

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum
17. Oktober 2002 (17.10.2002)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer
WO 02/082077 A2

(51) Internationale Patentklassifikation⁷: **G01N 33/48**

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP02/03799

(22) Internationales Anmeldedatum:
5. April 2002 (05.04.2002)

(25) Einreichungssprache: Deutsch

(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

(30) Angaben zur Priorität:
101 17 381.4 6. April 2001 (06.04.2001) DE

(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme von
US): **WILEX AG** [DE/DE]; Grillparzerstrasse 10B, 81675
München (DE).

(72) Erfinder; und

(75) Erfinder/Anmelder (nur für US): **LUTHER, Thomas**
[DE/DE]; Am Storchennest 1, 01900 Kleinröhrsdorf (DE).
MAGDOLEN, Viktor [US/DE]; Münchner Strasse 33,
85551 Kirchheim (DE). **SCHMITT, Manfred** [DE/DE];
Hohenaschauerstrasse 10, 81669 München (DE). **MÜH-
LENWEG, Bernd** [DE/DE]; Lautensackstrasse 9, 80687
München (DE).

(74) Anwälte: **WEICKMANN & WEICKMANN** usw.; Post-
fach 860 820, 81635 München (DE).

(81) Bestimmungsstaaten (*national*): AE, AG, AL, AM, AT,
AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR,
CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE,
GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR,
KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK,
MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, OM, PH, PL, PT, RO, RU,
SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG,
US, UZ, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

(84) Bestimmungsstaaten (*regional*): ARIPO-Patent (GH,
GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW),
eurasisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ,
TM), europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK,
ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, TR),
OAPI-Patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW,
ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Erklärung gemäß Regel 4.17:

— *Erfindererklärung (Regel 4.17 Ziffer iv) nur für US*

Veröffentlicht:

— *ohne internationalen Recherchenbericht und erneut zu
veröffentlichen nach Erhalt des Berichts*

*Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes und der anderen
Abkürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on
Codes and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe
der PCT-Gazette verwiesen.*

(54) **Title:** PRODUCTION OF POLYCLONAL MONOSPECIFIC ANTIBODIES AGAINST UPAR VARIANTS DEL4, DEL5
AND DEL4+5, AND THE USE THEREOF FOR DIAGNOSTIC AND THERAPEUTICAL PURPOSES

(54) **Bezeichnung:** HERSTELLUNG POLYKLONALER, MONOSPEZIFISCHER ANTIKÖRPER GEGEN DIE UPAR-VARI-
ANTEN DEL4, DEL5 UND DEL4+5 SOWIE DEREN VERWENDUNG FÜR DIAGNOSTISCHE UND THERAPEUTISCHE
ZWECKE

(57) **Abstract:** The invention relates to the production of specific antibodies to detect human tumour-associated urokinase-type
plasminogene activator receptor (uPAR) deletion variants in biological samples and the diagnostic and therapeutic use thereof.

(57) **Zusammenfassung:** Die vorliegende Erfindung betrifft die Herstellung spezifischer Antikörper zum Nachweis von humanen
tumorassoziierten Urokinase-Typ Plasminogenaktivator-Rezeptoren(uPAR)Deletionsvarianten in biologischen Proben sowie deren
diagnostischen und therapeutischen Einsatz.



WO 02/082077 A2

Herstellung polyklonaler, monospezifischer Antikörper gegen die uPAR-Varianten del4, del5 und del4+5 sowie deren Verwendung für diagnostische und therapeutische Zwecke

5

Beschreibung

Die vorliegende Erfindung betrifft die Herstellung und Verwendung spezifischer Antikörper zum Nachweis humanen tumor-assoziierten Urokinase-Typ Plasminogenaktivator-Rezeptor (uPAR) Deletionsvarianten in biologischen Proben.

Neue Erkenntnisse zur Rolle des tumorzell-assoziierten Urokinase-Rezeptors bei Tumordinvasion und Metastasierung solider maligner Tumore sind entscheidende Voraussetzungen für die Entwicklung neuer, an der Tumorbilogie orientierter Therapiestrategien, insbesondere bei Mamma- und Ovarialkarzinomen. Sowohl das invasive Wachstum dieser Tumore als auch die Entwicklung von Tumormetastasen sind bekanntermaßen multifaktorielle Prozesse, bei denen Proteasen des Plasminogen-Aktivierungssystems, wie der Urokinase-Typ Plasminogenaktivator (uPA) und sein Inhibitor (PAI-1), eine entscheidende Rolle spielen. Der uPA-Rezeptor (uPAR; CD 87) nimmt dabei durch seine Fähigkeit, das uPA-Enzymsystem auf der Zelloberfläche zu fokussieren und zu aktivieren, eine Schlüsselposition ein. Da uPAR in Tumoren aufgrund seiner Struktur in verschiedenen molekularen Formen vorkommen kann, ist seine funktionelle und biochemische Charakterisierung im Tumorgewebe schwierig.

Der Urokinase-Rezeptor, uPAR, ein stark und heterogen glykosyliertes Protein mit einer relativen Masse von 45 - 60 kDa, ist über einen GPI-Lipidanker in der Zellmembran verankert. In der Primärstruktur des uPAR lassen sich drei homologe Domänen, die jeweils von zwei Exons des uPAR-Gens kodiert werden, unterscheiden. Die Wechselwirkung mit uPA wird vor

5 allem durch Domäne I (DI) des uPAR vermittelt. In Domäne II (DII) und/oder Domäne III (DIII) sind jedoch weitere Determinanten für die uPA/uPAR-Interaktion lokalisiert. Mit einer weiteren Bindungsstelle (wahrscheinlich in DII/III) kann uPAR mit hoher Affinität an Vitronektin, ein Protein der extrazellulären Matrix, binden, wobei auch hier eine Wechselwirkung mit DI
10 von Bedeutung zu sein scheint. Nach der Bindung von uPA kann die intrazelluläre Signaltransduktion offenbar über verschiedene Wege ablaufen. In der Zellmembran von aktivierten Monozyten bildet uPAR z.B. mit anderen Membran- und "second messenger"-Proteinen multimere Komplexe, die eine Signaltransduktion bewirken und auf deren funktionelle Kooperation hindeuten.

15 Es ist bekannt, dass der uPAR nicht nur einer posttranslationalen Regulation und reversiblen Aktivierung infolge der zellulären Stimulation und Ligandenbindung unterliegt. Aufgrund seiner Struktur kann uPAR auch in verschiedenen molekularen Formen vorkommen, deren biologische Aktivität im Gewebe, vorallem bei Tumorgeschehen unterschiedlich sein könnte. Nach Abspaltung des Glykanlipidankers über zell-assoziierte Enzyme kann uPAR in seiner löslichen Form (suPAR) in Körperflüssigkeiten
20 von Tumorpatienten nachgewiesen werden. Darüber hinaus wurden für den uPAR unterschiedliche Glykosylierungsvarianten beschrieben. So führt die Stimulation von Zellen (z.B. durch Phorbol ester) zu einer deutlichen Erhöhung des Glykosylierungsgrades von uPAR. Milde Chymotrypsinandauung spaltet das uPAR Molekül zwischen DI und DII. Die
25 resultierenden Fragmente DI und DII/III wirken in vitro bei verschiedenen Zelltypen chemotaktisch. Zum Vorkommen der uPAR Fragmente DI bzw. DII/III in vivo sowie ihrer biologischen Funktionen findet man nur wenige Aussagen in der Literatur. Beschrieben wurde bislang lediglich, dass eine DII/III uPAR-Variante (unter Abspaltung von DI) in einigen Tumorzelllinien
30 sowie in Ovarialzystenflüssigkeit von Ovarialkarzinomen vorkommen kann. Ein tumor-selektives Vorkommen von uPAR-Deletionsvarianten ist bisher

nicht bekannt. Außerdem existiert bisher kein Verfahren, welches in der Lage wäre, selektiv die uPAR-Deletionsvarianten zu detektieren.

Überraschenderweise wurde nun gefunden, dass in Tumorzellen eine
5 selektiv erhöhte Expression von uPAR-Deletionsvarianten nachweisbar ist. Weiterhin wird ein Verfahren bereitgestellt, welches tumorassoziierte uPAR-Varianten zu charakterisieren vermag, insbesondere Deletionsvarianten des uPAR im Ovarial- und Mammakarzinom. Die durch Anwendung des Verfahrens erhaltenen Ergebnisse können in der Tumordiagnostik und
10 insbesondere als Parameter zur Prognosebeurteilung verwendet werden. Das Verfahren umfasst vorzugsweise die Verwendung von uPAR-Antikörpern unter Bedingungen, die eine selektive Bestimmung von uPAR-Deletionsvarianten erlauben, zum Nachweis von uPAR-Varianten in biologischen Proben, z.B. in einem ELISA-Verfahren. Dabei werden
15 vorzugsweise Antikörper eingesetzt, die selektiv an uPAR-Deletionsvarianten binden. Weiterhin werden uPAR-Deletionsvarianten als Targets für eine therapeutische Intervention und für ein Wirkstoff-Screening bereitgestellt.

20 Ein Gegenstand der Erfindung sind Nukleinsäuren, welche für Deletionsvarianten des humanen uPAR-Rezeptors kodieren und bei denen vorzugsweise ein oder zwei Exons der vollständigen Sequenz, Exon 4 und Exon 5, mindestens teilweise fehlen und/oder im Wesentlichen vollständig
25 fehlen. Diese Nukleinsäuren kodieren vorzugsweise für Polypeptide, die selektiv in Tumoren und Tumorzellen exprimiert werden, insbesondere in Mamma- und Ovarialkarzinomen des Menschen. "Selektive Expression" bedeutet in diesem Zusammenhang, dass eine unterschiedliche Expressionsstärke in Tumorzellen und Normalzellen in einem geeigneten Test qualitativ oder/und quantitativ nachweisbar ist.

30

Die Figuren 1 (SEQ ID No. 1 und 2), 2 (SEQ ID No. 3 und 4) und 3 (SEQ ID No. 5 und 6) zeigen die Nukleotid- und Aminosäuresequenzen von

bevorzugten tumorassoziierten uPAR-Deletionsvarianten del4, del4 + 5 und del 5. Die Sequenz der Deletionsvariante del5 gemäß Figur 3 (SEQ ID No. 5 und 6) ist bereits in einer öffentlich zugänglichen Datenbank (Genbank Accession Nr. U08839) beschrieben. Es findet sich jedoch dort keinerlei
5 Hinweis auf eine tumorselektive Expression dieser Deletionsvariante. Die Figuren 4A,B, 5A,B und 6A,B zeigen einen Vergleich der Nukleotid- und Aminosäuresequenzen der Deletionsvarianten mit der entsprechenden Wildtypsequenz (SEQ ID No. 7 und 8).

10 Neben den Nukleotidsequenzen in den Figuren 1-3, den dazu komplementären Sequenzen und den Sequenzen die im Rahmen der Degeneration des genetischen Codes diesen Nukleotidsequenzen entsprechen, umfasst die vorliegende Erfindung auch Nukleotidsequenzen, die mit einer der zuvor genannten Sequenzen und bevorzugt mit den
15 Fusionsübergängen hybridisieren. Vorzugsweise ist die erfindungsgemäße Nukleotidsequenz eine doppelsträngige oder einzelsträngige DNA, sie kann jedoch auch eine RNA sein. Besonders bevorzugt umfasst die erfindungsgemäße Nukleinsäure einen Abschnitt der dargestellten Nukleotidsequenzen oder eine Sequenz, die eine Identität von mehr als
20 80%, vorzugsweise mehr als 90% und besonders bevorzugt mehr als 95% zu einer der dargestellten Nukleotidsequenzen oder einen vorzugsweise mindestens 18 Nukleotide langen Abschnitt davon aufweist. Der Identitätsgrad I wird dabei wie folgt bestimmt:

25
$$I \text{ (in \%)} = \frac{N}{L} \times 100$$

wobei N die Anzahl der übereinstimmenden Basen zwischen zu
30 untersuchender Sequenz und Basissequenz und L die Länge der Basissequenz ist.

Erfindungsgemäße Nukleinsäuren sind vorzugsweise aus Säugern und insbesondere aus dem Menschen erhältlich, z.B. durch eine Nukleinsäure-

Amplifikation, wie z.B. durch PCR. Andererseits können Nukleinsäuren auch durch rekombiante Methoden und/oder durch chemische Synthese erzeugt werden.

- 5 Erfindungsgemäße Sonden und Primer sind dadurch gekennzeichnet, dass sie selektiv die uPAR-Deletionsvarianten und nicht die native Sequenz erkennen, d.h. selektiv mit einer für eine uPAR-Deletionsvariante kodierenden Nukleinsäure hybridisieren. Sie können nach bekannten Techniken als Hybridisierungssonden und/oder als Amplifikationsprimer
10 verwendet werden. Sie überspannen vorzugsweise einen Deletionsbereich, d.h. der Beginn der Sequenz liegt stromaufwärts des Beginns der Deletion, und das Ende der Sequenz liegt stromabwärts des Endes der Deletion.

- Die Primer und Sonden sind bevorzugt mit Markern oder
15 Markierungsgruppen versehen. Bevorzugt sind auch Primerkombinationen, die zur Identifizierung verschiedener mRNA/cDNA-Spezies geeignet sind. Besonders bevorzugt sind solche Primer, die die uPAR-Deletionsbereiche in del4 oder/und del5 oder/und del4 + 5 überspannen.

- 20 Ein weiterer Gegenstand der vorliegenden Erfindung sind die von den oben definierten Nukleinsäuren kodierten Polypeptide bzw. deren Verwendung als diagnostische und therapeutische Targets. Diese Polypeptide umfassen vorzugsweise die Aminosäuresequenzen von Figur 1 für del4 (SEQ ID No. 2), Figur 2 für del4 + 5 (SEQ ID No. 4) und Figur 3 für del5 (SEQ ID No. 6).

- 25 Neben den dargestellten Polypeptidsequenzen betrifft die Erfindung auch Varianten und Fragmente davon. Darunter sind kurze Aminosäureabschnitte von den dargestellten Aminosäuresequenzen, die eine Mindestlänge von sechs Aminosäuren, besonders bevorzugt eine Mindestlänge von acht
30 Aminosäuren, aufweisen und Primärsequenzen aus den Deletionsbereichen, die verschieden zu der vollständigen uPAR-Primärsequenz sind, bevorzugt.

Weiterhin können erfindungsgemäße Peptide und Polypeptide auch durch chemische Synthese hergestellt werden.

Die Erfindung umfasst auch allelische Variationen oder Spleißvariationen
5 des uPAR-Rezeptor-Proteins, sowie durch rekombinante DNA-Technologie erzeugte Proteine, die hinsichtlich ihrer biologischen und/oder immunologischen Aktivität den dargestellten Proteinen im Wesentlichen entsprechen.

