



(19)  
Bundesrepublik Deutschland  
Deutsches Patent- und Markenamt

(10) **DE 698 29 857 T2** 2006.02.02

(12) **Übersetzung der europäischen Patentschrift**

(97) **EP 1 009 753 B1**

(21) Deutsches Aktenzeichen: **698 29 857.8**

(86) PCT-Aktenzeichen: **PCT/US98/17296**

(96) Europäisches Aktenzeichen: **98 943 278.6**

(87) PCT-Veröffentlichungs-Nr.: **WO 99/009049**

(86) PCT-Anmeldetag: **21.08.1998**

(87) Veröffentlichungstag  
der PCT-Anmeldung: **25.02.1999**

(97) Erstveröffentlichung durch das EPA: **21.06.2000**

(97) Veröffentlichungstag  
der Patenterteilung beim EPA: **20.04.2005**

(47) Veröffentlichungstag im Patentblatt: **02.02.2006**

(51) Int Cl.<sup>8</sup>: **C07H 21/04** (2006.01)  
**C07K 14/47** (2006.01)

(30) Unionspriorität:  
**56453 P 21.08.1997 US**

(73) Patentinhaber:  
**Quark Biotech, Inc., Pleasanton, Calif., US**

(74) Vertreter:  
**Schwabe, Sandmair, Marx, 81677 München**

(84) Benannte Vertragsstaaten:  
**AT, BE, CH, DE, FR, GB, IT, LI, LU**

(72) Erfinder:  
**EINAT, Paz, 74402 Nes Ziona, IL; SKALITER, Rami,  
74037 Nes Ziona, IL**

(54) Bezeichnung: **HYPOXIE-REGULIERTE GENE**

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

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

**Beschreibung****HINTERGRUND DER ERFINDUNG****1. GEBIET DER ERFINDUNG**

**[0001]** Identifikation von Genen, die bei Hypoxie differenziell exprimiert werden, und Verwendung der Gene und Genprodukte für die Diagnose und den therapeutischen Eingriff.

**2. BESCHREIBUNG DES VERWANDTEN STANDES DER TECHNIK**

**[0002]** Das Maß der Gewebeoxygenierung spielt eine wichtige Rolle bei der normalen Entwicklung, ebenso wie bei pathologischen Vorgängen wie Ischämie. Gewebeoxygenierung spielt eine signifikant regulierende Rolle sowohl bei der Apoptose als auch bei der Angiogenese (Bouck et al., 1996; Bunn et al., 1996; Dor et al., 1997; Carmeliet et al., 1998). Apoptose (siehe Duke et al., 1996, zum Überblick) und Wachstumsstopp geschehen, wenn Zellwachstum und -lebensfähigkeit wegen Sauerstoffmangel (Hypoxie) reduziert sind. Angiogenese (das heißt Blutgefäßwachstum, Vaskularisierung) wird stimuliert, wenn hypoxysgenierte Zellen Faktoren sezernieren, welche die Proliferation und Migration von Endothelzellen in einem Versuch stimulieren, die Sauerstoffhomöostase wieder herzustellen (für einen Überblick siehe Hanahan et al., 1996).

**[0003]** Ischämische Erkrankungspathologien schließen eine Abnahme in der Blutzufuhr zu einem Körperorgan, Gewebe oder Körperteil ein, die allgemein durch Verengung oder Verschluss der Blutgefäße, wie z. B. bei Retinopathie, akutem Nierenversagen, Myokardinfarkt und Schlaganfall, verursacht wird. Deswegen sind Apoptose und Angiogenese, wenn sie durch ischämische Zustände induziert werden, ebenfalls in diese Krankheitszustände verwickelt. Neoangiogenese wird bei etlichen Formen der Retinopathie und beim Tumorstadium gesehen. Es wird bemerkt, dass Angiogenese für das Tumorstadium notwendig ist und dass eine Verzögerung der Angiogenese ein nützliches Werkzeug bei der Kontrolle von Bösartigkeit und Retinopathien sein würde. Ferner würde es nützlich sein, tumorigene Zellen dazu zu bringen, Apoptose (das heißt programmierten Zelltod) durchzumachen.

**[0004]** Diese Prozesse sind jedoch komplexe Kaskaden von Ereignissen, die durch viele verschiedene Gene kontrolliert werden, welche auf die verschiedenen Stressarten, wie Hypoxie, reagieren. Die Expression von unterschiedlichen Genen, die auf Hypoxiestress reagieren, kann nicht nur Apoptose oder Angiogenese, sondern beides auslösen. Bei Krebs wurde beobachtet, dass mit Apoptose und Angiogenese in Beziehung stehende Gene therapeutische Ziele sind. Hypoxie selber spielt jedoch eine kritische Rolle bei der Auswahl von Mutationen, welche zu schwereren tumorigenen Phänotypen beitragen (Graeber et al., 1996). Deshalb wird die Identifikation von Kandidatengen und -genprodukten benötigt, welche therapeutisch nicht nur bei Krebs und Ischämie genutzt werden können und welche entweder Apoptose oder Angiogenese induzieren oder, um die Vorgänge zu verzögern. Es wäre nützlich, Gene zu identifizieren, welche direkte Kausalbeziehungen zwischen einer Erkrankung und ihren damit in Beziehung stehenden Pathologien haben, und ein herauf oder herunter regulierendes (Regulator-)Gen zu identifizieren.

**ZUSAMMENFASSUNG DER ERFINDUNG**

**[0005]** Gemäß der vorliegenden Erfindung werden gereinigte, isolierte und klonierte Nucleinsäuresequenzen bereitgestellt, die auf Hypoxie ansprechende Gene kodieren, welche Sequenzen haben, wie in der Gruppe, umfassend SEQ ID Nr. 1 und SEQ ID Nr. 2, dargelegt, oder eine komplementäre oder Allelvariantensequenz und menschliche Homologa, soweit benötigt, dazu. Die vorliegende Erfindung stellt ferner Proteine bereit, wie durch die in SEQ ID Nr. 1 und SEQ ID Nr. 2 dargelegten Nucleinsäuresequenzen kodiert, wobei die SEQ ID Nrn. 9 und 10 Beispiele der Proteine sind. Die vorliegende Erfindung stellt weiter Antikörper bereit, die gegen die Proteine gerichtet sind, wie sie durch die Nucleinsäuresequenzen kodiert werden, wie sie in SEQ ID Nr. 1 und SEQ ID Nr. 2 dargelegt sind, einschließlich der SEQ ID Nrn. 9 und 10.

**[0006]** Die vorliegende Erfindung stellt weiter transgene Tiere und Zelllinien bereit, die wenigstens eine exprimierbare Nucleinsäuresequenz, wie in SEQ ID Nr. 1 und SEQ ID Nr. 2 dargelegt, tragen. Die vorliegende Erfindung stellt weiter eukaryotische Knockout-Organismen bereit, in denen wenigstens eine Nucleinsäuresequenz, wie in SEQ ID Nr. 1 und SEQ ID Nr. 2 dargelegt, ausgeknockt sind.

**[0007]** Ebenfalls wird hierin ein Verfahren zur Regulierung von Angiogenese in einem Patienten beschrieben, der einen Bedarf an einer solchen Behandlung hat, durch Verabreichung einer therapeutisch wirksamen Men-

ge eines Antagonisten eines Proteins, wie es durch die Nucleinsäuresequenz, die in SEQ ID Nr. 2 dargelegt ist, kodiert wird, an einen Patienten. Alternativ stellt die vorliegende Erfindung ein Verfahren bereit, Angiogenese in einem Patienten, der einer solchen Behandlung bedarf, zu regulieren durch Verabreichung einer therapeutisch wirksamen Menge von wenigstens einem Gegensinn-Oligonucleotid gegen die Nucleinsäuresequenz, wie in SEQ ID Nr. 2 dargelegt, oder eines dominant negativen Peptids, das gegen die Sequenz oder ihre Proteine gerichtet ist.

**[0008]** Die vorliegende Erfindung stellt ferner ein Verfahren bereit, Angiogenese oder Apoptose in einem Patienten zu regulieren, der einer solchen Behandlung bedarf, durch Verabreichen einer therapeutisch wirksamen Menge eines durch SEQ ID Nr. 2 kodierten Proteins oder der Proteinsequenz, wie sie in SEQ ID Nr. 10 dargelegt ist, als aktive Bestandteile in einem pharmazeutisch annehmbaren Träger an einen Patienten.

**[0009]** Die vorliegende Erfindung stellt ein Verfahren bereit, ein Apoptose regulierendes Gen bereitzustellen, indem direkt einem Patienten, der einer solchen Therapie bedarf, unter Nutzung von Gentherapie ein exprimierbarer Vektor verabreicht wird, der Expressionskontrollsequenzen umfasst, welche an die in SEQ ID Nr. 2 (menschliches Homolog) dargelegten Sequenzen operabel gekoppelt sind.

**[0010]** Die vorliegende Erfindung stellt ebenfalls ein Verfahren bereit, um ein Angiogenese regulierendes Gen bereitzustellen, unter Nutzung von Gentherapie, indem einem Patienten, der einer solchen Therapie bedarf, direkt ein exprimierbarer Vektor verabreicht wird, der Expressionskontrollsequenzen umfasst, welche an die in SEQ ID Nr. 2 dargelegten Sequenzen operabel gekoppelt sind.

**[0011]** Die vorliegende Erfindung stellt ein Verfahren zur Regulierung der Antwort auf hypoxische Zustände in einem Patienten bereit, der einer solchen Behandlung bedarf, durch Verabreichen einer therapeutisch wirksamen Menge eines Gegensinn-Oligonucleotids, das gegen die in SEQ ID Nr. 2 dargelegten Sequenzen gerichtet ist, an einen Patienten. Die vorliegende Erfindung stellt weiter ein Verfahren zur Bereitstellung eines Hypoxieregulierungsgens unter Nutzung von Gentherapie bereit, indem einem Patienten, der einer solchen Therapie bedarf, direkt ein exprimierbarer Vektor verabreicht wird, der Expressionskontrollsequenzen umfasst, die operabel an die in SEQ ID Nr. 2 dargelegten Sequenzen gekoppelt sind.

**[0012]** Die vorliegende Erfindung stellt ebenfalls ein Verfahren zum Diagnostizieren des Vorkommens von Ischämie in einem Patienten bereit, das die Schritte des Analysierens einer Körperflüssigkeit oder Gewebeprobe des Patienten in Bezug auf die Anwesenheit oder das Genprodukt wenigstens eines exprimierten (heraufregulierten) Gens, wie dargelegt in SEQ ID Nr. 2, umfasst, und wo die Ischämie festgestellt wird, falls das heraufregulierte Gen oder Genprodukt bestätigt wird.

## BESCHREIBUNG DER ZEICHNUNGEN

**[0013]** Andere Vorteile der vorliegenden Erfindung werden leicht geschätzt werden, wenn dieselbe besser verstanden wird durch Bezugnahme auf die folgende detaillierte Beschreibung, wenn sie in Verbindung mit den begleitenden Zeichnungen bedacht wird, worin:

**[0014]** **Fig. 1** ein Computerscan ist, der die In-vitro-Translation von cDNS-Klonen von RTP801 voller Länge (SEQ ID Nr. 1) zeigt. cDNS-Klone werden in vitro unter Verwendung eines gekoppelten Transkriptions-Translations-Kits (Promega) translatiert. Translationsprodukte werden auf Acrylamidgel aufgetrennt und Röntgenfilm ausgesetzt. Zwei Klone, mit Pfeilen markiert, ergaben die erwartete Proteingröße von annähernd 30 KD. Dies bestätigt die Sequenzanalyse des mutmaßlichen Leserasters.

**[0015]** **Fig. 2** ist ein Computerscan, der die Northern-Blot-Analyse von RTP801 (SEQ ID Nr. 1) zeigt. RNS wurde aus Ratten-C6-Gliomzellen extrahiert, die Hypoxie für 0, 4 oder 16 Stunden ausgesetzt waren. PolyA+-selektierte mRNS (2 µg) aus jeder Probe wurde auf denaturierenden Agarosegelen aufgetrennt, auf Nytran-Membranen geblottet und mit der rtp241-Sonde hybridisiert. Eine Bande mit 1,8 Kb wird beobachtet, die eine markante Induktion nach Hypoxie zeigt.

**[0016]** **Fig. 3** ist ein Computerscan, der die Northern-Blot-Analyse von RTP779 (SEQ ID Nr. 2) zeigt. RNS wurde aus Ratten-C6-Gliomzellen extrahiert, die Hypoxie für 0, 4 oder 16 Stunden ausgesetzt waren. PolyA+-selektierte mRNS (2 µg) aus jeder Probe wurde auf denaturierenden Agarosegelen aufgetrennt, auf Nytran-Membranen geblottet und mit der rtp779-Sonde hybridisiert. Eine Bande mit 1,8 Kb wird beobachtet, die eine äußerst differenzielle Expression zeigt.

**[0017]** Fig. 4 ist ein Computerscan, der die Northern-Blot-Analyse von RTP241 (SEQ ID Nr. 3) zeigt. RNS wurde aus Ratten-C6-Gliomzellen extrahiert, welche Hypoxie für 0, 4 oder 16 Stunden ausgesetzt waren. PolyA+-selektierte mRNS (2 µg) aus jeder Probe wurde auf denaturierenden Agarosegelen aufgetrennt, auf Nytran-Membranen gebロットet und mit der rtp241-Sonde hybridisiert. Zwei Banden mit 1,8 Kb und 4 Kb werden beobachtet; beide zeigen eine gute differenzielle Expression.

**[0018]** Fig. 5 ist ein Computerscan, der die Northern-Blot-Analyse von RTP359 (SEQ ID Nr. 5) zeigt. RNS wurde aus Ratten-C6-Gliomzellen extrahiert, welche Hypoxie für 0, 4 oder 16 Stunden ausgesetzt waren. PolyA+-selektierte mRNS (2 µg) aus jeder Probe wurde auf denaturierenden Agarosegelen aufgetrennt, auf Nytran-Membranen gebロットet und mit der rtp359-Sonde hybridisiert. Eine Bande mit 4,5 Kb wird beobachtet, die eine gute differenzielle Expression zeigt.

#### DETAILLIERTE BESCHREIBUNG DER ERFINDUNG

**[0019]** Die vorliegende Erfindung identifiziert Kandidatengene und -genprodukte, die therapeutisch und diagnostisch nicht nur bei Hypoxie und Ischämie genutzt werden können und die Apoptose oder Angiogenese regulieren können. Mit Regulieren oder Modulieren oder Kontrollieren wird gemeint, dass der Vorgang entweder bis zu dem Ausmaß induziert oder inhibiert wird, das notwendig ist, eine Änderung in dem Vorgang und dem damit verbundenen Erkrankungszustand in dem Patienten zu bewirken. Ob Induktion oder Inhibition beabsichtigt ist, wird aus dem zu behandelnden Vorgang und der zu behandelnden Erkrankung ersichtlich sein und wird Fachleuten in der Medizin bekannt sein. Die vorliegende Erfindung identifiziert Gene für die Gentherapie, Diagnostika und Therapeutika, die eine direkte Kausalbeziehung zwischen einer Erkrankung und damit in Verbindung stehenden Pathologien und Herauf- oder Herunterregulator- (Responder-)Genen haben. Das heißt, die vorliegende Erfindung wird durch eine physiologische Beziehung zwischen Ursache und Wirkung initiiert.

**[0020]** Die vorliegende Erfindung stellt gereinigte, isolierte und klonierte Nucleinsäurepolynucleotide (Sequenzen) bereit, die Gene kodieren, welche wenigstens auf hypoxische Zustände durch Heraufregulation der Expression ansprechen und welche Sequenzen haben, wie sie in der Gruppe dargelegt sind, die die SEQ ID Nr. 1, SEQ ID Nr. 2, SEQ ID Nr. 3, SEQ ID Nr. 4 und SEQ ID Nr. 5 und ihre Analoga und Polymorphismen oder eine komplementäre oder Allelvariantensequenz dazu umfassen. Die vorliegende Erfindung stellt ferner SEQ ID Nr. 6 bereit, welche ein bekanntes Gen (Neuroleukin) ist, das ebenfalls auf den hypoxischen Stress anspricht, indem es heraufreguliert wird. SEQ ID Nr. 6 ist die menschliche Sequenz für Neuroleukin und hat über 90% Homologie mit der Rattensequenz. Das menschliche Homolog wird verwendet, wo es geeignet ist. Wegen der hohen Homologie zwischen den Ratten- und Menschensequenzen kann die Rattensequenz ebenfalls für Sonden und Ähnliches verwendet werden, falls notwendig.

**[0021]** Die vorliegende Erfindung stellt ferner Proteine und ihre Analoga bereit, wie sie durch die Nucleinsäuresequenzen kodiert werden, die in SEQ ID Nr. 1, SEQ ID Nr. 2, SEQ ID Nr. 3, SEQ ID Nr. 4, SEQ ID Nr. 5 dargelegt sind, wobei die SEQ ID Nrn. 7 und 8 ebenso wie die SEQ ID Nrn. 9-11 Beispiele der Proteine sind. Die vorliegende Erfindung stellt ferner ein Verfahren bereit, Angiogenese oder Apoptose in einem Patienten, der einer solchen Behandlung bedarf, zu regulieren durch Verabreichung an einen Patienten einer therapeutisch wirksamen Menge eines Proteins, das durch die SEQ ID Nrn. 2-6 kodiert wird, oder durch die Proteinsequenzen, wie sie in den SEQ ID Nrn. 7-8, 10-11 dargelegt sind, als aktive Bestandteile in einem pharmazeutisch annehmbaren Träger.

**[0022]** Die Proteine können rekombinant erzeugt werden (siehe allgemein Marshak et al., 1996 "Strategies for Protein Purification and Characterization. A laboratory course manual." CSHL Press) und Analoga können wegen des posttranslationalen Bearbeitens vorhanden sein. Der Begriff Analog, wie er hierin verwendet wird, wird als eine Nucleinsäuresequenz oder als ein Protein definiert, das gewisse Unterschiede in ihren Aminosäure-/Nucleotidsequenzen hat im Vergleich mit der natürlichen Sequenz der SEQ ID Nrn. 1-8. Gewöhnlicherweise wird das Analog allgemein zu wenigstens 70% homolog zu jenem Teil sein, der funktionell relevant ist. In bevorzugteren Ausführungsbeispielen wird die Homologie wenigstens 80% betragen und kann sich 95% Homologie mit der Protein-/Nucleotidsequenz nähern. Die Aminosäure- oder Nucleotidsequenz eines Analogons kann von jener der Primärsequenz differieren, wenn wenigstens ein Rest deletiert, inseriert oder substituiert wird; das Protein- oder Nucleinsäuremolekül bleibt aber funktionell. Unterschiede in der Glykosylierung können Proteinanaloga bereitstellen.

**[0023]** Funktionell relevant bezieht sich auf die biologische Eigenschaft des Moleküls und bedeutet in diesem Zusammenhang einen In-vivo-Effektor oder eine antigenische Funktion oder Aktivität, die direkt oder indirekt durch ein natürlich vorkommendes Protein oder Nucleinsäuremolekül durchgeführt wird. Effektorfunktionen

schließen ein, sind jedoch nicht beschränkt darauf, dass sie Rezeptorbindung, jegliche enzymatische Aktivität oder enzymmodulierende Aktivität, jegliche Trägerbindungsaktivität, jegliche Hormonaktivität, jede Aktivität bei der Förderung oder Inhibition von Adhäsion von Zellen auf extrazellulärer Matrix oder auf Zelloberflächenmolekülen einschließen, oder auf irgendeine strukturelle Rolle beschränkt sind, ebenso wie, dass sie die Nucleinsäuresequenz aufweisen, welche ein funktionelles Protein kodiert und exprimierbar ist. Die Antigenfunktionen bedeuten im Wesentlichen das Besitzen eines Epitops oder einer Antigenstelle, die in der Lage ist, mit Antikörpern, die gegen ein natürlich vorkommendes Protein hervorgerufen wurden, kreuz zu reagieren. Biologisch aktive Analoga teilen eine Effektorfunktion des nativen Proteins, welches zusätzlich eine Antigenfunktion aufweisen kann, dies jedoch nicht muss.

**[0024]** Die vorliegende Erfindung stellt weiter Antikörper bereit, die gegen die Proteine gerichtet sind, wie sie durch die Nucleinsäuresequenzen kodiert werden, wie dargelegt in SEQ ID Nr. 1, SEQ ID Nr. 2, SEQ ID Nr. 3, SEQ ID Nr. 4, SEQ ID Nr. 5 und SEQ ID Nr. 6, welche in Immuntests und Ähnlichen verwendet werden können.

**[0025]** Die Antikörper können entweder monoklonal, polyklonal oder rekombinant sein. Gewöhnlich können die Antikörper gegen das Immunogen oder einen Teil davon, z. B. ein auf der Sequenz basierendes synthetisches Peptid, zubereitet werden oder können rekombinant zubereitet werden durch Klonierungstechniken oder das natürliche Genprodukt und/oder Teile davon können isoliert und als das Immunogen verwendet werden. Immunogene können verwendet werden, um Antikörper durch Standard-Antikörperproduktionstechniken herzustellen, die Fachleuten wohl bekannt sind, wie beschrieben allgemein in Harlow und Lane, *Antibodies: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, NY, 1988, und Borrebaeck, *Antibody Engineering – A Practical Guide*, W. H. Freeman and Co., 1992. Antikörperfragmente können ebenfalls aus den Antikörpern durch Fachleuten bekannten Verfahren zubereitet werden und schließen Fab, F(ab')<sub>2</sub> und Fv ein.

**[0026]** Um polyklonale Antikörper zu produzieren, wird ein Wirt, wie ein Kaninchen oder eine Ziege, mit dem Immunogen oder Immunogenfragment immunisiert, im Allgemeinen mit einem Adjuvans, und, falls notwendig, an einen Träger gekoppelt; Antikörper gegen das Immunogen werden aus den Seren gesammelt. Ferner kann der polyklonale Antikörper so absorbiert sein, dass er monospezifisch ist. Das heißt, die Seren können gegen verwandte Immunogene absorbiert werden, so dass keine kreuzreaktiven Antikörper in den Seren verbleiben, was sie monospezifisch macht.

**[0027]** Um monoklonale Antikörper zu produzieren, schließt die Technik Hyperimmunisierung eines geeigneten Donors, im Allgemeinen eine Maus, mit dem Immunogen und Isolierung der die Antikörper produzierenden Milzzellen ein. Diese Zellen werden mit einer Zelle verschmolzen, die Immortalität hat, wie eine Myelomzelle, um ein fusioniertes Zellhybrid bereitzustellen, das Unsterblichkeit hat und das den erforderlichen Antikörper sezerniert. Die Zellen werden dann in der Masse kultiviert und die monoklonalen Antikörper werden aus den Kulturmedien für die Verwendung geerntet.

