, der an einer interchenaren Disulfidbrücke zwischen CD94 und NKG2 beteiligt ist (Sullivan et al., 2007).

	ZY	TM	
Hosa-CD94	MAVFKTTLWR	LISGTLGIICLSLMATLGILL	31
Patr-CD94	.....	.....	31
Popy-CD94	.....W	.....T	31
Mamu-CD94	.....	.....	31
Caja-CD94*01	.....A.F..	.....	31
Caja-CD94*02	.....A.F..	.....	31
Mimu-CD94-1	...SQ..R..	.....V...L..V...M..	31
Mimu-CD94-2*01	...SQ..R..	.....V...L..V...M..	31
Mimu-CD94-2*02	...SQ..R..	.....V...L..V...M..	31
Mimu-CD94-3A*01	...SQ..R..	.....V...L..V...M..	31
Mimu-CD94-3A*02	...SQ..R..	.....V...L..V...M..	31
Mimu-CD94-3B*01	...SQ..R..	.....V...L..V...M..	31
Mimu-CD94-3B*02	...SQ..R..	.....V...L..V...M..	31
Vava-CD94-1	...SQ..R..	.....VV..L..L.....W	31
Vava-CD94-2*01	...SQ..R..	.....V...L.....W	31
Vava-CD94-2*02	...SQ..R..	.....V...L.....W	31
Vava-CD94-3*01	...SQ..W..	.....V...L.....	31
Vava-CD94-3*02	...SQ..W..	.....V...L..V..A...	31

	Hals	‡	
Hosa-CD94	KNS-----FTKLSIEPAFT-PGPNIELQKDSDCCS		60
Patr-CD94	.....		60
Popy-CD94	.....D		60
Mamu-CD94	.....V...Y-		60
Caja-CD94*01	.....S..		60
Caja-CD94*02	.....S..T		61
Mimu-CD94-1	.SL-----PNEID.K.TSS-SL..K...EG....		60
Mimu-CD94-2*01	.SL-----ILQT.T.ATHS-.RL.--.EG....		58
Mimu-CD94-2*02	.SL-----ILQT.T.ATHS-.RL.--.EG....		58
Mimu-CD94-3A*01	.S.NFESFLMAH..TDV.S.TSS-...DR...EGP....		68
Mimu-CD94-3A*02	.S.NFESFLMAH..TDV.S.SS-...DR...EGP....		68
Mimu-CD94-3B*01	.SY-----V.S.TSS-...DR...EGP....		55
Mimu-CD94-3B*02	.SY-----V.S.SS-...DR...EGP....		55
Vava-CD94-1	.LY-----M.LISS-.L.T...EG....		55
Vava-CD94-2*01	PIY-----T..ISS-...M...EG....		55
Vava-CD94-2*02	PIY-----T..ISS-...M...EG....		55
Vava-CD94-3*01	QPL-----FLP..G.R.Q.TLS-S.L...HEG....		63
Vava-CD94-3*02	QPL-----FLP..G.R.Q.TLS-S.L...HEG....		63

	CTLD		
	1	2	
Hosa-CD94	CQE	KWVG	YRCNCYFISSEQKTNWESRHLCASQKSSLLQLQNTDELDFMSSSQQFYWIG 118
Patr-CD94	.....	.....	..... 118
Popy-CD94	.....	.....	..... 118
Mamu-CD94	.H.	.....	.....R.....H. 118
Caja-CD94*01	.....I	.....	.....SR..... 118
Caja-CD94*02	.....I	.....KSR	.....SR..... 119
Mimu-CD94-1	.P.	.....L.M.	.....NF.V..N.....R...P..H.NTK..... 118
Mimu-CD94-2*01	.P.	.....G.V.	.....E..IF.I..N.....R...A..Y.N.Y..... 116
Mimu-CD94-2*02	.P.E	.....G.V.	.....E..IF.I..N.....R...A..Y.N.Y..... 116
Mimu-CD94-3A*01	.PK.	.....W.	.....M.....NF..N.....R...N..NF..R..... 126
Mimu-CD94-3A*02	.PK.	.....W.	.....M.....NF..N.....R...N..NF..R..... 126
Mimu-CD94-3B*01	.PK.	.....W.	.....M.....NF..N.....R...N..NF..R..... 113
Mimu-CD94-3B*02	.PK.	.....W.	.....M.....NF..N.....R...N..NF..R..... 113
Vava-CD94-1	.P.	.....V.	.....E..NF.LF.N.....R...A.TQF..... 113
Vava-CD94-2*01	.P.	.....M.	.....E..NF.V..N.....R...R..QL.RR..... 113
Vava-CD94-2*02	.P.	.....M.	.....E..NF.V..N.....R...G..QL.PR..... 113
Vava-CD94-3*01	.P.	.....V.	.....E..NF.LFRN.....R...N..H.G.H..... 121
Vava-CD94-3*02	.P.	.....V.	.....E..NF.LFRN.....R...N..H.G.H..... 121



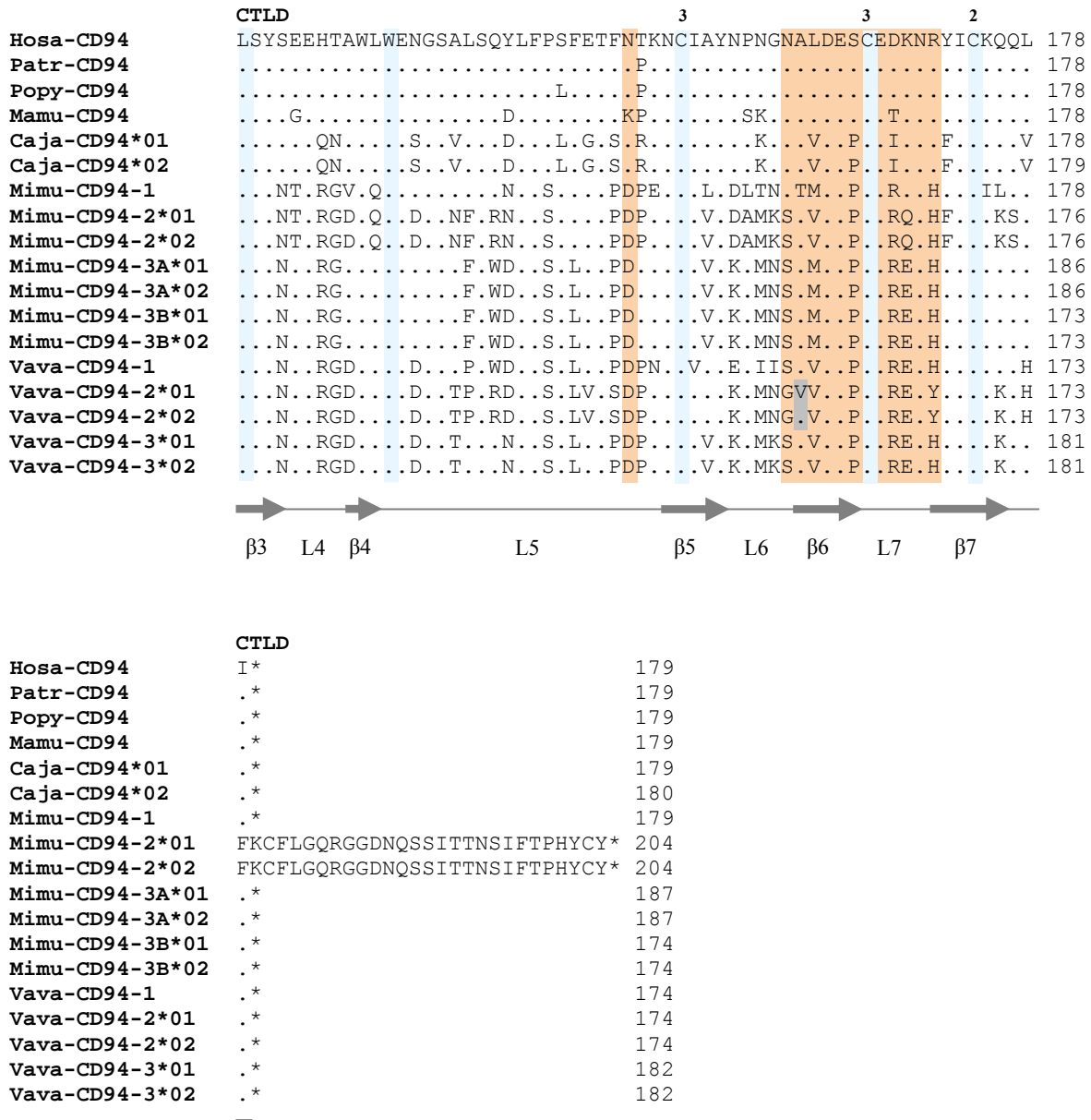
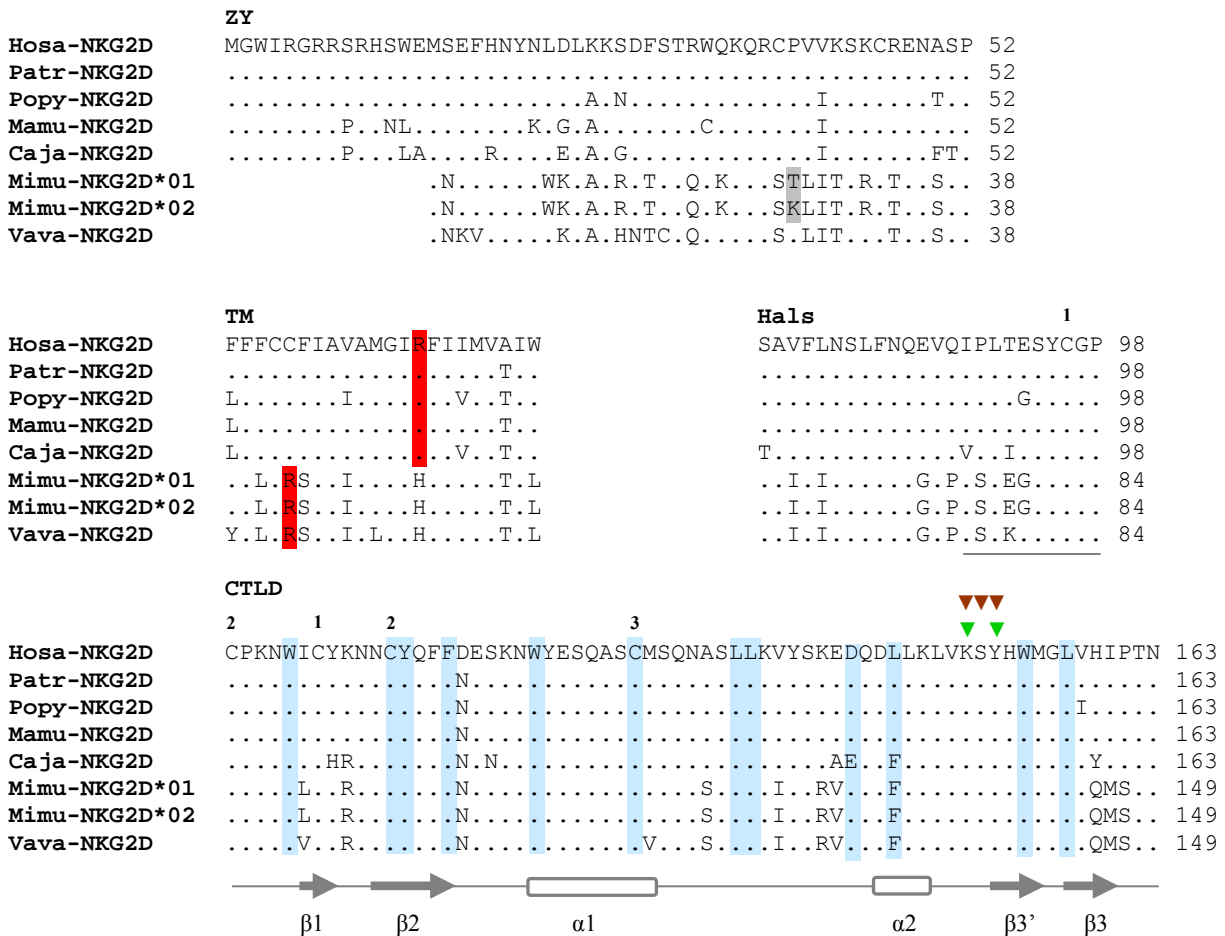


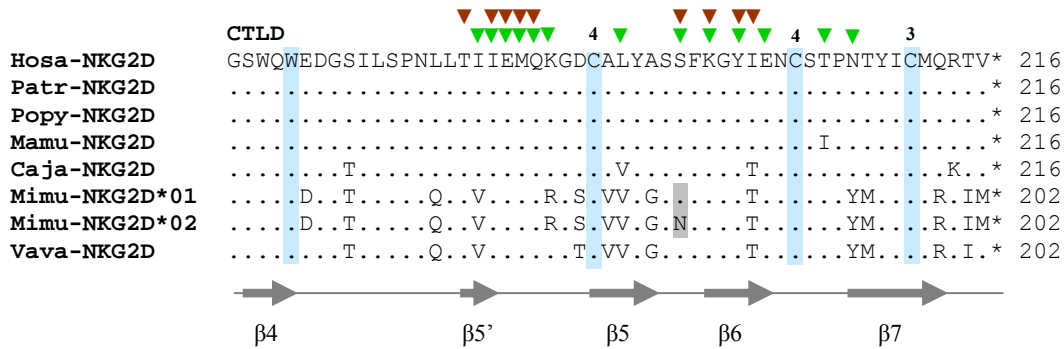
Abb. 29 Aminosäurevergleich der CD94-Sequenzen

Hosa, *Homo sapiens*; Patr, *Pan troglodytes*; Popy, *Pongo pygmaeus*; Mamu, *Macaca mulatta*; Caja, *Callithrix jacchus*; Mimu, *Microcebus murinus*; Vava, *Varecia variegata*. Zugangsnummern der im Vergleich verwendeten Sequenzen siehe Tab. 3 in Material und Methoden. Die Proteinsequenzen sind unterteilt in Zytoplasmaregion (ZY), Transmembranregion (TM), Hals und C-Typ Lektin-ähnliche Domäne (CTLD). Punkte zeigen identische Aminosäuren zur humanen Referenzsequenz an und Striche Deletionen. Sekundärstrukturelemente basieren auf der Kristallstruktur von CD94 (Boyington et al., 1999). Putative Ligandenbindebereiche sind orange markiert (Sullivan et al., 2007). Heterodimerkontakte zwischen CD94 und NKG2 (blaue Balken oberhalb der Sequenz) beziehen sich auf die Kristallstruktur von CD94-NKG2A des Menschen (Sullivan et al., 2007). Cysteinreste, die intrachenare Disulfidbrücken ausbilden, sind durch eine Zahl gekennzeichnet und Cysteinpaare mit der gleichen Zahl versehen (Boyington et al., 1999; Sullivan et al., 2007). Der Cysteinrest in der Halsregion, der an einer interchenaren Disulfidbrücke mit NKG2 beteiligt ist, ist durch ein Doppelkreuz (‡) angezeigt (Sullivan et al., 2007). Hoch konservierte Bereiche zwischen CD94, NKG2D, NKG2 und Ly49L sind hellblau hinterlegt. Aminosäureaustausche zwischen zwei Allelen sind grau markiert. Sternchen (\*) kennzeichnen Stopkodons.

### 3.4.2 NKG2D-Aminosäurevergleich

Der Aminosäurevergleich enthält die NKG2D-Sequenzen von vier Altweltaffen (Mensch, Schimpanse, Orang-Utan, Rhesusaffe), einem Neuweltaffen (Weißbüschelaffe) sowie zwei Lemuren (Vari, Mausmaki) (Abb. 30). NKG2D der Lemuren ist am N-Terminus 14 Aminosäuren kürzer als NKG2D in den höheren Primaten. Die NKG2D-Sequenzen aller Primaten sind stark konserviert. Die Aminosäuresequenzidentität zwischen Weißbüschelaffe und Mensch beträgt 87,0 %, zwischen Mausmaki und Mensch 72,3 % und zwischen Vari und Mensch 72,8 %. Acht Cysteinreste, die im humanen NKG2D an vier intrachenaren Disulfidbrücken beteiligt sind (Li et al., 2001), sind in allen NKG2D-Sequenzen konserviert. Interchenare Disulfidbrücken existieren im NKG2D-Homodimer nicht (Li et al., 2001).





**Abb. 30 Aminosäurevergleich der NKG2D-Sequenzen**

Hosa, *Homo sapiens*; Patr, *Pan troglodytes*; Popy, *Pongo pygmaeus*; Mamu, *Macaca mulatta*; Caja, *Callithrix jacchus*; Mimu, *Microcebus murinus*; Vava, *Varecia variegata*. Zugangsnummern der im Vergleich verwendeten Sequenzen siehe Tab. 3 in Material und Methoden. Die Proteinsequenzen sind unterteilt in Zytoplasmaregion (ZY), Transmembranregion (TM), Hals und C-Typ Lektin-ähnliche Domäne (CTLD). Punkte zeigen identische Aminosäuren zur humanen NKG2D-Referenzsequenz an und Striche Deletionen. Positiv geladene Argininreste in der Transmembranregion sind rot hinterlegt. Sekundärstrukturelemente basieren auf der Kristallstruktur von NKG2D im Komplex mit MICA (Li et al., 2001). MICA-Bindestellen sind durch grüne Dreiecke (▼) dargestellt (Li et al., 2001) und ULBP3-Bindestellen durch braune Dreiecke (▼) (Radaev et al., 2001). Cysteinreste, die intrachenare Disulfidbrücken ausbilden, sind durch eine Zahl gekennzeichnet und Cysteinpaare mit der gleichen Zahl versehen (Li et al., 2001). Hoch konservierte Bereiche zwischen CD94, NKG2D, NKG2 und Ly49L sind hellblau hinterlegt. Aminosäureaustausche zwischen zwei Allelen sind grau markiert. Sternchen (\*) kennzeichnen Stopkodons.

### 3.4.3 NKG2-Aminosäurevergleich

Der Vergleich umfasst die NKG2A-, -F- und -C/E-Sequenzen von Mensch, Schimpanse, Orang-Utan und Rhesusaffe, NKG2A und NKG2CE des Weißbüschelaffen sowie NKG2-1, -2, -3, -5 und -8 des Mausmakis und NKG2-1 bis NKG2-8 des Varis (Abb. 31).

Im Vergleich zu den CD94- und NKG2D-Sequenzen sind die NKG2-Sequenzen des Weißbüschelaffen und der Lemuren weniger konserviert. Die Aminosäuresequenzidentität zwischen NKG2A des Weißbüschelaffen und NKG2A des Menschen beträgt 80,7 %, zwischen NKG2CE des Weißbüschelaffen und NKG2C des Menschen 81,8 % sowie zwischen NKG2CE des Weißbüschelaffen und NKG2E des Menschen 78,8 %. Die NKG2-Sequenzen des Mausmakis weisen zum humanen NKG2A 54,4-64,8 % Identität, zum humanen NKG2C 55,0-60,6 % Identität, zum humanen NKG2E 52,4-57,6 % Identität und zum humanen NKG2F 48,7-57,8 % Identität auf (siehe Anhang unter 7.2.2). Die Vari-NKG2-Sequenzen zeigen zum humanen NKG2A 54,3-63,9 % Identität, zum humanen NKG2C 57,1-62,3 % Identität, zum humanen NKG2E 56,1-61,0 % Identität und zum humanen NKG2F 53,2-

58,3 % Identität auf (siehe Anhang unter 7.2.2). Die Sequenzidentitäten zwischen den NKG2-Sequenzen des Mausmakis und des Varis betragen 56,8-82,2 % (siehe Anhang unter 7.2.2).

Die NKG2-Sequenzen der höheren Primaten unterscheiden sich in ihrer Zytoplasma- und Transmembranregion entsprechend aktivierender (positiv geladene Aminosäure in der Transmembranregion) und inhibierender NK-Zell-Rezeptoren (ITIM in der Zytoplasmaregion). Die NKG2-Sequenzen der Lemuren besitzen dagegen eine unterschiedliche Kombination an ITIM-Sequenzen und YxxM-Motiven in der Zytoplasmaregion sowie positiv geladener Aminosäuren in der Transmembranregion (Abb. 31), so dass ihre Funktionen möglicherweise vielfältiger sind.

Die Halsregion ist besonders divers in den NKG2-Sequenzen der Lemuren, aber auch die NKG2-Sequenzen der höheren Primaten unterscheiden sich in dieser Region. Der N-terminale Bereich der CTLD ist in allen NKG2-Sequenzen eher konserviert, während im C-terminalen Bereich große Sequenzunterschiede zwischen den NKG2-Sequenzen der Lemuren und den höheren Primaten auftreten (Abb. 31). Auch der C-terminal gelegene Heterodimerkontaktbereich unterscheidet sich stark zwischen den Lemuren und den höheren Primaten. Der am weitesten C-terminal gelegene Rest des Heterodimerkontaktbereichs (Aminosäureposition 169 im humanen NKG2C und entsprechende Position in den anderen NKG2-Molekülen) ist, wie bereits erwähnt, besonders divers in den Lemuren, während er in den höheren Primaten eher konserviert ist. Der putative Ligandenbindebereich der NKG2-Moleküle unterscheidet sich zwischen den verschiedenen Spezies. Innerhalb der einzelnen Spezies ist er in den Lemuren diverser als in den höheren Primaten.

Sechs Cysteinreste in der CTLD des humanen NKG2A-Moleküls, die an der Ausbildung von drei intrachenen Disulfidbrücken beteiligt sind (Sullivan et al., 2007), sind mit Ausnahme der NKG2F-Sequenzen und der NKG2CII-Sequenz des Schimpansen in allen NKG2-Sequenzen konserviert. Der Cysteinrest an Aminosäureposition 116 des humanen NKG2A-Moleküls, der an einer interchenaren Disulfidbrücke mit CD94 beteiligt ist (Sullivan et al., 2007), ist mit Ausnahme von NKG2-3 des Varis ebenfalls in allen NKG2-Sequenzen erhalten. NKG2-3 im Vari besitzt zwei Aminosäurepositionen weiter N-terminal einen Cysteinrest, der möglicherweise diese Funktion übernimmt (Abb. 31).

ZY

Hosa-NKG2C	MSKQRGTFSEVSLAQDPKRQQRKPKGNKSSISGTEQEIFQVELNLQNPSL-NHQGIDK	57
Patr-NKG2CI	.D.....-.....	57
Patr-NKG2CII	.D.....H.....	57
Mamu-NKG2C	.N.....L.....Q	57
Hosa-NKG2E	.N.....P.....A.-.....	57
Patr-NKG2E	.N.....A.....A.-.....	57
Popy-NKG2CE	.....R.....K.....-	41
Caja-NKG2CE	.N...E.I.GM...H.....R.....E...R.A.P-.....	57
Hosa-NKG2F	.N.....Y.....L.....K.....A.S-D...N..	57
Patr-NKG2F	.N.....Y.....L.....K.....A.S-D...N..	57
Popy-NKG2F	.....R.....FK.A.-D...N..	33
Mamu-NKG2F2	.N.....Y.....E.G...L.....K.....A.S-D...N..	57
Hosa-NKG2A	.DN.GVIY.DLN.PPN.....LA...TYA...KA.Q-DF..N..	57
Patr-NKG2A	.DN.GVIY.DLN.PPN.....LA...TYA...KA.Q-DF.EN..	57
Popy-NKG2A	.DN.GVIY.DLN.PPN.....LA...TYA...KA.Q-DF..N..	57
Mamu-NKG2A	.DN.GVIY.DLN.PPN...K.Q...T...LV...TY...KT.Q-DF..NY..	57
Caja-NKG2A	.DH.GVIY.DLN.PPK.....T...SKE...LV...TYA...TA.Q-DF..N..	57
Mimu-NKG2-1*01	.DN..VIY..MN..KN.....S.DT...K...TYA...AAQ-DL..D.R	57
Mimu-NKG2-1*02	.DN..VIY..MN..KN.....S.DT...K...TYA...AAQ-DL..D.R	57
Mimu-NKG2-2*01	.KN.KV.Y.GMN..K.....F...D...V...T.....ATSGDL..KE.	58
Mimu-NKG2-2*02	.KN.KV.Y.GLN..K.....S...D...V...T.....H.ATSGDL..KE.	58
Mimu-NKG2-2*03	.KN.KV.Y.GLN..K.....S...D...V...T.....H.ATSGDL..KE.	58
Mimu-NKG2-2*04	.KN.KV.Y.GLN..K.....S...D...V...T.....H.ATSGDL..KE.	58
Mimu-NKG2-3*01	.DN.TVIY..IL..KT....K.S.DTT...E.D...TYA...AAQ-DL.RV.R	57
Mimu-NKG2-3*02	.DN.TVIY..ML..KT....K.S.DTT...E.D...TYA...AAQ-DL.RV.R	57
Mimu-NKG2-3*03	.DN.TVIY..ML..KT....K.S.DTT...E.D...TYA...AAQ-DL.RV.R	57
Mimu-NKG2-5*01	.KN..V-----N..K.....S..G...V...A.....AT.-DLS.KE.	52
Mimu-NKG2-5*02	.KN..V-----N..K.....S..G...V...A.....AT.-DLS.KE.	52
Mimu-NKG2-5A*03	.KN..V-----N..K.....S..G...V...A.....AT.-DLS.KE.	52
Mimu-NKG2-5B*03	.KN..V-----N..K.....S..G...V...A.....AT.-DLS.KE.	52
Mimu-NKG2-8*01	.DN..VIY..MN...NS.....S.DT...E.K...TYA...AAQ-DL..D.R	57
Mimu-NKG2-8*02	.DN..VIY..MN...NS.....S.DT...E.K...TYA...AAQ-DL..D.R	57
Mimu-NKG2-8*03	.DN..VIY..MN...NS.....S.DT...E...TYA...AAQ-DL..D.R	57
Vava-NKG2-1	.DN..VIY..MK..KN.....S.DT...E.W...TYA...AAQ-DLR.D.T	57
Vava-NKG2-2	.KN..V.Y.GMN..K.....S..K...V...T.....AP.-DL..K..	57
Vava-NKG2-3	.NN..VIY..LN..KN..Q...ET..T...E..R...TY...AAQ-DP..D..	57
Vava-NKG2-4	.KN..V.Y.GMN..K.....S..G...T.V...I.....F..AP.-DL..KE.	57
Vava-NKG2-5	.KN..V.Y.GMN..K.....S..G...V..E..T...F..AT.-DL.EKE.	57
Vava-NKG2-6*01	.KN..V.Y.GLN..K...M...S..G...F.V...TP...E..AT.-DL..N.N	57
Vava-NKG2-6*02	.KN..V.Y.GLN..K...M...S..G...F.V...TP...E..AT.-DL..N.N	57
Vava-NKG2-7	.KN.TV.Y.GMN..K.....T.S..G...T.V...T.....AP.-DL..KE.	57
Vava-NKG2-8	.DNE.VIY..MN...KNS.S...S..T...E...K...TYA...AAQ-DL..D.N	57

ITIM/YxxM  
Position 1

ITIM  
Position 2

	ZY	TM
Hosa-NKG2C	IYDCQGLLPPEK	LTAEVLGIICIVLMA-TVLKTIVLI- 94
Patr-NKG2CI	.....	.....V.....-.....- 94
Patr-NKG2CII	.....	.....-.....- 94
Mamu-NKG2C	.....	.....-.....- 94
Hosa-NKG2E	.....	.....-.....- 94
Patr-NKG2E	.....	...KM.....S-A.....- 94
Popy-NKG2CE	.....	.....-.....- 78
Caja-NKG2CE	T...K.....R	.....-.....- 94
Hosa-NKG2F	T.H.K.....	.....-.....- 94
Patr-NKG2F	T.H.K.....R	.....-.....- 94
Popy-NKG2F	T.H.K.....	.....-C*..... 63
Mamu-NKG2F2	T.H.K.....	.....-.....- 94
Hosa-NKG2A	T.H.KD.PSA...	.IVGI.....LI...S-V-...V- 93
Patr-NKG2A	T.H.KD.PSA...	.IVGI.....LI...S-V-...V- 93
Popy-NKG2A	T.H.KD.PSA...	.IVGI.....L...S-V-...V- 93
Mamu-NKG2A	T.H.KD.PSA...	.I.GI.....LI...S-V-...V- 93
Caja-NKG2A	T.H.KD.PSA...	VIIGI.....LL...S-I-...V- 93
Mimu-NKG2-1*01	S.H.KD..L....	.I.GI.....LI...FM-I-...VI 92
Mimu-NKG2-1*02	S.H.KD..L....	.I.GI.....LI...SM-I-...VI 92
Mimu-NKG2-2*01	TCYY.FS.L....	...I.AV...T.VGS-...M-...LA 95
Mimu-NKG2-2*02	TCYY.FS.L....	...I.A...T.VGS-...M-...A 95
Mimu-NKG2-2*03	TCYY.FS.L....	...I.A...T.VGS-...M-...LA 95
Mimu-NKG2-2*04	TCYY.FS.L....	...I.A...T.VGS-...M-...LA 95
Mimu-NKG2-3*01	S.HYKD..L.Q..	.I.GI...L.L..IMS..V-.S-.V- 93
Mimu-NKG2-3*02	S.HYKD..L.Q..	.I.GI...L.L..IMS..V-.S-.V- 93
Mimu-NKG2-3*03	S.HYKD..L.Q..	.I.GI...L.L..IMS..V-.S-.V- 93
Mimu-NKG2-5*01	.CYYKLS.L....	...I.AV...V.VGS-...M-...A 89
Mimu-NKG2-5*02	.CYYNVS.L....	...I.AV...V.VGS-...M-...A 89
Mimu-NKG2-5A*03	.CYYKLS.L....	...I.AV...V.VGS-...M-...A 89
Mimu-NKG2-5B*03	.CYYKLS.L....	...I.AV...V.VGS-...M-...A 89
Mimu-NKG2-8*01	S.H.KD..L....	.I.GI.....L..IMS..V-.S-.V- 93
Mimu-NKG2-8*02	S.H.KD..L....	.I.GI.....L..IMS..V-.S-.V- 93
Mimu-NKG2-8*03	S.H.KD..L....	.I.GI.....L..IMS..V-.S-.V- 93
Vava-NKG2-1	S.H.KD..L....	.I.GI.....L...FM-A--G...A 93
Vava-NKG2-2	TCYYKFS.L.G.	...I.AV.....VGS-...M-...A 94
Vava-NKG2-3	S.H.KD..L....	.I.GI.....L.FTSA-V-...-LV 92
Vava-NKG2-4	TCYYKFS.L....	...I.AV.....VGS-...M-...A 94
Vava-NKG2-5	TCYYKFS.LS.G.	...I.AV.....VGS-...M-...A 94
Vava-NKG2-6*01	SCYRKFS.L....	...I.AV.....VGS-...M-...V 94
Vava-NKG2-6*02	SCYRKFS.L....	...I.A.....VGS-...M-...V 94
Vava-NKG2-7	TCYYKFS.L.G.	...I.AV.....VGS-...M-...A 94
Vava-NKG2-8	S.H.KD..L....	.I.GI.....L...SV-II-C---VI 92

ITIM  
Position 3

	Hals	‡	CTLD	
			I	I
Hosa-NKG2C	--P---FLEQNNSSPNTRTQK-----ARHCGH		CPEEWITYSNSCYIIG	132
Patr-NKG2CI	--.-----G.....		.....	132
Patr-NKG2CII	--.-----		...SGLHIPTVVTTLV	132
Mamu-NKG2C	--.---L.....T.....V.....		.....	132
Hosa-NKG2E	--.-----P.....		.....	132
Patr-NKG2E	--.-----P.....		.....	132
Popy-NKG2CE	--.-----H.....		.....	116
Caja-NKG2CE	--.-----C.....H..D.		.....M.....	132
Hosa-NKG2F	--.CIGV....SF.L.R.M.....		.....	135
Patr-NKG2F	--.CIGV....F.L.R.M.....CD...		.....	135
Mamu-NKG2F2	--.CIGV....F.L...I.....YD...		.....T.....	135
Hosa-NKG2A	--.STLIQRH...L.....		.....	134
Patr-NKG2A	--.STLIQRH...L.....		.....	134
Popy-NKG2A	--.STLIQKH.S..L.....HR...		.....	134
Mamu-NKG2A	--.STLTQKH...L.....C.....		.....	134
Caja-NKG2A	--.STLTQKH...L.....YR.D.		.....V.....	134
Mimu-NKG2-1*01	--.S--R.M...LQ.M...DSDSS.Y..A.		.....F...TN.....	136
Mimu-NKG2-1*02	--.S--R.M.K..LQ.M...DSDSS.Y..A.		.....F...TN.....	136
Mimu-NKG2-2*01	HI.CTLTQKP.I.FQTI.....YG..R		.....LA..TN...S	138
Mimu-NKG2-2*02	HI.CTLTQKP.I.FQAI.....YG..R		.....LA..TN...S	138
Mimu-NKG2-2*03	HI.CTLTQKP.I.FQTI.....YG..R		.....LA..TN...S	138
Mimu-NKG2-2*04	HI.CTLTHKP.I.FQTI.....YG..R		.....LA..TN...S	138
Mimu-NKG2-3*01	-NSSRVPQ...F.QT.....CN..R		.....L...TN...S	135
Mimu-NKG2-3*02	-NSSRVPQ...F.QT.....CN..R		.....L...TN...S	135
Mimu-NKG2-3*03	-NSSRVPQ...F.QT.....CN..R		.....L...TN...S	135
Mimu-NKG2-5*01	LI.[FTV]IKK.D..FQ.VK.....YD..R		.L...F...TN...S	132
Mimu-NKG2-5*02	LI.[FTV]IKK.D..FQ.VK.....YD..R		...F...TN...S	132
Mimu-NKG2-5A*03	LI.FTVIKK.D..FQ.VK.....YD..R		...F...TN...S	132
Mimu-NKG2-5B*03	LI.--LIKK.D..FQ.VK.....YD..R		...F...TN...S	130
Mimu-NKG2-8*01	-Y.STETKK...TLQTV...P.....Y...R		...F...TN...S	135
Mimu-NKG2-8*02	-Y.STETKK...TLQTV...P.....Y...R		...F...SN...S	135
Mimu-NKG2-8*03	-Y.STETKK...TLQTV...P.....Y...R		...F...SN...S	135
Vava-NKG2-1	---SMVKEM...LQTMG.....YN..S.		...F...TN.....	133
Vava-NKG2-2	RI.FTLTQKP...QTM.....YD..R		...F...TN...S	137
Vava-NKG2-3	-N.--LPQN...KTI.....CNR..		...F...TN...S	132
Vava-NKG2-4	LI.--LTQ--S..QTVG.....YY..R		...F...TN...S	133
Vava-NKG2-5	RI.----.KL.S..QTI.....YD..R		...F...TN.....	133
Vava-NKG2-6*01	LI.FTIMEK...FQ.VK.....YD...		...G.F...TN...S	137
Vava-NKG2-6*02	LI.FTIMEK...FQ.VKI.....YD...		...G.F...TN...S	137
Vava-NKG2-7	RI.FTLTQKP...FQTI..H.....YN...		...F...TN...S	137
Vava-NKG2-8	--.--LPQK...D..QT.....YN..S.		...F...TN...S	131





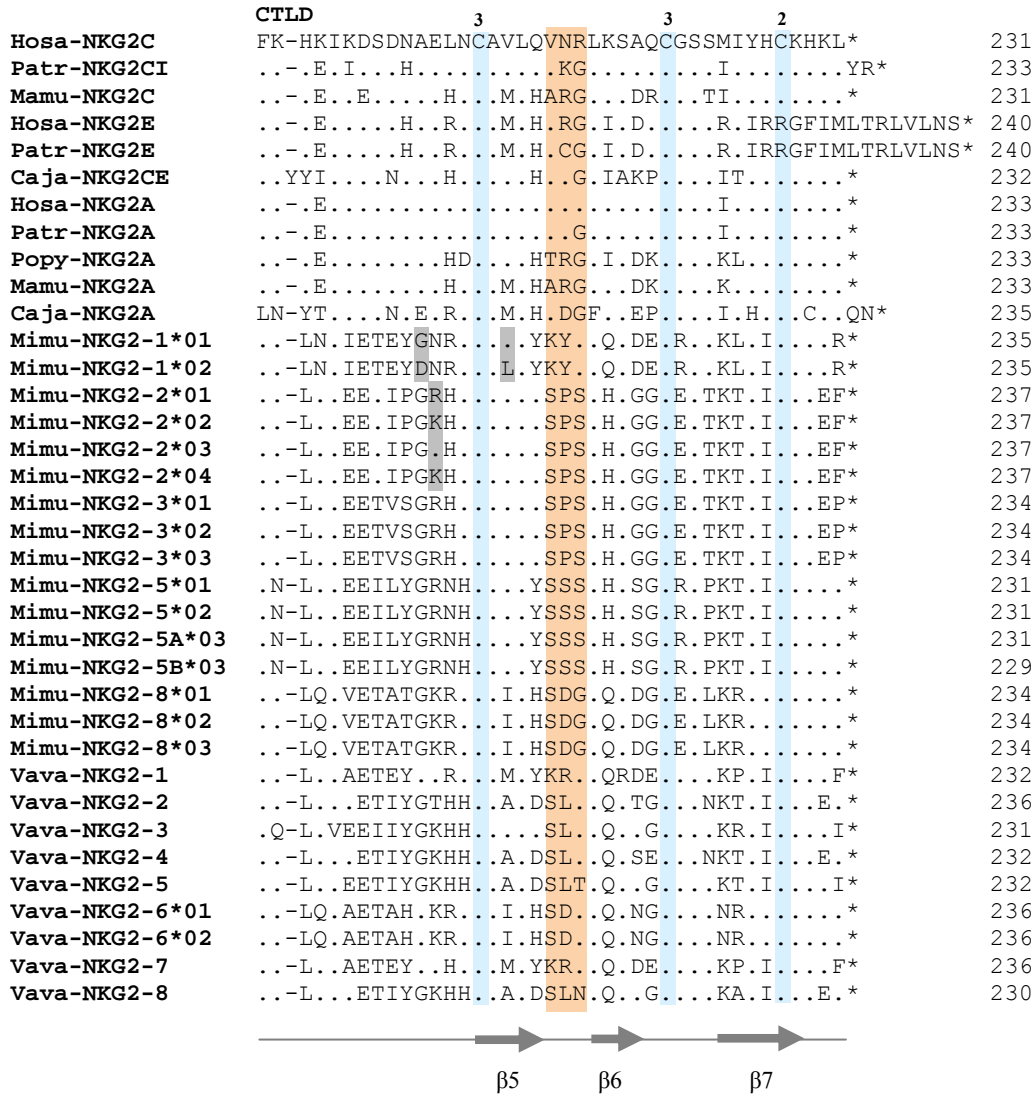


Abb. 31 Aminosäurevergleich der NKG2-Sequenzen

Hosa, *Homo sapiens*; Patr, *Pan troglodytes*; Popy, *Pongo pygmaeus*; Mamu, *Macaca mulatta*; Caja, *Callithrix jacchus*; Mimu, *Microcebus murinus*; Vava, *Varecia variegata*. Zugangsnummern der im Vergleich verwendeten Sequenzen siehe Tab. 3 in Material und Methoden. Die Proteinsequenzen sind unterteilt in Zytoplasmaregion (ZY), Transmembranregion (TM), Hals und C-Typ Lektin-ähnliche Domäne (CTLD). Punkte zeigen identische Aminosäuren zur humanen NKG2C-Referenzsequenz an und Striche Deletionen. ITIM-Sequenzen sind grün und YxxM-Sequenzen gelb markiert. Positiv geladene Aminosäuren in der Transmembranregion sind rot hinterlegt. Sekundärstrukturelemente und Heterodimerkontakte zwischen CD94 und NKG2 (blaue Balken oberhalb der Sequenz) basieren auf der Kristallstruktur von CD94-NKG2A des Menschen (Sullivan et al., 2007). Der putative Ligandenbindebereich ist orange markiert (Sullivan et al., 2007). Cysteinreste, die intrachenare Disulfidbrücken ausbilden, sind durch eine Zahl gekennzeichnet und Cysteinpaare mit der gleichen Zahl versehen (Sullivan et al., 2007). Der Cysteinrest, der an einer interchenaren Disulfidbrücke mit CD94 beteiligt ist, ist durch ein Doppelkreuz (±) angezeigt (Sullivan et al., 2007). Hoch konservierte Bereiche zwischen CD94, NKG2D, NKG2 und Ly49L sind hellblau hinterlegt. Aminosäureaustausche zwischen zwei Allelen sind grau markiert. Die Popy-NKG2CE-Sequenz ist am N- und C-Terminus unvollständig und die Popy-NKG2F-Sequenz ist am N-Terminus unvollständig. In den von der genomischen Sequenz abgeleiteten Allelen Mimu-NKG2-5\*01/\*02 konnte nicht zwischen den differentiell gespleißten NKG2-5A/B-Transkripten unterschieden werden. Der differentiell gespleißte Bereich ist in diesen Sequenzen durch eine eckige Klammer gekennzeichnet. Sternchen (\*) kennzeichnen Stopkodons.

### 3.4.4 Ly49-Aminosäurevergleich

Der Vergleich enthält die Ly49L-Sequenzen von drei Altweltaffen (Mensch, Orang-Utan, Mantelpavian) und zwei Lemuren (Mausmaki, Vari) sowie Ly49a, -c und -h der Maus (Abb. 32). Von den 23 bekannten Ly49-Sequenzen der Maus (Anderson et al., 2001; Dimasi und Biassoni, 2005) wurden die inhibierenden Rezeptoren Ly49a und Ly49c ausgewählt, da die Röntgenkristallstrukturen von Ly49a im Komplex mit H2-D<sup>d</sup> (Tormo et al., 1999) und von Ly49c im Komplex mit H2-K<sup>b</sup> (Dam et al., 2003) bekannt sind. Ly49h wurde als Beispiel für einen aktivierenden Ly49-Rezeptor ausgewählt. Die Ly49L-Proteinsequenzen sind innerhalb der Primaten recht konserviert. Sequenzidentitäten wurden zwischen den Ly49L-Sequenzen der Lemuren und des Orang-Utans berechnet, da die humane Sequenz verkürzt ist. Sowohl die Ly49L-Sequenz des Mausmakis als auch des Varis zeigt eine Identität von 70,7 % zur Sequenz des Orang-Utans. Die Sequenzidentität von Ly49a der Maus zu Ly49L des Mausmakis beträgt 41,8 % und zu Ly49L des Varis 40,8 %.

Acht Cysteinreste in der CTLD sind sowohl in den Ly49-Sequenzen der Maus, als auch in den Ly49L-Sequenzen der Primaten konserviert (mit Ausnahme der verkürzten Ly49L-Sequenz des Menschen). Neben den konservierten Cysteinresten weisen die Ly49L-Sequenzen der Primaten noch weitere Cysteinreste in der CTLD auf (Abb. 32).

ZY

Mus-Ly49a MSEQEVTYSMVERFHKSA-GLQKQVRPEETKGPREAGYRRCSFHWK 44  
 Mus-Ly49c ...P....T...L...S-...L..H...Q...V.N.K..AP.Q 44  
 Mus-Ly49h .....FPTM.....S-...NS...L.G.QRS.K..L.V..VP.Q 44  
 Mimu-Ly49L\*01 ...D.G.I..T...LQ.SSESESGRS.DV.LR.EKTDDKEF.VS.R 45  
 Mimu-Ly49L\*02 ...D.G.I..T...LQ.SSESESGQS.DV.LK.GKTDDKEF.VS.R 45  
 Vava-Ly49L I..T...VR.PSESGSEQ.SDV.QR.GKT.DKVF.VS.R 39  
 Paha-Ly49L .ND.GEV..TL..LQ.PSES.NRL.HDD.QR.GKTDDKEF.VP.R 45  
 Popy-Ly49L .ND.GEI..TL..LQ.PSES.NRL..DD.QR.GKTDDKEF.VR.R 45  
 Hosa-Ly49L .ND.GEI..TL..LQ.PSES.NRL..DD.QR.GKTDDKEF.VP.H 45

TM

Mus-Ly49a FIVIALGIFCFLLLVAVSVLAI  
 Mus-Ly49c L..K....L.....T.A...V  
 Mus-Ly49h L.....L.S...I.A.FVT  
 Mimu-Ly49L\*01 L.AVS...L.LV...I.T..VT  
 Mimu-Ly49L\*02 L.AVS...L.LV...I.T..VT  
 Vava-Ly49L .AVS...L.L...MI.I..VT  
 Paha-Ly49L L.AVT...L.LF..MI.T..VT  
 Popy-Ly49L L.AVT...L.L...MIIT..VT  
 Hosa-Ly49L L.AVT...L.L...MI.T..VT

Hals

KIFQYDQOK-KLQEFLNHHNCSNMQSDI 94  
 ....N.H.QEIN.T...H.....RAF 95  
 .F...S.H.QEIN.T...RH.....R.F 95  
 ...CI.ERHQ...I.G-----HLS.K.N 91  
 ...CI.ERHQ...I.G-----HLS.K.N 91  
 .M..CI.ERH-Q..I.R-----DLS.N.N 84  
 ...CV.E.HEQ..I.RNCSEKYI..N.N 96  
 ...CI.E.HQQ.AI.RNCSEKYI..N.N 96  
 N...CI.E.HQR..I.RNCSEKYI..N.N 96

Hals

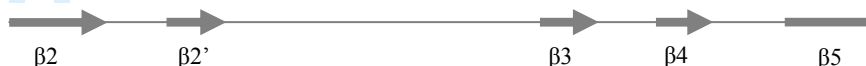
Mus-Ly49a NLKDEMLKNKSMEC----DLLESLNDRQNRLYNKTKTVLDSL-----QHT 135  
 Mus-Ly49c ...E...T...ID.RPSNET..YIK.E.D.WDS.....S-----RD. 140  
 Mus-Ly49h ...E...T...ID.RPSYE...YIK.E.E.WDSE..S.S..S-----RD. 140  
 Mimu-Ly49L\*01 Y..EQL.I..TL.YDILKNESLQQKKKLDLS.FL.NNICHIKNEIFSLSLEN. 143  
 Mimu-Ly49L\*02 Y..EQL.I..TL.YDILKNESLQQKKKLDLS.FL.NNICHIKNEIFSLSLEN. 143  
 Vava-Ly49L Y..EQL.T..TL.YDILKNESLQQKKELDS.FL.KNICTKNDIFSLSLEN. 136  
 Paha-Ly49L Y..EQL.T..TLKYDILKKDSFLQKKELDS.LMLKSRCHRENEIVLKFL.N. 148  
 Popy-Ly49L Y..EQL.T..TLKYDVLKNDSFQKKELDSHLIQKNRCHRENEIVFKVL.N. 148  
 Hosa-Ly49L Y..EQI.T..TLKYDVLKN-SFQKKELDSRLIQKNRCHRENEIVFKVL.N. 147

CTLD

Mus-Ly49a GRGDKVYWFCYGMKCYFYVMDRKTWSGCKQTCQSSSLSLKIDDEDELKFLQLVVPDSC 195  
 Mus-Ly49c ...-VK.....ST.....I.NKT.....AN..HY.VPI...E.....RH.IPENY 199  
 Mus-Ly49h ...-VK.....T.....I.NKT.....AN..HY.VPIV..E.....RH.ILE.Y 199  
 Mimu-Ly49L\*01 .KRYEAH.T.C.LS...A.EN.N.K.....YKS.....T.V..QIYKNNY 203  
 Mimu-Ly49L\*02 .KRYEAH.T.C.LS...AVEN.N.K.....R.YKS.....T.V..QIYKNNY 203  
 Vava-Ly49L .KRYEGH.S.C.LS...T.EN.N.K.....R.YRS.....A.V..QTYKNYY 196  
 Paha-Ly49L .KFSEDH.S.C.VN...T.QK.D.K.....HCRS.....K..A.I.SQIYENNY 208  
 Popy-Ly49L .KFSEDH.S.C.VS...T.RK.D.K.....HCRS.....K..A.I.SQIYENNY 208  
 Hosa-Ly49L .KFSEDHGS.C.VN...T.QK.D.K.....HCRS.....K..V.YIHFYSLGL. 207




Mus-Ly49a WVGLSYDNKKKDWAWIDNRPS-KLALNTRKYNIIRDGGCMLLSKTRLDNGNCDQVFICIG 254  
 Mus-Ly49c .I....K...E...G...-..DMKI..M.FKSR..VF...A.IEDID.NIPYY... 258  
 Mus-Ly49h .I....K...E...H.GQ...-..DMKIK.M.FTSR..VF...A.IEDTD.NTPYY... 258  
 Mimu-Ly49L\*01 .I....ERESK.K.V.SGS.PGINVGMNSSSGR.K.GF...S.VAAID.I.TYN...E 263  
 Mimu-Ly49L\*02 .I....ERESK.K.V.SGS.PGINVGMNSSSGR.K.AF...S.VAAID.I.TYN...E 263  
 Vava-Ly49L .I....E.ERK.K.V.SGS.PG.NFAIMNLTSGR.Q.AF...S.VAVID.IKTYN...E 256  
 Paha-Ly49L .I....KRESK.K...GT.PGINSTIMRSSSGR.E.AF.TS..MATID.I.KYN...E 268  
 Popy-Ly49L .I....ERESK.K...GT.PGIDSTIMRFSSSGR.E.AF.TS..MTTID.I.MYN...E 268  
 Hosa-Ly49L FSM.DLRY\* 216



	<b>CTLD</b>	
<b>Mus-Ly49a</b>	KRLDKFPH*	262
<b>Mus-Ly49c</b>	.K.....D*	266
<b>Mus-Ly49h</b>	.K.....D*	266
<b>Mimu-Ly49L*01</b>	..IGCSIFSASACTEKKR*	281
<b>Mimu-Ly49L*02</b>	..IGCSIFSASACTEKKR*	281
<b>Vava-Ly49L</b>	..I.C-IFSASASTKKKR*	273
<b>Paha-Ly49L</b>	..T-DSIFSDSVCAKKKR*	285
<b>Popy-Ly49L</b>	..T-DSIFSDSVCAK	282



β5

**Abb. 32 Aminosäurevergleich der Ly49-Sequenzen**

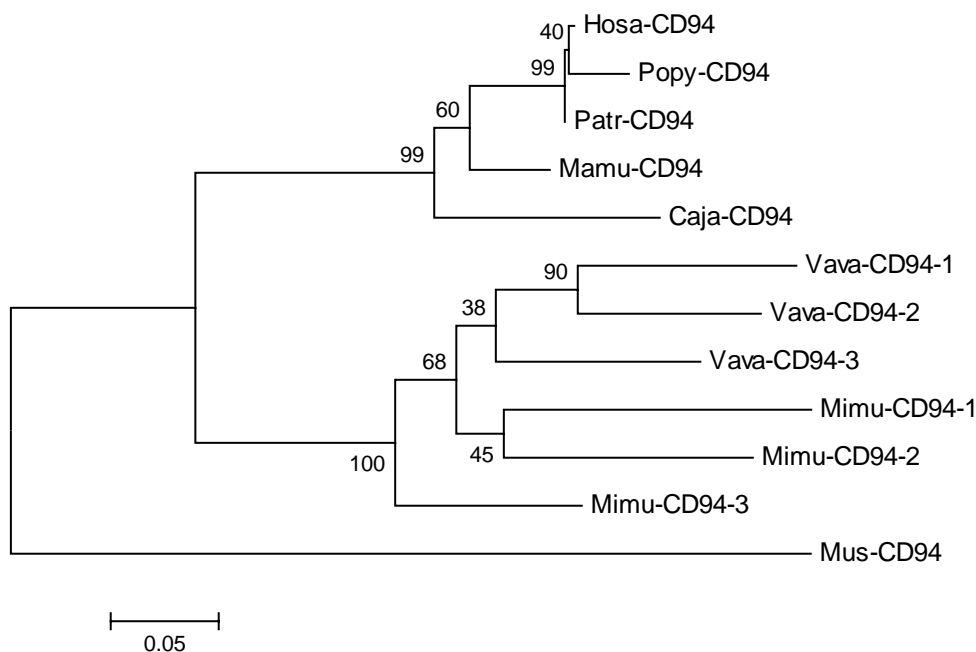
Hosa, *Homo sapiens*; Popy, *Pongo pygmaeus*; Paha, *Papio hamadryas*; Mimu, *Microcebus murinus*; Vava, *Varecia variegata*; Mus, *Mus musculus*. Zugangsnummern der im Vergleich verwendeten Sequenzen siehe Tab. 3 in Material und Methoden. Die Proteinsequenzen sind unterteilt in Zytoplasmaregion (ZY), Transmembranregion (TM), Hals und C-Typ Lektin-ähnliche Domäne (CTLD). Punkte zeigen identische Aminosäuren zur Ly49a-Sequenz der Maus an und Striche Deletionen. ITIM-Sequenzen sind grün markiert. Die positiv geladene Aminosäure in der Transmembranregion von Ly49h ist rot hinterlegt. Sekundärstrukturelemente basieren auf der Kristallstruktur von Ly49a im Komplex mit H2-D<sup>d</sup> (Tormo et al., 1999). Bindestellen zwischen Ly49a und H2-D<sup>d</sup> sind durch grüne Dreiecke (▼) dargestellt (Tormo et al., 1999) und Bindestellen zwischen Ly49c und H2-K<sup>b</sup> durch braune Dreiecke (▼) (Dam et al., 2003). Cysteinreste von Ly49a, die intrachenare Disulfidbrücken ausbilden sind durch eine Zahl gekennzeichnet und Cysteinpaare mit der gleichen Zahl versehen (Tormo et al., 1999). Zusätzliche Cysteinreste in der CTLD der Ly49L-Sequenzen der Primaten sind gelb markiert. Hoch konservierte Bereiche zwischen CD94, NKG2D, NKG2 und Ly49 sind hellblau hinterlegt. Aminosäureaustausche zwischen zwei Allelen sind grau markiert. Vava-Ly49L ist am N-Terminus und Popy-Ly49L ist am C-Terminus unvollständig. Sternchen (\*) kennzeichnen Stopkodons.

### 3.5 Phylogenetische Analyse der C-Typ Lektin-ähnlichen NK-Zell-Rezeptoren

Aus Aminosäuresequenzvergleichen von CD94, NKG2D, NKG2 und Ly49 wurden mit Hilfe des Programms MEGA 3.1 nach der Neighbor-Joining-Methode auf Basis des Distanz-Evolutionsmodells JTT (Jones-Taylor-Thorton) phylogenetische Stammbäume errechnet.

### 3.5.1 Stammbaum der CD94-Sequenzen der Primaten

Für CD94 bestehen orthologe Beziehungen zwischen der Sequenz des Weißbüschelaffen und den Sequenzen der Altweltaffen (99 % Bootstrap-Wert) (Abb. 33). Die drei CD94-Sequenzen des Varis und des Mausmakis bilden einen getrennten Ast (100%). Innerhalb dieses Astes gruppieren CD94-1, -2 und -3 des Varis miteinander, sowie CD94-1 und CD94-2 des Mausmakis. Allerdings ist diese Anordnung nur durch geringe Bootstrap-Werte gesichert. Einen Unterast bilden CD94-1 und CD94-2 des Varis, der durch einen verhältnismäßig hohen Bootstrap-Wert von 90 % gestützt wird. CD94-3 des Mausmakis steht basal zu den restlichen CD94-Sequenzen der Lemuren (68 %). Die verschiedenen CD94-Sequenzen der Lemuren sind durch lange Äste voneinander getrennt, was eine hohe Diversität in diesen Sequenzen widerspiegelt.

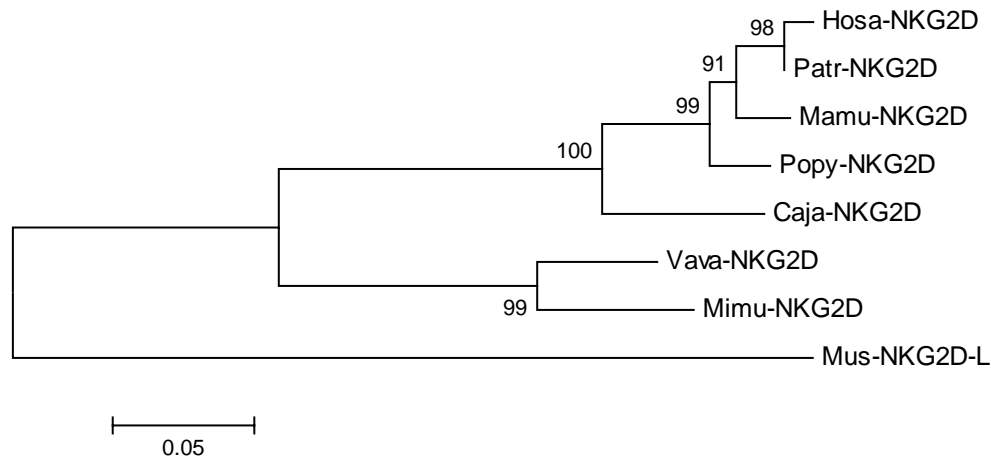


**Abb. 33 Phylogenetische Analyse der CD94-Aminosäuresequenzen verschiedener Primaten**

Der Stammbaum wurde nach der Neighbor-Joining-Methode mit dem Programm MEGA 3.1 erstellt. Die CD94-Sequenz der Maus diente als Außengruppe. Die Zahlen an den Aufspaltungspunkten (Bootstrap-Werte) geben die Prozentzahlen an, wie häufig diese Verzweigung rekonstruiert wurde. Es wurden 1000 Teildatensätze erstellt. Die Distanzmarkierung beschreibt 0,05 Aminosäuresubstitutionen pro Position (korrigiert nach JTT). Zugangsnummern der im Stammbaum verwendeten Sequenzen siehe Tab. 3 in Material und Methoden. Hosa, *Homo sapiens*; Patr, *Pan troglodytes*; Popy, *Pongo pygmaeus*; Mamu, *Macaca mulatta*; Caja, *Callithrix jacchus*; Mimu, *Microcebus murinus*; Vava, *Varecia variegata*; Mus, *Mus musculus*.

### 3.5.2 Stammbaum der NKG2D-Sequenzen der Primaten

Für NKG2D bestehen orthologe Beziehungen zwischen den NKG2D-Sequenzen des untersuchten Mausmakis, Varis und Weißbüschelaffen und den NKG2D-Sequenzen der Altweltaffen (Abb. 34). Der Stammbaum entspricht mit Ausnahme des Rhesusaffen und des Orang-Utans den Verwandtschaftsverhältnissen der Primaten. Duplikationen oder Deletionen von NKG2D treten in keiner der Spezies auf.

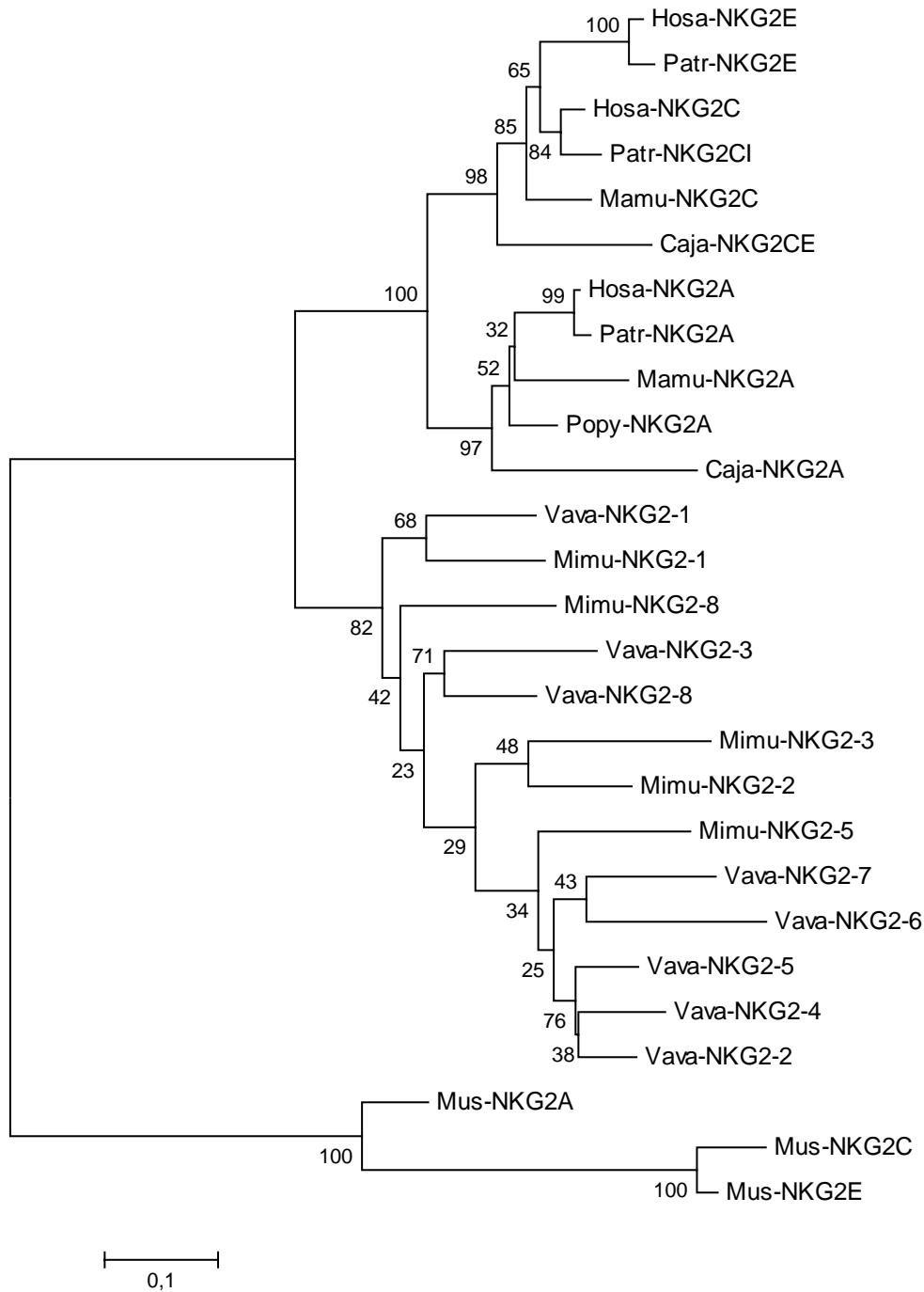


**Abb. 34 Phylogenetische Analyse der NKG2D-Aminosäuresequenzen verschiedener Primaten**

Der Stammbaum wurde nach der Neighbor-Joining-Methode mit dem Programm MEGA 3.1 erstellt. Die NKG2D-L-Sequenz der Maus diente als Außengruppe. Die Zahlen an den Aufspaltungspunkten (Bootstrap-Werte) geben die Prozentzahlen an, wie häufig diese Verzweigung rekonstruiert wurde. Es wurden 1000 Teildatensätze erstellt. Die Distanzmarkierung beschreibt 0,05 Aminosäuresubstitutionen pro Position (korrigiert nach JTT). Zugangsnummern der im Stammbaum verwendeten Sequenzen siehe Tab. 3 in Material und Methoden. Hosa, *Homo sapiens*; Patr, *Pan troglodytes*; Popy, *Pongo pygmaeus*; Mamu, *Macaca mulatta*; Caja, *Callithrix jacchus*; Mimu, *Microcebus murinus*; Vava, *Varecia variegata*; Mus, *Mus musculus*.

### 3.5.3 Stammbaum der NKG2-Sequenzen der Primaten

Für die NKG2-Sequenzen wurden drei verschiedene Stammbäume erstellt (Abb. 35-37). Der Stammbaum in Abb. 35 wurde aus den kompletten Aminosäuresequenzen berechnet, der Stammbaum in Abb. 36 aus der Zytoplasma-, Transmembran- und Halsregion und der Stammbaum in Abb. 37 aus der CTLD der NKG2-Sequenzen. Die NKG2F-Sequenzen sowie NKG2CE des Orang-Utans und NKG2CII des Schimpansen wurden in die Stammbauberechnungen nicht mit einbezogen, da diesen Sequenzen ein großer Teil der CTLD fehlt (Abb. 31). Im Stammbaum, der mit den kompletten Aminosäuresequenzen erstellt wurde (Abb. 35), gruppieren die NKG2-Sequenzen der Altwelt- und des untersuchten Neuweltaffen miteinander (100 %). Die NKG2A-Sequenzen sowie die NKG2C/NKG2E-Sequenzen bilden zwei getrennte *Cluster* (97 % respektive 98 %). NKG2A des Weißbüschelaffen steht basal zu den NKG2A-Sequenzen der Altweltaffen (52 %) und NKG2CE des Weißbüschelaffen steht basal zu den NKG2C- und NKG2E-Sequenzen der Altweltaffen (85 %). Somit ähnelt NKG2CE des Weißbüschelaffen möglicherweise einem ursprünglichen Gen aus dem durch Genduplikation die NKG2C- und NKG2E-Sequenzen der höheren Primaten hervorgegangen sind. Die NKG2-Sequenzen der Lemuren bilden einen separaten Ast zu den NKG2-Sequenzen der Trockennasaffen (82 %). Orthologe Beziehungen zwischen den einzelnen NKG2-Sequenzen des Mausmakis und des Varis konnten wie bei CD94 nicht nachgewiesen werden. Lediglich NKG2-1 des Mausmakis gruppiert mit NKG2-1 des Varis. Der Bootstrap-Wert für diese Gruppierung ist allerdings nur mäßig hoch (68 %).

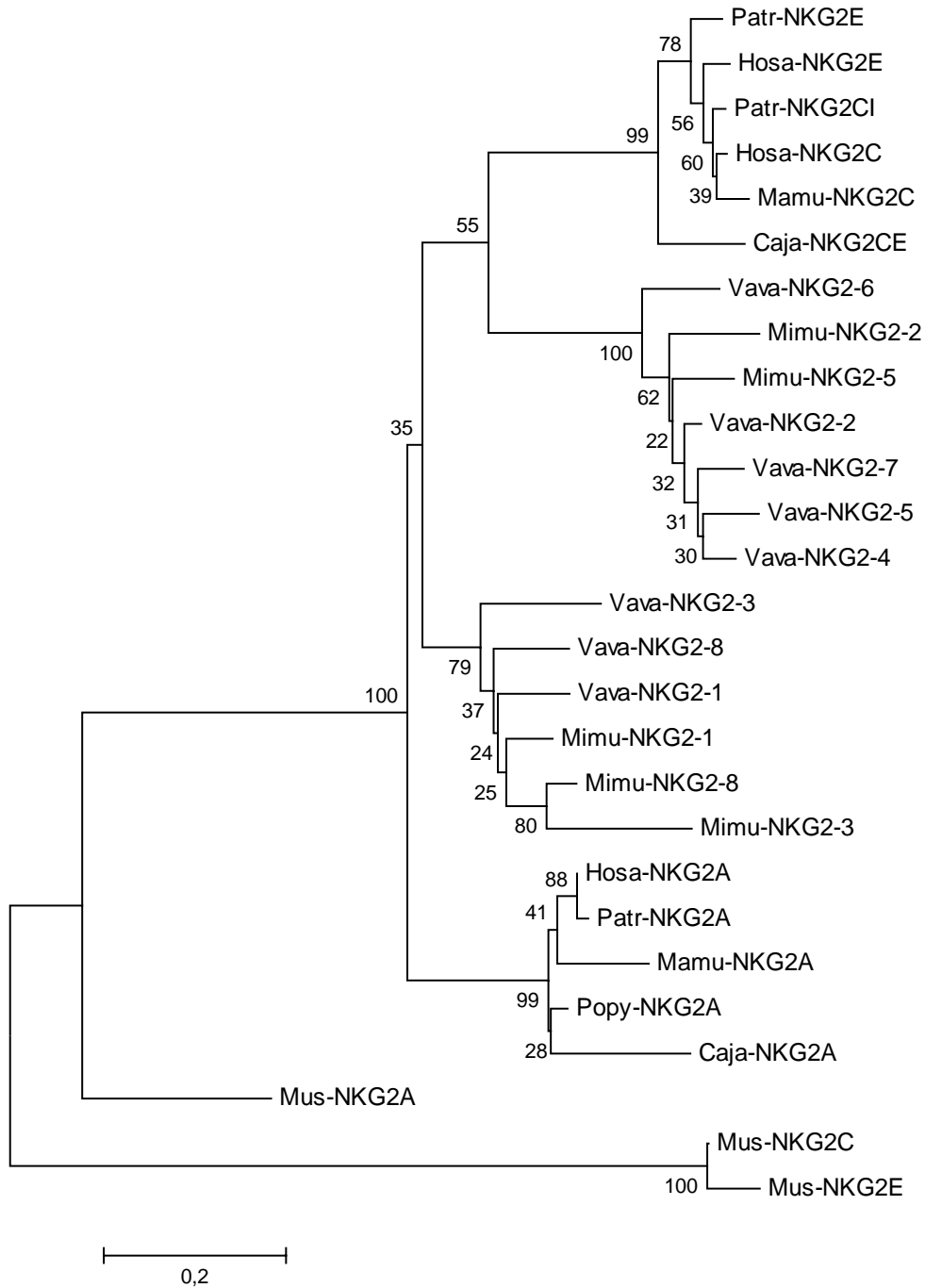


**Abb. 35 Phylogenetische Analyse der NKG2-Aminosäuresequenzen verschiedener Primaten (komplette Proteinsequenz)**

Der Stammbaum wurde nach der Neighbor-Joining-Methode mit dem Programm MEGA 3.1 erstellt. Die NKG2A-, -C- und -E-Sequenzen der Maus dienten als Außengruppe. Die Zahlen an den Aufspaltungspunkten (Bootstrap-Werte) geben die Prozentzahlen an, wie häufig diese Verzweigung rekonstruiert wurde. Es wurden 1000 Teildatensätze erstellt. Die Distanzmarkierung beschreibt 0,1 Aminosäuresubstitutionen pro Position (korrigiert nach JTT). Zugangsnummern der im Stammbaum verwendeten Sequenzen siehe Tab. 3 in Material und Methoden. Hosa, *Homo sapiens*; Patr, *Pan troglodytes*; Popy, *Pongo pygmaeus*; Mamu, *Macaca mulatta*; Caja, *Callithrix jacchus*; Mimu, *Microcebus murinus*; Vava, *Varecia variegata*; Mus, *Mus musculus*.

In dem Stammbaum in dem nur die Zytoplasma-, Transmembran- und Halsregion der NKG2-Sequenzen analysiert wurde (Abb. 36), gruppieren NKG2-2 und NKG2-5 des Mausmakis mit NKG2-2, -4, -5, -6 und -7 des Varis mit einem Bootstrap-Wert von 100 % und stellen eine Schwesterngruppe zu den NKG2C/E-Sequenzen der Trockennasaffen dar (55 %). Die Zytoplasma- und Transmembranregion sind verantwortlich für die Funktion des Rezeptors. Die NKG2-Sequenzen des Varis und des Mausmakis, die mit den NKG2C/E-Sequenzen gruppieren, besitzen analog zu aktivierenden Rezeptoren alle eine positiv geladene Aminosäure (Lysin) in der Transmembranregion und zusätzlich ein ITIM oder YxxM-Motiv (Abb. 31).

NKG2-1, -3 und -8 des Mausmakis und des Varis bilden einen separaten Ast (79 %), genauso wie die NKG2A-Sequenzen der Trockennasaffen (99 %). Die basale Stellung der NKG2A-Sequenzen zu den übrigen NKG2-Sequenzen der Primaten wird nur schwach unterstützt (35 %). NKG2-1, -3 und -8 des Mausmakis und NKG2-1, -3 und -8 des Varis besitzen wie inhibierende Rezeptoren ein bis zwei ITIM und zusätzlich (mit Ausnahme des Allels Mimu-NKG2-3\*01) eine positiv geladene Aminosäure in der Transmembranregion und/oder ein YxxM-Motiv (Abb. 31). In allen sechs Sequenzen befindet sich ein ITIM an Position 2, während in den NKG2-Sequenzen, die eine Schwesterngruppe zu den NKG2C/E-Sequenzen bilden, keine Sequenz ein ITIM an dieser Position aufweist (Abb. 31).

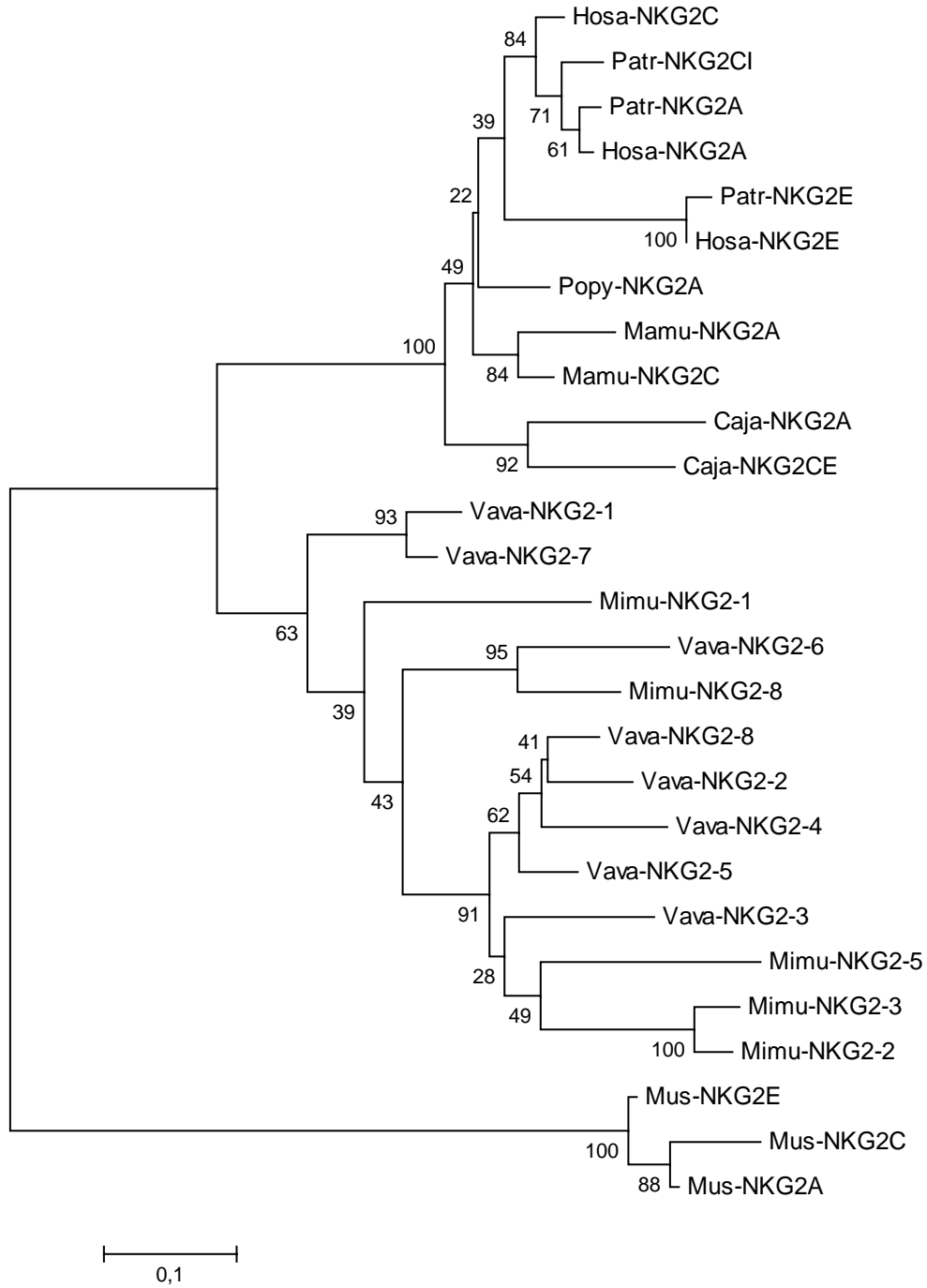


**Abb. 36 Phylogenetische Analyse der NKG2-Aminosäuresequenzen verschiedener Primaten (Zytoplasma-, Transmembran- und Halsregion)**

Der Stammbaum wurde nach der Neighbor-Joining-Methode mit dem Programm MEGA 3.1 erstellt. Die NKG2A-, -C- und -E-Sequenzen der Maus dienten als Außengruppe. Die Zahlen an den Aufspaltungspunkten (Bootstrap-Werte) geben die Prozentzahlen an, wie häufig diese Verzweigung rekonstruiert wurde. Es wurden 1000 Teildatensätze erstellt. Die Distanzmarkierung beschreibt 0,2 Aminosäuresubstitutionen pro Position (korrigiert nach JTT). Zugangsnummern der im Stammbaum verwendeten Sequenzen siehe Tab. 3 in Material und Methoden. Hosa, *Homo sapiens*; Patr, *Pan troglodytes*; Popy, *Pongo pygmaeus*; Mamu, *Macaca mulatta*; Caja, *Callithrix jacchus*; Mimu, *Microcebus murinus*; Vava, *Varecia variegata*; Mus, *Mus musculus*.

In dem Stammbaum, in dem die CTLD analysiert wurde (Abb. 37), gruppieren die NKG2-Sequenzen der Trockenasaffen nicht nach aktivierenden bzw. inhibierenden Rezeptoren wie in den Stammbäumen in Abb. 35 und Abb. 36, sondern speziesspezifisch. So gruppieren NKG2A und NKG2CE des Weißbüschelaffen zusammen (92 %). Dasselbe gilt für NKG2A und NKG2C des Rhesusaffen (84 %). Die NKG2A-, -C- und -E-Sequenzen des Menschen und Schimpansen gruppieren zusammen (39 %), wobei die NKG2A- und NKG2C-Sequenzen eine Schwesterngruppe zu den NKG2E-Sequenzen bilden.

Für die NKG2-Sequenzen der Lemuren ist keine klare speziesspezifische Aufspaltung sichtbar. Dennoch unterscheidet sich die Anordnung der NKG2-Sequenzen deutlich von der im Stammbaum in Abb. 36 (ZY, TM, Hals). Eine große Gruppe mit relativ hoher Unterstützung (91 %) bilden NKG2-2, -3, -4, -5 und -8 des Varis mit NKG2-2, -3, und -5 des Mausmakis. Innerhalb dieser Gruppe ist die Gruppierung von Mimu-NKG2-2 mit Mimu-NKG2-3 (100 %) und außerhalb dieser Gruppe die Gruppierung von Vava-NKG2-7 mit Vava-NKG2-1 (93 %) sowie Vava-NKG2-6 mit Mimu-NKG2-8 (95 %) weiterhin sehr gut unterstützt. Interessanterweise gruppieren Mimu-NKG2-2, Vava-NKG2-7 und Vava-NKG2-6 im Stammbaum in Abb. 36 getrennt von Mimu-NKG2-3, Vava-NKG2-1 und Mimu-NKG2-8. Entsprechend zeigt ein Vergleich der Aminosäuresequenzen der Zytoplasma-, Transmembran- und Halsregion für Mimu-NKG2-2 und Mimu-NKG2-3 eine geringe Identität von 52,1 %, für Vava-NKG2-1 und Vava-NKG2-7 eine Identität von 57,3 % sowie für Mimu-NKG2-8 und Vava-NKG2-6 eine Identität von 58,8 %. Die Identitäten der CTLD sind dagegen sehr hoch und betragen 93,9 % sowohl für Mimu-NKG2-2 und Mimu-NKG2-3 als auch für Vava-NKG2-1 und Vava-NKG2-7. Für Mimu-NKG2-8 und Vava-NKG2-6 beträgt die Identität der CTLD 82,6 %.

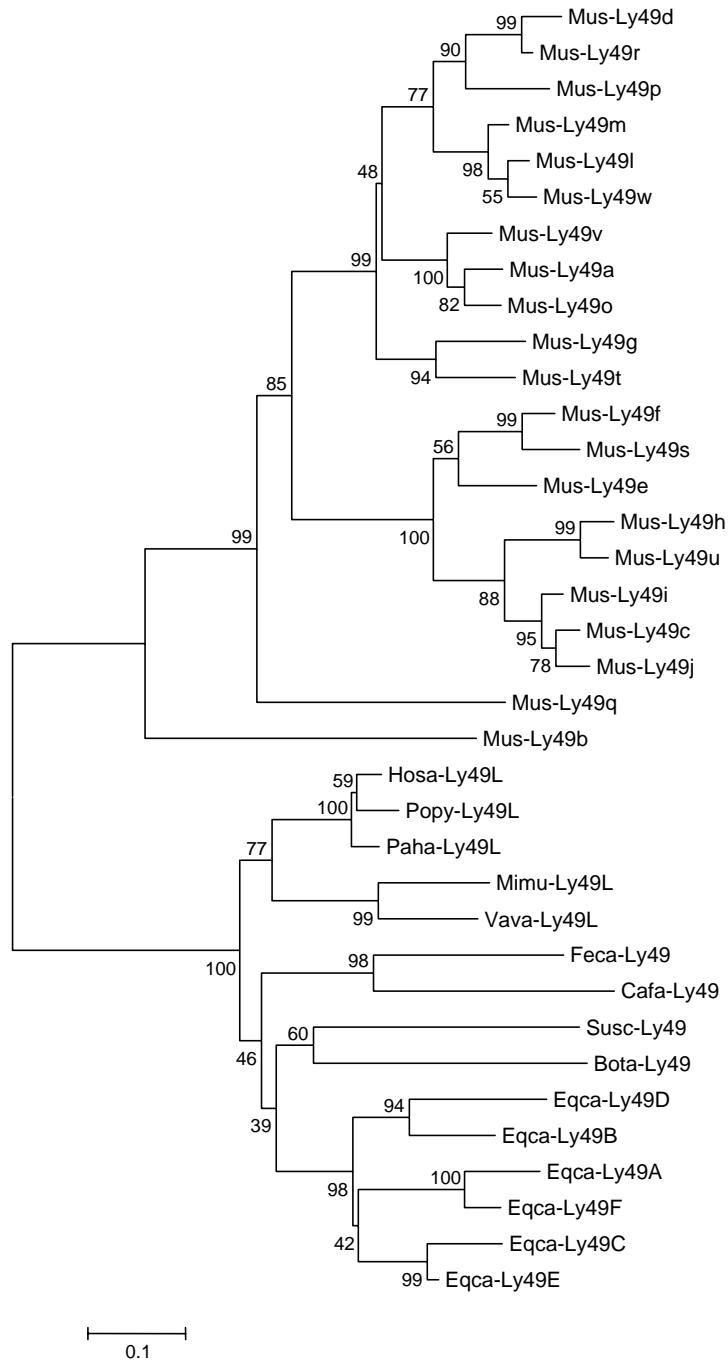


**Abb. 37 Phylogenetische Analyse der NKG2-Aminosäuresequenzen verschiedener Primaten (CTLD)**

Der Stammbaum wurde nach der Neighbor-Joining-Methode mit dem Programm MEGA 3.1 erstellt. Die NKG2A-, -C- und -E-Sequenzen der Maus dienten als Außengruppe. Die Zahlen an den Aufspaltungspunkten (Bootstrap-Werte) geben die Prozentzahlen an, wie häufig diese Verzweigung rekonstruiert wurde. Es wurden 1000 Teildatensätze erstellt. Die Distanzmarkierung beschreibt 0,1 Aminosäuresubstitutionen pro Position (korrigiert nach JTT). Zugangsnummern der im Stammbaum verwendeten Sequenzen siehe Tab. 3 in Material und Methoden. Hosa, *Homo sapiens*; Patr, *Pan troglodytes*; Popy, *Pongo pygmaeus*; Mamu, *Macaca mulatta*; Caja, *Callithrix jacchus*; Mimu, *Microcebus murinus*; Vava, *Varecia variegata*; Mus, *Mus musculus*.

### 3.5.4 Stammbaum der Ly49-Sequenzen der Säugetiere

Für Ly49 wurde ein Stammbaum erstellt, der neben den Sequenzen der Primaten und der Maus (verschiedene Mausstämme) Ly49-Sequenzen von weiteren Säugetieren wie Hund, Katze, Schwein, Rind und Pferd enthält (Abb. 38). Während in den Raubtieren (Hund, Katze) und den Paarhufern (Schwein, Rind) nur ein Ly49-Gen vorliegt (Gagnier et al., 2003), ist Ly49 im Pferd vervielfacht (Ly49A bis -E) (Takahashi et al., 2004). Obwohl die Primaten näher mit der Maus verwandt sind (Madsen et al., 2001; Murphy et al., 2001), gruppieren die Ly49L-Sequenzen der Primaten mit den Ly49-Sequenzen von Hund, Katze, Schwein, Rind und Pferd (100 %). Innerhalb dieser Gruppe bilden die Ly49A- bis -E-Sequenzen des Pferdes einen separaten Ast (98 %). Demzufolge wurden die Ly49-Sequenzen im Pferd und der Maus unabhängig voneinander vervielfacht. Die Anordnung der Ly49-Sequenzen in den Nicht-Nagetieren entspricht den bekannten phylogenetischen Beziehungen zwischen diesen Säugern (Madsen et al., 2001).



**Abb. 38 Phylogenetische Analyse der Ly49-Aminosäuresequenzen verschiedener Säugetiere**

Der Stammbaum wurde nach der Neighbor-Joining-Methode mit dem Programm MEGA 3.1 erstellt. Die Zahlen an den Aufspaltungspunkten (Bootstrap-Werte) geben die Prozentzahlen an, wie häufig diese Verzweigung rekonstruiert wurde. Es wurden 1000 Teildatensätze erstellt. Die Distanzmarkierung beschreibt 0,1 Aminosäuresubstitutionen pro Position (korrigiert nach JTT). Zugangsnummern der im Stammbaum verwendeten Sequenzen siehe Tab. 3 in Material und Methoden. Die im Stammbaum verwendete humane Ly49L-Aminosäuresequenz stellt eine hypothetische Sequenz dar, die von der genomischen Sequenz abgeleitet wurde und eine vollständige CTLD enthält (Zugangsnummer: EAW96194). Primaten: Hosa, *Homo sapiens*; Popy, *Pongo pygmaeus*; Paha, *Papio hamadryas*; Mimmu, *Microcebus murinus*; Vava, *Varecia variegata*; Nagetiere: Mus, *Mus musculus*; Raubtiere: Feca, *Felis catus* (Katze); Cafa, *Canis familiaris* (Hund); Unpaarhufer: Eqca, *Equus caballus* (Pferd); Paarhufer: Susc, *Sus scrofa* (Schwein); Bota, *Bos taurus* (Rind).

### 3.6 CD94-Gene im Potto

Es wurde untersucht, ob in einem weiteren Feuchtnasenaffen, dem afrikanischen Potto (*Perodicticus potto ibeanus*), der zu den Loriartigen zählt, ebenso wie in den beiden Vertretern der Lemuren (Mausmaki, Vari) mehrere CD94-Gene vorliegen. Dazu wurden anhand eines Vergleichs der CD94-Sequenzen von verschiedenen Primatenspezies Primer ausgewählt, die an konservierte Bereiche der CD94-Sequenzen in Exon 4 (Primer: 3626 *forward*, 3628 *forward*, 5027 *forward*, 3627 *reverse*) und Exon 5 (Primer: 3625 *reverse*) binden. Mit genomischer DNA von einem Potto-Individuum wurden mit den Primerpaaren 3628/3627 und 3626/3625 PCR-Analysen durchgeführt. Die PCR-Produkte wurden kloniert und anschließend sequenziert. Die erhaltenen Sequenzen sind in Abb. 39 dargestellt. Mit dem Primerpaar 3628/3627 konnte die Sequenz Pepo-CD94h und mit dem Primerpaar 3626/3625 die Sequenzen Pepo-CD94a, -b und -c amplifiziert werden. Mit den Primaten-spezifischen *forward*-Primern (3628, 5027) und einem weiteren Potto-spezifischen *reverse*-Primer (5026), der in Intron 4 bindet, konnten die Sequenzen Pepo-CD94d und -e (Primerpaar: 3628/5026) sowie die Sequenzen Pepo-CD94f und -g (Primerpaar: 5027/5026) amplifiziert werden. Auch diese PCR-Produkte wurden kloniert und sequenziert. Um PCR-bedingte Sequenzfehler auszuschließen, wurden für jede Sequenz mindestens zwei Klone analysiert.

Somit konnten über PCR mit verschiedenen Primerkombinationen (siehe Tab. 8 in Material und Methoden) insgesamt acht verschiedene CD94-Teilsequenzen aus genomischer DNA eines Potto-Individuums amplifiziert werden (Abb. 39). Unter Berücksichtigung, dass es sich bei diesen Sequenzen teilweise um Allele handeln kann, besitzt der Potto folglich mindestens vier verschiedene CD94-Gene.

