

Příloha 1

- **Sekvence aminokyselin lidské ASK1 (převzato z databáze PubMed a upraveno)**

MSTEAD~~E~~GIT FSVPPFAPSG FCTIPEGGIC RRGGA~~A~~AVGE GEEHQ~~L~~PPPP
PGSF~~W~~NVESA AAPGIGCPAA TSSSSATRGR GSSVGGGSRR TTVAYVINEA
SQGQLVVAES EALQSLREAC ETVGATLETL HFGKLD~~F~~GET TVLDRFY~~N~~AD
IAVVEMSDAF RQPSLFYHLG VRESFSMANN IILYCDTNSD SLQSLKEIIC
QKNTMCTGNY TFVPYMITPH NKVYCCDSSF MKGLTELMQP NFELL~~L~~GPIC
LPLVDRFIQL LKVAQASSSQ YFRESILNDI RKARNLYT~~G~~K ELAAELARIR
QRVDNIEVLT ADIVINLLLL YRDIQDYDSI VKLVETLEKL PTFDLASHHH
VKFHYAFALN RRNLPGDRAK ALDIMIPMVQ SEGQV~~A~~SDMY CLVGRIYKDM
FLDSNFTDTE SRDHGASWFK KAFESEPTLQ SGINYAVLLL AAGHQ~~F~~ESSF
ELRKVG~~V~~KLS SLLGKKNLE KLQSYWEVGF FLGASV~~L~~AND HMRVIQASEK
LFKLKTPAWY LKSIVETILI YKHFV~~K~~L~~T~~TE QPVAKQELVD FWMDFLVEAT
KTDVTVVRFV VLILEPTKIY QPSYLSINNE VEEKTISIWH VLPDDKKG~~I~~H
EWNFSASSVR GVSISKFEER CCFLYVLHNS DDFQIYFCTE LHCKKFFEMV
NTITEEKGRS TEEGDCE~~S~~DL LEYDYEYDEN GDRVVLGKGT YGIVYAGRDL
SNQVRIAIKE IPERDSRYSQ PLHEEIALHK HLKHK~~N~~IVQY LGSFSENGFI
KIFMEQVPGG SLSALLRSKW GPLKDNEQTI GFYTKQILEG LKYLHDN~~Q~~IV
HRDIKGD~~N~~VL INTYSGVLKI SDFGTSKRLA GINPCTETFT GTLQYMAPEI
IDKGPRGYGK AADIWSLGCT IEMATGKPP FYELGEPQAA MFKVG~~M~~FKVH
PEIPESMSAE AKAFILKCFE PDPDKRACAN DLLVDEFLKV SSKKKKTQPK
LSALSAGSNE YLRS/RIPSL PVPVLVEDTS SSSEYGSVSP DTELK~~V~~DPFS
FKTRAKSCGE RDVKGIRTLF LGIPDENFED HSAPPSPEEK DSGFFMLR~~K~~D
SERRATLHRI LTEDQDKIVR NLMESLAQGA EEPKLKWEHI TTLIASLREF
VRSTDRKIIA TTLSK~~L~~KLEL DFDSHG~~I~~SQV QVVLFGFQDA VNKVLRNHNI
KPHWMFALDS IIRKAVQTAI TILVPELRPH FSLASESDTA DQEDLDVEDD
HEEQPSNQT~~V~~ RRPQAVIEDA VATSGVSTLS STVSHDSQSA HRSLNVQLGR
MKIETNRLLE ELVRKEKELQ ALLHRAIEEK DQEIKHLK~~L~~K SQPIEIP~~E~~LP
VFHLN~~S~~SGTN TEDELTDWL RVNGAEDTI SRFLAEDYTL LDVLYYVTRD
DLKCLRLRGG MLCTLWK~~A~~II DFRNKQT-LL LNL