10 Ein weiterer Gegenstand der vorliegenden Erfindung ist ein Vektor, der mindestens eine Kopie der erfindungsgemäßen Nukleinsäuren enthält. Dieser Vektor kann ein beliebiger prokaryontischer oder eukaryontischer Vektor sein, auf dem sich die erfindungsgemäße DNA-Sequenz vorzugsweise in Verbindung mit Expressionssignalen, wie etwa Promotoren
15 und weiteren Expressionskontrollsequenzen, befindet. Besonders bevorzugt ist der erfindungsgemäße Vektor ein eukaryontischer Vektor, z. B. ein für höhere Zellen geeigneter Vektor, z.B. ein Plasmidvektor.

Ein weiterer Gegenstand der vorliegenden Erfindung ist eine Zelle, die mit
20 einer erfindungsgemäßen Nukleinsäure oder einem erfindungsgemäßen Vektor transformiert ist. Die Zelle kann sowohl eine eukaryontische als auch eine prokaryontische Zelle sein. Verfahren zur Transformation von Zellen mit Nukleinsäuren sind allgemeiner Stand der Technik und brauchen daher nicht näher erläutert zu werden. Beispiele für bevorzugte Zellen sind
25 eukaryontische Zellen, insbesondere tierische Zellen und besonders bevorzugt Säugerzellen.

Ein weiterer Gegenstand der vorliegenden Erfindung sind Antikörper gegen die Deletionsvarianten des uPAR-Polypeptids. Polyklonale Antiseren erhält
30 man durch Immunisierung von Versuchstieren mit erfindungsgemäßen Polypeptiden oder Fragmenten davon. Zur Antikörperherstellung werden vorzugsweise die erfindungsgemäßen Peptide und/oder Polypeptide an

Trägerproteine wie KLH (Keyhole Limpet Hemocyanin) oder BSA (Bovine Serum Albumin) gekoppelt.

Die resultierenden Konjugate können als Immunogene zur Immunisierung
5 von Versuchstieren verwendet werden, z.B. von Kaninchen, Hühnchen,
Hamster, Ziege, Schaf und Pferd. Besonders bevorzugt werden für die
Immunisierung Peptide verwendet, die den Fusionsübergängen der uPAR-
Deletionsvarianten entsprechen. Die dann resultierenden polyklonalen
Antikörper weisen im Wesentlichen keine Kreuzreaktivität gegen natives
10 uPAR auf. Die Kreuzreaktivität sollte weniger als 20 % betragen, bevorzugt
weniger als 10 % und besonders bevorzugt weniger als 5 % betragen.

Die erfindungsgemäßen Antikörper können auch in Form eines Konjugats
mit einer Markierungsgruppe und/oder cytotoxischen Gruppe vorliegen. Als
15 Markierungsgruppe kann ein Enzym wie alkalische Phosphatase oder
Peroxidase, ein Fluoreszenzmarker, aber auch eine radioaktive Markierung
verwendet werden. Als cytotoxische Gruppen können Radionuklide oder
Toxine verwendet werden. Derartige Antikörper könnten dann sowohl für
diagnostische Tests, insbesondere von Mamma- und Ovarialkarzinom-
20 gewebe, aber auch für die Therapie verwendet werden. Beispielsweise
können mit Hilfe der ELISA-Technik Proben auf das Vorhandensein der
Deletionsvarianten im Tumorgewebe untersucht werden.

Die erfindungsgemäßen selektiven Antikörper ermöglichen damit die
25 Herstellung eines Testsystems zur prognostischen Auswertung von
Tumorgewebsextrakten, um so die Rezidivhäufigkeit oder
Überlebenswahrscheinlichkeit von Tumorpatienten zu bestimmen, d.h.
durch die Verwendung der erfindungsgemäßen Antikörper können wertvolle
Informationen zur Prognosestellung von Tumorpatienten gewonnen
30 werden.

Diagnostische Untersuchungen können auch mit Hilfe spezifischer Nukleinsäuresonden zum Nachweis auf Nukleinsäureebene, insbesondere auf Transkriptebene, durchgeführt werden. Geeignet sind die erfindungsgemäßen Sonden/Primer zur Herstellung eines Kits zur Amplifikation von uPAR-Deletionsvarianten spezifischer mRNA, z.B. in einer RT-PCR-Anwendung.

Die Erfindung betrifft weiterhin eine pharmazeutische Zusammensetzung, die dadurch gekennzeichnet ist, dass sie als aktive Komponente neben Nukleinsäuren, transformierten Zellen, Polypeptiden und Peptiden, auch selektive uPAR-Deletionsvarianten-spezifische Antikörper umfasst. Besonders bevorzugt ist die Verwendung dieser pharmazeutischen Zusammensetzung, vorzugsweise eines uPAR-Deletionsvarianten-spezifischen Antikörpers, als therapeutisches Mittel bei Tumorerkrankungen, wie Mamma- und Ovarialkarzinomen.

Weiterhin sind Antikörper, die gegen die Deletionsvarianten von uPAR gerichtet sind, zur Herstellung eines therapeutischen Mittels geeignet, welches beispielsweise eine selektive Funktionsblockierung bei Tumorzellen bewirken kann. Darüber hinaus können die Antikörper in Form von Konjugaten mit einer cytotoxischen Gruppe zur Wachstums hemmung oder Abtötung von Tumorzellen eingesetzt werden.

Ein weiter Gegenstand der Erfindung sind Antisense-Nukleinsäuren, z.B. Oligodesoxynukleotide, welche den Fusionsbereich der uPAR-Varianten abdecken und gezielt zur Expressionsblockade der uPAR-Varianten eingesetzt werden können.

Weiterhin wird die Erfindung durch folgende Figuren und Beispiele näher erläutert:

- Figur 1** zeigt die Nukleotid- und Aminosäuresequenz für die uPAR-Deletionsvariante del4 (SEQ ID No. 1 und 2).
- Figur 2** zeigt die Nukleotid- und Aminosäuresequenz für die uPAR-Deletionsvariante del4 + 5 (SEQ ID No. 3 und 4).
- Figur 3** zeigt die Nukleotid-Aminosäuresequenz für die uPAR-Deletionsvariante del5 (SEQ ID No. 5 und 6).
- Figur 4** zeigt einen Vergleich der Nukleotidsequenz (A) und der Aminosäuresequenz (B) mit der Wildtypsequenz (SEQ ID No. 7 und 8) für die Deletionsvariante uPAR del4.
- Figur 5** zeigt einen Vergleich der Nukleotidsequenz (A) und der Aminosäuresequenz (B) mit der Wildtypsequenz (SEQ ID No. 7 und 8) für die Deletionsvariante uPAR del4 + 5.
- Figur 6** zeigt einen Vergleich der Nukleotidsequenz (A) und der Aminosäuresequenz (B) mit der Wildtypsequenz (SEQ ID No. 7 und 8) für die Deletionsvariante uPAR del5.
- Figur 7** zeigt die Detektion von suPAR (uPAR-Varianten) in Überständen von CHO-Zellen, die mit uPAR-Varianten-kodierenden Plasmiden transfiziert wurden. HU277/IIIIF10, HU277/HD13 und ADI entsprechen verschiedenen ELISA-Systemen.
- Figur 8** zeigt die Ergebnisse der Expression von uPAR del5 und uPAR del4 + 5 als Glykophosphoinositol-verankerte Varianten mittels ELISA. Legende: Kontrollen: WT = CHO-Zellen; RSV = CHO + Vektortransfektion; D2 + 3 und D2 + 3CP = uPAR

Varianten ohne Domäne 1; del5 = uPAR del5; del4 + 5 = uPAR del4 + 5

- 5 **Figur 9** zeigt die Ergebnisse von Expression der uPAR del5 und uPAR del4 + 5 als Glykophosphoinositol-verankerte Varianten mittels Durchflusszytometrie. Legende: grau = mouse IgG irrelevant; hellblau = mAb IIIF10; blau = HD13.1
- 10 **Figur 10** zeigt Peptide, die zur Immunisierung ausgewählt wurden. Identische Aminosäuren wurden gelb hervorgehoben.
- 15 **Figur 11** zeigt die Ergebnisse der Western Blot-Analysen der gemäß Beispiel 3 isolierten peptidspezifischen Antikörper.
- 20 **Figur 12** zeigt eine Zusammenfassung der gemäß Beispiel 3 durchgeführten Western Blot-Analysen.
- Figur 13** zeigt die Ergebnisse von gemäß Beispiel 3 durchgeführten ELISAs.
- Figur 14** zeigt einen Vergleich der Ergebnisse der gemäß Beispiel 3 durchgeführten Western Blot-Analysen und ELISAs.

Beispiele:**Beispiel 1: Nachweis von mRNA-Spleiß-Varianten von uPAR**

5 Um zu klären, ob in Tumorzellen uPAR-mRNA-Varianten existieren, wurde mRNA aus Mammakarzinomzelllinien, aus nicht-malignen Zelllinien sowie aus Mammakarzinomgewebe isoliert und RT-PCR unter Verwendung spezifischer Primer für die uPAR-Exons 1 und 6 durchgeführt. In den nicht-malignen Zelllinien fanden sich vorwiegend Voll-Längen-uPAR-cDNA, während in Mammakarzinomzelllinien zusätzliche cDNA-Varianten mit
10 Deletionen in Exon 4 (del4), in Exon 5 (del5) bzw. in Exon 4 + 5 (del4 + 5) nachgewiesen werden konnten. Dies konnte durch Sequenzierung der Amplifikate bestätigt werden. uPAR-Exonvarianten wurden auch im Ovarialkarzinomgewebe nachgewiesen.

15

Beispiel 2: Klonierung und Expression verschiedener uPAR-Deletionsvarianten

Verschiedene uPAR-Deletionsmutanten (Deletion-Exon-4 = del4, del5, del4 + 5) wurden generiert, kloniert, sequenziert und in CHO-Zellen
20 transfiziert (transiente Transfektion). Als Kontrollen dienten Transfektanten mit der kompletten uPAR-cDNA (D123) bzw. der cDNA für DI (D1). Die Kulturüberstände der transfizierten CHO-Zellen wurden nach 72 h abgenommen und mittels uPAR-ELISA untersucht. Alle exprimierten uPAR-Varianten (suPAR) konnten in den jeweiligen Zellkulturüberständen
25 nachgewiesen werden, Vektorkontrolle sowie Kulturmedium waren negativ. Während die uPAR-Variante mit einer Exon 4-Deletion, sowie das komplette uPAR Molekül, von ELISA's in gleicher Weise detektiert wurden, zeigten sich im Falle des del5 und del4 + 5 Expressionsplasmids unterschiedliche
30 Reaktionsmuster. So wurde die uPAR-del5-Variante im Gegensatz zum HU/IIIF10-ELISA in den HU/HD13 nur partiell erkannt, während die del4 + 5-Variante ausschließlich im HU/IIIF10-ELISA nachgewiesen werden konnte.

Translatierte Proteine aller bekannten uPAR-mRNA Spleiß-Varianten sind mit dem HU/IIIF10-ELISA detektierbar (Figur 7).

uPAR del5 und uPAR del4+5 wurden zusätzlich in CHO-Zellen als
5 Glykophosphoinositol (GPI)-verankerte Varianten exprimiert und die
Expression mittels ELISA (ADI; HU/IIIF10; Figur 8) und
Durchflusszytometrie (FACS-Analyse; Figur 9) nachgewiesen. D2+3 und
D2+3CP stellen Kontrollvarianten des uPAR dar, denen jeweils die Domäne
I des nativen Proteins fehlt. Der HU/IIIF10-ELISA kann diese Varianten nicht
10 detektieren, während der ADI-ELISA (American Diagnostica) diese
Varianten erkennt.

Beispiel 3: Herstellung von Antikörpern

15 Peptide (Figur 10) werden an das Hämocyanin einer Nacktschnecke (KLH, Keyhole Limpet Hemocyanin), mittels m-Maleimidobenzoesäure-N-hydroxy-succinimidester (MBS) gekoppelt. KLH wird im Phosphatpuffer mit MBS ca. 30 min bei Raumtemperatur leicht gerührt und überschüssiges MBS durch Gelfiltration entfernt. Danach wird Peptid in Phosphatpuffer gelöst und
20 etwas EDTA-Lösung zugesetzt. Diese Peptidlösung wird der konzentrierten MBS-Proteinlösung zugegeben und 4 h bei Raumtemperatur leicht geschüttelt. Alternativ hierzu können die Peptide auch aus Rinderserumalbumin (BSA) nach Standardprotokollen gekoppelt werden.

25 Zur Immunisierung werden in der Regel Kaninchen verwendet. die Immunisierung der Kaninchen erfolgt durch subkutane Injektion von gekoppeltem Peptid und Freund'chem Adjuvanz. 4 Wochen nach der ersten Immunisierung wird die erste Booster-Injektion verabreicht. Danach wird in 2-Wochen-Abständen immunisiert und nach der zweiten Booster-Injektion,
30 immer 10 Tage nach der Immunisierung, über die Ohrvene eine Blutprobe entnommen. Das aus dem Blut erhaltene Serum wird zur Antikörper-Titer-

Bestimmung eingesetzt. Der Antikörper-Titer wird durch ein indirektes ELISA-Verfahren bestimmt.

5 Zusätzlich zu Kaninchen können auch Hühnchen und Meerschweinchen zur Gewinnung polyklonaler Antiseren nach Standardprotokollen verwendet werden. Hier wurden jeweils 6 Tiere jeder Spezies (Kaninchen, Hühnchen und Meerschweinchen) entsprechend durch mehrere Injektionen immunisiert, um nach 180 Tagen die Immunisierung zur Gewinnung von Serum/Eiern zu beenden.

10

Die erhaltenen Seren und Eier wurden zur Isolierung der peptidspezifischen Antikörper verwendet und diese in Western Blot-Analysen und ELISA-Verfahren getestet.

15 Für die Charakterisierung der uPAR-Varianten wurden die entsprechenden uPAR del4, uPAR del5, uPAR del4 + 5 sowie Wildtyp (WT)-uPAR als nicht-glykosilierte Proteine in E.coli produziert (Expressionsvektor pQE30). Weiterhin wurde glykosilierter WT-uPAR aus Hamster-Zellen (CHO-uPAR) verwendet.

20

Fünf von 18 Antikörpern zeigten gute Reaktivität. Dies waren Kan1-del4; Kan2-del4 + 5; Huhn1-del5; Huhn1-del4 und Huhn1-del4 + 5. Diese Antiseren zeigten keine Reaktion mit CHO-uPAR (Figuren 11, 12, 14).