In den Sequenzen Pepo-CD94d, -e, -f und -g tritt in Intron 4 jeweils an gleicher Position ein Alu-Element auf, das in den Sequenzen Pepo-CD94a, -b und -c fehlt (Abb. 39). Die Orientierung des Alu-Elementes in den Sequenzen CD94d und -e ist identisch und entgegengesetzt zur Orientierung des Alu-Elementes in den Sequenzen CD94f und -g. In den Intron 4-Sequenzen der CD94-Gene des Mausmakis befinden sich dagegen keine Alu-Elemente.

Exon 4	
Pepo-CD94a	CAGAGAAGTGGGTTGGGTACCGATGCAACTGTACTTCATTTCCACTGAAGA GAAAACCTGGGAGGGAAG 70
Pepo-CD94b	CAGAGAAGTGGGTTGGGTACCGATGCAACTGTACTTCATTTCCACTGAAGA GAAAACCTGGGAGGGAAG 70
Pepo-CD94c	CAGAGAAGTGGGTTGGGTACCGATGCAACTGTACTTCATTTCCACTGAAGTGA CAACTGGGAAGAAAG 70
Pepo-CD94d	CAGAGAAGTGGGTTGGGTACCGATGCAACTGTACTTCATTTCCACTGAAGTGA AAACTGGGAAGAAAG 70
Pepo-CD94e	CAGAGAAGTGGGTTGGGTACCGATGCAACTGTACTTCATTTCCACTGAAGTGA AAACTGGGAAGAAAG 70
Pepo-CD94f	CGAAGCAACTGTACTTCATTTCTACTGAAGTGA CAACTGGGAAGAAAG 50
Pepo-CD94g	CGAAGCAACTGTACTTCATTTCTACTGAAGTGA CAACTGGGAAGAAAG 50
Pepo-CD94h	CAGAGAAGTGGGTTGGGTACCGATGCAACTGTACTTCATTTCCA GTGAGGAGAAAACCTGGGAGGAAAG 70
Intron 4	
Pepo-CD94a	TAGGAAAGTCTGCATCTCTCAGAATTCAGTTTGCTTCAGCTTCGAAACAAGATGAAC TGGCATGTACT 140
Pepo-CD94b	TAGGAAAGTCTGCATCTCTCAGAATTCAGTTTGCTTCAGCTTCGAAACAAGATGAAC TGGCATGTACT 140
Pepo-CD94c	TAGGAAAGTCTGTGTTTCTCAGAATTCAGTTTGCTTCAGCTTCGAAACAAGATGAAC TGGCAGTACT 140
Pepo-CD94d	TAGGAAAGTCTGTGTTTCTCAGAATTCAGTTTGCTTCAGCTTCAAAACGAAGAAGAAC TGGCATGTACT 140
Pepo-CD94e	TAGGAAAGTCTGTGTTTCTCAGAATTCAGTTTGCTTCAGCTTCAAAACGAAGAAGAAC TGGCATGTACT 140
Pepo-CD94f	TAGGAAAGTCTGTGTTTCTCAGAATTCAGTTTGCTTCAGCTTCGAAACAAGATGAAC TGGCATGTACT 120
Pepo-CD94g	TAGGAAAGTCTGTGTTTCTCAGAATTCAGTTTGCTTCAGCTTCGAAACAAGATGAAC TGGCATGTACT 120
Pepo-CD94h	TAGGAAAGTCTGTGTTTCTCAGAATTCAGTTTG 104
Pepo-CD94a	TGAATCTAGCCTCCTATATTTTCTTTGCTCT----ATCAAAGTATCTAAATAAGCTAAACACTTTGATTC 206
Pepo-CD94b	TGAATCTAGCCTCCTATATTTTCTTTGCTCT----ATCAAAGTATCTAAATAAGCTAAACACTTTGATTC 206
Pepo-CD94c	TGAATCTAGCCTCCTATATTTTCTTTGCTCT----TTCAAAGCATCTAAATAAGCTAAACACTTTGATTC 206
Pepo-CD94d	TGAATCTAGCCTCCTATATTTTCTTTGCTCTGGATATCAAAGTATCTAAATAAGCTAAACACTTTGATTC 210
Pepo-CD94e	TGAATCTAGCCTCCTATATTTTCTTTGCTCTGGATATCAAAGTATCTAAATAAGCTAAACACTTTGATTC 210
Pepo-CD94f	TGAATCTAGCCTCCCATATTTTCTTTGCTCTGGATAGCAAATATCTAAATAAGCTAAACACTTTGATTC 190
Pepo-CD94g	TGAATCTAGCCTCCCATATTTTCTTTGCTCTGGATAGCAAATATCTAAATAAGCTAAACACTTTGATTC 190
Pepo-CD94a	AAGTCTTTAATCAGATTACAGGCAGTCTCCAGGTTATGAACGAGATAGGTTCTGTAGGTTTGTTCCTTAGT 276
Pepo-CD94b	AAGTCTTTAATCAGATTACAGGCAGTCTCCAGGTTATGAACGAGATAGGTTCTGTAGGTTTGTTCCTTAGT 276
Pepo-CD94c	AAGTCTTTAATCAGATTATAGGCAGTCTCCAGGTTATGAATGAGATAGGTTCTGTAGGTTTGTTCCTTAGT 276
Pepo-CD94d	AAC TCTTTAATCAGATTACAGGCAGTCTCC TGGTTATGAACAAGATAGGTTCTATATGTTTATTGTTAGC 280
Pepo-CD94e	AAC TCTTTAATCAGATTACAGGCAGTCTCC TGGTTATGAACAAGATAGGTTCTATATGTTTATTGTTAGC 280
Pepo-CD94f	AAGTCTTTAATTAGATTATAGGTGGTCTCCAGATTATGAACGAGATAGGTTCTGTATGTTTATTCTTAGT 260
Pepo-CD94g	AAGTCTTTAATTAGATTATAGGTGGTCTCCAGATTATGAACGAGATAGGTTCTGTATGTTTATTCTTAGT 260
Pepo-CD94a	TGAACCTGTTGCAAGTTGGAACAGGTACCTATTATCCCCATTCA TAAGCGAGCCGCACGTGAGTGGGATG 346
Pepo-CD94b	TGAACCTGTTGCAAGTTGGAACAGGTACCTATTATCCCCATTCA TAAGCGAGCCGCACGTGAGTGGGATG 346
Pepo-CD94c	TGAACCTGTTGCAAGTTGGAAGAGGTACCTATTATCCGCATT CGTAAGCGAGTCAATGACAGTGGGATG 346
Pepo-CD94d	TGAATCCATTGCAATTTGGAACAGGTACCTATTATTTCCATT CGTAAGT GAGCCGCACGTGAGTGGGATG 350
Pepo-CD94e	TGAATCCATTGCAATTTGGAACAGGTACCTATTATTTCCGTT CGTAAGT GAGCCGCACGTGAGTGGGATG 350
Pepo-CD94f	TGAATACATTGCAAGTTGT AACAGGTACCTGTTATCCCCATT CGTAAGG GAGCAGCACGTGAGTGGGATG 330
Pepo-CD94g	TGAATACATTGCAAGTTGT AACAGGTACCTGTTATCCCCATT CGTAAGG GAGCAGCACGTGAGTGGGATG 330
Pepo-CD94a	TTCTGTAGCTCAGGGACTCTCTGTAGTAAATAGGACTCATGACCTATCAATTCATGTACCTTAAAAC TAT 416
Pepo-CD94b	TTCTGTAGCTCAGGGACTCTCTGTAGTAAATAGGACTCATGACCTATCAATTCATGTACCTTAAAAC TAT 416
Pepo-CD94c	TTTGTAGCTCAGGGACTCTCTGTAGTGAATAGAA TTCATGACCTATCAATTT CATGTACCTTAAAAC TAT 416
Pepo-CD94d	TTTGTAGCTCAGGGACTCTCTGTAGTAAATAGAACCAATGACCTATCAATTCATGTACCTTAA GATTAT 420
Pepo-CD94e	TTTGTAGCTCAGGGACTCTCTGTAGTAAATAGAACCAATGACCTATCAATTCATGTACCTTAA GATTAT 420
Pepo-CD94f	TTTGTAGCTCAGGGACTCTCTGTAGTAAATAGAAC TAATGACCTATCAATTCATGTACCTTAAAAC TAT 400
Pepo-CD94g	TTTGTAGCTCAGGGACTCTCTGTAGTAAATAGAAC TAATGACCTATCAATTCATGTACCTTAAAAC TAT 400
Pepo-CD94a	CATTGTAAAACCCACATAAAAATTCCTCAAAGAATTACATCATAGAGATAAAAAATTAAGATAAGTGACA-- 484
Pepo-CD94b	CATTGTAAAACCCACATAAAAATTCCTCAAAGAATTACATCATAGAGATAAAAAATTAAGATAAGTGACA-- 484
Pepo-CD94c	CATTGTAAAACCCACATAAAAATTTCAAACGATTTACATCTTAGAGATAAAAAATTAAGATAAGGTGACAGA 486
Pepo-CD94d	CATTGTAAAACCCACATACAAATTCCTCAAAGAATTACATTTTAGAGATAAAAAATTAAGATAAGGTGACAGA 490
Pepo-CD94e	CATTGTAAAACCCACATACAAATTCCTCAAAGAATTACATTTTAGAGATAAAAAATTAAGATAAGGTGACAGA 490
Pepo-CD94f	CATTGTAAAACCCACATAAAAATTCCTCAA A--AATTACATCTTAGAGATAAAAAATTAAGTTGGGTGACAGA 469
Pepo-CD94g	CATTGTAAAACCCACATAAAAATTCCTCAAAGAATTACATCTTAGAGATAAAAAATTAAGTTGGGTGACAGA 470

Pepo-CD94a --AAGTGCAGAACTTTTCATGGAAAATTCAAAGAAGAAATAACAGGTCAC TGC TTTGGACTTTGCAAT 552  
 Pepo-CD94b --AAGTGCAGAACTTTTCATGGAAAATTCAAAGAAGAAATAACAGGTCAC TGC TTTGGACTTTGCAAT 552  
 Pepo-CD94c TAAAGTGCAGAACTTTTCAGGGAAAATTCAAAGAAGAAATAATAGGTCATTATTTGGACTTTGCAAT 556  
 Pepo-CD94d G-AAGTACAAGCAATTTCTCAGGGAAAATTCAAAGAAGAAATAATAGTTCATTATTTGGACTTTGCAAT 559  
 Pepo-CD94e G-AAGTACAAGCAATTTCTCAGGGAAAATTCAAAGAAGAAATAATAGTTCATTATTTGGACTTTGCAAT 559  
 Pepo-CD94f TAAAGTGGGAGGAAC TTTTCAGGGAAAATTCAAAGAAGAAATAACAGGTCATTATTTGGACTTTGCAAT 539  
 Pepo-CD94g TAAAGTGGGAGGAAC TTTTCAGGGAAAATTCAAAGAAGAAATAACAGGTCATTATTTGGACTTTGCAAT 540

Pepo-CD94a GTTTAGTTCTTTCAATGGAATTTATAATTTCTTTTGTAACTATGTATCTTTTGGCATT TTTCTAGCTTAT 622  
 Pepo-CD94b GTTTAGTTCTTTCAATGGAATTTTAAATTTCTTTTGTAACTATGTATCTTTTGGCATT TTTCTAGCTTAT 622  
 Pepo-CD94c GTTTAGTTCTTTCAATAGAATTTATCATTCTTTTGTAACTACATATCTTTTGGCATT TTTCTAGCTTAT 626  
 Pepo-CD94d TTTTACTTCTTTAATGGAATTTATAATTTCTTTTGTAACTATACAGCTTTTGGCATCTTTCTAGGATAA 629  
 Pepo-CD94e TTTTACTTCTTTAATGGAATTTATAATTTCTTTTGTAACTATACAGCTTTTGGCATCTTTCTAGGATAA 629  
 Pepo-CD94f TTTTAAATCTTTCAGTATAATTTATAATTTCTTTTGTAACTACCTATCC TTTGGCATT TTTCTAAGCTTAT 609  
 Pepo-CD94g TTTTAAATCTTTCAGTATAATTTATAATTTCTTTTGTAACTACCTATCC TTTGGCATT TTTCTAGCTTAT 610

Pepo-CD94a AACATGTAACAAGTATGGAAAGGATAATCATAAAAAATGCCCACTCTT ----- 671  
 Pepo-CD94b AACATGTAACAAGTATGGAAAGGATAATCATAAAAAATGCCCACTCTT ----- 671  
 Pepo-CD94c AACATGTAACAAGTATGGAAAGGATAATCATAAAAAATGCCCACTCTT ----- 675  
 Pepo-CD94d AATATGAAAGAAGTATGGAAAGGATAATCATAAAAAATGCCCACTCTTGGCTTGGCACCTGTAAGTCAA 699  
 Pepo-CD94e AATATGAAAGAAGTATGGAAAGGATAATCATAAAAAATGCCCACTCTTGGCTTGGCACCTGTAAGTCAA 699  
 Pepo-CD94f AATATGTAACAAGTATGGAAAGGATAATCATAAAAAATGCCCACTCTTxxxxxxxxxxAAGAGACAAAGT 679  
 Pepo-CD94g AATATGTAACAAGTATGGAAAGGATAATCATAAAAAATGCCCACTCTTxxxxxxxxxxAAGAGACAAAGT 680

Pepo-CD94a ----- 671  
 Pepo-CD94b ----- 671  
 Pepo-CD94c ----- 675  
 Pepo-CD94d GCAGCTAGAGCGCCAGCCACATACACCAGAGCTGGCAGGTTCAAATCCAGAACAACAATCACAAC TAAAA 769  
 Pepo-CD94e GCAGCTAGAGCGCCAGCCACATACACCAGAGCTGGCAGGTTCAAATCCAGAACAACAATCACAAC TAAAA 769  
 Pepo-CD94f TTCGCTTTATCGCCCTGGTAGAGTGCCGTGTGGCGTCACACAGCTCACAGCAACCTCCAAC TCTGGGC 749  
 Pepo-CD94g TTCGCTTTATCGCCCTGGTAGAGTGCCGTGTGGCGTCACACAGCTCACAGCAACCTCCAAC TCTGGGC 750

Pepo-CD94a ----- 671  
 Pepo-CD94b ----- 671  
 Pepo-CD94c ----- 675  
 Pepo-CD94d CCAGAAAATAACCAGGCATTGTGGTGGGCACCTGTAGTCCCAACTATCTGGGAAACTGAGGTAAGAGAAT 839  
 Pepo-CD94e CCAGAAAATAACCAGGCATTGTGGTGGGCACCTGTAGTCCCAACTATCTGGGAAACTGAGGTAAGAGAAT 839  
 Pepo-CD94f TTAGGTTATTCTCTTACCTCAGCCTCCTAAGTACCTGGAAC TACAGGCGCCTGCCACAACCGGCAGTTCG 819  
 Pepo-CD94g TTAGGTTATTCTCTTACCTCAGCCTCCTGAGTACCTGGAAC TACAGGCGCCGCCACAACCGGCAGTTCG 820

Pepo-CD94a ----- 671  
 Pepo-CD94b ----- 671  
 Pepo-CD94c ----- 675  
 Pepo-CD94d CACTAAAGCCCAAGCATTGTAGTTTGTGTGAGCTGTGATGCCACAGCACTCTGTCCAGGGTGACA ACTT 909  
 Pepo-CD94e CACTAAAGCCCAAGCATTGTAGTTTGTGTGAGCTGTGATGCCACAGCACTCTGTCCAGGGTGACA ACTT 909  
 Pepo-CD94f GCCGGGACGGGGTTTGAACCTGCCACCCTCAGTATATGGGGCTGGTGCTCTACCCACTGAACCACAGGTG 889  
 Pepo-CD94g GCCGGGACGGGGTTTGAACCTGCCACCCTCAGTATATGGGGCTGGTGCTCTACCCACTGAACCACAGGTG 890

Pepo-CD94a -----AAGAAAAAGTGAA---TGTCCTCCAGTTTCA 698  
 Pepo-CD94b -----AAGAAAAAGTGAA---TGTCCTCCAGTTTCA 698  
 Pepo-CD94c -----AAGAAAAAGTGAAAAATGTCCTCCCTTTTCA 705  
 Pepo-CD94d AAGACTCTATCTCAAAAAAGAAACAATTTGCCACTTCTTAAGAAAAAGTGAATAATGTCCTCCAGTTTCA 979  
 Pepo-CD94e AAGACTCTATCTCAAAAAAGAAACAATTTGCCACTTCTTAAGAAAAAGTGAATAATGTCCTCCAGTTTCA 979  
 Pepo-CD94f CTGCCCCA-----AATTACCCACTCTTAAGAAAACAGTGAAAAATGTCCTCCAGTTTCA 942  
 Pepo-CD94g CTGCCCCA-----AATTACCCACTCTTAAGAAAACAGTGAAAAATGTCCTCCAGTTTCA 943

Pepo-CD94a TGCAGTGTCTGTGCTGAGTTGAGGTCGAGTAGGTTATAACCTGGGATTCATCCTTCATGATAGTGTAA 768  
 Pepo-CD94b TGCAGTGTCTGTGCTGAGTTGAGGTCGAGTAGGTTATAACCTGGGATTCATCCTTCATGATAGTGTAA 768  
 Pepo-CD94c TACAGTGTTTGTACTGAGTTGAGGTTGAGTAGGTTATAATGCTGGGATTCATCCTTCATGATGGTATTAA 775  
 Pepo-CD94d TGCAGTGTCTGTGCTGAGTTGAGGT 1004  
 Pepo-CD94e TGCAGTGTCTGTGCTGAGTTGAGGT 1004  
 Pepo-CD94f TGCAGTGTCTGTGCTGAGTTGAGGT 967  
 Pepo-CD94g TGCAGTGTCTGTGCTGAGTTGAGGT 968

Pepo-CD94a	TTTAGGATCAAATTTGATCATGGATCCCCTGTGAAGGAAGCTGTCATGAAAACATCTTCCTTTAAGCTT	838
Pepo-CD94b	TTTAGGATCAAATTTGATCATGGATCCCCTGTGAAGGAAGCTGTCATGAAAACATCTTCCTTTAAGCTT	838
Pepo-CD94c	TTTAGGATCAAATTTGATCATGGATCCCCTGTGAAGGAAGCTACCATGAAAATTATCTTTCTTTAAGCTT	845
Pepo-CD94a	TCTTATTCTTCAAGAAGTAAGATTTTGCGGT---TTTTTTC-A-AAATAAATGGGCCTGATAAATGAG	903
Pepo-CD94b	TCTTATTCTTCAAGAAGTAAGATTTTGCGGT---TTTTTTC-A-AAATAAATGGGCCTGATAAATGAG	903
Pepo-CD94c	TTTTATTCTTCAAGAAGTAAGATTTTGCGGTATTTTTTTTCCATAAATAAATGGGCCTGATAAATGAG	915
Pepo-CD94a	CAATTTGAGGCATCTGACTATACTTTCTAAATAAAAGTTAAAAGTAATTTGTATGATGGACAAGCTGAA	973
Pepo-CD94b	CAATTTGAGGCATCTGACTATACTTTCTAAATAAAAGTTAAAAGTAATTTGTATGATGGACAAGCTGAA	973
Pepo-CD94c	CAATTTGAGGCCTCTGACTATACTTTCTAAATGGCAGTTAAAAGTAATTTGTATGATGGACAAGCTGAA	985
Pepo-CD94a	TCTTATTCTGAATGCTGATGTCCTTAGAAAAGATGTTGTACCCAGAAAATATTCAAATCAGCTAATATGTT	1043
Pepo-CD94b	TCTTATTCTGAATGCTGATGTCCTTAGAAAAGATGTTGTACCCAGAAAATATTCAAATCAGCTAATATGTT	1043
Pepo-CD94c	TCTTATTCTGAACGCTCATGTCCTTAAAAAGAGCTGTGTACCCAGAAAATATTCAAATCAGCTAATATGTT	1055
Exon 5		
Pepo-CD94a	TGTCTCTGACTCTAAGCAG GCTTTTATGACCTCCAATCAAGAC	1086
Pepo-CD94b	TGTCTCTGACTCTAAGCAG GCTTTTATGACCTCCAATCAAGAC	1086
Pepo-CD94c	TGTCTCTGACTCTAAGCAG GCTTTTATGCCCTACAATCAACAG	1098

**Abb. 39 Vergleich der CD94-Sequenzen (Exon 4-5) im Potto**

Der Nukleotidsequenzvergleich wurde mit dem Programm Bioedit erstellt. Striche zeigen Deletionen an. Grau unterlegte Bereiche: > 50 % identitische Sequenzen. x steht für eine unbekannte Anzahl an Thymidinresten (T) in CD94f und CD94g. Die Position der Alu-Elemente in den Sequenzen CD94d, -e, -f, -g ist durch eine Linie unterhalb der Sequenzen dargestellt. Pepo, *Perodicticus potto*.

Die Sequenzidentitäten der acht verschiedenen CD94-Sequenzen des Pottos sind in Tab. 18 aufgeführt. Für die CD94h-Sequenz wurden aufgrund der kurzen Länge von nur 104 bp keine Identitäten berechnet. CD94a weist eine hohe Sequenzidentität zu CD94b auf (99,8 %). Das gleiche gilt für CD94d und CD94e (99,7 %) sowie CD94f und CD94g (99,4 %). Somit handelt es sich bei diesen Sequenzen möglicherweise um verschiedene Allele eines Gens. Die übrigen Sequenzidentitäten liegen zwischen 65,0 % und 92,8 % (Tab. 18). Die Sequenzidentitäten des Exon 4/Intron 4-Bereichs der drei CD94-Sequenzen des Mausmakis betragen im Vergleich dazu 75,8-81,8 %. Dass die kurze CD94h-Sequenz ein Allel von CD94c darstellt, ist eher unwahrscheinlich, da in der für Exon 4 kodierenden, 104 bp langen Sequenz von CD94h bereits fünf Austausche im Vergleich zur CD94c-Sequenz auftreten. Somit besitzt der Potto fünf potentielle CD94-Gene. Inwiefern diese alle funktionell sind und ob es noch weitere Sequenzen gibt, die mit den hier verwendeten Primern nicht amplifiziert werden konnten, ist ungewiss.

**Tab. 18 Nukleotidsequenzidentitäten der Potto-CD94-Sequenzen (in %)**

Sequenzidentitäten wurden paarweise mit dem Programm Bioedit berechnet. Deletionen bzw. Insertionen in den Sequenzen wurden in die Berechnung mit einbezogen. Der poly-T-Bereich unbekannter Länge von Pepo-CD94f und -g wurde nicht mit berechnet.

	Pepo-CD94b	Pepo-CD94c	Pepo-CD94d	Pepo-CD94e	Pepo-CD94f	Pepo-CD94g
Pepo-CD94a	99,8	92,8	65,6	65,4	66,9	67,0
Pepo-CD94b		92,6	65,4	65,2	66,7	66,8
Pepo-CD94c			65,2	65,0	67,5	67,6
Pepo-CD94d				99,7	73,5	73,6
Pepo-CD94e					73,3	73,4
Pepo-CD94f						99,4

### 3.7 CD94-Gene im Koboldmaki

Während Vertreter der Altwelt- und Neuweltaffen nur ein CD94-Gen besitzen, wurden bei allen in dieser Arbeit untersuchten Feuchtnasaffen mehrere CD94-Gene gefunden. Ein weiteres Ziel dieser Arbeit war es, zu untersuchen, ob CD94 in einem der ursprünglichsten Vertreter der Trockennasaffen, dem Philippinen-Koboldmaki (*Tarsius syrichta*), ein einzelnes Gen darstellt oder wie bei den Feuchtnasaffen vervielfacht ist. Analog zum Potto wurden mit genomischer DNA eines Koboldmaki-Individuums und den Primerpaaren 3628/3627 und 3626/3625 PCR-Analysen durchgeführt und die PCR-Produkte kloniert und sequenziert. Die erhaltenen Sequenzen sind in Abb. 40 dargestellt. Mit dem Primerpaar 3628/3627 konnte die Sequenz Tasy-CD94j und mit dem Primerpaar 3626/3625 die Sequenzen Tasy-CD94a und -b amplifiziert werden. Mit dem Primaten-spezifischen *forward*-Primer (3626), der in Exon 4 bindet, konnten zusammen mit einem Koboldmaki-spezifischen *reverse*-Primer (4758), der in Intron 4 bindet, die Sequenzen Tasy-CD94c, -d, -e, -f, -g, -h und -i amplifiziert werden. Auch diese PCR-Produkte wurden kloniert und sequenziert. Um PCR-bedingte Sequenzfehler auszuschließen, wurden auch beim Koboldmaki für jede Sequenz mindestens zwei Klone analysiert.

Somit konnten aus genomischer DNA eines Koboldmaki-Individuums mittels PCR mit verschiedenen Primerkombinationen (siehe Tab. 8 in Material und Methoden) insgesamt zehn verschiedene CD94-Teilsequenzen amplifiziert werden (Abb. 40). Alle Sequenzen beinhalten ein Alu-Element in Intron 4 (Abb. 40), welches allerdings an anderer Position integriert ist als die Alu-Elemente in CD94d, -e, -f und -g des Pottos (Abb. 39).

**Exon 4**

Tasy-CD94a CAGAAAAGTGGATTGGGTACCGATGCAACTGTTACTTCAATTTCTAATGAGGAGAAAACCTGGGAAAAAAG 70  
 Tasy-CD94b CAGAAAAGTGGATTGGGTACCGATGCAACTGTTACTTCAATTTCTAATGAGGAGAAAACCTGGGAAAAAAG 70  
 Tasy-CD94c CAGAGAAGTGGATTGGGTACCGATGCAACTGTTACTTCAATTTCTAATGAGGAGAAAACCTGGGAAAGGAAG 70  
 Tasy-CD94d CAGAGAAGTGGATTGGGTACCGATGCAACTGTTACTTCAATTTCTAATGAGGAGAAAACCTGGGAAAGGAAG 70  
 Tasy-CD94e CAGAGAAGTGGATTGGGTACCGATGCAACTGTTACTTCAATTTCTAATGAGGAGAAAACCTGGGAAAGGAAG 70  
 Tasy-CD94f CAGAGAAGTGGATTGGGTACCGATGCAACTGTTACTTCAATTTCTAATGAGGAGAAAACCTGGGAAAGGAAG 70  
 Tasy-CD94g CAGAGAAGTGGATTGGGTACCGATGCAACTGTTACTTCAATTTCTAATGAGCAGAAAACCTGAAGAAAG 70  
 Tasy-CD94h CAGAGAAGTGGATTGGGTACCGATGCAACTGTTACTTCTGTTTCTAATGAGGAGAAAACCTGGGAAAGGAAG 70  
 Tasy-CD94i CAGAGAAGTGGATTGGGTACCGATGCAACTGTTACTTCTGTTTCTAATGAGGAGAAAACCTGGGAAAGGAAG 70  
 Tasy-CD94j CAGAGAAGTGGATTGGGTACCGATGCAACTGTTACTTCTGTTTCTAATGAGGAGAAAACCTGGGAAAGGAAG 70

**Intron 4**

Tasy-CD94a TAGGCAGTTCCTGTGATTCTCTGAACTCCAGTCTACTTCAACTTCAAACCCAGAGATGAACCGGCATGTACT 140  
 Tasy-CD94b TAGGCAGTTCCTGTGATTCTCTGAACTCCAGTCTACTTCAACTTCAAACCCAGAGATGAACCGGCATGTACT 140  
 Tasy-CD94c TAGGCAATTCTGTGCTTCTCTGAACTCCAGTCTACTTCAACTTCAAACCCAGAGATGAACCGGCATGTACT 140  
 Tasy-CD94d TAGGCAATTCTGTGCTTCTCTGAACTCCAGTCTACTTCAACTTCAAACCCAGAGATGAACCGGCATGTACT 140  
 Tasy-CD94e TAGGCAATTCTGTGCTTCTCTGAACTCCAGTCTACTTCAACTTCAAACCCAGAGATGAACCGGCATGTACT 140  
 Tasy-CD94f TAGGCAATTCTGTGCTTCTCTGAACTCCAGTCTACTTCAACTTCAAACCCAGAGATGAACCGGCATGTACT 140  
 Tasy-CD94g TAGGCAGTTCCTGTGCTTCTCTGAACTCCAGTCTACTTCAACTTCAAACCCAGAGATGAACCGGCATGTACT 140  
 Tasy-CD94h TAGGCAGTTCCTGTGCTTCTCTGAACTCCAGTCTACTTCAACTTCAAACCCAGAGATGAACCGGCATGTACT 140  
 Tasy-CD94i TAGGCAGTTCCTGTGCTTCTCTGAACTCCAGTCTACTTCAACTTCAAACCCAGAGATGAACCGGCATGTACT 140  
 Tasy-CD94j TAGGCAGTTCCTGTGCTTCTCTGAACTCCAGTCTA 104

Tasy-CD94a AAGTCTGGTTTCATACATTTT-TTTGACCTAGAAAAATATACTATCTAATTAAGCTAAATAATGTAGTTC 209  
 Tasy-CD94b AAGTCTGGTTTCATACATTTT-TTTGACCTAGAAAAATATACTATCTAATTAAGCTAAATAATGTAGTTC 209  
 Tasy-CD94c ACCTCTGGTGTACATACATTTTCTTAACCTAGAAAAATATACTATCTAATAAGCTAAATAATGTAGTTC 210  
 Tasy-CD94d AAGTCTGGTGTACATACATTTTCTTAACCTAGAAAAATATACTATCTAATAAGCTAAATAATGTAGTTC 210  
 Tasy-CD94e AAGTCTGGTGTACATACATTTTCTTAACCTAGAAAAATATACTATCTAATAAGCTAAATAATGTAGTTC 210  
 Tasy-CD94f AAGTCTGGTGTACATACATTTTCTTAACCTAGAAAAATATACTATCTAATAAGCTAAATAATGTAGTTC 210  
 Tasy-CD94g AAGTCTAAGTT-----TTTCTTAACCTAGAAAAATATACTATCTAATAAGCTAAATAATGTAGTTC 203  
 Tasy-CD94h AAGTCTGGTTTCTACATTTTCTTTA-----GAAAAATATACTATCTAATAAGCTAAATAATGTAGTTC 205  
 Tasy-CD94i AAGTCTGGTTTCCAAACATTTTCTTTA-----GAAAAATATACTATATACTAATAAGCTAAATAATGTAGTTC 205

Tasy-CD94a GAGTGTATTTTATTTT-----GTGAGCTTGAGTCTCAATTCGTGTTGCCAGGCTGGAGTCCAG 268  
 Tasy-CD94b GAGTGTATTTTATTTT-----GTGAGCTTGAGTCTCAATTCGTGTTGCCAGGCTGGAGTCCAG 268  
 Tasy-CD94c AAGTGTATTT-ATTTATTTATTTTCTTTTGGAGCTTGAGTCTCACTCTGTGTTGCCAGGCTGGAGTGCAG 279  
 Tasy-CD94d AAGTGTATTT-ATTTATTTATTTTCTTTTGGAGCTTGAGTCTCACTCTGTGTTGCCAGGCTGGAGTGCAG 279  
 Tasy-CD94e AAGTGTATTT-ATTTATTTATTTTCTTTTGGAGCTTGAGTCTCACTCTGTGTTGCCAGGCTGGAGTGCAG 279  
 Tasy-CD94f AAGTGTATTT-ATTTATTTATTTTCTTTTGGAGCTTGAGTCTCACTCTGTGTTGCCAGGCTGGAGTGCAG 279  
 Tasy-CD94g AAGTGTATTTTCTGTTTCTTTGTTT-----GAGCTTGAGTCTCACTCTGTGTTGCCAGGCTGGAGTGCAG 267  
 Tasy-CD94h AAGTGTATTTTCTTTTCTTTT-----GAGCTTGAGTCTCACTCTGTGTTGCCAGGCTGGAGTGCAG 268  
 Tasy-CD94i AAGTGTATxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxGAGCTTGAGTCTCACTCTGTGTTGCCAGGCTGGAGTGCAG 275

Tasy-CD94a TGGCACACTCATGGCCACCCAGTGTGACCTGCTGGGCACTGACGATCCTTCTGCCTCAGCCTTTCAAG 338  
 Tasy-CD94b TGGCACACTCATGGCCACCCAGTGTGACCTGCTGGGCACTGACGATCCTTCTGCCTCAGCCTTTCAAG 338  
 Tasy-CD94c GGGCACACTCATGGACACCCAGTGTCTACCTGCTGGGCACTGACGATCCTTCTGCCTTAGTCTTTCAAG 349  
 Tasy-CD94d GGGCACACTCATGGACACCCAGTGTCTACCTGCTGGGCACTGACGATCCTTCTGCCTTAGTCTTTCAAG 349  
 Tasy-CD94e TGGCACACTCATGGACACCCAGTGTGACCTGCTGGGCACTGACGATCCTTCTGCCTTAGTCTTTCAAG 349  
 Tasy-CD94f TGGCACACTCATGGACACCCAGTGTGACCTGCTGGGCACTGACGATCCTTCTGCCTTAGTCTTTCAAG 349  
 Tasy-CD94g TGGCACACTCATGGCCACCCAGTGTGACCTGCTGGGCACTGACGATCATTCCTGCCTCAGCCTTTCAAG 337  
 Tasy-CD94h TGGAACACTCATGGCCACCCAGTGTGACCTGCTGGGCACTGATGATCCTTCTGCCTCAGCCTTTCAAG 338  
 Tasy-CD94i TGGCACACTCATGGCCACCCAGTGTGACCTGCTGGGCACTGATGATCCTTCTGCCTCAGCCTTTCAAG 345

Tasy-CD94a TAGCTGCAATTTTGCCTGTGATGCTACCACACCCGGCTAATTTTGGCTTTATCATAGAAACGAGGTCTCAC 408  
 Tasy-CD94b TAGCTGCAATTTTGCCTGTGATGCTACCACACCCGGCTAATTTTGGCTTTATCATAGAAACGAGGTCTCAC 408  
 Tasy-CD94c TAGCTGGAATTTTGG 364  
 Tasy-CD94d TAGCTGGAATTTTGG 364  
 Tasy-CD94e TAGCTGGAATTTTGG 364  
 Tasy-CD94f TAGCTGGAATTTTGG 364  
 Tasy-CD94g CAGCTGGAATTTTGG 352  
 Tasy-CD94h TACCTGGAATTTTGG 352  
 Tasy-CD94i TACCTGGAATTTTGG 359

Tasy-CD94a CAAATTGCCTGGGCTGGTCTTGAACCTGAAGGCTCCAGCAATTTCTGTACCTCGGCATCCCAAAGTGCTC 478  
 Tasy-CD94b CAAATTGCCTGGGCTGGTCTTGAACCTGAAGGCTCCAGCAATTTCTGTACCTCGGCATCCCAAAGTGCTC 478

Tasy-CD94a	AGATTACAGGCTGAGCCACTGAGTCCAGCTTTATTCCAGTGTTAATCAGATGGTAAATGAATGAACCAA	548
Tasy-CD94b	AGATTACAGGCTGAGCCACTGAGTCCAGCTTTATTCCAGTGTTAATCAGATGGTAAATGAATGAACCAA	548
Tasy-CD94a	TGACCTATCAATTCCATGTCCCGTGAAATAATCAACATAAAACTTGCATAAAAGATCTTTAAGATTTATG	618
Tasy-CD94b	TGACCTATCAATTCCATGTCCCGTGAAATAATCACCATACAACCTTGCATAAAAGATCTTTAAGATTTATG	618
Tasy-CD94a	TCATAGGAAAAAGATCAAGAGAATTACCAAATGAAGGCAAAAGAAAGTTTCAGGGAGAATTCAAAGAAC	688
Tasy-CD94b	TCATAGGAAAAAGATCAAGATAATTACCAAATGAAGGCAAAAGAAAGTTTCAGGGAGAATTCAAAGAAC	688
Tasy-CD94a	GAAACAATAGGTCATCATATTTACCCATTTTATTAAGGAACTCAACTAAATTTCTTTTGTATTTTATG	758
Tasy-CD94b	GAAACAATAGGTCATCATATTTACCCATTTTATTAAGGAACTCAACTAAATTTCTTTTGTATTTTATG	758
Tasy-CD94a	TATTTTAATGGAATTTATAATTTATTTTGTAAATTTACAGGTTTGTGCATTTTCTGTATATAATATGG	828
Tasy-CD94b	TATTTTAATGGAATTTATAATTTATTTTGTAAATTTACAGGTTTGTGCATTTTCTGTATATAATATGG	828
Tasy-CD94a	AACTAGTATGGAGATTATGATCATATAAATCACTCAATCTTAAGAAAAAGTAAAACTTCTTCAGCTA	898
Tasy-CD94b	AACTAGTATGGAGATTATGATCATATAAATCACTCAATCTTAAGAAAAAGTAAAACTTCTTCAGCTA	898
Tasy-CD94a	CATGCTAGCACCTGTGCTGACTATAGATTAAATAGATTTATCATTAAAATACTATTCATTTGGAATCAA	968
Tasy-CD94b	CATGCTAGCACCTGTGCTGACTATAGATTAAATAGATTTATCATTAAAATACTATTCATTTGGAATCAA	968
Tasy-CD94a	TTTGATGGTTGAATCTTGTGGAGGAAGTGTTCATGTAAAGTCTACCTCCCTTTATAAGGCTTTTCTTTT	1038
Tasy-CD94b	TTTGATGGTTGAATCTTGTGGAGGAAGTGTTCATGTAAAGTCTACCTCCCTTTATAAGGCTTTTCTTTT	1038
Tasy-CD94a	CTTCAAGAAGTGAGATTTTGTGTTATTTTTATCTTGCTAAATGAATGTGCCTGATCGATAAAAAATGTGA	1108
Tasy-CD94b	CTTCAAGAAGTGAGATTTTGTGTTATTTTTATCTTGCTAAATGAATGTGCCTGATCGATAAAAAATGTGA	1108
Tasy-CD94a	GGCCTGGACTATACCTTCTATATTAGAAATTA AAAATAAGTTCAAGTTTGTGTACGGAAAGGCTGAATTT	1178
Tasy-CD94b	GGCCTGGACTATACCTTCTATATTAGAAATTA AAAATAAGTTCAAGTTTGTGTACGGAAAGGCTGAATTT	1178
Tasy-CD94a	TATTCTAAATGCAAACCTTCTTTTAGAACATGTTATTTCCAAGTACTTAAAATTATATTACTTTGTTTTT	1248
Tasy-CD94b	TATTCTAAATGCAAACCTTCTTTTAGAACATGTTATTTCCAAGTACTTAAAATTATATTACTTTGTTTTT	1248
	<b>Exon 5</b>	
Tasy-CD94a	CTCTGTCTCTTTGCAGGATTTTCATGCACTCCAGTCAGTAC	1288
Tasy-CD94b	CTCTGTCTCTTTGCAGGATTTTCATGCACTCCAGTCAGTAC	1288

**Abb. 40 Vergleich der CD94-Sequenzen (Exon 4-5) im Koboldmaki**

Der Nukleotidsequenzvergleich wurde mit dem Programm Bioedit erstellt. Striche zeigen Deletionen an. Grau unterlegte Bereiche: > 50 % identitische Sequenzen. x steht für eine unbekannte Anzahl an Thymidinresten (T) in Tasy-CD94i. Ein Stopkodon in Tasy-CD94-g ist fett und unterstrichen. Die Position der Alu-Elemente ist durch eine Linie unterhalb der Sequenzen dargestellt. Tasy, *Tarsius syrichta*.

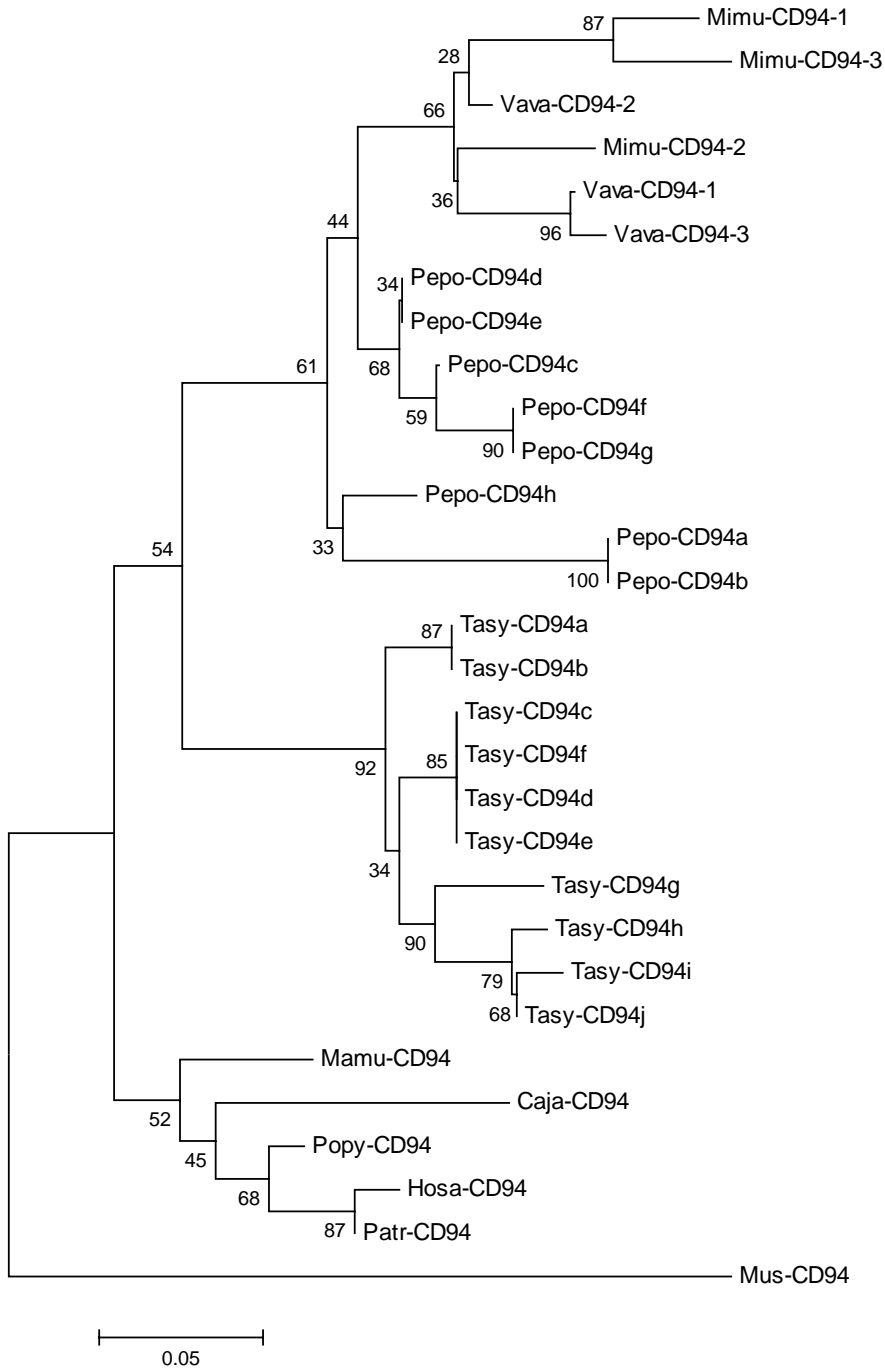
Die Sequenzidentitäten der verschiedenen CD94-Sequenzen des Koboldmakis sind in Tab. 19 angegeben. Für die Sequenz CD94j wurden aufgrund ihrer kurzen Länge von nur 104 bp keine Identitäten berechnet. Eine sehr hohe Sequenzidentität zueinander weisen CD94a und CD94b (99,8 %), CD94c und CD94d (99,7 %) sowie CD94e und CD94f (99,7 %) auf, so dass diese Sequenzen potentielle Allele darstellen (Tab. 19). CD94c und CD94d zeigen ebenfalls eine hohe Sequenzidentität zu CD94f und CD94e (98,9-99,4 %). Möglicherweise handelt es sich um zwei sehr nah verwandte Gene. Die Sequenzidentität zwischen CD94g und CD94h beträgt



### 3.8 Phylogenetische Analyse der Exon 4-Sequenzen von CD94

Aus einem Nukleotidvergleich von 84 bp der Exon 4-Sequenzen von CD94 verschiedener Primatenspezies und der Maus als Außengruppe (siehe Anhang unter 7.5) wurde mit Hilfe der MEGA 3.1 Software nach der Neighbor-Joining-Methode auf Basis des Distanz-Evolutionsmodells K2P (Kimura-2-Parameter) ein Stammbaum errechnet. Es wurde nur ein Teil von Exon 4 analysiert, der von allen Sequenzen bekannt ist. Der Stammbaum sollte einen Hinweis auf die Verwandtschaftsverhältnisse der CD94-Gene des Pottos und des Koboldmakis zu den übrigen Primaten geben.

Die Exon 4-Sequenzen des Koboldmakis gruppieren mit einem hohen Bootstrap-Wert von 92 % zusammen. Sie bilden mit einer Unterstützung von 54 % eine übergeordnete Gruppe mit den Exon 4-Sequenzen des Pottos und der Lemuren. Diese Anordnung entspricht nicht den wahren Verwandtschaftsverhältnissen, nach denen der Koboldmaki näher mit den höheren Primaten verwandt ist (Schmitz et al., 2005). Die Stellung der Potto-Sequenzen im Stammbaum ist weniger signifikant als die des Koboldmakis. Fünf Sequenzen des Pottos gruppieren miteinander (68 %). Die Gruppierung dieser Sequenzen mit den Sequenzen der Lemuren sowie die basale Stellung der anderen drei Potto-Sequenzen zu dieser Gruppe wird nur schwach unterstützt. Die Anordnung der Exon-4-Sequenzen der Lemuren stimmt nicht mit dem Stammbaum der vollständigen CD94-Sequenzen in Abb. 33 überein. Ursache hierfür ist möglicherweise die Rekombination von Exons (*Exon-Shuffling*) zwischen verschiedenen CD94-Genen innerhalb einer Spezies, ähnlich wie für KIR-Gene beschrieben (Rajalingam et al., 2004).



**Abb. 41 Phylogenetische Analyse der Exon 4-Nukleotidsequenzen von CD94 in verschiedenen Primaten**

Der Stammbaum wurde nach der Neighbor-Joining-Methode mit dem Programm MEGA 3.1 erstellt. Die CD94-Sequenz der Maus diente als Außengruppe. Die Zahlen an den Aufspaltungspunkten (Bootstrap-Werte) geben die Prozentzahlen an, wie häufig diese Verzweigung rekonstruiert wurde. Es wurden 1000 Teildatensätze erstellt. Die Distanzmarkierung beschreibt 0,05 Nukleotidsubstitutionen pro Position (korrigiert nach K2P). Hosa, *Homo sapiens*; Patr, *Pan troglodytes*; Popy, *Pongo pygmaeus*; Mamu, *Macaca mulatta*; Caja, *Callithrix jacchus*; Mimu, *Microcebus murinus*; Vava, *Varecia variegata*; Tasy, *Tarsius syrichta*; Pepo, *Perodicticus potto*; Mus, *Mus musculus*. Zugangsnummern der Sequenzen siehe Tab. 3 in Material und Methoden.

## 4 Diskussion

Im Rahmen dieser Arbeit wurden die Gene des CD94-Ly49L-Intervalls der NKC-Region in einem Neuweltaffen (Weißbüschelaffe) sowie in zwei Lemuren (Mausmaki, Vari) untersucht. Während sich im CD94-Ly49L-Intervall des Weißbüschelaffen im Vergleich zum Menschen eine geringere Anzahl potentiell funktioneller Gene befindet, ist im Mausmaki genau das Gegenteil der Fall. In den Lemuren hat eine Vervielfachung und Diversifizierung der CD94- und NKG2-Gene stattgefunden. Damit ähnelt die CD94/NKG2-Rezeptorfamilie der Lemuren der KIR-Genfamilie der Altweltaffen sowie der Ly49-Genfamilie der Nagetiere und übernimmt möglicherweise äquivalente Funktionen, nämlich die Bindung klassischer MHC-Klasse-I-Moleküle. Mehrere CD94-Gene konnten auch im Potto und im Koboldmaki nachgewiesen werden, so dass ein diverses CD94/NKG2-Rezeptor-Repertoire möglicherweise auch in diesen Spezies existiert und somit nicht auf die madagassischen Feuchtnasaffen beschränkt ist. Die Daten liefern neue Hinweise über die Evolution der MHC-Klasse-I-spezifischen NK-Zell-Rezeptoren in Säugetieren.

### 4.1 NKC des Weißbüschelaffen

#### 4.1.1 Reduziertes C-Typ Lektin-ähnliches Rezeptor-Repertoire im Weißbüschelaffen

Das CD94-Ly49L-Intervall im Weißbüschelaffen ist mit einer Länge von 171 kb ~ 40 % kürzer als das CD94-Ly49L-Intervall im Menschen, dessen Länge 274 kb beträgt (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>). Das liegt zum einen daran, dass der Weißbüschelaffe ein NKG2-Gen weniger besitzt als der Mensch und zum anderen daran, dass die Sequenzbereiche zwischen den verschiedenen NKC-Genen, insbesondere zwischen NKG2A und Ly49L, im Weißbüschelaffen kürzer sind. Die genomische Organisation sowie 5'-3'-Orientierung der NKC-Gene des Weißbüschelaffen entspricht der des Menschen (Sobanov et al., 1999). Es wurden orthologe Gene zu den humanen Genen CD94, NKG2D, NKG2F, NKG2A und Ly49L gefunden sowie ein Gen, welches paralog zu den humanen Genen NKG2C und NKG2E ist und entsprechend phylogenetischer Analysen als NKG2CE bezeichnet wurde. Im Stammbaum der NKG2-Sequenzen (komplette Proteinsequenz, Abb. 35) steht NKG2CE des Weißbüschelaffen basal zu den NKG2C- und -E-Sequenzen der Altweltaffen. Somit besaß ein Vorfahre der Neuwelt- und Altweltaffen möglicherweise ein NKG2CE-ähnliches Gen, aus

dem durch Genduplikationen die NKG2C- und -E-Gene der höheren Primaten hervorgegangen sind. Analog zum Weißbüschelaffen wurde beim Erstellen dieser Arbeit eine CD94-, NKG2A- und NKG2CE-Sequenz von einem weiteren Neuweltaffen, dem Totenkopffaffen *Saimiri sciureus*, veröffentlicht (LaBonte et al., 2007).

NKG2F und Ly49L repräsentieren Pseudogene im Weißbüschelaffen. Beide Gene besitzen im ersten proteinkodierenden Exon ein Stopkodon. Darüber hinaus fehlen im Ly49L-Gen des Weißbüschelaffen die für die Halsregion und CTLD kodierenden Exons 4-7 (Exon-Bezeichnung siehe Barten und Trowsdale, 1999). Im Menschen kodieren NKG2F und Ly49L aufgrund von vorzeitigen Stopkodons in Exon 4 (NKG2F) (Glienke et al., 1998) bzw. Exon 5 (Ly49L) (Westgaard et al., 1998) für Rezeptoren mit stark verkürzter CTLD. Transkripte wurden im Menschen sowohl für NKG2F (Glienke et al., 1998; Kim et al., 2004) als auch für Ly49L (Westgaard et al., 1998) nachgewiesen. Weiterhin bindet NKG2F im Menschen intrazellulär an DAP12 (Kim et al., 2004). Somit wäre eine funktionelle Bedeutung für NKG2F und Ly49L im Menschen möglich, die im Weißbüschelaffen eher unwahrscheinlich ist.

Neben der verringerten Anzahl an C-Typ Lektin-ähnlichen Rezeptoren wurden bis jetzt erst zwei KIR-Gene (KIR3DL01 und KIR3DL02) im Weißbüschelaffen beschrieben (Sambrook et al., 2006a). Ob weitere KIR-Gene im Weißbüschelaffen existieren, ist bislang unbekannt. Ferner zeigen MHC-Klasse-I-Moleküle in Spezies der Familie Callithrichidae (Krallenaffen) einen ungewöhnlich geringen Grad an Diversität (Watkins et al., 1990; Watkins et al., 1991). Callithrichiden gebären in der Regel Zwillinge, die aufgrund einer gemeinsamen Plazenta mit Gefäßanastomosen Zellchimären sind (Ross et al., 2007). Watkins und Mitarbeiter nahmen an, dass eine geringe Diversität der MHC-Klasse-I-Moleküle Zellchimarismus ermöglicht, ohne Abstoßungsreaktionen gegen Zellen hervorzurufen, die MHC-Klasse-I-Moleküle des Zwillings exprimieren (Watkins et al., 1990; Watkins et al., 1991). Ein reduziertes NK-Zell-Rezeptor-Repertoire in Callithrichiden könnte wiederum eine Anpassung an wenig polymorphe MHC-Klasse-I-Liganden darstellen.

#### **4.1.2 Diversitätsanalyse im Weißbüschelaffen**

Ähnlich wie in Altweltaffen zeigten sich die CD94-, NKG2A- und NKG2CE-Gene des Weißbüschelaffen in zehn analysierten Individuen als moderat polymorph (siehe 3.1.3). Passend dazu ist der potentielle Ligand, das nicht-klassische MHC-Klasse-I-Molekül Caja-E,

im Weißbüschelaffen ebenfalls wenig polymorph (Knapp et al., 1998). NKG2D erwies sich in den analysierten Individuen als monomorph und stellt auch in Altweltaffen ein wenig polymorphes Gen dar (Guethlein et al., 2002; Shum et al., 2002). Aufgrund des Zellchimärismus in Weißbüschelaffen (siehe oben) (Ross et al., 2007), können einzelne Individuen allerdings bis zu vier verschiedene Allele eines Gens besitzen, wodurch sich die NK-Zell-Rezeptor-Diversität und auch die Diversität der Liganden im einzelnen Individuum erhöhen kann.

#### **4.1.3 Alternatives Spleißen der NKC-Gene im Weißbüschelaffen**

Neben den vollständigen cDNA-Sequenzen wurden alternative Spleißvarianten von CD94, NKG2A und NKG2D gefunden (Abb. 15). In den Spleißvarianten Sv4 bis Sv11 von CD94 führen Leserasterverschiebungen zum frühzeitigen Abbruch der Translation. Den entsprechenden Proteinen fehlt ein großer Teil oder sogar die vollständige CTLD. Daher sind diese verkürzten Proteine vermutlich nicht in der Lage, mit NKG2 zu heterodimerisieren und MHC-Klasse-I-Moleküle zu binden. Dennoch könnten diese Spleißvarianten andere, bisher unbekannte, Funktionen haben. Die Spleißvariante Sv1, die auch als CD94B bezeichnet wird (Shum et al., 2002), kodiert eine zusätzliche Aminosäure Glutamin in der CTLD, die sich in unmittelbarer Nähe zum Heterodimerkontaktbereich von CD94 und NKG2 befindet. Für NKG2A und NKG2C im Menschen wurde gezeigt, dass Sequenzunterschiede im Heterodimerkontaktbereich die Affinität zu HLA-E stark beeinflussen (Sullivan et al., 2007). Dementsprechend wäre es auch möglich, dass die zusätzliche Aminosäure im CD94B-Protein Einfluss auf die Bindung des Liganden nimmt, der voraussichtlich das zu HLA-E homologe Caja-E-Molekül ist (Knapp et al., 1998). Für eine bedeutsame Funktion dieser Spleißvariante spricht ebenfalls, dass sie in fast allen bisher untersuchten Primatenspezies gefunden wurde wie Mensch, Schimpanse, Rhesusaffe, Totenkopffaffe (LaBonte et al., 2001; LaBonte et al., 2007; Shum et al., 2002) sowie den in dieser Arbeit untersuchten Lemuren. Außerdem tritt die zusätzliche Aminosäure Glutamin auch in vier weiteren Spleißvarianten von CD94 auf (Sv3, Sv5, Sv7 und Sv10).

Eine wichtige Funktion üben möglicherweise auch die Spleißvarianten Sv2 und Sv3 von CD94 aus, die für Proteine kodieren, denen die Halsregion fehlt. Lieto und Mitarbeiter konnten zeigen, dass eine entsprechende CD94-Isoform im Menschen (CD94-T4) mit NKG2A und vorzugsweise einer Isoform von NKG2A, der ebenfalls die Halsregion fehlt (NKG2B),

assoziiert und inhibierende Signale weiterleitet (Lieto et al., 2006). Es wurde diskutiert, dass aufgrund seiner geringeren Größe der CD94-T4/NKG2B-Rezeptor möglicherweise in andere Mikrodomänen innerhalb der immunologischen Synapse (Kontaktbereich zwischen NK-Zell-Rezeptoren und Zielzelle) vordringen kann, als der CD94/NKG2A-Rezeptor und damit zur Plastizität der immunologischen Synapse beiträgt (Lieto et al., 2006). Die Spleißvariante NKG2B wurde im Weißbüschelaffen nicht gefunden, was aber auch damit zusammenhängen kann, dass die Expression in dem untersuchten Individuum eventuell herunterreguliert war und deshalb kein Transkript nachgewiesen werden konnte. LaBonte und Letvin konnten zeigen, dass die mRNA-Expression verschiedener NKG2-Moleküle und deren Spleißvarianten im Rhesusaffen zwischen verschiedenen Individuen und auch innerhalb eines Individuums über einen untersuchten Zeitraum von 1,5 Jahren stark variiert (LaBonte und Letvin, 2004).

Für NKG2A und NKG2D wurden jeweils Isoformen identifiziert, denen die Transmembranregion fehlt. Da diese Isoformen nicht auf der Zelloberfläche exprimiert werden können, bleiben sie möglicherweise im Zytoplasma und regulieren die Expression der vollständigen Rezeptoren. Diese Funktion wurde für Isoformen von CD94 und NKG2 ohne Transmembranregion im Menschen (Furukawa et al., 1998) und im Rhesusaffen (LaBonte et al., 2001; LaBonte et al., 2000) diskutiert.

Eine weitere Funktion dieser Isoformen könnte sein, dass sie als lösliche Rezeptoren die Bindung der membrangebundenen Rezeptoren an ihre Liganden blockieren und somit als negative Regulatoren wirken.

#### **4.1.4 5'-RACE-PCR-Analyse im Weißbüschelaffen**

Über 5'-RACE-PCR wurden alternative Transkriptionsstartpunkte für die Gene CD94, NKG2D, NKG2A und NKG2CE im Weißbüschelaffen gefunden (Abb. 16).

Für NKG2A existieren zwei potentielle Translationsstartpunkte, die sich in Exon 1 bzw. Exon 2 befinden. Das humane NKG2A-Transkript besitzt aufgrund einer alternativen Spleißakzeptorstelle zwei zusätzliche Nukleotide am 5'-Ende von Exon 2 im Vergleich zum Transkript des Weißbüschelaffen (Plougastel et al., 1996). Translation vom Startkodon in Exon 1 würde zur Leserasterverschiebung und zum Abbruch der Translation an Kodonposition 13 führen. Somit erfolgt die Translation im humanen NKG2A vom Startkodon in Exon 2.

Nach Kozak wird die Translation gewöhnlich vom am weitesten 5'-wärts gelegenen Startkodon initiiert (Kozak, 1999). Da dieses im NKG2A-Gen des Weißbüschelaffen an Position +4 einen Thymidinrest aufweist, der nicht der Kozak-Konsensussequenz ((A/G)xxATGG) entspricht (Kozak, 1999), wäre auch hier eine Initiation der Translation vom weiter strangabwärts gelegenen Startkodon in Exon 2 denkbar. Translation vom strangaufwärts gelegenen Startkodon in Exon 1 würde zu einem NKG2A-Protein mit einer um 18 Aminosäuren verlängerten Zytoplasmaregion im Vergleich zum humanen NKG2A-Protein führen. Die verlängerte Sequenz weist allerdings keine bekannten Signalmotive wie ITIM oder YxxM-Motive auf.

Es existiert eine alternative Spleißvariante von NKG2A im Weißbüschelaffen, welche analog zum humanen NKG2A-Transkript, zwei zusätzliche Nukleotide am 5'-Ende von Exon 2 aufweist (Abb. 15). Translation vom strangaufwärts gelegenen Startkodon in dieser Variante würde wie im humanen NKG2A zur Leserasterverschiebung und frühzeitigem Abbruch der Translation führen. Daneben beginnen einige Transkripte 3'-wärts des strangaufwärts gelegenen Startkodons in Intron 1, so dass im Weißbüschelaffen möglicherweise zwei verschiedene NKG2A-Transkripte mit unterschiedlichen Translationsstartpunkten existieren.

Die 5'-RACE-PCR-Analysen ergaben weiterhin, dass NKG2D im Weißbüschelaffen analog zu NKG2D der bisher untersuchten Altweltaffen (Abb. 30) (Glienke et al., 1998; Guethlein et al., 2002; LaBonte et al., 2000; LaBonte et al., 2007; Shum et al., 2002) und zu NKG2D-L der Maus (Diefenbach et al., 2002) gespleißt wird. Alle analysierten NKG2D-Transkripte des Weißbüschelaffen besitzen im Gegensatz zu NKG2D der Lemuren (Abb. 30) und NKG2D-S der Maus (Diefenbach et al., 2002) ein weiter strangaufwärts gelegenes Startkodon. Das entsprechende NKG2D-Protein des Weißbüschelaffen weist damit eine um 14 Aminosäuren längere Zytoplasmaregion als NKG2D der Lemuren und NKG2D-S der Maus auf. Im Gegensatz zum Menschen, wo einige NKG2D-Transkripte bis zu drei nicht-translatierte Exons am 5'-Ende aufweisen (Glienke et al., 1998), besitzen die durch 5'-RACE-PCR amplifizierten NKG2D-Transkripte des Weißbüschelaffen nur ein nicht-translatiertes Exon am 5'-Ende.

CD94 und NKG2CE besitzen keine zusätzlichen nicht-translatierten Exons am 5'-Ende. Damit unterscheidet sich CD94 des Weißbüschelaffen von CD94 des Menschen, wo zwei verschiedene Spleißvarianten existieren. Die eine Variante, CD94, entspricht den Transkripten des Weißbüschelaffen und die zweite, CD94C, besitzt ein zusätzliches nicht-translatiertes Exon am 5'-Ende (Lieto et al., 2003). Die Expression von CD94 wird von einem proximalen

Promotor und von CD94C von einem distalen Promotor reguliert (Lieto et al., 2003). Im untersuchten Weißbüschelaffen scheint nur der proximale Promotor aktiv zu sein oder aber CD94C-Transkripte wurden schwächer exprimiert und deshalb nicht nachgewiesen.

Analog zu NKG2CE des Weißbüschelaffen besitzen auch NKG2C und -E des Menschen keine zusätzlichen nicht-translatierten Exons am 5'-Ende (Glienke et al., 1998).

Variabilität im 5'-UTR, wie sie zwischen Transkripten der NKC-Gene vorliegt und für viele andere Gene beschrieben wurde (Mironov et al., 1999), kann zum einen wie bei NKG2D der Maus und möglicherweise auch NKG2A des Weißbüschelaffen zu verschiedenen Protein-Isoformen führen, die potentiell unterschiedliche Funktionen ausüben. Weiterhin wird die Translationseffizienz von verschiedenen strukturellen Elementen des 5'-UTR beeinflusst. Dazu zählen die Länge und Sekundärstrukturen des 5'-UTR sowie die Anzahl der zusätzlichen Startkodons stromaufwärts des kanonischen Startkodons, bei denen es zum vorzeitigen Abbruch der Translation kommt (Kozak, 1994). Ein langer 5'-UTR erhöht in der Regel die Translationseffizienz, solange er keine inhibierenden Sekundärstrukturen aufweist, während mehrere stromaufwärts gelegene Startkodons die Translationseffizienz erniedrigen (Kozak, 1994). Somit wird über die unterschiedlich langen 5'-UTR-Bereiche der NKC-Gene möglicherweise die Translationseffizienz reguliert.

Zusammenfassend entspricht die genomische Organisation des verkürzten CD94-Ly49L-Intervalls im Weißbüschelaffen der des Menschen und weist, mit Ausnahme des Gens NKG2CE, orthologe Gene zu den humanen NKC-Genen auf. Analog zu den NKC-Genen der Altweltaffen unterliegen die NKC-Gene des Weißbüschelaffen alternativen Spleißvorgängen (mit Ausnahme von NKG2CE) und sind mäßig polymorph. Transkripte mit alternativen Translationsstartpunkten existieren möglicherweise für NKG2A des Weißbüschelaffen. Somit üben die aktivierenden Rezeptoren NKG2D und CD94/NKG2CE sowie der inhibierende Rezeptor CD94/NKG2A des Weißbüschelaffen vermutlich äquivalente Funktionen zu den entsprechenden Rezeptoren im Menschen aus.

## 4.2 NKC der Lemuren

### 4.2.1 Erweitertes C-Typ Lektin-ähnliches Rezeptor-Repertoire in Lemuren

Die Expression von C-Typ Lektin-ähnlichen NK-Zell-Rezeptoren wurde weiterhin in zwei madagassischen Lemuren, dem Grauen Mausmaki (*Microcebus murinus*) und dem Schwarzweißen Vari (*Varecia variegata variegata*), untersucht. Die genomische Organisation der NKC-Region wurde im Mausmaki über die Analyse von BAC-Klonen der BAC-Bank „CHORI-257“ ermittelt. Mit 489 kb ist das CD94-Ly49L-Intervall im Mausmaki ~ 45 % größer als im Menschen (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) und ~ 65 % größer als im Weißbüschelaffen (4.1.1). Ursache hierfür ist eine Vervielfachung der CD94- und NKG2-Loci. Es wurden neben einem NKG2D- und einem Ly49L-Gen drei CD94-Gene (CD94-(1-3)) und acht NKG2-Gene (NKG2-(1-8)) identifiziert. Drei NKG2-Gene stellen Pseudogene dar. Auch im Vari konnten über Expressionsanalyse ein NKG2D- und ein Ly49L-Gen sowie drei CD94-Gene (CD94-(1-3)) und acht NKG2-Gene (NKG2-(1-8)) nachgewiesen werden. Die CD94- und NKG2-Gene des Varis sind allerdings nicht ortholog zu einzelnen CD94- und NKG2-Genen des Mausmakis, was darauf hindeutet, dass diese Gene schnell evolvieren.

Damit besitzt der Vari drei funktionelle NKG2-Gene mehr als der Mausmaki. Im Vari besteht allerdings die Möglichkeit, dass noch weitere CD94- und NKG2-Gene existieren, die mit den Mausmaki-spezifischen Primern nicht amplifiziert werden konnten. Eventuell wurden in den Leukozyten des untersuchten Vari-Individuums auch nicht alle CD94- und NKG2-Gene exprimiert. So konnte beispielsweise im Mausmaki NKG2-1 nicht aus Lebergewebe eines Individuums, wohl aber aus Leukozyten eines anderen Individuums amplifiziert werden. Dies deutet an, dass die Expression der NKG2-Gene starken Schwankungen unterliegt, wie dies bereits im Rhesusaffen nachgewiesen wurde (LaBonte und Letvin, 2004).

#### 4.2.1.1 Diverse CD94/NKG2-Rezeptoren der Lemuren

Der überraschendste Befund war die Existenz mehrerer CD94-Gene in den Lemuren, da CD94, ähnlich wie NKG2D, in höheren Primaten wie Mensch, Schimpanse, Orang-Utan, Rhesusaffe, Totenkopffaffe und Weißbüschelaffe (Guethlein et al., 2002; LaBonte et al., 2000; LaBonte et al., 2007; Shum et al., 2002; Sobanov et al., 1999) sowie in Nagetieren wie Maus und Ratte (Dissen et al., 1997; Vance et al., 1997) ein einzelnes stark konserviertes Gen darstellt. Beispielsweise unterscheidet sich CD94 zwischen Mensch und Schimpanse nur in

einer Aminosäure (Shum et al., 2002). Zudem gibt es kaum allelische Austausche (Guethlein et al., 2002; Shum et al., 2002).

Mehrere CD94-Gene liegen möglicherweise auch im Rind vor. Es wurden zwei putative CD94-Gene auf einem Contig im Rind gefunden. Eines der CD94-Gene war allerdings nicht komplett im Contig enthalten (Birch und Ellis, 2007).

CD94-2 des Mausmakis unterscheidet sich von den anderen CD94-Molekülen, indem es eine verlängerte CTLD aufweist. Ursache hierfür ist eine Deletion in Exon 6, die sich in der Linie der Maus- und Katzenmakis ereignet haben muss, da eine solche Deletion in keinem CD94-Gen des Varis gefunden wurde.

Beatrix Petersen konnte im Rahmen ihrer Diplomarbeit zeigen, dass im Mausmaki NKG2-8 und NKG2-3 mit allen drei CD94-Molekülen interagieren können, was für die übrigen NKG2-Moleküle noch nicht endgültig geklärt ist (Petersen, 2007). Dadurch, dass im Mausmaki möglicherweise drei CD94-Moleküle mit fünf NKG2-Molekülen interagieren können, steigt die Anzahl der putativen CD94/NKG2-Rezeptoren auf 15. Im Vari existieren sogar 24 putative CD94/NKG2-Rezeptoren, was die Anzahl von drei CD94/NKG2-Rezeptoren im Menschen oder von zwei im Weißbüschelaffen weit übersteigt.

Die drei CD94-Moleküle sind innerhalb der einzelnen Lemurenspezies weniger stark konserviert als die CD94-Moleküle der höheren Primaten untereinander. Besonders divers gegenüber den CD94-Molekülen der höheren Primaten ist die Halsregion (Abb. 29). Auch die NKG2-Sequenzen der Lemuren sind in dieser Region enorm divers (Abb. 31). Interessanterweise existieren im Mausmaki für CD94-3 und NKG2-5 zwei verschiedene Isoformen, die sich in der Länge der Halsregion unterscheiden. Die Kristallstruktur der Halsregion von CD94 und NKG2 ist nur vom äußersten C-terminalen Teil bekannt. Dieser bildet sowohl in CD94 als auch in NKG2 Heterodimerkontaktbereiche aus und beinhaltet einen Cysteinrest, der an einer Disulfidbrücke zwischen CD94 und NKG2 beteiligt ist (Sullivan et al., 2007). In früheren Studien wurde gezeigt, dass ein CD94-Molekül, dem der N-terminale und mittlere Bereich der Halsregion fehlt, weniger stark die Tendenz zeigt, Homodimere auszubilden, als ein CD94-Molekül mit vollständiger Halsregion (Boyington et al., 2000). Auch die Tatsache, dass im Menschen die beiden Isoformen ohne Halsregion, CD94-T4 und NKG2B, vorzugsweise miteinander interagieren, zeigt, dass dieser Bereich eine wichtige Rolle bei der Heterodimerisierung spielt (Li et al., 2006). Somit wäre eine mögliche Konsequenz der Diversität der Halsregion in den Lemuren, dass die verschiedenen

CD94-Moleküle bevorzugt mit bestimmten NKG2-Molekülen auf der Zelloberfläche exprimiert werden. Dies trifft zumindest für NKG2-8 und NKG2-3 des Mausmakis nicht zu (Petersen, 2007). Es wäre aber auch denkbar, dass die Halsregion die Konformation des Rezeptors beeinflusst und dadurch Auswirkungen auf die Ligandenbindung hat. Sullivan und Mitarbeiter konnten zeigen, dass die unterschiedlichen Bindeaffinitäten zwischen CD94/NKG2A und CD94/NKG2C des Menschen zu HLA-E, von einem Bereich innerhalb der CTLD von NKG2 (C-terminales Ende der  $\alpha$ 2-Helix) herrühren, der nicht direkt mit HLA-E interagiert, sondern mit CD94 (Sullivan et al., 2007). Folglich könnten Sequenzunterschiede in der Halsregion, die ebenfalls eine Rolle bei der Heterodimerisierung spielen, auch die Ligandenbindung beeinflussen.

Im CD94/NKG2A-Rezeptor des Menschen wurden zwei verschiedene Kontaktbereiche nachgewiesen. Reste, die für die unterschiedlichen HLA-E-Bindeaffinitäten von NKG2A und NKG2C verantwortlich sind, befinden sich im Kontaktbereich 2 (Sullivan et al., 2007). Innerhalb dieses Bereiches weisen auch die NKG2-Moleküle der Lemuren eine sehr polymorphe Aminosäureposition auf (Position 173 in NKG2-1 des Mausmakis bzw. Position 170 in NKG2-1 des Varis und entsprechende Positionen in den anderen NKG2-Sequenzen in Abb. 31). Von CD94 umfasst der Kontaktbereich 2 in loop 3 gelegene Reste der CTLD, die in den Lemuren äußerst divers sind und in den CD94-Sequenzen der höheren Primaten stark konserviert sind (Abb. 29). Somit scheint der Kontaktbereich 2 in den Lemuren einer positiven Selektion zu unterliegen und übt möglicherweise wie im Menschen Einfluss auf die Ligandenbindung aus.

Ebenfalls divers zeigt sich der putative Ligandenbindebereich der NKG2-Moleküle der Lemuren (Abb. 31). Der potentielle Ligandenbindebereich von CD94 ist dagegen nicht auffällig divers (Abb. 29). Die putativen Ligandenbindebereiche basieren auf Mutationsstudien an CD94 und NKG2A und ergaben, dass CD94 eine weitaus wichtigere Rolle bei der Ligandenbindung spielt als NKG2A (Sullivan et al., 2007). In einem vorläufigen Modell der CD94/NKG2A-Interaktion mit HLA-E tritt CD94 mit der  $\alpha$ 1-Helix und dem Peptid von HLA-E in Kontakt, und NKG2A mit der  $\alpha$ 2-Helix (Sullivan et al., 2007). In den CD94/NKG2-Rezeptoren der Lemuren wäre es aber auch denkbar, dass andere Reste eine Rolle bei der Ligandenbindung spielen als im Menschen, zumal völlig unklar ist, welches Molekül als Ligand in den Lemuren fungiert.

Im Mausmaki wurden mehrere MHC-Klasse-I-Gene identifiziert (Flügge et al., 2002; Neff, 2005), jedoch kein MHC-E homologes Gen (persönliche Mitteilung von PD Dr. Lutz Walter, DPZ). Im Vari liegen diesbezüglich keine Daten vor. Es besteht darüber hinaus die Möglichkeit, dass polymorphe klassische MHC-Klasse-I-Moleküle die Liganden der CD94/NKG2-Rezeptoren darstellen, insbesondere da im Mausmaki bis jetzt erst ein fragmentäres KIR-Gen gefunden wurde (persönliche Mitteilung von Dr. Stephan Beck, Sanger Centre, Hinxton, UK) sowie ein Ly49L-Gen (diese Arbeit). In den Altweltaffen binden polymorphe KIR die klassischen MHC-Klasse-I-Moleküle (Hao und Nei, 2005) und in den Nagetieren übernehmen polymorphe Ly49-Rezeptoren diese Funktion (Hao und Nei, 2004).

Im Stammbaum der CTLD der NKG2-Sequenzen (Abb. 37) *clustern* die NKG2-Sequenzen der höheren Primaten (mit Ausnahme von Mensch und Schimpanse) speziesspezifisch. Homogenisierung von Genen innerhalb einer Spezies („konzertierte“ Evolution) wurde für viele Multigenfamilien beschrieben (Dover, 1982; Ohta, 1980). Die zugrunde liegenden Mechanismen sind wahrscheinlich ungleiches Crossingover und Genkonversion (Li, 1997). Homogenisierung der NKG2-CTLD in den einzelnen Spezies der höheren Primaten erfolgte wahrscheinlich in Koevolution mit dem Liganden MHC-E.

Für die CTLD der NKG2-Sequenzen der Lemuren wurde keine klare speziesspezifische Aufspaltung gefunden. Es können grob drei übergeordnete Interspeziesgruppen unterschieden werden, wenn NKG2-1 des Mausmakis zu einer Gruppe mit NKG2-1 und NKG2-7 des Varis gezählt wird (Abb. 37). Dies könnte darauf hindeuten, dass von den CD94/NKG2-Rezeptoren der Lemuren mehrere Liganden, wie etwa verschiedene klassische MHC-Klasse-I-Moleküle gebunden werden. Beispielsweise wurde in phylogenetischen Analysen gezeigt, dass KIR-Moleküle des Schimpansen und des Menschen zusammen in drei Gruppen *clustern*, die unterschiedliche MHC-Klasse-I-Spezifitäten aufzeigen (Hao und Nei, 2005; Khakoo et al., 2000).

Die Trennung der Maus- und Katzenmakis, zu denen der Mausmaki gehört, von den „echten Lemuren“, zu denen der Vari gehört, erfolgte vor circa 40 Millionen Jahren, etwa zeitgleich mit der Trennung der Neuweltaffen von den Altweltaffen, die vor circa 43 Millionen Jahren stattfand (Steiper und Young, 2006). Damit kann die interspezies-spezifische Gruppierung der NKG2-Sequenzen in den Lemuren nicht durch einen kurzen Evolutionszeitraum erklärt werden.

Während in übergeordneten Gruppen die NKG2-Sequenzen des Mausmakis und des Varis zusammen gruppieren, *clustern* die Sequenzen innerhalb dieser Gruppen speziesspezifisch, so dass in den Gruppen wahrscheinlich auch Homogenisierung stattfand. Hohe Ähnlichkeiten zeigen insbesondere die CTLD-Sequenzen von NKG2-2 und NKG2-3 des Mausmakis sowie von NKG2-1 und NKG2-7 des Varis. Die Identitäten der gesamten Zytoplasma-, Transmembran- und Halsregionen dieser Sequenzen sind dagegen um etwa 40 % geringer als die der CTLD. Somit weisen diese Rezeptoren möglicherweise ähnliche Ligandenspezifitäten auf, üben aber diverse Funktionen aus. Dies könnte wie im Fall des inhibierenden Ly49i- und des aktivierenden Ly49h-Rezeptors der Maus zu Resistenz gegenüber bestimmten Pathogenen führen. Beide Ly49-Rezeptoren der Maus binden das vom Maus-Cytomegalievirus (MCMV) kodierte, MHC-ähnliche Protein m157 (Arase et al., 2002). Mausstämme, die den aktivierenden Ly49h-Rezeptor exprimieren, sind resistent gegenüber MCMV, während Mausstämme, die den inhibierenden Ly49i-Rezeptor exprimieren, empfänglich für MCMV sind (Arase et al., 2002).

Hohe Identitäten in der CTLD und geringe Identitäten in der Zytoplasma-, Transmembran- und Halsregion wurden auch zwischen der NKG2-8-Sequenz des Mausmakis und der NKG2-6-Sequenz des Varis gefunden, die eine der potentiell drei übergeordneten Gruppen im Stammbaum der CTLD bilden. Somit haben wahrscheinlich Rekombinationsereignisse und/oder Genkonversion die heute vorliegenden NKG2-Gene in den Lemuren geprägt, angetrieben durch den äußeren Selektionsdruck von Pathogenen.

Ein hoher Grad an allelischen Polymorphismen der CD94- und NKG2-Gene im Mausmaki (3.2.3) deutet ebenfalls auf eine Anpassung an polymorphe Liganden hin, wie es die klassischen MHC-Klasse-I-Moleküle darstellen. Im Vergleich zum Weißbüschelaffen, in dem die Diversität in zehn Tieren analysiert wurde, erwiesen sich insbesondere die NKG2-Gene im Mausmaki, in nur zwei analysierten Individuen pro Gen, als deutlich polymorpher. Die CTLD-Sequenzen von CD94 wurden in 46 weiteren Individuen untersucht und weisen 8 (CD94-1), 16 (CD94-2) bzw. 12 SNP (CD94-3) auf. Die CTLD-Sequenzen der NKG2-Gene, die nur in 12 Tieren von Frau Petersen analysiert wurden, sind dagegen im Durchschnitt etwas polymorpher und weisen 7 bis 29 SNP auf (Petersen, 2007). Für CD94-1 und CD94-2 wurden deutlich mehr nicht-synonyme als synonyme Austausche gefunden, während für CD94-3 die Anzahl der synonymen Austausche leicht überwiegt. Die meisten Austausche wurden für

CD94-2 identifiziert. Die in der Diplomarbeit von Frau Petersen untersuchten NKG2-CTLD weisen alle mehr nicht-synonyme als synonyme Austausche auf. Die höchste Diversität wurde für NKG2-8 und NKG2-3 beschrieben (Petersen, 2007).

Im Vari wurden die CD94- und NKG2-Gene nur in einem Individuum analysiert und zwei verschiedene Allele für CD94-2, CD94-3 und NKG2-6 gefunden. Die Allele weisen fünf (CD94-2) bzw. zwei SNP (CD94-3 und NKG2-6) auf. Anhand der geringen Datenmenge ist es schwer, eine Aussage darüber zu treffen, ob die NK-Zell-Rezeptoren im Vari ähnlich polymorph sind wie im Mausmaki. Lediglich die beiden Allele von CD94-2 deuten darauf hin.

Ein weiteres Merkmal, in dem sich die CD94/NKG2-Rezeptoren der Lemuren von den höheren Primaten unterscheiden, sind die Signalmotive in der Zytoplasma- und Transmembranregion der NKG2-Sequenzen. Im Stammbaum der Zytoplasma-, Transmembran- und Halsregion der NKG2-Sequenzen (Abb. 36) spalten sich die Sequenzen der Lemuren in zwei Gruppen auf, wie die NKG2-Sequenzen der höheren Primaten. Eine Analyse der Sequenzen zeigt allerdings eine deutliche funktionelle Diversifizierung dieser Regionen in den Lemuren.

In den bisher untersuchten Primaten besitzen die inhibierenden NKG2A-Moleküle zwei ITIM in der Zytoplasmaregion und die aktivierenden NKG2C-, -E-Moleküle sowie die NKG2F-Moleküle, deren Funktion bislang unbekannt ist, eine positiv geladene Aminosäure Lysin in der Transmembranregion (Abb. 31), wodurch sie im Menschen mit dem Adaptermolekül DAP12 assoziieren (Kim et al., 2004; Lanier et al., 1998a). Die NKG2-Sequenzen der Lemuren entsprechen mit einer Ausnahme (Mimu-NKG2-3\*01) nicht den typischen aktivierenden und inhibierenden Rezeptoren der höheren Primaten. Neben ITIM-Sequenzen treten hier so genannte YxxM-Motive in der Zytoplasmaregion auf, die vom ITIM an der Position Y+3 abweichen, indem sie hier die Aminosäure Methionin aufweisen. Dieses Motiv ist bekannt von Adaptermolekülen wie DAP10 (Trinchieri, 2003) und Ko-Rezeptoren des T-Zell-Rezeptors (CD28, ICOS, CTLA4) (Rudd und Schneider, 2003) und stellt eine Erkennungssequenz der p85-Untereinheit der Phosphatidylinositol-3-Kinase (PI3K) dar, deren Aktivierung zur Lyse der Zielzelle führen kann.

Die NKG2-Moleküle der Lemuren besitzen unterschiedliche Kombinationen an ITIM-Sequenzen, YxxM-Motiven und positiv geladener Aminosäure in der Transmembranregion (Abb. 31) und sind somit möglicherweise multifunktional. Im Großen und Ganzen können

insgesamt fünf verschiedene Rezeptor-Typen unterschieden werden. Rezeptoren vom Typ 1 besitzen ein ITIM und ein YxxM-Motiv (Mimu-NKG2-3\*02/\*03, Mimu-NKG2-8, Vava-NKG2-1), Rezeptoren vom Typ 2 zeigen neben einem ITIM und einem YxxM-Motiv zusätzlich eine positiv geladene Aminosäure in der Transmembranregion (Mimu-NKG2-1, Vava-NKG2-8), Rezeptoren vom Typ 3 haben ein bis zwei ITIM und eine positiv geladene Aminosäure in der Transmembranregion, aber kein YxxM-Motiv (Mimu-NKG2-2\*02/\*03/\*04, Mimu-NKG2-5, Vava-NKG2-3, -6), Rezeptoren vom Typ 4 haben ein YxxM-Motiv und eine positiv geladene Aminosäure, aber kein ITIM (Mimu-NKG2-2\*01, Vava-NKG2-2, -4, -5, -7) und Rezeptoren vom Typ 5 entsprechen mit zwei ITIM dem klassischen inhibierenden Rezeptor der Primaten (Mimu-NKG2-3\*01). Typ 5 wurde innerhalb der Feuchtnasaffen nur im Mausmaki nachgewiesen. Dadurch, dass verschiedene Allele im Mausmaki von NKG2-2 und NKG2-3 unterschiedliche Signalmotive aufweisen, erweitert sich zusätzlich die Rezeptorvielfalt.

Eine ähnliche Vielfalt an Rezeptor-Typen wie in den Lemuren wurde für Ig-ähnliche Immunrezeptoren des Huhns beschrieben (Viertlboeck et al., 2005). Darüber hinaus existieren zwei NK-Zell-Rezeptoren in Primaten, die wie Rezeptoren vom Typ 3 eine positiv geladene Aminosäure und ein ITIM aufweisen: KIR2DL4 und NKp44 (Rajagopalan und Long, 1999; Vitale et al., 1998). Für beide Rezeptoren wurden trotz ITIM aktivierende Funktionen nachgewiesen (Campbell et al., 2004; Kikuchi-Maki et al., 2003). Dennoch besitzt beispielsweise das ITIM in KIR2DL4 das Potential SHP1 zu binden, was Studien zeigen, in denen die positiv geladene Aminosäure in der Transmembranregion mutiert wurde (Faure und Long, 2002). Im Rind wurde ebenfalls eine NKG2A-Sequenz nachgewiesen, die zwei ITIM und eine positiv geladene Aminosäure aufweist (Birch und Ellis, 2007).

Ein Rezeptor, der sowohl ITIM als auch YxxM-Motive aufweist (Typ 1), stellt der humane IREM-1-Rezeptor dar, der von myeloiden Zellen exprimiert wird (Alvarez-Errico et al., 2007). Er besitzt zwei ITIM sowie zwei YxxM-Motive und übt inhibierende Funktionen aus. Es konnte gezeigt werden, dass die ITIM-Sequenzen die Tyrosinphosphatase SHP1 und die YxxM-Motive die p85-Untereinheit der Phosphatidylinositol-3-Kinase (PI3K) binden (Alvarez-Errico et al., 2007). Wenn SHP1 an IREM-1 bindet, wird allerdings die p85-Untereinheit dephosphoryliert, so dass der PI3K-Signalweg und damit die Zellaktivierung unterdrückt wird. Eine Mutation der Tyrosinreste in den ITIM-Sequenzen von IREM-1, wodurch die Bindung von SHP1 unterbunden wird, führte dagegen, vermittelt durch PI3K, zur

Aktivierung in RBL (*rat basophilic leukemia*)-Zellen (Alvarez-Errico et al., 2007). Somit besitzen die Rezeptoren vom Typ 4, die ein YxxM-Motiv, eine positiv geladene Aminosäure, aber kein ITIM aufweisen, womöglich die Fähigkeit, den PI3K-Signalweg über das YxxM-Motiv und den Syk/ZAP70-Signalweg über das Adaptermolekül DAP12 zu aktivieren.

Wahrscheinlich ist auch die Anzahl und Position der ITIM-Sequenzen in der Zytoplasmaregion von funktioneller Bedeutung. So wurde beispielsweise im humanen NKG2A nachgewiesen, dass beide ITIM für eine maximale inhibierende Wirkung erforderlich sind, jedoch das membran-distale von größerer Bedeutung ist (Kabat et al., 2002). Dafür spricht auch, dass in NKG2A der Maus (Lohwasser et al., 1999) und der Ratte (Berg et al., 1998) nur das membran-distale ITIM vorhanden ist. NKG2-Moleküle der Lemuren besitzen ein bis zwei ITIM, die im Mausmaki an drei und im Vari an zwei verschiedenen Positionen auftreten. Position 1 (membran-distal) und Position 2 (membran-proximal) entsprechen den Positionen der ITIM in den höheren Primaten. YxxM-Motive treten ausschließlich an Position 1 auf. Somit wäre es durchaus möglich, dass NKG2-Moleküle vom Typ 1, die ein YxxM-Motiv an Position 1 (membran-distal) und ein ITIM an Position 2 (membran-proximal) aufweisen, kaum SHP1 und SHP2 binden und damit der PI3K-Signalweg, vermittelt durch das YxxM-Motiv, nicht vollständig unterdrückt wird, wie dies im Beispiel des IREM-1-Rezeptors der Fall ist (Alvarez-Errico et al., 2007). Ob das ITIM in NKG2-5 des Mausmakis, welches weiter C-terminal als die anderen ITIM an Position 3 in der Zytoplasmaregion auftritt, eine Tyrosinphosphatase rekrutieren kann und somit funktionell ist, ist ungewiss.

