



(19)  
Bundesrepublik Deutschland  
Deutsches Patent- und Markenamt

(10) DE 601 15 613 T2 2006.08.24

(12)

## Übersetzung der europäischen Patentschrift

(97) EP 1 266 006 B1

(21) Deutsches Aktenzeichen: 601 15 613.7

(86) PCT-Aktenzeichen: PCT/EP01/03220

(96) Europäisches Aktenzeichen: 01 927 769.8

(87) PCT-Veröffentlichungs-Nr.: WO 2001/070968

(86) PCT-Anmeldetag: 21.03.2001

(87) Veröffentlichungstag  
der PCT-Anmeldung: 27.09.2001

(97) Erstveröffentlichung durch das EPA: 18.12.2002

(97) Veröffentlichungstag  
der Patenterteilung beim EPA: 07.12.2005

(47) Veröffentlichungstag im Patentblatt: 24.08.2006

(51) Int Cl.<sup>8</sup>: C12N 15/12 (2006.01)

C07K 14/745 (2006.01)

C07K 14/755 (2006.01)

C12N 15/57 (2006.01)

C12N 9/64 (2006.01)

A61K 38/36 (2006.01)

A61K 38/37 (2006.01)

A61K 38/43 (2006.01)

(30) Unionspriorität:

00106225 22.03.2000 EP  
203249 P 08.05.2000 US

(84) Benannte Vertragsstaaten:

AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT,  
LI, LU, MC, NL, PT, SE, TR

(73) Patentinhaber:

Octagene GmbH, 80639 München, DE

(72) Erfinder:

HAUSER, Charlotte, 80639 Munich, DE;  
HÖRSTER, Andrea, 80689 Munich, DE;  
SCHRÖDER, Carola, 81377 Munich, DE;  
LEHNERER, Michael, 80636 Munich, DE

(74) Vertreter:

Patentanwälte von Kreisler, Selting, Werner et col.,  
50667 Köln

(54) Bezeichnung: HERSTELLUNG VON REKOMBINANTEN MUTEINE DES BLUTGERINNUNGSFAKTORS VIII IN HUMANEN ZELLINEN

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 eingelebt, 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**

## Einleitung

**[0001]** Die vorliegende Erfindung bezieht sich auf verbesserte Faktor-VIII-Muteine, ein Verfahren zur Herstellung solcher Faktor-VIII-Muteine, pharmazeutische Zusammensetzungen, die solche Faktor-VIII-Muteine umfassen, und die Verwendung solcher Faktor-VIII-Muteine zur Herstellung eines Medikaments zur Behandlung von Hämophilie.

## Zusammenfassung des Standes der Technik

**[0002]** Hämophile leiden unter der Bluterkrankheit, die durch die gestörte Funktion von Proteinkomponenten der Blutgerinnungskaskade verursacht wird. Je nach dem betroffenen Gerinnungsfaktor können zwei Arten von Hämophilie unterschieden werden. Beiden gemeinsam ist die gehemmte Umwandlung von löslichem Fibrinogen in ein unlösliches Fibringerinnssel. Es sind rezessive, an das X-Chromosom gebundene Erbkrankheiten, die hauptsächlich die männliche Population betreffen.

**[0003]** Hämophilie A betrifft 1–2 Individuen pro 10 000 männlichen Personen. Sie wird durch einen Mangel oder das Fehlen von Faktor VIII verursacht, eines sehr großen Glycoproteins (Mr ungefähr 330 kDa (Furie B., Furie B.C., Cell (1988) 53, 505–518)), das ein wichtiges Element der Blutgerinnungskaskade darstellt. Die Polypeptidsequenz kann in drei Bereiche unterteilt werden, einen N-terminalen Bereich, der aus den sogenannten Domänen A1 und A2 besteht, einen zentralen Bereich, die B-Domäne, und einen C-terminalen Bereich, der aus den Domänen A3, C1 und C2 besteht (M.L. Liu et al., British J. Haematol. 103: 1051–1060 (1998)). Bei der Blutgerinnung tritt Faktor VIII als inaktive Vorstufe auf. Er ist fest und nichtkovalent an den von-Willebrand-Faktor (vWF) gebunden, der als stabilisierendes Trägerprotein wirkt. Die proteolytische Spaltung von Faktor VIII durch Thrombin an drei spezifischen Positionen (740, 372, 1689) führt zur Dissoziation von vWF und setzt die prokoagulatorische Funktion innerhalb der Kaskade frei. In seiner aktiven Form fungiert Faktor VIII als Cofaktor für Faktor IXa, wodurch die proteolytische Aktivierung von Faktor X um mehrere Größenordnungen beschleunigt wird.

**[0004]** Hämophilie B tritt bei etwa 1 von 25 000 männlichen Personen auf. Sie ist durch den Mangel an der Serin-Protease Faktor IX (Christmas-Faktor) gekennzeichnet. Dieses aus 415 Aminosäuren bestehende Polypeptid wird in der Leber als 56-kDa-Glycoprotein synthetisiert. Um seine eigentliche Funktion zu erreichen, ist ein posttranslationaler Carboxylierungsschritt erforderlich, der nur in Gegenwart von Vitamin K stattfindet.

**[0005]** Die Behandlung beider Typen der Bluterkrankheit beinhaltet traditionell Infusionen mit von Humanplasma abgeleiteten Proteinkonzentraten von Faktor VIII oder Faktor IX. Dieses Verfahren stellt zwar eine effiziente Therapie für Hämophile dar, birgt jedoch das Risiko einer Übertragung verschiedener infektiöser Agentien, wie Viren, die Hepatitis oder AIDS verursachen, oder thromboembolischer Faktoren. Alternative dazu wurden mehrere Techniken der DNA-Rekombination für die Herstellung von Gerinnungsfaktoren beschrieben. Zu diesem Zweck wurden die entsprechenden cDNAs von Wildtyp-Faktor VIII und -Faktor IX isoliert und in geeignete Expressionsvektoren kloniert (EP-A-160 457; WO-A-86/01961, US-Patente 4,770,999, 5,521,070 und 5,521,070).

**[0006]** Im Falle von Faktor VIII ist die rekombinante Expression von Untereinheiten zur Herstellung von Komplexen, die Gerinnungsaktivität zeigen, in der Technik bekannt (z. B. aus EP-A-150 735, EP-A-232 112, EP-A-0 500 734, WO-91/07490, WO-95/13300, den US-Patenten 5,045,455 und 5,789,203). Außerdem wurde die Expression von verkürzten cDNA-Versionen beschrieben, denen die für die hochglycosylierte B-Domäne codierende Sequenz teilweise oder ganz fehlt (z. B. in WO-86/06101, WO-87/04187, WO-87/07144, WO-88/00381, WO-94/29471, EP-A-251 843, EP-A-253 455, EP-A-254 076, US-Patenten 4,868,112 und 4,980,456, EP-A-294 910, EP-A-265 778, EP-A-303 540 und WO-91/09122). Vor kurzem wurde eine Vielzahl von ausgewählten Punktmutationen eingeführt, um die proteolytische Inaktivierung von Faktor VIII durch aktiviertes Protein C zu hemmen oder die Immunogenität, die zur Bildung von inhibitorischen Antikörpern durch die behandelten Patienten führt, zu reduzieren (siehe z. B. US-Patente 5,859,204, 5,422,260 und 5,451,521, WO-97/49725, WO-99/29848).

**[0007]** Die rekombinanten Gerinnungsfaktoren wurden gewöhnlich aus dem Medium von stabil transfizierten eukaryontischen Zelllinien und vorzugsweise Säugerzelllinien isoliert. Es war jedoch bei den Produktionsverfahren, die in den bisher erwähnten Literaturstellen offenbart sind, allgemeine Praxis, nichthumane Zelllinien einzusetzen, um das Risiko des Mitreinigens von infektiösen Agentien, die von humanen Zellen beherbergt

und exprimiert werden können, auszuschließen.

**[0008]** Insbesondere bei Faktor VIII hatte die Verwendung von nichthumanen Zelllinien jedoch gewisse Nachteile. Zum Beispiel wurden unbefriedigende Niveaus der Sekretion des exprimierten Proteins in das Medium beschrieben. Dies kann auf geringfügige Unterschiede innerhalb von verschiedenen Typen von Säugerzellen zurückzuführen sein, die die intrazellulären Wege der Proteintranslation und -modifikation betreffen, welche auch eine Wirkung auf die biologische Aktivität des exprimierten Polypeptids haben könnten. Daneben gab es Bedenken, dass die aus nichthumanen Expressionssystemen gereinigten therapeutischen Proteine mit Zellkomponenten verunreinigt sein könnten, die bei den Patienten zu antigenen Reaktionen führen können.

**[0009]** Außerdem können durch nichthumane Expressionssysteme exprimierte Proteine nichthumane Glycosylierungsmuster aufweisen, die bei dem Patienten zu antigenen Reaktionen führen. Die biologische Stabilität und Effizienz von Gerinnungsfaktoren wird jedoch erheblich von ihrem N-Glycosylierungsmuster beeinflusst. Insbesondere periphere und terminale Monosaccharide sind wichtig, da sie von Zellen, die für ihren Abbau verantwortlich sind, mit spezifischen Rezeptoren erkannt werden. Gerinnungsfaktoren tragen Sialinsäurereste als terminale Monosaccharide. Die Modifikation in der Zusammensetzung von Sialinsäuren in den Antennen von Glycoproteinen, wie zum Beispiel den Gerinnungsfaktoren, kann zu heterogenen Glycosylierungsmustern führen. Die biologische Stabilität und Effizienz wird also entscheidend beeinflusst, wenn eine Modifikation stattfindet. Somit ist es bei der Produktion von rekombinanten Gerinnungsfaktoren eine wichtige Überlegung, den Einfluss der Glycosylierung durch nichthumane Produktionszelllinien gegenüber humanen Zelllinien zu bewerten. Allgemein gesagt erscheint es plausibel, dass humane Zelllinien für die Produktion von rekombinanten Gerinnungsfaktoren besser qualifiziert sind als nichthumane. Der Grund für diese Annahme besteht darin, dass bei der Synthese von rekombinanten Faktoren dann wahrscheinlich kein zusätzliches Oligosaccharid in den Oligosaccharidteil eingebaut wird.

**[0010]** Andererseits stehen schon seit einiger Zeit allgemeine Verfahren für eine Proteinexpression eines gewünschten Gens auf hohem Niveau bereit, die immortalisierte, stabil transfizierte Säugerzelllinien umfassen, die virale Transcriptionsaktivatorproteine exprimieren (z. B. US-Patent 5,712,119). Weiterhin sind diese Zelllinien mit einem Vektorkonstrukt transformiert, bei dem ein geeigneter viraler Transcriptionspromotor funktionell mit einer DNA-Sequenz, die ein interessierendes Gen definiert, verbunden ist, die Transcriptionsaktivatorproteine den viralen Transcriptionspromotor aktivieren und damit die Expression des interessierenden Gens einleiten. Wiederum gab es Bedenken, dass die von diesen Zelllinien exprimierten Transcriptionsaktivatorproteine zu Verunreinigungen im gewünschten therapeutischen Protein führen könnten.

**[0011]** Im Hinblick darauf gab es immer noch ein Bedürfnis nach einem effektiven Produktionsverfahren für humane Blutgerinnungsfaktoren.

**[0012]** Überraschenderweise hat sich gezeigt, dass mit den oben genannten immortalisierten Humanzelllinien ein nicht kontaminiertes Blutgerinnungsfaktor erhalten werden kann. Insbesondere sind diese immortalisierten Zelllinien in der Lage, den Blutgerinnungsfaktor zu exprimieren, wenn sie einen Vektor tragen, der einen Promotor aufweist, der funktionell mit einer für den Gerinnungsfaktor codierenden DNA-Sequenz verknüpft ist, obwohl der Promotor kein viraler Promotor ist, der durch die viralen Transcriptionsaktivatorproteine aktiviert wird. In Kombination mit geeigneten Proteinreinigungs- und Virusaktivierungsvorschriften liefert dieses Verfahren ein effektives System, um sichere und hochgradig aktive rekombinante Blutgerinnungsfaktoren für therapeutische Anwendungen bei Menschen zu produzieren. Außerdem wurden besondere Faktor-VIII-Mutanten gefunden, die außergewöhnlich stabil gegenüber proteolytischer Inaktivierung sind und daher stark beanspruchenden Virusaktivierungsvorschriften unterzogen werden können.

#### Kurzbeschreibung der Erfindung

**[0013]** Die vorliegende Erfindung stellt Folgendes bereit:

- (1) ein Faktor-VIII-Mutant, bei dem die B-Domäne zwischen den Positionen Arg740 und Glu1649 durch ein Arg-reiches Linkerpeptid ersetzt ist, das wenigstens 3 Arg-Reste aufweist und 10 bis 25 Aminosäurereste umfasst, wobei sich die Faktor-VIII-Nummerierung auf die in SEQ ID Nr. 2 gezeigte Sequenz des reifen Wildtyp-Faktor-VIII bezieht;
- (2) eine DNA-Sequenz, die für das Faktor-VIII-Mutant gemäß dem obigen Punkt (1) codiert;
- (3) einen Vektor, der die DNA gemäß dem obigen Punkt (2) umfasst;
- (4) einen Vektor gemäß dem obigen Punkt (3), bei dem es sich um einen Genübertragungsvektor handelt;
- (5) eine Wirtszelle, die mit einem Vektor gemäß dem obigen Punkt (3) transformiert ist und/oder eine DNA-Sequenz gemäß dem obigen Punkt (2) umfasst;

- (6) ein Verfahren zur Herstellung des Faktor-VIII-Muteins gemäß dem obigen Punkt (1), das Folgendes umfasst:
- (a) Kultivieren einer transformierten Wirtszelle gemäß dem obigen Punkt (5); und
  - (b) Isolieren des Faktor-VIII-Muteins aus der Kulturbrühe;
- (7) eine pharmazeutische Zusammensetzung, die das Faktor-VIII-Mutein gemäß dem obigen Punkt (1) oder einen Genübertragungsvektor gemäß dem obigen Punkt (4) umfasst;
- (8) die Verwendung des Faktor-VIII-Muteins gemäß dem obigen Punkt (1) oder eines Genübertragungsvektors gemäß dem obigen Punkt (4) zur Herstellung eines Medikaments zur Behandlung von Hämophilie;
- (9) eine bevorzugte Ausführungsform des Verfahrens gemäß dem obigen Punkt (6), das Folgendes umfasst:
- (a) Kultivieren einer immortalisierten Humanzelllinie, die Simian-Virus-T-Antigen stabil exprimiert und einen Vektor mit einem CMV-Promotor trägt, der funktionell mit einer DNA-Sequenz verknüpft ist, die für das Faktor-VIII-Mutein codiert; und
  - (10) eine immortalisierte Humanzelllinie, die einen Vektor trägt, der für ein Faktor-VIII-Mutein codiert, wie es im Verfahren gemäß dem obigen Punkt (9) definiert ist.

#### Beschreibung der Figuren

[0014] [Fig. 1](#) zeigt die Fragmente, die für die Konstruktion von Faktor VIII mit einer deletierten B-Domäne verwendet werden (Beispiel 1).

[0015] [Fig. 2](#) zeigt den Vektor pTGF8-1, 8720 bp zirkuläre DNA, deren genaue DNA-Sequenz in SEQ ID Nr. 3 angegeben ist (wegen des Faktor-VIII-Proteins, das durch die DNA-Sequenz codiert wird, siehe SEQ ID Nr. 4).

[0016] [Fig. 3A](#) zeigt eine bevorzugte Linkersequenz der vorliegenden Erfindung (SEQ ID Nr. 9).

[0017] [Fig. 3B](#) zeigt die in Beispiel 6 bestimmte Koagulationszeit des rekombinanten hFVIII.