**[0028]** Um einen rekombinanten Antikörper zu erzeugen (siehe allgemein Huston et al., 1991; Johnson und Bird, 1991; Mernaugh und Mernaugh, 1995), werden Boten-RNS aus Antikörper erzeugenden B-Lymphozyten von Tieren oder aus Hybridzellen revers transkribiert, um komplementäre DNS (cDNS) zu gewinnen. Antikörper-cDNS, die die volle oder nur eine Teillänge haben kann, wird amplifiziert und in einen Phagen oder ein Plasmid kloniert. Die cDNS kann von einer teilweisen Länge der schweren und leichten Ketten-cDNS sein, getrennt oder verbunden durch einen Linker. Der Antikörper oder das Antikörperfragment wird unter Verwendung eines geeigneten Expressionssystems exprimiert, um einen rekombinanten Antikörper zu gewinnen. Antikörper-cDNS kann ebenfalls durch Screening von einschlägigen Expressionsbibliotheken gewonnen werden.

**[0029]** Der Antikörper kann an ein festes Trägersubstrat gebunden werden oder kann mit einer detektierbaren Einheit konjugiert werden oder kann sowohl gebunden als auch konjugiert werden, wie es im Stand der Technik wohl bekannt ist (für eine allgemeine Diskussion der Konjugation fluoreszierender oder enzymatischer Einheiten siehe Johnstone & Thorpe, *Immunochemistry in Practice*, Blackwell Scientific Publications, Oxford, 1982). Das Binden von Antikörpern an ein festes Trägersubstrat ist ebenfalls im Stand der Technik wohl bekannt. (Siehe für eine allgemeine Diskussion Harlow & Lane *Antibodies: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory Publications, New York, 1988, und Bonebaeck, *Antibody Engineering – A Practical Guide*, W. H. Freeman and Co., 1992.) Die mit der vorliegenden Erfindung gedachten detektierbaren Einheiten können einschließen, sind jedoch nicht beschränkt auf fluoreszierende, metallische, enzymatische und radioaktive Marker, wie Biotin, Gold, Ferritin, alkalische Phosphatase,  $\beta$ -Galactosidase, Peroxidase, Urease, Fluorescein, Rhodamin, Tritium, <sup>14</sup>C und Iodierung.

**[0030]** Die vorliegende Erfindung stellt weiter transgene Tiere und Zelllinien bereit, die wenigstens eine expri-

mierbare Nucleinsäuresequenz tragen, wie dargelegt in SEQ ID Nr. 1, SEQ ID Nr. 2, SEQ ID Nr. 3, SEQ ID Nr. 4, SEQ ID Nr. 5 und SEQ ID Nr. 6. Mit exprimierbar ist der Einschluss sämtlicher regulatorischer Elemente in der Sequenz gemeint, die notwendig sind für die Expression des Gens, oder indem das Gen in dem Zielgenom so platziert wird, dass es exprimiert wird. Die vorliegende Erfindung stellt weiter eukaryotische Knockout-Organismen bereit, in welchen wenigstens eine der in SEQ ID Nr. 1, SEQ ID Nr. 2, SEQ ID Nr. 3, SEQ ID Nr. 4, SEQ ID Nr. 5 und SEQ ID Nr. 6 dargelegten Nucleinsäuresequenzen ausgeknockt worden ist.

**[0031]** Diese transgenen und Knockout-Tiere werden unter Verwendung von im Stand der Technik bekannten Standardverfahren konstruiert und wie dargelegt in den US-Patenten 5,487,992, 5,464,764, 5,387,742, 5,360,735, 5,347,075, 5,298,422, 5,288,846, 5,221,778, 5,175,385, 5,175,384, 5,175,383, 4,736,866, ebenso wie von Burke und Olson (1991), Capecchi (1989), Davies et al., (1992), Dickinson et al., (1993), Duff und Lincoln (1995), Huxley et al., (1991), Jakobovits et al., (1993), Lamb et al., (1993), Pearson und Choi (1993), Rothstein (1991), Schedl et al., (1993), Strauss et al., (1993). Weiterhin stellen die Patentanmeldungen WO 94/23049, WO 93/14200, WO 94/06908, WO 94/28123 ebenfalls Information bereit. Es kann genauer jede im Stand der Technik bekannte Technik verwendet werden, um das Transgen exprimierbar in Tiere einzuführen, um die elterliche Tierlinie zu produzieren. Solche Techniken schließen ein, sind jedoch nicht beschränkt auf pronucleäre Mikroinjektion (US-Patent 4,873,191); retrovirusvermittelter Gentransfer in Keimlinien (Van der Putten et al., 1985); Gentergeting in embryonalen Stammzellen (Thompson et al., 1989; Mansour, 1990, und US-Patent 5,614,396); Elektroporation von Embryonen (Lo, 1983); und spermavermittelter Gentransfer (Lavi-trano et al., 1989). Für einen Überblick solcher Techniken siehe Gordon (1989).

**[0032]** Weiterhin kann ein elterlicher Stamm, statt dass er ein direktes menschliches Transgen trägt, das homologe, durch Gentergeting modifiziert endogene Gen haben, so dass es sich dem Transgen annähert. Das bedeutet, dass das endogene Gen "humanisiert" und/oder mutiert worden ist (Reaume et al., 1996). Es sollte festgestellt werden, dass, falls die tierischen und menschlichen Sequenzen im Wesentlichen homolog sind, ein "humanisiertes" Gen nicht erforderlich ist. Das transgene Elterntier kann ebenfalls eine überexprimierte Sequenz tragen, entweder die nicht-mutierte oder eine mutierte Sequenz und humanisiert oder nicht, wie erforderlich. Der Begriff Transgen wird deshalb verwendet, um sich auf sämtliche dieser Möglichkeiten zu beziehen.

**[0033]** Zusätzlich können Zellen aus dem Abkömmling isoliert werden, welcher ein Transgen von jedem transgenen Elternteil trägt, und die verwendet werden, um primäre Zellkulturen oder Zelllinien zu etablieren, wie es im Stand der Technik bekannt ist.

**[0034]** Wo geeignet, wird ein Elternstamm homozygot für das Transgen sein. Zusätzlich wird das endogene Nicht-Transgen in dem Genom, das homolog ist mit dem Transgen, nicht expressiv sein. Mit nicht expressiv ist gemeint, dass das endogene Gen nicht exprimiert werden wird und dass diese Nicht-Expression auf die Nachkommen vererbbar ist. Zum Beispiel könnte das endogene homologe Gen durch im Stand der Technik bekannte Verfahren "ausgeknockt" werden. Alternativ könnte der elterliche Stamm, der eines der Transgene empfängt, eine Mutation an dem endogenen homologen Gen tragen, was es nicht-exprimiert macht.

**[0035]** Die vorliegende Erfindung stellt ein Verfahren zur Regulierung von Angiogenese in einem Patienten bereit, der einer solchen Behandlung bedarf, indem einem Patienten eine therapeutisch wirksame Menge eines Antagonisten von wenigstens einem Protein verabreicht wird, wie es durch die Nucleinsäuresequenzen, wie dargelegt in SEQ ID Nr. 1, SEQ ID Nr. 2, SEQ ID Nr. 3, SEQ ID Nr. 4, SEQ ID Nr. 5 und SEQ ID Nr. 6, kodiert wird. Der Antagonist wird dosiert und in einem pharmazeutisch annehmbaren Träger verabreicht, wie hierin unten beschrieben. Der Begriff Antagonist oder Antagonisieren wird in seiner breitesten Bedeutung verwendet. Antagonismus kann jeden Mechanismus oder jede Behandlung einschließen, welche in Inhibition, Inaktivierung, Hemmung oder Reduktion der Genaktivität oder des Genproduktes resultiert. Es sollte festgestellt werden, dass die Inhibition eines Gens oder eines Genproduktes für einen Anstieg in einer korrespondierenden Funktion sorgen kann, welche das Gen oder das Genprodukt reguliert hat. Der antagonisierende Schritt kann das Blockieren zellulärer Rezeptoren für die Genprodukte der SEQ ID Nrn. 1-6 einschließen und kann die Gegensinn-Behandlung einschließen, wie sie hierin unten diskutiert wird.

**[0036]** Die vorliegende Erfindung stellt weiter ein Verfahren zur Regulierung von Angiogenese oder Apoptose in einem Patienten, der einer solchen Behandlung bedarf, durch Verabreichen einer therapeutisch wirksamen Menge eines regulierenden Agens in einem pharmazeutisch annehmbaren Träger an einen Patienten bereit, wobei das Protein ausgewählt wird aus der Gruppe, bestehend aus SEQ ID Nrn. 7-11. Das regulierende Agens wird dosiert und in einem pharmazeutisch annehmbaren Träger zugeführt, wie hierin unten beschrieben. Zum Beispiel kann ein Patient Bedarf daran haben, Apoptose in tumorigenen Zellen zu induzieren oder Angiogenese in Traumasituationen, wo z. B. eine Gliedmaße wieder befestigt werden muss, oder in einem Transplantat,

wo Revaskularisierung erforderlich ist.

**[0037]** Die vorliegende Erfindung stellt ein Verfahren zur Regulierung von Angiogenese oder Apoptose in einem Patienten, der einer solchen Behandlung bedarf, bereit, durch Verabreichen einer therapeutisch wirksamen Menge an einem Patienten von wenigstens einem Gegensinn-Oligonucleotid oder einem dominant negativen Peptid (entweder als cDNS oder als Peptid; Herskowitz, 1987), das gegen die Nucleinsäuresequenzen, wie dargelegt in den SEQ ID Nr. 1, SEQ ID Nr. 2, SEQ ID Nr. 3, SEQ ID Nr. 4, SEQ ID Nr. 5 und SEQ ID Nr. 6, gerichtet ist. Die vorliegende Erfindung stellt ebenfalls ein Verfahren bereit, die Antwort auf hypoxische Zustände in einem Patienten zu regulieren, der einer solchen Behandlung bedarf, durch Verabreichen einer therapeutisch wirksamen Menge eines Gegensinn-Oligonucleotids an einen Patienten, das gegen wenigstens eine der in der Gruppe dargelegten Sequenzen gerichtet ist, die die SEQ ID Nr. 1, SEQ ID Nr. 2, SEQ ID Nr. 3, SEQ ID Nr. 4, SEQ ID Nr. 5 und SEQ ID Nr. 6 umfasst. Das Gegensinn-Oligonucleotid als der aktive Bestandteil in einer pharmazeutischen Zubereitung wird dosiert und in einem pharmazeutisch annehmbaren Träger zugeführt, wie hierin unten diskutiert.

**[0038]** Viele Übersichtsartikel deckten die Hauptaspekte der Gegensinn-(AS-(antisense)) Technologie und ihres enormen therapeutischen Potenzials ab (Wright und Anazodo, 1995). Es gibt Übersichtsartikel über die chemischen (Crooke, 1995; Uhlmann et al., 1990), zellulären (Wagner, 1994) und therapeutischen (Hanania et al., 1995; Scanlon et al., 1995; Gewirtz, 1993) Aspekte dieser sich schnell entwickelnden Technologie. Innerhalb einer relativ kurzen Zeit wurde umfassende Information über die In-vitro-Verwendung von AS-Nucleotidsequenzen in kultivierten primären Zellen und Zelllinien, ebenso wie für die In-vivo-Applikation solcher Nucleotidsequenzen für die Unterdrückung spezifischer Vorgänge und für die Änderung von Körperfunktionen in einer vorübergehenden Weise akkumuliert. Weiterhin ist ausreichend Erfahrung nun in vitro und in vivo in Tiermodellen und menschlichen und klinischen Versuchen zugänglich, um die menschliche Wirksamkeit vorherzusagen.

**[0039]** Die Gegensinnintervention bei der Expression spezifischer Gene kann durch die Verwendung von synthetischen AS-Oligonucleotidsequenzen erreicht werden (für jüngere Berichte siehe Lefebvre/Hellencourt et al., 1995; Agrawal, 1996; Lev-Lehman et al., 1997). AS-Oligonucleotidsequenzen können kurze DNS-Sequenzen sein, typischerweise 15-30 mer, sie können jedoch ebenfalls so klein sein wie 7 mer sein (Wagner et al., 1996), gestaltet, um Ziel-mRNS von Interesse zu komplementieren und eine RNS:AS-Duplex zu bilden. Diese Duplexbildung kann das Verarbeiten, Splicen, den Transport oder die Translation der relevanten mRNS verhindern. Ferner können gewisse AS-Nucleotidsequenzen zelluläre RNase-H-Aktivität auslösen, wenn sie mit ihrer Ziel-mRNS hybridisiert werden, was in mRNS-Abbau resultiert (Calabretta et al., 1996). In jenem Fall wird RNase H den RNS-Bestandteil der Duplex abspalten und kann möglicherweise die AS freisetzen, um weiter mit zusätzlichen Molekülen der Ziel-RNS zu hybridisieren. Eine zusätzliche Wirkweise resultiert aus der Wechselwirkung von AS mit genomischer DNS, um eine Tripel-Helix zu bilden, welche transkriptionell inaktiv sein kann.

**[0040]** Das Sequenz-Zielsegment für das Gegensinn-Oligonucleotid wird so ausgewählt, dass die Sequenz geeignete energieverwandte Eigenschaften zeigt, die wichtig sind für die Oligonucleotidduplexbildung mit ihren komplementären Matrizen, und dass sie ein geringes Potenzial für Selbstdimerisierung oder Selbstkomplementierung zeigt (Anazodo et al., 1996). Zum Beispiel kann das Computerprogramm OLIGO (Primer Analysis Software, Version 3.4) verwendet werden, um Gegensinnsequenz-Schmelztemperatur, die Eigenschaften freier Energie zu bestimmen und um das Potenzial der Eigendimerbildung und eigenkomplementärer Eigenschaften zu beurteilen. Das Programm erlaubt die Bestimmung einer qualitativen Abschätzung dieser beiden Parameter (die mögliche Selbstdimerbildung und selbstkomplementär) und stellt eine Anzeige von "kein Potenzial" oder "gewisses Potenzial" oder "im Wesentlichen vollständiges Potenzial" bereit. Unter Verwendung dieses Programmes werden allgemein solche Zielsegmente ausgewählt, die Abschätzungen dahingehend haben, dass sie kein Potenzial in diesen Parametern haben. Es können jedoch Segmente verwendet werden, die "ein gewisses Potenzial" in einer der Kategorien haben. Eine Balance der Parameter wird verwendet bei der Auswahl, wie es im Stand der Technik bekannt ist. Ferner werden die Oligonucleotide ebenfalls, wie erforderlich, selektiert, so dass Analogsubstitution die Funktion nicht wesentlich beeinträchtigt.

**[0041]** Phosphorthioat-Gegensinn-Oligonucleotide zeigen normalerweise keine signifikante Toxizität bei Konzentrationen, die wirksam sind, und zeigen ausreichende pharmakodynamische Halbwertszeiten in Tieren (Agarwal et al., 1996) und sind nucleaseresistent. Es wurden gegensinn-induzierte Loss-Of-Function-Phänotypen (Phänotypen, bei denen eine Funktion verloren ging), die mit der zellulären Entwicklung in Beziehung stehen, für das saure Glia-Faser-Protein (GFAP), für die Etablierung der Tektumplattenbildung in Hühnchen (Galileo et al., 1991) und für das N-myc-Protein, das verantwortlich ist für die Aufrechterhaltung von zellulärer

Heterogenität in neuroektodermalen Kulturen (Epithelzellen gegen Neuroblastenzellen, welche sich in ihren Koloniebildungseigenschaften, Tumorigenität und Anhaftung unterscheiden) (Rosolen et al., 1980; Whitesell et al., 1991) gezeigt. Gegensinn-Oligonucleotidinhibition des basischen Fibroblastenwachstumsfaktors (bFGF), der mitogene und angiogene Eigenschaften hat, unterdrückte 80% des Wachstums in Gliomzellen (Morrison, 1991) in einer gesättigten und spezifischen Weise. Da sie hydrophob sind, treten Gegensinn-Oligonucleotide gut mit Phospholipidmembranen in Wechselwirkung (Akhter et al., 1991). Nach jeder Wechselwirkung mit der zellulären Plasmamembran werden sie aktiv (oder passiv) in lebende Zellen transportiert (Loke et al., 1989), in einem gesättigten Mechanismus, von dem vorhergesagt wird, dass er spezifische Rezeptoren involviert (Yakubov et al., 1989).

**[0042]** Anstelle einer Gegensinnsequenz, wie sie hierin oben diskutiert wird, können Ribozyme genutzt werden. Dies ist besonders notwendig in Fällen, wo Gegensinntherapie durch stöchiometrische Überlegungen begrenzt wird (Sarver et al., 1990, Gene Regulation and Aids, S. 305-325). Es können dann Ribozyme verwendet werden, welche dieselbe Sequenz zum Ziel nehmen. Ribozyme sind RNS-Moleküle, die eine katalytische RNS-Fähigkeit besitzen (siehe für einen Überblick Cech), welche eine spezifische Stelle in einer Ziel-RNS spalten. Die Anzahl an RNS-Molekülen, die von einem Ribozym gespalten werden, ist größer als jene Zahl, die durch die Stöchiometrie vorhergesagt wird (Hampel and Tritz, 1989; Uhlenbeck, 1987).

**[0043]** Ribozyme katalysieren die Phosphodiesterbindungsspaltung von RNS. Es wurden etliche strukturelle Ribozymfamilien identifiziert, einschließlich Gruppe-I-Introns, RNase P, das Ribozym des Hepatitis-Delta-Virus, Hammerkopf- (Hammerhead-) Ribozyme und Haarnadelschleifen-(Hairpin-) Ribozym, das ursprünglich aus dem negativen Strang der Satelliten-RNS des Tabakringfleckenvirus (sTRSV) abgeleitet worden ist (Sullivan, 1994; US-Patent Nr. 5,225,347, Spalten 4-5). Die letzten beiden Familien werden aus Viroiden und Virusoiden abgeleitet, bei welchen von dem Ribozym angenommen wird, dass es Monomere von Oligomeren trennt, die während der Rolling-Circle-Replikation geschaffen werden (Symons, 1989 und 1992). Hammerkopf- und Haarnadelschleifen-Ribozymotive sind am gewöhnlichsten für die Trans-Spaltung von mRNS für die Gentherapie angepasst (Sullivan, 1994). Der in der vorliegenden Verwendung genutzte Ribozymtyp wird ausgewählt, wie es im Stand der Technik bekannt. Haarnadelschleifen-Ribozyme befinden sich nun im klinischen Versuch und sind der bevorzugte Typ. Im Allgemeinen ist das Ribozym 30-100 Nucleotide lang.

**[0044]** Modifikationen oder Analoga von Nucleotiden können eingeführt werden, um die therapeutischen Eigenschaften der Nucleotide zu verbessern. Verbesserte Eigenschaften schließen eine erhöhte Nucleaseresistenz und/oder erhöhte Fähigkeit ein, Zellmembranen zu durchdringen.

**[0045]** Nucleaseresistenz, wo erforderlich, wird durch jedes im Stand der Technik bekannte Verfahren bereitgestellt, das nicht mit der biologischen Aktivität der Gegensinn-Oligodesoxynucleotide, cDNS und/oder den Ribozymen in Wechselwirkung tritt, wie für das Verfahren der Verwendung und Zufuhr erforderlich (Iyer et al., 1990; Eckstein, 1985; Spitzer und Eckstein, 1988; Woolf et al., 1990; Shaw et al., 1991). Modifikationen, die an Oligonucleotiden gemacht werden können, um die Nucleaseresistenz zu erhöhen, schließen das Modifizieren des Phosphor- oder Sauerstoffheteroatoms in dem Phosphatrückgrat ein. Diese schließen das Zubereiten von Methylphosphonaten, Phosphorthioaten, Phosphordithioaten und Morpholinoligomeren ein. In einem Ausführungsbeispiel wird dafür gesorgt, indem Phosphorthioatbindungen vorgesehen sind, die die 4-6 Nucleotidbasen des 3'-Endes verknüpfen. Alternativ verknüpfen Phosphorthioatbindungen sämtliche Nucleotidbasen. Andere Modifikationen, die im Stand der Technik bekannt sind, können verwendet werden, wo die biologische Aktivität bewahrt wird, die Stabilität gegen Nucleasen jedoch wesentlich erhöht wird.

**[0046]** Die vorliegende Erfindung schließt ebenfalls sämtliche Analoga oder Modifikationen eines Oligonucleotids der Erfindung ein, die nicht wesentlich die Funktion des Oligonucleotids beeinträchtigen. Die Nucleotide können aus natürlich vorkommenden oder synthetisch modifizierten Basen ausgewählt werden. Natürlich vorkommende Basen schließen Adenin, Guanin, Cytosin, Thymin und Uracil ein. Modifizierte Basen der Oligonucleotide schließen Xanthin, Hypoxanthin, 2-Aminoadenin, 6-Methyl-, 2-Propyl- und andere Alkyladenine, 5-Halouracil, 5-Halocytosin, 6-Azacytosin und 6-Azathymin, Pseudouracil, 4-Thiouracil, 8-Haloadenin, 8-Aminoadenin, 8-Thioladenin, 8-Thiolalkyladenine, 8-Hydroxyladenin und andere 8-substituierte Adenine, 8-Haloguanine, 8-Aminoguanin, 8-Thiolguanin, 8-Thioalkylguanin, 8-Hydroxylguanin und andere substituierte Guanine, andere Aza- und Desazaadenine, andere Aza- und Desazaguanine, 5-Trifluormethyluracil und 5-Trifluorcytosin ein.

**[0047]** Zusätzlich können Nucleotidanaloga zubereitet werden, worin die Struktur des Nucleotids fundamental geändert worden ist und die besser geeignet sind als therapeutische oder experimentelle Reagenzien. Ein Beispiel eines Nucleotidanalogs ist eine Peptidnucleinsäure (PNS), worin das Desoxyribose- oder (Ribose-)Phos-

phatrückgrat in der DNS (oder RNS) mit einem Polyamidrückgrat ersetzt worden ist, welches ähnlich ist mit jenem, das in Peptiden zu finden ist. Von PNS-Analoga wurde gezeigt, dass sie gegen Abbau durch Enzyme resistent sind und dass sie in vivo und in vitro verlängerte Lebenszeiten haben. Weiterhin wurde von PNS gezeigt, dass sie stärker an eine komplementäre DNS-Sequenz binden als ein DNS-Molekül. Diese Beobachtung wird dem Fehlen einer geladenen Abstoßung zwischen dem PNS-Strang und dem DNS-Strang zugeschrieben. Andere Modifikationen, die an Oligonucleotiden gemacht werden können, schließen Polymerrückgrate, cyclische Rückgrate oder acyclische Rückgrate ein.

**[0048]** Die aktiven Bestandteile der pharmazeutischen Zusammensetzung können Oligonucleotide einschließen, die nucleaseresistent sind, was für die Praxis der Erfindung benötigt wird, oder sie können ein Fragment davon einschließen, von dem gezeigt wird, dass es denselben Effekt hat, und das gegen die geeignete(n) Sequenz(en) und/oder Ribozyme gerichtet ist. Kombinationen aktiver Bestandteile, wie in der vorliegenden Erfindung offenbart, können verwendet werden, einschließlich Kombinationen von Gegensinnsequenzen.

**[0049]** Die Gegensinn-Oligonucleotide (und oder Ribozyme) und cDNS der vorliegenden Erfindung können durch jedes im Stand der Technik für Ribonuclein- oder Desoxyribonucleinnucleotide bekannte Verfahren synthetisiert werden. Zum Beispiel kann ein 380B-DNA-Synthetisiergerät von Applied Biosystems verwendet werden. Wenn Fragmente verwendet werden, können zwei oder mehr solcher Sequenzen für die Verwendung in der vorliegenden Erfindung synthetisiert und miteinander gekoppelt werden.