Eine Besonderheit wurde für NKG2-3 des Varis gefunden. Die Proteinsequenz weist zwei ITIM und eine positiv geladene Aminosäure Arginin in der Transmembranregion auf, während die anderen NKG2-Moleküle alle einen Lysinrest besitzen. Zudem befindet sich der Argininrest weiter C-terminal (in Richtung Extrazellulärbereich) in der Transmembranregion. Auch NKG2C und -E der Maus weisen einen Argininrest an entsprechenden Positionen auf (Vance et al., 1999). Es wurde nachgewiesen, dass die Art der positiv geladenen Aminosäure sowie die Position innerhalb der Transmembranregion die Bindung spezifischer Adaptermoleküle beeinflusst (Feng et al., 2006). Rezeptoren mit einem Argininrest, der in der Transmembranregion weiter in Richtung Extrazellulärbereich positioniert ist, wie dies zum Beispiel im Fc-Rezeptor für IgA (Fc $\alpha$ RI) oder in KIR2DL4 der Fall ist, assoziieren in der Regel mit dem Adaptermolekül Fc $\epsilon$ RI $\gamma$  statt mit DAP12 (Feng et al., 2006; Kikuchi-Maki et

al., 2005; Pfefferkorn und Yeaman, 1994). Somit assoziiert eventuell auch NKG2-3 des Vari mit Fc $\epsilon$ RI $\gamma$ . Das Adaptermolekül von NKG2C und -E der Maus ist bislang unbekannt.

Zusammenfassend scheinen die Funktionen der CD94/NKG2-Rezeptoren der Lemuren vielfältiger zu sein, als die der höheren Primaten und auch der Nagetiere. Um jedoch die genauen Funktionen der einzelnen Rezeptoren zu bestimmen, bedarf es weiterer funktioneller Analysen.

#### 4.2.1.2 NKG2D der Lemuren

Neben den CD94- und NKG2-Genen weisen die BAC-Sequenzen des Mausmakis ein NKG2D-Gen auf. Auch im Vari konnte über RT-PCR ein NKG2D-Gen nachgewiesen werden. Die NKG2D-Sequenzen der Lemuren und der höheren Primaten sind ortholog zueinander (Abb. 34) und recht konserviert (Abb. 30). Im Gegensatz zu den NKG2D-Sequenzen der höheren Primaten besitzt NKG2D der Lemuren allerdings eine um 14 Aminosäuren verkürzte Zytoplasmaregion. Das NKG2D-Transkript des Mausmakis wird analog zu NKG2D-S der Maus gespleißt und besitzt nicht wie NKG2D der höheren Primaten und die murine NKG2D-L-Spleißvariante ein Exon am 5'-Ende, welches ein zusätzliches Startkodon kodiert (Diefenbach et al., 2002). Im Vari gibt es zwei verschiedene Spleißvarianten, die analog zu NKG2D-S und NKG2D-L der Maus gespleißt werden, allerdings zeigen beide Varianten nur das weiter strangabwärts gelegene Startkodon auf. Welche Funktion die unterschiedlich langen Zytoplasmaregionen der NKG2D-Proteine haben, ist bislang unbekannt. Während ursprünglich angenommen wurde, dass die längere Zytoplasmaregion die Bindung des Adaptermoleküls DAP12 an NKG2D-L der Maus und NKG2D des Menschen verhindert (Diefenbach et al., 2002; Rosen et al., 2004), wurde dies in späteren Studien widerlegt, die zeigten, dass auch NKG2D-L der Maus DAP12 bindet (Rabinovich et al., 2006).

Ein weiterer Punkt, in dem sich NKG2D der Lemuren von den höheren Primaten unterscheidet, ist, dass der Argininrest in der Transmembranregion weiter N-terminal liegt (Abb. 30). Wie bereits erwähnt, ist die Position der positiv geladenen Aminosäure in der Transmembranregion entscheidend für die Bindung des Adaptermoleküls (Feng et al., 2006). NKG2D von Maus, Ratte, Rind und Schwein weist ebenfalls einen Argininrest an entsprechender Position wie die Lemuren auf (Feng et al., 2006). Allerdings besitzen die Sequenzen dieser Spezies einen weiteren Argininrest an der gleichen Position wie die höheren

Primaten (Feng et al., 2006). In der Maus wurde gezeigt, dass eine Mutation des weiter N-terminal gelegenen Argininrestes nicht die Bindung mit DAP10 (Feng et al., 2006) oder DAP12 unterbindet (Rosen et al., 2004), so dass dieser Rest voraussichtlich nicht an der Bindung dieser Adaptermoleküle beteiligt ist. Jedoch könnte er für die Bindung anderer Adaptermoleküle, wie z.B. FcεRIγ, verantwortlich sein. An entsprechender Position des Argininrestes der höheren Primaten besitzen die NKG2D-Sequenzen der Lemuren einen Histidinrest. Histidin ist leicht positiv geladen und besitzt möglicherweise ebenfalls die Fähigkeit, mit Adaptermolekülen zu assoziieren, auch wenn die meisten aktivierenden NK-Zell-Rezeptoren einen Lysin- oder Argininrest in ihrer Transmembranregion aufweisen (Radaev und Sun, 2003). Einen Histidinrest in der Transmembranregion besitzt beispielsweise auch der Immunrezeptor CHIR-A (*Chicken Ig-like receptor A*) des Huhns (Dennis et al., 2000).

Im Vergleich zu NKG2D der höheren Primaten (Guethlein et al., 2002; Shum et al., 2002) zeigte sich NKG2D im Mausmaki polymorpher (3.2.3.1). Allerdings wurden sowohl in den drei NKG2D-Sequenzen, von zwei in dieser Arbeit untersuchten Mausmaki-Individuen, als auch in den NKG2D-CTLD von 12 weiteren Individuen, die von Frau Petersen untersucht wurden (Petersen, 2007), etwas mehr synonyme als nicht-synonyme Austausche gefunden. Dies spricht dafür, dass NKG2D in Lemuren, ähnlich wie in den höheren Primaten, keiner positiven Selektion unterliegt.

#### 4.2.1.3 Ly49L der Lemuren

Die BAC-Sequenzen des Mausmakis weisen ein Ly49L-Gen auf. Ebenso konnte im Vari über RT-PCR ein Ly49L-Gen nachgewiesen werden. Die Ly49L-Proteinsequenzen der Lemuren und der höheren Primaten sind untereinander recht konserviert, unterscheiden sich jedoch in ihrer Sequenz stark von den polymorphen Ly49-Rezeptoren der Nagetiere. Im Gegensatz zum Menschen (Westgaard et al., 1998) kodiert Ly49L der Lemuren wie Ly49L des Orang-Utans, des Mantelpavians und Ly49 anderer Säugetiere wie Hund, Katze, Schwein, Rind und Pferd für eine vollständige CTLD (Gagnier et al., 2003; Guethlein et al., 2002; Mager et al., 2001; McQueen et al., 2002; Takahashi et al., 2004). Neben den Nagetieren ist das Pferd bis jetzt das einzige weitere Säugetier, in dem mehr als ein Ly49-Gen beschrieben wurde (Takahashi et al., 2004). Ly49 in den Nagetieren und im Pferd hat sich jedoch höchstwahrscheinlich unabhängig voneinander vervielfacht (Abb. 38) (Takahashi et al., 2004). Mensch, Mantelpavian und

Orang-Utan besitzen eine ITIM-ähnliche Sequenz in der Zytoplasmaregion, welche einen Glutamatrest an Position Y+2 aufweist und damit nicht der Konsensussequenz entspricht (Abb. 32) (Mager et al., 2001). Ly49L des Mausmakis sowie Ly49 der weiter entfernt verwandten Säugetiere (Anderson et al., 2001; Gagnier et al., 2003; Takahashi et al., 2004) weisen dagegen ein ITIM auf, welches der Konsensussequenz entspricht. Von der Ly49L-Sequenz des Varis ist die Position Y+2 des ITIM nicht bekannt.

Darüber hinaus sind alle Cysteinreste, die interchenare Disulfidbrücken in Ly49 der Maus ausbilden (Tormo et al., 1999) und damit für die Struktur des Proteins von Bedeutung sind, in den Sequenzen der Lemuren konserviert. Somit besteht die Möglichkeit, dass Ly49L des Mausmakis und vielleicht auch des Varis funktionelle inhibierende Rezeptoren darstellen und äquivalent zu den Ly49-Rezeptoren der Maus MHC-Klasse-I-Moleküle binden.

Im Mausmaki scheint Ly49L eher polymorph zu sein. So wurde eine hohe Anzahl von sieben nicht-synonymen Austausch in zwei Allelen von zwei Mausmaki-Individuen gefunden. Eine Analyse der Ly49L-CTLD in 12 weiteren Mausmaki-Individuen von Frau Petersen ergab eine schwach positive Selektion der CTLD (Petersen, 2007). Im Vari zeigten sich dagegen zwei verschiedene Allele eines Individuums mit nur einem synonymen Austausch als wenig polymorph.

#### **4.2.2 Alternatives Spleißen der NKC-Gene in Lemuren**

Neben den bereits erwähnten alternativen Spleißvarianten von CD94-3 und NKG2-5 des Mausmakis, die sich in der Länge des für die Halsregion kodierenden Exons 3 unterscheiden, wurden weitere Spleißvarianten der NKC-Gene in den Lemuren identifiziert (Abb. 23, Abb. 28). Für CD94-1 und CD94-2 des Mausmakis, sowie CD94-2 des Varis wurde die CD94B-Variante (Shum et al., 2002) gefunden, die für eine zusätzliche Aminosäure Glutamin in der CTLD kodiert. Mögliche Funktionen dieser Variante wurden bereits für CD94B des Weißbüschelaffen beschrieben (4.1.3). Eine Isoform, die ebenfalls schon für den Weißbüschelaffen beschrieben wurde und auch im Mausmaki auftritt, ist die NKG2D-Isoform ohne Transmembranregion. Isoformen, denen die Transmembranregion fehlt, sowie ein Teil der Zytoplasmaregion, wurden auch für CD94-1 und CD94-2 des Mausmakis gefunden. Isoformen ohne Halsregion liegen im Weißbüschelaffen für CD94 vor und wurden im Mausmaki für NKG2-2 und im Vari für NKG2-1, -2 und -5 identifiziert. Diese Isoformen entsprechen der NKG2B-Variante, die bereits im Menschen, Schimpansen und Rhesusaffen

beschrieben wurde (LaBonte et al., 2001; Shum et al., 2002). In anderen Spleißvarianten der NKC-Gene des Mausmakis und des Varis führen, wie dies ebenfalls für Spleißvarianten des Weißbüschelaffen beschrieben wurde, Leserasterverschiebungen zum frühzeitigen Abbruch der Translation, so dass die entsprechenden Proteine keine vollständige CTLD aufweisen. In einigen Fällen fehlen auch noch weitere Regionen. Für diese Varianten wären höchstens regulatorische Funktionen denkbar, da sie voraussichtlich nicht in der Lage sind, Liganden zu binden.

Die Vielfalt der Spleißvarianten und auch die Konserviertheit zwischen verschiedenen Spezies spricht dafür, dass sie von essentieller funktioneller Bedeutung sind, was für einige Spleißvarianten, wie CD94-T4 und NKG2B im Menschen (Lieto et al., 2006), bereits nachgewiesen wurde. Auch die starke Regulation der Expression der Spleißvarianten, wie sie im Rhesusaffen gezeigt wurde (LaBonte und Letvin, 2004), unterstützt diese Annahme und erklärt möglicherweise auch, dass in den verschiedenen Spezies nicht immer die gleichen Spleißvarianten exprimiert werden.

### **4.3 CD94 im Potto und im Koboldmaki**

Mittels Primern, die an konservierte Bereiche von Exon 4 bis Exon 5 des CD94-Gens binden, konnten aus genomischer DNA des Pottos acht und aus genomischer DNA des Koboldmakis zehn verschiedene Sequenzen amplifiziert werden. Einige Sequenzen zeigten Identitäten von mehr als 99 % auf und wurden verschiedenen Allelen eines Gens zugeordnet (3.6, 3.7). Somit konnten im Potto fünf und im Koboldmaki sechs bis sieben potentielle CD94-Gene nachgewiesen werden. Es muss beachtet werden, dass mit den verwendeten Primern möglicherweise nicht alle Sequenzen in den Spezies amplifiziert werden konnten oder verschiedene Gene im amplifizierten Bereich (insbesondere bei den kürzeren Amplifikaten) identisch sind, so dass die Anzahl der CD94-Gene noch höher sein könnte. Auch gibt die Anzahl der potentiellen Gene keine Auskunft über ihre Funktionalität. So stellt die CD94g-Sequenz des Koboldmakis, aufgrund eines Stopkodons in Exon 4, welches sich im Leserahmen befindet, ein potentielles Pseudogen dar.

Die große Anzahl der identifizierten CD94-Sequenzen in beiden Spezies lässt jedoch annehmen, dass diese Spezies möglicherweise ein noch diverseres CD94/NKG2-Rezeptor-Repertoire aufweisen als die Lemuren. In Bezug auf NKG2 liegen bislang keine Daten in

diesen Spezies vor. Damit ist die Vervielfachung der CD94-Gene nicht auf die madagassischen Feuchtnasenaffen beschränkt, sondern existiert auch im afrikanischen Potto, einem weiteren Feuchtnasenaffen der Infraordnung Loriartige, sowie im Philippinen-Koboldmaki, der zu den Trockennasenaffen, Infraordnung Koboldmakis, zählt. Die Tatsache, dass mehrere CD94-Gene sowohl in drei Vertretern der Feuchtnasenaffen als auch in einem Vertreter der Trockennasenaffen auftreten, legt zunächst die Vermutung nahe, dass CD94 bereits am Ursprung der Primaten vervielfacht war und in den höheren Primaten auf ein Gen reduziert wurde. Gegen diese Theorie spricht allerdings, dass alle CD94-Sequenzen des Koboldmakis in Intron 4 ein Alu-Element an der gleichen Position besitzen (Abb. 40), welches an entsprechender Position der Potto- und Mausmaki-Sequenzen fehlt. Vier Sequenzen des Pottos besitzen ebenfalls Alu-Elemente in Intron 4, die sich allerdings an anderer Position als im Koboldmaki befinden. Dieser Befund spricht dafür, dass sich CD94 in der Linie der Koboldmakis und der Feuchtnasenaffen unabhängig voneinander vervielfacht hat und das Alu-Element in Intron 4 des Philippinen-Koboldmakis in ein ursprüngliches CD94-Gen der Koboldmakis integriert ist, welches sich im Laufe der Evolution dupliziert hat. Auch die phylogenetische Analyse der Exon 4-Sequenzen unterstützt diese Theorie, indem die Sequenzen des Koboldmakis mit einem hohen Bootstrap-Wert eine monophyletische Gruppe im Stammbaum bilden (Abb. 41). Allerdings könnte hier auch Homogenisierung, wie sie für die NKG2-CTLD beschrieben wurde (4.2.1.1), eine Rolle spielen.

Ferner stellt CD94 in den nächsten Verwandten der Primaten, der Maus (Vance et al., 1997) und der Ratte (Dissen et al., 1997), ein einzelnes Gen dar. In einer weiter entfernt verwandten Spezies, dem Rind, ist CD94 allerdings wahrscheinlich auch dupliziert (Birch und Ellis, 2007).

#### **4.4 Evolution der MHC-Klasse-I-spezifischen NK-Zell-Rezeptoren in Säugetieren**

Die Ursache für die unabhängige Selektion mehrerer CD94-Gene und ein damit potentiell verbundenes diverses CD94/NKG2-Rezeptor-Repertoire in verschiedenen Spezies erfolgte möglicherweise als Anpassung an polymorphe Liganden wie es die klassischen MHC-Klasse-I-Moleküle darstellen. Während in den höheren Primaten die Bindung klassischer MHC-Klasse-I-Moleküle von den KIR erfolgt (Hao und Nei, 2005), hat in den Nagetieren die Ly49-Rezeptorfamilie diese Funktion übernommen (Hao und Nei, 2004). Im Fall der KIR-Moleküle werden zwei ursprüngliche Linien unterschieden: 3DL und 3DX (Guethlein et al., 2007). Die

polymorphen KIR der höheren Primaten stammen von der 3DL-Linie ab, während KIR3DX dort ein einzelnes Gen darstellt (Guethlein et al., 2007). Neben den höheren Primaten ist das Rind bisher das einzige Säugetier in dem ebenfalls polymorphe KIR auftreten (Dobromylskyj und Ellis, 2007; Storset et al., 2003). Allerdings stammen die polymorphen KIR des Rindes von der 3DX-Linie ab, während die 3DL-Linie durch ein Gen und ein verwandtes Genfragment repräsentiert wird (Guethlein et al., 2007). Damit haben sich die KIR zweimal unabhängig voneinander vervielfacht. Dasselbe wurde für Ly49 bereits in Nagetieren und im Pferd beschrieben (Takahashi et al., 2004). Somit erscheint es durchaus plausibel, dass in den Feuchtnasenaffen, in denen weder polymorphe KIR noch polymorphe Ly49-Rezeptoren auftreten, es zur Vervielfachung der CD94- und NKG2-Gene kam, die äquivalente Funktionen übernahmen.

#### **4.5 Ausblick**

Die in dieser Arbeit durchgeführte Untersuchung der NKC-Region in verschiedenen Primatenspezies liefert neue Erkenntnisse über die Evolution der MHC-Klasse-I-spezifischen NK-Zell-Rezeptoren und bildet die Grundlage für weiterführende funktionelle Analysen dieser Rezeptoren.

Die Diversität der CD94/NKG2-Rezeptoren in den Lemuren legt die Vermutung nahe, dass diese Rezeptoren polymorphe Liganden wie die klassischen MHC-Klasse-I-Moleküle binden und damit äquivalente Funktionen zu den KIR der höheren Primaten und den Ly49-Rezeptoren der Nagetiere übernehmen. Dies wird zurzeit experimentell in Interaktionsstudien zwischen den CD94/NKG2-Rezeptoren und den klassischen MHC-Klasse-I-Molekülen des Mausmakis überprüft.

Darüber hinaus wäre es interessant zu untersuchen, ob die NKG2-Gene neben den CD94-Genen in den Spezies Potto und Philippinen-Koboldmaki ebenfalls vervielfacht sind und ob andere Säugetiere wie beispielsweise das Schwein oder die Katze, die nur ein KIR- und ein Ly49-Gen besitzen (Gagnier et al., 2003; Guethlein et al., 2007; Sambrook et al., 2006b), mehrere CD94- und NKG2-Gene aufweisen.

Weiterhin stellt sich die Frage, welche Signalfunktionen die einzelnen Rezeptoren der Lemuren ausüben, aufgrund ihrer unterschiedlichen Kombinationen an Signalmotiven. Die

---

erworbenen Erkenntnisse könnten auf andere Rezeptoren mit ähnlichen Kombinationen an Signalmotiven übertragen werden.

Einen weiteren interessanten Punkt stellt die Diversität der Halsregion in den CD94/NKG2-Rezeptoren der Lemuren dar. Hier könnte untersucht werden, welche funktionellen Konsequenzen der Austausch dieser Region zwischen zwei verschiedenen Rezeptoren hat und damit neue Erkenntnisse über die Funktion der Halsregion liefern.

In Bezug auf die identifizierten SNP-Positionen in den CD94- und NKG2-Genen könnte analysiert werden, ob sich verschiedene Allele in der Ligandenbindung oder Heterodimerisierung unterscheiden.

## 5 Zusammenfassung

MHC-Klasse-I-spezifische NK-Zell-Rezeptoren sind im Leukozyten Rezeptor Komplex (LRC) und im Natürlichen Killer Komplex (NKC) kodiert. Im Rahmen dieser Arbeit wurde die genomische Organisation des CD94-Ly49L-Intervalls der NKC-Region in einem Neuweltaffen, dem Weißbüschelaffen (*Callithrix jacchus*), sowie einem Lemuren, dem Grauen Mausmaki (*Microcebus murinus*), über *Screening* von BAC-Banken und Sequenzanalyse von BAC-Contigs untersucht.

Das CD94-Ly49L-Intervall im Weißbüschelaffen ist mit 171 kb ~ 40 % kleiner als im Menschen. Es wurden orthologe Gene zu allen humanen NKC-Genen gefunden, mit Ausnahme des Gens NKG2CE, welches äquidistant zu den humanen Genen NKG2C und NKG2E ist. NKG2F und Ly49L stellen Pseudogene dar.

Expressionsanalysen der NKC-Gene in neun Weißbüschelaffen-Individuen lieferten einen mäßigen Grad an allelischen Polymorphismen. Alternative Spleißprodukte wurden für CD94, NKG2D und NKG2A nachgewiesen. Einige Spleißprodukte wie CD94B und Spleißvarianten, die für Rezeptoren ohne Transmembran- oder Halsregion kodieren, sind auch in höheren Primaten konserviert.

Die Analyse der 5'-UTR über 5'-RACE-PCR ergab, dass für NKG2A des Weißbüschelaffen verschiedene Transkripte mit potentiell unterschiedlichen Translationstartpunkten existieren. Die entsprechenden Proteine unterscheiden sich in der Länge ihrer Zytoplasmaregion um 18 Aminosäuren.

Im Grauen Mausmaki ist das CD94-Ly49L-Intervall mit 489 kb ~ 45 % größer als im Menschen. Die CD94- und NKG2-Gene sind vervielfacht und nicht-ortholog zu den humanen CD94- und NKG2-Genen. Es treten insgesamt drei CD94- (CD94-(1-3)) und acht NKG2-Gene (NKG2-(1-8)) auf. NKG2-4, -6 und -7 repräsentieren Pseudogene. Die Gene NKG2D und Ly49L sind ortholog zu den entsprechenden Genen des Menschen.

Expressionsanalysen der NKC-Gene wurden im Mausmaki und einem weiteren Lemuren, dem Schwarzweißen Vari (*Varecia variegata variegata*), durchgeführt. Neben einer NKG2D- und einer Ly49L-Sequenz wurden im Vari drei CD94- (CD94-(1-3)) und acht NKG2-Sequenzen (NKG2-(1-8)) nachgewiesen. Phylogenetische Analysen zeigten jedoch keine orthologen

Beziehungen zwischen einzelnen CD94- und NKG2-Sequenzen des Mausmakis und des Varis. Ly49L der Lemuren stellt einen potentiell funktionellen inhibierenden Rezeptor dar.

Die NKC-Gene des Mausmakis zeigen einen deutlich höheren Grad an allelischen Polymorphismen als im Menschen. Hier wurden die kompletten kodierenden Sequenzen in zwei Individuen pro Gen und die C-Typ Lektin-ähnlichen Domänen von CD94 in 46 verschiedenen Individuen untersucht.

Im Mausmaki und im Vari wurden ähnliche alternative Spleißprodukte wie im Weißbüschelaffen gefunden. Betroffen von alternativen Spleißvorgängen ist häufig die Halsregion, die zudem in den CD94- und NKG2-Sequenzen sehr divers ist, was eine wichtige funktionelle Bedeutung dieser Region indiziert.

NKG2D der Lemuren besitzt analog zur NKG2D-S-Isoform der Maus eine um 14 Aminosäuren verkürzte Zytoplasmaregion im Vergleich zu NKG2D der höheren Primaten einschließlich des Weißbüschelaffen.

Im Gegensatz zu den NKG2-Sequenzen der höheren Primaten, die zwei ITIM in der Zytoplasmaregion (inhibierend) oder eine positiv geladene Aminosäure in der Transmembranregion (aktivierend) aufweisen, besitzen die meisten NKG2-Sequenzen der Lemuren eine positiv geladene Aminosäure in der Transmembranregion sowie zusätzlich ein ITIM und/oder ein YxxM-Motiv in der Zytoplasmaregion. Hierdurch besteht die Möglichkeit, dass ein einzelner CD94/NKG2-Rezeptor der Lemuren verschiedene Signalwege aktivieren kann.

Ob CD94 auch in Primatenspezies außerhalb Madagaskars dupliziert ist, wurde durch Amplifikation von Exon 4-5 im afrikanischen Potto (*Perodicticus potto ibeanus*), einem weiteren Feuchtnasenaffen sowie in einem ursprünglichen Trockennasenaffen, dem Philippinen-Koboldmaki (*Tarsius syrichta*), untersucht. Mit verschiedenen Primerkombinationen konnten aus genomischer DNA eines Pottos acht und aus genomischer DNA eines Koboldmakis zehn verschiedene CD94-Sequenzen amplifiziert werden. Sequenzvergleiche ergaben im Potto fünf und im Koboldmaki sechs bis sieben potentielle CD94-Gene. Da alle CD94-Sequenzen des Koboldmakis an derselben Position in Intron 4 ein Alu-Element aufweisen, welches an entsprechenden Positionen im Potto und im Mausmaki fehlt, hat sich CD94 in den Feuchtnasenaffen und in der Linie der Koboldmakis wahrscheinlich unabhängig voneinander vervielfacht.

## 6 Literatur

- Alvarez-Errico D, Sayos J, Lopez-Botet M. 2007. The IREM-1 (CD300f) inhibitory receptor associates with the p85alpha subunit of phosphoinositide 3-kinase. *J Immunol* 178(2):808-816.
- Anderson SK, Dewar K, Goulet ML, Leveque G, Makrigiannis AP. 2005. Complete elucidation of a minimal class I MHC natural killer cell receptor haplotype. *Genes Immun* 6(6):481-492.
- Anderson SK, Ortaldo JR, McVicar DW. 2001. The ever-expanding Ly49 gene family: repertoire and signaling. *Immunol Rev* 181:79-89.
- Arase H, Mocarski ES, Campbell AE, Hill AB, Lanier LL. 2002. Direct recognition of cytomegalovirus by activating and inhibitory NK cell receptors. *Science* 296(5571):1323-1326.
- Bakker AB, Wu J, Phillips JH, Lanier LL. 2000. NK cell activation: distinct stimulatory pathways counterbalancing inhibitory signals. *Hum Immunol* 61(1):18-27.
- Barrow AD, Trowsdale J. 2006. You say ITAM and I say ITIM, let's call the whole thing off: the ambiguity of immunoreceptor signalling. *Eur J Immunol* 36(7):1646-1653.
- Barten R, Trowsdale J. 1999. The human Ly-49L gene. *Immunogenetics* 49(7-8):731-734.
- Bauer S, Groh V, Wu J, Steinle A, Phillips JH, Lanier LL, Spies T. 1999. Activation of NK cells and T cells by NKG2D, a receptor for stress-inducible MICA. *Science* 285(5428):727-729.
- Beaudoing E, Freier S, Wyatt JR, Claverie JM, Gautheret D. 2000. Patterns of variant polyadenylation signal usage in human genes. *Genome Res* 10(7):1001-1010.
- Bellon T, Heredia AB, Llano M, Minguela A, Rodriguez A, Lopez-Botet M, Aparicio P. 1999. Triggering of effector functions on a CD8+ T cell clone upon the aggregation of an activatory CD94/kp39 heterodimer. *J Immunol* 162(7):3996-4002.
- Berg SF, Dissen E, Westgaard IH, Fossum S. 1998. Two genes in the rat homologous to human NKG2. *Eur J Immunol* 28(2):444-450.
- Biassoni R, Cantoni C, Falco M, Verdiani S, Bottino C, Vitale M, Conte R, Poggi A, Moretta A, Moretta L. 1996. The human leukocyte antigen (HLA)-C-specific "activatory" or "inhibitory" natural killer cell receptors display highly homologous extracellular domains but differ in their transmembrane and intracytoplasmic portions. *J Exp Med* 183(2):645-650.
- Billadeau DD, Leibson PJ. 2002. ITAMs versus ITIMs: striking a balance during cell regulation. *J Clin Invest* 109(2):161-168.

- Billadeau DD, Upshaw JL, Schoon RA, Dick CJ, Leibson PJ. 2003. NKG2D-DAP10 triggers human NK cell-mediated killing via a Syk-independent regulatory pathway. *Nat Immunol* 4(6):557-564.
- Birch J, Ellis SA. 2007. Complexity in the cattle CD94/NKG2 gene families. *Immunogenetics* 59(4):273-280.
- Biron CA, Nguyen KB, Pien GC, Cousens LP, Salazar-Mather TP. 1999. Natural killer cells in antiviral defense: function and regulation by innate cytokines. *Annu Rev Immunol* 17:189-220.
- Borrego F, Kabat J, Kim DK, Lieto L, Maasho K, Pena J, Solana R, Coligan JE. 2002. Structure and function of major histocompatibility complex (MHC) class I specific receptors expressed on human natural killer (NK) cells. *Mol Immunol* 38(9):637-660.
- Boyington JC, Raiz AN, Brooks AG, Patamawenu A, Sun PD. 2000. Reconstitution of bacterial expressed human CD94: the importance of the stem region for dimer formation. *Protein Expr Purif* 18(2):235-241.
- Boyington JC, Riaz AN, Patamawenu A, Coligan JE, Brooks AG, Sun PD. 1999. Structure of CD94 reveals a novel C-type lectin fold: implications for the NK cell-associated CD94/NKG2 receptors. *Immunity* 10(1):75-82.
- Braud VM, Allan DS, O'Callaghan CA, Soderstrom K, D'Andrea A, Ogg GS, Lazetic S, Young NT, Bell JI, Phillips JH, Lanier LL, McMichael AJ. 1998. HLA-E binds to natural killer cell receptors CD94/NKG2A, B and C. *Nature* 391(6669):795-799.
- Brennan J, Mahon G, Mager DL, Jefferies WA, Takei F. 1996. Recognition of class I major histocompatibility complex molecules by Ly-49: specificities and domain interactions. *J Exp Med* 183(4):1553-1559.
- Burshtyn DN, Scharenberg AM, Wagtmann N, Rajagopalan S, Berrada K, Yi T, Kinet JP, Long EO. 1996. Recruitment of tyrosine phosphatase HCP by the killer cell inhibitor receptor. *Immunity* 4(1):77-85.
- Campbell KS, Yusa S, Kikuchi-Maki A, Catina TL. 2004. NKp44 triggers NK cell activation through DAP12 association that is not influenced by a putative cytoplasmic inhibitory sequence. *J Immunol* 172(2):899-906.
- Cantoni C, Biassoni R, Pende D, Sivori S, Accame L, Pareti L, Semenzato G, Moretta L, Moretta A, Bottino C. 1998. The activating form of CD94 receptor complex: CD94 covalently associates with the Kp39 protein that represents the product of the NKG2-C gene. *Eur J Immunol* 28(1):327-338.
- Carayannopoulos LN, Naidenko OV, Fremont DH, Yokoyama WM. 2002. Cutting edge: murine UL16-binding protein-like transcript 1: a newly described transcript encoding a high-affinity ligand for murine NKG2D. *J Immunol* 169(8):4079-4083.

- Carretero M, Cantoni C, Bellon T, Bottino C, Biassoni R, Rodriguez A, Perez-Villar JJ, Moretta L, Moretta A, Lopez-Botet M. 1997. The CD94 and NKG2-A C-type lectins covalently assemble to form a natural killer cell inhibitory receptor for HLA class I molecules. *Eur J Immunol* 27(2):563-567.
- Cerwenka A, Bakker AB, McClanahan T, Wagner J, Wu J, Phillips JH, Lanier LL. 2000. Retinoic acid early inducible genes define a ligand family for the activating NKG2D receptor in mice. *Immunity* 12(6):721-727.
- Cerwenka A, Lanier LL. 2001. Natural killer cells, viruses and cancer. *Nat Rev Immunol* 1(1):41-49.
- Chalupny NJ, Sutherland CL, Lawrence WA, Rein-Weston A, Cosman D. 2003. ULBP4 is a novel ligand for human NKG2D. *Biochem Biophys Res Commun* 305(1):129-135.
- Chang C, Dietrich J, Harpur AG, Lindquist JA, Haude A, Loke YW, King A, Colonna M, Trowsdale J, Wilson MJ. 1999. Cutting edge: KAP10, a novel transmembrane adapter protein genetically linked to DAP12 but with unique signaling properties. *J Immunol* 163(9):4651-4654.
- Chang C, Rodriguez A, Carretero M, Lopez-Botet M, Phillips JH, Lanier LL. 1995. Molecular characterization of human CD94: a type II membrane glycoprotein related to the C-type lectin superfamily. *Eur J Immunol* 25(9):2433-2437.
- Colonna M, Navarro F, Bellon T, Llano M, Garcia P, Samaridis J, Angman L, Cella M, Lopez-Botet M. 1997. A common inhibitory receptor for major histocompatibility complex class I molecules on human lymphoid and myelomonocytic cells. *J Exp Med* 186(11):1809-1818.
- Colucci F, Di Santo JP, Leibson PJ. 2002. Natural killer cell activation in mice and men: different triggers for similar weapons? *Nat Immunol* 3(9):807-813.
- Cosman D, Mullberg J, Sutherland CL, Chin W, Armitage R, Fanslow W, Kubin M, Chalupny NJ. 2001. ULBPs, novel MHC class I-related molecules, bind to CMV glycoprotein UL16 and stimulate NK cytotoxicity through the NKG2D receptor. *Immunity* 14(2):123-133.
- Dam J, Guan R, Natarajan K, Dimasi N, Chlewicki LK, Kranz DM, Schuck P, Margulies DH, Mariuzza RA. 2003. Variable MHC class I engagement by Ly49 natural killer cell receptors demonstrated by the crystal structure of Ly49C bound to H-2K(b). *Nat Immunol* 4(12):1213-1222.
- Deane JA, Fruman DA. 2004. Phosphoinositide 3-kinase: diverse roles in immune cell activation. *Annu Rev Immunol* 22:563-598.
- Dennis G, Jr., Kubagawa H, Cooper MD. 2000. Paired Ig-like receptor homologs in birds and mammals share a common ancestor with mammalian Fc receptors. *Proc Natl Acad Sci U S A* 97(24):13245-13250.

- Diefenbach A, Jamieson AM, Liu SD, Shastri N, Raulet DH. 2000. Ligands for the murine NKG2D receptor: expression by tumor cells and activation of NK cells and macrophages. *Nat Immunol* 1(2):119-126.
- Diefenbach A, Tomasello E, Lucas M, Jamieson AM, Hsia JK, Vivier E, Raulet DH. 2002. Selective associations with signaling proteins determine stimulatory versus costimulatory activity of NKG2D. *Nat Immunol* 3(12):1142-1149.
- Digby LJ, Ferrari SF, Saltzman W. 2007. Callitrichines: the role of competition in cooperatively breeding species. *Primates in Perspective*.
- Dimasi N, Biassoni R. 2005. Structural and functional aspects of the Ly49 natural killer cell receptors. *Immunol Cell Biol* 83(1):1-8.
- Dissen E, Berg SF, Westgaard IH, Fossum S. 1997. Molecular characterization of a gene in the rat homologous to human CD94. *Eur J Immunol* 27(8):2080-2086.
- Dobromylskyj M, Ellis S. 2007. Complexity in cattle KIR genes: transcription and genome analysis. *Immunogenetics* 59(6):463-472.
- Dover G. 1982. Molecular drive: a cohesive mode of species evolution. *Nature* 299(5879):111-117.
- Eichler EE, DeJong PJ. 2002. Biomedical applications and studies of molecular evolution: a proposal for a primate genomic library resource. *Genome Res* 12(5):673-678.
- Faure M, Long EO. 2002. KIR2DL4 (CD158d), an NK cell-activating receptor with inhibitory potential. *J Immunol* 168(12):6208-6214.
- Feinberg AP, Vogelstein B. 1983. A technique for radiolabeling DNA restriction endonuclease fragments to high specific activity. *Anal Biochem* 132(1):6-13.
- Felsenstein J. 1985. Confidence Limits on Phylogenies: An Approach Using the Bootstrap. *Evolution* 39(4):783-791.
- Feng J, Call ME, Wucherpfennig KW. 2006. The assembly of diverse immune receptors is focused on a polar membrane-embedded interaction site. *PLoS Biol* 4(5):e142.
- Flügge P, Zimmermann E, Hughes AL, Gunther E, Walter L. 2002. Characterization and phylogenetic relationship of prosimian MHC class I genes. *J Mol Evol* 55(6):768-775.
- Fry AM, Lanier LL, Weiss A. 1996. Phosphotyrosines in the killer cell inhibitory receptor motif of NKB1 are required for negative signaling and for association with protein tyrosine phosphatase 1C. *J Exp Med* 184(1):295-300.
- Furukawa H, Yabe T, Watanabe K, Miyamoto R, Akaza T, Tadokoro K, Tohma S, Inoue T, Yamamoto K, Juji T. 1998. An alternatively spliced form of the human CD94 gene. *Immunogenetics* 48(1):87-88.

- Gagnier L, Wilhelm BT, Mager DL. 2003. Ly49 genes in non-rodent mammals. *Immunogenetics* 55(2):109-115.
- Garcia CA, Robinson J, Guethlein LA, Parham P, Madrigal JA, Marsh SG. 2003. Human KIR sequences 2003. *Immunogenetics* 55(4):227-239.
- Garcia-Lora A, Algarra I, Garrido F. 2003. MHC class I antigens, immune surveillance, and tumor immune escape. *J Cell Physiol* 195(3):346-355.
- Gasser S, Orsulic S, Brown EJ, Raulet DH. 2005. The DNA damage pathway regulates innate immune system ligands of the NKG2D receptor. *Nature* 436(7054):1186-1190.
- Geissmann T. 2003. *Vergleichende Primatologie*. Berlin, Heidelberg: Springer-Verlag.
- Gilfillan S, Ho EL, Cella M, Yokoyama WM, Colonna M. 2002. NKG2D recruits two distinct adapters to trigger NK cell activation and costimulation. *Nat Immunol* 3(12):1150-1155.
- Glienke J, Sobanov Y, Brostjan C, Steffens C, Nguyen C, Lehrach H, Hofer E, Francis F. 1998. The genomic organization of NKG2C, E, F, and D receptor genes in the human natural killer gene complex. *Immunogenetics* 48(3):163-173.
- Groh V, Bahram S, Bauer S, Herman A, Beauchamp M, Spies T. 1996. Cell stress-regulated human major histocompatibility complex class I gene expressed in gastrointestinal epithelium. *Proc Natl Acad Sci U S A* 93(22):12445-12450.
- Groh V, Rhinehart R, Randolph-Habecker J, Topp MS, Riddell SR, Spies T. 2001. Costimulation of CD8 $\alpha$  T cells by NKG2D via engagement by MIC induced on virus-infected cells. *Nat Immunol* 2(3):255-260.
- Groh V, Rhinehart R, Secrist H, Bauer S, Grabstein KH, Spies T. 1999. Broad tumor-associated expression and recognition by tumor-derived gamma delta T cells of MICA and MICB. *Proc Natl Acad Sci U S A* 96(12):6879-6884.
- Guethlein LA, Abi-Rached L, Hammond JA, Parham P. 2007. The expanded cattle KIR genes are orthologous to the conserved single-copy KIR3DX1 gene of primates. *Immunogenetics* 59(6):517-522.
- Guethlein LA, Flodin LR, Adams EJ, Parham P. 2002. NK cell receptors of the orangutan (*Pongo pygmaeus*): a pivotal species for tracking the coevolution of killer cell Ig-like receptors with MHC-C. *J Immunol* 169(1):220-229.
- Haig D. 1999. What is a marmoset? *Am J Primatol* 49(4):285-296.
- Hanke T, Takizawa H, McMahon CW, Busch DH, Pamer EG, Miller JD, Altman JD, Liu Y, Cado D, Lemonnier FA, Bjorkman PJ, Raulet DH. 1999. Direct assessment of MHC class I binding by seven Ly49 inhibitory NK cell receptors. *Immunity* 11(1):67-77.

- Hao L, Nei M. 2004. Genomic organization and evolutionary analysis of Ly49 genes encoding the rodent natural killer cell receptors: rapid evolution by repeated gene duplication. *Immunogenetics* 56(5):343-354.
- Hao L, Nei M. 2005. Rapid expansion of killer cell immunoglobulin-like receptor genes in primates and their coevolution with MHC Class I genes. *Gene* 347(2):149-159.
- Held W, Chalifour A, Coudert JD. 2005. Regulation of natural killer cell function: a role for the NK cell's own MHC class I molecules. *Med Microbiol Immunol* 194(4):169-174.
- Herberman RB, Nunn ME, Holden HT, Lavrin DH. 1975a. Natural cytotoxic reactivity of mouse lymphoid cells against syngeneic and allogeneic tumors. II. Characterization of effector cells. *Int J Cancer* 16(2):230-239.
- Herberman RB, Nunn ME, Lavrin DH. 1975b. Natural cytotoxic reactivity of mouse lymphoid cells against syngeneic acid allogeneic tumors. I. Distribution of reactivity and specificity. *Int J Cancer* 16(2):216-229.
- Hershberger KL, Kurian J, Korber BT, Letvin NL. 2005. Killer cell immunoglobulin-like receptors (KIR) of the African-origin sabaues monkey: evidence for recombination events in the evolution of KIR. *Eur J Immunol* 35(3):922-935.
- Hershberger KL, Shyam R, Miura A, Letvin NL. 2001. Diversity of the killer cell Ig-like receptors of rhesus monkeys. *J Immunol* 166(7):4380-4390.
- Hikami K, Tsuchiya N, Yabe T, Tokunaga K. 2003. Variations of human killer cell lectin-like receptors: common occurrence of NKG2-C deletion in the general population. *Genes Immun* 4(2):160-167.
- Ho EL, Heusel JW, Brown MG, Matsumoto K, Scalzo AA, Yokoyama WM. 1998. Murine Nkg2d and Cd94 are clustered within the natural killer complex and are expressed independently in natural killer cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 95(11):6320-6325.
- Hoelsbrekken SE, Nylenna O, Saether PC, Slettedal IO, Ryan JC, Fossum S, Dissen E. 2003. Cutting edge: molecular cloning of a killer cell Ig-like receptor in the mouse and rat. *J Immunol* 170(5):2259-2263.
- Houchins JP, Lanier LL, Niemi EC, Phillips JH, Ryan JC. 1997. Natural killer cell cytolytic activity is inhibited by NKG2-A and activated by NKG2-C. *J Immunol* 158(8):3603-3609.
- Houchins JP, Yabe T, McSherry C, Bach FH. 1991. DNA sequence analysis of NKG2, a family of related cDNA clones encoding type II integral membrane proteins on human natural killer cells. *J Exp Med* 173(4):1017-1020.
- Jones DT, Taylor WR, Thornton JM. 1992. The rapid generation of mutation data matrices from protein sequences. *Comput Appl Biosci* 8(3):275-282.

- Kabat J, Borrego F, Brooks A, Coligan JE. 2002. Role that each NKG2A immunoreceptor tyrosine-based inhibitory motif plays in mediating the human CD94/NKG2A inhibitory signal. *J Immunol* 169(4):1948-1958.
- Kaiser BK, Barahmand-Pour F, Paulsene W, Medley S, Geraghty DE, Strong RK. 2005. Interactions between NKG2x immunoreceptors and HLA-E ligands display overlapping affinities and thermodynamics. *J Immunol* 174(5):2878-2884.
- Kappeler PM. 2000. Lemur origins: rafting by groups of hibernators? *Folia Primatol (Basel)* 71(6):422-425.
- Karlhofer FM, Ribaldo RK, Yokoyama WM. 1992. MHC class I alloantigen specificity of Ly-49+ IL-2-activated natural killer cells. *Nature* 358(6381):66-70.
- Kärre K, Ljunggren HG, Piontek G, Kiessling R. 1986. Selective rejection of H-2-deficient lymphoma variants suggests alternative immune defence strategy. *Nature* 319(6055):675-678.
- Kelley J, Walter L, Trowsdale J. 2005. Comparative genomics of natural killer cell receptor gene clusters. *PLoS Genet* 1(2):129-139.
- Khakoo SI, Rajalingam R, Shum BP, Weidenbach K, Flodin L, Muir DG, Canavez F, Cooper SL, Valiante NM, Lanier LL, Parham P. 2000. Rapid evolution of NK cell receptor systems demonstrated by comparison of chimpanzees and humans. *Immunity* 12(6):687-698.
- Kiessling R, Klein E, Pross H, Wigzell H. 1975a. "Natural" killer cells in the mouse. II. Cytotoxic cells with specificity for mouse Moloney leukemia cells. Characteristics of the killer cell. *Eur J Immunol* 5(2):117-121.
- Kiessling R, Klein E, Wigzell H. 1975b. "Natural" killer cells in the mouse. I. Cytotoxic cells with specificity for mouse Moloney leukemia cells. Specificity and distribution according to genotype. *Eur J Immunol* 5(2):112-117.
- Kikuchi-Maki A, Catina TL, Campbell KS. 2005. Cutting edge: KIR2DL4 transduces signals into human NK cells through association with the Fc receptor gamma protein. *J Immunol* 174(7):3859-3863.
- Kikuchi-Maki A, Yusa S, Catina TL, Campbell KS. 2003. KIR2DL4 is an IL-2-regulated NK cell receptor that exhibits limited expression in humans but triggers strong IFN-gamma production. *J Immunol* 171(7):3415-3425.
- Kim DK, Kabat J, Borrego F, Sanni TB, You CH, Coligan JE. 2004. Human NKG2F is expressed and can associate with DAP12. *Mol Immunol* 41(1):53-62.
- Kimura M. 1980. A simple method for estimating evolutionary rates of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. *J Mol Evol* 16(2):111-120.

- Knapp LA, Cadavid LF, Watkins DI. 1998. The MHC-E locus is the most well conserved of all known primate class I histocompatibility genes. *J Immunol* 160(1):189-196.
- Kozak M. 1994. Determinants of translational fidelity and efficiency in vertebrate mRNAs. *Biochimie* 76(9):815-821.
- Kozak M. 1999. Initiation of translation in prokaryotes and eukaryotes. *Gene* 234(2):187-208.
- Kravitz RH, Grendell RL, Slukvin, II, Golos TG. 2001. Selective expression of NKG2-A and NKG2-C mRNAs and novel alternative splicing of 5' exons in rhesus monkey decidua. *Immunogenetics* 53(1):69-73.
- Kubin M, Cassiano L, Chalupny J, Chin W, Cosman D, Fanslow W, Mullberg J, Rousseau AM, Ulrich D, Armitage R. 2001. ULBP1, 2, 3: novel MHC class I-related molecules that bind to human cytomegalovirus glycoprotein UL16, activate NK cells. *Eur J Immunol* 31(5):1428-1437.
- LaBonte ML, Hershberger KL, Korber B, Letvin NL. 2001. The KIR and CD94/NKG2 families of molecules in the rhesus monkey. *Immunol Rev* 183:25-40.
- Labonte ML, Letvin NL. 2004. Variable NKG2 expression in the peripheral blood lymphocytes of rhesus monkeys. *Clin Exp Immunol* 138(2):205-212.
- LaBonte ML, Levy DB, Letvin NL. 2000. Characterization of rhesus monkey CD94/NKG2 family members and identification of novel transmembrane-deleted forms of NKG2-A, B, C, and D. *Immunogenetics* 51(6):496-499.
- LaBonte ML, Russo J, Freitas S, Keighley D. 2007. Variation in the ligand binding domains of the CD94/NKG2 family of receptors in the squirrel monkey. *Immunogenetics* 59(10):799-811.
- Langley KE, Villarejo MR, Fowler AV, Zamenhof PJ, Zabin I. 1975. Molecular basis of beta-galactosidase alpha-complementation. *Proc Natl Acad Sci U S A* 72(4):1254-1257.
- Lanier LL. 1997. Natural killer cell receptors and MHC class I interactions. *Curr Opin Immunol* 9(1):126-131.
- Lanier LL. 1998. NK cell receptors. *Annu Rev Immunol* 16:359-393.
- Lanier LL. 2003. Natural killer cell receptor signaling. *Curr Opin Immunol* 15(3):308-314.
- Lanier LL. 2005. NK cell recognition. *Annu Rev Immunol* 23:225-274.
- Lanier LL, Corliss B, Wu J, Phillips JH. 1998a. Association of DAP12 with activating CD94/NKG2C NK cell receptors. *Immunity* 8(6):693-701.
- Lanier LL, Corliss BC, Wu J, Leong C, Phillips JH. 1998b. Immunoreceptor DAP12 bearing a tyrosine-based activation motif is involved in activating NK cells. *Nature* 391(6668):703-707.

- Lazetic S, Chang C, Houchins JP, Lanier LL, Phillips JH. 1996. Human natural killer cell receptors involved in MHC class I recognition are disulfide-linked heterodimers of CD94 and NKG2 subunits. *J Immunol* 157(11):4741-4745.
- Li P, Morris DL, Willcox BE, Steinle A, Spies T, Strong RK. 2001. Complex structure of the activating immunoreceptor NKG2D and its MHC class I-like ligand MICA. *Nat Immunol* 2(5):443-451.
- Li W-H. 1997. *Molecular Evolution*. Sunderland: Sinauer Associates.
- Lieto LD, Borrego F, You CH, Coligan JE. 2003. Human CD94 gene expression: dual promoters differing in responsiveness to IL-2 or IL-15. *J Immunol* 171(10):5277-5286.
- Lieto LD, Maasho K, West D, Borrego F, Coligan JE. 2006. The human CD94 gene encodes multiple, expressible transcripts including a new partner of NKG2A/B. *Genes Immun* 7(1):36-43.
- Ljunggren HG, Kärre K. 1990. In search of the 'missing self': MHC molecules and NK cell recognition. *Immunol Today* 11(7):237-244.
- Llano M, Lee N, Navarro F, Garcia P, Albar JP, Geraghty DE, Lopez-Botet M. 1998. HLA-E-bound peptides influence recognition by inhibitory and triggering CD94/NKG2 receptors: preferential response to an HLA-G-derived nonamer. *Eur J Immunol* 28(9):2854-2863.
- Lohwasser S, Hande P, Mager DL, Takei F. 1999. Cloning of murine NKG2A, B and C: second family of C-type lectin receptors on murine NK cells. *Eur J Immunol* 29(3):755-761.
- MacDonald HR. 2005. NK cell tolerance: revisiting the central dogma. *Nat Immunol* 6(9):868-869.
- Madsen O, Scally M, Douady CJ, Kao DJ, DeBry RW, Adkins R, Amrine HM, Stanhope MJ, de Jong WW, Springer MS. 2001. Parallel adaptive radiations in two major clades of placental mammals. *Nature* 409(6820):610-614.
- Mager DL, McQueen KL, Wee V, Freeman JD. 2001. Evolution of natural killer cell receptors: coexistence of functional Ly49 and KIR genes in baboons. *Curr Biol* 11(8):626-630.
- Makrigiannis AP, Pau AT, Saleh A, Winkler-Pickett R, Ortaldo JR, Anderson SK. 2001. Class I MHC-binding characteristics of the 129/J Ly49 repertoire. *J Immunol* 166(8):5034-5043.
- Makrigiannis AP, Pau AT, Schwartzberg PL, McVicar DW, Beck TW, Anderson SK. 2002. A BAC contig map of the Ly49 gene cluster in 129 mice reveals extensive differences in gene content relative to C57BL/6 mice. *Genomics* 79(3):437-444.

- Martin AM, Kulski JK, Witt C, Pontarotti P, Christiansen FT. 2002. Leukocyte Ig-like receptor complex (LRC) in mice and men. *Trends Immunol* 23(2):81-88.
- Masters JC, de Wit MJ, Asher RJ. 2006. Reconciling the origins of Africa, India and Madagascar with vertebrate dispersal scenarios. *Folia Primatol (Basel)* 77(6):399-418.
- McQueen KL, Wilhelm BT, Harden KD, Mager DL. 2002. Evolution of NK receptors: a single Ly49 and multiple KIR genes in the cow. *Eur J Immunol* 32(3):810-817.
- Mehta IK, Wang J, Roland J, Margulies DH, Yokoyama WM. 2001. Ly49A allelic variation and MHC class I specificity. *Immunogenetics* 53(7):572-583.
- Michaelsson J, Teixeira de Matos C, Achour A, Lanier LL, Karre K, Soderstrom K. 2002. A signal peptide derived from hsp60 binds HLA-E and interferes with CD94/NKG2A recognition. *J Exp Med* 196(11):1403-1414.
- Mironov AA, Fickett JW, Gelfand MS. 1999. Frequent alternative splicing of human genes. *Genome Res* 9(12):1288-1293.
- Mittermeier RA, Konstant WR, Hawkins F. 2006. *Lemurs of Madagascar*. 2. ed. Washington: Conservation International.
- Miyashita R, Tsuchiya N, Hikami K, Kuroki K, Fukazawa T, Bijl M, Kallenberg CG, Hashimoto H, Yabe T, Tokunaga K. 2004. Molecular genetic analyses of human NKG2C (KLRC2) gene deletion. *Int Immunol* 16(1):163-168.
- Moretta A, Bottino C, Vitale M, Pende D, Cantoni C, Mingari MC, Biassoni R, Moretta L. 2001. Activating receptors and coreceptors involved in human natural killer cell-mediated cytotoxicity. *Annu Rev Immunol* 19:197-223.
- Murphy WJ, Eizirik E, Johnson WE, Zhang YP, Ryder OA, O'Brien SJ. 2001. Molecular phylogenetics and the origins of placental mammals. *Nature* 409(6820):614-618.
- Neff J. 2005. Genomische und evolutionäre Analyse von MHC-Klasse-I-Genen bei einem Halbaffen (*Microcebus murinus*). Diss. Hannover.
- Neri-Arboleda I, Stott P, Arboleda NP. 2002. Home ranges, spatial movements and habitat associations of the Philippine tarsier (*Tarsius syrichta*) in Corella, Bohol. *J Zool* 257:387-402.
- Nowak RM. 1999. *Walker's Primates of the World*. Baltimore: The Johns Hopkins University Press.
- O'Callaghan CA. 2000. Natural killer cell surveillance of intracellular antigen processing pathways mediated by recognition of HLA-E and Qa-1b by CD94/NKG2 receptors. *Microbes Infect* 2(4):371-380.
- Ohta T. 1980. *Evolution and Variation of Multigene Families: Lecture Notes in Biomathematics*. New York: Springer-Verlag.

- Olcese L, Cambiaggi A, Semenzato G, Bottino C, Moretta A, Vivier E. 1997. Human killer cell activatory receptors for MHC class I molecules are included in a multimeric complex expressed by natural killer cells. *J Immunol* 158(11):5083-5086.
- Olivieri G, Zimmermann E, Randrianambinina B, Rasoloharijaona S, Rakotondravony D, Guschanski K, Radespiel U. 2007. The ever-increasing diversity in mouse lemurs: three new species in north and northwestern Madagascar. *Mol Phylogenet Evol* 43(1):309-327.
- Orange JS, Fasset MS, Koopman LA, Boyson JE, Strominger JL. 2002. Viral evasion of natural killer cells. *Nat Immunol* 3(11):1006-1012.
- Osoegawa K, Woon PY, Zhao B, Frengen E, Tateno M, Catanese JJ, de Jong PJ. 1998. An improved approach for construction of bacterial artificial chromosome libraries. *Genomics* 52(1):1-8.
- Petersen B. 2007. Charakterisierung von Lektin-ähnlichen NK-Zell-Rezeptoren im Grauen Mausmaki (*Microcebus murinus*). Göttingen.
- Pfefferkorn LC, Yeaman GR. 1994. Association of IgA-Fc receptors (Fc alpha R) with Fc epsilon RI gamma 2 subunits in U937 cells. Aggregation induces the tyrosine phosphorylation of gamma 2. *J Immunol* 153(7):3228-3236.
- Plougastel B, Jones T, Trowsdale J. 1996. Genomic structure, chromosome location, and alternative splicing of the human NKG2A gene. *Immunogenetics* 44(4):286-291.
- Rabinovich B, Li J, Wolfson M, Lawrence W, Beers C, Chalupny J, Hurren R, Greenfield B, Miller R, Cosman D. 2006. NKG2D splice variants: a reexamination of adaptor molecule associations. *Immunogenetics* 58(2-3):81-88.
- Radaev S, Rostro B, Brooks AG, Colonna M, Sun PD. 2001. Conformational plasticity revealed by the cocrystal structure of NKG2D and its class I MHC-like ligand ULBP3. *Immunity* 15(6):1039-1049.
- Radaev S, Sun PD. 2003. Structure and function of natural killer cell surface receptors. *Annu Rev Biophys Biomol Struct* 32:93-114.
- Rajagopalan S, Long EO. 1999. A human histocompatibility leukocyte antigen (HLA)-G-specific receptor expressed on all natural killer cells. *J Exp Med* 189(7):1093-1100.
- Rajalingam R, Gardiner CM, Canavez F, Vilches C, Parham P. 2001a. Identification of seventeen novel KIR variants: fourteen of them from two non-Caucasian donors. *Tissue Antigens* 57(1):22-31.
- Rajalingam R, Hong M, Adams EJ, Shum BP, Guethlein LA, Parham P. 2001b. Short KIR haplotypes in pygmy chimpanzee (Bonobo) resemble the conserved framework of diverse human KIR haplotypes. *J Exp Med* 193(1):135-146.

- Rajalingam R, Krausa P, Shilling HG, Stein JB, Balamurugan A, McGinnis MD, Cheng NW, Mehra NK, Parham P. 2002. Distinctive KIR and HLA diversity in a panel of north Indian Hindus. *Immunogenetics* 53(12):1009-1019.
- Rajalingam R, Parham P, Abi-Rached L. 2004. Domain shuffling has been the main mechanism forming new hominoid killer cell Ig-like receptors. *J Immunol* 172(1):356-369.
- Raulet DH, Vance RE. 2006. Self-tolerance of natural killer cells. *Nat Rev Immunol* 6(7):520-531.
- Ravetch JV, Lanier LL. 2000. Immune inhibitory receptors. *Science* 290(5489):84-89.
- Ravosa MJ. 2007. Cranial ontogeny, diet, and ecogeographic variation in African lorises. *Am J Primatol* 69(1):59-73.
- Renedo M, Arce I, Rodriguez A, Carretero M, Lanier LL, Lopez-Botet M, Fernandez-Ruiz E. 1997. The human natural killer gene complex is located on chromosome 12p12-p13. *Immunogenetics* 46(4):307-311.
- Roos C, Schmitz J, Zischler H. 2004. Primate jumping genes elucidate strepsirrhine phylogeny. *Proc Natl Acad Sci U S A* 101(29):10650-10654.
- Rosen DB, Araki M, Hamerman JA, Chen T, Yamamura T, Lanier LL. 2004. A Structural basis for the association of DAP12 with mouse, but not human, NKG2D. *J Immunol* 173(4):2470-2478.
- Ross CN, French JA, Orti G. 2007. Germ-line chimerism and paternal care in marmosets (*Callithrix kuhlii*). *Proc Natl Acad Sci U S A* 104(15):6278-6282.
- Rudd CE, Schneider H. 2003. Unifying concepts in CD28, ICOS and CTLA4 co-receptor signalling. *Nat Rev Immunol* 3(7):544-556.
- Saitou N, Nei M. 1987. The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Mol Biol Evol* 4(4):406-425.
- Sambrook JG, Bashirova A, Andersen H, Piatak M, Vernikos GS, Coghill P, Lifson JD, Carrington M, Beck S. 2006a. Identification of the ancestral killer immunoglobulin-like receptor gene in primates. *BMC Genomics* 7:209.
- Sambrook JG, Bashirova A, Palmer S, Sims S, Trowsdale J, Abi-Rached L, Parham P, Carrington M, Beck S. 2005. Single haplotype analysis demonstrates rapid evolution of the killer immunoglobulin-like receptor (KIR) loci in primates. *Genome Res* 15(1):25-35.
- Sambrook JG, Sehra H, Coghill P, Humphray S, Palmer S, Sims S, Takamatsu HH, Wileman T, Archibald AL, Beck S. 2006b. Identification of a single killer immunoglobulin-like receptor (KIR) gene in the porcine leukocyte receptor complex on chromosome 6q. *Immunogenetics* 58(5-6):481-486.

- Sanger F, Nicklen S, Coulson AR. 1977. DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. *Proc Natl Acad Sci U S A* 74(12):5463-5467.
- Schmitz J, Roos C, Zischler H. 2005. Primate phylogeny: molecular evidence from retroposons. *Cytogenet Genome Res* 108(1-3):26-37.
- Schröpel M. 2007. Krallenaffen: Waldzwerge aus Südamerika. Norderstedt: Books on Demand.
- Scott P, Trinchieri G. 1995. The role of natural killer cells in host-parasite interactions. *Curr Opin Immunol* 7(1):34-40.
- Shi FD, Ljunggren HG, Sarvetnick N. 2001. Innate immunity and autoimmunity: from self-protection to self-destruction. *Trends Immunol* 22(2):97-101.
- Shilling HG, Guethlein LA, Cheng NW, Gardiner CM, Rodriguez R, Tyan D, Parham P. 2002. Allelic polymorphism synergizes with variable gene content to individualize human KIR genotype. *J Immunol* 168(5):2307-2315.
- Shum BP, Flodin LR, Muir DG, Rajalingam R, Khakoo SI, Cleland S, Guethlein LA, Uhrberg M, Parham P. 2002. Conservation and variation in human and common chimpanzee CD94 and NKG2 genes. *J Immunol* 168(1):240-252.
- Smith KM, Wu J, Bakker AB, Phillips JH, Lanier LL. 1998. Ly-49D and Ly-49H associate with mouse DAP12 and form activating receptors. *J Immunol* 161(1):7-10.
- Sobanov Y, Glienke J, Brostjan C, Lehrach H, Francis F, Hofer E. 1999. Linkage of the NKG2 and CD94 receptor genes to D12S77 in the human natural killer gene complex. *Immunogenetics* 49(2):99-105.
- Songyang Z, Shoelson SE, Chaudhuri M, Gish G, Pawson T, Haser WG, King F, Roberts T, Ratnofsky S, Lechleider RJ, et al. 1993. SH2 domains recognize specific phosphopeptide sequences. *Cell* 72(5):767-778.
- Stebbins CC, Watzl C, Billadeau DD, Leibson PJ, Burshtyn DN, Long EO. 2003. Vav1 dephosphorylation by the tyrosine phosphatase SHP-1 as a mechanism for inhibition of cellular cytotoxicity. *Mol Cell Biol* 23(17):6291-6299.
- Steiper ME, Young NM. 2006. Primate molecular divergence dates. *Mol Phylogenet Evol* 41(2):384-394.
- Storset AK, Slettedal IO, Williams JL, Law A, Dissen E. 2003. Natural killer cell receptors in cattle: a bovine killer cell immunoglobulin-like receptor multigene family contains members with divergent signaling motifs. *Eur J Immunol* 33(4):980-990.
- Sullivan LC, Clements CS, Beddoe T, Johnson D, Hoare HL, Lin J, Huyton T, Hopkins EJ, Reid HH, Wilce MC, Kabat J, Borrego F, Coligan JE, Rossjohn J, Brooks AG. 2007. The Heterodimeric Assembly of the CD94-NKG2 Receptor Family and Implications for Human Leukocyte Antigen-E Recognition. *Immunity* 27(6):900-911.

- Takahashi T, Yawata M, Raudsepp T, Lear TL, Chowdhary BP, Antczak DF, Kasahara M. 2004. Natural killer cell receptors in the horse: evidence for the existence of multiple transcribed LY49 genes. *Eur J Immunol* 34(3):773-784.
- Takei F, McQueen KL, Maeda M, Wilhelm BT, Lohwasser S, Lian RH, Mager DL. 2001. Ly49 and CD94/NKG2: developmentally regulated expression and evolution. *Immunol Rev* 181:90-103.
- Tieng V, Le Bouguenec C, du Merle L, Bertheau P, Desreumaux P, Janin A, Charron D, Toubert A. 2002. Binding of *Escherichia coli* adhesin AfaE to CD55 triggers cell-surface expression of the MHC class I-related molecule MICA. *Proc Natl Acad Sci U S A* 99(5):2977-2982.
- Tormo J, Natarajan K, Margulies DH, Mariuzza RA. 1999. Crystal structure of a lectin-like natural killer cell receptor bound to its MHC class I ligand. *Nature* 402(6762):623-631.
- Trinchieri G. 2003. The choices of a natural killer. *Nat Immunol* 4(6):509-510.
- Uhrberg M, Parham P, Wernet P. 2002. Definition of gene content for nine common group B haplotypes of the Caucasoid population: KIR haplotypes contain between seven and eleven KIR genes. *Immunogenetics* 54(4):221-229.
- Unanue ER. 1997. Inter-relationship among macrophages, natural killer cells and neutrophils in early stages of *Listeria* resistance. *Curr Opin Immunol* 9(1):35-43.
- Vales-Gomez M, Reyburn HT, Erskine RA, Lopez-Botet M, Strominger JL. 1999. Kinetics and peptide dependency of the binding of the inhibitory NK receptor CD94/NKG2-A and the activating receptor CD94/NKG2-C to HLA-E. *Embo J* 18(15):4250-4260.
- Vance RE, Jamieson AM, Raulet DH. 1999. Recognition of the class Ib molecule Qa-1(b) by putative activating receptors CD94/NKG2C and CD94/NKG2E on mouse natural killer cells. *J Exp Med* 190(12):1801-1812.
- Vance RE, Kraft JR, Altman JD, Jensen PE, Raulet DH. 1998. Mouse CD94/NKG2A is a natural killer cell receptor for the nonclassical major histocompatibility complex (MHC) class I molecule Qa-1(b). *J Exp Med* 188(10):1841-1848.
- Vance RE, Tanamachi DM, Hanke T, Raulet DH. 1997. Cloning of a mouse homolog of CD94 extends the family of C-type lectins on murine natural killer cells. *Eur J Immunol* 27(12):3236-3241.
- Viertlboeck BC, Habermann FA, Schmitt R, Groenen MA, Du Pasquier L, Gobel TW. 2005. The chicken leukocyte receptor complex: a highly diverse multigene family encoding at least six structurally distinct receptor types. *J Immunol* 175(1):385-393.
- Vitale M, Bottino C, Sivori S, Sanseverino L, Castriconi R, Marcenaro E, Augugliaro R, Moretta L, Moretta A. 1998. NKp44, a novel triggering surface molecule specifically expressed by activated natural killer cells, is involved in non-major histocompatibility complex-restricted tumor cell lysis. *J Exp Med* 187(12):2065-2072.

- Vivier E, Daron M. 1997. Immunoreceptor tyrosine-based inhibition motifs. *Immunol Today* 18(6):286-291.
- Watkins DI, Chen ZW, Hughes AL, Hodi FS, Letvin NL. 1990. Genetically distinct cell populations in naturally occurring bone marrow-chimeric primates express similar MHC class I gene products. *J Immunol* 144(10):3726-3735.
- Watkins DI, Garber TL, Chen ZW, Toukatly G, Hughes AL, Letvin NL. 1991. Unusually limited nucleotide sequence variation of the expressed major histocompatibility complex class I genes of a New World primate species (*Saguinus oedipus*). *Immunogenetics* 33(2):79-89.
- Watzl C, Long EO. 2000. Exposing tumor cells to killer cell attack. *Nat Med* 6(8):867-868.
- Weis WI, Taylor ME, Drickamer K. 1998. The C-type lectin superfamily in the immune system. *Immunol Rev* 163:19-34.
- Welch AY, Kasahara M, Spain LM. 2003. Identification of the mouse killer immunoglobulin-like receptor-like (Kirl) gene family mapping to chromosome X. *Immunogenetics* 54(11):782-790.
- Westgaard IH, Berg SF, Orstavik S, Fossum S, Dissen E. 1998. Identification of a human member of the Ly-49 multigene family. *Eur J Immunol* 28(6):1839-1846.
- Wilson MJ, Torkar M, Haude A, Milne S, Jones T, Sheer D, Beck S, Trowsdale J. 2000. Plasticity in the organization and sequences of human KIR/ILT gene families. *Proc Natl Acad Sci U S A* 97(9):4778-4783.
- Wright PC, Simons EL, Gursky S. 2003. *Tarsiers: Past, Present, and Future*. New Brunswick: Rutgers University Press.
- Wu J, Song Y, Bakker AB, Bauer S, Spies T, Lanier LL, Phillips JH. 1999. An activating immunoreceptor complex formed by NKG2D and DAP10. *Science* 285(5428):730-732.
- Yabe T, McSherry C, Bach FH, Fisch P, Schall RP, Sondel PM, Houchins JP. 1993. A multigene family on human chromosome 12 encodes natural killer-cell lectins. *Immunogenetics* 37(6):455-460.
- Yokoyama S, Staunton D, Fisher R, Amiot M, Fortin JJ, Thorley-Lawson DA. 1991. Expression of the Blast-1 activation/adhesion molecule and its identification as CD48. *J Immunol* 146(7):2192-2200.
- Yokoyama WM. 2002. The search for the missing 'missing-self' receptor on natural killer cells. *Scand J Immunol* 55(3):233-237.
- Yokoyama WM, Plougastel BF. 2003. Immune functions encoded by the natural killer gene complex. *Nat Rev Immunol* 3(4):304-316.

- Zelensky AN, Gready JE. 2005. The C-type lectin-like domain superfamily. *Febs J* 272(24):6179-6217.
- Zompi S, Hamerman JA, Ogasawara K, Schweighoffer E, Tybulewicz VL, Di Santo JP, Lanier LL, Colucci F. 2003. NKG2D triggers cytotoxicity in mouse NK cells lacking DAP12 or Syk family kinases. *Nat Immunol* 4(6):565-572.

## 7 Anhang

### 7.1 Nukleotidsequenzen der verwendeten Sonden

Zur Amplifikation verwendete Primer sind in der Sequenz fett und unterstrichen.

#### Humane CD94-Sonde

TGTTTAAGACCACTCTGTGGAGGTTAATTTCTGGGACCTTAGGGATAATATGCCTTTTCGTTGATGGCTACGTTGG  
GAATTTTGTGGAAAAATTGTAAGTTTTCTAAGCAAGTCTCCATAAAAAATCAAAACTGTGAAGACATCATTTAAT  
AATAAAGGCTTCATCTTGCTAATGTGTAATTTTTAGTATTTTCATAAACCCATACCTAATTAACAAAATTTCTAA  
TCATTTCTTATAGCTTTTACTAACTGAGTATTGAGCCAGCATTTACTCCAGGACCCAACATAGAACTCCAGAAA  
G

#### Humane NKG2A-Sonde

AGTACAGTCCCTGACATCACACACTGCAGAGATGGATAACCAAGGAGTAATCTACTCAGACCTGAATCTGCCCC  
AAACCCAAAGAGGCAGCAACGAAAACCTAAAGGCAATAAAAGCTCCATTTTAGCAACTGAACAGGAAATAACCTA  
TGCGGAATTAACCTTCAAAAAGCTTCTCAGGATTTTCAAGGGAATGACAAAACCTATCACTGCAAAGGTAAAGC  
ATTTAAAAGATCCTCAATATAACAGTCTAGGATGTGCAGCTTGGGGTACAGGAATGTGGGGAAAGAGAAGGGAGT  
GCTCATATATCTTCTATTTGCAAAGATCAGAATTCCAAGTTGAGATATGCTATTTCAATGTAAAGTATGAAGACT  
GATTGAACTCATTGTTGAAGTTTGTAGTCTTTGTCAAATAATTCATGGAGCATTATTTTCTGAAAATTC AATG  
GTATATTATTCTGAGAAAAAGATTACAATGGGAGATGAGGGTTTGGGGTCCAAGTTTCTCTGTATGATTCCCTGTG  
CATTGAGGTTCTCTGTCTGTGAATCTTCTAAACGACTGTATCCACCTCTCCTTTTCGCACTGTTCCCATTTCTCT  
CCCTGCAGATTTACCATCAGCTCCAGAGAAGCTCATTGTTGGGATCCTGGGAATTATCTGTCTTATCTTAATGGC  
CTCTGTGGTAACGATAGTTGTTATCCCT

#### Humane Ly49L-Sonde

CAGTGCCCTGGCACCTCATTGCAGTGACTCTTGGGATCCTCTGTTTTACTTCTTCTGATGATAGTCACAGTGTTGG  
TGACAAAATAGTGAGTAATAAAAATACAGCTTTCTCGTCCGAGTAGCAGCAGTAACCACTGATTGTGCAGATATTAA  
CCATGCTCCGTCCATTGTTCCCCGTCTGTAATCAGAGAATGTCCAGGTGGCTCTGGCCTTTGTTGGTAATTTTT  
TTCTGGGCATATGACAGTGTCAATTTTAAATTTACTTAACTTACTCTGAATCTGTGATGAGCTGTCTCACTGTG  
TATAATACATGGTAATATTCCTTCTCATAGAGGATTTAGTAATACATGTATTCTGCCATTTGGGTTTGATTATTG  
TGAATCTGAGATAAACATTCTTTGAGAGACAACCTGTTCAAAGAAATTTATGGCTTTCTCTTGACATTTCTCAAAG  
TATGTAATGACGAAATGGTTTAGTAAAAGAAAGAATCTACACATGCAGTTATATAATATTAAATTCAGCTTTAC  
CTTTTGTGTTGAATTCCTTCATATCTTTTGAATAAATCACTGATATTTTATATTCAGATAAAATACGTATCTGG  
ATCTTACTCTCTTTTCTGCTGCGGATAGTCTATCTGCCCAATAATAATTGTGCTATCACTTCATGTTTCTTTCT  
TAGTTGAGATTTTCATATGCAGAAGATATGTGGTTAAATGTTGGCAAACCTGACTTTTACTTTAGTGCTTATTTGT  
AAATGATGAGTTATTAATAAATAAACTAACTGAGAAGTAAGGTGTCACCTTCATAATTTTATTTCAGATATGTTAT  
TTATCCTACACTTAAGTTGCTAATGGTGAGAAATTTATGTTTCCCTTTTATGGCCAGTTCGTTGAGGTGTTACT  
TTCTAAATGTCAAATTAATAATCAAAGTAATGACTAATTAAGTAATGATTAATGGTTGTGAGAGTGAAATTTTT  
TCTTTTGTCTTAAATTTCAATATTTAATTATTATGAGTACTTATTTGTATTATATCTATGCCATTAATTTTAGTC  
TTTCAGTGTATTCAAGAAAAACATCAACGGCAGGAAATTTCAAGAACTGTAGTGAAAAGTACATCATGCAAAAT  
GACAACACTTAAAAGAGCAGATTTTGACAAAATAAGACTTTAAAATTTGACGTTCTCAAAAATAGCTTTTCAGCAG  
AAAAAGGAACTGGATTACGCCTTATACAAAAGAACAGATGTCATAGAGA

**Murine NKG2D-Sonde**

CATAATGGCATTGATTTCGTGATCGAAAGTCTCATCACTCAGAGATGAGCAAATGCCATAATTACGACCTCAAGCC  
 AGCAAAGTGGGATACTTCTCAAGAACAACAGAAACAAAGATTAGCACTAACTACCAGTCAACCTGGAGAAAATGG  
 TATCATAAGAGGAAGATACCCTATAGAAAACTCAAAATATCTCCAATGTTTCGTTTGTTCGAGTCCTTGCTATAGC  
 CTTGGCAATTCGATTCACCCCTAACACATTGATGTGGCTTGCCATTTTTCAAAGAGACGTTTCAGCCAGTATTGTG  
 CAACAAGGAAGTCCCAGTTTCCTCAAGAGAGGGCTACTGTGGCCCATGCCCTAACAACTGGATATGTCACAGAAA  
 CAACTGTTACCAATTTTTTAATGAAGAGAAAACCTGGAACCAGAGCCAAGCTTCCTGTTTGTCTCAAAATTCAG  
 CCTTCTGAAGATATACAGTAAAGAAGAACAGGATTTCTTAAAGCTGGTTAAGTCCTATCACTGGATGGGACTGGT  
 CCAGATCCCAGCAAATGGCTCCTGGCAGTGGGAAGATGGCTCCTCTCTCTCATAACAATCAGTTAACTCTGGTGG  
 AATACCAAAAGGATCCTGTGCTGTCTATGGCTCAAGCTTTAAGGCTTACACAGAAGACTGTGCAAATCTAAACAC  
 GTACATCTGCATGAAAAGGGCGGTGTAAAA

**7.2 Aminosäure- und Nukleotidsequenzidentitäten****7.2.1 CD94-Aminosäure- und -Nukleotidsequenzidentitäten**

Nukleotidsequenzidentitäten (NS; proteinkodierender Bereich) sind in der oberen Diagonale und Aminosäuresequenzidentitäten (AS) in der unteren Diagonale in % angegeben. Für die humane CD94-Sequenz sind nur Aminosäuresequenzidentitäten angegeben, da nur diese im Text erwähnt sind. Die Identitäten wurden paarweise mit dem Programm Bioedit berechnet. Insertionen und Deletionen wurden nicht mit berechnet. Mimu, *Microcebus murinus*; Vava, *Varecia variegata*; Hosa, *Homo sapiens*.

AS \ NS	Mimu- CD94-1	Mimu- CD94-2	Mimu- CD94-3	Vava- CD94-1	Vava- CD94-2	Vava- CD94-3
Mimu- CD94-1	-	88,6	88,7	86,7	86,1	88,0
Mimu- CD94-2	76,8	-	88,4	88,6	88,6	90,1
Mimu- CD94-3	77,1	76,8	-	89,1	89,5	88,3
Vava- CD94-1	71,8	73,6	79,3	-	91,8	92,0
Vava- CD94-2	75,3	74,1	79,9	83,3	-	92,2
Vava- CD94-3	75,4	79,7	75,8	81,0	80,5	-
Hosa- CD94	66,4	63,8	70,3	67,2	67,8	68,7

### 7.2.2 NKG2-Aminosäuresequenzidentitäten zwischen Mausmaki, Vari und Mensch

Die Identitäten (in %) wurden paarweise mit dem Programm Bioedit berechnet. Insertionen und Deletionen wurden nicht mit berechnet. Mimu, *Microcebus murinus*; Vava, *Varecia variegata*; Hosa, *Homo sapiens*.

	Hosa-NKG2C	Hosa-NKG2E	Hosa-NKG2A	Hosa-NKG2F	Mimu-NKG2-1	Mimu-NKG2-2	Mimu-NKG2-3	Mimu-NKG2-5	Mimu-NKG2-8
Vava-NKG2-1	57,1	57,6	61,6	53,8	82,2	60,8	68,1	62,1	72,8
Vava-NKG2-2	62,3	59,7	57,5	56,3	67,0	81,4	65,4	78,4	67,5
Vava-NKG2-3	57,6	56,1	62,8	55,2	71,3	66,2	73,2	65,0	73,2
Vava-NKG2-4	60,4	57,8	54,3	58,3	65,7	78,9	63,4	78,0	65,9
Vava-NKG2-5	58,9	56,3	55,2	55,8	65,7	80,2	64,7	79,3	66,4
Vava-NKG2-6	62,3	61,0	57,9	55,1	66,1	68,6	56,8	73,2	70,5
Vava-NKG2-7	60,6	60,7	56,2	54,8	69,1	76,7	59,8	73,2	62,8
Vava-NKG2-8	58,7	56,5	63,9	53,2	77,0	68,3	73,9	65,3	78,7
Mimu-NKG2-1	58,3	56,1	64,8	57,8	Aminosäuresequenzidentitäten der Mimu-NKG2-Moleküle siehe 7.2.3				
Mimu-NKG2-2	58,9	57,6	56,2	54,4					
Mimu-NKG2-3	55,0	52,4	59,2	48,7					
Mimu-NKG2-5	60,6	57,5	54,4	53,6					
Mimu-NKG2-8	57,6	56,3	61,8	53,2					

### 7.2.3 NKG2-Aminosäure- und -Nukleotidsequenzidentitäten des Mausmakis

Nukleotidsequenzidentitäten (NS; proteinkodierender Bereich) sind in der oberen Diagonale und Aminosäuresequenzidentitäten (AS) in der unteren Diagonale in % angegeben. Die Identitäten wurden paarweise mit dem Programm Bioedit berechnet. Insertionen und Deletionen wurden nicht mit berechnet. Mimu, *Microcebus murinus*.

AS \ NS	Mimu-NKG2-1	Mimu-NKG2-2	Mimu-NKG2-3	Mimu-NKG2-5	Mimu-NKG2-8
Mimu-NKG2-1	-	77,8	83,8	79,6	86,9
Mimu-NKG2-2	63,9	-	82,6	87,1	77,2
Mimu-NKG2-3	70,0	72,6	-	78,6	84,3
Mimu-NKG2-5	62,7	76,2	62,9	-	77,9
Mimu-NKG2-8	77,0	64,1	73,9	63,8	-

### 7.2.4 NKG2-Aminosäure- und -Nukleotidsequenzidentitäten des Varis

Nukleotidsequenzidentitäten (NS; proteinkodierender Bereich) sind in der oberen Diagonale und Aminosäuresequenzidentitäten (AS) in der unteren Diagonale in % angegeben. Die Identitäten wurden paarweise mit dem Programm Bioedit berechnet. Insertionen und Deletionen wurden nicht mit berechnet. Vava, *Varecia variegata*.

AS \ NS	Vava-NKG2-1	Vava-NKG2-2	Vava-NKG2-3	Vava-NKG2-4	Vava-NKG2-5	Vava-NKG2-6	Vava-NKG2-7	Vava-NKG2-8
Vava-NKG2-1	-	80,8	85,6	80,3	80,8	82,8	86,3	86,0
Vava-NKG2-2	65,5	-	83,0	92,2	92,7	86,6	89,5	85,1
Vava-NKG2-3	70,6	68,8	-	83,0	84,0	81,0	81,0	89,0
Vava-NKG2-4	63,4	86,6	66,7	-	93,1	87,3	88,4	84,9
Vava-NKG2-5	63,8	88,8	69,7	86,6	-	87,1	88,8	85,9
Vava-NKG2-6	66,8	75,0	62,8	75,9	75,4	-	88,3	80,4
Vava-NKG2-7	74,1	84,3	63,6	79,7	80,6	75,0	-	81,1
Vava-NKG2-8	75,7	76,1	79,6	72,6	73,5	66,5	67,4	-

## 7.3 Genotypisierung der NKC-Gene von neun Weißbüschelaffen

### 7.3.1 CD94-Genotypen der Weißbüschelaffen

Genotyp	C/T	G/A	Del./ACT	A/G	G/A	G/A
Nukleotidposition	21	66	136-138	215	235	368
Individuum						
nightfire	CC	GG	Del.	AA	GG	GG
piroschka	CC	GG	Del.	AA	GG	GG
orla	CT	AG	Del.	AG	GG	GG
iringa	CT	GG	Del.	AA	GG	AG
ohara	CC	GG	Del.	AA	GG	GG
obelisk	CC	GG	ACT	AA	AG	GG
aschenputel	CC	GG	Del.	AA	GG	GG
blanche	CC	GG	Del.	AA	AG	GG
wonny	CC	GG	Del.	AA	GG	GG

### 7.3.2 NKG2CE-Genotypen der Weißbüschelaffen

Genotyp	T/G	C/A	T/C	C/T
<b>Nukleotidposition</b>	301	463	550	567
<b>Individuum</b>				
nightfire	TT	CC	TT	CC
piroschka	TT	CC	TT	CC
orla	TT	CC	CT	CC
iringa	TG	CA	TT	CT
ohara	TT	CC	TT	CC
obelisk	TT	CC	TT	CC
aschenputel	TT	CC	TT	CC
blanche	TT	CC	TT	CC
wonny	TT	CC	TT	CC

### 7.3.3 NKG2A-Genotypen der Weißbüschelaffen

Genotyp	C/A	A/G	A/G	T/A	C/A
<b>Nukleotidposition</b>	43	176	353	474	597
<b>Individuum</b>					
nightfire	CC	AA	AG	TT	CA
piroschka	CC	AA	AG	TT	CA
orla	CC	AA	AG	TT	CA
iringa	AA	AG	AA	AT	AA
ohara	CC	AA	GG	TT	CC
obelisk	CC	AA	AG	TT	CA
aschenputel	CC	AA	GG	TT	CC
blanche	CC	AA	AG	TT	CA
wonny	CC	AA	AG	TT	CA

## 7.4 Genotypisierung der CD94-CTLD von 46 Mausmakis

Die Tabellen wurden von Dr. Richard Reinhardt (Max-Planck-Institut für Molekulare Genetik in Berlin) zur Verfügung gestellt. Der BAC-Klon 5012 diente als Referenzsequenz.

### 7.4.1 CD94-1-Genotypen der Mausmakis

n.v., nicht vorhanden (für diese Position liegt keine Sequenzinformation vor).

Exon	4	4	5	5	5	5	6	6
Genotyp:	G/C	C/T	A/G	G/A	A/G	G/A	G/A	T/A
Nukleotid- position	187	272	332	376	394	403	474	527
Individuum								
<i>BAC-50I2</i>	G	C	A	G	A	G	G	T
<i>L_3</i>	CC	CC	AA	GG	AA	AG	GG	AA
<i>L_5</i>	CC	CC	AA	GG	AA	GG	GG	AA
<i>L_19</i>	CC	CC	AA	GG	AA	GG	GG	AA
<i>L_27</i>	GG	CC	AA	GG	AA	GG	AA	AA
<i>L_28</i>	CC	CC	AA	GG	AA	GG	GG	AA
<i>L_39</i>	CC	CT	AA	GG	AA	GG	GG	AA
<i>L_46</i>	n.v.	n.v.	AA	GG	AA	GG	GG	AA
<i>L_48</i>	CC	CC	AA	GG	AA	GG	GG	AA
<i>L_49</i>	CC	CC	AA	GG	AA	GG	GG	AA
<i>L_51</i>	CC	CC	AA	AG	AA	GG	AG	AA
<i>L_54</i>	CC	CC	AA	GG	AA	GG	AG	AA
<i>L_57</i>	n.v.	n.v.	AA	GG	AA	GG	GG	AA
<i>L_58</i>	CC	CC	AA	GG	AA	GG	GG	AA
<i>L_61</i>	CC	CT	AA	AG	AA	GG	GG	AA
<i>L_64</i>	CC	CC	AA	AG	AA	GG	AG	AA
<i>L_74</i>	CC	CC	AA	GG	AA	GG	GG	AA
<i>L_75</i>	CC	CC	AA	AG	AA	GG	AA	AA
<i>L_80</i>	CC	CC	AA	AG	AA	GG	AG	AA
<i>L_85</i>	CC	CC	AA	AA	AA	GG	AG	AA
<i>L_90</i>	CC	CC	AA	GG	AA	GG	GG	AA
<i>L_101</i>	CC	CC	AA	GG	AA	GG	GG	AA
<i>L_102</i>	CC	CC	n.v.	n.v.	n.v.	n.v.	GG	AA
<i>L_123</i>	CC	CC	AA	GG	AA	GG	GG	AA
<i>L_133</i>	CC	CC	AA	GG	AA	GG	n.v.	n.v.
<i>L_140</i>	n.v.	n.v.	AA	AG	AA	GG	AG	AA
<i>L_141</i>	CC	CC	AA	GG	AA	GG	AG	AA
<i>L_158</i>	CC	CC	AA	AG	AA	GG	AG	AA
<i>L_161</i>	CC	CC	AA	GG	AA	GG	AG	AA
<i>L_179</i>	CC	CC	AA	GG	AA	GG	GG	AA
<i>L_181</i>	n.v.	n.v.	AA	GG	AA	GG	GG	AA
<i>L_189</i>	CG	CC	AA	GG	AA	GG	GG	AA
<i>L_212</i>	CC	CC	AA	GG	AA	GG	AG	AA
<i>L_224</i>	n.v.	n.v.	n.v.	n.v.	n.v.	n.v.	GG	AA
<i>L_228</i>	CC	CC	AA	GG	AA	GG	AG	AA
<i>L_240</i>	CC	CC	AA	GG	AA	GG	AG	AA
<i>L_244</i>	n.v.	n.v.	AA	GG	AA	GG	GG	AA
<i>L_245</i>	n.v.	n.v.	AA	GG	AA	GG	GG	AA
<i>L_248</i>	CC	CC	AA	GG	AA	GG	AG	AA
<i>L_254</i>	CC	CC	n.v.	n.v.	n.v.	n.v.	GG	AA
<i>L_258</i>	n.v.	n.v.	n.v.	n.v.	n.v.	n.v.	n.v.	n.v.
<i>L_268</i>	CC	CC	AA	GG	AA	GG	GG	AA
<i>L_302</i>	CC	CC	AA	GG	AA	GG	GG	AA
<i>L_304</i>	n.v.	n.v.	AA	GG	AA	GG	AA	AA
<i>L_316</i>	CC	CC	AA	AG	AA	GG	AA	AA
<i>L_320</i>	CC	CC	AA	GG	AA	GG	GG	AA
<i>L_322</i>	n.v.	n.v.	AG	GG	AG	GG	GG	n.v.

## 7.4.2 CD94-2-Genotypen der Mausmakis

n.v., nicht vorhanden (für diese Position liegt keine Sequenzinformation vor).