25 ELISA-Untersuchungen belegen die Verwendbarkeit der erhaltenen Antikörper auch zur Analyse von uPAR-Varianten in Tumorextrakten (Figuren 13,14).

30

Beispiel 4: Immunhistochemie

Immunhistochemische Untersuchungen wurden nach Standardprotokollen an Mammakarzinom-Gewebeschnitten durchgeführt. Getestet wurden die
5 Antiseren Kan1-del4 + 5; Kan2-del4 + 5; Kan1-del4 und Huhn2-del4 + 5.

Huhn2-del4 + 5 reagiert nach Mikrowellenbehandlung auch mit glykosyliertem WT-uPAR, aber auch zusätzliche Färbungen sind in der Tumorzelle aufgrund der Färbung von uPAR-del4 + 5 erhalten worden.
10 Kan1-del4 + 5; Kan2-del4 + 5 ergeben ein ähnliches Färbungsmuster.

Ansprüche

- 5 1. Nukleinsäure kodierend für eine Deletionsvariante eines Urokinaserezeptors (uPAR),
dadurch gekennzeichnet,
dass ein oder zwei Exons der nativen Sequenz mindestens teilweise fehlen, ausgenommen die Genbanksequenz U 08839.
- 10 2. Nukleinsäuresequenz nach Anspruch 1,
dadurch gekennzeichnet,
dass die Sequenzen von Exon 4 und/oder 5 mindestens teilweise fehlen.
- 15 3. Nukleinsäuresequenz nach Anspruch 1 oder 2,
dadurch gekennzeichnet,
dass die Sequenzen von Exon 4 und/oder 5 im Wesentlichen vollständig fehlen.
- 20 4. Nukleinsäure nach einem der Ansprüche 1 bis 3,
dadurch gekennzeichnet,
dass sie für eine Deletionsvariante des humanen uPAR kodiert.
- 25 5. Nukleinsäure nach einem der Ansprüche 1 bis 4,
dadurch gekennzeichnet,
dass sie für eine tumorassoziierte uPAR-Variante kodiert.
- 30 6. uPAR-spezifisches Oligonukleotid,
dadurch gekennzeichnet,
dass es selektiv mit einer für eine uPAR-Deletionsvariante kodierenden Nukleinsäure nach einem der Ansprüche 1 bis 5 hybridisiert.

7. μ PAR-spezifisches Oligonukleotid nach Anspruch 6,
dadurch gekennzeichnet,
dass es einen Deletionsbereich überspannt.
- 5 8. Rekombinanter Vektor,
dadurch gekennzeichnet,
dass er vorzugsweise in operativer Verknüpfung mit einer
Expressions-Kontrollsequenz mindestens eine Kopie einer
Nukleinsäure nach einem der Ansprüche 1 bis 5 aufweist.
- 10 9. Zelle,
dadurch gekennzeichnet,
dass sie mit einer Nukleinsäure nach einem der Ansprüche 1 bis 5
oder einem Vektor nach Anspruch 8 transformiert ist.
- 15 10. Methode für die rekombinante Herstellung von Polypeptiden, welche
folgende Schritte umfasst:
- (a) Bereitstellung einer Nukleinsäure nach einem der Ansprüche 1
bis 5 oder eines Vektors nach Anspruch 8,
- 20 (b) Einbringen der Nukleinsäure oder des Vektors in eine
geeignete Wirtszelle,
- (c) Kultivierung der Wirtszelle in geeignetem Medium zum
Zwecke der Polypeptidexpression,
- (d) Isolierung des Expressionsproduktes aus dem Medium
und/oder der Wirtszelle.
- 25 11. Methode nach Anspruch 10,
dadurch gekennzeichnet,
dass die Wirtszelle eine Säugerzelle, z.B. CHO ist.

12. uPAR-Deletionsvariante,
dadurch gekennzeichnet,
dass sie von einer Nukleinsäure nach einem der Ansprüche 1 bis 5
kodiert ist.
- 5
13. uPAR-Deletionsvariante nach Anspruch 12,
dadurch gekennzeichnet,
dass sie tumorselektiv exprimiert ist.
- 10
14. Fragment einer uPAR-Deletionsvariante, bei der ein oder zwei Exons
der nativen Sequenz mindestens teilweise fehlen,
dadurch gekennzeichnet,
dass es eine Mindestlänge von 6 Aminosäuren aufweist und eine für
einen uPAR-Deletionsbereich charakteristische Aminosäuresequenz
verschieden von der nativen uPAR-Aminosäuresequenz aufweist.
- 15
15. Fragment nach Anspruch 14,
dadurch gekennzeichnet,
dass es eine Länge von bis zu 50 Aminosäuren aufweist.
- 20
16. Fragment nach Anspruch 14 oder 15,
dadurch gekennzeichnet,
das es ein für eine uPAR-Deletionsvariante charakteristisches
antigenes Epitop besitzt.
- 25
17. Verwendung einer uPAR-Deletionsvariante, bei der ein oder zwei
Exons teilweise fehlen, oder eines Fragments davon, als Immunogen
zur Herstellung von Antikörpern.
- 30

18. Antikörper gegen eine uPAR-Deletionsvariante, bei der ein oder zwei Exons teilweise fehlen,
dadurch gekennzeichnet,
dass er im Wesentlichen keine Kreuzreaktivität gegen nativen uPAR aufweist.
19. Antikörper nach Anspruch 18,
dadurch gekennzeichnet,
dass er in Form eines Konjugats mit einer Markierungsgruppe und/oder cytotoxischen Gruppe vorliegt.
20. Antikörper nach Anspruch 19,
dadurch gekennzeichnet,
dass die cytotoxische Gruppe aus Radionukliden und Toxinen ausgewählt ist.
21. Pharmazeutische Zusammensetzung,
dadurch gekennzeichnet,
dass sie als wirksame Komponente umfasst:
- (a) eine Nukleinsäure kodierend für eine uPAR-Deletionsvariante, bei der ein oder zwei Exons der nativen Sequenz mindestens teilweise fehlen,
 - (b) einen Vektor, der eine Nukleinsäure gemäß (a) enthält,
 - (c) eine Zelle, die eine Nukleinsäure gemäß (a) oder einen Vektor gemäß (b) enthält,
 - (d) eine uPAR-Deletionsvariante, bei der ein oder zwei Exons der nativen Sequenz mindestens teilweise fehlen, oder ein antigenes Fragment davon,
 - (e) einen Antikörper gegen eine uPAR-Deletionsvariante, bei der ein oder zwei Exons der nativen Sequenz mindestens teilweise fehlen, oder ein antigenes Fragment davon.

22. Zusammensetzung nach Anspruch 21,
dadurch gekennzeichnet,
dass sie weiterhin pharmazeutisch übliche Träger, Hilfs- und/oder
Zusatzstoffe enthält.
- 5
23. Verwendung einer Zusammensetzung nach einem der Ansprüche 21
oder 22 als diagnostisches oder therapeutisches Mittel.
24. Verwendung einer Zusammensetzung, vorzugsweise eines
Antikörpers, nach Anspruch 21 als diagnostisches Mittel zur
Prognose des Verlaufs bei Tumorerkrankungen.
- 10
25. Verwendung einer Zusammensetzung, vorzugsweise eines
Antikörpers, nach Anspruch 21 zur Detektion von Tumorzellen in
biologischen Proben.
- 15
26. Verwendung einer Zusammensetzung, vorzugsweise eines
Antikörpers, nach Anspruch 24 als therapeutisches Mittel zur
Behandlung von Tumorerkrankungen.
- 20
27. Verwendung nach einem der Ansprüche 24 bis 26 bei Mamma- und
Ovarialkarzinomen.
28. Verwendung nach Anspruch 23 oder 24 zur Wachstumshehmung
oder Abtötung von Tumorzellen.
- 25
29. Verwendung nach einem der Ansprüche 23 bis 28,
dadurch gekennzeichnet,
dass die wirksame Komponente ein Antikörper gegen die uPAR-
Deletions-Varianten del4, del5 und/oder del4 + 5 ist.
- 30

30. Verfahren zum selektiven Nachweis von uPAR-Deletions-Varianten in biologischen Proben welches folgende Schritte umfasst:
- (a) Bereitstellen der zu testenden Probe,
 - (b) Inkontaktbringen der Probe mit einer der Antikörper nach einem der Ansprüche 18 bis 20 und
 - (c) Nachweisen einer Bindung des Antikörpers an die Probe.
31. Verfahren nach Anspruch 30,
dadurch gekennzeichnet,
dass der Nachweis durch ELISA erfolgt.
32. Verfahren nach Anspruch 30 oder 31,
dadurch gekennzeichnet,
dass eine Tumorableprobe eingesetzt werden, vorzugsweise isoliert aus Mamma- oder Ovarialkarzinomgewebe.
33. Methode zur selektiven Expressionshemmung einer uPAR-Deletionsvariante mittels Oligonukleotiden nach Anspruch 6.
34. Methode nach Anspruch 33,
dadurch gekennzeichnet,
dass die Oligonukleotide den Fusionsbereich einer oder mehrerer uPAR-Varianten abdecken.
35. Methode nach den Ansprüchen 33 und 34,
dadurch gekennzeichnet,
dass Oligonukleotide verwendet werden, welche selektiv die Expression der uPAR-Varianten uPAR del4 und/oder del5 und/oder del4 + del5 zumindest teilweise blockieren.

36. Methode nach Anspruch 35,
dadurch gekennzeichnet,
dass eine Mischung von Oligonukleotiden zur Expressionsblockade
aller uPAR-Varianten del4, del5 und del4 + 5 verwendet wird.
- 5
37. Verwendung der Antikörper nach einem der Ansprüche 18 bis 20 als
Inhibitoren der Aktivität von uPAR-Deletionsvarianten.
38. Verwendung der Antikörper nach einem der Ansprüche 18 bis 20 als
molekulares Nachweis-System zur Detektion von uPAR-Varianten in
biologischen Proben.
- 10
39. Verwendung einer uPAR-Deletionsvariante, bei der ein oder zwei
Exons der nativen Sequenz mindestens teilweise fehlen, oder einer
dafür kodierenden Nukleinsäure in einem Verfahren zur
Identifizierung von Wirkstoffen, die selektiv die Aktivität der uPAR-
Variante modulieren, insbesondere inhibieren.
- 15

Figur 1

```

1/1                               31/11
ATG GGT CAC CCG CCG CTG CTG CCG CTG CTG CTG CTG CTC CAC ACC TGC GTC CCA GCC TCT
M  G  H  P  P  L  L  P  L  L  L  L  L  H  T  C  V  P  A  S
61/21                               91/31
TGG GGC CTG CGG TGC ATG CAG TGT AAG ACC AAC GGG GAT TGC CGT GTG GAA GAG TGC GCC
W  G  L  R  C  M  Q  C  K  T  N  G  D  C  R  V  E  E  C  A
121/41                               151/51
CTG GGA CAG GAC CTC TGC AGG ACC ACG ATC GTG CGC TTG TGG GAA GAA GGA GAA GAG CTG
L  G  Q  D  L  C  R  T  T  I  V  R  L  W  E  E  G  E  E  L
181/61                               211/71
GAG CTG GTG GAG AAA AGC TGT ACC CAC TCA GAG AAG ACC AAC AGG ACC CTG AGC TAT CGG
E  L  V  E  K  S  C  T  H  S  E  K  T  N  R  T  L  S  Y  R
241/81                               271/91
ACT GGC TTG AAG ATC ACC AGC CTT ACC GAG GTT GTG TGT GGG TTA GAC TTG TGC AAC CAG
T  G  L  K  I  T  S  L  T  E  V  V  C  G  L  D  L  C  N  Q
301/101                               331/111
GGC AAC TCT GGG CGT CCA AAG GAT GAC CGC CAC CTC CGT GGC TGT GGC TAC CTT CCC GGC
G  N  S  G  R  P  K  D  D  R  H  L  R  G  C  G  Y  L  P  G
361/121                               391/131
TGC CCG GGC TCC AAT GGT TTC CAC AAC AAC GAC ACC TTC CAC TTC CTG AAA TGC TGC AAC
C  P  G  S  N  G  F  H  N  N  D  T  F  H  F  L  K  C  C  N
421/141                               451/151
ACC ACC AAA TGC AAC GAG GGC CCA ATC CTG GAG CTT GAA AAT CTG CCG CAG AAT GGC CGC
T  T  K  C  N  E  G  P  I  L  E  L  E  N  L  P  Q  N  G  R
481/161                               511/171
CAG TGT TAC AGC TGC AAG GGG AAC AGC ACC CAT GGA TGC TCC TCT GAA GAG ACT TTC CTC
Q  C  Y  S  C  K  G  N  S  T  H  G  C  S  S  E  E  T  F  L
541/181                               571/191
ATT GAC TGC CGA GGC CCC ATG AAT CAA TGT CTG GTA GCC ACC GGC ACT CAC GAA CCG AAA
I  D  C  R  G  P  M  N  Q  C  L  V  A  T  G  T  H  E  P  K
601/201                               631/211
AAC CAA AGC TAT ATG GTA AGA GGC TGT GCA ACC GCC TCA ATG TGC CAA CAT GCC CAC CTG
N  Q  S  Y  M  V  R  G  C  A  T  A  S  M  C  Q  H  A  H  L
661/221                               691/231
GGT GAC GCC TTC AGC ATG AAC CAC ATT GAT GTC TCC TGC TGT ACT AAA AGT GGC TGT AAC
G  D  A  F  S  M  N  H  I  D  V  S  C  C  T  K  S  G  C  N
721/241                               751/251
CAC CCA GAC CTG GAT GTC CAG TAC CGC AGT GGG GCT GCT CCT CAG CCT GGC CCT GCC CAT
H  P  D  L  D  V  Q  Y  R  S  G  A  A  P  Q  P  G  P  A  H
781/261                               811/271
CTC AGC CTC ACC ATC ACC CTG CTA ATG ACT GCC AGA CTG TGG GGA GGC ACT CTC CTC TGG
L  S  L  T  I  T  L  L  M  T  A  R  L  W  G  G  T  L  L  W
841/281
ACC TAA
T  *