[0018] [Fig. 4](#) zeigt die gemeinsame Molekularstruktur von pTGF8-2hyg-s und pTGF8-3, 10698 bp zirkuläre DNA, deren genaue DNA-Sequenzen in SEQ ID Nr. 12 und 14 angegeben sind (wegen des Faktor-VIII-Proteins, das durch die DNA-Sequenz codiert wird, siehe SEQ ID Nr. 13 und 15).

[0019] [Fig. 5A](#) zeigt die Eichkurve für FVIII-ELISA, wie es in Beispiel 4 beschrieben ist.

[0020] [Fig. 5B](#) zeigt die Ergebnisse der Bestimmung der Konzentrationen von rekombinantem FVIII in verschiedenen Kulturfiltraten, wie sie in Beispiel 4 beschrieben sind.

[0021] [Fig. 6](#) zeigt die Ergebnisse eines Faktor-VIII-spezifischen Immunfluoreszenzassays, wie es in Beispiel 8 beschrieben ist. Obere Reihe: 293T-Zellen, stabil transfiziert mit pTGF8-3, Klon 49/19. Untere Reihe: negative Kontrolle: untransfizierte 293T-Zellen. A und C: weißes Licht, kein Filter; B und D: Faktor-VIII-Nachweis durch Fluoreszenz, Filter 550 nm.

#### Ausführliche Beschreibung der Erfindung

[0022] "Funktionell verknüpft" bezieht sich auf Konfigurationen des Vektors, bei denen der Promotor so innerhalb des Vektors lokalisiert ist, dass er die Transkription der DNA-Sequenz, die für den humanen Blutgerinnungsfaktor codiert, stimulieren kann. "Nicht funktionell verknüpft" bezieht sich auf eine Konfiguration, bei der der Promotor so weit von der exprimierten Gensequenz des Blutgerinnungsfaktors entfernt ist, dass er dessen Transkription nicht stimulieren kann.

[0023] "Gen" bezieht sich auf eine DNA-Sequenz, die ein Polypeptid codiert und gegebenenfalls Leader- und Trailer-Sequenzen sowie Introns und Exons umfasst.

[0024] "Vektor" bezieht sich auf ein beliebiges genetisches Konstrukt, wie ein Plasmid, einen Phagen, ein Cosmid usw., das zur Replikation befähigt ist, wenn es mit den richtigen Kontrollementen assoziiert ist. Der Ausdruck beinhaltet Klonierungs- und Expressionsvektoren. "Einen Vektor tragen" beinhaltet sowohl den stabilen als auch den transienten Einbau von funktionellen DNA-Segmenten in die Wirtszelle. Der stabile Einbau ist jedoch bevorzugt.

**[0025]** "Genübertragungsvektor" gemäß der vorliegenden Erfindung umfasst einen für die Gentherapie geeigneten Vektor. Ein solcher Vektor umfasst funktionelle Sequenzen für die gewünschten Zwecke, wie in der Technik bekannt ist.

**[0026]** Der Ausdruck "reif" bezieht sich auf die Molekularstruktur eines gegebenen Proteins direkt nach seiner Sekretion durch die Zelle (d.h. ohne sein N-terminales Exportsignal-Polypeptid).

**[0027]** "Promotor" bezieht sich auf einen Bereich von regulatorischen DNA-Sequenzen für die Kontrolle der Transkription eines Gens, an den RNA-Polymerasen binden.

**[0028]** "Therapeutisch wirksame Dosis" der pharmazeutischen Zusammensetzung der Erfindung bezieht sich auf eine Dosis, die wirksam in Bezug auf eine Behandlung oder Prophylaxe ist, zum Beispiel eine Dosis, die zu einer wirksamen Behandlung oder Reduktion der Symptome der Hämophilie führt. Die Bestimmung einer therapeutisch wirksamen Dosis liegt im Bereich des fachmännischen Könnens.

**[0029]** "Codiert" oder "codieren" bezieht sich auf eine Eigenschaft der Nucleinsäuresequenz, die in vitro oder in vivo transkribiert (im Falle von DNA) oder zu einem Polypeptid translatiert (im Falle von mRNA) wird, wenn sie unter die Kontrolle einer geeigneten regulatorischen Sequenz gestellt wird.

**[0030]** Für den Zweck dieser Anmeldung bezieht sich "exprimiert", "exprimieren" oder "Expression" auf die Transkription und Translation eines Gens, das ein Protein codiert.

**[0031]** Die vorliegende Erfindung, wie sie unter den obigen Punkten (1) bis (10) beschrieben ist, wird im Folgenden ausführlicher beschrieben. Gemäß Ausführungsform (9) der Erfindung der vorliegenden Anmeldung wird der CMV-Promotor, der funktionell mit der DNA-Sequenz verknüpft ist, die für das Faktor-VIII-Mutein codiert, durch das Simian-Virus-T-Antigen, das von der immortalisierten Humanzelllinie exprimiert wird, nicht stimuliert.

**[0032]** Die immortalisierte Humanzelllinie ist vorzugsweise eine immortalisierte Nieren-, Harnblasen-, Leber-, Lungen-, Herzmuskel-, glatte Muskel-, Eierstock- oder Magen-Darm-Zelle. Vorzugsweise ist die immortalisierte Humanzelllinie von einer humanen Nierenzelle abgeleitet, und am meisten bevorzugt handelt es sich um die Zelllinie 293 T (ECACC: tsa201, Nr. 96121229; DSM ACC2494).

**[0033]** Die immortalisierte Zelllinie kann neben dem Simian-Virus-T-Antigen noch weitere Aktivatorproteine exprimieren, wie Adenovirus-E1A- oder -E1B-Proteine, ein Protein, das von der DNA-Sequenz des frühen Bereichs des Rinderpapillomvirus codiert wird, und Herpesvirus-IE-Proteine. Vorzugsweise exprimiert die immortalisierte Zelle wenigstens zwei virale Transkriptionsaktivatorproteine, z. B. ein temperaturempfindliches SV40-T-Antigen und Adenovirus-E1A-Protein (wie die obige Zelllinie 293 T).

**[0034]** Gemäß der Erfindung kann der in Ausführungsform (9) der Erfindung verwendete Vektor zusätzliche virale Promotoren tragen, die durch die viralen Transkriptionsaktivatorproteine stimuliert werden, die aber nicht funktionell mit dem Blutgerinnungsfaktor-Gen verknüpft sind. Solche viralen Promotoren werden aus Promotoren ausgewählt, die von Adenovirus, Rous-Sarkom-Virus und Cytomegalievirus stammen. Der Vektor kann weiterhin eine oder mehrere der folgenden funktionellen Sequenzen umfassen: Selektionsmarker, regulatorische Sequenzen (z. B. PRE) usw.

**[0035]** Ausführungsform (1) der Erfindung bezieht sich insbesondere auf ein Faktor-VIII-Mutein. Wie oben dargelegt, wurden mehrere modifizierte Faktor-VIII-Expressionskonstrukte für die rekombinante Expression gestaltet. In Anbetracht der Domänenstruktur des funktionellen Faktor-VIII-Polypeptids befinden sich wichtige Stellen für die Wechselwirkung mit vWF in der A3-Domäne (Aminosäure 1680–1689) und in der C2-Domäne (Kaufman & Pipe, Haemophilia (1998) 4, 370–379). Eine Spaltung nach 1689 wurde vorgeschlagen, um Faktor VIII von vWF freizusetzen und eine Wechselwirkung von Faktor VIII mit geladenen Phospholipiden zu ermöglichen. Es zeigte sich, dass rekombinante Faktor-VIII-Konstrukte, denen die vWF-Bindungsstelle fehlt, äußerst anfällig für proteolytischen Abbau sind, wenn sie in Mäuse mit Faktor-VIII-Mangel injiziert werden. Die rekombinante Expression von verkürzten Faktor-VIII-Konstrukten in Säugerzellkulturen zeigte, dass die vollständige Deletion der B-Domäne die biologische Aktivität des entsprechenden Faktor-VIII-ähnlichen Proteins nicht veränderte (Eaton et al., Biochemistry (1986) 25, 8343–8347). Außerdem waren die beobachteten Expressionsraten von Konstrukten mit deletierter B-Domäne aufgrund einer erhöhten mRNA-Konzentration in den Zellen erheblich höher als bei Wildtyp-Faktor VIII (Pittman et al., Blood (1993) 81, 2925–2935). Vier rekombinante Faktor-VIII-Produkte (Recombinate®, Baxter HealthCare; Kogenate® und Kogenate FS®, Bayer Corporation;

sowie Refacto® Wyeth, Genetics Institute) sind zur Zeit auf dem Markt.

**[0036]** In Ausführungsform (1) der Erfindung kann das Faktor-VIII-Mutein wenigstens eine der folgenden zusätzlichen Mutationen (a) bis (c) aufweisen:

- (a) Val auf Position 162 wurde durch einen neutralen Aminosäurerest ersetzt, der aus Gly, Ala, Leu, Ile, Met und Pro ausgewählt ist;
- (b) Ser auf Position 2011 wurde durch einen hydrophilen Aminosäurerest ersetzt, der aus Asn, Thr und Gln ausgewählt ist; und
- (c) Val auf Position 2223 wurde durch einen sauren Aminosäurerest ersetzt, der aus Glu und Asp ausgewählt ist;

wobei sich die Faktor-VIII-Nummerierung auf die in SEQ ID Nr. 2 gezeigte Aminosäuresequenz des Wildtyp-Faktor-VIII bezieht (bei der es sich um die Aminosäuresequenz des reifen Peptids handelt, die das aus 19 Aminosäuren bestehende Signalpeptid nicht umfasst, aber die gesamte B-Domäne umfasst (WO 99/29848)).

**[0037]** Wie oben dargelegt, kann Val auf Position 162 durch einen neutralen Aminosäurerest ersetzt sein, der aus Gly, Ala, Leu, Ile, Met und Pro ausgewählt ist. Der bevorzugte neutrale Aminosäurerest ist Ala. Außerdem kann Ser auf Position 2011 durch eine hydrophile Aminosäure ersetzt sein, die aus Asn, Thr und Gln ausgewählt ist. Der bevorzugte hydrophile Aminosäurerest ist Asn. Schließlich kann Val auf Position 2223 durch einen sauren Aminosäurerest ersetzt sein, der aus Glu und Asp ausgewählt ist. Der bevorzugte saure Aminosäurerest ist Glu.

**[0038]** Unter den Faktor-VIII-Muteinen von Ausführungsform (1) sind solche bevorzugt, die wenigstens eine der Mutationen (a), (b) und (c), besonders bevorzugt wenigstens eine der Mutationen (a) und (b) und am meisten bevorzugt alle drei Mutationen (a) bis (c), wie sie oben definiert wurden, aufweisen. Besonders bevorzugt umfasst das Mutein alle drei Mutationen V162A, S2011N und V2223E.

**[0039]** Entsprechend weist die DNA-Sequenz, die der Vektor von Ausführungsform (2) der Erfindung umfasst, relativ zu der in SEQ ID Nr. 1 gezeigten DNA-Sequenz des reifen Wildtyp-Faktors VIII die Mutationen T485C, G6032A und T6668A auf. In einer bevorzugten Ausführungsform enthält die DNA-Sequenz auch die stille Mutation T6816 (wobei sich die Nummerierung wiederum auf die DNA-Sequenz des reifen Wildtyp-Faktors VIII bezieht).

**[0040]** Unter den Faktor-VIII-Muteinen von Ausführungsform (1) ist alternativ dazu bevorzugt, dass das Faktor-VIII-Mutein die oben definierte Mutation (d) aufweist.

**[0041]** Gemäß Ausführungsform (1) der Erfindung ist das Faktor-VIII-Mutein ein Mutein, bei dem die B-Domäne zwischen Position R740 und E1649 durch einen charakteristischen Arg-reichen Aminosäurespacer ersetzt ist. "Arg-reich" gemäß der vorliegenden Erfindung bedeutet, dass der Spacer wenigstens 3, vorzugsweise wenigstens 4 Arg-Reste umfasst. In einer am meisten bevorzugten Ausführungsform besteht der Spacer aus acht Aminosäuren der Wildtyp-B-Domäne, gefolgt von acht Aminosäuren einer variablen Domäne (siehe [Fig. 3A](#), SEQ ID Nr. 9). Bei einem solchen Faktor-VIII-Mutein, das die oben diskutierten Modifikationen der B-Domäne aufweist, bleibt die vorgeschlagene vWF-Bindungsstelle unverändert, um einen sofortigen proteolytischen Abbau des sezernierten Faktors VIII im Zellkulturmedium oder später im Blut der behandelten Patienten zu verhindern. Erst nach der spezifischen Aktivierung durch Thrombin-Spaltung wird der Faktor VIII vom vWF freigesetzt. Die cDNA für das bevorzugte Faktor-VIII-Mutein wurde aufgebaut, indem man vier DNA-Fragmente zusammensetzte, wie es z. B. in Beispiel 1 beschrieben ist.

**[0042]** Das Protein von Ausführungsform (1) der Erfindung kann zusätzliche N- oder C-terminale Sequenzen umfassen; dazu gehören unter anderem das natürliche Exportsignalpeptid (das den Aminosäureresten -19 bis -1 der in SEQ ID Nr. 4, 13 und 15 gezeigten Proteine entspricht) oder ein Fragment oder Analogon davon, künstliche Peptide (z. B. Oligo-His-Tags für eine hochaffine Reinigung) und dergleichen.

**[0043]** Der am meisten bevorzugte Vektor für die Expression von Faktor VIII ist der in [Fig. 2](#) gezeigte Vektor pTGF8-1. Die DNA-Sequenz des Vektors ist in SEQ ID Nr. 3 gezeigt, und sie umfasst alle fünf oben angesprochenen Mutationen (die Muteine T485C, G6032A, T6668A und T6816C (hier: T1217C, G4088A, T4724A und T4872C) und eine DNA-Sequenz, die für den B-Domänen-Linker von SEQ ID Nr. 9 codiert) und codiert das in SEQ ID Nr. 4 gezeigte Faktor-VIII-Mutein.

**[0044]** Weitere meistbevorzugte Vektoren sind pTGF8-2hyg-s und pTGF8-3, deren gemeinsame Molekular-

struktur in [Fig. 4](#) gezeigt ist.

**[0045]** Das in SEQ ID Nr. 12 gezeigte pTGF8-2hyg-s enthält nur die stille Mutation T6816C, was zu einem Faktor-VIII-Mutein führt, das die Substitution der B-Domäne durch das Linkerpeptid SEQ ID Nr. 9, aber keine weitere Änderung der primären Proteinstruktur bezüglich der Wildtypsequenz SEQ ID Nr. 2 aufweist.

**[0046]** Das in SEQ ID Nr. 14 gezeigte pTGF8-3 enthält die Mutationen T485C, T6668A und T6816C, was zu einem Faktor-VIII-Mutein führt, das neben der oben beschriebenen Substitution der B-Domäne die Aminosäuresubstitutionen V162A und V2223E bezüglich SEQ ID Nr. 2 aufweist.

**[0047]** Im Falle der Produktion von Faktor VIII wird die Kultur in Gegenwart des von-Willebrand-Faktors durchgeführt. Der von-Willebrand-Faktor wird vorzugsweise in einer Menge von 10 bis 100, besonders bevorzugt 50 bis 60 mol vWF pro Mol Faktor VIII verwendet (in der Kulturbrühe und/oder in der Faktor-VIII-Lösung während des Reinigungsverfahrens (siehe unten)).

**[0048]** Das Verfahren gemäß Ausführungsform (9) der Erfindung umfasst weiterhin die Schritte:

- (c) Reinigen des in Schritt (b) isolierten Blutgerinnungsfaktors; und/oder
- (d) Durchführen einer Virusinaktivierungsbehandlung mit dem in Schritt (b) isolierten oder in Schritt (c) gereinigten Blutgerinnungsfaktor.