Exon	4	4	4	4	4	4	4	4	5	5	5	5	6	6	6	6
Genotyp:	A/G	G/A	G/A	C/T	T/C	A/G	G/T/A	G/A	T/C	C/G	G/A	T/C	T/C	G/A	T/C	C/G
Nukleotid- position	184	190	200	213	222	262	267	299	331	362	373	400	455	463	467	597
Individuum																
<i>BAC-5012</i>	A	G	G	C	T	A	T	G	T	C	G	T	T	G	T	C
<i>L_3</i>	AG	AG	AG	CC	TT	AA	GG	GG	CC	CC	GG	TT	n.v.	n.v.	n.v.	n.v.
<i>L_5</i>	AA	AA	AA	CC	CC	AA	GG	GG	TT	CC	GG	TT	n.v.	n.v.	n.v.	n.v.
<i>L_19</i>	AG	AG	AG	CC	CT	AA	GG	GG	CT	CC	GG	TT	n.v.	n.v.	n.v.	n.v.
<i>L_27</i>	AG	AG	AG	CC	CT	AA	GG	GG	TT	CC	GG	TT	TT	GG	TT	CC
<i>L_28</i>	AG	AG	AG	CC	TT	AA	AG	GG	TT	CC	GG	TT	TT	GG	TT	CC
<i>L_39</i>	AA	AA	AA	CC	TT	AA	GG	GG	TT	CC	GG	TT	TT	GG	TT	CG
<i>L_46</i>	AG	AG	AG	CC	CC	AA	GG	GG	TT	CC	GG	TT	TT	GG	TT	CC
<i>L_48</i>	AG	AG	AG	CC	TT	AA	GG	GG	TT	CC	GG	TT	TT	GG	TT	CC
<i>L_49</i>	AG	AG	AG	CC	CT	AA	GT	GG	TT	CC	GG	TT	CC	GG	CC	CC
<i>L_51</i>	GG	GG	AG	CC	CT	AA	GT	GG	TT	CC	GG	TT	TT	AA	TT	CC
<i>L_54</i>	n.v.	n.v.	n.v.	CC	CT	AA	GG	GG	TT	CC	GG	TT	CT	GG	CT	n.v.
<i>L_57</i>	AA	GG	AG	CC	CT	AA	GG	GG	TT	CC	GG	TT	TT	GG	TT	n.v.
<i>L_58</i>	GG	AG	AG	CC	TT	AA	GG	GG	CT	CC	GG	TT	TT	GG	TT	n.v.
<i>L_61</i>	n.v.	n.v.	n.v.	n.v.	n.v.	n.v.	n.v.	n.v.	TT	CC	GG	TT	TT	GG	TT	CG
<i>L_64</i>	n.v.	n.v.	n.v.	CC	TT	AA	GG	GG	TT	CC	GG	TT	CT	GG	CT	CC
<i>L_74</i>	AG	GG	AG	CC	TT	AA	GG	GG	TT	CC	GG	TT	CT	GG	CT	CC
<i>L_75</i>	n.v.	AG	AA	CC	CT	AA	GG	GG	TT	CC	GG	TT	TT	AA	TT	CC
<i>L_80</i>	GG	GG	GG	CC	CT	AA	GG	GG	TT	CC	GG	TT	CT	GG	CT	CC
<i>L_85</i>	GG	GG	GG	CC	CC	AA	GG	GG	TT	CC	GG	TT	TT	GG	TT	CC
<i>L_90</i>	AA	AA	AA	CC	TT	AA	GG	GG	TT	CC	GG	TT	CT	AG	CT	CC
<i>L_101</i>	GG	GG	GG	CC	TT	AA	AG	GG	n.v.	GG	GG	CC	n.v.	n.v.	n.v.	n.v.
<i>L_102</i>	AA	AA	AA	CC	TT	AA	GG	GG	TT	CC	GG	TT	TT	GG	TT	CC
<i>L_123</i>	AG	AG	GG	CC	TT	AA	AG	GG	n.v.	n.v.	n.v.	n.v.	n.v.	n.v.	n.v.	n.v.
<i>L_133</i>	GG	AG	GG	CC	TT	AA	GG	GG	TT	CC	GG	TT	TT	GG	TT	CC
<i>L_140</i>	n.v.	n.v.	n.v.	n.v.	n.v.	n.v.	n.v.	n.v.	TT	CC	GG	TT	TT	AA	TT	CC
<i>L_141</i>	GG	GG	GG	CC	TT	AA	GG	GG	TT	CC	GG	TT	TT	GG	TT	CC
<i>L_158</i>	n.v.	n.v.	n.v.	n.v.	n.v.	n.v.	n.v.	n.v.	TT	CC	GG	TT	TT	AG	TT	CC
<i>L_161</i>	AA	AA	AA	CC	CT	AA	GG	n.v.	TT	CC	GG	TT	TT	GG	TT	CC
<i>L_179</i>	n.v.	n.v.	n.v.	n.v.	n.v.	n.v.	n.v.	n.v.	TT	CC	GG	TT	TT	GG	TT	CC
<i>L_181</i>	AA	AG	AA	CC	TT	AA	GG	GG	TT	CC	GG	TT	CC	GG	CC	CC
<i>L_189</i>	n.v.	GG	GG	CC	TT	AA	GG	GG	TT	CC	GG	TT	TT	AG	TT	CC
<i>L_212</i>	AA	AA	AA	CC	TT	AA	GG	GG	TT	CC	GG	TT	TT	GG	TT	CC
<i>L_224</i>	GG	GG	GG	CC	TT	AA	GG	GG	TT	CC	GG	TT	TT	GG	TT	CC
<i>L_228</i>	AA	AA	AA	CC	CT	AA	GG	GG	TT	CC	GG	TT	CC	GG	CC	CC
<i>L_240</i>	n.v.	n.v.	n.v.	CC	TT	AA	GG	GG	TT	CC	GG	TT	TT	GG	TT	n.v.
<i>L_244</i>	GG	GG	GG	CC	CC	AA	GG	GG	TT	CC	GG	TT	TT	AA	TT	CC
<i>L_245</i>	GG	GG	GG	CC	TT	AA	GG	GG	TT	CC	GG	TT	TT	GG	TT	CC
<i>L_248</i>	GG	GG	GG	CC	TT	AA	TT	GG	CC	GG	AA	CC	n.v.	n.v.	n.v.	n.v.
<i>L_254</i>	GG	GG	GG	CC	CT	AA	GT	GG	TT	CC	GG	TT	TT	AG	TT	CC
<i>L_258</i>	AA	GG	AA	TT	TT	GG	TT	AA	n.v.	n.v.	n.v.	n.v.	n.v.	n.v.	n.v.	n.v.
<i>L_268</i>	AG	AG	AG	CC	TT	AA	GT	GG	TT	CC	GG	TT	CC	GG	CC	CC
<i>L_302</i>	AG	n.v.	n.v.	CC	TT	AA	AG	GG	TT	CC	GG	TT	TT	GG	TT	CC
<i>L_304</i>	AG	AG	AG	CC	TT	AA	AG	GG	n.v.	n.v.	n.v.	n.v.	n.v.	n.v.	n.v.	n.v.
<i>L_316</i>	n.v.	AG	AA	CC	CT	AA	GG	GG	TT	CC	GG	TT	CT	AG	CT	CC
<i>L_320</i>	n.v.	n.v.	n.v.	CC	TT	AA	GG	GG	TT	CC	GG	TT	TT	GG	TT	CC
<i>L_322</i>	AA	GG	AA	CC	TT	AA	GG	GG	n.v.	CC	GG	CT	TT	GG	TT	n.v.

### 7.4.3 CD94-3-Genotypen der Mausmakis

n.v., nicht vorhanden (für diese Position liegt keine Sequenzinformation vor).

Exon	4	4	5	5	6	6	6	6	6	6	6	6
Genotyp:	A/T	G/A	C/T	A/G	T/C	A/G	G/T	T/C	C/T	A/G	C/T	T/C
Nukleotid- position	325	331	354	396	454	471	474	485	506	552	558	561
Individuum												
<i>BAC-5012</i>	A	G	C	A	T	A	G	T	C	A	C	T
<i>L_3</i>	AT	AA	CC	AA	TT	AA	GG	TT	CC	AA	CC	TT
<i>L_5</i>	AT	AA	CC	AA	TT	AA	GG	TT	CC	AA	CC	TT
<i>L_19</i>	AA	AA	CT	AA	TT	AA	GG	TT	CC	AA	CC	TT
<i>L_27</i>	AA	AA	CC	AA	TT	AA	GT	CT	CC	AA	CC	TT
<i>L_28</i>	AA	AA	CC	AA	TT	AA	GG	TT	CC	AA	CC	TT
<i>L_39</i>	AA	AA	CC	AA	TT	GG	GG	TT	CC	AA	CC	TT
<i>L_46</i>	AA	AA	CC	AA	TT	AA	GG	TT	CC	AA	CC	TT
<i>L_48</i>	AT	AA	CC	AA	TT	GG	GG	TT	CC	AA	CC	TT
<i>L_49</i>	AA	AA	CC	AA	TT	AA	GG	TT	CC	AA	CC	CC
<i>L_51</i>	AA	AA	CC	AA	TT	AA	GG	TT	CC	AA	CC	CC
<i>L_54</i>	AT	AA	CC	AA	TT	AA	GG	TT	CC	AA	CC	TT
<i>L_57</i>	n.v.	n.v.	CC	AA	TT	AA	GG	TT	CC	AA	CC	TT
<i>L_58</i>	AT	AA	CC	AA	TT	AA	GG	TT	CC	AA	CC	TT
<i>L_61</i>	AA	AA	CC	AA	TT	GG	GG	TT	CC	AA	CC	TT
<i>L_64</i>	AA	AA	CC	AA	TT	AA	GG	TT	CC	AA	CC	TT
<i>L_74</i>	AT	AA	CC	AA	TT	AA	GG	TT	CC	AA	CC	TT
<i>L_75</i>	n.v.	n.v.	CC	AG	TT	AG	GG	TT	CC	AA	CC	TT
<i>L_80</i>	n.v.	n.v.	CC	AA	TT	AA	GG	TT	CC	AA	CC	TT
<i>L_85</i>	AA	AA	CT	AA	TT	AA	GG	TT	CC	AA	CC	TT
<i>L_90</i>	AT	AA	CC	AA	TT	AA	GT	TT	CC	AA	CC	TT
<i>L_101</i>	AA	AA	CC	AA	TT	AA	GG	TT	CC	AA	CC	TT
<i>L_102</i>	AA	AA	n.v.	n.v.	TT	AA	GG	TT	CC	AA	CC	TT
<i>L_123</i>	AT	AA	CC	AA	TT	AA	GG	TT	CC	AA	CC	TT
<i>L_133</i>	AA	AA	CC	AA	TT	AA	TT	TT	CC	AA	CC	TT
<i>L_140</i>	AA	AA	CC	AA	TT	AA	GG	TT	CC	AA	CC	TT
<i>L_141</i>	AT	AA	CC	AA	TT	AA	TT	TT	CC	AA	CC	TT
<i>L_158</i>	AT	AA	CC	AA	TT	AA	GG	TT	CC	AA	CC	TT
<i>L_161</i>	AA	AA	CC	AA	TT	AA	GG	TT	CC	AA	CC	TT
<i>L_179</i>	AA	AA	CC	AA	TT	AA	GG	TT	CC	AA	CC	TT
<i>L_181</i>	AA	AA	CC	AA	TT	AG	GG	TT	CC	AA	CC	TT
<i>L_189</i>	n.v.	n.v.	CC	AA	TT	AA	GG	TT	CC	AA	CC	TT
<i>L_212</i>	AA	AA	CC	AA	TT	AA	GG	TT	CC	AA	CC	TT
<i>L_224</i>	n.v.	n.v.	CC	AA	TT	AA	TT	TT	CC	AA	CC	TT
<i>L_228</i>	AA	AA	CC	AA	TT	AA	GG	TT	CC	AA	CC	TT
<i>L_240</i>	AA	AA	CC	AA	TT	AA	GT	TT	CC	AA	CC	TT
<i>L_244</i>	n.v.	n.v.	CC	AA	TT	AA	GG	TT	CC	AA	CC	TT
<i>L_245</i>	AT	AA	CC	AA	TT	AA	GG	TT	CC	AA	CC	TT
<i>L_248</i>	AA	AA	CC	AA	TT	AA	GG	TT	CC	AA	CC	CC
<i>L_254</i>	AA	AA	CC	AA	TT	AA	GG	TT	CC	AA	CC	TT
<i>L_258</i>	AA	AA	CC	AA	CC	AA	GG	TT	TT	GG	TT	TT
<i>L_268</i>	AT	AA	CC	AA	n.v.	n.v.	n.v.	n.v.	n.v.	n.v.	n.v.	n.v.
<i>L_302</i>	AA	AA	CC	AA	TT	AA	GG	TT	CC	AA	CC	TT
<i>L_304</i>	AA	AA	CC	AA	TT	AA	GG	TT	CC	AA	CC	TT
<i>L_316</i>	AA	AA	CC	AA	TT	AA	GG	TT	CC	AA	CC	TT
<i>L_320</i>	AA	AA	CC	AA	TT	AA	GG	TT	CC	AA	CC	TT
<i>L_322</i>	AT	AA	n.v.	n.v.	TT	AA	GG	TT	CC	AA	CC	TT

## 7.5 Exon 4-Nukleotidvergleich von CD94

Dieser Nukeotidvergleich diene als Grundlage für phylogenetische Analysen.  
Zur Erläuterung der Abkürzungen siehe Legende zu Abb. 41.

<b>Mus-CD94</b>	CGATGCAATTGTTACTTTATTTC	CAAAGAAGAAAAGCTTGGAAA	AGAAGCAGAGATTTCTGTGCTTCGCAGAA	TCCAGCCTT	84
<b>Hosa-CD94</b>	CGGTGCAACTGTTACTTCATTTC	CAGTGAACAGAAAACTTGGAAC	CGAAAGTCGGCATCTCTGTGCTTCTCAGAA	TCCAGCCTG	84
<b>Patr-CD94</b>	CGGTGCAACTGTTACTTCATTTC	CAGTGAACAGAAAACTTGGAAC	CGAAAGTAGGCATCTCTGTGCTTCTCAGAA	TCCAGCCTG	84
<b>Popy-CD94</b>	AGATGCAACTGTTACTTCATTTC	CAGTGAACAGAAAACTTGGAAC	CGAAAGTAGGCATCTCTGTGCTTCTCAGAA	TCCAGTCTG	84
<b>Mamu-CD94</b>	CGATGCAACTGTTACTTCATTTC	CAGTGAAGAGAAAACTTGGAAC	CGAAAGTAGGCATTTCTGCGCTCTCAGAA	TCCAGTCTG	84
<b>CaJa-CD94</b>	CGATGCAACTGTTACTTCATTTC	CAGCGAATCTAGAAGCTGGAAT	GAAAGTAGGCATCTCTGTGCTTCTCAGAA	TCCAGTCTT	84
<b>Tasy-CD94a</b>	CGATGCAACTGTTACTTCATTTC	TAAATGAGGAGAAAACTTGGAAA	AAAAAGTAGGCAGTTCTGTGATTCTCTGA	ACTCCAGTCTA	84
<b>Tasy-CD94b</b>	CGATGCAACTGTTACTTCATTTC	TAAATGAGGAGAAAACTTGGAAA	AAAAAGTAGGCAGTTCTGTGATTCTCTGA	ACTCCAGTCTA	84
<b>Tasy-CD94c</b>	CGATGCAACTGTTACTTCATTTC	TAAATGAGGAGAAAACTTGGGAA	GGAAGTAGGCATTTCTGTGCTTCTCTGA	ACTCCAGTCTA	84
<b>Tasy-CD94d</b>	CGATGCAACTGTTACTTCATTTC	TAAATGAGGAGAAAACTTGGGAA	GGAAGTAGGCATTTCTGTGCTTCTCTGA	ACTCCAGTCTA	84
<b>Tasy-CD94e</b>	CGATGCAACTGTTACTTCATTTC	TAAATGAGGAGAAAACTTGGGAA	GGAAGTAGGCATTTCTGTGCTTCTCTGA	ACTCCAGTCTA	84
<b>Tasy-CD94f</b>	CGATGCAACTGTTACTTCATTTC	TAAATGAGGAGAAAACTTGGGAA	GGAAGTAGGCATTTCTGTGCTTCTCTGA	ACTCCAGTCTA	84
<b>Tasy-CD94g</b>	CGATGCAACTGTTACTTCATTTC	TAAATGAGCAGAAAACTTGAGA	AGAAAGTAGGCAGTTCTGTGCTTCTCTCA	ACTCCAGTCTA	84
<b>Tasy-CD94h</b>	CGATGCAACTGTTACTTCGTTTCT	TAAATGAGAAGAAAACTTGGGAA	GGAAGTAGGCAGTCCGTGCTTCTCTGA	ACTCCAGTCTA	84
<b>Tasy-CD94i</b>	CGATGCAACTGTTACTTCGTTTCT	TAAATGAGGAGAAAACTTGGGAA	GGAAGTAGGCAGTCCCGTGTCTTCTCTGA	ACTCCAGTCTA	84
<b>Tasy-CD94j</b>	CGATGCAACTGTTACTTCGTTTCT	TAAATGAGGAGAAAACTTGGGAA	GGAAGTAGGCAGTCCGTGTCTTCTCTGA	ACTCCAGTCTA	84
<b>Mimu-CD94-1</b>	CGATGCAACTGCTACTTCATTTC	CTTGAAGTAAAACTTGGAA	TGAAAGTAGAAATTTCTGTGTTTCTCAGAA	TCCAGTTTG	84
<b>Mimu-CD94-2</b>	CGATGCAACTGCTACTTCATTTC	TGGTGAAGTAAAACTTGGGAA	GAAAAGTAGGATTTCTGTATTCTCAGAA	TCCAGTTTG	84
<b>Mimu-CD94-3</b>	CGATGGAAGTCTACTTCATCTCT	AGTGAAGTAAAACTTGGAA	TGAAAGTAGAAATTTCTGTGCTTCTCAGAA	TCCAGTTTG	84
<b>Vava-CD94-1</b>	CGATGCAACTGCTACTTCATTTC	CAGTGAAGTAAAACTTGGGAA	GAAAAGTAGAAATTTCTGTCTTTTCTCAGAA	TCCAGTTTG	84
<b>Vava-CD94-2</b>	CGATGCAACTGCTACTTCATTTC	CAGTGAAGTAAAACTTGGGAA	GAAAAGTAGGAAATTTCTGTGTTTCTCAGAA	TCCAGTTTG	84
<b>Vava-CD94-3</b>	CGATGCAACTGCTACTTCATTTC	CAGTGAAGTAAAACTTGGGAA	GAAAAGTAGAAATTTCTGTCTTTTCTCAGAA	TCCAGTTTG	84
<b>Pepo-CD94a</b>	CGATGCAACTGTTACTTCATTTC	CACTGAAGAGAAAACTTGGGAA	GGAAGTAGGAAAGTCTGCATCTCTCAGAA	TCCAGTTTG	84
<b>Pepo-CD94b</b>	CGATGCAACTGTTACTTCATTTC	CACTGAAGAGAAAACTTGGGAA	GGAAGTAGGAAAGTCTGCATCTCTCAGAA	TCCAGTTTG	84
<b>Pepo-CD94c</b>	CGATGCAACTGTTACTTCATTTC	CACTGAAGTGA	CAACTTGGGAAAGAAAGTAGGAAAGTCTGTGTTTCTCAGAA	TCCAGTTTG	84
<b>Pepo-CD94d</b>	CGATGCAACTGTTACTTCATTTC	CACTGAAGTGA	CAACTTGGGAAAGAAAGTAGGAAAGTCTGTGTTTCTCAGAA	TCCAGTTTG	84
<b>Pepo-CD94e</b>	CGATGCAACTGTTACTTCATTTC	CACTGAAGTGA	CAACTTGGGAAAGAAAGTAGGAAAGTCTGTGTTTCTCAGAA	TCCAGTTTG	84
<b>Pepo-CD94f</b>	CGAAGCAACTGTTACTTCATTTC	TACTGAAGTGACA	ACTTGGGAAAGAAAGTAGGAAAGTCTGTGTTTCTCAGAA	TCCAGTTTG	84
<b>Pepo-CD94g</b>	CGAAGCAACTGTTACTTCATTTC	TACTGAAGTGACA	ACTTGGGAAAGAAAGTAGGAAAGTCTGTGTTTCTCAGAA	TCCAGTTTG	84
<b>Pepo-CD94h</b>	CGATGCAACTGTTACTTCATTTC	CAGTGAAGGAGAAAACTTGGGAA	GGAAGTAGGAAAGTCTGTGTTTCTCAGAA	TCCAGTTTG	84

## 7.6 cDNA-Sequenzen der NKC-Gene des Mausmakis

Dargestellt sind alle identifizierten Allele sowie Spleißvarianten (Sv). Ein „c“ hinter dem Sequenznamen gibt an, dass die Sequenz aus cDNA amplifiziert wurde und ein „g“ bedeutet dass sie aus genomischer BAC-Sequenz abgeleitet wurde. Bei Sequenzen, die aus cDNA amplifiziert wurden, sind die verwendeten Primer in grüner Schrift markiert. Start- und Stopkodons sind rot hinterlegt.

### 7.6.1 Nukleotidvergleich der CD94-Sequenzen des Mausmakis

Der vollständige 3'-UTR von CD94-2 konnte über 3'-RACE-PCR ermittelt werden und wurde aufgrund der 100 %igen Übereinstimmung mit der genomischen BAC-Sequenz von CD94-2 dem Allel CD94-2\*01 zugeordnet. Der für die 3'-RACE-PCR verwendete *forward*-Primer ist in blauer Schrift markiert. g, genomisch; c, cDNA; Sv, Spleißvariante; Mimu, *Microcebus murinus*.

Mimu-CD94-1,gc	-GACCTTGGAAACATCGGTTCA <b>CATG</b> GCAG-----	28
Mimu-CD94-1-Sv1	-GACCTTGGAAACATCGGTTCA <b>CATG</b> GCAG-----	28
Mimu-CD94-1-Sv2	-GACCTTGGAAACATCGGTTCA <b>CATG</b> GCAG-----	28
Mimu-CD94-1-Sv3	-GACCTTGGAAACATCGGTTCA <b>CATG</b> GCAG-----	28
Mimu-CD94-1-Sv4	-GACCTTGGAAACATCGGTTCA <b>CATG</b> GCAG-----	28
Mimu-CD94-1-Sv5	-GACCTTGGAAACATCGGTTCA <b>CATG</b> GCAGTATTTTCCAGAGAAAATACAAGTAAATATGTGTTATATAAG	69
Mimu-CD94-2*01,gc	TGGCCTTGGAAACATCAGTTCT <b>CATG</b> GCAG-----	29
Mimu-CD94-2*02,c	TGGCCTTGGAAACATCAGTTCT <b>CATG</b> GCAG-----	29
Mimu-CD94-2*01-Sv1	TGGCCTTGGAAACATCAGTTCT <b>CATG</b> GCAG-----	29
Mimu-CD94-2*01-Sv2	TGGCCTTGGAAACATCAGTTCT <b>CATG</b> GCAG-----	29
Mimu-CD94-2*02-Sv2	TGGCCTTGGAAACATCAGTTCT <b>CATG</b> GCAG-----	29
Mimu-CD94-2*02-Sv3	TGGCCTTGGAAACATCAGTTCT <b>CATG</b> GCAG-----	29
Mimu-CD94-3A*01,gc	-GACCTTGGAAACATCGGTTCT <b>CATG</b> GCAG-----	28
Mimu-CD94-3A*02,c	-GACCTTGGAAACATCGGTTCT <b>CATG</b> GCAG-----	28
Mimu-CD94-3B*01,gc	-GACCTTGGAAACATCGGTTCT <b>CATG</b> GCAG-----	28
Mimu-CD94-3B*02,c	-GACCTTGGAAACATCGGTTCT <b>CATG</b> GCAG-----	28
Mimu-CD94-1,gc	-----	28
Mimu-CD94-1-Sv1	-----	28
Mimu-CD94-1-Sv2	-----	28
Mimu-CD94-1-Sv3	-----	28
Mimu-CD94-1-Sv4	-----	28
Mimu-CD94-1-Sv5	CCCATGGAACACAAATGGTGCCTGTCGATGCCTTCTTAGCTTCTCAGAAAAT <b>CTA</b> AAAAATAGATGGCA	139
Mimu-CD94-2*01,gc	-----	29
Mimu-CD94-2*02,c	-----	29
Mimu-CD94-2*01-Sv1	-----	29
Mimu-CD94-2*01-Sv2	-----	29
Mimu-CD94-2*02-Sv2	-----	29
Mimu-CD94-2*02-Sv3	-----	29
Mimu-CD94-3A*01,gc	-----	28
Mimu-CD94-3A*02,c	-----	28
Mimu-CD94-3B*01,gc	-----	28
Mimu-CD94-3B*02,c	-----	28
Mimu-CD94-1,gc	-----	TGTCT 33
Mimu-CD94-1-Sv1	-----	TGTCT 33
Mimu-CD94-1-Sv2	-----	33
Mimu-CD94-1-Sv3	-----	28
Mimu-CD94-1-Sv4	-----	TGTCT 33
Mimu-CD94-1-Sv5	AATCTACTTTATTGGGGCAGAGCTGTAGAGAAGAAAATGTATGGATGATCACACTGAAGAACAAGTGTCT	209
Mimu-CD94-2*01,gc	-----	TGTCT 34
Mimu-CD94-2*02,c	-----	TGTCT 34
Mimu-CD94-2*01-Sv1	-----	TGTCT 34
Mimu-CD94-2*01-Sv2	-----	29
Mimu-CD94-2*02-Sv2	-----	29
Mimu-CD94-2*02-Sv3	-----	TGTCT 34
Mimu-CD94-3A*01,gc	-----	TGTCT 33
Mimu-CD94-3A*02,c	-----	TGTCT 33
Mimu-CD94-3B*01,gc	-----	TGTCT 33
Mimu-CD94-3B*02,c	-----	TGTCT 33

Mimu-CD94-1,gc CAGACCCTAGGTGGAGGTTGATTTCTGGGACCTTAGGAGTCATATGCCTTTTGTGATGGTTACTTTGG 103  
 Mimu-CD94-1-Sv1 CAGACCCTAGGTGGAGGTTGATTTCTGGGACCTTAGGAGTCATATGCCTTTTGTGATGGTTACTTTGG 103  
 Mimu-CD94-1-Sv2 ----- 28  
 Mimu-CD94-1-Sv3 ----- 28  
 Mimu-CD94-1-Sv4 CAGACCCTAGGTGGAGGTTGATTTCTGGGACCTTAGGAGTCATATGCCTTTTGTGATGGTTACTTTGG 103  
 Mimu-CD94-1-Sv5 CAGACCCTAGGTGGAGGTTGATTTCTGGGACCTTAGGAGTCATATGCCTTTTGTGATGGTTACTTTGG 279  
 Mimu-CD94-2\*01,gc CAGACCCTCGGTGGAGGTTGATTTCTGGGACCTTAGGAGTCATATGCCTTTTGTGATGGTTACTTTGG 104  
 Mimu-CD94-2\*02,c CAGACCCTCGGTGGAGGTTGATTTCTGGGACCTTAGGAGTCATATGCCTTTTGTGATGGTTACTTTGG 104  
 Mimu-CD94-2\*01-Sv1 CAGACCCTCGGTGGAGGTTGATTTCTGGGACCTTAGGAGTCATATGCCTTTTGTGATGGTTACTTTGG 104  
 Mimu-CD94-2\*01-Sv2 ----- 29  
 Mimu-CD94-2\*02-Sv2 ----- 29  
 Mimu-CD94-2\*02-Sv3 CAGACCCTCGGTGGAGGTTGATTTCTGGGACCTTAGGAGTCATATGCCTTTTGTGATGGTTACTTTGG 104  
 Mimu-CD94-3A\*01,gc CAGACCCTCGGTGGCGGTTGATTTCTGGGACCTTAGGAGTCATATGCCTTTTGTGATGGTTACTTTGG 103  
 Mimu-CD94-3A\*02,c CAGACCCTCGGTGGCGGTTGATTTCTGGGACCTTAGGAGTCATATGCCTTTTGTGATGGTTACTTTGG 103  
 Mimu-CD94-3B\*01,gc CAGACCCTCGGTGGCGGTTGATTTCTGGGACCTTAGGAGTCATATGCCTTTTGTGATGGTTACTTTGG 103  
 Mimu-CD94-3B\*02,c CAGACCCTCGGTGGCGGTTGATTTCTGGGACCTTAGGAGTCATATGCCTTTTGTGATGGTTACTTTGG 103

Mimu-CD94-1,gc GAATGTTGTTGAAATCTT-----TACCTAATGAAATAGATATTAAGCCAA 148  
 Mimu-CD94-1-Sv1 GAATGTTGTTGAAATCTT-----TACCTAATGAAATAGATATTAAGCCAA 148  
 Mimu-CD94-1-Sv2 -----TACCTAATGAAATAGATATTAAGCCAA 55  
 Mimu-CD94-1-Sv3 -----TACCTAATGAAATAGATATTAAGCCAA 55  
 Mimu-CD94-1-Sv4 GAATGTTGTTGAAATCTT-----TACCTAATGAAATAGATATTAAGCCAA 148  
 Mimu-CD94-1-Sv5 GAATGTTGTTGAAATCTT-----TACCTAATGAAATAGATATTAAGCCAA 324  
 Mimu-CD94-2\*01,gc GAATATTGTTGAAATCTT-----TAATTCCTCAAACAAGTACTGAGGCCA 149  
 Mimu-CD94-2\*02,c GAATGTTGTTGAAATCTT-----TAATTCCTCAAACAAGTACTGAGGCCA 149  
 Mimu-CD94-2\*01-Sv1 GAATATTGTTGAAATCTT-----TAATTCCTCAAACAAGTACTGAGGCCA 149  
 Mimu-CD94-2\*01-Sv2 -----TAATTCCTCAAACAAGTACTGAGGCCA 56  
 Mimu-CD94-2\*02-Sv2 -----TAATTCCTCAAACAAGTACTGAGGCCA 56  
 Mimu-CD94-2\*02-Sv3 GAATGTTGTTGAAATCTTGCAAATTTGTAATCATTTCTTATAGTAATTCCTCAAACAAGTACTGAGGCCA 174  
 Mimu-CD94-3A\*01,gc GAATGTTGTTGAAATCTT-----CAAATTCGAATCATTTCTTATGGCACACACTAAAACAGATGTGGAGTCAA 172  
 Mimu-CD94-3A\*02,c GAATGTTGTTGAAATCTT-----CAAATTCGAATCATTTCTTATGGCACACACTAAAACAGATGTGGAGTCAA 172  
 Mimu-CD94-3B\*01,gc GAATGTTGTTGAAATCTT-----ATGTGGAGTCAA 133  
 Mimu-CD94-3B\*02,c GAATGTTGTTGAAATCTT-----ATGTGGAGTCAA 133

Mimu-CD94-1,gc CATCCTCTTCACTCCCCAACAAAGAAGTCCAGGAAGGCTCTGACTGCTGTTCTTGCCAGAGAAGTGGGT 218  
 Mimu-CD94-1-Sv1 CATCCTCTTCACTCCCCAACAAAGAAGTCCAGGAAGGCTCTGACTGCTGTTCTTGCCAGAGAAGTGGGT 218  
 Mimu-CD94-1-Sv2 CATCCTCTTCACTCCCCAACAAAGAAGTCCAGGAAGGCTCTGACTGCTGTTCTTGCCAGAGAAGTGGGT 125  
 Mimu-CD94-1-Sv3 CATCCTCTTCACTCCCCAACAAAGAAGTCCAGGAAGGCTCTGACTGCTGTTCTTGCCAGAGAAGTGGGT 125  
 Mimu-CD94-1-Sv4 CATCCTCTTCACTCCCCAACAAAGAAGTCCAGGAAGGCTCTGACTGCTGTTCTTGCCAGAGAAGTGGGT 218  
 Mimu-CD94-1-Sv5 CATCCTCTTCACTCCCCAACAAAGAAGTCCAGGAAGGCTCTGACTGCTGTTCTTGCCAGAGAAGTGGGT 394  
 Mimu-CD94-2\*01,gc CACACTCTCCAAGACTCAAC-----CTCCAGGAAGGCTCTGACTGCTGCTCTTGCCAGAGAAGTGGGT 213  
 Mimu-CD94-2\*02,c CACACTCTCCAAGACTCAAC-----CTCCAGGAAGGCTCTGACTGCTGCTCTTGCCAGAGAAGTGGGT 213  
 Mimu-CD94-2\*01-Sv1 CACACTCTCCAAGACTCAAC-----CTCCAGGAAGGCTCTGACTGCTGCTCTTGCCAGAGAAGTGGGT 213  
 Mimu-CD94-2\*01-Sv2 CACACTCTCCAAGACTCAAC-----CTCCAGGAAGGCTCTGACTGCTGCTCTTGCCAGAGAAGTGGGT 120  
 Mimu-CD94-2\*02-Sv2 CACACTCTCCAAGACTCAAC-----CTCCAGGAAGGCTCTGACTGCTGCTCTTGCCAGAGAAGTGGGT 120  
 Mimu-CD94-2\*02-Sv3 CACACTCTCCAAGACTCAAC-----CTCCAGGAAGGCTCTGACTGCTGCTCTTGCCAGAGAAGTGGGT 238  
 Mimu-CD94-3A\*01,gc CATCCTCTCCAGGACCCGACAGAGAAGTCCAGGAAGGCCCTGACTGCTGTTCTTGCCAAAGAAGTGGGT 242  
 Mimu-CD94-3A\*02,c CATCCTCTCCAGGACCCGACAGAGAAGTCCAGGAAGGCCCTGACTGCTGTTCTTGCCAAAGAAGTGGGT 242  
 Mimu-CD94-3B\*01,gc CATCCTCTCCAGGACCCGACAGAGAAGTCCAGGAAGGCCCTGACTGCTGTTCTTGCCAAAGAAGTGGGT 203  
 Mimu-CD94-3B\*02,c CATCCTCTCCAGGACCCGACAGAGAAGTCCAGGAAGGCCCTGACTGCTGTTCTTGCCAAAGAAGTGGGT 203

Mimu-CD94-1,gc TGGGTACCGATGCAACTGCTACTTCATTTCTCTTGAAATGAAAACCTTGAATGAAAGTAGAAATTTCTGT 288  
 Mimu-CD94-1-Sv1 TGGGTACCGATGCAACTGCTACTTCATTTCTCTTGAAATGAAAACCTTGAATGAAAGTAGAAATTTCTGT 288  
 Mimu-CD94-1-Sv2 TGGGTACCGATGCAACTGCTACTTCATTTCTCTTGAAATGAAAACCTTGAATGAAAGTAGAAATTTCTGT 195  
 Mimu-CD94-1-Sv3 TGGGTACCGATGCAACTGCTACTTCATTTCTCTTGAAATGAAAACCTTGAATGAAAGTAGAAATTTCTGT 195  
 Mimu-CD94-1-Sv4 TGGGTACCGATGCAACTGCTACTTCATTTCTCTTGAAATGAAAACCTTGAATGAAAGTAGAAATTTCTGT 288  
 Mimu-CD94-1-Sv5 TGGGTACCGATGCAACTGCTACTTCATTTCTCTTGAAATGAAAACCTTGAATGAAAGTAGAAATTTCTGT 464  
 Mimu-CD94-2\*01,gc TGGGTACCGATGCAACTGCTACTTCATTTCTGTTGAAAGTAAAACCTTGGGAAGAAAGTAGGATTTTCTGT 283  
 Mimu-CD94-2\*02,c TGGGTACCGATGCAACTGCTACTTCATTTCTCGGTGAAAGTAAAACCTTGGGAAGAAAGTAGGATTTTCTGT 283  
 Mimu-CD94-2\*01-Sv1 TGGGTACCGATGCAACTGCTACTTCATTTCTGTTGAAAGTAAAACCTTGGGAAGAAAGTAGGATTTTCTGT 283  
 Mimu-CD94-2\*01-Sv2 TGGGTACCGATGCAACTGCTACTTCATTTCTCGGTGAAAGTAAAACCTTGGGAAGAAAGTAGGATTTTCTGT 190  
 Mimu-CD94-2\*02-Sv2 TGGGTACCGATGCAACTGCTACTTCATTTCTCGGTGAAAGTAAAACCTTGGGAAGAAAGTAGGATTTTCTGT 190  
 Mimu-CD94-2\*02-Sv3 TGGGTACCGATGCAACTGCTACTTCATTTCTCGGTGAAAGTAAAACCTTGGGAAGAAAGTAGGATTTTCTGT 308  
 Mimu-CD94-3A\*01,gc TGGGTACCGATGGAAGTCTACTTCATCTCTAGTAAAATGAAAACCTTGAATGAAAGTAGAAATTTCTGT 312  
 Mimu-CD94-3A\*02,c TGGGTACCGATGGAAGTCTACTTCATCTCTAGTAAAATGAAAACCTTGAATGAAAGTAGAAATTTCTGT 312  
 Mimu-CD94-3B\*01,gc TGGGTACCGATGGAAGTCTACTTCATCTCTAGTAAAATGAAAACCTTGAATGAAAGTAGAAATTTCTGT 273  
 Mimu-CD94-3B\*02,c TGGGTACCGATGGAAGTCTACTTCATCTCTAGTAAAATGAAAACCTTGAATGAAAGTAGAAATTTCTGT 273

Mimu-CD94-1,gc GTTCTCAGAATTCAGTTTGCTTCAGCTTCAAAACAGAGATGAACTG-----CCTTTCATGCACTCC 351  
Mimu-CD94-1-Sv1 GTTCTCAGAATTCAGTTTGCTTCAGCTTCAAAACAGAGATGAACTG----CAGCCTTTCATGCACTCC 354  
Mimu-CD94-1-Sv2 GTTCTCAGAATTCAGTTTGCTTCAGCTTCAAAACAGAGATGAACTG-----CCTTTCATGCACTCC 258  
Mimu-CD94-1-Sv3 GTTCTCAGAATTCAGTTTGCTTCAGCTTCAAAACAGAGATGAACTG----CAGCCTTTCATGCACTCC 261  
Mimu-CD94-1-Sv4 GTTCTCAGAATTCAGTTTGCTTCAGCTTCAAAACAGAGATGAACTGGCATCAGCCTTTCATGCACTCC 358  
Mimu-CD94-1-Sv5 GTTCTCAGAATTCAGTTTGCTTCAGCTTCAAAACAGAGATGAACTG-----CCTTTCATGCACTCC 527  
Mimu-CD94-2\*01,gc ATTTCTCAGAATTCAGTTTGCTTCAGCTTCAAAACAGAGATGAACTG-----GCTTTTATGTACTCC 346  
Mimu-CD94-2\*02,c ATTTCTCAGAATTCAGTTTGCTTCAGCTTCAAAACAGAGATGAACTG-----GCTTTTATGTACTCC 346  
Mimu-CD94-2\*01-Sv1 ATTTCTCAGAATTCAGTTTGCTTCAGCTTCAAAACAGAGATGAACTG----CAGCCTTTCATGTACTCC 349  
Mimu-CD94-2\*01-Sv2 ATTTCTCAGAATTCAGTTTGCTTCAGCTTCAAAACAGAGATGAACTG-----GCTTTTATGTACTCC 253  
Mimu-CD94-2\*02-Sv2 ATTTCTCAGAATTCAGTTTGCTTCAGCTTCAAAACAGAGATGAACTG-----GCTTTTATGTACTCC 253  
Mimu-CD94-2\*02-Sv3 ATTTCTCAGAATTCAGTTTGCTTCAGCTTCAAAACAGAGATGAACTG-----GCTTTTATGTACTCC 371  
Mimu-CD94-3A\*01,gc GCTTCTCAGAATTCAGTTTGCTTCAGCTTCAAAACAGAGATGAACTG-----AATTTTATGAACCTC 375  
Mimu-CD94-3A\*02,c GCTTCTCAGAATTCAGTTTGCTTCAGCTTCAAAACAGAGATGAACTG-----AATTTTATGAACCTC 375  
Mimu-CD94-3B\*01,gc GCTTCTCAGAATTCAGTTTGCTTCAGCTTCAAAACAGAGATGAACTG-----AATTTTATGAACCTC 336  
Mimu-CD94-3B\*02,c GCTTCTCAGAATTCAGTTTGCTTCAGCTTCAAAACAGAGATGAACTG-----AATTTTATGAACCTC 336

Mimu-CD94-1,gc AATACAAAGTTTTACTGGATTGGACTCTCTACAATACAGAACGTGGAGTCTGGCAGTGGGAGAATGGCT 421  
Mimu-CD94-1-Sv1 AATACAAAGTTTTACTGGATTGGACTCTCTACAATACAGAACGTGGAGTCTGGCAGTGGGAGAATGGCT 424  
Mimu-CD94-1-Sv2 AATACAAAGTTTTACTGGATTGGACTCTCTACAATACAGAACGTGGAGTCTGGCAGTGGGAGAATGGCT 328  
Mimu-CD94-1-Sv3 AATACAAAGTTTTACTGGATTGGACTCTCTACAATACAGAACGTGGAGTCTGGCAGTGGGAGAATGGCT 331  
Mimu-CD94-1-Sv4 AATACAAAGTTTTACTGGATTGGACTCTCTACAATACAGAACGTGGAGTCTGGCAGTGGGAGAATGGCT 428  
Mimu-CD94-1-Sv5 AATACAAAGTTTTACTGGATTGGACTCTCTACAATACAGAACGTGGAGTCTGGCAGTGGGAGAATGGCT 597  
Mimu-CD94-2\*01,gc AATCAATACTTTTACTGGATTGGACTCTCTACAATACAGAACGTGGAGACTGGCAGTGGGAGGATGGCT 416  
Mimu-CD94-2\*02,c AATCAATACTTTTACTGGATTGGACTCTCTACAATACAGAACGTGGAGACTGGCAGTGGGAGGATGGCT 416  
Mimu-CD94-2\*01-Sv1 AATCAATACTTTTACTGGATTGGACTCTCTACAATACAGAACGTGGAGACTGGCAGTGGGAGGATGGCT 419  
Mimu-CD94-2\*01-Sv2 AATCAATACTTTTACTGGATTGGACTCTCTACAATACAGAACGTGGAGACTGGCAGTGGGAGGATGGCT 323  
Mimu-CD94-2\*02-Sv2 AATCAATACTTTTACTGGATTGGACTCTCTACAATACAGAACGTGGAGACTGGCAGTGGGAGGATGGCT 323  
Mimu-CD94-2\*02-Sv3 AATCAATACTTTTACTGGATTGGACTCTCTACAATACAGAACGTGGAGACTGGCAGTGGGAGGATGGCT 441  
Mimu-CD94-3A\*01,gc AGTCAACGCTTTTACTGGATTGGACTCTCTACAATGAAGAACGTGGGCTGGCTGTGGGAGAATGGCT 445  
Mimu-CD94-3A\*02,c AGTCAACGCTTTTACTGGATTGGACTCTCTACAATGAAGAACGTGGGCTGGCTGTGGGAGAATGGCT 445  
Mimu-CD94-3B\*01,gc AGTCAACGCTTTTACTGGATTGGACTCTCTACAATGAAGAACGTGGGCTGGCTGTGGGAGAATGGCT 406  
Mimu-CD94-3B\*02,c AGTCAACGCTTTTACTGGATTGGACTCTCTACAATGAAGAACGTGGGCTGGCTGTGGGAGAATGGCT 406

Mimu-CD94-1,gc CTGCTCTTTCCCAAGATCTATTTTCATCATTGAAACTCCAGATCCAGAAAACGCATATTTGTATGATCT 491  
Mimu-CD94-1-Sv1 CTGCTCTTTCCCAAGATCTATTTTCATCATTGAAACTCCAGATCCAGAAAACGCATATTTGTATGATCT 494  
Mimu-CD94-1-Sv2 CTGCTCTTTCCCAAGATCTATTTTCATCATTGAAACTCCAGATCCAGAAAACGCATATTTGTATGATCT 398  
Mimu-CD94-1-Sv3 CTGCTCTTTCCCAAGATCTATTTTCATCATTGAAACTCCAGATCCAGAAAACGCATATTTGTATGATCT 401  
Mimu-CD94-1-Sv4 CTGCTCTTTCCCAAGATCTATTTTCATCATTGAAACTCCAGATCCAGAAAACGCATATTTGTATGATCT 498  
Mimu-CD94-1-Sv5 CTGCTCTTTCCCAAGATCTATTTTCATCATTGAAACTCCAGATCCAGAAAACGCATATTTGTATGATCT 667  
Mimu-CD94-2\*01,gc CTAATTTTTCCCGGAATCTATTTTCATCATTGAAACTCCAGACCCAAAGAACGCATAGTGTATGACGC 486  
Mimu-CD94-2\*02,c CTAATTTTTCCCGGAATCTATTTTCATCATTGAAACTCCAGACCCAAAGAACGCATAGTGTATGACGC 486  
Mimu-CD94-2\*01-Sv1 CTAATTTTTCCCGGAATCTATTTTCATCATTGAAACTCCAGACCCAAAGAACGCATAGTGTATGACGC 489  
Mimu-CD94-2\*01-Sv2 CTAATTTTTCCCGGAATCTATTTTCATCATTGAAACTCCAGACCCAAAGAACGCATAGTGTATGACGC 393  
Mimu-CD94-2\*02-Sv2 CTAATTTTTCCCGGAATCTATTTTCATCATTGAAACTCCAGACCCAAAGAACGCATAGTGTATGACGC 393  
Mimu-CD94-2\*02-Sv3 CTAATTTTTCCCGGAATCTATTTTCATCATTGAAACTCCAGACCCAAAGAACGCATAGTGTATGACGC 511  
Mimu-CD94-3A\*01,gc CTGCTTTTTCTGGGATCTATTTTCATCATTGAAACTCCAGATACAAAGAACGCATAGTGTATAAGCC 515  
Mimu-CD94-3A\*02,c CTGCTTTTTCTGGGATCTATTTTCATCATTGAAACTCCAGATACAAAGAACGCATAGTGTATAAGCC 515  
Mimu-CD94-3B\*01,gc CTGCTTTTTCTGGGATCTATTTTCATCATTGAAACTCCAGATACAAAGAACGCATAGTGTATAAGCC 476  
Mimu-CD94-3B\*02,c CTGCTTTTTCTGGGATCTATTTTCATCATTGAAACTCCAGATACAAAGAACGCATAGTGTATAAGCC 476

Mimu-CD94-1,gc AACGAACAATACTATGGATGAACCGTGTGAAAGAAAGAATCATTACATCTGTATACTACAGCTTATT**TAA** 561  
Mimu-CD94-1-Sv1 AACGAACAATACTATGGATGAACCGTGTGAAAGAAAGAATCATTACATCTGTATACTACAGCTTATT**TAA** 564  
Mimu-CD94-1-Sv2 AACGAACAATACTATGGATGAACCGTGTGAAAGAAAGAATCATTACATCTGTATACTACAGCTTATT**TAA** 468  
Mimu-CD94-1-Sv3 AACGAACAATACTATGGATGAACCGTGTGAAAGAAAGAATCATTACATCTGTATACTACAGCTTATT**TAA** 471  
Mimu-CD94-1-Sv4 AACGAACAATACTATGGATGAACCGTGTGAAAGAAAGAATCATTACATCTGTATACTACAGCTTATT**TAA** 568  
Mimu-CD94-1-Sv5 AACGAACAATACTATGGATGAACCGTGTGAAAGAAAGAATCATTACATCTGTATACTACAGCTTATT**TAA** 737  
Mimu-CD94-2\*01,gc AATGAAAAGTGCTGTGGATGAACCGTGTGAAAGACAGAATCATTTCATCTGTAAAAAA-AGCTTATTTAA 555  
Mimu-CD94-2\*02,c AATGAAAAGTGCTGTGGATGAACCGTGTGAAAGACAGAATCATTTCATCTGTAAAAAA-AGCTTATTTAA 555  
Mimu-CD94-2\*01-Sv1 AATGAAAAGTGCTGTGGATGAACCGTGTGAAAGACAGAATCATTTCATCTGTAAAAAA-AGCTTATTTAA 558  
Mimu-CD94-2\*01-Sv2 AATGAAAAGTGCTGTGGATGAACCGTGTGAAAGACAGAATCATTTCATCTGTAAAAAA-AGCTTATTTAA 462  
Mimu-CD94-2\*02-Sv2 AATGAAAAGTGCTGTGGATGAACCGTGTGAAAGACAGAATCATTTCATCTGTAAAAAA-AGCTTATTTAA 462  
Mimu-CD94-2\*02-Sv3 AATGAAAAGTGCTGTGGATGAACCGTGTGAAAGACAGAATCATTTCATCTGTAAAAAA-AGCTTATTTAA 580  
Mimu-CD94-3A\*01,gc AATGAACAGTGCTATGGATGAACCATGTGAAAGAGAGAATCATTACATCTGTAAACAACAGCTCATT**TAA** 585  
Mimu-CD94-3A\*02,c AATGAACAGTGCTATGGATGAACCATGTGAAAGAGAGAATCATTACATCTGTAAACAACAGCTCATT**TAA** 585  
Mimu-CD94-3B\*01,gc AATGAACAGTGCTATGGATGAACCATGTGAAAGAGAGAATCATTACATCTGTAAACAACAGCTCATT**TAA** 546  
Mimu-CD94-3B\*02,c AATGAACAGTGCTATGGATGAACCATGTGAAAGAGAGAATCATTACATCTGTAAACAACAGCTCATT**TAA** 546

Mimu-CD94-1,gc	GTGTTTATTGGAACAAAGAGACGG-----	585
Mimu-CD94-1-Sv1	GTGTTTATTGGAACAAAGAGACGG-----	588
Mimu-CD94-1-Sv2	GTGTTTATTGGAACAAAGAGACGG-----	492
Mimu-CD94-1-Sv3	GTGTTTATTGGAACAAAGAGACGG-----	495
Mimu-CD94-1-Sv4	GTGTTTATTGGAACAAAGAGACGG-----	592
Mimu-CD94-1-Sv5	GTGTTTATTGGAACAAAGAGACGG-----	761
Mimu-CD94-2*01,gc	GTGCTTCTTAGGACAGAGAGGTGGGGACAACCAATCCAGTATTACTACAAATAGTATTTTACCCACAT	625
Mimu-CD94-2*02,c	GTGCTTCTTAGGACAGAGAGGTGGGGACAACCAATCCAGTATTACTACAAATAGTATTTTACCCACAT	625
Mimu-CD94-2*01-Sv1	GTGCTTCTTAGGACAGAGAGGTGGGGACAACCAATCCAGTATTACTACAAATAGTATTTTACCCACAT	628
Mimu-CD94-2*01-Sv2	GTGCTTCTTAGGACAGAGAGGTGGGGACAACCAATCCAGTATTACTACAAATAGTATTTTACCCACAT	532
Mimu-CD94-2*02-Sv2	GTGCTTCTTAGGACAGAGAGGTGGGGACAACCAATCCAGTATTACTACAAATAGTATTTTACCCACAT	532
Mimu-CD94-2*02-Sv3	GTGCTTCTTAGGACAGAGAGGTGGGGACAACCAATCCAGTATTACTACAAATAGTATTTTACCCACAT	650
Mimu-CD94-3A*01,gc	GTGCCCTTGGGT CAGAGAGGTG-----	608
Mimu-CD94-3A*02,c	GTGCCCTTGGGT CAGAGAGGTG-----	608
Mimu-CD94-3B*01,gc	GTGCCCTTGGGT CAGAGAGGTG-----	569
Mimu-CD94-3B*02,c	GTGCCCTTGGGT CAGAGAGGTG-----	569
Mimu-CD94-2*01,gc	TATTGCTATTAATAATTATCTATTTCTTAGTTCTGTAAAATGTGTCAAAGTCTTATGATACAATTTTC	695
Mimu-CD94-2*02,c	TATTGCTATTAATAATTATCTATTTCTTAGTTCTGTAAAATGTGTCAAAGTCTT-----	680
Mimu-CD94-2*01-Sv1	TATTGCTATTAATAATTATCTATTTCTTAGTTCTGTAAAATGTGTCAAAGTCTT-----	683
Mimu-CD94-2*01-Sv2	TATTGCTATTAATAATTATCTATTTCTTAGTTCTGTAAAATGTGTCAAAGTCTT-----	587
Mimu-CD94-2*02-Sv2	TATTGCTATTAATAATTATCTATTTCTTAGTTCTGTAAAATGTGTCAAAGTCTT-----	587
Mimu-CD94-2*02-Sv3	TATTGCTATTAATAATTATCTATTTCTTAGTTCTGTAAAATGTGTCAAAGTCTT-----	705
Mimu-CD94-2*01,gc	CTATATTTAAAGACATGTGCTTTAAATTTGATGAAATTTGTACACCTACCTACATCTGAAATTATAAAGT	765
Mimu-CD94-2*01,gc	GCAAGTTAAATTTATGAATTTTTAAATGCATTTTAATATATATGGTTCATATAAAATTC AATGTAGTTTT	835
Mimu-CD94-2*01,gc	AGTGCATATTCGTGTGATTTTCTTTATATCTTTATAAATTTCTCTTGGCAGAAATTTAAATAAATGTAAT	905
Mimu-CD94-2*01,gc	TCACACTCAATAAAAAAAAAAAAAAAAA 931	

## 7.6.2 Nukleotidvergleich der NKG2D-Sequenzen des Mausmakis

g, genomisch; c, cDNA; Sv, Spleißvariante; Mimu, *Microcebus murinus*.

Mimu-NKG2D*01,gc	CACAAGCATCCAGATCTTCCCTCCTCTGATCAGAGATGAATGAATTCATAATTATAACTGGAACTGGCA	70
Mimu-NKG2D*02,c	CACAAGCATCCAGATCTTCCCTCCTCTGATCAGAGATGAACGAATTCATAATTATAACTGGAACTGGCA	70
Mimu-NKG2D*03,g	CACAAGCATCCAGATCTTCCCTCCTCTGATCAGAGATGAATGAATTCATAATTATAACTGGAACTGGCA	70
Mimu-NKG2D*01-Sv1	CACAAGCATCCAGATCTTCCCTCCTCTGATCAGAGATGAATGAATTCATAATTATAACTGGAACTGGCA	70
Mimu-NKG2D*01-Sv2	CACAAGCATCCAGATCTTCCCTCCTCTGATCAGAGATGAATGAATTCATAATTATAACTGGAACTGGCA	70
Mimu-NKG2D*01-Sv3	CACAAGCATCCAGATCTTCCCTCCTCTGATCAGAGATGAATGAATTCATAATTATAACTGGAACTGGCA	70
Mimu-NKG2D*01,gc	AAGCGTGATACTTCTACACAATGGAAAAAGCAAAGATCTACACTAATCACAAGCAGATGTACAGAAAAC	140
Mimu-NKG2D*02,c	AAGCGTGATACTTCTACACAATGGAAAAAGCAAAGATCTA AACTAATCACAAGCAGATGTACAGAAAAC	140
Mimu-NKG2D*03,g	AAGCGTGATACTTCTACACAATGGAAAAAGCAAAGATCTACACTAATCACAAGCAGATGTACAGAAAAC	140
Mimu-NKG2D*01-Sv1	AAGCGTGATACTTCTACACAATGGAAAAAGCAAAGATCTACACTAATCACAAGCAGATGTACAGAAAAC	140
Mimu-NKG2D*01-Sv2	AAGCGTGATACTTCTACACAATGGAAAAAGCAAAGATCTACACTAATCACAAGCAGATGTACAGAAAAC	140
Mimu-NKG2D*01-Sv3	AAGCGTGATACTTCTACACAATGGAAAAAGCAAAGATCTACACTAATCACAAGCAGATGTACAGAAAAC	140
Mimu-NKG2D*01,gc	CATCTCCATTTTTTCTCTGCCGTTCCATTGCTATAGCTATGGGAATCCATTTTATTATGGTAACAAT	210
Mimu-NKG2D*02,c	CATCTCCATTTTTTCTCTGCCGTTCCATTGCTATAGCTATGGGAATCCATTTTATTATGGTAACAAT	210
Mimu-NKG2D*03,g	CATCTCCATTTTTTCTCTGCCGTTCCATTGCTATAGCTATGGGAATCCATTTTATTATGGTAACAAT	210
Mimu-NKG2D*01-Sv1	-----	140
Mimu-NKG2D*01-Sv2	CATCTCCATTTTTTCTCTGCCGTTCCATTGCTATAGCTATGGGAATCCATTTTATTATGGTAACAAT	210
Mimu-NKG2D*01-Sv3	CATCTCCATTTTTTCTCTGCCGTTCCATTGCTATAGCTATGGGAATCCATTTTATTATGGTAACAAT	202

Mimu-NKG2D*01,gc	ACTGAGTGCCATATTCATAAATTCACTATTCACCAAGGAGTTCCAATATCCTTGAAGGAAGTTACTGT	280
Mimu-NKG2D*02,c	ACTGAGTGCCATATTCATAAATTCACTATTCACCAAGGAGTTCCAATATCCTTGAAGGAAGTTACTGT	280
Mimu-NKG2D*03,g	ACTGAGTGCCATATTCATAAATTCACTATTCACCAAGGAGTTCCAATATCCTTGAAGGAAGTTACTGT	280
Mimu-NKG2D*01-Sv1	-----CACTATTCACCAAGGAGTTCCAATATCCTTGAAGGAAGTTACTGT	187
Mimu-NKG2D*01-Sv2	ACTGAGTGCCATATTCATAAATTC-----CAAGTTACTGT	244
Mimu-NKG2D*01-Sv3	-----CACTATTCACCAAGGAGTTCCAATATCCTTGAAGGAAGTTACTGT	249
Mimu-NKG2D*01,gc	GGCCCATGTCTAAAAACTGGTTATGCTATAGAAATAACTGCTACCAATTTTTTAATGAGAGCAAAAAC	350
Mimu-NKG2D*02,c	GGCCCATGTCTAAAAACTGGTTATGCTATAGAAATAACTGCTACCAATTTTTTAATGAGAGCAAAAAC	350
Mimu-NKG2D*03,g	GGCCCATGTCTAAAAACTGGTTATGCTATAGAAATAACTGCTACCAATTTTTTAATGAGAGCAAAAAC	350
Mimu-NKG2D*01-Sv1	GGCCCATGTCTAAAAACTGGTTATGCTATAGAAATAACTGCTACCAATTTTTTAATGAGAGCAAAAAC	257
Mimu-NKG2D*01-Sv2	GGCCCATGTCTAAAAACTGGTTATGCTATAGAAATAACTGCTACCAATTTTTTAATGAGAGCAAAAAC	314
Mimu-NKG2D*01-Sv3	GGCCCATGTCTAAAAACTGGTTATGCTATAGAAATAACTGCTACCAATTTTTTAATGAGAGCAAAAAC	319
Mimu-NKG2D*01,gc	GGTATGAGAGCCAAGCTTCTTGCATGTCTCAAAATTCAGCCTTCTGAAGATATACAGCAGAGTGGACCA	420
Mimu-NKG2D*02,c	GGTATGAGAGCCAAGCTTCTTGCATGTCTCAAAATTCAGCCTTCTGAAGATATACAGCAGAGTGGACCA	420
Mimu-NKG2D*03,g	GGTATGAGAGCCAAGCTTCTTGCATGTCTCAAAATTCAGCCTTCTGAAGATATACAGCAGAGTGGACCA	420
Mimu-NKG2D*01-Sv1	GGTATGAGAGCCAAGCTTCTTGCATGTCTCAAAATTCAGCCTTCTGAAGATATACAGCAGAGTGGACCA	327
Mimu-NKG2D*01-Sv2	GGTATGAGAGCCAAGCTTCTTGCATGTCTCAAAATTCAGCCTTCTGAAGATATACAGCAGAGTGGACCA	384
Mimu-NKG2D*01-Sv3	GGTATGAGAGCCAAGCTTCTTGCATGTCTCAAAATTCAGCCTTCTGAAGATATACAGCAGAGTGGACCA	389
Mimu-NKG2D*01,gc	GGATTTCCCTTAAATTTGGTGAAGTCATATCATTGGATGGGACTAGTACAAATGTCAACAAATGGATCCTGG	490
Mimu-NKG2D*02,c	GGATTTCCCTTAAATTTGGTGAAGTCATATCATTGGATGGGACTAGTACAAATGTCAACAAATGGATCCTGG	490
Mimu-NKG2D*03,g	GGATTTCCCTTAAATTTGGTGAAGTCATATCATTGGATGGGACTAGTACAAATGTCAACAAATGGATCCTGG	490
Mimu-NKG2D*01-Sv1	GGATTTCCCTTAAATTTGGTGAAGTCATATCATTGGATGGGACTAGTACAAATGTCAACAAATGGATCCTGG	397
Mimu-NKG2D*01-Sv2	GGATTTCCCTTAAATTTGGTGAAGTCATATCATTGGATGGGACTAGTACAAATGTCAACAAATGGATCCTGG	454
Mimu-NKG2D*01-Sv3	GGATTTCCCTTAAATTTGGTGAAGTCATATCATTGGATGGGACTAGTACAAATGTCAACAAATGGATCCTGG	459
Mimu-NKG2D*01,gc	CAGTGGGACGATGGTACCATTCTGTACCTAACCAACTAACAGTGATTGAAATGCAGAGGGGAAGCTGTG	560
Mimu-NKG2D*02,c	CAGTGGGACGATGGTACCATTCTGTACCTAACCAACTAACAGTGATTGAAATGCAGAGGGGAAGCTGTG	560
Mimu-NKG2D*03,g	CAATGGGACGATGGTACCATTCTGTACCTAACCAACTAACAGTGATTGAAATGCAGAGGGGAAGCTGTG	560
Mimu-NKG2D*01-Sv1	CAGTGGGACGATGGTACCATTCTGTACCTAACCAACTAACAGTGATTGAAATGCAGAGGGGAAGCTGTG	467
Mimu-NKG2D*01-Sv2	CAGTGGGACGATGGTACCATTCTGTACCTAACCAACTAACAGTGATTGAAATGCAGAGGGGAAGCTGTG	524
Mimu-NKG2D*01-Sv3	CAGTGGGACGATGGTACCATTCTGTACCTAACCAACTAACAGTGATTGAAATGCAGAGGGGAAGCTGTG	529
Mimu-NKG2D*01,gc	TGGTCTATGGCTCAAGCTTTAAAGGCTATACAGAAAACGTTCCTCCATACATGTACATTTGTATGCG	630
Mimu-NKG2D*02,c	TGGTCTATGGCTCAAGCTTTAAAGGCTATACAGAAAACGTTCCTCCATACATGTACATTTGTATGCG	630
Mimu-NKG2D*03,g	TGGTCTATGGCTCAAGCTTTAAAGGCTATACAGAAAACGTTCCTCCATACATGTACATTTGTATGCG	630
Mimu-NKG2D*01-Sv1	TGGTCTATGGCTCAAGCTTTAAAGGCTATACAGAAAACGTTCCTCCATACATGTACATTTGTATGCG	537
Mimu-NKG2D*01-Sv2	TGGTCTATGGCTCAAGCTTTAAAGGCTATACAGAAAACGTTCCTCCATACATGTACATTTGTATGCG	594
Mimu-NKG2D*01-Sv3	TGGTCTATGGCTCAAGCTTTAAAGGCTATACAGAAAACGTTCCTCCATACATGTACATTTGTATGCG	599
Mimu-NKG2D*01,gc	GAGAATTATGTAAGTACTTAATCAACCATCTCAACAAAAGCCA	673
Mimu-NKG2D*02,c	GAGAATTATGTAAGTACTTAATCAACCATCTCAACAAAAGCCA	673
Mimu-NKG2D*03,g	GAGAATTATGTAAGTACTTAATCAACCATCTCAACAAAAGCCA	673
Mimu-NKG2D*01-Sv1	GAGAATTATGTAAGTACTTAATCAACCATCTCAACAAAAGCCA	580
Mimu-NKG2D*01-Sv2	GAGAATTATGTAAGTACTTAATCAACCATCTCAACAAAAGCCA	637
Mimu-NKG2D*01-Sv3	GAGAATTATGTAAGTACTTAATCAACCATCTCAACAAAAGCCA	642

### 7.6.3 Nukleotidvergleich der NKG2-Sequenzen des Mausmakis

Für die aus den genomischen BAC-Sequenzen abgeleiteten cDNA-Sequenzen von NKG2-5 ist die NKG2-5A-Variante angegeben. g, genomisch; c, cDNA; Sv, Spleißvariante; Mimu, *Microcebus murinus*.

```

Mimu-NKG2-1*01,g TCCCTGACATCACACAGCTGTAGAGATGGATAACCAAAGAGTAATCTACTCTGAAATGAATCTGGCCAAA 70
Mimu-NKG2-1*02,gc TCCCTGACATCACACAGCTGTAGAGATGGATAACCAAAGAGTAATCTACTCTGAAATGAATCTGGCCAAA 70
Mimu-NKG2-2*01,g -----CAGAGATGAAGAACCAGAAAGTGACCTACTCAGGAATGAACCTGGCCAAAG 50
Mimu-NKG2-2*02,g -----CAGAGATGAAGAACCAGAAAGTGACCTACTCAGGAATGAACCTGGCCAAAG 50
Mimu-NKG2-2*03,c -----CAGAGATGAAGAACCAGAAAGTGACCTACTCAGGAATGAACCTGGCCAAAG 50
Mimu-NKG2-2*04,c -----CAGAGATGAAGAACCAGAAAGTGACCTACTCAGGAATGAACCTGGCCAAAG 50
Mimu-NKG2-2*04-Sv1 -----CAGAGATGAAGAACCAGAAAGTGACCTACTCAGGAATGAACCTGGCCAAAG 50
Mimu-NKG2-3*01,gc -GTCTGACATCACACAGTTGCAAGATGGATAATCAAACAGTAATCTACTCTGAAATCCTTCTGGCCAAA 69
Mimu-NKG2-3*02,g -GTCTGACATCACACAGTTGCAAGATGGATAATCAAACAGTAATCTACTCTGAAATCCTTCTGGCCAAA 69
Mimu-NKG2-3*03,c -GTCTGACATCACACAGTTGCAAGATGGATAATCAAACAGTAATCTACTCTGAAATCCTTCTGGCCAAA 69
Mimu-NKG2-5A*01,g --TCTGA-GTCACACAGCTGCGGAGATGAAGAACCAGAAAGT-----GAATCTGGCCAAAG 52
Mimu-NKG2-5A*02,g --TCTGA-GTCACACAGCTGCGGAGATGAAGAACCAGAAAGT-----GAATCTGGCCAAAG 52
Mimu-NKG2-5A*03,c --TCTGA-GTCACACAGCTGCGGAGATGAAGAACCAGAAAGT-----GAATCTGGCCAAAG 52
Mimu-NKG2-5B*03,c --TCTGA-GTCACACAGCTGCGGAGATGAAGAACCAGAAAGT-----GAATCTGGCCAAAG 52
Mimu-NKG2-5*03-Sv1 --TCTGA-GTCACACAGCTGCGGAGATGAAGAACCAGAAAGT-----GAATCTGGCCAAAG 52
Mimu-NKG2-5*03-Sv2 --TCTGA-GTCACACAGCTGCGGAGATGAAGAACCAGAAAGT-----GAATCTGGCCAAAG 52
Mimu-NKG2-5*03-Sv3 --TCTGA-GTCACACAGCTGCGGAGATGAAGAACCAGAAAGT-----GAATCTGGCCAAAG 52
Mimu-NKG2-8*01,g --CCTGACATTACACAGCAGCGGAGATGGATAACCAAAGAGTAATCTACTCTGAAATGAATCTGGCCCAA 68
Mimu-NKG2-8*02,g --CCTGACATTACACAGCAGCGGAGATGGATAACCAAAGAGTAATCTACTCTGAAATGAATCTGGCCCAA 68
Mimu-NKG2-8*03,c --CCTGACATTACACAGCAGCGGAGATGGATAACCAAAGAGTAATCTACTCTGAAATGAATCTGGCCCAA 68
Mimu-NKG2-8*03-Sv1 --CCTGACATTACACAGCAGCGGAGATGGATAACCAAAGAGTAATCTACTCTGAAATGAATCTGGCCCAA 68

```

```

Mimu-NKG2-1*01,g AACCCAAAGAGGCGAGCAAAGGAAATCTAAGGACACTAAAAGCTCCATTTCAAACACTGAACAGGAAATAA 140
Mimu-NKG2-1*02,gc AACCCAAAGAGGCGAGCAAAGGAAATCTAAGGACACTAAAAGCTCCATTTCAAACACTGAACAGGAAATAA 140
Mimu-NKG2-2*01,g GACCCAAAGAGGCGAGCAAAGAAATTTAAGGGTGATAAAAAGCTCCATTTTCAGTAAGTGAACAGGAAATAA 120
Mimu-NKG2-2*02,g GACCCAAAGAGGCGAGCAAAGAAATTTAAGGGTGATAAAAAGCTCCATTTTCAGTAAGTGAACAGGAAATAA 120
Mimu-NKG2-2*03,c GACCCAAAGAGGCGAGCAAAGAAATTTAAGGGTGATAAAAAGCTCCATTTTCAGTAAGTGAACAGGAAATAA 120
Mimu-NKG2-2*04,c GACCCAAAGAGGCGAGCAAAGAAATTTAAGGGTGATAAAAAGCTCCATTTTCAGTAAGTGAACAGGAAATAA 120
Mimu-NKG2-2*04-Sv1 GACCCAAAGAGGCGAGCAAAGAAATTTAAGGGTGATAAAAAGCTCCATTTTCAGTAAGTGAACAGGAAATAA 120
Mimu-NKG2-3*01,gc ACTCCAAAAGGCGAGCAAAGAAATCTAAGGACACTACGAGCTCCATTTTCAGAACTGACAGGAAATAA 139
Mimu-NKG2-3*02,g ACTCCAAAAGGCGAGCAAAGAAATCTAAGGACACTACGAGCTCCATTTTCAGAACTGACAGGAAATAA 139
Mimu-NKG2-3*03,c ACTCCAAAAGGCGAGCAAAGAAATCTAAGGACACTACGAGCTCCATTTTCAGAACTGACAGGAAATAA 139
Mimu-NKG2-5A*01,g GACCCAAAGAGGCGAGCAAAGAAATTTAAGGGTGGAAAAGCTCCATTTCTGTAAGTGAACAGGAAATAG 122
Mimu-NKG2-5A*02,g GACCCAAAGAGGCGAGCAAAGAAATTTAAGGGTGGAAAAGCTCCATTTCTGTAAGTGAACAGGAAATAG 122
Mimu-NKG2-5A*03,c GACCCAAAGAGGCGAGCAAAGAAATTTAAGGGTGGAAAAGCTCCATTTCTGTAAGTGAACAGGAAATAG 122
Mimu-NKG2-5B*03,c GACCCAAAGAGGCGAGCAAAGAAATTTAAGGGTGGAAAAGCTCCATTTCTGTAAGTGAACAGGAAATAG 122
Mimu-NKG2-5*03-Sv1 GACCCAAAGAGGCGAGCAAAGAAATTTAAGGGTGGAAAAGCTCCATTTCTGTAAGTGAACAGGAAATAG 122
Mimu-NKG2-5*03-Sv2 GACCCAAAGAGGCGAGCAAAGAAATTTAAGGGTGGAAAAGCTCCATTTCTGTAAGTGAACAGGAAATAG 122
Mimu-NKG2-5*03-Sv3 GACCCAAAGAGGCGAGCAAAGAAATTTAAGGGTGGAAAAGCTCCATTTCTGTAAGTGAACAGGAAATAG 122
Mimu-NKG2-8*01,g AACTCAAAGAGGCGAGCAAAGGAAATCTAAGGACACTAAGAGCTCCATTTTCAGAAACCAAACAGGAAATAA 138
Mimu-NKG2-8*02,g AACTCAAAGAGGCGAGCAAAGGAAATCTAAGGACACTAAGAGCTCCATTTTCAGAAACCAAACAGGAAATAA 138
Mimu-NKG2-8*03,c AACTCAAAGAGGCGAGCAAAGGAAATCTAAGGACACTAAGAGCTCCATTTTCAGAAACCAAACAGGAAATAA 138
Mimu-NKG2-8*03-Sv1 AACTCAAAGAGGCGAGCAAAGGAAATCTAAGGACACTAAGAGCTCCATTTTCAGAAACCAAACAGGAAATAA 138

```

```

Mimu-NKG2-1*01,g CCTATGCAGAATTAACCTTCAAATGCTGCTCA---GGATCTTCAAGGATGACAGATCTTACCACCTG 207
Mimu-NKG2-1*02,gc CCTATGCAGAATTAACCTTCAAATGCTGCTCA---GGATCTTCAAGGATGACAGATCTTACCACCTG 207
Mimu-NKG2-2*01,g CCCAAGTGAATTAACCTTCAAATGCTACTTTCAGGGGATCTTCAGGGGAAGGAGAAGACCTGCTACTA 190
Mimu-NKG2-2*02,g CCCAAGTGAATTAACCTTCAAATGCTACTTTCAGGGGATCTTCAGGGGAAGGAGAAGACCTGCTACTA 190
Mimu-NKG2-2*03,c CCCAAGTGAATTAACCTTCAAATGCTACTTTCAGGGGATCTTCAGGGGAAGGAGAAGACCTGCTACTA 190
Mimu-NKG2-2*04,c CCCAAGTGAATTAACCTTCAAATGCTACTTTCAGGGGATCTTCAGGGGAAGGAGAAGACCTGCTACTA 190
Mimu-NKG2-2*04-Sv1 CCCAAGTGAATTAACCTTCAAATGCTACTTTCAGGGGATCTTCAGGGGAAGGAGAAGACCTGCTACTA 190
Mimu-NKG2-3*01,gc CCTATGCTGAATTAACCTTCAAATGCTGCTCA---GGATCTTCAAAGGTTGACAGATCTTACCACCTA 206
Mimu-NKG2-3*02,g CCTATGCTGAATTAACCTTCAAATGCTGCTCA---GGATCTTCAAAGGTTGACAGATCTTACCACCTA 206
Mimu-NKG2-3*03,c CCTATGCTGAATTAACCTTCAAATGCTGCTCA---GGATCTTCAAAGGTTGACAGATCTTACCACCTA 206
Mimu-NKG2-5A*01,g CCCAAGTGAATTAACCTTCAAATGCTACTCT---GGATCTTTCAGGGGAAGGAGAAGATCTGCTACTA 189
Mimu-NKG2-5A*02,g CCCAAGTGAATTAACCTTCAAATGCTACTCT---GGATCTTTCAGGGGAAGGAGAAGATCTGCTACTA 189
Mimu-NKG2-5A*03,c CCCAAGTGAATTAACCTTCAAATGCTACTCT---GGATCTTTCAGGGGAAGGAGAAGATCTGCTACTA 189
Mimu-NKG2-5B*03,c CCCAAGTGAATTAACCTTCAAATGCTACTCT---GGATCTTTCAGGGGAAGGAGAAGATCTGCTACTA 189
Mimu-NKG2-5*03-Sv1 CCCAAGTGAATTAACCTTCAAATGCTACTCT---GGATCTTTCAGGGGAAGGAGAAGATCTGCTACTA 189
Mimu-NKG2-5*03-Sv2 CCCAAGTGAATTAACCTTCAAATGCTACTCT---GGATCTTTCAGGGGAAGGAGAAGATCTGCTACTA 189
Mimu-NKG2-5*03-Sv3 CCCAAGTGAATTAACCTTCAAATGCTACTCT---GGATCTTTCAGGGGAAGGAGAAGATCTGCTACTA 189
Mimu-NKG2-8*01,g CCTATGCAGAATTAACCTTCAAATGCTGCTCA---GGATCTTCAAGGATGACAGATCTTATCACTG 205
Mimu-NKG2-8*02,g CCTATGCAGAATTAACCTTCAAATGCTGCTCA---GGATCTTCAAGGATGACAGATCTTATCACTG 205
Mimu-NKG2-8*03,c CCTATGCAGAATTAACCTTCAAATGCTGCTCA---GGATCTTCAAGGATGACAGATCTTATCACTG 205
Mimu-NKG2-8*03-Sv1 CCTATGCAGAATTAACCTTCAAATGCTGCTCA---GGATCTTCAAGGATGACAGATCTTATCACTG 205

```

Mimu-NKG2-1\*01,g CAAAGATTACTGTTACCTCCAGAGAAGCTCATGCTGGGATCCTGGGAATCATCTGTCTTATCTTAATG 277  
 Mimiu-NKG2-1\*02,gc CAAAGATTACTGTTACCTCCAGAGAAGCTCATGCTGGGATCCTGGGAATCATCTGTCTTATCTTAATG 277  
 Mimiu-NKG2-2\*01,g CCAATTTTCACTGCTACCTCCAGAGAAGCTCAGTCTGAGATCCTGGCCGTCATTTGCACCTGTCTAGTG 260  
 Mimiu-NKG2-2\*02,g CCAATTTTCACTGCTACCTCCAGAGAAGCTCAGTCTGAGATCCTGGCCATCATTGACCTGTCTAGTG 260  
 Mimiu-NKG2-2\*03,c CCAATTTTCACTGCTACCTCCAGAGAAGCTCAGTCTGAGATCCTGGCCATCATTGACCTGTCTAGTG 260  
 Mimiu-NKG2-2\*04,c CCAATTTTCACTGCTACCTCCAGAGAAGCTCAGTCTGAGATCCTGGCCATCATTGACCTGTCTAGTG 260  
 Mimiu-NKG2-2\*04-Sv1 CCAATTTTCACTGCTACCTCCAGAGAAGCTCAGTCTGAGATCCTGGCCATCATTGACCTGTCTAGTG 260  
 Mimiu-NKG2-3\*01,gc CAAAGATTACTGTTACCTCAAGAGAAGCTCATGCTGGGATCCTGGGAATTCCTGTCTTGTCTTAATA 276  
 Mimiu-NKG2-3\*02,g CAAAGATTACTGTTACCTCAAGAGAAGCTCATGCTGGGATCCTGGGAATTCCTGTCTTGTCTTAATA 276  
 Mimiu-NKG2-3\*03,c CAAAGATTACTGTTACCTCAAGAGAAGCTCATGCTGGGATCCTGGGAATTCCTGTCTTGTCTTAATA 276  
 Mimiu-NKG2-5A\*01,g CAAACTTTCACTGCTACCTCCAGAGAAGCTCAGTCTGAGATCCTGGCTGTCATTTGCGTTGTCTAGTG 259  
 Mimiu-NKG2-5A\*02,g CAACGTTTCACTGCTACCTCCAGAGAAGCTCAGTCTGAGATCCTGGCTGTCATTTGCGTTGTCTAGTG 259  
 Mimiu-NKG2-5A\*03,c CAAACTTTCACTGCTACCTCCAGAGAAGCTCAGTCTGAGATCCTGGCTGTCATTTGCGTTGTCTAGTG 259  
 Mimiu-NKG2-5B\*03,c CAAACTTTCACTGCTACCTCCAGAGAAGCTCAGTCTGAGATCCTGGCTGTCATTTGCGTTGTCTAGTG 259  
 Mimiu-NKG2-5\*03-Sv1 CAAACTTTCACTGCTACCTCCAGAGAAGCTCAGTCTGAGATCCTGGCTGTCATTTGCGTTGTCTAGTG 259  
 Mimiu-NKG2-5\*03-Sv2 CAAACTTTCACTGCTACCTCCAGAGAAGCTCAGTCTGAGATCCTGGCTGTCATTTGCGTTGTCTAGTG 259  
 Mimiu-NKG2-5\*03-Sv3 CAAACTTTCACTGCTACCTCCAGAGAAGCTCAGTCTGAGATCCTGGCTGTCATTTGCGTTGTCTAGTG 259  
 Mimiu-NKG2-8\*01,g CAAAGATTGCTGTTACCTCCAGAGAAGCTCATGCTGGGATCCTGGGAATCATCTGTCTTGTCTTAATA 275  
 Mimiu-NKG2-8\*02,g CAAAGATTGCTGTTACCTCCAGAGAAGCTCATGCTGGGATCCTGGGAATCATCTGTCTTGTCTTAATA 275  
 Mimiu-NKG2-8\*03,c CAAAGATTGCTGTTACCTCCAGAGAAGCTCATGCTGGGATCCTGGGAATCATCTGTCTTGTCTTAATA 275  
 Mimiu-NKG2-8\*03-Sv1 CAAAGATTGCTGTTACCTCCAGAGAAGCTCATGCTGGGATCCTGGGAATCATCTGTCTTGTCTTAATA 275

Mimu-NKG2-1\*01,g CCTATGGTAATAAAA-----CTTGTTCATCCCTC-----AAGACTGATGCAGAATAATTCTC 329  
 Mimiu-NKG2-1\*02,gc TCTATGGTAATAAAA-----CTTGTTCATCCCTC-----AAGACTGATGCAGAATAATTCTC 329  
 Mimiu-NKG2-2\*01,g AGCTCTGTGTTAAAAATGATATTAAGTCTACATTCCTGTACATTAACACAGAAGCAGCAAAATTTCTT 330  
 Mimiu-NKG2-2\*02,g GGCTCTGTGTTAAAAATGATATTAAGTCTACATTCCTGTACATTAACACAGAAGCAGCAAAATTTCTT 330  
 Mimiu-NKG2-2\*03,c GGCTCTGTGTTAAAAATGATATTAAGTCTACATTCCTGTACATTAACACAGAAGCAGCAAAATTTCTT 330  
 Mimiu-NKG2-2\*04,c AGCTCTGTGTTAAAAATGATATTAAGTCTACATTCCTGTACATTAACACAGAAGCAGCAAAATTTCTT 330  
 Mimiu-NKG2-2\*04-Sv1 AGCTCTGTGTTAAAAATGATATTAAGTCTACATTCCTGTACATTAACACAGAAGCAGCAAAATTTCTT 300  
 Mimiu-NKG2-3\*01,gc ATGTCCACTGT-----GGTAACAAGTCTGTCAATTCCTCCAGAGTACCTCAGGAACAGAATAATTTT 340  
 Mimiu-NKG2-3\*02,g ATGTCCACTGT-----GGTAACAAGTCTGTCAATTCCTCCAGAGTACCTCAGGAACAGAATAATTTT 340  
 Mimiu-NKG2-3\*03,c ATGTCCACTGT-----GGTAACAAGTCTGTCAATTCCTCCAGAGTACCTCAGGAACAGAATAATTTT 340  
 Mimiu-NKG2-5A\*01,g GGCTCTGTGTTAAAAATGGTATTAATAGCTCTTATTCCTTTACAGTAATAAAGAAGCAGGACAATTCCT 329  
 Mimiu-NKG2-5A\*02,g GGCTCTGTGTTAAAAATGGTATTAATAGCTCTTATTCCTTTACAGTAATAAAGAAGCAGGACAATTCCT 329  
 Mimiu-NKG2-5A\*03,c GGCTCTGTGTTAAAAATGGTATTAATAGCTCTTATTCCTTTACAGTAATAAAGAAGCAGGACAATTCCT 329  
 Mimiu-NKG2-5B\*03,c GGCTCTGTGTTAAAAATGGTATTAATAGCTCTTATTCCTTTACAGTAATAAAGAAGCAGGACAATTCCT 323  
 Mimiu-NKG2-5\*03-Sv1 GGCTCTGTGTTAAAAATGGTATTAATAGCTCTTATTCCTTTACAGTAATAAAGAAGCAGGACAATTCCT 323  
 Mimiu-NKG2-5\*03-Sv2 GGCTCTGTGTTAAAAATGGTATTAATAGCTCTTATTCCTTTACAGTAATAAAGAAGCAGGACAATTCCT 329  
 Mimiu-NKG2-5\*03-Sv3 GGCTCTGTGTTAAAAATGGTATTAATAGCTCTTATTCCTTTACAGTAATAAAGAAGCAGGACAATTCCT 323  
 Mimiu-NKG2-8\*01,g ATGTCCACTGT-----GGTAACAAGTCTGGTCTATCCCTCTACAGAAACAAAGAAGCAGAAACAATCTC 339  
 Mimiu-NKG2-8\*02,g ATGTCCACTGT-----GGTAACAAGTCTGGTCTATCCCTCTACAGAAACAAAGAAGCAGAAACAATCTC 339  
 Mimiu-NKG2-8\*03,c ATGTCCACTGT-----GGTAACAAGTCTGGTCTATCCCTCTACAGAAACAAAGAAGCAGAAACAATCTC 339  
 Mimiu-NKG2-8\*03-Sv1 ATGTCCACTGT-----GGTAACAAGTCTGGTCTATCCCTCTACAGAAACAAAGAAGCAGAAACAATCTC 339

Mimu-NKG2-1\*01,g TTCAGAAATAGGAACTCAGAAAGATAGTGATTCTTCAGCATATCACTGTGCTCATGTCAGAGGAGTG 399  
 Mimiu-NKG2-1\*02,gc TTCAGAAATAGGAACTCAGAAAGATAGTGATTCTTCAGCATATCACTGTGCTCATGTCAGAGGAGTG 399  
 Mimiu-NKG2-2\*01,g TTCAGACTATAAGAACTCAGAAAG-----CATATGGTTGTGGTCGTTGTCCAGAGGAGTG 385  
 Mimiu-NKG2-2\*02,g TTCAGGCTATAAGAACTCAGAAAG-----CATACGGTTGTGGTCGTTGTCCAGAGGAGTG 385  
 Mimiu-NKG2-2\*03,c TTCAGACTATAAGAACTCAGAAAG-----CATACGGTTGTGGTCGTTGTCCAGAGGAGTG 385  
 Mimiu-NKG2-2\*04,c TTCAGACTATAAGAACTCAGAAAG-----CATATGGTTGTGGTCGTTGTCCAGAGGAGTG 385  
 Mimiu-NKG2-2\*04-Sv1 -----CATATGGTTGTGGTCGTTGTCCAGAGGAGTG 331  
 Mimiu-NKG2-3\*01,gc CCCAGACTACAAGAACCCAGAAAG-----CATGTAATTGTGGTCGTTGTCCAGAGGAGTG 395  
 Mimiu-NKG2-3\*02,g CCCAGACTACAAGAACCCAGAAAG-----CATGTAATTGTGGTCGTTGTCCAGAGGAGTG 395  
 Mimiu-NKG2-3\*03,c CCCAGACTACAAGAACCCAGAAAG-----CATGTAATTGTGGTCGTTGTCCAGAGGAGTG 395  
 Mimiu-NKG2-5A\*01,g TTCAGAAATGTGAAAACCTCAGAAAG-----CATATGATTGTGGCCGTTGTCTAGAGGAGTG 384  
 Mimiu-NKG2-5A\*02,g TTCAGAAATGTGAAAACCTCAGAAAG-----CATATGATTGTGGCCGTTGTCCAGAGGAGTG 384  
 Mimiu-NKG2-5A\*03,c TTCAGAAATGTGAAAACCTCAGAAAG-----CATATGATTGTGGCCGTTGTCCAGAGGAGTG 384  
 Mimiu-NKG2-5B\*03,c TTCAGAAATGTGAAAACCTCAGAAAG-----CATATGATTGTGGCCGTTGTCCAGAGGAGTG 378  
 Mimiu-NKG2-5\*03-Sv1 TTCAGAAATGTGAAAACCTCAGAAAG-----CATATGATTGTGGCCGTTGTCCAGAGGAGTG 347  
 Mimiu-NKG2-5\*03-Sv2 TTCAGAAATGTGAAAACCTCAGAAAG-----TCTTCTTCAGCATATGATTGTGGCCGTTGTCCAGAGGAGTG 353  
 Mimiu-NKG2-5\*03-Sv3 TTCAGAAATGTGAAAACCTCAGAAAG-----TCTTCTTCAGCATATGATTGTGGCCGTTGTCCAGAGGAGTG 389  
 Mimiu-NKG2-8\*01,g TTCAGACTGTAAGAACTCAGAAAG-----CATATCATTGTGGCCGTTGTCCAGAGGAGTG 394  
 Mimiu-NKG2-8\*02,g TTCAGACTGTAAGAACTCAGAAAG-----CATATCATTGTGGCCGTTGTCCAGAGGAGTG 394  
 Mimiu-NKG2-8\*03,c TTCAGACTGTAAGAACTCAGAAAG-----CATATCATTGTGGCCGTTGTCCAGAGGAGTG 394  
 Mimiu-NKG2-8\*03-Sv1 TTCAGACTGTAAGAACTCAGAAAG-----CATATCATTGTGGCCGTTGTCCAGAGGAGTG 394