**[0050]** Die Nucleotidsequenzen der vorliegenden Erfindung können entweder direkt oder mit viralen oder nicht-viralen Vektoren zugeführt werden. Wenn sie direkt zugeführt werden, werden die Sequenzen im Allgemeinen nucleaseresistent gemacht. Alternativ können die Sequenzen in Expressionskassetten oder -konstrukte so eingebaut werden, dass die Sequenz in der Zelle exprimiert wird, wie hierin unten diskutiert. Allgemein enthält das Konstrukt die richtige regulatorische Sequenz oder Promotor, um der Sequenz zu ermöglichen, dass sie in der zum Ziel genommenen Zelle exprimiert wird.

**[0051]** Negativ dominantes Peptid bezieht sich auf eine Teil-cDNS-Sequenz, die einen Teil eines Proteins kodiert, das heißt ein Peptid (siehe Herskowitz, 1987). Dieses Peptid kann eine von dem Protein, von dem es abgeleitet wurde, verschiedene Funktionen haben. Es kann mit dem vollständigen Protein in Wechselwirkung treten und seine Aktivität inhibieren oder es kann mit anderen Proteinen in Wechselwirkung treten und deren Aktivität in Antwort auf das vollständige Protein inhibieren. Negativ dominant bedeutet, dass das Peptid in der Lage ist, die natürlichen Proteine zu überwinden und vollständig ihre Aktivität zu inhibieren, um der Zelle eine abweichende Eigenschaft, wie Resistenz oder Sensitivierung zum Abtöten, zu geben. Für den therapeutischen Eingriff wird entweder das Peptid selber als der aktive Bestandteil einer pharmazeutischen Zusammensetzung zugeführt oder die cDNS kann der Zelle zugeführt werden, unter Verwendung desselben Verfahrens für die Gegensinn-Zufuhr.

**[0052]** Die vorliegende Erfindung stellt ein Verfahren zum Bereitstellen eines Apoptoseregulierungsgens, Angiogeneseregulierungsgens oder eines Hypoxieregulierungsgens bereit, indem einem Patienten, der einer solchen Therapie bedarf, unter Nutzung von Gentherapie ein exprimierbarer Vektor, der Expressionskontrollsequenzen umfasst, die operabel mit einer der in der Gruppe, umfassend SEQ ID Nr. 1, SEQ ID Nr. 2, SEQ ID Nr. 3, SEQ ID Nr. 4, SEQ ID Nr. 5 und SEQ ID Nr. 6, dargelegten Sequenzen gekoppelt ist, direkt zugeführt wird.

**[0053]** Gentherapie, wie es hierin verwendet wird, bezieht sich auf den Transfer genetischen Materials (z. B. DNS oder RNS) von Interesse in einen Wirt, um eine genetische oder erworbene Krankheit oder um Zustandsphänotypen zu behandeln oder vorzubeugen. Das genetische Material von Interesse kodiert ein Produkt (z. B. ein Protein, Polypeptid, Peptid, funktionelle RNS, Gegensinn), dessen Produktion in vivo gewünscht wird. Zum Beispiel kann das genetische Material von Interesse ein Hormon, einen Rezeptor, ein Enzym, ein Polypeptid oder Peptid von therapeutischem Wert kodieren. Alternativ kodiert das genetische Material von Interesse ein Suizidgen. Für einen Überblick siehe im Allgemeinen den Text "Gene Therapy" (Advances in Pharmacology 40, Academic Press, 1997).

**[0054]** Es wurden zwei grundsätzliche Ansätze für die Gentherapie entwickelt: (1) Ex-vivo- und (2) In-vivo-Gentherapie. Bei der Ex-vivo-Gentherapie werden Zellen von einem Patienten entnommen und, während sie kultiviert werden, werden sie in vitro behandelt. Allgemein wird ein funktionelles Ersatzgen in die Zelle im Wege eines geeigneten Genzufuhrvehikels/-verfahrens (Transfektion, Transduktion, homologe Rekombination etc.) und ein Expressionssystem, wenn benötigt, eingeführt und dann werden modifizierte Zellen in Kultur expandiert und dem Wirt/Patienten wieder gegeben. Von diesen genetisch reimplantierten Zellen wurde gezeigt,

dass sie das transfizierte genetische Material in situ exprimieren.

**[0055]** Bei der In-vivo-Gentherapie werden die Zielzellen nicht aus dem Subjekt entfernt, stattdessen wird das zu übertragende genetische Material in die Zellen des Empfängerorganismus in situ eingeführt, das heißt innerhalb des Empfängers. Bei einer alternativen Ausführung, falls das Wirtsgen defekt ist, wird das Gen in situ repariert (Culver, 1998). Von diesen genetisch veränderten Zellen wurde gezeigt, dass sie das transfizierte genetische Material in situ exprimieren.

**[0056]** Das Genexpressionsvehikel ist in der Lage, die heterologe Nucleinsäure in eine Wirtszelle zu liefern/zu übertragen. Das Expressionsvehikel kann Elemente einschließen, um das Targeting, die Expression und die Transkription der Nucleinsäure auf eine zellselektive Weise, wie es im Stand der Technik bekannt ist, zu kontrollieren. Es sollte festgestellt werden, dass oftmals das 5'UTR und/oder 3'UTR des Gens durch das 5'UTR und/oder 3'UTR des Expressionsvehikels ersetzt werden kann. Deshalb kann, wie hierin verwendet das Expressionsvehikel, soweit erforderlich, nicht das 5'UTR und/oder 3'UTR des tatsächlich zu transferierenden Gens einschließen, sondern kann nur die spezifische Aminosäurekodierungsregion einschließen.

**[0057]** Das Expressionsvehikel kann einen Promotor einschließen, um die Transkription des heterologen Materials zu kontrollieren, und kann entweder ein konstitutiver oder induzierbarer Promotor sein, um eine selektive Transkription zu erlauben. Es können Enhancer, die erforderlich sein können, um notwendige Transkriptionspiegel zu erhalten, wahlweise eingeschlossen sein. Enhancer sind im Allgemeinen nicht-translatierte DNS-Sequenzen, die zusammenhängend mit der kodierenden Sequenz (in cis) arbeiten, um das durch den Promotor diktierte basale Transkriptionsmaß zu ändern. Das Expressionsvehikel kann ebenfalls ein Selektionsgen einschließen, wie hierin unten beschrieben.

**[0058]** Vektoren können in Zellen oder Gewebe durch jedes einer Vielzahl von im Stand der Technik bekannten Verfahren eingeführt werden. Solche Verfahren können allgemein beschrieben gefunden werden in Sambrook et al., *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, Cold Springs Harbor Laboratory, New York (1989, 1992), in Ausubel et al., *Current Protocols in Molecular Biology*, John Wiley and Sons, Baltimore, Maryland (1989), Chang et al., *Somatic Gene Therapy*, CRC Press, Ann Arbor, MI (1995), Vega et al., *Gene Targeting*, CRC Press, Ann Arbor, MI (1995), *Vectors: A Survey of Molecular Cloning Vectors and Their Uses*, Butterworths, Boston MA (1988), und Gilboa et al., (1986), und schließen z. B. die stabile oder transiente Transfektion, Lipofektion, Elektroporation und die Infektion mit rekombinanten viralen Vektoren ein. Zusätzlich, siehe US-Patent 4,866,042 für Vektoren, die das Zentralnervensystem einschließen, und ebenfalls die US-Patente 5,464,764 und 5,487,992 für Positiv-Negativ-Selektionsverfahren.

**[0059]** Das Einführen von Nucleinsäuren durch Infektion bietet etliche Vorteile gegenüber den anderen aufgelisteten Verfahren. Es kann wegen ihrer infektiösen Art eine höhere Effizienz erhalten werden. Ferner sind Viren sehr spezialisiert und infizieren typischerweise spezifische Zelltypen und pflanzen sich dort fort. Folglich kann ihre natürliche Spezifität verwendet werden, um die Vektoren auf spezifische Zelltypen in vivo oder innerhalb eines Gewebes oder einer gemischten Zellkultur zu richten. Virale Vektoren können ebenfalls mit spezifischen Rezeptoren oder Liganden modifiziert werden, um die Zielspezifität durch rezeptorvermittelte Ereignisse zu ändern.

**[0060]** Ein spezifisches Beispiel eines viralen DNS-Vektors für das Einführen und Exprimieren von rekombinanten Sequenzen ist der vom Adenovirus abgeleitete Vektor Adenop53TK. Dieser Vektor exprimiert ein Thymidinkinase-(TK-)Gen des Herpesvirus für entweder die positive oder negative Selektion und eine Expressionskassette für die gewünschten rekombinanten Sequenzen. Dieser Vektor kann verwendet werden, um Zellen zu infizieren, die einen Adenovirusrezeptor haben, was die meisten Krebse epithelialen Ursprungs ebenso wie andere einschließt. Dieser Vektor kann, ebenso wie andere, welche ähnliche gewünschte Funktionen zeigen, verwendet werden, um eine gemischte Zellpopulation zu behandeln und kann z. B. eine In-vitro- oder Ex-vivo-Kultur von Zellen, ein Gewebe oder ein menschliches Subjekt einschließen.

**[0061]** Es können zusätzliche Eigenschaften zu dem Vektor hinzugefügt werden, um seine Sicherheit sicherzustellen und/oder seine, therapeutische Wirksamkeit zu erhöhen. Solche Eigenschaften schließen z. B. Marker ein, die verwendet werden können, um negativ gegen Zellen zu selektieren, die mit dem rekombinanten Virus infiziert sind. Ein Beispiel solch eines negativen Selektionsmarkers ist das oben beschriebene TK-Gen, das Sensitivität für das Antibiotikum Gancyclovir verleiht. Negativselektion ist deshalb ein Mittel, durch welches Infektion kontrolliert werden kann, da sie induzierbaren Suizid durch die Zugabe von Antibiotikum bereitstellt. Solch ein Schutz stellt sicher, dass, falls z. B. Mutationen entstehen, die geänderte Formen des viralen Vektors oder der rekombinanten Sequenz erzeugen, eine zelluläre Transformation nicht geschehen wird.

**[0062]** Eigenschaften, die die Expression auf bestimmte Zelltypen begrenzen, können ebenfalls eingeschlossen sein. Solche Eigenschaften schließen z. B. Promotoren und regulatorische Elemente ein, die spezifisch für den gewünschten Zelltyp sind.

**[0063]** Zusätzlich sind rekombinante virale Vektoren nützlich für die In-vivo-Expression einer gewünschten Nucleinsäure, da sie Vorteile wie laterale Infektion und Targetingspezifität bieten. Laterale Infektion ist im Lebenszyklus von z. B. Retroviren innewohnend und ist der Vorgang, durch welchen eine einzelne infizierte Zelle viele Nachfahrenvirionen produziert, die sich absprossen und benachbarte Zellen infizieren. Das Ergebnis ist, dass ein großes Gebiet schnell infiziert wird, von dem das Meiste anfänglich nicht durch die ursprünglichen viralen Partikel infiziert worden war. Dies steht im Gegensatz zu dem vertikalen Infektionstyp, bei welchem das infektiöse Mittel nur durch Tochnachfahren verbreitet wird. Es können ebenfalls virale Vektoren produziert werden, die unfähig sind, sich lateral zu verbreiten. Diese Eigenschaft kann nützlich sein, falls der gewünschte Zweck das Einführen eines spezifizierten Gens in nur eine lokalisierte Anzahl von Zielzellen ist.

**[0064]** Wie oben beschrieben, sind Viren sehr spezialisierte infektiöse Mittel, die sich in vielen Fällen schon entwickelt haben, um Wirtsabwehrmechanismen zu umgehen. Typischerweise infizieren Viren spezifische Zelltypen und pflanzen sich dort fort. Die Zielspezifität viraler Vektoren nutzt ihre natürliche Spezifität auf spezifisch vorbestimmte Zielzelltypen und führt dabei ein rekombinantes Gen in die infizierte Zelle ein. Der zu verwendende Vektor in den Verfahren der Erfindung wird von dem zum Ziel zu nehmenden gewünschten Zelltyp abhängen und wird Fachleuten bekannt sein. Zum Beispiel würde, falls Brustkrebs behandelt werden soll, dann ein Vektor verwendet werden, der spezifisch für solche epitheliale Zellen ist. Ähnlich würde, falls Krankheiten oder pathologische Zustände des hämatopoetischen Systems zu behandeln sind, dann ein viraler Vektor verwendet werden, der spezifisch für Blutzellen und ihre Vorläuferzellen, bevorzugt für den spezifischen Typ an hämatopoetischer Zelle ist.

**[0065]** Es können retrovirale Vektoren konstruiert werden, um entweder als infektiöse Partikel zu funktionieren oder um nur eine einzige Anfangsrunde der Infektion durchzumachen. In dem ersteren Fall wird das Genom des Virus so modifiziert, dass es sämtliche der notwendigen Gene, regulatorischen Sequenzen und Verpackungssignale bewahrt, um neues virales Protein und RNS zu synthetisieren. Wenn diese Moleküle erst einmal synthetisiert sind, dann verpackt die Wirtszelle die RNS in neue virale Partikel, die in der Lage sind, weitere Infektionsrunden durchzumachen. Das Vektorgenom wird ebenfalls bearbeitet, um das gewünschte rekombinante Gen zu kodieren und zu exprimieren. In dem Fall der nicht-infektiösen viralen Vektoren wird das Vektorgenom gewöhnlich mutiert, um das virale Verpackungssignal zu zerstören, das erforderlich ist, die RNS in Viruspartikel zu verkapseln. Ohne solch ein Signal werden alle Partikel, die gebildet werden, ein Genom nicht enthalten und können deshalb nicht durch nachfolgende Infektionsrunden fortschreiten. Der spezifische Vektortyp wird von der intendierten Anwendung abhängen. Die tatsächlichen Vektoren sind ebenfalls bekannt und leicht in der Technik zugänglich oder können durch Fachleute unter Verwendung von wohl bekannter Methodik konstruiert werden.

**[0066]** Der rekombinante Vektor kann auf etlichen Wegen verabreicht werden. Falls z. B. virale Vektoren verwendet werden, kann das Vorgehen einen Vorteil aus ihrer Zielspezifität ziehen und sie müssen folglich nicht lokal an der erkrankten Stelle verabreicht werden. Die lokale Verabreichung kann jedoch eine schnellere und wirksamere Behandlung sicherstellen, wobei die Verabreichung ebenfalls z. B. durch intravenöse oder subkutane Injektion in das Subjekt durchgeführt werden kann. Die Injektion von viralen Vektoren in eine Spinalflüssigkeit kann ebenfalls als eine Applikationsweise verwendet werden, insbesondere in dem Falle neurodegenerativer Erkrankungen. Nach der Injektion werden die viralen Vektoren so lange zirkulieren, bis sie Wirtszellen mit der passenden Zielspezifität für die Infektion erkennen.

**[0067]** Ein alternativer Applikationsmodus kann durch die direkte Inokulation lokal an der Stelle der Erkrankung oder dem pathologischen Zustand oder durch Inokulation in das Gefäßsystem, welche die Stelle mit Nährstoffen versorgt, oder in die Spinalflüssigkeit sein. Die lokale Verabreichung ist vorteilhaft, da es keinen Verdünnungseffekt gibt und deshalb eine kleinere Dosis erforderlich ist, um die Expression in einer Mehrheit der zum Ziel genommenen Zellen zu erreichen. Zusätzlich kann die lokale Inokulation die Zielerfordernisse erleichtern, die mit anderen Applikationsformen erforderlich ist, da ein Vektor verwendet werden kann, der sämtliche Zellen in dem inokulierten Gebiet infiziert. Falls die Expression nur in einer spezifischen Untergruppe von Zellen in dem geimpften Gebiet gewünscht wird, dann können Promotoren und regulatorische Elemente, die spezifisch für die gewünschte Untergruppe sind, verwendet werden, um dieses Ziel zu bewerkstelligen. Solche Nicht-Ziel-Vektoren können z. B. virale Vektoren, virale Genome, Plasmide, Phagemide und Ähnliche sein. Transfektionsvehikel, wie Liposomen, können ebenfalls verwendet werden, um die oben beschriebenen nicht-viralen Vektoren in Empfängerzellen innerhalb des geimpften Gebiets einzuführen. Solche Transfektions-

vehikel sind Fachleuten bekannt.

**[0068]** Die pharmazeutischen Zusammensetzungen, die die aktiven Bestandteile der vorliegenden Erfindung enthalten, wie hierin oben beschrieben, werden verabreicht und dosiert in Übereinstimmung mit guter medizinischer Praxis, was den klinischen Zustand des einzelnen Patienten, den Ort und das Verfahren der Applikation, den Verabreichungsplan, das Alter des Patienten, dessen Geschlecht, Körpergewicht und andere dem medizinischen Praktiker bekannte Faktoren berücksichtigt. Die pharmazeutisch "wirksame Menge" für Zwecke hierin ist folglich durch solche Überlegungen bestimmt, wie sie in der Medizin bekannt sind. Diese Menge muss wirksam sein, um eine Verbesserung zu erzielen, einschließlich, jedoch nicht beschränkt auf eine verbesserte Überlebensrate oder eine schnellere Genesung oder eine Verbesserung oder eine Elimination von Symptomen und anderen Indikatoren, wie sie durch geeignete Maßnahmen von Fachleuten in der Medizin ausgewählt sind. Die pharmazeutischen Zusammensetzungen können Kombinationen der aktiven Bestandteile sein, werden jedoch wenigstens einen aktiven Bestandteil einschließen.

**[0069]** In dem Verfahren der vorliegenden Erfindung können die pharmazeutischen Zusammensetzungen der vorliegenden Erfindung auf verschiedenen Wegen verabreicht werden, unter Berücksichtigung der Art der Verbindungen in den pharmazeutischen Zusammensetzungen. Es sollte bemerkt werden, dass sie als die Verbindung oder als ein pharmazeutisch annehmbares Salz verabreicht werden können und dass sie alleine oder als ein aktiver Bestandteil in Kombination mit pharmazeutisch annehmbaren Trägern, Verdünnungsmitteln, Hilfsstoffen und Vehikeln verabreicht werden können. Die Verbindungen können oral, subkutan oder parenteral, einschließlich intravenös, intraarterial, intramuskulär, intraperitoneal und durch die intranasale Applikation verabreicht werden, ebenso wie intrathekal und durch Infusionstechniken. Implantate der Verbindungen sind ebenfalls nützlich. Der Patient, der behandelt wird, ist ein warmblütiges Tier und insbesondere ein Säuger, einschließlich des Menschen. Die pharmazeutisch annehmbaren Träger, Verdünnungsmittel, Hilfsstoffe und Vehikel, ebenso Implantatträger, beziehen sich im Allgemeinen auf inerte, nicht-toxische feste oder flüssige Füllstoffe, Verdünnungsmittel oder Verkapselungsmaterial, das nicht mit den aktiven Bestandteilen der Erfindung reagiert.

**[0070]** Es wird bemerkt, dass Menschen im Allgemeinen länger behandelt werden als die Maus oder andere Versuchstiere, die hierin als Beispiel ausgeführt sind, deren Behandlung eine Dauer hat, die proportional zu der Dauer des Erkrankungsfortschreitens und der Arzneimittelwirksamkeit ist. Die Dosen können Einzeldosen oder mehrfache Dosen über einen Zeitraum von etlichen Tagen sein, es sind jedoch Einzeldosen bevorzugt.

**[0071]** Die Dosen können einzelne Dosen oder mehrfache Dosen über einen Zeitraum von etlichen Tagen sein. Die Behandlung hat im Allgemeinen eine Länge, die proportional zu der Länge des Krankheitsfortschreitens und der Arzneimittelwirksamkeit und den behandelten Patienten ist.

**[0072]** Wenn die Verbindung der vorliegenden Erfindung parenteral verabreicht wird, wird sie im Allgemeinen in einer injizierbaren Dosiseinheitsform (Lösung, Suspension, Emulsion) formuliert werden. Die für die Injektion geeigneten pharmazeutischen Formulierungen schließen sterile wässrige Lösungen oder Dispersionen und sterile Puder für die Rekonstitution in sterilen injizierbaren Lösungen oder Dispersionen ein. Der Träger kann ein Lösungsmittel oder ein Dispersionsmedium sein, enthaltend z. B. Wasser, Ethanol, Polyol (z. B. Glycerol, -Propylenglykol, flüssiges Polyethylenglykol und Ähnliches), geeignete Mischungen davon und pflanzliche Öle.

**[0073]** Die richtige Fluidität kann z. B. aufrecht erhalten werden durch die Verwendung eines Überzugs wie Lecithin, durch die Erhaltung der erforderlichen Partikelgröße in dem Fall einer Dispersion und durch die Verwendung von oberflächenaktiven Mitteln. Nicht-wässrige Vehikel wie Baumwollsaamenöl, Sesamöl, Olivenöl, Sojaöl, Maiskeimöl, Sonnenblumenöl oder Erdnussöl und Ester, wie Isopropylmyristat, können ebenfalls als Lösungsmittelsysteme für Verbindungszusammensetzungen verwendet werden. Zusätzlich können zahlreiche Additive, welche die Stabilität, Sterilität und Isotonie der Zusammensetzungen verbessern, einschließlich antimikrobiellen Konservierungsmitteln, Antioxidantien, Komplexbildnern und Puffer hinzugefügt werden. Die Verhinderung der Tätigkeit von Mikroorganismen kann durch etliche antibakterielle und Antipilzmittel sichergestellt werden, z. B. durch Parabene, Chlorbutanol, Phenol, Sorbinsäure und Ähnliches. In vielen Fällen wird es wünschenswert sein, isotonische Mittel einzuschließen, z. B. Zucker, Natriumchlorid und Ähnliche. Die verlängerte Absorption der injizierbaren pharmazeutischen Form kann durch die Verwendung von Mitteln zustande gebracht werden, welche die Absorption verzögern, z. B. Aluminiummonostearat und Gelatine. Gemäß der vorliegenden Erfindung würde jedoch jedes verwendete Vehikel, Verdünnungsmittel oder Additiv mit den Verbindungen kompatibel sein müssen.

**[0074]** Sterile injizierbare Lösungen können zubereitet werden durch Einschließen der bei der Praxis der vor-

liegenden Erfindung genutzten Verbindungen in der erforderlichen Menge des geeigneten Lösungsmittels mit zahlreichen anderen Bestandteilen, falls gewünscht.

**[0075]** Eine pharmakologische Formulierung der vorliegenden Erfindung kann dem Patienten in einer injizierbaren Formulierung verabreicht werden, die jeden kompatiblen Träger, wie etliche Vehikel, Hilfsstoffe, Additive und Verdünnungsmittel enthält; oder die in der vorliegenden Erfindung genutzten Verbindungen können parenteral dem Patienten in der Form von subkutanen Implantaten mit verzögerter Freisetzung oder in der Form von Zielzufuhrsystemen, wie monoklonale Antikörper, durch Vektor unterstützte Zufuhr, iontophoretisch, Polymermatrizen, Liposomen und Mikrokugeln zugeführt werden. Beispiele an in der vorliegenden Erfindung nützlichen Zufuhrsystemen schließen ein: 5,225,182; 5,169,383; 5,167,616; 4,959,217; 4,925,678; 4,487,603; 4,486,194; 4,447,233; 4,447,224; 4,439,196 und 4,475,196. Viele andere solcher Implantate, Zufuhrsysteme und Module sind Fachleuten wohl bekannt.