**[0049]** Zu den geeigneten Reinigungsschritten gehören Verfahren, von denen in der Technik bekannt ist, dass sie die Ausbeute an reinem, stabilem und hochaktivem Produkt maximieren, und die aus Immunaffinitätschromatographie, Anionenaustauschchromatographie, Ausschlusschromatographie usw. und Kombinationen davon ausgewählt sind. Ausführliche Vorschriften für die Reinigung von Gerinnungsfaktoren aus Humanblutplasma sind insbesondere z. B. offenbart in WO 93/15105, EP 0 813 597, WO 96/40883 und WO 96/15140/50. Sie können leicht an die speziellen Anforderungen angepasst werden, die notwendig sind, um rekombinanten Faktor VIII zu isolieren. Die Menge und Aktivität des gereinigten Proteins während und nach dem Reinigungsverfahren kann durch ELISA und Koagulationsassays überwacht werden.

**[0050]** Um die Probleme von möglichen infektiösen Kontaminationen in den gereinigten Proteinproben oder in dem Produkt, das direkt aus dem Zellkulturüberstand, der das sezernierte rekombinante Protein der Wahl enthält, erhalten wird, zu überwinden, könnten die Proben und/oder der Kulturüberstand mit Verfahren zur Virusinaktivierung, die eine Wärmebehandlung beinhalten (trocken oder in flüssigem Zustand, mit oder ohne Zufügung von chemischen Substanzen einschließlich Protease-Inhibitoren), behandelt werden. Nach der Virusinaktivierung kann ein weiterer Reinigungsschritt zur Entfernung der chemischen Substanzen notwendig sein. Insbesondere für Faktor VIII, der aus Blutplasma isoliert wird, wurde die Gewinnung eines hochreinen virusinaktiven Proteins durch Anionenaustauschchromatographie beschrieben (WO 93/15105). Außerdem wurden mehrere Verfahren zur Produktion von hochreinen nichtinfektiösen Gerinnungsfaktoren aus Blutplasma oder anderen biologischen Quellen beschrieben. Lipidumhüllte Viren werden effektiv inaktiviert, indem man das potentiell infektiöse Material mit einer hydrophoben Phase behandelt, die ein zweiphasiges System bildet, aus dem der wasserunlösliche Bestandteil anschließend entfernt wird. Es hat sich als weiterer Vorteil erwiesen, die Behandlung mit der hydrophoben Phase gleichzeitig oder nacheinander mit einer Behandlung mit nichtionischen biokompatiblen Tensiden und Dialkyl- oder Trialkylphosphaten zu ergänzen (WO 96/36369, EP 0 131 740, US 6,007,979). Nichtlipidumhüllte Viren erfordern Inaktivierungsvorschriften, die in einer Behandlung mit nichtionischen Tensiden und einem anschließenden Schritt des Erhitzens (60–65 °C) während mehrerer Stunden bestehen (WO 94/17834).

**[0051]** Im Hinblick auf die obigen Ergebnisse wird angenommen, dass die Kombination eines effektiven Proteinexpressionssystems auf der Basis einer humanen Zelllinie zusammen mit genehmigten Verfahren zur Inaktivierung von potentiell gefährlichen infektiösen Agentien als sicheres und leicht zu verwendetes System zur Produktion von rekombinanten Gerinnungsfaktoren dient.

**[0052]** Außerdem wird gemäß Ausführungsform (1) der Erfindung eine überlegene Faktor-VIII-Mutante bereitgestellt. Diese Faktor-VIII-Mutante kann Bestandteil von pharmazeutischen Zusammensetzungen sein und kann zur Herstellung von Medikamenten zur Behandlung von Hämophilie verwendet werden (Ausführungsformen (7) und (8) der Erfindung). Die obigen pharmazeutischen Zusammensetzungen und die obigen Medikamente können den Faktor VIII in einer therapeutisch wirksamen Dosis umfassen, z. B. 50 bis 500 µg (wobei 200 ng Faktor VIII einer Internationalen Einheit (IE) entsprechen). Je nach der Art der Hämophilie erhält ein Patient eine Jahresdosis an Faktor VIII von bis zu 200 000 IE, die üblicherweise in wöchentlichen oder zweimal pro Woche angewendeten Dosen verabreicht werden.

**[0053]** Die pharmazeutischen Zusammensetzungen und Medikamente der Ausführungsformen (7) und (8) enthalten eine therapeutisch wirksame Dosis des Faktor-VIII-Muteins von Ausführungsform (1) oder des Genübertragungsvektors von Ausführungsform (4). Im Falle des ersten kann sie weiterhin pharmazeutisch annehmbare Additive umfassen; dazu gehören Humanserumalbumin (HSA; vorzugsweise etwa 1 mg/ml Lösung), anorganische Salze, wie  $\text{CaCl}_2$  (vorzugsweise 2 bis 5 mM), Aminosäuren, wie Glycin, Lysin und Histidin (vorzugsweise 0,1 bis 1 M pro Aminosäure), Disaccharide, wie Saccharose und/oder Trehalose (vorzugsweise 0,4 bis 1 M), organische Salze, wie Na-Citrat (vorzugsweise bis zu 50 mM), usw. Die Präparate können wässrig oder nichtwässrig sein. In letzterem Fall ist die Hauptkomponente Glycerin und/oder Polyethylenglycol (z. B. PEG-300). Das Präparat kann auch in trockener Form vorliegen (zur Auflösung im gewünschten Lösungsmittel vor der Verabreichung).

**[0054]** Wie oben dargelegt, kann der Genübertragungsvektor gemäß Ausführungsform (4) der Erfindung auch Bestandteil von pharmazeutischen Zusammensetzungen sein und kann zur Herstellung von Medikamenten zur Behandlung von Hämophilie verwendet werden (Ausführungsformen (7) und (8) der Erfindung). Die pharmazeutischen Zusammensetzungen und Medikamente können weiterhin geeignete Matrixzubereitungen umfassen, z. B. Lipide oder Hormone, wie in WO 00/49147 diskutiert wird. Die pharmazeutische Zusammensetzung oder das Medikament, die bzw. das den Genübertragungsvektor der vorliegenden Erfindung umfasst, kann oral, intravenös, intramuskulär, subkutan, topisch, transmukosal (einschließlich bukkal, Nasenspray) oder durch eine Genkanone verabreicht werden. Die orale Verabreichung (z. B. in einer mikronisierten Hormondispersion) wird bevorzugt.

**[0055]** Das Faktor-VIII-Mutein von Ausführungsform (1) der Erfindung kann weiterhin durch Standard-Rekombinationstechniken (Ausführungsform (6) der Erfindung) hergestellt werden, z. B. nach einem Verfahren, das Folgendes umfasst:

- (a) Kultivieren einer Wirtszelle, die mit dem Vektor von Ausführungsform (3) transformiert ist und/oder die DNA von Ausführungsform (2) umfasst (was auch das Kultivieren einer immortalisierten Humanzelllinie umfasst, die Simian-Virus-T-Antigen stabil exprimiert und einen Vektor mit einem CMV-Promotor trägt, der funktionell mit einer DNA-Sequenz verknüpft ist, die für das Faktor-VIII-Mutein codiert (Ausführungsform (9) der Erfindung); und
- (b) Isolieren des Faktor-VIII-Muteins aus der Kulturbrühe. Geeignete immortalisierte Humanzelllinien sind die oben erwähnten. Die in diesem Verfahren verwendete immortalisierte Humanzelllinie exprimiert vorzugsweise zwei virale Transcriptionsaktivatorproteine, am meisten bevorzugt temperaturempfindliches SV40-T-Antigen und Adenovirus-E1A-Protein. Das Verfahren kann weiterhin die oben beschriebenen Reinigungs- und Virusaktivierungsschritte (c) und (d) umfassen.

**[0056]** Die kommerziell erhältliche Zelllinie 293 T (ECACC: tsa201, Nr. 96121229) wurde am 20. Februar 2001 unter der Hinterlegungs-Nr. DSM ACC2494 bei der DMSZ (Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH, Mascheroder Weg 1b, 38124 Braunschweig, Deutschland) hinterlegt.

**[0057]** Die Erfindung wird weiterhin anhand der folgenden Beispiele erläutert.

#### Beispiele

##### Beispiel 1 – Klonierung von Faktor VIII:

**[0058]** Die Sequenz für den rekombinanten Faktor VIII wurde durch Reverse Transcription aus einem vollständigen Human-Hepatocyten-RNA-Pool erhalten. Danach wurden vier Fragmente (1/2, 3/4, 5/6, 7/8) durch Standard-PCR amplifiziert, wobei man Primer verwendete, die so gestaltet waren, dass sie Restriktionsstellen enthielten. Um die Fragmente 3/4 und 5/6 zusammenzupassen, wurde das Smal/Sall-Fragment aus dem Plasmid pBSFVIII3/4 glatt in die Sall-Stelle von pBSFVIII5/6 eingesetzt, wobei man pBSFVIII3/6 erhielt. Dann wurde das Fragment 3/6 erhalten, indem man pBSFVIII3/6 mit Xhol/BspHI und partiell mit Alw441 abbaute. Dieses Fragment und das PstI/Alw441-Fragment aus pBSFVIII1/2 wurden in einem Schritt in das Vektorgerüst von pBSFVIII1/2 ligiert, das mit PstI und Xhol abgebaut worden war, wodurch pBSFVIII1/6 erhalten wurde. Das Fragment 7/8 wurde erhalten, indem man pBSFVIII7/8 mit Smal und partiell mit Mva1269I abbaute, und in pBSFVIII1/6 ligiert, das mit Xhol und Mva1269I geschnitten worden war, was pBSFVIII1/8 ergab. Schließlich wurde das Smal/Xhol-Fragment aus pBSFVIII1/8 glatt in die Sall-Stelle von Octagene Vector pTGFG67 (dessen Herstellung in PCT/EP 00/01368 offenbart ist) eingesetzt, was zu einem eukaryontischen Expressionsvektor für den humanen Faktor VIII, pTGF8-1, führte (siehe [Fig. 1](#) und [Fig. 2](#)). Der resultierende Vektor codiert ein Faktor-VIII-Mutein mit den Mutationen V162A, S2011N und V2223E.

## Beispiel 2 – Humanzelllinie für die Proteinexpression:

**[0059]** Eine bevorzugte Zelllinie ist tsA201 (ECACC Ref.: 96121229), bei der es sich um eine transformierte fetale Humannierenzelllinie handelt (293, ECACC Nr. 85120602), die stabil ein temperaturempfindliches SV40-T-Antigen exprimiert (J. Membrane Biol. 1996; 152: 39; Gene 1995; 156: 235; PNAS USA 1994; 91: 12785; Pflügers Arch. 1994; 427: 136; J. Gen. Physiol. 1994; 104: 507; BioTechniques 1993; 15: 906). Weitere Namen für diese Zelllinie sind 293tsA1609neo (Mol. Cell. Biol., 1987, 7: 379) und 293T. Diese epithelzellenähnliche Zelllinie wird in einer Vielzahl von funktionellen Expressionsassays verwendet, und es wurde berichtet, dass sie große Mengen an rekombinanten Proteinen produziert. Sie können in DMEM kultiviert werden, dem 2 mM Glutamin und 10% FCS zugesetzt wird.

**[0060]** Um die Reinigung eines exprimierten Polypeptids zu vereinfachen, können Zellen in serumfreiem oder proteinfreiem Medium, das geeignete Zusätze enthält, kultiviert werden. Aus Stabilitätsgründen erfordert der sezernierte Faktor VIII die Anwesenheit von vWF im Medium (US 5,198,349). Außerdem wurde die Zugabe von Lipoproteinen, Phospholipiden, Polyglycolen, Spurenmetallen, Heparin, nichtionischen Tensiden oder Cyclodextrin beschrieben (EP 0 254 076, US 5,679,549, US 5,198,349, US 5,250,421, US 5,576,194, EP 0 872 487, WO 94/11525, US 5,378,612).

## Beispiel 3 – Calciumphosphat-Transfektion von 293T-Zellen für die transiente Produktion von Faktor VIII:

**[0061]** Konfluente 293T-Zellen wurden am Tag vor der Transfektion in niedriger Dichte in 10-cm-Schalen in 6 ml DMEM/10% FCS ausgestrichen. Die Transfektion wurde im Wesentlichen nach Chen und Okayama durchgeführt (Mol. Cell Biol., 7: 2745 (1987)). Für die Produktion von Faktor VIII wurden 12 µg des Plasmids pTGF8-1 transfiziert. Sechs Stunden nach der Transfektion wurde das Medium durch frisches ersetzt, und der Überstand wurde drei Tage nach der Transfektion geerntet und entweder weiter gereinigt oder ohne weitere Reinigung durch ELISA oder Koagulometrie analysiert (siehe Beispiele 4 und 5).

## Beispiel 4 – Bestimmung der FVIII-Konzentration durch ELISA:

**[0062]** Die Konzentrationen an humanem rekombinantem Faktor VIII im Kulturfiltrat von transfizierten 293T-Zellen wurden durch ELISA bestimmt, wobei man ein affinitätsgereinigtes polyklonales Schaf-Anti-FVII: C-Präparat (F8C-EIA-C, Affinity Biologicals) als Abfangantikörper verwendete. Die Beschichtung wurde zwei Stunden lang in einer feuchten Kammer bei 22 °C durchgeführt. Platten (Dynex, Immulon-4) wurden mit 100 µl einer 100fachen Antikörperverdünnung in Beschichtungspuffer (50 mM Natriumcarbonat, pH 9,6) beschichtet. Viermaliges Waschen der Platte (Encore 2000, Merck) mit PBS-Tween® (0,1 Vol.-%) war ausreichend, um unspezifische Wechselwirkungen zu blockieren.

**[0063]** Nach jedem weiteren Schritt musste gewaschen werden, um ungebundene Proteine zu entfernen. Jeweils 100 µl Kulturfiltratproben, die nach 48 h Inkubation aus verschiedenen, stabil mit pTGF8-3 transfizierten 293T-Klonen gezogen wurden, wurden in jeden Napf gegeben. Verdünnungen von FVIII-Standard (Hausstandard, Octapharma) wurden in Verdünnungspuffer (HBS-BSA-EDTA-Tween®) hergestellt und in einer Menge von 100 µl pro Napf inkubiert. Zum Nachweis wurde eine gebrauchsfertige Verdünnung von Peroxidase-markiertem polyklonalem Anti-FVIII (F8C-EIA-D, Affinity Biologicals) 60 min lang in einer Menge von 100 µl pro Napf inkubiert. Für die kolorimetrische Reaktion wurde eine 5-mg-o-Phenylendiamin-Tablette (P-6912, Sigma) kurz vor der Verwendung in 12 ml Substratpuffer gelöst und mit 12 µl 30%igem H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> versetzt. In jeden Napf wurden 150 µl dieser Substratlösung gegeben, und eine kolorimetrische Aufzeichnung wurde mit einem MRX Reader (Dynex) bei 490 nm nach 10 min Inkubation bei Raumtemperatur im Dunkeln und Unterbrechen der Reaktion durch Zugabe von 50 µl 2,5 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> in jeden Napf vorgenommen. Die Ergebnisse wurden durch lineare Regression von Standardkonzentrationen gegen Standardextinktionen berechnet ([Fig. 5A](#)) und sind in [Fig. 5B](#) zusammengefasst.