Mimu-NKG2-1\*01,g GTTCACATATTCACCAATTGTTATTACATTGGTAAGGAACTCAAACCTGGGATGAGAGTGTGACGGCC 469  
Mimu-NKG2-1\*02,gc GTTCACATATTCACCAATTGTTATTACATTGGTAAGGAACTCAAACCTGGGATGAGAGTGTGATGGCC 469  
Mimu-NKG2-2\*01,g GCTTGCATATTCACCAATTGTTACTACATTAGTAAGGAAACAAAACCTGGGATGACAGTGTGACAGCC 455  
Mimu-NKG2-2\*02,g GCTCGCATATTCACCAATTGTTACTACATTAGTAAGGAAACAAAACCTGGGATGACAGTGTGAAGGCC 455  
Mimu-NKG2-2\*03,c GCTCGCATATTCACCAATTGTTACTACATTAGTAAGGAAACAAAACCTGGGATGACAGTGTGAAGGCC 455  
Mimu-NKG2-2\*04,c GCTTGCATATTCACCAATTGTTACTACATTAGTAAGGAAACAAAACCTGGGATGACAGTGTGACAGCC 455  
Mimu-NKG2-2\*04-Sv1 GCTTGCATATTCACCAATTGTTACTACATTAGTAAGGAAACAAAACCTGGGATGACAGTGTGACAGCC 401  
Mimu-NKG2-3\*01,gc GCTCACATATTCACCAATTGTTATTACATTAGTAAGGAAACAAAACCTGGGATGACAGTGTGAAGGCC 465  
Mimu-NKG2-3\*02,g GCTCACATATTCACCAATTGTTATTACATTAGTAAGGAAACAAAACCTGGGATGACAGTGTGAAGGCC 465  
Mimu-NKG2-3\*03,c GCTCACATATTCACCAATTGTTATTACATTAGTAAGGAAACAAAACCTGGGATGACAGTGTGAAGGCC 465  
Mimu-NKG2-5A\*01,g GTTCACATATTCACCAATTGTTATTACATTAGTAAGGAAATTCAGACTGGGATGAGAGTTGTATGGCC 454  
Mimu-NKG2-5A\*02,g GTTCACATATTCACCAATTGTTATTACATTAGTAAGGAAATTCAGACTGGGATGAGAGTTGTATAGCC 454  
Mimu-NKG2-5A\*03,c GTTCACATATTCACCAATTGTTATTACATTAGTAAGGAAATTCAGACTGGGATGAGAGTTGTATAGCC 454  
Mimu-NKG2-5B\*03,c GTTCACATATTCACCAATTGTTATTACATTAGTAAGGAAATTCAGACTGGGATGAGAGTTGTATAGCC 448  
Mimu-NKG2-5\*03-Sv1 ----- 347  
Mimu-NKG2-5\*03-Sv2 ----- 353  
Mimu-NKG2-5\*03-Sv3 GTTCACATATTCACCAATTGTTATTACATTAGTAAGGAAATTCAGACTGGGATGAGAGTT**TGA**TAGCC 459  
Mimu-NKG2-8\*01,g GTTCACATATTCACCAACTGTTATTCCATCAGTAAGGAAATTCAAAACCTGGGATGAGAGTGTGACGGCC 464  
Mimu-NKG2-8\*02,g GTTCACATATTCACCAACTGTTATTCCATCAGTAAGGAAATTCAAAACCTGGGATGAGAGTGTGACGGCC 464  
Mimu-NKG2-8\*03,c GTTCACATATTCACCAACTGTTATTCCATCAGTAAGGAAATTCAAAACCTGGGATGAGAGTGTGACGGCC 464  
Mimu-NKG2-8\*03-Sv1 GTTCACATATTCACCAACTGTTATTCCATCAGTAAGGAAATTCAAAACCTGGGATGAGAGTGTGACGGCC 464

Mimu-NKG2-1\*01,g TGTGCTTCTAACAACTCTAATCTGTTTTATACAGAGAATGAAGAAGAGATG-----AAATT 525  
Mimu-NKG2-1\*02,gc TGTGCTTCTAACAACTCTAATCTGTTTTATACAGAGAATGAAGAAGAGATG-----AAATT 525  
Mimu-NKG2-2\*01,g TGTGCTTCTAAGAACTCTAATCTGCTTTATATAGATAATGAAGAAGAAATG-----AAATT 511  
Mimu-NKG2-2\*02,g TGTGCTTCTAAGAACTCTAATCTGCTTTATATAGATAATGAAGAAGAAATG-----AAATT 511  
Mimu-NKG2-2\*03,c TGTGCTTCTAAGAACTCTAATCTGCTTTATATAGATAATGAAGAAGAAATG-----AAATT 511  
Mimu-NKG2-2\*04,c TGTGCTTCTAAGAACTCTAATCTGCTTTATATAGATAATGAAGAAGAAATG-----AAATT 511  
Mimu-NKG2-2\*04-Sv1 TGTGCTTCTAAGAACTCTAATCTGCTTTATATAGATAATGAAGAAGAAATG-----AAATT 457  
Mimu-NKG2-3\*01,gc TGTGCTTCTAAGAACTCTAATCTGCTTTATATAGATAATGAAGAAGAAATG-----AAATT 521  
Mimu-NKG2-3\*02,g TGTGCTTCTAAGAACTCTAATCTGCTTTATATAGACAATGAAGAAGAAATG-----AAATT 521  
Mimu-NKG2-3\*03,c TGTGCTTCTAAGAACTCTAATCTGCTTTATATAGACAATGAAGAAGAAATG-----AAATT 521  
Mimu-NKG2-5A\*01,g TGTGCTTCTAAGAGCTCTAGTCTGCTTTACATAGATGATGAAGAAGAAATG-----AAATT 510  
Mimu-NKG2-5A\*02,g TGTGCTTCTAAGAGCTCTAGTCTGCTTTACATAGATGATGAAGAAGAAATG-----AAATT 510  
Mimu-NKG2-5A\*03,c TGTGCTTCTAAGAGCTCTAGTCTGCTTTACATAGATGATGAAGAAGAAATG-----AAATT 510  
Mimu-NKG2-5B\*03,c TGTGCTTCTAAGAGCTCTAGTCTGCTTTACATAGATGATGAAGAAGAAATG-----AAATT 504  
Mimu-NKG2-5\*03-Sv1 ----- 352  
Mimu-NKG2-5\*03-Sv2 ----- 353  
Mimu-NKG2-5\*03-Sv3 TGTGCTTCTAAGAGCTCTAGTCTGCTTTACATAGATGATGAAGAAGAAATG-----AAATT 515  
Mimu-NKG2-8\*01,g TGTGCTTCTAACAACTCTAATCTGCTTTACATAGATAATGCAGAAGAAATA-----ATTTT 520  
Mimu-NKG2-8\*02,g TGTGCTTCTAACAACTCTAATCTGCTTTACATAGATAATGCAGAAGAAATA-----ATATT 520  
Mimu-NKG2-8\*03,c TGTGCTTCTAACAACTCTAATCTGCTTTACATAGATAATGCAGAAGAAATA-----ATATT 520  
Mimu-NKG2-8\*03-Sv1 TGTGCTTCTAACAACTCTAATCTGCTTTACATAGATAATGCAGAAGAAATAGTAAGATGT**TAA**AGATATT 534

Mimu-NKG2-1\*01,g TCTGGGCTCCCTGTCCTCTTCTGTCTATGGTTGGAGTCTCTCGTAAATAGCAGTATCATCCATGGGTGTTA 595  
Mimu-NKG2-1\*02,gc TCTGGGCTCCCTGTCCTCTTCTGTCTATGGTTGGAGTCTCTCGTAAATAGCAGTATCATCCATGGGTGTTA 595  
Mimu-NKG2-2\*01,g TCTGAGCTCCCTTTCAAAGAAAGCATGGATTGGAGTCTTTCGTAAACAGCAGTATGCAACCCCTGGGTATCA 581  
Mimu-NKG2-2\*02,g TCTGAGCTCCCTTTCAAAGAAAGCGTGGATTGGAGTCTTTCGTAAACAGCAGTATGCAACCCCTGGGTATCA 581  
Mimu-NKG2-2\*03,c TCTGAGCTCCCTTTCAAAGAAAGCGTGGATTGGAGTCTTTCGTAAACAGCAGTATGCAACCCCTGGGTATCA 581  
Mimu-NKG2-2\*04,c TCTGAGCTCCCTTTCAAAGAAAGCGTGGATTGGAGTCTTTCGTAAACAGCAGTATGCAACCCCTGGGTATCA 581  
Mimu-NKG2-2\*04-Sv1 TCTGAGCTCCCTTTCAAAGAAAGCGTGGATTGGAGTCTTTCGTAAACAGCAGTATGCAACCCCTGGGTATCA 527  
Mimu-NKG2-3\*01,gc TCTGAGCTCCCTTTCAAAGAAAGCATGGATTGGAGTCTTTCGTAAACAGCAGTATGCAACCCATGGATATCA 591  
Mimu-NKG2-3\*02,g TCTGAGCTCCCTTTCAAAGAAAGCATGGATTGGAGTCTTTCGTAAACAGCAGTATGCAACCCATGGATATCA 591  
Mimu-NKG2-3\*03,c TCTGAGCTCCCTTTCAAAGAAAGCATGGATTGGAGTCTTTCGTAAACAGCAGTATGCAACCCCTGGGTATCA 591  
Mimu-NKG2-5A\*01,g TCTGGGCTCCCTTTCAAACCAAGCATGGATTGGAGTCTTTCGTAAATGGCAGCGATCGTCCATGGGTGTCT 580  
Mimu-NKG2-5A\*02,g TCTGGGCTCCCTTTCAAACCAAGCATGGATTGGAGTCTTTCGTAAATGGCAGCGATCGTCCATGGGTGTCT 580  
Mimu-NKG2-5A\*03,c TCTGGGCTCCCTTTCAAACCAAGCATGGATTGGAGTCTTTCGTAAATGGCAGCGATCGTCCATGGGTGTCT 580  
Mimu-NKG2-5B\*03,c TCTGGGCTCCCTTTCAAACCAAGCATGGATTGGAGTCTTTCGTAAATGGCAGCGATCGTCCATGGGTGTCT 574  
Mimu-NKG2-5\*03-Sv1 TCTGGGCTCCCTTTCAAACCAAGCATGGATTGGAGTCTTTCG**TAA**TGGCAGCGATCGTCCATGGGTGTCT 422  
Mimu-NKG2-5\*03-Sv2 ----- 353  
Mimu-NKG2-5\*03-Sv3 TCTGGGCTCCCTTTCAAACCAAGCATGGATTGGAGTCTTTCGTAAATGGCAGCGATCGTCCATGGGTGTCT 585  
Mimu-NKG2-8\*01,g TCTGGGCTCCCTGCTACGTCAGTCATGGATTGGAGTTTTTCGTAAACAGCAGTATCACCATGGGTGTCA 590  
Mimu-NKG2-8\*02,g TCTGGGCTCCCTGCTACGTCAGTCATGGATTGGAGTTTTTCGTAAACAGCAGTATCACCATGGGTGTCA 590  
Mimu-NKG2-8\*03,c TCTGGGCTCCCTGCTACGTCAGTCATGGATTGGAGTTTTTCGTAAACAGCAGTATCACCATGGGTGTCA 590  
Mimu-NKG2-8\*03-Sv1 TCTGGGCTCCCTGCTACGTCAGTCATGGATTGGAGTTTTTCGTAAACAGCAGTATCACCATGGGTGTCA 604

Mimu-NKG2-1\*01,g AGAGATGGCTCAACTTTCAAACCTAATAATAAGAAACAGAATATGGTAACCGTAACTGTGCTGTGCTAT 665  
 Mimiu-NKG2-1\*02,gc AGAGATGGCTCAACTTTCAAACCTAATAATAAGAAACAGAATATGATAACCGTAACTGTGCTGTGCTAT 665  
 Mimiu-NKG2-2\*01,g AGAAATGGCTCAACTTTTAAACTTAAAAATAGAGGAATCAATACCTGGTAGACATAACTGTGCTGTGCTAC 651  
 Mimiu-NKG2-2\*02,g AGAAATGGGTCAACTTTCAAACCTAAAAATAGAGGAATCAATACCTGGTAAACATAACTGTGCTGTGCTAC 651  
 Mimiu-NKG2-2\*03,c AGAAATGGCTCAACTTTCAAACCTAAAAATAGAGGAATCAATACCTGGTGAACATAACTGTGCTGTGCTAC 651  
 Mimiu-NKG2-2\*04,c AGAAATGGGTCAACTTTCAAACCTAAAAATAGAGGAATCAATACCTGGTAAACATAACTGTGCTGTGCTAC 651  
 Mimiu-NKG2-2\*04-Sv1 AGAAATGGGTCAACTTTCAAACCTAAAAATAGAGGAATCAATACCTGGTAAACATAACTGTGCTGTGCTAC 597  
 Mimiu-NKG2-3\*01,gc AGAAATGGTTCAACTTTCAAACCTAAAAATAGAGGAAACAGTATCTGGTAGACATAACTGTGCTGTGCTAC 661  
 Mimiu-NKG2-3\*02,g AGAAATGGTTCAACTTTCAAACCTAAAAATAGAGGAAACAGTATCTGGTAGACATAACTGTGCTGTGCTAC 661  
 Mimiu-NKG2-3\*03,c AGAAATGGCTCAACTTTCAAACCTAAAAATAGAGGAAACAGTATCTGGTAGACATAACTGTGCTGTGCTAC 661  
 Mimiu-NKG2-5\*01,g ATAAATGGCTCAACTTTCAACCTTAAAAATAGAGGAAATATATATGGTAGAAATCACTGTGCTGTGCTAT 650  
 Mimiu-NKG2-5A\*02,g ATAAATGGCTCAACTTTCAACCTTAAAAATAGAGGAAATATATATGGTAGAAATCACTGTGCTGTGCTAT 650  
 Mimiu-NKG2-5A\*03,c ATAAATGGCTCAACTTTCAACCTTAAAAATAGAGGAAATATATATGGTAGAAATCACTGTGCTGTGCTAT 650  
 Mimiu-NKG2-5B\*03,c ATAAATGGCTCAACTTTCAACCTTAAAAATAGAGGAAATATATATGGTAGAAATCACTGTGCTGTGCTAT 644  
 Mimiu-NKG2-5\*03-Sv1 ATAAATGGCTCAACTTTCAACCTTAAAAATAGAGGAAATATATATGGTAGAAATCACTGTGCTGTGCTAT 492  
 Mimiu-NKG2-5\*03-Sv2 -----AA**TAG**AGGAAATATATATGGTAGAAATCACTGTGCTGTGCTAT 397  
 Mimiu-NKG2-5\*03-Sv3 ATAAATGGCTCAACTTTCAACCTTAAAAATAGAGGAAATATATATGGTAGAAATCACTGTGCTGTGCTAT 655  
 Mimiu-NKG2-8\*01,g ATAAATGGCTCAACTTTCAAACCTCAAATAGTAGAAACAGCAACCGGTAACGTAACCTGTGCTATTCTAC 660  
 Mimiu-NKG2-8\*02,g ATAAATGGCTCAACTTTCAAACCTCAAATAGTAGAAACAGCAACTGGTAAACGTAACCTGTGCTATTCTAC 660  
 Mimiu-NKG2-8\*03,c ATAAATGGCTCAACTTTCAAACCTCAAATAGTAGAAACAGCAACTGGTAAACGTAACCTGTGCTATTCTAC 660  
 Mimiu-NKG2-8\*03-Sv1 ATAAATGGCTCAACTTTCAAACCTCAAATAGTAGAAACAGCAACTGGTAAACGTAACCTGTGCTATTCTAC 674

Mimiu-NKG2-1\*01,g ACAAATATAGACTTCAATCAGATGAATGCAGATCTTCAAACCTGTATATTTGTAAGCACAAGCGT**TAGAA** 735  
 Mimiu-NKG2-1\*02,gc ACAAATATAGACTTCAATCAGATGAATGCAGATCTTCAAACCTGTATATTTGTAAGCACAAGCGT**TAGAA** 735  
 Mimiu-NKG2-2\*01,g AGTCACCCAGTCTTCACTCAGGTGGATGTGAATCTACAAAAACATATATTTGTAAGCATGAGTTT**TAGAA** 721  
 Mimiu-NKG2-2\*02,g AGTCACCCAGTCTTCACTCAGGTGGATGTGAATCTACAAAAACATATATTTGTAAGCATGAGTTT**TAGAA** 721  
 Mimiu-NKG2-2\*03,c AGTCACCCAGTCTTCACTCAGGTGGATGTGAATCTACAAAAACATATATTTGTAAGCATGAGTTT**TAGAA** 721  
 Mimiu-NKG2-2\*04,c AGTCACCCAGTCTTCACTCAGGTGGATGTGAATCTACAAAAACATATATTTGTAAGCATGAGTTT**TAGAA** 721  
 Mimiu-NKG2-2\*04-Sv1 AGTCACCCAGTCTTCACTCAGGTGGATGTGAATCTACAAAAACATATATTTGTAAGCATGAGTTT**TAGAA** 667  
 Mimiu-NKG2-3\*01,gc AGTCACCCAGTCTTCACTCAGGTGGATGTGAATCTACAAAAACATATATTTGTAAGCATGAGTTT**TAGAA** 731  
 Mimiu-NKG2-3\*02,g AGTCACCCAGTCTTCACTCAGGTGGATGTGAATCTACAAAAACATATATTTGTAAGCATGAGTTT**TAGAA** 731  
 Mimiu-NKG2-3\*03,c AGTCACCCAGTCTTCACTCAGGTGGATGTGAATCTACAAAAACATATATTTGTAAGCATGAGTTT**TAGAA** 731  
 Mimiu-NKG2-5A\*01,g ACTCATCAAGTCTTCACTCAAGTGGATGTAGGTCTCAAACCAATATATTTGTAAGCACAAGCTT**TAGAA** 720  
 Mimiu-NKG2-5A\*02,g ACTCATCAAGTCTTCACTCAAGTGGATGTAGGTCTCAAACCAATATATTTGTAAGCACAAGCTT**TAGAA** 720  
 Mimiu-NKG2-5A\*03,c ACTCATCAAGTCTTCACTCAAGTGGATGTAGGTCTCAAACCAATATATTTGTAAGCACAAGCTT**TAGAA** 720  
 Mimiu-NKG2-5B\*03,c ACTCATCAAGTCTTCACTCAAGTGGATGTAGGTCTCAAACCAATATATTTGTAAGCACAAGCTT**TAGAA** 714  
 Mimiu-NKG2-5\*03-Sv1 ACTCATCAAGTCTTCACTCAAGTGGATGTAGGTCTCAAACCAATATATTTGTAAGCACAAGCTT**TAGAA** 562  
 Mimiu-NKG2-5\*03-Sv2 ACTCATCAAGTCTTCACTCAAGTGGATGTAGGTCTCAAACCAATATATTTGTAAGCACAAGCTT**TAGAA** 467  
 Mimiu-NKG2-5\*03-Sv3 ACTCATCAAGTCTTCACTCAAGTGGATGTAGGTCTCAAACCAATATATTTGTAAGCACAAGCTT**TAGAA** 725  
 Mimiu-NKG2-8\*01,g ACTCAGATGGACTTCAATCAGATGGATGCGAATCTTTGAAAAGATACCATTTGTAAGCACAAGCTT**TAGAA** 730  
 Mimiu-NKG2-8\*02,g ACTCAGATGGACTTCAATCAGATGGATGCGAATCTTTGAAAAGATACCATTTGTAAGCACAAGCTT**TAGAA** 730  
 Mimiu-NKG2-8\*03,c ACTCAGATGGACTTCAATCAGATGGATGCGAATCTTTGAAAAGATACCATTTGTAAGCACAAGCTT**TAGAA** 730  
 Mimiu-NKG2-8\*03-Sv1 ACTCAGATGGACTTCAATCAGATGGATGCGAATCTTTGAAAAGATACCATTTGTAAGCACAAGCTT**TAGAA** 744

Mimiu-NKG2-1\*01,g GAAAAGCACCTGAGTTGGGAGT--- 757  
 Mimiu-NKG2-1\*02,gc GAAAAGCACCTGAGTTGGGAGT--- 757  
 Mimiu-NKG2-2\*01,g GTAAAGCACCTGATTTTGGAGTC-- 744  
 Mimiu-NKG2-2\*02,g GTAAAGCACCTGATTTTGGAGTC-- 744  
 Mimiu-NKG2-2\*03,c GTAAAGCACCTGATTTTGGAGTC-- 744  
 Mimiu-NKG2-2\*04,c GTAAAGCACCTGATTTTGGAGTC-- 744  
 Mimiu-NKG2-2\*04-Sv1 GTAAAGCACCTGATTTTGGAGTC-- 690  
 Mimiu-NKG2-3\*01,gc GAAAAGCACCTGAGTTGGGAGC--- 753  
 Mimiu-NKG2-3\*02,g GAAAAGCACCTGAGTTGGGAGC--- 753  
 Mimiu-NKG2-3\*03,c GAAAAGCACCTGAGTTGGGAGC--- 753  
 Mimiu-NKG2-5A\*01,g GTAAAGCACCTGAGTTGGGAGTTGA 745  
 Mimiu-NKG2-5A\*02,g GTAAAGCACCTGAGTTGGGAGTTGA 745  
 Mimiu-NKG2-5A\*03,c GTAAAGCACCTGAGTTGGGAGTTGA 745  
 Mimiu-NKG2-5B\*03,c GTAAAGCACCTGAGTTGGGAGTTGA 739  
 Mimiu-NKG2-5\*03-Sv1 GTAAAGCACCTGAGTTGGGAGTTGA 587  
 Mimiu-NKG2-5\*03-Sv2 GTAAAGCACCTGAGTTGGGAGTTGA 492  
 Mimiu-NKG2-5\*03-Sv3 GTAAAGCACCTGAGTTGGGAGTTGA 750  
 Mimiu-NKG2-8\*01,g GTAAAGTGTCTGACTTTGGAGTTGG 755  
 Mimiu-NKG2-8\*02,g GTAAAGTGTCTGACTTTGGAGTTGG 755  
 Mimiu-NKG2-8\*03,c GTAAAGTGTCTGACTTTGGAGTTGG 755  
 Mimiu-NKG2-8\*03-Sv1 GTAAAGTGTCTGACTTTGGAGTTGG 769

## 7.6.4 Nukleotidvergleich der Ly49L-Sequenzen des Mausmakis

g, genomisch; c, cDNA; Sv, Spleißvariante; Mimu, *Microcebus murinus*.

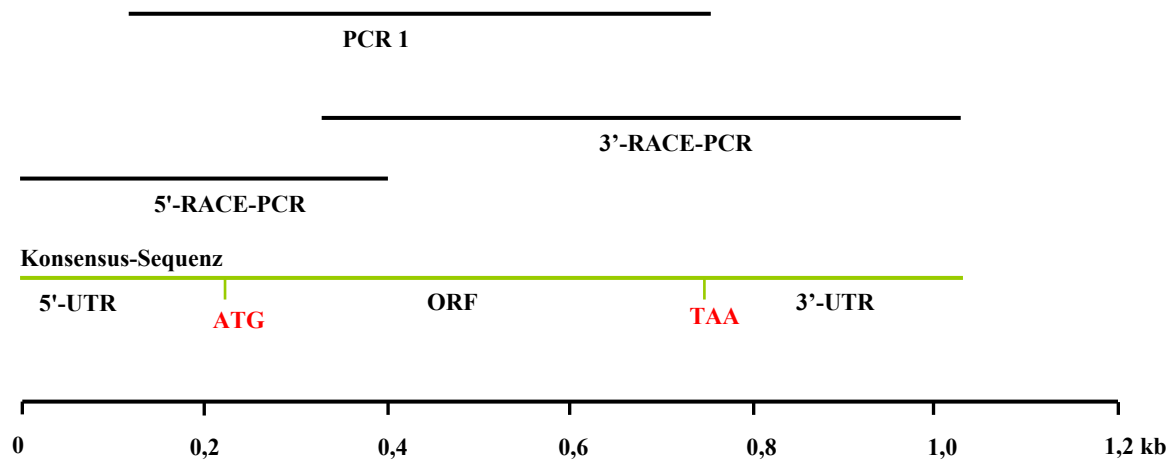
Mimu-Ly49L*01,g	AAGATGAGTGCATCAGGGAGTATTTATTCAACGGTGAGATTTCTGCAGTCTTCTTCAGAGTCAGAGAGTG	70
Mimu-Ly49L*02,c	AAGATGAGTGCATCAGGGAGTGATTTATTCAACCGTGAGATTTCTGCAGTCTTCTTCAGAGTCAGAGAGTG	70
Mimu-Ly49L*01,g	GACGAAGTCCTGATGTTACTCTGAGGCTGAGAAGACTGACGACAAAGAGTTTTCAGTGTCTGGCGTCT	140
Mimu-Ly49L*02,c	GACAAAGTCCTGATGTTACTCTGAAGCTGGAAGACTGACGACAAAGAGTTTTCAGTGTCTGGCGTCT	140
Mimu-Ly49L*01,g	CATTGCAGTGAGTCTTGGGATCCTCTGTTTAGTTCTGTTGGTGATAGTCACAGTGTGGTGACAAAGATT	210
Mimu-Ly49L*02,c	CATTGCAGTGAGTCTTGGGATCCTCTGTTTAGTTCTGTTGGTGATAGTCACAGTGTGGTGACAAAGATT	210
Mimu-Ly49L*01,g	TTTCAGTGCATTCAAGAAAGACATCAGCAGCAGAAATTTAGGACACCTTAGTCAAAGGACAACATATT	280
Mimu-Ly49L*02,c	TTTCAGTGCATTCAAGAAAGACATCATCAGCAGCAGAAATTTAGGACACCTTAGTCAAAGGACAACATATT	280
Mimu-Ly49L*01,g	TAAAGGAGCAACTTTTGATAAATAAGACTTTAGAAATATGACATTTTAAAAAATGAAAGCCTTCAGCAGAA	350
Mimu-Ly49L*02,c	TAAAGGAGCAACTTTTGATAAATAAGACTTTAGAAATATGACATTTTAAAAAATGAAAGCCTTCAGCAGAA	350
Mimu-Ly49L*01,g	AAAGAACTGGATTCACTCTTCTGAAAAACAACATATGTCATATAAAAAATGAGATCTTTTCAAATCT	420
Mimu-Ly49L*02,c	AAAGAACTGGATTCACTCTTCTGAAAAACAACATATGTCATATAAAAAATGAGATCTTTTCAAATCT	420
Mimu-Ly49L*01,g	TTGGAAAATACAGGCCAACGTTATGAAGCCCACTGGACCTGTTGTGGATTAAGCTGTTATTTTGGCA	490
Mimu-Ly49L*02,c	TTGGAAAATACAGGCCAACGTTATGAAGCCCACTGGACCTGTTGTGGATTAAGCTGTTATTTTGGCG	490
Mimu-Ly49L*01,g	TGGAAAATAAAAACTGGAAGGGATGCAAAACAGACTTGCCAAAGTTACAAATCCTCCCTTTTGAAGATAGA	560
Mimu-Ly49L*02,c	TGGAAAATAAAAACTGGAAGGGATGCAAAACAGACTTGCCAAAGTTACAAATCCTCCCTTTTGAAGATAGA	560
Mimu-Ly49L*01,g	TGATGAAGATGAAGTACCTTCGTTCAACTCCAGATTTATAAAAAATAATTACTGGATCGGATTATCATAT	630
Mimu-Ly49L*02,c	TGATGAAGATGAAGTACCTTCGTTCAACTCCAGATTTATAAAAAATAATTACTGGATCGGATTATCATAT	630
Mimu-Ly49L*01,g	GATGAGAGGGAAAGTAAATGGAAATGGGTTGATAGTGGCTCGTCTCCCGGAATTAATGTTGGAATAATGA	700
Mimu-Ly49L*02,c	GATGAGAGGGAAAGTAAATGGAAATGGGTTGATAGTGGCTCGTCTCCCGGAATTAATGTTGGAATAATGA	700
Mimu-Ly49L*01,g	ATTCGTCTTCTGGGAGAGGAAAATGTGGATTTTATCCTCAACAAGAGTAGCAGCTATTGATTGCATTCA	770
Mimu-Ly49L*02,c	ATTCGTCTTCTGGGAGAGGAAAATGTGCATTTTATCCTCAACAAGAGTAGCAGCTATTGATTGCATTCA	770
Mimu-Ly49L*01,g	AACTTACAACGTATCTGTGAAAAGAGAATTGGCTGTAGTATTTTCTCTGCTTCAGCAATGCACTGAGAAG	840
Mimu-Ly49L*02,c	AACTTACAACGTATCTGTGAAAAGAGAATTGGCTGTAGTATTTTCTCTGCTTCAGCGTCACTGAGAAG	840
Mimu-Ly49L*01,g	AAAAGGTGAAAATGGAATGTTGTCTTTTTTTGTTTACTTCTTCTAATAAATTTCTGATTACTTTCAAACAA	910
Mimu-Ly49L*02,c	AAAAGGTGAAAATGGAATGTTGTCTTTTTTTGTTTACTTCTTCTAATAAATTTCTGATTACTTTCAAACAA	910
Mimu-Ly49L*01,g	ATGTTTTTACCTGCAGGACTTAGTCCATTGTTG	943
Mimu-Ly49L*02,c	ATGTTTTTACCTGCAGGACTTAGTCCATTGTTG	943

## 7.7 cDNA-Sequenzen der NKC-Gene des Varis

Für alle NKC-Gene des Varis ist eine schematische Darstellung der durchgeführten PCR-Analysen jeweils in A. und die sich aus den Teilsequenzen ergebende Konsensus-Nukleotidsequenz jeweils in B. aufgeführt. 5'-UTR der cDNA-Sequenzen ist gelb, 3'-UTR grün und Polyadenylierungssignale (nach Beadoing et al., 2000) violett hinterlegt. Start- und Stopkodons sind rot markiert. Horizontale Pfeile geben die Position und 5'-3'-Orientierung der verwendeten Primer an. Schwarz markierte Primer entsprechen der jeweiligen Konsensus-cDNA-Sequenz, während orange markierte Primer Nukleotidaustausche zur Konsensus-cDNA-Sequenz aufweisen. Vertikale Pfeile zeigen unterschiedliche Transkriptionsstartpunkte und -Endpunkte an. Gestrichelte Linien unterhalb der Sequenz sind deletierte Bereiche in den Spleißvarianten.

### 7.7.1 Vava-CD94-1

A.



Primerkombinationen, die für die jeweiligen PCR-Analysen verwendet wurden:

	<i>forward-Primer</i>	<i>reverse-Primer</i>	Annealing-Temp. (°C)
5'-RACE-PCR	GeneRacer™ 5'Primer	3485	63
3'-RACE-PCR	3854	GeneRacer™ 3'Primer	63
PCR 1	4932	4934	55

B.

Vava-CD94-1 70  
ATTGCTTTACTGCTTCATGCCATCCAAACATATCTCACCAATAGATGACTCAAGAGAATCATTTAAACAT

Vava-CD94-1 140  
ACAAATTTTCTTTCTCTTTTTGTGTTAAATTTCTTCATAGTCAACGTTAGGATTCCTTCACATCCAGCTC 4932

Vava-CD94-1 210  
AGCTCCAATGACCCAGCACCGTTCTCTGAACAAGCGCATCGTGTCTTCTCTGCGTTGAGCTGTTGAGC

Vava-CD94-1 280  
TTGGGACATCAGTTCTC ATGGCAGTGTCTCAGACCACTCGGTGGAGGTTGATTTCTGGGACCTTAGGAGT

Vava-CD94-1 350  
 CGTATGCCTTTTGTGTGGCTACTTTGGGAATTTGTGGAACTTTATATGGAGCTAATATCCTCTCCA 3854

Vava-CD94-1 GGACTCAACACAGAACTCCAGGAAGGCTCTGACTGCTGTCTTGTGCCAGAGAAGTGGGTTGGGTACCGAT 420  
 3485

Vava-CD94-1 GCAACTGCTACTTCATTTCCAGTGAAGTGAAAAGTGGGAAGAAAGTAGAAATTTCTGTCTTTTCAGAA 490

Vava-CD94-1 TTCCAGTTTGCTTCAGCTTCAAAACAGAGATGAACTGGCTTTTACGCCAATTCAGTCAACAGTTTTACTGG 560

Vava-CD94-1 ATTTGGACTCTCTACAATGAAGAACGTGGGACTGGCTGTGGGAGGACGGCTCTGCTCCTTCCTGGGATC 630

Vava-CD94-1 TATTTTCATCACTTGAACTCCAGACCCAAATAACTGTGTAGCGTATGAGCCAATTATAAGTGTGTAGA 700

Vava-CD94-1 TGAACCGTGTGAAAGGGAGAATCATTACATCTGTAAACAACAGCATATT TAAAGTGTCTTGGGACAGAA 770  
 4934

Vava-CD94-1 AAGTGGGACTATGGATCCAGGATTACTACGAATAGTATTTTACCTCATATTATTACTATTAATAATTA 840

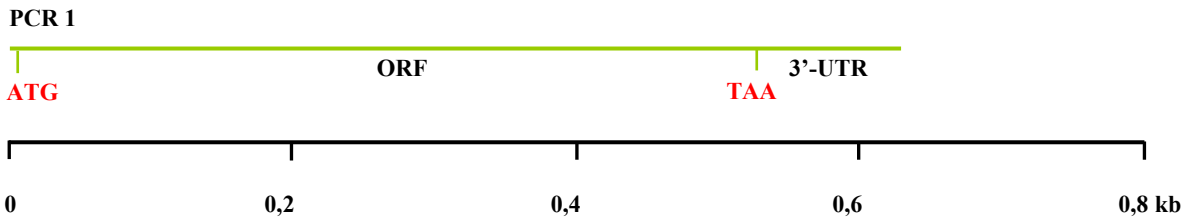
Vava-CD94-1 TCTATTTCTTAATTCTGTAAAAATGTTTGAAGTGTCTTATAAAAATTTTCATATATTTGAAGACATGTTTT 910

Vava-CD94-1 AAAACTGATGAAATTTGTACACCTACACCTAAAATTATAAAGTTCAATTAAAGAAATTTATGAATATTT 980

Vava-CD94-1 TGATGCATTTTAAATGTATATGGCTCATATAAAAGTCAATGTAGTTTTAGTGC -poly-A-Schwanz 1032

7.7.2 Vava-CD94-2

A.



Primerkombinationen, die für die jeweiligen PCR-Analysen verwendet wurden:

	<i>forward-Primer</i>	<i>reverse-Primer</i>	Annealing-Temp. (°C)
PCR 1	3037	3217	55

B.

Vava-CD94-2\*01 CATCGCAGTGTCTCAGACCACTCGGTGGAGGTTGATTTCTGGGACCTTAGGAGTCATATGCCTTTTGTTG 70  
 Vava-CD94-2\*02 CATCGCAGTGTCTCAGACCACTCGGTGGAGGTTGATTTCTGGGACCTTAGGAGTCATATGCCTTTTGTTG 70  
 3037

Vava-CD94-2\*01 ATGGCTACTTTGGGAATTTGTGGCCAATTTATACTGAGCCAATATCCTCTCCAGGACCCAACATGGAAC 140  
 Vava-CD94-2\*02 ATGGCTACTTTGGGAATTTGTGGCCAATTTATACTGAGCCAATATCCTCTCCAGGACCCAACATGGAAC 140

Vava-CD94-2\*01 TCCAGGAAGGCTCTGACTGCTGTCTTGTGCCAGAGAAGTGGGTTGGGTACCGATGCAACTGCTACTTCAT 210  
 Vava-CD94-2\*02 TCCAGGAAGGCTCTGACTGCTGTCTTGTGCCAGAGAAGTGGGTTGGGTACCGATGCAACTGCTACTTCAT 210

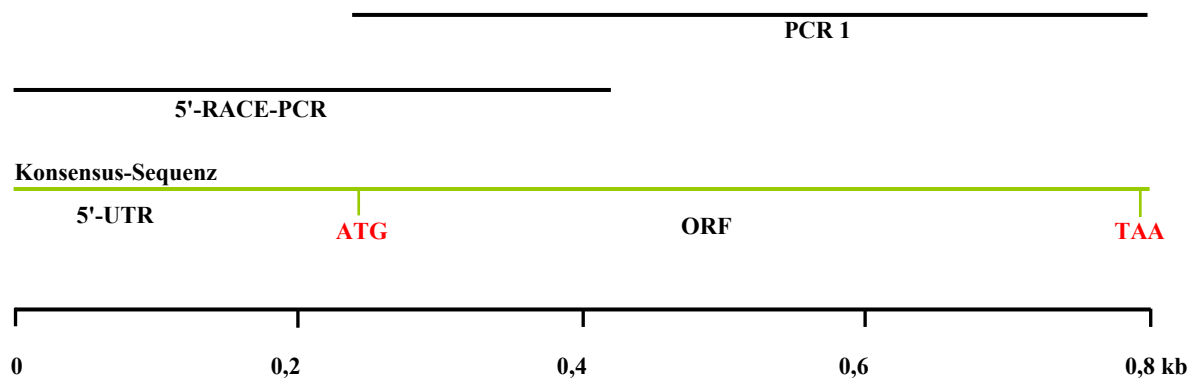
Vava-CD94-2*01	TTC CAGT GAAATGAAA AACTGGGAAGAAAGTAGGAATTTCTGTGTTTCTCAGAATTCAGTTTGCTTCAG	280
Vava-CD94-2*02	TTC CAGT GAAATGAAA AACTGGGAAGAAAGTAGGAATTTCTGTGTTTCTCAGAATTCAGTTTGCTTCAG	280
Vava-CD94-2*01	CTTCAAACAGAGATGAACTG---CGTTTTATGCAATTAAGTCGACGCTTTTACTGGATTGGACTCTCTT	347
Vava-CD94-2*02	CTTCAAACAGAGATGAACTG---CGTTTTATGCAATTAAGTCGACGCTTTTACTGGATTGGACTCTCTT	347
	Sv1: CAG	
Vava-CD94-2*01	ACAATGAAGAACGTGGGGACTGGCTGTGGGAGGACGGCTCCACTCCTTCCCGGGATCTATTTTCATCACT	417
Vava-CD94-2*02	ACAATGAAGAACGTGGGGACTGGCTGTGGGAGGACGGCTCCACTCCTTCCCGGGATTTATTTTCATCACT	417
Vava-CD94-2*01	TGTA ACTTCAGACCCAAAGAATTGCATAGCATATAAGCCAATGAACGGTGTGTGGATGAACCGTGTGAA	487
Vava-CD94-2*02	TGTA ACTTCAGACCCAAAGAATTGCATAGCATATAAGCCAATGAACGGTGTGTGGATGAACCGTGTGAA	487
Vava-CD94-2*01	AGAGAAAATTATTACATCTGTAAAAACAGCATATTAAAGTGATTCTTGGGACAGAGAGGTGGGGACTAC	557
Vava-CD94-2*02	AGAGAAAATTATTACATCTGTAAAAACAGCATATTAAAGTGATTCTTGGGACAGAGAGGTGGGGACTAC	557
Vava-CD94-2*01	AGATCCAGGATTACTATGAATAGTATTTTACCTCATATTATTACTATTAATAATTATTTACTTCTTAGT	627
Vava-CD94-2*02	AGATCCAGGATTACTATGAATAGTATTTTACCTCATATTATTACTATTAATAATTATTTACTTCTTAGT	627
Vava-CD94-2*01	T 628	
Vava-CD94-2*02	T 628	

← 3217

Es wurden zwei verschiedene Allele amplifiziert (Vava-CD94-2\*01 und Vava-CD94-2\*02). Nukleotidaustausche zwischen beiden Allelen sind grau markiert. Für beide Allele existiert die Spleißvariante Sv1, die drei zusätzliche Nukleotide CAG aufweist.

### 7.7.3 Vava-CD94-3

A.



Primerkombinationen, die für die jeweiligen PCR-Analysen verwendet wurden:

	<i>forward-Primer</i>	<i>reverse-Primer</i>	Annealing-Temp. (°C)
5'-RACE-PCR	GeneRacer™ 5'Primer	3485	63
PCR 1	3035	3034	51

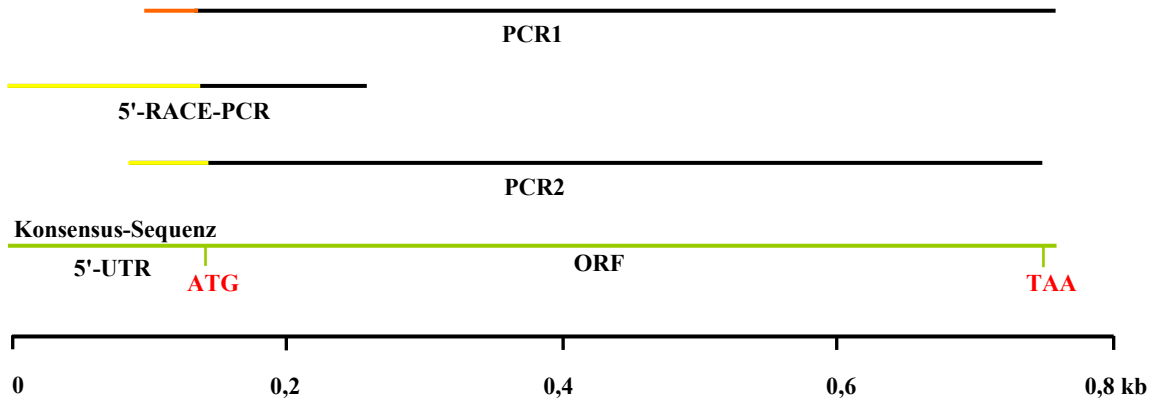
## B.

Vava-CD94-3*01	ATTGCTTTACTGCTTCATGCCATCCAAACA	30
Vava-CD94-3*02	GTATTGTCGTTCTCGGAACACTTCAGAACCCTGTGATTTTATTGCTTTACTGCTTCATGCCATCCAAACA	70
Vava-CD94-3*01	TATCTCACCAATAGATGACTCAAGAGTGTCAATTTAAATATACAATTTTCTTTTATGTTAAATTTCTTC	100
Vava-CD94-3*02	TATCTCACCAATAGATGACTCAAGAGTGTCAATTTAAATATACAATTTTCTTTTATGTTAAATTTCTTC	140
Vava-CD94-3*01	ATATCCAACGTTAGGATTCCTTCACATCACCTCCAATGACTCAGCACCGCTCTTCCTGAACAAGCTCACC	170
Vava-CD94-3*02	ATATCCAACGTTAGGATTCCTTCACATCACCTCCAATGACTCAGCACCGCTCTTCCTGAACAAGCTCACC	210
Vava-CD94-3*01	GAGTCTTCTCTGCGTTGACCTTGGAAACATCATTTCTCATGGCAGTGTCTCAGACCCTTGGTGGAGGTTG	240
Vava-CD94-3*02	GAGTCTTCTCTGCGTTGACCTTGGAAACATCATTTCTCATGGCAGTGTCTCAGACCCTTGGTGGAGGTTG	280
	3035	
Vava-CD94-3*01	ATTTCTGGGACCTTAGGAGTCATATGCCTTTTGTGATGGTTACTTTGGCAATTTTGTGCAACCTTTAT	310
Vava-CD94-3*02	ATTTCTGGGACCTTAGGAGTCATATGCCTTTTGTGATGGTTACTTTGGCAATTTTGTGCAACCTTTAT	350
Vava-CD94-3*01	TTCTACCATTTACTGGACTACGTATTTCAGCCAACACTCTCTTCAGGACTCAACATAGAACTCCACGAAGG	380
Vava-CD94-3*02	TTCTACCATTTACTGGACTACGTATTTCAGCCAACACTCTCTTCAGGACTCAACATAGAACTCCACGAAGG	420
Vava-CD94-3*01	CTCTGACTGCTGTTCTTGCCAGAGAAGTGGGTTGGGTACCGATGCAACTGCTACTTCATTTCCAGTGAA	450
Vava-CD94-3*02	CTCTGACTGCTGTTCTTGCCAGAGAAGTGGGTTGGGTACCGATGCAACTGCTACTTCATTTCCAGTGAA	490
	3485	
Vava-CD94-3*01	GTGAAAACCTGGGAAGAAAGTAGAAATTTCTGTCTTTTTCGGAATTCAGTTTGCCTTCAGCTTCAAACA	520
Vava-CD94-3*02	GTGAAAACCTGGGAAGAAAGTAGAAATTTCTGTCTTTTTCGGAATTCAGTTTGCCTTCAGCTTCAAACA	560
Vava-CD94-3*01	GAGATGAAC TGAATTTTATGCACTCTGGTCAACACTTTTACTGGATTGGACTCTCTTACAATGAAGAACG	590
Vava-CD94-3*02	GAGATGAAC TGAATTTTATGCACTCTGGTCAACACTTTTACTGGATTGGACTCTCTTACAATGAAGAACG	630
Vava-CD94-3*01	TGGAGACTGGCTGTGGGAGGACGGCTCTACTCTTTCCAGAATCTATTTTCATCACTTGAAACTCCAGAC	660
Vava-CD94-3*02	TGGAGACTGGCTGTGGGAGGACGGCTCTACTCTTTCCAGAATCTATTTTCATCACTTGAAACTCCAGAC	700
Vava-CD94-3*01	CCAAAGAACTGCATAGTGTATAAGCCAATGAAAAGTGTGGATGAACCGTGTGAAAGAGAGAATCATT	730
Vava-CD94-3*02	CCAAAGAACTGCATAGTGTATAAGCCAATGAAAAGTGTGGATGAACCGTGTGAAAGAGAGAATCATT	770
Vava-CD94-3*01	ACATCTGTAAAAACAGCTTATT TAA GTGAG	761
Vava-CD94-3*02	ACATCTGTAAAAACAGCTTATT TAA GTGAG	801
	3034	

Es wurden zwei verschiedene Allele (Vava-CD94-3\*01 und Vava-CD94-3\*02) amplifiziert. Nukleotidaustausche zwischen beiden Sequenzen sind grau markiert.

### 7.7.4 Vava-NKG2D

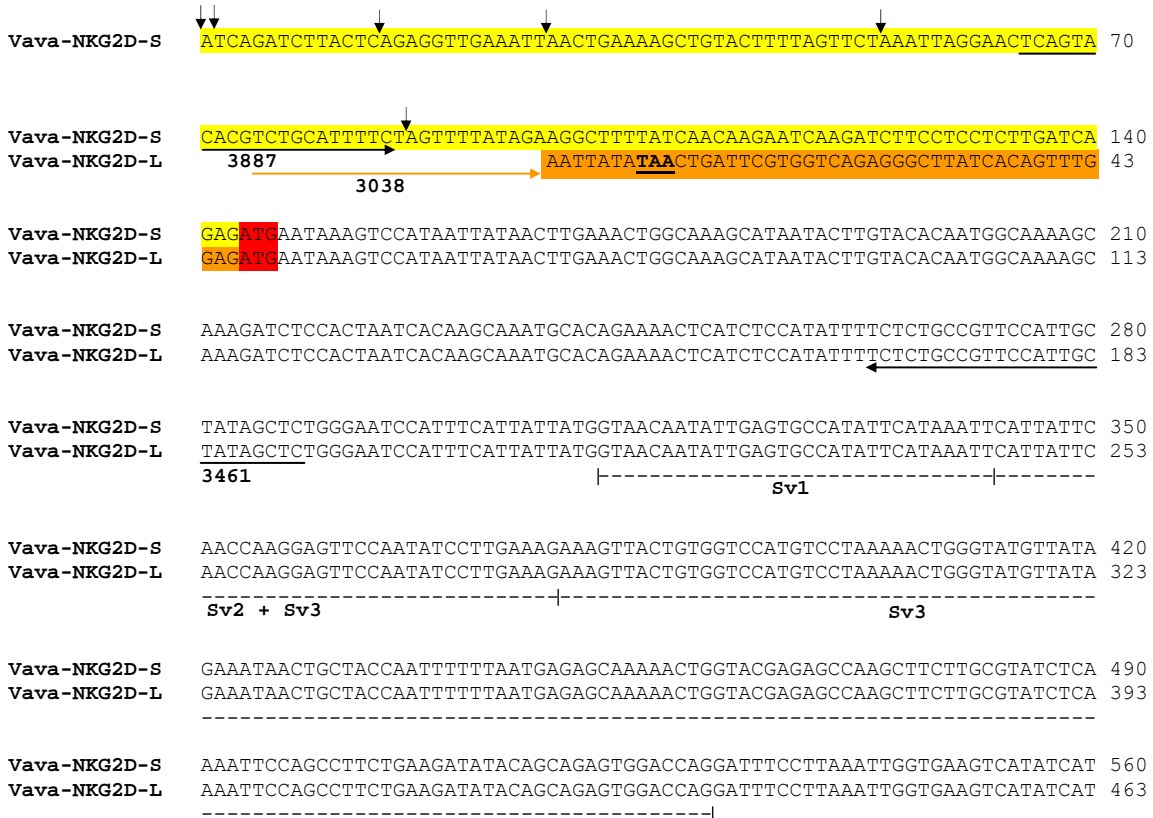
A.



Primerkombinationen, die für die jeweiligen PCR-Analysen verwendet wurden:

	<i>forward-Primer</i>	<i>reverse-Primer</i>	Annealing-Temp. (°C)
PCR1	3038	3039	51
5'-RACE-PCR	GeneRacer™ 5'Primer	3461	63
PCR2	3887	4187	54

B.



Vava-NKG2D-S TGGATGGGACTAGTACAAATGTCAACAAATGGATCCTGGCAGTGGGAAGATGGCACCATTCTCTCACCTA 630  
 Vava-NKG2D-L TGGATGGGACTAGTACAAATGTCAACAAATGGATCCTGGCAGTGGGAAGATGGCACCATTCTCTCACCTA 533

Vava-NKG2D-S ACCAACTAACAGTGATTGAAATGCAGAAAGGAACCTGTGTGGTCTATGGCTCAAGCTTTAAAGGCTATAC 700  
 Vava-NKG2D-L ACCAACTAACAGTGATTGAAATGCAGAAAGGAACCTGTGTGGTCTATGGCTCAAGCTTTAAAGGCTATAC 603

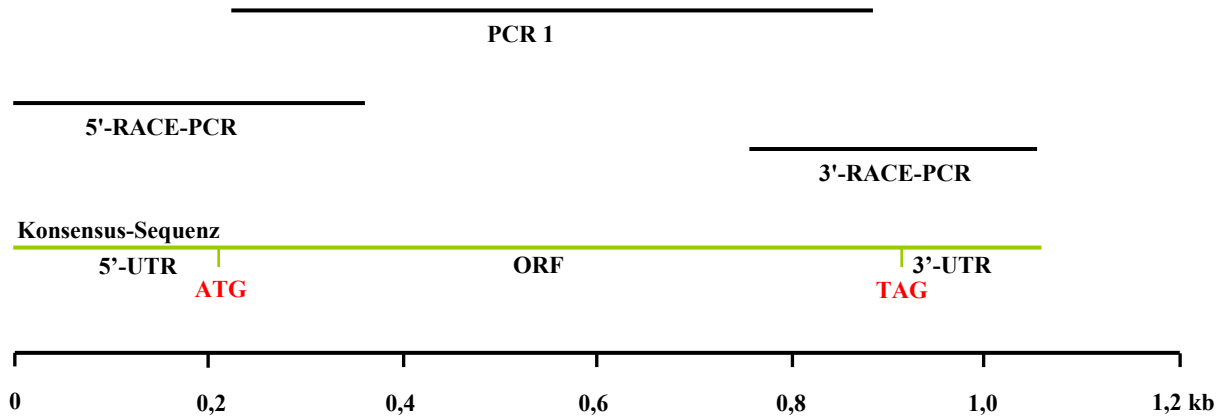
Vava-NKG2D-S AGAAAACGTGCCACTCCATACATGTACATTTGTATGCGGAGGATTGTGTAAGGACTTAGT 761  
 Vava-NKG2D-L AGAAAACGTGCCACTCCATACATGTACATTTGTATGCGGAGGATTGTGTAAGGACTTAGT 664

← 4187 3039 →

Die erhaltenen PCR-Produkte weisen unterschiedliche 5'-UTR auf. Der 5'-UTR des Produktes der PCR 1 (Vava-NKG2D-L) ist homolog zu Exon 1 der murinen NKG2D-L-Variante (orange markiert in A. und B.), enthält jedoch kein zusätzliches Startkodon wie NKG2D-L in der Maus. Stattdessen enthält die 5'-UTR-Sequenz ein Stopkodon im Leserahmen (fett und unterstrichen in der Sequenz). Die Produkte der 5'-RACE-PCR und der PCR-2 (Vava-NKG2D-S) entsprechen im 5'-UTR (gelb markiert in A. und B.) Exon 1 der murinen NKG2D-S-Variante.

### 7.7.5 Vava-NKG2-1

A.



Primerkombinationen, die für die jeweiligen PCR-Analysen verwendet wurden:

	<i>forward-Primer</i>	<i>reverse-Primer</i>	Annealing-Temp. (°C)
PCR 1	3330	3329	50
5'-RACE-PCR	GeneRacer™ 5'Primer	3414	63
3'-RACE-PCR	3417	GeneRacer™ 3'Primer	63

B.

Vava-NKG2-1 ACTCACTCTGAGCCTTCACAGGCACTCTCTGTAGATCACAGACATTGTTTGTCTTCTCCTGGGTCGCT 70

Vava-NKG2-1 GCCTTTAAATTTTCATCTTTTATTTCCAGTCACTGCAGGCCTTTGAATGAGAGTAACCTGGCCTCTGCAC 140

Vava-NKG2-1 TAAAGGACACAGGACTTTCTGGGGACAGAAGGTATCATAGAGCACAGTCCCTGACATCACGCAGCTGTAG 210

Vava-NKG2-1 **AGATG**GATAACCAAAGAGTAATCTACTCTGAAATGAAGCTGGCCAAAAACCCAAAGAGGCAGCAAAGGAA 280  
**3330** →

Vava-NKG2-1 ATCTAAGGACACTAAAAGCTCCATTTTCAGAACTGAATGGGAATAACCTATGCAGAATTAACCTTCAA 350

Vava-NKG2-1 AATGCTGCTCAGGATCTTCGAGGGGATGACACATCTTACCCTGCAAAGATTTACTGTTACCTCCAGAGA 420  
 ← **3414**

Vava-NKG2-1 AGCTCATTGCTGGGATCCTGGGAATCATCTGTCTTGTCTTAATGTTTCATGGTAGCAGGTGTTTCATTGC 490

Vava-NKG2-1 CTCTATGGTAAAAGAGATGCAAAAACAATTCTCTCCAGACTATGGGAACTCAGAAAGCATATAATTTAGT 560  
 |-----|  
**Sv1**

Vava-NKG2-1 CATTGTCCAGAGAGTGGTTCACATATTCACCAATTGTTATTACATTGGTAAGGAATTGAAAACCTGGG 630

Vava-NKG2-1 ATGAGAGTGTGACGGCCTGTGCTTCCCAGAACTCTAGTCTGCTTTACATAGATAATGAAGAAGAAATGAA 700

Vava-NKG2-1 ATTTCTGGACTCCCTGTCACTTCTGTCAATGGATTGGAGTCTCTCGTAAAAGCCATCGTCATCCATGGGTG 770  
 → **3417**

Vava-NKG2-1 TCATTACGTGGCTCAACTTTCAAACTTAAAAATAGCAGAAACAGAATATGCTGAACGTAACCTGTGCTATGC 840

Vava-NKG2-1 TATACAAACGTAGACTTCAAAGAGATGAATGCGGATCTTCAAACCATATATTTGTAAGCACAAGTTT**TA** 910  
 ← **3329**

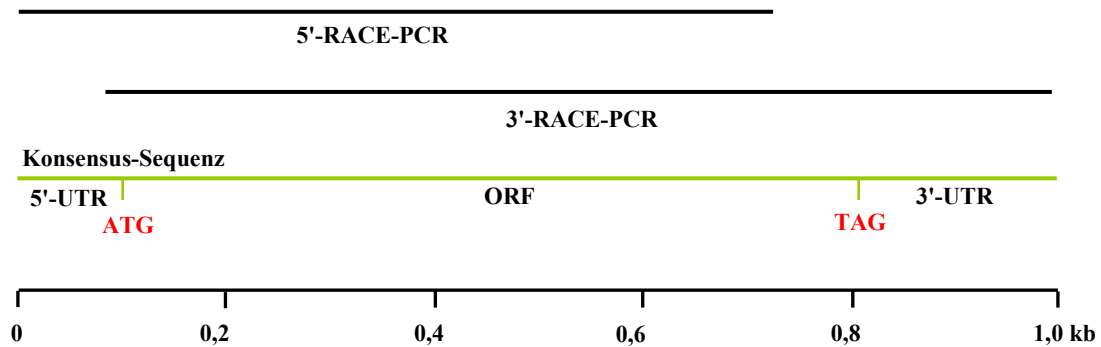
Vava-NKG2-1 **CAAGTAAAGTGCCTGAGTTTGGAAATGGCCAGGTAATTTTTTATTTTGTGAAATGCTAATAATATTATGA** 980

Vava-NKG2-1 **TGTCATAAATCAAATGAACCTGTAATTTGTTTAAAGAAATAAATTTTCAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA** 1050

Vava-NKG2-1 **AAAAA** 1055

### 7.7.6 Vava-NKG2-2

A.



Primerkombinationen, die für die jeweiligen PCR-Analysen verwendet wurden:

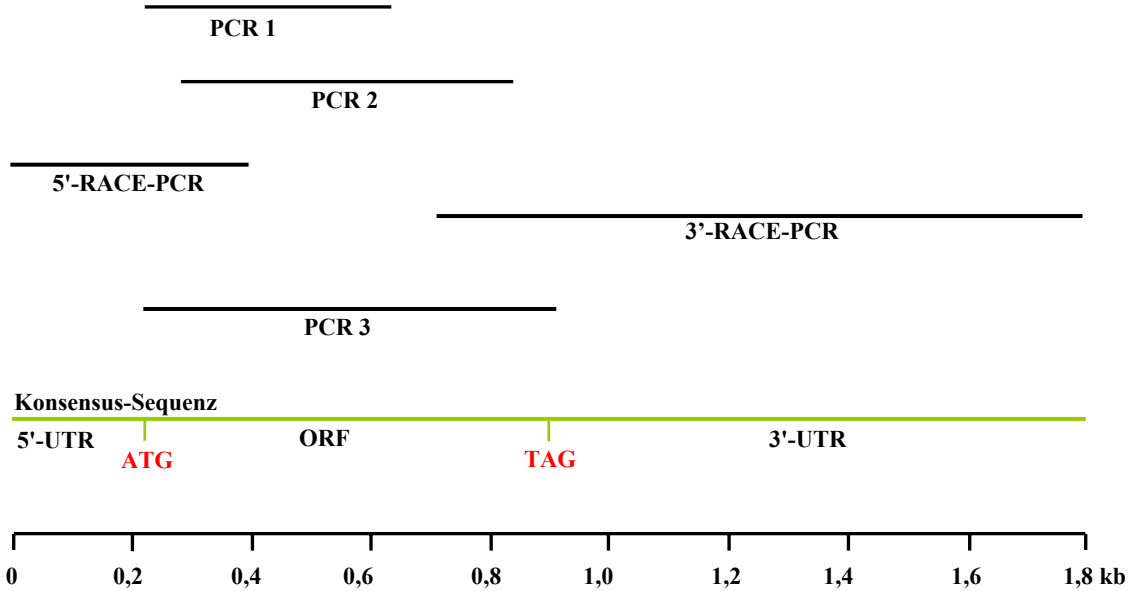
	<i>forward-Primer</i>	<i>reverse-Primer</i>	Annealing-Temp. (°C)
5'-RACE-PCR	GeneRacer™ 5'Primer	3464	63
3'-RACE-PCR	4130	GeneRacer™ 3'Primer	63
Sequenzierprimer	4406		

## B.

↓ ↓ ↓ ↓  
 Vava-NKG2-2 ACGGGGCACCTCTGCGAAGATCACAGACGTTTCTTCTTCTTATCAGGAGTGGCCTAGACTCTAACGGCTA 70  
 Vava-NKG2-2 CAGGACGTTCTGGGGACAGAAGGTGCAGAGATCAAGAACCAAAGAGTAACATACTCAGGAATGAATCTGG 140  
 4130  
 Vava-NKG2-2 CCAAGGACCCAAAGAGGCAGCAAAGAAAATCTAAGGGCAAGAAAAGCTCCATTTCTGTAACGAACAGGA 210  
 Vava-NKG2-2 AATAACCCAAGTGAATTAAACCTTCAAATGCTCCTCTGGATCTTCAGGGGAAGGACAAGACCTGCTAC 280  
 Vava-NKG2-2 TACAAATTTTCACTGTTACCTCCAGGGGAAGCTCACTGCCGAGATCCTGGCCGTCATTTGCATTGTCCTAG 350  
 Vava-NKG2-2 TGGGCTCTGTGTTAAAAATGATATTAATAGCTCGCATTCCTTTACATTAACACAGAAGCCAAACAATTC 420  
 |-----|  
 Vava-NKG2-2 TTCACAGACTATGAGAACTCAGAAAGCATATGATTGTGGCCGTTGTCCAGAGGAGTGGTTCACATATTC 490  
 -----| Sv1  
 Vava-NKG2-2 ACCAATTGTTATTATATTAGTAAGGAATCGAAAACCTGGGATGAGAGTGTGACGGCTTGTGCTTCCCAGA 560  
 Vava-NKG2-2 ACTCTAGTCTCCTTTACATAGATAATGAGGAAGAAATGAAACTTCTGGGCTCCTTTTCAAAACAAGCGTG 630  
 Vava-NKG2-2 GATTGGAGTCTTTCGTACCAGCAGTCATCATCCATGGGTGTCAAGAAATGGCTCAACTTCAAACCTAAA 700  
 4406  
 Vava-NKG2-2 AATAAGGAAACAATATATGGTACACATCACTGTGCTGCGCTAGACTCACTCAGACTTCAGTCAACTGGAT 770  
 ← 3464  
 Vava-NKG2-2 GTGGATCTAATAAAACATATATTTGTAAGCACCAGCTT **TAG**AAGTAAAGCACCTGAGTTGGAGTCAGCC 840  
 Vava-NKG2-2 AGGTAATATTTTATTTGGGAAATGGAATAATATTATGATTGTATAAGTCAATGAATTGTAATTTGTT 910  
 Vava-NKG2-2 TAATAATGAAAAGATATTCAAAAATAATATTTGTAGTAT **AATACACACA**CAGAAGGAACAGGAAAAAA 980  
 Vava-NKG2-2 AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA 1000

7.7.7 Vava-NKG2-3

A.



Primerkombinationen, die für die jeweiligen PCR-Analysen verwendet wurden:

	<i>forward-Primer</i>	<i>reverse-Primer</i>	Annealing-Temp. (°C)
PCR1	3028	3289	51
PCR2	3399	3405	55
PCR3	4129	4128	55
5'-RACE-PCR	GeneRacer™ 5'Primer	3418	63
3'-RACE-PCR	3467	GeneRacer™ 3'Primer	61
Sequenzierprimer	4360		

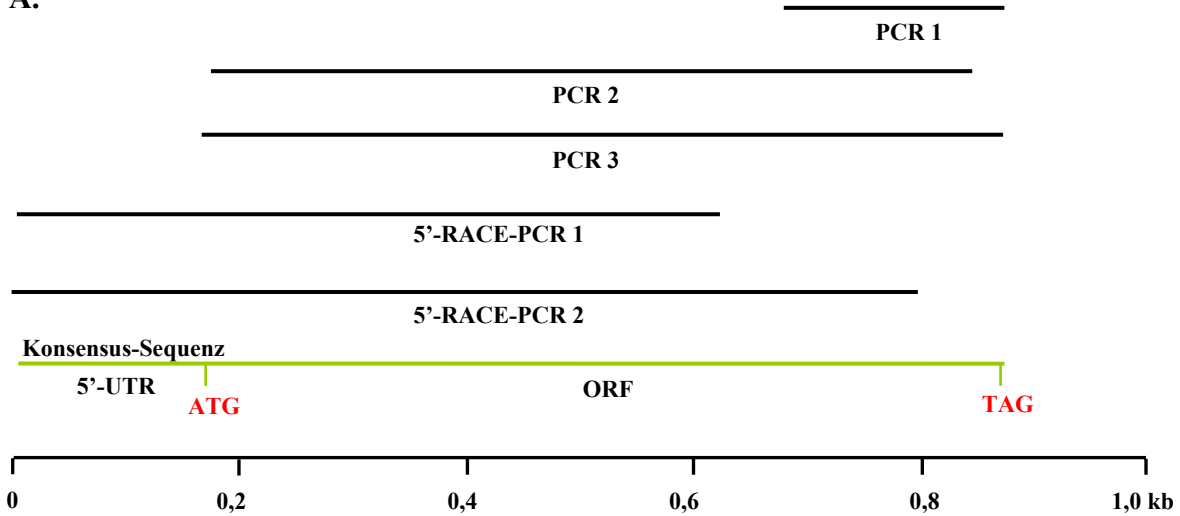
B.



Vava-NKG2-3 CCAGAGGAGTGGTTCACATATTCACCAATTGTTATTACATTAGTAAGGAATTCAAAACCTGGGATGAGA 630  
 Vava-NKG2-3 GTGTGATGGCCTGTGCTTCCCAGAACTCTAATCTGCTTTACATAGATAAAGAAGAAGAAATGAAATTCT 700  
 3289  
 Vava-NKG2-3 GGGCTCCCTTTTCAGGGAAAACATGGATTGGAGTCTTTTCGTAACACCAGCCATTATCCATGGGTGTCAAGA 770  
 3467  
 Vava-NKG2-3 AATGGCTCAACTTTCCAACCTTAAAGTAGAGGAAATAATATATGGTAAACATCACTGTGCTGTCTACAGT 840  
 Vava-NKG2-3 CTCTCAGACTTCAATCAGCTGGATGTGGATCTTCAAAAAGATATATTTGTAAGCACAAAGATT TAGAAGTT 910  
 3405  
 Vava-NKG2-3 TGGAGTTAGCCAGGTGCCATAAATATTTTCATTTATTTTGCTGTCTAGATTTTTATTTTCAATGATGAAGA 980  
 4128  
 Vava-NKG2-3 GAAGGTGTAATACTGGTTCTATGTATATCATATGTATTATTTCTGTTTTTGATGAAATTTCAACATTC 1050  
 Vava-NKG2-3 GTATTTTTGAATTTTCTTATAACTTTTACATATTCAGCAATTTTATAGCATTCCCATTTCTAATAGAT 1120  
 Vava-NKG2-3 TTTGCTTTAAATCCTTGTAAATTTTACAATTTTGCATCAATTGAAATGGTATATATTTTCTATGTGA 1190  
 Vava-NKG2-3 ATGTTTGTAACTAACTACTTTTATTTCTTTTAAATGTTAAACCAGTCTTGCATTTCTTAGATAAAAATC 1260  
 Vava-NKG2-3 ATACTAGTCATTTCGTATATCTCTTTAATGTAATCAGTGCATATAGTATATTAGAGTAACATTTCTTTC 1330  
 Vava-NKG2-3 ATGATCCATGTTTCACAGGGAGATTCTATTATGTTTTTATTTCATTGCTACGTACTTGAAAGTTCTTGCTTT 1400  
 4360  
 Vava-NKG2-3 CATGGCTACACTGGGAAGCATTATTTTTTGGATAACCTGGAAGCCTCTGTGTACTAGTACTGTTTATTAC 1470  
 Vava-NKG2-3 TCATTAGTGATGCCATCTGAGTTTGTAGAATATATTGATAAGGATGTTTATATAACAACTCATTTTTTT 1540  
 Vava-NKG2-3 TAGTACATGTAAGGTTTACTCAGATGTCTGTTCTTTTACTATATTTTGGTAATTTGCACATTTAAGAAT 1610  
 Vava-NKG2-3 TTTTATTTTACATTGATCTTAAATTTTATTCATAAAATGTTCCATACTTTTTGATATCTGTCAAACC 1680  
 Vava-NKG2-3 ATAAAAATTCATACATTTAATTGAGAAAAAAAATACTTGTGCCTTCCTGCTTCTTTCTTAAATAGTCT 1750  
 Vava-NKG2-3 TTTATCAATTTTATTAATTGTTTTCAATAAAATATCTTTGGCTTTGTTAAAAAATAAAAAAAAAAAAAA 1820  
 Vava-NKG2-3 AAA 1823

7.7.8 Vava-NKG2-4

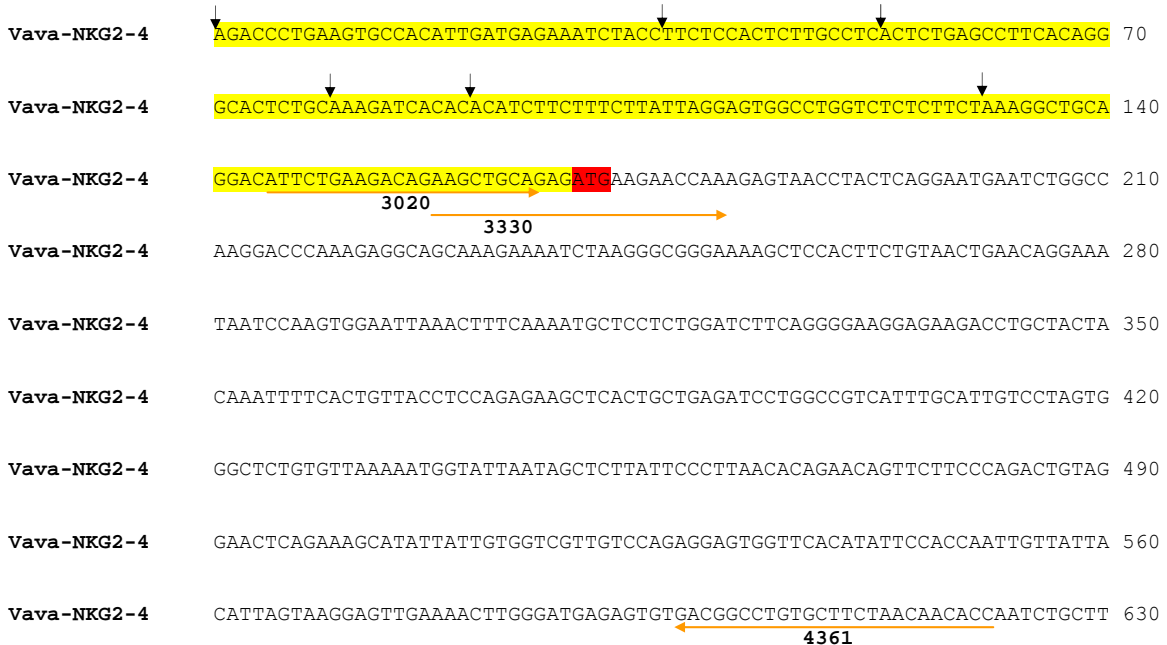
A.



Primerkombinationen, die für die jeweiligen PCR-Analysen verwendet wurden:

	<i>forward-Primer</i>	<i>reverse-Primer</i>	Annealing-Temp. (°C)
PCR1	3361	3025	50
PCR2	3330	3329	50
PCR3	3020	3021	52
5'-RACE-PCR 1	GeneRacer™ 5'Primer	4361	63
5'-RACE-PCR 2	GeneRacer™ 5'Primer	3464	63

B.



Vava-NKG2-4 TACATAGATAATGAGGAAGAAATGAGATTTCTGGGCTCCCTTTCAGAGAAATCATGGATTGAAGTCTTTC 700  
 3361

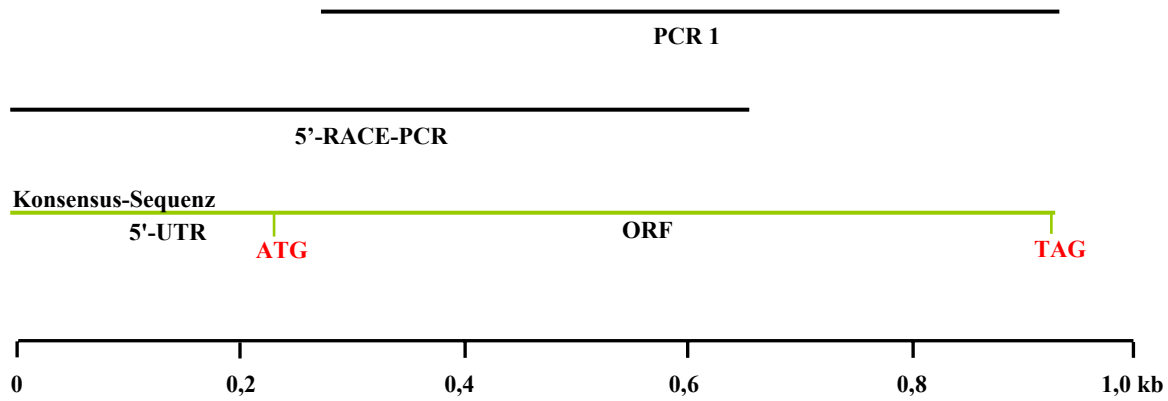
Vava-NKG2-4 ATAAACAGCAGCCACCATCCATGGGTGTCAAGAAATGGCTTAACTTTCAAACTTAAAATAAGGAAACAAT 770

Vava-NKG2-4 ATATGGTAAACATCACTGTGCTGCACTAGACTCACTCAGACTTCAATCAAGTGAATGTGGATCTAATAAA 840  
 3464

Vava-NKG2-4 ACATATATTTGTAAGCACGAGCTT **TAG** AAG 870  
 3329 3025 3021

7.7.9 Vava-NKG2-5

A.



Primerkombinationen, die für die jeweiligen PCR-Analysen verwendet wurden:

	<i>forward-Primer</i>	<i>reverse-Primer</i>	Annealing-Temp. (°C)
PCR 1	3280	3027	50
5'-RACE-PCR	GeneRacer™ 5'Primer	4361	63

B.

Vava-NKG2-5 ACTCTGAGCCTTCACAGGGCACTCTGCGAAGATCACAGACATTTCTTCTTCTTATCAAGAGTGGCCTGG 70

Vava-NKG2-5 ACTCTACACTAACAGCTGCAGGACATCTGGGGACAGAAGGCTGGTCTCGAACTCCTGAGCTCAAGCAAT 140

Vava-NKG2-5 CCTCTTCTTCTGGGCCTTCCAGACTGCTAGGATTACAGAAGTGAGCCACCACCCGGCCAAAAGTTTAAA 210

Vava-NKG2-5 TTCTATAAATCACACAGCTTCAGAG **TAG** AAGAACCAAGAGTAACCTACTCAGGAATGAATCTGGCCAAG 280  
 3280

Vava-NKG2-5 GACCCAAAGAGGCAGCAAAGAAAATCTAAGGGTGGGAAAAGCTCCATTTTCAGTAACCGAAGAGGAAATAA 350

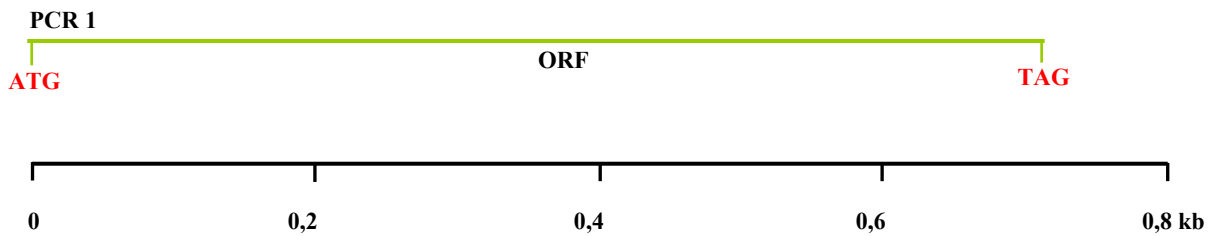
Vava-NKG2-5 CCCAAGTGGAAATTAACCTTTCAAATGCTACTCTGGATCTCCAGGAGAAGGAGAAGACCTGCTACTACAA 420

Vava-NKG2-5 ATTTTCACTGTTGTCTCCAGGGAAGCTCACTGCTGAGATCCTGGCCGTCATTTGCATTGCTAGTGGGC 490

Vava-NKG2-5 TCTGTGTTAAAAATGATATTAATAGCTCGCATTCCCTTAAACTGAACAGTTCTTCCCAGACTATAAGAA 560  
 |-----|  
 Vava-NKG2-5 CTCAGAAAGCATATGATGTGTGGCCGTTGTCCAGAGGAGTGGTTCACATATCCACCAATTGTTATTACAT 630  
 -----| sv1  
 Vava-NKG2-5 TGGTAAGGAATTCAAACCTGGGATGAGAGTGTGACGGCCTGTGCTTCTAACAACTCTAGTCTGCTTTAC 700  
 ← 4361  
 Vava-NKG2-5 ATAGATAATGAGGAGGAAATGAGATTTCTGGGGTCCCTTTCAAAGCAAGCATGGATTGGAGTCTTTCGTA 770  
 Vava-NKG2-5 ACAGCAGCCATCATCCATGGGTGTCAAGAAATGGCTCAACTTTCAAACCTAAAAATAGAGGAAACAATATA 840  
 Vava-NKG2-5 TGGTAAACATCACTGTGCTGCGCTAGACTCACTCACTCTTCAATCAGCTGGATGTGGATCTTCAAAAACA 910  
 Vava-NKG2-5 TATATTTGTAAGCACAAGATT TAGAA ← 3027 936

7.7.10 Vava-NKG2-6

A.



Primerkombinationen, die für die jeweiligen PCR-Analysen verwendet wurden:

	<i>forward-Primer</i>	<i>reverse-Primer</i>	Annealing-Temp. (°C)
PCR 1	3020	3021	52

B.

Vava-NKG2-6\*01 GAGATCAAGAACCAAAGAGTAACCTACTCAGGACTGAATCTGGCCAAGGACCCAAAGATGCAGCAAAGAA 70  
 Vava-NKG2-6\*02 GAGATCAAGAACCAAAGAGTAACCTACTCAGGACTGAATCTGGCCAAGGACCCAAAGATGCAGCAAAGAA 70  
 3020  
 Vava-NKG2-6\*01 AATCTAAGGGCGGAAAAAGCTCCTTTTCTGTAACGAAATAACCCAGTGAATTAACCTTGA 140  
 Vava-NKG2-6\*02 AATCTAAGGGCGGAAAAAGCTCCTTTTCTGTAACGAAATAACCCAGTGAATTAACCTTGA 140  
 Vava-NKG2-6\*01 AAATGCTACTCTGGATCTTCAAGGAATGACAATAGCTGCTACCGCAAATTTTCACTGTACCTCCAGAG 210  
 Vava-NKG2-6\*02 AAATGCTACTCTGGATCTTCAAGGAATGACAATAGCTGCTACCGCAAATTTTCACTGTACCTCCAGAG 210  
 Vava-NKG2-6\*01 AAGCTCACTGCTGAGATCCTGGCCATCATTGTCATTGTCCTAGTGGGCTCTGTGTTAAAAATGGTATTAA 280  
 Vava-NKG2-6\*02 AAGCTCACTGCTGAGATCCTGGCCATCATTGTCATTGTCCTAGTGGGCTCTGTGTTAAAAATGGTATTAA 280

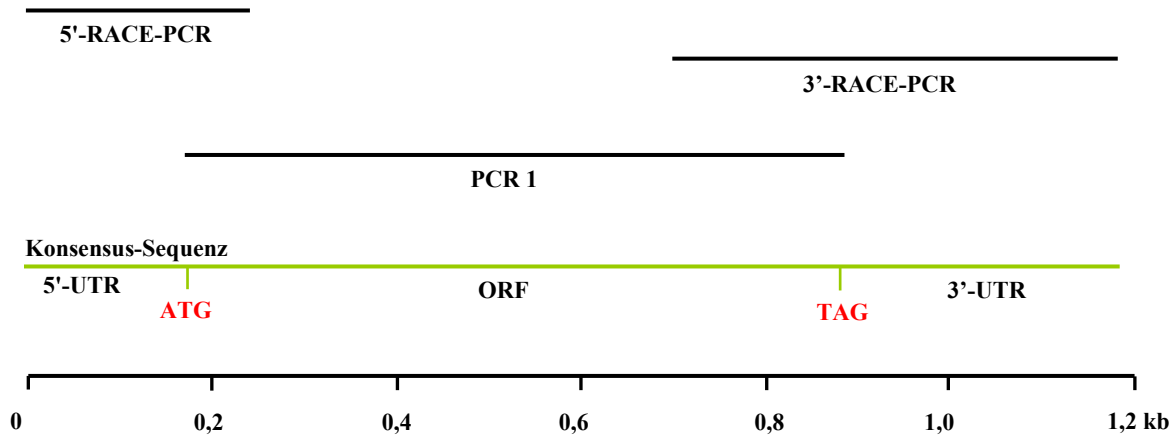
Vava-NKG2-6*01	TAGTCTTATTCCCTTTACCATAATGGAGAAGCAGAACAATTCTTTCCAGAATGTAAAAAC	CCAGAAAGC	350
Vava-NKG2-6*02	TAGTCTTATTCCCTTTACCATAATGGAGAAGCAGAACAATTCTTTCCAGAATGTAAAAAT	CCAGAAAGC	350
Vava-NKG2-6*01	ATATGATTGTGGCCATTGTCCAGAGGGTGGTTCACATATTCACCAATGTTATTCCATTGGTAAGGAA		420
Vava-NKG2-6*02	ATATGATTGTGGCCATTGTCCAGAGGGTGGTTCACATATTCACCAATGTTATTCCATTGGTAAGGAA		420
Vava-NKG2-6*01	TTGAAAACCTGGTATGAGAGTGTGACAGCCTGTGCTTCCAGAACTCTAATCTGCTTTACATAGATAATG		490
Vava-NKG2-6*02	TTGAAAACCTGGTATGAGAGTGTGACAGCCTGTGCTTCCAGAACTCTAATCTGCTTTACATAGATAATG		490
Vava-NKG2-6*01	AAGAAGAAATGATATTTCTGGGCTCCCTGCTACGTCAGTCATGGATTGGAGTCTTTCGTAACAGCAGTGA		560
Vava-NKG2-6*02	AAGAAGAAATGATATTTCTGGGCTCCCTGCTACGTCAGTCATGGATTGGAGTCTTTCGTAACAGCAGTGA		560
Vava-NKG2-6*01	TCATCCATGGGTGTCATTACATAGCTCAGCTTTCAAACTCAAATAGCAGAAACAGCACATGCTAAACGT		630
Vava-NKG2-6*02	TCATCCATGGGTGTCATTACATAGCTCAGCTTTCAAACTCAAATAGCAGAAACAGCACATGCTAAACGT		630
Vava-NKG2-6*01	AACTGTGCTATTCTACACTCAGATAGACTTCAATCAAATGGATGTGGATCTTCAAACAGATATCATTGTA		700
Vava-NKG2-6*02	AACTGTGCTATTCTACACTCAGATAGACTTCAATCAAATGGATGTGGATCTTCAAACAGATATCATTGTA		700
Vava-NKG2-6*01	AGCACAAAGCTT	TAGAAG	717
Vava-NKG2-6*02	AGCACAAAGCTT	TAGAAG	717

3021

Es wurden zwei verschiedene Allele (Vava-NKG2-6\*01 und Vava-NKG2-6\*02) amplifiziert. Nukleotid-austausche zwischen beiden Sequenzen sind grau markiert.

### 7.7.11 Vava NKG2-7

A.



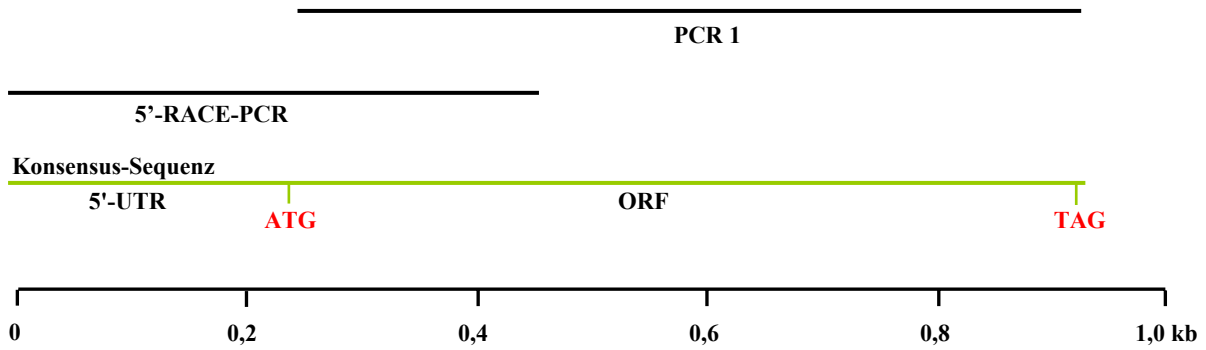
Primerkombinationen, die für die jeweiligen PCR-Analysen verwendet wurden:

	<i>forward-Primer</i>	<i>reverse-Primer</i>	Annealing-Temp. (°C)
PCR 1	3020	3021	52
5'-RACE-PCR	GeneRacer™ 5'Primer	3465	63
3'-RACE-PCR	3466	GeneRacer™ 3'Primer	63



7.7.12 Vava-NKG2-8

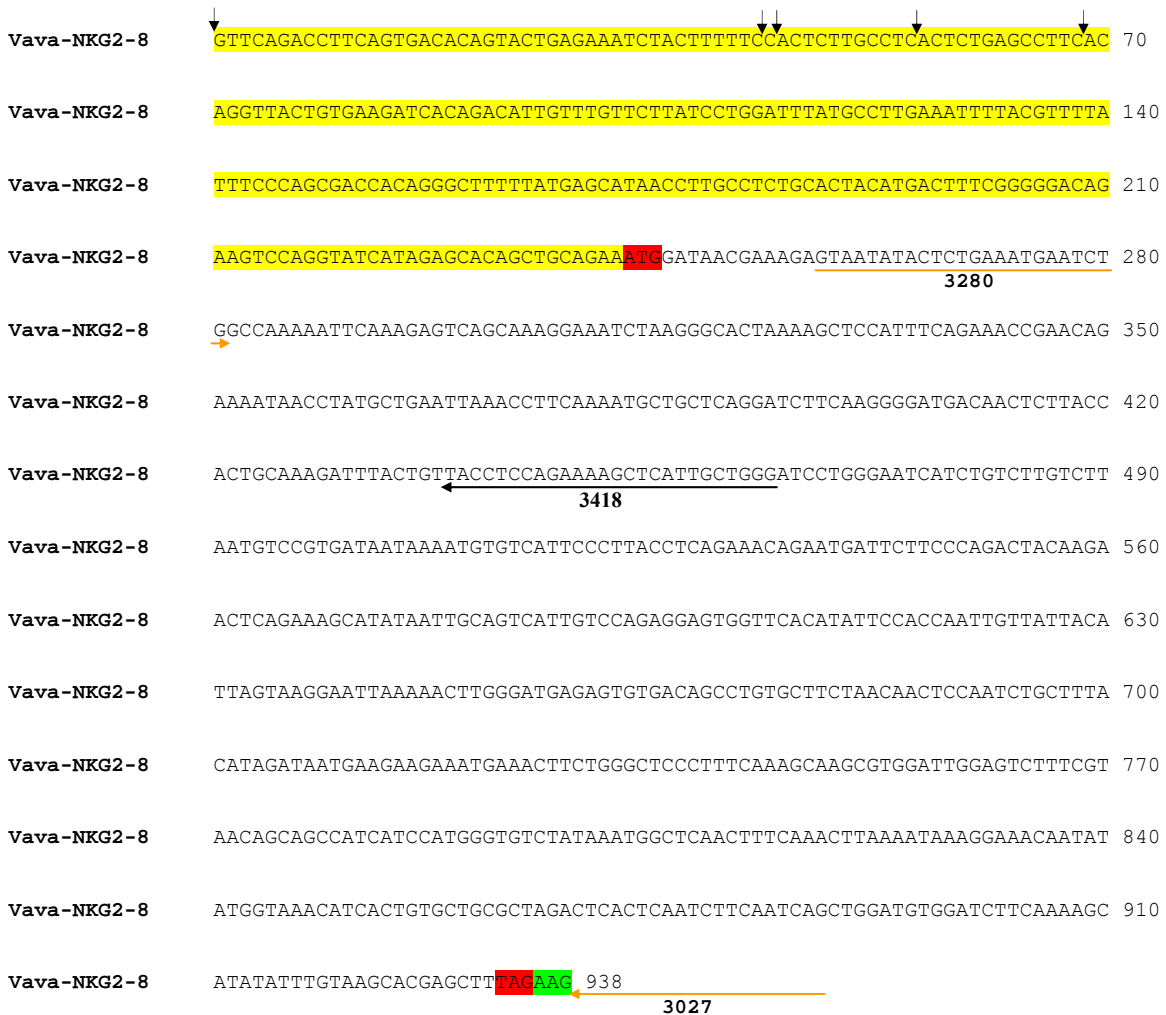
A.