```

Figur 2

```

1/1                                31/11
ATG GGT CAC CCG CCG CTG CTG CCG CTG CTG CTG CTG CTC CAC ACC TGC GTC CCA GCC TCT
M   G   H   P   P   L   L   P   L   L   L   L   L   L   H   T   C   V   P   A   S

61/21                                91/31
TGG GGC CTG CGG TGC ATG CAG TGT AAG ACC AAC GGG GAT TGC CGT GTG GAA GAG TGC GCC
W   G   L   R   C   M   Q   C   K   T   N   G   D   C   R   V   E   E   C   A

121/41                                151/51
CTG GGA CAG GAC CTC TGC AGG ACC ACG ATC GTG CGC TTG TGG GAA GAA GGA GAA GAG CTG
L   G   Q   D   L   C   R   T   T   I   V   R   L   W   E   E   G   E   E   L

181/61                                211/71
GAG CTG GTG GAG AAA AGC TGT ACC CAC TCA GAG AAG ACC AAC AGG ACC CTG AGC TAT CGG
E   L   V   E   K   S   C   T   H   S   E   K   T   N   R   T   L   S   Y   R

241/81                                271/91
ACT GGC TTG AAG ATC ACC AGC CTT ACC GAG GTT GTG TGT GGG TTA GAC TTG TGC AAC CAG
T   G   L   K   I   T   S   L   T   E   V   V   C   G   L   D   L   C   N   Q

301/101                                331/111
GGC AAC TCT GTC CTG GAG CTT GAA AAT CTG CCG CAG AAT GGC CGC CAG TGT TAC AGC TGC
G   N   S   V   L   E   L   E   N   L   P   Q   N   G   R   Q   C   Y   S   C

361/121                                391/131
AAG GGG AAC AGC ACC CAT GGA TGC TCC TCT GAA GAG ACT TTC CTC ATT GAC TGC CGA GGC
K   G   N   S   T   H   G   C   S   S   E   E   T   F   L   I   D   C   R   G

421/141                                451/151
CCC ATG AAT CAA TGT CTG GTA GCC ACC GGC ACT CAC GAA CCG AAA AAC CAA AGC TAT ATG
P   M   N   Q   C   L   V   A   T   G   T   H   E   P   K   N   Q   S   Y   M

481/161                                511/171
GTA AGA GGC TGT GCA ACC GCC TCA ATG TGC CAA CAT GCC CAC CTG GGT GAC GCC TTC AGC
V   R   G   C   A   T   A   S   M   C   Q   H   A   H   L   G   D   A   F   S

541/181                                571/191
ATG AAC CAC ATT GAT GTC TCC TGC TGT ACT AAA AGT GGC TGT AAC CAC CCA GAC CTG GAT
M   N   H   I   D   V   S   C   C   T   K   S   G   C   N   H   P   D   L   D

601/201                                631/211
GTC CAG TAC CGC AGT GGG GCT GCT CCT CAG CCT GGC CCT GCC CAT CTC AGC CTC ACC ATC
V   Q   Y   R   S   G   A   A   P   Q   P   G   P   A   H   L   S   L   T   I

661/221                                691/231
ACC CTG CTA ATG ACT GCC AGA CTG TGG GGA GGC ACT CTC CTC TGG ACC TAA
T   L   L   M   T   A   R   L   W   G   G   T   L   L   W   T   *

```

Figur 3

```

1/1                                31/11
ATG GGT CAC CCG CCG CTG CTG CCG CTG CTG CTG CTG CTC CAC ACC TGC GTC CCA GCC TCT
M  G  H  P  P  L  L  P  L  L  L  L  L  H  T  C  V  P  A  S

61/21                                91/31
TGG GGC CTG CGG TGC ATG CAG TGT AAG ACC AAC GGG GAT TGC CGT GTG GAA GAG TGC GCC
W  G  L  R  C  M  Q  C  K  T  N  G  D  C  R  V  E  E  C  A

121/41                                151/51
CTG GGA CAG GAC CTC TGC AGG ACC ACG ATC GTG CGC TTG TGG GAA GAA GGA GAA GAG CTG
L  G  Q  D  L  C  R  T  T  I  V  R  L  W  E  E  G  E  E  L

181/61                                211/71
GAG CTG GTG GAG AAA AGC TGT ACC CAC TCA GAG AAG ACC AAC AGG ACC CTG AGC TAT CGG
E  L  V  E  K  S  C  T  H  S  E  K  T  N  R  T  L  S  Y  R

241/81                                271/91
ACT GGC TTG AAG ATC ACC AGC CTT ACC GAG GTT GTG TGT GGG Tta gac tTG TGC AAC CAG
T  G  L  K  I  T  S  L  T  E  V  V  C  G  L  D  L  C  N  Q

301/101                                331/111
GGC AAC TCT GGC CGG GCT GTC ACC TAT TCC CGA AGC CGT TAC CTC GAA TGC ATT TCC TGT
G  N  S  G  R  A  V  T  Y  S  R  S  R  Y  L  E  C  I  S  C

361/121                                391/131
GGC TCA TCA GAC ATG AGC TGT GAG AGG GGC CGG CAC CAG AGC CTG CAG TGC CGC AGC CCT
G  S  S  D  M  S  C  E  R  G  R  H  Q  S  L  Q  C  R  S  P

421/141                                451/151
GAA GAA CAG TGC CTG GAT GTG GTG ACC CAC TGG ATC CAG GAA GGT GAA GAA GTC CTG GAG
E  E  Q  C  L  D  V  V  T  H  W  I  Q  E  G  E  E  V  L  E

481/161                                511/171
CTT GAA AAT CTG CCG CAG AAT GGC CGC CAG TGT TAC AGC TGC AAG GGG AAC AGC ACC CAT
L  E  N  L  P  Q  N  G  R  Q  C  Y  S  C  K  G  N  S  T  H

541/181                                571/191
GGA TGC TCC TCT GAA GAG ACT TTC CTC ATT GAC TGC CGA GGC CCC ATG AAT CAA TGT CTG
G  C  S  S  E  E  T  F  L  I  D  C  R  G  P  M  N  Q  C  L

601/201                                631/211
GTA GCC ACC GGC ACT CAC GAA CCG AAA AAC CAA AGC TAT ATG GTA AGA GGC TGT GCA ACC
V  A  T  G  T  H  E  P  K  N  Q  S  Y  M  V  R  G  C  A  T

661/221                                691/231
GCC TCA ATG TGC CAA CAT GCC CAC CTG GGT GAC GCC TTC AGC ATG AAC CAC ATT GAT GTC
A  S  M  C  Q  H  A  H  L  G  D  A  F  S  M  N  H  I  D  V

721/241                                751/251
TCC TGC TGT ACT AAA AGT GGC TGT AAC CAC CCA GAC CTG GAT GTC CAG TAC CGC AGT GGG
S  C  C  T  K  S  G  C  N  H  P  D  L  D  V  Q  Y  R  S  G

781/261                                811/271
GCT GCT CCT CAG CCT GGC CCT GCC CAT CTC AGC CTC ACC ATC ACC CTG cta atg act gcc
A  A  P  Q  P  G  P  A  H  L  S  L  T  I  T  L  L  M  T  A

841/281                                871/291
aga ctg tgg gga ggc act ctc ctc tgg acc TAA
R  L  W  G  G  T  L  L  W  T  *

```

Figur 4A

```
      .      20      .      40      .      60      .      80
1  ATGGGTACACCCGCCGCTGCTGCCGCTGCTGCTGCTGCCACACCTGCGTCCCAGCCTCTTGGGGCCTGCGGTGCATGCA 80
  |||
1  ATGGGTACACCCGCCGCTGCTGCCGCTGCTGCTGCTGCTGCCACACCTGCGTCCCAGCCTCTTGGGGCCTGCGGTGCATGCA 80
      .      20      .      40      .      60      .      80
81 GTGTAAGACCAACGGGATGCGCGTGTGGAAGAGTGGCCCTGGGACAGGACCTCTGCAGGACCACGATCGTGCGCTTGT 160
  |||
81 GTGTAAGACCAACGGGATGCGCGTGTGGAAGAGTGGCCCTGGGACAGGACCTCTGCAGGACCACGATCGTGCGCTTGT 160
      .      100     .      120     .      140     .      160
161 GGAAGAAGGAGAAGAGCTGGAGCTGGTGGAGAAAAGCTGTACCCACTCAGAGAAGACCAACAGGACCTGAGCTATCGG 240
  |||
161 GGAAGAAGGAGAAGAGCTGGAGCTGGTGGAGAAAAGCTGTACCCACTCAGAGAAGACCAACAGGACCTGAGCTATCGG 240
      .      180     .      200     .      220     .      240
241 ACTGGCTTGAAGATCACCAGCCTTACCGAGGTTGTGTGTGGGTTAGACTTGTGCAACCAGGGCAACTCT----- 309
  |||
241 ACTGGCTTGAAGATCACCAGCCTTACCGAGGTTGTGTGTGGGTTAGACTTGTGCAACCAGGGCAACTCTGGCCGGGCTGT 320
      .      260     .      280     .      300     .      320
-----
321 CACCTATTCCCGAAGCCGTTACCTCGAATGCATTTCTGTGGCTCATCAGACATGAGCTGTGAGAGGGGCCGGCACCAGA 400
      .      340     .      360     .      380     .      400
310 -----GGGCGTCCA 318
      .
401 GCCTGCAGTGCCCGCAGCCCTGAAGAACAGTGCCTGGATGTGGTGACCCACTGGATCCAGGAAGGTGAAGAAGGGCGTCCA 480
      .      420     .      440     .      460     .      480
320 .      340      .      360      .      380      .
319 AAGGATGACCGCCACCTCCGTGGCTGTGGCTACCTTCCCAGCTGCCCGGGCTCCAATGGTTTCCACAACAACGACACCTT 398
  |||
481 AAGGATGACCGCCACCTCCGTGGCTGTGGCTACCTTCCCAGCTGCCCGGGCTCCAATGGTTTCCACAACAACGACACCTT 560
      .      500     .      520     .      540     .      560
400 .      420     .      440     .      460     .
399 CCACTTCCTGAAATGCTGCAACACCACCAAATGCAACGAGGGCCCAATCCTGGAGCTTGAAAATCTGCCGAGAAATGGCC 478
  |||
561 CCACTTCCTGAAATGCTGCAACACCACCAAATGCAACGAGGGCCCAATCCTGGAGCTTGAAAATCTGCCGAGAAATGGCC 640
      .      580     .      600     .      620     .      640
480 .      500     .      520     .      540     .
479 GCCAGTGTACAGCTGCAAGGGGAACAGCACCATGGATGCTCCTCTGAAGAGACTTTCTCATGACTGCCGAGGCCCC 558
  |||
641 GCCAGTGTACAGCTGCAAGGGGAACAGCACCATGGATGCTCCTCTGAAGAGACTTTCTCATGACTGCCGAGGCCCC 720
      .      660     .      680     .      700     .      720
560 .      580     .      600     .      620     .
559 ATGAATCAATGTCTGGTAGCCACCGCACTCACGAACCGAAAAACCAAGCTATATGGTAAGAGGCTGTGCAACCGCCTC 638
  |||
721 ATGAATCAATGTCTGGTAGCCACCGCACTCACGAACCGAAAAACCAAGCTATATGGTAAGAGGCTGTGCAACCGCCTC 800
      .      740     .      760     .      780     .      800
640 .      660     .      680     .      700     .
639 AATGTGCCAACATGCCCACCTGGGTGACGCCTTCAGCATGAACCACATTGATGTCTCCTGCTGTACTAAAAGTGGCTGTA 718
  |||
801 AATGTGCCAACATGCCCACCTGGGTGACGCCTTCAGCATGAACCACATTGATGTCTCCTGCTGTACTAAAAGTGGCTGTA 880
      .      820     .      840     .      860     .      880
720 .      740     .      760     .      780     .
719 ACCACCCAGACCTGGATGTCCAGTACCGCAGTGGGGCTGCTCCTCAGCCTGGCCCTGCCCATCTCAGCCTCACCATCACC 798
  |||
881 ACCACCCAGACCTGGATGTCCAGTACCGCAGTGGGGCTGCTCCTCAGCCTGGCCCTGCCCATCTCAGCCTCACCATCACC 960
      .      900     .      920     .      940     .      960
800 .      820     .      840
799 CTGCTAATGACTGCCAGACTGTGGGAGGCACTCTCCTCTGGACCTAA 846
  |||
961 CTGCTAATGACTGCCAGACTGTGGGAGGCACTCTCCTCTGGACCTAA 1008
      .      980     .      1000
```

% Identity = 83.9 (846/1008)

Figur 4B

```

      .      20      .      40      .      60      .      80
1  MGHPPILLPLLLLLHTCVPASWGLRCMQCKTNGDCRVEECALGQDLCRTTIVRLWEEGEELELVEKSCTHSEKTNRTLSTYR 80
   MGHPPILLPLLLLLHTCVPASWGLRCMQCKTNGDCRVEECALGQDLCRTTIVRLWEEGEELELVEKSCTHSEKTNRTLSTYR
1  MGHPPILLPLLLLLHTCVPASWGLRCMQCKTNGDCRVEECALGQDLCRTTIVRLWEEGEELELVEKSCTHSEKTNRTLSTYR 80
      .      20      .      40      .      60      .      80
      .      100
81  TGLKITSLTEVVCGLDLCNQGNS-----GRP 106
   TGLKITSLTEVVCGLDLCNQGNS                      GRP
81  TGLKITSLTEVVCGLDLCNQGNSGRAVTYSRSRYLEICISGSSDMSCERGRHQSLOCRSPEEQCLDVVTHWIEGEEGRP 160
      .      100      .      120      .      140      .      160
      .      120      .      140      .      160      .      180
107 KDDRHLRGCGYLPGCCPGSNGFHNNDTFHFLKCCNTTKCNEGP ILELENLPQNGRQCYSCCKGNSTHGCSSEETFLIDCRGP 186
    KDDRHLRGCGYLPGCCPGSNGFHNNDTFHFLKCCNTTKCNEGP ILELENLPQNGRQCYSCCKGNSTHGCSSEETFLIDCRGP
161 KDDRHLRGCGYLPGCCPGSNGFHNNDTFHFLKCCNTTKCNEGP ILELENLPQNGRQCYSCCKGNSTHGCSSEETFLIDCRGP 240
      .      180      .      200      .      220      .      240      .      260
187 MNQCLVATGTHEPKNQSYMVRGCATASMCQHAHLGDAFSMNHIDVSCCTKSGCNHPDLVDVQYRGAAPQPGPAHLSLTIT 266
    MNQCLVATGTHEPKNQSYMVRGCATASMCQHAHLGDAFSMNHIDVSCCTKSGCNHPDLVDVQYRGAAPQPGPAHLSLTIT
241 MNQCLVATGTHEPKNQSYMVRGCATASMCQHAHLGDAFSMNHIDVSCCTKSGCNHPDLVDVQYRGAAPQPGPAHLSLTIT 320
      .      260      .      280      .      300      .      320
      .      280
267 LLMTARLWGGTLLWT* 282
    LLMTARLWGGTLLWT*
321 LLMTARLWGGTLLWT* 336
      .