- **Sekvence aminokyselin N-terminálního fragmentu ASK1, ASK1⁴⁶⁻³⁰² s histidinovou kotvou a GB-1 proteinem na N-konci (převzato z databáze ProtParam a upraveno)**

MNSSHHHHHH MQYKLILNGK TLKGETTTEA VDAATAEKVF KQYANDNGVD
 GEWTYDDATK TFTVTEENLY FQGAMGSLPP PPPGSFWNVE SAAAPGIGCP
 AATSSSSATR GRGSSVGGGS RRTTVAYVIN EASQGQLVVA ESEALQSLRE
 ACETVGATLE TLHFGKLDLF ETTVLDRFYN ADIAVVEMSD AFRQPSLFYH
 LGVRESFSMA NNIILYCDTN SDLQSLKEI ICQKNTMCTG NYTFVPYMIT
 PHNKVYCCDS SFMKGLTELM QPNFELLGIP ICLPLVDRFI QLLKVAQASS
 SQYFRESILN DIRKARNLYT GKELAAELAR IRQR

V sekvenci je modře označena histidinová kotva, za níž následuje GB-1 protein. Samotný N-terminální fragment ASK1⁴⁶⁻³⁰² je označen červeně.

- **Sekvence aminokyselin N-terminálního fragmentu ASK1, ASK1⁸⁸⁻³⁰² s histidinovou kotvou a GB-1 proteinem na N-konci (převzato z databáze ProtParam a upraveno)**

MNSSHHHHHH MQYKLILNGK TLKGETTTEA VDAATAEKVF KQYANDNGVD
 GEWTYDDATK TFTVTEENLY FQGAMGSSRR TTVAYVINEA SQGQLVVAES
 EALQSLREAC ETVGATLETL HFGKLDLFGET TVLDRFYNAD IAVVEMSDAF
 RQPSLFYHLG VRESFSMANN IILYCDTNSD SLQSLKEIIC QKNTMCTGNY
 TFVPYMITPH NKVYCCDSSF MKGLTELMQP NFELLGPIIC LPLVDRFIQL
 LKVAQASSSQ YFRESILNDI RKARNLYTGK ELAAELARIR QR

V sekvenci je modře označena histidinová kotva, za níž následuje GB-1 protein. Samotný N-terminální fragment ASK1⁸⁸⁻³⁰² je označen červeně.

- **Sekvence aminokyselin N-terminálního fragmentu ASK1, ASK1⁴⁶⁻³²² s histidinovou kotvou a GB-1 proteinem na N-konci (převzato z databáze ProtParam a upraveno)**

MNSSHHHHHH MQYKLILNGK TLKGETTTEA VDAATAEKVF KQYANDNGVD
 GEWTYDDATK TFTVTEENLY FQGAMGSLPP PPPGSFWNVE SAAAPGIGCP
 AATSSSSATR GRGSSVGGGS RRTTVAYVIN EASQGQLVVA ESEALQSLRE
 ACETVGATLE TLHFGKLDLF ETTVLDRFYN ADIAVVEMSD AFRQPSLFYH
 LGVRESFSMA NNIILYCDTN SDLSLQSLKEI ICQKNTMCTG NYTFVPYMIT
 PHNKVYCCDS SFMKGLTELM QPNFELLGIP ICLPLVDRFI QLLKVAQASS
 SQYFRESILN DIRKARNLYT GKELAAELAR IRQRVDNIEV LTADIVINLL
 LSYR

V sekvenci je modře označena histidinová kotva, za níž následuje GB-1 protein. Samotný N-terminální fragment ASK1⁴⁶⁻³²² je označen červeně.