Primerkombinationen, die für die jeweiligen PCR-Analysen verwendet wurden:

	<i>forward-Primer</i>	<i>reverse-Primer</i>	Annealing-Temp. (°C)
PCR1	3280	3027	50
5'-RACE-PCR	GeneRacer™ 5'Primer	3418	63

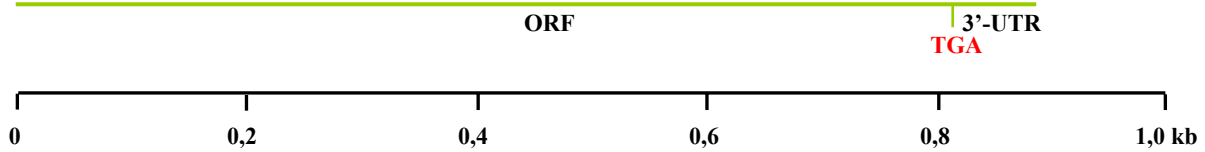
B.



### 7.7.13 Vava-Ly49L

A.

PCR 1



Primerkombination, die für die PCR verwendet wurde:

	<i>forward-Primer</i>	<i>reverse-Primer</i>	Annealing-Temp. (°C)
PCR 1	3047	3040	53

B.

Vava-Ly49L*01	ATTTATTCAACCGTGAGATTTGTGCGGTCTCCTTCAGAGTCAGGGAGTGAACAAAGGTCTGATGTTACTC	70
Vava-Ly49L*02	ATTTATTCAACTGTGAGATTTGTGCGGTCTCCTTCAGAGTCAGGGAGTGAACAAAGGTCTGATGTTACTC	70
	3047 →	
Vava-Ly49L*01	AGAGGCCTGGGAAGACTGGCGACAAAGTGTTCAGTGTCTGGCGTTTCATTGCAGTGAAGTCTTGGGAT	140
Vava-Ly49L*02	AGAGGCCTGGGAAGACTGGCGACAAAGTGTTCAGTGTCTGGCGTTTCATTGCAGTGAAGTCTTGGGAT	140
	-----  ----- Sv1	
Vava-Ly49L*01	CCTCTGTTTACTTCTGTTGATGATAGTCATAGTGTGGTGACAAAGATGTTTCAGTGCATTCAAGAAAGA	210
Vava-Ly49L*02	CCTCTGTTTACTTCTGTTGATGATAGTCATAGTGTGGTGACAAAGATGTTTCAGTGCATTCAAGAAAGA	210
	-----	
Vava-Ly49L*01	CATCAGCAGGAAATCTAAGAGACCTTAGTCAAAATGACAACCTATTTAAAGGAGCAACTTTTGACAAATA	280
Vava-Ly49L*02	CATCAGCAGGAAATCTAAGAGACCTTAGTCAAAATGACAACCTATTTAAAGGAGCAACTTTTGACAAATA	280
	-----	
Vava-Ly49L*01	AGACTTTAGAATATGACATTTTAAAAAATGAAAGCCTTCAGCAGAAAAAGGAACTGGACTCACTCTTTCT	350
Vava-Ly49L*02	AGACTTTAGAATATGACATTTTAAAAAATGAAAGCCTTCAGCAGAAAAAGGAACTGGACTCACTCTTTCT	350
	-----	
Vava-Ly49L*01	AAAAAAGAACATATGTCATACAAAAATGATATCTTTTCAAATCTTTGGAAAATACAGGCAAACGTTAT	420
Vava-Ly49L*02	AAAAAAGAACATATGTCATACAAAAATGATATCTTTTCAAATCTTTGGAAAATACAGGCAAACGTTAT	420
	-----	
Vava-Ly49L*01	GAAGGCCACTGGTCCGTGTTGTGGATTAAGCTGTTATTATTTACCATGGAAAATAAAAACGGAAGGGAT	490
Vava-Ly49L*02	GAAGGCCACTGGTCCGTGTTGTGGATTAAGCTGTTATTATTTACCATGGAAAATAAAAACGGAAGGGAT	490
	-----	
Vava-Ly49L*01	GTAACAGACTTGCCGAAGTTACAGATCATCCCTTTTGAAGATAGATGATGAAGATGAACGTCCTTCGT	560
Vava-Ly49L*02	GTAACAGACTTGCCGAAGTTACAGATCATCCCTTTTGAAGATAGATGATGAAGATGAACGTCCTTCGT	560
	-----  ----- Sv2	
Vava-Ly49L*01	TCAACTCCAGACTTATAAAAATTTACTGGATTGGATTATCATATGATGAGAAGGAAAGAAAATGGAAA	630
Vava-Ly49L*02	TCAACTCCAGACTTATAAAAATTTACTGGATTGGATTATCATATGATGAGAAGGAAAGAAAATGGAAA	630
	-----	
Vava-Ly49L*01	TGGGTTGATAGTGGCTCATCTCCTGGACTTAATTTGCAATAATGAATTTGACTTCTGGGAGAGGACAAT	700
Vava-Ly49L*02	TGGGTTGATAGTGGCTCATCTCCTGGACTTAATTTGCAATAATGAATTTGACTTCTGGGAGAGGACAAT	700
	-----  -----	
Vava-Ly49L*01	GTGCATTTTTATCCTCAACAAGAGTAGCAGTTATTGATTGCATTAACCTTACAACGTATCTGTGAAAA	770
Vava-Ly49L*02	GTGCATTTTTATCCTCAACAAGAGTAGCAGTTATTGATTGCATTAACCTTACAACGTATCTGTGAAAA	770

<b>Vava-Ly49L*01</b>	GAGAATTGACTGTATTTTCTCTGCTTCAGCGTCCACTAAGAAGAAAAGG	TGAAAATGGAATGTTGTTTT	840
<b>Vava-Ly49L*02</b>	GAGAATTGACTGTATTTTCTCTGCTTCAGCGTCCACTAAGAAGAAAAGG	TGAAAATGGAATGTTGTTTT	840
<b>Vava-Ly49L*01</b>	TTTTGTTACTTCCTATAATAATTTGTGATTGCTTCAAAATAAA	TGATTTACCT	895
<b>Vava-Ly49L*02</b>	TTTTGTTACTTCCTATAATAATTTGTGATTGCTTCAAAATAAA	TGATTTACCT	895

3040 ←

Es wurden zwei verschiedene Allele (Vava-Ly49L\*01 und Vava-Ly49L\*02) amplifiziert. Der Nukleotidaustausch zwischen beiden Sequenzen ist grau markiert. Der proteinkodierende Bereich der Ly49L-Allele ist am 5'-Ende unvollständig.

## 7.8 Genomische Sequenzen der NKC-Gene des Weißbüschelaffen

Dargestellt sind die genomischen Sequenzen der NKC-Gene des BAC-Klons 188C15. Der 5'-UTR ist gelb, proteinkodierende Exons rot, amplifizierter 3'-UTR grün und Start- bzw. Stopkodons blau markiert. Der 5'-UTR wurde experimentell über 5'-RACE-PCR ermittelt. Homologe Bereiche in den Pseudogenen zu Exons humaner NKC-Gene sind grau hinterlegt. Primer, die zur Expressionsanalyse verwendet wurden, sind fett und unterstrichen.

### 7.8.1 Caja-CD94

ATTTTACTGCTTCTTATTTCGTATGGTAATACATGGCTCATCAATAGGTAATTCAAAAACA	60
TCATTTAAATACACAATTTTTTCATTCTACTTTTTTGCTATATTTCTTCACACTCAACTTT	120
CCGAGTCTTTCAACTCCAGCTCAGCTCCAACAATTCACAGCTGTTTTTCTGAACAAGTA	180
CACATCGTGCCTTCTCTACATTGCTCTTGGAAACATAAAGTCTC <b>ATG</b> <b>GCAG</b> GTATGTGTGA	240
TTTCAATCGCCAAATTAATAAATAACCAGAAAAGCTATTTCTGGGATTGGCTAATTTTGGG	300
GTAGTGCTTTAAGAGAAAAGGACATGATTAACAGTGGATATTTTCAGGCTTTTCATGCAT	360
TAGCACTTTTCCATTCATTTTAGTTTCTGATTCTTCATTGTTTAACTCAGAAATGATTC	420
TATGAAATTTTTATGACAGGTTTAAACGAGTGGCTTCTGGCAGGGCTACCTCTAAATTCTG	480
AACAAGAAGTGAAGTCTAACCTGGTTAAATTTGTGAGCAACGGAATTCTAATATAGAAATA	540
GAAAGTGCCAAATATTAATGGCGCAATGCTTAAAGTTTTAACTTACTGTTTATGTGGT	600
GACATCTAGAAATTACACAAATGAACAGTTTGCATATTTGACTGTTGTTAATGACAACA	660
TCATTATTTGAGAGTGTGGCAGTGTGAGCAGAAATCTCCTAATGTTGAAATGTTTTAGG	720
TCAAAAGCCTAGAAAACAAGCAATCTTGAGTGTGAACAAATGTAATGTTCTTGGGGAAGAA	780
AAGATTGTTTGCATATCATAATCAATGTACTGCGAAATGAACCCAGGCCTCCAAGGCAT	840
CACCCATCTATTGGTTGTAGAAAAGAGTTATCACATGAAGTCCAGAATGTTTCTATGTCTT	900
CTTTTCCCTGCAATATCTCTATGAAGCCATGAGCGGCTAGACATTTATCAGAGCAAAGCT	960
GCACTGAGATGAGGAGAGGACACACTCTCAAGTAGTATTACTGTGACAATGGTAGATTAC	1020
GTTAAGTGAAAGATCCTTGAGCTAGACCCACTTTCATTTGATTTCCGACTTGGATACTTG	1080
CTTGCTTGGATAACTTGAGAAAATAACATTATTACTGGACCTTATGTTTTCTCACCTACC	1140
TAATGAGAATTACACATATCTATCTTACGATTTGGTTGAGAGAAGAAAAATAAATGGCAAT	1200
TATGTAAGTTCATAAAAACAACACTTGGTGCCTGCTAATATCTTCTTCTCTGGATCTTTA	1260
AGTCTCTGTGCGTTTTAAACATACATGGTAAATTTACTTTACTGAGACAGAGCTGGTA	1320
GAGTAGAAAATGTTTGAATAATCTCCGTGAAGAATAAGATACATCACATAAAAATGCTGG	1380
TGTTGGGTGAAGTCTGATTGGAAAGTCTTCATTTTTTCAGTGTTTTATTGGCAAGCTGAC	1440
ACCCTTATCAAATGAAAAGATGTTTTGGATTCCCTCTCACTAGTTTCTGCTTTTAAAGATC	1500
TCAGCTCCCGTGTGTTGCTCTTTAAGTCATTACCCTGTCTGTCTTTCTTACAG <b>TGTTTAAAG</b>	1560
<b>GCCACCTTCTGGAGGTTGATTTCTGGGACCTTAGGGATAAATATGCCTTTCGTTGATGGCC</b>	1620
<b>ACACTGGGAATTTGTAAATAATTTGTAAGTTCTTCTAAGCACGTCTCCATCAAATCAA</b>	1680
<b>AACTGTGATGACATCATTTAATAATAAAGGCTTCATCTTACTAATGTTAATATGTTATTA</b>	1740
<b>TTTTCAGAAACCCATATCTAATTAACAAATTTCTAATCATTTCATTATAG<b>CTTTTACTAAA</b></b>	1800
<b>CTGAGCATTGAGTCAGCATTACTCCAGGACCCAACATAGAAGTCCAGAAAG</b> GTAGGGCA	1860
TATTTTTTGGAAAGCTTGGCATTGGTAAAGGATGAAATAAGCAGTTCTTTGTTTCTCACA	1920
CGAAGAAGCATGATAGAATATTATACTTAGTAATAGAAAATTTGCCTGCCAGTGTAGGATA	1980
GTCTCATTTTTACTGTTCTCTAATGTAAACATGATTAATTTACATTGAATGTGCATCATTT	2040
ATACATTTAACTAATTAGGAAAATGGTATCTGAAATGAAAATACATGAGTGGTCATCAT	2100
TAGGTAACAAAACTAAACCGCAGGAAACATTACAGTTAATCCTCATTACCTGCCTGAAT	2160
TTGCTTATGATCTATACTTTTGCATCTCATACTTTTCCCTTTTGATTCTTAAATGATGCA	2220
AAATATAGTGCACAGATTTCTAAATCTTACTTATCCAATGGAAGCCAGCTCAAAGTCCAA	2280
TTTTCTTTCTTTCTTTTATTTTATTTAGAGACAGATTTTGGCTCTTGTCTCCCAGGTTGGAGT	2340
GCAGTGGTGTCTATCTCAGCTCACTGCCACCTTCTCTCTGCTGGGTTCAAGAGATTTTCTG	2400
CCTCAGCCTCCACGTAGGTGGAACACAAAGCACCCACCACCGTGCCCGGCTAATTTTTTG	2460
TATTTTTTAGTATAGAGAGGGTTTTCGCCATGTTGGCCATGCTGGTCTTGAAATCCTGACCT	2520
TAGGTGATCCACCCGCTTGGCCTCCCAAAGTGTGGGACGACAGGCATGAGCCACTCTGC	2580
CCGGCAGAGCCACAGCACCCAGCCAGATTTTCTAAATATATTTTTTTTCCAAATGCACCC	2640
CAAGTTGTCTCATCATCTTCTGTGATCATATACTGCTTCATTTACAGTGTAACATCTTGG	2700
CCGGGCGCAGTGGCTCATGCCTGTAATCCGAGCACTTTGGAAGGCTGGAGGTAGGCATAT	2760
TACTTGAGGTCAGAAGTTTGTAGACAAGCCTGGCCAACATAGTGAAACCTCATCTCTACTA	2820

AAAATACAAAAATTAGCCAGGCATAGTGGTGCACACCTGTAGTCTCTGTTACATAGGAAG	2880
CTGAGGCATGGAGAATTGCTCGAACCTGGGAGGCAGAGGTTGCAGTGAGCTGAGATGGCA	2940
CCACTGCACTCCAGCCTGGGCAACGCAGCAAGACTCTGTCTCAAAAAATAAATAAATAAAT	3000
ACATACATACATAAAATGGTGCAACATCTTCAGCACCACCTTATATGGCAACAATTTGAGTG	3060
CCTATGCTATGTCATGCTTTTTATTACTGTAGATAACAAATGTTGAAAAACTATTATGG	3120
ATAAACTATGTAATTAAGACTCAAGATAATTGGTTTATTTATATTTTCTTTTCAAACATAT	3180
CAGAATTCTCCAAATGTACCAAAAAATCCCACCCCTCATCATTTTTTCTTTTTTTTTTG	3240
AGACAGAGTTTCACTCTTGTACCCAGGCTGGAGTGCAGTAGTGCAATCTCAGCTCACCA	3300
CAACCTCCACCTCCTGGGTTCCAGCGATTCTCCTACCTCAGCCTCCCGAGTACCTAGGAT	3360
TACAGACATGTGCCACACACTCAGCTGACTTTTTTTTTTTTTTTTTTGTATTTTTAGTA	3420
GGGACAGGGTTTCTCCATGTTGGTCAGGCTGGTCTCAAACCTCCCGACCTCAAGTGATCTG	3480
CCCACCTCAGCCTCCCAAAGTTCTGGAATTATAGGTGTGAGCCATAAATTCTGTATGTATA	3540
TACATACATAATATATATATGTATATATACACTCCTGACCAGTGCCATATTCTTTTTCTGACT	3600
CAGAAAAATGCTAAAAATGTTTTCTCCTTTTCACTCTCTTTTCTAGTTAACTTCTATT	3660
TCTGCTACAGTACTTAGTTTTGAGTTACTTCTCCTCAAAAAAGGTTCTTCTAACTGCCCTC	3720
ATCTTACACTCTGCTACATGCTGTTTTAAATACTTAATTGTTTTTGTGTACTTACCTAA	3780
ATCATCATTAAGTATCGTTAATAAAATTATTGAAAATTATATAAATTCTGGTTCTATCTCTA	3840
GAATATAATCTCCATGAGGAAAAAATACCGTGTTTCTATGTCTAATTAGTTCACATTAATAG	3900
CCCCTGAACTGTGGTGTAACAGTAGATTCTGAAAGAATGTTAAAAGAATAAACAGCAAA	3960
TAAATGTTGCATAATGAAATGGCATTGAAGGAAACGTCATCTCCTATGTCATTAGCTATG	4020
TTTTATCTTTTTCTGTGCAACTCTGACTGCTGTTCTTGCCAGGAAAAATGGATTGGTTATC	4080
GATGCAACTGTTACTTTCATTTCCAGCGAATCTAGAACCTGGAATGAAAGTAGGCATCTCT	4140
GTGCTTCTCAGAAATCCAGTCTTCTTTCAGCTTCAAAGCAGAGATGAACTG	4200
GCATGTACTA	4200
AGTCTGATTTTTCTACATTTTTCTTTGATCTAGAAAAATATACTATCTAAACAAGTTAAATA	4260
CTTTAAGTAATTAATCAGATCATAAGTGGATGGTTATATTGGAATTGAGTTATTGATTCC	4320
GTGTACCTTAAATAGTCATTGTAATATTAATTTCTTGGTGATTTATATCATAGGAATA	4380
CAAATCAAGATAGGTGCAAAAATAAAGTGAAGAAACTTTTCAGGAAGAATCCAAAGTCAT	4440
ATTTACCATTTTAGATAAATAGGTCATTATATTTTACCATTTTTATTTTAAAGAGCCAAC	4500
TAATGTGATTTTTAGCTCTTTCAATTAATTTCTTTTTTAAATAAATTTCTAGTTTTTG	4560
TCATCCTTCTGGCATATAAGCTAGTATGGAAAATATGGTAAGAAAAATTAATAAATTTTT	4620
TTTTTTTTTTTTTTGAGACAGAGTTTTCACTCTGTTGCCAGGCTGGAGTGCCTGGCATGA	4680
TCTCAGCTCACTACAACCTCTACCTCCTTGGTTCAAGCAATACTACTGTCTCAGCCTCCT	4740
GAGTAGCTGGGATGACGGGTGCATGCCATCAGTATTTTTAGTAGAGACAGGGTTTTGCTA	4800
TGTTAGCCAGGCTGGTCTTGAACCTCTGATCTTGGGTGGTCCACCCGCTCTGCCTCCCA	4860
AAGTGCTAGGATTACAGGTGTGAGATGCCATGCATGGCCCTAATTGCCCAATCCATAAGA	4920
AAAAGTGAAAAATTTCTCCAGATGCATGCAGCACCTGTGCTGATTATAGGTTGAGTAGATT	4980
ATACTCATGAGGTGAATCTTATCATTTCATCATTTTTCAGAAATACCATCATTTAGGAATCAA	5040
TTTAATTGATCCCCTGTAAAGAAAGTGTTACACGAAGACTCTGTCTCCTTTTATAAGGGT	5100
TTTAATTTCTTCAAGAAGTGAGATTTTTGTGGTATTTTTTCATCCATATATGAATGGGCCAGA	5160
TAAATAAGAACTTTGAGTCATTATTTATCAAAGGTATTATTTGACTATACCTTTTTGTGTG	5220
ATGGACAGGCTGAATCTTACTCTGAACACTGACTTTTCTTCAAAAATCTGTTATCCTCAGA	5280
GTAGATTAATAATTAGATTAATGTGATTGTCTTTTACTTGAAGCAG	5340
GATTTTATGAGCTCC	5340
AGTCAACAATTTTACTGGATTGGACTCTCGTATAGTGAAGAACAAAATGCCTGGTTATGG	5400
GAGAGTGGCTCTGTACTCTCCAGGATCT	5460
GTAAGTTTCTGCCAGTCATTACCTTTTTTGC	5460
TCTTTATGAATTTGTCCCTTAGATGTGACTAGCAAAGGTAAAATCCAGGAGCACTGTGGCT	5520
GAAATAACCTTCTCTAGGGCATGAAAATACAGAAAAAGGAAAAGGTACAACAAAATAACA	5580
ATTTTAGATCTGCCTAGAACATCCAAGTTTATGTTCAAGTGACATAAAGTTAGTGTATTT	5640
GTGGACATAAAAATAACTTTAACATATGCTTTTTTTTTTGCCTTAGTACAAGCACTTGGCA	5700
GTATATGTGCATGTACAGATACTCGTATACACAGAGGCAATCCAGATAAAAACAGTATATC	5760
CATTATTTTTATTTATTCTGGCAGACGCCAATATTCTTAGCATCCTTTTATATTTTGTATA	5820
CTGTAGAATTTTTTCAGTATATGTGTACTTTTTCAATCTCATTTTTTATTATAAACATG	5880
AGATTTGCAACATCACACAGGGACAAAGTTTATGCTCTGGCTTGTCTGCTTTTCTTAGA	5940
CTAGATCAGATAATACATCTTAAACAAAATAAAAGTAAAGCATATCACACATTTAAACCA	6000
TTAATGACAACAGAAAATCAACAAGGAAAAATCCCTGGCCTCAGTGATACTGATTGGTGA	6060
GAAAACAACCTGGGTATTTTCATAGCATTGTACTAGAGAATCATGAAAATTGTGGTTACTGA	6120
AAAAGAAAAAGGACTCGATATGTTAATATCTCACTCAAATGCTTTTTCAAGTTACATCAT	6180
TTAATTGAAAACCTCCCTGATAATTCTCACTTCTTTTTTCCATATGTTAACGCTTTCTTC	6240
TTCATTACAG	6300
ATTTCCATTGTTTGGAACTTCTAATCGAAAGAACTGCATAGCATATAAATC	6300

CAAAGGGAAATGCTGTAGATGAACCCTGTGAAATTAAAAATCGTTTTATCTGTAAGCAAC	6360
AGGTCATT TAAATGTTTCTTGGGGCAGAGAAGGTGGAGAGTAGA	6404

### 7.8.2 Caja-NKG2D

TTTCTCAAAGATAAAAAATGACTGAGTATCTCTACTTTCAATTCAAGATGAGGAATTCGG	60
GGCATGTCTAAATTTTCTAGTTTTATAGAAGGCTTTTTATCCACAAGAATCAAGATCATCC	120
CTTTCTGAGCAGGTGTGTGTATGTGTGTACATGTGTGTGTTTATTCAATATATGAGGAAC	180
TATATTTCAATTCAAAAACTAAAATATTTATGCTATAAGGTAATTCTAATTGTTTCTTA	240
GGTGCTCGAATAGAGCTCCTGAGATAGAGAATGTTTATCATTCTGGTGTATGTTCTATC	300
ACCTTATCTGATGATAGGTAATTAGGATATACTTACTGAAGAGTCAGAAGTTGTAATGTT	360
GCCATAAAAAGAAGCTTTGTCTCTAAGCAAACTGGAAAAATGAATCTATATTTCCGATT	420
AAAAGAGTTGAGTTTTCTATTTGAATTCCAAATGTATGAGTTTTCTGATGTTTTAGGGGC	480
AACCTTTGATACACATCTTACATGCAAGGTGAAACAAGTCGTGTCTGTGCTTCCCACT	540
ATCATAATCAAATGTGAAATAGCTTTTTATTTTTTAAATCTAAGCAGTATGCATATTTACT	600
AAATAGTTATTTTTTCTGGAAGCTCTGCTATGCATTAAGATGTTACTATATAAACAT	660
GTGAAATTAGTTTTGTTAATGATGATGGTGACAATGATTTGTTGATGATAATATGGGCAT	720
GTTGGATTAANAATGCACTAGGCAAAAGACACTGAGCAAAAACGCATATAAECTTACCTGAGT	780
TTTCGCTTGCAGAAAATAAATATCACCAAATAAAAATAACAAGTATAAACACTTGATCT	840
TAGCTAAAAGGCCAAGAAGCAGTAAACAATAAAGAGAAAATAATGTGTGTTGTTATC	900
TAATATCAGTAATATAAACTATTTGTATTAATATCTCAACGTAGGTGAATTAANAATAGT	960
CATTATATTGTTATGACATTTTGAATAAATTGGCAATTCCTTCCACAACCAAGAGAAATGT	1020
ATAAANAATTAATTTGCCAGCTTTATGTGAATTGTTATTCATTCTTTCCCTTAGAGACAT	1080
GCACAGGGGAAAAGTTTCTGCATTTTACTTTTCTATTCAAANAATTTGTATCTCACCACAA	1140
GGAAAGAAAAGAAAACACCAATGCTCAATTTTTTTTTTATTTCAGGAATCCTTTGTGGATT	1200
GAAGACTTCAGATCTTTTCTGAGGTATAAATTATACAATGCGGTGGATTCGTGGTCCGGAG	1260
GCCTCGTCACAGCTTGGGTATGTTTTTTCCACTTAAGTGTGTAGTTTTGTTTTTATACAA	1320
TTTTAAGATACTGAGAATTGTATAACAAGCATATAAGGTATAGGCAAGCAATTTACTCCAA	1380
TTCTTTTCATGTTCTATTTATGTGATTTTCATGTTAGGTTTCATATTGTATTTTAAATCAA	1440
GTCCAAAAACTTAAAAAGTTTTTCCCTTTATTTTATTAACTATACTATGGTAAAGTCACT	1500
CACAATTTGGGACAGCTTGAATTCGAGGAAGAGATGTGGAGTCAGACTTGAATTTTACTC	1560
AACGTTGACCACCTCTAGATTTGAAGTGGAGATCAATTAACAACCTCTGTGTAGTTTCGTT	1620
TCTTTTTCCATCACATACAGGCATGAAACATTCCATATTTATCTTAGTAGATTTGTGCAA	1680
TATACAAATCAAGTGACATGTATTTTGAAGTGCTTCTTATCTTAAAGGTGTTTATTAATT	1740
TATAAECTTATTCACAGTTGCTAACATATTAANAAGCTATATGATTTTTGCCATCTCTAA	1800
CATTAANAATTTCTCCATCCATAAAGTGATACCTACACTCTTTACTCCAAATGTTTAATAAC	1860
TGAGTTAGATATTACATTTGCAAACAATGTCAAAGTGATACCTATACTCTTTACTCCATA	1920
TGTTTAATAACTGAGTTAGATATTACATTTGCAAACAATGTCTAATTTTAGCTATAAAAG	1980
ATACTTCATATTATCATTCACTTTGTAAAAGGCTTTTCGTACAACAAACCCCTGTGACATA	2040
AGTTTACCTATGTAACAAACCTTCACATGCACCCCTGAACCTAAAAGTTTTAAAAAAGGC	2100
TTTTAAGTAAATATTAATCATCAGTAAATAAATTAGTATTTCAAGAAAGTAAAATGATTCT	2160
TTAGGTATTTTGTTCAGAGGCAAGATTATCTGTCTTGTTCCAAAGTGTTAGATCCTACT	2220
ATTTTAGCCTGTGTATATCCTTCACTATAAAGAAAATTAGACACTCTAGTATTTACTAAG	2280
AGTTTACTAAATGATTGATGTCATTGATGCTAAGTTTCAATATATTTTATTTTTAAAATAC	2340
CCATACTTGATTGTAANAAGTATCCTCTTCTTTTTGATTTCTTTATTCTTTTGTGTGTTAG	2400
GAAACCGGGATGCAAAGGCTAAATATTTGTGAAGTTATCAAGTTTGTATGTATGGATCT	2460
GTGATCTAAATACATGTCTTTCTCCCTACATCTGTCTTTTTACTGTATCAAGGCTCTTTC	2520
TTGTAATGTTACATTTTATGATACATTTGAATTAATAAATAAATTTAATAGTATATAGGATT	2580
TTGTAACGATACATTTCCCATGGAATAAATAAATTTATTTATATAGTAAAGTGTAAC	2640
ATAAATAAGTGTAGTCATATAAAAACAAAAGTAAGTTCATGTTGTACTTTTAAAAGGATACTC	2700
ATGGGAAGTACATCGATGGAAACAGCAAGTTGAATTTTTAAAATTTATGCCCAAATGGC	2760
AGAAAGGTCTTGACTCATGTATACAAACCTGAATTCCTTTTTCTCTAGCAATGAGCGAATT	2820
TCGTAATTATAAECTTGGAGCTAGCAAAAAGGTGACTTTTCGACACGATGGCAAAAAGCAAAG	2880
ATGTCCAGTAATCAAAGCAAATGTAGAGAAAACCTGTAAGTCCTGTGTTCCATTTGTCTT	2940
CTCTCAGTATATTAANAATAAATCTTGGAAACGATGTGATTAGATCATGACAACCATTTCAG	3000
TTTACCTTCATGAGGAAAGTAGGAATAATACGAACATAAATAAATAAATAAATAAATAA	3060
TAAANAATATGGTATTAANAAGCTACTGAGTTTTGGAATCTTATCATGCCCTAAAANAATGATGA	3120

GCTTATTTATTAGGAGTTCCCTACGAGAACACTGAAAAAACAACAAACAAAAAACTAAA	3180
TAGAAATCAGAAACAGAAGAGAAAAGAAATTAAAAAATCTTCCAGAGATATGTTCTTAAA	3240
CATTATAGAAGTGATAACTTGATTATTATTTATAGAATTGTGTCTGAGTGCAGTGAAGAA	3300
GATATGCTCTCCAAGGTCTATTTTTCAAGGCAGAATATTTTTGATAGTAGACCTGTATATA	3360
GTTGGTATGAAAAAGAAGAAAAACAGATGACCCTCACCTATTCATTTTTGATTAAAAACTAA	3420
GAAATAAATTGTTGACAAATAGCATCACTTTTCCAGAATTAATTTAGGAATGCAAAGTGC	3480
TGTATGCAATAATCCCTCTTTGGACTGAAATTTTCGACTCTTAACCAAAATTTAAACAC	3540
ACATGCCCTTCCACTCAGTAATTATCATTGTGGGAATTTATCCCAGATCGGGACTCAAAA	3600
ATATGCACAGATGGGTATGAAATTCATCATTATTTCTAATAGCAAGACCCAAGAAACAAG	3660
TTAAATATCCACTGGAAAAAATGAAAGTCTGTCAAAAATTAGATTCTGTCCAGAGTTGT	3720
CAGTGAATAACAGTGCAGCTATTTATAAACTGTATCCTTATATGCCATGATATGGACTAA	3780
TCATCAGGATAGTCTTAGGTAATAAAAAAAAAAATACATGGGATATTTTGTATATTATACTTT	3840
CTTTAAAAATGTATTTTTAATATGTAGTTAAGGGGAATGATATTTTTTTATTCTTTTTAGTT	3900
GACATGTAATAATTATATATACGAATGGGATACAGTGGTATTTCCATACAACCTATAACAAT	3960
GTGTAATGACCAAATCAAGGTAATTGGCACATCCATCACCTCAAACAGTTATCATTTCCTT	4020
TTTCTACTCTCTACTTCTATGACCTAAAAGTCTTTATCTCCACATATGAGTGGGAACAT	4080
GTGGTATTTAACTTTCCATGCCTGGTTTACTTAACATAATGTGCTTCTGACTCATCCATG	4140
TTGGTGCAAATAATAGGATTTCACTTTTTCACACTTTTTTATGACTGAATGGTATTCCA	4200
TTGTGTTTCTGTGTGTGTGTGTATGTGTCTGTGTGTGTGAATACACATCCATATAT	4260
ACACATGTATGTATATATATACATACACACACATTTGGTTTAGCCATTCTTCTTTAATGG	4320
ACACAGGTTAATTCATATCTTGGCTATTGTGAATAATGCTGCAGTAAGCATGGGGATGC	4380
AGACATTGCTTCAGTATACTGATTTCCCTTTCCATTGGACAAAAGTGAGATTGCTGAATCAT	4440
ATGGTAGTTCTATTTTTAGTTTTCTAAGGGACCTCCATACTGTTTCCATAATGACTATAC	4500
TAATTTACATTTCCACCAACATTAATAAAACCTTAGACTTTCCGTGAATCCTCACTGTCA	4560
TTTGTTATTTTTGTCTATTTAATAATAGCTATTCTAACTAGGGTGAGATGATATCCATTG	4620
TGGTTTTGATTTTTGGTCTTCTTGATGATGAATGGCATTAACTTTTAAAAAATATATTTT	4680
GTGGCTATTTGTGTTTTCTTGAGAAATCTATTCAAATCCTTTGCCATTTTCAAATT	4740
GGTGGTTGTTGTTGTTGGCTGCTACTGCTATCTTGAATTCCTTGTGTATTCTGGATATT	4800
GGTCTCTTGTGAGAGGAATCATTGCAAGTATTTTCTCTCATTCTACAAGTTGTCTCTTC	4860
ACTCTGTAAATTGTTTTCTATTTCAGTAAAGAAGTGTTTTAGTTTGATACAGCCTCATTTG	4920
TTTTCATTTTTGCTTTTTGTTGCCTGTACTTTTTGAAGTCTTATCCATAAAAATCTTTGCCTAAT	4980
GTCCATGGTGTCTTCCAATCTCTTCTAGTAGTTTTATAGATTTGGATCTTACATTTAA	5040
GTCATTAATCCATTTTGAGTTGATTTTTGTATATGGTGTGAGATCAGGGACTAATTTTCAAT	5100
TCCTCTATGTGGATATCCAGTTTTTTCAGCACCATTTATTGAAGAGGCTGTTCTTTCCAG	5160
TGTATGCTAATGGTGTCTTTCTGGAAAAATCAGTTGGCTGTAAATACATGAATTTATTTT	5220
TGGGTTGTCTATTCTGTTTTATTGGTGTAATGTCTATTTTTTATACCAATGCCATACTGT	5280
TTTGGTTATTATGGTTTTTATAGTATATATTGAAGTTAGGTAATGTGATGCCACCTGTTTT	5340
CTTCATTTTTGTTCAAGATTGCTTTGGCTATTTAGTCTTTTTGTGATACCATATAAAATTTT	5400
AGGATTTTTTTTTCTATTTCCATAGAGAATGTTATTGGTATTGTGATATGAACTGCATTG	5460
AATCTGTAGATTGCTTTGAGTGGTATGATTACTTTAATAATATTCTTTTCAGTCTATGAAC	5520
ATGAGATATCTTTCCATTATTTTTGCATCCTCCTCAGTTTTATTTCATCAGTATTTTTCAC	5580
TGTAGAGAGTTTTTCAAAGAATGTTGTTCAATTTTTCATACATCTGTGCAGTTTCCAAAAT	5640
TCCTCTTGTTATAAATTTCTAGTTTTATTCCACCGTTGTTAGAAAATTACTTGATGTAAT	5700
ATTGAATTTTGAACTTTGTTGAGACTTGTACCTAACATGTGGTGTATCCTGAAGAATG	5760
TTCCATGTGCTGATAAGAAGAATGTGGATTTTTTTAGCAGTTGGGTGAAATGTTCTGTAC	5820
ATTTAGTTAGGTTCAATTAGGCTAGATTATAGTTTTACTCTGATGTTTCTTTTCTGATTT	5880
TCTGCCTGAATGATCTGTCCATTGCTGGAAATGAGTGGTTGAACTACCTTACCCTTATTG	5940
TATTAATCTATTTCTCCTTTTCAGGTCTATTAATATTTGTTAATATATCTGAATGCTGTA	6000
GTATTGGGTGCATATGTATACATATAACATATTATATTGCTGAATTGACCCGTTTATCATT	6060
ATATAATGGTCTTCTTTGTCTCTTCTTAGTGTTTTGACTTAAAGATTGTTTTGTCTAAGT	6120
ATAGCTATGCCTGCTCTTTACTGGTTTTTTATTTTCATGGAATATTTGTTTTTCATCCCTAT	6180
AGTGTGAGTCTATGTGTGTTTTTACAAGCAAAGTGAGTTTCTTATAAGCAATATATAGTT	6240
TTGTTTTGTTTAAATCCATTCACTTACTCTGTATCTTTACTTGGAGAATTTAGACCCATTG	6300
CATTTAATGTTGTTATTATTGGTAGATAAGAACTTACTATTGCCATTTTGTTCCTTGTTT	6360
TCTAGTGGTTTTCTAACTCTTCTTTCTTCTCGTCTTTCTTTATGATTAAGTTACTTTCT	6420
CTAGCAGTGTATTTTTAATTCCTTGATTTTTCATTTTTAGTGTATCTATTACAGGGTTTTGTT	6480
TTGTGGTTACTATGAGACTTAAATGGCCATCTTATAGCTACAGCAATTTTTTATAACCGA	6540
TGCAACTTAACTTTGATCACAAAGAAAAGAAAAGAAAAACTAAACAACCTTACACTTT	6600

AATTCCATCTCCTCTCACATGTTTATTTATGTTTGTGTGGAGTTACATCATTTTACATTG	6660
ACTATCTCTTAACAACTGTAGTCATTATTATTTTGTAGAGTTGTTTTTGGTCTTCAT	6720
ACTAAAGATCTGAGTGGTTGATGCACCACAACACTACAGTATTAGAATATTCTGAATTTGTC	6780
TGTGTACTTACTTTTTATCAATGAGTTTTTATACCTTCAAATGTTTTCTTATTGTACATTTG	6840
TATTCTTTTTTTCTGACGGAAAACTCTCTTTAGCATAGCATGTAAGACAGATCTGCTGG	6900
TAACAATTTCACTAACTTCTGTTTGCCTGAGAAATACCTTTTATCTCCATAGTGTGAT	6960
AGTTTTGTTGGGTACAGTATCTCAGTTGGCATGTTTTTCCCTCAGCTCTTTGAATATGT	7020
CACCCACTTCCTCTTGGCTTGTAAGTTGCTGCAGAGAAGTCTGCTAACAGATGTGTTG	7080
AAGTCTCTTTTTATTTTTATTTTGCCTTTTAAATTTTGTTTTTCTTTAAAATTCTCACTATG	7140
TCTCAACCTTTGAACATTTAAATTTTATATGCCTTGTGGTCATCTTATTTGGGTTGAATC	7200
TGCTCGATAAATCTTCGACCTTCCATATATTTGGTTATTTCATATCTTTCTCTGGGTTTGGAA	7260
AGCTTTCTGTTTGTCCACAGCCTCCCAGACCAGTGTGCCAGGACTTGCCCAAGGGCC	7320
ATAGTTGCTGTGGCCAGCAGCCACTGAAATTTTTCTGGGGACTCAAGGCCACTTTAGTCAG	7380
CTGATGATAAAGTGGGCTGAGGCTAAGTTTCCCTCCTGCCTAGGCAGTGGACTCCCCTCTG	7440
GCCCATGATGGGTCAAATACTCCCATATGAGCACTGGTTTGAATCAAGGGCCCTGCA	7500
GTCTCTGTCTTTTGCCTGTTCCAATGTGGTGGGGCCAGTACTAAGTTCCAACACAAAGT	7560
CCCACACTGTTATTTCCCTTTCCAAGCAGGCAGTTTCTCTCTAAGCACTGAACTACCTG	7620
GGTTTGAAGAGGCAAGGCAAGGCCATCTTTTCTTACCTATTTAATGTGTTTTTTTTCTTG	7680
TTATAATGCTAAAATCAGGGTACTGTGATAATTCACTTAATTTCTTGAATTCTTTTAAAC	7740
ATACTTTTTTGCATGTATAGTTATTTAATTTGATGTTTCTGTGAGAAGATAATCACTAAA	7800
GGGTTCTTCGACCCACCTTGCTCTTAATTTGTTTTATGGTATACACATTGTTCTGCATAC	7860
CTACTGATTTTTTCTCCTCTATTATTGCTTTGTTTATCTTTGTGGTTTTGCTGGTTCTCTG	7920
TGGTGATAATGTTTGATTCTTTCTCTTTCTTATTTGTATATCTGCCCTACCAGTTCAAT	7980
ACTTCTGTGATTTTTCATGATGATAGATATTATCCTTTTGCCTCCAGATATAGGACTCCC	8040
TTAAGCATCCCTTGTGCAGCTAGTCTAGTGGTGATGAATTCCTTCAGTTTTTGTCTGTCT	8100
GGAAAAGAATATTTCTCCTTTATTTCTAAAGGATAGCTTTGCTTGATACAGTATTCTTGT	8160
TTGGCAAAGAGTTTTTCTGGCATTTTGAATATATCATCCATGCTCTTCTGGCCTGCTGC	8220
TGGGGAAAAGTAGGATTTGTCAGTGGTGGCAGTGGGCCCCAAGCAAGTGGCTCTGGGAA	8280
TCTGAGGGGCACATGTCATGACTCTCTTTATGTCTGAGGACACACTCCCTACTTGGCTGCAT	8340
CACTTGTTCCTGGACATAGGGCTCTTTATGGGCTTGATGCAAGGGTCACACCTACGCCA	8400
CTGACTGGGATCACCTGGTGTACTATGCTGCAGTCGTCTAGGTGGATTTGGTGAATGT	8460
CAGCAGGGCCCCAGGCATGTGAAGATGCAGAAGCTATTGGGACCCAAGGATGTGAAGATG	8520
AAGGAAGTCTAGGCCCCAGAGCAGGGTGTACTTTGGTGGTGGCTACACTCTCAAAGTGG	8580
TGCAGTTTGTACCCGAGAAGACAGGGGAGCCAGTGTGAATTCCTACTCTGGAATAATGC	8640
AGTTATGTGGATTCCAGTCAACTCCCTATACTGGACTTGGGGCTAGTAAGGAATGCGGAG	8700
CTCTCCTATAGCTAGGATAGCAGGCATTTGTAATGGGAATGTGGACTTCTCGGGAGCTCC	8760
TGTTTTGCCTTTTCTCCTCCATGGAGAGTCCCTCTTGGCTCCAAGCTGATCCTTGTACCT	8820
GCTTCTCTTCCATTTCTGTACTATCACCTGAGTGTCTGTGCCTTAGAGAGACTTGGTGC	8880
CTTTCTTGTGAAATTCAGCATTCTCCCTTCAACACTATTCAATGTGTGGTTATCTACTC	8940
GTTGTTTTGGTCCCTTCTTTGTGAAAGTGAGTGTGGGTGCCTGTAGTTAGCCATCTTGAT	9000
GATGCTTCTCTTTCTTTGTTTATGTTTATTATCATATCTGCATAGAAAATAATAAATCA	9060
TAAGCATAATTTACTCTTGGGATGACTGGGGAACTTTTACAGAAGGATAGGAGGAAATAT	9120
TATGTTGTTGTACTCTTCATTTTTGATCATTGCAAGGTATTCACATTCTGTTCTGGGAA	9180
AAAAAATTAAGGCAGGAAAAGGACTTATACTACATTAATAAGTAACTCTAATATTTATA	9240
TTAAATACGAAGATACCAAACCTTTATGCCTCTCTGATCTGTCTCTTTTTTCTTT	9300
GACAGTCACTCCATTATTTTTCTGCTGTTTCATTGCTGTAGCTATGGGAATCCGTTTCAT	9360
TGTTATGGTAACAATATGGACTGCCGTATTCCTAAATTTGTAAGTGAAAATAGAGAGGTAG	9420
ATTGCAACATTGTTAACAATTATAATGTACTGCCTTTGTTAGTATTCAGAAACACAGAAA	9480
CATAAACTAGAAAATATTGAATTTACCTTTGTACATTTTTGCTATTAGCCCAGAAAATTTG	9540
TAAACTATATTTGCTTATATTATGTTACCAACAATACAACTTTTTCAATATTTACGGTT	9600
ATTTAATAGCATTATTCACCAAGAAGTTCAAGTTCCCTTGATCGGTAAGTGAATTTTA	9660
AAAATATTTTAGAGCATATATTGTATGTATTTACCTACACTATTGTGTAGGCATGTATTC	9720
GATGATGTAAAAAAGGAAAAAGTAAATACTTAATTTCTAGTCCATAATGCACTATG	9780
GCTTCTGTTTTTCTTTTAAACAATGAGGAAATACTTATAAGAGCAGAGGCTACTTAGGTTT	9840
GACATCCTTCTCTCTCTTTTTGAGATGGAGTCTCTCTCTGTACCTAGGCTGGAGTGG	9900
AATGGGGTGATCTCAGAAGTCTGCCTCCCAGGTTCAAGAGATTCTCATGCCTCAGCCGCC	9960
CAAGTACCTGGGACCATAACCTCTATCCCCTGGGTTCAAGTGATTCTCATACCTCAGCTT	10020
CCCAAGTGAAGTGGGACTGCAGGCATGTGCCACCACGCCAGCTAATTTTTTGTATTTTTTGT	10080

AGAGGAGGAGTTTCATCATGTTGTGCCAGGCTGGTCTCAAACCTCCTAACCTCAAATGTGTC 10140  
ACCCGCTTAGGGCTCCCAAAGTGTTAAGATTACAGGCATGAGACACCACACCCTCCCTGG 10200  
CCTCTGTCTATGAATATGTAGAGATATGTCTTTGGTTATGACTGTAATAATTTAATAATC 10260  
TGAAATTTTAGCATTGGAGTGAAAAAGACATTTAACTTGTCTAGATAACATCTGCTATAA 10320  
TGTTTCAGATGTATGGTGTAAATAATATATTCTCTCTTTCTAGAAAGTTACTGTGGCCCAT 10380  
GTCCTAAAAACTGGATATGTCATAGAAATAACTGCTACCAATTTTTTAATGAGAATAAAA 10440  
ACTGGTATGAGAGCCAGGCTTCTTGTATGTCTCAAAATGCCAGCCTTCTGAAAGTATACA 10500  
CCAAAGCGGAACAGGTTGAGTAATTTAATTTCCCATCCTATGTTTAATCCTAACATCTGA 10560  
GGCAACTCACTGGAATATGAACCTGAAACATAAAAAGAGACACTGTGACTTGGTTATTCTA 10620  
ATAACAACCCTAAATCTTTCTTCAATAAAAAATAAAGCACAGAGGCCGCGCGGTGGCTC 10680  
ACGCCATAATCCCAGCACTTTGGGAGGCCGAGGCGGGTGGATCACGAGGTCAAGAGATC 10740  
GAGACCATCCTGGTCAACATGGTGAACCCCGTCTCTACTAAAAATACAAAAATTAGCTG 10800  
GGCATGGTGGCACATGCCTGTAATCCCAGCTACTCGGGAGGCTGAGGCAGGAGAATTGCC 10860  
TGAACCCAGGAGGTGGAAGTTGCGGTGAGCCGAGATCGCGCCATTGCACTCCAGCCTGGG 10920  
TAACAAGAGCGAAACTCCGTCCGTCTCAAAAAAAAAAAAAAAGCACAGAAATTGCAGG 10980  
TATCATGTATGTGTTGCCAGATGGAATTTATGCTATTTAGGGGACAGAATGTATTTTTT 11040  
TTACAAGTGTGAGAACAGATGAAATAGTTACGATCTTGAATTTACTAAAATTATGAACAC 11100  
TGATTTTACTTGTAGTTTATTTGTGGTTTTCAAACAGGATTTCTTAAATTTGGTGAAGTCA 11160  
TACCACTGGATGGGACTAGTATATATTCCAACAAATGGATCTTGGCAGTGGGAAGATGGC 11220  
ACCATTCTCTACCCAACCTGTAAGTCTCTGACCCAAGGGGTCTATAGTTTTGGATTTTT 11280  
TTTTCCCTAAACTTTCCCTGTAATCATTCTAATCACTCATTTCACAAAATCTCAGGATATT 11340  
TGCACATTTTAAATAGATCTAGTAAAAAGTGTTTAGGCCCTAAATTTGGGAGAAAAGTTATG 11400  
TTAGTTGTAGAGCAGTCAACACAAATACTAGTGAGTAATATAAATTGTTTACTATATGCT 11460  
AAGCACTATGGAAGGCAGGTCTAATATTGTGTTTACATCTTACAGATAAAAAGACAGGAGGA 11520  
GAGACATTAAGTATCACACATATATCTTTCTGAATTTATTACCAGATATGTTGAGATATA 11580  
ATTAACATTGCACATATATAAAGTATATAATCTGATGTCTCAAGAAAATATATATGCACA 11640  
AAACCATAAAGACATCAATATAAATTAACATATAAAATACCTGGAAAAGATTCTCTAAGCC 11700  
TAGACCTTTGTGATTTCTCCTGTGTTTCTGCTACTTACCTCTGTTTTTTTTCCAGTCAAT 11760  
CAATTTTCTGTCACTTTAGATTAGTTTGAATTCATAGAATTTAATGTAAATGAAGTCCCT 11820  
TCAATATATATCATTTTTAATGTCTTATTTTCACTTAGCAAAGTTATCTTGAGATTCATC 11880  
TATCTCACTGCATGAGTAAAGAATTAATTTCTTTTTATCTCTTGACATATTGATGTATAT 11940  
TTGGGCAATTTCCAGTTATTGATCATTATAAATCATGCTACTTGCAAATATTTGTGTACA 12000  
AGTCTTTGTATCACATTAATGAAGTCTTTCTTTTCTTAAATATAAATTCCTAGAAACAAA 12060  
ATGGCTGAATCATATCATAAGTATATATTTAACTTTTTAAAAAGTGCCACACTGTTATCC 12120  
AAAGTGGTGGTATTTTTTCAAATTTACTTTCTCTCTAGCAGTATTTAAGAGAAAATCTGAG 12180  
CGAGAGGTTGCTTCACATCCTAGTCAACATTTGTTTTGATCAGCCTCTTAAATTTTATAC 12240  
TGGCTGGGTGCACCTTTGGGAGGCTGAGGTGGATGGATCACCTGAGGTCAGGAGTTCGAGA 12300  
CCAGCCTGGCCAACATGGTGAACCCCTGTCTCTACTAAAAGTACAAAAATTAGCCAAGCG 12360  
TGGTGGCAGGCACCTATAATCCCAGCTACTCAGGAGGCTGAGGCAAGATAATCGCTTGAA 12420  
CCTGGGAGGTGGAGGTTGCAGTGAGCCAAGATCGCACCCTGCTCTCCAGCATGGGTGAC 12480  
AAAGCAAAACCCCTGTTTCATAAATAAGTAAATAAATAAATAAATTTTAGACATACTAAAC 12540  
TATGTGTTTTTGGTATATCACTGTAGTTTTAACTTGCATTTTACTAATGACTAATGATAAG 12600  
TAGCATTTTTTTGTGCTTATTTACCATTACAGGTAATAAATTTCTTTTCACTGATTTCTGC 12660  
TTTATTAGTTACTGTCTTCTTACAGTAGGTTAAATTTGCTTTTCTAGTTTCTTATATTGA 12720  
TAGCTGATATGTTGATTTGAAATCTTTTTCTAATAAAAAGCTTTTTATGCTATTAATATG 12780  
TAAGATGATTTGGCAACATAAATAATTTTAAGATATTTTTTATTTTCAATTCAGTTAAAAAT 12840  
AGTTTCTAAATTATCTTTTACATTTCTTTGATTCATTGATTATTTACATGTGTCATTTAGT 12900  
TTTTCAATATTTGTGAATTTTTTCCAGACATATTTTTTATTATTGATTTCTAATTTCAATTCAT 12960  
TTTTCAATTAGAGAATTATTTTGTATAATTTAAAACCTTAAATTTTATAGACATCAGTTTTATG 13020  
GACTAGACTATAGTGTGTTTTTAAAAATGTTTTACGTGTATTTAATCAGAAATTGTATTT 13080  
TGCTGTTTTTGAATAGAATGGGTTTTTTTTTCTTTCTTTTTTTTTTTGAGATGGATTCTCA 13140  
CTCTGTCACCCAGGCTGGAGTGCAATGGCATGATCTTGGTTCCTGTAACCTCTGCCTTC 13200  
TGGGTTCAAGCCATTCTCCTGCCTCAGCCTCCTGAGTGACTGGGATTACAGGCGTCCACC 13260  
ACTGTATCGGGCTAATTTTTGTATTTTTTGGTACAGATGGGATTTACCATGTTGGCCATG 13320  
CTGGTTTTCAAACCTCGACCCTAGGCGATCTGCCTGCCTCGGCCGACCAAAGTCTGGGATT 13380  
ACAGGTGTGAGCCACCACATCCAGCCAGAGTAGTATTTTATAAGAGTCAGTTTAGTCAAG 13440  
TTGGTTGAGAGTTGCTCAAGTCTTCTACAGTTTTTTCTGATTTTCTGTATATTTGGTTGG 13500  
TTGGTTGTTTTTTGATAGAGGTATCTGTTAAAACGTGCATGCTGAATGAAGAGACCCCC 13560

AAATAGGCTTCACCTGGTTGCAGGTGGACTGAGGCCAAAAATGGCGTCAGTGAGGGGCAG	13620
AGGGATAGGAGTTGGTTTTGTAGGTTTGGGATGGGCTGTGGAAAGTTACAGTTTAAGGAG	13680
GTTTTCTACAAGCTGGGAGGGGGTTGTAGGGTATGGAGTCACGAGGTTGACCAAGGTCAG	13740
TTACAAAGGCCAATAGCCTTATCAATTGGGGCGGGAATAAGCAACAATAGAGAACATCTA	13800
AAAGTTAAGTAAGGGTTGATCATTCTTCTCTTTTTCAGGGTCTTCTACTTACTTTAGAT	13860
TTTCCAGGAACCTCATCTGGAGTGTCCATGCAGGTACAGAGGTTAACATGGTGTCCATGA	13920
CACCATCAGTCAGGCTAAAAGACCATAGAGTATCAATTATTTAAAAATAAGGCTGGGCAC	13980
AGTGGCTCACACCTATAATCCCAGGATTTTGGGAGGCTGAGGGGTGCAGATCACCTGAGG	14040
GCAGGAGTTTGAACCAGCCTGGCCAGCATGACAAAACCCCATCTTTACTAAAAATACAA	14100
AAATTAACCTGGTGTGGTGGGTACCTGTAATCCCAGCTACTCAGGAGGCCGAGGAAG	14160
GAGAATGACTTGAACCCAGGAGGGGAAGGTTGCAGTGAGCCAAGATGATGCCATTGTACT	14220
CCAGCCTGGGCAACCCAGCAAGACTCTGTCTCAGAAAAAAAAAAGTATCAAACCTTTGAT	14280
GTGTAATAATGGATGTATGTATTTCTCCTTGCAGGTCAAGAAAAATTTTTGCCTTATATAT	14340
TTTGAAGCTCTGTTTTCAGTTGCATAAATGTTTAAATATTGTTGCATAATCCTAATGAATT	14400
TATGAGTTTAAACATTATGTAATGAACACTTTAACTAATGATATTTTGTGTGTTGTAATGC	14460
TACTTTGAGTAATATAAATATAACCCTCTAGTTTCTTTTGTTTAGTACTAGAGTGGTA	14520
TATATTTTTCAGCTTATATTAACAGTGAGTTTCTTATAGACAGAATATAGTTGAATCTCAC	14580
TTTTTAAATCTAATCTAACAATTTCTGCTTTTAAAATTTGGAATGTTTAGGACATTTCTAT	14640
TAAATGTGATTAGGTATGCTTTAAGTTATCTTACTGTTTGTATTGTTCCATTTGGTTT	14700
TCTTTTTCTATTTGCCTTTCTTTCAGTCTTTTAAAAATATTTTGTTTTATGCTAACATAT	14760
CATCATAGTTTAGTAAATATTTATATTTAGGCTGGGGCTGGTCATGGTGGCTCACACCTT	14820
ATAATCCCGGCACTTTGGGAGGGCGAGGTGGGTGGATCGCTTTAGGTGAGGAGTTTGTGA	14880
CCAGCCTGAGCCTGGTCAACATGGTGAACACTGTTTCTACTAAAAATACAAAAATTAGT	14940
CAGACATGGTGGCACATGCCTGTAATCCCAGCTACTCAGAACTGAGACAGAAGAATCAC	15000
TTGAACCTGGGAGTCAGAGGTTGCAGTGAGCCAAGATTGAGCCACTGCCTCCAGCCTGG	15060
GCAACAGAGCAAGATCTGTCTCAAAAAAAAAAAAAATTTGTTTTCTCCCTATAGCGGCCAAT	15120
TATTTCAATTTAGAACAGAGGTTATTACATTGTTCTTTTAAATAGGGATAGCATTAGACC	15180
ATAATCTTTTTTTCATTTTTTGGCCATTTTACATTTGAAGTGACATCCTCACTCTTTCTT	15240
CTATTTCTCATCTGCTATGAAAGAAAACAAATTTATATTAATTAACAAGTTATATTAATC	15300
ATATAACTCCAAAAGATTAAAGATGCTAGAGTAAAACACATATGTAGATGTAGAAATCTC	15360
TACATGGAATGCCTAACACATGCACACAAAACACACACATGTGAATGTGTGTATATATGGA	15420
TTAGACGATTTTAAATTTTTGTTTTTCATTTCTTACCAAGTAAAACTGCGTACATCTGAAG	15480
AAAATGTTTTATTTTTTCCACAAACCACAGTATCAAATTTCAAGTTGAATTATGAATTTAT	15540
TTTTAATGTAAATATTTGTTTTTAAATAAACATTTTAAAGCTTTTCATTTAACTTGGGTAT	15600
ACATATGAAGAGATTTTAGATTTCAGAAGTGATTAGTTTCCAGTGTAACCTAATTGGAATGT	15660
AAAAAATGGTGGCATATTTTACAATAGAAAGGAATTTTTACTTTTTATTATCTGAGTTG	15720
GCTGTATTTTGTTCATGAATTGGGACCAGGTATGGTCTTAAATCTCCTCAAATGATATT	15780
AAATTCCTATATTTGAAGTTTAGTAGGTATTATTCATTTTTATTTTCTGCATTAATAAAA	15840
ATCATTAAATGTAACCTTCTAATTGTCTCTTCTCTAGACTAACAATAATTGAAATGCAGAAG	15900
GGAGACTGTGCAGTCTACGCCTCAAGCTTCAAAGGCTACACAGAAAACCTGTTCAACTCCA	15960
AATACATACATCTGCATGCAGAAGACTGTGTAGGATGATCGATCATGTTCAGTAAAAGCC	16020
AGGAAACAATGAAGGGACTATACCAGCGGAAACACTG	16056

### 7.8.3 Caja-NKG2F

AGTCCCTGACATCACACAGCTGCAGAGATGAATAAAACAAAGAGGAACCTACTCAGAAGTG	60
AGTGGCCCAGGACCCAAAGAGGGCGGCAAAGGAAACCTAAAGGGTAATAAAACATCCATTTCT	120
AGGAACCGAACAGGAAAGAATTCCAGTAGAATAAAATCTTCAAATGCTTTTCTGGATTG	180
TCAAGGAAATGACAAGACGATACACTGCAAAGGTGAAACATTAATAGATCTTCAATATT	240
ATTGTTCTAGGATGTGCAGTTGAATACAGAAGGCTGGGAAAAAAAAATAGGGAATAATTTGC	300
ACTTGTGAGAATCAGAGGTCAATGTCTGATCTAATATTCTAATATGAAGTCTGAGGCCT	360
CATTTTTATTTCGGGTATTGTTCAATTGTGATCTGTGATCAGCAACTCATGGGGCATTATAT	420
TTACTGAAAATGAAATGGTATATTCTGAGAGAAAAGATTACTATAGTAGATGTAGATTTAG	480
GGGACAGAGTTGATCATTATGTTTCCCTGTGCATGTGGGTTCTCTTGCATGAAAATCTTC	540
TCATCAACTCTCTATCTCCCTTCTCAGTGCCTCTATTTCTCTCCCTGCAGGTTTGTCTGCC	600
ACCTCCAGAGAACTCACTGCTGAGGTCTGGGAATCATTTCATTTGCATTGTCTGATGGCCAC	660
TATGTTAAAAACAATAGTTCTTATTCCTTGTAAGCATATTTTTGAAAGATTATAGGAGAA	720

CTTTTCCCTATAATGATTGAAAGTGCCTTGAAATATTTTACACAGTAATAAGGAATAGAAGT	780
CTTTTTAATTTATACATCTGAACCCCAAGATAATACGGTTCTCTGAACTTTTCAAATTA	840
TGACAGAATAATTATAGAAAACATTTGTTATTTTGTGTGTGTATAAAAATATATATGTATA	900
TATGATACACAAGAGATGTGTTCTGATTTAATGATTCAAAGACATGTTTTAAATGAAAAA	960
ATATTTAGAAAAACAAAATAATTTTTGGAAGAGGTTAAATCAAATACTGCAAGAGATGGT	1020
GACGTTTTATGCTAATGGTTTTAAAAGTATTTGTTTTAAAGATCTCATTACTTTGTTTTAT	1080
TTTTATAGAAGAGTCAATTCAGTTTGATTTTCAAGATTGTTCCGTTTTAAATAACACAGAA	1140
TTTCAAAGTAAGCAACTAAAATTATTATGGTTTATCTAGATGTTAATTTTACTGGAATTA	1200
CTTGAACTTTTCTAGGTATTGGGGAACGGAGCAGAACGATTTTCTACTGAATGCAGGAA	1260
CCATAAAGGCACATTATGATTGTCGATGTTCCCATGTTAGAACAAATTTGTATTTTGTCT	1320
CTATCTTATGACATGCAAAATGATAATAGAAATTTAGGGGAAAAATAAACTGTAAACCATA	1380
GATGTTTTATAAAACCATAGATGTTTATAGATGTATATGAGGGCATTTCGTTTTCTCCAAT	1440
AATAAGTAGAAAATACTCAGTTAAAATCATTAAACCCTCTTGTTGCTAATTAAGTAAAT	1500
TTCTACTACCATAAGACAATAAGAGACAAAATAATTTTACTATACTAAAAAAGCAGTTTTG	1560
TTCAGTGATGTTTAAAGACATGTGTAGGGTGAATTTTTGTTTGTGCTGGTTTTGTTTTATATGG	1620
GAACACAATTAGGGGATGAGAGGTGGACTTTTTATTGTGCATTTGTGTAACAGTGACGAG	1680
GTATTTAAAATAACATATTTAACAGCCTGTGAGAATGTATAGATATGTTGCATACCTATA	1740
TGTTTTATAGCTTTGCAAATATGTAAAATAATTTTCATTTGTAAACATTCATATTTTCTGC	1800
ATAGTAATTCATATCTTTATTTCAGCACATCATTGTGGACATTCATTGTCCTGAGGAGTGG	1860
ATTGCATGTTCCAACAGTTGTTATTACTGTTAAGGAAGAAAGAACTAGGGGAAGAGAGT	1920
TTGCTGGCCTGTGCTTTGAAGAATTCTGATTTGCTTTCTATAGATAATGAAGAAATGGTA	1980
AGATGTAAATGTTTCAACACTTATTTAAAAGCTTATTTTCAGTCAATATCGTATTTGTAGAA	2040
ATCATCCATATGTTTATACATCTATTTACCTCATAGATTTTTAAGTCTGTATGATATTCA	2100
ATTGACTTCATAATATTTTCTATTTCATATACCGTTAATGCACATTTGATTATTTCCAGTT	2160
TTGCTTTTCATGGCAATCCATGCTTCTGTAAATGTTTTTATCCAAAATAAATAAAAA	2220
AGACTAAGCCTGTGCATGGTGCATATTTGATCACAAAGTGAATGGACTTGTATACAAG	2280
GCAGATCACGAAATAGAAGTTTCCAGCCGACAGTCTTCCCTGTATGCCTTCCTCAC	2340
TTTTCTGCTCCTCTCCAAACCCTGATTTGACTTTTAAATGTGATAAATAAGCTTTGCT	2400
TATTTATCATTGTTTTTTGAATTTACATCAAGTGAATCATGCAGTGTGTATTTTTTACC	2460
TGTGTCTTCTTTTACTCCTGCATGATATTTGTGCAGCAATGCAGTTAGCTGTTGTTTGT	2520
ACTGTTTATTGCTGCATGATGTACATAGAACATTTACAATCCATTCAGGCCTGTGTCTCT	2580
GGATGGGGGAGTGAGTCTCATGTCTTCAGGGACAAAGGAGAACCTGGATGGTGCACGTGT	2640
AGTCATGGGGTTCCCTTTGCTGACCCCTCTCACCCACACCTTCCCTGGTGTCTTTTGGTGT	2700
GGGAGGAGAAGCCCTTCCCTCTGACACCTAACTGGTAGCAGGTCTCCTGTTCAATCATCCT	2760
TGCCAGTGGCACCAACCTTGCCTAGTGTGATGGCAGGACTCACTTTCAGTACAGAGCAG	2820
CAGGAGGCTTAGCTGAGCCACCTCCTGTTGCCAGATTGGGTTCTGAGAAACAGAGACCTA	2880
GATCATTTTCTTCTGCTGGATGGGGGACTGAAGATGCCTGGACACTCTGTTGATCCCTGA	2940
TTCTGGGGTCTCAAACCATTTTGTCTTCCCTCTTTCCACCTTTCAGAGTTTTTCTATGTGT	3000
CTTTCATTACTTCCAGAGTTCATAGTTGTATTTAGTAGGGAGTAGCAGAGGAAAATGATT	3060
CCGTGTACCTGGTCAAGACCATTGTTATTCCACCAAAACCGAATCAGATAAAAAGTGAGCG	3120
CTTATCTAGTTAAAGACTGGTGTGGTGTCCAGAAAGGCCTGTTTTTGTCTCTGTGTCTAT	3180
TTATTTCCCTCAATCTTTCAATTTCCCTTCTAAACTTCAAGCAGGAAAGTTCCTACTATGAGA	3240
ACCATAGTGGAAAAGTACATTGATTTAATCAGAATATCTGGAGAAAATAAATGTGGAGTAT	3300
TAGGAAATTTATTTTCAAGTCTTACTGAAGGATGGAAGGTCTGTCTTACCCAACAAGAGCA	3360
ATTGTCAAATTACATGAATCACAGTTTTGCTTATCAAAAATAAGAAGAATGAATGTACTAA	3420
ATATAAAAACGAAAGTGTTCCTTTTAAAGTCAAAATTACAAAAATTCCTAACAGTTTTTGA	3480
CACTATAAAAATGTCAAGTTTACTATTTTGTTTAATGTATTTATTTTGTTTTGAATAATTA	3540
GCATCTTATGAAAAGTGTATCACTTGCACTTTTAAAAATTAATAAAAACTTAATGAAAAG	3600
TTTGAATTCAAAAGAAAGCGCCTAAAAGTTAATTAAAACTTTTATAAATTATTATTTAAAT	3660
GAAAATTTTTTATTTTCCATTAGAAAATTTCTGGGCTCCCTGTCAGTTCTCTAATGGGTTG	3720
GTGTCTCTTGTAGCAGCAGTGATCATCCATGGGTGTCAATAAAATTTGAACGTTTGAATGT	3780
CAACATTCAAATTTAAGTAAGTTTTTGAATGATTCTATTTAGTAGAAGAATATAAAAAGAA	3840
CATGTTTCAAGATAACATTATGAATAAATTTAAGTGAATTTATAGCCATAAAGATGTTGAA	3900
AGTTAGTGAAATGTTGATATAGATATTAAGAAATATTTCCACAATGACACTTTCTGTGGTT	3960
TTAGTGACCCATGCTCAACCACCGCCAAAAATAGGAAGGAACAATTCATGAGTTTTAAAT	4020
TTTGCATGTTCTGAGTAGTGTAATCAAATTCCTTATATAGTGTATGGATCTGTCTCACC	4080
TGGGACATGAATCATTGCTTACCCAGGATACCTGCACAGCCTAAGTTCCCTGTGCATAA	4140
GTCATTTGGCTGTCTCAGTTAGGAGATCGACTATCGCAGTATTGTAGTGCTTCTGTTTTAA	4200

GTCACTCTTAGTTTACTTCATAACGGCCCCAAAATGCAAGAGTATTTTTGCCGGTTATTG 4260  
 TTATAATTGTTCTTTTTTTCATTATTATTAGTTTTGTTTTTCATCTCTTACTGTGCCTAATTT 4320  
 ATAAATGAAAGTTTATCAGAGTTATATATGTATAGATAAAAACACAGCATATATACAGTTC 4380  
 AGTACTATCTGTGATATCAGACATCCACTGGGGGTATTAGAACATCTCCTGAGACAAAAG 4440  
 GAATACTTCATTCAATTTTTTCATAATAACCAACTCATAATCATATGGGGAAAATATCAGTT 4500  
 GTTTCATAATGTTCTTTTTCTTACACTGTGTGGAAAATGCTCTTGTTCATGAATTGTCCC 4560  
 CATAACAGTCTAATGGGATTATGGATTTTTCTCCATTACAGGATAACAGAATCAGATATCA 4620  
 GTAAACATAACTGGGCAATGCTGCACTCATCTGGACTTAAATCACACAGGTGTGGATCTT 4680  
 CACAACATATAAATTGTAAGCATAAACTTTAGAAATTAAGCAACTGAATTTGGAGTCTCT 4740  
 TCAGGCAATTTAATTTTCATAAAAATGGAATAATATTTTGATTGAAAAAGTTTTAAAATA 4800  
 AA 4802

#### 7.8.4 Caja-NKG2CE

Die zum Exon 7 (proteinkodierender Bereich) des humanen NKG2E-Gens homologe Sequenz ist in weißer Schrift dargestellt und das darin enthaltene Stopkodon ist blau markiert. Das *AluJb*-Element ist dunkelgrau hinterlegt.

ACCATTTATATCTTCTTAAGTA**CAGTTATCACAGAGCACAGTC**CCTGAGATCACACAAC**T** 60  
 GCAGAG**ATG**AAATAAACAAAGAGAAAACCATCTCAGGAATGAGTCTGGCCCAGCAC**CCAAAG** 120  
**AGGCAGCAAAGGAGACCTAA**GGGTAATAAAAAGCTCTATTTTCAGGAACTGAACAGGAAATA 180  
**TTCCAAGAAGAATTAAACCTTCGAAATGCTTCTCCGAATCATCAAGGGATTGATAAAAACA** 240  
**TATGACTGCAAAG**GTAAACATTAATGCATCTGCCATATTATTGTTTTGGGATGTGCAG 300  
 TTGAATATAAAAGGGTGGGGGAAAGTAGGGAATAATTTGCACTTGTAAGAATCAGAGTT 360  
 CATAATTGGGATCTAATACTCTAATATGAAATAGGAAGACTAATTTTATTCAAGCATTGT 420  
 TCAACTGTAATCTGTGATCAGCAACTCATGAAGCATTATATTTCTAAAAATGAAATGAT 480  
 ATCTTCTGAGAGAAAGATTACTATAATAGATATAGATTTAGAGGGCAGAGTTTACCATTG 540  
 TTTCCCTGTGCATGTGGGTTCTCTTATACGTAATCCTAATAAACTATCTCCCCTCTCTCA 600  
 GTGCCTCTATTTCTCTCCCTGCAG**GTTTGCTGCCACCTCCAGAGAGGCTCACTGCTGAGG** 660  
**TCCTGGGAATCATTTCGATTGTCTTAATGGCCACCGTGTAAAAACAATAGTTCTTATTC** 720  
**CTT**GTAAGCATATTTTTGTGAGATTAGAAGGGAAGTGTACTTTAATACTTGCAACTGC 780  
 CTCAAAATATTTTATAATATTGAGGAACAGAAGTCTTTATTTAATGTATATATTTGGACC 840  
 CAAAAGTATTAGAGTTATTCTGAACTTTTCACAACACAAAACAATAATTGCGGGG 900  
 AACATTTTTTTTTGGCGTGTGTAATCTATATATGTATGCACACACAAAGATAGATATATTT 960  
 TCTGATTTTCATAATCAAAGCCACACAATAGGAAAAGTATTTAGAAAAATTAATTTTT 1020  
 GAAAGTGGATACATCAAATACTACAAGAGACGGTGCAGTTTTGTGCTAAAGTCTTTAAAA 1080  
 ATATTTATTTCAAACATCTATCGCTTCATTTATTTTTGTTTTAAAAAGTTAGTTTTATTTA 1140  
 AGATTGTACCCATTTTAAATAACACACAACGTGTCAAAGTAAGAACTAAACTCTTTATG 1200  
 GTTTATCTAGATATTAGTTCTAATAAAAAATCATTTTAATTTTTCTATTATAG**TCCTGGAG** 1260  
**CAGAAGTGTCTTCCCCGAATACAAGAAGCCAGAAAAG**GTACATTTTGATTTTCAATGTTT 1320  
 TGATATTAGTACAGTTTATATTTTATGTCTGTTTTAAGGCATGTAATAACAATAGCAT 1380  
 TACTGGAGAAAATAAGCCATTAAATTGATCCACAAATATTTACAAACAAAGACTATAAGG 1440  
 AAGCATTTCCTTTTCTTCAATAAGTAGAAATATTTCACTTAAATCATTCTGCCCTTTTTT 1500  
 TCCCAATTTAAAAGAAGTTTCTTAGTGCTGTGAGATGATAAGAAATAAATAATTTTACTAC 1560  
 CCTCAAAAAGTAGTTTTGTATCAGTGATGCTGAAGACATGTGTAGGGTGTATTTTTGTTT 1620  
 GTTGGTTTTGCTTTATATGGAAACACAATTAGGGGATGAGAGGCCGACCCTTTTCTGTAAA 1680  
 TGTGTGTATGAGTGACTGGGTTATTTAAATATATATATTTATAATCATGTAAGGATGCAT 1740  
 CAATATGGTAAGTACATATATGTAATTTCCATTGTGAATATGTAATAAATTTTTTCAATTT 1800  
 TAAAAATTCATATTGTTCTGCATAGTAATTTATATCTTTACAG**CACATCATTGTGACCA** 1860  
**TTGTCCAGAGGAGTGGATTATGTATTCCAACAGTTGTTATTACATTGGTAAGGAAAGAGG** 1920  
**AACGTGGGAAGAGAGTTTGCTGGCCTGTGCTTCAAAGAAGTCCAGTCTGGTTTTCTCTAGA** 1980  
**TAATGAAGAAGAAATG**GTAAGATGTAATGTTTTAAACACTTTATGAAAAGCTTATTTTTG 2040  
 GTCAATAATACATTTACAGAAATCATTAAATATGTGCGTACATATACTTAGCTGATATAT 2100  
 ATCAAGTTTATGTAATATTCAATTGAGTGACTTATTGTTTTAATTTATATACAATGAATG 2160  
 TACATTTATTTTTCAGTTTTTTGCTTTTTCGTGGAAAACCATGCTTCTATAAATGCTTTGAAT 2220  
 CCACAATGAATTTTTGCTATTTAATTTTTGTTGAGCATGATATGATCCAGTCATGCAGATTG 2280  
 ATTGCAAAGGGAATGAATTCATGCCATGCAAGTCAGATCATGAAAAGAAAAGTTTCCAGCT 2340

CCAGCAGTTCCACCCTGTGCGTGCCTCATCACTTATCCTGACTCCTCTCCAAAACACTG 2400  
 TCTTGATTTTTTAACATTATAAATAATGTTTGCCTGTTCTTGAATGTATGTAAAGGGAATA 2460  
 ATACAGTGTGAATTTTCATGTCTGCCTTTTTCACTCCTATCTGATATTTGTGCAATTCCT 2520  
 CTATATTCTTACAGTTATTTGTAGTTTGTACTGTTTACCGCTGTACTGTGCACAAAGAA 2580  
 CACCAACAATCCATTCAATCTTGTGTCTCTGGATGGGGAAGTGAGTTTACGTCCTCAAG 2640  
 GGCAAAGAGGACCCTGGATGGTGCACCTCATAGACATGGGGTCCGTTTGTCTGATCCTCTT 2700  
 ACCCACACTCACCTGGTGTCTCTTGTCTATGAGAACAAGCACCTCCTCTGGTTCTGAAT 2760  
 TGTAGCATGTCTCCTGAAAGATCATGCTTGCCAGCGGTATGAGCCTTGCCCTGGTCTTGTG 2820  
 GAGGGGACCCCTTCAACACAAGCAGGAATGAGCTTTTGTCTGAGCCTCCTCCTACTGTGAG 2880  
 GTCGGGTGCTAGGAAACAGCAGACCTAGGTCACCTTTTTCTGTCTGCGGGCGGGGACTTATC 2940  
 ATGCTCGCTCGGACACTTTGTTGGTCCCTGATGCTAGGGTCCCAGACAATTTTCTCTTTC 3000  
 TCTTTCCACCTTTTCAAGATTCTCCATTGCTTTTTGTCTTTTATTAAATTCAGCGTTTATAG 3060  
 TAGTTTTTGTAGAGAGTAGCTAGTCCACACCACCTGGTCAGGATCACTCTTATTCCACC 3120  
 AAACCAGTCAGATAAAAAGTGAGGGCTTATCTAGTTAAAGAATGGTGTGGTGGCCAGAAA 3180  
 ACCCAATCTGTAGCTTCTATGTCTTTTTATTTCCGAATGACAACCCCTCAATTCCCTTCCA 3240  
 AGTCTCCAGCTCTGAGAAATATAGTACAAAATAGATTGATTAGTCACAGTATCTGGAGG 3300  
 AATGAATGCACAGTAGCAGGAACTCATTTAAACCCTTACTGTGTTTATTCTGCCAACTG 3360  
 GGGTAACTATTAATTGCAAGAATTTAAATGTCTTATTAACATGAGAATAAGAATAAAAA 3420  
 TACTAAGTATAAACGTTGAAGAGTTCATTTAAATCAAAATTACACACACTTATGGAAGTT 3480  
 TTTGGCACTGCAAATAGTAGTTTTCAACTTTAATATATTGTTATTATAATGCTTTTCATGA 3540  
 TTGTTATTTAAGTGAAAATCTTTATTTTTCTTTTAGCGATTTCTGGCCACCATTTACCT 3600  
 TTCTCATGGATTGGTGTGTTTCGTAACAGCAGTCATCATCCATGGGTGTCCATAGACAGC 3660  
 TTGACTTTCAAATATTATATGTAAGTTGTTTTGTATGATGCTATATTAACAAAAAACACA 3720  
 TATAAAGGATATATTCAGAAGAATAATATGAATAGATTTATGTGAAATTATAGACATGAA 3780  
 GAAAGATGTAGAAAGTTAATGAAATGTCCATATAAATAGTTTACAATGGACCATCGTAGT 3840  
 CCTTAAGGTCTACATGCTCATTACTCAGCTAGTACCCTTCTTGGTTATCAGATGCACAGG 3900  
 GGTGTCCAACTTTTGGCTTCTGTGGGCCATGTTGGAAGAAGAATTGTCTTGGGCCATACA 3960  
 TATAATACACTAACAGTAACGACAGCTGATGAGCTAAAACAAAACAAAACAAAATGCAA 4020  
 AAATACCTAAGAATGTTTTAAGAAAGTTTATAAATTTATGTTGGGCTGCATTTTCGAGCTG 4080  
 TCCTGGACCATGAGTTGGACAAACTTGAGATGGACGATTAGCTAATTGCAGTGCTTGTTT 4140  
 TTATTAATAAAGTCACCCTTATTTTACTTAAAGAATATCCGGCCAGGCGTGGCGGCTCAAGC 4200  
 CTGTAATCCCAGGACTTTGGGAGGCCAAGGCGGGTGGATCACGAGGTCAAGAGATCGAGA 4260  
 CCATCCTGGTCAACTTGATGAAACCCTGTCTCTACTAAAAATACAAAAAATTAGCTGGGC 4320  
 ATGGTGGCGCATGCCTGTAATCCCAGCTACTCAGGAGAATTGCCTGAACCCAGGAGGCGG 4380  
 AGGTTGCGGTGAGCCAAGATGGCACCATTGCACTCCAGCCTGAGTAACAAGAGCGAACT 4440  
 CCGTCTCAAAAAAAAAAAAAAAAAAGAAAAGAAAAAAAAATATCCTCAGGCTGGGCACAGTGGCT 4500  
 CTCGCCTATAATCCCAGCATTTTGTAGAGGCCAAGGCAGGTAGATCATGAGGTGAGGAGTT 4560  
 TGAGACCAGCCTGGCCAATATAATAAAACCCTGTCTCTACTAAAAATACAGAAATTAGCT 4620  
 GGGTGTGGTGGCATGTGCCTATCGTCCCAGCTACTTGGGAGACTGCAGCAGGAGAATCAC 4680  
 TTGAACCTGGGAGGCGGTGGTTGCAGTGAGCCGAGATCACACCACTGCCTCCACCTGG 4740  
 GCAACACAGTGAGACTCTGTCTCAAAAAAAAAAGAAAAAAAAAAAAAAAAAGAAAAAGAATA 4800  
 TCCTCAAAGCACAATAGTAGTGTGTTGGCATATTGCTATACTTTTTTTATTAGTAGTTA 4860  
 TTGTTGGCAATCTCTTACTGTGCCTAATTTACAAATTAACCTTTATCATAGTTATGAGTG 4920  
 GGTAGAGAAAACATAATCCATCTATAGGTTCTGTACTATCTGCCATTTACGCATTCACT 4980  
 GGGTTTTTGAACATATCCTCCATGGATGAAGGAGGACTACAGTATTGAGTGTTGAGAGT 5040  
 AATGACTTTTACTAATAGTGTGTTGAAAAATTTAATTACCCTTTCTCATAAAAATTTATTTT 5100  
 TTACAGTACATGGAACACTCTTGTCTCATAGATTATTTGCATAAAAATGTAACCGAATT 5160  
 ATGGATTTTTCTTCAATTACAGTATTAAAGACTCAAATAATGCTGAACATAACTGTGCAGT 5220  
 GCTACATGTAAACGGACTTATAGCAAAGCCATGTGGATCTTCAATAACATATCATTGTAA 5280  
 GCATAAGCTTAGAATTAATAAATCATTGAGTTGCGAGTCTGACAATAAATTTTATATTTG 5340  
 TTAATAAGAAATAAGATGATTGAATAAGTCTTAAATGAATCATGTTATTTGCTGTAAT 5400  
 AATAAGAAAATTTCAAATCGTTATTGAAATATAATACACAGTTACAAAAGTCCAGATCTC 5460  
 CTAGCATTTGCGTCAGGCTTATTTTGTCTCAACTTGATGTTTGTGGCATTGAGTCTTCCTA 5520  
 AAAGGTGCATATTATGTGAGTCAGTTTATATGAAGTAGCAAGAACAGGCAAACCTCATGGA 5580  
 GACAGAGAGTAGAAGAGTGATTGCCAATGCCAAGGAAGGTTGAAATAGGAGATGGCCAC 5640  
 TAATTGCTAGAATGTTTCTTTGTGTGAGTGTGAAAACCTTCTAAATTTCAACCTTAGTG 5700  
 GCGTTGGTTGGAACCTCTGGGAATATGCTAAAAATCACTGATTTGTAATCATTTTAAAGTGG 5760  
 ATGAAATTTATGCTGTGTGCATGATACCTCAATAAAGCTGTCAAATAAAAACAAAACAAAC 5820

AAACAAAACCTCTCATGTGGTTGTTTGTGACTGCATTTAATCCCTAAGGTAATTTTTTAAA	5880
GATTAGCTTCTTGACTTTTTCAATTAATATCATATTGTGTCCCTTCAATGCACTGTGTTCAA	5940
TGTACTGGGTTCTCTTTAATTTCTCTCTATCATATTATGCATTTTGGGGGATTTAATCAT	6000
ACAGAAATGCAGATGTTTTACATTCATGCTTTTTGTAAATGGCATCCTGATTTTTAATATTC	6060
CTTTTAGTAATTTTTGTTGTAAATAGAAATACAATTGATGTCTGCATTTTGATGTTTTAT	6120
CTAGTTATTTCACTTATTTTACATATTTAAATCTATCATTTTCAAATATAGCTTTTTCTGG	6180
ATTTTCTATATAAACATCAATTTTATCTGCAAATAATCGCACTTTTTTTTTCTATCCATGT	6240
GCAATAACTTATTTTTTCTACATTTATTTTCACTGGGTAGGGCTTTATATCCCTAACTGA	6300
ATAGAAGGTACAGTCAAATTCGTGTGTATCATATGTATCATTTTCTCATTTTGGCAAAA	6360
AAATTCAAAATATTATTCATATTTACAAAATTCATTTTTTTATTGTATCGTTCCTATGTTG	6420
AAGCAGTTTTATAATATTCCTTTTTTAATAGAGTTTATCAATTGTACATTTTTTATTATT	6480
TTTTATTAGTTGGAATGATATATGTTTTCTTTATATAACATTTGACAAAAATAAACTAG	6540
TTTTATTTTTGTCAAATGTTAAACTAGTCTTTGTTTTGAGAAACAAAATCCATGCTGATTATT	6600
GTATATGGCCCCCTTATAAAAATATCAGTGCATATATTATATCTACGGTAAGATTTGTTTCT	6660
TTTTCCATGTTTACAAGGATATTTGACCTTGTTTTTATTTATAGCTATGTACTTGAAAAG	6720
TTTTGGTATCAGGCTATCTTGGGAAGATTTTCTCTTTTTCTATAATCGGGAAGCATCTGT	6780
TAAGAGTACTGGCCGGGCGCGGTGGCTTAAGCCTGTAATCCCAGCACTTTGGGAGGCCGA	6840
GGCGGGTGGATCACGAGGTCAAGAGATCGAGACCATCCTGGTCAACATGGTGAAACCCCG	6900
TATCTACTAAAGATACAAAAAATTAGCTGGGCATGGTGGCGCGTGCCTGTAAATCCCAGC	6960
TACTTGGGAGGCTGAGGCAGGAGAATTGCCTGAACCCAGGAGGCGGAGGTTGCAGTGAGC	7020
CGAGACTGCGCCATTGCACTCCAGCCTGGGTAAAAAGAGTGAAACTCCGTCTCAAAAAAA	7080
AAAAAAAAAAGAGTACTGCTTTATTTTTAAATGTTATTCACTAGTAATGTCATCAGAGTTT	7140
GTAGGCTATTTTTGTAGGAATGTTTATGTCTAAAGTGAATTTCTTTCATACATTTAGGGT	7200
TTACTCAGATTTCTATTTGAGGTAATGTTTGGTAATGAGCATTTTCTAGAAAATTTTC	7260
TATTTTCATATGAAAATTACAATGCAATGATAATATGGCTTTATTGACAGTTTAATAACGG	7320
TAAAGACCATAATGGTATTGCCATGTTTAAACTAGAAATAATTTTTATTTATTTATTTATT	7380
TTTAAGACGGAGTTTCGCTCTTGTACCCAGGCTGGAGTGAATGGCGCGATCTCGGCTC	7440
ACCGCAACCTCCACCTCGGTTTCAGGCAATTCCTGTCTCAGCCTCCTGAGTAGCTG	7500
GGATTACAGGCACACGCCACCATGCCAGCTCATTTTTTGTATTTTTAGTAGAGACGGGG	7560
TTTCACCATGTTGACCATGATGGTGTGATCTCTTGACCTCGTGATCCACCCGCTCGGC	7620
CTCCCAAAGTGCTGGGATTATAGGCGTGAGCCACCATGCCAGCCTAGAAAATAAAATATT	7680
TATGCCTTTTTCAAAATCTTCTTTCTAGTCTTTTTGTGACCATTCATCTTGATCATTTCTTT	7740
GGCCCATATGTTATTTAGATACATATTCCTGAATTTAAAACCGTATAAGAATCTCAGATT	7800
TTTGTTTATCGACTTCTATTGTAGGTAAAATATAGTTAGAACATTTTTTACAAAGCTGGA	7860
AATGTTCTTCATCTCTCTATAAATGTGGCTCATGTGGTGAGGAATTGGTTTTAAATGTTT	7920
ACTTTTTAATAATGAATGTTAAAGTTTAATAGCTATATTTTCACTGTCTCCTGGACAAGC	7980
GTGGTTAGTGGTACTATATTGAAATTGAGTATATATGTGAGTGTGTGTGAATGTGTGC	8040
ATATAAGTGATGGTTACTTGCCTAGTTTTAAATCTTTCTATAGGCTCACTGTCTCTGTG	8100
TATTAAGCATCAAGAGTCTTTAAAATCCCATTAGGATTTTTCACTTGTTCACTTTATTCA	8160
ATTATGTGTTGAACTTGATCATTAGATATATGCAATGATAAAAAATGTATTACTAATGG	8220
TTTGGAAAATTCATTTTCCATTATGAAGCATATTTCTCCAATTTTCACTAAATTTTCACTC	8280
GCTCACTGCAGCCTTGCCCTCACCTCCAAGGCTCAAGTGATCCTCCCAGTTTCACTCCTCA	8340
GAGTAGCTGGGACTACAGGCAGATACCATCATGCCAGCTAATTTTTTTTTTTTTTTTTTTT	8400
TTTTGCGGAGACGGGGTTTTATCATGTTGACCAGGCTGGTCTTGAACCTCTGAACTCAAG	8460
TGGTCTACCTGTCTTGCCACCCAAGTTGCTGGCATTACTGGCACCAGCTACTGTGCTCC	8520
<b><u>AGTGCTCATGTAG</u></b>	

7.8.5 Caja-NKG2A

AGTAACACGTTGATAAGAAATCTACTATTTCCACTCTTCACTCACTCTGAGTCTTTCACGG	60
GGCAGTCTGCAAAGATCACAGACACTGTTTGTCTTGTCCCTGGATTTATGCCTTTAATTT	120
CACCTTTTATTACTCAACTATAGCAGGCCCTTTTTATGAGACTAACCTGGCCTCTCCACTA	180
AAGGATGTGTGACTTTCTGGGGACAGAAGGTATGTGTTGCTACTCTCGAACGCGCTACTA	240
GCCTACCTCATTTAGTGGGTGATTATAAGTGCTCAATATGATGCATCAGAGCTTTAATTA	300
ATATACAATAAAATCAAAGTAGAACATTGCTGTCTTCATTTGAATAACTAAGGTTAAAA	360
CCTAAAAAATTAATATGTTGGAGGATTTCTTAAAGTTTTTAAATATTGTTTGTGGAAA	420