## Beispiel 5: Nachweis von Humangerinnungsfaktor-VIII-Aktivität

**[0064]** Die Gerinnungsaktivität von humanem rekombinantem Faktor VIII in Überständen der Zellkultur von 293T-Zellen (transfiziert durch Calciumphosphat-Fällung mit pTGF8-1, wie es in Beispiel 3 beschrieben ist) wurde wie folgt bestimmt:

Die Gerinnungsaktivität wurde auf der Basis eines partiellen Thromboplastinzeitassays mit Hilfe einer Aktivierung durch Cephalin (Phosphatidylethanolamin) mit einem manuellen Gerinnungsinstrument (ML-2, Instrumentation Laboratories) bestimmt. Für die Studie wurden 100 µl unverdünnter Überstand von transfizierten 293T-Zellen, 100 µl abgereichertes Plasma (Progen) und 100 µl Cephalin (Instrumentation Laboratories) 5 Mi-

nuten lang bei 37 °C inkubiert. Die Koagulation wurde durch Zugabe von 100 µl CaCl<sub>2</sub> gestartet. Die Koagulationszeit der Probe wurde mit der von normalem Plasma verglichen. Die Ergebnisse sind in [Fig. 3B](#) zusammengefasst. Wie man in [Fig. 3B](#) erkennt, zeigt Zellüberstand von Zellen, die mit pTGF8-1 transfiziert sind, eine Gerinnungsaktivität, die mit der von normalem Plasma vergleichbar ist, während nichttransfizierte Zellen einen Wert ergeben, der dem von Plasma, dem Faktor VIII fehlt, äquivalent ist.

Beispiel 6 – Virusinaktivierung:

**[0065]** Die Virusinaktivierung wurde gemäß dem Verfahren von US-Patent Nr. 6,007,979 durchgeführt, d.h. zu einer potentiell infektiösen Proteinlösung wurden die folgenden Verbindungen nacheinander unter Röhren hinzugefügt:

1. 0,2 ml Tween® 80 und 0,06 ml TNBP wurden zu 19,74 ml der Lösung gegeben; oder
2. 0,2 ml Triton® X-100 und 0,2 ml TNBP wurden zu 19,6 ml der Lösung gegeben.

**[0066]** Zu den Präparaten 1 und 2 wurde 1 ml Ricinusöl gegeben, und dann wurden sie eine Stunde lang intensiv bei Raumtemperatur extrahiert.

**[0067]** Zur Phasentrennung wurde in jedem Fall eine Zentrifugation durchgeführt. Zur Kontrolle der Infektiosität wurden Proben von jeweils 1 ml wiederholt aus der wässrigen Fraktion entnommen.

Beispiel 7 – Etablierung von Zelllinien, die stabil Faktor VIII exprimieren:

**[0068]** Der bevorzugte Vektor pTGF8-1 umfasst Konstrukte für die transiente Expression von Faktor VIII in Säugerzellen. Um ein Selektionsverfahren für einen stabil transfizierten Zellklon zu ermöglichen, wurde eine Cassette für die Hygromycin-B-Phosphotransferase (HindIII-Mva-1260I-Fragment von Tk-Hyg, Clontech) in die im Vektor vorhandene Smal-Stelle subkloniert. Die resultierenden Konstrukte (pTGF8-1-hyg) umfassen dann in cis die Expressionscassetten für den humanen Faktor VIII mit einem CMV-Promotor und einem SV40-Polyadenylierungssignal und einer Hygromycin-B-Phosphotransferase-Expressionscassette mit dem HSV-Thymidin-Kinase-Promotor und HSV-Thymidin-Kinase-Polyadenylierungssignal.

**[0069]** Die Vektoren pTGF8-2hyg-s und pTGF8-3 ([Fig. 6](#), SEQ ID Nr. 12 und 14) sind insofern Derivate von pTGF8-1hyg, als die Punktmutationen V162A, S2011N und V2223E (pTGF8-2hyg-s) und S2011N (pTGF8-3) durch ein PCR-abhängiges Verfahren unter Verwendung der QuikChange®-Vorschrift (Stratagene) zur Wildtypsequenz revertiert wurden.

**[0070]** Die oben genannten Konstrukte ermöglichen die Etablierung von stabil exprimierenden Zelllinien durch Calciumphosphat-Transfektion und anschließende Selektion anhand von Hygromycin-Resistenz. Zusätzlich enthalten die Plasmide ein progesteronresponsives Element (PRE).

**[0071]** Zuerst musste die kritische Konzentration an Antibiotika für eine effektive Selektion von stabil transfizierten 293T-Zellen festgestellt werden. Zu diesem Zweck wurden die Zellen in niedriger Verdünnung ausgestrichen und in Gegenwart von 10 bis 800 µg/ml Hygromycin B kultiviert. Nach zwei Wochen bei 200 µg/ml oder höher wuchsen keine Zellen mehr, und daher wurde diese Konzentration für die Selektion von stabil transfizierten Zellen ausgewählt.

**[0072]** Eine typische Transfektion wurde in 10-cm-Schalen mit 293T-Zellen durchgeführt, die am Tag davor in einem Verhältnis von 1:15 aufgespalten wurden. Mit Hilfe des Calciumphosphat-Fällungsverfahrens (Biotechniques 1988 6: 7, 632–638) wurden 12 µg Plasmid pro Schale für die Transfektion verwendet, und zwei Tage später wurde das Medium durch frisches ersetzt, das 200 µg/ml Hygromycin B enthielt. Nach 2–3 Wochen Selektion wurde das Medium durch ELISA (siehe Beispiel 4) auf die Anwesenheit von Faktor VIII getestet. Positive Klone wurden isoliert und auf eine 24-Napf-Platte übergeführt. Nach der Durchmusterung durch ELISA und Aktivitätsbestimmung wurden positive Klone zwei weiteren Subklonierungsrunden unterzogen, dann expandiert, und Aliquote davon wurden zur weiteren Verwendung und Charakterisierung eingefroren.

Beispiel 8: Nachweis der phänotypischen Gleichmäßigkeit von stabil transfizierten Zellen durch in-situ-Immunfluoreszenznachweis der Faktor-VIII-Expression

**[0073]** Jeweils 5 × 10<sup>7</sup> 293T-Zellen, die stabil mit pTGF8-3 transfiziert waren (Klon 49/19), und untransfizierte 293T-Zellen (negative Kontrolle) aus Adhäsionskulturen in DMEM + 9,1% FCS wurden durch Trypsinierung aus den Kulturschalen gelöst, mehrmals gewaschen und in 5 ml PBS-Puffer resuspendiert.

**[0074]** 2  $\mu$ l dieser Zellsuspensionen wurden auf sterile Mikroskop-Objektträger übergeführt und bei Raumtemperatur inkubiert, bis die gesamte Flüssigkeit verdampft war. Die Zellen wurden 10 min lang in 70% Ethanol fixiert und 5 min lang bei Raumtemperatur getrocknet. Die Objektträger wurden durch Inkubation in 10%iger Verdünnung von FCS in PBS-Puffer gegen unspezifischen Nachweis blockiert. Primärer Antikörper (Schaf-Anti-FVIII:C F8C-EIA-C, Affinity Biologicals) wurde mit PBS-Puffer, der 10% FCS und 0,1% Saponin enthielt, 100fach verdünnt und 60 min lang bei Raumtemperatur in einer feuchten Inkubationskammer inkubiert. Nach intensivem Waschen mit PBS wurde eine 100fache Verdünnung des sekundären Antikörpers (Kaninchen-Anti-Schaf-CY3-Konjugat 313-165-003, Jackson ImmunoResearch) hergestellt und in der oben beschriebenen Weise inkubiert. Anschließend wurde das mikroskopische Präparat intensiv gewaschen und mit einer Schicht von 50% Glycerin und einem Deckglas bedeckt. Zellen wurden durch Weißlicht- und durch Fluoreszenzmikroskopie (Emission bei 570 nm) sichtbar gemacht.

**[0075]** Die Ergebnisse sind in [Fig. 6](#) gezeigt.

## Sequenzprotokoll

&lt;110&gt; Octagene GmbH

&lt;120&gt; Herstellung von rekombinanten Blutgerinnungsfaktoren in Humanzelllinien

&lt;130&gt; 010613wo/JH/ml

&lt;140&gt;

&lt;141&gt;

&lt;160&gt; 17

&lt;170&gt; PatentIn Ver. 2.1

&lt;210&gt; 1

&lt;211&gt; 6996

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; CDS

&lt;222&gt; (1)..(6996)

&lt;400&gt; 1

gcc acc aga aga tac tac ctg ggt gca gtg gaa ctg tca tgg gac tat	48
Ala Thr Arg Arg Tyr Tyr Leu Gly Ala Val Glu Leu Ser Trp Asp Tyr	
1 5 10 15	

atg caa agt gat ctc ggt gag ctg cct gtg gac gca aga ttt cct cct	96
Met Gln Ser Asp Leu Gly Glu Leu Pro Val Asp Ala Arg Phe Pro Pro	
20 25 30	

aga gtg cca aaa tct ttt cca ttc aac acc tca gtc gtg tac aaa aag	144
Arg Val Pro Lys Ser Phe Pro Phe Asn Thr Ser Val Val Tyr Lys Lys	
35 40 45	

act ctg ttt gta gaa ttc acg gtt cac ctt ttc aac atc gct aag cca	192
Thr Leu Phe Val Glu Phe Thr Val His Leu Phe Asn Ile Ala Lys Pro	
50 55 60	

agg cca ccc tgg atg ggt ctg cta ggt cct acc atc cag gct gag gtt	240
Arg Pro Pro Trp Met Gly Leu Leu Gly Pro Thr Ile Gln Ala Glu Val	
65 70 75 80	

tat gat aca gtg gtc att aca ctt aag aac atg gct tcc cat cct gtc	288
Tyr Asp Thr Val Val Ile Thr Leu Lys Asn Met Ala Ser His Pro Val	
85 90 95	

## DE 601 15 613 T2 2006.08.24

agt ctt cat gct gtt ggt gta tcc tac tgg aaa gct tct gag gga gct		336
Ser Leu His Ala Val Gly Val Ser Tyr Trp Lys Ala Ser Glu Gly Ala		
100	105	110
gaa tat gat gat cag acc agt caa agg gag aaa gaa gat gat aaa gtc		384
Glu Tyr Asp Asp Gln Thr Ser Gln Arg Glu Lys Glu Asp Asp Lys Val		
115	120	125
ttc cct ggt gga agc cat aca tat gtc tgg cag gtc ctg aaa gag aat		432
Phe Pro Gly Gly Ser His Thr Tyr Val Trp Gln Val Leu Lys Glu Asn		
130	135	140
ggc cca atg gcc tct gac cca ctg tgc ctt acc tac tca tat ctt tct		480
Gly Pro Met Ala Ser Asp Pro Leu Cys Leu Thr Tyr Ser Tyr Leu Ser		
145	150	155
160		
cat gtg gac ctg gta aaa gac ttg aat tca ggc ctc att gga gcc cta		528
His Val Asp Leu Val Lys Asp Leu Asn Ser Gly Leu Ile Gly Ala Leu		
165	170	175
cta gta tgt aga gaa ggg agt ctg gcc aag gaa aag aca cag acc ttg		576
Leu Val Cys Arg Glu Gly Ser Leu Ala Lys Glu Lys Thr Gln Thr Leu		
180	185	190
cac aaa ttt ata cta ctt ttt gct gta ttt gat gaa ggg aaa agt tgg		624
His Lys Phe Ile Leu Leu Phe Ala Val Phe Asp Glu Gly Lys Ser Trp		
195	200	205
cac tca gaa aca aag aac tcc ttg atg cag gat agg gat gct gca tct		672
His Ser Glu Thr Lys Asn Ser Leu Met Gln Asp Arg Asp Ala Ala Ser		
210	215	220
gct cgg gcc tgg cct aaa atg cac aca gtc aat ggt tat gta aac agg		720
Ala Arg Ala Trp Pro Lys Met His Thr Val Asn Gly Tyr Val Asn Arg		
225	230	235
240		
tct ctg cca ggt ctg att gga tgc cac agg aaa tca gtc tat tgg cat		768
Ser Leu Pro Gly Leu Ile Gly Cys His Arg Lys Ser Val Tyr Trp His		
245	250	255
gtg att gga atg ggc acc act cct gaa gtg cac tca ata ttc ctc gaa		816
Val Ile Gly Met Gly Thr Thr Pro Glu Val His Ser Ile Phe Leu Glu		
260	265	270
ggt cac aca ttt ctt gtg agg aac cat cgc cag gcg tcc ttg gaa atc		864
Gly His Thr Phe Leu Val Arg Asn His Arg Gln Ala Ser Leu Glu Ile		
275	280	285

## DE 601 15 613 T2 2006.08.24

tcg cca ata act ttc ctt act gct caa aca ctc ttg atg gac ctt gga	912
Ser Pro Ile Thr Phe Leu Thr Ala Gln Thr Leu Leu Met Asp Leu Gly	
290 295 300	
cag ttt cta ctg ttt tgt cat atc tct tcc cac caa cat gat ggc atg	960
Gln Phe Leu Leu Phe Cys His Ile Ser Ser His Gln His Asp Gly Met	
305 310 315 320	
gaa gct tat gtc aaa gta gac agc tgt cca gag gaa ccc caa cta cga	1008
Glu Ala Tyr Val Lys Val Asp Ser Cys Pro Glu Glu Pro Gln Leu Arg	
325 330 335	
atg aaa aat aat gaa gaa gcg gaa gac tat gat gat gat ctt act gat	1056
Met Lys Asn Asn Glu Glu Ala Glu Asp Tyr Asp Asp Asp Leu Thr Asp	
340 345 350	
tct gaa atg gat gtg gtc agg ttt gat gat gac aac tct cct tcc ttt	1104
Ser Glu Met Asp Val Val Arg Phe Asp Asp Asp Asn Ser Pro Ser Phe	
355 360 365	
atc caa att cgc tca gtt gcc aag aag cat cct aaa act tgg gta cat	1152
Ile Gln Ile Arg Ser Val Ala Lys Lys His Pro Lys Thr Trp Val His	
370 375 380	
tac att gct gct gaa gag gag gac tgg gac tat gct ccc tta gtc ctc	1200
Tyr Ile Ala Ala Glu Glu Asp Trp Asp Tyr Ala Pro Leu Val Leu	
385 390 395 400	
gcc ccc gat gac aga agt tat aaa agt caa tat ttg aac aat ggc cct	1248
Ala Pro Asp Asp Arg Ser Tyr Lys Ser Gln Tyr Leu Asn Asn Gly Pro	
405 410 415	
cag cgg att ggt agg aag tac aaa aaa gtc cga ttt atg gca tac aca	1296
Gln Arg Ile Gly Arg Lys Tyr Lys Lys Val Arg Phe Met Ala Tyr Thr	
420 425 430	
gat gaa acc ttt aag act cgt gaa gct att cag cat gaa tca gga atc	1344
Asp Glu Thr Phe Lys Thr Arg Glu Ala Ile Gln His Glu Ser Gly Ile	
435 440 445	
ttg gga cct tta ctt tat ggg gaa gtt gga gac aca ctg ttg att ata	1392
Leu Gly Pro Leu Leu Tyr Gly Glu Val Gly Asp Thr Leu Leu Ile Ile	
450 455 460	
ttt aag aat caa gca agc aga cca tat aac atc tac cct cac gga atc	1440
Phe Lys Asn Gln Ala Ser Arg Pro Tyr Asn Ile Tyr Pro His Gly Ile	
465 470 475 480	