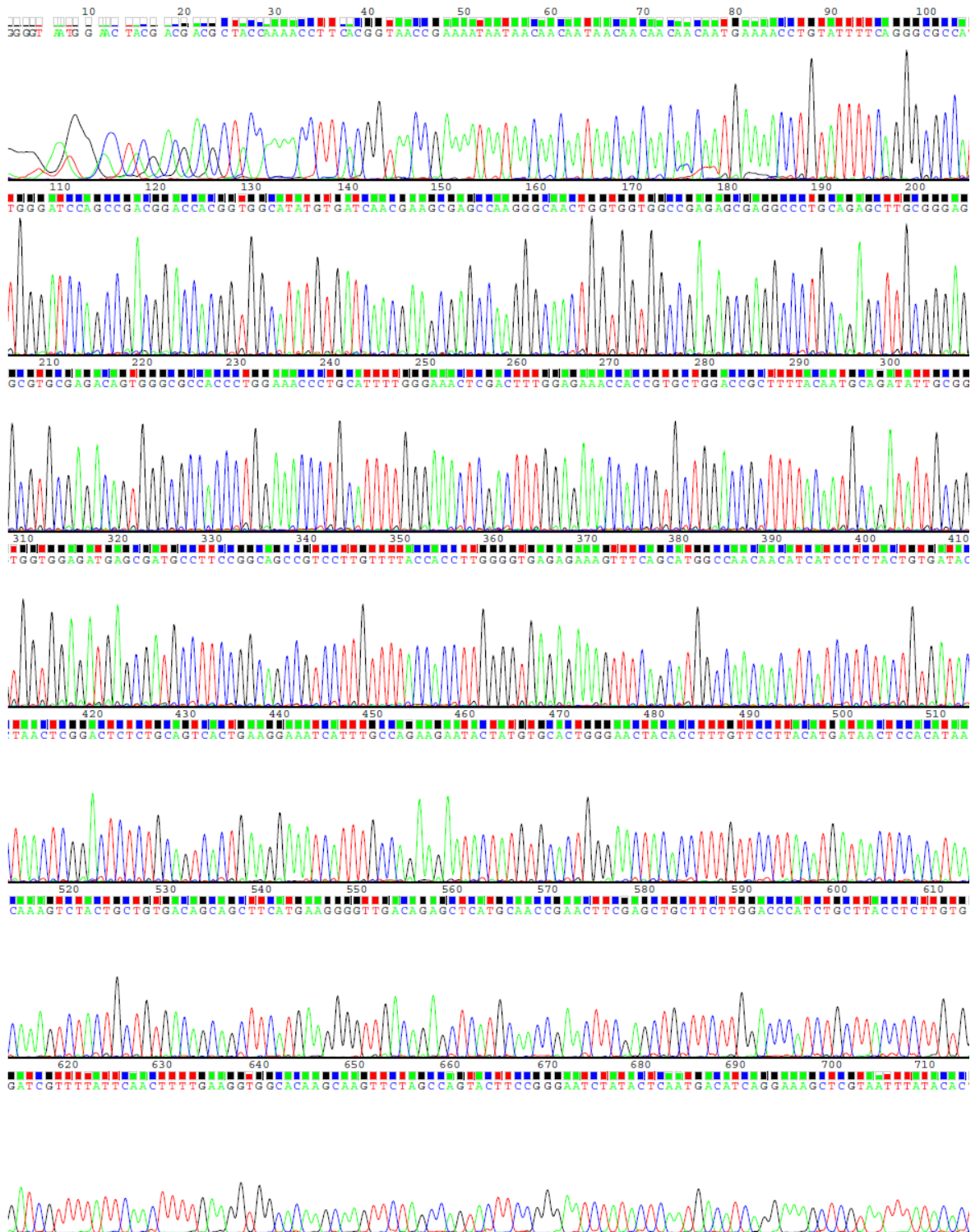
- **Sekvence aminokyselin N-terminálního fragmentu ASK1, ASK1⁸⁸⁻³²² s histidinovou kotvou a GB-1 proteinem na N-konci (převzato z databáze ProtParam a upraveno)**

