



(12) **PATENT**

(19) NO

(11) **329072**

(13) **B1**

NORGE

(51) Int Cl.

C12N 15/89 (2006.01)
C07K 14/47 (2006.01)
C07K 14/75 (2006.01)
C12N 15/09 (2006.01)
C12N 15/85 (2006.01)
C12N 15/87 (2006.01)
A01K 67/027 (2006.01)

Patentstyret

(21)	Søknadsnr	19963651	(86)	Int.inng.dag og søknadsnr	1995.03.01 PCT/US95/02648
(22)	Inng.dag	1996.09.02	(85)	Videreføringsdag	1996.09.02
(24)	Løpedag	1995.03.01	(30)	Prioritet	1994.03.03, US, 206176
(41)	Alm.tilgj	1996.11.01			
(45)	Meddelt	2010.08.16			
(73)	Innehaver	Pharming Intellectual Property BV, P.O. Box 451, NL-2300 AL LEIDEN, Nederland Donald C Foster, 3002 Northeast 181st Street, Seattle, WA 98155, US-, USA Ian Garner, Edinburgh, Skottland, GB-, Storbritannia Michael A. Dalrymple, Edinburgh, Skottland, GB-, Storbritannia Donna E. Prunkard, Seattle, WA, US-, USA			
(72)	Oppfinner				
(74)	Fullmektig	Tandbergs Patentkontor AS, Postboks 1570 Vika, 0118 OSLO, Norge			
(54)	Benevnelse	Fremgangsmåte for fremstilling av fibrinogen, fremgangsmåte for fremstilling av et transgent avkom fra et ikke-humant pattedyr, samt ikke-humant pattedyr.			
(56)	Anførte publikasjoner	Chemical Abstracts, vol. 115, 1991, nr. 202768, av Redman og Samar, WO 92/11358 A			
(57)	Sammendrag				

Materialer og fremgangsmåter for fremstilling av fibrinogen i trans- gene, ikke-humane pattedyr. DNA-seg- menter som koder for fibrinogen A α -, B β - og γ -kjeder, innføres i kimceller hos et ikke-humant pattedyr, og patte- dyret eller dets avkom av hunnkjønn fremstiller melk som inneholder fibri- nogen uttrykt fra de innførte DNA-seg- menter. Ikke-humane pattedyrembryoer og transgene, ikke-humane pattedyr som bærer DNA-segmenter som koder for heterologe fibrinogenpolypeptidkjeder, beskrives også.

Oppfinnelsens bakgrunn

Foreliggende oppfinnelse omfatter fremgangsmåte for fremstilling av fibrinogen, fremgangsmåte for fremstilling av et transgent avkom fra et ikke-humant pattedyr, samt ikke-humant
5 pattedyr.

Siste trinn i blodkoagulasjonskaskaden er den trombinkatalyserte overføring av det løselige plasmaproteinfibrinogen til uløselig fibrin. Trombin kløyver et lite peptid (fibrino-peptid A) fra én av de tre kjeder ($A\alpha$ -kjeden) i fibrinogen.

10 Deretter polymeriserer fibrinmonomerer og kryssbindes av aktivert faktor XIII slik at en stabil koagel dannes.

Fibrinogen er en nøkkelbestanddel i biologiske vevslim (se f.eks. US patentskrifter nr. 4 377 572 og 4 442 655) som etterligner dannelsen av naturlige blodkoagler for å fremme
15 hemostase og reparere skadet vev. Vevslim tilveiebringer et supplement eller alternativ til suturer, stifter og andre mekaniske midler for sårlukking. Hovedbestanddelene i disse produkter (fibrinogen, faktor XIII og trombin) fremstilles imidlertid fra sammenslått, humant plasma ved kryopresipitering
20 (se f.eks. US patentskrifter nr. 4 377 572, 4 362 567, 4 909 251) eller etanolutfelling (se f.eks. US patentskrift nr. 4 442 655) eller fra plasma fra en enkelt donor (se f.eks. US patentskrift nr. 4 627 879, Spotnitz et al., Am. Surg. 55:166-168, 1989). Det resulterende fibrinogen/faktor XIII-preparat blandes med trombin
25 fra storfe umiddelbart før bruk for overføring av fibrinogen til fibrin og aktivering av faktor XIII slik at koagulasjon av bindemidlet initieres.

Kommersielt tilgjengelige bindemidler har opphav i sammenslått blodplasma. Da produkter avledet fra blod er for-
30 bundet med overføring av humant immunsviktvirus (HIV), hepatittvirus og andre etiologiske midler, har slike bindemidler begrenset akseptans og tilgjengelighet. For tiden er de ikke godkjent for bruk i De forente stater.

Selv om bruk av autologt plasma reduserer faren for
35 sykdomsoverføring, kan autologe klebemidler kun benyttes i valgt kirurgi hvor pasienten er i stand til å donere nødvendig blod på forhånd.

Som bemerket ovenfor, består fibrinogen av tre polypeptidkjeder som hver foreligger i to kopier i det sammensatte

molekyl. Disse kjeder, betegnet A α -, B β - og γ -kjeden, uttrykkes koordinert, settes sammen og utskilles av leveren. Selv om man kunne forvente at rekombinant DNA-teknologi kunne tilveiebringe et alternativ til isolering av fibrinogen fra plasma, har dette
 5 mål vist seg å være vanskelig å oppnå. De tre fibrinogenkjeder har blitt uttrykt hver for seg i *E. coli* (Lord, DNA 4:33-38, 1985; Bolyard og Lord, Gene 66:183-192, 1988; Bolyard og Lord, Blood 73:1202-1206), men funksjonelt fibrinogen har ikke blitt fremstilt i et prokaryot system. Ekspresjon av biologisk aktivt
 10 fibrinogen i gjær er ikke rapportert. Dyrkede, transfekterte pattedyrceller er blitt benyttet til ekspresjon av biologisk aktivt fibrinogen (Farrell et al., Blood 74:55a, 1989; Hartwig og Danishefsky, J. Biol. Chem. 266:6578-6585, 1991; Farrell et al., Biochemistry 30:9414-9420, 1991), men ekspresjonsnivået har vært
 15 så lavt at fremstilling av rekombinant fibrinogen i kommersielle mengder ikke er praktisk gjennomlig. Eksperimentelt bevismateriale antyder at lavere transkripsjonshastighet i dyrkede celler sammenlignet med lever, kan være en faktor i de lave ekspresjonsnivåer oppnådd hittil, men økning av mengden fibrinogenkjede-mRNA
 20 i transfekterte BHK-celler ga ikke tilsvarende økning i fibrinogenproteinsekresjon (Prunkard og Foster, XIV Congress of the International Society on Thrombosis and Haemostasis, 1993). Disse siste resultater antyder at korrekt sammensetning og prosessering av fibrinogen innbefatter vevsspesifikke mekanismer som ikke
 25 foreligger i vanlige cellelinjer i laboratoriet.

I Chemical Abstracts, vol. 115, 1991, nr. 202768, av Redman og Samar, beskrives fibrinogenekspresjon i COS-celler, men ikke i transgene dyr.

I WO 9211358 beskrives produksjon av proteiner i melken
 30 fra transgene mus ved anvendelse av amplifiseringssekvenser.

Det er fortsatt et behov innen faget for fremgangsmåter for fremstilling av store mengder fibrinogen av høy kvalitet til bruk i vevsklebemidler og andre anvendelser. Det er videre behov for fibrinogen som er fritt for blodbårne patogener. Foreliggende
 35 oppfinnelse oppfyller disse behov og tilveiebringer andre, beslektede fordeler.

Oppsummering av oppfinnelsen

Det er et formål ved foreliggende oppfinnelse å til-

veiebringe kommersielt anvendbare mengder av rekombinant fibrinogen, særlig rekombinant, humant fibrinogen. Det er videre et formål ved oppfinnelsen å tilveiebringe materialer og fremgangsmåter for ekspresjon av fibrinogen i brystvev hos transgene dyr, særlig husdyr som storfe, sau, svin og geit.

Foreliggende oppfinnelse omfatter fremgangsmåte for fremstilling av fibrinogen, kjennetegnet ved at den omfatter:

tilveiebringelse av et første DNA-segment som koder for et sekresjonssignal operativt koblet til en fibrinogen-A α -kjede, et andre DNA-segment som koder for et sekresjonssignal operativt koblet til en fibrinogen-B β -kjede, og et tredje DNA-segment som koder for et sekresjonssignal operativt koblet til en fibrinogen- γ -kjede, hvor hvert av nevnte første, andre og tredje segmenter er operativt koblet til en melkeproteingenpromoter og sekvenser som sørger for terminering av transkripsjon og polyadenylering av mRNA,

og de første, andre og tredje segmenter er bundet i en eneste ekspresjonsenhet,

innføring av den eneste ekspresjonsenheten inn i kimlinjen til et ikke-humant pattedyr,

avl av det ikke-humane pattedyr for fremstilling av avkom av hunnkjønn som uttrykker nevnte første, andre og tredje DNA-segmenter, og fremstiller melk som inneholder biokompetent fibrinogen kodet av segmentene,

innsamling av melk fra nevnte avkom av hunnkjønn, og utvinning av fibrinogen fra melken.

Oppfinnelsen omfatter også fremgangsmåte for fremstilling av et transgent avkom fra et ikke-humant pattedyr, kjennetegnet ved at den omfatter:

tilveiebringelse av et første DNA-segment som koder for en fibrinogen-A α -kjede, et andre DNA-segment som koder for en fibrinogen-B β -kjede, og et tredje DNA-segment som koder for en fibrinogen- γ -kjede, hvor hvert av nevnte første, andre og tredje segmenter er operativt koblet til en melkeproteingenpromoter, sekvenser som sørger for terminering av transkripsjon og polyadenylering av mRNA, og et DNA-segment som koder for et sekresjonssignal operativt koblet til segmentet som koder for fibrinogenpolypeptidkjeden,

kobling av det første, andre og tredje segment i en eneste ekspresjonsenhet,

innføring av den eneste ekspresjonsenheten i et befruktet egg hos et pattedyr av en ikke-human art,

5 innsetting av egget i en eggleder eller livmor hos en hunn av den ikke-humane art for erholdelse av et avkom som bærer nevnte første, andre og tredje DNA-segenter.

Også omfattet av oppfinnelsen er ikke-humant pattedyr, kjennetegnet ved at det er fremstilt ved fremgangsmåten ifølge
10 oppfinnelsen.

Disse og andre sider ved oppfinnelsen vil klargjøres for den erfarne utøver ved henvisning til den påfølgende, detaljerte beskrivelse og i vedlagte figurer.

15 Kort beskrivelse av figurene

Figur 1 viser subkloning av en DNA-sekvens for human, fibrinogen A α -kjede.

Figur 2 er et partielt restriksjonskart av vektoren Zem228. De benyttede symboler er MT-1p: metallotioneinpromoter
20 fra mus, SV40t: SV40-terminator, og SV40p: SV40-promoter.

Figur 3 viser subkloning av en DNA-sekvens for human, fibrinogen B β -kjede.

Figur 4 viser subkloning av en DNA-sekvens for human, fibrinogen γ -kjede.

25 Figur 5 er et partielt restriksjonskart av vektoren Zem219b. De benyttede symboler er MT-1p: metallotioneinpromoter fra mus, hGHt: terminator fra humant veksthormon, SV40p: SV40-promoter, DHFR: dihydrofolatreduktasegen, og SV40t: SV40-terminator.

30

Detaljert beskrivelse av oppfinnelsen

Før oppfinnelsen beskrives i detalj, vil det være nyttig å definere visse begreper som benyttes her:

Som benyttet her, betegner begrepet "biokompetent
35 fibrinogen" fibrinogen som polymeriserer ved behandling med trombin slik at uløselig fibrin dannes.

Begrepet "egg" benyttes for å betegne et ubefruktet ovum, et befruktet ovum før fusjon av pronuklei, eller et embryo fra tidlig stadium (befruktet ovum med fusjonerte pronuklei).

Et "hunnpattedyr som fremstiller melk som inneholder biokompetent fibrinogen" er ett pattedyr som, etter graviditet og nedkomst, fremstiller melk under melkegivningsperioden som inneholder gjenvinnbare mengder av biokompetent fibrinogen.

5 Fagfolk vil innse at slike dyr vil fremstille melk og følgelig fibrinogen, diskontinuerlig.

Begrepet "avkom" benyttes i sin vanlige betydning for å omfatte barn og etterkommere.

Begrepet "heterologt" benyttes for å betegne genetisk
10 materiale med opphav i en annen art enn den det er blitt innført i, eller et protein fremstilt fra slikt genetisk materiale.

Det benyttes transgent dyr-teknologi for fremstilling av fibrinogen i melkekjertlene hos en pattedyrvert av hunnkjønn. Ekspresjon i melkekjertelen og påfølgende sekresjon av proteinet
15 som undersøkes i melken, overvinner mange vanskeligheter som møtes ved isolering av proteiner fra andre kilder. Melk er lett å samle opp, tilgjengelig i store mengder og godt karakterisert biokjemisk. Videre foreligger de viktigste melkeproteiner i høye konsentrasjoner i melken (fra tilnærmet 1 til 15 g/l).

20 Fra et kommersielt synspunkt er det klart å foretrekke å benytte som vert en art som har stor melkeproduksjon. Selv om mindre dyr som mus og rotter kan benyttes (og vil foretrekkes på det stadium hvor konseptet skal bevises), foretrekkes det i foreliggende oppfinnelse å benytte pattedyr av buskapsarter,
25 heriblant, men ikke begrenset til, svin, geit, sau og storfe. Sau er spesielt foretrukket grunnet faktorer som tidligere erfaringer med transgenese i denne art, melkeproduksjon, omkostninger og lett tilgjengelighet av utstyr for oppsamling av sauemelk. Se WO 88/00239 for en sammenligning av faktorer som påvirker valget av
30 vertsart. Det er generelt ønskelig å velge en rase av vertsdyr som er avlet for meieribruk, som f.eks. "East Friesland"-sauer, eller å danne meieristammer ved avl av den transgene linje på et senere tidspunkt. I alle tilfeller bør dyr med kjent, god helsestatus benyttes.

35 Fibrinogen fremstilt kan være humant fibrinogen eller fibrinogen fra et ikke-humant dyr. For medisinsk anvendelse foretrekkes det å benytte proteiner som er native for pasienten. Foreliggende oppfinnelse tilveiebringer således fibrinogen for anvendelse både i human- og veterinærmedisin. Klonede DNA-

molekyler som koder for komponentkjedene i humant fibrinogen, er beskrevet av Rixon et al. (Biochem. 22: 3237, 1983), Chung et al. (Biochem. 22: 3244, 1983), Chung et al. (Biochem. 22: 3250, 1983), Chung et al. (Adv. Exp. Med. Biol. 281: 39-48, 1990) og
 5 Chung et al. (Ann. NY Acad. Sci. 408: 449-456, 1983). Fibrinogenkloner fra storfe er beskrevet av Brown et al. (Nuc. Acids Res. 17: 6397, 1989) og Chung et al. (Proc. Natl. Acad. Sci. USA 78: 1466-1470, 1981). Fibrinogenkloner fra andre pattedyr er beskrevet av Murakawa et al. (Thromb. Haemost. 69: 351-360,
 10 1993). Representative sekvenser for humane $\text{A}\alpha$ -, $\text{B}\beta$ - og γ -kjedegener er vist i henholdsvis SEKV.ID NR. 1, 3 og 5. Fagfolk vil innse at alleliske varianter av disse sekvenser vil finnes, at ytterligere varianter kan dannes ved aminosyresubstitusjon, -delesjon eller -insetsjon, og at slike varianter er anvendbare.
 15 Generelt er det å foretrekke at enhver utarbeidet variant kun omfatter et begrenset antall aminosyresubstitusjoner, -delesjoner eller -insetsjoner, og at alle substitusjoner er konservative. Således foretrekkes det å fremstille fibrinogenkjedepolypeptider som er minst 90%, fortrinnsvis minst 95%, og mer foretrukket 99%
 20 eller mer, identiske med sekvensen til de tilsvarende, native kjeder. Begrepet " γ -kjede" er ment å omfatte den alternativt spleisede γ' -kjede i fibrinogen (Chung et al., Biochem. 23: 4232-4236, 1984). En aminosyresekvens for human γ' -kjede er vist i SEKV.ID NR. 6. Den kortere γ -kjede fremstilles ved alternativ
 25 spleising ved nukleotidene 9511 og 10054 i SEKV.ID NR. 5, noe som fører til translasjonsterminering etter nukleotid 10065 i SEKV.ID NR. 5.

For å oppnå ekspresjon i melkekjertelen benyttes en transkripsjonspromoter fra et melkeproteingen. Melkeproteingener
 30 omfatter genene som koder for kaseiner, beta-laktoglobulin (BLG), α -laktalbumin og surt myseprotein. Beta-laktoglobulinpromoterens foretrekkes. Når det gjelder beta-laktoglobulingenet fra sau, vil generelt et område som omfatter i det minste de proksimale 406 bp 5'-flankerende sekvens i saue-BLG-genet (beliggende innen nukleo-
 35 tidene 3844 til 4257 i SEKV.ID NR. 7), bli benyttet. Større deler av den 5'-flankerende sekvens, opp til tilnærmet 5 kbp, foretrekkes. Et større DNA-segment som omfatter det 5'-flankerende promoterområde og området som koder for den 5' ikke-kodende del av beta-laktoglobulingenet (beliggende mellom nukleotidene 1 til

4257 i SEKV.ID NR. 7), foretrekkes spesielt. Se Whitelaw et al., Biochem. J. 286: 31-39, 1992. Tilsvarende fragmenter av promoter-DNA fra andre arter er også egnet.

Andre områder fra beta-laktoglobulingenet kan også
5 innføres i konstrukter, likeså genomiske områder fra genet som skal uttrykkes. Det er generelt akseptert innen faget at f.eks. konstrukter som mangler introner, uttrykkes dårlig sammenlignet med dem som inneholder slike DNA-sekvenser (se Brinster et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85: 836-840, 1988; Palmiter et al.,
10 Proc. Natl. Acad. Sci. USA 88: 478-482, 1991; Whitelaw et al., Transgenic Res. 1: 3-13, 1991; WO 89/01343; WO 91/02318). I denne sammenheng foretrekkes det generelt, hvor mulig, å benytte genomiske sekvenser som inneholder alle eller noen av de native introner i et gen som koder for proteinet eller polypeptidet som
15 skal undersøkes. Innen visse utførelser av oppfinnelsen foretrekkes videre innføring av i det minste noen introner fra beta-laktoglobulingenet. Ett slikt område er et DNA-segment fra den 3' ikke-kodende del av beta-laktoglobulingenet fra sau som tilveiebringer intronspleising og RNA-polyadenylering. Når dette beta-laktoglobulingensegment fra sau innsettes i stedet for de
20 naturlig forekommende 3' ikke-kodende sekvenser i et gen, kan det både forhøye og stabilisere ekspresjonsnivået av proteinet eller polypeptidet som undersøkes. Innen andre utførelser erstattes området som flankerer initieringskodonet ATG i én eller flere av
25 fibrinogenekspresjonene, med tilsvarende sekvenser fra et melkespesifikt proteingen. Denne erstatning tilveiebringer et mulig vevsspesifikt initieringsmiljø slik at ekspresjonen forsterkes. Det er enkelt å erstatte den fullstendige prepro- og 5' ikke-kodende sekvens i fibrinogen med tilsvarende sekvenser fra f.eks.
30 BLG-genet selv om mindre områder kan erstattes.

For fibrinogenekspresjon kobles DNA-segmenter som koder for hver av de tre polypeptidkjeder i fibrinogen, operativt til ytterligere DNA-segmenter som kreves for deres ekspresjon slik at ekspresjonsenheter dannes. Slike tilleggssegmenter omfatter den
35 ovenfor nevnte melkeprotein-genpromoter så vel som sekvenser som tilveiebringer transkripsjonsterminering og mRNA-polyadenylering. Ekspresjonsenheter vil videre innbefatte et DNA-segment som koder for et sekresjonssignal, operativt koblet til segmentet som koder for fibrinogenpolypeptidkjeden. Sekresjonssignalet kan være

et nativt fibrinogensekresjonssignal eller et signal fra et annet protein, f.eks. et melkeprotein. Begrepet "sekresjonssignal" benyttes heri for å betegne den del av et protein som styrer det gjennom sekresjonsveien i en celle til utsiden. Sekresjonssignaler finnes mest vanlig ved proteinenes aminoterminalende. Se f.eks. von Heinje, Nuc. Acids Res. 14: 4683-4690, 1986; og Meade et al., US patentskrift nr. 4 873 316.

Konstruksjon av ekspresjonsenheter utføres enkelt ved å innsette en fibrinogenkjedesequens i en plasmid- eller fagvektor som inneholder tilleggs-DNA-segmentene, selv om ekspresjonsenheten kan konstrueres ved stort sett enhver ligeringsrekkefølge. Det er spesielt fordelaktig å tilveiebringe en vektor som inneholder et DNA-segment som koder for et melkeprotein, og erstatte melkeproteinets kodende sequens med sekvensen for en fibrinogenkjede (innbefattet et sekresjonssignal), hvorved en genfusjon dannes som omfatter ekspresjonskontrollsekvensene fra melkeproteingenet. I alle tilfeller forenkler kloning av ekspresjonsenheter i plasmider eller andre vektorer amplifisering av fibrinogensequensene. Amplifisering utføres enkelt i bakterievertsceller (f.eks. *E. coli*), og således vil vektorene typisk innbefatte en replikasjonsorigo og en seleksjonsmarkør som fungerer i bakterievertsceller.

I lys av fibrinogenkjedegenenes størrelse er det mest praktisk å fremstille tre separate ekspresjonsenheter, blande dem og innføre blandingen i verten. Fagfolk vil imidlertid innse at andre fremgangsmåter kan følges. For eksempel kan ekspresjonsenheter for de tre kjeder innføres individuelt i forskjellige embryoer for senere kombinasjon ved avl. I en tredje tilnærming kan de tre ekspresjonsenheter sammenkobles i en enkelt egnet vektor, f.eks. et kunstig gjærkromosom eller en fag P1-klon. Kodende sekvenser for to eller tre kjeder kan kombineres i polycistroniske ekspresjonsenheter (se f.eks. Levinson et al., US patentskrift nr. 4 713 339).

Ekspresjonsenheten(e) innføres så i befruktede egg (inkludert embryoer i tidlig stadium) fra den valgte vertsart. Innføring av heterologt DNA kan oppnås på forskjellig vis, heriblant mikroinjeksjon (se f.eks. US patentskrift nr. 4 873 191), retrovirusinfeksjon (Jaenisch, Science 240: 1468-1474, 1988) eller setestyrte integrasjon ved bruk av embryonale

stamceller (ES-celler) (se oversikt av Bradley et al., *Bio/Technology* 10: 534-539, 1992). Eggene implanteres så i oviduktene eller uterus hos pseudogravide hunner og får utvikles til termin. Avkom som bærer det innførte DNA i sine kimceller, kan overføre
 5 det til sitt avkom på normal, mendelsk måte, noe som tillater utvikling av transgene hjorder. Generelle fremgangsmåter for fremstilling av transgene dyr er kjent innen faget. Se f.eks. Hogan et al., *Manipulating the Mouse Embryo: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory, 1986; Simons et al., *Bio/Technology* 6: 179-183, 1988; Wall et al., *Biol. Reprod.* 32: 645-651,
 10 1985; Buhler et al., *Bio/Technology* 8: 140-143, 1990; Ebert et al., *Bio/Technology* 9: 835-838, 1991; Krimpenfort et al., *Bio/Technology* 9: 844-847, 1991; Wall et al., *J. Cell. Biochem.* 49: 113-120, 1992; og WIPO-publikasjonene WO 88/00239, WO
 15 90/05188, WO 92/11757; og GB 87/00458. Teknikker for innføring av fremmede DNA-sekvenser i pattedyr og deres kimceller, ble opprinnelig utviklet i mus. Se f.eks. Gordon et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 77: 7380-7384, 1980; Gordon og Ruddle, *Science* 214: 1244-1246, 1981; Palmiter og Brinster, *Cell* 41: 343-345,
 20 1985; Brinster et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 82: 4438-4442, 1985; og Hogan et al. (*ibid.*). Disse teknikker ble senere tilpasset bruk i større dyr, heriblant husdyrarter (se f.eks. WIPO-publikasjonene WO 88/00239, WO 90/05188 og WO 92/11757, og Simons et al., *Bio/Technology* 6: 179-183, 1988). Som oppsummering
 25 er den til nå mest effektive vei for dannelsen av transgene mus eller husdyr, injeksjon av flere hundre lineære DNA-molekyler inn i en av prokjernene i et befruktet egg. Injeksjon av DNA i cytoplasma hos en zygote kan også benyttes.

Det er foretrukket å oppnå en balansert ekspresjon av
 30 hver fibrinogenkjede slik at effektiv dannelsen av det modne protein oppnås. Ideelt sett bør de tre ekspresjonsenheter foreligge i samme DNA-molekyl for innføring i egg. Denne tilnærming kan imidlertid føre til tekniske problemer på f.eks. injeksjonsstadiet og manipuleringsstadiet. Størrelsen av
 35 fibrinogenekspresjonsenheter kan f.eks. nødvendiggjøre bruk av kunstige gjærkromosomer (YAC-er) eller bakteriofag P1 for amplifisering og manipuleringsstadiet. Størrelsen av
 40 denne tilnærming benyttes, vil DNA-segmentene som skal injiseres, og som inneholder alle tre ekspresjonsenheter, være svært store,

noe som krever modifisering av injeksjonsfremgangsmåten slik at det f.eks. benyttes kanyler med større diameter. I en enklere tilnærming benyttes en blanding av hver enkelt ekspresjonsenhet. Det foretrekkes å sammenblande ekvimolare mengder av de tre

5 ekspresjonsenheter selv om fagfolk vil innse at dette forhold kan varieres for å kompensere for en gitt ekspresjonsenhets egen-skaper. Noe ekspresjon, generelt ved et redusert nivå, vil oppnås når mindre molare mengder av én eller to kjeder benyttes, og ekspresjonseffektiviteten kan generelt forventes å avta tilnærmet

10 proporsjonalt med avviket fra det foretrukne, ekvimolare forhold. I alle tilfeller foretrekkes å benytte en blanding med et forhold mellom $A\alpha:B\beta:\gamma$ -ekspresjonsenheter i området 0,5-1:0,5-1:0,5-1. Når forholdet avviker fra ekvimolaritet, foretrekkes det å benytte relativt mer av $B\beta$ -ekspresjonsenheten. Alternativt kan én

15 ekspresjonsenhet eller en blanding av to innføres i individuelle egg. Imidlertid vil dyr som oppnås ved denne tilnærming, uttrykke bare én eller to fibrinogenkjeder. For å danne et intakt fibrinogenmolekyl ved denne tilnærming kreves et påfølgende avlsprogram utformet med det formål å kombinere alle tre ekspresjonsenheter i

20 individer fra en dyregruppe.

Generelt beskrevet bringes hunndyr til superovulering ved behandling med follikkelstimulerende hormon, hvorefter de pares. Befruktede egg oppsamles, og det heterologe DNA injiseres i eggene ved bruk av kjente fremgangsmåter. Se f.eks. US patent-

25 skrift nr. 4 873 191; Gordon et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 77: 7380-7384, 1980; Gordon og Ruddle, Science 214: 1244-1246, 1981; Palmiter og Brinster, Cell 41: 343-345, 1985; Brinster et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 82: 4438-4442, 1985; Hogan et al., Manipulating the Mouse Embryo: A Laboratory Manual, Cold

30 Spring Harbor Laboratory, 1986; Simons et al., Bio/Technology 6: 179-183, 1988; Wall et al., Biol. Reprod. 32: 645-651, 1985; Buhler et al., Bio/Technology 8: 140-143, 1990; Ebert et al., Bio/Technology 9: 835-838, 1991; Krimpenfort et al., Bio/Technology 9: 844-847, 1991; Wall et al., J. Cell. Biochem. 49: 113-

35 120, 1992; WIPO-publikasjonene WO 88/00239, WO 90/05118 og WO 92/11757; og GB 87/00458.