## DE 601 15 613 T2 2006.08.24

act gat gtc cgt cct ttg tat tca agg aga tta cca aaa ggt gta aaa		1488	
Thr Asp Val Arg Pro Leu Tyr Ser Arg Arg Leu Pro Lys Gly Val Lys			
485	490	495	
cat ttg aag gat ttt cca att ctg cca gga gaa ata ttc aaa tat aaa		1536	
His Leu Lys Asp Phe Pro Ile Leu Pro Gly Glu Ile Phe Lys Tyr Lys			
500	505	510	
tgg aca gtg act gta gaa gat ggg cca act aaa tca gat cct cggtgc		1584	
Trp Thr Val Thr Val Glu Asp Gly Pro Thr Lys Ser Asp Pro Arg Cys			
515	520	525	
ctg acc cgc tat tac tct agt ttc gtt aat atg gag aga gat cta gct		1632	
Leu Thr Arg Tyr Tyr Ser Ser Phe Val Asn Met Glu Arg Asp Leu Ala			
530	535	540	
tca gga ctc att ggc cct ctc atc atc tgc tac aaa gaa tct gta gat		1680	
Ser Gly Leu Ile Gly Pro Leu Leu Ile Cys Tyr Lys Glu Ser Val Asp			
545	550	555	560
caa aga gga aac cag ata atg tca gac aag agg aat gtc atc ctg ttt		1728	
Gln Arg Gly Asn Gln Ile Met Ser Asp Lys Arg Asn Val Ile Leu Phe			
565	570	575	
tct gta ttt gat gag aac cga agc tgg tac ctc aca gag aat ata caa		1776	
Ser Val Phe Asp Glu Asn Arg Ser Trp Tyr Leu Thr Glu Asn Ile Gln			
580	585	590	
cgc ttt ctc ccc aat cca gct gga gtg cag ctt gag gat cca gag ttc		1824	
Arg Phe Leu Pro Asn Pro Ala Gly Val Gln Leu Glu Asp Pro Glu Phe			
595	600	605	
caa gcc tcc aac atc atg cac agc atc aat ggc tat gtt ttt gat agt		1872	
Gln Ala Ser Asn Ile Met His Ser Ile Asn Gly Tyr Val Phe Asp Ser			
610	615	620	
ttg cag ttg tca gtt tgt ttg cat gag gtg gca tac tgg tac att cta		1920	
Leu Gln Leu Ser Val Cys Leu His Glu Val Ala Tyr Trp Tyr Ile Leu			
625	630	635	640
agc att gga gca cag act gac ttc ctt tct gtc ttc ttc tct gga tat		1968	
Ser Ile Gly Ala Gln Thr Asp Phe Leu Ser Val Phe Phe Ser Gly Tyr			
645	650	655	
acc ttc aaa cac aaa atg gtc tat gaa gac aca ctc acc cta ttc cca		2016	
Thr Phe Lys His Lys Met Val Tyr Glu Asp Thr Leu Thr Leu Phe Pro			
660	665	670	

## DE 601 15 613 T2 2006.08.24

ttc tca gga gaa act gtc ttc atg tcg atg gaa aac cca ggt cta tgg	675	680	685	2064
Phe Ser Gly Glu Thr Val Phe Met Ser Met Glu Asn Pro Gly Leu Trp				
att ctg ggg tgc cac aac tca gac ttt cgg aac aga ggc atg acc gcc	690	695	700	2112
Ile Leu Gly Cys His Asn Ser Asp Phe Arg Asn Arg Gly Met Thr Ala				
tta ctg aag gtt tct agt tgt gac aag aac act ggt gat tat tac gag	705	710	715	2160
Leu Leu Lys Val Ser Ser Cys Asp Lys Asn Thr Gly Asp Tyr Tyr Glu				
gac agt tat gaa gat att tca gca tac ttg ctg agt aaa aac aat gcc	725	730	735	2208
Asp Ser Tyr Glu Asp Ile Ser Ala Tyr Leu Leu Ser Lys Asn Asn Ala				
att gaa cca aga agc ttc tcc cag aat tca aga cac cct agc act agg	740	745	750	2256
Ile Glu Pro Arg Ser Phe Ser Gln Asn Ser Arg His Pro Ser Thr Arg				
caa aag caa ttt aat gcc acc aca att cca gaa aat gac ata gag aag	755	760	765	2304
Gln Lys Gln Phe Asn Ala Thr Thr Ile Pro Glu Asn Asp Ile Glu Lys				
act gac cct tgg ttt gca cac aga aca cct atg cct aaa ata caa aat	770	775	780	2352
Thr Asp Pro Trp Phe Ala His Arg Thr Pro Met Pro Lys Ile Gln Asn				
gtc tcc tct agt gat ttg ttg atg ctc ttg cga cag agt cct act cca	785	790	795	2400
Val Ser Ser Ser Asp Leu Leu Met Leu Leu Arg Gln Ser Pro Thr Pro				
cat ggg cta tcc tta tct gat ctc caa gaa gcc aaa tat gag act ttt	805	810	815	2448
His Gly Leu Ser Leu Ser Asp Leu Gln Glu Ala Lys Tyr Glu Thr Phe				
tct gat gat cca tca cct gga gca ata gac agt aat aac agc ctg tct	820	825	830	2496
Ser Asp Asp Pro Ser Pro Gly Ala Ile Asp Ser Asn Asn Ser Leu Ser				
gaa atg aca cac ttc agg cca cag ctc cat cac agt ggg gac atg gta	835	840	845	2544
Glu Met Thr His Phe Arg Pro Gln Leu His His Ser Gly Asp Met Val				
ttt acc cct gag tca ggc ctc caa tta aga tta aat gag aaa ctg ggg	850	855	860	2592
Phe Thr Pro Glu Ser Gly Leu Gln Leu Arg Leu Asn Glu Lys Leu Gly				

## DE 601 15 613 T2 2006.08.24

aca act gca gca aca gag ttg aag aaa ctt gat ttc aaa gtt tct agt			2640
Thr Thr Ala Ala Thr Glu Leu Lys Lys Leu Asp Phe Lys Val Ser Ser			
865	870	875	880
aca tca aat aat ctg att tca aca att cca tca gac aat ttg gca gca			2688
Thr Ser Asn Asn Leu Ile Ser Thr Ile Pro Ser Asp Asn Leu Ala Ala			
885	890	895	
ggt act gat aat aca agt tcc tta gga ccc cca agt atg cca gtt cat			2736
Gly Thr Asp Asn Thr Ser Ser Leu Gly Pro Pro Ser Met Pro Val His			
900	905	910	
tat gat agt caa tta gat acc act cta ttt ggc aaa aag tca tct ccc			2784
Tyr Asp Ser Gln Leu Asp Thr Thr Leu Phe Gly Lys Lys Ser Ser Pro			
915	920	925	
ctt act gag tct ggt gga cct ctg agc ttg agt gaa gaa aat aat gat			2832
Leu Thr Glu Ser Gly Gly Pro Leu Ser Leu Ser Glu Glu Asn Asn Asp			
930	935	940	
tca aag ttg tta gaa tca ggt tta atg aat agc caa gaa agt tca tgg			2880
Ser Lys Leu Leu Glu Ser Gly Leu Met Asn Ser Gln Glu Ser Ser Trp			
945	950	955	960
gga aaa aat gta tcg tca aca gag agt ggt agg tta ttt aaa .ggg aaa			2928
Gly Lys Asn Val Ser Ser Thr Glu Ser Gly Arg Leu Phe Lys Gly Lys			
965	970	975	
aga gct cat gga cct gct ttg act aaa gat aat gcc tta ttc aaa			2976
Arg Ala His Gly Pro Ala Leu Leu Thr Lys Asp Asn Ala Leu Phe Lys			
980	985	990	
gtt agc atc tct ttg tta aag aca aac aaa act tcc aat aat tca gca			3024
Val Ser Ile Ser Leu Leu Lys Thr Asn Lys Thr Ser Asn Asn Ser Ala			
995	1000	1005	
act aat aga aag act cac att gat ggc cca tca tta att gag aat			3072
Thr Asn Arg Lys Thr His Ile Asp Gly Pro Ser Leu Leu Ile Glu Asn			
1010	1015	1020	
agt cca tca gtc tgg caa aat ata tta gaa agt gac act gag ttt aaa			3120
Ser Pro Ser Val Trp Gln Asn Ile Leu Glu Ser Asp Thr Glu Phe Lys			
1025	1030	1035	1040
aaa gtg aca cct ttg att cat gac aga atg ctt atg gac aaa aat gct			3168
Lys Val Thr Pro Leu Ile His Asp Arg Met Leu Met Asp Lys Asn Ala			
1045	1050	1055	

## DE 601 15 613 T2 2006.08.24

aca gct ttg agg cta aat cat atg tca aat aaa act act tca tca aaa 3216  
 Thr Ala Leu Arg Leu Asn His Met Ser Asn Lys Thr Thr Ser Ser Lys  
 1060 1065 1070

aac atg gaa atg gtc caa cag aaa aaa gag ggc ccc att cca cca gat 3264  
 Asn Met Glu Met Val Gln Gln Lys Lys Glu Gly Pro Ile Pro Pro Asp  
 1075 1080 1085

gca caa aat cca gat atg tcg ttc ttt aag atg cta ttc ttg cca gaa 3312  
 Ala Gln Asn Pro Asp Met Ser Phe Phe Lys Met Leu Phe Leu Pro Glu  
 1090 1095 1100

tca gca agg tgg ata caa agg act cat gga aag aac tct ctg aac tct 3360  
 Ser Ala Arg Trp Ile Gln Arg Thr His Gly Lys Asn Ser Leu Asn Ser  
 1105 1110 1115 1120

ggg caa ggc ccc agt cca aag caa tta gta tcc tta gga cca gaa aaa 3408  
 Gly Gln Gly Pro Ser Pro Lys Gln Leu Val Ser Leu Gly Pro Glu Lys  
 1125 1130 1135

tct gtg gaa ggt cag aat ttc ttg tct gag aaa aac aaa gtg gta gta 3456  
 Ser Val Glu Gly Gln Asn Phe Leu Ser Glu Lys Asn Lys Val Val Val  
 1140 1145 1150

gga aag ggt gaa ttt aca aag gac gta gga ctc aaa gag atg gtt ttt 3504  
 Gly Lys Gly Glu Phe Thr Lys Asp Val Gly Leu Lys Glu Met Val Phe  
 1155 1160 1165

cca agc agc aga aac cta ttt ctt act aac ttg gat aat tta cat gaa 3552  
 Pro Ser Ser Arg Asn Leu Phe Leu Thr Asn Leu Asp Asn Leu His Glu  
 1170 1175 1180

aat aat aca cac aat caa gaa aaa aaa att cag gaa gaa ata gaa aag 3600  
 Asn Asn Thr His Asn Gln Glu Lys Lys Ile Gln Glu Glu Ile Glu Lys  
 1185 1190 1195 1200

aag gaa aca tta atc caa gag aat gta gtt ttg cct cag ata cat aca 3648  
 Lys Glu Thr Leu Ile Gln Glu Asn Val Val Leu Pro Gln Ile His Thr  
 1205 1210 1215

gtg act ggc act aag aat ttc atg aag aac ctt ttc tta ctg agc act 3696  
 Val Thr Gly Thr Lys Asn Phe Met Lys Asn Leu Phe Leu Leu Ser Thr  
 1220 1225 1230

agg caa aat gta gaa ggt tca tat gag ggg gca tat gct cca gta ctt 3744  
 Arg Gln Asn Val Glu Gly Ser Tyr Glu Gly Ala Tyr Ala Pro Val Leu  
 1235 1240 1245

## DE 601 15 613 T2 2006.08.24

caa gat ttt agg tca tta aat gat tca aca aat aga aca aag aaa cac			3792
Gln Asp Phe Arg Ser Leu Asn Asp Ser Thr Asn Arg Thr Lys Lys His			
1250	1255	1260	
aca gct cat ttc tca aaa aaa ggg gag gaa gaa aac ttg gaa ggc ttg			3840
Thr Ala His Phe Ser Lys Lys Gly Glu Glu Asn Leu Glu Gly Leu			
1265	1270	1275	1280
gga aat caa acc aag caa att gta gag aaa tat gca tgc acc aca agg			3888
Gly Asn Gln Thr Lys Gln Ile Val Glu Lys Tyr Ala Cys Thr Thr Arg			
1285	1290	1295	
ata tct cct aat aca agc cag cag aat ttt gtc acg caa cgt agt aag			3936
Ile Ser Pro Asn Thr Ser Gln Gln Asn Phe Val Thr Gln Arg Ser Lys			
1300	1305	1310	
aga gct ttg aaa caa ttc aga ctc cca cta gaa gaa aca gaa ctt gaa			3984
Arg Ala Leu Lys Gln Phe Arg Leu Pro Leu Glu Glu Thr Glu Leu Glu			
1315	1320	1325	
aaa agg ata att gtg gat gac acc tca acc cag tgg tcc aaa aac atg			4032
Lys Arg Ile Ile Val Asp Asp Thr Ser Thr Gln Trp Ser Lys Asn Met			
1330	1335	1340	
aaa cat ttg acc ccg agc acc ctc aca cag ata gac tac aat gag aag			4080
Lys His Leu Thr Pro Ser Thr Leu Thr Gln Ile Asp Tyr Asn Glu Lys			
1345	1350	1355	1360
gag aaa ggg gcc att act cag tct ccc tta tca gat tgc ctt acg agg			4128
Glu Lys Gly Ala Ile Thr Gln Ser Pro Leu Ser Asp Cys Leu Thr Arg			
1365	1370	1375	
agt cat agc atc cct caa gca aat aga tct cca tta ccc att gca aag			4176
Ser His Ser Ile Pro Gln Ala Asn Arg Ser Pro Leu Pro Ile Ala Lys			
1380	1385	1390	
gta tca tca ttt cca tct att aga cct ata tat ctg acc agg gtc cta			4224
Val Ser Ser Phe Pro Ser Ile Arg Pro Ile Tyr Leu Thr Arg Val Leu			
1395	1400	1405	
ttc caa gac aac tct tct cat ctt cca gca gca tct tat aga aag aaa			4272
Phe Gln Asp Asn Ser Ser His Leu Pro Ala Ala Ser Tyr Arg Lys Lys			
1410	1415	1420	
gat tct ggg gtc caa gaa agc agt cat ttc tta caa gga gcc aaa aaa			4320
Asp Ser Gly Val Gln Glu Ser Ser His Phe Leu Gln Gly Ala Lys Lys			
1425	1430	1435	1440

## DE 601 15 613 T2 2006.08.24

aat aac ctt tct tta gcc att cta acc ttg gag atg act ggt gat caa	1436
Asn Asn Leu Ser Leu Ala Ile Leu Thr Leu Glu Met Thr Gly Asp Gln	
1445 1450 1455	
aga gag gtt ggc tcc ctg ggg aca agt gcc aca aat tca gtc aca tac	4416
Arg Glu Val Gly Ser Leu Gly Thr Ser Ala Thr Asn Ser Val Thr Tyr	
1460 1465 1470	
aag aaa gtt gag aac act gtt ctc ccg aaa cca gac ttg ccc aaa aca	4464
Lys Lys Val Glu Asn Thr Val Leu Pro Lys Pro Asp Leu Pro Lys Thr	
1475 1480 1485	
tct ggc aaa gtt gaa ttg ctt cca aaa gtt cac att tat cag aag gac	4512
Ser Gly Lys Val Glu Leu Leu Pro Lys Val His Ile Tyr Gln Lys Asp	
1490 1495 1500	
cta ttc cct acg gaa act agc aat ggg tct cct ggc cat ctg gat ctc	4560
Leu Phe Pro Thr Glu Thr Ser Asn Gly Ser Pro Gly His Leu Asp Leu	
1505 1510 1515 1520	
gtg gaa ggg agc ctt ctt cag gga aca gag gga gcg att aag tgg aat	4608
Val Glu Gly Ser Leu Leu Gln Gly Thr Glu Gly Ala Ile Lys Trp Asn	
1525 1530 1535	
gaa gca aac aga cct gga aaa gtt ccc ttt ctg aga gta gca aca gaa	4656
Glu Ala Asn Arg Pro Gly Lys Val Pro Phe Leu Arg Val Ala Thr Glu	
1540 1545 1550	
agc tct gca aag act ccc tcc aag cta ttg gat cct ctt gct tgg gat	4704
Ser Ser Ala Lys Thr Pro Ser Lys Leu Leu Asp Pro Leu Ala Trp Asp	
1555 1560 1565	
aac cac tat ggt act cag ata cca aaa gaa gag tgg aaa tcc caa gag	4752
Asn His Tyr Gly Thr Gln Ile Pro Lys Glu Glu Trp Lys Ser Gln Glu	
1570 1575 1580	
aag tca cca gaa aaa aca gct ttt aag aaa aag gat acc att ttg tcc	4800
Lys Ser Pro Glu Lys Thr Ala Phe Lys Lys Asp Thr Ile Leu Ser	
1585 1590 1595 1600	
ctg aac gct tgt gaa agc aat cat gca ata gca gca ata aat gag gga	4848
Leu Asn Ala Cys Glu Ser Asn His Ala Ile Ala Ala Ile Asn Glu Gly	
1605 1610 1615	
caa aat aag ccc gaa ata gaa gtc acc ttg gca aag caa ggt agg act	4896
Gln Asn Lys Pro Glu Ile Glu Val Thr Trp Ala Lys Gln Gly Arg Thr	
1620 1625 1630	