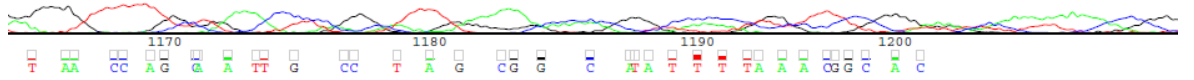
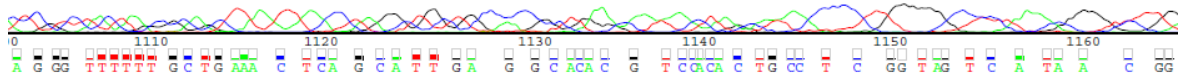
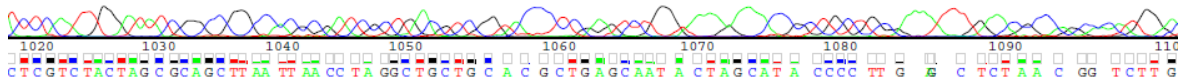
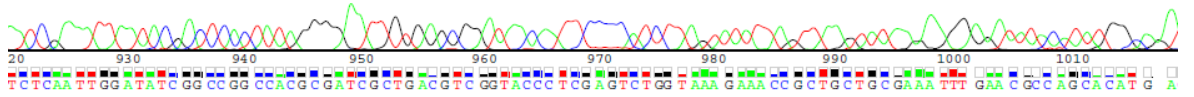
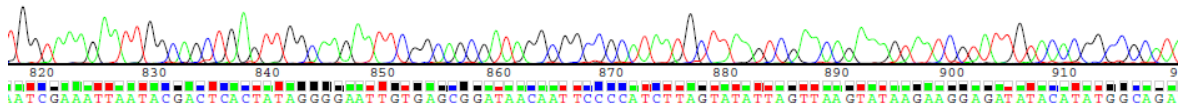
MNSSHHHHHH MQYKLILNGK TLKGETTTEA VDAATAEKVF KQYANDNGVD
 GEWTYDDATK TFTVTEENLY FQGAMGSSRR TTVAYVINEA SQGQLVVAES
 EALQSLREAC ETVGATLETL HFGKLDLFGET TVLDRFYNAD IAVVEMSDAF
 RQPSLFYHLG VRESFSMANN IILYCDTNSD SLQSLKEIIC QKNTMCTGNY
 TFVPYMITPH NKVYCCDSSF MKGLTELMQP NFELLGPIIC LPLVDRFIQL
 LKVAQASSSQ YFRESILNDI RKARNLYTGK ELAAELARIR QRVDNIEVLT
 ADIVINLLLS YR

V sekvenci je modře označena histidinová kotva, za níž následuje GB-1 protein. Samotný N-terminální fragment ASK1⁸⁸⁻³²² je označen červeně.