For injeksjon i befruktede egg fjernes ekspresjonsenheterne fra sine respektive vektorer ved kutting med egnede restriksjonsenzymer. For enkelhets skyld foretrekkes det å

utforme vektorene slik at ekspresjonsenheterne kan fjernes ved kutting med enzymer som hverken kutter i ekspresjonsenheterne eller andre steder i vektorene. Ekspresjonsenheterne gjenvinnes ved konvensjonelle fremgangsmåter, f.eks. elektroeluering fulgt
 5 av fenolekstraksjon og utfelling med etanol, sukrosetetthets-
 gradientsentrifugering eller kombinasjoner av disse frem-
 gangsmåter.

DNA injiseres i eggene i det vesentlige som beskrevet av Hogan et al., ibid. I en typisk injeksjon lokaliseres egg i en
 10 skål med embryodyrkningsmedium ved bruk av et stereo-zoom-
 mikroskop (x50 eller x63 forstørrelse foretrekkes). Egnede medier
 omfatter Hepes- (N-2-hydroksyetylpipezazin-N'-2-etansulfonsyre)
 eller bikarbonatbufrede medier som M2 eller M16 (tilgjengelige
 fra Sigma Chemical Co., St. Louis, USA), eller syntetisk ovidukt-
 15 medium (beskrevet nedenfor). Eggene fastholdes og overføres til
 sentrum av et objektglass på et injeksjonsoppsett, f.eks. ved
 bruk av en drummondpipette komplett med kapillarrør. Observasjon
 ved lavere forstørrelse (f.eks. x4) benyttes på dette stadium.
 Ved å benytte injeksjonsoppsettets fastholdingspipette plasseres
 20 eggene sentralt på objektglasset. Enkeltegg festes etter hver-
 andre til fastholdingspipetten for injeksjon. For hver injek-
 sjonsprosess plasseres fastholdingspipetten og egget i sentrum av
 synsfeltet. Injeksjonsnålen plasseres så direkte under egget.
 Fortrinnsvis ved bruk av x40 Nomarski-objektiver justeres høyden
 25 på begge manipulatorer slik at både egg og injeksjonsnål er i
 fokus. Pronuklei lokaliseres ved å rotere egget og justere
 fastholdingspipetteoppsettet som nødvendig. Når pronukleus er
 lokalisert, endres høyden på manipulatoren slik at pronukleus-
 membranen er i fokus. Injeksjonsnålen plasseres under egget slik
 30 at spissen er plassert under sentrum av pronukleus. Nålen
 posisjon endres så ved bruk av injeksjonsmanipulatoroppsettet
 slik at nål og pronukleus bringes i samme fokalplan. Nålen
 beveges ved bruk av injeksjonsmanipulatoroppsettets joy stick til
 en posisjon til høyre for egget. Med en kort, kontinuerlig
 35 bevegelse gjennomtrenges pronukleusmembranen slik at nålespissen
 er inne i pronukleus. Injeksjonsnålen utsettes for trykk via
 glassprøyten inntil pronukleus sveller opp til tilnærmet to
 ganger utgangsvolumet. På dette punkt fjernes nålen langsomt.
 Etter overgang til lavere forstørrelse (f.eks. x4) flyttes det

injiserte egg til et annet område på objektglasset, og prosessen gjentas med et annet egg.

Etter injeksjon av DNA kan eggene dyrkes slik at pronuklei fusjonerer og encelleembryoer og embryoer fra senere stadier dannes. Generelt dyrkes eggene ved tilnærmet kroppstemperatur til arten som benyttes, i et bufret medium som inneholder balanserte salter og serum. Overlevende embryoer overføres så til pseudogravide mottakerhunner, typisk ved å innføre dem i ovidukt eller uterus, og får utvikle seg til termin. Under embryogenesen integreres det injiserte DNA tilfeldig i genomene til et lite antall av de utviklende embryoer.

Mulig transgent avkom gjennomføres ved hjelp av blodprøver og/eller vevsbiopsier. DNA fremstilles fra disse prøver og analyseres for nærvær av det injiserte konstrukt ved hjelp av teknikker som polymerasekjedereaksjon (PCR, se Mullis, US patent-skrift nr. 4 683 202) og Southern-blotting (Southern, J. Mol. Biol. 98: 503, 1975; Maniatis et al., Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory, 1982). Transgene stamdyr, eller G0-er, kan være fullstendig transgene med transgener i alle sine celler, eller mosaikker med transgener kun i en del av cellene (se f.eks. Wilkie et al., Develop. Biol. 118: 9-18, 1986). I dette tilfellet kan grupper av kimceller være fullstendig eller delvis transgene. I det siste tilfellet vil antall transgent avkom fra et stamdyr være mindre enn de forventede 50% forventet fra mendelske prinsipper. G0-stamdyr får vokse til de er seksuelt modne og pares så for erholdelse av avkom, eller G1-er. G1-er undersøkes også for nærvær av transgenet for å vise overføring fra G0-stamdyr. Når det gjelder G0 av hannkjønn, kan disse pares med flere ikke-transgene hunner slik at mye avkom dannes. Dette øker sjansen for å observere overføring av transgenet. G0-stamdyr av hunnkjønn kan pares på naturlig vis, befruktes kunstig eller bringes til superovulering slik at mange egg erholdes som så overføres til surrogatmødre. Denne siste fremgangsmåten gir de største sjanser for å observere overføring i dyr med begrenset antall avkom. Avlsfremgangsmåtene beskrevet ovenfor, benyttes for erholdelse av dyr som kan overføre DNA-et til påfølgende generasjoner med avkom på normal, mendelsk måte, noe som tillater utvikling av f.eks. kolonier (mus), flokker (sauer) eller hjorder (svin, geiter og storfe) med

transgene dyr.

Melken fra melkedannende G0- og G1-hunner undersøkes for ekspresjon av det heterologe protein ved immunologiske teknikker som ELISA (se Harlow og Lane, Antibodies, A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory, 1988) og Western-blotting (Towbin et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 76: 4350-4354, 1979). Av en rekke grunner som er kjent innen faget, vil ekspresjonsnivåer av det heterologe protein forventes å variere mellom individer.

En tilfredsstillende familie av dyr bør oppfylle tre kriterier: de bør stamme fra det samme G0-stamdyr; de bør vise stabil overføring av transgenet, og de bør vise stabile ekspresjonsnivåer fra generasjon til generasjon, samt fra melkegivningsperiode til melkegivningsperiode hos enkeltdyr. Disse prinsipper er demonstrert og diskutert (Carver et al., Bio/Technology 11: 1263-1270, 1993). Dyr fra en slik egnet familie betegnes som en "linje". I utgangspunktet benyttes hanndyr fra G0 eller G1 for å danne en flokk eller hjord av produsentdyr ved naturlig eller kunstig befruktning. På denne måte kan mange hunndyr med samme transgenintegrasjonshendelse raskt dannes, fra hvilke melkeforsyning kan oppnås.

Fibrinogenet gjenvinnes fra melk ved bruk av gjengse fremgangsmåter som skumming, utfelling, filtrering og protein-kromatografiteknikker.

Fibrinogen fremstilt som angitt heri er anvendbart i human- og veterinærmedisin, f.eks. i utforming av kirurgiske klebemidler. Klebemidler av denne type er kjent innen faget. Se f.eks. US patentskrifter nr. 4 377 572, 4 442 655, 4 462 567 og 4 627 879. Generelt blandes fibrinogen og faktor XIII slik at en første bestanddel dannes som like før bruk blandes med en andre bestanddel som inneholder trombin. Trombinet overfører fibrinogenet til fibrin slik at blandingen danner en gel og aktiverer faktor XIII. Den aktiverte faktor XIII kryssbinder fibriner slik at den klebrige masse styrkes og stabiliseres. Slike klebemidler inneholder typisk fra tilnærmet 30 mg/ml til tilnærmet 100 mg/ml fibrinogen og fra tilnærmet 50 µg/ml til tilnærmet 500 µg/ml faktor XIII. De kan også inneholde ytterligere bestanddeler, f.eks. aprotinin, albumin, fibronektin, massegivende midler og løselighetsfremmende midler. Fremgangsmåter for fremstilling av

faktor XIII er kjent innen faget. Se f.eks. US patentskrift nr. 5 204 447. Fibrinogenet er også anvendbart for å belegge overflaten på polymere gjenstander, f.eks. syntetiske kartransplantater, som beskrevet i US patentskrift nr. 5 272 074.

5 Oppfinnelsen illustreres videre ved de påfølgende eksempler.

Eksempler

10 Eksempel I

Flerkloningssetet i vektorens pUC18 (Yanisch-Perron et al., Gene 33: 103-119, 1985) ble fjernet og erstattet med et syntetisk, dobbelttrådet oligonukleotid (trådene er vist i SEKV.ID NR. 8 og SEKV.ID NR. 27) som inneholdt restriksjonssetene
 15 Pvu I/Mlu I/Eco RV/Xba I/Pvu I/Mlu I, flankert av 5' overheng som var kompatible med restriksjonssetene Eco RI og Hind III. pUC18 ble kuttet med Eco RI og Hind III, de 5' terminale fosfatgrupper ble fjernet med fosfatase fra kalvetarm, og oligonukleotidet ble ligert inn i vektorryggraden. DNA-sekvensen over sammenkoblings-
 20 stedene ble bekreftet ved sekvensering, og det nye plasmid ble betegnet pUCPM.

β -laktoglobulin- (BLG) gensekvensene fra pSSltgXS (beskrevet i WIPO-publikasjon WO 88/00239) ble utkuttet som et Sal I-Xba I-fragment og klonet i vektoren pUCPM som var kuttet
 25 med Sal I og Xba I slik at vektoren pUCXS ble dannet. pUCXS er således et pUC18-derivat som inneholder hele BLG-genet fra Sal I-setet til Xba I-setet i bakteriofag SS1 (Ali og Clark, J. Mol. Biol. 199: 415-426, 1988).

Plasmidet pSSltgSE (beskrevet i WIPO-publikasjon WO
 30 88/00239) inneholder et BLG-fragment på 1 290 bp flankert av Sph I- og EcoR I-restriksjonssteder, et område som spenner over et unikt Not I-sete og et enkelt Pvu II-sete som ligger i den 5' ikke-translaterte ledersekvens i BLG-mRNA. Inn i dette Pvu II-sete ble det ligert en dobbelttrådet DNA-linker på 8 bp (5'-
 35 GGATATCC-3') som koder for gjenkjenningsssetet for enzymet Eco RV. Dette plasmid ble betegnet pSSltgSE/RV. DNA-sekvenser mellom Sph I- og Not I-setet i pSSltgSE/RV ble utkuttet med enzymer og benyttet til å erstatte det tilsvarende fragment i pUCXS. Det resulterende plasmid ble betegnet pUCXSRV. Sekvensen av BLG-

innskuddet i pUCSXRV er vist i SEKV.ID NR. 7 med det unike Eco RV-sete ved nukleotid 4 245 i det 5' ikke-translaterte leder-område i BLG-genet. Dette sete tillater innsetting av ytterligere DNA-sekvenser under kontroll av BLG-promoterens som ligger 3' for transkripsjonsinitieringssetet.

Ved bruk av primerne BLGAMP3 (5'-TGG ATC CCC TGC CGG TGC CTC TGG-3'; SEKV.ID NR. 9) og BLGAMP4 (5'-AAC GCG TCA TCC TCT GTG AGC CAG-3'; SEKV.ID NR. 10) ble et PCR-fragment på tilnærmet 650 bp fremstilt fra sekvenser umiddelbart 3' for stoppkodonet i BLG-genet i pUCXSRV. PCR-fragmentet var utformet slik at det hadde et BamH I-sete ved sin 5' ende og et Mlu I-sete i sin 3' ende og ble således klonet inn i BamH I- og Mlu I-kuttet pGEM7zf(+) (Promega) slik at pDAM200(+) ble dannet.

pUCXSRV ble kuttet med Kpn I, og det største, vektorholdige bånd ble gelrenset. Dette bånd inneholdt den fullstendige pUC-plasmidsekvens og noe 3' ikke-kodende sekvens fra BLG-genet. Inn i denne ryggrad ble det ligert det lille Kpn I-fragment fra pDAM200(+) som i korrekt orientering effektivt innførte et BamH I-sete ytterst i den 5' ende av det 3' flankerende område på 2,6 kbp i BLG. Dette plasmid ble betegnet pBLAC200. Et Cla I-Xba I-fragment på 2,6 kbp fra pBLAC200 ble ligert inn i Cla I-Xba I-kuttet pSP72-vektor (Promega), hvorved et EcoR V-sete ble plassert umiddelbart oppstrøms for BLG-sekvensene. Dette plasmid ble betegnet pBLAC210.

Eco RV-Xba I-fragmentet på 2,6 kbp fra pBLAC210 ble ligert inn i Eco RV-Xba I-kuttet pUCXSRV slik at pMAD6 ble dannet. Ved dette ble alle kodende sekvenser og intronsekvenser utkuttet fra pUCXSRV slik at et BLG-minigen ble dannet som besto av 4,3 kbp 5' promotersekvens og 2,6 kbp 3' nedstrømssekvens som flankerte et unike EcoR V-sete. En oligonukleotidlinker (ZC6839: ACTACGTA GT, SEKV.ID NR. 11) ble innsatt i Eco RV-setet i pMAD6. Denne modifisering ødela Eco RV-setet og dannet et Sna BI-sete for bruk i kloningsøymed. Vektoren ble betegnet pMAD6-Sna. mRNA initieres oppstrøms for Sna BI-setet og termineres nedstrøms for Sna BI-setet. Primærtranskriptet vil kode for et enkelt BLG-avledet intron, intron 6, som ligger fullstendig innenfor det 3' ikke-translaterte område i genet.

Eksempel II

Kloner som kodet for de enkelte fibrinogenkjeder, ble
erholdt fra laboratoriet til dr. Earl W. Davie, University of
Washington, Seattle. En genomisk fibrinogen A α -kjedeklon (Chung
et al., 1990, *ibid.*) ble erholdt fra plasmidet BS4. Dette plasmid
inneholder A α -klonen innsatt i Sal I- og Bam HI-setet i vektoren
pUC18, men mangler den kodende sekvens for de fire første
aminosyrer i A α -kjeden. Et genomisk B β -kjede-DNA (Chung et al.,
ibid.) ble isolert fra en bakteriofag lambda Charon 4A-klon
(betegnet $\beta\lambda 4$) som to Eco RI-fragmenter, hvert på tilnærmet 5,6
kbp. De to fragmenter ble klonet hver for seg i pUC19 som var
kuttet med Eco RI, og behandlet med fosfatase fra kalvetarm. De
resulterende kloner ble gjennom søkt ved kutting med restriksjons-
enzymet Pvu II for å skille mellom plasmider med det 5' og det 3'
B β -innskudd (betegnet Beta5'RI/puc hhv. Beta3'RI/puc). Genomiske
 γ -kjedekloner ble isolert som beskrevet av Rixon et al. (*Bio-*
chemistry 24: 2077-2086, 1985). Klon p γ 12A9 omfatter 5' ikke-
kodende sekvenser og tilnærmet 4 535 bp γ -kjedekodende sekvens.
Klon p γ 12F3 omfatter resten av den kodende sekvens og 3' ikke-
kodende nukleotider. Begge er pBR322-baserte plasmider med
fibrinogensekvensene innsatt i Eco RI-setet. Disse plasmider ble
benyttet som templat for de respektive PCR-reaksjoner.

Sekvensene som kodet for fibrinogenkjede, ble tilpasset
innsetting i ekspresjonsvektorer ved hjelp av polymerase-k-
jedereaksjonen (PCR) som generelt beskrevet av Mullis (US patent-
skrift nr. 4 683 202). Denne fremgangsmåte fjernet native 5' og
3' ikke-translaterte sekvenser, innførte en sekvens på ni baser
(CCT GCA GCC) oppstrøms for det første ATG i hver kodende
sekvens, innførte de første fire kodoner i A α -kjedeseqvensen,
fjernet et internt Mlu I-sete i A α -sekvensen og tilførte
restriksjons seter for å forenkle påfølgende kloningstrinn.

Med henvisning til figur 1 ble den 5' ende av den A α -
kodende sekvens utformet i en PCR-reaksjon som inneholdt 20 pmol
av hver av primerne ZC6632 (SEKV.ID NR. 12) og ZC6627 (SEKV.ID
NR. 13), tilnærmet 10 ng plasmid BS4-templat-DNA, 10 μ l av en
blanding som inneholdt 2,5 mM av hvert dNTP, 7,5 μ l 10x
Pyrococcus furiosus (Pfu) DNA-polymerasebuffer nr. 1 (200 mM
Tris-HCl, pH 8,2, 100 mM KCl, 60 mM (NH₄)₂SO₄, 20 mM MgCl₂, 1%
"Triton X-100", 100 μ g/ml nukleasefritt, bovint serumalbumin)

(Stratagene, La Jolla, CA), og vann til 75 µl. Blandingen ble oppvarmet til 94 °C i en "DNA thermal cycler" (Perkin-Elmer Corp., Norwalk, CT). Til den oppvarmede blanding ble det tilsatt 25 µl av en blanding som inneholdt 2,5 µl 10x Pfu-buffer nr. 1, 22 µl H₂O og 1 µl Pfu DNA-polymerase (2,5 enheter/µl, Stratagene). Reaksjonene ble kjørt i en "DNA thermal cycler" (Perkin-Elmer) i fem sykluser på 45 sekunder ved 94 °C, 90 sekunder ved 40 °C, 120 sekunder ved 72 °C og så 20 sykluser på 45 sekunder ved 94 °C, 90 sekunder ved 45 °C, 120 sekunder ved 72 °C, og så inkubert ved 72 °C i 7 minutter. Det 5' PCR-dannede fragment ble kuttet med Bam HI og Hind III, og Bam HI-Hind III-fragmentet ble så ligert til et internt Hind III-Xba I-fragment på 2,91 kbp og Bam HI-Xba I-kuttet pUC18. Eksonsekvenser dannet ved PCR, ble sekvensert.

Igjen med henvisning til figur 1 ble den 3' ende av den Aα-kodende sekvens utformet i en serie trinn i hvilke Mlu I-setet 563 baser oppstrøms for stoppkodonet i Aα-sekvensen ble mutert ved bruk av en overlappforlengelses-PCR-reaksjon (Ho et al., Gene 77: 51-59, 1989). I den første reaksjon ble 40 pmol av hver av primerne ZC6521 (SEKV.ID NR. 14) og ZC6520 (SEKV.ID NR. 15) kombinert med tilnærmet 10 ng plasmid BS4-templat-DNA i en reaksjonsblanding som beskrevet ovenfor. Reaksjonen ble kjørt med 5 sykluser bestående av 45 sekunder ved 94 °C, 60 sekunder ved 40 °C, 120 sekunder ved 72 °C, 15 sykluser bestående av 45 sekunder ved 94 °C, 60 sekunder ved 45 °C, 120 sekunder ved 72 °C, og så inkubert ved 72 °C i 7 minutter. En andre reaksjon ble utført på samme måte ved bruk av 40 pmol av hver av primerne ZC6519 (SEKV.ID NR. 16) og ZC6518 (SEKV.ID NR. 17) og BS4 som templat. De PCR-dannede DNA-fragmenter fra første og andre reaksjon ble isolert ved gelelektroforese og eluering fra gelen. Tilnærmet 1/10 av hvert gjenvunne reaksjonsprodukt ble kombinert med 40 pmol av hver av primerne ZC6521 (SEKV.ID NR. 14) og ZC6518 (SEKV.ID NR. 17) i en PCR-reaksjon hvor de komplementære 3' ender i hvert fragment (som inneholdt den enkelte baseendring) hybridiserte og fungerte som en primer for den 3' forlengelse av den komplementære tråd. PCR ble utført ved å benytte samme reaksjonsbetingelser som i første og annet trinn for den 3' PCR. Reaksjonsproduktet ble så kuttet med Xba I og Bam HI, og Xba I-Bam HI-fragmentet ble klonet inn i Xba I-Bam HI-kuttet pUC18.

PCR-genererte eksoner ble sekvensert.

Som vist i figur 1, ble det 5' Bam HI-Xba I-fragment (3,9 kbp) og det 3' Xba I-Bam HI-fragment (1,3 kbp) innsatt i Bam HI-setet i vektoren Zem228. Zem228 er et pUC18-derivat som
 5 inneholder et Bam HI-kloningssete mellom en MT-1-promoter fra mus og en SV40-terminator, og en neomycinresistensmarkør flankert av en SV40-promoter og -terminatorsekvenser. Se EPO-publikasjon EP 319 944 og fig. 2. Den fullstendige A α -kodende sekvens ble isolert fra Zem228-vektoren som et Sna BI-fragment som ble
 10 innsatt i Sna BI-setet i plasmidet pMAD6-Sna.

Med henvisning til fig. 3 ble den 5' ende av B β -kjeden utformet ved PCR ved bruk av oligonukleotidene ZC6629 (SEKV.ID NR. 18), ZC6630 (SEKV.ID NR. 19) og ZC6625 (SEKV.ID NR. 20). Disse primere ble benyttet i parvise kombinasjoner (ZC6629 +
 15 ZC6625 eller ZC6630 + ZC6625) slik at det ble dannet B β -kodende sekvenser som begynte ved det første ATG-kodon (posisjon 470 i SEKV.ID NR. 3) (betegnet N1-Beta), eller det tredje ATG-kodon (posisjon 512 i SEKV.ID NR. 3) (betegnet N3-Beta). Tilnærmet 5 ng Beta5'RI/puc-templat-DNA ble sammenblandet med 20 pmol av hver av
 20 primerne (N1-Beta:ZC6629, SEKV.ID NR. 18 + ZC6625, SEKV.ID NR. 20, eller N3-Beta:ZC6630, SEKV.ID NR. 19 + ZC6625, SEKV.ID NR. 20) i en reaksjonsblanding som beskrevet ovenfor. Blandingene ble inkubert i 5 sykluser bestående av 45 sekunder ved 94 °C, 120 sekunder (N1-Beta) eller 90 sekunder (N3-Beta) ved 40 °C, 120
 25 sekunder ved 72 °C, 20 sykluser bestående av 45 sekunder ved 94 °C, 120 sekunder (N1-Beta) eller 90 sekunder (N3-Beta) ved 45 °C, 120 sekunder ved 72 °C, og så inkubert ved 72 °C i 7 minutter. De to reaksjonsprodukter N1, 555 bp eller N3, 510 bp) ble hvert kuttet med Eco RI og Bgl II, og fragmentene ble ligert
 30 til det interne Bgl II-Xba I-fragment og Eco RI + Xba I-kuttet pUC19. Den 3' ende av B β -sekvensen ble utformet i en reaksjonsblanding som beskrevet ovenfor ved bruk av oligonukleotidprimerne ZC6626 (SEKV.ID NR. 21) og ZC6624 (SEKV.ID NR. 22) og tilnærmet 5 ng Beta3'RI/puc-templat. Blandingene ble inkubert i 5 sykluser
 35 bestående av 45 sekunder ved 94 °C, 90 sekunder ved 40 °C, 120 sekunder ved 72 °C og 15 sykluser bestående av 45 sekunder ved 94 °C, 90 sekunder ved 45 °C, 120 sekunder ved 72 °C, og så inkubert ved 72 °C i 7 minutter. Et Bgl II-Eco RI-fragment på 990 bp ble isolert. Dette 3' fragment ble ligert til det kodende

nabofragment (340 bp, SphI-Bgl II) og Sph I + Eco RI-kuttet pUC19. De 3' og 5' PCR-genererte eksoner ble sekvensert. En tredje intermediær vektor ble konstruert ved å kombinere to interne fragmenter (4285 bp Xba I-Eco RI og 383 kb Eco RI-Sph I) i Xba I + Sph I-kuttet pUC19. Den fullstendige B β -kodende sekvens (to former) ble så satt sammen ved å ligere ett av de 5' Eco RI-Xba I-fragmenter, det interne Xba I-Sph I-fragment, det 3' Sph I-Eco RI-fragment og Eco RI-kuttet vektor pUC19. B β -sekvensen ble så isolert som et Sna BI-fragment på 7,6 kbp og innsatt i Sna BI-setet i pMAD6-Sna.

Med henvisning til fig. 4 ble den 5' ende av gamma-kjedesekvensen utformet ved PCR ved bruk av oligonukleotid-primerne ZC6514 (SEKV.ID NR. 23) og ZC6517 (SEKV.ID NR. 24) og tilnærmet 50 ng p γ 12A9 som templat. PCR-reaksjonen ble kjørt som beskrevet ovenfor ved å benytte 40 pM av hver primer. Reaksjonen ble kjørt i 5 sykluser bestående av 45 sekunder ved 94 °C, 60 sekunder ved 40 °C, 120 sekunder ved 72 °C, fulgt av 15 sykluser bestående av 45 sekunder ved 94 °C, 60 sekunder ved 45 °C, 120 sekunder ved 72 °C. Det resulterende fragment på 213 bp ble kuttet med Bam HI og Spe I, og det resulterende restriksjonsfragment ble ligert til det nedstrøms Spe I-Eco RI-nabofragment på 4,4 kb og Bam HI + Eco RI-kuttet pUC19. Den 3' ende av gamma-kjedesekvensen ble utformet ved å benytte oligonukleotidprimerne ZC6516 (SEKV.ID NR. 25) og ZC6515 (SEKV.ID NR. 26) med 40 pM av hver primer, tilnærmet 50 ng p γ 12F3-templat og samme syklus skjema som benyttet for det 5' fragment. Det resulterende fragment på 500 bp ble kuttet med Spe I og Bam HI, og det resulterende restriksjonsfragment ble ligert til det oppstrøms Eco RI-Spe I-fragment på 2,77 kb og Eco RI + Bam HI-kuttet pUC19. Alle PCR-genererte eksoner ble sekvensert. Den fullstendige γ' -kjede-kodende sekvens ble så satt sammen ved å ligere et 5' Bam HI-Eco RI-fragment på 4,5 kbp, et internt Eco RI-Pst I-fragment på 1,1 kbp og et 3' Pst I-Xba I-fragment på 2,14 kbp inn i Bam HI + Xba I-kuttet Zem219b. Zem219b er en pUC18-avledet vektor som inneholder en metallotioneinpromoter fra mus og en DHFR-seleksjonsmarkør operativt koblet til en SV40-promoter (fig. 5). Plasmid Zem219b er deponert hos American Type Culture Collection som en *E. coli* XL1-blå transformant under aksesjonsbetegnelsen 68979. Den fullstendige γ' -kjedekodende sekvens ble så isolert som et

Sna B1-fragment på 7,8 kbp og innsatt i Sna BI-setet i pMAD6-Sna.

Eksempel III

Mus for innledende avl (C57BL6J, CBACA) ble erholdt fra
 5 Harlan Olac Ltd. (Bicester, GB). Disse ble parvis paret for fremstilling av F1 hybridkrysning (B6CBAF1) for fremstilling av mottakerhunner, superovulerende hunner, avlshanner og vasektomiserter hanner. Alle dyr ble holdt i en 14 timers lys/10 timers mørkesyklus og føret med vann og mat (Special Diet Services RM3,
 10 Edinburgh, Skottland) *ad libitum*.

Transgene mus ble dannet i det vesentlige som beskrevet i Hogan et al., Manipulating the Mouse Embryo: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory, 1986. 4-5 uker gamle B6CBAF1-hunner ble brakt til superovulering ved en intraperitoneal injeksjon av serumgonadotropin fra gravide hopper
 15 ("Folligon", Vet-Drug, Falkirk, Skottland), (5 iu) fulgt av en intraperitoneal injeksjon av humant koriongonadotropin ("Chorulon", Vet-Drug, Falkirk, Skottland) (5 iu) 45 timer senere. De ble så paret med en avlshann over natten. Hunnene ble
 20 så undersøkt for kopulasjonspluggen. De som hadde paret seg, ble avlivet, og eggene ble oppsamlet for mikroinjeksjon.