## DE 601 15 613 T2 2006.08.24

gaa agg ctg tgc tct caa aac cca cca gtc ttg aaa cgc cat caa cgg	4944
Glu Arg Leu Cys Ser Gln Asn Pro Pro Val Leu Lys Arg His Gln Arg	
1635 1640 1645	
gaa ata act cgt act act ctt cag tca gat caa gag gaa att gac tat	4992
Glu Ile Thr Arg Thr Thr Leu Gln Ser Asp Gln Glu Glu Ile Asp Tyr	
1650 1655 1660	
gat gat acc ata tca gtt gaa atg aag aag gaa gat ttt gac att tat	5040
Asp Asp Thr Ile Ser Val Glu Met Lys Lys Glu Asp Phe Asp Ile Tyr	
1665 1670 1675 1680	
gat gag gat gaa aat cag agc ccc cgc agc ttt caa aag aaa aca cga	5088
Asp Glu Asp Glu Asn Gln Ser Pro Arg Ser Phe Gln Lys Lys Thr Arg	
1685 1690 1695	
cac tat ttt att gct gca gtg gag agg ctc tgg gat tat ggg atg agt	5136
His Tyr Phe Ile Ala Ala Val Glu Arg Leu Trp Asp Tyr Gly Met Ser	
1700 1705 1710	
agc tcc cca cat gtt cta aga aac agg gct cag agt ggc agt gtc cct	5184
Ser Ser Pro His Val Leu Arg Asn Arg Ala Gln Ser Gly Ser Val Pro	
1715 1720 1725	
cag ttc aag aaa gtt gtt ttc cag gaa ttt act gat ggc tcc ttt act	5232
Gln Phe Lys Lys Val Val Phe Gln Glu Phe Thr Asp Gly Ser Phe Thr	
1730 1735 1740	
cag ccc tta tac cgt gga gaa cta aat gaa cat ttg gga ctc ctg ggg	5280
Gln Pro Leu Tyr Arg Gly Glu Leu Asn Glu His Leu Gly Leu Leu Gly	
1745 1750 1755 1760	
cca tat ata aga gca gaa gtt gaa gat aat atc atg gta act ttc aga	5328
Pro Tyr Ile Arg Ala Glu Val Glu Asp Asn Ile Met Val Thr Phe Arg	
1765 1770 1775	
aat cag gcc tct cgt ccc tat tcc ttc tat tct agc ctt att tct tat	5376
Asn Gln Ala Ser Arg Pro Tyr Ser Phe Tyr Ser Ser Leu Ile Ser Tyr	
1780 1785 1790	
gag gaa gat cag agg caa gga gca gaa cct aga aaa aac ttt gtc aag	5424
Glu Glu Asp Gln Arg Gln Gly Ala Glu Pro Arg Lys Asn Phe Val Lys	
1795 1800 1805	
cct aat gaa acc aaa act tac ttt tgg aaa gtg caa cat cat atg gca	5472
Pro Asn Glu Thr Lys Thr Tyr Phe Trp Lys Val Gln His His Met Ala	
1810 1815 1820	

## DE 601 15 613 T2 2006.08.24

ccc act aaa gat gag ttt gac tgc aaa gcc tgg gct tat ttc tct gat	5520
Pro Thr Lys Asp Glu Phe Asp Cys Lys Ala Trp Ala Tyr Phe Ser Asp	
1825 1830 1835 1840	
gtt gac ctg gaa aaa gat gtg cac tca ggc ctg att gga ccc ctt ctg	5568
Val Asp Leu Glu Lys Asp Val His Ser Gly Leu Ile Gly Pro Leu Leu	
1845 1850 1855	
gtc tgc cac act aac aca ctg aac cct gct cat ggg aga caa gtg aca	5616
Val Cys His Thr Asn Thr Leu Asn Pro Ala His Gly Arg Gln Val Thr	
1860 1865 1870	
gta cag gaa ttt gct ctg ttt ttc acc atc ttt gat gag acc aaa agc	5664
Val Gln Glu Phe Ala Leu Phe Phe Thr Ile Phe Asp Glu Thr Lys Ser	
1875 1880 1885	
tgg tac ttc act gaa aat atg gaa aga aac tgc agg gct ccc tgc aat	5712
Trp Tyr Phe Thr Glu Asn Met Glu Arg Asn Cys Arg Ala Pro Cys Asn	
1890 1895 1900	
atc cag atg gaa gat ccc act ttt aaa gag aat tat cgc ttc cat gca	5760
Ile Gln Met Glu Asp Pro Thr Phe Lys Glu Asn Tyr Arg Phe His Ala	
1905 1910 1915 1920	
atc aat ggc tac ata atg gat aca cta cct ggc tta gta atg gct cag	5808
Ile Asn Gly Tyr Ile Met Asp Thr Leu Pro Gly Leu Val Met Ala Gln	
1925 1930 1935	
gat caa agg att cga tgg tat ctg ctc agc atg ggc agc aat gaa aac	5856
Asp Gln Arg Ile Arg Trp Tyr Leu Leu Ser Met Gly Ser Asn Glu Asn	
1940 1945 1950	
atc cat tct att cat ttc agt gga cat gtg ttc act gta cga aaa aaa	5904
Ile His Ser Ile His Phe Ser Gly His Val Phe Thr Val Arg Lys Lys	
1955 1960 1965	
gag gag tat aaa atg gca ctg tac aat ctc tat cca ggt gtt ttt gag	5952
Glu Glu Tyr Lys Met Ala Leu Tyr Asn Leu Tyr Pro Gly Val Phe Glu	
1970 1975 1980	
aca gtg gaa atg tta cca tcc aaa gct gga att tgg cgg gtg gaa tgc	6000
Thr Val Glu Met Leu Pro Ser Lys Ala Gly Ile Trp Arg Val Glu Cys	
1985 1990 1995 2000	
ctt att ggc gag cat cta cat gct ggg atg agc aca ctt ttt ctg gtg	6048
Leu Ile Gly Glu His Leu His Ala Gly Met Ser Thr Leu Phe Leu Val	
2005 2010 2015	

## DE 601 15 613 T2 2006.08.24

tac	agc	aat	aag	tgt	cag	act	ccc	ctg	gga	atg	gct	tct	gga	cac	att	6096
Tyr	Ser	Asn	Lys	Cys	Gln	Thr	Pro	Leu	Gly	Met	Ala	Ser	Gly	His	Ile	
2020								2025							2030	
aga	gat	ttt	cag	att	aca	gct	tca	gga	caa	tat	gga	cag	tgg	gcc	cca	6144
Arg	Asp	Phe	Gln	Ile	Thr	Ala	Ser	Gly	Gln	Tyr	Gly	Gln	Trp	Ala	Pro	
2035								2040							2045	
aag	ctg	gcc	aga	ctt	cat	tat	tcc	gga	tca	atc	aat	gcc	tgg	agc	acc	6192
Lys	Leu	Ala	Arg	Leu	His	Tyr	Ser	Gly	Ser	Ile	Asn	Ala	Trp	Ser	Thr	
2050								2055							2060	
aag	gag	ccc	ttt	tct	tgg	atc	aag	gtg	gat	ctg	ttg	gca	cca	atg	att	6240
Lys	Glu	Pro	Phe	Ser	Trp	Ile	Lys	Val	Asp	Leu	Leu	Ala	Pro	Met	Ile	
2065								2070							2080	
att	cac	ggc	atc	aag	acc	cag	ggt	gcc	cgt	cag	aag	ttc	tcc	agc	ctc	6288
Ile	His	Gly	Ile	Lys	Thr	Gln	Gly	Ala	Arg	Gln	Lys	Phe	Ser	Ser	Leu	
2085								2090							2095	
tac	atc	tct	cag	ttt	atc	atc	atg	tat	agt	ctt	gat	ggg	aag	aag	tgg	6336
Tyr	Ile	Ser	Gln	Phe	Ile	Ile	Met	Tyr	Ser	Leu	Asp	Gly	Lys	Lys	Trp	
2100								2105							2110	
cag	act	tat	cga	gga	aat	tcc	act	gga	acc	tta	atg	gtc	ttc	ttt	ggc	6384
Gln	Thr	Tyr	Arg	Gly	Asn	Ser	Thr	Gly	Thr	Leu	Met	Val	Phe	Phe	Gly	
2115								2120							2125	
aat	gtg	gat	tca	tct	ggg	ata	aaa	cac	aat	att	ttt	aac	cct	cca	att	6432
Asn	Val	Asp	Ser	Ser	Gly	Ile	Lys	His	Asn	Ile	Phe	Asn	Pro	Pro	Ile	
2130								2135							2140	
att	gtc	cga	tac	atc	cgt	ttg	cac	cca	act	cat	tat	agc	att	cgc	agc	6480
Ile	Ala	Arg	Tyr	Ile	Arg	Leu	His	Pro	Thr	His	Tyr	Ser	Ile	Arg	Ser	
2145								2150							2160	
act	ctt	cgc	atg	gag	ttg	atg	ggc	tgt	gat	tta	aat	agt	tgc	agc	atg	6528
Thr	Leu	Arg	Met	Glu	Leu	Met	Gly	Cys	Asp	Leu	Asn	Ser	Cys	Ser	Met	
2165								2170							2175	
cca	ttg	gga	atg	gag	agt	aaa	gca	ata	tca	gat	gca	cag	att	act	gct	6576
Pro	Leu	Gly	Met	Glu	Ser	Lys	Ala	Ile	Ser	Asp	Ala	Gln	Ile	Thr	Ala	
2180								2185							2190	
tca	tcc	tac	ttt	acc	aat	atg	ttt	gcc	acc	tgg	tct	cct	tca	aaa	gct	6624
Ser	Ser	Tyr	Phe	Thr	Asn	Met	Phe	Ala	Thr	Trp	Ser	Pro	Ser	Lys	Ala	
2195								2200							2205	

## DE 601 15 613 T2 2006.08.24

cga ctt cac ctc caa ggg agg agt aat gcc tgg aga cct cag gtg aat			6672
Arg Leu His Leu Gln Gly Arg Ser Asn Ala Trp Arg Pro Gln Val Asn			
2210	2215	2220	
aat cca aaa gag tgg ctg caa gtg gac ttc cag aag aca atg aaa gtc			6720
Asn Pro Lys Glu Trp Leu Gln Val Asp Phe Gln Lys Thr Met Lys Val			
2225	2230	2235	2240
aca gga gta act act cag gga gta aaa tct ctg ctt acc agc atg tat			6768
Thr Gly Val Thr Thr Gln Gly Val Lys Ser Leu Leu Thr Ser Met Tyr			
2245	2250	2255	
gtg aag gag ttc ctc atc tcc agc agt caa gat ggc cat cag tgg act			6816
Val Lys Glu Phe Leu Ile Ser Ser Gln Asp Gly His Gln Trp Thr			
2260	2265	2270	
ctc ttt ttt cag aat ggc aaa gta aag gtt ttt cag gga aat caa gac			6864
Leu Phe Phe Gln Asn Gly Lys Val Lys Val Phe Gln Gly Asn Gln Asp			
2275	2280	2285	
tcc ttc aca cct gtg gtg aac tct cta gac cca ccg tta ctg act cgc			6912
Ser Phe Thr Pro Val Val Asn Ser Leu Asp Pro Pro Leu Leu Thr Arg			
2290	2295	2300	
tac ctt cga att cac ccc cag agt tgg gtg cac cag att gcc ctg agg			6960
Tyr Leu Arg Ile His Pro Gln Ser Trp Val His Gln Ile Ala Leu Arg			
2305	2310	2315	2320
atg gag gtt ctg ggc tgc gag gca cag gac ctc tac			6996
Met Glu Val Leu Gly Cys Glu Ala Gln Asp Leu Tyr			
2325	2330		

<210> 2  
 <211> 2332  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

Ala Thr Arg Arg Tyr Tyr Leu Gly Ala Val Glu Leu Ser Trp Asp Tyr			
1	5	10	15
Met Gln Ser Asp Leu Gly Glu Leu Pro Val Asp Ala Arg Phe Pro Pro			
20	25	30	
Arg Val Pro Lys Ser Phe Pro Phe Asn Thr Ser Val Val Tyr Lys Lys			
35	40	45	
Thr Leu Phe Val Glu Phe Thr Val His Leu Phe Asn Ile Ala Lys Pro			
50	55	60	

## DE 601 15 613 T2 2006.08.24

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

## DE 601 15 613 T2 2006.08.24

Glu	Ala	Tyr	Val	Lys	Val	Asp	Ser	Cys	Pro	Glu	Glu	Pro	Gln	Leu	Arg
				325					330				335		
Met	Lys	Asn	Asn	Glu	Glu	Ala	Glu	Asp	Tyr	Asp	Asp	Asp	Leu	Thr	Asp
				340				345					350		
Ser	Glu	Met	Asp	Val	Val	Arg	Phe	Asp	Asp	Asp	Asn	Ser	Pro	Ser	Phe
				355			360				365				
Ile	Gln	Ile	Arg	Ser	Val	Ala	Lys	Lys	His	Pro	Lys	Thr	Trp	Val	His
				370			375			380					
Tyr	Ile	Ala	Ala	Glu	Glu	Asp	Trp	Asp	Tyr	Ala	Pro	Leu	Val	Leu	
				385			390		395				400		
Ala	Pro	Asp	Asp	Arg	Ser	Tyr	Lys	Ser	Gln	Tyr	Leu	Asn	Asn	Gly	Pro
				405				410			415				
Gln	Arg	Ile	Gly	Arg	Lys	Tyr	Lys	Lys	Val	Arg	Phe	Met	Ala	Tyr	Thr
				420			425			430					
Asp	Glu	Thr	Phe	Lys	Thr	Arg	Glu	Ala	Ile	Gln	His	Glu	Ser	Gly	Ile
				435			440			445					
Leu	Gly	Pro	Leu	Leu	Tyr	Gly	Glu	Val	Gly	Asp	Thr	Leu	Leu	Ile	Ile
				450			455			460					
Phe	Lys	Asn	Gln	Ala	Ser	Arg	Pro	Tyr	Asn	Ile	Tyr	Pro	His	Gly	Ile
				465			470		475			480			
Thr	Asp	Val	Arg	Pro	Leu	Tyr	Ser	Arg	Arg	Leu	Pro	Lys	Gly	Val	Lys
				485				490			495				
His	Leu	Lys	Asp	Phe	Pro	Ile	Leu	Pro	Gly	Glu	Ile	Phe	Lys	Tyr	Lys
				500			505			510					
Trp	Thr	Val	Thr	Val	Glu	Asp	Gly	Pro	Thr	Lys	Ser	Asp	Pro	Arg	Cys
				515			520			525					
Leu	Thr	Arg	Tyr	Tyr	Ser	Ser	Phe	Val	Asn	Met	Glu	Arg	Asp	Leu	Ala
				530			535			540					
Ser	Gly	Leu	Ile	Gly	Pro	Leu	Leu	Ile	Cys	Tyr	Lys	Glu	Ser	Val	Asp
				545			550		555			560			
Gln	Arg	Gly	Asn	Gln	Ile	Met	Ser	Asp	Lys	Arg	Asn	Val	Ile	Leu	Phe
				565				570		575				575	
Ser	Val	Phe	Asp	Glu	Asn	Arg	Ser	Trp	Tyr	Leu	Thr	Glu	Asn	Ile	Gln
				580				585			590				