```

% Identity = 83.9 (282/336)

Figur 5A

```
      .      20      .      40      .      60      .      80
1  ATGGGTACCCGCCGCTGCTGCCGCTGCTGCTGCTGCCACACCTGCCGTCCCAGCCTCTTGGGGCCTGCGGTGCATGCA 80
  |||||
1  ATGGGTACCCGCCGCTGCTGCCGCTGCTGCTGCTGCCACACCTGCCGTCCCAGCCTCTTGGGGCCTGCGGTGCATGCA 80
      .      20      .      40      .      60      .      80
      .      100     .      120     .      140     .      160
81 GTGTAAGACCAACGGGATTGCCGTGTGGAAGAGTGCGCCCTGGGACAGGACCTCTGCAGGACCACGATCGTGCCTTGT 160
  |||||
81 GTGTAAGACCAACGGGATTGCCGTGTGGAAGAGTGCGCCCTGGGACAGGACCTCTGCAGGACCACGATCGTGCCTTGT 160
      .      100     .      120     .      140     .      160
      .      180     .      200     .      220     .      240
161 GGAAGAAGGAGAAGAGCTGGAGCTGGTGGAGAAAAGCTGTACCCACTCAGAGAAGACCAACAGGACCCTGAGCTATCGG 240
  |||||
161 GGAAGAAGGAGAAGAGCTGGAGCTGGTGGAGAAAAGCTGTACCCACTCAGAGAAGACCAACAGGACCCTGAGCTATCGG 240
      .      180     .      200     .      220     .      240
      .      260     .      280     .      300     .      320
241 ACTGGCTTGAAGATCACCAGCCTTACCGAGGTTGTGTGTGGGTTAGACTTGTGCAACCAGGGCAACTCTG----- 310
  |||||
241 ACTGGCTTGAAGATCACCAGCCTTACCGAGGTTGTGTGTGGGTTAGACTTGTGCAACCAGGGCAACTCTGCGCGGCTGT 320
      .      260     .      280     .      300     .      320

-----

321 CACCTATTCCCGAAGCCGTTACCTCGAATGCATTTCTGTGGTTCATCAGACATGAGCTGTGAGAGGGGCCGGCACCAGA 400
      .      340     .      360     .      380     .      400

-----

401 GCCTGCAGTGCCGCAGCCCTGAAGAACAGTGCCTGGATGTGGTGACCCACTGGATCCAGGAAGGTGAAGAAGGGCGTCCA 480
      .      420     .      440     .      460     .      480

-----

481 AAGGATGACCGCCACCTCCGTGGCTGTGGCTACCTTCCCGGCTGCCCGGGCTCCAATGGTTTCCACAACAACGACACCTT 560
      .      500     .      520     .      540     .      560
311 -----TCCTGGAGCTTGAAAATCTGCCGAGAAATGGCC 343
      .      320     .      340
561 CCACTTCCTGAAATGCTGCAACACCACCAATGCAACGAGGGCCCAATCCTGGAGCTTGAAAATCTGCCGAGAAATGGCC 640
      .      580     .      600     .      620     .      640
      .      360     .      380     .      400     .      420
344 GCCAGTGTACAGCTGCAAGGGGAACAGCACCCTATGATGCTCCTCTGAAGAGACTTTCTCATGACTGCCGAGGCCCC 423
  |||||
641 GCCAGTGTACAGCTGCAAGGGGAACAGCACCCTATGATGCTCCTCTGAAGAGACTTTCTCATGACTGCCGAGGCCCC 720
      .      660     .      680     .      700     .      720
      .      440     .      460     .      480     .      500
424 ATGAATCAATGTCTGGTAGCCACCGGCACTCAGAACCGAAAAACCAAGCTATATGGTAAGAGGCTGTGCAACCGCCTC 503
  |||||
721 ATGAATCAATGTCTGGTAGCCACCGGCACTCAGAACCGAAAAACCAAGCTATATGGTAAGAGGCTGTGCAACCGCCTC 800
      .      740     .      760     .      780     .      800
      .      520     .      540     .      560     .      580
504 AATGTGCCAACATGCCACCTGGGTGACGCCCTCAGCATGAACCACATTGATGTCTCCTGCTGTACTAAAAGTGGCTGTA 583
  |||||
801 AATGTGCCAACATGCCACCTGGGTGACGCCCTCAGCATGAACCACATTGATGTCTCCTGCTGTACTAAAAGTGGCTGTA 880
      .      820     .      840     .      860     .      880
      .      600     .      620     .      640     .      660
584 ACCACCCAGACCTGGATGTCCAGTACCGCAGTGGGGCTGCTCCTCAGCCTGGCCCTGCCCATCTCAGCCTCACCATCACC 663
  |||||
881 ACCACCCAGACCTGGATGTCCAGTACCGCAGTGGGGCTGCTCCTCAGCCTGGCCCTGCCCATCTCAGCCTCACCATCACC 960
      .      900     .      920     .      940     .      960
      .      680     .      700
664 CTGCTAATGACTGCCAGACTGTGGGGAGGCACTCTCCTCTGGACCTAA 711
  |||||
961 CTGCTAATGACTGCCAGACTGTGGGGAGGCACTCTCCTCTGGACCTAA 1008
      .      980     .      1000
```

* Identity = 70.5 (711/1008)

Figur 5B

```

      .      20      .      40      .      60      .      80
1  MGHPPLLPLLLLLLHTCVPASWGLRCMCKTINGDCRVEECALGQDLCRTTIVRLWEEGEELELVEKSC
  MGHPPLLPLLLLLLHTCVPASWGLRCMCKTINGDCRVEECALGQDLCRTTIVRLWEEGEELELVEKSC
1  MGHPPLLPLLLLLLHTCVPASWGLRCMCKTINGDCRVEECALGQDLCRTTIVRLWEEGEELELVEKSC
      .      20      .      40      .      60      .      80
      .      100
81  TGLKITSLTEVVCGLDLCNQNS----- 103
    TGLKITSLTEVVCGLDLCNQNS
81  TGLKITSLTEVVCGLDLCNQNSGRAVTYSRSRYLECISCGSSDMSCERGRHQSQCSPPEEQCLDVVTHW
      .      100      .      120      .      140      .      160
      .      120      .      140
104 -----VLELENLPQNGRQCYSCKGNSTHGCSSEETFLIDCRGP 141
      +LELENLPQNGRQCYSCKGNSTHGCSSEETFLIDCRGP
161 KDDRHLRGCGYLPGCCPGSNGFHNNDTFHFLKCCNTTKNEGPVLELENLPQNGRQCYSCKGNSTHGCS
      .      180      .      200      .      220      .      240
      .      160      .      180      .      200      .      220
142 MNQCLVATGTHEPKNQSYMVRGCATASMCQHAHLGDAFSMNHIDVSCCTKSGCNHPDLVQYRSGAAPQ
  MNQCLVATGTHEPKNQSYMVRGCATASMCQHAHLGDAFSMNHIDVSCCTKSGCNHPDLVQYRSGAAPQ
241 MNQCLVATGTHEPKNQSYMVRGCATASMCQHAHLGDAFSMNHIDVSCCTKSGCNHPDLVQYRSGAAPQ
      .      260      .      280      .      300      .      320
      .
222 LLMTARLWGGTLLWT* 237
    LLMTARLWGGTLLWT*
321 LLMTARLWGGTLLWT* 336
      .

```

% Identity = 70.2 (236/336)

Figur 6A

```
      .      20      .      40      .      60      .      80
1  ATGGGTCACCCGCCGCTGCTGCCGCTGCTGCTGCTGCCACACCTGCCGTCCCAGCCTCTTGGGGCCTGCCGTGCATGCA 80
  |||
1  ATGGGTCACCCGCCGCTGCTGCCGCTGCTGCTGCTGCCACACCTGCCGTCCCAGCCTCTTGGGGCCTGCCGTGCATGCA 80
      .      20      .      40      .      60      .      80
      .      100     .      120     .      140     .      160
81 GTGTAAGACCAACGGGGATTGCCGTGTGGAAGAGTGCGCCCTGGGACAGGACCTCTGCAGGACCACGATCGTGCGCTTGT 160
  |||
81 GTGTAAGACCAACGGGGATTGCCGTGTGGAAGAGTGCGCCCTGGGACAGGACCTCTGCAGGACCACGATCGTGCGCTTGT 160
      .      100     .      120     .      140     .      160
      .      180     .      200     .      220     .      240
161 GGAAGAAGGAGAAGAGCTGGAGCTGGTGGAGAAAAGCTGTACCCACTCAGAGAAGACCAACAGGACCTTGAGCTATCGG 240
  |||
161 GGAAGAAGGAGAAGAGCTGGAGCTGGTGGAGAAAAGCTGTACCCACTCAGAGAAGACCAACAGGACCTTGAGCTATCGG 240
      .      180     .      200     .      220     .      240
      .      260     .      280     .      300     .      320
241 ACTGGCTTGAAGATCACCAGCCTTACCGAGGTTGTGTGGGTtagactTGTGCAACCAGGGCAACTCTGGCCGGCTGT 320
  |||
241 ACTGGCTTGAAGATCACCAGCCTTACCGAGGTTGTGTGGGTtagactTGTGCAACCAGGGCAACTCTGGCCGGCTGT 320
      .      260     .      280     .      300     .      320
      .      340     .      360     .      380     .      400
321 CACCTATTCCCGAAGCCGTTACCTCGAATGCATTTCTGTGGCTCATCAGACATGAGCTGTGAGAGGGGCGGCACCAGA 400
  |||
321 CACCTATTCCCGAAGCCGTTACCTCGAATGCATTTCTGTGGCTCATCAGACATGAGCTGTGAGAGGGGCGGCACCAGA 400
      .      340     .      360     .      380     .      400
      .      420     .      440     .      460     .
401 GCCTGCAGTGCCGCAGCCCTGAAGAACAGTGCTGGATGTGGTGACCCACTGGATCCAGGAAGGTGAAGAAG----- 472
  |||
401 GCCTGCAGTGCCGCAGCCCTGAAGAACAGTGCTGGATGTGGTGACCCACTGGATCCAGGAAGGTGAAGAAGGGCGTCCA 480
      .      420     .      440     .      460     .      480

-----
481 AAGGATGACCGCCACCTCCGTGGCTGTGGCTACCTTCCCGGCTGCCCGGGCTCCAATGGTTTCCACAACAACGACACCTT 560
      .      500     .      520     .      540     .      560
473 -----TCCTGGAGCTTGAAAATCTGCCGCGAATGGCC 505
      .      480     .      500
561 CCACTTCTGAAATGCTGCAACACCACCAAAATGCAACGAGGGCCCAATCTCTGGAGCTTGAAAATCTGCCGCGAATGGCC 640
      .      580     .      600     .      620     .      640
506 GCCAGTGTTACAGCTGCAAGGGGAACAGCACCCATGGATGCTCCTCTGAAGAGACTTTCCTCATTGACTGCCGAGGCCCC 585
  |||
641 GCCAGTGTTACAGCTGCAAGGGGAACAGCACCCATGGATGCTCCTCTGAAGAGACTTTCCTCATTGACTGCCGAGGCCCC 720
      .      660     .      680     .      700     .      720
586 ATGAATCAATGTCTGGTAGCCACCGCACTCAGGAACCGAAAAACCAAGCTATATGGTAAGAGGCTGTGCAACCGCCTC 665
  |||
721 ATGAATCAATGTCTGGTAGCCACCGCACTCAGGAACCGAAAAACCAAGCTATATGGTAAGAGGCTGTGCAACCGCCTC 800
      .      740     .      760     .      780     .      800
666 AATGTGCCAACATGCCACCTGGGTGACGCCTTCAGCATGAACCACATTGATGTCTCCTGCTGTACTAAAAGTGGCTGTA 745
  |||
801 AATGTGCCAACATGCCACCTGGGTGACGCCTTCAGCATGAACCACATTGATGTCTCCTGCTGTACTAAAAGTGGCTGTA 880
      .      820     .      840     .      860     .      880
746 ACCACCCAGACCTGGATGTCCAGTACCGCAGTGGGGCTGCTCCTCAGCCTGGCCCTGCCCATCTCAGCCTCACCATCACC 825
  |||
881 ACCACCCAGACCTGGATGTCCAGTACCGCAGTGGGGCTGCTCCTCAGCCTGGCCCTGCCCATCTCAGCCTCACCATCACC 960
      .      900     .      920     .      940     .      960
826 CTGctaatgactgccagactgtggggaggcactctcctctggaccTAA 873
  |||
961 CTGCTAATGACTGCCAGACTGTGGGGAGGCACCTCCTCTGGACCTAA 1008
      .      980     .      1000
```

% Identity = 86.6 (873/1008)