Příloha 2

- Data získaná ze sekvenční analýzy pro N-terminální fragment ASK1⁸⁸⁻³⁰²



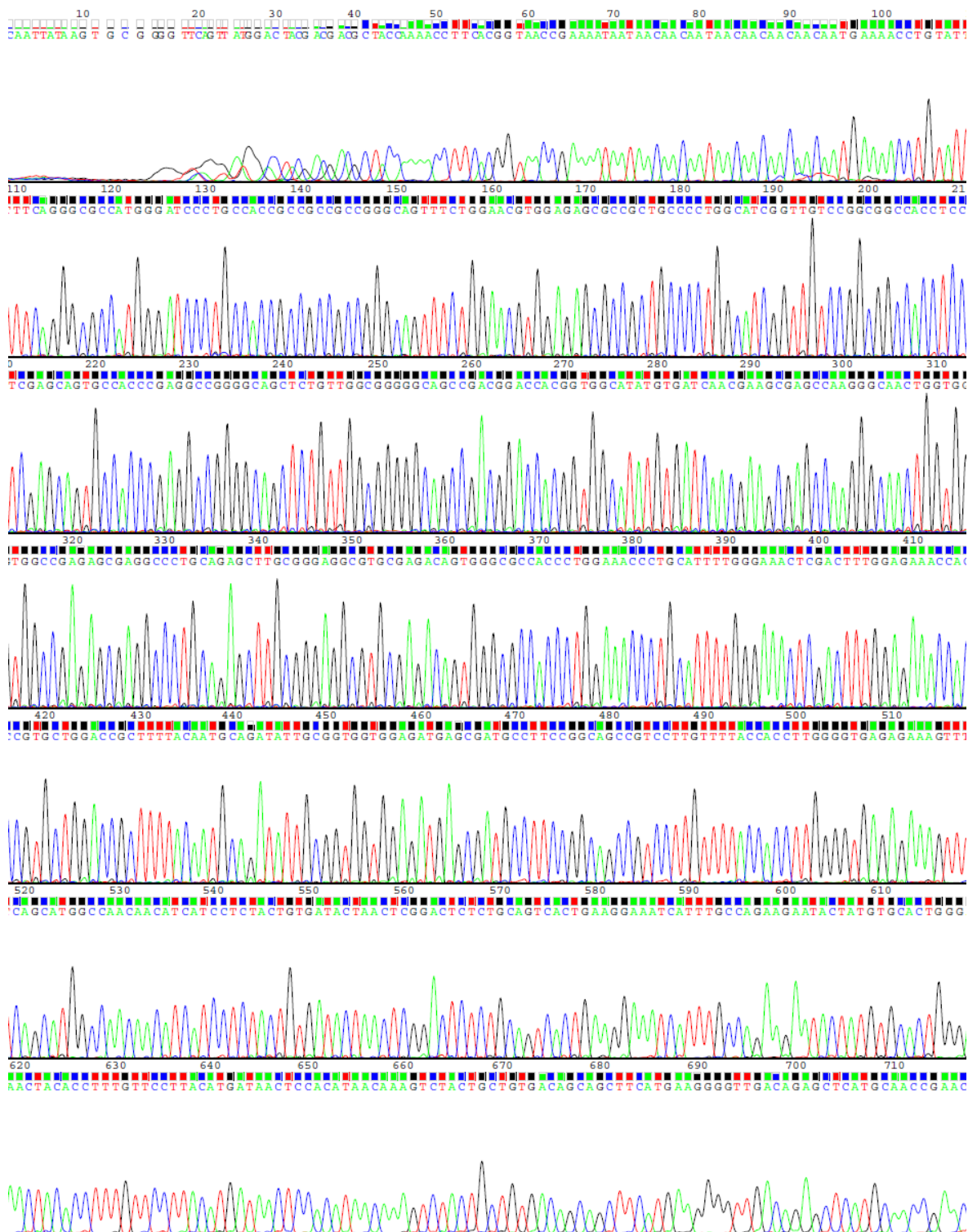


- **Výsledná sekvence konstruktů ASK1⁴⁶⁻³⁰² v pRSFDuet-1 (data ze sekvenční analýzy)**