**[0076]** Eine pharmakologische Formulierung der Verbindung, die in der vorliegenden Erfindung genutzt wird, kann dem Patienten oral verabreicht werden. Gewöhnliche Verfahren wie Verabreichung der Verbindungen in Tabletten, Suspension, Lösungen, Emulsionen, Kapseln, Pudern, Sirup und Ähnliche sind nützlich. Bekannte Techniken, welche sie oral oder intravenös zuführt und die die biologische Aktivität bewahren, sind bevorzugt.

**[0077]** In einem Ausführungsbeispiel kann die Verbindung der vorliegenden Erfindung anfänglich durch intravenöse Injektion verabreicht werden, um die Blutspiegel auf einen geeigneten Spiegel zu bringen. Die Spiegel des Patienten werden dann durch eine orale Dosierungsform aufrechterhalten, obwohl andere Applikationsformen, in Abhängigkeit von dem Zustand des Patienten und wie oben angezeigt, verwendet werden können. Die zu verabreichende Menge wird für den behandelten Patienten variieren und wird von ungefähr 100 ng/kg Körpergewicht bis 100 mg/kg Körpergewicht pro Tag variieren und wird bevorzugt von 10 µg/kg bis 10 mg/kg pro Tag betragen.

**[0078]** Die vorliegende Erfindung stellt ebenfalls ein Verfahren für die Diagnose der Anwesenheit von Ischämie in einem Patienten bereit, das die Schritte des Analysierens einer Körperflüssigkeit oder Gewebeprobe von dem Patienten hinsichtlich der Anwesenheit oder eines Genproduktes von wenigstens einem exprimierten Gen (heraufreguliert), wie dargelegt in der Gruppe, umfassend SEQ ID Nr. 1, SEQ ID Nr. 2, SEQ ID Nr. 3, SEQ ID Nr. 4, SEQ ID Nr. 5 und SEQ ID Nr. 6, oder von Proteinen, wie dargelegt in SEQ ID Nrn. 7-11, einschließt, und wo Ischämie bestimmt wird, falls das heraufregulierte Gen oder Genprodukt bestätigt wird, wie hierin in dem Beispiel beschrieben. Die Körperflüssigkeiten können Tränenflüssigkeit, Serum, Urin, Schweiß oder eine andere Körperflüssigkeit einschließen, wo sezernierte Proteine aus dem Gewebe, das ein ischämisches Ereignis durchmacht, lokalisiert werden können.

**[0079]** Zusätzliche Verfahren für die Identifikation des Gens oder Genprodukts sind Immuntests, wie ELISA oder Radioimmuntests (RIA), sie können verwendet werden, wie es Fachleuten bekannt ist, insbesondere um Genprodukte in den Proben zu identifizieren. Immunhistochemisches Färben von Gewebeproben wird ebenfalls für die Identifikation genutzt. Zugängliche Immuntests sind umfassend beschrieben in der Patent- und Wissenschaftsliteratur. Siehe z. B. die US-Patente 3,791,932; 3,839,153; 3,850,752; 3,850,578; 3,853,987; 3,867,517; 3,879,262; 3,901,654; 3,935,074; 3,984,533; 3,996,345; 4,034,074; 4,098,876; 4,879,219; 5,011,771 und 5,281,521. Ferner können für die Identifikation des Gens In-situ-Hybridisierung, Southern-Blotting, konformatorischer Einzelstrangpolymorphismus, Restriktionsendonucleasefingerprinting (REF), PCR-Amplifikation und DNS-Chipanalyse unter Verwendung der Nucleinsäuresequenz der vorliegenden Erfindung als Primer verwendet werden.

**[0080]** Die obige Diskussion stellt eine Tatsachenbasis für die Verwendung von Genen, um Hypoxie und Ischämie und damit ebenfalls Apoptose und Angiogenese zu regulieren, bereit. Die verwendeten Verfahren und die Nützlichkeit der vorliegenden Erfindung kann durch das folgende, nicht begrenzende Beispiel und die begleitenden Figuren gezeigt werden.

#### BEISPIEL

#### VERFAHREN:

**[0081]** Die meisten in der Molekularbiologie verwendeten Techniken werden weithin in der Technik praktiziert und die meisten Praktiker sind mit den Standardquellmaterialien, welche spezifische Bedingungen und Vorgänge beschreiben, vertraut. Für die Bequemlichkeit mögen die folgenden Absätze als eine Richtlinie dienen.

**[0082]** Allgemeine Verfahren in der Molekularbiologie: Es wird im Stand der Technik bekannten und nicht-spezifisch beschriebenen Standard-Molekularbiologietechniken im Allgemeinen gefolgt, wie in Sambrook et al., *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, Cold Springs Harbor Laboratory, New York (1989), und in Ausubel et al., *Current Protocols in Molecular Biology*, John Wiley and Sons, Baltimore, Maryland (1989), besonders für die Northern-Analyse und die In-situ-Analyse, und in Perbal, *A Practical Guide to Molecular Cloning*, John Wiley & Sons, New York (1988), und in Watson et al., *Recombinant DNA*, Scientific American Books, New York. Polymerasekettenreaktion (PCR) wurde allgemein durchgeführt, wie in *PCR Protocols: A Guide To Methods And Applications*, Academic Press, San Diego, CA (1990).

**[0083]** Reaktionen und Manipulationen, die andere Nucleinsäuretechniken einschließen, bis nicht anderweitig festgestellt, wurden durchgeführt, wie allgemein beschrieben in Sambrook et al., 1989, *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory Press, und wie in der Methode, die dargelegt ist in den US-Patenten 4,666,828; 4,683,202; 4,801,531; 5,192,659 und 5,272,057, und hierin durch Bezugnahme eingeschlossen.

**[0084]** Zusätzlich kann In-situ-(In-Cell-)PCR in Kombination mit Durchflusszytometrie für die Detektion von Zellen verwendet werden, die spezifische DNS- und mRNS-Sequenzen enthalten (Testoni et al., 1996, *Blood* 87:3822).

**[0085]** Allgemeine Verfahren in der Immunologie: Es wird Standardverfahren in der Immunologie, die allgemein im Stand der Technik bekannt sind und die nicht spezifisch beschrieben sind, allgemein gefolgt, wie in Stites et al. (Hrsg.), *Basic and Clinical Immunology* (8. Auflage), Appleton & Lange, Norwalk, CT (1994), und Mishell und Shiigi (Hrsg.), *Selected Methods in Cellular Immunology*, W.H. Freeman and Co., New York (1980). Zugängliche Immuntests sind ausgedehnt beschrieben in der Patent- und Wissenschaftsliteratur. Siehe z. B. US-Patente 3,791,932; 3,839,153; 3,850,752; 3,850,578; 3,853,987; 3,867,517; 3,879,262; 3,901,654; 3,935,074; 3,984,533; 3,996,345; 4,034,074; 4,098,876; 4,879,219; 5,011,771 and 5,281,521, ebenso wie Sambrook et al., *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, Cold Springs Harbor, New York, 1989.

#### Differenzialanalyse

**[0086]** Es wurden z. B. C6-Gliomzellen oder andere geeignete Zellen, Zelllinien oder Gewebe unter normalen Bedingungen (Normoxie) oder unter Sauerstoffentzugsbedingungen (Hypoxie) allgemein für 4 bis 16 Stunden wachsen gelassen. Die Zellen werden geerntet und RNS wird aus den Cytoplasmaextrakten und aus den Kernfraktionen zubereitet. Nach der Extraktion der RNS werden fluoreszierende cDNS-Sonden zubereitet. Jeder Zustand (z. B. 4 Stunden Hypoxie und Normoxie) wird mit einem unterschiedlich fluoreszierenden Farbstoff markiert. Zum Beispiel kann eine Sonde aus einer Mischung aus Cy3-dCTP-cDNS, zubereitet aus aus hypoxischen Zellen extrahierter RNS, und Cy5-dCTP-cDNS, zubereitet aus aus normoxischen Zellen extrahierter RNS, zusammengesetzt sein. Die Sonden werden für die Hybridisierung an den Mikroarray verwendet, der individuell aufgetüpfelte Ziel-DNS-Klone enthält, die von C6-Zellen abgeleitet sind, welche Hypoxie ausgesetzt waren. Differenzielle Expression wird durch die Menge fluoreszierender cDNS, die mit jedem der Klone auf dem Array hybridisiert, gemessen. Gene, die unter Hypoxie heraufreguliert sind, werden mehr Fluoreszenz von Cy3 als von Cy5 haben. Die Ergebnisse zeigen Gene, die transkriptionell induzierte mRNS-Arten sind, die sehr schnell auf Hypoxie ansprechen.

#### Differenzielles Display:

**[0087]** Reverse Transkription: 2 µg RNS werden mit 1 pmol Oligo-dT-Primer (dT)<sub>18</sub> in einem Volumen von 6,5 µl durch Erhitzen auf 70°C für 5 Minuten und Abkühlen auf Eis dem Annealing unterzogen. 2 µl Reaktionspuffer (×5), 1 µl 10 mM dNTP-Mischung und 0,5 µl reverse Transkriptase SuperScript-II (GibcoBRL) wurden hinzugefügt. Die Reaktion wird für eine Stunde bei 42°C durchgeführt. Die Reaktion wird durch die Zugabe von 70 µl TE (10 mM Tris, pH = 8; 0,1 mM EDTA) gestoppt.

**[0088]** Oligonucleotide, die für das differenzielle Display verwendet werden: Die Oligonucleotide sind allgemein jene, die in dem Delta-RNA-Fingerprinting-Kit (Clontech Labs, Inc.) beschrieben sind. Amplifikationsreaktionen: Jede Reaktion wird in 20 µl durchgeführt und enthält 50 µM dNTP-Mischung, 1 µM von jedem Primer, 1 × Polymerasepuffer, 1 Einheit Expansionspolymerase (Boehringer Mannheim), 2 µCi [α-<sup>32</sup>P]dATP und 1 µl cDNS-Matrize. Die Cyclisierungsbedingungen sind allgemein: drei Minuten bei 95°C, dann drei Cyclen von zwei Minuten bei 94°C, fünf Minuten bei 40°C, fünf Minuten bei 68°C. Diesen wird von 27 Cyclen mit einer Minute bei 94°C, zwei Minuten bei 60°C, zwei Minuten bei 68°C gefolgt. Reaktionen wurden abgeschlossen durch eine siebenminütige Inkubation bei 68°C und durch die Zugabe von 20 µl Sequenzierstopplösung (95%

Formamid, 10 mM NaOH, 0,025% Bromphenolblau, 0,025% Xylencyanol).

**[0089]** Gelanalyse: Allgemein werden 3 bis 4 µl auf ein 5%iges Sequenzierpolyacrylamidgel geladen und die Proben werden der Elektrophorese bei 2000 Volt/40 Milliampere unterzogen, bis der langsame Farbstoff (Xylencyanol) sich ungefähr 2 cm von der Unterkante entfernt befindet. Das Gel wird auf ein Filterpapier übertragen, unter Vakuum getrocknet und einem Röntgenfilm ausgesetzt.

**[0090]** Wiedergewinnung differenzieller Banden: Banden, die irgendeinen Unterschied zwischen den verschiedenen Pools zeigen, werden aus dem getrockneten Gel ausgeschnitten und in ein Mikrozentrifugenröhrchen gegeben. 50 µl steriles H<sub>2</sub>O werden hinzugefügt und die Röhrchen werden auf 100°C für 5 Minuten erhitzt. 1 µl wird zu einer 49 µl-PCR-Reaktion unter Verwendung derselben Primer, die für das differenzielle Display verwendet worden sind, hinzugefügt und die Proben werden für 30 Cyclen mit einer Minute bei 94°C, einer Minute bei 60°C und einer Minute bei 68°C amplifiziert. 10 µl werden auf Agarosegel analysiert, um die erfolgreiche Amplifikation sichtbar zu machen und zu bestätigen.

#### Analyse repräsentativer Unterschiede

**[0091]** Reverse Transkription: wie oben, jedoch mit 2 µg polyA+-selektierter mRNS.

**[0092]** Zubereitung doppelsträngiger cDNS: cDNS aus dem vorangegangenen Schritt wird mit Alkali behandelt, um die mRNS zu entfernen, gefällt und in 20 µl H<sub>2</sub>O gelöst. 50 µl Puffer, 2 µl 10 mM dATP, H<sub>2</sub>O auf 48 µl und 2 µl terminale Desoxynucleotidtransferase (TdT) werden hinzugefügt. Die Reaktion wird 2–4 Stunden bei 37°C inkubiert. 5 µl Oligo-dT (1 µg/µl) werden hinzugefügt und bei 60°C für fünf Minuten inkubiert. 5 µl 200 mM DTT, 10 µl 10 × Sektionspuffer (100 mM MgCl<sub>2</sub>, 900 mM Hepes, pH 6,6), 16 µl dNTPs (1 mM) und 16 U Klenow werden hinzugefügt und die Mischung wird über Nacht bei Raumtemperatur inkubiert, um ds cDNS zu erzeugen. 100 µl TE werden hinzugefügt und mit Phenol/Chloroform extrahiert. Die DNS wird gefällt und in 50 µl H<sub>2</sub>O gelöst.

**[0093]** Erzeugung von Repräsentationen: cDNS mit DpnII wird durch die Zugabe von 3 µl DpnII-Reaktionspuffer 20 V und DpnII zu 25 µl cDNS verdaut und fünf Stunden bei 37°C inkubiert. 50 µl TE werden hinzugefügt und mit Phenol/Chloroform extrahiert. cDNS wird gefällt und auf eine Konzentration von 10 ng/µl gelöst.

**[0094]** Treiber: 1,2 µg mit DpnII verdaute cDNS, 4 µl von jedem Oligo und 5 µl Ligationspuffer ×10 werden dem Annealing bei 60°C für zehn Minuten unterzogen. 2 µl Ligase werden hinzugefügt und über Nacht bei 16°C inkubiert. Die Ligationsmischung wird durch Hinzufügen von 140 µl TE verdünnt.

**[0095]** Amplifikation wird in einem Volumen von 200 µl unter Verwendung des geeigneten Primers und 2 µl Ligationsprodukt durchgeführt und wiederholt in 20 Röhrchen für jede Probe. Vor dem Hinzufügen von Taq-DNS-Polymerase werden die Röhrchen auf 72°C für drei Minuten erhitzt. Die PCR-Bedingungen sind wie folgt: fünf Minuten bei 72°C, zwanzig Cyclen mit einer Minute bei 95°C und drei Minuten bei 72°C, gefolgt von zehn Minuten bei 72°C. Jeweils vier Reaktionen wurden vereinigt, mit Phenol/Chloroform extrahiert und gefällt. Amplifizierte DNS wird auf eine Konzentration von 0,5 µg/µl gelöst und sämtliche Proben werden vereinigt.

**[0096]** Subtraktion: Tester-DNS (20 µg) wird mit DpnII wie oben verdaut und auf einem 1,2% Agarosegel aufgetrennt. Die DNS wird aus dem Gel extrahiert und 2 µg werden mit den passend Oligos ligiert. Die ligierte Tester-DNS wird dann auf 10 ng/µl mit TE verdünnt. Treiber-DNS wird mit DpnII verdaut und auf eine Endkonzentration von 0,5 µg/µl aufgereinigt. Mische 40 µg Treiber-DNS mit 0,4 µg Tester-DNS. Extraktion wird durchgeführt mit Phenol/Chloroform und gefällt unter Verwendung von zwei Waschschritten mit 70% Ethanol, die DNS wird in 4 µl 30 mM EPPS, pH = 8,0, 3 mM EDTA resuspendiert und mit 35 µl Mineralöl überschichtet. Denaturiere bei 98°C für fünf Minuten, kühle auf 67°C ab und füge 1 µl 5 M NaCl zu der DNS hinzu. Inkubiere bei 67°C für zwanzig Stunden. Verdünne die DNS durch Hinzufügen von 400 µl TE.

**[0097]** Amplifikation: Amplifikation subtrahierter DNS in einem Endvolumen von 200 µl erfolgt wie folgt: Puffer, Nucleotide und 20 µl verdünnte DNS werden hinzugefügt, auf 72°C erhitzt und Taq-DNS-Polymerase wird hinzugefügt. Inkubiere bei 72°C für fünf Minuten und füge passende Oligos hinzu. Es werden zehn Zyklen mit einer Minute bei 95°C, drei Minuten bei 70°C durchgeführt. Inkubiere zehn Minuten bei 72°C. Die Amplifikation wird in vier gesonderten Röhrchen wiederholt. Die amplifizierte DNS wird mit Phenol/Chloroform extrahiert, gefällt und sämtliche vier Röhrchen werden in 40 µl 0,2 × TE vermischt und mit Mung-Bean-Nuclease (Endonuclease aus Mungo-Bohnen) wie folgt verdaut: zu 20 µl DNS werden 4 µl Puffer, 14 µl H<sub>2</sub>O und 2 µl Mung-Bean-Nuclease (10 Einheiten/µl) hinzugefügt. Inkubiere bei 30°C für fünfunddreißig Minuten + erstes differenzi-

elles Produkt (DPI (First Differential Product)).

Wiederhole die Subtraktionshybridisierung und PCR-Amplifikation mit dem Treiber:

**[0098]** Differenzielles Verhältnis von 1:400 (DPII) und 1:40.000 (DPIII) unter Verwendung von geeigneten Oligonucleotiden. Differenzielle Produkte werden dann in einem Bluescript-Vektor an der BAM-HI-Stelle für die Analyse der einzelnen Klone kloniert.

#### DIFFERENZIELLE EXPRESSION UNTER VERWENDUNG VON GENEXPRESSIONSMIKROARRAY

**[0099]** Wie hierin oben beschriebene isolierte Boten-RNS wird mit fluoreszierenden dNTPs unter Verwendung einer reversen Transkriptionsreaktion markiert, um eine markierte cDNS-Sonde zu schaffen. mRNA wird aus C6-Zellen, die unter normoxischen Bedingungen kultiviert worden sind, extrahiert und mit Cy3-dCTP (Amersham) markiert und mRNA, die aus C6-Zellen, die unter hypoxischen Bedingungen kultiviert worden sind, extrahiert worden ist, wird mit Cy5-dCTP (Amersham) markiert. Die beiden markierten cDNS-Sonden werden dann vermischt und auf einem Mikroarray hybridisiert (Skena et al., 1996), zusammengesetzt aus z. B. 2000 cDNS-Klonen, die aus einer cDNS-Bibliothek hergeleitet worden sind, die zubereitet worden ist aus C6-Zellen, die unter hypoxischen Bedingungen kultiviert worden sind. Nach der Hybridisierung wird der Mikroarray unter Verwendung eines Laserscangeräts gescannt und die Fluoreszenzmenge von jedem der Fluoreszenzfarbstoffe wird für jeden cDNS-Klon auf dem Mikroarray gemessen, was eine Anzeige für den mRNA-Spiegel in jeder der untersuchten Ausgangs-mRNA-Populationen gibt. Der Vergleich der Fluoreszenz jedes cDNS-Klons auf dem Mikroarray zwischen den beiden unterschiedlichen Fluoreszenzfarbstoffen ist ein Maß für die differenzielle Expression der angezeigten Gene zwischen den beiden experimentellen Bedingungen.

#### IN-SITU-ANALYSE

**[0100]** In-situ-Analyse wird für die Kandidatengene durchgeführt, die durch die differenzielle Antwort auf das Aussetzen an hypoxischen Bedingungen, wie oben beschrieben, identifiziert worden sind. Die Expression wird in zwei experimentellen Systemen untersucht: feste Tumoren und hypoxische Retina.

**[0101]** Feste Tumoren werden durch Injektionen der Ausgangsgliomzellen, die für die differenzielle Expression verwendet wurden, in Mäusen gebildet. Die Gliomzellen bilden Tumoren, die dann ausgeschnitten, auf Objektträger aufgebracht und verwendet werden, um individuell die Expressionsspiegel des Kandidatengens zu messen. Das Modell des festen Tumors (Benjamin et al., 1997) zeigt, dass die Expression des Kandidatengens in Tumoren um hypoxische Regionen herum, die in dem Zentrum des Tumors gefunden werden und deshalb in vivo durch Hypoxie reguliert sind, aktiviert wird. Heraufregulation zeigt weiter an, dass das heraufregulierte Gen Angiogenese fördern kann, welche erforderlich ist, um das Tumorstadium aufrecht zu erhalten.

**[0102]** Das Modell der hypoxischen Retina misst Expressionsspiegel in einem Organ, das Hypoxie (Ischämie) ausgesetzt ist und direkt Retinopathie nachahmt. Hypoxie in der Retina wird durch Aussetzen neugeborener Ratten an Hyperoxie, was Blutgefäße in der Retina verkleinert, geschaffen (Alon et al., 1995). Nach dem Überführen auf normale Sauerstoffspiegel wird relative Hypoxie wegen dem Fehlen an Blutzufuhr ausgebildet. Hypoxische Retina wird ausgeschnitten, in Scheiben geschnitten und verwendet, um die Expression des Kandidatengens zu überwachen.

#### ERGEBNISSE

**[0103]** Unter Nutzung von Genexpressionsmikroarrayanalyse wurden die in SEQ ID Nrn. 1-6 dargelegten Gene als unter hypoxischen Bedingungen differenziell exprimiert identifiziert.

**[0104]** Wie in den Figuren gezeigt, wurde differenzielle Expression unter hypoxischen Bedingungen beobachtet. Northern-Analyse wurde mit <sup>32</sup>P-dCTP markierten Sonden, abgeleitet aus den Kandidatengenen, durchgeführt. 2 µg mRNA wurden auf Formaldehyd enthaltenden Agarosegelen fraktioniert, auf eine Nitrocellulosemembran gebロットet und mit den markierten cDNS-Sonden hybridisiert.

**[0105]** Um die Kinetiken der Expression als ein Ergebnis von Hypoxie zu überwachen, wurde mRNA von Zellen in Normoxie zubereitet und 4 und 16 Stunden hypoxischen Bedingungen ausgesetzt. Die Ergebnisse der Analyse zeigten, dass sämtliche Gene (SEQ ID Nrn. 1-6) durch hypoxische Bedingungen induziert worden sind, was die durch die Genexpressionsmikroarrayanalyse gewonnenen Ergebnisse bestätigt.

**[0106]** In der In-situ-Analyse unter Verwendung des Modells des festen Tumors wurden die SEQ ID Nrn. 1-6 heraufreguliert, das heißt exprimiert. In dem Retinamodell wurden die SEQ ID Nrn. 1, 2 und 6 als in diesem Modell heraufreguliert gefunden.

**[0107]** SEQ ID Nr. 1 (RTP801) ist das Rattenhomolog von SEQ ID Nr. 2 (RTP779). Die Proteinsequenzen sind die SEQ ID Nr. 9 bzw. SEQ ID Nr. 10. Beide dieser Gene wurden nicht in Gendatenbanken gemeldet und sie werden unter hypoxischem Stress exprimiert und in beiden In-situ-Analysen heraufreguliert. Die Expression dieses Gens wurde beobachtet in dem Ovar, wo aktive Apoptose geschah. Seine Regulation ist abhängig von HIF-1 (Carmeliet et al., 1998), was weiter anzeigt, dass das Gen verbunden ist mit durch Hypoxie induzierter Apoptose. Eine gewisse Homologie wurde zwischen dem 3'UTR von RTP801 und dem 5'UTR eines Transkriptionsfaktors (Ratte) pet-1 (Carmeliet et al., 1998; Spence et al., 1998; Fyodorov et al., 1998) gefunden.