ACTAGTAGGTCTGTTTAAATATAATTTAGATGAAACCTATTAACATCACAATAATGAACAA 480  
 TTAATTTTATATTTTATAATCAGTACATCATGTAGCTTTGAATAATCATAATTGATATTT 540  
 AGTTTAGCCATTATAGATTATTAATAAAATTAATCAATTGATGAAAGCCAAATACAATT 600  
 TCTCAGACACATAGATTAATAAAATAAAAGCGGTTTTTATTTTTTAAATAAAAAATCAGAATG 660  
 AGGTAGATTACATAAAATGCTAAAGGTAATACAAAAATCAAAAATACTTTTTAAAAAATTGG 720  
 TCAAAATATTGCAAAGAAAAATGTAGCACACGGACATAGGAGACTTATCTGAAGATTTAT 780  
 TTTCCATGCTTTCACTGACATGAATCAGAGACAGTAACATAACAATTGTTACTATATAAT 840  
 AATCAAAAAGCTAACGCTTATTGAGAACTTTAAGTGCCAGGTTGAGTGGTAAATGTTTTA 900  
 CATGCAACGTTTTATGTGTTCTTATTCCCAGGTTTAGATTAACAATCTGGGTTATTAACA 960  
 CAGAATAACTTTTTAAAGGTCACACATTATAAGTGTCAAAGCCAGAATTAATTTAGATC 1020  
 TCACTGACTCCAGAGCCATTGACTAAACGGTTTTAATTACATTACCTGAAATTTTACAAGT 1080  
 GCTTATACAACCTAACGTAGCCATTACTCACTTTGGCAACCGTAAAATGTTTCTATAAGTT 1140  
 TAAATGAAATGTGCTTTAACATAAAATTACCTATACTTTTCGTTTTATCATTTTTATGGTTTAT 1200  
 AGTTTTATCCAGGAAATAACTTGCCAACACTTCCATCAGGTAAGTATTAGCAGTTTTTTGTA 1260  
 GTGTTTGTAACTGTTTAGGTTATGAATAACTTAACTGTTGCATAAGATTTTTCCGATAT 1320  
 ATACAAATATTGAAATTTTCAATAATTTCTTAAATGTTTCAGCCATTAAGAGAAACCCA 1380  
 TTTAATACCCCATCAATTTTAAATAAATACGTGTAAATTACTAAATAAAACTTATTTATTG 1440  
 CAAGAATATATATATATATATACACCCTTACTATTAATCATGTGCAGATCACATAGTCTAAAC 1500  
 ATTACTGGATTTCAAATTTAAATAAAAAATGAGTGCAGAAGTATCTATACTACAACATT 1560  
 TTAATTTTTAATACAAGTTGTGTTTGGTATTATGTTAAAATATATCTGTGGCATCAGACA 1620  
 TTAACATAAGAAATATCTTTTCATTCCCTGAACTTCTTTATTCTTACTAATGTATTGCTTC 1680  
 TCATTGCCCCAGCAATAATATTTTTGTCAAATGTAGAAAATCTTTTTTTTTTTTGGAGATGGA 1740  
 GTTCCACTCTGTACCCAGGCTGGCGTGCAATGGCGCAATCTCAGCTCACTGCAACCTCC 1800  
 ACCTCCAGGGTTCAAGCAGTTCCTCAGTCTCAGCTTCCCTAGTAGCTTGAACATAAGTG 1860  
 CATGTCACCACGCCAGCTAATTTTTGTATTTTTAGGAGAGATGAGGTTTACCATATTG 1920  
 GCCAGGCTGGTCTTGAACCTCTGACCTTGTGATCAGCCCACCTTGGCCTCTCAAAGTGTT 1980  
 GAGATTACAGGCATGCCACTACGAGCTTGGCCCTAGAAAAATCTTAAAAAAAAGCCAG 2040  
 GCGCGGTGGCTCAAGCCTGTAATCCCAGCCTTTGGGAGGCCGAGGCGGGTGGATCAGCA 2100  
 GGTCAACAGATCGAGACCCTCGGTCAACATGGTGAACCCCGTCTCTACTAAAAATAC 2160  
 AAAAAATTACCTGGGCATGGTGGCGCGTGCCTGTAATCCAGCTACTCAGGAGGCTGTGG 2220  
 CAGGAGAATTGCTGAAACCCAGGAGGCGGAGGTTGCGGTGAGCCGAGATCACACCATTGC 2280  
 ACTCCAGCCTGGGTAACAAGAGCGAAAACCTCCGTCTCAAAACAAAAACAAAAACAAAC 2340  
 AAACAAACAAACAAACAAAAAATAAATACTATTTCCATAAGAAGCTTGTTTAAGCTGGAA 2400  
 GAAATTAGAGAAAGAACTTTAGATTCTTCAATGCAAAATTAGCTCTAATACTCATTCTC 2460  
 CACCTCACCTTTTTAACTGCGCTAGAGAGCTTGTATACAAACCATTTATTAACCTCTTAA 2520  
 CTACTCTTATTATACAGCACAGTCCCTGACATCACACACTGCAAAGATGATCACCAAGG 2580  
 AGTGATCTACTCCGACCTGAATCTGCCCCCAAAGCCAAAGAGGCAGCAACGAACACCTAA 2640  
 GAGCAAAGAAAGCTCAATTTTAGTAACCTGAACAGGAAATAACCTATGCGGAATTAACCT 2700  
 TCAAAACAGCTTCTCAGGATTTTCAAGGGAATGACAAAACCTATCACTGCAAAGGTAAAGC 2760  
 ATTTGAAAAGCTCCTCAGTATAACAGTCTAGGATGTGCAGCTTGGGGTACAGGGATATGTG 2820  
 GGGAAAGAGCAGGGAGTGCTTACATATTTTCTATTTGCAAAGATCAGAATTTCAAGTGGA 2880  
 GACATGCGATTTCAATATAAAACATGAACACTGATTTAACTCATTGTTGAAATTTGTAGT 2940  
 CTTTGTCCAATAATTCATGGAGCATTATTTTTCTGAAATGCAATATTATATTATTCTGA 3000  
 AAGAAAGATTACAATATGACATGAGGGTTTGGGGCCCACGCTTCTCTGTATGATCCCTGT 3060  
 GCATTCAGGTTCTCTGTCTGGGAATCTTCTAAACAACCTGTATCCACCTCTCCTTTTGCC 3120  
 TGCTTCTCATTCTGTCCCTGCAGATTTACCATCAGCTCCAGAGAAGGTCATTATTGGGA 3180  
 TCCTGGGAATCATTGTCTTCTCTTAATGGCCTCTGTGATAACGATAGTTGTTATTCCCT 3240  
 GTAAGTCTATTTTAGAAGATTACAAGGAAAATCTCTCATTAAATAATTGAATATGCCCT 3300  
 AAACATTTTCATATTTTTCAGGGAATAGTATTCTCATTGTAATGTATATATTTGGACTAAAT 3360  
 GTGGAATGGTTATTCTGAATTTGTCAAAGAATAAATGAAAGAATGATTGTTGAAAGCATT 3420  
 TCCTTCTGATTCAATTTGTGTGTATATATTTTTTATTTTATAACTCAAAAATGAAGGGTCT 3480  
 GAAAAATCTTTCTGAGAAAAGAAATTAATTTTTGAAAGTAGTTAAATCACAACTATAAG 3540  
 AACTATACGAGATGGTGAATTTGGTCTTTTAGGCTTTTGAATACTTTTGTAAAAAAC 3600  
 CATAATTACTTTATCAAAATTTTTCTTAAATCAATTTTATTCTATATTATTCTAACTCT 3660  
 AAATAATATAACGAATTTCAAACAAAAACTAAAATTTTTCTGATTGATTTAGATGCTAAT 3720  
 TTTTACAGATTACTTTATTTTTTTCTAGCTACATTAACACAGAAGCACAAACAATTCTTCC 3780  
 CTGAATACAAGAACTCAGAAAGGTACATAATAATTTTTTAAAGTTCTAATATTGTACAGTT 3840  
 TTCTCGATCTTAGGCTGTGCAAAAATAGAATTTGGGGGCTAAGCGCAGTGGCTCATGCT 3900

GTAATCCCAGCACTTTGGGAGGCCAAGGCTGGTGGATCACGAGGTCAAGAGATCAAGACC 3960  
ATCCTGGTCAACTTGGTGAAACCCCGTCTCTACTAAAAATACAAAAAATTAGCTAGGCAT 4020  
GGTGGCGCGTGCCTGTAATCCCAGCTACTCAGGAGGCTGAGGCAGGAGAATTGCCTGAAC 4080  
CCAGGAGGCGGAGGTTGTGGTGGAGCCGAGATCGCGCCATTGCACTCCAGCCTGGGTAACA 4140  
AGAGCGAAACTCCGTCTCAAAAAATAAATAAAAAATAAAAAATAAAAAATTTGGGGTGATAA 4200  
ATAAGTTATAAAAAATTGGCAATAAATGTTTATAAATAAAGATGAGGGTATTACCTTGTC 4260  
TAACTATAAGTAAAATCACTATACTTCTTTTGTCTGTTGCGTTCAAATTCCTATTGCT 4320  
GTAATATGATAAGATAACAAGTTATTTACTATTTTTTTTTAAAGCAGCTTGGTTTGTTCATT 4380  
GATTTTCAAGACAGTATAGAGTGGATTTTTGTTTGTCTGGTTTGTCTTATATGGGAACAC 4440  
AATTAGACATGAGAGGCTGACCTTTTATTGTGCATGTGTGTATAAAGTACTGGGTATTT 4500  
TAAAAGTATGATTTTACCAGCCTGTGAGGATGGATAGATATGTTGCAGACATGTAGCTTT 4560  
ATGCCTTTGCAAGTATGTTAAATAAATTTTTATTTTTAAAAATTCACATTGTTCTGGATAGT 4620  
AATTCTGCTCTTTATTTAGCATATCGTTGTGACCATTGTCCAGAGGAGTGGATTGTGTA 4680  
TTCCAACAGTTGTTATTACATTGGTAAGGAAAGAAGAACTTGGGAAGAGAGTTTGCTGGC 4740  
CTGTGCTTCGAAAAACTCCAGTCTACTTTCTATAGATAAATGAAGAAGAAATGTAAGATG 4800  
TAAATGTTTTAAACACTTTACGAAAAGCTTATTTTCAAGTCAATAGCATATTTGTAACATAT 4860  
TTGTAGAAATCATATATATATTTAGCTTATATATTTTTAAAGTCTGTGTAATATTCAATAG 4920  
TTTGACTTAATGATGTTTTAAATTTGTATACTGCTAATGTACTTTTGATAATTTTTCAGT 4980  
TTTTGCTTTTCATGGAAAACCATGCTTCTGTAAATGCTTTGAACCCACAATAAATTTTGC 5040  
TATCTAATTTTATCAAGCAAGATATGATCTGGTCATGCAGGTTGATCACAAAGTGAATGA 5100  
ACTCACGTGATAACAAGTCAGATCAGAAAACAGAAGTTCAGCTCCAGCAGTTCACCCTGT 5160  
GCGTGCCCTCATCACTTATCCTGGCTCCTCTCTGAAACACTGTCTTGATTTATAACGTTA 5220  
TAAATAATGTTTGCCTGTTCTTGAATTTATATAAAGGGAATAATACAGTGTGAATTTTCA 5280  
TGTCTGTCTTTTCCACTCCTGTCTGATATTTGTGCAATTCCTTCATATTATTGCAGTTAC 5340  
CAGTCGTTTGTACTGTTCACTGCTATATATATACAAAGAACACTAACAATCCATTTCAGT 5400  
CCCGTGTCTCTGGATGGGGAAGTGAGCCTCATGTCTCAAAGACAAAGAGGAACCTGGAT 5460  
GGTGCATGATAGTCAAGGGTCCCTTTTGTGCTCATCTCCTCACCCACACTCATCCTGGTG 5520  
TCTATTGGTATCAGAAGGAAGCACTTCCCTGTGGCTCCTAATTGGTAGCAGATCTCCTGGT 5580  
AGATCATCCTTGCCCTTACCTGGCGTTGTGGAGGGGACTCTTCTCAATACACAGTGGAAAG 5640  
TGAGCTTTGCTGAGCCTCCTCCTTTTGCCAGGTAAAGTGCTGGGAAACAGCAGACCTATG 5700  
TCACTTTCTTCTGGGTGGAGAACTTAAACATGCTCCCTTGACACTTGGTTGATCCCCAAT 5760  
GCTAGGGTCCCAGACAATTTTATCTTTCTCTTTCCAACCTTTCAGAGTTCTCTATTGCTTT 5820  
TGTCTTTGTTAATCCCAGAGTTTAAAGTTGTTTTTAGTAGGGAGTAGCAGAGAGGAAGTA 5880  
GCGGAGAGGGACATTTCTATACCACCTGGTAAGGACCCTGTTATTCCACCAAACCGAAT 5940  
CAGATGAAAGTATAAAAGTGAGGGTTTATCTAGTTAAAGAAGGTGCCAGAAAACCCAAT 6000  
CTGTAGCTTCTATGTCATTTATTTCTGAATGACAACCCCTCTATTCTCTTCTAAGTCTAC 6060  
AACTCTGAGAAATATATAGTACAAAAGTAGGTTGATTTAGTCACAGTATCTGGAGGAATA 6120  
AATACACAGTATCAGGAAATTCATAAAGCCTTACTGTGTTTATTCTGTCAATTGGGGTAA 6180  
CTATAATATTGCAAGAATTAATAATTTTTTAATTAACATGAGAAGAATGAAAGTACTACTG 6240  
AAGAGTTCAATTTAAATCAAATTAACAACATTTATGAAAGTTTTTGGCCTTGCCAATAGTG 6300  
GTTTTCAACTTTAATATATTGTTTTTATAATGTTTTTATAACTGTTATTTAAGTGAATAA 6360  
TCTTTATTTGCTTTTCAAGAAAGTTCTGGCTGCCATTTTCTCTCCCTCATGGATTGGTGTGT 6420  
TTTCGTAACAGCAGTCGTCCATGGGTGTCAATAGATGGTTTACTCTCAACTACACGT 6480  
AAGTTGTTTTGTATGTTGCTTTATAAAAAACACATATAAAGGATAAATTCAAAAGAACG 6540  
ATATGAATAAATTTATGTGGAATCATAGACATGAAGAAGATGTAGAAAGTTAGTGAAT 6600  
TGATGATAAATATTTTACAATAGACCATCGTGGTCCATATATGTCTATCCACTCATTAG 6660  
TCAGCTAGTACCCTTCTTGGTTATCAGATGGACCAGGGGTGTCCAATCTTTGGCTTCTGT 6720  
GGGCCACATTGGAAGAAGTGTGTTGGGCCACACATAAAAAACACTAACAATAATGATAGC 6780  
TGATAAACTAAAAATAAATTTGCAAAAAATATCTCAGAACGTTTTTAAAGAACATTTATGAAGC 6840  
TGTCTGGGCCACATTCCAACCTGCTTGGCCACATGTGGCCATGGGCCGCAAGTTGG 6900  
ACAACCTTGAGATGGATGACAGGAAATCGTGGTGTCTGTTTTATTAATAAAGTACCCTTA 6960  
TTTTACTTAAGAATATCCTCAAAGCACAAGAGTAGTGCTGTTGGCATATTGCTACCATTT 7020  
TATCAGTATTATTTTTCATCCATCTCTTATTGTGTCTAATTTATAAATTAACCTTCATCAT 7080  
AGTTATGAACGTGTAGAGAAAACATAATCTCTCTGTAGGTTCTGTACTATCAGCTGTTTC 7140  
AGGCATTCAATGGCATCTTGAAACATATCCCCCATGGATGAAGGAGAACAACCTCTATTAC 7200  
GTTTTTAGAATAATAACATTTGCTAATATTATATGAAAAAGTTTATTACCCTTTTCCATG 7260  
AAATTATTTTCTTACAGTACATGGAAAATGCTCTTGTCTCGTGAATCATTTGCATAAAAT 7320  
GTAATAGAATTATGGATTTTTTCTCCATTACAGGATAAAAAGACTCAAACAATGAGGAACGT 7380

AACTGTGCAATGCTGCATGTAGATGGATTTAAATCAGAGCCATGTGGATCTTCAATAATA 7440  
 CATCATTGTAAGTGTAAAGCTTCAGAAT **TAAAGCATCTGAGTTGGCAGCACAT** 7492

### 7.8.6 Caja-Ly49L

Homologe Bereiche zu Exon 2 (erstes proteinkodierendes Exon) sowie Exon 3 des humanen Ly49L-Gens sind grau hinterlegt. Die *Insert*-Sequenz von BAC-Klon 188C15 beginnt im Intron 2 des Ly49L-Gens (gekennzeichnet durch einen Pfeil). Das 3'-Ende von Exon 2 und das 5'-Ende von Intron 2 wurden mittels PCR von dem überlappenden BAC-Klon 162P15 amplifiziert. Das Stopkodon in Exon 2, welches sich im Leserahmen befindet, ist blau markiert. Nach Nukleotidposition 2060 zeigt die Sequenz von BAC-Klon 188C15 keine Homologie zur Sequenz des humanen Ly49L-Gens.

#### BAC-Klon 162P15

CCTTAGATTATTGCCTGTGACTTCAGAGTCACAA **TAG**ATTAAGGCCTGATGATACTCAAA 60  
 GGCCTGAGAAAACATAATGACAGAGGTATGTTTTAAGCATCTAAATTCACCTGTTTCTTAT 120  
 GGATTGTAAAACCTTTTGACATTTCGAAAAAAGATTCCCTATCTGTATTTCTGGTTCTTGGCT 180  
 GGTAATAAGAAAACATAAAGGAAGTATAGTAGTAGACGTATTTTTTTTTAAGTTGTGAGAAT 240  
 CGAGAAATGAATGAATTC 258

#### ↓ BAC-Klon 188C15

TTTTAACTTAAGAAGTTGGTAGAATGTTTTCATTTAAATCT 300  
 GGTCAAGAATTTATGAGGTCTTGAAAATAAAGGACAGACTAGAGTCTGAAGAAAATAAGA 360  
 CATTTCCTAGAGAAATCAAAGTATCAGAGAATGCGTAAGAAATGAAAAACAAATGTCAAA 420  
 AACATTTTTATTAGATAGAAAGATATTTTAGGTGTCTTGAGTATTTACCAAATCTTAATT 480  
 GCCACGTGACAGTAAACAATGTTGAATCAAAGGGGCGTTCTAATTTTTCTATGCTCTCT 540  
 CTCCTTCAAATACGGTCACTGTTCAACTCTACATCGAGAATAACTTTACTACTTTAAC 600  
 TTAGAGATAATCAGAGATACAACCTTCGGACACTGAGGATCTCAAAAAGCAAAAAGGATGAAT 660  
 ATAGTATTGTTTAGAGAAAAATGGAATTGATGAAAAGAAAAGAAAAGTTGCTTCCTGGAAA 720  
 CTCCCTCAAGGATGGTGGACCCATCCACATTTGCAGCTTCAGAATATCCACTATTGGCTG 780  
 TAATTTCTTAGCACTATTGACTGCTTTTTCTTTCTTTCATGATTAGTTGTGATCACAG 840  
 GAAGGAGCACACGTCAACTTAGATTTTGCTGATGTTTTGTGTCTACTGTCATTGGTGCTT 900  
 TTATGTGGGATGGACTTTTTAAATCCTATAGAACTATTCTTTTGTGTGGGATTTCTACAA 960  
 TGTGTGCATGTAATTTCTAGATTACAAATTTAAATAAACTTGTATGATATATTTTTGCCA 1020  
 AAGTTTTAGAAAAGAGTGTCTCTTTATTTCAAATGAGATCTTGGTTTCCAGATCAAGGT 1080  
 TAGTAGTGAGCCAAGCTCTTCCCCTGGTGATTATTTTCTTTTACATTTAAAGAAT 1140  
 TTTTCAGTGCCCTGGTGTCTAATTGCAGTGACTCTTGGGATCCTCTGTTAACTTCTT **CTGA** 1200  
**TGATAGTCACAATGTTGGTG**ACAAAAGAGTGAGTAATAAAAATGCACCTTCCTGTCTGAGTA 1260  
 GCATCAGTAATCACTGATTGTGCAGATACTAACCATGCTCCATCCATTGTTCCCTGTCTG 1320  
 TAATCAGAAAACGTTCCAAGCGACTCTGGCTTTTGTGGTCATTTTTTTTCTGGACATAT 1380  
 CACAGTGTCAATTTTTAATTTACTTAACCTTGACTCTGAAGTTGTGATGAGCTGTTTACT 1440  
 GTGTATAATACATGGTAATAGCCCTTCTCATAGAGGATTTAGCAATACATGTATTCTACC 1500  
 ATTTGGGCTTGATTATTATGAATCTGAGATAACCATTCTTTGAGAGATAACAGTTCAAAA 1560  
 GAAATCATGGTTTTCTCTTGACATTTCTCAAAGTATATAATGAGGTAATGGTTTAGTAGC 1620  
 ATCTACACATGCTATTACATAATATTAATTTCCAGCTTTATCTTTTGTGTTGAATCTTTC 1680  
 ATCTCTTTAGAAAAATCACTGATATTTTATATTTCAGAAAAAATTACACATCTGGATCTTA 1740  
 CTCTATTTTTCTGCTGTGGAAAATCCATCTGCTCCAATAATAATTGTGTTATCTCTTCATG 1800  
 TTTCTTAGTTTCAGATTTTCATATGCCAAAAGATATGGAGTTAGATGTTGGCAAACTGATTT 1860  
 TTACATTGGTGCTTGTGTTGTAATGATGTGTTATTAATAAATGAACTAACTGAAAACAT 1920  
 GGTGTTACCTTCATCATTTTTACTCAGATATTTTATTTATCTACACTTAAGCTGCTAATG 1980  
 GTGAGAAATTTATGTTTCTATTTTTATGGTCAGTTCGCTGAGGTGTTACATTCTAAATGT 2040  
 CAAATTATTAATTAAGTAA 2060

## 7.9 Genomische Sequenzen der NKC-Gene des Mausmakis

Dargestellt sind die genomischen Sequenzen der NKC-Gene des Mausmakis. Der amplifizierte 5'-UTR ist gelb, proteinkodierende Exons rot, amplifizierter 3'-UTR grün und Start- bzw. Stopkodons blau markiert. Homologe Bereiche in den Pseudogenen zu Exons humaner NKC-Gene sind grau hinterlegt. Primer, die zur Expressionsanalyse verwendet wurden sind fett und unterstrichen. Die Sequenzen stammen vom Haplotyp 1.

### 7.9.1 Mimu-CD94-1

**GACCTTGGAAACATCGGTTCA****ATG****GCAG**GTATGTGTGACCCAGTCACAAAATTAATAAA 60  
AATGAAAAGTAACCAGAAAAGATATTTAGTGGATTGGCTAATTTGGGGTCAGTGCTTTTAA 120  
GAGAAAAGCACAAAGTTAATAGTGGATATATTTAGGCTTTTTCATGTATCAGCACTTTGCA 180  
CATTCAAAGAATGTGCAGAGAACATTTATTTTCTGATTCTGAATCTGTAACCTTAGATG 240  
ATTTTGTGAACTTTTCCAACAGAAAAGTTTTAATCCACTTAAAAAGTGGCTTCTGACAG 300  
GGATACCTCCAAATTCTGAATGAGAATCAAACCTTATCTGTGTAAATCGTGAGCATCGAAA 360  
TTCTGGCATAGAAATAGAGCATGCCAAATATTAATGACACAATGCTTAAAAGTTTTAAAA 420  
AATTTATTCTTTGTGTTATGACATCCAAAAATAATACAGATTAACAGTGTGACACATCGT 480  
ACTACTGTTAACAGCAGCATCACTTCTTGAGAGTGTGCTAATGTTAATGTAGAATGTCCCT 540  
AATGTTAAAACATTTTAGGGGAAAAGCCATTAAACAATTTTCGAGTATGAGTAAATGTAAT 600  
GTTCTTGGGAAAAAAGATTGTTTATGTATCATAATTCAATGTACTGTGATTTAAACCCA 660  
GGTCTCCAAGAAATACCCATACATTGTTTGTAGAACTAGTTATCACACCAAGTCCAGAAT 720  
GTTCTATGATTCTCTTCCCTATAATACCTCAAAAGCTTATGAGATCTAGACATTTATCA 780  
GAGTAGAGCCTGTGTGAGACTAGGAGAGGACACACTCCTAAGTAATATTATTGTGACAA 840  
GATATAATATATTAATGAAAAGTCTGGGCCTAGGCCAAATTTTCATTTGATTTCTGGCT 900  
TGGGTACTTACTAGCTTTGGAGCTTTGGTACTTTGAGAAAATGACATTATTACTGGACTC 960  
TGTTTTCTCACTACCTAATGGGAATTATACTTACTTACTGTTTATCTTAGTATTTTCCAGAGA 1020  
AAATACAAGTAAATATGTGTTATATAAGCCCATGGAACACAAAATTTGGTGCCTGTCGATGC 1080  
CTTCTTAGCTTCTCAGAAAATCTAAAAAATAGATGGCAAATCTACTTTATTGGGGCAGAG 1140  
CTGTAGAGAAGAAAATGTATGGATGATCACACTGAAGAACAAGGTACACCGCATAAAAAAT 1200  
GTTGATATTCGGTGAACCTTGAATGGAATGTCTTCAATTTTTTAATGTTTTATTGACAAG 1260  
ATAACTGTGTTATCAAGTGAAAGAACATTTTGGATCCTACATCATTGATTTCTGTTTTTA 1320  
AGAACCTCAGCTCCTGTATTTGTTCTTTAAGTCATTATTCCATTTGTCTTTCTCTACAGT 1380  
**GTCTCAGACCACTAGGTGGAGGTTGATTTCTGGGACCTTAGGAGTCATATGCCTTTTGT** 1440  
**GATGGTTACTTTGGGAATGTTGTTGAAATCTT**GTAAGTTTTTCTAGACAAATCTGCACAA 1500  
AAATCAAAAGTTTTAACAAAATAATTTAATGATACATATTTTCATCTTACTAATGTGTAATA 1560  
TTTTTATTATTTACAAAACCTGTATCTCATTAAAGCAAATTTCTAATCATTTCTTATAG**TAC** 1620  
**CTAATGAAATAGATATTAAGCCAACATCCTCTTCACTCCCAACAAAAGAACTCCAGGAAG** 1680  
GTAGGTTAGACAGTTTCTTGTTTTTACATACAGGAGCAAGATAAAAATAAATATTATACTT 1740  
GGTAATACAATTTGCCTACTAATTATAGGATAGTGTCAATTTTTATTGTTCTCTAGTGTA 1800  
GAATCATTAAGTTAAATTGAATATGCATCATTATGTATTAACATAAGGGAAAATAGTA 1860  
ACCTGAAATGACAGACGTTTCCCTATATGAGTGTCAAGATTAAGTAACAAAATAGAAAATA 1920  
ATCTACATTAATATTACCGCTAATCCTAATTACCTGTATGTGTTTGTGTATAAGCTATA 1980  
CTTTCATATCTCTTAACCTTTTCTTCTGATTCTCACAAGAAAACCTCAGAATATAGTGCAC 2040  
AGATTTCTGCAATCCTAAACCTTACTTAAACAGTGAATGCAGTTCAAAGTCCAATTTTTTT 2100  
AAGTGTATTTTTTCCATAAAATTTCCCATGTTTTCTCTTCTTCTTCTGTGACAACAAAGT 2160  
AGTACTTCATTTATATCTACATCGTTTCTTAACATCTTTACCACCCATTTATATGGCAAA 2220  
GATTTGTCCACCATGTGTTATGACTATAAAATATTGTGCATAAGTAGTGTTCATTCACTG 2280  
ATAAACTGTATAATTGCACCTCAAGCTAATTAATTGGTTTATCTTCCTTTTTTGAAAAATA 2340  
AAATACCCAAATGTATATCAGAATTCTCCAATGTACCATATTCTATCCTCACTCAGGAA 2400  
ATATGCTGAATATTTTCCCTCCTTTAAATCTCTCATCTGGTTAACTCCTGTTAGCACCACA 2460  
GTGCTCAGCTGTGGGTCACGTCTCAGAAAAGTGTCTTAACTGCCCCACCCCATACGC 2520  
TACTGTGTCTTGTATTAACATATTGAATTGCTTTTTGTAGACTCACGTAAGTTGTCATCAT 2580  
ATATAGTTAATAAATGATTGGAAATTATATAATTTTGGATCTATCCCTGGAATATATTCT 2640  
CCATGAGGAAAAAGTGTATATATATAATCTCTTCTCATTAAATAGCCACTGAACAAAGAA 2700  
TATTTGTAGAAAAAATAAATAGTAAATTAATTTTGAATAATTAATAATGCAGTAAAAAAA 2760  
ATTTTAATCTCCAATGTCATTTGTGATATTTTATTTTTTTTCTCTTAG**GCTCTGACTGCTG** 2820

TTCTTGCCAGAGAAGTGGGTGGGTACCGATGCAACTGCTACTTCATTTCTCTTGAAAT	2880
GAAAACTTGGAAATGAAAGTAGAAATTTCTGTGTTTCTCAGAATTCAGTTTGCTTCAGCT	2940
TCAAAACAGAGATGAACTGGCATGTACTTATTTGTGGCTTCCCTACACTTTCTTTAATCTA	3000
GAAAAATATACAATCTAAGTAAGCTAAACACTTTGATTCTAGTCTTACATCAGATAGTAA	3060
ATGGACAGTTATTTTTGAACAAATGACCTATCAATTCTATATACCCTGAAACTACCATTC	3120
TAAAACCTATATTAAGTTCTTCAAAGATTTACATCACAGGGATAAAGACTTAGATAGGCA	3180
CCACATAAAATAAAAGAACTTTTTAGGGAAAATTCAAAGAAAAATAATAAGGTTATTAA	3240
TTTGGATTTTGTAAATTTTGTAGTCTTTTAAATGAAATTTATAATTTTCTTACATGGCTTT	3300
TGTCATATAGCTATATATAACTATATATAAAAATAACAATTATAATTGTATATAACTAT	3360
ATAGCTTTTGTGCATCTTTCTGGGATATAAATAGGAAACCAGTATGGATAGTAAAATCATAA	3420
AAGGTACCCAGTTCTTAAGAAAAAGTGAAAAATTTCTCCAGATGCATCTAGCATCTGTGC	3480
TGAGTCTACATTGTACCCATGAGATTTTGTCTCAAGTTACTGCTAATTTGGGATCACAT	3540
TTGATCATTGAAGCCTGTGAAGGAAATGTACCATGAAAACTATCGCCCTTTACGAGGTTT	3600
CTCTTTCTTTCAGGAGGAGATTTTGTGGTATTTTTTCTCTGTAAATGAGTGGGCCTGTT	3660
AAAAAAGAAGCTTTGAGGCATATGACTGACTATACTACTAAATTGGCAGTTAATAATCA	3720
TTTGTATGATGAGCAGGCTGAATCTTATTCTGAGCACTGATGTTCTCAGAAGTATGCTGT	3780
ACCCAGAATAGATTAAGCTCAGATTAATATGTTTGTCTTTTACTCCAAGCAGCCTTTCAT	3840
GCCTTCCAAATACAAAGTTTACTGGATTGGACTCTCTACAATACAGAACGTGGAGTCTG	3900
GCAGTGGGAGAATGGCTCTGCTCTTTCCAGAAATCTGTAAGTTTCTAGGGGCCTTTTTTG	3960
ATCTTTGTGAATTTACCTTTAGATCTGACAAGGGAGGTAGCATCCAGGAGCACTGAAGCT	4020
AAAATCACCCACTTAGGGCTTGAGAACACAGAAAAATGGGACAGTGGGATAGAACAACA	4080
ATTTTGGCTCCACCTACAATATCCAAGTTTATGCTCAAGTGACATGAAAAATGGTGAGCT	4140
TGTGGTCATGAAAGAAGCTTTGACATATTCTTTATTTTGTCTTATTACCGTACTTAAAGG	4200
TATATGTACCAGTACAGATAGATGCTCATGAACACAAGGGCAGCCAGAGAAAACGGTATA	4260
TCCATTATTTTCTTTATTCTTGGTGGAGCCTAATACTCTCAGCATCCTCTCATCTTTTAA	4320
ATATCTTGGGCTTATTTTCTGTATATTTGTAAATTTTGAATCTCATTTTCATTCATAAAT	4380
GTGAGATTTACAGCATCATACTATGCCAAAGTTTATGCTCTGGTTTGTCTTCCCTAGATA	4440
GCTCAGCTGATACATCTTAAAAAACAGAAATAAAGCATTTCATACATCAATCTGTACT	4500
GACAAGAGCAAAAACTAAAACTCCCTGGCCTCAATGCTACTGATGAGTAAGGGAATAAC	4560
TGAGTGTATTTATGGTATTATACTCTAGAGTCATGAGAAATGTGGTTATGGCTCTAAAATA	4620
ATAATGATTCAACATGTTAATATCTTACTTAAATGCTTTTAAAAATCTATAGTTTAAATA	4680
AAAGATCAGCCCTGAGGATCTCTCTTCTTTTCCCATGTGTTAACATTTTCTTCTGCATT	4740
ACAGATTTTTCATCATTGAAACTCCAGATCCAGAAAACTGCATATTGTATGATCTAACGA	4800
ACAATACTATGGATGAACCGTGTGAAAGAAAGAATCATTACATCTGTATACTACAGCTTA	4860
TTTAAAGTGTATTATTGGAACAAAGAGACGG	4889

## 7.9.2 Mimu-CD94-2

Das 3'-Ende für CD94-2 wurde über 3'-RACE-PCR ermittelt. Das Polyadenylierungssignal ist pink hinterlegt.

TGGCCTTGGAAACATCAGTTCTCATGTCAG	60
ATAAAAAGTAACCAGAGAAGATATTTTGTGGATTGGCTAGTTTTGGGGCAGTGCTGTAAG	120
AGAAAAGCACATGGTTAACAGTGATATTTTGGGGCCTTTCATGTATCAGCACTTTCATTT	180
TATTTTCCCTGATTCTTGAATCCATAACTTAGATATGATTTTGTGAAATTTTACAACAGT	240
TTTAAAAAGTGGCTTTTGTAGGAGATACCTCTAAATTAGGAATGAAATAAACTTATCTG	300
GTTAACTTTTGTAGCATGATAATTTCTTCAATTGAAATAAAGAATGCCAAATATTAATAACA	360
GAATGCTTAAAAAGTTTTTAAAAATTTATACTTCATGTTATGACATGCAAAAAATTATACAA	420
ATTAACAGTTTGGCACATGGCACTATTGTTAACAGCAACACTTCTTGAGAGTGTGCTGAT	480
GTTAATGTAGAGTCTTCTAATGTTAAAACGTTTTAGAGGAAAAGGCTTTAAGCAAGTAAT	540
TTTGTAGTATGAGTAAATTTAATGTTCTTGGAAAAAAGATTGGTTATGTATTATAATTCA	600
GTGTACTGTGATATAAATCCAGGTCCCCAGAATAATACCTATATTTTGGTTGTAGAAGCA	660
GTTATCACATCAAATCCAGAAAGTTCCCTATGACCTTCTCTTCCCTATAACACCTCAGCAAG	720
CCTATGAGAGCTAGACATTTATCAGAGCAGACCTGTGTGAGACGAGAAGAGGGCACACT	780
CCAAGTAATATCTTGTGACAGGGATAGAATATGTGAAATGAAAGAGTCTGAGCCTAGG	840
CCAAGTGCATTTGATTTCTGGTTTGGGTAAGTACTAGCTTTGATACCTGGAGAAAATAA	900
CATTATTATTAGACTGTATGTTTTCTCATGTATCTAATGGGAATCATACTGTCTATCTTA	960
TGATTTTGTAGAGAGAATGCAAGTAAATATGTGTTATATAAGCCCATGGAAAAACAATTTG	1020

GTGCCTCTTCTTACTCCTGATCTTTACACTTCTCAGACAATTTAAAAAATAGGTTGCAAA 1080  
TCTACTGCATTGAAACAGAGATGGCAGAGAAGAAAATGTATGGATGATTACACCAAAGAA 1140  
CAATGCACTATGCATAAAAAGTATTGATATTGGGTGAACTCTTGAATGTTTTTCATTTTCAG 1200  
TGTTTTAATTGACAAGATGACTGTGTTATCAAATGAAAGAACGTTTTGCATCATAACATCAC 1260  
TGATTTCTGTTTTTAAAGAACTTCACTAGCACTCTGGGAGGCCGAGGCGGGAGGATCGCTC 1320  
AAGGTCAGGAGTTCGAAACCAGCCTGAGCAAGAGTGAGACCCTGACTCTACTAAAAATAG 1380  
AAAGAAATTAATTGGCCAACTAAAAATACATAGAAAAAATTAGCTGGGCATGGTGGCGCA 1440  
TGCCTGTAGTCCCAGCTACTCGGGAGGCTGAGGCAGGAGGATTGCTTGAGACCAGGAGCT 1500  
TGAGGTTGTTGTGAGCTAGGTTGATGCCAGGGCACTTAATACGGGCAAAGAGGGAGACT 1560  
CTGTCTCAAAAAAAAAAAAAAAAAAGAGAAAAGAAAAGTAAAAAAGAACTTCAGCCAC 1620  
TTTTGTTGTTTAAAGTCATTATTCCATTTGTCTTTCTCTGCAGTGTCTCAGACCCTCGGT 1680  
GGAGGTTGATTTCTGGGACCTTAGGAGTCATATGCCTTTTATTGATGGTTACTTTGGGAA 1740  
TATTGTTGAAATCTTGTAAAGTTTTTCTTGACAAGTCTGCACAAAAGTCAAAAAGTTAAGG 1800  
AAATACTTTAAGGATAACTTTTCATTTTATTAATGTGTTATTTTTTTTTTATTTTCATGATTT 1860  
CATAAACCTATACTTGGTCAAGCAAATTTGTAATCATTTCCTTATAGTAATTCCTCAAAACA 1920  
AGTACTGAGGCCACACACTCTCCAAGACTCAACCTCCAGGAAGGTATGTTAGACAGTTTT 1980  
TTGTTTTTTTACACATAGGAGCAAAATTAATAAATTATTATACTTGGTCATAAAATTTACC 2040  
TATTAATTGTAGGATAGTTACATTTTATTGCTCTCTAATGTAAGAATGATTAAATAGCAT 2100  
TGAATGTGCATGACATATATATTAACTAAAAAGGAAAATAGTAGCCTGAGATGACAGATG 2160  
TTTCCTAATAAGTGTTTCATGATTAAGTAACACATTAATAATAATCTACAGTAAATATTAC 2220  
AGCCAATCCTAATCACCTGCCTGTGTTGGGTATAACCTGTATTTTCTATCTCTTTACC 2280  
TTTTTTTTCCGCCTCTTCTATGACTCAGAATATATTGCATAGATTTCTGCAATTCTAAACC 2340  
TTTCTTCTCTAGCAAATGTAGCTCAAAGTCAAATTTTCTAACTGTGTTTTTTTTCCCAAAT 2400  
GCTCCCATGTTTTCTCATCATCTTCTGTGCCACACAGTAGTACTTCATTTATAATTTT 2460  
ATTTTATCTCAACACCTCCACCACCATTATACAGCAAAGATTTGAGTATCTACCATGTGT 2520  
TATGACTATAAATTACTGTGTGTAATGTTGCAGATATTAACAGATACACTGTATAATCAG 2580  
ACCTCAAGCTAATTAATTGGTTTATCTTCTTTTAGAAAAATAAAAATACCCAAACCTATA 2640  
TCAAGATCTCTCAATGTACCATATTTCTTCACTCACTCAGGAAATATGTTAAATATTTTC 2700  
CTCTTTTAACTCTCTCATCTGGTTAACTCCTATTTGCACCACAGGGCTCAGCTTCGGGTC 2760  
ACATCTTCAAAAAAATGTTCTTCTAACTGCCCCACCCCGTATACTACTATGTAAGTGTAT 2820  
TAACGTAAGTGAATTTCTTTTGTAAACTCACCTAAGTTGTCATTACCTATAGTTAATAAAT 2880  
GATTGGAAATTAATAAATTTGGATCTATCCCTGGAATATATTCTCCATGAGGAAAAAAA 2940  
AACATAATATAAATTTGTTTCATGTTAATAGTCCCTGAACTGTGGTATATATAGACTTTCAA 3000  
AGAATATTTGTAGAAAAAATGGATAAATGGTAAATTACTTTTGAATAACTAAATTGCA 3060  
TTAAAAAGAATTTTAAATCCCAATGTCATATGCAATGTTTTATTTTTTCTGTTAGGCTCT 3120  
GACTGCTGCTCTTGGCCAGAGAAGTGGGTTGGGTACCGATGCAACTGCTACTTCATTTCT 3180  
GGTGAAGTGAAACTTGGGAAGAAAGTAGGATTTTCTGTATTTCTCAGAATTCCAGTTTG 3240  
CTTCAGCTTCAAAACAGAGATGAACTGGCATGTAAGTATTTGTGGCTTCCACAGTTTTT 3300  
TTTTAATCTAGAAAAATATACTATCTAAGTAAGCCAAACACTTTGATTCAAGTCTTTAAT 3360  
CAGATAGTAAAGGGACAGTTATTTTTGAACTAATGACCGATCAATTCCATGTACCTTGAA 3420  
ACTACCATTGTA AAAACATATATCAAGTTCTTCAAAGATTTACATCATAGGGATAAAGATT 3480  
CAGATAGTTGTACATAAAGTACAAGAACTTTTTAGGGAAAAATTCAAAGAAGAAATAAT 3540  
AGGTTATTAATTTGAACTTTGTAATTTTTAGTTCTTTAATGAAATTTATAATTTCTCTT 3600  
GTAAGTATATAGTTTTGTCATCTTTCTGGGATATAATATGAAAGCACTATGGAGAGTAAA 3660  
ATCATAAAAAGGTACCCAGTTCTTAAGAAAAAGGGAAAAAATTTCCCTCAGCTGCATGCAGCA 3720  
TTTGTGCGGGGCTAGATTGTACCCATGAGATTTATCCTTTAAGATACTGGTAGTTGGG 3780  
ATCACATTTGATCATTGATCCCCTGCGAAGGAAATGTACTGTGAAAACCTATTTCCCTCTA 3840  
TGAGGTTTCTCATTCTCAAGAAGGGAAATTTTGTGGTATTTTTATTTCCGTATATGAG 3900  
TGGGCCTGATCAATGAGAACTTTGAGGATGTGACTATATCTACTAAAATTAGCAGTTAAAA 3960  
ATCATGTGTCTGTATGAGGGACAGGTTGAATCTTATTCAAACACTGAAGTATGGTATACG 4020  
CAGAATAGATTAAACTCAGTTAATCTGTTTATCTCTGACTCCAAGCAGGCTTTTATGTA 4080  
CTCCAATCAATACTTTTACTGGATTGGACTCTCCTACAATACAGAACGTGGAGACTGGCA 4140  
GTGGGAGGATGGCTCTAATTTTTCCCGGAATCTGTAAGTTTTTAGGGCCTTTTTTTGATC 4200  
TTTGTGAATTAATGCTTGGATCTGCCAAGGGAGTTTTTAAAATGCTTTTAAAATTTGATTTG 4260  
TTTTAATATAAAGGTCACCCCTGAACATCTCACTCCCTGTTCCCATGTGTTAAAATTTTCT 4320  
TCTGCATTACAGATTTTTCATCATTTGAAACTCCAGACCCAAAGAAGTGCATAGTGTATGA 4380  
CGCAATGAAAAGTGTCTGGATGAACCGTGTGAAAGACAGAATCATTTCATCTGTAAAAA 4440  
AAGCTTATTTAAGTGCTTCTTAGGACAGAGAGGTGGGGACAACCAATCCAGTATTACTAC 4500

AAATAGTATTTTACCCACATTATTGCTAT <b>TAA</b> TAATTATCTATTTCTTAGTT <b>CTGTAA</b>	4560
<b>AATGTGTCAA</b> <b>ACTGTCT</b> TATGATACAATTTTCTATATTTAAAGACATGTGCTTTAAAT	4620
TGATGAAATTTGTACACCTACCTACATCTGAAATTATAAAGTGCAAGTTAAATTTATGAA	4680
TTTTTAAATGCATTTTAAATATATATGGTTCATATAAAAATTCATGTAGTTTATAGTGCATA	4740
TTCGTGTGATTTTCTTTATATCTTTATAAATTTCTTTGGCAGAAATTTA <b>AATAAAATGTA</b>	4800
<b>ATTCACACTCAATAA</b>	4815

### 7.9.3 Mimu-CD94-3

Die 39 zusätzlichen Nukleotide am 5'-Ende von Exon 3 der CD94-3A-Variante sind orange markiert.

<b>GACCTTGGAA</b> <b>CATCGGTTCT</b> <b>CATGGCAG</b> GTATGTGTGACCCAGTCACAAAATTTAAAAA	60
ATAAAAAGTAACCAGGAAAGATATTTAGTGGATTGGCTAATTTGGGGTCAGTGCTTTAAG	120
AGAAAAGCACATGGTTAACGGTGGATATGTTTAGGCTTTTCATGTATCAGCACTTTGCAC	180
ATTCCTTTTATCGTCTTGATTCTTGAATCCATAACTTAGAGAGACGATTTTGTGAAACTT	240
TTACAACGGGTTTAAAAAGTGGTTTCTGACAGAGATAACCTCCAAATTCGAATGAGAATC	300
ATGCTTATCTGTTTAAATCGTGAACATTTGAAATTTCTGGCATAAGAAATACAGAATGCCAAA	360
TATTAATGACACAATGCTTACACGTTTTTAAAAATTTATTATTAGATGACACAATGCTTA	420
TAAGTTTTTAAAAATTTATTATTAGTGTATGACATCCAAAAATTATACAGATTAACAGT	480
GTGACACATTGTAATAAGTTAACAACAACATCACTTCTTCAGAGTGTGCTAATGTTAATG	540
TAGAATCTCCTAATATTTAAATGTTTCAGGGGAAAAAGCCTTTAAGCAAATAATTTTGAG	600
TATGAATAAATGTAATGTTCTTGGGGAAAAATTTATTTATGTATCATAATTCATGACTA	660
TGATTTAAACTCAGATCATCAAGAAATTAACCATACTTTGTAGAACCAGTCATCACACCA	720
AGTCCAGAATGTTACTATGCCTTCTCTCCCTATAATACTCAACAATCCTATGAGAGGT	780
AGACATGTATCAGAGCAGAGCCTGTGTGAGACTAGGAGAGGGCACACTCCTAAGTAATAT	840
TATTGTGGCAATGATAGAATATGTGAAATCAGAGTCTGGGCCTAGGCCAACTTTCATTTG	900
ATTTCTGGCTTGGGTACTTACTAGCTTTGATACCTTGAGAAAATGACATAATTATTAGAC	960
TCTATGTTTTCTTATCTCCCTAATGGGAATCATACTGTTTATATTATGATTTCTTAGAGA	1020
AAATATAAGTACATATCTGTTATATAAGCCCATGGAACACAAAATGGCACCTGTGATGT	1080
CTTCTTAGTCCAGAACTTTACACTTCTCAGAAAAATCTAAACAATAGATGGCAAATGACT	1140
TCTTTGGGACAGAGATGGCAGAGAAGAAAATGTGTGGATAAGCACACTGAAGATCAAGGT	1200
ACACAACATAAAAAATGTTGATATTGGGTGAACTCTTGAATGGAATGTCTTCATTTTTCAG	1260
TGTTTTATTGACAAGATGACTGCGTTATCAAATGAAAGAACGTTTGGATCCCACATCACT	1320
GATTTTGTTTTTAAGAACTTCAGCTCTTGCATTTGTTCTTTAAATAATTATTCCATTTGT	1380
CTTTCTTACAG <b>TGCTCAGACCCTCGGTGGCGGTTGATTTCTGGGACCTTAGGAGTCA</b>	1440
<b>TATGCCTTTTGTGATGGTTACTTTGGGAATGTTGTTGAAATCTT</b> GTAAGTTTTTCTAGA	1500
CAAGTGTAGACAATAATCAAAAATTTAAGGAAAATAATTTAATAATAATAGGTTCAATTTCA	1560
CTAATGTGTAATATTTTATTATTTTATAAACCTATAACCTCATTAAAG <b>CAAATTTTCGAATCA</b>	1620
<b>TTTCTTATGGCACACACTAAAACAG</b> <b>ATGTGGAGTCAACATCCTCTCCAGGACCCGACAGA</b>	1680
<b>GAACTCCAGGAAG</b> GTTGGTTAAACCTTTTCTATTTTTAAGCTTCTTATAGGAGCAAGAT	1740
GAATAAAAAATTTGCCTACTAATTGTCAGATAGTATCATTTTATTATTTTCTAATGTAAGA	1800
ATTATTAATTTGAATGTGCATCATTTAGATATTAACAATGAGGAAAGCAGTAGCCTGAAA	1860
TGACATGTATTTCTGCATGAGTGCTCCTGATTAAGTAACAAAGAATAATCTACAGTAAA	1920
TATTACAATAATCCTTATTACCTGTGTTTGTGTATAAGCTATACTTTCTAACTCTTAA	1980
CAGTTACTTCTGCTTCTTCTATGACTCAGAATATACTGCACAGATTTCTGCAATTCATAA	2040
CCTTACTTGTCCAGTGAATGCAGCTCAAAGTCTAATTTTTTGGAGTATATTTTTCCCCAAA	2100
TGCTCCCCATGTTTTCTCATCGTCTTCTGTGACCATAGAGTAGTACTTCATTTATGATTT	2160
TTATCTTATCTCAACACTTTACCAACCTTTATATAGCGGAGATTTGTCTACCATGTGTT	2220
ATGGCTATAATTAAGTGTGCTTAAAGTAGTGTGCAGATATTGACAGATAAACTGTATAACC	2280
AGACCTCAAGCTAATTAATTGGTTTATCTTCCTTTTTGAAAAATAAAATACCCAAACCTG	2340
TATCAGAATTTCTCCAATGTACCATATCTTTCATTGCTCAGAAAATATGCTAAATATTTT	2400
CCTCCTTTAGCTCTCTCATGTGGTTAACTCCTATTTGACCTCAGTGCTCAGCTTCAGGG	2460
CACGTTTCAGAAAAGTTCTAACTGCCTCCACCCATAAGCTACTGTGTGCTGTATCAAC	2520
ATACTGAATTTGTTTTGCAAACTCACCTAAGTTGTCATTACCTATAGTTAATAAATACT	2580
GGAAATTAATAAATTTCTGGAACCTATCCCTGGAATATATTCTCTATGAGGAAAAAGTGCA	2640
TATATAACCTGTTACATTAATAGCCACTGAACAAAGAATATTTGTAGAAAAATAAATA	2700
GTAATTTATTTTCAAATAAATGAATTGCATTTGAAAAAATTTTAATCTCCAATGCATTT	2760

GTGATGTTTTATTTTTTTTTTGTCTTAGGCCCTGACTGCTGTTCTTGCCCAAAGAAGTGGG	2820
TTGGGTACCGATGGAAGTCTACTTTCATCTCTAGTGAAATGAAAAGTGGAAATGAAAGTA	2880
GAAATTTCTGTGCTTCTCAGAATCCAGTTTGTCTCAGCTTCAAAACAGAGATGAACGTG	2940
CATGTAATTTTGTGGCTTCCCTACAGTTTTTTTTTCTTTTTTAATCTAGAAAAATATACT	3000
ATCTAAGTAAGCCAAACACTTTGATTCAAGTCTTTAATCAGATAGTAAAGGGACAGTTAT	3060
TTTTGAACTAATGACCTATCAATTTTCATGTACCTTGAAACCACCATTTGTAACCTTATAT	3120
CAAGTTCTTCAAAGATTTACATTATAGGCATAAAGACTCAGATAGGCACCAAATAAAGTA	3180
CAAGAACTTTTTAGGGAGAATTCAAAGAAGAAATAATACGTTATTAGTTTGAACCTTTGT	3240
AATTTTTAGTTCTTTTTATGAAATTTAGAAATTTCTCTTGTAACCTTTTGTTCATCTTTTTGG	3300
GATATAATGAAAGCAGAATGGAGAATAAAATCACAAAAATACCAGTTCTTAAGAAA	3360
AAGTGAAAAATTTCTGCAGCTGCATCTAACATCTGTGCTGAGTCTATATTCATGAGATTT	3420
ATCCTTCATATTAATACTAATTTGGAATCACATTTGACCATTGTTTTCTTTTTTATTTCT	3480
GTATATTATTGGGCTATAAATGTTTAGGTTATGTACTTTGCCCTTGCCCCACCCACATT	3540
GATCATTGATTCCCTGTGAAGGAAATGTACCATGGAACTATCTCCCTTTATGAGGTTTC	3600
TTGTTGTTTTAATACGTGAGATTTTTGTGGTATTTTTCTCGGTAAATGAGTGGGCTTGATC	3660
AATGAGAAATTTGAGGATGTGACTTTACCTAACTAAATTAGCAGTTAAAAATCATGTGTT	3720
TGTATGACAGACAGGGTGAATCTTATTCTGAACACTGTTGTTCTTAAAAGTATGCTATAT	3780
GCAGAACAGATTTAAATCAGGTTAATATGTTTGTCTCTGACTCCAAGTAGAATTTTATGA	3840
ACTTCAGTCAACGCTTTTACTGGATTGGACTCTCCTACAATGAAGAACGTGGGGCCTGGC	3900
TGTGGGAGAATGGCTCTGCTTTTTCTGGGATCTGTAAGTTTCTAGGACCCTTTTTGATG	3960
TTTGTGAATTTATCCTTAGAATAACAAGGGAAGGTAGCATCCAGGAGCACTGAAGCTAA	4020
AATCACCTACCTAGGGCACGAGAATACAGGAAAAAGAGAAGGTGCGGCAAAATAACAATT	4080
TTGGCTCCACATAGAATATCCAAGTCTATGCTCAAGTGACATGAAAATGCTGAGCTTGT	4140
GATCATGAAAGAATTTGCCATATGCTTTATTTTGCCTTGGTACTGTACTTTGGAGATTTA	4200
TGTGCCTGTACAGATAGAGGCTCCCATACACAGGGGCAGCCAGAGAAAACGGTATATCCA	4260
TTATTCTCTTGATGCTGGTGGAAACCAACGTTCTCAGCATCTCTCATCTTTTAAATATCC	4320
TGGCTTATCTTCTGTATAGTCGTAACCTTTGAATCTCATTGTATTGTTAGTGTGGG	4380
TCTGCAGCATCACACTATGTCAAAGTTTATGCTTGTGGTTTCCCTAGACTGCCTCAG	4440
CCAATACGTCTTAAACAAAACAGAAGTGAAGCATTTCATATATCAAATCTATTACTGACA	4500
ACAGCAAAAACATAAACTCCCTGGCCTCAATATTACTATTAGTAAGAGAATAACTGAGT	4560
GTTTTATGATATTGTATTCTAGAAACATGAGATCTGTGTTTATTGAAAAGAAAGTAATAAT	4620
TATTCAACATGTTAATATCTTACTTAAATACTTTAAAAATTTCTATAGTATAATAAAGAT	4680
CACTCCAAACATCTCACTTTGTTTTCCACATATTAACATTTTCTTCTGCATTGCAGATT	4740
TTTCATCATTGGAAGTCCAGATACAAAAGTGCATAGTGTATAAGCCAATGAACAGTGC	4800
TATGGATGAACCATGTGAAAGAGAGAATCATTACATCTGTAAACAACAGCTCATTTAAGT	4860
GCCCTTGGGTGAGAGAGGTG	4881

#### 7.9.4 Mimu-NKG2D

Das zum ersten proteinkodierenden Exon des humanen NKG2D-Gens homologe Exon, welches im Mausmaki nicht transkribiert wird, ist grau hinterlegt und das darin enthaltene Startkodon ist blau markiert.

<b>CACAAGCATCCAGATCTTCC</b> TCTCTGATCAG	60
GTTTCTGTTATTCAAGAAATGAGGAACTATATTGCAACCTCAGGAAAGTTTCTAAAAATA	120
TTTATACCGTAAGATAATTCTGTTTCTTAAGTATTGGAATAGAATTACCAAGGGCAGGGA	180
AAGCTTATCTTTCTAAGGTGCATATATTCTTTATCATTGTGTGTGATGATAGGTAATCAG	240
GACATACTTAGTGAAGAATCAGAAGTTATGATGTTCTGTGAAGAAGAAGCCTTGTCTCTA	300
AGCAAACCAAGAGGAATGAATCTTTACATGTTGGGTTAGAAGTGTGGGATTCAATTTGA	360
ATTCCAAACCTTAAGAGTTTTCTGATCTTGTGGAAGGCATTTACCTTTGATACACACATT	420
ACATGCAAGATGAAACAAGTTATATTCATGCCTTTCAACTATCATGATCAAATATGAAAT	480
AACTTTTTATTTTTAAAATCTAAGCACTATGCATTTTATTAAGTAGCCAATTTTTTCTGG	540
GAGCTGTGCTAGACACTGTAAGATGCTACTATATAAACATATGTGAGATTATTTTTGCTA	600
ATGATGATGGTGTGATGGTGATAATTTGTTGCTGTTGTTGCTGATGCTGATGATGCCATGGA	660
CAGAAGTTGAATGAGAATGTATTAGAAAAAACAGTCAACAAAAATTCATATGTCTGATC	720
TGAGTTTAGCTTGCAAAGAAATAAATATCACCATATTAATAAACTACTGTAAATACTT	780
GATTTTAGCCAATGGCTAATAAGTGACAAAATAAATAAACTATGTGTGCTGTTA	840
TTCAATATCAGTAATGTGAAATGTTTTTATTATCTTAATATAGATGAATTTAAATAACCA	900

TTATATTGTTATGACATTTAAAATAATTAGCCATTATTTTACAACCAAGATAAAATCTATA 960  
AAATTAATTTTACCTGGCTTTATGTGACTTTTCATTTCCATTCTTTCTTTTTTTTTTTTCC 1020  
TAAGACATGAATTGGAGGAAATTTTCTGTATTTTCAGTTTTCCATTACAAATATTTTATC 1080  
TCAATGTAAGGGAAGAAAATAGAAAAAATACATATCCAGTTTTACTTTATTCTGGATTCC 1140  
TTTGTGAATTGAAGACTTTAGATTTCATCTGTCTGGTGGATGTGTAGTCACAATTATATAA 1200  
TGGGGTTAATTCATGGTCCGGAGGGCTCATCACAGTTTGGGTATGTATTTGCCACACAAAT 1260  
GTGTAGTTTTGCTTCTGTATAATTTGAAGATACTGGGAACCTTTATGCAAACATACAAGGC 1320  
ATAGGACAGCAATTTACTCTAATTCATCTTATGTTCACTTTATGTTTATTTTCATGTTATG 1380  
TTAATGTTATTTTTAAATCAAGTCTTCAAAACTTGAATCATTTTTTCACTTTATTTTCATT 1440  
AACTACTTGTGGTAAAGACACACAATTTGAGCCAGCTTGGCATTAGGATATGGAGTCAGA 1500  
ACTGAATTTTTTTCAAACCTCTTACCCTCTCTAGCTTAGAAATGGGGTTTATTCACAACC 1560  
TCTATGCACTTTAGTTTCTTTTTCTACCAAATAGAGATCAATAATATAACCATGTTTACCT 1620  
TCGCAGATTTTATTATTATTCAGATCAATTGATATGTATTTGAAAAGTGCCCTTTATCCTAA 1680  
AAGTGTTACAAATTGCTCAAAGTTAGTAACACATTATATAAGCAGTATGATTTTGGCCAT 1740  
CTGTAAGATTGAATTTCTTCTCTCATAAAAATGATACATACACTTAACTTCATATGTTTAA 1800  
AAAATCAAATTATATATTATGTATACAATGTTTAAATTTTTAGGTATAATCAGTATTATCA 1860  
TTATGTTATAAAAATGTTTTAAGTATTTAGTAAATTTTTAAATGTCAAGAAGAGAGTAA 1920  
AATGATTCTTGTGTTTTGTTTCAGAAGCAAGATCCTTCATTTATCTTTATCCTAAAACCTTCA 1980  
ATTCTACTATTTTAGCTTACATATGTCCTTCACTATAAAGAAAATTAATGCCTAACAT 2040  
TTACTAAATGTATACTGTGTGATTGGTGTATTGACACTAAGTTCATCATATTTTTTTTCC 2100  
ACTTTTTAAATATCTGTACCAGATTATGTTGATGCCTTTTCTTTCTTTCTTTTGGG 2160  
AGTTGGAGCCTGGGGTGCAAAAGTTAAATTTGTGTGTGAAGTTATCAAGTTAGTAAATGTG 2220  
GATCCGTGATTTAAATACATGGCTATCTCCCTACTCCTGTCTTTTTCACTGTAACAAGTG 2280  
TCTTTATTCTAATGCTGAATTTTATTATACATTATGAATTAACCTCATCTAATAGCACATA 2340  
GGATTTTGCTAAAAATACTGTGCCATGGAATAAATATAATTTTATTATACAGCAAAATA 2400  
AAACCATCCCAATGAAATAATATAAAAACAAAAGTAAATTCATGTTATAACATTTAAA 2460  
GAATATTCTGGAAGTATATGCATGGAATGGCAAGTTGAATTTTAAAAAATTTGAAGCTC 2520  
CAAATGGCTGACAGGCCATGACTCATATCAGCCTGAATTGTTTTTCTCCAGAGATGAATG 2580  
AATTCATAATTATAACTGGAAACTGGCAAAGCGTGATACTTCTACACAATGGAAAAAGC 2640  
AAAGATCTACACTAATCACAAAGCAGATGTACAGAAAACGTGAAGTCTATATTCTTTTGG 2700  
TCTTCTCAGTATACTGAAGTGAATCTTGGACACTGTGTGATTAAATCTATGGCAATCATT 2760  
CAGTTAATTTTACCTTCATGAGGAAAGCAGAAATGACATCAACTCCAATATAATTTTGGGA 2820  
ATATATGACAAAATTATGGTGCTAGAAACTATTGAGTTTAGGATCTTTTGGGGACCTGAA 2880  
AAAAATGATGAGATTACTTATCGTGATAATGACAATTGAGATTAAGGGATCACTAAGAAA 2940  
CTAGCTTTAAGGAATACTAAATAGAAGTGAAAAACAGGAGAGAAAAGAAATTTTAAAAAA 3000  
ATACTCTATTGTTAAGTTCTTTAACAATATAGAAGTATGACTTATTATTTACAGAAATG 3060  
TTTCTGAGCATAATAAAGAAGTTATGCTTTTTCAATGTCTTTGTTAAGCTAGAACATTATT 3120  
GATAAGAGAACTTCAAATAGCTTACACAAAAAGGAAAAACAACAGACCACCTCACCTATA 3180  
CATTTTGATTATCGACTAAGAAATGAATTATTAACAAATATCATCACTTCACAAGAGTTA 3240  
ATTTAAGGAATTCAAATGTGCCCTATGCAAAATTCCTCTTTGGACTGAAATTTTTCAGACA 3300  
TTACAAAAATTTAAAAACACATGTGTCCTTGACTCAGCAATTAAGTGTGATAGGAATTTCTC 3360  
CTTGAGAAGGACTGAAAAATATGCACAGGGTATATGAAATGTAGCATTATTTCTAATAGC 3420  
GAAACTAAGAACTGTTTAAAGTGTCCATTTGAAAAAAGTCTGTCAATAATTA 3480  
GATGTCAATAATGTCCAGATGTCAATAAAGTACAATGCAGCTGTTTATAAAAAATTTGGCA 3540  
TCATTATAAGCCCCTATATGGAATAACCATCAGAATAACCTCTTAAGTAAAAAAAATAA 3600  
TAATGAACAGATTATTTTATATAGCTTCTTAAATATGTGCTTTAAAAACATGGTTGAAGG 3660  
GAGCAGTCTTTTATTTTTTATTTTACAGTAGAGATGTAATAGTTACCCATATGTATGGGAT 3720  
ACAGAGTGATATTTACACACAAGTGTACAGTGTGTAATGATCAAATCAGAGTAATCACCT 3780  
CAAACCTTTTATCATTTGTTTGTGTTGGGAACATTCAAACCTTTTTTCTTCTAGCCGTTTGA 3840  
AGATATGCAATAAATTTGTTGTTGACTATAGTCTCCCTACAGTGCTATAGAACACTGGAAA 3900  
TGATTACTCCCCTCTAGCTGTAATTTTTTATCTATTAGCCAATCTCTCCAGATCCTCCCT 3960  
GATCTTCATTTCCAGCCTCTAGTAATCACAATTCTACTCACTACGTCTGTGAGCTAAAT 4020  
TTTTTTAGTTTACATATATTAGTGAGAACATGAGGTATTTATCTTTCTGTGCCTGACTTG 4080  
TTTCACTTAACATAATGTCCTACAGACTCATCCATGTTTGAAGAAATGATAGGATTTTCAT 4140  
TATTTTGTATGGCTGAATAGTATTCCATTGTGTATATATACCACATTTTCTTTATCCATT 4200  
CACTATTGATGGGCCCTTAGGTTGATTCCATATCTTGGCTATTGTGAATAGTGTACAGAT 4260  
AAACATGGGATGCAGATATCTTCAATATACTAATTTTCTTTTCTTACATAAAATACTC 4320  
AGTAGTGGGATTGCTGGATCACATGGTAACTCTATTTTTTAGTATTATTGAGAAATTCATT 4380

---

GTGTTTTCCATAAATTATTGCCCTAATTTACATCCCTTCAACAATGTACCAACATTCTGCT	4440
GTCACCGCATCCTCAGTAGCATTCTTTTTGTTGTTGTTGTTCCCTGTCTTTTTGATAATAG	4500
CCATTCTAACTGGGGAGAGATGGTATCTCCTTGTGATTTTGATTTTTGTTGAGCATT	4560
TCATGTACTTTTTAGCTAATTGTATGTCTGTTTTGAGAAATATCTATTCTGATCCTCTG	4620
CCCCTTTTAATCATATATATATATATATATATATATATATATTTTTATTTTTATTTTTGCTGTTG	4680
AGTTCTTTGTATATTCTGGATATTAATCCCTTGTGCATATGAATAGTTTGCAAACATTTTC	4740
TCCCATTCTACAGGTTGTCACTTCACTCCGTC AATTGTTTCCTTTTTCAGTGCAGACACTT	4800
TTCAAGTTTGACAGAACCCCATTTGTCTATTTTTCCCTTCTGTTGCCTATGATTTTCAAGTC	4860
TTACCCATAAAAATTTTTGCCTAGACATATGTCCCTGCCTGTTTCCCCTATGATTTCTTCT	4920
AGTAGTTATATACTCAGGTCTTATAGTTAAGTCTTAAATCCATTTTGAGTTTACTTTT	4980
GCATATGATGAGAGATAGAGGTCTAGATTCATTCTCTGTATATGCATCCTTCTGCAAAT	5040
GGTGTCTTTTTCCAGCACCATTTATTGTAGAGGCTGCCCTTTTCCCTAATGTATGTTCTT	5100
GGTGTCTTTTTGTTGAAAATGAGTTGGCTGTAAATACATGGATTTATTTCTGGGATCTCTAT	5160
TCTGTTCTATTGGTCTGTTTATAGCAGTACCATGCTATTTTTGGTAGTTCACGCCTGCAAT	5220
CCTAGCACTTTGGGAGGCTGAGGCATGAGAATTGCTTGAGACCAGTAGTTCAGACCAGC	5280
CTGAGCAAGAGTGAGTCCCCATCTCTACAAAAAAAAAAAAAAAAAATAGAAAAATTAGCTT	5340
AGTGTGGTGGCTCACACCTGTAGTCCCACACCTAGGGAGGCTGAGGCAGGAGGATCCCTC	5400
CAAGTCCAGGAGTTTGAGGTTACAGTGAGCTATGATGACGGCACTGCACTCTAGTGCAGG	5460
TGACAGAGAGAGACCCTGTCTCAAGAAAAAAAAATTGAGGATTGTTTTTTCAATTTTTGTG	5520
AAGAATGTTATTGGAATTTTGATACAGATTGCATTGAATCTGTAGATTGCTTTGGGCAAT	5580
ATGGTTATTTTTAAACAATTATTCTTCTATTTTCATGAACATGAATGAGATGAATTTCCATTT	5640
TTTTGTGTTCTCTTCAACTTCATTCATCAATGTTTTATAGTTTGCATTGTAGAGATTTTT	5700
CACTTCTGTGGTTAAATTTATTCTGGGTATTTTAGTTTTGTAGATATTATAAATATAAC	5760
TGTTTTCTTGAGTTCTTTTTTTCAGCTGCCTTGTATATGGGAATGCTACTGATTTTTATATG	5820
TCGATCTTGTGTCCTGCAACTTTATTGAATTTGACACTTCTAAGGGTCTTTTCCCAGAGT	5880
CTTTAGGTTTCTCGAGATATAAGATCATATCATCAGCAAAGAGGAACAATTTGAGTTCCC	5940
TTTTCAATGGGATGCCCTTTATTTCTTCTCTTGAATGCTGATTGCTCTGGCTAGGACTCCAG	6000
TGCTATGTTGAATAAGAGTGGTAAAAATGGTCAACTCTTGTCTTGTCCAGTTCTTAGAGG	6060
AAAATTTTTACCTTTTACCTGTTTACAGGATAATGCTAGCTCTGGGCTAATCATAACATGGCC	6120
TTTTGTTGTTTTTAGGTACATTTTCTTCTACACCTAATTTGTTGAGTTTTTATTATAAAAA	6180
GATGTTTTAACTTTATCAAATATTTTTATAGGCATCTATTGAGAAGTTCATATTGTTTTTAT	6240
GCTTGATTGCATTGATGTGATATATCACATTTATTGATTTGCATTTCTCAAACCTATCCCT	6300
ACCTGCCTGGTATGAATCTCATTTGATTATGAGGTATTATATTTTTTTTTATTTGCTGTTT	6360
ATTTCAGTTTCTAGTATTTTGTGGAAGATTTTGTGTTTATGTTTCATCAGGGATGTTGAA	6420
ATAAGAAAAATATTCTTATTTTTTTTCTCCTTGCCTGATTTTGGTATTATGGTAACGCTGG	6480
CCTCATACAATGAGTGAGCAAGTATTTCTCCACTTTGTTTATTTTTTTTTTACTAGTTT	6540
GCATAGAACTAGTATTAGTTCTTCTCCTCACAAATTGTTGCAGTAATTAATATTTTGATA	6600
GATTTATCTTTTAGTCTTACTACTAAAGATATAAGTAGTTTACACACCACAATTATAGTA	6660
TTAGACTATTCTGAATTTGTCTGTGCATACTTTAACAGTGGGTTTTATGCCTTTAAATG	6720
TTTTCTTATTGCATGTTAGTGTCTTCTCTTGTACCTGAAGAATCCCCTTTAATGTATC	6780
TTGTAAGACAGATCCGTTGGTGATGAACTCTATCAGCTTTTGTCTTGGAAAGTCTTTTTT	6840
TTTGCATCATGCTGAAGGATAGTTTTGCTGGGTATAATATTTTCAAGTTTGTGTTGTTGT	6900
TTTTTCATTTAGCACTTTGGATGTACCATCCCCTCCCTCTACTCTGTAAGGTTTCTAAG	6960
ATGTCTGCTAATAGATGTTTCAAAGTTCCTTTATATATATTACTTCTTTTTCTCCTGCT	7020
TCTTTTAGAGTCATCTCTTTGTCTTGCCTTGCCTTTGAGAATTTGAATATTATATGATATAGA	7080
ATAGTCTTATTTGGGTCAAATCTGCTTGGTAATCTTTAACTTTACTGTATTTGGCATAACA	7140
CTCTCCCAGACCAGCACCACACTGGGACTTGCCCACTCACCATGGTTGTTATGTCCAGTG	7200
GCCACTGAAATTTACTTGGGGTCTTAGGCTATTTTACTCAGCCAGTGGGGAAGTGGGCTA	7260
GGACTCCCCTCAGGTACCTTTGGACTGGCCAGTAGATTCTTCTCTGGCCCAAGGATGGT	7320
CTAAATGTTCCCTCTATGGGCACCAATCTGAAATCAAGGGCTGTAAGGACACCGTCTTGT	7380
GCTGTGTTCCAATGTGGTAGGAACAGCACTAAGTTACAATGCAAGGTCCAATGCTAACTT	7440
TCATTTCTTTCCCTTTAGCAAGCAGTTTTTTTTCTATGCACTGTACTGCCTGAGGTTGGG	7500
GGAGAGATGGTTTAGGCAATGTGAGACTTACCTTTTTAACTCTTTAATGTGTTTTTTTTT	7560
ACCTTGTCAATTATGCTAAAATCAGGTACTGTGATAGTTTACCTAATATCTTTAGCTCTTT	7620
TGAATGTGCTTTCTTGCACGGGTAGTTATTCAATCTGATATTTCTGTGAGAGGACAATTG	7680
TTGAAGGGTTCTAATTGGCCATCTTGTCTCTTGTCTTTTTCTTAATTTACTGGTGG	7740
TTTTGTACACGCTTTGTGTCTTTCTCCTCTTATTGTTTATCTTTGTGATTTGATAGTT	7800
TTCTGTAGTGAAAATGTTTGATTCTTTCTGTTTCTCATTGTGTGTCTGCTCTACCAGT	7860

GATTTATACTTTTCTGTGTTTACATGATGGTAGATATTGACCTTTTGCTTCCAGATACAG 7920  
 GAATCCTTTAAGCATTTCCTTGTAAAGGTCAATCTAACAGAGATCAATTTTCTAAATTTTCA 7980  
 CTTTTCTAGGAAAGAATTTATTTCTCCTTCAATACTAATGACTAGCTTTACTAGGTCTAG 8040  
 TATTTTTGGTTTTAGAGAAATTTCTTCCAACACTTGGAAATATATTATTCCATTCTCTCCTGG 8100  
 CCTGCTGCTGGACAAAAGTGGTATTGCTGGTGGTAGTGGCAGTGGAGCACCAGGAAGTGGC 8160  
 TTTTCAGGCTCTGAGGAGGATGTGAATTGGCTCCCTCCATTCTGGGGGCAGCACCCTGCT 8220  
 GGAAAGGATCACCTGTTCTCTGGGATTAAGGCTCTGGGTGGATTTGATGCCAGGGTCATG 8280  
 GCTACATCATTGAGTTCCACTATGTCACATGCTGCAGACCTCATGGTGGACATGATGAG 8340  
 ATGACACCTGGGCCACAAGGATGCAGGAGCTATTGGCCCTCAGGGATGTGAAGATGTATG 8400  
 AGCTATTGGGCCCTAGGAAAAGTTGTACTTTTGTGGTGATTACACTCTCAAATGTTACA 8460  
 GTGCTTCGCTAGTCTGGATCTCGAGGAAGGAGGAGGATCAAGAGTAAATTTCCACTCTGG 8520  
 AATAATGCAGTTGCATGGACTCCACAACACTCTCTATACTGGACTCAGGGCCTGTGAGGG 8580  
 CTGTGGGGCTCTCTTGTAGCCAGGACTGCAGGTGTTTATGATACAGATGTGGGCTGTAAG 8640  
 GGATCTCCTGCTTACCATATTTCCACAGCGGGCAGTCTCTCTTGGCTCCAAGCTGATCCA 8700  
 TGTCAGCTACTTCACTTCCCTTGCTATGCTGCCACCCTAGTTTCTGTGCCTCAGAGAGT 8760  
 CTTTGTGTTTTCTATGCTGAATTCAGTGTCTCCCTTAGACACTCCACTCAATATGTAG 8820  
 TTATATATTGTTGTGTTGGTCCTTCTTTGTGGAGGTGAGTACTAGGTGCCTCTAGTCAGC 8880  
 CTTTTTATGGTGTCTATTTTTTCTCTTTCTACATTTATTATTGTATCTGCATAGAAAAT 8940  
 GATAAATGATAAGCAGAACTTATTCTGGGGGGTTATTGGTGAACCTGTAAGGAAGCATAG 9000  
 GAGGGAATATTACATTTTTGTATTTTTATTTTTTAGTTATTTACAGTGTACTTATGTTAC 9060  
 CTGTTCTGGGGAAAAAATAAAGCAGAAAAAGGACTGATACTACCCCTCATAAAAAAT 9120  
 AATGTTTATACTAAATACAAAGATGCCTAAACCATTTATGATTCTTTTTTCTGATATTACA 9180  
 CTTTCTCTTTTTTCTTTGACAGCATCTCCATTTTTTCTCTGCCGTTCCATTGCTATAGC 9240  
 TATGGGAATCCATTTCAATTATTATGGTAACAATACTGAGTGCCATATTCATAAAATGTGA 9300  
 GTGGTAACAGAAGTAAATTCAGCATTGTTGATATAAGAATTCTAATGTATTACTTTGAT 9360  
 TAGTATTCATAAACACAGAAACATAAACTAGTAATACTGTGTCCTTATCATATTTTTGTT 9420  
 GTCACTCTAGAAAATTTGCAAACCATATTTGCTTAGACTGTAAGTTGTTGTCAACACAAAT 9480  
 CTTTTTAATAAATTATGATTATTTAATAGAAAAAAGATTACTCTTTTTTCTATTTTTGCT 9540  
 GTTACTCTAGAAAATTTGTAACATATTTTGTCTTAGACTGTAAGTTGCTATCAACACAAAT 9600  
 CTTTTTAATAAATTATGATTATTTAATAGCACTATTCAACCAAGGAGTTCCAATATCCTT 9660  
 GGAAGGTAAGTGAATTTTTTAAATATTTTAAAGCATAAATTTATGTATACACACACATACA 9720  
 CACACATGCAAACCAGGATATAATATCTCTATATAAGTATTATATATATAGTGTGTATAT 9780  
 ATATATAGTGTATATATATATATATATATATATATATATATCTTATAAAGTATAATATCTAT 9840  
 CCCATGGTGTTTTTAAAGTATAAAAGAAATTTAAATGTAGCCATAACTCACTGTAGC 9900  
 TTTTACTTTTTCTTTAATAATGAGAGAGTATTTGTAAAAAGTAGAAAATCTTTAGGTTTG 9960  
 GCGTCTCTTTTTCTATGAATGTATGAAGATATGTCTTTGGGTATGACCATGTCTTAGTGA 10020  
 TCTGAAATTTTCAGAGTTCCCATGACAAAAGCTTTTAATTTGTCTAGACAAAATCTGCTGT 10080  
 AATATTTAGACATGTGAAGAATTCATAATATATTTTTCCCCTTTTAGGAAGTTACTGTGGC 10140  
 CCATGTCTTAAAACTGGTTATGCTATAGAAAATAACTGCTACCAATTTTTTAATGAGAGC 10200  
 AAAAACTGGTATGAGAGCCAAGCTTCTTGCATGTCTCAAAATTTCCAGCCTTCTGAAGATA 10260  
 TACAGCAGAGTGGACCAGGTTGAGTATTTGTTTTAATTCTATATTCTATATTTTTGTTCTA 10320  
 ACATATGAGGCAGCTCACCGGAGTATGAACATGGAACATAAGAGAAGTACTAAAACCTTAG 10380  
 ATATTCTAATACTCACCTCAAATCTTCCCTCATTAAAAATAAATAAGGACAGAATTTTCA 10440  
 ATAGTATCTATGTTTTGCTTAGGTGGGAATTATGCTAGTTAGGGAAGAAAATTCATTTTT 10500  
 TTCCAAGCGTAGGAAAAATTATTAATGGTTATAGCCTTGTATTTTACTAAAATTTGTGAT 10560  
 CAGTGGTTTTCAATGGTAGTGTATTTCTTATTCAAACAGGATTTCCCTTAAATTTGGTGAAGT 10620  
 CATATCATTGGATGGGACTAGTACAAATGTCAACAAATGGATCCTGGCAATGGGACGATG 10680  
 GTACCATTCTGTACCTAACCAATAAGTCTCTGGCCAAATAGGTCTCTGGTTTTTTGTATT 10740  
 TTTTCCCTATGATCACTCTGATCTCTCATTTCACACCATCCCAGGACATTACCACATTCT 10800  
 AAAAGATTTAGCAAAAAGTGTCTTAGGCCTCAAATTTAAGAGGGTATTGTGTTGGTTGCAG 10860  
 AGCATCCAGGACAAATAAATACTAGTTACACAATTTGAAAACATATATGCTAAATCCTGGG 10920  
 CAAGATACATCTACTATTATGTCCATTTTACAGATAAGGAGACTGAAGCAGAGAGGTTAA 10980  
 GTATCACATGCACTCTTTTTGAATTTATTACCAGATTTGTTGAGCTATAACTGATATATA 11040  
 ATAACTGCACATATACAAAGTATAAAATTTTATAAATTTTACAAAATACATACACTCAT 11100  
 GAAATCATTAAATAACATCAAATAAATTAACATATTAATTACCTAGAAAATTTTTTGTCTG 11160  
 TACTTTTTGTGATCCCTTCCCATGCCTCTCTCTAGTTACCTCTTTCTGTTCCCAGGCGAC 11220  
 TAATCTGTTTTCTGTCACTTTAGATTAATTTGCAATTTCTTAGAATTTAATATAAATGGAG 11280  
 TCTTATGGTATGTATCATTTTTAATGTGTCCTTTTTTCACTTAGCAAAAATTTTTTGTGAGA 11340

TTCAGCTATCTCATTGCATCAATGAGCAGTTAAATTATTTTTATTACTGAGAGGTTACTCC	11400
ATTATGGATGTAGCACAATTTATTTATCCTTTTCATTTGTTGTTGTATATTTAGGTAGTTC	11460
CCAGTTGTTACAAATAAAGGTACTTGTAGAAAAGTTTAAAGCTGTTAAAAAAAATAAAAAAT	11520
AAAAAATAACTCTTGTTCCTGTGAATATCTGTCTACAAGTCTTTGTATGAACAGAGATCT	11580
TCCTTTCACTTTTCATGAGTATCTAGAAGCAGAATGGCTAAACCATATGATAGGTATATGT	11640
TTAACATTTTAAAAAGTGCCAAACTGTTACCTAAAGTGGTTGTGAAATTTTACAAATTTT	11700
ACATTTTCCTCTAGCAGTATGCAAAAGAAAAATCTAAGGGGCAGTTTCCCCACATCCCAGC	11760
CAACACTTGTTTTTGATTACCCTCTTAAATTTTAGAGATACCAATAGTTGTGTATTGGTAT	11820
ATCACTATGGCTTAAACTTGCATTTCTTTAGTGACTAATGATGTTGAGTATGACTTTTTG	11880
TGCTTATTTGCCATTCGTTTAAAATTTTTCTATTTTGGTGGAGTGTGGTGGCTCACGCCT	11940
GTAATCCTAGCACTCTGGGAGGAAGGGGTGGGTGGACCGTTTGAGCTCAAGAGTTTGAGA	12000
CCAGCCTGAGCAAGAGCAAAAACCCCATCTCTACTAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAG	12060
ATAGAAAAGAAATTAGCTGGACAACATAAACTATATAAAAAAATTTAGCCTGGCATGGTGG	12120
CTCATGCCTGTAGTCCCAGCTACTCCGGAGGCTGAGGGAGCAGGATCACTTTGAACCCAG	12180
GAGTTTGAGGTTGCCGTAAGCTAGGCTGACACCATGGCACTCTAGCCCACACAACAGCGC	12240
AAGACTCTGTCTCAAAAAATATATATATATGCATATATATATATATGTATATATATGCAT	12300
AAATATATATGTATGTATATATATATATACATATATATATAAAAATTTTTCTATTTCACTA	12360
GTTTCTGCTTTGATCCTTATTATTTACTATTTTTACTATTTTTCTTACTCTGGGTAAATT	12420
TTCTTTCCCTAGTTTCTTATGGTGAAGCTGAGATACTGATTTGAAACCTTTCTTCTTTT	12480
CTAATAAATGTTTTTATATTATTAATATATAAGATTATTTGACAACATCCTCACATATTT	12540
AAAAATACTTTTGTCAATTTCCATTAAGTTAAAAATAGTTTATATTTTCTTTTGCATTCT	12600
TCTATAAATTCATTGATCATTTACAAGTGTATTATTTAGTTTCCAACATTTGTGAATTTTC	12660
AATAAACTTTCTTGTATTATTTCTAATTTAGGTCCACTTTGATTAGAGAATATATGTT	12720
ATATAGTCATGCCTTAAATTTATTGAAATTTGGTTTTATGGACTAGATGATACTCTATAGT	12780
CTATCTTTGGAAATGTTTTATGTGCATTTGAAGAAAATGTCTATTCTGATATTTAAGCTT	12840
TTATTTAACTCAAGTACTTATATGAAGAGAGATTTTAGACTTCCAAATTGATTAATTTCC	12900
AATGTATGGAAGAAAACAATGGCACATTATTTGAAGAGAATGTAATTTTTACTTTTTATT	12960
AACTGTAATGGCTATATTTGCATCTCTGTGAAC TAGAAGGGCCAGACATGGTCCTAAA	13020
ATCTCCTGAAATGGTATTAAGTTTTATATCTGAAGTCCAATAAATATTTCAATTTTTATAT	13080
TACTGCATAAAAAATAAAAAAGTCATAAATATAAATTTGTAATTTTCTCTCATCTAGACTAA	13140
CAGTGATTGAAATGCAGAGGGGAAGCTGTGTGGTCTATGGCTCAAGCTTTAAAGGCTATA	13200
CAGAAAACCTGTTCCACTCCATACATGTACATTTGTATGCGGAGAATTATGTAACTACTTA	13260
ATCAACCATCTCAACAAAAGCCA	13283

7.9.5 Mimu-NKG2-1

TCCCTGACATCACACAGCTGTAGAGATG	60
GATAACCAAAGAGTAATCTACTCTGAAATGAA	120
TCTGGCCAAAAACCCAAAGAGGCAGCAAAGGAAATCTAAGGACACTAAAAGCTCCATTTCC	180
AAAAACTGAACAGGAAATAACCTATGCAGAATTAACCTTCAAAATGCTGCTCAGGATCT	240
TCAAGGCGATGACAGATCTTACCCTGCAAAGG	300
GTAAGCACGTAACAGCTCCTCAATACA	360
ACTGTTCTAGGATGTGCAGTTGGGGTGCAGGTGTTGGGAGCTGATTCTGGTGTATGCCT	420
TATACTAATCATTCACTATAGCCTGTAATGCACGTGTGCTGCATGATGCAGTGGTAGCCA	480
GCATTTTCTTCTAGTCAGCATTTTCTTAAGACACAGTTACTGCCTTGGGACATAACAAGA	540
GGCCTGAGTTTCTGCACATAAGCAAATATTGCCAGCTCCGACATGGAGGGCCCCCGTGG	600
TGGGAGTCTGGAAGCCATAAAGATAAGAAGAACATTTCCAAGGCCCGCCCCGTATGATG	660
GTTGGTTGTTAATGACGGGTAAGACTCCCCATGGGAGGGGGGCGACCTAAGACAGGCACA	720
ACCGTGGGGGTGCTGCTGGCTGGGAGAGAGTCACTGGCTGGGAAAGAGCATGAGAAGTT	780
CTTCTAATGGCTGCATTGTTTATTGCTTATCTTGGTCTTGGTTTTTGGATTATGTCT	840
GAGTCTGGCGCCTCAAGTAACTGTTTTGAGTCTGAGACCATGAGAAAATTGTTCCCTTTT	900
GAAACAACCTCCAGAATTGACTGATATGCTCAGTATGCTCATGCACAAGGAACCTAACCTTGG	960
GTCTGGGGGGTATAAAAAATAAAGCAACCGGTGTATTAGTCACTCGAGTCATTGTCATGTC	1020
CATGTGCGTCTATGTTGTTATTTTCATGTTCTGTGTTTCTTCCCCATCCTATAAATTGGGCC	1080
ACATCAACAGGGGTGTAGGGAAAAGGCAGGGTGTGCTCACAAAATTTTTATTTCATGGAAAT	1140
AAGAGTTCTAAGTTGACATATGGTATTTTTCATATGAAATATGCAGACAGATTTTACTCAC	1200
ACATTGTAGAAATGTGTAGCCTTTCTGCAACAACCTCATGGAGCACTACATTTACTGAAAA	1260
TGCAATGGTATATTTCTGAGAGAAAGATTACTATGGTAAATGTGGGTTTGGGATCCAACCTT	
TATCTTTGATTCTCTGTGTATGTAGGGTCTCTTGTATCAAAAATATTCTAACCAACCATCT	