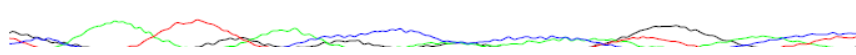
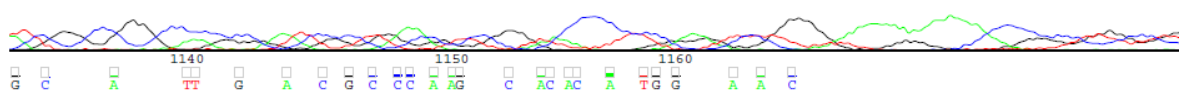
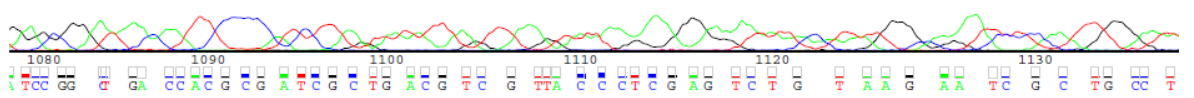
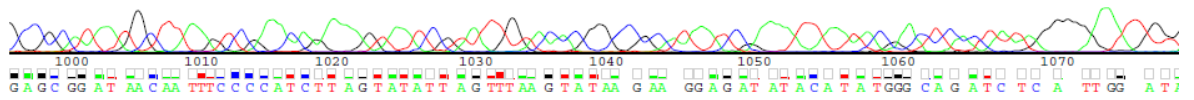
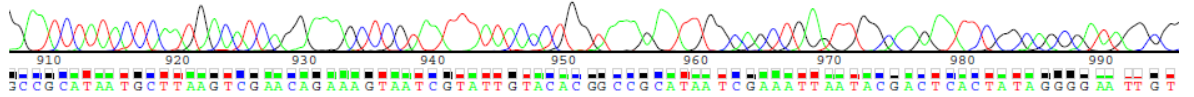
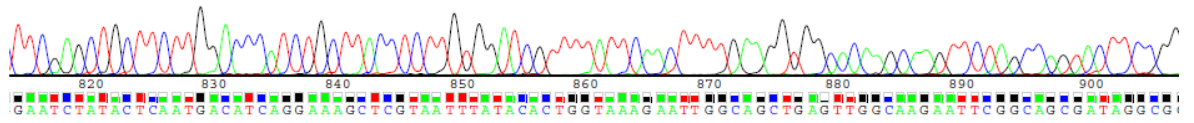
CAATTATAAGTGCGGGGTTTCAGTTATGGACTACGACGACGCTACCAAAACCTTCACGGTAA
CCGAAAATAATAACAACAATAACAACAACAATGAAAACCTGTATTTTCAGGGCGCCAT
GGGATCCCTGCCACCGCCGCCGGGCAGTTTCTGGAACGTGGAGAGCGCCGCTGCCCCCT
GGCATCGGTTGTCCGGCGGCCACCTCCTCGAGCAGTGCCACCCGAGGCCGGGGCAGCTCTG
TTGGCGGGGGCAGCCGACGGACCACGGTGGCATATGTGATCAACGAAGCGAGCCAAGGGCA
ACTGGTGGTGGCCGAGAGCGAGGCCCTGCAGAGCTTGCGGGAGGCGTGCGAGACAGTGGGC
GCCACCCTGGAAACCCTGCATTTTGGGAAACTCGACTTTGGAGAAACCACCGTGCTGGACC
GCTTTTACAATGCAGATATTGCGGTGGTGGAGATGAGCGATGCCTTCCGGCAGCCGTCCTT
GTTTTACCACCTTGGGGTGAGAGAAAGTTTTCAGCATGGCCAACAACATCATCCTCTACTGT
GATACTAACTCGGACTCTCTGCAGTCACTGAAGGAAATCATTTGCCAGAAGAATACTATGT
GCACTGGGAACTACACCTTTGTTTCCTTACATGATAACTCCACATAACAAAGTCTACTGCTG
TGACAGCAGCTTCATGAAGGGGTTGACAGAGCTCATGCAACCGAACTTCGAGCTGCTTCTT
GGACCCATCTGCTTACCTCTTGTGGATCGTTTTATTCAACTTTTGAAGGTGGCACAAGCAA
GTTCTAGCCAGTACTTCCGGGAATCTATACTCAATGACATCAGGAAAGCTCGTAATTTATA
CACTGGTAAAGAATTGGCAGCTGAGTTGGCAAGAATTCGGCAGCGATAGGCGGCCGCATAA
TGCTTAAGTCGAACAGAAAGTAATCGTATTGTACACGGCCGCATAATCGAAATTAATACGA
CTCACTATAGGGGAATTGTGAGCGGATAACAATTTCCCATCTTAGTATATTAGTTTAAAGT
ATAAGAAGGAGATATACATATGGGCAGATCTCATTGGATATCCGGCTGACCACGCGATCGC
TGACGTCGTTACCCTCGAGTCTGTAAGAATCGCTGCCTGCATTGACGCCCAAGCACACATG
GAAC

V sekvenci je červeně označen počátek nukleotidové sekvence N-terminálního fragmentu ASK1⁴⁶⁻³⁰².