**[0108]** SEQ ID Nr. 3 (RTP241) ist 1902 bp lang, wurde nicht in Gendatenbanken gemeldet und wird unter hypoxischem Stress exprimiert und in beiden In-situ-Analysen heraufreguliert. Die Gensequenz hat eine gewisse Homologie mit einem Hefegen, das stromaufwärts des cox14-Gens lokalisiert ist. Das Protein (SEQ ID Nr. 7), das durch die Sequenz kodiert wird, enthält eine Signalpeptidregion und wird deshalb sezerniert.

**[0109]** SEQ ID Nr. 4 (RTP220) ist 4719 bp lang, sie wurde nicht in Gendatenbanken gemeldet und wird unter hypoxischem Stress exprimiert und in den In-situ-Tumoranalysen heraufreguliert. Die Gensequenz hat eine gewisse Homologie mit Anilin aus Drosophila. Die Proteinsequenz wird in SEQ ID Nr. 11 dargelegt.

**[0110]** SEQ ID Nr. 5 (RTP953/359) ist eine Genteilsequenz, die nicht in Gendatenbanken gefunden worden ist und unter hypoxischem Stress exprimiert wird und in beiden In-situ-Analysen heraufreguliert wird.

**[0111]** SEQ ID Nr. 6 (RTP971) wird unter hypoxischem Stress exprimiert und in der In-situ-Tumoranalyse heraufreguliert. Die Originalanalyse verwendete die Rattensequenz. SEQ ID Nr. 6 ist das menschliche Homolog und hat mehr als 90% Homologie mit der Rattensequenz. Basierend auf der vorangegangenen Sequenzanalyse scheint es, dass es das Gen Neuroleukin oder ein Mitglied jener Genfamilie ist. Von dem wurde nicht berichtet, dass es auf Hypoxiebedingungen ansprechend ist, und es wird berichtet, dass es ein neuer Motilitätsfaktor für Astrocyten ist. Das berichtete Gen kodiert ein Protein (SEQ ID Nr. 8, menschliches Homolog), das als eine glykolytisches Enzym Phosphohexoseisomerase und als ein Überlebensfaktor für Neuronen identifiziert worden ist (Niinaka et al., 1998; Watanabe et al., 1996).

**[0112]** Die Astrocytenmotilität ist ein wichtiger Faktor bei der Bildung von Blutgefäßen (Angiogenese) im Gehirn und in der Retina. Astrocyten können als Sauerstoffspiegelsensoren angesehen werden, da sie unter hypoxischen Bedingungen durch die Sekretion von angiogenetischen Faktoren wie WEGF ansprechen. In einem Experiment wurden primäre Astrocytenkulturen etabliert und in vitro ohne Serum wachsen gelassen und die Astrocyten waren unbeweglich. Wenn jedoch konditioniertes Medium aus Retinakulturen, die unter hypoxischen Bedingungen kultiviert worden sind, zu den Astrocytenkulturen hinzugefügt wurde, wurde Motilität beobachtet. Falls der Neuroleukin-Inhibitor (Obese et al., 1990), D-Erythrose-4-Phosphat (in einer Konzentration von 1,25 mM) hinzugefügt wurde, wurden deutliche Anzeichen von Inhibition der Motilität in den Astrocytenkulturen beobachtet, was anzeigt, dass die Astrocytenmotilität (und -stellation) von der Neuroleukinaktivität abhängig war. Andere Ergebnisse zeigen, dass SEQ ID Nr. 6 ebenfalls HIF-1-abhängig ist, was weiter anzeigt, dass das Gen in Verbindung steht mit durch Hypoxie induzierte Angiogenese und Apoptose.

**[0113]** Durch diese Anmeldung hindurch wurde auf zahlreiche Publikationen, einschließlich US-Patenten, durch Bezugnahme auf Autor und Jahr und auf Patente durch die Nummern Bezug genommen. Vollständige Zitierungen der Publikationen sind unten aufgelistet.

**[0114]** Die Erfindung wurde in einer erläuternden Weise beschrieben und es soll verstanden werden, dass von der Terminologie, welche verwendet worden ist, beabsichtigt ist, dass sie in der Natur der Worte der Beschreibung eher liegt als in der Beschränkung.

**[0115]** Offensichtlich sind viele Modifikationen und Variationen der vorliegenden Erfindung im Lichte der obigen Lehren möglich. Es soll deshalb verstanden werden, dass die Erfindung innerhalb des Schutzzumfangs der angehängten Ansprüche anderweitig, als spezifisch beschrieben, praktiziert werden kann.

#### LITERATURVERZEICHNIS

Alon et al., (1995). Vascular endothelial growth factor acts as a survival factor for newly formed retinal vessels

- and has implications for retinopathy of prematurity. *Nat. Med.*, 1(10): 1024-1028.
- Benjamin et al., (1997). Conditional switching of vascular endothelial growth factor (VEGF) expression in tumors: induction of endothelial cell shedding and regression of hemangioblastoma-like vessels by VEGF withdrawal. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 94(16): 8761-8766.
- Bouck et al., (1996). How tumors become angiogenic. *Adv. Cancer Res.*, 69: 135-174.
- Bunn et al., (1996). Oxygen sensing and molecular adaptation in hypoxia. *Physiol. Rev.*, 76: 839-885.
- Burke und Olson, 1991. "Preparation of Clone Libraries in Yeast Artificial-Chromosome Vectors" in *Methods in Enzymology*, Band 194, "Guide to Yeast Genetics and Molecular Biology", Hrsg. C. Guthrie and G. Fink, Academic Press, Inc., Kap. 17, S. 251-270.
- Capecchi, 1989. "Altering the genome by homologous recombination" *Science*, 244: 1288-1292.
- Carmeliet et al., (1998). Role of HIF-1 $\alpha$  in hypoxia-mediated apoptosis, cell proliferation and tumour angiogenesis. *Nature*, 394(6692): 485-490.
- Davies et al., 1992. "Targeted alterations in yeast artificial chromosomes for inter-species gene transfer", *Nucleic Acids Research*, 20(11): 2693-2698.
- Dickinson et al., 1993. "High frequency gene targeting using insertional vectors", *Human Molecular Genetics*, 2(8): 1299-1302.
- Duff and Lincoln, 1995. "Insertion of a pathogenic mutation into a yeast artificial chromosome containing the human APP gene and expression in ES cells", *Research Advances in Alzheimer's Disease and Related Disorders*.
- Dor et al., (1997). Ischemia-driven angiogenesis. *Trends Cardiovasc. Med.*, 7: 289-294.
- Duke et al., (1996). Cell Suicide in Health and Disease. *Scientific American*, 80-87.
- Fyodorov et al., (1998). Pet-1, a novel ETS domain factor that can activate neuronal nAChR gene transcription. *J. Neurobiol.*, 34(2): 151-163.
- Gallagher et al., (1997). Identification of p53 Genetic Suppressor Elements Which Confer Resistance to Cisplatin. *Oncogene*, 14: 185-193.
- Gordon, 1989. Transgenic Animals. *Intl. Rev. Cytol.*, 115: 171-229.
- Hanahan et al., (1996). Patterns and Emerging Mechanisms of Angiogenic Switch During Tumorigenesis. *Cell*, 86: 353-364.
- Herskowitz (1987). Functional Inactivation of Genes By Dominant Negative Mutations. *Nature*, 329(6136): 219-222.
- Holzmayer et al., (1992). Isolation of Dominant Negative Mutants and Inhibitory Antisense RNA Sequences by Expression Selection of Random DNA Fragments. *Nucleic Acids Res.*, 20(4): 711-717.
- Huston et al., 1991 "Protein engineering of single-chain Fv analogs and fusion proteins" in *Methods in Enzymology* (J. J. Langone, Hrsg.; Academic Press, New York, NY), 203: 46-88.
- Huxley et al., 1991. "The human HPRT gene on a yeast artificial chromosome is functional when transferred to mouse cells by cell fusion", *Genomics*, 9: 742-750.
- Jakobovits et al., 1993. "Germ-line transmission and expression of a human-derived yeast artificial chromosome", *Nature*, 362: 255-261.
- Johnson and Bird, 1991 "Construction of single-chain Fvb derivatives of monoclonal antibodies and their production in *Escherichia coli* in *Methods in Enzymology* (J. J. Langone, Hrsg.; Academic Press, New York, NY), 203: 88-99.
- Lamb et al., 1993. "Introduction and expression of the 400 kilobase precursor amyloid protein gene in transgenic mice", *Nature Genetics*, 5: 22-29.
- Lavitrano et al., 1989. *Cell*, 57: 717-723.
- Lo, 1983. *Mol. Cell Biol.*, 3: 1803-1814.
- Mansour, 1990. Gene targeting in murine embryonic stem cells: Introduction of specific alterations into the mammalian genome. *GATA*, 7(8): 219-227.
- Mernaugh and Mernaugh, 1995 "An overview of phage-displayed recombinant antibodies" in *Molecular Methods In Plant Pathology* (RP Singh and US Singh, Hrsg.; CRC Press Inc., Boca Raton, FL), S. 359-365.
- Niinaka et al., (1998). Expression and secretion of neuroleukin/phosphohexose isomerase/maturation factor as autocrine motility factor by tumor cells. *Cancer Res.*, 58(12): 2667-2674.
- Obeso et al., (1990). A Hemangioendothelioma-Derived Cell Line: Its Use as a Model for the Study of Endothelial Cell Biology. *Laboratory Investigation*, 83: 259-264.
- Pearson and Choi, 1993. Expression of the human  $\beta$ -amyloid precursor protein gene from a yeast artificial chromosome in transgenic mice. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 90: 10578-82.
- Rothstein, 1991. "Targeting, disruption, replacement, and allele rescue: integrative DNA transformation in yeast" in *Methods in Enzymology*, Band 194, "Guide to Yeast Genetics and Molecular Biology", Hrsg. C. Guthrie and G. Fink, Academic Press, Inc., Chap. 19, S. 281-301.
- Schedl et al., 1993. "A yeast artificial chromosome covering the tyrosinase gene confers copy numberdependent expression in transgenic mice", *Nature*, 362: 258-261.

- Schena et al., (1996) Parallel Human Genome Analysis: Microarray-based Expression Monitoring of 1000 genes. *PNAS (USA)*, 93(20): 10614-10619.
- Spence et al., (1998). Glucose metabolism in human malignant gliomas measured quantitatively with PET, 1-[C-11]glucose and FDG: analysis of the FDG lumped constant. *J. Nucl. Med.*, 39(3): 440-448.
- Strauss et al., 1993. "Germ line transmission of a yeast artificial chromosome spanning the murine  $\alpha_1$  (I) collagen locus", *Science*, 259: 1904-1907.
- Thompson et al., 1989. *Cell*, 56: 313-321.
- Van der Putten et al., 1985. *PNAS USA*, 82: 6148-6152.
- Watanabe et al., (1996). Tumor cell autocrine motility factor is the neuroleukin/phosphohexose isomerase polypeptide. *Cancer Res.*, 56(13): 2960-2963.
- Agrawal, 1996. Antisense oligonucleotides: towards clinical trials, *TIBTECH*, 14: 376.
- Akhter et al., 1991. Interactions of antisense DNA oligonucleotide analogs with phospholipid membranes (liposomes). *Nuc. Res.*, 19: 5551-5559.
- Blaesse, 1997. Gene Therapy for Cancer. *Scientific American*, 276(6): 111-115.
- Calabretta et al., 1996. Antisense strategies in the treatment of leukemias. *Semin. Oncol.*, 23: 78.
- Crooke, 1995. Progress in antisense therapeutics, *Hematol. Pathol.*, 2: 59.
- Eckstein 1985. Nucleoside Phosphorothioates. *Ann. Rev. Biochem.*, 54: 367-402.
- Feigner, 1997. Nonviral Strategies for Gene Therapy. *Scientific American*. Juni, 1997, S. 102-106.
- Gewirtz, 1993. Oligodeoxynucleotide-based therapeutics for human leukemias, *Stem Cells Dayt.*, 11: 96.
- Galileo et al., 1991. *J. Cell. Biol.*, 112: 1285.
- Hanania et al 1995. Recent advances in the application of gene therapy to human disease. *Am. J. Med.*, 99: 537.
- Iyer et al., 1990. *J. Org. Chem.*, 55: 4693-4699.
- Lefebvre-d'Hellencourt et al., 1995. Immunomodulation by cytokine antisense oligonucleotides. *Eur. Cytokine Netw.*, 6: 7.
- Lev-Lehman et al., 1997. Antisense Oligomers in vitro and in vivo. In *Antisense Therapeutics*, A. Cohen and S. Smicek, Hrsg. (Plenum Press, New York).
- Loke et al., 1989. Characterization of oligonucleotide transport into living cells. *PNAS USA*, 86: 3474.
- Morrison, 1991. Suppression of basic fibroblast growth factor expression by antisense oligonucleotides inhibits the growth of transformed human astrocytes. *J. Biol. Chem.*, 266: 728.
- Radhakrishnan et al., 1990. The automated synthesis of sulfur-containing oligodeoxyribonucleotides using 3H-1,2-Benzodithiol-3-One 1,1 Dioxide as a sulfur-transfer reagent. *J. Org. Chem.*, 55: 4693-4699.
- Rosolen et al., 1990. *Cancer Res.*, 50: 6316.
- Scanlon et al., 1995: Oligonucleotides-mediated modulation of mammalian gene expression. *FASEB J.*, 9: 1288.
- Shaw et al., 1991. Modified deoxyoligonucleotides stable to exonuclease degradation in serum. *Nucleic Acids Res.*, 19: 747-750.
- Spitzer and Eckstein 1988. Inhibition of deoxynucleases by phosphorothioate groups in oligodeoxyribonucleotides. *Nucleic Acids Res.*, 18: 11691-11704.
- Uhlmann and Peyman, 1990. Antisense Oligonucleotides: A New Therapeutic Principle. *Chem. Rev.*, 90(4): 543-584.
- Wagner et al., 1996. Potent and selective inhibition of gene expression by an antisense. heptanucleotide. *Nature Biotechnology*, 14: 840-844.
- Wagner, 1994. Gene inhibition using antisense oligodeoxynucleotides. *Nature*, 372: 333.
- Whitesell et al., 1991. Episome-generated N-myc antisense RNA restricts the differentiation potential of primitive neuroectodermal cell lines. *Mol. Cell. Biol.*, 11: 1360.
- Yakubov et al., 1989. *PNAS USA*, 86: 6454.
- Wright & Anazodo, 1995. Antisense Molecules and Their Potential For The Treatment Of Cancer and AIDS. *Cancer J.*, 8: 185-189.
- Woolf et al., 1990. The stability, toxicity and effectiveness of unmodified and phosphorothioate antisense oligodeoxynucleotides in *Xenopus* oocytes and embryos. *Nucleic Acids Res.*, 18: 1763-1769.

## SEQUENZPROTOKOLL

- (1) ALLGEMEINE INFORMATION:
- (i) ANMELDER: Einat, Paz  
Skaliter, Rami
  - (ii) BEZEICHNUNG DER ERFINDUNG: HYPOXIE-REGULIERTE GENE
  - (iii) ANZAHL DER SEQUENZEN: 11
  - (iv) KORRESPONDENZADRESSE:
    - (A) ADRESSAT: KOHN & ASSOCIATES
    - (B) STRASSE: 30500 Northwestern Hwy., Suite 401
    - (C) STADT: Farmington Hills
    - (D) STAAT: Michigan
    - (E) LAND: U.S.
    - (F) POSTLEITZAHL: 48334
  - (v) COMPUTER-LESBARE FORM:
    - (A) MEDIUM: Diskette
    - (B) COMPUTER: IBM-kompatibler PC
    - (C) BETRIEBSSYSTEM: PC-DOS/MS-DOS
    - (D) SOFTWARE: PatentIn Release #1.0, Version #1.30
  - (vi) DATEN DER GEGENWÄRTIGEN ANMELDUNG
    - (A) ANMELDENUMMER:
    - (B) ANMELEDEDATUM:
    - (C) KLASSIFIKATION:
  - (viii) ANWALT-/VERTRETER-INFORMATION:
    - (A) NAME: Kohn, Kenneth I.
    - (B) REGISTRIERUNGSNUMMER: 30,955
    - (C) REFERENZ/AKTENZEICHEN: 0168.00038
  - (ix) TELEKOMMUNIKATIONSINFORMATION:
    - (A) TELEFON: (248) 539-505
    - (B) TELEFAX: (248) 5395055
- (2) INFORMATION FÜR SEQ ID NR. 1:
- (i) SEQUENZ-EIGENSCHAFTEN:
    - (A) LÄNGE: 1754 Basenpaare
    - (B) ART: Nucleinsäure
    - (C) STRÄNGIGKEIT: einzeln
    - (D) TOPOLOGIE: linear
  - (ii) MOLEKÜLART: cDNA
  - (iii) HYPOTHETISCH: NEIN
  - (iv) GEGENSINN: NEIN
  - (xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NR. 1:

CCCCCGGGGG AGGTGCGAGA GGGCTGGAAA GGACAGGTCC GGGCAGCGAT CGGGGGTTGG	60
CATCAGTTCG CTCACCTTC GAGAGGCAGA TCGCTCTTGT CCGCAATCTT CGCTGACCGC	120
GCTAGCTGCG GCTTCTGTGC TCCTTCGCCG AACCTCATCA ACCAGCGTCC TGGCGTCTGA	180
CCTCGCCATG CCTAGCCTTT GGGATCGTTT CTCGTCTCC TCTTCCTCTT CGTCCTCGTC	240

CCGAACTCCG GCCGCTGATC GGCCGCCGCG CTCCGCCTGG GGGTCTGCGG CCAGAGAAGA	300
GGGCCTTGAC CGCTGCGCGA GCCTGGAGAG CTCGGACTGC GAGTCCCTGG ACAGCAGCAA	360
CAGTGGCTTT GGGCCGGAGG AAGACTCCTC ATACCTGGAT GGGGTGTCTC TGCCTGACTT	420
TGAGCTGCTC AGTGACCCCG AGGATGAGCA CCTGTGTGCC AACCTGATGC AGCTGCTGCA	480
GGAGAGCCTG TCCCAGGCGC GATTGGGCTC GCGGCGCCCT GCGCGCCTGC TGATGCCGAG	540
CCAGCTGTTG AGCCAGGTGG GCAAGGAACT CCTGCGCCTG GCGTACAGCG AGCCGTGCGG	600
CCTGCGGGGG GCACTGCTGG ACGTCTGTGT GGAGCAAGGC AAGAGCTGCC ATAGTGTGGC	660
TCAGCTGGCT CTGGACCCCA GTCTAGTGCC CACCTTTCAG TTGACCCTGG TGCTGCGTCT	720
GGACTCTCGC CTCTGGCCCA AGATCCAGGG CCTGTTGAGT TCTGCCAACT CTTCTTGGT	780
CCCTGGTTAC AGCCAGTCCC TGACGCTGAG CACCGGCTTC AGAGTCATCA AAAAGAACT	840
CTACAGCTCC GAGCAGCTGC TCATTGAAGA GTGTTGAACT TCGTCCTGGA GGGGGGCCGC	900
ACTGCCCCC AAAGTGGAGA CAAGGAATTT CTGTGGTGA GACCCGAGG CAAGGACTGA	960
AGGACTGTCC CCTGTGTTAG AAAACTGACA ATAGCCACCG GAGGGGCGCA GGGCCAGGTG	1020
GGAGAAGGAA GTGTTGTCCA GGAAGTCTCT AGGTTGTGTG CAGGTGGCCC CCTGTTGGGG	1080
CACATGCCCC TCAGTACTGT AGCATGAAAC AAAGGCTTCG GAGCCACACA GGCTTCTGGC	1140
TGGATGTGTA TGTAGCATGT ATCTTATTAA TTTTGTATT ACTGACAAGT TACAACAGCA	1200
GTTGTGGGCC AGAGTCAGAA GGGCAGCTGG TCTGCACTGG CCTCTGCCCC GGCTGTGTGC	1260
TGGGGGGAGG CGGGGGGAGG TCTCCGACAG TTTGTGACA GATCTCATGG TCTGAAAGGA	1320
CCGAGCTTGT TCGTCGTTTG GTTTGTATCT TGTTTTGGGG GTGGGGTGGG GGGATCGGAG	1380
CTTCACTACT GACCTGTTTG AGGCAGCTAT CTTACAGACT GCATGAATGT AAGAATAGGA	1440
AGGGGGTGGG TGTTAGGATC ATTTGGGATC TTCAACACTT GAAACAAAAT AACACCAGGG	1500
AGCTGCATCC CAGCCCATCC CGGTGCCGGT GTACTGGAGG AGTGAAGTGT GAGGGGATGG	1560
GGCTGAGGGG GGTGGGGGGC TGGAACCCCTC TCCCCAGAG GAGCGCCACC TGGGTCTTCC	1620
ATCTAGAAGT GTTTACATGA AGATACTCAC GGTTTATGAA TACACTTGAT GTTCAAGTAC	1680
TAAGACCTAT GCAATATTTT TACTTTTCTA ATAAACATGT TTGTTAAAC AAAAAAAAAA	1740
AAAAAAAAA AAAA	1754

- (2) INFORMATION FÜR SEQ ID NR. 2:
- (i) SEQUENZ-EIGENSCHAFTEN:
    - (A) LÄNGE: 1782 Basenpaare
    - (B) ART: Nucleinsäure
    - (C) STRÄNGIGKEIT: einzeln
    - (D) TOPOLOGIE: linear
  - (ii) MOLEKÜLART: cDNA
  - (iii) HYPOTHETISCH: NEIN
  - (iv) GEGENSINN: NEIN
  - (xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NR. 2:

TTTGGCCCTC GAGGCCAAGA ATTCGGCACG AGGGGGGGAG GTGCGAGCGT GGACCTGGGA	60
CGGGTCTGGG CGGCTCTCGG TGGTTGGCAC GGGTTCGCAC ACCCATTCAA GCGGCAGGAC	120
GCACCTGTCT TAGCAGTTCT CGCTGACCGC GCTAGCTGCG GCTTCTACGC TCCGGCACTC	180
TGAGTTCATC AGCAAACGCC CTGGCGTCTG TCCTCACCAT GCCTAGCCTT TGGGACCGCT	240
TCTCGTCGTC GTCCACCTCC TCTTCGCCCT CGTCCTTGCC CCGAACTCCC ACCCCAGATC	300
GGCCGCCGCG CTCAGCCTGG GGGTCGGCGA CCCGGGAGGA GGGGTTTGAC CGCTCCACGA	360
GCCTGGAGAG CTCGGACTGC GAGTCCCTGG ACAGCAGCAA CAGTGGCTTC GGGCCGGAGG	420
AAGACACGGC TTACCTGGAT GGGGTGTCGT TGCCCCACTT CGAGCTGCTC AGTGACCCTG	480
AGGATGAACA CTTGTGTGCC AACCTGATGC AGCTGCTGCA GGAGAGCCTG GCCCAGGCGC	540
GGCTGGGCTC TCGACGCCCT GCGCGCCTGC TGATGCCTAG CCAGTTGGTA AGCCAGGTGG	600
GCAAAGAACT ACTGCGCCTG GCCTACAGCG AGCCGTGCGG CCTGCGGGGG GCGCTGCTGG	660
ACGTCTGCGT GGAGCAGGGC AAGAGCTGCC ACAGCGTGGG CCAGCTGGCA CTCGACCCCA	720
GCCTGGTGCC CACCTTCCAG CTGACCCTCG TGCTGCGCCT GGA CTCACGA CTCTGGCCCA	780
AGATCCAGGG GCTGTTTAGC TCCGCCAACT CTCCCTTCCT CCCTGGCTTC AGCCAGTCCC	840
TGACGCTGAG CACTGGCTTC CGAGTCATCA AGAAGAAGCT GTACAGCTCG GAACAGCTGC	900
TCATTGAGGA GTGTTGAACT TCAACCTGAG GGGGCCGACA GTGCCCTCCA AGACAGAGAC	960
GACTGAACTT TTGGGGTGGA GACTAGAGGC AGGAGCTGAG GGA CTGATTC CTGTGGTTGG	1020
AAAACTGAGG CAGCCACCTA AGGTGGAGGT GGGGGAATAG TGTTTCCCAG GAAGCTCATT	1080
GAGTTGTGTG CGGGTGGCTG TGCA TTGGGG ACACATACCC CTCAGTACTG TAGCATGAAA	1140
CAAAGGCTTA GGGGCCAACA AGGCTTCCAG CTGGATGTGT GTGTAGCATG TACCTTATTA	1200
TTTTTGTTAC TGACAGTTAA CAGTGGTGTG ACATCCAGAG AGCAGCTGGG CTGCTCCCGC	1260
CCCAGCCCGG CCCAGGGTGA AGGAAGAGGC ACGTGCTCCT CAGAGCAGCC GGAGGGAGGG	1320
GGGAGGTCGG AGGTCGTGGA GGTGGTTTGT GTATCTTACT GGTCTGAAGG GACCAAGTGT	1380
GTTTGTGTGT TGTTTTGTAT CTTGTTTTTC TGATCGGAGC ATCACTACTG ACCTGTTGTA	1440
GGCAGCTATC TTACAGACGC ATGAATGTAA GAGTAGGAAG GGGTGGGTGT CAGGGATCAC	1500
TTGGGATCTT TGACACTTGA AAAATTACAC CTGGCAGCTG CGTTTAAGCC TTCCCCATC	1560
GTGTACTGCA GAGTTGAGCT GGCAGGGGAG GGGCTGAGAG GGTGGGGGCT GGAACCCCTC	1620
CCCGGGAGGA GTGCCATCTG GGTCTTCCAT CTAGAACTGT TTACATGAAG ATAAGATACT	1680
CACTGTTTAT GAATACACTT GATGTTCAAG TATTAAGACC TATGCAATAT TTTTACTTT	1740
TCTAATAAAC ATGTTTGTTA AAACAAAAAA AAAAAAAAAA AA	1782

- (2) INFORMATION FÜR SEQ ID NR. 3:
- (i) SEQUENZ-EIGENSCHAFTEN:
    - (A) LÄNGE: 1900 Basenpaare
    - (B) ART: Nucleinsäure
    - (C) STRÄNGIGKEIT: einzeln
    - (D) TOPOLOGIE: linear
  - (ii) MOLEKÜLART: cDNS

- (iii) HYPOTHETISCH: NEIN  
 (iv) GEGENSINN: NEIN  
 (xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NR. 3:

```

CCATCCCTCA TAGGACTAAT TATAGGGTTG GGGGGGCCGC CCCCCCAGGT TCGAGTGGCG      60
ATGGGCCGCG GCTGGGGCTT GCTCGTCGGA CTCTTGGGCG TCGTGTGGCT GCTGCGGTCG      120
GGCCAGGGCG AGGAGCAGCA GCAGGAGACA GCGGCACAGC GGTGTTTCTG TCAGGTTAGT      180
GGTTACCTGG ATGACTGTAC CTGTGATGTC GAGACCATCG ATAAGTTTAA TAACTACAGA      240
CTTTTCCCAA GACTACAAAA GCTCCTTGAA AGTGACTACT TTAGATACTA CAAGGTAAAC      300
TTGAGGAAGC CATGTCCTTT CTGGAATGAC ATCAACCAAT GTGGAAGAAG AGACTGTGCT      360
GTCAAACCCT GCCATTCTGA TGAAGTCCCT GATGGAATTA AGTCTGCGAG CTACAAGTAT      420
TCCAAGGAAG CCAACCTCCT TGAGGAGTGT GAGCAGGCTG AGCGGCTCGG AGCAGTGGAC      480
GAATCTCTGA GTGAGGAGAC CCAGAAGGCT GTTCTTCAGT GGACGAAACA CGATGATTCT      540
TCAGACAGCT TCTGTGAAGT TGATGACATA CAGTCCCCCG ATGCTGAGTA TGTGGATTTA      600
CTCCTTAACC CTGAGCGCTA CACAGGCTAC AAGGGGCCGG ACGCTTGGAG GATATGGAGT      660
GTCATCTATG AAGAAAAC TGTTAAGCCA CAGACAATTC AAAGGCCTTT GGCTTCGGGG      720
CAAGGAAAAC ATAAAGAGAA CACATTTTAC AGCTGGCTAG AAGGCCTCTG TGTAGAAAAG      780
AGAGCATTCT ACAGGCTTAT ATCTGGCCTA CACGCAAGCA TCAATGTACA TTTGAGTGCA      840
AGGTATCTTT TACAAGATAA TTGGCTGGAA AAGAAATGGG GTCATAATGT CACAGAGTTT      900
CAGCAGCGCT TTGATGGGGT TTTGACAGAA GGAGAAGGCC CCAGGAGGCT GAAGAACCTG      960
TACTTTCTTT ACCTGATAGA GTTAAGGGCT CTCTCTAAAG TGCTTCCGTT TTTTCGAGCGC     1020
CCAGATTTTC AGCTCTTCAC TGGAAATAAA GTTCAGGATG TGGAAAACAA AGAGTTACTT     1080
CTGGAGATTC TTCATGAAGT CAAGTCATTT CCTTTGCATT TTGATGAGAA TTCTTTTTTT     1140
GCGGGGGATA AAAACGAAGC ACATAAGCTA AAGGAGGACT TCCGCTACA CTTTAGAAAC     1200
ATCTCGAGGA TCATGGACTG CGTCGGCTGC TTCAAGTGCC GCCTGTGGGG CAAGCTTCAG     1260
ACTCAGGGTC TGGGCACTGC TCTGAAGATC TTGTTTTCTG AAAAAGTATG CGCAAATATG     1320
CCCGAAAGCG GACCCAGTTA TGAATTCCAG CTAACCAGAC AAGAAATAGT GTCGTTGTTC     1380
AATGCATTCT GAAGGATTTT CACAAGTGTG AGAGAATTAG AGAACTTCAG ACACTTGTTA     1440
CAGAATGTTC ACTGAGGAGG GCGGCTGGAA CCTGCTTGTT TCTGCACAGG GGAGTCCAGA     1500
GGGCAGAATG TCTGAGCAG GTGATTGCAG TGACCGTCCT GAGCCAAACG TTCATATCAA     1560
GCTGCCTTTG TCAAAGGAGA GATACATTGT TTTAAGTAAA TGACATTTTT AACATTGTG     1620
TTCATGTTTA ATATTATTGT GAATAAAAGT AGTATTTTGG TAATGTACAA ATTTTAATAC     1680
TAAGCAAAAG TAAGGTCATT AAATTGCCCT ATGATGGGGT TGGGGATTTA GCTCAGTGGT     1740
AGAGCTCTTG CCTAGGAAGC GCAAGGCCCT GGGTTCGGTC CCCAGCTCCG AAAAAAAAAA     1800
ACCCCCCCC CAAAAAAAT TGCCCCATA AAAAGGGTAG GTGAATCCTG CCCCAGGCTC     1860
TCCACCTAAA TTTTTTTTG AAAACTTTTT TCCCCAAGG     1900

```

## (2) INFORMATION FÜR SEQ ID NR. 4:

## (i) SEQUENZ-EIGENSCHAFTEN:

(A) LÄNGE: 4121 Basenpaare

(B) ART: Nucleinsäure

(C) STRÄNGIGKEIT: einzeln

(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) MOLEKÜLART: cDNS

(iii) HYPOTHETISCH: NEIN

(iv) GEGENSINN: NEIN

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NR. 4:

RTTTTTTTTT	CCTTTNNAAA	NGGNNAAAGN	NTTCCCCCCN	CCTTCCTTCN	ANTTAAAAAT	60
TTGGNANCCC	AAAANGCTTN	GGGGGGCNNN	GGGNCCCCNT	NGGGGNTTGG	GGAGTTNCNC	120
CNGGNGANNT	TTNCAAGNAA	NTTAAANATT	TTTTCACCCA	ATCNCNNTTT	TGGGGAAAAG	180
CCTTGCCTTC	ACCTTTCCAA	AGCCAACCCG	TTTTCAAAGG	CTTCAGGTAC	CCCCAGTTGG	240
GGAGAAGGGG	CCTTTCTGGC	CAACCCTTGC	TGGCAAACGA	TTTGGTTCCT	GGGAAGATGA	300
TGTTAAGCTA	ATTCAATTCTG	CCAAAGCCAA	AATAGTGTA	CAAGAACAGC	CTGGTACCGG	360
CTTGTTTATC	CCAAATCTTC	TTCTGCAAGT	GGACCATCTG	CTAGCATCAA	TAGTAGCAGT	420
GTTTCAGCAG	GAAGCTACAT	GCTGTTCCCA	AAGGGATGGC	AATGCCTCTG	TCAAGGAAAG	480
ACCCAAC TTC	AAATGCTGCC	GATGGGCCTT	TGCTTAAAGC	CTCAGTGTCC	AGCCCTGTGA	540
AAGCATCTTC	TTCCCCTGTG	AGATCCGCTC	CATTCATCAC	TAGAAACTGT	GAGGTGCAGA	600
GTCCTGAGCT	ACTTCACAAA	ACTGTTAGTC	CTCTGAAAAC	AGAGGTGTTG	AAACCATGTG	660
AGAAGCCAAC	TTTATCCCAG	GCACCTCAGC	CCAAAGAGGG	AGCTAACAAG	GAAGTTTGTC	720
TACAGTCACA	GTCCAAGGAC	AACTTGCAA	CACCAGGAGG	AAGAGGAATT	AAGCCTTTCC	780
TGGAACGCTT	TGGAGAGCGT	TGTCAAGAAC	ACAGTAAAGA	AAGTCCAAC	TGCAGAGCAT	840
TTCATAGAAC	CCCAAATATC	ACTCCAAATA	CAAAAGCTAT	CCAGGAAAGA	TTATTCAAGC	900
AAAACACGTG	TTTCATCTAC	TACCCCAATT	TAGCACAGCA	GCTCAAACAG	GAGCGTGAAA	960
AGGAACTGGC	GTGTCTCCGT	GGCCGATTTG	ACAAGGGCAG	TCTCTGGAGT	GCAGAGAAGG	1020

ATGAAAAGTC	AAGAAGCAAA	CAGCTAGAAA	CCAACAGGAA	GTTCACTGTC	AGAACTCTCC	1080
CCTCAAGAAA	CACCAAATTG	TCTCAAGGCA	CCCCGTGAC	CTCTGTGTCA	GATAAAGTGG	1140
CTGAGACTCC	AACCGCAGTG	AAGATTTCTG	GTACAGAGCC	TGCAGGTTCC	ACTGAAAGCG	1200
AAATGACAAA	GTCCAGCCCT	TTGAAAATAA	CATTGTTTTT	AGAAGAGGAG	AAGTCCTTAA	1260
AAGTAGCATC	AGACCCGGAG	GTTGAGCAGA	AGACTGAAGC	AGTGCATGAA	GTAGAGATGA	1320
GTGTGGACGA	TGAGGATATC	AACAGCTCCA	AGTCATTAAC	GACATCTTCA	GTGANTTCCC	1380
TAGNGGAANG	GGGAACTGGA	CNGTGGAAAA	GANCCAAGGA	GGAGATGGAC	CAAGTGGGGA	1440
ACGGAAAGCA	GCGAGGNGCA	GGAAGATGTG	CNGAATATCT	CCTCAATNTC	TTNACANGNT	1500
CCCGCTGGCT	CAGACGGTTC	GGCGTGGTGA	ATCTACAGAA	TGTAATTTCT	TCACCTGAGT	1560
TGGAATTGAG	AGACTATAGC	CTGAGTGCTC	CAAGTCCCAA	ACCAGGAAAA	TTCCAAAGAA	1620
CTCGTGTCCC	CCGAGCAGAA	TCTGGTGACA	GCCTCAGTTC	TGAGGACCGG	GACCTTCTTT	1680
ACAGCATTGA	TGCATATAGG	TCTCAAAGAT	TCAAAGAAAC	AGAACGCCCT	TCCATAAAGC	1740
AAGTGATTGT	TCGAAAGGAA	GATGTTACTT	CAAAATTGAG	TGAAAAGAAT	GGTGTCTTTT	1800
CTGGTCAAGT	TAATATCAAA	CAAAAAATGC	AGGAACTCAA	TAATGACATA	AATTTGCAGC	1860
AGACAGTGAT	CTATCAGGCC	AGCCAGGCTC	TCAACTGCTG	TGTTGATGAA	GAGCACGGGA	1920
AAGGATCCCT	GGAAGAAGCT	GAGGCAGAAA	GGCTCTTTCT	GANTGCAACT	GAGAAAAGAG	1980
CACCTCTGAT	TGACGAACTG	AATAAGCTGA	AGAGTGAAGG	ACCTCAGAGG	AGAAACAAGA	2040
CCGCTGTGCG	ATCCCAGAGT	GGATTTGCCC	CATGTAAAGG	GTCAGTCACC	TTGTCAGAGA	2100
TCTGCCTGCC	TCTGAAGGCA	GAGTTTGTAT	GCAGCACCGC	GCAAAAGCCA	GAGTCATCGA	2160
ATTACTACTA	CTTAATTATG	CTAAAAGCTG	GGGCTGAGCA	GATGGTGGCC	ACCCCATTAG	2220
CAAGTACTGC	AACTCTCTTA	GTGGTGATGN	CCCTGACATT	CCCCACCACG	TTACCCCNCA	2280
ANGATGTTTC	CAATGACTTT	GAAATAAATG	TTGAAGTTTA	CAGCTTGGTA	CAAAAGAAAG	2340
ATTCCCTCAG	GCCTGAGAAG	AAGAAGAAGG	CGTCCAAGTT	TAAGGCTATT	ACTCCAAAGA	2400
GACTCCTCAC	ATCTATAACT	TCAAAAAGCA	GCCTTCATGC	TTCAGTTATG	GCCAGTCCAG	2460
GAGGTCTCAG	TGCTGTGCGC	ACCAGCAACT	TTACCCTAGT	TGGATCTCAC	AACTCTCCT	2520
TATCTTCTGT	TGGAGACACT	AAGTTTGCTT	TGGACAAGGT	ACCTTTTTTG	TCTCCGTTGG	2580
AAGGTCACAT	CTGTTTAAAA	ATAAGCTGTC	AAGTGAATTC	AGCTGTTGAG	GAAAAGGGTT	2640
TCCTTACCAT	ATTTGAAGAT	GTTAGTGGCT	TTGGTGCCTG	GCACCGAAGA	TGGTGTGTTC	2700
TCTCTGGCAA	CTGTATCTCT	TACTGGACTT	ACCCAGATGA	TGAGAGGCGA	AAGAATCCCA	2760
TAGGAAGGAT	AAATCTGGCC	AATTGTATCA	GTCATCAGAT	AGAACCAGCC	AACAGAGAAT	2820
TTTGTGCAAG	ACGCAAACT	CTGGAATTGA	TTACTGTCCG	ACCACAAAGA	GAAGACGATC	2880
GAGAACTCT	TGTCAGCCAT	GTAGAGACAC	ACTCTGTGTC	ACCCAAGAAC	TGGCTCTCTG	2940
CAGATACTAA	AGAAGAGCGG	GATCTCTGGA	TGCAGAAACT	CAACCAGGTC	ATTGTTGATA	3000

```

TTCGCCTCTG GCAGCCTGAT GCATGCTACA AGCCTGTTGG GAAGCCTTAA GCCGAGGAGC 3060
TTCTGCACCG TGAGAGACTT TGCTAGCTGT GTCTTCTTAA GAAGACAGTT AGAAGCAGCA 3120
GATTTGCAGG TTGTATTCTA TGCTTTAAAT ATAAAAGGGT ATGTGCAAAT ATTCACTACA 3180
TATTGTGCAG TATTATATATC TTTTCTATGT AAAACTTCAC CCAGTTTGTC TTGCATTTCGT 3240
ACATGTTTGA CAGTCAAATA CTAACAATAT TCATGAGAAT TGATATCCAT GCTAAATATA 3300
ACATTAAGAG TCTTGTTTTA TAGAAACCTC ACTAGCCAGT TATTCATGAC AAAAATATT 3360
ATAATCAAGT TCTGATTTGT CCTTTGGAGC TGTGGGTTTG AAGGTATTAA GGTCTCAAAC 3420
AGAAACATTT CAGGACATGT TTAGTAAAGA GATGAGAAAA GGCAGCAAAC ACTAGTTTAA 3480
GCTGCTCAGA GCTGCTTTCC GCAGAGCTGT GGGCAGGACA CCGTAACATT TGGGCCTGCA 3540
TAGTCTATGC TGAAGGGTTA AGAGTCACAC AGCTAGTGCT CACTCTGACC CTACGTGTGC 3600
AGTGTGGGGC ACCTTCTCAC AGTGCTCAGG CTTTACTTAA ACAGCTATTT TTCATGTAGT 3660
TGAGGATCCT CATTAAATG TTCAGCCTTT TCTCTTATAA CAAGAGCAAA TGTAATTTGG 3720
AAAAACACAT ACATAAGGAA TTTCTACCAA GCTGCTGTGA CTACTCCTTT GCTTCCCAGA 3780
GTTCTTGTCT CGTTTTCCTT TCATGTTGAT CTAAACACT TTACAAATCT GTTTTGAGAT 3840
CACTGAAAAA TATATAAAGC TATGCATTCC CTTTAAAGCC CAATGCCTTC TTGCAATTTA 3900
AAAATATTAC AATGCATGGC TGCAGTTTTT AAATAGTCTG TGTTCCTCCT CTGACTGTCA 3960
GTTTATTGAT GGTTTCATTT ATAAACACT AAATTCTATC ACTTGCCATT ATATTTCTTA 4020
CTCCATTTAA ATGTGGGTTT TCTTATGTAT ATTATAAAAG TATTTTATGA CTCCTACATA 4080
AATAAATAAT GTGGAATTGT CNAANCAAA AAAAAAAAAA A 4121

```

## (2) INFORMATION FÜR SEQ ID NR. 5:

## (i) SEQUENZ-EIGENSCHAFTEN:

(A) LÄNGE: 2059 Basenpaare

(B) ART: Nucleinsäure

(C) STRÄNGIGKEIT: einzeln

(D) TOPOLOGIE: linear

## (ii) MOLEKÜLART: cDNA

## (iii) HYPOTHETISCH: NEIN

## (iv) GEGENSINN: NEIN

## (xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NR. 5:

```

ACAAACCACC AAACCACCAA ACCTGTTTAC TCAGATTCAT GGATTGTTCA CATATGTTTT 60
AACCCTCAC CCCACCTCAC AGAGGTGACC GAACCCAGGA CTTAGTCAT GCTGGGCTAG 120
CCCTGCATCC ATGAGCTGTG TGCCCTCAGG CCCTTGCTTA AGCTCCTACG TAGACGTAGA 180
TGTCTGTTT TTATTTAAGG ATTTGAAAAC CAGTCATGGG CACCATGATT TAACACAAAA 240
TACTTCAGTG TGATGGTCTA ATTCCTGAA AATAATTGTT TGTTCCTTCTT TCAAGGAAAA 300

```

ACCAAACCTT ATGAATCCGA GCCGAACCTAT TATAAGCCTT AAAATAAGGA GCCGCCCCGCC	360
CCACATCCCA GTCACCCAGT GTTTGAGTTT GGTTGCCCTT TCTCACCTGT GTAATCACAG	420
GGTATACAAT TCATGTTTCT TATGCATGAA ATTAATTTTC TTTCCCTCTG TGGAGTGGGG	480
CTATATTTTA GACAGGTTTT TATTCGTGGA AGCTCTTCAC TGAGAGCAAT ATTTGAAGTG	540
GCTTAAGAAT TTACGTCACA GCATTTATAA ATGATATACC TCAAAGTTAT GCTCCTTTGA	600
TGTCATATAA TGTCTTGAGC AGTTAGGACA GGTTGAGATG TGACATAAGA AAAAGCAGGA	660
TATGTATGTA ATGGATAGGA ATGTCACCTT ACACCTGTTGT GTATTTTCTC TGTCCCTAAG	720
ACTTGGTGTA GTGCCAAGCA TACAGTTGGT ATCTAATTTT TGTTGATGGA AAGTGTATGG	780
ATTTAGTATA CCTTAAGTGA ATGGTGTAGC TTGTGTAACA ATGTACCCTA TCTCCCCTTC	840
CCTCTCACTT TTTCTTTCAA ATCGCATAAT AAACCCACAG ATTAGATCAG CTTTCTGGGC	900
GGCGACTTCG AAAAGTACTA AATGATCACC GCACAGAAGC CAGCCCTTTG AAACCCTCAC	960
TGCTTTCCTT TCGCTTCTCC CACTTGACTG TCCCTGTGTC CTCTGTCTCT CCAAGGAAGG	1020
TCTAAACTCC TACGTCTTTC GTTAACAAGC AGTTAATTTT TTAAGAAATC TTAACCTTTC	1080
CTGTGCTTGA CACAATTGAC AATCCCTTTC TTCAAGCCCC ACCACTCTGC GTCCTTGTAT	1140
CTGGCTTGCT CCTGGGTCTC TTCCTTCTGG TCTCTTCATG TAACCGAAAT ATTAATTCCC	1200
CAGACTTTTC TTTCTTGCTC TAAGTCACTG GACCATACTC TTGTGTAATT TCCATGCAGT	1260
CATCTTATCT TAGCTTCTGT TTTCTGCTG CGGTCACCTG GCTACCTGTT GCCACGTCTT	1320
CAAGGACTCA CTTCGTTTGC GCTCCTCACT TGGTTAGTTT CAGAACATTA CACTGTTCAA	1380
GGTTCTCCAG TTCGCTCTTC TGTCTTCTGC CTGACTATCG GTGTCTACGT TCTGCTGCTT	1440
CTACTCCAAC ATTTCTATCA CTGTCTTTCA ATTTTATTA CAGTTACTCA AAGGATTTCC	1500
TGTGTTTATT TTCCCATCTC TGTGGCCCA GATTACCGAA TTGGGCTTTC TAGAAGCATT	1560
CAGCCTCATC CCTGCTACAG GCAGTTTTAG GAGCTTTTTG GTGAGAGTCT CTGCTTGGA	1620
TCTAAGACCC TCCTCTTGTG TTTGCCACTC TGCTCTGATA AGAGTGTTAA AGAGTTTTCC	1680
AGAAGTCCAG AGTTGTAGCC CTCCAGACCT TCGTAGACAC CATATTTGCA TGGAGAGCCC	1740
TAGGCTTCTT CTGGGAAACT CCATGCGTTC TTGAGACTCT GTGACATTAA TTACCCTGGC	1800
CCTTCCTTTG GTCACCATTA TAGTTGCAAC CTACCTCTAT TGAATCACTT ATTGTACTGT	1860
ATATTTTATT TTTTAAAGTG TCCTTTACTA GAATGTGAGC TCCTCAGGGG CAGGCAAAGA	1920
AACCTCATTC ATTTGGCATC TCTATAGCAT AATGTTTGGT ATATGAGCAT TTAATAAATG	1980
TTGAATAAAT TGCTTCACAT GACAGCTGTT CCTCATGGCG GGCGTCTTCA CTGCCTTTGT	2040
TGCAAAACGG GGGGGAAAA	2059