CTGTCTCTCCTTTCTCAGTGTCTTCTGTTTCTCTCCTTGCAGATTTACTGTTACCTCCAGA 1320  
GAAGCTCATTGCTGGGATCCTGGGAATCATCTGTCTTATCTTAATGCCTATGGTAATAAA 1380  
ACTTGTCAATCCCTGTAAGTATGTTTCAGAAGAATTAAGGAAACTTTAACATTTAATGA 1440  
TTGGAAGTGCTTCTAAACTTTTCATGATATCAAGGAACAGAATTCAAATTTTAAACATATGT 1500  
TTAGACTGAGAAATGGTTATTCTTAATTTTTTCAAAAAGTATAAAATGAAAGAATAATTATAC 1560  
AGAGTCTTTGATTTTAAATTAAGGTATATATTCAAATTTTCATAACTTAAAGACAAGTTTT 1620  
AGGAGATTGAAAAGCTCATGGAGAAATAGAAATTAATTTTTTGGAAAGTGGTTAAATCAGA 1680  
TACTTACAATATATTAATATAAGGTAGACTGAGATGGTGAAGTTTTGTTTTGTAGGCTTT 1740  
GGAAGCTTTTTTCCCCAAAATTTTCACTACTTTATTTTTTCTTGCTGAAATCAATTTTAC 1800  
TCCAGATAATATAATTTCTAAGTGATACACCAAATTTCAAACAAAATTTAAAATTTATGT 1860  
GACTTATTTATATTAATTTTTTAATACAGATTACTTTAATTTTTTCCAACATATAGCAAGA 1920  
CTGATGCAGAATAAATCTCTCCAGAATATGAGAAGTCAAGAAAGGTATTGATTTTTTTTTTA 1980  
TCTTGCCTCAATCTTATGCTGTGCAAATTTGATAATACATATCTTTTGGGGAAAATAAATT 2040  
AAAAATTTGGGCTATAAACTTTTATAAAACAAAGATTATAAGAAGGCATTCTTTTTTCTTC 2100  
AAAAATAAGTAGAAATATTGACTTAAAATCACTATACATCTTTTTGCTTTTGGACTTGAAT 2160  
AACTAGTAATATCTTATAACAGTTAAATAATTTTGGCTATTCCAGAAAGGTGGTATTGTTT 2220  
ACCACTTTTTTTCAGACATGTACAGGGTGGATTAGTGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGG 2280  
TATAATTAGGGGAGGAGAGGCTGACCCTTTTTCTGTGCATATGTGTGTGAGTGAGTGTTT 2340  
TTTTTTTTTATATTTATCAGCCTATGAGGATTAAGACATGTTTATATATTTTTTATATCT 2400  
TTGAAAATATGTAAATTAATTTTTAATTGTGAAAATTCATATTTTTTACAGATAGTGATTC 2460  
TTCAGCATATCACTGTGCTCATTGTCCAGAGGAGTGGTTCACATATTCACCAATTTGTTA 2520  
TTACATTTGGTAAGGAACTCAAACTTTGGGATGAGAGTGTGACGGCCTGTGCTTCTAACAA 2580  
CTCTAATCTGTTTTATACAGAGAATGAAGAAGAGATGTAAGTGTTTTTAAACCCCTTTATT 2640  
AGAAGTTTATTATAGTCAATATTACATTTGTAGAATTAATCCTATTCTTTTATGTATTTT 2700  
CTTTTAAAGTATTTCCATGTCTGTATATTATTCTGTTGTGTGACTTCACAATAGTTTTCTA 2760  
TTTAAACACTGCTAATGCATATCCAATTATTGCCAATTCTTGCTGTTTATGAGATAAAG 2820  
CCTTACATAAATGCTTTTTTACACTAAATTAATTTTGTCTATTTAATTATAGTAGATAAAG 2880  
CACCATGATGTTACAGATTTATCAGGAAGTGCACGGACTCTTGTAGTACAAGTCAAGTAC 2940  
AAAATAGGAGTTTCCAGCCCCAGCAGCCCTGCCCTGTGCATGTCCTTATCACTCCTCCT 3000  
TTCTACTCCTCAAAACACTGTCTTACTTTTTAATATTATGAATAAAAATTTACCAGTTTTT 3060  
GAATTTTTTATAAATGGAATTATATAGTATGCACTTTTTATGCCTGTCTCATTGCACTCCTG 3120  
TGTGATACTTGTGCAATTCATCCATATTAATGCAGTGAGCAGTAGTTTATTAGCATTCTC 3180  
TACTGCATTGTGTACATATGACATATTAATAATCCTTTCTGTCTGGTGTCTCTGGATGGGG 3240  
GACGTGAATCTCATGCCCTAAGGGACGCAGAGGCTTCCCTGGATGGAGCACTTGTAGTCAT 3300  
GGGATGCCTTTCTGATCCCCCTCAGCCACACCTACCCTGGTGTGTCTTGGTGGGGACAG 3360  
AAGCACTTCCCTCTGGCTACTTACTGTTAGCAGGTCTCCTGATAGAGCCCCCTTGCCAGTG 3420  
GTGCCAGCCTTGTCTGGAGTTGCTGGCAGGACTCCCTCTTAGTACAGAGGGGGAATGAGCT 3480  
CATTTGAGGCACCTCTCAATGCCAGGTTTGTATGCTGGGAACAGCAGGAATAGGTCATTTT 3540  
CTTCTGTTGGGTGGGGACTTAAGATGCCAGACACTGTGTTGATCCCTGATCCTGGGGTC 3600  
CCAATCCACTCCACCTTTCCCTTTCATCCTTTTCAAGTCTCCTTTGCTTGTGTCTTTTCATG 3660  
AGGTCCAGAGGATATAGTTGTATTCACTGTAGAGTAGCACTTGTTTTTGGACCATTGGTGT 3720  
TCCACTAACACAGAAACAGAAAAAACTGGGGGCATAGCTAGTTAGAGAATGGTTTGGT 3780  
GACCAGAAAATGCATTTTTGGCTTATATGTCATTTATTTCCCTCAGTGACACCCCTTTCA 3840  
ATTCCCCTAAACCCCAAACTATTAGAAATGTAATAGAAATATAACATTGATTTAATATT 3900  
AGCAACAAGAGAAATGTTTGTACATTTCTGGAATTTATTTAAATTCATGCTATATTTG 3960  
TTTTTGCCAACATGGATACTATTAATTTACATGGGTCATAATTTTTCTCATTAAACATAAGA 4020  
ATAATAATGAACTAAAAAGTATAAATGTGTAAGAGTTCAATTTAAGAAATAATTACATA 4080  
TTTTGTGAAAATTTTTAGCAATATAAAAAAGTGGTTTTCAACTCTAATATTGCTTAAAAATAC 4140  
TAACTTTGTTTTTCAAATTTATAGACTCAATGAAAGAACATATTATTTTACACTTGTAAAAA 4200  
TTTTGTAACTTTTTGACAATTTATTTAAACGTAATAATTTTACATTTCCCATAGAAAATTTCT 4260  
GGGCTCCCTGTCTCTTCTGTGATGGTTTGGAGTCTCTCGTAATAGCAGTGATCATCCATG 4320  
GGTGTAAAGAGATGGCTCAACTTTCAAACCTAAAGTAAGTATTTTTGAATGGTGTGTATA 4380  
GTAGAAAAAATATAAAAAAGGAAAAATTCAGAGGAATAATATGAGTACGTTTAAAGTTGAAT 4440  
TATAAACATTTAAAAAGATGTTGGAAGTTAGTGAATGTTGCTATAAATGTTAAACAATGG 4500  
ACCACAGTACTCTCTCCTTACTTGTGGTTTTCACTTTTTTGTGGTTTTGAGGTACCTACAATC 4560  
AATCATGGCCAGAAATATTTGAAATGAAAATTTTAGAAAAAAGCACTTTATGAGCATTAA 4620  
ATTGCTCAGTGTCTGAGTAGTGTGAGCAATTTTCACTGTCCCACTCTGTCTTGCCTGG 4680  
GATGTGAATCATCTCTTTGACCAGCAGATCCCACTGTACAGGCAACCCACCCCTTTAGCC 4740

AGATCAGTTGTCCAGTATCTCAGTGTGGGGTTCAAGTGCCTCTTATTTTACTTGATGGG 4800  
 GCAAAAGCCCAAGGGTAGTGATGCTGGCACATTGTTATATTTACTCTTTTGTATCATTAG 4860  
 TTATTGTTCTTAATCCCTTCTTATGCCTAATTTATAATTTAAACGTTATCACAGGTGTGT 4920  
 ATAAATAGAACAACATAGTATGTACTAGGGTTCAGTATAATAGTGATTCCAGGCATCCA 4980  
 TTGGTGGTCTTGAAACACAACCCCTATATATACGGGGGACTACAGTGGTCAGTTTTTATA 5040  
 ATAAGCAACCCATTATTTAATTGACCATTCTCATATAATTTTCTTAAAGCTTACAGA 5100  
 AAATGCTCTTGTTCATGAATTGTCCCTATAAAACATGACAGAAGTATGGATTTTTCTCC 5160  
 ATTACAGTATAATAGAAACAGAATATGGTAACCGTAACTGTGCTGTGCTATACAAATATA 5220  
 GACTTCAATCAGATGAATGCAGATCTTCAAACTGTATATTTGTAAGCACAAAGCGTAGA 5280  
 AGAAAAGCACCTGAGTTGGGAGT 5303

7.9.6 Mimu-NKG2-2

CAGAGATGAAGAACCAGAAAGTGACCTACTCAGGAATGAACCTGGCCAAGGACCCAAAGA 60  
 GGCAGCAAAGAAAATTTAAGGGTGATAAAAGCTCCATTTTCAGTAACTGAACAGGAAATAA 120  
 CCCAAGTGGAAATTAACCTTCAAAATGCTACTTCAGGGGATCTTCAGGGGAAGGAGAAGA 180  
 CCTGCTACTACCAATGTAAGCAGTTACTCTATCCTCAATAACTATTCTGGGATATGCCAT 240  
 TTTAGTGAAGAGTTGTAAGAAAGATGAGGGAATATTTTTCATTTCGTGAGGATATGGTACT 300  
 CTAATCCGAATCTGAAGGCTAATTATATTCAGAATTGTTAAGCTTGTAGGCTTTCATCAA 360  
 CAAATCATGGGGCATAATATTTACTGAATATGCAACAGTGTATTTTGAGAGAAATATTAT 420  
 TATGTAGATGTGGGTTTAGAGACAAGAATTTATCCCTTAGATTCCCTGTACATGTGAGTT 480  
 GTCTTGATGTAAACCTTCTAATCAACTGTCTCCATCTCTCCTTTCTCAGTGTCTCTGTT 540  
 TCTCTCCCTGCAGTTTCACTGCTACCTCCAGAGAAGCTCACTGCTGAGATCCTGGCCGTC 600  
 ATTTGCACTGTCTAGTGAGCTCTGTGTTAAAAATGATATTACTAGCTCACATTCCCTGT 660  
 AAGTGTATTTTTGAACGGTTATAATAGAACCTTTTCATATTAATAATGGAAAGTGCCTCTA 720  
 AGCATTTTATAATAATAGGAAATAGGATATTAAGATTTTAATTATTTAATAAGGAGTATT 780  
 TCAATTTTTTCCAGGTACATTAACACAGAAGCCAAACATTTCTTTTCAGACTATAAGAAC 840  
 TCAGAAAGGTACATTTTATATTTTGTCTCTATCTTAGTCCGTGCAAAAACAAAATAGATT 900  
 TTGGGGGGTAAATAAATTAGAATATTGGACAATAAATGTTTGTGAATAAATATTATAAGA 960  
 GGACATTCTCTTTCTTTAACAATAAGTAGAAATACTTATTAATAATGACTATAACCTCTT 1020  
 TTTGCCATTTTACTCCAATTGTTACTACTGTCTATATGATAAGGATTATATAGCTGTGTTA 1080  
 TTCTAAAAAAATGTTTTGTTTCAGTGATATCTCAGACATGTGTAGGGAGGATTTTGTTTA 1140  
 ATTTTTTCTTTAAGTGGGAACATAAATTAGGACAGGAGAGACTTAACATTTTTCAGTGTGTG 1200  
 CGTGTATGAGCGAGAATGTGTTTTTTAAATGTACCCGCTGTCCGGATGCAAGGATATGTG 1260  
 CATATAAGTTTATATCTTTACAAACACACAGATTGATTATTTTTAAAAAAATTCATATTGC 1320  
 TTCTTGATAATAATTCAGAGTCTTTCTTCAGCATATGGTTGTGGTCTGTCCAGAGGAG 1380  
 TGGCTTGCATATTCCACCAATTGTTACTACATTAGTAAGGAAACAAAACCTGGGATGAC 1440  
 AGTGTGACAGCCTGTGCTTCTAAGAACTCTAATCTGCTTTATATAGATAATGAAGAAGAA 1500  
 ATGTAAGGTGTTAAATGTTTCAAATTTATTAGAAGCCTCTTGCATTCAATATGATATTT 1560  
 ATAGAATTCATCATATTGTACATATTTTAGTCTCATTATCTTAAGATCTATATAAATAAT 1620  
 AATTTATTTCAATTAATACACTGCTAATGCTGATTTAATTATTACCAATTCTTGCTATTT 1680  
 AAGGAAAACCATGCTTCTATAAAAGTTTTTGTCTAAATGAAATTTACTATTTAGTTGT 1740  
 ACTAGAAATCACATCGTGATTGTACACATTGATCACAAAGTGAATGGACTCCTGTAATAC 1800  
 AAGTCAGATCACAAAATAGGCATTTCCATCCCAGCAGCCTGGCTGATGTTTCATGTCTCA 1860  
 ACATTCTCCCTTATCTCAAACCACTGTCTGACTGTTAATATTACAAATAAACTTTAT 1920  
 GTGATTTTGAAGTTTTATAAATGGAGTCATTTAGCATGCACTTTGATATCACTCTCTGTT 1980  
 CATTTCGATTCATGCACTGAACTGTGAGTCTCAGGCTCTGAGGGACACAGAGGCTTCCTG 2040  
 GATGGAGCACTTGTAGTCGTGGGGCTCCTTTGTCTGGTCCCCCTCAGCCACACCTACCCTG 2100  
 GTGTGTCTTGGTAAGGGCAGAAGCACTTCTCTGGCTGTTAGTAGGCTCCTGATAGATC 2160  
 CCCCTTACCAGTGGTGCCAGCCTTGCTGGTGTGCTAGCAGGACTCTTTCTCAATGCAG 2220  
 AGGGGGAATGAGCTCATCTGAGGCACCTCTCATTGCCAGGTGGGTGCTGGGAAAAAGCCG 2280  
 GCGTAGGTCCCTTTCTTCTGTAGGGTGGGGGCTTAAAATTTCCAGCCAGTGTGTTGGTCC 2340  
 CTGATCCTGGAGTCTAAGCCACTCCTCCTTTCTCTTTCCAACCTTTCAGATTCTACTTGC 2400  
 TTGTGTCTTTCATAAGTTCCAGAATTTATAGTGGTATATAGTAAAGGGAAGCACCGGATT 2460  
 TGGACCAGTGGTGTTCATCCTGTACCAAAACAGACAACTGTGGCCTTAGCTAGTTAAAG 2520  
 ACTTGTGTGATGCCAGAAAACCATATTTTGGCTTCTATATCATTATCTCCTGAATGGC 2580  
 AGCCCTTTGAATTTCTTCTAAACCCCAAACTCTCAGAAATGTATAAATATACATTGATT 2640

TAATATTACATTGATTTAATATTATCAGCAGGAGAAATATATGTACAGTGTCTGGAAAGT 2700  
TATTTAAATTCATTTATACTAGTTTTGCCAATTACTGGTTACTCTTAAATTACATGGGTC 2760  
ATAATTTTCTTCATTAACAAAAGAAGAAGATGACACTATTAAGTATAAAATATTTAAGAG 2820  
TTCATTTTAAATGAAAATTATGACTTTTTTTGAAAGTTCTTAGCACTTTATAAAGAGATTT 2880  
TCAACTTAATCTTGCTTAAAACAGTAATTTTTATTTTGACAGTTATAGATCCAATGAAAGA 2940  
ACACACTACTGTCACTTTAAAAAATTGTTACATATTTGATAATTTTAAATATACAATA 3000  
TTTATATTTCTGTAGAAATTTCTGAGCTCCCTTTCAAAGAAAGCATGGATTGGAGTCTTT 3060  
CGTAACAGCAGTGAGCAACCCTGGGTATCAAGAAATGGCTCAACTTTTAAACTTAA GTAA 3120  
GTGTTTTGAGTGGTGGGATATAGTAGAAAAAATATAAAATAGAAGAAATTCAGGAGAATA 3180  
ATATGAGTAAGTTAACATTGAATTTAAAGACATGAAAAAGATGTAGAAATTTAGTGACATG 3240  
CTGATATAAAATATTAAGAATGGGCAACACTTGTTCCTTTTATTGGTGGTTTTATTTTC 3300  
TGTAGTTTGAGGTATGGCATTCAACTGTGTAACAACCAACAACCAGTTTTGGATATTAC 3360  
ATTA AAAATGTGATTAATGACAAAATCCTTTTTCTTAAAAAACATGAAAAATCCTGTTGTT 3420  
TCATGGATTGTCTCCATAAAAATATAAAAAGAAGTATGAATTTTTCTCCATCACAG AATAGA 3480  
GGAATCAATACCTGGTAGACATAACTGTGCTGTGCTACAGTCACCCAGTCTTCACTCAGG 3540  
TGGATGTGAATCTACAAAAACATATATTTGTAAGCATGAGTTT TAG AAGTAAAGCACCTG 3600  
ATTTGGAGTC 3611

7.9.7 Mimu-NKG2-3

GTCTGACATCACACAGTTGCA GAG ATG GATAATCAAACAGTAATCTACTCTGAAATCCTT 60  
CTGGCCAAAACCTCCAAAGAGGCAGCAAAAAGAAATCTAAGGACACTACGAGCTCCATTTCA 120  
GAAACTGACCAAGAAATAACCTATGCTGAATTTAAACCTTCAAATGCTGCTCAGGATCTT 180  
CAAAGGGTTGACAGATCTTACCCTACAAAAGGTACAGCACTTAATAGCTCCACAATGCAA 240  
CTGTTCTAGGATGTGTAGTTGGGGACAGGGGTGAGGGGAAAGAGCAGGATGTGCTCCCAT 300  
AGCTAATTCATGAAGACCAGAGTTCTAAGTTGAGATATGGTATTTAATATGAAATATGCA 360  
GCTGAATTTTACTCACACATTGTCGAAATTTGACTTTTAGTACCACAACCTCACAGAGCA 420  
CTGCATTTACTGAAAAATGCAATGGTATATTCTGAGAGAAAGATTACTGTGGTAGATGTG 480  
GATTTGAGGTCCAAGTTTATCTTTGATTCCCTGTGTATGTGGGGTCTCGTGTATCAAAAT 540  
ATTTCTAAACCAACCTCTGTCTCTCCTTTCTCAGTGTCTGTTCTGTTCTCTCCTGCAG AT 600  
TTACTGTTACCTCAAGAGAAGCTCATTGCTGGGATCCTGGGAATCTCTGTCTTGTCTTA 660  
ATAATGCTCCACTGTGGTAACAAGTCTTGTCAATTCCT GTAAGTAGATTTTGGGAAGATAA 720  
AAGAAAACCTTTTACACTTAATGATTAGAAGTGCCTATAAACATTTCATAATATTAGAGAA 780  
TAGTTTTCTGGTTTTAACAGTATTATTA AACTAAATGAGGAATAGTTATTCTGATTTTTT 840  
CAGAAATATAAATGAAAACAATAATTACAGTCTTTGCTTTTTAATTATATGTAAGTTCAAAT 900  
TTGATAACTCAAAGATATATTTTAGGAGACTGTA AAGCTTACCTAGAAATAGAAATTA 960  
TGTCTGAAAGTGGA AAAATCAAATATAGTATTATAAGATATAAAGTAGGAAGAAGTGGTG 1020  
AAGTTTAGTTTTGTAGGCTTTGGAAGGTTATTTTTCCAATACCTTCACTAATTTATTAA 1080  
GTTTTCTTGATAAAATCAATTTTACTCATGATAATTCTAATCCTAAGTGATATAACCAATT 1140  
TTCAAACAAAACCTAAAATTAGTGTGACTTACTGAGATTCTAATTTTTAATAAGGATTAC 1200  
TTTTCATTTTTCTAG CCAGAGTACCTCAGGAACAGAATAATTTTTCCAGACTACAAGAAC 1260  
CCAGAAAAGGTACTGACATTAATCATTTTTAATTTTTATATCTATCTTTGGCTATGCAAAAAT 1320  
TAAAATCAATATTTCTGGGATAAATAATTTAGGATATAGGCAATAAACACTCCTGAATAA 1380  
TGGTTTAGGAGGGCATTCCATTTTTCTTCAGGAAGAAGCAATCTTGTGAAATCATTATAAC 1440  
TGTTTGCTATTTGACTCAAATTA CTACTACTTTTCATATAATAAAAGTAAAATAATTTTGC 1500  
TGTTCCACAAAAGTGATTTTGTAAAGTGATTTTTCAGACATGTGCAAGGTGGATTTATGT 1560  
TTAATGTGGCAATATAATTAGGCGAGGAGAGGCTAACTCTTTTCATTGTGTGAGTGGGAT 1620  
TTTTTTATATTTACCAGCCTTCGAGGATGCAAAGATATGTACATATATTTCTATAACCTTT 1680  
GAAAATGTTAATTAATTTTCACTTTAAAAATTCATGTCTAGATAGTAACTCATAATTTTT 1740  
CCACAG CATGTAATTTGGTTCGTTGTCCAGAGGAGTGGCTCACATATTTCCACCAATTTGTT 1800  
ATTACATTAGTAAGGAAACAAAACCTTGGGATGACAGTGTGAAGGCCTGTGCTTCTAAGA 1860  
ACTCTAATCTGCTTTATATAGATAATGAAGAAGAAATG GTAAGGCCTTAAATGTTTCAAG 1920  
TACTTTATTAGAAGCTTATTGCATTTAATATGATATTTGTAGAATTCATTATATTGCACA 1980  
TATTTTAAATTTCAATTATCTTAAGGACTATATAATATAATAATTTATTTCAATTAATACAC 2040  
TGATAATGCTGATTTAATGATTACCAATTCCTTGCTATTTATGGAAAACCATGCTTCTATA 2100  
AAAGTTTTTGTCTAAATTTGAATTTGCTATTTAATTTGACTAGATATTATCACATCATGA 2160  
TTGTGCACATTGATCACAAAGTGAATGGACTCCTGTAATACAAGTCAGATCACAAAATGG 2220

GCATTTCCATCCCAGCAGCCAGCACATGTTTCATGTCTGAACTTCCCTCTCCCTGATCC	2280
TCAAACCACGGTCTGACTGTTAATATTATAAAATAAACTTTATGTGTTTTTGAAGTTTTTA	2340
TAAATGGAGTCATTAGGATGCACTTTGATGTCACCTTTTGTTCATTTCGTATTAATGCACT	2400
GAACTGTGAGTCTCAGGCCCTGAAGGACACAGAGGCTTCCCTGGATGGAGCACTTGTAGTC	2460
ATAGGACTCCTTTGCTGGTCCCCTCAGCCACACCTACCCTGGTGTGTCTTGGTGGGGAGC	2520
AGAAGCACTTCCCTCTGGCTACTTACTGTTAGCAGGTCTCCTGATAGAGCCCCCTTGCCAT	2580
AGTGCCAGCCTTGCCAGAGTTGCTGGCAGGACTCCCTCTCAGTGCAGAGGGGCAAGGAGC	2640
TCACCTGAGGCATCTCGCGTTGCCAGTGTGGGTTCTGGGAACAGCAGGCCTAGGTCACCT	2700
TCTTCTGTGGTGGGGACTTAAGATTTCCAGCCAGTGTGTTGATCCCTGATCCTGGAGT	2760
CCTAAGCCACTCCACCTTTCTCTTTCCAACCTTTCAGAGTCTACTTGTGTGTTTTTCAT	2820
AAGTTCCAGAATTTATGGTGTATATAGTAAGGAGAGGCACCGGATTTAGACCAGTGGTG	2880
TTTCATCCTGTACCAAAACAGACAAACTGTGGGCTTTGCTAGTTAAATAAATTGTGTGATGC	2940
CCAGAAAATGATATTTTTGGCTTCTATATCATTATCTCCTGAATGGCAGCCCTTTGAATT	3000
CCCTTCTAAACACCAAACTCTCAGAAAATGTATAAAATATACATGTATATTGATTTAATATA	3060
CATTATATATAATAAATATATATAAAATAACATAACATGTAAAAATATAATAAAATATATA	3120
TAAATATTATTATATATAAATGATATATAATGTATAGAGATAATATAATAAAATATAAAT	3180
ATAATAAATATATATTTAATAATAATGTATATTGATTTAATATTATCAGCAGGAGAAATG	3240
TATTTACAGTGTCTCAAAAGTTATTTAAAATTCATTTATACTAGTTTTGTCAATATTGGTT	3300
ACTCTTAAATTACATGGATACTAAATTTTTTCATTAATAAAAAGAAGAATGACACTACTAA	3360
GTATGAATATTTAAGAGTTCATTTTAAAGTGAATAATATGACTTTTGTGAAAATTTATAGC	3420
ACTTTATAAAGAGATTTTCAACTTAATCTTGCTTAAAACAGTAATTTTATTTTGATAGTT	3480
ATAGATCCAATGTAAGAACACACTACTGGCACTTTAAAAAATGTTAAATATTTGATAATT	3540
ATTTAAATATATAAATATTTATATTTCTGTAGAAATTTCTGAGCTCCCTTTCAAAGAAAAGC	3600
ATGGATTGGAGTCTTTTCGTAACAGCAGTGAGCAACCATGGATATCAAGAAAATGGTTCAAC	3660
TTTCAAACCTTAAAGTAAGTGTTTTGTAGTGGTGGGATATAGTAGAAAAAATATAAAAAGAA	3720
GAAATTCAGGAGAATAATATGAGTAAGTTTACATTGAATTAAGACATGAAAAAGATGTA	3780
TGGATTTAGTGGCATGCTGATGTAATAATTAACAATTGACGACACTTGTTCCTTTTAT	3840
GAATGGTTTTTATTTTCTGTAGTTTGAGGGTATGGCATTCAACTGTGTTTCAGTTTTGTAAAC	3900
AACCAACTCTTATGAATATTACGTTAAAATGTGATTAAATGACAAAATCCTTTTCTTAAA	3960
AAACATGAAAAATCCTACTGTTTCATGAATTGTCCCCATAAAAATATAAAAAGAAGTATGAA	4020
TTTTTCTCCATCACAGAAATAGAGGAAAACAGTATCTGGTAGACATAAAGTGTGCTGTGCTAC	4080
AGTCACCCAGTCTGCACTCAGGTGGATGTGAATCTACAAAAACATATATTTGTAAGCAGC	4140
AGCCTTAGAAAGAAAAGCACCTGAGTTTGGAGC	4172

### 7.9.8 Mimu-NKG2-4

ATGAATAAACAAAGAAGAATCTACTCTGAACCAAATCTGACCCAAATCCCAAAGTAGCAG	60
CAAAGAAAAACGAAGGGCACTAAAAGATCCATTTTCAGAAAAGTGAGCAGGAAATAACCTAT	120
GCAGAATTAACCCCTAAAGTGCTGCTCAGGATCCTCAAGGCAATGACAGATCTTACCACT	180
GCAAAGGTAAAGCACTTAACAGCTCCTCAGTACAACCTGTTCTAGGATGTGCAGTGGAGTG	240
CAGGGGTGTGGAGAAAGAGCACATGGCATGCTTACACATTTTTATTGACAAAATAAAGTTG	300
AGATATGCTATTTTAAATATAAAAATATGAAGATAATGTTGCTCACACATTGTTGAAATTTG	360
TAATCTTTGTCCAACAACCTTATTTTTATCTGGTGTCACTGGCTGGGGGACATGAGTCTCAC	420
GCCTTCAGGGACACAGAGGCTTCCCTGGATGGAGCACTTGTAGTCATGGGACTCCTTTGCT	480
GGTCCCCTCAGCCACACCTACCCTGGTGTCTTTTGGTGGGGGACAGAAGCACTTCCCTCTG	540
GCTCCTTACTGTTAGCAGGTCTCCTGATAGACCACCCTTGTGTTGGTGGTGCAGCCTTGCC	600
AGAGATGCTGGCAGGATTCCCTCTCAGTACAGAGGGGGAATGAACTTACCTGAGGCACTT	660
CTCATTGCCAGGGTAGGTGCTGGGGGACAGCAGGCCTAGGTTACTTCCCTTGTGAGTGGG	720
GACTTAAGATGCCAGCCACTACGTGGATCCCTGATCAGGGGTCACAGGGGTCCTCAACCACTCCATC	780
CTTCTTATTCTATCTTTATGAGTTTCCCTTTGCTTGTCTTCTTTCATAAGTTTCATAGTTTA	840
TTGCTGTATTAGTAGGGAGCAGCCCCAGTTTTTTACCTTTGGTGTTCACCAATATGAAA	900
ACAGGCAAAAGTGGGGACTTAAATAGGTAAAGAATGGTGTGGTACCAGAAAACCATATT	960
TTTGGCTTATATATTGTTTATTTTCTCAATGGCAGCCTTTTAAATTCCTTCTAAACCTT	1020
AAACTCTTAGAAATATAGTAGAAATATGCATTAATTTTCATATTACCACCAGTAGAAATAT	1080
ATATACAATGTCTGCAAATGTATATTTCATGCTATATTAGTTTTGCCAACATGGGTAACATA	1140
TTAAATTACATGGTTTCATAATTTTCTCATTAAACACAGAAGAATGAAATGCTAAGTATAA	1200
ATGTTTTAAAAGTTTAAAGTTTAAAAACCAAAGTTGCAAATATTTGGGAAAGCTTTTAGCT	1260

ATAGAAAACTGGTTTTTCAGCTTTAATATTGCCTAAAATATTAATTTTGTGGTTGACAATT	1320
ATAGATCCAATGAAAGGATGCACTGCTTACAGGCACATTTAAAAATTTGTAAACCCCTTTA	1380
GTAACATTTTAAATATAAAAATATTTGTATTCCCTATATGAATTTCTGGGCTCCCTGTCAGG	1440
TCAATCACGGTTGGAGTCTTTTTGTAACAGCAGTGATCATCCATGGGTGTCAATAAATGGC	1500
TCAACTTTCAAACCTCAA	1517

### 7.9.9 Mimu-NKG2-5

Die sechs zusätzlichen Nukleotide am 5'-Ende von Exon 3 der NKG2-5A-Variante sind orange markiert.

<b>TCTGAGTCAACAGCTGCGGAGATG</b> AAGAACCAAGAGTGAATCTGGCCAAGGACCCAAA	60
GAGGCAGCAAAGAAAATCTAAGGGTGGGAAAAGCTCCATTTCTGTAACCTGAACAGGAAAAT	120
AGCCCAAGTGGAAATTAACCTTCAAAATGCTACTCTGGATCTTTCAGGGAAGGAGAAGAT	180
<b>CTGCTACTACAAAC</b> GTAAGCATTTACTAGATCCTCACTATAAAGTCTGGGATATATAG	240
TTTTGGTGAAGAGTTGTGGGAAAGATGAGGGAACATTTTTTCATATGCGAGGATGAGAACT	300
CAAAGTTTGTACATGGTACTCTAATATGAATCTGAGGGCCGAATTTATTCAGGCATTGTT	360
AAACTCATAGGCCCTTCATCAACAAATCCTGGGGCATTATATTTACTGAATATGCAACAGT	420
GTACTTTCTGAGAATGATTACAATGTAGATGCGGGTTTAGAGACAAGAGTTTATCCCTTT	480
GGTTCCCTGTACACATGGGTTGTCTGTATGTAAACCTTCTAATCAACTGTCTCCATCTC	540
TCCTTTCTCAGTGTCTGTCTTCTCCCTGCAG <b>TTTCACTGCTACCTCCAGAGAAGCTC</b>	600
<b>ACTGCTGAGATCCTGGCTGTCATTTGCCTGTCTAGTGGGCTCTGTGTTAAAAATGGTA</b>	660
<b>TTAATAGCTCTTATTCCTT</b> GTAAGTATATTTTTGAAAGATTACAATAGAATTTTTCACTT	720
TAATGATTGAAAGTGCCCTTAAACATTTTCATAAAAGCAGGGAATAGGATATTTAGATATT	780
AATTATTTACTAAGGATTACTTTAATTTTTCTAG <b>TTACAGTAATAAAGAAGCAGGACAAT</b>	840
<b>TCTTTCCAGAATGTGAAAACCTCAGAAAG</b> GTACATTTTATATTTTATCTCTATCTTAGTCT	900
GTGCAAAATATATAATAGATTTTTGGGGGGGAAAATAAATTAGAATATTGGACAATAAAT	960
AATTCACAATTAAGACTGTAGGACGATATTCTCTTTTGTTCGACAATAAGTAGGAATGCT	1020
AATTAATAACTACTATACCCTCTTTTTGTCTCATCATACTGAAATTACTACTGCTGTATATA	1080
ATAAGAATTAATACTTCTGTCTAGTCTAAAAATGATTTGTTTCAGTCATTTCTCAGACATG	1140
TGTAGGGTGGATTTAGTTTAATTTTTCTTTATGTAGGAACATAAATTAGGGCAGGAGAGA	1200
CTTTCCAACCTTCAACGTGTGTGTATATGAGTGAGAATGTTTTTTGCCTGTATCAGCTTTC	1260
TGGATGGTCAGATATGTTATGTGCATGTAAGTTTACATCCTCACAAATATATAGCTTAAT	1320
TTTTACTCTAAAAAATTTACATTTCTTTCTGGATAATAATTCAGTCTTTCTTCAG <b>CATATG</b>	1380
<b>ATTGTGGCCGTTGTCTAGAGGAGTGGTTACATATTCCACCAATTGTTATTACATTAGTA</b>	1440
<b>AGGAATCAAGACTTGGGATGAGAGTTGATGGCCTGTGCTTCTAAGAGCTCTAGTCTGC</b>	1500
<b>TTTACATAGATGATGAAGAAGAAATG</b> GTAAGATGCTAAAGTTAAAAACACTTTATTAATA	1560
GCTTCTATCAGCTAGTATTATATTTATAGAATTCATAAATATTTATAAACATATAATTAG	1620
CTACTTTATTTTCAAACCTGTAAATAATCCATTGATTGACTTCACAATAGGTTATTTATA	1680
TTCATATGCTGATAATACACATTAATAATTTTTACATCTTGCTTCTCACAGAAAACCAT	1740
GCTCGTATCCATGTTTTAATTTGAAAATAAATATTGCTATTTAATTTTATTATATATATA	1800
GAACTAAGCACATTATAATTGTGCAGACTGATCATGCTGTGAATGGACTCATGTAGTATA	1860
AGACAAATCATTAGAAGTTTCCAACCCCAACAGCCTCACCCCTGTGTATACCTTGATCTC	1920
TTTTCTTCCCTTTCCCCAAAATACTGTCTGACATCTGATACATGATTAAGCTTCACCT	1980
TTTTTAGAATTCACATAAATGGAGTCATTCATTATACATTCTTATGTCTGTGTCTTCCAC	2040
TCCCATGTGACATTTTTGCAATTTATTTATACTAATGAATTAGCTATAGTTAATAATTT	2100
TCACTGCAGTATTATGTACATACAACATTTTAAAATTCATTCCATGTGGTGTCTGGATGA	2160
GGACATGAGTCTCAGGCCCTCAGGGACACAGAGGCTTCCCTGGATGGAGCATTGTAGCCA	2220
TGGGACTCCTTTGCTGGTCCCCCTCAGCCACACAAACCTGGTGTCTCTTGGTGAGGTAC	2280
AGAAGCACTTCCCTCTGGCTACTTACTGTTAGCAGGTCTCCTGATAGATCACCCCTACCAG	2340
TGGTGCCAGCCTTGCTGGAGTTGCTGGCAGGACTCCCTCTCAATACAGAAGGGGAATGAG	2400
CTTACCTGAGGCACCTCTCATTGCCTGGTTGGGTGCTGGGGACAGCAGGCCTAGGTCCT	2460
TTCTTCTGTTGGGTGGGGACTTAAGATGCCAGTTAGTATGTTGATCCCTGATCCTGGGT	2520
TTCCAAACCATTCCACCTTTCTTTTTCCAACCTTCGGAGTATGCTTGCTTGTGTCTTTCA	2580
TAAGTTCCAGAATTTATGGTTGTATTTAGTGAGGTGAAGCACCCGCTTTGGACCACTGGT	2640
GTTCCACCAGTACTAAAACAGACAAAACCTGGGGCTTAGCTAGTTTAAAAATGGTGTGGT	2700
GTCCAGAAAACCTGCATTTTGGCTTATGTGTCATTTATTTTCTGAATGGCAACCCCTTTAA	2760
TTTTCTTCTAAACCCCAAAATCTCAGAGTTGTATAGAAATATAGATTGATTTAACATTA	2820

CAGCAGGAGAAAAGTATGTTTCAGTATCTCAAATGTTATTTAAATTCATTTATATTAGTTA 2880  
 CTGTTAAATTACATGCATCATAATTTTCTTCATTAGCATAAGAAGCATGACACTAGTAAG 2940  
 TATAAATGATTAAGAGTTCTTTTTAAGTGAAAATTACAACTTGTGCGAAAAGTTCTTAGC 3000  
 ACTAAATAAAGGAGTTTTCAACTTTAATATTGCTTAAAACAGTAATTTTTGACAGTTATAG 3060  
 ATGCAATGAGCAAACACACTACTGGCACTTTAAAAATTGTTAAATATTTAATAATTATTT 3120  
 AAATATACAATATTTATATTCTGTAGAAATTTCTGGGCTCCCTTTCAAACCAAGCATGG 3180  
 ATTGGAGTCTTTCGTAATGGCAGCGATCGTCCATGGGTGTCTATAAATGGCTCAACTTC 3240  
 AACCTTAAAGTAAGTTTTTTGAGTAGTGGGATATAGTAGAAAAAATATAAAAAGGAGAA 3300  
 ATTCAGGAGAGTAATATGGGTAAGTTTAAGTTGAATTAAGACATGAATAAGATGTTGAA 3360  
 AGTTAGTGAATGCTGATGTAATATTTAAACAATGGACCACACTTGTCCCCCTTATAGG 3420  
 TGGTTTTGTTTCTGTAGTTTGACAGTAAGGCACTCAACCATGTTTGAAAAATTTTGAATT 3480  
 AAATATCCAGAAAACACCCTTTATGAGCTTTAAATTGCTCAGAGTTCTGAGTAGTGTA 3540  
 TGACATTTACACTGTCCCACTCTGTCTTGCCCTGGATGTGAATCATCTTTTGACCAGCA 3600  
 GGTCCACAGTGTATAGGTGACCCACCCTTTAGTCACTTAGGAGCCCTCTGGTGATCAGAT 3660  
 CAATTGTCACAGTATCTCAGTGCTTGGGTTCAAGTGCCTCTTATTTTACTTAATGGGGCA 3720  
 AAAGCCCAAGGGTAGTGATGCTGGTATGTTGTTATATTTACTCCTTTGTATTATTAGTTA 3780  
 TTGCTGTTAATTCTTTCTTGTGCCTAATTTATAAATTAACCTTTACCAAAGGTGTGTATA 3840  
 TATAGAATAAACATAATGTATAATAAGGTTTCAGTAAAATAGGTGATTTCTGGCATCCACT 3900  
 GGTGCTTTGAAACACATCCCTTATAGATATGGGGGACCCTGTGTTTCAGTTTTTCATAATA 3960  
 ACCAACTCTTACTCATATTACATTAATTAATGATTAATGATAAAAATCTTTTCTTAAAG 4020  
 GACATGAAAAATCCTGTTGTTTCATGAATTGTCCTCATAAAAATATAAAAAGAAGTATGAAT 4080  
 TTTTGTCTATTACAGAAATAGAGGAAATATTATATGGTAGAAATCACTGTGCTGTGCTATA 4140  
 CTCATCAAGTCTTCACTCAAGTGGATGTAGGTCTCCAAAAACATATATTTGTAAGCACAA 4200  
 GCTTAGAAGTAAAGCACCTGAGTTGGAGTTGA 4234

7.9.10 Mimu-NKG2-6

CTCTAATCCTGACTTGAGTGGGGCAAAGTCATAACATGTAATAAAAATGTTTGCACCCCC 60  
 ATAATATCCTGAAATGAAAAAATAAGAATAAAAATAAAAACACCCAACACATTGCATTG 120  
 TAAAAACAAAAACCAAAATGCTACTCAAGATCTTCCAGGGGATGACAAAATTTAACACT 180  
 GCAAAGGTAAGCACTTAATAGCTCCTCAATACAACCTGTTCTAGGAAGTGCAGTCGGGT 240  
 GACAGGGTGGGGAAGAGCAGGGCATGCTCACATATTTTTGTTTCATGGAGATCAGCGTTCT 300  
 AAGTTGAGATATGACATTTAATATGAAATATTGAGAAGAATTTTACTGCCACATTGATG 360  
 AAATTTCTAGTCTTTGTGCAACAACCTCATGGAGCACTACATTTACTGAAAATGAAACGGT 420  
 ATATTTTGAGAGAAAAGATTACTATGGTAGATGTGGTCTTGGAGTCCAATTTTATCTATGT 480  
 GTCCCTGTGCATGTGGGTCTCTTGCATGTAATATTTCTTACCAACCATCTCCATCTCTCC 540  
 TTTCTCAGTGTCTTCTGTTTCTCTCCCTACAGATTTATTGTTACCTCCAGAGAAGCTCATT 600  
 GCTGGAATCCTGGGAATCATCTGTCTTGTCTTCATGTCTACTGTGGTAACAAGACTTGTG 660  
 AATCCCTGTAAGTAGGTTTTAGAAGAATAAAAGTGCACCTTTAAAGTTAATGATTGAAAGT 720  
 GTCTCTAAACATAACCATAATATCAGGCACTATAATTCTCATTTTTAATGTATGTTTTGAAC 780  
 TAAATGAGGAATGGTTATTTTTGAACTTTTTCAAAGTATAAATGAAAGATTAATTGTAGAG 840  
 GGTCTTTGCTTTTAATTATAGGCATTTATTCAAATTTTATAAATCAGAGACTTTCTGTAG 900  
 TAGACTGAAAAAGCTTACCAATAAATAGAAATTAATTGTTGAAAGTGGTTAAATCACATA 960  
 GTTACAATATTATAATATATAATGTAGACAGAGATTGTAAGTTTTATTTTGTAGACTTTT 1020  
 GATGTTTTTTCCCCAACTTTTACATAACTTTATTAATTTTCTAGCTAATATCAACTTTAC 1080  
 TACAGATAATTCTAATTCTAAGTGATATATGAAATTTCAAACAAAAACAAAATTTATTGTG 1140  
 ACTTATTTAGATTGCTAATTTTTAACAAGGATTACTTTAATTTTTGTAGCTATAGTAACA 1200  
 GAGAAGCAGAGCAATTTCTTTCCAGGCTATAAGCACTCAAAAAGTCTCCTGATATTCGTCAT 1260  
 ATTATATTTTGTCTATCTTAGGTTATGCAAAAATGATAATAGATTTTTTTGGAAATA 1320  
 AATTAATAAATTTGGGGCAATAAATATTCATAAATAAAGTTATAGAAGGGCATTCCCTTTT 1380  
 TAAAAAAAATTAGTGATACTTATTTAAAATCACTATACTCTCTATTTGTATTTAACTCAA 1440  
 ATTATTACTGCTATCATATAAATAACAGCTAAATACATTTTCTATCCTAAGAAAAGTGGTT 1500  
 TTGCTCAGTGATTTTTTACATACAGGTGCAAGGTGGATTTTTTGTGGTGTTCACTTTATG 1560  
 TTGCAATAAAAATTATGGAATGAGAGACTGATCCTTTTCCAGTGGAAATGTGTATGAGTGG 1620  
 TTTCTCTTATATATTTACCAGACTATAAGGAACCAAAGACACGTACATATATTTTCTAC 1680  
 CTTTGAAAATATGTAATTAGTTTTCATTTTTAAAATTCATATTGCTTACAGATAGGAAT 1740  
 TCATAATTTTTTTCTCAGCATATGATTGTGGCCATTGTCCAGAGGAGTGGTTACAAAATT 1800

CCACCAATTGTTGTTCCATTGGTAAAGAATTCAAAACTTGAGATGATAGTTTGATGGCCT	1860
ATTCTTCTAAGAACTCTAATCTGCTTTATACAGATAATGAAGGAAAAATGACAAGGTGTT	1920
AAATGTTTCAAGCACTCTGTTAGAACTTATTGCAATCAATATTATAATTGTAGAGTTCA	1980
TTATATTCTTGTGCAAATTTAATTATTTTTAGATCTATATAATATTCTGTTGTTTGAATT	2040
CATCAATATTTATATTCATATAACCACTAACGCATATTTAATTATTAACTACTCTAGCTGT	2100
TAATGGAAAACATGCTTCTATAAATGCATTTAATCTCAAACAAATTTTGCTATTTTATA	2160
TTTACATGTAAACACATCATTATTGTACAGATTTACCACAACGTGAATAGAGTCCGTGTA	2220
TACAAGTCAGATCACAAAATAGGAGCTCCCAGCCTTTTATCACTCCTGCCCTTCTTCCA	2280
CAAACACTAGTCTCCTTACTTTTAAACATGAGAAATAAACTTTACCTGTTTTTGAATTTTCAT	2340
AAGTGGAGTCATATAGTATGCACTTTTATGTCTGTCTCCTTTCACTCCCATACGACATCT	2400
GTGCAATTCACACGTATTAATGCAGTGAGCTGTAGTTTGTTTACCTTCGCTGCTATCTCA	2460
TATGTGTAAAGCATTTTTTTTTTTTTTAAATTTTACGATATTCCATTTTTACCTGGTGTCTC	2520
TGGATAAAGGAAGTGAGTCTCATGCCCCAGGGACACAGAGTTTTTCTGGATGGAGCACT	2580
TGTAGTCATGGGACTCCTTTGCTGGTCCCCCTCAGCCACACCTACCCTGGTGTCTCTTGG	2640
TGGGGACAGAAGCACTTCTCTGGCTACTTACTGTTAGCAGGTCTCCTGATCCAGCCCC	2700
TTGCCATAGTGCCAGCCTTGCTGGAGTTGCTGGCAGGACACTCTCTGGATACAGAGGGGG	2760
AATGACCTTACCCAAACCTACTTTTCAATTGTCAGGTTGGGTGCTAGGAATCTAGTTCTCTT	2820
TCTTCTGTTGCGTGGAGGATTTAAGTTGCCCATTACTCTGTTAATCCCTGATCCTGGAA	2880
TCCCAAACCATTTTACCTTTCTCTTTCCACCTCTGAGAGTCCCCTTTGCTTATGTCTTTC	2940
ACAGTTTCTGGGCTTGTAGTTGTATTTTCTAGGGAGTAGCACAGAGGTTCCACCAACACC	3000
AAATCAGATAAAAAAAGGGGCTTATCTATTTAGAGAATACTGTGGTCCCCAGAAAACCTA	3060
ATTTTCTCTTCTATGTCATTTATTTGCTCAATGGCAACTTCATAATTCCTTGTAAATGC	3120
CAAACCTTTGAGACACATAGTAGAAAAATACATTTGATTTAATTATTTGTATACTAGATAAA	3180
TGAATATATAACCATTTGAAATTTATTCGAATTCATGGTATATTTGCTTTGTCAACACAGGT	3240
AACTATTAATTCATGTGAATCAAAATTTTCGTTATTAACGTGAAAACGAATGAAACTACT	3300
AAGTATAAACATCTAAAATTTTCAATTTTAAATCAAGATTACAAATATTTGTGAAACATTTT	3360
GGCACTAATAAAGTGGTTTTCTTCTTAATATATTGTTTAAACATATTCAATTTTGTTTAA	3420
AAATTAAGAATCTATGAACAAATATTTTACATTTTTCATAAAATTAATGAAAGCTGTCAC	3480
AATGATTATTTAAATAAAATTTATGGAATGTTCTGTAGGAAATTTCTGGTCTCCTTGCCAT	3540
TTCTGTGTCATGGAATGAAGTCTTTTATAACAGCAGTGACCATCCACAGGTATCAATAAATG	3600
ACTCAACTTTCAAACCTTAACTTTTTTTTAAATGGCGCTATATAGAAGAAAAAATATAAAATG	3660
AGAAAAGAAAAAATATAAAATAAGAAATTTCTGAAGAATATTCTACATAAGTTTTCATTTGA	3720
GTTATACACATGAAATATTTTGAAGTTACTAAAATGTTGATATAAAATATTAAGAATGA	3780
GCTACAGTTCTCTGCCCCCCTGCCACCCATCCATTATTTAGCTTTCTGCAGTTTTAGT	3840
TGCACTTGGTCATCTGTAGTTTGAATAATTTAAACGGAAAATTTCCAGAAAAAACAATTC	3900
ATGAGTTTTAAATTTGTGTGCTGCTCTGAGTAGCATGATGTAATCTCATTTAGAATCAATC	3960
TGTGCCTCTGAAATTTGAATCGTTTCTTTGTCCTGAGTATCCATGCTGTCTATACTACCT	4020
GCCTGTTAGTCACTGAGTAGCCATCTGGGTGAGCAGATGGACTGTCATGGTGTGCAGTGC	4080
TTGAATTCAGGTTATCCTTATTTTACTTAAACAATGGTCCCATAGAGTAAGAGTAGTGGTA	4140
TTGGACTATTGTTATAATTGTTCTTTTTATATTTTGGGTTATTGTTGATAATCTCTTTCTG	4200
TGCGCAATTTATAAACTAAACTTTTTTCAATTGATATGCATGTATAGAAAACAAGAAATATA	4260
TAGGATTTGGTAATATCCATAGTTTCGAGCATCTGCTGGGGGATTGAAGCATATTTCCC	4320
ACAGATAATGGGGGACTACTGTTGGTTATTAGTCTTCTTAATAACCAACTCTTACAATAT	4380
ATTAATAATGTCATCTGTTTTTATAAATATTCTTTTCTAACATAGAAATGCTCTTTTTAAT	4440
GGATTGTCCCATAAAAATACAACAAAATTTATGATTTTTTCTGTATTACAGGATAGTCACA	4500
TCAGATCATAACTGTGGAAGGCTATACCCAAATGGATTTATATTGGACACTTGTAGATCC	4560
TCACAAATATATAGTTGTAAATATAAGCTTTAAATGTAATGCATCTGAGTTTGGAGTAG	4618

7.9.11 Mimu-NKG2-7

ATGGATAACTGAAGAATAATCTACTCTGAACCTGAATCTGGCCAAAAACCCAAAGAAGGAG	60
CAAAGGAAACCTAAGGGTACTAAAAGATCCATTTTCAAGAACTAAATAGGAAATAACCTAT	120
ATGGAATTTAAACCTTCAAATGCTGCTCAAGATCTCCAAGGGGATGACAGATCTTGCCAG	180
TGCAAAGGTAAAGTACTTAAATAGCTCCTCAATACAACCTGTTCTAGGATGTGCAGTTGGGG	240
TGTGAGGAAAGAACACATGGTGTGCTCACATATTTTTATTTCATGAAGATCAGAGTTCTAA	300
GTTGAGATATGCTATTTTAAATACGAAATATACAGATAATTTTATTTCATACATTTGTTGAA	360
TATGTAATTTTTGTCCATCAACTCATTCTATCTGGTGACTCTGGATAGGTGATGTGAATC	420

TCATGCCTTCAGGGACACAGAGGCTTCCTGGATGGAGCACTTGTAGTCATGGGACTCCTT	480
TGCTGGTCCCCTCACCTACAACCTACCCTGGTGTGTCTTGGTGGGGGACAGAAGGACTTTC	540
TCTGGCTACTTACTGTTAGCAGGTCTCCTGATAGATCCCCCTTGCCAGTGGTGCCAGCCT	600
TACTGGAGTTGCTAGCAGGACTCCCTCTTGATACAGAGGGGGAATGAGCTCATCTGAGGT	660
ACCTCTCATTGCCAGGTTGGGTGATGGGATCTAGGTCTCTTTTTCTCTTGTGTGGAGGA	720
TTTAAGTTGTCTATTACTCTGTTGATCCCTGCTCCTGGAGTTCGAAACCATTTCTTCTG	780
TCTCTTTCCATGTTCCCCATAAAGCAAAACATCAAGCAAAAATCCACCCTATACATATC	840
TGAGAAATTACTGAACAAAATATTTTTTAGAATAACAAAATATTTAACTCTTATATGAT	900
AGTAGTAGTAATTTGAGTAAAATGGCAAAAGGAGTATATAGTTATTTTAAATGAGTATTC	960
TACTTATTGTTGAAGTAATGGGTATACCCTCCTACACCCTTATTTATGAACATTTATTGC	1020
CCAATGTTCTAATTTATGTACCCCCAAAATCTATTATAATTTGACACAGACTAACATA	1080
GAGATAAAAATTTTAAAATTTTAAAATGTACCTTTCTGAGTACTCATATTTCCAGAAAAT	1140
TGTTCTGTATCAGCATGATTAGGAGATGAGAGACTGACCCTTTTCTGTGTGTGTTTATGA	1200
GTAAGCATGTGCTATTTACATGTACCAGCTTATCTGGATGCATAGATAAGTTATGCACTT	1260
ATAAGTTTCTACCTTTACAAATACATAGATTGATTTTTTATTTAAAAAATTAATATTCTTT	1320
CTGGAGAGTAATTCGTAGTCTTTCCCTCAGCATATCATTGCAGTCATTGTCCAGAGGAGTG	1380
GTTTCACATATTTCCACCAATTGTTATTCCATTGGTAAGGAATTCAGAACTTGGGATGAGAG	1440
TGTGATGGCCTGTGCTTCCAAGAACTCTAATCTGCTTTACATAGATAATGAAGAAGAAAT	1500
A	1501

7.9.12 Mimu-NKG2-8

CCTGACATTACACAGCAGCGGAGATGATAACCAAAGAGTAATCTACTCTGAAATGAATC	60
TGGCCCAAAACTCAAAGAGGCAGCAAAGGAAATCTAAGGACACTAAGAGCTCCATTTTCAG	120
AAACCAAACAGGAAATAACCTATGCGGAATTAACCTTCAAATGCTGCTCAGGATCTTC	180
AAGGAGATGACAGATCTTATCACTGCAAAGGTAAGCACTTAATACCTCTTCAATACAAA	240
TGTTCTAGGATGTGCAGTTGGGGACAGGGGTGTGGGAAAGAGTAGGGTATGCTCACATA	300
TTTTTATTCATGAAGATTAGAGTTCTAAGTTGAGACATGTTATTTAATGTGAAATATGC	360
AGACTAATTTTACTCACGTTGAAATTTGTAGTTTTTCCATAAGCTCATGGAATACTACG	420
TTTACTGAAAATGCAGTAATATATCCTGAGAGAAAATATTACTATGGTAGATGCAGGTTG	480
GGTCCAAGTTTATGAGTCTCTGTTTATGTGGGGTGTCTTATATGTAAATATTTCCAACCA	540
ACCTTCTCTGTCTCTCCTTTCTCAGTGTCTGTTTCTGTTTCTCCTGCAGATTTGCTGTTAC	600
CTCCAGAGAAGCTCATTGCTGGGATCCTGGGAATCATCTGTCTTGTCTTAATAATGTCCA	660
CTGTGGTAACAAGTCTGGTCTATCCCTGTAAGTAGGTTTTGGAAGAATAAAAGGAAACTT	720
TTACACTTAATGATTGGAAGTACCTTCAAACATTGCATAATATCAAGAAATAGAATATGC	780
ATTATAATGTATGTTTTGGACTTAATGAGGAATGGTTAATCTGAATTTTTCAAAGTATA	840
AATGAATAATTGTACAGAACCCTTGCTTTAATTATATATGTGTTTTCAAATTTTGTAAC	900
TCAAATACATGTTGTATGAGACTGAAAAGCTTACCAATAAATAGAAATTAATTATTGAA	960
AGTGGATAAATTAATATTTACTGCATTGTATTACATAAAGTAGACAGACATGGTGAAGT	1020
TTGGTTTTGTAGTCTTTGCAAGGATTTATTTCCAAAACCTTCACTACTTTATTTCGTTTT	1080
TTCTTGCTAAAATCAATTTTACTTCATATAAATCTAATGCTAAGGGATACACTGAATTTT	1140
AAGAAAAATTAATAATTATTGTGACTTACTTAGATACTAATTTTAAATAAAGATTACTTT	1200
AATTTTTTCTAGCTACAGAAACAAAGAAGCAGAACAATACTCTCCAGACTGTAAGAACTCA	1260
GAAAGGTAAGTACTGATATGGGTCATTTTTTACTTTGTCTCGATCTTGGCTGTGCAAAAATGAT	1320
AATAGATTTTTTTGGGAAATTACTTAAAATATTGGGCAATAAACATTCATAAATAAAGG	1380
TAATAAGAAAGTATGCCTTTTATTCATCAATAAGTAGAAATATTCATTTAAAATCACTCT	1440
ACCTCTTTTTGCTTTTTAATATTTGACTCAAATTACTCTTGCTATAATAAGATAACAGTT	1500
AAATAATTTTGCTATTCCAAAAAAGTGGTTTTTATTTCAGTGATTTTTTCCAGACATATTGCAG	1560
GGTGGATTTGTGATTTGATAATTTGCTTTTATGCGCAATATAAATTAGGGGATGAGAGGCTG	1620
ACCTTTTCTGTGCATGTGTGTGTGTGAGTGGTTTTTCTTTGTATTTACCAGCTTTGAGG	1680
ATACATAGACATGTACATATATTTTTATAACTTTTAAAATATGTAAATTAATTTTCATTT	1740
AAAAATTCATATTGTGTTTGTAGATAGTAATTCATAATTTTTTCTCAGCATATCATTGTGGC	1800
CGTTGTCCAGAGGAGTGGTTACATATTTCCACCAACTGTTATTCCATCAGTAAGGAATTC	1860
AAAACCTTGGGATGAGAGTGTGACGGCCTGTGCTTCAAACAACCTCTAATCTGCTTTACATA	1920
GATAATGCAGAAGAAATAATAAGATGTTAAAGGTTTTCAAATACTTTATTTAAAAGCTTCAA	1980
ACACTTTATTTAAAAGCTTCTATCTGACATTATATTTGTAGAATTCATCATATTCTTGTAC	2040
ACAGTTGAGTTAATTATTTTCAGATATGTACAATATTTCTCTTGTGTTGACTTCATAATAG	2100

TTTGTTCATTCGTTACACTGCTAAAAAACATGTAATTATTACCAATTCTTGCTGTTCA 2160  
TGGAAAACCATGCTTCTATAAATGTAACAAATTAAGTAACAAATTTTGCTACTTAATTGC 2220  
ACTACATATAAGCAAGTCATAATGGTGACAGATTACAAAAGTGAATGGACTCCTATAATAC 2280  
AATTTAGATTACAAAATAGGAGTCTCCAGCCCCAGCAGCTCTGCCCGTGTGCAAGCCCTC 2340  
AACACTTCTCCTCCCTCCTCCTCAAATCACTGTCCTGACTTTTTAATATTATAAAATAAAC 2400  
CTACCTCTTTTTGAATTTTCATAAATGGAGTCATATAGTGTGCACATTTTTGTCTGTCTT 2460  
CTTTCACGGCTATGTGGTATTGGTCCAATTCATTCATATTAGTGCAGTTAGCTGTAGTTT 2520  
GTTAACTTTCATGCTATATCATGTACATATATTAATCACATTTAAAAATCCATCTGTCTGT 2580  
TTCTGACTGGGGGACGCTAGTCTCATGTTTTTCAGGGACACGGAGGCTTTCTGGATGGAGC 2640  
ACGTATAGTCATGGGACTCCTTTGCTGGTCCCCTCAGCCACACTTACCCTGGTGTCTCTT 2700  
GGTGGGGACAGAAGCACTTCTCTGGCTACTTACTGTTGGCAGGTCTCCTGATAGATCCC 2760  
CCTTGCCAGTGGTGCCAGCCTTACTGGAGTTGCTGGCAGGACTCCCTCTCAATACAGAGG 2820  
GAAGTGAGTTTACCTGAGGCACCTCTCATTGCCAGGGTGGGTGCTGGGAAATAACAGGCT 2880  
CTGAGTCACTTTCTTTTTGTTGGGTGGGGAAATTAAGATGCCCACTGTGTTGATCCCTGAT 2940  
CCTGGGATCCCCTCCACCTTTCTCTTTTCAATTTTTCAGAGTCTACTTGCTTGTGTCTTT 3000  
CATAAGTTCAGAATTTATGGTTGTATTTAGTAAGGAGAAGCAGATGTTTTGGACCACTG 3060  
CTGTTCTACCAGTACCAAAGTAGGCAAAATTTGGGGCTTAGCTAGCGAAAGAACGGTACG 3120  
GTGCCCAGAAAACCATATTTTTAGAGTACATATCATTTATTTTCTCAATAGAAAAACTTT 3180  
TAATTTCTCCTAAACCCCAAATGCTGAGAAATGTAGTAGAAATATACATTGATTTAATA 3240  
TTAGCATTGAGAGAAATCTATGTACAGTGTCTGGAAATTTATTTATGTTTCATGCTATATT 3300  
TGCTTTGCCATACATGAGTTACTATTAATAATTAATAACATGGCTCATCATTATACTCATT 3360  
ATGTAAGAATAGGAATGAAACTACTGAGTATAAATGTTTTAAGGTTTCATTTTTAAGGAAAA 3420  
ATTACAAATACTTGTGAAATGTTTTGGCCAAATGTTTTGGCCATAAAGTGGTTTTCAATC 3480  
TTAATATATTGGTTAAATATTCATTTTTGTTTTATAATTATAGATCCAGTGTAAAGACATGC 3540  
TACTTGCATATTAATAATTTGTGAAATCTTTAATAATTTAATAATGTAACAAATTTATA 3600  
TTCTGTAGATTTTTCTGGGCTCCCTGCTACGTCAGTCATGGATTGGAGTTTTCCGTAAC 3660  
AGCAGTCATCCCAATGGGTGTCAATAAATGGCTCAACTTTCAAACCTTCAGTAAGTTCTCT 3720  
CTGAATGGTGTCTATATAGTAGAAAAAATATAAAAAAGGAAAAAATTTAGAAGAATAATATA 3780  
GTGAGTTTAAGTTGAATTTATAGACATAAAAAGTATGTTGAAAGTTAGAGAAATGTTGATAT 3840  
AATATTAAGGAATGAACCACAGCAGTCCCCCTTATGTTGTTTTTCACATTCTGTAGCGTGA 3900  
GGTAGCTGCAGTCAACCATGGTCATAAAAATTTTTGAAATGAAAAATTCAGAAAAAAAACAT 3960  
TTTTATGAGCTTTAAATTTGTTTCAGTGTCTGAGTAGCATGATGAAATTTTCGTAAGTGTCCA 4020  
TCTGTCTTGCTGGATGTGAATCATCTCTTTGACCAGCAGATCTACATTGTAGAGGTGAC 4080  
TCACACTTTAGTTACTTATTAGCCCTCTGGTGTAGTAGATCAATTGTCACAGTATCGCCGT 4140  
GCTTGTGTTCAAGTACCTCTTATATTACTTAATAATAACCCAAAAGCCCAAGTATAGTGA 4200  
TGGTGGCATAATTGCTATATTTGCTCTTTTTGTGTCTATTAGTTATTGTTATTAATGTCTCCT 4260  
TGTGCTTATTTTCTAAATTAACGTTACCACAGGTGTGTATATGTAGAATGAACATAGTA 4320  
CATAAGAGGGTTCAATAAAAATAGGTGGTTTTTCAGGCATCACTGGTGGGCTTGAAACACATC 4380  
CCCTATAGATACGGGGGAGTGTGTGTTTCAGTTTTTCATAATAACCAACTCTTACTAATGT 4440  
TGTATTAATAATGACATTAACCTGTTTTTATAAAAATTTCTTAAAGTACATGGAAAAATGCTATG 4500  
GCTTCATGTATTGTCCCCTTAACATATAACAGAAGTATGGATTTTTCTCCATTACAGAAAT 4560  
AGTAGAAACAGCAACCGGTAAACGTAACCTGTGCTATTCTACACTCAGATGGACTTCAATC 4620  
AGATGGATGCGAATCTTTGAAAAGATAACCATTGTAAGCAAGCTTTAGAAAGTAAAGTGT 4680  
CTGACTTTGGAGTTGG 4696

7.9.13 Mimu-Ly49L

AAGATCAGTGATCAGGGAGTGATTTATTCAACGGTGAGATTTCTGCAGTCTTCTTCAGAG 60  
TCAGAGAGTGGACGAAGTCTGATGTTACTCTGAGGCCTGAGAAGACTGACGACAAAGGT 120  
ATGTGTTTTAAGCATCTAAATTCGCTGTCTCTTACGGATCGACAAACATTTGATGTTTG 180  
AAAGATGTTTTCCGTCTGTACTTCTGGTTCTTAGCTGGTAATAAAAATACTATAATGGGCAA 240  
GGATACTAGGACAGATGTCTTTTTAAAAGAATAAAAAGACTGTGAGAATAGAAAAATTAAT 300  
TCTTTTTAAATTTAAGAAGCTAGTAAAATGTTTTTATTTCAGATCTGATCAAGAAGAATTTG 360  
TGAAGCATTAAATGTAAGGACAGAATAGAGTCTGAAAAAATAAATAAATAAATAAATAAATAA 420  
ACAGCATTCTTAGACAAATAAGAGTCTTGGAGAATATTTAAGAAATGAAAAATATGTGT 480  
TAAACAATGTTTTATATTTCAGACCAAAGATGTTTTAGGTGTCTTAAATATTTAGCAACCC 540  
TTAATGGCAATGAAGCAGCAAAAATATTCAAATTAAGAAGGGTGTCTAATTTTTCTACC 600

CTCTTTCCCTTTTTTCAAATATTGTATCAGTTAAACTCTAAATTGAGAATAACCACTACT	660
GCTTCAGTTT TAGTGATAATCAGAGCTACAACCTTTCAGATACTGAGGACCTCAAAAGCAAA	720
AGGATAACTGTAGGATTGTCTAGAGAAAAATAGAACTTATGAAAAATATAGGCAAGTTGA	780
TTTCCAGAAACTCTTTTTATGGATCACCCCAATCACATTTGCAGCTTCAGAATATCCACTA	840
TCAGATACCAATTTCTCAAGAATATTGACTGCTTTTACCTTCTCTTCATGATGAGTTGT	900
GACCACAGTAAGGAGCATGTGTATCAGTTTGGATTCTCCTGCATGTTTTGCATCTATTGC	960
CATCAGTGCTTTTGTAAAGGATGTACTTTTCAAATCCTATAGAACCATTCCCGTATTAGC	1020
ATATCTACAATGGGTGCGTGTGTGTCAGCCAGAAATCTGAAACTTCAAACCTAAGTTATAGC	1080
GGTTACAAATTTTATATTTATTTATTTATTTCTGAGACAGGTTCTTGCAGTGTGCGCTCAG	1140
GCTTAGAGTGCAGTGGCGTTATCATAGCTCATGGCACCTTAAATTCCTGAGCTCAAGCAAT	1200
CCTCCTACCTCACCCCTCTGAGTAGCTGGGACTACAGGCGCGCAACACCACGCCCGGCTA	1260
ATTTTTCTATTTTTTGTGGAGATAGGGGTAGAAGGGTGTGGGTGGGGGGCATGAGGGGT	1320
TGCTCTCTTGTTTCAGGCTGGTCTTGAACCTCTAGCCTCAAGCAGTCTCCTACCTCTGCC	1380
TCCCAGAGTGCTAGGATTATAGGCCTGAGCCACCACACCTGGCACTATCGGCTACAAATT	1440
TAAATCAATTTGCATGCTATATTTCTGTAAAATTTTTAGAGATGATTGTCCCTTTGTTTC	1500
ACATGATGTTCTAGGTCAAGGTTAGTAGTGAGCCATCGTCTTCACTTGATGATTATTTTTC	1560
TCCCTTTTTTATTTCAAGAGTTTTTCAGTGTCTGGCGTCTCATTGCAGTGAGTCTTGGG	1620
ATCCTCTGTTTAGTCTGTTGGTGATAGTCACAGTGTTGGTGACAAAGAAGTGAGTAATTG	1680
AAATACATATTTCTTGTCTGAGTAATAGCAGTAAACACTAACAGTAAACACTGTGCAGAT	1740
ATTAACCGTGCTCCCTCCATTGTTCCCTGTCTGTAATCAGGGAATGTCCAGGTGGCTCT	1800
GGACTATGTAGGTGATTTTTTCTGGCCCTGCCACGTGTCATTTTCATTTTATTTAACCT	1860
TGACTCTGAAGCTGGGATGAGACCATTCTGTATGATACATGGTAATATTTCTTCTGATCG	1920
AGGATTTAGTAGTACATGTATTCTGCCAAATGAGTTTAGATTTCATTGTGAATGTAAGATT	1980
AAGCATTCTTTGAGAAACAGGTGTTCAAAGAAATTTATGGCTTTCTATCAACTTTTTTCA	2040
AAGTATATAAGGAAGAATGGTTTAGTAAAAGAATGAATCTATATATGTATGTTAGATCTT	2100
GAATTCAAACTTTATCTTTTATTTGAATTCCTTTACATCTTTGAGAAAATCACTGATATG	2160
TTATACTCAGTAAAATACATATCTGGATCTGACTCTCTTTTCTCCTATGAAGACTCCT	2220
TCTACTCCAGTAATAATTTGTGCTATCTGTTCAATGTTTCAAATAGTTCAGATACACACAAG	2280
ATATGTTGTTAAATGTTGACCGATTTTACACATGGTACTTACTTGTAAATAATGTGCTATT	2340
AAAAATGAACTAACATGAAAGATAAGGAGTTACCATCATAATTTTATTCAGATATCTTAT	2400
TCTATTTATCCTACAATTAAGTTGCTAATAGTGAGAAAATTTATGTTTCCATAGCTATGGT	2460
CAGTTCATTGAGGTGTAATTCGTAATGTCAAATTAATAATCAAAGTAATGATATGAGTT	2520
GGTTGTCAAAGTGAGACTTTTTTCTTGTCTTAAATTTCTATATATATATATATATTTTT	2580
GGAGACAGAGTCTCTCTTTGTTGCCAGGCTAGAGTGAGTGCCATGGCATCAGCCTAGCT	2640
CATAGCAACCTCAAACCTCTGGGCTCAAGCGATCCTTCTGCCTCAGCCTCCCGAGCAGCT	2700
GGGACTACAGGCATGCGCCACCATGCCCGGCTAATTTTTTCTGTATATATATAGTTGGCCA	2760
ATTAATTTCTTTCTATTTATAGTAGAGATGGGTCTCACTCTTGCTCAGGCTGGTTTCGAA	2820
CTCCTGATCTAGAGCAATCCGCCCGCTCGGCCCTCCAGAGTGCTAGGATTACAGGCGTG	2880
AGCCACTGCACCCAGCCCATGAAATTTCTATATTTGTTATGAGTATGTTTTGTATTATGT	2940
TTATACGATTAATTTTAGTTTTTTCAGTGCATTCAAGAAAGACATCAGCAGCAGGAAATTC	3000
TAGGACACCTTAGTCAAAAGGACAACCTATTTAAAGGAGCAACTTTTGATAAAATAAGACTT	3060
TAGAATATGACATTTTAAAAAATGAAAGCCTTCAGCAGAAAAAGAACTGGATTCACTCT	3120
TTCTGAAAAACAACATATGTATATAAAAAATGAGATCTTTTCAAATCTTTGGAAAAATA	3180
CAGGTATGGAGGAAATCTTGAATGTAAGATTGCATGATTTTTTCACTTCTTCTCTCTAG	3240
AAACTTTGAAGTTGAATAAACAGGTTTATGATATGTACTAGTGTATGATGATGATGATGAT	3300
GACAACCTTTAATTTGTGCGCTTTCATGTAATATAGTATTTGGGGTTGCTTATTTCAA	3360
TATGGGATTAGGACCCTGGGAGCCATGTTTGGATCAGTAGACTCCTATAGTTCCCATAAC	3420
TCAATGGCAGCTCTTACATTCTTACTGCTCTGAAAAGGTGAAATAGCATGTCAGCTCTTC	3480
TGAAAATTCAGATCATTTTGGTCTGTGGCAAATTAAGATTCCCGCTCTTTGTTGGCAT	3540
AGAATATGGAGGCTGGGCCATCAGTAAAAGTATATTTAGGCTAAAATGGGCAAAAGAGCT	3600
TTTAGTTGGATGCTTTTATAAAGAAAATTTGTGTGTGTTTTTCACTTCTGCTTACTTCTAG	3660
TATTTGGTCTATTTGTGACCGGTATATCTGCAGTATGTCTGAAAGATTTGCTATCGTGTT	3720
GATGTTTGCCTAACTCCACGTGATCATAACCTTAAAAACACTCAAGAGATAAACATATTA	3780
CATCTCATACAATGAACGTCCTTATCTTGCATAATGAAAGAATGAATTGACCTAGTTAAT	3840
CAACAACACTGAGTATTTGTTTAGGATTTAGAGTTCCCAAAGAGCTTTTGTGTATTTAA	3900
TCTCATTTAAGTATGGTACTAAAAATTTATTGTCTCTATTATTACAGGGTCTATAATATT	3960
TTAAAATTTTGGTACATATTAATACATGAAAGGAAAAGAACAATTTCTAAAAATAATG	4020
TTTCTATTACTTAGAAGGCATTCCAGAATTTTTTAAAATTTAATTTTTATTATTTTTTAGG	4080

CAGCTATATTAAAGTATTATTGATATACAAAACTGCACATATTTAATATATTCAATTGG	4140
ATGAGTTTGAACATATGTGTACAACCTGTGAAATCAACACCACAATCAAGGTTATAAACAT	4200
AGCTATCACTTCCAAAATTTTCCCTCATGTTTATTTATTTATTTATGGTGAGAACATTTAA	4260
CATGAGATCTACCCTCTTAGCAAGTGTTAAGTGTACAATACAAAATCGTTAACTATTGGC	4320
ACTATGTTGTACAGTAGATCTCTAGAACTTATTCATCTTGCATAAATTGAAACTTCATAACC	4380
TAAGTTACAGCTCTTCATTTCTCCCTGCCCCAGCCCCAGGCAACCACCATTCTATTCTC	4440
TGCTTCCATGAGTTTGACTATTTTCGATACCTTATCTAAGTGAATCATAAAGTGTGTTG	4500
CCTTCTGTGATTGCCTTATTTTCATGTAGCATAACGTCTTCAAGGTTTATCCGTGTTGTTG	4560
GACATAGCAGGATTTACTTATTTTTAAAGGCGGAATAATATTCCATTGTATGTATATGCC	4620
ACATTTTCTTTATATTTATCCACCCTTGGACATTTAGGTTGTTACCGGATCTTGGCTATT	4680
GGGAATAAAGCCGCATTAACCATGGGAATGCAGGTGTCTCCTGGTATTCCGGAATCTTGA	4740
GGAGCCTCGTATTATCATTATTGACAGCTACTGAGATTTTATTTAGTCATGGAGAGCTGA	4800
TAAATACATTGCTCTGGTTGACAGAATCCAGATGACAAGAAAATGCAATGATTACCTGAT	4860
ATGTTGTAGGCAAACGTTATGAAGCCCCTGGACCTGTTGTGGATTAAAGCTGTTATTATT	4920
TTGCCATGGAAAATAAAAACTGGAAGGGATGCAAACAGACTTGCCAAAAGTTACAAAATCCT	4980
CCCTTTTGAAGATAGATGATGAAGATGAACTGTACCGTGGACTCTTACATTCACTTTTTA	5040
TTCTCTTGGACTCTGTCTTTTACCCTTGAACCTAAGATATTGAGGACAGGCAGGAATCCA	5100
GAAAGAGAGACCTTTAGCTGTTGTTTCGTGTTGTGCCTATTGTGTGAGCAAAAACCTGTATA	5160
GTTAAGAGTCTCATAGGAGACCCCTGCCTGCTAATAGGGATATGATCCTGTTACTTACTA	5220
AGTACCTAATACATATTATCTATTTTGTATGACAGTTATTATTAAGGATGCAGTTTGGGTC	5280
TTTGCAATCATCTCCCTTTTCCAAGGAGTTTGAATAGAGCCACTCACAGAGAAAATATGCT	5340
TTTCCCTTTTGAAGTACTTAACCTTTTGGTAAATTGTGGCTTGGAAACCAACAGTTATTTT	5400
ATCTCTATAAGGTAGCAACTAAGAATTGGGATGCAGAATAGTCTAGTAGTTACTATCAGG	5460
AACCCAGGAGCCAGGCTGCCTGGGGGCAAATCCAGCTCTACTACGTATTTAGCTGCGTGA	5520
CTTTCAGTATTACTTACCCTCTCTGGGCCTATTTGCAAAATGGAGATAATAATGAGGAAC	5580
TTAAAAGTGGTAAGATTTACAAATTAGCCTCATAGTATTTTTCATTGCATCTGCAGGTAA	5640
CATTTAAATGATTAACATTTCTATATATTACATCCAGGTATATCTCCTTAAGACATAAAA	5700
AGAGAAAATATAGTGACAACAATACTGAATTTTAAAAAGTTTACTACTAACAAAAATTA	5760
TCCAGATACACAAAATGCGTTTTTTATAGAGACATGTTTGCAAAGATCAGCCTGAAACCT	5820
CTGTTTATCATTTTAGGAAAACAATACAACATTTGTATGTAAATCTAATAAATGTTTAAAA	5880
TCACAACAAAAAGAATTCTTGATATTGTCATGAAAATAATTGTTTATGTTCAAATCAGTAA	5940
AATGTAGTTACATTTAAACTTACAGTTTAAAAATATATTCAGTCATGTAATCAAACATTAT	6000
GTAATATGTCACTTTGATATATCACATTTTATAGATATAGTTAAATACTTCCAAATACTGCC	6060
TCCTTTCCCTTCAACCCCTTCCAACACTGAATTCTAGCAAGAGGCTGAAGCTTTTAAATG	6120
CTGCCCTCACACAAACACTTTTTATTTTAAATAAATTTGTTTTGAAGATTTTCATCTTTAAC	6180
TTATGATTGGGTGATGATCAATTTTCTACATCCTAAATATTTTGGGGGAGCCTGATGTTG	6240
AATAGTTTCAGAAAGCATCATAAATTATTTAACAAGTCTTCTATTGCTAGATATTTAGAT	6300
TTTTTAAATTTTCCCTATTTTAAATAATCTATGAGAGCAGCAGCCATTTTAAACATAAAT	6360
AAATAATGTATTAGGGGGACATTGCTTTGGAAAATGAAAACACAGGGATTGAGGGGAGAG	6420
AGGTTAGTTCTCTAGCAAGGAGGAATGAAGGATGCTGCTGAGAGTAGCAGAGACAGCTGG	6480
CCCTTCAGCCTGTCTCTCTGCACTCCTCTACCGGATGGGAGTTGAATCACATGATGTG	6540
TTTTGTTTCCCTTCATAGACCTTCGTTCAACTCCAGATTTATAAAAAATAATTACTGGATCG	6600
GATTATCATATGATGAGAGGGAAAGTAAATGGAAATGGGTGATAGTGGCTCGTCTCCCG	6660
GAATGTAAGTTTCTAGAGAGTCTCAAACCTGACATTTGGTGGGGGGTTGAAAGGATTGT	6720
GTCTAAAAAGAATTTTTTCTAATTTTACACAGCTTTACTCATTTTCAAGTAGCAGTCAT	6780
TGGTAAGAATAAAAAGGGATGAGTAAGGAAGTGTTTTAGGAAGTGTAGTTAAAAAAGGAAG	6840
AGAAGTGTATGCACAGTAACAGTGAAGAGTATGATGCTAAACAAAATGCCAGAGGCAC	6900
ACAAAATGAAACAAAATCATAAAAATAAGATGATATAAAGTGATTGGACCATCTTGACTTA	6960
GCTATAAGGATCTCTCCCAACCAACCAAAATCAGTGTACCGAGCATTGCCAAAATTCATTT	7020
GAAATCCCTTTATATAAATTAGTTTCTACATCTCTATATTTATTTATATGTTATTTATAAA	7080
TATATATATATACACATATATTCATGTTGTTCTATTTTGAAGTACGGTATTATGTAAAC	7140
TCTCAGGTTTACCTTTAGTTCTAATCTGCTGTTAAATGGTTCATTGATTTGTAAAAA	7200
TCTCAACTATTTTATTTCTAGGAATTCTGTTTTGGGTTTTCAAATATCCTTGCTAGTTAC	7260
TCATATTTTTAAGCTGTATTTTATTTCTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTGGAGACAGAGTCTCAC	7320
TTTGTGTCCAGGCTAGAGTGAGTGCCATGGCATCAGCCTAGCTCACAGCAACCTCAAAC	7380
TCCTGGGCTCAAGCGATCCTGCTGCCTCAGCCTGGCGTGAGCCACCGCGCCCGCCTGTA	7440
TTTTATTTCTTGAAAGATATTAACACACTTATTTTACACATGATATCTGATAATTCTTT	7500
TTTTTGTTTTTTTGAGGGGGAGTCTTGTCTGTTACCCAGTTAGAGTGCAGTAGCGTCAAC	7560

ATAGCTCACTACAACCTCAAACCTCCTGGGCTCAAGTGATCCTCCTGCCTCAGCCTCCTGA	7620
ATAGTTGGCACTGCAGGTGTGCATCACCAAGCCCCAGCTAATTTTTTTTCTTTTTTGTGT	7680
AGAGACCGAGTCTCACTCCTGCTCAGGCTGGTCTTCTAGACTCCTGAGCTCATGTGATTC	7740
TCCTGCCTCGGCCCCCAGAGTGCTAGAATTACTGTGCCGGGCCCTGATAAATTCTAACAT	7800
TTGAAGTTTTTGTGGGTCTAATCTATTATTTCTGCTGTTTTTTGTTTCATCATCCCATTTTC	7860
TTTGTAGTATTTAGTGATTTATTTTTCTTTTTGAGCTGCTTTTGACACTATTTGAGGCCT	7920
GAGATGAAGTTGGTACCTTCCTTAAGAAAGAATTTGCTGGCCGGGCGCGGTGGCTCACGC	7980
CTGTAATCCTAGCTCTCTGGGAGGCCGAGGCGGGTGGATTGCTCAAGGTCAGGAGTTCGA	8040
AACCAGCCTGAGCAAGAGCGAGACCCGCTCTACTATAAATAGAAAGAACTAATTGGCC	8100
AACTAATATACATAGAAAAAATTAGCTGGGCATAGTGGCTCATGCCTGTAGTCCCAGTA	8160
CTTGGGAGGCTGAGGCAGGAGGATTGCTTGAGCCCAGGAGTTTGAGCTTGCTGTGAGCTA	8220
GGCTGACGCCATAGCACTCACTCTAGCCTAGGCAACAAAGCAAGACTCTGTCTCAAAAAA	8280
AAAAAAAAAAGAAAGAAAGAATTTGCTTTTTGTTGGATGGCTTGGGGCACTGTGAGTCTG	8340
GGTCACTTTTGATTACAAAATTTAAGCCTTGCAAGTATCATTAGTTCTGGGCTGCAAATCT	8400
ACAAACAATGTCATGCAGGAAATTACCTTGATGTGATTTGTATCCCCAAGCACACTCCC	8460
AGGAAACCTAACCCAGAGGTCACACAATAGAAAAGCTAATAAGCCAAATTAAGCTGCTCA	8520
AGTCACACAGTTAATTAATCACTTTAAAAACCCATAGCACAATGCAAAGGGACAGCAAT	8580
AGGTTAGATTGTTGCACGTAGGATAAGGTACGAGAGGGTGAAAGGAACACCTAAACCCTG	8640
GGCGCTGCAATCTCCATATTGCCTGACTCTCTTTGCTGCAAAACCCTCGCTTGATGATGT	8700
GGTCGTGGTTTTCTAGGGGCAAACCTTGAGGTTTGAGTAAGAGAGCCCAACAGCCAGAAGGT	8760
TTTTTGTGGCCAGCACACACATTTTCTCGACCAGGGAGGTGCAGAAGCATGTAAGTGTGGC	8820
CACAGCTGCAACTTTCTATTAACCTGATAAGAAGATATGTATTTAATTTGTGTTTTCTTG	8880
GGCAGAGGCCAGAATGGGTAGTGAAGTGAAGACCTCATGAATGCTGAGTGTGTATGTCCC	8940
TCATGTATATTTTGTGTATATTGAGTGTGCACTTGGTCCTTCCTTCCTTTTTTGTCTGTG	9000
TTCAGCACACACATCCTCTACTCACTGTATCTCTACCTGTCTCATAGGTTACTAATTTAC	9060
CTATCCATTGCTACCACACTTTGTGTTCTACCTATGCCTTGCAGCTATTGTACTTGGTT	9120
TCACTTATCCTCATTTGTTTCTTTTTTCTATGCCAGATTTGACTATTCTTAAGTAATAT	9180
AGCATTATGCAATTACATGTGGGATGCTTTGTGATTTGAGTTCTCAGGTGGGATTTTC	9240
TTTTTGTCTTCTGCTTAAATCCAAGGTTCAAGACAGTTCTAGGTGGTTTACATTGAAGAT	9300
ATATCCTCTTTGGGGTCTCTGCCCTATGCAGCTTGTGGAGATTCTGGATCTCCATGTCAG	9360
TGGGATTCATCTCAGCCTATTATATCCATCACGGGAAAAAATGGCTTCAGTGCTTTTCCTT	9420
ACTCTCGTGGGTCCCCACATTTACTTAAATCTTCAGCCTGAGTATGAATCTGCTTCTTATC	9480
ACTTTATGAATTTATTTTATATGGTTTTAAATTTTTTTTCAATTCAGCATTTTAAATTGTGTT	9540
CAGTAGAAAGTTGGTTATGGCACCTAATCCACCATTTTGTGAAATAGATGTCCTGCTTT	9600
AGATATTTCTCAATGGATTGTCATGTGTTAACTATTAGGAAAAGAGACAATAAAACGAAA	9660
ACAGGAAACAGCCTCATTTCTGAGTTTATTCTAATTCTACTTTTTTCTCCTGGAAGTATA	9720
TTACATGAGATGTGGTTATCTGTGTCACCTCAGGAATTCAGTTCTTCTTTTTTTCATCTCTC	9780
ACTTTTATTGAAATAAAATGAACCAAAGAAAGCAGGTTTGGAAATATCACAGTCCCATTTG	9840
CAATGCTATAAGGTAATTTTATCTTCTGACCAAAAATTTGTCAGTGTGGAATAAAATGGGA	9900
GATTTTGGGTGTGATTAAGAGGCACGATTGTATTTAAAGGACTAAGAGCCAAAGACAGTC	9960
TTTCAGTGATGAAGCTATGGTTAACGCTTCCATATTCCAGATATTTAGCCAATATAATTT	10020
TTAAAAAATCATGATTTATGTAATTGCAAGCTTCCAAATTAACAATTGGCCATGTAT	10080
GTTTTCTGTTTTACAGTAATGTTGGAATAATGAATTCGTCTTCTGGGAGAGGAAAAATGTG	10140
GATTTTTATCCTCAACAAGAGTAGCAGCTATTGATTGCATTCAAACCTTACAACCTGTATCT	10200
GTGAAAAGAGAATTGGCTGTAGTATTTTCTCTGCTTCAGCATGCACTGAGAAGAAAAGGT	10260
GAAAAATGGAATGTTGTCTTTTTTTGTTTACTTCTTCTAATAAATTTCTGATTACTTTCAA	10320
CAAATGTTTTTACCTGCAGGACTTAGTCCATTGTTG	10356