DNA ble injisert i de befruktede egg som beskrevet i Hogan et al. (ibid.). Kort beskrevet ble hver av vektorene som inneholdt α -, β - og γ -ekspresjonsenheter, kuttet med Mlu I, og
 25 ekspresjonsenheter ble isolert ved sukrosegadientsentrifugering. Alle benyttede kjemikalier var av reagensgrad (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA), og alle løsninger var sterile og nukleasefrie. Løsninger med 20% og 40% sukrose i 1 M NaCl, 20 mM Tris, pH 8,0, 5 mM EDTA, ble fremstilt ved bruk av UHP-vann og
 30 sterilisert ved filtrering. En 30% sukroseløsning ble fremstilt ved å blande like volumer av 20%- og 40%-løsningen. En gradient ble fremstilt ved å overføre lag på 0,5 ml av 40%-, 30%- og 20%-sukroseløsningen i et 2 ml polyallomerrør og ved 1 times henstand. 100 μ l DNA-løsning (maks. 8 μ g DNA) ble påsatt toppen av
 35 gradienten, og gradienten ble sentrifugert i 17-20 timer ved 26 000 rpm, 15 °C i en Beckman TL100 ultrasentrifuge med en TLS-55-rotor (Beckman Instruments, Fullerton, CA, USA). Gradientene ble fraksjonert ved å innføre en nål av dimensjon 20 i rørbunnen og oppsamling av dråper i en 96-brønners mikrotiterplate. Porsjoner

på 3 µl ble analysert i en 1% agarose-minigel. Fraksjoner som inneholdt det ønskede DNA-fragment, ble slått sammen og utfelt med etanol over natten ved -20 °C i 0,3 M natriumacetat. Utfelt DNA ble resuspendert i 50-100 µl UHP-vann og kvantitert ved
 5 fluorimetri. Ekspresjonsenheterne ble fortynnet med Dulbeccos fosfatbufret saltvann uten kalsium og magnesium (innhold pr. liter: 0,2 g KCl, 0,2 g KH₂PO₄, 8,0 g NaCl, 1,15 g Na₂HPO₄), blandet i et 1:1:1 molart forhold (ved benyttelse av enten N1-Beta- eller N3-Beta-ekspresjonsenheter) justert til tilnærmet 6
 10 µg/ml og injisert inn i eggene (~2 pl total DNA-løsning pr. egg).

6-8 uker gamle mottakerhunner fremstilles ved å pare B6CBAF1-hunner i naturlig østrogensyklus med vasektomiserte hanner. Hunner med kopulasjonsplugg oppbevares så for overføring av mikroinjiserte egg.

15 Etter fødsel av mulige transgene dyr tas halebiopsier under anestesi ved 4-ukers alder. Vevsprøvene plasseres i 2 ml halebuffer (0,3 M Na-acetat, 50 mM HCl, 1,5 mM MgCl₂, 10 mM Tris-HCl, pH 8,5, 0,5% NP40, 0,5% "Tween 20") tilsatt 200 µg/ml proteinase K (Boehringer Mannheim, Mannheim, Tyskland) og sammenblandet ved vortexering. Prøvene omrystes (250 rpm) ved 55-
 20 60 °C i 3 timer til over natten. DNA fremstilt fra biopsiprøver, undersøkes for nærvær av de injiserte konstrukter ved PCR og Southern-blotting. Det proteasebehandlede vev vortexeres kraftig, og uttak på 5 µl plasseres i 0,5 ml mikrosentrifugerør. Positive
 25 og negative haleprøver benyttes som kontroller. 40 µl silikonolje (BDH, Poole, GB) tilsettes hvert rør, og rørene sentrifugeres i kort tid. Rørene inkuberes i varmeblokken i et temperatursyklus-instrument (f.eks. "Omni-gene", Hybaid, Teddington, GB) til 95 °C i 10 minutter. Etter dette tilsettes hvert rør en 45 µl porsjon
 30 PCR-blanding slik at sluttkonsentrasjonen i hver reaksjonsblanding er: 50 mM KCl, 2 mM MgCl₂, 10 mM Tris-HCl (pH 8,3), 0,01% gelatin, 0,1% NP40, 10% DMSO, 500 nM av hver primer, 200 µM av hvert dNTP, 0,02 U/µl Taq-polymerase (Boehringer Mannheim, Mannheim, Tyskland). Rørene kjøres så gjennom 30 ganger gjentatte
 35 temperaturendringer ifølge hva som kreves av de benyttede primere. Primerne kan varieres, men må i alle tilfeller ha BLG-promoterområdet som mål. Dette er spesifikt for de injiserte DNA-fragmenter da musen ikke har et BLG-gen. 12 µl 5x ladebuffer tilsatt markørfargestoffet "Orange G" (0,25% "Orange G [Sigma],

15% "Ficoll" type 400 [Pharmacia Biosystems Ltd., Milton Keynes, GB]) tilsettes så til hvert rør, og reaksjonsblandingene blir fraksjonert ved elektroforese i en 1,6% agarosegel tilsatt etidiumbromid (Sigma) inntil markørfargen har vandret 2/3 av gelens lengde. Gelen betraktes så med en UV-lyskilde med utsendt bølgelengde 254 nm. Transgene mus med ett eller flere av de injiserte DNA-fragmenter identifiseres på denne måte.

Positive haleprøver behandles for erholdelse av rent DNA. DNA-prøvene gjennomføres ved Southern-blotting med en BLG-promoterprobe (nukleotidene 2523-4253 i SEKV.ID NR. 7). Spesifikke kuttinger med passende restriksjonsenzymer (f.eks. Eco RI) gjør det mulig å skille mellom de tre konstrukter som inneholder α -, β - og γ -sekvensene.

Southern-blot-analyse av transgene mus fremstilt i det vesentlige som beskrevet ovenfor, viste at mer enn 50% av avkommet inneholdt alle tre fibrinogensekvenser. Undersøkelse av melk fra positive dyr ved reduserende SDS-polyakrylamidgel-elektroforese viste nærvær av alle tre proteinkjeder ved konsentrasjoner opp til 1 mg/ml. Mengden av fullt oppbygd fibrinogen var relatert til forholdet mellom de enkelte subenheter i melken. Ingen åpenbar fenotype var forbundet med høy konsentrasjon av humant fibrinogen i musemelk.

Eksempel IV

Donorsøyer behandles med en intravaginal, progesteron-impregnert svamp ("Chronogest Goat Sponge", Intervet, Cambridge, GB) på dag 0. Svampen behandles *in situ* i 10 til 12 dager.

Superovulering induseres ved behandling av donorsøyer med totalt én enhet follikkelstimulerende hormon fra sau (OFSH) ("Ovagen", Horizon Animal Reproduction Technology Pty. Ltd., New Zealand) tilført i åtte intramuskulære injeksjoner med 0,125 enheter pr. injeksjon, med start kl. 17:00 på dag -4 og avslutning kl. 8:00 på dag 0. Donorene injiseres intramuskulært med 0,5 ml av et luteolytisk middel ("Estrumate", Vet-Drug) på dag -4 for å bevirke regresjon av corpus luteum, noe som gir tilbakevending til østrus og ovulering. For synkronisering av ovuleringen injiseres donordyrene intramuskulært med 2 ml syntetisk "releasing hormone"-analog ("Receptal", Vet-Drug) kl. 17:00 på dag 0.

Donorer sultes for mat og vann i minst 12 timer før kunstig inseminering (A.I.). Dyrene insemineres kunstig ved intrauterin laparoskopi under bedøvelse og lokalanestesi på dag 1. Xylazin ("Rompun", Vet-Drug) i en dose på 0,05-0,1 ml/10 kg kroppsvekt eller 10 mg/ml ACP (Vet-Drug) i en dose på 0,1 ml/10

kg kroppsvekt injiseres intramuskulært tilnærmet 15 minutter før A.I. for bedøvelse. A.I. utføres med nyoppsamlet sæd fra en Poll Dorset-vær. Sæd fortynnes med like deler filtrert, fosfatbufret saltvann, og 0,2 ml fortynnet sæd injiseres pr. uterus horn.

Umiddelbart før eller etter A.I. gis donorene en intramuskulær injeksjon med "Amoxypen" (Vet-Drug).

Befruktede egg utvinnes på dag 2 etter sulting av donorene med hensyn til mat og vann fra kl. 17:00 på dag 1. Gjenvinning utføres under generell anestesi induisert ved en intravenøs injeksjon av 5% natriumtiopenton ("Intraval Sodium", Vet-Drug) i en dose på 3 ml/10 kg kroppsvekt. Anestesi opprettholdes ved inhalering av 1-2% halotan/O₂/N₂O etter intubering. For gjenvinning av de befruktede egg lages et laparotomisnitt, og uterus tas ut. Eggene gjenvinnes ved retrograd utskylling av oviduktene med "Ovum Culture Medium" (Advanced Protein Products, Brierly Hill, West Midlands, GB) tilsatt bovint serumalbumin fra New Zealand. Etter utskylling plasseres uterus igjen i bukhulen, og snittet lukkes. Donorene får enten komme seg etter operasjonen, eller de blir avlivet. Donorer som har kommet seg, gis en intramuskulær injeksjon av "Amoxypen L.A." ved produsentens anbefalte dose umiddelbart før eller etter operasjonen.

Plasmider som inneholder de tre fibrinogenkjedeekspresjonsenheter, kuttet med Mlu I, og ekspresjonsenhetsfragmentene gjenvinnes og renses i sukrosetetthetsgradienter. Fragmentkonsentrasjonene bestemmes ved fluorimetri, og fragmentene fortynnes i Dulbeccos fosfatbufrede saltvann uten kalsium og magnesium som beskrevet ovenfor. Konsentrasjonen justeres til 6 µg/ml, og tilnærmet 2 pl av blandingen mikroinjiseres i én pronukleus i hvert befruktede egg som har synlige pronuklei.

Alle befruktede egg som overlever mikroinjeksjon i pronukleus, dyrkes *in vitro* ved 38,5 °C i en atmosfære med 5% CO₂, 5% O₂, 90% N₂ og ~100% fuktighet, i et bikarbonatbufret, syntetisk oviduktmedium (se tabellen) tilsatt 20% vol/vol serum fra en vasektomisert vær. Serumet kan være varmeinaktivert ved

56 °C i 30 minutter og lagret nedfrosset ved -20 °C før bruk. De befruktede egg dyrkes i et passende tidsrom slik at tidlig embryodød (forårsaket av manipuleringsteknikkene) kan forekomme. Disse døde eller stoppede embryoer kastes. Embryoer som har
 5 gjennomgått 5 eller 6 celledelinger, overføres til synkroniserte mottakersøyer.

Tabell
Syntetisk oviduktmedium

10

Løsning A (holdbarhet 3 mnd.)

NaCl	6,29 g
KCl	0,534 g
KH ₂ PO ₄	0,162 g
15 MgSO ₄ ·7H ₂ O	0,182 g
Penicillin	0,06 g
Natriumlaktat 60% sirup	0,6 ml
Super H ₂ O	99,4 ml

20

Løsning B (holdbarhet 2 uker)

NaHCO ₃	0,21 g
Fenolrødt	0,001 g
Super H ₂ O	10 ml

25

Løsning C (holdbarhet 2 uker)

Natriumpyruvat	0,051 g
Super H ₂ O	10 ml

30

Løsning D (holdbarhet 3 mnd.)

CaCl ₂ ·2H ₂ O	0,262 g
Super H ₂ O	10 ml

35

Løsning E (holdbarhet 3 mnd.)

Hepes	0,651 g
Fenolrødt	0,001 g
Super H ₂ O	10 ml

Tabell, forts.For fremstilling av 10 ml bikarbonatbufret medium

	Løsning A	1 ml
5	Løsning B	1 ml
	Løsning C	0,07 ml
	Løsning D	0,1 ml
	Super H ₂ O	7,83 ml

10 Osmolariteten bør være 265-285 mOsm.

Tilsett 2,5 ml varmeinaktivert saueserum og filtersteriliser.

For fremstilling av 10 ml HEPES-bufret medium

	Løsning A	1 ml
15	Løsning B	0,2 ml
	Løsning C	0,07 ml
	Løsning D	0,1 ml
	Løsning E	0,8 ml
	Super H ₂ O	7,83 ml

20

Osmolariteten bør være 265-285 mOsm.

Tilsett 2,5 ml varmeinaktivert saueserum og filtersteriliser.

25 Mottakersøyer behandles med en intravaginal, proges-
teronimpregnert svamp ("Chronogest Ewe Sponge" eller "Chronogest
Ewe-Lamb Sponge", Intervet) som forblir *in situ* i 10 eller 12
dager. Søylene injiseres intramuskulært med 1,5 ml (300 iu) av en
analog av follikkelstimulerende hormon (P.M.S.G., Intervet) og
med 0,5 ml av et luteolytisk middel (Estrumate, Coopers Pitman-
30 Moore) når svampen fjernes på dag

-1. Søylene analyseres for østrus med en vasektomisert vær mellom
kl. 8:00 og 17:00 på dagene 0 og 1.

Embryoer som overlever *in vitro*-dyrking, implanteres i
mottakere (sultet fra kl. 17:00 på dag 5 eller 6) på dag 6 eller
35 7. Embryooverføring utføres under generell anestesi som beskrevet
ovenfor. Uterus bringes ut via et laparotomisnitt med eller uten
laparoskopi. Embryoer plasseres i ett eller begge uterushorn kun
i søyer med minst ett egnet corpora lutea. Etter tilbakeføring av
uterus lukkes bukhulen, og mottakerne får komme seg. Dyrene gis

en intramuskulær injeksjon med "Amoxypen L.A." ved produsentens anbefalte dose umiddelbart før eller etter operasjonen.

Lam identifiseres ved øremerking og fikk være sammen med sine mødre under oppdrettstiden. Søyer og lam huses enten
5 under tak og føres med komplette diettkonsentrater og andre tilsetninger og/eller høy *ad lib.*, eller de får gå ute og gresse.

Innen første leveuke (eller så snart etter denne som mulig uten å sette helsen i fare) analyseres hvert lam for nærvær av heterologt DNA ved to analysefremgangsmåter. En 10 ml blod-
10 prøve tas fra halsvenen i en EDTA-vacutainer. Dersom lammet er tilstrekkelig i form, tas også en andre 10 ml blodprøve innen 1 uke etter den første. Vevsprøver tas ved halebiopsi så snart som mulig etter at halen er blitt desensibilisert etter påsetting av en gummielastratorring på dens proksimale tredjedel (vanligvis
15 innen 200 minutter etter påsetning). Vevet plasseres umiddelbart i en halebufferløsning. Haleprøver oppbevares ved romtemperatur og analyseres på oppsamlingsdagen. Alle lam gis en intramuskulær injeksjon med "Amoxypen L.A." ved fabrikantens anbefalte dose umiddelbart etter biopsien, og avkuttingsstedet sprayes med en
20 antibiotisk spray.

DNA ekstraheres fra saueblod ved først å separere hvite blodceller. En 10 ml blodprøve fortynnes med 20 ml Hanks bufrede saltvann (HBS, erholdt fra Sigma Chemical Co.). 10 ml fortynnet blod legges på toppen av 5 ml "Histopaque" (Sigma) i hvert av to
25 15 ml rør med skrukork. Rørene sentrifugeres ved 3 000 rpm (maksimalverdi 2 000 x g), med langsom nedbremsing i 15 minutter ved romtemperatur. Interfasesjikt med hvite blodceller overføres til et rent 15 ml rør og fortynnes til 15 ml med HBS. De fortynnede celler nedsentrifugeres ved 3 000 rpm i 10 minutter ved
30 romtemperatur, og nedsentrifugerte celler resuspenderes i 2-5 ml halebuffer.

For ekstraksjon av DNA fra de hvite blodceller tilsettes 10% SDS til de resuspenderte celler til en sluttkonsentrasjon på 1%, og røret inverteres for sammenblanding. 1 mg
35 nylaget proteinase K-løsning tilsettes, og blandingen inkuberes over natten ved 45 °C. DNA ekstraheres med et likt volum fenol/-kloroform (x3) og kloroform/isoamylalkohol (x1). DNA utfelles så ved tilsetning av 0,1 volum 3 M NaOAc og 2 volumer etanol, og røret snus for sammenblanding. Utfelt DNA spoles opp på en ren

glasstav med forseglet ende. Oppspolt DNA vaskes med 70% etanol, og DNA får tørke delvis, hvorefter det løses i TE (10 mM Tris-HCl, 1 mM EDTA, pH 7,4).

s DNA-prøver fra blod og hale analyseres ved Southern-blotting med prober for BLG-promoterområdet og de fibrinogen-kjedekodende områder.

SEKVENSLISTE

(1) GENERELL INFORMASJON:

- 5 (i) SØKER: ZymoGenetics, Inc.
 1201 Eastlake Avenue East
 Seattle, Washington 98102
 USA
- 10 Pharmaceutical Proteins Ltd.
 Roslin
 Edinburgh
 Midlothian, Skottland EH25 9PP
- 15 (ii) OPPFINNELSENS TITTEL: Fremstilling av fibrinogen i
 transgene dyr
- (iii) ANTALL SEKVENSER: 27
- 20 (v) DATAMASKINLESBAR FORM:
 (A) MEDIUMTYPE: diskett
 (B) COMPUTER: IBM PC-kompatibel
 (C) OPERATIVSYSTEM: PC-DOS/MS-DOS
 (D) PROGRAMVARE: PatentIn Release nr. 1.0,
25 versjon nr. 1.25
- (vi) RELEVANTE SØKNADSDATA:
 (A) SØKNADSNUMMER:
 (B) INNLEVERINGSDATO:
30 (C) KLASSIFIKASJON:

(2) INFORMASJON OM SEKV.ID NR. 1:

- (i) SEKVENSKARAKTERISTIKA:
- 35 (A) LENGDE: 5943 basepar
 (B) TYPE: nukleinsyre
 (C) TRÅD: dobbelttrådet
 (D) TOPOLOGI: lineær

(ii) MOLEKYLTYP: DNA (genomisk)

(vii) EKSPERIMENTELL KILDE:

(B) KLON: human, fibrinogen A-alfa-kjede

5

(ix) SÆRTREKK:

(A) NAVN/NØKKEL: CDS

(B) PLASSERING: "join"(31..84, 1154..1279,
1739..1922, 3055..3200, 3786..5210)

10

(xi) SEKVENSBESKRIVELSE: SEKV.ID NR. 1:

15	GTCTAGGAGC CAGCCCCACC CTTAGAAAAG ATG TTT TCC ATG AGG ATC GTC TGC	54
	Met Phe Ser Met Arg Ile Val Cys	
	1 5	
	CTA GTT CTA AGT GTG GTG GGC ACA GCA TGG GTATGGCCCT TTTCATTTT	104
	Leu Val Leu Ser Val Val Gly Thr Ala Trp	
	10 15	
20	TCTTCTTGCT TTCTCTCTGG TGTATTATCC ACAAAGAGCC TGGAGGTCAG AGTCTACCTG	164
	CTCTATGTCC TGACACACTC TTAGCTTTAT GACCCAGGC CTGGGAGGAA ATTCCTGGG	224
	TGGGCTTGAC ACCTCAAGAA TACAGGGTAA TATGACACCA AGAGGAAGAT CTTAGATGGA	284
25	TGAGAGTGTA CAACTACAAG GGAAACTTTA GCATCTGTCA TTCAGTCTTA CCACATTTTG	344
	TTTTGTTTTG TTTAAAAAAG GGCAAGAATT ATTTGCCATC CTTGTACCTA TAAAGCCTTG	404
	GTGCATTATA ATGCTAGTTA ATGGAATAAA ACATTTTATG GTAAGATTG TTTCTTTAG	464
30	TTATTAATTT CTGCTACTT GTCCATAATA AGCAGAACTT TTAGTGTTAG TACAGTTTTG	524
	CTGAAAGGTT ATTGTTGTGT TTGTCAAGAC AGAAGAAAAA GCAAACGAAT TATCTTTGGA	584
	AATATCTTTG CAGTATCAGA AGAGATTAGT TAGTAAGGCA ATACGCTTTT CCGCAGTAAT	644

35

	GGTATTCTTT TAAATTATGA ATCCATCTCT AAAGGTTACA TAGAACTTG AAGGAGAGAG	704
	GAACATTGAG TTAAGATAGT CTAGGTTTTT CTAAGAAGC AGCAATTACA GGAGAAAGAG	764
5	CTCTACAGTA GTTTTCAACT TTCTGTCTGC AGTCATTAGT AAAAATGAAA AGGTAAAATT	824
	TAACTGATTT TATAGATTCA AATAATTTTC CTTTATAGGAT GGATTCTTTA AAACCTCTAA	884
	TATTTATCAA ATGCTTATTT AAGTGTGACA CACAGTTAAG AAATTTGTAC ACCTTGCTCTC	944
10	CTTTAATTCT CATAACAACT CCATAAAATG GGTCTAGGA TTTCCATTG AAGATAAGAA	1004
	ACCTGAAGCT TGCCGAAGCC CTGTGTCTGC TCTCCTTAAT CTCTGTGAGA GTGCCATCTC	1064
	TTCTGGGGGA CTTGTAGGCA TGCCACTGTC TCCTCTTCTG GCTAACATTG CTGTTGCTCT	1124
15	CTTTTGTGTA TGTGAATGAA TCTTTAAAG ACT GCA GAT AGT GGT GAA GGT GAC Thr Ala Asp Ser Gly Glu Gly Asp 20 25	1177
	TTT CTA GCT GAA GGA GGA GGC GTG CGT GGC CCA AGG GTT GTG GAA AGA Phe Leu Ala Glu Gly Gly Gly Val Arg Gly Pro Arg Val Val Glu Arg 30 35 40	1225
20	CAT CAA TCT GCC TGC AAA GAT TCA GAC TGG CCC TTC TGC TCT GAT GAA His Gln Ser Ala Cys Lys Asp Ser Asp Trp Pro Phe Cys Ser Asp Glu 45 50 55	1273
25	GAC TGG GTAAGCAGTC AGCGGGGGAA GCAGGAGATT CCTCCCTCT GATGCTAGAG Asp Trp 60	1329
	GGGCTCACAG GCTGACCTGA TTGGTCCCAG AAACCTTTTT AAATAGAAAA TAATTGAATA	1389
30	GTTACCTACA TAGCAAATAA AGAAAAGGAA CTAAGTCCCA AGAGCACTGT TTATTTACCT	1449
	CCCCAACTCT GGATCATTAG TGGGTGAACA GACAGGATTT CAGTTGCATG CTCAGGCAAA	1509
	ACCAGGCTCC TGAGTATTGT GGCCTCAATT TCCTGGCACC TATTTATGGC TAAGTGGACC	1569
35	CTCATTCAG AGTTTCTCTG CGACCTCTAA CTAGTCTCT TACCTACTTT TAAGCCAACT	1629
	TATCTGGAAG AGAAAGGGTA GGAAGAAATG GGGGCTGCAT GGAAACATGC AAAATTATTC	1689
	TGAATCTGAG AGATAGATCC TTAAGTGAAT TTTCTCCCTT CACTTTCAG AAC TAC Asn Tyr	1744

	AAA TGC CCT TCT GGC TGC AGG ATG AAA GGG TTG ATT GAT GAA GTC AAT	1792
	Lys Cys Pro Ser Gly Cys Arg Met Lys Gly Leu Ile Asp Glu Val Asn	
	65 70 75	
5	CAA GAT TTT ACA AAC AGA ATA AAT AAG CTC AAA AAT TCA CTA TTT GAA	1840
	Gln Asp Phe Thr Asn Arg Ile Asn Lys Leu Lys Asn Ser Leu Phe Glu	
	80 85 90	
	TAT CAG AAG AAC AAT AAG GAT TCT CAT TCG TTG ACC ACT AAT ATA ATG	1888
10	Tyr Gln Lys Asn Asn Lys Asp Ser His Ser Leu Thr Thr Asn Ile Met	
	95 100 105 110	
	GAA ATT TTG AGA GGC GAT TTT TCC TCA GCC AAT A GTAAGTATTA	1932
	Glu Ile Leu Arg Gly Asp Phe Ser Ser Ala Asn	
	115 120	
15	CATATTTACT TCTTTGACTT TATAACAGAA ACAACAAAA TCCTAAATAA ATATGATATC	1992
	CGCTTATATC TATGACAATT TCATCCCAAA GTACTTAGTG TAGAAACACA TACCTTCATA	2052
	ATATCCCTGA AAATTTTAAG AGGGAGCTTT TGTTTTCGTT ATTTTTTCAA AGTAAAAGAT	2112
20	GTAACTGAG ATTGTTTAAG GTCACAAAAT AAGTCAGAAT TTTGGATTAA AACAAGAATT	2172
	TAAATGTGTT CTTTTCAACA GTATATACTG AAAGTAGGAT GGGTCAGACT CTTTGAGTTG	2232
	ATATTTTTGT TTCTGCTTTG TAAAGGTGAA AACTGAGAGG TCAAGGAACT TGTTCAAAGA	2292
25	CACAGAGCTG GGAATTCAAC TCCCAGACTC CACTGAGCTG ATTAGGTAGA TTTTAAATT	2352
	TAAATATAG GGTCAAGCTA CGTCATTCTC ACAGTCTACT CATTAGGGTT AGGAAACATT	2412
	GCATTCACCTC TGGGCATGGA CAGCGAGTCT AGGGAGTCCT CAGTTTCTCA AGTTTTGCTT	2472
30	TGCCTTTTTA CACCTTCACA AACACTTGAC ATTTAAAATC AGTGATGCCA AACTAGCTG	2532
	GCAAGTGAGT GATCCTGTTG ACCCAAACA GCTTAGGAAC CATTTCAAAT CTATAGAGTT	2592
	AAAAAGAAAA GCTCATCAGT AAGAAAATCC AATATGTTCA AGTCCCTTGA TTAAGGATGT	2652
35	TATAAAATAA TTGAAATGCA ATCAAACCAA CTATTTTAAC TCCAAATTAC ACCTTTAAAA	2712
	TTCCAAAGAA AGTTCTTCTT CTATATTTCT TTGGGATTAC TAATTGCTAT TAGGACATCT	2772
	TAACTGGCAT TCATGGAAGG CTGCAGGGCA TAACATTATC CAAAAGTCAA ATGCCCCATA	2832

	GGTTTTGAAC TCACAGATTA AACTGTAACC AAAATAAAAT TAGGCATATT TACAAGCTAG	2892
	TTTCTTTCTT TCTTTTTTCT CTTTCTTTCT TTCTTTCTTT CTTTCTTTCT TTCTTTCTTT	2952
5	CTTTCTTTCT TTCTCCTTCC TTCCTTTCTT CCTTTCTTTT TTGCTGGCAA TTACAGACAA	3012
	ATCACTCAGC AGCTACTTCA ATAACCATAT TTTCGATTTC AG AC CGT GAT AAT	3065
	Asn Arg Asp Asn	125
10	ACC TAC AAC CGA GTG TCA GAG GAT CTG AGA AGC AGA ATT GAA GTC CTG	3113
	Thr Tyr Asn Arg Val Ser Glu Asp Leu Arg Ser Arg Ile Glu Val Leu	130 135 140
	AAG CGC AAA GTC ATA GAA AAA GTA CAG CAT ATC CAG CTT CTG CAG AAA	3161
15	Lys Arg Lys Val Ile Glu Lys Val Gln His Ile Gln Leu Leu Gln Lys	145 150 155
	AAT GTT AGA GCT CAG TTG GTT GAT ATG AAA CGA CTG GAG GTAAGTATGT	3210
	Asn Val Arg Ala Gln Leu Val Asp Met Lys Arg Leu Glu	160 165 170
20	GGCTGTGGTC CCGAGTGTCC TTGTTTTTGA GTAGAGGGAA AAGGAAGGCG ATAGTTATGC	3270
	ACTGAGTGTC TACTATATGC AGAGAAAAGT GTTATATCCA TCATCTACCT AAAAGTAGGT	3330
	ATTATTTTCC TCACTCCACA GTTGAAGAAA AAAAAATTCA GAGATATTAA GTAAATTTTC	3390
25	CAACGTACAT AGATAGTAAT TCAAAGCAAT GTTCAGTCCC TGTCTATTCC AAGCCATTAC	3450
	ATCACCACAC CTCTGAGCCC TCAGCCTGAG TTCACCAAGG ATCATTTAAT TAGCGTTTCC	3510
	TTTGAGAGGG AATAGCACCT TACTCTTGAT CCATTCTGAG GCTAAGATGA ATTAACAGC	3570
30	ATCCATTGCT TATCCTGGCT AGCCCTGCAA TACCCAACAT CTCTTCCACT GAGGGTGCTC	3630
	GATAGGCAGA AACAGAGAA TATTAAGTGG TAGGTCTCCG AGTCAAAAAA AATGAAACCA	3690
	GTTTCCAGAA GGAAAATTAA CTACCAGGAA CTCAATAGAC GTAGTTTATG TATTTGTATC	3750
35	TACATTTTCT CTTTATTTTT CTCCCCTCTC TCTAG GTG GAC ATT GAT ATT AAG	3803
	Val Asp Ile Asp Ile Lys	