Figur 6B

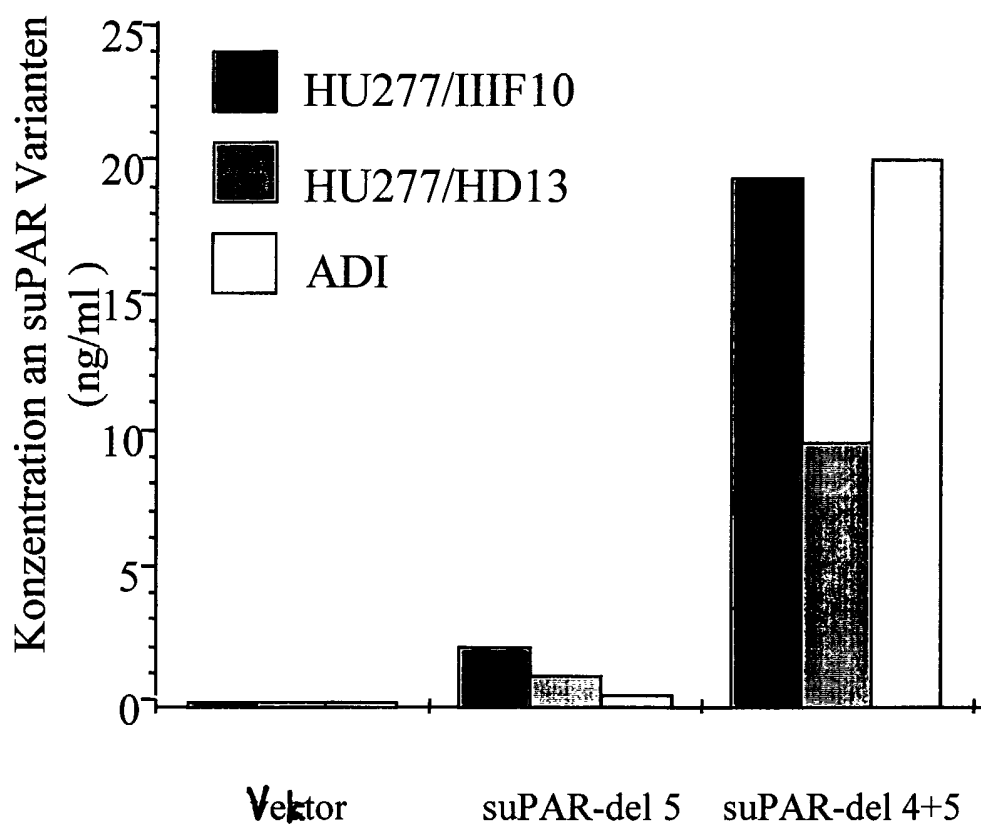
```

      .      20      .      40      .      60      .      80
1  MGHPPLLPLLLLLHTCVPASWGLRCMQCKTNGDCRVEECALGQDLCRTTIVRLWEEGEELELVEKSCETHSEKTNRTLSYR 80
   MGHPPLLPLLLLLHTCVPASWGLRCMQCKTNGDCRVEECALGQDLCRTTIVRLWEEGEELELVEKSCETHSEKTNRTLSYR
1  MGHPPLLPLLLLLHTCVPASWGLRCMQCKTNGDCRVEECALGQDLCRTTIVRLWEEGEELELVEKSCETHSEKTNRTLSYR 80
      .      20      .      40      .      60      .      80
      .      100     .      120     .      140     .      160
81 TGLKITSLEVVCGLDLCNQNSGRAVTYSRSRYLECISCGSSDMSCERGRHQLQCRSPPEEQCLDVVTHWIEGEE--- 157
   TGLKITSLEVVCGLDLCNQNSGRAVTYSRSRYLECISCGSSDMSCERGRHQLQCRSPPEEQCLDVVTHWIEGEE
81 TGLKITSLEVVCGLDLCNQNSGRAVTYSRSRYLECISCGSSDMSCERGRHQLQCRSPPEEQCLDVVTHWIEGEEGRP 160
      .      100     .      120     .      140     .      160
158 -----VLELENLPQNGRQCYSCKGNSTHGCSSEETFLIDCRGP 195
      .      180     .      200     .      220     .      240
      +LELENLPQNGRQCYSCKGNSTHGCSSEETFLIDCRGP
161 KDDRHLRGCGYLPGCCPSNGFHNNDTFHFLKCCNTTKCNEGP+LELENLPQNGRQCYSCKGNSTHGCSSEETFLIDCRGP 240
      .      180     .      200     .      220     .      240
      .      200     .      220     .      240     .      260     .      280
196 MNQCLVATGTHEPKNQSYMVRGCATASMCQHAHLGDAFSMNHIDVSCCTKSGCNHPDLVDVQYRSGAAPQPGPAHLSLTIT 275
   MNQCLVATGTHEPKNQSYMVRGCATASMCQHAHLGDAFSMNHIDVSCCTKSGCNHPDLVDVQYRSGAAPQPGPAHLSLTIT
241 MNQCLVATGTHEPKNQSYMVRGCATASMCQHAHLGDAFSMNHIDVSCCTKSGCNHPDLVDVQYRSGAAPQPGPAHLSLTIT 320
      .      260     .      280     .      300     .      320
      280      .
276 LLMTARLWGGTLLWT* 291
      .
      LLMTARLWGGTLLWT*
321 LLMTARLWGGTLLWT* 336
      .

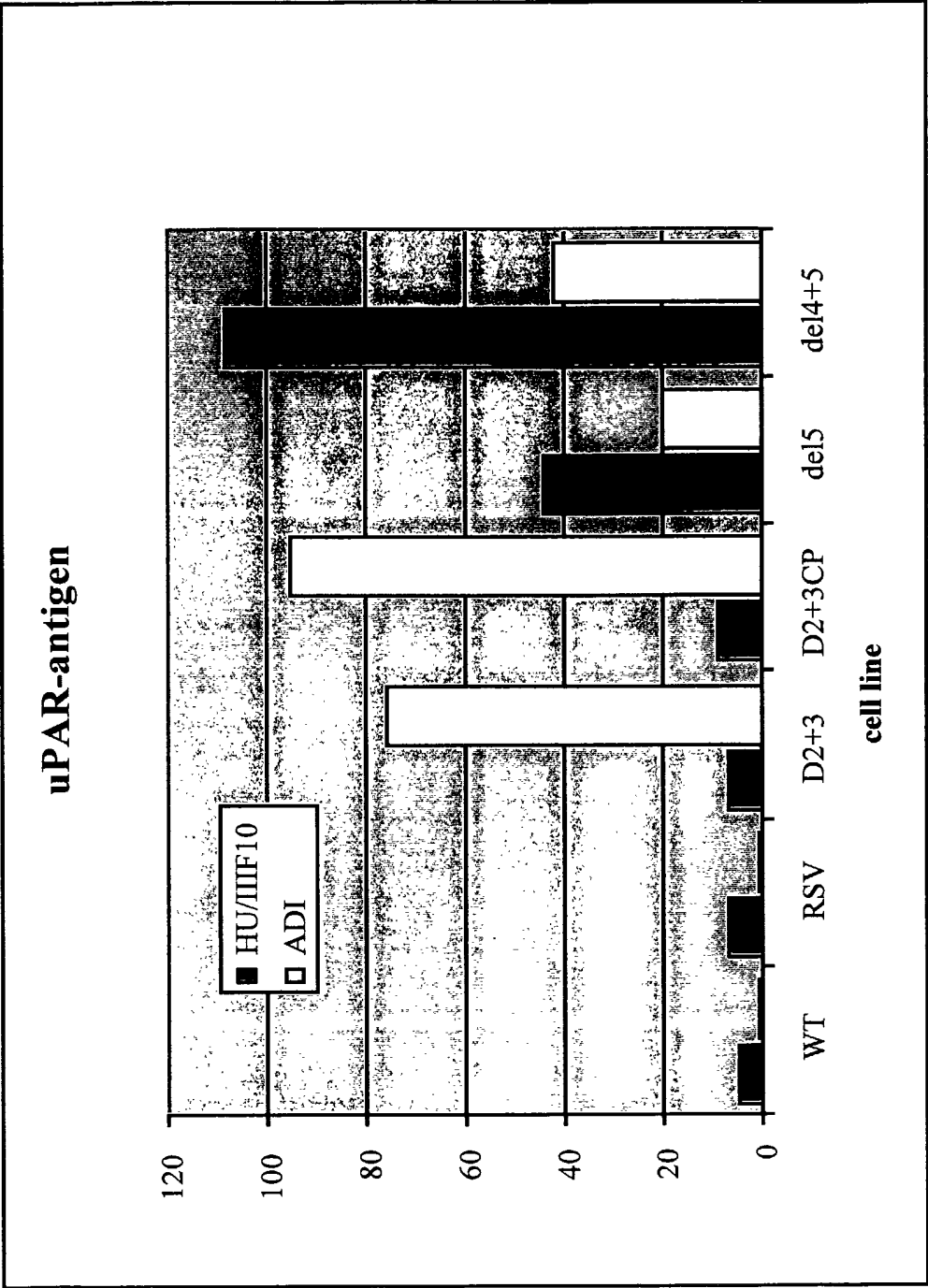
```

% Identity = 86.3 (290/336)

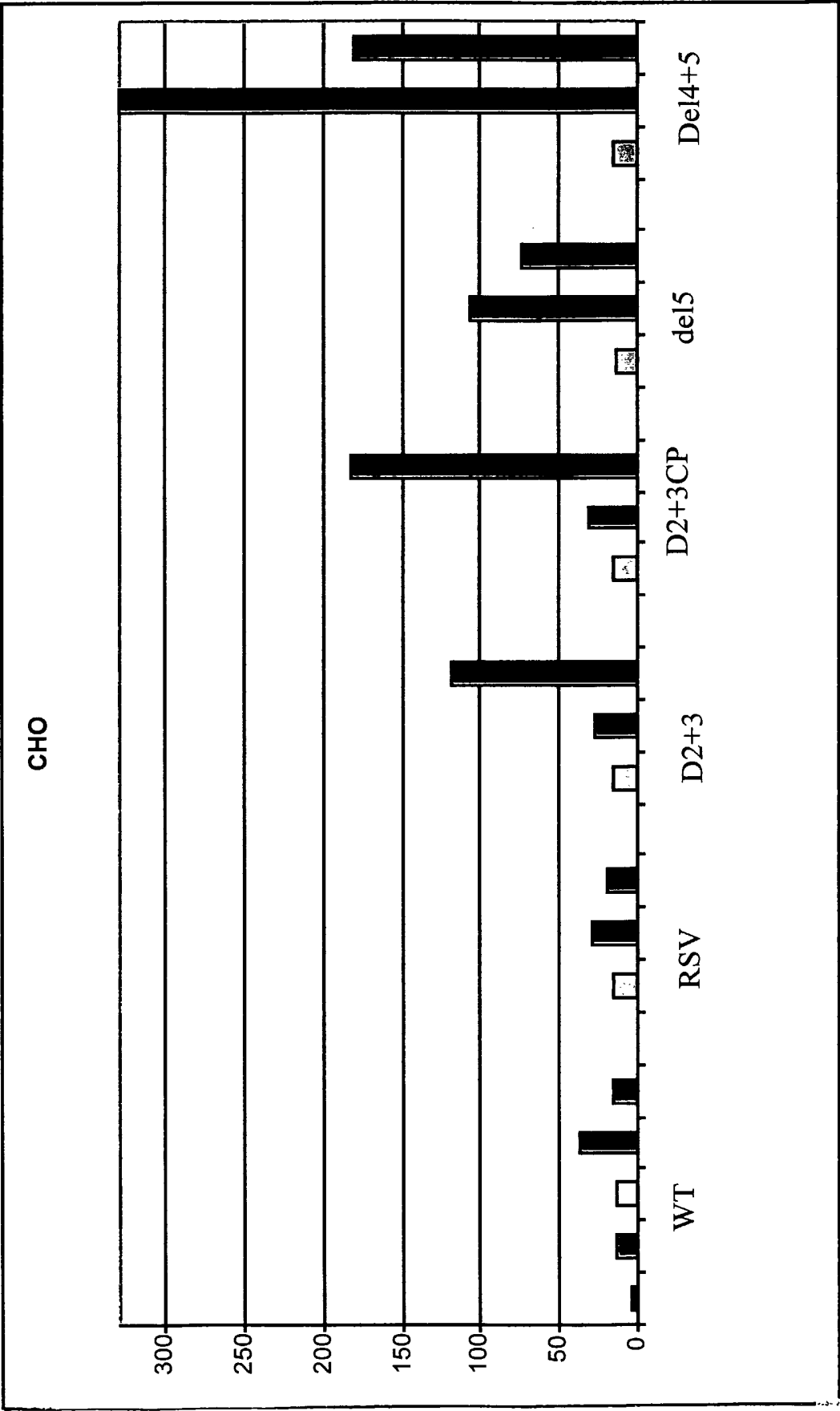
Figur 7



Figur 8



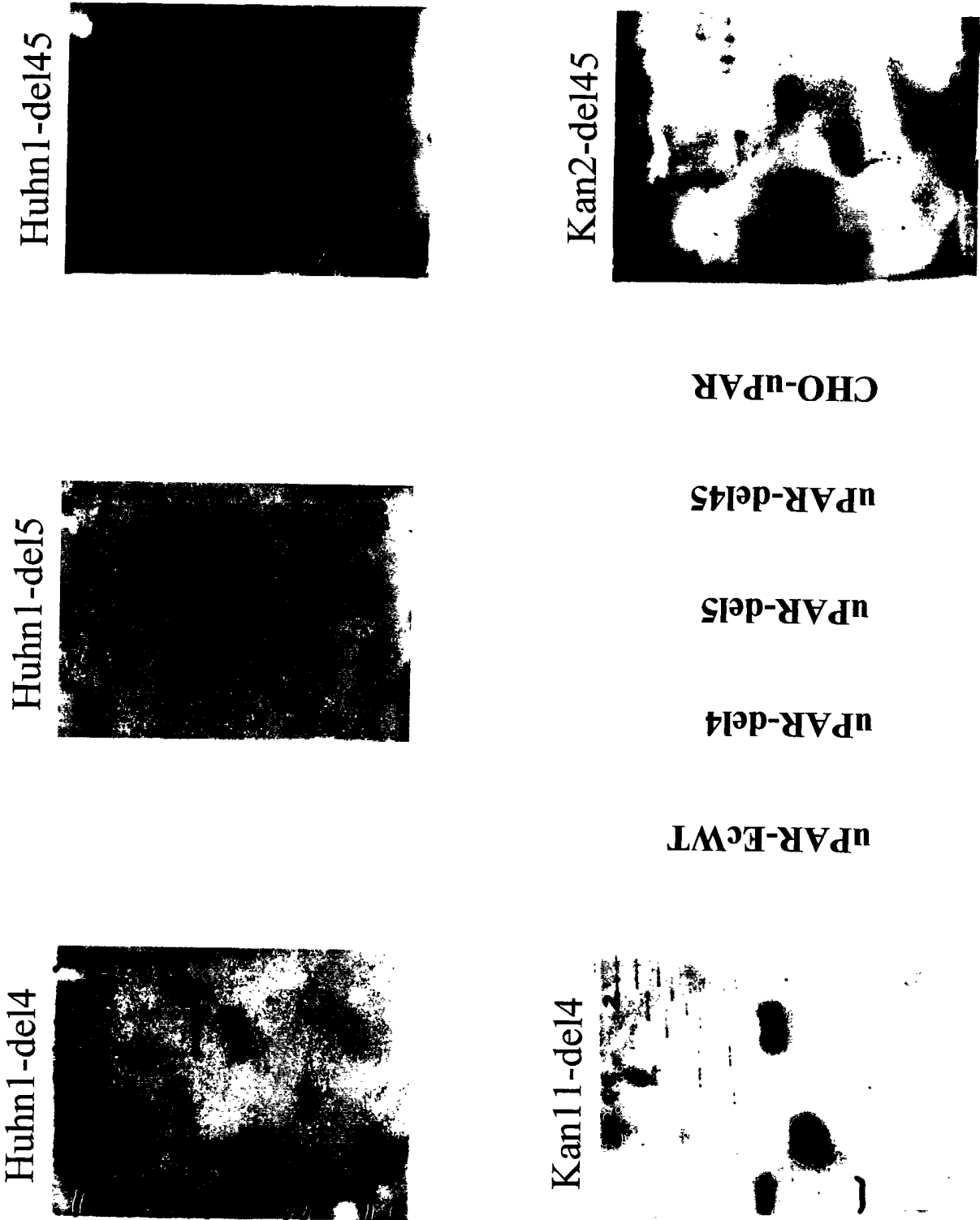
Figur 9



Figur 10

uPARdel4+5	Q	G	N	S	V	L	E	L
uPARdel4	Q	G	N	S	G	R	P	K
uPARdel5	E	G	E	E	V	L	E	L

Figur 11



Figur 12

	Ec-uPAR1-283	uPAR-del4	uPAR-del45	uPAR-del5
Kan1-del4	++	+++	-	++
Kan2-del45	++	++	++++	+++
Huhn1-del4	-	++	+	+
Huhn1-del5	-	-	-	+++
Huhn2-del45	++	++	++	++
Mee1-del5	+	+	+	+++