## DE 601 15 613 T2 2006.08.24

Arg Phe Leu Pro Asn Pro Ala Gly Val Gln Leu Glu Asp Pro Glu Phe  
595 600 605

Gln Ala Ser Asn Ile Met His Ser Ile Asn Gly Tyr Val Phe Asp Ser  
610 615 620

Leu Gln Leu Ser Val Cys Leu His Glu Val Ala Tyr Trp Tyr Ile Leu  
625 630 635 640

Ser Ile Gly Ala Gln Thr Asp Phe Leu Ser Val Phe Phe Ser Gly Tyr  
645 650 655

Thr Phe Lys His Lys Met Val Tyr Glu Asp Thr Leu Thr Leu Phe Pro  
660 665 670

Phe Ser Gly Glu Thr Val Phe Met Ser Met Glu Asn Pro Gly Leu Trp  
675 680 685

Ile Leu Gly Cys His Asn Ser Asp Phe Arg Asn Arg Gly Met Thr Ala  
690 695 700

Leu Leu Lys Val Ser Ser Cys Asp Lys Asn Thr Gly Asp Tyr Tyr Glu  
705 710 715 720

Asp Ser Tyr Glu Asp Ile Ser Ala Tyr Leu Leu Ser Lys Asn Asn Ala  
725 730 735

Ile Glu Pro Arg Ser Phe Ser Gln Asn Ser Arg His Pro Ser Thr Arg  
740 745 750

Gln Lys Gln Phe Asn Ala Thr Thr Ile Pro Glu Asn Asp Ile Glu Lys  
755 760 765

Thr Asp Pro Trp Phe Ala His Arg Thr Pro Met Pro Lys Ile Gln Asn  
770 775 780

Val Ser Ser Ser Asp Leu Leu Met Leu Leu Arg Gln Ser Pro Thr Pro  
785 790 795 800

His Gly Leu Ser Leu Ser Asp Leu Gln Glu Ala Lys Tyr Glu Thr Phe  
805 810 815

Ser Asp Asp Pro Ser Pro Gly Ala Ile Asp Ser Asn Asn Ser Leu Ser  
820 825 830

Glu Met Thr His Phe Arg Pro Gln Leu His His Ser Gly Asp Met Val  
835 840 845

## DE 601 15 613 T2 2006.08.24

Phe Thr Pro Glu Ser Gly Leu Gln Leu Arg Leu Asn Glu Lys Leu Gly  
 850 855 860

Thr Thr Ala Ala Thr Glu Leu Lys Lys Leu Asp Phe Lys Val Ser Ser  
 865 870 875 880

Thr Ser Asn Asn Leu Ile Ser Thr Ile Pro Ser Asp Asn Leu Ala Ala  
 885 890 895

Gly Thr Asp Asn Thr Ser Ser Leu Gly Pro Pro Ser Met Pro Val His  
 900 905 910

Tyr Asp Ser Gln Leu Asp Thr Thr Leu Phe Gly Lys Lys Ser Ser Pro  
 915 920 925

Leu Thr Glu Ser Gly Gly Pro Leu Ser Leu Ser Glu Glu Asn Asn Asp  
 930 935 940

Ser Lys Leu Leu Glu Ser Gly Leu Met Asn Ser Gln Glu Ser Ser Trp  
 945 950 955 960

Gly Lys Asn Val Ser Ser Thr Glu Ser Gly Arg Leu Phe Lys Gly Lys  
 965 970 975

Arg Ala His Gly Pro Ala Leu Leu Thr Lys Asp Asn Ala Leu Phe Lys  
 980 985 990

Val Ser Ile Ser Leu Leu Lys Thr Asn Lys Thr Ser Asn Asn Ser Ala  
 995 1000 1005

Thr Asn Arg Lys Thr His Ile Asp Gly Pro Ser Leu Leu Ile Glu Asn  
 1010 1015 1020

Ser Pro Ser Val Trp Gln Asn Ile Leu Glu Ser Asp Thr Glu Phe Lys  
 1025 1030 1035 1040

Lys Val Thr Pro Leu Ile His Asp Arg Met Leu Met Asp Lys Asn Ala  
 1045 1050 1055

Thr Ala Leu Arg Leu Asn His Met Ser Asn Lys Thr Thr Ser Ser Lys  
 1060 1065 1070

Asn Met Glu Met Val Gln Gln Lys Lys Glu Gly Pro Ile Pro Pro Asp  
 1075 1080 1085

Ala Gln Asn Pro Asp Met Ser Phe Phe Lys Met Leu Phe Leu Pro Glu  
 1090 1095 1100

Ser Ala Arg Trp Ile Gln Arg Thr His Gly Lys Asn Ser Leu Asn Ser  
 1095 1110 1115 1120

Gly Gln Gly Pro Ser Pro Lys Gln Leu Val Ser Leu Gly Pro Glu Lys  
 1125 1130 1135

Ser Val Glu Gly Gln Asn Phe Leu Ser Glu Lys Asn Lys Val Val Val  
 1140 1145 1150

Gly Lys Gly Glu Phe Thr Lys Asp Val Gly Leu Lys Glu Met Val Phe  
 1155 1160 1165

Pro Ser Ser Arg Asn Leu Phe Leu Thr Asn Leu Asp Asn Leu His Glu  
 1170 1175 1180

Asn Asn Thr His Asn Gln Glu Lys Lys Ile Gln Glu Glu Ile Glu Lys  
 185 1190 1195 1200

Lys Glu Thr Leu Ile Gln Glu Asn Val Val Leu Pro Gln Ile His Thr  
 1205 1210 1215

Val Thr Gly Thr Lys Asn Phe Met Lys Asn Leu Phe Leu Leu Ser Thr  
 1220 1225 1230

Arg Gln Asn Val Glu Gly Ser Tyr Glu Gly Ala Tyr Ala Pro Val Leu  
 1235 1240 1245

Gln Asp Phe Arg Ser Leu Asn Asp Ser Thr Asn Arg Thr Lys Lys His  
 1250 1255 1260

Thr Ala His Phe Ser Lys Lys Gly Glu Glu Asn Leu Glu Gly Leu  
 265 1270 1275 1280

Gly Asn Gln Thr Lys Gln Ile Val Glu Lys Tyr Ala Cys Thr Thr Arg  
 1285 1290 1295

Ile Ser Pro Asn Thr Ser Gln Gln Asn Phe Val Thr Gln Arg Ser Lys  
 1300 1305 1310

Arg Ala Leu Lys Gln Phe Arg Leu Pro Leu Glu Glu Thr Glu Leu Glu  
 1315 1320 1325

Lys Arg Ile Ile Val Asp Asp Thr Ser Thr Gln Trp Ser Lys Asn Met  
 1330 1335 1340

Lys His Leu Thr Pro Ser Thr Leu Thr Gln Ile Asp Tyr Asn Glu Lys  
 345 1350 1355 1360

Glu Lys Gly Ala Ile Thr Gln Ser Pro Leu Ser Asp Cys Leu Thr Arg  
 1365 1370 1375

## DE 601 15 613 T2 2006.08.24

Ser His Ser Ile Pro Gln Ala Asn Arg Ser Pro Leu Pro Ile Ala Lys  
 1380 1385 1390

Val Ser Ser Phe Pro Ser Ile Arg Pro Ile Tyr Leu Thr Arg Val Leu  
 1395 1400 1405

Phe Gln Asp Asn Ser Ser His Leu Pro Ala Ala Ser Tyr Arg Lys Lys  
 1410 1415 1420

Asp Ser Gly Val Gln Glu Ser Ser His Phe Leu Gln Gly Ala Lys Lys  
 425 1430 1435 1440

Asn Asn Leu Ser Leu Ala Ile Leu Thr Leu Glu Met Thr Gly Asp Gln  
 1445 1450 1455

Arg Glu Val Gly Ser Leu Gly Thr Ser Ala Thr Asn Ser Val Thr Tyr  
 1460 1465 1470

Lys Lys Val Glu Asn Thr Val Leu Pro Lys Pro Asp Leu Pro Lys Thr  
 1475 1480 1485

Ser Gly Lys Val Glu Leu Leu Pro Lys Val His Ile Tyr Gln Lys Asp  
 1490 1495 1500

Leu Phe Pro Thr Glu Thr Ser Asn Gly Ser Pro Gly His Leu Asp Leu  
 505 1510 1515 1520

Val Glu Gly Ser Leu Leu Gln Gly Thr Glu Gly Ala Ile Lys Trp Asn  
 1525 1530 1535

Glu Ala Asn Arg Pro Gly Lys Val Pro Phe Leu Arg Val Ala Thr Glu  
 1540 1545 1550

Ser Ser Ala Lys Thr Pro Ser Lys Leu Leu Asp Pro Leu Ala Trp Asp  
 1555 1560 1565

Asn His Tyr Gly Thr Gln Ile Pro Lys Glu Glu Trp Lys Ser Gln Glu  
 1570 1575 1580

Lys Ser Pro Glu Lys Thr Ala Phe Lys Lys Asp Thr Ile Leu Ser  
 585 1590 1595 1600

Leu Asn Ala Cys Glu Ser Asn His Ala Ile Ala Ala Ile Asn Glu Gly  
 1605 1610 1615

Gln Asn Lys Pro Glu Ile Glu Val Thr Trp Ala Lys Gln Gly Arg Thr  
 1620 1625 1630

Glu Arg Leu Cys Ser Gln Asn Pro Pro Val Leu Lys Arg His Gln Arg  
 1635 1640 1645

Glu Ile Thr Arg Thr Thr Leu Gln Ser Asp Gln Glu Glu Ile Asp Tyr  
 1650 1655 1660

Asp Asp Thr Ile Ser Val Glu Met Lys Lys Glu Asp Phe Asp Ile Tyr  
 665 1670 1675 1680

Asp Glu Asp Glu Asn Gln Ser Pro Arg Ser Phe Gln Lys Lys Thr Arg  
 1685 1690 1695

His Tyr Phe Ile Ala Ala Val Glu Arg Leu Trp Asp Tyr Gly Met Ser  
 1700 1705 1710

Ser Ser Pro His Val Leu Arg Asn Arg Ala Gln Ser Gly Ser Val Pro  
 1715 1720 1725

Gln Phe Lys Lys Val Val Phe Gln Glu Phe Thr Asp Gly Ser Phe Thr  
 1730 1735 1740

Gln Pro Leu Tyr Arg Gly Glu Leu Asn Glu His Leu Gly Leu Leu Gly  
 745 1750 1755 1760

Pro Tyr Ile Arg Ala Glu Val Glu Asp Asn Ile Met Val Thr Phe Arg  
 1765 1770 1775

Asn Gln Ala Ser Arg Pro Tyr Ser Phe Tyr Ser Ser Leu Ile Ser Tyr  
 1780 1785 1790

Glu Glu Asp Gln Arg Gln Gly Ala Glu Pro Arg Lys Asn Phe Val Lys  
 1795 1800 1805

Pro Asn Glu Thr Lys Thr Tyr Phe Trp Lys Val Gln His His Met Ala  
 1810 1815 1820

Pro Thr Lys Asp Glu Phe Asp Cys Lys Ala Trp Ala Tyr Phe Ser Asp  
 825 1830 1835 1840

Val Asp Leu Glu Lys Asp Val His Ser Gly Leu Ile Gly Pro Leu Leu  
 1845 1850 1855

Val Cys His Thr Asn Thr Leu Asn Pro Ala His Gly Arg Gln Val Thr  
 1860 1865 1870

Val Gln Glu Phe Ala Leu Phe Phe Thr Ile Phe Asp Glu Thr Lys Ser  
 1875 1880 1885

Trp Tyr Phe Thr Glu Asn Met Glu Arg Asn Cys Arg Ala Pro Cys Asn  
 1890 1895 1900

## DE 601 15 613 T2 2006.08.24

Ile Gln Met Glu Asp Pro Thr Phe Lys Glu Asn Tyr Arg Phe His Ala  
 905 1910 1915 1920

Ile Asn Gly Tyr Ile Met Asp Thr Leu Pro Gly Leu Val Met Ala Gln  
 1925 1930 1935

Asp Gln Arg Ile Arg Trp Tyr Leu Leu Ser Met Gly Ser Asn Glu Asn  
 1940 1945 1950

Ile His Ser Ile His Phe Ser Gly His Val Phe Thr Val Arg Lys Lys  
 1955 1960 1965

Glu Glu Tyr Lys Met Ala Leu Tyr Asn Leu Tyr Pro Gly Val Phe Glu  
 1970 1975 1980

Thr Val Glu Met Leu Pro Ser Lys Ala Gly Ile Trp Arg Val Glu Cys  
 985 1990 1995 2000

Leu Ile Gly Glu His Leu His Ala Gly Met Ser Thr Leu Phe Leu Val  
 2005 2010 2015

Tyr Ser Asn Lys Cys Gln Thr Pro Leu Gly Met Ala Ser Gly His Ile  
 2020 2025 2030

Arg Asp Phe Gln Ile Thr Ala Ser Gly Gln Tyr Gly Gln Trp Ala Pro  
 2035 2040 2045

Lys Leu Ala Arg Leu His Tyr Ser Gly Ser Ile Asn Ala Trp Ser Thr  
 2050 2055 2060

Lys Glu Pro Phe Ser Trp Ile Lys Val Asp Leu Leu Ala Pro Met Ile  
 065 2070 2075 2080

Ile His Gly Ile Lys Thr Gln Gly Ala Arg Gln Lys Phe Ser Ser Leu  
 2085 2090 2095

Tyr Ile Ser Gln Phe Ile Ile Met Tyr Ser Leu Asp Gly Lys Lys Trp  
 2100 2105 2110

Gln Thr Tyr Arg Gly Asn Ser Thr Gly Thr Leu Met Val Phe Phe Gly  
 2115 2120 2125

Asn Val Asp Ser Ser Gly Ile Lys His Asn Ile Phe Asn Pro Pro Ile  
 2130 2135 2140

Ile Ala Arg Tyr Ile Arg Leu His Pro Thr His Tyr Ser Ile Arg Ser  
 145 2150 2155 2160

Thr Leu Arg Met Glu Leu Met Gly Cys Asp Leu Asn Ser Cys Ser Met  
 2165 2170 2175

DE 601 15 613 T2 2006.08.24

Pro Leu Gly Met Glu Ser Lys Ala Ile Ser Asp Ala Gln Ile Thr Ala  
2180 2185 2190

Ser Ser Tyr Phe Thr Asn Met Phe Ala Thr Trp Ser Pro Ser Lys Ala  
2195 2200 2205

Arg Leu His Leu Gln Gly Arg Ser Asn Ala Trp Arg Pro Gln Val Asn  
2210 2215 2220

Asn Pro Lys Glu Trp Leu Gln Val Asp Phe Gln Lys Thr Met Lys Val  
2225 2230 2235 2240