	ATC CGA TCT TGT CGA GGG TCA TGC AGT AGG GCT TTA GCT CGT GAA GTA	3851
	Ile Arg Ser Cys Arg Gly Ser Cys Ser Arg Ala Leu Ala Arg Glu Val	
	180 185 190	
5	GAT CTG AAG GAC TAT GAA GAT CAG CAG AAG CAA CTT GAA CAG GTC ATT	3899
	Asp Leu Lys Asp Tyr Glu Asp Gln Gln Lys Gln Leu Glu Gln Val Ile	
	195 200 205	
	GCC AAA GAC TTA CTT CCC TCT AGA GAT AGG CAA CAC TTA CCA CTG ATA	3947
	Ala Lys Asp Leu Leu Pro Ser Arg Asp Arg Gln His Leu Pro Leu Ile	
10	210 215 220	
	AAA ATG AAA CCA GTT CCA GAC TTG GTT CCC GGA AAT TTT AAG AGC CAG	3995
	Lys Met Lys Pro Val Pro Asp Leu Val Pro Gly Asn Phe Lys Ser Gln	
	225 230 235 240	
15	CTT CAG AAG GTA CCC CCA GAG TGG AAG GCA TTA ACA GAC ATG CCG CAG	4043
	Leu Gln Lys Val Pro Pro Glu Trp Lys Ala Leu Thr Asp Met Pro Gln	
	245 250 255	
	ATG AGA ATG GAG TTA GAG AGA CCT GGT GGA AAT GAG ATT ACT CGA GGA	4091
	Met Arg Met Glu Leu Glu Arg Pro Gly Gly Asn Glu Ile Thr Arg Gly	
20	260 265 270	
	GGC TCC ACC TCT TAT GGA ACC GGA TCA GAG ACG GAA AGC CCC AGG AAC	4139
	Gly Ser Thr Ser Tyr Gly Thr Gly Ser Glu Thr Glu Ser Pro Arg Asn	
	275 280 285	
25	CCT AGC AGT GCT GGA AGC TGG AAC TCT GGG AGC TCT GGA CCT GGA AGT	4187
	Pro Ser Ser Ala Gly Ser Trp Asn Ser Gly Ser Ser Gly Pro Gly Ser	
	290 295 300	
	ACT GGA AAC CGA AAC CCT GGG AGC TCT GGG ACT GGA GGG ACT GCA ACC	4235
	Thr Gly Asn Arg Asn Pro Gly Ser Ser Gly Thr Gly Gly Thr Ala Thr	
30	305 310 315 320	
	TGG AAA CCT GGG AGC TCT GGA CCT GGA AGT GCT GGA AGC TGG AAC TCT	4283
	Trp Lys Pro Gly Ser Ser Gly Pro Gly Ser Ala Gly Ser Trp Asn Ser	
	325 330 335	
	GGG AGC TCT GGA ACT GGA AGT ACT GGA AAC CAA AAC CCT GGG AGC CCT	4331
	Gly Ser Ser Gly Thr Gly Ser Thr Gly Asn Gln Asn Pro Gly Ser Pro	
35	340 345 350	
	AGA CCT GGT AGT ACC GGA ACC TGG AAT CCT GGC AGC TCT GAA CGC GGA	4379
	Arg Pro Gly Ser Thr Gly Thr Trp Asn Pro Gly Ser Ser Glu Arg Gly	
	355 360 365	

	AGT GCT GGG CAC TGG ACC TCT GAG AGC TCT GTA TCT GGT AGT ACT GGA	4427
	Ser Ala Gly His Trp Thr Ser Glu Ser Ser Val Ser Gly Ser Thr Gly	
	370 375 380	
5	CAA TGG CAC TCT GAA TCT GGA AGT TTT AGG CCA GAT AGC CCA GGC TCT	4475
	Gln Trp His Ser Glu Ser Gly Ser Phe Arg Pro Asp Ser Pro Gly Ser	
	385 390 395 400	
	GGG AAC GCG AGG CCT AAC AAC CCA GAC TGG GGC ACA TTT GAA GAG GTG	4523
10	Gly Asn Ala Arg Pro Asn Asn Pro Asp Trp Gly Thr Phe Glu Glu Val	
	405 410 415	
	TCA GGA AAT GTA AGT CCA GGG ACA AGG AGA GAG TAC CAC ACA GAA AAA	4571
	Ser Gly Asn Val Ser Pro Gly Thr Arg Arg Glu Tyr His Thr Glu Lys	
	420 425 430	
15	CTG GTC ACT TCT AAA GGA GAT AAA GAG CTC AGG ACT GGT AAA GAG AAG	4619
	Leu Val Thr Ser Lys Gly Asp Lys Glu Leu Arg Thr Gly Lys Glu Lys	
	435 440 445	
	GTC ACC TCT GGT AGC ACA ACC ACC ACG CGT CGT TCA TGC TCT AAA ACC	4667
20	Val Thr Ser Gly Ser Thr Thr Thr Thr Arg Arg Ser Cys Ser Lys Thr	
	450 455 460	
	GTT ACT AAG ACT GTT ATT GGT CCT GAT GGT CAC AAA GAA GTT ACC AAA	4715
	Val Thr Lys Thr Val Ile Gly Pro Asp Gly His Lys Glu Val Thr Lys	
	465 470 475 480	
25	GAA GTG GTG ACC TCC GAA GAT GGT TCT GAC TGT CCC GAG GCA ATG GAT	4763
	Glu Val Val Thr Ser Glu Asp Gly Ser Asp Cys Pro Glu Ala Met Asp	
	485 490 495	
	TTA GGC ACA TTG TCT GGC ATA GGT ACT CTG GAT GGG TTC CGC CAT AGG	4811
30	Leu Gly Thr Leu Ser Gly Ile Gly Thr Leu Asp Gly Phe Arg His Arg	
	500 505 510	
	CAC CCT GAT GAA GCT GCC TTC TTC GAC ACT GCC TCA ACT GGA AAA ACA	4859
	His Pro Asp Glu Ala Ala Phe Phe Asp Thr Ala Ser Thr Gly Lys Thr	
	515 520 525	
35	TTC CCA GGT TTC TTC TCA CCT ATG TTA GGA GAG TTT GTC AGT GAG ACT	4907
	Phe Pro Gly Phe Phe Ser Pro Met Leu Gly Glu Phe Val Ser Glu Thr	
	530 535 540	

	GAG TCT AGG GGC TCA GAA TCT GGC ATC TTC ACA AAT ACA AAG GAA TCC Glu Ser Arg Gly Ser Glu Ser Gly Ile Phe Thr Asn Thr Lys Glu Ser 545 550 555 560	4955
5	AGT TCT CAT CAC CCT GGG ATA GCT GAA TTC CCT TCC CGT GGT AAA TCT Ser Ser His His Pro Gly Ile Ala Glu Phe Pro Ser Arg Gly Lys Ser 565 570 575	5003
10	TCA AGT TAC AGC AAA CAA TTT ACT AGT AGC ACG AGT TAC AAC AGA GGA Ser Ser Tyr Ser Lys Gln Phe Thr Ser Ser Thr Ser Tyr Asn Arg Gly 580 585 590	5051
	GAC TCC ACA TTT GAA AGC AAG AGC TAT AAA ATG GCA GAT GAG GCC GGA Asp Ser Thr Phe Glu Ser Lys Ser Tyr Lys Met Ala Asp Glu Ala Gly 595 600 605	5099
15	AGT GAA GCC GAT CAT GAA GGA ACA CAT AGC ACC AAG AGA GGC CAT GCT Ser Glu Ala Asp His Glu Gly Thr His Ser Thr Lys Arg Gly His Ala 610 615 620	5147
20	AAA TCT CGC CCT GTC AGA GGT ATC CAC ACT TCT CCT TTG GGG AAG CCT Lys Ser Arg Pro Val Arg Gly Ile His Thr Ser Pro Leu Gly Lys Pro 625 630 635 640	5195
	TCC CTG TCC CCC TAGACTAAGT TAAATATTTT TGCACAGTGT TCCCATGGCC Ser Leu Ser Pro 645	5247
25	CCTTGCAATTT CCTTCTTAAC TCTCTGTTAC ACGTCATTGA AACTACACTT TTTTGGTCTG	5307
	TTTTTGTGCT AGACTGTAAG TTCCTTGGGG GCAGGGCCTT TGTCTGTCTC ATCTCTGTAT	5367
	TCCCAAATGC CTAACAGTAC AGAGCCATGA CTCAATAAAT ACATGTTAAA TGGATGAATG	5427
30	AATTCCTCTG AAACCTCTATT TGAGCTTATT TAGTCAAATT CTTTCACTAT TCAAAGTGTG	5487
	TGCTATTAGA ATTGTCACCC AACTGATTAA TCACATTTTT AGTATGTGTC TCAGTTGACA	5547
	TTTAGGTCAG GCTAAATACA AGTTGTGTTA GTATTAAGTG AGCTTAGCTA CCTGTACTGG	5607
35	TTACTTGCTA TTAGTTTGTG CAAGTAAAAT TCCAAATACA TTTGAGGAAA ATCCCCTTTG	5667
	CAATTTGTAG GTATAAATAA CCGCTTATTT GCATAAGTTC TATCCCACTG TAAGTGCATC	5727
	CTTTCCTAT GGAGGGAAGG AAAGGAGGAA GAAAGAAAGG AAGGGAAAGA AACAGTATTT	5787
	GCCTTATTTA ATCTGAGCCG TGCCTATCTT TGTAAGTTA AATGAGAATA ACTTCTTCCA	5847

ACCAGCTTAA TTTTTTTTTT AGACTGTGAT GATGTCCTCC AAACACATCC TTCAGGTACC 5907

CAAAGTGGCA TTTTCAATAT CAAGCTATCC GGATCC 5943

5

(2) INFORMASJON OM SEKV.ID NR. 2:

(i) SEKVENSKARAKTERISTIKA:

(A) LENGDE: 644 aminosyrer

10 (B) TYPE: aminosyre

(D) TOPOLOGI: lineær

(ii) MOLEKYLTTYPE: protein

15

(xi) SEKVENSBESKRIVELSE: SEKV.ID NR. 2:

Met Phe Ser Met Arg Ile Val Cys Leu Val Leu Ser Val Val Gly Thr
1 5 10 15

20

Ala Trp Thr Ala Asp Ser Gly Glu Gly Asp Phe Leu Ala Glu Gly Gly
20 25 30

Gly Val Arg Gly Pro Arg Val Val Glu Arg His Gln Ser Ala Cys Lys
35 40 45

25

Asp Ser Asp Trp Pro Phe Cys Ser Asp Glu Asp Trp Asn Tyr Lys Cys
50 55 60

Pro Ser Gly Cys Arg Met Lys Gly Leu Ile Asp Glu Val Asn Gln Asp
65 70 75 80

30

Phe Thr Asn Arg Ile Asn Lys Leu Lys Asn Ser Leu Phe Glu Tyr Gln
85 90 95

Lys Asn Asn Lys Asp Ser His Ser Leu Thr Thr Asn Ile Met Glu Ile
100 105 110

35

Leu Arg Gly Asp Phe Ser Ser Ala Asn Asn Arg Asp Asn Thr Tyr Asn
115 120 125

Arg Val Ser Glu Asp Leu Arg Ser Arg Ile Glu Val Leu Lys Arg Lys
130 135 140

Val Ile Glu Lys Val Gln His Ile Gln Leu Leu Gln Lys Asn Val Arg
145 150 155 160

Ala Gln Leu Val Asp Met Lys Arg Leu Glu Val Asp Ile Asp Ile Lys
 165 170 175
 Ile Arg Ser Cys Arg Gly Ser Cys Ser Arg Ala Leu Ala Arg Glu Val
 180 185 190
 5 Asp Leu Lys Asp Tyr Glu Asp Gln Gln Lys Gln Leu Glu Gln Val Ile
 195 200 205
 Ala Lys Asp Leu Leu Pro Ser Arg Asp Arg Gln His Leu Pro Leu Ile
 210 215 220
 10 Lys Met Lys Pro Val Pro Asp Leu Val Pro Gly Asn Phe Lys Ser Gln
 225 230 235 240
 Leu Gln Lys Val Pro Pro Glu Trp Lys Ala Leu Thr Asp Met Pro Gln
 245 250 255
 15 Met Arg Met Glu Leu Glu Arg Pro Gly Gly Asn Glu Ile Thr Arg Gly
 260 265 270
 Gly Ser Thr Ser Tyr Gly Thr Gly Ser Glu Thr Glu Ser Pro Arg Asn
 275 280 285
 20 Pro Ser Ser Ala Gly Ser Trp Asn Ser Gly Ser Ser Gly Pro Gly Ser
 290 295 300
 Thr Gly Asn Arg Asn Pro Gly Ser Ser Gly Thr Gly Gly Thr Ala Thr
 305 310 315 320
 25 Trp Lys Pro Gly Ser Ser Gly Pro Gly Ser Ala Gly Ser Trp Asn Ser
 325 330 335
 Gly Ser Ser Gly Thr Gly Ser Thr Gly Asn Gln Asn Pro Gly Ser Pro
 340 345 350
 30 Arg Pro Gly Ser Thr Gly Thr Trp Asn Pro Gly Ser Ser Glu Arg Gly
 355 360 365
 Ser Ala Gly His Trp Thr Ser Glu Ser Ser Val Ser Gly Ser Thr Gly
 370 375 380
 35 Gln Trp His Ser Glu Ser Gly Ser Phe Arg Pro Asp Ser Pro Gly Ser
 385 390 395 400
 Gly Asn Ala Arg Pro Asn Asn Pro Asp Trp Gly Thr Phe Glu Glu Val
 405 410 415

Ser Gly Asn Val Ser Pro Gly Thr Arg Arg Glu Tyr His Thr Glu Lys
 420 425 430

5 Leu Val Thr Ser Lys Gly Asp Lys Glu Leu Arg Thr Gly Lys Glu Lys
 435 440 445

Val Thr Ser Gly Ser Thr Thr Thr Thr Arg Arg Ser Cys Ser Lys Thr
 450 455 460

10 Val Thr Lys Thr Val Ile Gly Pro Asp Gly His Lys Glu Val Thr Lys
 465 470 475 480

Glu Val Val Thr Ser Glu Asp Gly Ser Asp Cys Pro Glu Ala Met Asp
 485 490 495

15 Leu Gly Thr Leu Ser Gly Ile Gly Thr Leu Asp Gly Phe Arg His Arg
 500 505 510

His Pro Asp Glu Ala Ala Phe Phe Asp Thr Ala Ser Thr Gly Lys Thr
 515 520 525

20 Phe Pro Gly Phe Phe Ser Pro Met Leu Gly Glu Phe Val Ser Glu Thr
 530 535 540

Glu Ser Arg Gly Ser Glu Ser Gly Ile Phe Thr Asn Thr Lys Glu Ser
 545 550 555 560

25 Ser Ser His His Pro Gly Ile Ala Glu Phe Pro Ser Arg Gly Lys Ser
 565 570 575

Ser Ser Tyr Ser Lys Gln Phe Thr Ser Ser Thr Ser Tyr Asn Arg Gly
 580 585 590

30 Asp Ser Thr Phe Glu Ser Lys Ser Tyr Lys Met Ala Asp Glu Ala Gly
 595 600 605

Ser Glu Ala Asp His Glu Gly Thr His Ser Thr Lys Arg Gly His Ala
 610 615 620

35 Lys Ser Arg Pro Val Arg Gly Ile His Thr Ser Pro Leu Gly Lys Pro
 625 630 635 640

Ser Leu Ser Pro

(2) INFORMASJON OM SEKV.ID NR. 3:

(i) SEKVENSKARAKTERISTIKA:

(A) LENGDE: 8878 basepar

5

(B) TYPE: nukleinsyre

(C) TRÅD: dobbelttrådet

(D) TOPOLOGI: lineær

(ii) MOLEKYLTTYPE: DNA (genomisk)

10

(vii) EKSPERIMENTELL KILDE:

(B) KLON: human, fibrinogen B-beta-kjede

(ix) SÆRTREKK:

15

(A) NAVN/NØKKEL: div. RNA

(B) PLASSERING: 1..469

(ix) SÆRTREKK:

20

(A) NAVN/NØKKEL: ekson

(B) PLASSERING: 470..583

(ix) SÆRTREKK:

25

(A) NAVN/NØKKEL: intron

(B) PLASSERING: 584..3257

(ix) SÆRTREKK:

(A) NAVN/NØKKEL: ekson

(B) PLASSERING: 3258..3449

30

(ix) SÆRTREKK:

(A) NAVN/NØKKEL: intron

(B) PLASSERING: 3450..3938

35

(ix) SÆRTREKK:

(A) NAVN/NØKKEL: ekson

(B) PLASSERING: 3939..4122

5 (ix) SÆRTREKK:

(A) NAVN/NØKKEL: intron

(B) PLASSERING: 4123..5042

(ix) SÆRTREKK:

10 (A) NAVN/NØKKEL: ekson

(B) PLASSERING: 5043..5270

(ix) SÆRTREKK:

(A) NAVN/NØKKEL: intron

15 (B) PLASSERING: 5271..5830

(ix) SÆRTREKK:

(A) NAVN/NØKKEL: ekson

(B) PLASSERING: 5831..5944

20

(ix) SÆRTREKK:

(A) NAVN/NØKKEL: intron

(B) PLASSERING: 5945..6632

25

(ix) SÆRTREKK:

(A) NAVN/NØKKEL: ekson

(B) PLASSERING: 6633..6758

(ix) SÆRTREKK:

30 (A) NAVN/NØKKEL: intron

(B) PLASSERING: 6759..6966

(ix) SÆRTREKK:

(A) NAVN/NØKKEL: ekson

35

(B) PLASSERING: 6967..7252

(ix) SÆRTREKK:

(A) NAVN/NØKKEL: intron

(B) PLASSERING: 7253..7870

5 (ix) SÆRTREKK:

(A) NAVN/NØKKEL: ekson

(B) PLASSERING: 7871..8102

(ix) SÆRTREKK:

10 (A) NAVN/NØKKEL: 3'UTR

(B) PLASSERING: 8103..8537

(ix) SÆRTREKK:

(A) NAVN/NØKKEL: div. RNA

15 (B) PLASSERING: 8538..8878

(ix) SÆRTREKK:

(A) NAVN/NØKKEL: CDS

(B) PLASSERING: "join"(470..583, 3258..3449,
20 3939..4122, 5043..5270,
5831..5944, 6633..6758, 6967..7252,
7871..8102)

25

(xi) SEKVENSBESKRIVELSE: SEKV.ID NR. 3:

30

35

	GAATTCATGC CCCTTTTGAA ATAGACTTAT GTCATTGTCA GAAAACATAA GCATTTATGG	60
	TATATCATTAT ATGAGTCACG ATTTTAGTGG TTGCCTTGTG AGTAGGTCAA ATTTACTAAG	120
5	CTTAGATTTG TTTTCTCACA TATTCTTTTCG GAGCTTGTGT AGTTTCCACA TTAATTTACC	180
	AGAAACAAGA TACACACTCT CTTTGAGGAG TGCCCTAACT TCCCATCATT TTGTCCAATT	240
	AAATGAATTG AAGAAATTTA ATGTTTCTAA ACTAGACCAA CAAAGAATAA TAGTTGTATG	300
10	ACAAGTAAAT AAGCTTTGCT GGGGAAGATGT TGCTTAAATG ATAAAATGGT TCAGCCAACA	360
	AGTGAACCAA AAATTAATA TTAATAAGG AAAGGTAACC ATTTCTGAAG TCATTCCTAG	420
	CAGAGGACTC AGATATATAT AGGATTGAAG ATCTCTCAGT TAAGTCTAC ATG AAA	475
		Met Lys
15		1
	AGG ATG GTT TCT TGG AGC TTC CAC AAA CTT AAA ACC ATG AAA CAT CTA	523
	Arg Met Val Ser Trp Ser Phe His Lys Leu Lys Thr Met Lys His Leu	
	5 10 15	
20	TTA TTG CTA CTA TTG TGT GTT TTT CTA GTT AAG TCC CAA GGT GTC AAC	571
	Leu Leu Leu Leu Leu Cys Val Phe Leu Val Lys Ser Gln Gly Val Asn	
	20 25 30	
	GAC AAT GAG GAG GTGAATTTT TAAAGCATT TATATTATT AGTAGTATTA	623
	Asp Asn Glu Glu	
25	35	
	TTAATATAAG ATGTAACATA ATCATATTAT GTGCTTATTT TAATGAAATT AGCATTGCTT	683
	ATAGTTATGA AATGGAATTG TTAACCTCTG ACTTATTGTA TTAAAGAAT GTTTCATAGT	743
30	ATTTCTTATA TAAAAACAAA GTAATTTCTT GTTTTCTAGT TTATCACCTT TGTTTTCTTA	803
	AGATGAGGAT GGCTTAGCTA ATGTAAGATG TGTTTTTCTC ACTTGCTATT CTGAGTACTG	863
	TGATTTTCAT TTAATTCTAG CAATACAGGA TTACAATTAA GAGGACAAGA TCTGAAAATC	923
35	TCACAACTA TAAAATAATA AAAGAGCAGA ATTTAAGAT AAAAGAACT GGTGGTAGGT	983
	AGATTGTTCT TTGGTGAAGG AAGGTAATAT ATATTGTTAC TGAGATTACT ATTTATAAAA	1043
	ATTATAACTA AGCCTAAAAG CAAAATACAT CAAGTGTAAT GATAGAAAAT GAAATATTGC	1103

	TTTTTTCAGA TGAAAAGTTC AAATTAGAGT TAGTGTGTAT TGTTATTATT AATAGTTATG	1163
	AAACACGGTT CAGTCTAATT TATTTATTTG TAGAACAGTT TGTCTCAAC TATTATTTTT	1223
5	GCTGACTTAT TGCTGTTAAT TTGCAGTTAC TAAAAATACA GAAATGCATT TAGGACAATG	1283
	GATATTTAAG AAATTTAAAT TTTATCATCA AACGTATCAT GGCCAAATTT CTTACATATA	1343
	GCATAGTATC ATTAACTAG AAATAAGAAT ACACAATAAT ATTTAAATGA AGTGATTCAT	1403
10	TTCGGATCAT TATGAGTTT CAAGGGAAC TGAAGTGTGT ACTTATCAGA CTCTACATGT	1463
	AAGAACATAT AGTTAATCTG GTTGTGTGTG TAAAAACATA TGGTTAATCT GGTAAAGTCT	1523
	GGTTAATCAT ATTAGGTAAG AAAAATGTAA AGAATGTGTA AGACGAAATT TTTGTAAAGT	1583
15	ACTCTGCAAA GCACTTTCAC ATTTCTGCTT ATCAACTAAA CCTCACAGAG ATAGTTTAAT	1643
	AGTTTAGGCT TTAAATGGA TTTTGATTAT TCAACAAGTG GCCTTCATAA TTTCTTTAAG	1703
	TGTTTTCTT TAAGTATATA CTTTCTTTAA ATATTTTTTA AAATTCCTT TTCTCTAGTA	1763
20	AAGCCAGACC ATCCATGCTA CCTCTCTAGT GGCACCTCTGA AATAAAAAGA AAATAGTTTT	1823
	CTCTGTTATA ATTGTATTTG TAATAAGCAG ATGAATCACA TTTCTTAAAA TTTGTTTTAG	1883
	AGAGGGTAAG CTCTGACTAG GACCATGACT TCAATGTGAA ATATGTATAT ATCCTCCGAA	1943
25	TCTTTACATA TTAAGAATGT ATATAGTCAA CTGGTTAAAC AGGAAAATCT GGAACAGCCT	2003
	GGCTGGGTTT TAATCTTAGC ACCATCCTAC TAAATGTAA ATAATATTAT AATCTAATGA	2063
	ATAAATGACA ATGCAATTCC AAATAGAGTT CATCTGATGA CTTCTAGACT CACAAAATTG	2123
30	CAAGAGAGCT CAGTTGTTGC TCAGTTGTTT CAAATCATGT CGTTTGTTAA TTTGTAATTA	2183
	AGCTCCAAAG GATGTATAGC TACTGACAAA AAAAAAATG AGAATGTAGT TAATCCAAAT	2243
	CAAACTTTC CTATTGCAAT GCGTATTTTC TGCTTCATTA TCCTTTAATA TAATATTTTA	2303
35	AGTTAGCAAG TAATTTTAAT TACAATGCAC AAGCCTTGAG AATTATTTTA AATATAAGAA	2363
	AATCATAATG TTTGATAAAG AAATCATGTA AGAAATTTCA AGATAATGGT TTAACAAATA	2423
	ATTTTGTTGA TAGAAGATAA GACTAAAAGT GAAATTCGAA GTGGAGAGGA CACTTAAACT	2483
	GTAGTACTTG TTATGTGTGA TTCCAGTAAA AATAGTAATG AGCACTTATT ATTGCCAAGT	2543

	ACTGTTCTGA GGGTACCATA TGCAATAAGT TATTTAATCC TTACAATAAT CTTGTAAGGC	2603
	AGATTCAAAC TATCATTACA CTTATTTTAC AGATGAGAAA ACTGGGGCAC AGATAAAGCA	2663
5	ACTTGCCCAA GGTCTCATAG CTGTAAGTCA ACCCTACGGT CAAGACCTAC AAGTAGCCGA	2723
	GCTCCAGAGT ACATTATGAG GGTCAAAGAT TGTCTTATTA CAAATAAATT CCAAGTAGAA	2783
	TCAACCTTTA ATAAGTCTTT AATGTCTCTT AAATATGTTT ATATAGGAGT CTAATCACCA	2843
10	ATTCACAAAA ATGAAAGTAG GGAAATGATT AACAATAATC ATAGGAATCT AACAATCCAA	2903
	GTGGCTTGAG AATATTCATT CTTCTTGACA GATAGATTC TTTACAATTT CGTAAGTTCC	2963
	AATGTATGTT TTAGGAATAT GAGGTCATTA CTATTCATAA TCTGATACAG CTTTATCCTA	3023
15	AGGCCTCTCT TTA AAAACTA CACTGCATCA TAGCTTTTTT GTGCAGTTGG TCTTTCTACT	3083
	GTTACTGAAC AGTAAGCAAC CTACAGATTC ACTATCACCA ACCAGCCAGT TGATGGATCT	3143
	TAAGCAAATT ATCAAGCTTG TGATAACCTA AATTATAAAA TGAGGGTGTT GGAATAGTTA	3203
20	CATTCCAAAT CTTCTATAAC ACTCTGTATT ATATTTCTGC CTCATTCTT GTAG GGT Gly	3260
	TTC TTC AGT GCC CGT GGT CAT CGA CCC CTT GAC AAG AAG AGA GAA GAG	3308
	Phe Phe Ser Ala Arg Gly His Arg Pro Leu Asp Lys Lys Arg Glu Glu	
25	40 45 50 55	
	GCT CCC AGC CTG AGG CCT GCC CCA CCG CCC ATC AGT GGA GGT GGC TAT	3356
	Ala Pro Ser Leu Arg Pro Ala Pro Pro Pro Ile Ser Gly Gly Gly Tyr	
	60 65 70	
30	CGG GCT CGT CCA GCC AAA GCA GCT GCC ACT CAA AAG AAA GTA GAA AGA	3404
	Arg Ala Arg Pro Ala Lys Ala Ala Ala Thr Gln Lys Lys Val Glu Arg	
	75 80 85	
	AAA GCC CCT GAT GCT GGA GGC TGT CTT CAC GCT GAC CCA GAC CTG	3449
	Lys Ala Pro Asp Ala Gly Gly Cys Leu His Ala Asp Pro Asp Leu	
35	90 95 100	
	GTGGGTGCAC TGATGTTTCT TGCAGTGGTG GCTCTCTCAT GCAGAGAAAG CCTGTAGTCA	3509
	TGGCAGTCTG CTAATGTTTC ACTGACCCAC ATTACCATCA CTGTTATTTT GTTTGTTTAT	3569