Figur 14

E.coli-Varianten	wt WB	wt EIA/50 /180	del4 WB	del4 EIA/50 /180	del4/5 WB	del4/5 EIA/50 /180	del5 WB	del5 EIA/50 /180
Anti-Kaninchen 1:500								
del4-I/150	++	+++	++++	+++	-	-	++	+++
del4-II/150	-	-	-	+	-	+	-	-
del4/5-I/150	+	+	?	+	?	++	?	-
del4/5-II/150	++	+	++	++	+++	+++	+++	-
del5-I/90	nt	-	nt	+	nt	+	nt	-
del5-II/150	+	+	++	++	+++	+	+/-	-
Anti-Huhn 1:500								
del4-I	-	+	+++	+	+	+	+	+
del4-II	-	+	-	(++)	-	++	-	+/-
del4/5-I	-	-	-	-	-	+	-	+/-
del4/5-II	++	+++	++	+++	++	+++	++	++
del5-I	-	+	-	++	-	+++	+++	+
del5-II	+++	++	+/-	+++	+++	+++	+/-	+/-
Anti-Meerschweinchen 1:500								
del4-I	nt	-	nt	+	nt	+	nt	-
del4-II	++	-	-	-	-	-	-	-
del4/5-I	+++	-	++	+	++	+	++	-
del4/5-II	-	-	-	++	+/-	++	+	-
del5-I	+	-	+	+	+	+	+++	-
del5-II	-	-	-	+	-	+	-	-
Extinktionseinheiten								
<0,500		-						
0,500-1,000		+						
1,000-1,500		++						
>1,500		+++						

EIA: E.coli-Var. // anti-uPAR-Var.-AS // anti-Spezies-HRP

SEQUENZPROTOKOLL

<110> Willex Biotechnology GmbH

<120> Herstellung polyklonaler, monospezifischer Antikörper
gegen die uPAR-Varianten del4, del5 und del4+5 sowie
deren Verwendung für diagnostische und therapeutische
Zwecke

<130> 24059PWO_DR

<140>

<141>

<150> DE 101 17 381.4

<151> 2001-04-06

<160> 8

<170> PatentIn Ver. 2.1

<210> 1

<211> 846

<212> DNA

<213> Human

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(843)

<400> 1

atg ggt cac ccg ccg ctg ctg ccg ctg ctg ctg ctg ctc cac acc tgc	48
Met Gly His Pro Pro Leu Leu Pro Leu Leu Leu Leu Leu His Thr Cys	
1 5 10 15	

gtc cca gcc tct tgg ggc ctg ccg tgc atg cag tgt aag acc aac ggg	96
Val Pro Ala Ser Trp Gly Leu Arg Cys Met Gln Cys Lys Thr Asn Gly	
20 25 30	

gat tgc cgt gtg gaa gag tgc gcc ctg gga cag gac ctc tgc agg acc	144
Asp Cys Arg Val Glu Glu Cys Ala Leu Gly Gln Asp Leu Cys Arg Thr	
35 40 45	

acg atc gtg cgc ttg tgg gaa gaa gga gaa gag ctg gag ctg gtg gag	192
Thr Ile Val Arg Leu Trp Glu Gly Glu Glu Leu Glu Leu Val Glu	
50 55 60	

aaa agc tgt acc cac tca gag aag acc aac agg acc ctg agc tat cgg	240
---	-----

Lys	Ser	Cys	Thr	His	Ser	Glu	Lys	Thr	Asn	Arg	Thr	Leu	Ser	Tyr	Arg	
65					70				75						80	
act	ggc	ttg	aag	atc	acc	agc	ctt	acc	gag	gtt	gtg	tgt	ggg	tta	gac	288
Thr	Gly	Leu	Lys	Ile	Thr	Ser	Leu	Thr	Glu	Val	Val	Cys	Gly	Leu	Asp	
				85					90					95		
ttg	tgc	aac	cag	ggc	aac	tct	ggg	cgt	cca	aag	gat	gac	cgc	cac	ctc	336
Leu	Cys	Asn	Gln	Gly	Asn	Ser	Gly	Arg	Pro	Lys	Asp	Asp	Arg	His	Leu	
			100					105						110		
cgt	ggc	tgt	ggc	tac	ctt	ccc	ggc	tgc	ccg	ggc	tcc	aat	ggt	ttc	cac	384
Arg	Gly	Cys	Gly	Tyr	Leu	Pro	Gly	Cys	Pro	Gly	Ser	Asn	Gly	Phe	His	
		115					120						125			
aac	aac	gac	acc	ttc	cac	ttc	ctg	aaa	tgc	tgc	aac	acc	acc	aaa	tgc	432
Asn	Asn	Asp	Thr	Phe	His	Phe	Leu	Lys	Cys	Cys	Asn	Thr	Thr	Lys	Cys	
		130				135						140				
aac	gag	ggc	cca	atc	ctg	gag	ctt	gaa	aat	ctg	ccg	cag	aat	ggc	cgc	480
Asn	Glu	Gly	Pro	Ile	Leu	Glu	Leu	Glu	Asn	Leu	Pro	Gln	Asn	Gly	Arg	
145					150					155					160	
cag	tgt	tac	agc	tgc	aag	ggg	aac	agc	acc	cat	gga	tgc	tcc	tct	gaa	528
Gln	Cys	Tyr	Ser	Cys	Lys	Gly	Asn	Ser	Thr	His	Gly	Cys	Ser	Ser	Glu	
				165					170					175		
gag	act	ttc	ctc	att	gac	tgc	cga	ggc	ccc	atg	aat	caa	tgt	ctg	gta	576
Glu	Thr	Phe	Leu	Ile	Asp	Cys	Arg	Gly	Pro	Met	Asn	Gln	Cys	Leu	Val	
			180					185					190			
gcc	acc	ggc	act	cac	gaa	ccg	aaa	aac	caa	agc	tat	atg	gta	aga	ggc	624
Ala	Thr	Gly	Thr	His	Glu	Pro	Lys	Asn	Gln	Ser	Tyr	Met	Val	Arg	Gly	
		195					200					205				
tgt	gca	acc	gcc	tca	atg	tgc	caa	cat	gcc	cac	ctg	ggt	gac	gcc	ttc	672
Cys	Ala	Thr	Ala	Ser	Met	Cys	Gln	His	Ala	His	Leu	Gly	Asp	Ala	Phe	
		210					215				220					
agc	atg	aac	cac	att	gat	gtc	tcc	tgc	tgt	act	aaa	agt	ggc	tgt	aac	720
Ser	Met	Asn	His	Ile	Asp	Val	Ser	Cys	Cys	Thr	Lys	Ser	Gly	Cys	Asn	
225					230					235					240	
cac	cca	gac	ctg	gat	gtc	cag	tac	cgc	agt	ggg	gct	gct	cct	cag	cct	768
His	Pro	Asp	Leu	Asp	Val	Gln	Tyr	Arg	Ser	Gly	Ala	Ala	Pro	Gln	Pro	
			245					250					255			
ggc	cct	gcc	cat	ctc	agc	ctc	acc	atc	acc	ctg	cta	atg	act	gcc	aga	816

Gly Pro Ala His Leu Ser Leu Thr Ile Thr Leu Leu Met Thr Ala Arg
 260 265 270

ctg tgg gga ggc act ctc ctc tgg acc taa 846
 Leu Trp Gly Gly Thr Leu Leu Trp Thr
 275 280

<210> 2
 <211> 281
 <212> PRT
 <213> Human

<400> 2
 Met Gly His Pro Pro Leu Leu Pro Leu Leu Leu Leu Leu His Thr Cys
 1 5 10 15

Val Pro Ala Ser Trp Gly Leu Arg Cys Met Gln Cys Lys Thr Asn Gly
 20 25 30

Asp Cys Arg Val Glu Glu Cys Ala Leu Gly Gln Asp Leu Cys Arg Thr
 35 40 45

Thr Ile Val Arg Leu Trp Glu Glu Gly Glu Glu Leu Glu Leu Val Glu
 50 55 60

Lys Ser Cys Thr His Ser Glu Lys Thr Asn Arg Thr Leu Ser Tyr Arg
 65 70 75 80

Thr Gly Leu Lys Ile Thr Ser Leu Thr Glu Val Val Cys Gly Leu Asp
 85 90 95

Leu Cys Asn Gln Gly Asn Ser Gly Arg Pro Lys Asp Asp Arg His Leu
 100 105 110

Arg Gly Cys Gly Tyr Leu Pro Gly Cys Pro Gly Ser Asn Gly Phe His
 115 120 125

Asn Asn Asp Thr Phe His Phe Leu Lys Cys Cys Asn Thr Thr Lys Cys
 130 135 140

Asn Glu Gly Pro Ile Leu Glu Leu Glu Asn Leu Pro Gln Asn Gly Arg
 145 150 155 160

Gln Cys Tyr Ser Cys Lys Gly Asn Ser Thr His Gly Cys Ser Ser Glu
 165 170 175

Glu Thr Phe Leu Ile Asp Cys Arg Gly Pro Met Asn Gln Cys Leu Val

180	185	190
Ala Thr Gly Thr His Glu Pro Lys Asn Gln Ser Tyr Met Val Arg Gly		
195	200	205
Cys Ala Thr Ala Ser Met Cys Gln His Ala His Leu Gly Asp Ala Phe		
210	215	220
Ser Met Asn His Ile Asp Val Ser Cys Cys Thr Lys Ser Gly Cys Asn		
225	230	235
His Pro Asp Leu Asp Val Gln Tyr Arg Ser Gly Ala Ala Pro Gln Pro		
245	250	255
Gly Pro Ala His Leu Ser Leu Thr Ile Thr Leu Leu Met Thr Ala Arg		
260	265	270
Leu Trp Gly Gly Thr Leu Leu Trp Thr		
275	280	

<210> 3
 <211> 711
 <212> DNA
 <213> Human

<220>
 <221> CDS
 <222> (1)..(708)

<400> 3

atg ggt cac ccg ccg ctg ctg ccg ctg ctg ctg ctg ctc cac acc tgc	48
Met Gly His Pro Pro Leu Leu Pro Leu Leu Leu Leu Leu His Thr Cys	
1 5 10 15	
gtc cca gcc tct tgg ggc ctg cgg tgc atg cag tgt aag acc aac ggg	96
Val Pro Ala Ser Trp Gly Leu Arg Cys Met Gln Cys Lys Thr Asn Gly	
20 25 30	
gat tgc cgt gtg gaa gag tgc gcc ctg gga cag gac ctc tgc agg acc	144
Asp Cys Arg Val Glu Glu Cys Ala Leu Gly Gln Asp Leu Cys Arg Thr	
35 40 45	
acg atc gtg cgc ttg tgg gaa gaa gga gaa gag ctg gag ctg gtg gag	192
Thr Ile Val Arg Leu Trp Glu Glu Gly Glu Glu Leu Glu Leu Val Glu	
50 55 60	

```

aaa agc tgt acc cac tca gag aag acc aac agg acc ctg agc tat cgg 240
Lys Ser Cys Thr His Ser Glu Lys Thr Asn Arg Thr Leu Ser Tyr Arg
65 70 75 80

act ggc ttg aag atc acc agc ctt acc gag gtt gtg tgt ggg tta gac 288
Thr Gly Leu Lys Ile Thr Ser Leu Thr Glu Val Val Cys Gly Leu Asp
85 90 95

ttg tgc aac cag ggc aac tct gtc ctg gag ctt gaa aat ctg ccg cag 336
Leu Cys Asn Gln Gly Asn Ser Val Leu Glu Leu Glu Asn Leu Pro Gln
100 105 110

aat ggc cgc cag tgt tac agc tgc aag ggg aac agc acc cat gga tgc 384
Asn Gly Arg Gln Cys Tyr Ser Cys Lys Gly Asn Ser Thr His Gly Cys
115 120 125

tcc tct gaa gag act ttc ctc att gac tgc cga ggc ccc atg aat caa 432
Ser Ser Glu Glu Thr Phe Leu Ile Asp Cys Arg Gly Pro Met Asn Gln
130 135 140

tgt ctg gta gcc acc ggc act cac gaa ccg aaa aac caa agc tat atg 480
Cys Leu Val Ala Thr Gly Thr His Glu Pro Lys Asn Gln Ser Tyr Met
145 150 155 160

gta aga ggc tgt gca acc gcc tca atg tgc caa cat gcc cac ctg ggt 528
Val Arg Gly Cys Ala Thr Ala Ser Met Cys Gln His Ala His Leu Gly
165 170 175

gac gcc ttc agc atg aac cac att gat gtc tcc tgc tgt act aaa agt 576
Asp Ala Phe Ser Met Asn His Ile Asp Val Ser Cys Cys Thr Lys Ser
180 185 190

ggc tgt aac cac cca gac ctg gat gtc cag tac cgc agt ggg gct gct 624
Gly Cys Asn His Pro Asp Leu Asp Val Gln Tyr Arg Ser Gly Ala Ala
195 200 205

cct cag cct ggc cct gcc cat ctc agc ctc acc atc acc ctg cta atg 672
Pro Gln Pro Gly Pro Ala His Leu Ser Leu Thr Ile Thr Leu Leu Met
210 215 220

act gcc aga ctg tgg gga ggc act ctc ctc tgg acc taa 711
Thr Ala Arg Leu Trp Gly Gly Thr Leu Leu Trp Thr
225 230 235