- (2) INFORMATION FÜR SEQ ID NR. 6:
- (i) SEQUENZ-EIGENSCHAFTEN:
    - (A) LÄNGE: 1987 Basenpaare
    - (B) ART: Nucleinsäure
    - (C) STRÄNGIGKEIT: einzeln
    - (D) TOPOLOGIE: linear

- (ii) MOLEKÜLART: cDNS  
 (iii) HYPOTHETISCH: NEIN  
 (iv) GEGENSINN: NEIN  
 (xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NR. 6:

CTCGAGAGCT	CCGCCATGGC	CGCTCTCACC	CGGGACCCCC	AGTTCCAGAA	GCTGCAGCAA	60
TGGTACCGCG	AGCACCGCTC	CGAGCTGAAC	CTGCGCCGCC	TCTTCGATGC	CAACAAGGAC	120
CGCTTCAACC	ACTTCAGCTT	GACCCTCAAC	ACCAACCATG	GGCATATCCT	GGTGGATTAC	180
TCCAAGAACC	TGGTGACGGA	GGACGTGATG	CGGATGCTGG	TGGACTTGGC	CAAGTCCAGG	240
GGCGTGGAGG	CCGCCCCGGA	GCGGATGTTT	AATGGTGAGA	AGATCAACTA	CACCGAGGGT	300
CGAGCCGTGC	TGCACGTGGC	TCTGCGGAAC	CGGTCAAACA	CACCCATCCT	GGTAGACGGC	360
AAGGATGTGA	TGCCAGAGGT	CAACAAGGTT	CTGGACAAGA	TGAAGTCTTT	CTGCCAGCGT	420
GTCCGGAGCG	GTGACTGGAA	GGGGTACACA	GGCAAGACCA	TCACGGACGT	CATCAACATT	480
GGCATTGTGC	GCTCCGACCT	GGGACCCCTC	ATGGTGACTG	AAGCCCTTAA	GCCATACTCT	540
TCAGGAGGTC	CCCGCGTCTG	GTATGTCTCC	AACATTGATG	GAATCACAT	TGCCAAAACC	600
CTGGCCCAGC	TGAACCCGGA	GTCCTCCCTG	TTCATCATTG	CCTCCAAGAC	CTTTACTACC	660
CAGGAGACCA	TCACGAATGC	AGAGACGGCG	AAGGAGTGGT	TTCTCCAGGC	GGCCAAGGAT	720
CCTTCTGCAG	TGGCGAAGCA	CTTTGTTGCC	CTGTCTACTA	ACACAACCAA	AGTGAAGGAG	780
TTTGGAATTG	ACCCTCAAAA	CATGTTGAG	TTCTGGGATT	GGGTGGGAGG	ACGCTACTCG	840
CTGTGGTCGG	CCATCGGACT	CTCCATTGCC	CTGCACGTGG	GTTTTGACAA	CTTCGAGCAG	900
CTGCTCTCGG	GGGCTCACTG	GATGGACCAG	CACTTCCGCA	CGACGCCCCCT	GGAGAAGAAC	960
GGCCCCGTCT	TGCTGGCCCT	GCTGGGTATC	TGGTACATCA	ACTGCTTTGG	GTGTGAGACA	1020
CACGCCATGC	TGCCCTATGA	CCAGTACCTG	CACCGCTTTG	CTGCGTACTT	CCAGCAGGGC	1080
GACATGGAGT	CCAATGGGAA	ATACATCACC	AAATCTGGAA	CCCGTGTGGA	CCACCAGACA	1140
GGCCCCATTG	TGTGGGGGGA	GCCAGGGACC	AATGGCCAGC	ATGCTTTTTTA	CCAGCTCATC	1200
CACCAAGGCA	CCAAGATGAT	ACCCTGTGAC	TTCTCATCC	CGGTCCAGAC	CCAGCACCCC	1260
ATACGGAAGG	GTCTGCATCA	CAAGATCCTC	CTGGCCAAC	TCTTGCCCCA	GACAGAGGCC	1320
CTGATGAGGG	GAAAATCGAC	GGAGGAGGCC	CGAAAGGAGC	TCCAGGCTGC	GGGCAAGAGT	1380
CCAGAGGACC	TTGAGAGGCT	GCTGCCACAT	AAGGTCTTTG	AAGGAAATCG	CCCAACCAAC	1440
TCTATTGTGT	TCACCAAGCT	CACACCATTG	ATGCTTGGAG	CCTTGGTCGC	CATGTATGAG	1500
CACAAGATCT	TCGTTTCAGGG	CATCATCTGG	GACATCAACA	GCTTTGACCA	GTGGGGAGTG	1560
GAGCTGGGAA	AGCAGCTGGC	TAAGAAAATA	GAGCCTGAGC	TTGATGGCAG	TGCTCAAGTG	1620

ACCTCTCAGC ACGCTTCTAC CAATGGGCTC ATCAACTTCA TCAAGCAGCA GCGCGAGGCC 1680  
 AGAGTCCAAT AAATCTGTGC TCATCTGCAG CCTCCTCTGT GACTCCCCCTT TCTCTTCTCG 1740  
 TCCCTCCTCC CCGGAGCCGG CACTGCATGT TCCTGGACAC CACCCAGAGC ACCCTCTGGT 1800  
 TGTGGGCTTG GACCACGAGC CCTTAGCAGG GAAGGCTGGT CTCCCCCAGC CTAACCCCCA 1860  
 GCCCCCTCCAT GTCTATGCTC CCTCTGTGTT AGAATTGGCT GAAGTGTTTT TGTGCAGCTG 1920  
 ACTTTTCTGA CCCATGTTCA CGTTGTTTAC ATCCCATGTA GAAAAACAAA GATGCCACGG 1980  
 AGGAGGT 1987

## (2) INFORMATION FÜR SEQ ID NR. 7:

## (i) SEQUENZ-EIGENSCHAFTEN:

(A) LÄNGE: 464 Aminosäuren

(B) ART: Aminosäure

(C) STRÄNGIGKEIT: einzeln

(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) MOLEKÜLART: Protein

(iii) HYPOTHETISCH: NEIN

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NR. 7:

Met Gly Arg Gly Trp Gly Leu Leu Val Gly Leu Leu Gly Val Val Trp  
 1 5 10 15  
 Leu Leu Arg Ser Gly Gln Gly Glu Glu Gln Gln Gln Glu Thr Ala Ala  
 20 25 30  
 Gln Arg Cys Phe Cys Gln Val Ser Gly Tyr Leu Asp Asp Cys Thr Cys  
 35 40 45  
 Asp Val Glu Thr Ile Asp Lys Phe Asn Asn Tyr Arg Leu Phe Pro Arg  
 50 55 60  
 Leu Gln Lys Leu Leu Glu Ser Asp Tyr Phe Arg Tyr Tyr Lys Val Asn  
 65 70 75 80  
 Leu Arg Lys Pro Cys Pro Phe Trp Asn Asp Ile Asn Gln Cys Gly Arg  
 85 90 95  
 Arg Asp Cys Ala Val Lys Pro Cys His Ser Asp Glu Val Pro Asp Gly  
 100 105 110  
 Ile Lys Ser Ala Ser Tyr Lys Tyr Ser Lys Glu Ala Asn Leu Leu Glu  
 115 120 125  
 Glu Cys Glu Pro Ala Glu Arg Leu Gly Ala Val Asp Glu Ser Leu Ser  
 130 135 140  
 Glu Glu Thr Gln Lys Ala Val Leu Gln Trp Thr Lys His Asp Asp Ser  
 145 150 155 160  
 Ser Asp Ser Phe Cys Glu Val Asp Asp Ile Gln Ser Pro Asp Ala Glu  
 165 170 175  
 Tyr Val Asp Leu Leu Leu Asn Pro Glu Arg Tyr Thr Gly Tyr Lys Gly  
 180 185 190

Pro Asp Ala Trp Arg Ile Trp Ser Val Ile Tyr Glu Glu Asn Cys Phe  
 195 200 205  
 Lys Pro Gln Thr Phe Gln Arg Pro Leu Ala Ser Gly Gln Gly Lys His  
 210 215 220  
 Lys Glu Asn Thr Phe Tyr Ser Trp Leu Glu Gly Leu Cys Val Glu Lys  
 225 230 235 240  
 Arg Ala Phe Tyr Arg Leu Ile Ser Gly Leu His Ala Ser Ile Asn Val  
 245 250 255  
 His Leu Ser Ala Arg Tyr Leu Leu Gln Asp Asn Trp Leu Glu Lys Lys  
 260 265 270  
 Trp Gly His Asn Val Thr Glu Phe Gln Gln Arg Phe Asp Gly Val Leu  
 275 280 285  
 Thr Glu Gly Glu Gly Pro Arg Arg Leu Lys Asn Leu Tyr Phe Leu Tyr  
 290 295 300  
 Leu Ile Glu Leu Arg Ala Leu Ser Lys Val Leu Pro Phe Phe Glu Arg  
 305 310 315 320  
 Pro Asp Phe Gln Leu Phe Thr Gly Asn Lys Val Gln Asp Val Glu Asn  
 325 330 335  
 Lys Glu Leu Leu Glu Ile Leu His Glu Val Lys Ser Phe Pro Leu  
 340 345 350  
 His Phe Asp Glu Asn Ser Phe Phe Ala Gly Asp Lys Asn Glu Ala His  
 355 360 365  
 Lys Leu Lys Glu Asp Phe Arg Leu His Phe Arg Asn Ile Ser Arg Ile  
 370 375 380  
 Met Asp Cys Val Gly Cys Phe Lys Cys Arg Leu Trp Gly Lys Leu Gln  
 385 390 395 400  
 Thr Gln Gly Leu Gly Thr Ala Leu Lys Ile Leu Phe Ser Glu Lys Leu  
 405 410 415  
 Ile Ala Asn Met Pro Glu Ser Gly Pro Ser Tyr Glu Phe Gln Leu Thr  
 420 425 430  
 Arg Gln Glu Ile Val Ser Leu Phe Asn Ala Phe Gly Arg Ile Ser Thr  
 435 440 445  
 Ser Val Arg Glu Leu Glu Asn Phe Arg His Leu Leu Gln Asn Val His  
 450 455 460

## (2) INFORMATION FÜR SEQ ID NR. 8:

## (i) SEQUENZ-EIGENSCHAFTEN:

- (A) LÄNGE: 558 Aminosäuren
- (B) ART: Aminosäure
- (C) STRÄNGIGKEIT: einzeln
- (D) TOPOLOGIE: linear

## (ii) MOLEKÜLART: Protein

## (iii) HYPOTHETISCH: NEIN

## (xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NR. 8:

Met Ala Ala Leu Thr Arg Asp Pro Gln Phe Gln Lys Leu Gln Gln Trp  
 1 5 10 15  
 Tyr Arg Glu His Arg Ser Glu Leu Asn Leu Arg Arg Leu Phe Asp Ala  
 20 25 30  
 Asn Lys Asp Arg Phe Asn His Phe Ser Leu Thr Leu Asn Thr Asn His  
 35 40 45  
 Gly His Ile Leu Val Asp Tyr Ser Lys Asn Leu Val Thr Glu Asp Val  
 50 55 60  
 Met Arg Met Leu Val Asp Leu Ala Lys Ser Arg Gly Val Glu Ala Ala  
 65 70 75 80  
 Arg Glu Arg Met Phe Asn Gly Glu Lys Ile Asn Tyr Thr Glu Gly Arg  
 85 90 95  
 Ala Val Leu His Val Ala Leu Arg Asn Arg Ser Asn Thr Pro Ile Leu  
 100 105 110  
 Val Asp Gly Lys Asp Val Met Pro Glu Val Asn Lys Val Leu Asp Lys  
 115 120 125  
 Met Lys Ser Phe Cys Gln Arg Val Arg Ser Gly Asp Trp Lys Gly Tyr  
 130 135 140  
 Thr Gly Lys Thr Ile Thr Asp Val Ile Asn Ile Gly Ile Val Gly Ser  
 145 150 155 160  
 Asp Leu Gly Pro Leu Met Val Thr Glu Ala Leu Lys Pro Tyr Ser Ser  
 165 170 175  
 Gly Gly Pro Arg Val Trp Tyr Val Ser Asn Ile Asp Gly Thr His Ile  
 180 185 190  
 Ala Lys Thr Leu Ala Gln Leu Asn Pro Glu Ser Ser Leu Phe Ile Ile  
 195 200 205  
 Ala Ser Lys Thr Phe Thr Thr Gln Glu Thr Ile Thr Asn Ala Glu Thr  
 210 215 220  
 Ala Lys Glu Trp Phe Leu Gln Ala Ala Lys Asp Pro Ser Ala Val Ala  
 225 230 235 240  
 Lys His Phe Val Ala Leu Ser Thr Asn Thr Thr Lys Val Lys Glu Phe  
 245 250 255  
 Gly Ile Asp Pro Gln Asn Met Phe Glu Phe Trp Asp Trp Val Gly Gly  
 260 265 270  
 Arg Tyr Ser Leu Trp Ser Ala Ile Gly Leu Ser Ile Ala Leu His Val  
 275 280 285  
 Gly Phe Asp Asn Phe Glu Gln Leu Leu Ser Gly Ala His Trp Met Asp  
 290 295 300  
 Gln His Phe Arg Thr Thr Pro Leu Glu Lys Asn Ala Pro Val Leu Leu  
 305 310 315 320  
 Ala Leu Leu Gly Ile Trp Tyr Ile Asn Cys Phe Gly Cys Glu Thr His  
 325 330 335

```

Leu Pro Tyr Asp Gln Tyr Leu His Arg Phe Ala Ala
340                               345           350

Gln Gln Gly Asp Met Glu Ser Asn Gly Lys Tyr Ile Thr Lys Ser Gly
355                               360           365

Thr Arg Val Asp His Gln Thr Gly Pro Ile Val Trp Gly Glu Pro Gly
370                               375           380

Thr Asn Gly Gln His Ala Phe Tyr Gln Leu Ile His Gln Gly Thr Lys
385                               390           395           400

Met Ile Pro Cys Asp Phe Leu Ile Pro Val Gln Thr Gln His Pro Ile
405                               410           415

Arg Lys Gly Leu His His Lys Ile Leu Leu Ala Asn Phe Leu Ala Gln
420                               425           430

Thr Glu Ala Leu Met Arg Gly Lys Ser Thr Glu Glu Ala Arg Lys Glu
435                               440           445

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

His Lys Val Phe Glu Gly Asn Arg Pro Thr Asn Ser Ile Val Phe Thr
465                               470           475           480

Lys Leu Thr Pro Phe Met Leu Gly Ala Leu Val Ala Met Tyr Glu His
485                               490           495

Lys Ile Phe Val Gln Gly Ile Ile Trp Asp Ile Asn Ser Phe Asp Gln
500                               505           510

Trp Gly Val Glu Leu Gly Lys Gln Leu Ala Lys Lys Ile Glu Pro Glu
515                               520           525

Leu Asp Gly Ser Ala Gln Val Thr Ser His Asp Ala Ser Thr Asn Gly
530                               535           540

Leu Ile Asn Phe Ile Lys Gln Gln Arg Glu Ala Arg Val Gln
545                               550           555

```

## (2) INFORMATION FÜR SEQ ID NR. 9:

## (i) SEQUENZ-EIGENSCHAFTEN:

- (A) LÄNGE: 229 Aminosäuren
- (B) ART: Aminosäure
- (C) STRÄNGIGKEIT: einzeln
- (D) TOPOLOGIE: linear

## (ii) MOLEKÜLART: Protein

## (iii) HYPOTHETISCH: NEIN

## (xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NR. 9:

```

Met Pro Ser Leu Trp Asp Arg Phe Ser Ser Ser Ser Ser Ser Ser
1      5      10      15

Ser Ser Arg Thr Pro Ala Ala Asp Arg Pro Pro Arg Ser Ala Trp Gly
20      25      30

Ser Ala Ala Arg Glu Glu Gly Leu Asp Arg Cys Ala Ser Leu Glu Ser
35      40      45

```

Ser Asp Cys Glu Ser Leu Asp Ser Ser Asn Ser Gly Phe Gly Pro Glu  
 50 55 60  
 Glu Asp Ser Ser Tyr Leu Asp Gly Val Ser Leu Pro Asp Phe Glu Leu  
 65 70 75 80  
 Leu Ser Asp Pro Glu Asp Glu His Leu Cys Ala Asn Leu Met Gln Leu  
 85 90 95  
 Leu Gln Glu Ser Leu Ser Gln Ala Arg Leu Gly Ser Arg Arg Pro Ala  
 100 105 110  
 Arg Leu Leu Met Pro Ser Gln Leu Leu Ser Gln Val Gly Lys Glu Leu  
 115 120 125  
 Leu Arg Leu Ala Tyr Ser Glu Pro Cys Gly Leu Arg Gly Ala Leu Leu  
 130 135 140  
 Asp Val Cys Val Glu Gln Gly Lys Ser Cys His Ser Val Ala Gln Leu  
 145 150 155 160  
 Ala Leu Asp Pro Ser Leu Val Pro Thr Phe Gln Leu Thr Leu Val Leu  
 165 170 175  
 Arg Leu Asp Ser Arg Leu Trp Pro Lys Ile Gln Gly Leu Leu Ser Ser  
 180 185 190  
 Ala Asn Ser Ser Leu Val Pro Gly Tyr Ser Gln Ser Leu Thr Leu Ser  
 195 200 205  
 Thr Gly Phe Arg Val Ile Lys Lys Lys Leu Tyr Ser Ser Glu Gln Leu  
 210 215 220  
 Leu Ile Glu Glu Cys  
 225

- (2) INFORMATION FÜR SEQ ID NR. 10:
- (i) SEQUENZ-EIGENSCHAFTEN:
    - (A) LÄNGE: 232 Aminosäuren
    - (B) ART: Aminosäure
    - (C) STRÄNGIGKEIT: einzeln
    - (D) TOPOLOGIE: linear
  - (ii) MOLEKÜLART: Protein
  - (iii) HYPOTHETISCH: NEIN
  - (xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NR. 10:

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

Phe Glu Leu Leu Ser Asp Pro Glu Asp Glu His Leu Cys Ala Asn Leu  
 85 90 95  
 Met Gln Leu Leu Gln Glu Ser Leu Ala Gln Ala Arg Leu Gly Ser Arg  
 100 105 110  
 Arg Pro Ala Arg Leu Leu Met Pro Ser Gln Leu Val Ser Gln Val Gly  
 115 120 125  
 Lys Glu Leu Leu Arg Leu Ala Tyr Ser Glu Pro Cys Gly Leu Arg Gly  
 130 135 140  
 Ala Leu Leu Asp Val Cys Val Glu Gln Gly Lys Ser Cys His Ser Val  
 145 150 155 160  
 Gly Gln Leu Ala Leu Asp Pro Ser Leu Val Pro Thr Phe Gln Leu Thr  
 165 170 175  
 Leu Val Leu Arg Leu Asp Ser Arg Leu Trp Pro Lys Ile Gln Gly Leu  
 180 185 190  
 Phe Ser Ser Ala Asn Ser Pro Phe Leu Pro Gly Phe Ser Gln Ser Leu  
 195 200 205  
 Thr Leu Ser Thr Gly Phe Arg Val Ile Lys Lys Lys Leu Tyr Ser Ser  
 210 215 220  
 Glu Gln Leu Leu Ile Glu Glu Cys  
 225 230

## (2) INFORMATION FÜR SEQ ID NR. 11:

## (i) SEQUENZ-EIGENSCHAFTEN:

(A) LÄNGE: 864 Aminosäuren

(B) ART: Aminosäure

(C) STRÄNGIGKEIT: einzeln

(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) MOLEKÜLART: Protein

(iii) HYPOTHETISCH: NEIN

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NR.11:

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

Gly	Glu	Arg	Cys	Gln	Glu	His	Ser	Lys	Glu	Ser	Pro	Thr	Cys	Arg	Ala	115	120	125
Phe	His	Arg	Thr	Pro	Asn	Ile	Thr	Pro	Asn	Thr	Lys	Ala	Ile	Gln	Glu	130	135	140
Arg	Leu	Phe	Lys	Gln	Asn	Thr	Cys	Phe	Ile	Tyr	Tyr	Pro	Asn	Leu	Ala	145	150	155
Gln	Gln	Leu	Lys	Gln	Glu	Arg	Glu	Lys	Glu	Leu	Ala	Cys	Leu	Arg	Gly	165	170	175
Arg	Phe	Asp	Lys	Gly	Ser	Leu	Trp	Ser	Ala	Glu	Lys	Asp	Glu	Lys	Ser	180	185	190
Arg	Ser	Lys	Gln	Leu	Glu	Thr	Asn	Arg	Lys	Phe	Thr	Val	Arg	Thr	Leu	195	200	205
Pro	Ser	Arg	Asn	Thr	Lys	Leu	Ser	Gln	Gly	Thr	Pro	Ser	Thr	Ser	Val	210	215	220
Ser	Asp	Lys	Val	Ala	Glu	Thr	Pro	Thr	Ala	Val	Lys	Ile	Ser	Gly	Thr	225	230	235
Glu	Pro	Ala	Gly	Ser	Thr	Glu	Ser	Glu	Met	Thr	Lys	Ser	Ser	Pro	Leu	245	250	255
Lys	Ile	Thr	Leu	Phe	Leu	Glu	Glu	Glu	Lys	Ser	Leu	Lys	Val	Ala	Ser	260	265	270
Asp	Pro	Glu	Val	Glu	Gln	Lys	Thr	Glu	Ala	Val	His	Glu	Val	Glu	Met	275	280	285
Ser	Val	Asp	Asp	Glu	Asp	Ile	Asn	Ser	Ser	Lys	Ser	Leu	Thr	Thr	Ser	290	295	300
Ser	Val	Xaa	Ser	Leu	Xaa	Glu	Xaa	Gly	Thr	Gly	Xaa	Trp	Lys	Arg	Xaa	305	310	315
Lys	Glu	Glu	Met	Asp	Gln	Val	Gly	Asn	Gly	Lys	Gln	Arg	Gly	Ala	Gly	325	330	335
Arg	Cys	Ala	Glu	Tyr	Leu	Leu	Asn	Xaa	Xaa	Thr	Xaa	Ser	Arg	Trp	Leu	340	345	350
Arg	Arg	Phe	Gly	Val	Val	Asn	Leu	Gln	Asn	Val	Ile	Ser	Ser	Pro	Glu	355	360	365
Leu	Glu	Leu	Arg	Asp	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ala	Pro	Ser	Pro	Lys	Pro	Gly	370	375	380
Lys	Phe	Gln	Arg	Thr	Arg	Val	Pro	Arg	Ala	Glu	Ser	Gly	Asp	Ser	Leu	385	390	395
Ser	Ser	Glu	Asp	Arg	Asp	Leu	Leu	Tyr	Ser	Ile	Asp	Ala	Tyr	Arg	Ser	405	410	415
Gln	Arg	Phe	Lys	Glu	Thr	Glu	Arg	Pro	Ser	Ile	Lys	Gln	Val	Ile	Val	420	425	430
Arg	Lys	Glu	Asp	Val	Thr	Ser	Lys	Leu	Ser	Glu	Lys	Asn	Gly	Val	Phe	435	440	445
Ser	Gly	Gln	Val	Asn	Ile	Lys	Gln	Lys	Met	Gln	Glu	Leu	Asn	Asn	Asp	450	455	460