	TTTGAAATA AAATTCAAAA CATAACATA TTGGGCCTTT GGTTTAGGCT TTCTTTCTTG	3629
	TTTTCTTTGG TCTGGGCCCA AAATTTCAAA TTAGGATATG TGGGTGCCAC CTTTCCATT	3689
5	GTATTTTGCC ACTGCCTTG TTTAGTTGGT AAAATTTTCA TAGCCCAATT ATATTTTTC	3749
	TGGGGTAAGT AATATTTTAA ATCTCTATGA GAGTATGATG ATGACTTTCG AATTTCTGGT	3809
	CTTACAGAAA ACCAAATAAT AAATTTTAT GTTGGCTAAT CGTATCGCTG AATTTTCCTA	3869
10	TGTGCTATTT TAACAAATGT CCATGACCCA AATCCTTCAT CTAATGCCTG CTATTTTCTT	3929
	TGTTTTTAG GGG GTG TTG TGT CCT ACA GGA TGT CAG TTG CAA GAG GCT	3977
	Gly Val Leu Cys Pro Thr Gly Cys Gln Leu Gln Glu Ala	
	105 110 115	
15	TTG CTA CAA CAG GAA AGG CCA ATC AGA AAT AGT GTT GAT GAG TTA AAT	4025
	Leu Leu Gln Gln Glu Arg Pro Ile Arg Asn Ser Val Asp Glu Leu Asn	
	120 125 130	
	AAC AAT GTG GAA GCT GTT TCC CAG ACC TCC TCT TCC TTT CAG TAC	4073
	Asn Asn Val Glu Ala Val Ser Gln Thr Ser Ser Ser Ser Phe Gln Tyr	
	135 140 145	
20	ATG TAT TTG CTG AAA GAC CTG TGG CAA AAG AGG CAG AAG CAA GTA AAA G	4122
	Met Tyr Leu Leu Lys Asp Leu Trp Gln Lys Arg Gln Lys Gln Val Lys	
	150 155 160	
25	GTAGATATCC TTGTGCTTTC CATTGATTT TCAGCTATAA AATTGGAACC GTTAGACTGC	4182
	CACGAGAATG CATGGTTGTG AGAAGATTAA CATTCTGGG TTAGTGAATA GCATTCATAC	4242
	GCTTTTGGGC ACCTTCCCT GCAACTTGCC AGATAAGCAC TATTCAGCTC TTATTCCAG	4302
	TCTGACATCA GCAAGTGTA TTTTCTATGA AAAATTCTAC TATGACTCCT TATTTAAGT	4362
30	ATACAAGAAA CTTGTGACTC AGAAGATAAT ATTTACAGAG TGGAAAAAAA CCCCTAGCAT	4422
	TTATAGTTTT AACATTTGAG GTTTTGAATG AGAGAGTTAT CCATAATATA TTCAATTGTG	4482
	TTGTGGATAA TGACACCTAA CCTGTGAATC TTGAGGTCAG AATGTTGAGT GCTGTTGACT	4542
35	TGGTGGTCAG GAAACAGCTA GTGCGTGAGC CTGGCACAGG CATCTCAGTG AGTAGCATAC	4602
	CCACAGTTGG AAATTTTCA AAGAAATCAA AGGAATCATG ACATCTTATA AATTTCAAGG	4662
	TTCTGCTATA CTTATGTGAA ATGGATAAAT AAATCAAGCA TATCCACTCT GTAAGATTGA	4722

	ACTTCTCAGA TGGAAGACCC CAATACTGCT TTCTCCTCTT TTCCCTCACC AAAGAAATAA	4782
	ACAACCTATT TCATTTATTA CTGGACACAA TCTTTAGCGT ATACCTATGG TAAATTACTA	4842
5	GTATGGTGGT TAGGATTJAT GTTAATTTGT ATATGTCATG CGCCAAATCA TTTCCACTAA	4902
	ATATGACTAT ATATCATAAC TGCTTGGTGA TAGCTCAGTG TTTAATAGTT TATTCTCAGA	4962
	AAATCAAAAT TGTATAGTTA AATACATTAG TTTTATGAGG CAAAAATGCT AACTATTTCT	5022
10	ACATAATTTT ATTTTCCAG AT AAT GAA AAT GTA GTC AAT GAG TAC TCC	5071
	Asp Asn Glu Asn Val Val Asn Glu Tyr Ser	
	165 170	
	TCA GAA CTG GAA AAG CAC CAA TTA TAT ATA GAT GAG ACT GTG AAT AGC	5119
	Ser Glu Leu Glu Lys His Gln Leu Tyr Ile Asp Glu Thr Val Asn Ser	
15	175 180 185	
	AAT ATC CCA ACT AAC CTT CGT GTG CTT CGT TCA ATC CTG GAA AAC CTG	5167
	Asn Ile Pro Thr Asn Leu Arg Val Leu Arg Ser Ile Leu Glu Asn Leu	
	190 195 200 205	
20	AGA AGC AAA ATA CAA AAG TTA GAA TCT GAT GTC TCA GCT CAA ATG GAA	5215
	Arg Ser Lys Ile Gln Lys Leu Glu Ser Asp Val Ser Ala Gln Met Glu	
	210 215 220	
	TAT TGT CGC ACC CCA TGC ACT GTC AGT TGC AAT ATT CCT GTG GTG TCT	5263
	Tyr Cys Arg Thr Pro Cys Thr Val Ser Cys Asn Ile Pro Val Val Ser	
25	225 230 235	
	GGC AAA G GTAAC TGATT CATAAACATA TTTT TAGAGA GTTCCAGAAG AACTCACACA	5320
	Gly Lys	
30	CCAAAAATAA GAGAACAACA ACAACAACAA AAATGCTAAG TGGATTTTCC CAACAGATCA	5380
	TAATGACATT ACAGTACATC ATAAAAATAT CCTTAGCCAG TTGTGTTTTG GACTGGCCTG	5440
	GTGCATTTGC TGGTTTTGAT GAGCAGGATG GGGCACAGGT AGTCCCAGGG GTGGCTGATG	5500
	TGTGCATCTG CGTACTGGCT TGAACAGATG GCAGAACCAC AGATAGATGT AGAAGTTTCT	5560
35	CCATTTTGTG TGTTCTGGGA GCTCATGGAT ATTCCAGGAC ACAAAGGTG GAGAAGAGCT	5620
	TTGTTTCATCC TCTTAGCAGA TAAACGTCCT CAAAAGTGGG TTGGACTTAC TAAAGTAAAA	5680

	TGAAAATCTA ATATTTGTTA TATTATTTTC AAAGGTCTAT AATAACACAC TCCTTAGTAA	5740
	CTTATGTAAT GTTATTTTAA AGAATTGGTG ACTAAATACA AAGTAATTAT GTCATAAACC	5800
5	CCTGAACATA ATGTTGTCTT ACATTTGCAG AA TGT GAG GAA ATT ATC AGG AAA Glu Cys Glu Glu Ile Ile Arg Lys 240 245	5853
10	GGA GGT GAA ACA TCT GAA ATG TAT CTC ATT CAA CCT GAC AGT TCT GTC Gly Gly Glu Thr Ser Glu Met Tyr Leu Ile Gln Pro Asp Ser Ser Val 250 255 260	5901
	AAA CCG TAT AGA GTA TAC TGT GAC ATG AAT ACA GAA AAT GGA G Lys Pro Tyr Arg Val Tyr Cys Asp Met Asn Thr Glu Asn Gly 265 270 275	5944
15	GTAAGCTTTC GACAGTTGTT GACCTGTTGA TCTGTAATTA TTTGGATACC GTAAAATGCC	6004
	AGGAAACAAG GCCAGGTGTG GTGGCTCATA CCTGTAATTC CAGCACCTTG GGAGGCCAAA	6064
	GTGGGCTGAT AGCTTGAGCC TAGGAGTTTG AAAC TAGCCT GGGCAACATA ATGAGACCCT	6124
20	AACTCTACAA AAAAAAAAAA AATACCAAAA AAAAAAAAAA AATCAGCTGT GTTGGTAGTA	6184
	TGTGCCTGTA GTCCCAGCTA TCCAGGAGGC TGAGATGGGA GATCACCTGA GCCACAACC	6244
	TGGAGTCTTG ATCATGCTAC TGAAGTGTAG CCTGGGCAAC AGAGGATAGT GAGATCCTGT	6304
25	CTCAAAAAAA AAAATTAATT AAAAAGCCAG GAAACAAGAC TTAGCTCTAA CATCTAACAT	6364
	AGCTGACAAA GGAGTAATTT GATGTGGAAT TCAACCTGAT ATTTAAAAGT TATAAAATAT	6424
	CTATAATTCA CAATTTGGGG TAAGATAAAG CACTTGCAGT TTCCAAAGAT TTTACAAGTT	6484
30	TACCTCTCAT ATTTATTTCC TTATTGTGTC TATTTTAGAG CACCAAATAT ATACTAAATG	6544
	GAATGGACAG GGGATTCAGA TATTATTTTC AAAGTGACAT TATTTGCTGT TGGTTAATAT	6604
	ATGCTCTTTT TGTTTCTGTC AACCAAAG GA TGG ACA GTG ATT CAG AAC CGT Gly Trp Thr Val Ile Gln Asn Arg 280 285	6655
35	CAA GAC GGT AGT GTT GAC TTT GGC AGG AAA TGG GAT CCA TAT AAA CAG Gln Asp Gly Ser Val Asp Phe Gly Arg Lys Trp Asp Pro Tyr Lys Gln 290 295 300	6703

	GGA TTT GGA AAT GTT GCA ACC AAC ACA GAT GGG AAG AAT TAC TGT GGC Gly Phe Gly Asn Val Ala Thr Asn Thr Asp Gly Lys Asn Tyr Cys Gly 305 310 315	6751
5	CTA CCA G GTAACGAACA GGCATGCAAA ATAAAATCAT TCTATTTGAA ATGGGATTTT Leu Pro	6808
	TTTTAATTAA AAAACATTCA TTGTTGGAAG CCTGTTTTAG GCAGTTAAGA GGAGTTTCCT	6868
10	GACAAAAATG TGGAAGCTAA AGATAAGGGA AGAAAGGCAG TTTTATGTTT CCCAAAATTT TATTTTTGGT GAGAGATTTT ATTTTGTTTT TCTTTTAG GT GAA TAT TGG CTT Gly Glu Tyr Trp Leu 320	6928 6980
15	GGA AAT GAT AAA ATT AGC CAG CTT ACC AGG ATG GGA CCC ACA GAA CTT Gly Asn Asp Lys Ile Ser Gln Leu Thr Arg Met Gly Pro Thr Glu Leu 325 330 335 340	7028
	TTG ATA GAA ATG GAG GAC TGG AAA GGA GAC AAA GTA AAG GCT CAC TAT Leu Ile Glu Met Glu Asp Trp Lys Gly Asp Lys Val Lys Ala His Tyr 345 350 355	7076
20	GGA GGA TTC ACT GTA CAG AAT GAA GCC AAC AAA TAC CAG ATC TCA GTG Gly Gly Phe Thr Val Gln Asn Glu Ala Asn Lys Tyr Gln Ile Ser Val 360 365 370	7124
25	AAC AAA TAC AGA GGA ACA GCC GGT AAT GCC CTC ATG GAT GGA GCA TCT Asn Lys Tyr Arg Gly Thr Ala Gly Asn Ala Leu Met Asp Gly Ala Ser 375 380 385	7172
	CAG CTG ATG GGA GAA AAC AGG ACC ATG ACC ATT CAC AAC GGC ATG TTC Gln Leu Met Gly Glu Asn Arg Thr Met Thr Ile His Asn Gly Met Phe 390 395 400	7220
30	TTC AGC ACG TAT GAC AGA GAC AAT GAC GGC TG GTATGTGTGG Phe Ser Thr Tyr Asp Arg Asp Asn Asp Gly Trp 405 410 415	7262
	CACTCTTTGC TCCTGCTTTA AAAATCACAC TAATATCATT ACTCAGAATC ATTAACAATA	7322
35	TTTTAATAG CTACCACTTC CTGGGCACTT ACTGTCAGCC ACTGTCCTAA GCTCTTTATG	7382
	CATCACTCGA AAGCATTTCA ACTATAAGGT AGACATTCTT ATTCTCATTT TACAGATGAG	7442
	ATTTAGAGAG ATTACGTGAT TTGTCCAATG TCACACAACCT ACCCAGAGAT AAAACTAGAA	7502

	TTTGAGCACA GTTACTTTCT GAATAATGAG CATTTAGATA AATACCTATA TCTCTATATT	7562
	CTAAAGTGTG TGTGAAAAC TTCATTTTCA TTTCCAGGGT TCTCTGATAC TAAGGGTTGT	7622
5	AAAAGCTATT ATTCCAGTAT AAAGTAACAA ACACAGTCCC TAGATGGATT GCCACAAAGG	7682
	CCCAGTTATC TCTCTTTCTT GCTATAGGGC ACAGGAGGTC TTTGGTGTAT TAGTGTGACT	7742
	CTATGTATAG CACCCAAAGG AAAGACTACT GTGCACACGA GTGTAGCAGT CTTTTATGGG	7802
10	TAATCTGCAA AACGTAAC TT GACCACCGTA GTTCTGTTTC TAATAACGCC AAACACATTT	7862
	TCTTTCAG G TTA ACA TCA GAT CCC AGA AAA CAG TGT TCT AAA GAA GAC	7910
	Leu Thr Ser Asp Pro Arg Lys Gln Cys Ser Lys Glu Asp	
	420 425	
15	GGT GGT GGA TGG TGG TAT AAT AGA TGT CAT GCA GCC AAT CCA AAC GGC	7958
	Gly Gly Gly Trp Trp Tyr Asn Arg Cys His Ala Ala Asn Pro Asn Gly	
	430 435 440	
	AGA TAC TAC TGG GGT GGA CAG TAC ACC TGG GAC ATG GCA AAG CAT GGC	8006
	Arg Tyr Tyr Trp Gly Gly Gln Tyr Thr Trp Asp Met Ala Lys His Gly	
	445 450 455 460	
20	ACA GAT GAT GGT GTA GTA TGG ATG AAT TGG AAG GGG TCA TGG TAC TCA	8054
	Thr Asp Asp Gly Val Val Trp Met Asn Trp Lys Gly Ser Trp Tyr Ser	
	465 470 475	
25	ATG AGG AAG ATG AGT ATG AAG ATC AGG CCC TTC TTC CCA CAG CAA TAGTCCCCAA	8109
	Met Arg Lys Met Ser Met Lys Ile Arg Pro Phe Phe Pro Gln Gln	
	480 485 490	
	TACGTAGATT TTTGCTCTTC TGTATGTGAC AACATTTTTG TACATTATGT TATTGGAATT	8169
30	TTCTTTCATA CATTATATTC CTCTAAAC TCTCAAGCAGA CGTGAGTGTG ACTTTTTGAA	8229
	AAAAGTATAG GATAAATTAC ATTAATAATAG CACATGATTT TCTTTTGTTT TCTTCATTTT	8289
	TCTTGCTCAC CCAAGAAGTA ACAAAGTAT AGTTTTGACA GAGTTGGTGT TCATAATTTT	8349
35	AGTTCTAGTT GATTGCGAGA ATTTTCAAAT AAGGAAGAGG GGTCTTTTAT CCTTGTCGTA	8409
	GGAAAACCAT GACGGAAAGG AAAAAGTAT GTTTAAAAGT CCACTTTTAA AACTATATTT	8469
	ATTTATGTAG GATCTGTCAA AGAAAAGTTC CAAAAGATT TATTAATTAA ACCAGACTCT	8529

GTTGCAATAA GTTAATGTTT TCTTGTTTTG TAATCCACAC ATTCAATGAG TTAGGCTTTG 8589
 CACTTGTAAG GAAGGAGAAG CGTTCACAAC CTCAAATAGC TAATAAACCG GTCTTGAATA 8649
 5 TTTGAAGATT TAAATCTGA CTCTAGGACG GGCACGGTGG CTCACGACTA TAATCCCAAC 8709
 ACTTTGGGAG GCTGAGGCGG GCGGTCACAA GGTGAGGAGT TCAAGACCAG CCTGACCAAT 8769
 ATGGTGAAAC CCCATCTCTA CTAAAAATAC AAAAATTAGC CAGGCGTGGT GGCAGGTGCC 8829
 10 TGTAGGTCCC AGCTAGCCTG TGAGGTGGAG ATTGCATTGA GCCAAGATC 8878

(2) INFORMASJON OM SEKV.ID NR. 4:

15 (i) SEKVENSKARAKTERISTIKA:
 (A) LENGDE: 491 aminosyrer
 (B) TYPE: aminosyre
 (D) TOPOLOGI: lineær

20 (ii) MOLEKYLTTYPE: protein

(xi) SEKVENSBEKRIVELSE: SEKV.ID NR. 4:

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

Gln Glu Ala Leu Leu Gln Gln Glu Arg Pro Ile Arg Asn Ser Val Asp
 115 120 125

5 Glu Leu Asn Asn Asn Val Glu Ala Val Ser Gln Thr Ser Ser Ser Ser
 130 135 140

Phe Gln Tyr Met Tyr Leu Leu Lys Asp Leu Trp Gln Lys Arg Gln Lys
 145 150 155 160

10 Gln Val Lys Asp Asn Glu Asn Val Val Asn Glu Tyr Ser Ser Glu Leu
 165 170 175

Glu Lys His Gln Leu Tyr Ile Asp Glu Thr Val Asn Ser Asn Ile Pro
 180 185 190

15 Thr Asn Leu Arg Val Leu Arg Ser Ile Leu Glu Asn Leu Arg Ser Lys
 195 200 205

Ile Gln Lys Leu Glu Ser Asp Val Ser Ala Gln Met Glu Tyr Cys Arg
 210 215 220

20 Thr Pro Cys Thr Val Ser Cys Asn Ile Pro Val Val Ser Gly Lys Glu
 225 230 235 240

Cys Glu Glu Ile Ile Arg Lys Gly Gly Glu Thr Ser Glu Met Tyr Leu
 245 250 255

25 Ile Gln Pro Asp Ser Ser Val Lys Pro Tyr Arg Val Tyr Cys Asp Met
 260 265 270

Asn Thr Glu Asn Gly Gly Trp Thr Val Ile Gln Asn Arg Gln Asp Gly
 275 280 285

30 Ser Val Asp Phe Gly Arg Lys Trp Asp Pro Tyr Lys Gln Gly Phe Gly
 290 295 300

Asn Val Ala Thr Asn Thr Asp Gly Lys Asn Tyr Cys Gly Leu Pro Gly
 305 310 315 320

35 Glu Tyr Trp Leu Gly Asn Asp Lys Ile Ser Gln Leu Thr Arg Met Gly
 325 330 335

Pro Thr Glu Leu Leu Ile Glu Met Glu Asp Trp Lys Gly Asp Lys Val
 340 345 350

Lys Ala His Tyr Gly Gly Phe Thr Val Gln Asn Glu Ala Asn Lys Tyr
 355 360 365

Gln Ile Ser Val Asn Lys Tyr Arg Gly Thr Ala Gly Asn Ala Leu Met
 370 375 380
 Asp Gly Ala Ser Gln Leu Met Gly Glu Asn Arg Thr Met Thr Ile His
 385 390 395 400
 Asn Gly Met Phe Phe Ser Thr Tyr Asp Arg Asp Asn Asp Gly Trp Leu
 405 410 415
 Thr Ser Asp Pro Arg Lys Gln Cys Ser Lys Glu Asp Gly Gly Gly Trp
 420 425 430
 Trp Tyr Asn Arg Cys His Ala Ala Asn Pro Asn Gly Arg Tyr Tyr Trp
 435 440 445
 Gly Gly Gln Tyr Thr Trp Asp Met Ala Lys His Gly Thr Asp Asp Gly
 450 455 460
 Val Val Trp Met Asn Trp Lys Gly Ser Trp Tyr Ser Met Arg Lys Met
 465 470 475 480
 Ser Met Lys Ile Arg Pro Phe Phe Pro Gln Gln
 485 490

(2) INFORMASJON OM SEKV.ID NR. 5:

(i) SEKVENSKARAKTERISTIKA:

- (A) LENGDE: 10564 basepar
- (B) TYPE: nukleinsyre
- (C) TRÅD: dobbelttrådet
- (D) TOPOLOGI: lineær

(ii) MOLEKYLTTYPE: DNA (genomisk)

(vii) EKSPERIMENTELL KILDE:

- (B) KLON: human, fibrinogen gammakjede

(ix) SÆRTREKK:

- (A) NAVN/NØKKEL: CDS
- (B) PLASSERING: "join"(1799..1876, 1973..2017,
2207..2390, 2510..2603, 4211..4341,
4645..4778, 5758..5942, 7426..7703,
9342..9571)

(x1) SEKVENSBESKRIVELSE: SEKV.ID NR. 5:

	CTACACACTT CTTGAAGGCA AAGGCAATGC TGAAGTCACC TTTCATGTTT AAATCATATT	60
5	AAAAAGTTAG CAAGATGTAA TTATCAGTGT ACTATGTAAA TCTTTGTGAA TGATCAATAA	120
	TTACATATTT TCATTATATA TATTTTAGTA GATAATATTT ATATACATTC AACATTCTAA	180
	ATATAGAAAAG TTTACAGAGA AAAATAAAGC CTTTTTTTCC AATCCTGTCC TCCACCTCTG	240
10	CATCCCATTC TTCTTCACAG AGGCAACTGA TTCAAGTCAT TACATAGTTA TTGAGTGTTA	300
	ACTACAAC TA GTTAAGTAC AGCTATATAT GTTAGATGCC GTAGCCACAG AAATCAGTTT	360
	ACAATCTAAT GCAGTGGATA CAGCATGTAT ACATATAATA TAAGGTTGCT ACAAATGCTA	420
15	TCTGAGGTAG AGCTGTTTGA AAGAATACTA AACTTAAAT GTTAAATTCA ACTGACTTGA	480
	TTGACAAC TG ATTAGCTGAG TGGAAAAGAT GGATGAGAAA GATTGTGAGA CTTAATTGGC	540
	TGGTGGTATG GTGATATGAT TGACAATAAC TGCTAAGTCA GAGAGGGATA TATTAAGGAG	600
20	GAGAAGAAAA GCAACAAATC TGGTTTTGAT GTGTTCACTT TGTATAATT ATTGATTATT	660
	TACTGAATAT GAATATTTAT CTTTGTTTTT GAGTCAATAA ATATACCTTT GTAAAGACAG	720
	AATTAAAGTA TTAGTATTTT TTTCAAAC TG GAGGCATTTT TCCCACTAAC ATATTTATC	780
25	AAACTTATA ATAAGCTTGG TTCCAGAGGA AGAAATGAGG GATAACCAAA AATAGAGACA	840
	TTAATAATAG TGTAACGCCC AGTGATAAAT CTCAATAGGC AGTGATGACA GACATGTTTT	900
	CCCAAACACA AGGATGCTGT AAGGGCCAAA CAGAAATGAT GGCCCTCCC CAGCACCTCA	960
30	TTTTGCCCT TCCTTCAGCT ATGCCTCTAC TCTCCTTTAG ATACAAGGGA GGTGGATTTT	1020
	TCTCTTCTCT GAGATAGCTT GATGGAACCA CAGGAACAAT GAAGTGGGCT CCTGGCTCTT	1080
	TTCTCTGTGG CAGATGGGGT GCCATGCCCC CTTTCAGACA AAGGGAAGAT TGAGCTCAAA	1140
	AGCTCCCTGA GAAGTGAGAG CCTATGAACA TGGTTGACAC AGAGGGACAG GAATGTATTT	1200
35	CCAGGGTCAT TCATTCTGG GAATAGTGAA CTGGGACATG GGGGAAGTCA GTCTCCTCCT	1260
	GCCACAGCCA CAGATTAAAA ATAATAATGT TAACTGATCC CTAGGCTAAA ATAATAGTGT	1320
	TAACTGATCC CTAAGCTAAG AAAGTTCTTT TGGTAATTCA GGTGATGGCA GCAGGACCCA	1380

	TCTTAAGGAT AGACTAGGTT TGCTTAGTTC GAGGTCATAT CTGTTTGCTC TCAGCCATGT	1440
	ACTGGAAGAA GTTGCATCAC ACAGCCTCCA GGA CTGCCCT CCTCCTCACA GCAATGGATA	1500
5	ATGCTTCACT AGCCTTTGCA GATAATTTTG GATCAGAGAA AAAACCTTGA GCTGGGCCAA	1560
	AAAGGAGGAG CTTCAACCTG TGTGCAAAT CTGGGAACCT GACAGTATAG GTTGGGGGCC	1620
	AGGATGAGGA AAAAGGAACG GGAAAGACCT GCCCACCCTT CTGGTAAGGA GGCCCCGTGA	1680
10	TCAGCTCCAG CCATTTGCAG TCCTGGCTAT CCCAGGAGCT TACATAAAGG GACAATTGGA	1740
	GCCTGAGAGG TGACAGTGCT GACACTACAA GGCTCGGAGC TCCGGGCACT CAGACATC	1798
	ATG AGT TGG TCC TTG CAC CCC CGG AAT TTA ATT CTC TAC TTC TAT GCT	1846
15	Met Ser Trp Ser Leu His Pro Arg Asn Leu Ile Leu Tyr Phe Tyr Ala	
	1 5 10 15	
	CTT TTA TTT CTC TCT TCA ACA TGT GTA GCA GTAAGTGTGC TCTTCACAAA	1896
	Leu Leu Phe Leu Ser Ser Thr Cys Val Ala	
	20 25	
20	ACGTTGTTTA AAATGGAAAG CTGGAAAATA AACAGATAA TAACTAGTG AAATTTTCGT	1956
	ATTTTTTCTC TTTTAG TAT GTT GCT ACC AGA GAC AAC TGC TGC ATC TTA	2005
	Tyr Val Ala Thr Arg Asp Asn Cys Cys Ile Leu	
	30 35	
25	GAT GAA AGA TTC GTAAGTAGTT TTTATGTTTC TCCCTTTGTG TGTGAACTGG	2057
	Asp Glu Arg Phe	
	40	
	AGAGGGGCAG AGGAATAGAA ATAATTCCT CATAAATATC ATCTGGCACT TGTAACTTTT	2117
30	TAAAAACATA GTCTAGGTTT TACCTATTTT TCTTAATAGA TTTTAAGAGT AGCATCTGTC	2177
	TACATTTTTA ATCACTGTTA TATTTTCAG GGT AGT TAT TGT CCA ACT ACC TGT	2230
	Gly Ser Tyr Cys Pro Thr Thr Cys	
	45	
35	GGC ATT GCA GAT TTC CTG TCT ACT TAT CAA ACC AAA GTA GAC AAG GAT	2278
	Gly Ile Ala Asp Phe Leu Ser Thr Tyr Gln Thr Lys Val Asp Lys Asp	
	50 55 60 65	