```

<210> 4

<211> 236

<212> PRT

<213> Human

<400> 4

```

Met Gly His Pro Pro Leu Leu Pro Leu Leu Leu Leu Leu His Thr Cys
  1              5              10              15

Val Pro Ala Ser Trp Gly Leu Arg Cys Met Gln Cys Lys Thr Asn Gly
      20              25              30

Asp Cys Arg Val Glu Glu Cys Ala Leu Gly Gln Asp Leu Cys Arg Thr
      35              40              45

Thr Ile Val Arg Leu Trp Glu Glu Gly Glu Glu Leu Glu Leu Val Glu
      50              55              60

Lys Ser Cys Thr His Ser Glu Lys Thr Asn Arg Thr Leu Ser Tyr Arg
      65              70              75              80

Thr Gly Leu Lys Ile Thr Ser Leu Thr Glu Val Val Cys Gly Leu Asp
      85              90              95

Leu Cys Asn Gln Gly Asn Ser Val Leu Glu Leu Glu Asn Leu Pro Gln
      100              105              110

Asn Gly Arg Gln Cys Tyr Ser Cys Lys Gly Asn Ser Thr His Gly Cys
      115              120              125

Ser Ser Glu Glu Thr Phe Leu Ile Asp Cys Arg Gly Pro Met Asn Gln
      130              135              140

Cys Leu Val Ala Thr Gly Thr His Glu Pro Lys Asn Gln Ser Tyr Met
      145              150              155              160

Val Arg Gly Cys Ala Thr Ala Ser Met Cys Gln His Ala His Leu Gly
      165              170              175

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

Gly Cys Asn His Pro Asp Leu Asp Val Gln Tyr Arg Ser Gly Ala Ala
      195              200              205

Pro Gln Pro Gly Pro Ala His Leu Ser Leu Thr Ile Thr Leu Leu Met
      210              215              220

Thr Ala Arg Leu Trp Gly Gly Thr Leu Leu Trp Thr
      225              230              235

```

<210> 5
 <211> 873
 <212> DNA
 <213> Human

<220>
 <221> CDS
 <222> (1)..(870)

<400> 5
 atg ggt cac ccg ccg ctg ctg ccg ctg ctg ctg ctg ctc cac acc tgc 48
 Met Gly His Pro Pro Leu Leu Pro Leu Leu Leu Leu Leu His Thr Cys
 1 5 10 15
 gtc cca gcc tct tgg ggc ctg cgg tgc atg cag tgt aag acc aac ggg 96
 Val Pro Ala Ser Trp Gly Leu Arg Cys Met Gln Cys Lys Thr Asn Gly
 20 25 30
 gat tgc cgt gtg gaa gag tgc gcc ctg gga cag gac ctc tgc agg acc 144
 Asp Cys Arg Val Glu Glu Cys Ala Leu Gly Gln Asp Leu Cys Arg Thr
 35 40 45
 acg atc gtg cgc ttg tgg gaa gaa gga gaa gag ctg gag ctg gtg gag 192
 Thr Ile Val Arg Leu Trp Glu Glu Gly Glu Glu Leu Glu Leu Val Glu
 50 55 60
 aaa agc tgt acc cac tca gag aag acc aac agg acc ctg agc tat cgg 240
 Lys Ser Cys Thr His Ser Glu Lys Thr Asn Arg Thr Leu Ser Tyr Arg
 65 70 75 80
 act ggc ttg aag atc acc agc ctt acc gag gtt gtg tgt ggg tta gac 288
 Thr Gly Leu Lys Ile Thr Ser Leu Thr Glu Val Val Cys Gly Leu Asp
 85 90 95
 ttg tgc aac cag ggc aac tct ggc cgg gct gtc acc tat tcc cga agc 336
 Leu Cys Asn Gln Gly Asn Ser Gly Arg Ala Val Thr Tyr Ser Arg Ser
 100 105 110
 cgt tac ctc gaa tgc att tcc tgt ggc tca tca gac atg agc tgt gag 384
 Arg Tyr Leu Glu Cys Ile Ser Cys Gly Ser Ser Asp Met Ser Cys Glu
 115 120 125
 agg ggc cgg cac cag agc ctg cag tgc cgc agc cct gaa gaa cag tgc 432
 Arg Gly Arg His Gln Ser Leu Gln Cys Arg Ser Pro Glu Glu Gln Cys
 130 135 140

```

ctg gat gtg gtg acc cac tgg atc cag gaa ggt gaa gaa gtc ctg gag      480
Leu Asp Val Val Thr His Trp Ile Gln Glu Gly Glu Glu Val Leu Glu
145                      150                      155                      160

ctt gaa aat ctg ccg cag aat ggc cgc cag tgt tac agc tgc aag ggg      528
Leu Glu Asn Leu Pro Gln Asn Gly Arg Gln Cys Tyr Ser Cys Lys Gly
                      165                      170                      175

aac agc acc cat gga tgc tcc tct gaa gag act ttc ctc att gac tgc      576
Asn Ser Thr His Gly Cys Ser Ser Glu Glu Thr Phe Leu Ile Asp Cys
                      180                      185                      190

cga ggc ccc atg aat caa tgt ctg gta gcc acc ggc act cac gaa ccg      624
Arg Gly Pro Met Asn Gln Cys Leu Val Ala Thr Gly Thr His Glu Pro
                      195                      200                      205

aaa aac caa agc tat atg gta aga ggc tgt gca acc gcc tca atg tgc      672
Lys Asn Gln Ser Tyr Met Val Arg Gly Cys Ala Thr Ala Ser Met Cys
                      210                      215                      220

caa cat gcc cac ctg ggt gac gcc ttc agc atg aac cac att gat gtc      720
Gln His Ala His Leu Gly Asp Ala Phe Ser Met Asn His Ile Asp Val
225                      230                      235                      240

tcc tgc tgt act aaa agt ggc tgt aac cac cca gac ctg gat gtc cag      768
Ser Cys Cys Thr Lys Ser Gly Cys Asn His Pro Asp Leu Asp Val Gln
                      245                      250                      255

tac cgc agt ggg gct gct cct cag cct ggc cct gcc cat ctc agc ctc      816
Tyr Arg Ser Gly Ala Ala Pro Gln Pro Gly Pro Ala His Leu Ser Leu
                      260                      265                      270

acc atc acc ctg cta atg act gcc aga ctg tgg gga ggc act ctc ctc      864
Thr Ile Thr Leu Leu Met Thr Ala Arg Leu Trp Gly Gly Thr Leu Leu
                      275                      280                      285

tgg acc taa
Trp Thr
290

```

<210> 6

<211> 290

<212> PRT

<213> Human

<400> 6

Met Gly His Pro Pro Leu Leu Pro Leu Leu Leu Leu Leu His Thr Cys

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

260 265 270
 Thr Ile Thr Leu Leu Met Thr Ala Arg Leu Trp Gly Gly Thr Leu Leu
 275 280 285
 Trp Thr
 290

 <210> 7
 <211> 1008
 <212> DNA
 <213> Human

 <220>
 <221> CDS
 <222> (1)..(1005)

 <400> 7
 atg ggt cac ccg ccg ctg ctg ccg ctg ctg ctg ctg ctc cac acc tgc 48
 Met Gly His Pro Pro Leu Leu Pro Leu Leu Leu Leu His Thr Cys
 1 5 10 15
 gtc cca gcc tct tgg ggc ctg cgg tgc atg cag tgt aag acc aac ggg 96
 Val Pro Ala Ser Trp Gly Leu Arg Cys Met Gln Cys Lys Thr Asn Gly
 20 25 30
 gat tgc cgt gtg gaa gag tgc gcc ctg gga cag gac ctc tgc agg acc 144
 Asp Cys Arg Val Glu Glu Cys Ala Leu Gly Gln Asp Leu Cys Arg Thr
 35 40 45
 acg atc gtg cgc ttg tgg gaa gaa gga gaa gag ctg gag ctg gtg gag 192
 Thr Ile Val Arg Leu Trp Glu Glu Gly Glu Glu Leu Glu Leu Val Glu
 50 55 60
 aaa agc tgt acc cac tca gag aag acc aac agg acc ctg agc tat cgg 240
 Lys Ser Cys Thr His Ser Glu Lys Thr Asn Arg Thr Leu Ser Tyr Arg
 65 70 75 80
 act ggc ttg aag atc acc agc ctt acc gag gtt gtg tgt ggg tta gac 288
 Thr Gly Leu Lys Ile Thr Ser Leu Thr Glu Val Val Cys Gly Leu Asp
 85 90 95
 ttg tgc aac cag ggc aac tct ggc cgg gct gtc acc tat tcc cga agc 336
 Leu Cys Asn Gln Gly Asn Ser Gly Arg Ala Val Thr Tyr Ser Arg Ser
 100 105 110

cgt tac ctc gaa tgc att tcc tgt ggc tca tca gac atg agc tgt gag	384
Arg Tyr Leu Glu Cys Ile Ser Cys Gly Ser Ser Asp Met Ser Cys Glu	
115 120 125	
agg ggc cgg cac cag agc ctg cag tgc cgc agc cct gaa gaa cag tgc	432
Arg Gly Arg His Gln Ser Leu Gln Cys Arg Ser Pro Glu Glu Gln Cys	
130 135 140	
ctg gat gtg gtg acc cac tgg atc cag gaa ggt gaa gaa ggg cgt cca	480
Leu Asp Val Val Thr His Trp Ile Gln Glu Gly Glu Glu Gly Arg Pro	
145 150 155 160	
aag gat gac cgc cac ctc cgt ggc tgt ggc tac ctt ccc ggc tgc ccg	528
Lys Asp Asp Arg His Leu Arg Gly Cys Gly Tyr Leu Pro Gly Cys Pro	
165 170 175	
ggc tcc aat ggt ttc cac aac aac gac acc ttc cac ttc ctg aaa tgc	576
Gly Ser Asn Gly Phe His Asn Asn Asp Thr Phe His Phe Leu Lys Cys	
180 185 190	
tgc aac acc acc aaa tgc aac gag ggc cca atc ctg gag ctt gaa aat	624
Cys Asn Thr Thr Lys Cys Asn Glu Gly Pro Ile Leu Glu Leu Glu Asn	
195 200 205	
ctg ccg cag aat ggc cgc cag tgt tac agc tgc aag ggg aac agc acc	672
Leu Pro Gln Asn Gly Arg Gln Cys Tyr Ser Cys Lys Gly Asn Ser Thr	
210 215 220	
cat gga tgc tcc tct gaa gag act ttc ctc att gac tgc cga ggc ccc	720
His Gly Cys Ser Ser Glu Glu Thr Phe Leu Ile Asp Cys Arg Gly Pro	
225 230 235 240	
atg aat caa tgt ctg gta gcc acc ggc act cac gaa ccg aaa aac caa	768
Met Asn Gln Cys Leu Val Ala Thr Gly Thr His Glu Pro Lys Asn Gln	
245 250 255	
agc tat atg gta aga ggc tgt gca acc gcc tca atg tgc caa cat gcc	816
Ser Tyr Met Val Arg Gly Cys Ala Thr Ala Ser Met Cys Gln His Ala	
260 265 270	
cac ctg ggt gac gcc ttc agc atg aac cac att gat gtc tcc tgc tgt	864
His Leu Gly Asp Ala Phe Ser Met Asn His Ile Asp Val Ser Cys Cys	
275 280 285	
act aaa agt ggc tgt aac cac cca gac ctg gat gtc cag tac cgc agt	912
Thr Lys Ser Gly Cys Asn His Pro Asp Leu Asp Val Gln Tyr Arg Ser	
290 295 300	

ggg gct gct cct cag cct ggc cct gcc cat ctc agc ctc acc atc acc 960
 Gly Ala Ala Pro Gln Pro Gly Pro Ala His Leu Ser Leu Thr Ile Thr
 305 310 315 320

ctg cta atg act gcc aga ctg tgg gga ggc act ctc ctc tgg acc taa 1008
 Leu Leu Met Thr Ala Arg Leu Trp Gly Gly Thr Leu Leu Trp Thr
 325 330 335

<210> 8

<211> 335

<212> PRT

<213> Human

<400> 8

Met Gly His Pro Pro Leu Leu Pro Leu Leu Leu Leu Leu His Thr Cys
 1 5 10 15

Val Pro Ala Ser Trp Gly Leu Arg Cys Met Gln Cys Lys Thr Asn Gly
 20 25 30

Asp Cys Arg Val Glu Glu Cys Ala Leu Gly Gln Asp Leu Cys Arg Thr
 35 40 45

Thr Ile Val Arg Leu Trp Glu Glu Gly Glu Glu Leu Glu Leu Val Glu
 50 55 60

Lys Ser Cys Thr His Ser Glu Lys Thr Asn Arg Thr Leu Ser Tyr Arg
 65 70 75 80

Thr Gly Leu Lys Ile Thr Ser Leu Thr Glu Val Val Cys Gly Leu Asp
 85 90 95

Leu Cys Asn Gln Gly Asn Ser Gly Arg Ala Val Thr Tyr Ser Arg Ser
 100 105 110

Arg Tyr Leu Glu Cys Ile Ser Cys Gly Ser Ser Asp Met Ser Cys Glu
 115 120 125

Arg Gly Arg His Gln Ser Leu Gln Cys Arg Ser Pro Glu Glu Gln Cys
 130 135 140

Leu Asp Val Val Thr His Trp Ile Gln Glu Gly Glu Glu Gly Arg Pro
 145 150 155 160

Lys Asp Asp Arg His Leu Arg Gly Cys Gly Tyr Leu Pro Gly Cys Pro
 165 170 175

Gly	Ser	Asn	Gly	Phe	His	Asn	Asn	Asp	Thr	Phe	His	Phe	Leu	Lys	Cys	180	185	190	
Cys	Asn	Thr	Thr	Lys	Cys	Asn	Glu	Gly	Pro	Ile	Leu	Glu	Leu	Glu	Asn	195	200	205	
Leu	Pro	Gln	Asn	Gly	Arg	Gln	Cys	Tyr	Ser	Cys	Lys	Gly	Asn	Ser	Thr	210	215	220	
His	Gly	Cys	Ser	Ser	Glu	Glu	Thr	Phe	Leu	Ile	Asp	Cys	Arg	Gly	Pro	225	230	235	240
Met	Asn	Gln	Cys	Leu	Val	Ala	Thr	Gly	Thr	His	Glu	Pro	Lys	Asn	Gln	245	250	255	
Ser	Tyr	Met	Val	Arg	Gly	Cys	Ala	Thr	Ala	Ser	Met	Cys	Gln	His	Ala	260	265	270	
His	Leu	Gly	Asp	Ala	Phe	Ser	Met	Asn	His	Ile	Asp	Val	Ser	Cys	Cys	275	280	285	
Thr	Lys	Ser	Gly	Cys	Asn	His	Pro	Asp	Leu	Asp	Val	Gln	Tyr	Arg	Ser	290	295	300	
Gly	Ala	Ala	Pro	Gln	Pro	Gly	Pro	Ala	His	Leu	Ser	Leu	Thr	Ile	Thr	305	310	315	320
Leu	Leu	Met	Thr	Ala	Arg	Leu	Trp	Gly	Gly	Thr	Leu	Leu	Trp	Thr		325	330	335	