Ile Asn Leu Gln Gln Thr Val Ile Tyr Gln Ala Ser Gln Ala Leu Asn  
 465 470 475 480  
 Cys Cys Val Asp Glu Glu His Gly Lys Gly Ser Leu Glu Glu Ala Glu  
 485 490 495  
 Ala Glu Arg Leu Phe Leu Xaa Ala Thr Glu Lys Arg Ala Leu Leu Ile  
 500 505 510  
 Asp Glu Leu Asn Lys Leu Lys Ser Glu Gly Pro Gln Arg Arg Asn Lys  
 515 520 525  
 Thr Ala Val Ala Ser Gln Ser Gly Phe Ala Pro Cys Lys Gly Ser Val  
 530 535 540  
 Thr Leu Ser Glu Ile Cys Leu Pro Leu Lys Ala Glu Phe Val Cys Ser  
 545 550 555 560  
 Thr Ala Gln Lys Pro Glu Ser Ser Asn Tyr Tyr Tyr Leu Ile Met Leu  
 565 570 575  
 Lys Ala Gly Ala Glu Gln Met Val Ala Thr Pro Leu Ala Ser Thr Ala  
 580 585 590  
 Thr Leu Leu Val Val Met Xaa Leu Thr Phe Pro Thr Thr Leu Pro Xaa  
 595 600 605  
 Xaa Asp Val Ser Asn Asp Phe Glu Ile Asn Val Glu Val Tyr Ser Leu  
 610 615 620  
 Val Gln Lys Lys Asp Ser Leu Arg Pro Glu Lys Lys Lys Lys Ala Ser  
 625 630 635 640  
 Lys Phe Lys Ala Ile Thr Pro Lys Arg Leu Leu Thr Ser Ile Thr Ser  
 645 650 655  
 Lys Ser Ser Leu His Ala Ser Val Met Ala Ser Pro Gly Gly Leu Ser  
 660 665 670  
 Ala Val Arg Thr Ser Asn Phe Thr Leu Val Gly Ser His Thr Leu Ser  
 675 680 685  
 Leu Ser Ser Val Gly Asp Thr Lys Phe Ala Leu Asp Lys Val Pro Phe  
 690 695 700  
 Leu Ser Pro Leu Glu Gly His Ile Cys Leu Lys Ile Ser Cys Gln Val  
 705 710 715 720  
 Asn Ser Ala Val Glu Glu Lys Gly Phe Leu Thr Ile Phe Glu Asp Val  
 725 730 735  
 Ser Gly Phe Gly Ala Trp His Arg Arg Trp Cys Val Leu Ser Gly Asn  
 740 745 750  
 Cys Ile Ser Tyr Trp Thr Tyr Pro Asp Asp Glu Arg Arg Lys Asn Pro  
 755 760 765  
 Ile Gly Arg Ile Asn Leu Ala Asn Cys Ile Ser His Gln Ile Glu Pro  
 770 775 780  
 Ala Asn Arg Glu Phe Cys Ala Arg Arg Asn Thr Leu Glu Leu Ile Thr  
 785 790 795 800  
 Val Arg Pro Gln Arg Glu Asp Asp Arg Glu Thr Leu Val Ser His Val  
 805 810 815

Glu	Thr	His	Ser	Val	Ser	Pro	Lys	Asn	Trp	Leu	Ser	Ala	Asp	Thr	Lys
			820					825					830		
Glu	Glu	Arg	Asp	Leu	Trp	Met	Gln	Lys	Leu	Asn	Gln	Val	Ile	Val	Asp
		835					840					845			
Ile	Arg	Leu	Trp	Gln	Pro	Asp	Ala	Cys	Tyr	Lys	Pro	Val	Gly	Lys	Pro
	850					855					860				

### Patentansprüche

1. Isoliertes Polypeptid mit einer Aminosäuresequenz, ausgewählt aus der Gruppe, bestehend aus SEQ ID Nr. 9 und SEQ ID Nr. 10.
2. Isoliertes Polypeptid nach Anspruch 1 mit der Aminosäuresequenz der SEQ ID Nr. 9.
3. Isoliertes Polypeptid nach Anspruch 1 mit der Aminosäuresequenz der SEQ ID Nr. 10.
4. Isoliertes Nucleinsäuremolekül, umfassend eine Sequenz, die ein Polypeptid mit einer Aminosäuresequenz kodiert, die ausgewählt ist aus der Gruppe, bestehend aus SEQ ID Nr. 9 und SEQ ID Nr. 10.
5. Isoliertes Nucleinsäuremolekül nach Anspruch 4, umfassend eine Sequenz, die ein Polypeptid mit der Aminosäuresequenz der SEQ ID Nr. 9 kodiert.
6. Isoliertes Nucleinsäuremolekül nach Anspruch 4, umfassend eine Sequenz, die ein Polypeptid mit der Aminosäuresequenz der SEQ ID Nr. 10 kodiert.
7. Isoliertes Nucleinsäuremolekül nach Anspruch 4 mit der Sequenz der SEQ ID Nr. 1 oder SEQ ID Nr. 2.
8. Isoliertes Nucleinsäuremolekül nach Anspruch 7 mit der Sequenz der SEQ ID Nr. 1.
9. Isoliertes Nucleinsäuremolekül nach Anspruch 7 mit der Sequenz der SEQ ID Nr. 2.
10. Antikörper, der spezifisch an ein Polypeptid mit einer Aminosäuresequenz, die ausgewählt ist aus der Gruppe, bestehend aus SEQ ID Nr. 9 und SEQ ID Nr. 10, bindet.
11. Antikörper nach Anspruch 10, der spezifisch an ein Polypeptid mit der Aminosäuresequenz der SEQ ID Nr. 9 bindet.
12. Antikörper nach Anspruch 10, der spezifisch an ein Polypeptid mit der Aminosäuresequenz der SEQ ID Nr. 10 bindet.
13. Antikörper nach Anspruch 10, der ein monoklonaler oder polyklonaler Antikörper ist.
14. Antikörper nach Anspruch 13, der mit einer detektierbaren Einheit konjugiert ist.
15. Polypeptidmolekül, kodiert durch die Nucleinsäure nach Anspruch 8 oder Anspruch 9.
16. Polypeptidmolekül nach Anspruch 15, kodiert durch die Nucleinsäure mit der Sequenz der SEQ ID Nr. 1.
17. Polypeptidmolekül nach Anspruch 15, kodiert durch die Nucleinsäure mit der Sequenz der SEQ ID Nr. 2.
18. Isoliertes Polypeptidmolekül, kodiert durch die Nucleinsäure mit der Sequenz der SEQ ID Nr. 1 oder SEQ ID Nr. 2.
19. Polypeptidmolekül nach Anspruch 18, kodiert durch Nucleinsäure mit der Sequenz der SEQ ID Nr. 1.
20. Polypeptidmolekül nach Anspruch 18, kodiert durch Nucleinsäure mit der Sequenz der SEQ ID Nr. 2.

Es folgen 5 Blatt Zeichnungen

Anhängende Zeichnungen

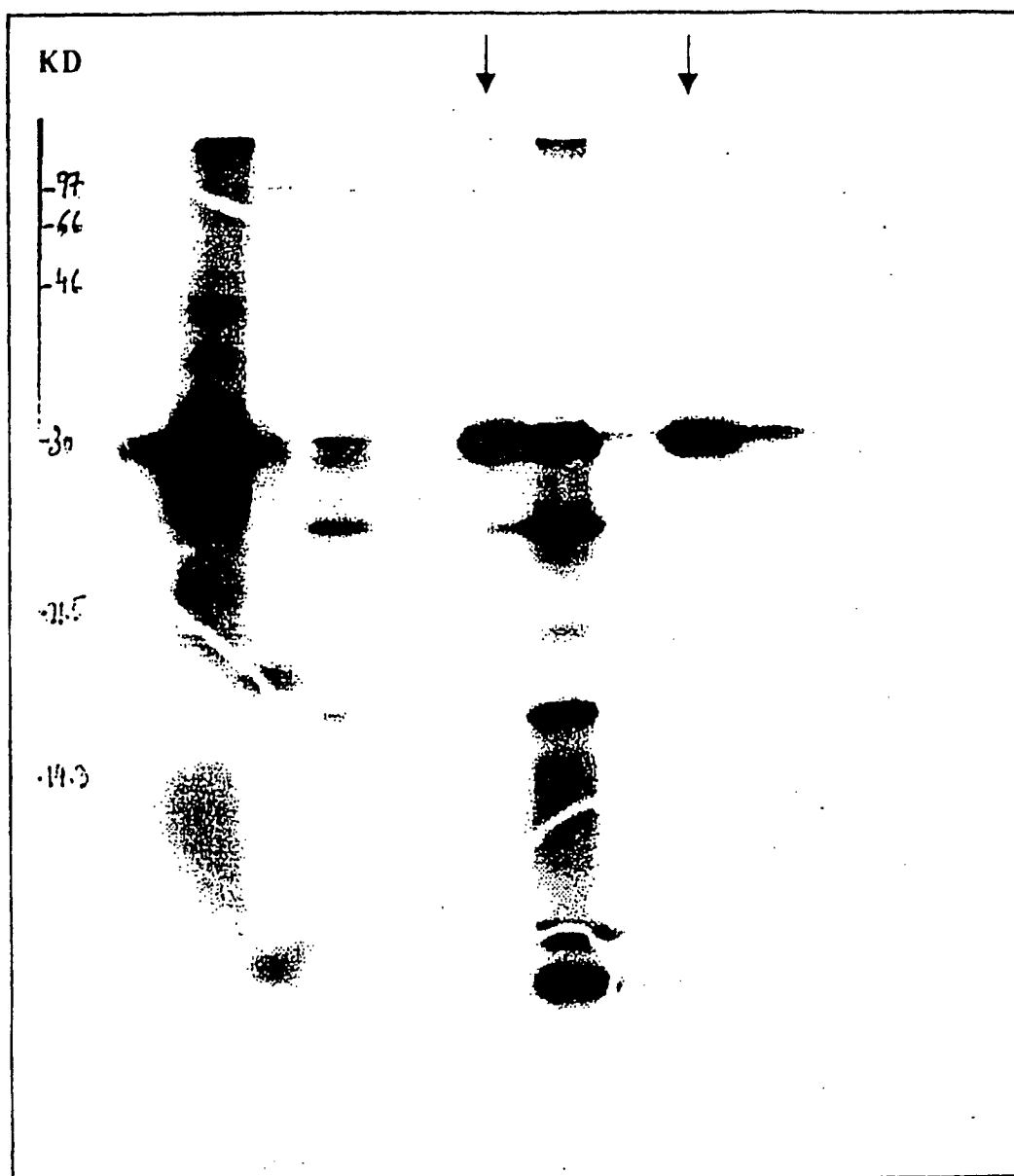


Fig-1

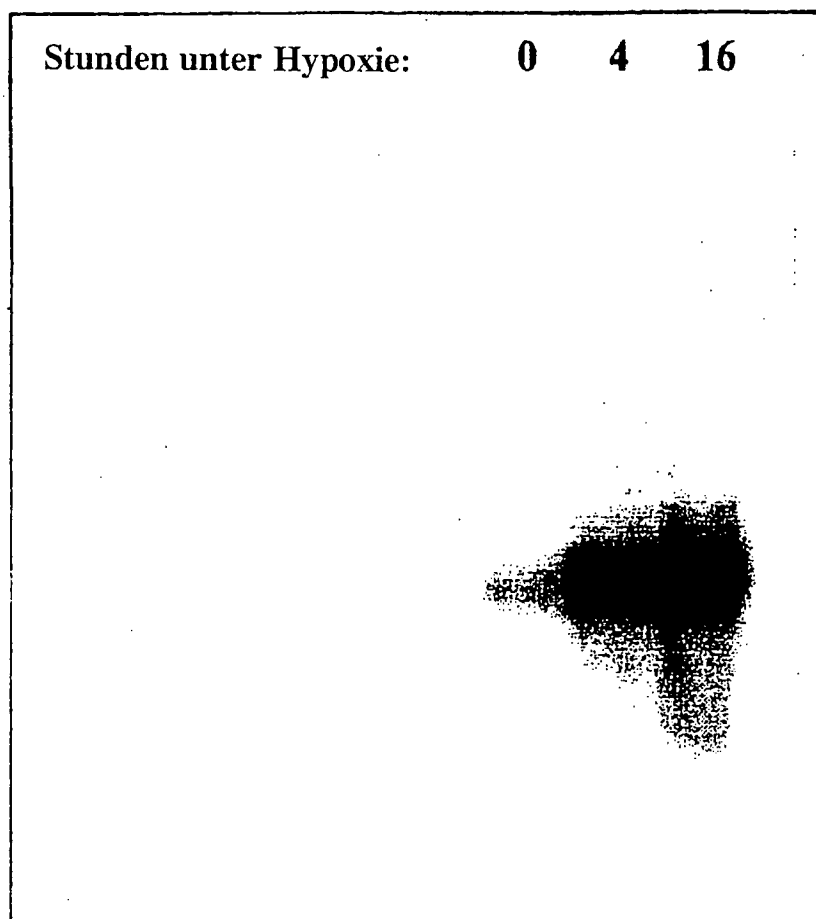


Fig-2

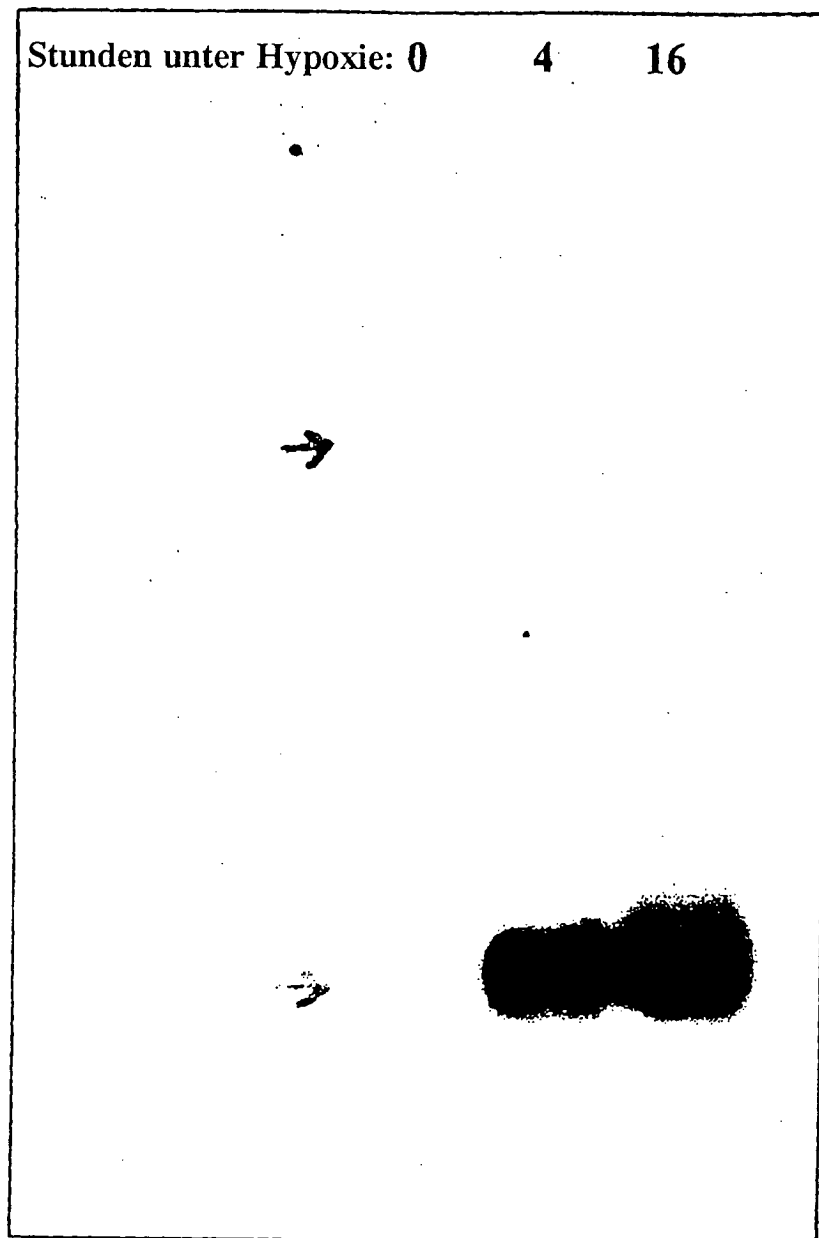
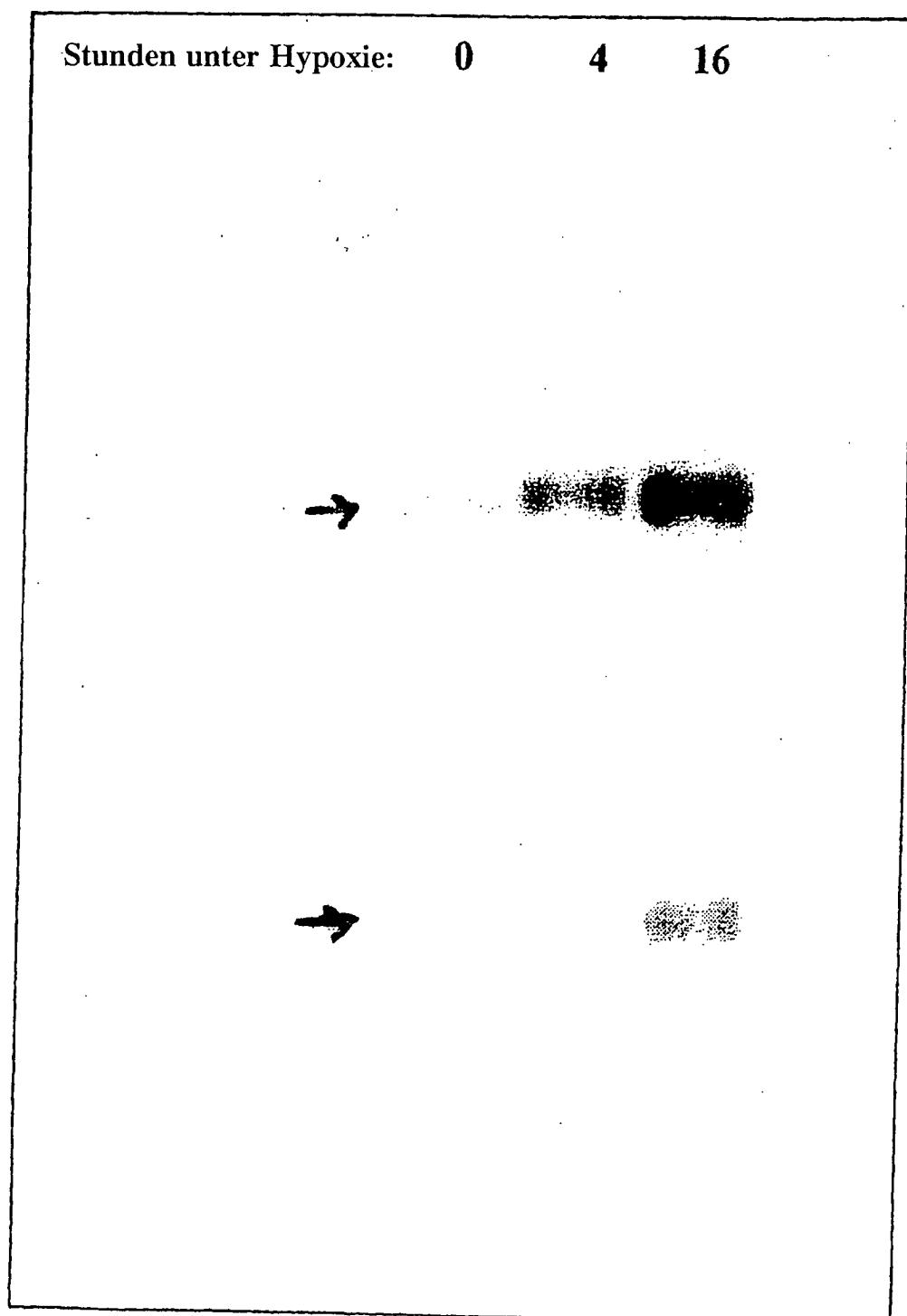


Fig-3



*Fig-4*

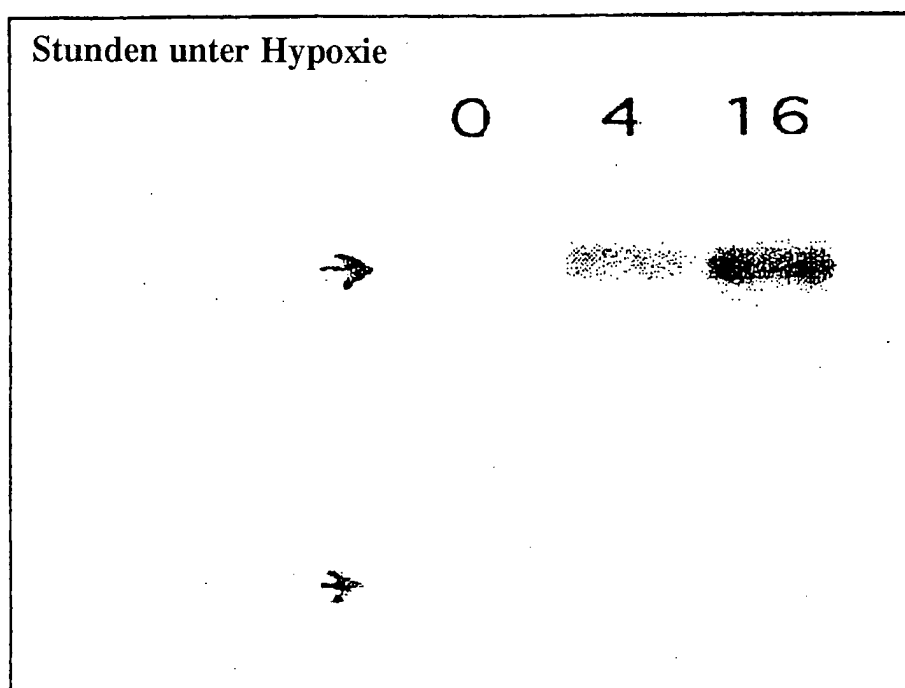


Fig-5