	CTA CAG TCT TTG GAA GAC ATC TTA CAT CAA GTT GAA AAC AAA ACA TCA	2326
	Leu Gln Ser Leu Glu Asp Ile Leu His Gln Val Glu Asn Lys Thr Ser	
	70 75 80	
5	GAA GTC AAA CAG CTG ATA AAA GCA ATC CAA CTC ACT TAT AAT CCT GAT	2374
	Glu Val Lys Gln Leu Ile Lys Ala Ile Gln Leu Thr Tyr Asn Pro Asp	
	85 90 95	
	GAA TCA TCA AAA CCA A GTGAGAAAAT AAAGACTACT GACCAAAAAA	2420
	Glu Ser Ser Lys Pro	
10	100	
	TAATAATAAT AATCTGTGAA GTTCTTTTGC TGTGTGTTTA GTTGTCTAT TTGCTTAAGG	2480
	ATTTTATGT CTCTGATCCT ATATTACAG AT ATG ATA GAC GCT GCT ACT TTG	2532
	Asn Met Ile Asp Ala Ala Thr Leu	
15	105 110	
	AAG TCC AGG ATA ATG TTA GAA GAA ATT ATG AAA TAT GAA GCA TCG ATT	2580
	Lys Ser Arg Ile Met Leu Glu Glu Ile Met Lys Tyr Glu Ala Ser Ile	
	115 120 125	
20	TTA ACA CAT GAC TCA AGT ATT CG GTAAGGATTT TTGTTTAAAT TTGCTCTGCA	2633
	Leu Thr His Asp Ser Ser Ile Arg	
	130	
	AGACTGATTT AGTTTTTATT TAATATTCTA TACTTGAGTG AAAGTAATTT TTAATGTGTT	2693
25	TTCCCCATTT ATAATATCCC AGTGACATTA TGCCTGATTA TGTGAGCAT AGTAGAGATA	2753
	GAAGTTTTTA GTGCAATATA AATTATACTG GGTTATAATT GCTTATTAAT AATCACATTG	2813
	AAGAAAGATG TTCTAGATGT CTTCAAATGC TAGTTTGACC ATATTTATCA AAAATTTTTT	2873
30	CCCCATCCCC CATTTATCTT ACAACATAAA ATCAATCTCA TAGGAATTTG GGTGTTGAAA	2933
	ATAAAATCCT CTTTATAAAA ATGCTGACAA ATTGGTGGTT AAAAAAATTA GCAAGCAGAG	2993
	GCATAGTAAG GATTTTGGCT CCTAAAGTAA ATTATATTGA ATGTGGAGCA GGAAGAAACA	3053
35	TGTCTTGAGA GACTAAGTGT GGCAAATATT GCAAAGCTCA TATTGATCAT TGCAGAATGA	3113
	ACCTGCATAG TCTCTTCCCT TCATTTGGAA GTGAATGTCT CTGTTAAAGC TTCTCAGGGA	3173
	CTCATAACT TTCTGAACAT AAGGTCTCAG ATACAGTTTT AATATTTTTT CCCAATTTTT	3233
	TTTTCTGAAT TTTTCTCAAA GCAGCTTGAG AAATTGAGAT AAATAGTAGC TAGGGAGAAG	3293

	TGGCCCAGGA AAGATTTCTC CTCTTTTTC TATCAGAGGG CCCTTGTTAT TATTGTTATT	3353
	ATTATTACTT GCATTATTAT TGTCCATCAT TGAAGTTGAA GGAGGTTATT GTACAGAAAT	3413
5	TGCCTAAGAC AAGGTAGAGG GAAAACGTGG ACAAATAGTT TGTCTACCCT TTTTACTTC	3473
	AAAGAAAGAA CGGTTTATGC ATTGTAGACA GTTTCTATC ATTTTGGAT ATTTGCAAGC	3533
	CACCCTGTAA GTAACACAA AAGGAGGGTT TTTACTTCCC CCAGTCCATT CCCAAAGCTA	3593
10	TGTAACCAGA AGCATTAAAG AAGAAAGGGG AAGTATCTGT TGTTTTATTT TACATACAAT	3653
	AACGTTCCAG ATCATGTCCC TGTGTAAGTT ATATTTTAGA TTGAAGCTTA TATGTATAGC	3713
	CTCAGTAGAT CCACAAGTGA AAGGTATACT CCTTCAGCAC ATGTGAATTA CTGAACTGAG	3773
15	CTTTTCCTGC TTCTAAAGCA TCAGGGGGTG TTCCTATTAA CCAGTCTCGC CACTCTTGCA	3833
	GGTTGCTATC TGCTGTCCCT TATGCATAAA GTAAAAAGCA AAATGTCAAT GACATTTGCT	3893
	TATTGACAAG GACTTTGTTA TTTGTGTTGG GAGTTGAGAC AATATGCCCC ATTCTAAGTA	3953
20	AAAAGATTCA GGTCCACATT GTATTCCTGT TTTAATTGAT TTTTGTATT GTTTTCTTT	4013
	TTCAAAAAGT TTATAATTTT AATTCATGTT AATTTAGTAA TATAATTTTA CATTTTCCTC	4073
	AAGAATGGAA TAATTTATCA GAAAGCACTT CTTAAGAAAA TACTTAGCAG TTTCCAAAGA	4133
25	AAATATAAAA TTAATCTTCT GAAAGGAATA CTTATTTTGT TCTTCTTATT TTTGTTATCT	4193
	TATGTTTCTG TTTGTAG A TAT TTG CAG GAA ATA TAT AAT TCA AAT AAT CAA	4244
	Tyr Leu Gln Glu Ile Tyr Asn Ser Asn Asn Gln	
	135 140 145	
30	AAG ATT GTT AAC CTG AAA GAG AAG GTA GCC CAG CTT GAA GCA CAG TGC	4292
	Lys Ile Val Asn Leu Lys Glu Lys Val Ala Gln Leu Glu Ala Gln Cys	
	150 155 160	
	CAG GAA CCT TGC AAA GAC ACG GTG CAA ATC CAT GAT ATC ACT GGG AAA G	4341
	Gln Glu Pro Cys Lys Asp Thr Val Gln Ile His Asp Ile Thr Gly Lys	
	165 170 175	
35	GTAACGTATG AAGGTTATAT TGGGATTAGG TTCATCAAAG TAAGTAATGT AAAGGAGAAA	4401
	GTATGTACTG GAAAGTATAG GAATAGTTTA GAAAGTGGCT ACCCATTAAG TCTAAGAATT	4461

	TCAGTTGTCT AGACCTTTCT TGAATAGCTA AAAAAACAG TTAAAAGGA ATGCTGATGT	4521
	GAAAAGTAAG AAAATTATTC TTGGAAATG AATAGTTTAC TACATGTAA AAGCTATTTT	4581
5	TCAAGGCTGG CACAGTCTTA CCTGCATTTC AAACCACAGT AAAAGTCGAT TCTCCTTCTC	4641
	TAG AT TGT CAA GAC ATT GCC AAT AAG GGA GCT AAA CAG AGC GGG CTT Asp Cys Gln Asp Ile Ala Asn Lys Gly Ala Lys Gln Ser Gly Leu 180 185 190	4688
10	TAC TTT ATT AAA CCT CTG AAA GCT AAC CAG CAA TTC TTA GTC TAC TGT Tyr Phe Ile Lys Pro Leu Lys Ala Asn Gln Gln Phe Leu Val Tyr Cys 195 200 205	4736
	GAA ATC GAT GGG TCT GGA AAT GGA TGG ACT GTG TTT CAG AAG Glu Ile Asp Gly Ser Gly Asn Gly Trp Thr Val Phe Gln Lys 210 215 220	4778
15	GTAATTTTTT CCCCACCATG TGTATTTAAT AAATTCCTAC ATTGTTTCTG CCATATGGCA	4838
	GATACTTTTC TAAGCACCTT GTGAACCGTA GCTCATTTAA TCCTTGCAAT AGCCCTAAGA	4898
20	GGAAGGTACT TCTGTTACTC CTATTTACAG AAAAGGAAAC TGAGGCACAC AAGGTTAAAT	4958
	AACTTGCCCA AGACCACATA ACTAATAAGC AACAGAGTCA GCATTTGAAC CTAGGCAGTA	5018
	TAGTTTCAGA GTTTGTGACT TGACTCTATA TTGTACTGGC ACTGACTTTG TAGATTCATG	5078
25	GTGGCACATA ATCATAGTAC CACAGTGACA AATAAAAAGA AGGAACTCT TTTGTCAGGT	5138
	AGGTCAAGAC CTGAGGTTTC CCATCACAAG ATGAGGAAGC CCAACACCAC CCCCACCAC	5198
	CCCACCACCA TCACCACCCT TTCACACACC AGAGGATACA CTTGGGCTGC TCCAAGACAA	5258
30	GGAACCTGTG TTGCATCTGC CACTTGCTGA TACCCACTAG GAATCTTGGC TCCTTTACTT	5318
	TCTGTTTACC TCCCACCACT GTTATACTG TTTCTACAGG GGGCGCTCAG AGGGAATGAA	5378
	TGGTGAAGC ATTAGTTGCC AGACACCGAT TGAGCAATGG GTTCCATCAT AAGTGTAAGA	5438
	ATCAGTAATA TCCAGCTAGA GTTCTGAAGT CGTCTAGGTG TCTTTTAAAT ATTACCACTC	5498
35	ATTTAGAATT TATGATGTGC CAGAAACCCT CTTAAGTATT TCTCTTATAT TCTCTCTCAT	5558
	GATCCTTGCA GCAACCCTAA GAAGTAACCA TCATTTTTCC TATTTGATAC ATGAGGAAAC	5618
	TGAGGTAGCT TGGCCAAGAT CACTTAGTTG GGAGTTGATA GAACCAGTGC TCTGTATTTT	5678

	TGACAAAATG TTGACAGCAT TCTCTTTACA TGCATTGATA GTCTATTTTC TCCTTTTGCT	5738
5	CTTGCAAATG TGTAATTAG AGA CTT GAT GGC AGT GTA GAT TTC AAG AAA AAC Arg Leu Asp Gly Ser Val Asp Phe Lys Lys Asn 225 230	5790
	TGG ATT CAA TAT AAA GAA GGA TTT GGA CAT CTG TCT CCT ACT GGC ACA Trp Ile Gln Tyr Lys Glu Gly Phe Gly His Leu Ser Pro Thr Gly Thr 235 240 245	5838
10	ACA GAA TTT TGG CTG GGA AAT GAG AAG ATT CAT TTG ATA AGC ACA CAG Thr Glu Phe Trp Leu Gly Asn Glu Lys Ile His Leu Ile Ser Thr Gln 250 255 260 265	5886
15	TCT GCC ATC CCA TAT GCA TTA AGA GTG GAA CTG GAA GAC TGG AAT GGC Ser Ala Ile Pro Tyr Ala Leu Arg Val Glu Leu Glu Asp Trp Asn Gly 270 275 280	5934
	AGA ACC AG GTACTGTTTT GAAATGACTT CCAACTTTTT ATTGTAAAGA Arg Thr Ser	5982
20	TTGCCTGGAA TGTGCACTTT CCAACTATCA ATAGACAATG GCAAATGCAG CCTGACAAAT	6042
	GCAAACAGCA CATCCAGCCA CCATTTTCTC CAGGAGTCTG TTTGGTTCTT GGGCAATCCA	6102
	AAAAGGTAAA TTCTATTCAG GATGAATCTA AGTGTATTGG TACAATCTAA TTACCCTGGA	6162
25	ACCATTGAGA GTAATAGCTA ATTACTGAAC TTTTAATCAG TCCCAGGAAT TGAGCATAAA	6222
	ATTATAATTT TATCTAGTCT AAATTACTAT TTCATGAAGC AGGTATTATT ATTAATCCCA	6282
	TTTTATAGAT TAACTTGCTC AAAGTCACAT TGCTGATAAG TGGTAGAGGT AGAATTCAGA	6342
30	CTCAAGTAGT TTAACTTTAG AGCCTGTCCT CTTAACAACCT ATCCTGGTTG AAAAGCAAAT	6402
	ACAGCCTCTT CAGACTTCTC AGTGCCTTGA TGGCCATTTA TTCTGTCAAA TCATGAGCTA	6462
	CCCTAAAAGT AAACCAGCTA GCTCTTTTGA TGATCTAGAG GCTTCTTTTT GCTTGAGATA	6522
35	TTTGAAGGTT TTAAGCATTG TTACCTAATT AAAATGCAGA AAAATATCCA ACCCTCTTGT	6582
	TATGTTTAAAG GAATAGTGAA ATATATTGTC TTCAAACACA TGGACTTTTT TTTATTGCTT	6642
	GGTTGGTTTT TAATCCAGAA AGTGCTATAG TCAGTAGACC TTCTTCTAGG AAAGGACCTT	6702

	CCATTGCCCA GCCACTGGAG ATTAGAAAAT AAGCTAAATA TTTTCTGGAA ATTTCTGTTC	6762
	ATTCATTAAG GCCCATCCTT TCCCCACTC TATAGAAGTG TTGTCCACTT GCACAATTTT	6822
5	TTCCAGGAAA GAATCTCTCT AACTCCTTCA GCTCACATGC TTTGGACCAC ACAGGGAAGA	6882
	CTTTGATTGT GTAATGCCCT CAGAAGCTCT CTTTCTTGCC ACTACCACAC TGATTTGAGG	6942
	AAGAAAATCC CTTTAGCACC TAACCCTTCA GGTGCTATGA GTGGCTAATG GAACTGTACC	7002
10	TCCTTCAAGT TTTGTGCAAT AATTAAGGGT CACTCACTGT CAGATACTTT CTGTGATCTA	7062
	TGATAATGTG TGTGCAACAC ATAACATTTT AATAAAAGTA GAAAATATGA AATTAGAGTC	7122
	ATCTACACAT CTGGATTGTA TCTTAGAATG AAACAAGCAA AAAAGCATCC AAGTGAGTGC	7182
	AATTATTAGT TTTCAGAGAT GCTTCAAAGG CTTCTAGGCC CATCCCGGGA AGTGTTAATG	7242
15	AGCTGTGGAC TGGTTCACAT ATCTATTGCC TCTTGCCAGA TTTGCAAAAA ACTTCACTCA	7302
	ATGAGCAAAT TTCAGCCTTA AGAAACAAAG TCAAAAATTC CAAGGAAGCA TCCTACGAAA	7362
	GAGGGAACCT CTGAGATCCC TGAGGAGGGT CAGCATGTGA TGGTTGTATT TCCTTCTTCT	7422
20	CAG T ACT GCA GAC TAT GCC ATG TTC AAG GTG GGA CCT GAA GCT GAC	7468
	Thr Ala Asp Tyr Ala Met Phe Lys Val Gly Pro Glu Ala Asp	
	285 290 295	
	AAG TAC CGC CTA ACA TAT GCC TAC TTC GCT GGT GGG GAT GCT GGA GAT	7516
25	Lys Tyr Arg Leu Thr Tyr Ala Tyr Phe Ala Gly Gly Asp Ala Gly Asp	
	300 305 310	
	GCC TTT GAT GGC TTT GAT TTT GGC GAT GAT CCT AGT GAC AAG TTT TTC	7564
	Ala Phe Asp Gly Phe Asp Phe Gly Asp Asp Pro Ser Asp Lys Phe Phe	
	315 320 325 330	
30	ACA TCC CAT AAT GGC ATG CAG TTC AGT ACC TGG GAC AAT GAC AAT GAT	7612
	Thr Ser His Asn Gly Met Gln Phe Ser Thr Trp Asp Asn Asp Asn Asp	
	335 340 345	
	AAG TTT GAA GGC AAC TGT GCT GAA CAG GAT GGA TCT GGT TGG TGG ATG	7660
35	Lys Phe Glu Gly Asn Cys Ala Glu Gln Asp Gly Ser Gly Trp Trp Met	
	350 355 360	
	AAC AAG TGT CAC GCT GGC CAT CTC AAT GGA GTT TAT TAC CAA G	7703
	Asn Lys Cys His Ala Gly His Leu Asn Gly Val Tyr Tyr Gln	
	365 370 375	

	GTATGTTTT CTTTCTTAGA TTCCAAGTTA ATGTATAGTG TATACTATTT TCATAAAAAA	7763
	TAATAAATAG ATATGAAGAA ATGAAGAATA ATTTATAAAG ATAGTAGGGA TTTTATCATG	7823
5	TTCTTTATTT CAACTAAGTT CTTTGAACT GGAAGTGGAT AATACCAAGT TCATGCCTAA	7883
	AATTAGCCCT TCTAAAGAAA TCCACCTGCT GCAAAATATC CAGTAGTTTG GCATTATATG	7943
	TGAAACTATC ACCATCATAG CTGGCACTGT GGGTTGTGGG ATCTCCTTTA GACATACAAC	8003
10	ATAAATGATC TGGATGGATT AACATTACTA CATGGATGCT TGTGACACA TTAACCTGGC	8063
	TTCCCATGAG CTTTGTGTCA GATACACGCA GTGAACAGGT GTTTGGAGGA ACAGAATAAA	8123
	GAGAAGGCAA GCACTGGTAA GGGCAGGGGT TTGTGAAAGC TTGAGAGAAG AGACCAGTCT	8183
15	GAGGACAGTA GACACTTATT TTAGGATGGG GGTGGATGA GGAGGCTATA GTTTGCTATA	8243
	AGCTTGGAAT GGTGGGAAC ACTGGTTTCA CTCACCTACC CAGCAGTTAT GTGTGGGGAA	8303
	GCCTTACCGA TGCTAAAGGA TCCATGTTAC AATAATGGCA TTATTTGGAA ATCCCAGTGG	8363
20	TATTCCATGA ATAAAACCAC TATGAAGATA ATCCCACTCA ACAGACTCTC CGTTGGAGAA	8423
	GGACAGCAAC ACCACCCTGG GAAAGCCAAA CAGTCAGACC AGACCTGTTT AGCATCAGTA	8483
	GGACTTCCCT ACCATATCTG CTGGGTAGAT GAGTGAAACC AGTGTTCCAA ACCACTCCGG	8543
25	GCTTGTAGCA AACCATAGTC TCCTCATCTA CCAAGATGAG CAACCTTACC TCCTGATGTC	8603
	CTAGCCAATC ACCAACTAGG AACTTTGCA CAGTTTATTT AAAGTAACAG TTTGATTTTC	8663
	ACAATATTTT TAAATTGGAG AACATAACT TATCTTTGCA CTCACAAACC ACATAATGAG	8723
30	AAGAACTCT AAGGGAAAAT GCTTGATCTG TGTGACCCGG GGCGCCATGC CAGAGCTGTA	8783
	GTTTCATGCCA GTGTTGTGCT CTGACAAGCC TTTTACAGAA TTACATGAGA TCTGCTTCCC	8843
	TAGGACAAGG AGAAGGCAAA TCAACAGAGG CTGCACTTTA AAATGGAGAC ATAAAATAAC	8903
35	ATGCCAGAAC CATTTCTTAA AGCTCCTCAA TCAACCAACA AAATTGTGCT TTCAAATAAC	8963
	CTGAGTTGAC CTCATCAGGA ATTTTGTGGC TCCTTCTCTT CTAACCTGCC TGAAGAAAGA	9023
	TGGTCCACAG CAGCTGAGTC CGGGATGGAT AAGCTTAGGG ACAGAGGCCA ATTAGGGAAC	9083

	TTTGGGTTTC TAGCCCTACT AGTAGTGAAT AAATTTAAAG TGTGGATGTG ACTATGAGTC	9143
	ACAGCACAGA TGTTGTTTAA TAATATGTTT ATTTTATAAA TTGATATTTT AGGAATCTTT	9203
5	GGAGATATTT TCAGTTAGCA GATAATACTA TAAATTTTAT GTAACCTGGCA ATGCACTTCG	9263
	TAATAGACAG CTCTTCATAG ACTTGCAGAG GTAAAAAGAT TCCAGAATAA TGATATGTAC	9323
	ATCTACGACT TGTTTTAG GT GGC ACT TAC TCA AAA GCA TCT ACT CCT AAT	9373
	Gly Gly Thr Tyr Ser Lys Ala Ser Thr Pro Asn	
	380 385	
10	GGT TAT GAT AAT GGC ATT ATT TGG GCC ACT TGG AAA ACC CGG TGG TAT	9421
	Gly Tyr Asp Asn Gly Ile Ile Trp Ala Thr Trp Lys Thr Arg Trp Tyr	
	390 395 400	
	TCC ATG AAG AAA ACC ACT ATG AAG ATA ATC CCA TTC AAC AGA CTC ACA	9469
15	Ser Met Lys Lys Thr Thr Met Lys Ile Ile Pro Phe Asn Arg Leu Thr	
	405 410 415	
	ATT GGA GAA GGA CAG CAA CAC CAC CTG GGG GGA GCC AAA CAG GTC AGA	9517
	Ile Gly Glu Gly Gln Gln His His Leu Gly Gly Ala Lys Gln Val Arg	
	420 425 430 435	
20	CCA GAG CAC CCT GCG GAA ACA GAA TAT GAC TCA CTT TAC CCT GAG GAT	9565
	Pro Glu His Pro Ala Glu Thr Glu Tyr Asp Ser Leu Tyr Pro Glu Asp	
	440 445 450	
	GAT TTG TAGAAAATTA ACTGCTAACT TCTATTGACC CACAAAGTTT CAGAAATTCT	9621
25	Asp Leu	
	CTGAAAGTTT CTCCTTTTT TCTCTTACTA TATTTATTGA TTTCAAGTCT TCTATTAAGG	9681
	ACATTTAGCC TTCAATGGAA ATTA AAACTC ATTTAGGACT GTATTTCCAA ATTACTGATA	9741
30	TCAGAGTTAT TTA AAAATTG TTTATTGAG GAGATAACAT TTCAACTTTG TTCCTAAATA	9801
	TATAATAATA AAATGATTGA CTTTATTTGC ATTTTATGA CCACTTGTCA TTTATTTTGT	9861
	CTTCGTAAAT TATTTTCATT ATATCAAATA TTTTAGTATG TACTTAATAA AATAGGAGAA	9921
35	CATTTTAGAG TTTCAAATTC CCAGGTATTT TCCTTGTTTA TTACCCCTAA ATCATTCCTA	9981
	TTTAATTCTT CTTTTTAAAT GGAGAAAATT ATGTCTTTTT AATATGGTTT TTGTTTTGTT	10041
	ATATATTCAC AGGCTGGAGA CGTTTAAAAG ACCGTTTCAA AAGAGATTTA CTTTTTTAAA	10101

GGACTTTATC TGAACAGAGA GATATAATAT TTTTCCTATT GGACAATGGA CTTGCAAAGC 10161
 TTCACTTCAT TTAAAGAGCA AAAGACCCCA TGTGAAAAC TCCATAACAG TTTTATGCTG 10221
 5 ATGATAATTT ATCTACATGC ATTTCAATAA ACCTTTTGTT TCCTAAGACT AGATACATGG 10281
 TACCTTTATT GACCATTAATAA AAACCACCAC TTTTGGCCAA TTTACCAATT ACAATTGGGC 10341
 AACCATCAGT AGTAATTGAG TCCTCATTTT ATGCTAAATG TTATGCCTAA CTCTTTGGGA 10401
 10 GTTACAAAGG AAATAGCAAT TATGGCTTTT GCCCTCTAGG AGATACAGGA CAAATACAGG 10461
 AAAATACAGC AACCCAAACT GACAATACTC TATACAAGAA CATAATCACT AAGCAGGAGT 10521
 CACAGCCACA CAACCAAGAT GCATAGTATC CAAAGTGCAG CTG 10564

15

(2) INFORMASJON OM SEKV.ID NR. 6:

(i) SEKVENSKARAKTERISTIKA:

(A) LENGDE: 453 aminosyrer

20

(B) TYPE: aminosyre

(D) TOPOLOGI: lineær

(ii) MOLEKYLTTYPE: protein

25

(xi) SEKVENSBEKRIVELSE: SEKV.ID NR. 6:

Met Ser Trp Ser Leu His Pro Arg Asn Leu Ile Leu Tyr Phe Tyr Ala
 1 5 10 15

30

Leu Leu Phe Leu Ser Ser Thr Cys Val Ala Tyr Val Ala Thr Arg Asp
 20 25 30

Asn Cys Cys Ile Leu Asp Glu Arg Phe Gly Ser Tyr Cys Pro Thr Thr
 35 40 45

35

Cys Gly Ile Ala Asp Phe Leu Ser Thr Tyr Gln Thr Lys Val Asp Lys
 50 55 60

Asp Leu Gln Ser Leu Glu Asp Ile Leu His Gln Val Glu Asn Lys Thr
 65 70 75 80

Ser Glu Val Lys Gln Leu Ile Lys Ala Ile Gln Leu Thr Tyr Asn Pro
 85 90 95

	Asp	Glu	Ser	Ser	Lys	Pro	Asn	Met	Ile	Asp	Ala	Ala	Thr	Leu	Lys	Ser			
	100								105						110				
5	Arg	Ile	Met	Leu	Glu	Glu	Ile	Met	Lys	Tyr	Glu	Ala	Ser	Ile	Leu	Thr			
	115								120						125				
	His	Asp	Ser	Ser	Ile	Arg	Tyr	Leu	Gln	Glu	Ile	Tyr	Asn	Ser	Asn	Asn			
	130								135						140				
10	Gln	Lys	Ile	Val	Asn	Leu	Lys	Glu	Lys	Val	Ala	Gln	Leu	Glu	Ala	Gln			
	145								150						155			160	
	Cys	Gln	Glu	Pro	Cys	Lys	Asp	Thr	Val	Gln	Ile	His	Asp	Ile	Thr	Gly			
									170						175				
15	Lys	Asp	Cys	Gln	Asp	Ile	Ala	Asn	Lys	Gly	Ala	Lys	Gln	Ser	Gly	Leu			
	180								185						190				
	Tyr	Phe	Ile	Lys	Pro	Leu	Lys	Ala	Asn	Gln	Gln	Phe	Leu	Val	Tyr	Cys			
	195								200						205				
20	Glu	Ile	Asp	Gly	Ser	Gly	Asn	Gly	Trp	Thr	Val	Phe	Gln	Lys	Arg	Leu			
	210								215						220				
	Asp	Gly	Ser	Val	Asp	Phe	Lys	Lys	Asn	Trp	Ile	Gln	Tyr	Lys	Glu	Gly			
	225								230						235			240	
25	Phe	Gly	His	Leu	Ser	Pro	Thr	Gly	Thr	Thr	Glu	Phe	Trp	Leu	Gly	Asn			
	245								250						255				
	Glu	Lys	Ile	His	Leu	Ile	Ser	Thr	Gln	Ser	Ala	Ile	Pro	Tyr	Ala	Leu			
	260								265						270				
30	Arg	Val	Glu	Leu	Glu	Asp	Trp	Asn	Gly	Arg	Thr	Ser	Thr	Ala	Asp	Tyr			
	275								280						285				
	Ala	Met	Phe	Lys	Val	Gly	Pro	Glu	Ala	Asp	Lys	Tyr	Arg	Leu	Thr	Tyr			
	290								295						300				
35	Ala	Tyr	Phe	Ala	Gly	Gly	Asp	Ala	Gly	Asp	Ala	Phe	Asp	Gly	Phe	Asp			
	305								310						315			320	
	Phe	Gly	Asp	Asp	Pro	Ser	Asp	Lys	Phe	Phe	Thr	Ser	His	Asn	Gly	Met			
	325								330						335				
	Gln	Phe	Ser	Thr	Trp	Asp	Asn	Asp	Asn	Asp	Lys	Phe	Glu	Gly	Asn	Cys			
	340								345						350				

Ala Glu Gln Asp Gly Ser Gly Trp Trp Met Asn Lys Cys His Ala Gly
 355 360 365

5 His Leu Asn Gly Val Tyr Tyr Gln Gly Gly Thr Tyr Ser Lys Ala Ser
 370 375 380

Thr Pro Asn Gly Tyr Asp Asn Gly Ile Ile Trp Ala Thr Trp Lys Thr
 385 390 395 400

10 Arg Trp Tyr Ser Met Lys Lys Thr Thr Met Lys Ile Ile Pro Phe Asn
 405 410 415

Arg Leu Thr Ile Gly Glu Gly Gln Gln His His Leu Gly Gly Ala Lys
 420 425 430

15 Gln Val Arg Pro Glu His Pro Ala Glu Thr Glu Tyr Asp Ser Leu Tyr
 435 440 445

Pro Glu Asp Asp Leu
 450

20 (2) INFORMASJON OM SEKV.ID NR. 7:

(i) SEKVENSKARAKTERISTIKA:

- (A) LENGDE: 10807 basepar
 (B) TYPE: nukleinsyre
 25 (C) TRÅD: dobbelttrådet
 (D) TOPOLOGI: lineær

(vii) EKSPERIMENTELL KILDE:

- (B) KLON: beta-laktoglobulin fra sau

30

(xi) SEKVENSBESKRIVELSE: SEKV.ID NR. 7:

ACGCGTGTCTG ACCTGCAGGT CAACGGATCT CTGTGTCTGT TTTCATGTGA GTACCACACT 60

35 GTTTTGGTGG CTGTAGCTTT CAGCTACAGT CTGAAGTCAT AAAGCCTGGT ACCTCCAGCT 120

CTGTTCTCTC TCAAGATTGT GTTCTGCTGT TTGGGTCTTT AGTGTCTCCA CACAATTTTT 180

AGAATTGTTT GTTCTAGTTC TGTGAAAAAT GATGCTGGTA TTTTGATAAG GATTGCATTG 240

AATCTGTAAA GCTACAGATA TAGTCATTGG GTAGTACAGT CACTTTAACA ATATTAAGTC 300

	TTCACATCTG TGAGCATGAT ATATTTTCCC CCTCTATATC ATCTTCAATT CCTCCTATCA	360
	GTTTCTTTCA TTGCAGTTTT CTGAGTACAG GTCTTACACC TCCTTGGTTA GAGTCATTCC	420
5	TCAGTATTTT ATTCCTTTGA TACAATTGTG AATGAGGTAA TTTTCTTAGT TTCTCTTTCT	480
	GATAGCTCAT TGTTAGTGTA TATATAGAAA AGCAACAGAT TTCTATGTAT TAATTTTGTA	540
	TCCTGCAACA GATTTCTATG TATTAATTTT GTATCCTGCT ACTTTACGGA ATTCAC TTAT	600
10	TAGCTTTTTG GTGACATCTT GAGGATTTTC TGAAGAAAAT GG CATGGTAT GGTAGGACAA	660
	GGTGT CATGT CATCTGCAA CAGTGGCAGT TTTCTTCTT CCCTTCCAAC CTGGATTTCT	720
	TTGATTTCTT TCTGTCTGAG TACGACTAGG ATTCCCAATA CTATACCGAA TAAAAGTGGC	780
15	AAGAGTGGAC ATCCTTGTCT TATTTTCTG ACCTTAGAGG AAATGCTTTC AGTTTTTCAC	840
	CATTAATTAT AATGTTTACT GTGGGCTTGT CATATGTGGC CTTCATTATA TGGAGGTCTA	900
	TTCCCTCTAT ACCCACCTTG TTGAGAGTTT TTATCATAAA AGTATGTTGA ATTTTG TCAA	960
20	AAGTTTTTCC TGCATCTATT GAGATGATTT TTA CTCTTCA ATTCATTAAT GATTTTTATT	1020
	CTTCATTTTG TTAATGATTT CCATTCTTCA ATTTGTTAAC GTGGTATATC ACATTGATTG	1080
	ATTTGTGGAT ACCTTTGTAT CCCTGGGATA AACCTCACTT GATCATGAGC TTTCAATGTA	1140
25	TTTTTG AATT CACTTTGCTA ATATTCTGTT GGGTATTTT GCATCTCTAT TCATCAATGA	1200
	TATTGGCCTA AGAAAGGTTT TGTCTGGTTT TAGTATCAGG GTGATGCTGG CCTCATAGAG	1260
	AGAGTTTAGA AGCATTTCTT CCTCTTTGAT TTTTCGGAAT AGTTTGAGTA GGATAGGTAT	1320
30	TA ACTCTTCT TTAAATGTTT GGGGACTTCC CTGGTGAGCC GGTGGTTGAG AATCCGCCTC	1380
	AGGGATGTGG GTTTGATCCC TGGTCAGGGA ACCATTAATA AGATCCCACA TGCTGCAGGC	1440
	AACAAGCCCC CAAGCTGCAA CCACTGAGCT GCAACCGCTG CAGTGCCAC AGGCCACGAC	1500
	CAGAGAAAGC CCACATACAG CAGGGAAGAC CCAGCACAAC CGGAAAAGG AGTTTGGTGG	1560
35	AATACAGCTG TGAAGCCGTC TGGTCCTGGA CTCCTGCTTG AGGGAATTTT TAAAAATTA	1620
	TTGATTCAAT TTCATTACTG GTA ACTGGTC TGTTCATATT TTCTATTTCT TCCGGGTTCA	1680
	GTCTTGGGAG ATTGTACATG CCTAGGAATG TGTCCGTTTC TTCTAGGTTG TCCATTTTAT	1740

	TGGACATGCA TGGGAGCACA CAGCACCGAC CAGCGAGACT CATGCTGGCT TCCTGGGGCC	1800
	AGGCTGGGGC CCAAGCAGC ATGGCATCCT AGAGTGTGTG AAAGCCCACT GACCCTGCCC	1860
5	AGCCCCACAA TTTCATTCTG AGAAGTGATT CTTGCTTCT GCACTTACAG GCCCAGGATC	1920
	TGACCTGCTT CTGAGGAGCA GGGGTTTTGG CAGGACGGGG AGATGCTGAG AGCCGACGGG	1980
	GGTCCAGGTC CCCTCCCAGG CCCCCCTGTC TGGGGCAGCC CTTGGGAAAG ATTGCCCCAG	2040
10	TCTCCCTCCT ACAGTGGTCA GTCCCAGCTG CCCCAGGCCA GAGCTGCTTT ATTTCCGTCT	2100
	CTCTCTCTGG ATGGTATTCT CTGGAAGCTG AAGGTTCTG AAGTTATGAA TAGCTTTGCC	2160
	CTGAAGGGCA TGGTTTGTGG TCACGGTTCA CAGGAACTTG GGAGACCCTG CAGCTCAGAC	2220
15	GTCCCGAGAT TGGTGGCACC CAGATTTCTT AAGCTCGCTG GGAACAGGG CGCTTGTTTC	2280
	TCCCTGGCTG ACCTCCCTCC TCCCTGCATC ACCCAGTTCT GAAAGCAGAG CGGTGCTGGG	2340
	GTCACAGCCT CTCGCATCTA ACGCCGGTGT CCAAACCACC CGTGCTGGTG TTCGGGGGGC	2400
20	TACCTATGGG GAAGGGCTTC TCACTGCAGT GGTGCCCCC GTCCCCTCTG AGATCAGAAG	2460
	TCCCAGTCCG GACGTCAAAC AGGCCGAGCT CCCTCCAGAG GCTCCAGGGA GGGATCCTTG	2520
	CCCCCCCCT GCTGCCTCCA GTCCTGGTG CCGCACCTT GAGCCTGATC TTGTAGACGC	2580
25	CTCAGTCTAG TCTCTGCCTC CGTGTCACA CGCCTTCTCC CCATGTCCCC TCCGTGTCCC	2640
	CGTTTTCTCT CACAAGGACA CCGGACATTA GATTAGCCCC TGTTCCAGCC TCACCTGAAC	2700
	AGCTCACATC TGTAAGACC TAGATTCCAA ACAAGATTCC AACCTGAAGT TCCCGGTGGA	2760
30	TGTGAGTTCT GGGGCGACAT CTTCAACCC CATCACAGCT TGCAGTTCAT CGCAAAACAT	2820
	GGAACCTGGG GTTATCGTA AAACCCAGGT TCTTCATGAA AACTGAGCT TCGAGGCTTG	2880
	TTGCAAGAAT TAAAGGTGCT AATACAGATC AGGGCAAGGA CTGAAGCTGG CTAAGCCTCC	2940
35	TCTTTCCATC ACAGGAAAGG GGGGCTGGG GCGGGCTGGA GGTCTGCTCC CGTGAGTGAG	3000
	CTCTTTCTG CTACAGTCAC CAACAGTCTC TCTGGGAAGG AAACCAGAGG CCAGAGAGCA	3060
	AGCCGGAGCT AGTTTAGGAG ACCCTGAAC CTCCACCCAA GATGCTGACC AGCCAGCGGG	3120

	CCCCCTGGAA AGACCCTACA GTTCAGGGGG GAAGAGGGGC TGACCCGCCA GGTCCCTGCT	3180
	ATCAGGAGAC ATCCCCGCTA TCAGGAGATT CCCCACCTT GCTCCCGTTC CCCTATCCCA	3240
5	ATACGCCCAC CCCACCCCTG TGATGAGCAG TTTAGTCACT TAGAATGTCA ACTGAAGGCT	3300
	TTTGCATCCC CTTTGCCAGA GGCACAAGGC ACCCACAGCC TGCTGGGTAC CGACGCCCAT	3360
	GTGGATTGAG CCAGGAGGCC TGTCTGACAC CCTCCCTGCT CGGGCCCCCT CTGTGCTCAG	3420
10	CAACACACCC AGCACCAGCA TTCCCGCTGC TCCTGAGGTC TGCAGGCAGC TCGCTGTAGC	3480
	CTGAGCGGTG TGGAGGGAAG TGTCTGGGA GATTTAAAT GTGAGAGGCG GGAGGTGGGA	3540
	GGTTGGGCCC TGTGGGCCTG CCCATCCCAC GTGCCTGCAT TAGCCCCAGT GCTGCTCAGC	3600
15	CGTGCCCCCG CCGCAGGGGT CAGGTCACTT TCCCGTCTG GGGTTATTAT GACTCTTGTC	3660
	ATTGCCATTG CCATTTTTCG TACCCTAACT GGGCAGCAGG TGCTTGAGA GCCCTCGATA	3720
	CCGACCAGGT CCTCCCTCGG AGCTCGACCT GAACCCCATG TCACCCCTGC CCCAGCCTGC	3780
20	AGAGGGTGGG TGAATGCAGA GATCCCTTCA CCCAAGGCCA CGGTACATG GTTTGGAGGA	3840
	GCTGGTGCCC AAGGCAGAGG CCACCCTCCA GGACACACCT GTCCCCAGTG CTGGCTCTGA	3900
	CCTGTCTTG TCTAAGAGGC TGACCCCGGA AGTGTTCCTG GCACTGGCAG CCAGCCTGGA	3960
25	CCCAGAGTCC AGACACCCAC CTGTGCCCCC GCTTCTGGGG TCTACCAGGA ACCGTCTAGG	4020
	CCCAGAGGGG ACTTCTGCT TGGCCTTGA TGAAGAAGG CCTCCTATTG TCCTCGTAGA	4080
	GGAAGCCACC CCGGGGCCTG AGGATGAGCC AAGTGGGATT CCGGGAACCG CGTGGCTGGG	4140
	GGCCCAGCCC GGGCTGGCTG GCCTGCATGC CTCCTGTATA AGGCCCAAG CCTGCTGTCT	4200
30	CAGCCCTCCA CTCCCTGCAG AGCTCAGAAG CACGACCCA GGGATATCCC TGCAGCCATG	4260
	AAGTGCCTCC TGCTTGCCCT GGGCCTGGCC CTCGCCTGTG GCGTCCAGGC CATCATCGTC	4320
	ACCCAGACCA TGAAAGGCCT GGACATCCAG AAGGTTGAG GGTGGCCGG GTGGGTGAGT	4380
35	TGCAGGGCGG GCAGGGGAGC TGGGCCTCAG AGAGCCAAGA GAGGCTGTGA CGTTGGGTTC	4440
	CCATCAGTCA GCTAGGGCCA CCTGACAAAT CCCCCTGGG GCAGCTTCAA CCAGGCGTTC	4500
	ACTGTCTTGC ATTCTGGAGG CTGGAAGCCC AAGATCCAGG TGTGGCAGG GCTGGCTTCT	4560

	CCTGCGGCCG CTCTCTGGGG AGCAGACGGC CGTCTTCTCC AGTCCTCTGC GCGCCCTGAT	4620
	TTCCTCTTCC TGTGAGGCCA CCAGGCCTGC TGGAAACACG CCTGCCTGCG CAGCTTCACA	4680
5	CGACCTTTGT CATCTCTTTA AAGGCCATGT CTCCAGAGTC ATGTGTTGAA GTTCTGGGGG	4740
	TTAGTGGGAC ACAGTTCAGC CCCTAAAAGA GTCTCTCTGC CCCTCAAATT TTCCCCACCT	4800
	CCAGCCATGT CTCCCCAAGA TCCAAATGTT GCTACATGTG GGGGGGCTCA TCTGGGTCCC	4860
10	TCTTTGGGTT CAGTGTGAGT CTGGGGAGAG CATTCCCCAG GGTGCAGAGT TGGGGGGAGT	4920
	ATCTCAGGGC TGCCCAGGCC GGGGTGGGAC AGAGAGCCCA CTGTGGGGCT GGGGGCCCT	4980
	TCCCACCCCC AGAGTGCAAC TCAAGGTCCC TCTCCAGGTG GCGGGGACTT GGCACTCCTT	5040
15	GGCTATGGCG GCCAGCGACA TCTCCCTGCT GGATGCCCAG AGTGCCCCC TGAGAGTGTA	5100
	CGTGGAGGAG CTGAAGCCCA CCCCCGAGGG CAACCTGGAG ATCCTGCTGC AGAAATGGTG	5160
	GGCGTCTCTC CCCAACATGG AACCCCCACT CCCAGGGCT GTGGACCCCC CGGGGGGTGG	5220
20	GGTGCAGGAG GGACCAGGGC CCCAGGGCTG GGAAGAGGG CTCAGAGTTT ACTGGTACCC	5280
	GGCGCTCCAC CCAAGGCTGC CCACCCAGGG CTTTTTTTTT TTTTAACTT TTATTAATTT	5340
	GATGCTTCAG AACATCATCA AACAAATGAA CATAAAACAT TCATTTTTGT TTAATTGGAA	5400
25	GGGGAGATAA AATCCTCTGA AGTGGAAATG CATAGCAAAG ATACATACAA TGAGGCAGGT	5460
	ATTCTGAATT CCCTGTTAGT CTGAGGATTA CAAGTGATT TGAGCAACAG AGAGACATTT	5520
	TCATCATTTT TAGTCTGAAC ACCTCAGTAT CTAAAATGAA CAAGAAGTCC TGGAAACGAA	5580
30	GCAGTGTGGG GATAGGCCCG TGTGAAGGCT GCTGGGAGGC AGCAGACCTG GGTCTTCGGG	5640
	CTCAAGCAGT TCCCGCTACC AGCCCTGTCC ACCTCAGACG GGGGTCAGGG TGCAGGAGAG	5700
	AGCTGGATGG GTGTGGGGGC AGAGATGGGG ACCTGAACCC CAGGGCTGCC TTTTGGGGGT	5760
35	GCCTGTGGTC AAGGCTCTCC CTGACCTTTT CTCTCTGGCT TCATCTGACT TCTCCTGGCC	5820
	CATCCACCCG GTCCCCTGTG GCCTGAGGTG ACAGTGAGTG CGCCGAGGCT AGTTGGCCAG	5880
	CTGGCTCCTA TGCCCATGCC ACCCCCCTCC AGCCCTCCTG GGCCAGCTTC TGCCCCTGGC	5940

	CCTCAGTTCA TCCTGATGAA AATGGTCCAT GCCAATGGCT CAGAAAGCAG CTGTCTTTCA	6000
	GGGAGAACGG CGAGTGTGCT CAGAAGAAGA TTATTGCAGA AAAAACCAAG ATCCCTGCGG	6060
5	TGTTCAAGAT CGATGGTGAG TCCGGGTCCC TGGGGGACAC CCACCACCCC CGCCCCGGG	6120
	GACTGTGGAC AGGTTCAAGG GGCTGGCGTC GGGCCCTGGG ATGCTAAGGG ACTGGTGGTG	6180
	ATGAAGACAC TGCCTTGACA CCTGCTTCAC TTGCCTCCCC TGCCACCTGC CCGGGGCCCTT	6240
10	GGGGCGGTGG CCATGGGCAG GTCCCGGCTG GCGGGCTAAC CCACCAGGGT GACACCCGAG	6300
	CTCTCTTTGC TGGGGGGCGG GCGGTGCTCT GGGCCCTCAG GCTGAGCTCA GGAGGTACCT	6360
	GTGCCCTCCC AGGGGTAACC GAGAGCCGTT GCCCACTCCA GGGGGCCAGG TGCCCCACGA	6420
15	CCCCAGCCCG CTCCACAGCT CCTTCATCTC CTGGAGACAA ACTCTGTCCG CCCTCGCTCA	6480
	TTCACTTGTT CGTCCTAAAT CCGAGATGAT AAAGCTTCGA GGGGGGGTTG GGGTTCCATC	6540
	AGGGCTGCCC TTCCGCCGGG CAGCCTGGGC CACATCTGCC CTTGGCCCCC TCAGGACTCA	6600
20	CTCTGACTGG AGGCCCTGCA CTGACTGACG CCAGGGTGCC CAGCCCAGGG TCTCTGGCGC	6660
	CATCCAGCTG CACTGGGTTT GGGTGCTGGT CCTGCCCCCA AGCTGCCCCG ACACCACAGG	6720
	CAGCCGGGGC TGCCCACTGG CCTCGGTCAG GGTGAGCCCC AGCTGCCCCC GCTCAGGGCT	6780
25	TGCCCCGACA ATGACCCCAT CCTCAGGACG CACCCCCCTT CCCTTGCTGG GCAGTGTTCA	6840
	GCCCCACCCG AGATCGGGGG AAGCCCTATT TCTTGACAAC TCCAGTCCCT GGGGGAGGGG	6900
	GCCTCAGACT GAGTGGTGAG TGTCCCAAG TCCAGGAGGT GGTGGAGGGT CCTGGCGGAT	6960
30	CCAGAGTTGA CAGTGAGGGC TTCCTGGGCC CCATGCGCCT GGCAGTGGA GCAGGGAAGA	7020
	GGAAGCACCA TTTCAGGGGT GGGGGATGCC AGAGGCGCTC CCCACCCCGT CTTCGCCGGG	7080
	TGGTGACCCC GGGGGAGCCC CGCTGGTCGT GGAGGGTGCT GGGGGCTGAC TAGCAACCCC	7140
35	TCCCCCCCCG TTGGAActCA CTTTTCTCCC GTCTTGACCG CGTCCAGCCT TGAATGAGAA	7200
	CAAAGTCCTT GTGCTGGACA CCGACTACAA AAAGTACCTG CTCTTCTGCA TGGAAAACAG	7260
	TGCTGAGCCC GAGCAAAGCC TGGCCTGCCA GTGCCTGGGT GGGTGCCAAC CCTGGCTGCC	7320
	CAGGGAGACC AGCTGCGTGG TCCTTGCTGC AACAGGGGGT GGGGGGTGGG AGCTTGATCC	7380

	CCAGGAGGAG GAGGGGTGGG GGGTCCCTGA GTCCCGCCAG GAGAGAGTGG TCGCATACCG	7440
	GGAGCCAGTC TGCTGTGGGC CTGTGGGTGG CTGGGGACGG GGGCCAGACA CACAGGCCGG	7500
5	GAGACGGGTG GGCTGCAGAA CTGTGACTGG TGTGACCGTC GCGATGGGGC CGGTGGTCAC	7560
	TGAATCTAAC AGCCTTTGTT ACCGGGGAGT TTCAATTATT TCCCAAATA AGAACTCAGG	7620
	TACAAAGCCA TCTTTCAACT ATCACATCCT GAAAACAAAT GGCAGGTGAC ATTTTCTGTG	7680
10	CCGTAGCAGT CCCACTGGGC ATTTTCAGGG CCCCTGTGCC AGGGGGGCGC GGGCATCGGC	7740
	GAGTGGAGGC TCCTGGCTGT GTCAGCCGGC CCAGGGGGAG GAAGGGACCC GGACAGCCAG	7800
	AGGTGGGGGG CAGGCTTTCC CCCTGTGACC TGCAGACCCA CTGCACTGCC CTGGGAGGAA	7860
15	GGGAGGGGAA CTAGGCCAAG GGGGAAGGGC AGGTGCTCTG GAGGGCAAGG GCAGACCTGC	7920
	AGACCACCTT GGGGAGCAGG GACTGACCCC CGTCCCTGCC CCATAGTCAG GACCCCGGAG	7980
	GTGGACAACG AGGCCCTGGA GAAATTCGAC AAAGCCCTCA AGGCCCTGCC CATGCACATC	8040
20	CGGCTTGCTT TCAACCCGAC CCAGCTGGAG GGTGAGCACC CAGGCCCCGC CCTTCCCCAG	8100
	GGCAGGAGCC ACCCGGCCCC GGGACGACCT CCTCCCATGG TGACCCCCAG CTCCCAGGC	8160
	CTCCCAGGAG GAAGGGGTGG GGTGCAGCAC CCCGTGGGGG CCCCCTCCCC ACCCCCTGCC	8220
25	AGGCCTCTCT TCCGAGGTG TCCAGTCCCA TCCTGACCCC CCCATGACTC TCCCTCCCC	8280
	ACAGGGCAGT GCCACGTCTA GGTGAGCCCC TGCCGGTGCC TCTGGGGTAA GCTGCCTGCC	8340
	CTGCCCCACG TCCTGGGCAC ACACATGGGG TAGGGGGTCT TGGTGGGGCC TGGGACCCCA	8400
30	CATCAGGCCC TGGGGTCCCC CCTGTGAGAA TGGCTGGAAG CTGGGGTCCC TCCTGGCGAC	8460
	TGCAGAGCTG GCTGGCCGCG TGCCACTCTT GTGGGTGACC TGTGTCCTGG CCTCACACAC	8520
	TGACCTCCTC CAGCTCCTTC CAGCAGAGCT AAGGCTAAGT GAGCCAGAAT GGTACCTAAG	8580
35	GGGAGGCTAG CGGTCCTTCT CCCGAGGAGG GGCTGTCCTG GAACCACCAG CCATGGAGAG	8640
	GCTGGCAAGG GTCTGGCAGG TGCCCCAGGA ATCACAGGGG GGCCCCATGT CCATTTTCAGG	8700
	GCCCCGGAGC CTTGGACTCC TCTGGGGACA GACGACGTCA CCACCGCCCC CCCCCATCA	8760

	GGGGGACTAG AAGGGACCAG GACTGCAGTC ACCCTTCCTG GGACCCAGGC CCCTCCAGGC	8820
	CCCTCCTGGG GCTCCTGCTC TGGGCAGCTT CTCCTTCACC AATAAAGGCA TAAACCTGTG	8880
5	CTCTCCCTTC TGAGTCTTTG CTGGACGACG GGCAGGGGGT GGAGAAGTGG TGGGGAGGGA	8940
	GTCTGGCTCA GAGGATGACA GCGGGGCTGG GATCCAGGGC GTCTGCATCA CAGTCTTGTG	9000
	ACAACTGGGG GCCCACACAC ATCACTGCGG CTCTTTGAAA CTTTCAGGAA CCAGGGAGGG	9060
10	ACTCGGCAGA GACATCTGCC AGTTCAC TTG GAGTGTTCAG TCAACACCCA AACTCGACAA	9120
	AGGACAGAAA GTGGAAAATG GCTGTCTCTT AGTCTAATAA ATATTGATAT GAAACTCAAG	9180
	TTGCTCATGG ATCAATATGC CTTTATGATC CAGCCAGCCA CTACTGTCGT ATCAACTCAT	9240
15	GTACCCAAAC GCACTGATCT GTCTGGCTAA TGATGAGAGA TTCCAGTAG AGAGCTGGCA	9300
	AGAGGTCACA GTGAGAACTG TCTGCACACA CAGCAGAGTC CACCAGTCAT CCTAAGGAGA	9360
	TCAGTCCTGG TGTTCATTGG AGGACTGATG TTGAAGCTGA AACTCCAATG CTTTGGCCAC	9420
20	CTGATGTGAA GAGCTGACTC ATTTGAAAAG ACCCTGATGC TGGGAAAGAT TGAGGGCAGG	9480
	AGGAGAAGGG GACGACAGAG GATGAGATGG TTGGATGGCA TCACCAACAC AATGGACATG	9540
	GGTTTGGGTG GACTCCAGGA GTTGGTGATG GACAGGGAGG CCTGGCGTGC TACGGAAGCG	9600
25	GTTTATGGGG TCACAAAGAC TGAGTGACTG AACTGAGCTG AACTGAATGG AAATGAGGTA	9660
	TACAGCAAAG TGGGGATTTT TTAGATAATA AGAATATACA CATAACATAG TGTATACTCA	9720
	TATTTTATG CATACCTGAA TGCTCAGTCA CTCAGTCGTA TCTGACTCTG TGACCTATGG	9780
30	ACCGTAGCCT TCCAGGTTTC TTCTGTCCAC AGAATTCTCC AAGGCAAGAA TACTGGAGTG	9840
	GGTAGCCATT TCCTCCTCCA GGGGATCCTC CCGACCCAGG GATTGAACCG GCATCTCCTG	9900
	TATTGGCAGG TGGATTCTTT ACCACTGTGC CACCAGGGAA GCCCCTGTTA CTCTCTATGT	9960
35	CCCACTTAAT TACCAAAGCT GCTCCAAGAA AAAGCCCCTG TGCCCTCTGA GCTTCCCGGC	10020
	CTGCAGAGGG TGGTGGGGGT AGACTGTGAC CTGGGAACAC CCTCCCGCTT CAGGACTCCC	10080
	GGGCCACGTG ACCCACAGTC CTGCAGACAG CCGGGTAGCT CTGCTCTTCA AGGCTCATT	10140
	TCTTTAAAAA AACTGAGGT CTATTTTGTG ACTTCGCTGC CGTAACTTCT GAACATCCAG	10200

TCGATGGAC AGGACCTCCT CCCAGGCCT CAGGGGCTTC AGGGAGCCAG CTTTCACCTA 10260
 TGAGTCACCA GACTCTGGG GGTGGCCCG CCTTCAGGT GCTCACAGTC TTCCATCGT 10320
 5 CCTGATCAA GAGCAAGACC AATGACTTCT TAGGAGCAAG CAGACACCCA CAGGACACTG 10380
 AGGTTACCA GAGCTGAGCT GTCCTTTGA ACCTAAAGAC ACACAGCTCT CGAAGGTTTT 10440
 CTCTTTAATC TGGATTAAAG GCCTACTTGC CCCTCAAGAG GGAAGACAGT CCTGCATGTC 10500
 10 CCCAGGACAG CCACTCGGTG GCATCCGAGG CCACTTAGTA TTATCTGACC GCACCCTGGA 10560
 ATTAATCGGT CCAAACTGGA CAAAAACCTT GGTGGGAAGT TTCATCCCAG AGGCCTCAAC 10620
 CATCCTGCTT TGACCACCCT GCATCTTTTT TTCTTTTATG TGTATGCATG TATATATATA 10680
 15 TATATATTTT TTTTTTTTTC ATTTTTTGGC TGTGCTGGCT GTTCGTTGCA GTTCGGTGCG 10740
 CAGGCTTCTC TCTAGTTTCT CTCTAGTCTT CTCTTATCAC AGAGCAGTCT CTAGACGATC 10800
 GACGCGT 10807

20

(2) INFORMASJON OM SEKV.ID NR. 8:

(i) SEKVENSKARAKTERISTIKA:

- (A) LENGDE: 47 basepar
 25 (B) TYPE: nukleinsyre
 (C) TRÅD: enkelttrådet
 (D) TOPOLOGI: lineær

(xi) SEKVENSBESKRIVELSE: SEKV.ID NR. 8:

30

AATTCCGATC GACGCGTCGA CGATATACTC TAGACGATCG ACGCGTA 47

(2) INFORMASJON OM SEKV.ID NR. 9:

35

(i) SEKVENSKARAKTERISTIKA:

- (A) LENGDE: 24 basepar
 (B) TYPE: nukleinsyre
 (C) TRÅD: enkelttrådet

(D) TOPOLOGI: lineær

(vii) EKSPERIMENTELL KILDE:

(B) KLON: BLGAMP3

5

(xi) SEKVENSBESKRIVELSE: SEKV.ID NR. 9:

TGGATCCCCT GCCGGTGCCT CTGG

24

10

(2) INFORMASJON OM SEKV.ID NR. 10:

(i) SEKVENSKARAKTERISTIKA:

(A) LENGDE: 24 basepar

15

(B) TYPE: nukleinsyre

(C) TRÅD: enkelttrådet

(D) TOPOLOGI: lineær

(vii) EKSPERIMENTELL KILDE:

20

(B) KLON: BLGAMP4

(xi) SEKVENSBESKRIVELSE: SEKV.ID NR. 10:

AACGCGTCAT CCTCTGTGAG CCAG

24

25

(2) INFORMASJON OM SEKV.ID NR. 11:

(i) SEKVENSKARAKTERISTIKA:

30

(A) LENGDE: 10 basepar

(B) TYPE: nukleinsyre

(C) TRÅD: enkelttrådet

(D) TOPOLOGI: lineær

35

(vii) EKSPERIMENTELL KILDE:

(B) KLON: ZC6839

(xi) SEKVENSBESKRIVELSE: SEKV.ID NR. 11:

ACTACGTAGT

10

5

(2) INFORMASJON OM SEKV.ID NR. 12:

(i) SEKVENSKARAKTERISTIKA:

(A) LENGDE: 42 basepar

10

(B) TYPE: nukleinsyre

(C) TRÅD: enkelttrådet

(D) TOPOLOGI: lineær

(vii) EKSPERIMENTELL KILDE:

15

(B) KLON: ZC6632

(xi) SEKVENSBESKRIVELSE: SEKV.ID NR. 12:

CGACGCGGAT CCTACGTACC TGCAGCCATG TTTCCATGA GG

42

20

(2) INFORMASJON OM SEKV.ID NR. 13:

(i) SEKVENSKARAKTERISTIKA:

25

(A) LENGDE: 21 basepar

(B) TYPE: nukleinsyre

(C) TRÅD: enkelttrådet

(D) TOPOLOGI: lineær

30

(vii) EKSPERIMENTELL KILDE:

(B) KLON: ZC6627

(xi) SEKVENSBESKRIVELSE: SEKV.ID NR. 13:

35 AGGGCTTCGG CAAGCTTCAG G

21

(2) INFORMASJON OM SEKV.ID NR. 14:

(i) SEKVENSKARAKTERISTIKA:

(A) LENGDE: 24 basepar

5 (B) TYPE: nukleinsyre

(C) TRÅD: enkelttrådet

(D) TOPOLOGI: lineær

(vii) EKSPERIMENTELL KILDE:

10 (B) KLON: ZC6521

(xi) SEKVENSBESKRIVELSE: SEKV.ID NR. 14:

GCCAAAGACT TACTTCCCTC TAGA

24

15

(2) INFORMASJON OM SEKV.ID NR. 15:

(i) SEKVENSKARAKTERISTIKA:

20 (A) LENGDE: 30 basepar

(B) TYPE: nukleinsyre

(C) TRÅD: enkelttrådet

(D) TOPOLOGI: lineær

25 (vii) EKSPERIMENTELL KILDE:

(B) KLON: ZC6520

(xi) SEKVENSBESKRIVELSE: SEKV.ID NR. 15:

30 GCATGAACGT CGCGTGGTGG TTGTGCTACC

30

(2) INFORMASJON OM SEKV.ID NR. 16:

35 (i) SEKVENSKARAKTERISTIKA:

(A) LENGDE: 30 basepar

(B) TYPE: nukleinsyre

(C) TRÅD: enkelttrådet

(D) TOPOLOGI: lineær

(vii) EKSPERIMENTELL KILDE:

(B) KLON: ZC6519

5 (xi) SEKVENSBESKRIVELSE: SEKV.ID NR. 16:

ACCACGCGAC GTTCATGCTC TAAAACCGTT

30

10 (2) INFORMASJON OM SEKV.ID NR. 17:

(i) SEKVENSKARAKTERISTIKA:

(A) LENGDE: 36 basepar

(B) TYPE: nukleinsyre

15 (C) TRÅD: enkelttrådet

(D) TOPOLOGI: lineær

(vii) EKSPERIMENTELL KILDE:

(B) KLON: ZC6518

20

(xi) SEKVENSBESKRIVELSE: SEKV.ID NR. 17:

GCTGCGGGAT CCTACGTACT AGGGGGACAG GGAAGG

36

25

(2) INFORMASJON OM SEKV.ID NR. 18:

(i) SEKVENSKARAKTERISTIKA:

(A) LENGDE: 45 basepar

30 (B) TYPE: nukleinsyre

(C) TRÅD: enkelttrådet

(D) TOPOLOGI: lineær

(vii) EKSPERIMENTELL KILDE:

35

(B) KLON: ZC6629

(xi) SEKVENSBESKRIVELSE: SEKV.ID NR. 18:

CGACGCGAAT TCTACGTACC TGCAGCCATG AAAAGGATGG TTTCT

45

(2) INFORMASJON OM SEKV.ID NR. 19:

- 5 (i) SEKVENSKARAKTERISTIKA:
(A) LENGDE: 45 basepar
(B) TYPE: nukleinsyre
(C) TRÅD: enkelttrådet
(D) TOPOLOGI: lineær

10

- (vii) EKSPERIMENTELL KILDE:
(B) KLON: ZC6630

- (xi) SEKVENSBESKRIVELSE: SEKV.ID NR. 19:

15

CGACGCGAAT TCTACGTACC TGCAGCCATG AAACATCTAT TATTG

45

(2) INFORMASJON OM SEKV.ID NR. 20:

20

- (i) SEKVENSKARAKTERISTIKA:
(A) LENGDE: 21 basepar
(B) TYPE: nukleinsyre
(C) TRÅD: enkelttrådet
(D) TOPOLOGI: lineær

25

- (vii) EKSPERIMENTELL KILDE:
(B) KLON: ZC6625

30

- (xi) SEKVENSBESKRIVELSE: SEKV.ID NR. 20:

GTGAGATTTT CAGATCTTGT C

21

35 (2) INFORMASJON OM SEKV.ID NR. 21:

- (i) SEKVENSKARAKTERISTIKA:
(A) LENGDE: 21 basepar
(B) TYPE: nukleinsyre

(C) TRÅD: enkelttrådet

(D) TOPOLOGI: lineær

(vii) EKSPERIMENTELL KILDE:

5 (B) KLON: ZC6626

(xi) SEKVENSBESKRIVELSE: SEKV.ID NR. 21:

AAGAATTACT GTGGCCTACC A

21

10

(2) INFORMASJON OM SEKV.ID NR. 22:

(i) SEKVENSKARAKTERISTIKA:

15 (A) LENGDE: 33 basepar

(B) TYPE: nukleinsyre

(C) TRÅD: enkelttrådet

(D) TOPOLOGI: lineær

20 (vii) EKSPERIMENTELL KILDE:

(B) KLON: ZC6624

(xi) SEKVENSBESKRIVELSE: SEKV.ID NR. 22:

25 GCTGCGGAAT TCTACGTACT ATTGCTGTGG GAA

33

(2) INFORMASJON OM SEKV.ID NR. 23:

30 (i) SEKVENSKARAKTERISTIKA:

(A) LENGDE: 45 basepar

(B) TYPE: nukleinsyre

(C) TRÅD: enkelttrådet

(D) TOPOLOGI: lineær

35

(vii) EKSPERIMENTELL KILDE:

(B) KLON: ZC6514

(xi) SEKVENSBESKRIVELSE: SEKV.ID NR. 23:

CGACGCGGAT CCTACGTACC TGCAGCCATG AGTTGGTCCT TGCAC

45

5 (2) INFORMASJON OM SEKV.ID NR. 24:

(i) SEKVENSKARAKTERISTIKA:

(A) LENGDE: 21 basepar

(B) TYPE: nukleinsyre

10 (C) TRÅD: enkelttrådet

(D) TOPOLOGI: lineær

(vii) EKSPERIMENTELL KILDE:

(B) KLON: ZC6517

15

(xi) SEKVENSBESKRIVELSE: SEKV.ID NR. 24:

GTCTCTGGTA GCAACATACT A

21

20

(2) INFORMASJON OM SEKV.ID NR. 25:

(i) SEKVENSKARAKTERISTIKA:

(A) LENGDE: 22 basepar

25 (B) TYPE: nukleinsyre

(C) TRÅD: enkelttrådet

(D) TOPOLOGI: lineær

(vii) EKSPERIMENTELL KILDE:

30

(B) KLON: ZC6516

(xi) SEKVENSBESKRIVELSE: SEKV.ID NR. 25:

GGGTTTCTAG CCCTACTAGT AG

22

35

(2) INFORMASJON OM SEKV.ID NR. 26:

(i) SEKVENSKARAKTERISTIKA:

- (A) LENGDE: 22 basepar
- (B) TYPE: nukleinsyre
- (C) TRÅD: enkelttrådet
- (D) TOPOLOGI: lineær

5

(vii) EKSPERIMENTELL KILDE:

- (B) KLON: ZC6515

(xi) SEKVENSBESKRIVELSE: SEKV.ID NR. 26:

10

GGGTTTCTAG CCCTACTAGT AG

22

(2) INFORMASJON OM SEKV.ID NR. 27:

15

(i) SEKVENSKARAKTERISTIKA:

- (A) LENGDE: 47 basepar
- (B) TYPE: nukleinsyre
- (C) TRÅD: enkelttrådet
- (D) TOPOLOGI: lineær

20

(xi) SEKVENSBESKRIVELSE: SEKV.ID NR. 27:

AAGCTACGCG TCGATCGTCT AGAGTATATC GTCGACGCGT CGATCGG

P a t e n t k r a v

- 5 1. Fremgangsmåte for fremstilling av fibrinogen,
k a r a k t e r i s e r t v e d at den omfatter:
tilveiebringelse av et første DNA-segment som koder for
et sekresjonssignal operativt koblet til en fibrinogen-A α -kjede,
et andre DNA-segment som koder for et sekresjonssignal operativt
10 koblet til en fibrinogen-B β -kjede, og et tredje DNA-segment som
koder for et sekresjonssignal operativt koblet til en fibrinogen-
 γ -kjede, hvor hvert av nevnte første, andre og tredje segmenter
er operativt koblet til en melkeproteingenpromoter og sekvenser
som sørger for terminering av transkripsjon og polyadenylering av
15 mRNA,
og de første, andre og tredje segmenter er bundet i en
eneste ekspresjonsenhet,
innføring av den eneste ekspresjonsenheten inn i
kimlinjen til et ikke-humant pattedyr,
20 avl av det ikke-humane pattedyr for fremstilling av
avkom av hunnkjønn som uttrykker nevnte første, andre og tredje
DNA-segmenter, og fremstiller melk som inneholder biokompetent
fibrinogen kodet av segmentene,
innsamling av melk fra nevnte avkom av hunnkjønn, og
25 utvinning av fibrinogen fra melken.
2. Fremgangsmåte ifølge krav 1,
k a r a k t e r i s e r t v e d at arten er valgt fra
gruppen som består av sau, svin, geit og kveg.
- 30 3. Fremgangsmåte ifølge krav 1 eller krav 2,
k a r a k t e r i s e r t v e d at melkeproteingenpromoteren
er valgt fra gruppen som består av genpromotere for kasein, β -
laktoglobulin, α -laktalbumin og surt myseprotein.
- 35 4. Fremgangsmåte ifølge krav 3,
k a r a k t e r i s e r t v e d at melkeproteingenpromoteren
er β -laktoglobulin, og hvert av de tre DNA-segmentene er bundet
til et β -laktoglobulingen for å fremstille tre genfusjoner.

5. Fremgangsmåte ifølge krav 1,
k a r a k t e r i s e r t v e d at trinnet med innføring av
den eneste ekspresjonsenheten i kimcellelinjen til det ikke-
humane pattedyr omfatter trinnene med å:

5 innføre den eneste ekspresjonsenheten i et fertilisert
egg fra en ikke-human pattedyrart, og
innsette egget i en eggleder eller livmor hos en hunn
av arten slik at det erholdes et ikke-humant pattedyr som bærer
DNA-segmentene.

10 6. Fremgangsmåte ifølge krav 5,
k a r a k t e r i s e r t v e d at den ene ekspresjonsenheten
injiseres i en pronukleus i det befruktede egg.

15 7. Fremgangsmåte ifølge hvilket som helst forutgående
krav,
k a r a k t e r i s e r t v e d at fibrinogenet er humant
fibrinogen.

20 8. Fremgangsmåte ifølge hvilket som helst forutgående
krav,
k a r a k t e r i s e r t v e d at det andre DNA-segment
inneholder en nukleotidsekvens som vist i SEKV.ID NR. 3 fra
nukleotid 470 til nukleotid 8100.

25 9. Fremgangsmåte ifølge hvilket som helst forutgående
krav,
k a r a k t e r i s e r t v e d at det andre DNA-segment
inneholder en nukleotidsekvens som vist i SEKV.ID NR. 3 fra
30 nukleotid 512 til nukleotid 8100.

10. Fremgangsmåte for fremstilling av et transgent avkom
fra et ikke-humant pattedyr,
k a r a k t e r i s e r t v e d at den omfatter:

35 tilveiebringelse av et første DNA-segment som koder for
en fibrinogen-A α -kjede, et andre DNA-segment som koder for en
fibrinogen-B β -kjede, og et tredje DNA-segment som koder for en
fibrinogen- γ -kjede, hvor hvert av nevnte første, andre og tredje
segmenter er operativt koblet til en melkeproteingenpromoter,

sekvenser som sørger for terminering av transkripsjon og polyadenylering av mRNA, og et DNA-segment som koder for et sekresjonssignal operativt koblet til segmentet som koder for fibrinogenpolypeptidkjeden,

- 5 kobling av det første, andre og tredje segment i en eneste ekspresjonsenhet,
 innføring av den eneste ekspresjonsenheten i et befruktet egg hos et pattedyr av en ikke-human art,
 innsetting av egget i en eggleder eller livmor hos en
10 hunn av den ikke-humane art for erholdelse av et avkom som bærer nevnte første, andre og tredje DNA-segmenter.

11. Fremgangsmåte ifølge krav 10,
k a r a k t e r i s e r t v e d at avkommet er av hunnkjønn.

- 15
12. Fremgangsmåte ifølge krav 10,
k a r a k t e r i s e r t v e d at avkommet er av hannkjønn.

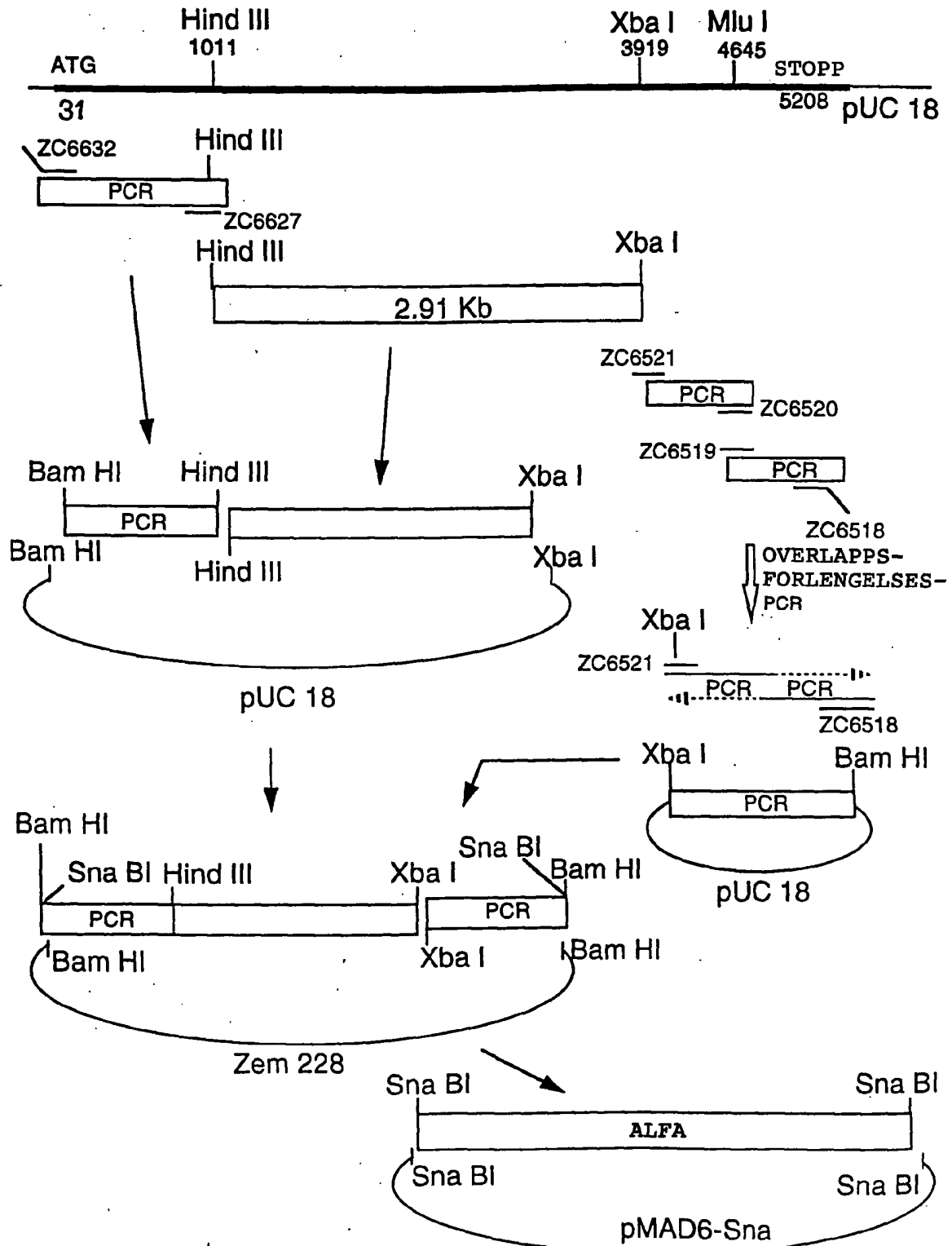
13. Ikke-humant pattedyr,
20 k a r a k t e r i s e r t v e d at det er fremstilt ved fremgangsmåten ifølge krav 10.

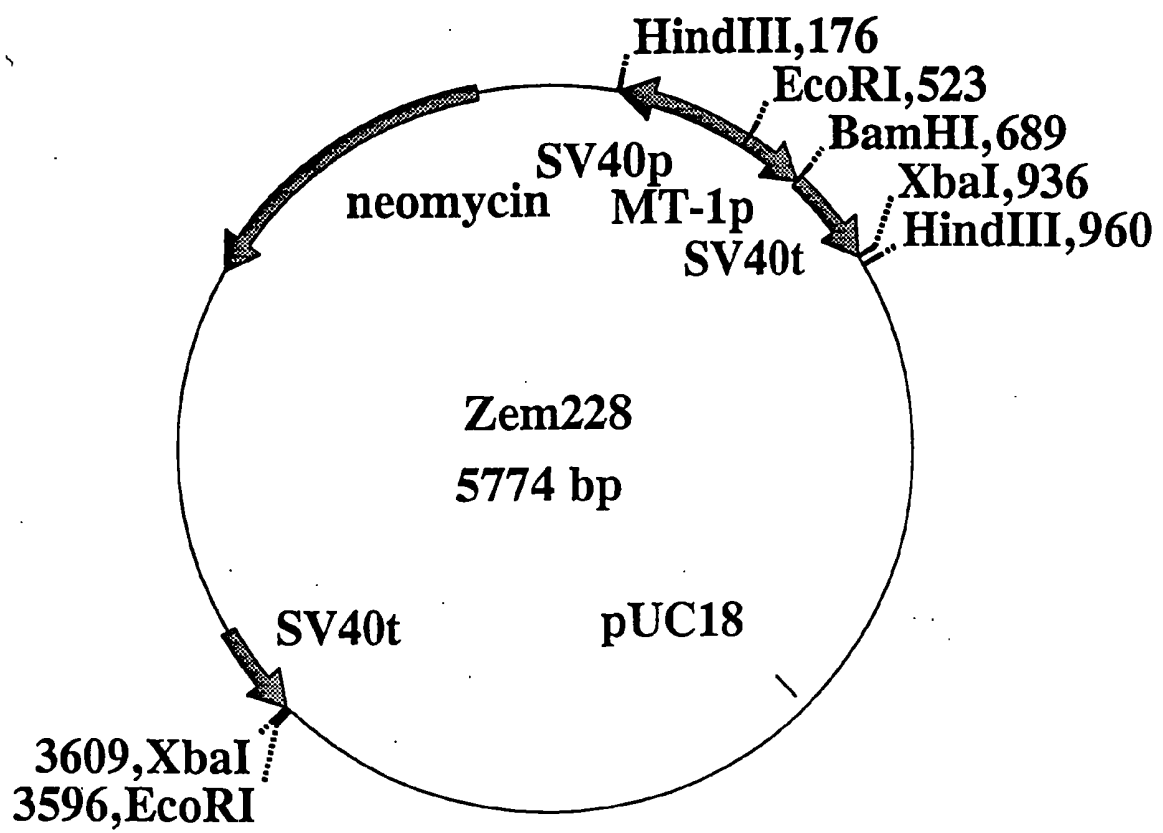
14. Ikke-humant pattedyr ifølge krav 13,
k a r a k t e r i s e r t v e d at pattedyret er av hunnkjønn.
25

15. Ikke-humant hunnpattedyr ifølge krav 14,
k a r a k t e r i s e r t v e d at det fremstiller melk som inneholder biokompetent fibrinogen kodet av nevnte DNA-segmenter.

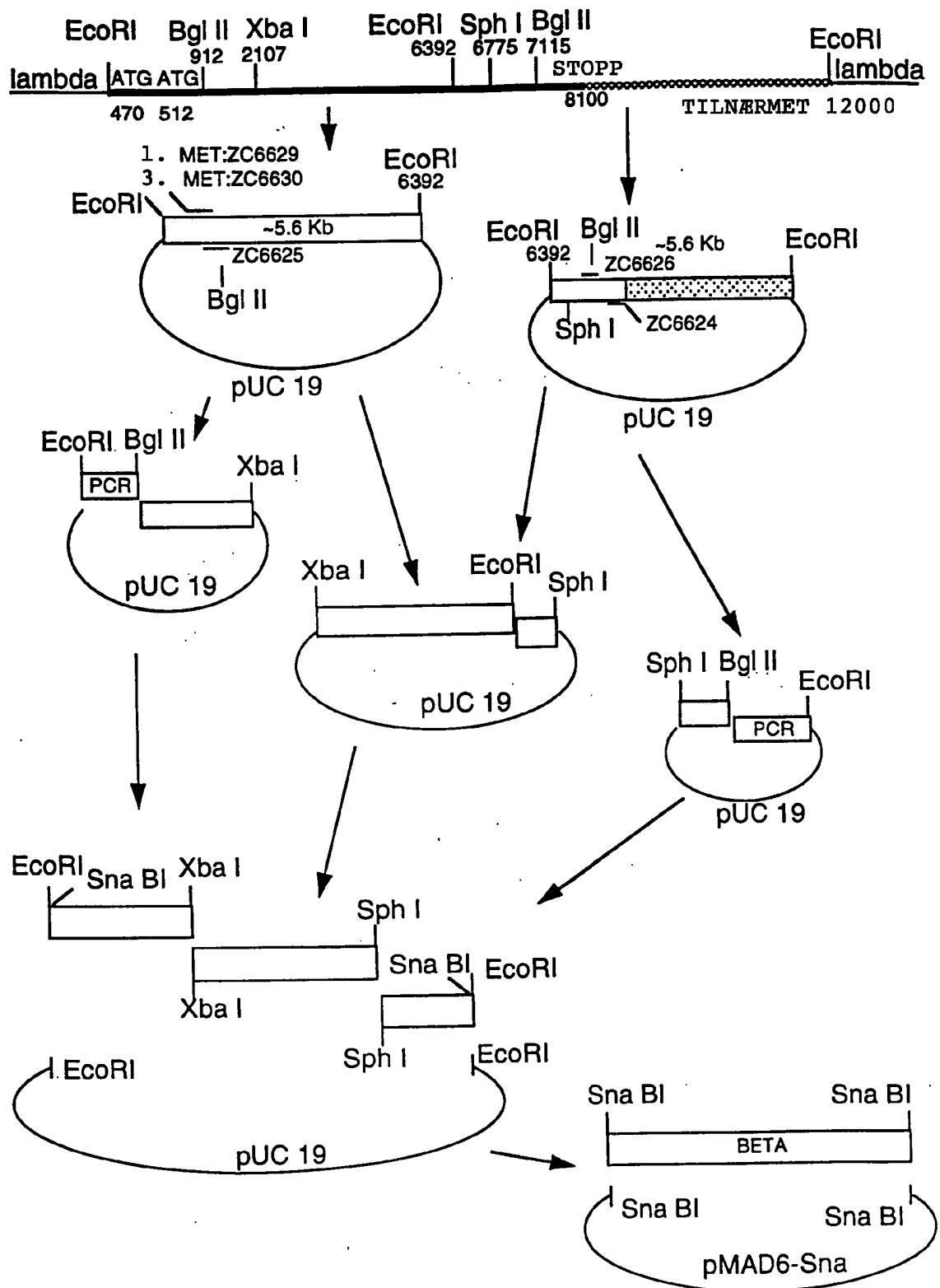
- 30
16. Ikke-humant pattedyr ifølge krav 13,
k a r a k t e r i s e r t v e d at pattedyret er av hannkjønn.

FIGUR 1

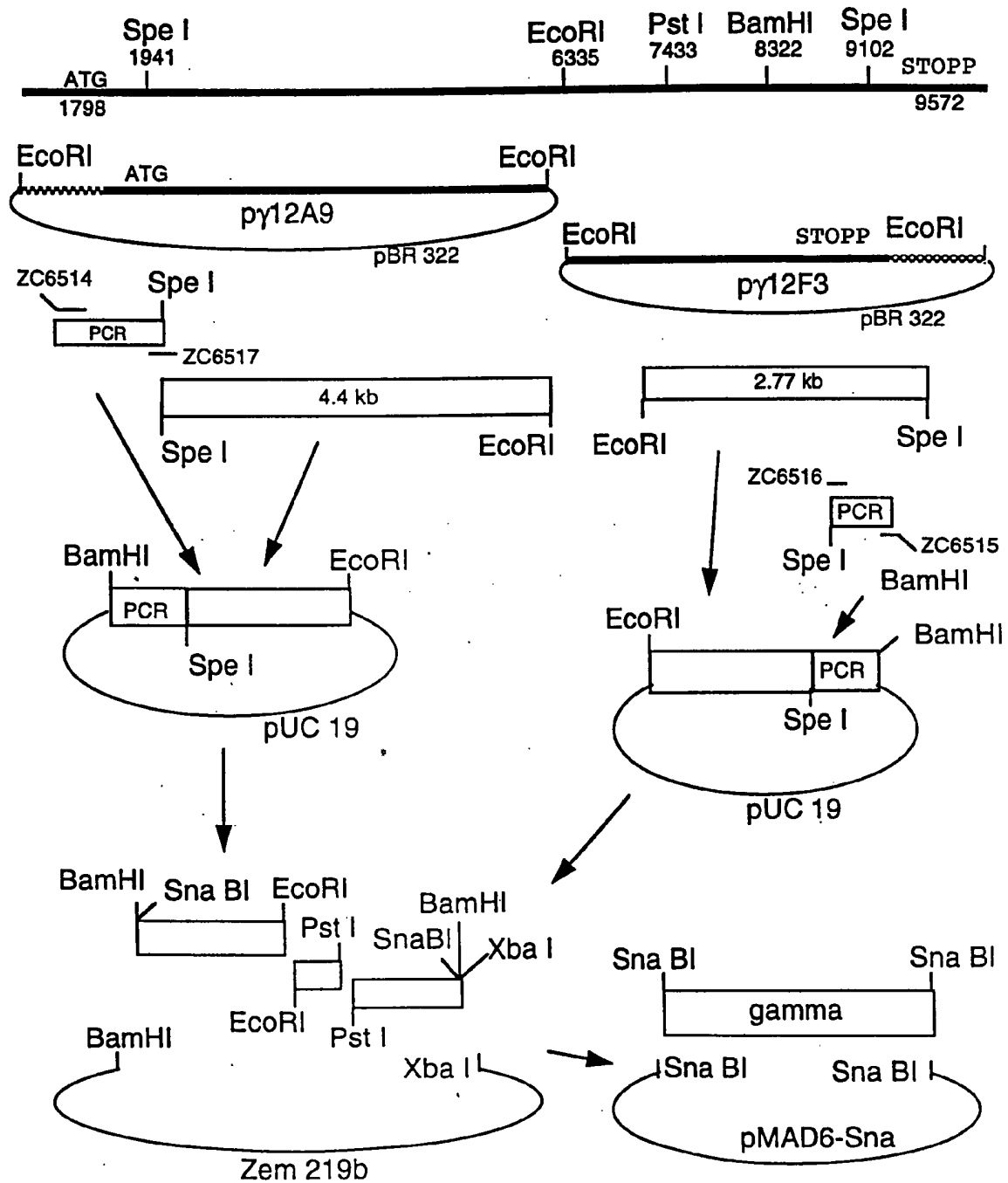


FIGUR 2

FIGUR 3



FIGUR 4



FIGUR 5