• Data získaná ze sekvenační analýzy pro N-terminální fragment ASK1⁴⁶⁻³⁰²



720 730 740 750 760 770 780 790 800 810
TTCGAGCTGCTTCTCTTGACCCATCTGCTTACCTCTTGTGATCGTTTATTCAA CTTTTGAAG GTGGCACAAAGCAAAGTTCTAGCCAGTACTTCCGG



- **Výsledná sekvence konstruktů ASK1⁸⁸⁻³⁰² v pRSFDuet-1 (data ze sekvenční analýzy)**

GGGGTAATGGAAC TACGACGACGCTACCAAACCTTCACGGTAACCGAAAATAATAACAAC
AATAACAACAACAACAATGAAAACCTGTATTTTCAGGGCGCCATGGGATCCAGCCGACGGA
CCACGGTGGCATATGTGATCAACGAAGCGAGCCAAGGGCAACTGGTGGTGGCCGAGAGCGA
GGCCCTGCAGAGCTTGCGGGAGGCGTGCGAGACAGTGGGCGCCACCCTGGAAACCCTGCAT
TTTGGGAAACTCGACTTTGGAGAAACCACCGTGCTGGACCGCTTTTACAATGCAGATATTG
CGGTGGTGGAGATGAGCGATGCCTTCCGGCAGCCGTCTTGTTTTACCACCTTGGGGTGAG
AGAAAGTTTCAGCATGGCCAACAACATCATCCTCTACTGTGATACTAACTCGGACTCTCTG
CAGTCACTGAAGGAAATCATTTGCCAGAAGAATACTATGTGCACTGGGAACTACACCTTTG
TTCTTACATGATAACTCCACATAACAAAGTCTACTGCTGTGACAGCAGCTTCATGAAGGG
GTTGACAGAGCTCATGCAACCGAACTTCGAGCTGCTTCTTGGACCCATCTGCTTACCTCTT
GTGGATCGTTTTTATTTCAACTTTTGAAGGTGGCACAAGCAAGTTCTAGCCAGTACTTCCGGG
AATCTATACTCAATGACATCAGGAAAGCTCGTAATTTATACACTGGTAAAGAATTGGCAGC
TGAGTTGGCAAGAATTCGGCAGCGATAGGCGGCCGCATAATGCTTAAGTCGAACAGAAAGT
AATCGTATTGTACACGGCCGCATAATCGAAATTAATACGACTCACTATAGGGGAATTGTGA
GCGGATAACAATTCCCCATCTTAGTATATTAGTTAAGTATAAGAAGGAGATATACATATGG
CAGATCTCAATTGGATATCGGCCGGCCACGCGATCGCTGACGTGGTACCCTCGAGTCTGG
TAAAGAAACCGCTGCTGCGAAATTTGAACGCCAGCACATGACTCGTCTACTAGCGCAGCTT
AATTAACCTAGGCTGCTGCACGCTGAGCAATACTAGCATAACCCTTGAGCTCTAACGGTCT
TGAGGGTTTTTTGCTGAAACTCAGCATTGAGGCACACGTCCACACTGCCTCGGTAGTCATA
ACGGTAACCAGCAATTGCCTAGCGGCATATTTTAAACGGCAC

V sekvenci je červeně označen počátek nukleotidové sekvence N-terminálního fragmentu ASK1⁸⁸⁻³⁰².