Thr Gly Val Thr Thr Gln Gly Val Lys Ser Leu Leu Thr Ser Met Tyr  
2245 2250 2255

Val Lys Glu Phe Leu Ile Ser Ser Gln Asp Gly His Gln Trp Thr  
2260 2265 2270

Leu Phe Phe Gln Asn Gly Lys Val Lys Val Phe Gln Gly Asn Gln Asp  
2275 2280 2285

Ser Phe Thr Pro Val Val Asn Ser Leu Asp Pro Pro Leu Leu Thr Arg  
2290 2295 2300

Tyr Leu Arg Ile His Pro Gln Ser Trp Val His Gln Ile Ala Leu Arg  
305 2310 2315 2320

Met Glu Val Leu Gly Cys Glu Ala Gln Asp Leu Tyr  
2325 2330

<210> 3  
<211> 8720  
<212> DNA  
<213> künstliche Sequenz

<220>  
<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: pTGF8-1

<220>  
<221> CDS  
<222> (676)..(5052)

<220>  
<221> mat-Peptid  
<222> (733)..(5052)

## DE 601 15 613 T2 2006.08.24

<400> 3  
 cgcgttgaca ttgattattg actagttatt aatagtaatc aattacgggg tcattagttc 60  
 atagcccata tatggagttc cgcgttacat aacttacggt aaatggcccg cctggctgac 120  
 cgcggcaacga ccccgccca ttgacgtcaa taatgacgta tggccata gtaacgcca 180  
 tagggacttt ccattgacgt caatgggtgg agtatttacg gtaaaactgcc cacttggcag 240  
 tacatcaagt gtatcatatg ccaagtacgc cccctattga cgtcaatgac ggtaaatggc 300  
 ccgcctggca ttatgcccag tacatgaccc tatggactt tcctacttgg cagtagatct 360  
 acgtatttagt catcgctatt accatggtga tgcggtttg gcagtagatc aatggcggt 420  
 gatagcggtt tgactcacgg ggatttccaa gtctccaccc cattgacgac aatggagtt 480  
 tgtttggca ccaaaatcaa cgggactttc caaaatgtcg taacaactcc gccccattga 540  
 cgcaaatggg cggtaggcgt gtacgggtgg aggtctata aagcagagct ctctggctaa 600  
 ctagagaacc cactgcttac tggcttatcg aaattaatac gactcactat agggagaccc 660  
 aagcttgacc tcgag atg caa ata gag ctc tcc acc tgc ttc ttt ctg tgc 711  
 Met Gln Ile Glu Leu Ser Thr Cys Phe Phe Leu Cys  
 -15 -10  
 ctt ttg cga ttc tgc ttt agt gcc acc aga aga tac tac ctg ggt gca 759  
 Leu Leu Arg Phe Cys Phe Ser Ala Thr Arg Arg Tyr Tyr Leu Gly Ala  
 -5 -1 1 5  
 gtg gaa ctg tca tgg gac tat atg caa agt gat ctc ggt gag ctg cct 807  
 Val Glu Leu Ser Trp Asp Tyr Met Gln Ser Asp Leu Gly Glu Leu Pro  
 10 15 20 25  
 gtg gac gca aga ttt cct cct aga gtg cca aaa tct ttt cca ttc aac 855  
 Val Asp Ala Arg Phe Pro Pro Arg Val Pro Lys Ser Phe Pro Phe Asn  
 30 35 40  
 acc tca gtc gtg tac aaa aag act ctg ttt gta gaa ttc acg gat cac 903  
 Thr Ser Val Val Tyr Lys Lys Thr Leu Phe Val Glu Phe Thr Asp His  
 45 50 55  
 ctt ttc aac atc gct aag cca agg cca ccc tgg atg ggt ctg cta ggt 951  
 Leu Phe Asn Ile Ala Lys Pro Arg Pro Pro Trp Met Gly Leu Leu Gly  
 60 65 70  
 cct acc atc cag gct gag gtt tat gat aca gtg gtc att aca ctt aag 999  
 Pro Thr Ile Gln Ala Glu Val Tyr Asp Thr Val Val Ile Thr Leu Lys  
 75 80 85

## DE 601 15 613 T2 2006.08.24

aac atg gct tcc cat cct gtc agt ctt cat gct gtt ggt gta tcc tac			1047
Asn Met Ala Ser His Pro Val Ser Leu His Ala Val Gly Val Ser Tyr			
90	95	100	105
tgg aaa gct tct gag gga gct gaa tat gat gat cag acc agt caa agg			1095
Trp Lys Ala Ser Glu Gly Ala Glu Tyr Asp Asp Gln Thr Ser Gln Arg			
110	115	120	
gag aaa gaa gat gat aaa gtc ttc cct ggt gga agc cat aca tat gtc			1143
Glu Lys Glu Asp Asp Lys Val Phe Pro Gly Gly Ser His Thr Tyr Val			
125	130	135	
tgg cag gtc ctg aaa gag aat ggt cca atg gcc tct gac cca ctg tgc			1191
Trp Gln Val Leu Lys Glu Asn Gly Pro Met Ala Ser Asp Pro Leu Cys			
140	145	150	
ctt acc tac tca tat ctt tct cat gcg gac ctg gta aaa gac ttg aat			1239
Leu Thr Tyr Ser Tyr Leu Ser His Ala Asp Leu Val Lys Asp Leu Asn			
155	160	165	
tca ggc ctc att gga gcc cta cta gta tgt aga gaa ggg agt ctg gcc			1287
Ser Gly Leu Ile Gly Ala Leu Leu Val Cys Arg Glu Gly Ser Leu Ala			
170	175	180	185
aag gaa aag aca cag acc ttg cac aaa ttt ata cta ctt ttt gct gta			1335
Lys Glu Lys Thr Gln Thr Leu His Lys Phe Ile Leu Leu Phe Ala Val			
190	195	200	
ttt gat gaa ggg aaa agt tgg cac tca gaa aca aag aac tcc ttg atg			1383
Phe Asp Glu Gly Lys Ser Trp His Ser Glu Thr Lys Asn Ser Leu Met			
205	210	215	
cag gat agg gat gct gca tct gct cgg gcc tgg cct aaa atg cac aca			1431
Gln Asp Arg Asp Ala Ala Ser Ala Arg Ala Trp Pro Lys Met His Thr			
220	225	230	
gtc aat ggt tat gta aac agg tct ctg cca ggt ctg att gga tgc cac			1479
Val Asn Gly Tyr Val Asn Arg Ser Leu Pro Gly Leu Ile Gly Cys His			
235	240	245	
agg aaa tca gtc tat tgg cat gtg att gga atg ggc acc act cct gaa			1527
Arg Lys Ser Val Tyr Trp His Val Ile Gly Met Gly Thr Thr Pro Glu			
250	255	260	265
gtg cac tca ata ttc ctc gaa ggt cac aca ttt ctt gtg agg aac cat			1575
Val His Ser Ile Phe Leu Glu Gly His Thr Phe Leu Val Arg Asn His			
270	275	280	

## DE 601 15 613 T2 2006.08.24

cgc cag gcg tcc ttg gaa atc tcg cca ata act ttc ctt act gct caa	1623
Arg Gln Ala Ser Leu Glu Ile Ser Pro Ile Thr Phe Leu Thr Ala Gln	
285 290 295	
aca ctc ttg atg gac ctt gga cag ttt cta ctg ttt tgt cat atc tct	1671
Thr Leu Leu Met Asp Leu Gly Gln Phe Leu Leu Phe Cys His Ile Ser	
300 305 310	
tcc cac caa cat gat ggc atg gaa gct tat gtc aaa gta gac agc tgt	1719
Ser His Gln His Asp Gly Met Glu Ala Tyr Val Lys Val Asp Ser Cys	
315 320 325	
cca gag gaa ccc caa cta cga atg aaa aat aat gaa gaa gcg gaa gac	1767
Pro Glu Glu Pro Gln Leu Arg Met Lys Asn Asn Glu Glu Ala Glu Asp	
330 335 340 345	
tat gat gat gat ctt act gat tct gaa atg gat gtg gtc agg ttt gat	1815
Tyr Asp Asp Asp Leu Thr Asp Ser Glu Met Asp Val Val Arg Phe Asp	
350 355 360	
gat gac aac tct cct tcc ttt atc caa att cgc tca gtt gcc aag aag	1863
Asp Asp Asn Ser Pro Ser Phe Ile Gln Ile Arg Ser Val Ala Lys Lys	
365 370 375	
cat cct aaa act tgg gta cat tac att gct gct gaa gag gag gac tgg	1911
His Pro Lys Thr Trp Val His Tyr Ile Ala Ala Glu Glu Asp Trp	
380 385 390	
gac tat gct ccc tta gtc ctc gcc ccc gat gac aga agt tat aaa agt	1959
Asp Tyr Ala Pro Leu Val Leu Ala Pro Asp Asp Arg Ser Tyr Lys Ser	
395 400 405	
caa tat ttg aac aat ggc cct cag cgg att ggt agg aag tac aaa aaa	2007
Gln Tyr Leu Asn Asn Gly Pro Gln Arg Ile Gly Arg Lys Tyr Lys Lys	
410 415 420 425	
gtc cga ttt atg gca tac aca gat gaa acc ttt aag act cgt gaa gct	2055
Val Arg Phe Met Ala Tyr Thr Asp Glu Thr Phe Lys Thr Arg Glu Ala	
430 435 440	
att cag cat gaa tca gga atc ttg gga cct tta ctt tat ggg gaa gtt	2103
Ile Gln His Glu Ser Gly Ile Leu Gly Pro Leu Leu Tyr Gly Glu Val	
445 450 455	
gga gac aca ctg ttg att ata ttt aag aat caa gca agc aga cca tat	2151
Gly Asp Thr Leu Leu Ile Ile Phe Lys Asn Gln Ala Ser Arg Pro Tyr	
460 465 470	

## DE 601 15 613 T2 2006.08.24

aac atc tac cct cac gga atc act gat gtc cgt cct ttg tat tca agg	2199
Asn Ile Tyr Pro His Gly Ile Thr Asp Val Arg Pro Leu Tyr Ser Arg	
475 480 485	
aga tta cca aaa ggt gta aaa cat ttg aag gat ttt cca att ctg cca	2247
Arg Leu Pro Lys Gly Val Lys His Leu Lys Asp Phe Pro Ile Leu Pro	
490 495 500 505	
gga gaa ata ttc aaa tat aaa tgg aca gtg act gta gaa gat ggg cca	2295
Gly Glu Ile Phe Lys Tyr Lys Trp Thr Val Thr Val Glu Asp Gly Pro	
510 515 520	
act aaa tca gat cct cgg tgc ctg acc cgc tat tac tct agt ttc gtt	2343
Thr Lys Ser Asp Pro Arg Cys Leu Thr Arg Tyr Tyr Ser Ser Phe Val	
525 530 535	
aat atg gag aga gat cta gct tca gga ctc att ggc cct ctc ctc atc	2391
Asn Met Glu Arg Asp Leu Ala Ser Gly Leu Ile Gly Pro Leu Leu Ile	
540 545 550	
tgc tac aaa gaa tct gta gat caa aga gga aac cag ata atg tca gac	2439
Cys Tyr Lys Glu Ser Val Asp Gln Arg Gly Asn Gln Ile Met Ser Asp	
555 560 565	
aag agg aat gtc atc ctg ttt tct gta ttt gat gag aac cga agc tgg	2487
Lys Arg Asn Val Ile Leu Phe Ser Val Phe Asp Glu Asn Arg Ser Trp	
570 575 580 585	
tac ctc aca gag aat ata caa cgc ttt ctc ccc aat cca gct gga gtg	2535
Tyr Leu Thr Glu Asn Ile Gln Arg Phe Leu Pro Asn Pro Ala Gly Val	
590 595 600	
cag ctt gag gat cca gag ttc caa gcc tcc aac atc atg cac agc atc	2583
Gln Leu Glu Asp Pro Glu Phe Gln Ala Ser Asn Ile Met His Ser Ile	
605 610 615	
aat ggc tat gtt ttt gat agt ttg cag ttg tca gtt tgt ttg cat gag	2631
Asn Gly Tyr Val Phe Asp Ser Leu Gln Leu Ser Val Cys Leu His Glu	
620 625 630	
gtg gca tac tgg tac att cta agc att gga gca cag act gac ttc ctt	2679
Val Ala Tyr Trp Tyr Ile Leu Ser Ile Gly Ala Gln Thr Asp Phe Leu	
635 640 645	
tct gtc ttc ttc tct gga tat acc ttc aaa cac aaa atg gtc tat gaa	2727
Ser Val Phe Phe Ser Gly Tyr Thr Phe Lys His Lys Met Val Tyr Glu	
650 655 660 665	

## DE 601 15 613 T2 2006.08.24

gac aca ctc acc cta ttc cca ttc tca gga gaa act gtc ttc atg tcg	670	675	680	2775
Asp Thr Leu Thr Leu Phe Pro Phe Ser Gly Glu Thr Val Phe Met Ser				
atg gaa aac cca ggt cta tgg att ctg ggg tgc cac aac tca gac ttt	685	690	695	2823
Met Glu Asn Pro Gly Leu Trp Ile Leu Gly Cys His Asn Ser Asp Phe				
cgg aac aga ggc atg acc gcc tta ctg aag gtt tct agt tgt gac aag	700	705	710	2871
Arg Asn Arg Gly Met Thr Ala Leu Leu Lys Val Ser Ser Cys Asp Lys				
aac act ggt gat tat tac gag gac agt tat gaa gat att tca gca tac	715	720	725	2919
Asn Thr Gly Asp Tyr Tyr Glu Asp Ser Tyr Glu Asp Ile Ser Ala Tyr				
ttg ctg agt aaa aac aat gcc att gaa cca aga agc ttc tcc cag aat	730	735	740	2967
Leu Leu Ser Lys Asn Asn Ala Ile Glu Pro Arg Ser Phe Ser Gln Asn				
tca aga cat caa gct tat cga tac cgt cga ggg gaa ata act cgt act	750	755	760	3015
Ser Arg His Gln Ala Tyr Arg Tyr Arg Arg Gly Glu Ile Thr Arg Thr				
act ctt cag tca gat caa gag gaa att gac tat gat gat acc ata tca	765	770	775	3063
Thr Leu Gln Ser Asp Gln Glu Glu Ile Asp Tyr Asp Asp Thr Ile Ser				
gtt gaa atg aag aag gaa gat ttt gac att tat gat gag gat gaa aat	780	785	790	3111
Val Glu Met Lys Lys Glu Asp Phe Asp Ile Tyr Asp Glu Asp Glu Asn				
cag agc ccc cgc agc ttt caa aag aaa aca cga cac tat ttt att gct	795	800	805	3159
Gln Ser Pro Arg Ser Phe Gln Lys Lys Thr Arg His Tyr Phe Ile Ala				
gca gtg gag agg ctc tgg gat tat ggg atg agt agc tcc cca cat gtt	810	815	820	3207
Ala Val Glu Arg Leu Trp Asp Tyr Gly Met Ser Ser Pro His Val				
cta aga aac agg gct cag agt ggc agt gtc cct cag ttc aag aaa gtt	830	835	840	3255
Leu Arg Asn Arg Ala Gln Ser Gly Ser Val Pro Gln Phe Lys Lys Val				
gtt ttc cag gaa ttt act gat ggc tcc ttt act cag ccc tta tac cgt	845	850	855	3303
Val Phe Gln Glu Phe Thr Asp Gly Ser Phe Thr Gln Pro Leu Tyr Arg				

## DE 601 15 613 T2 2006.08.24

gga gaa cta aat gaa cat ttg gga ctc ctg ggg cca tat ata aga gca Gly Glu Leu Asn Glu His Leu Gly Leu Leu Gly Pro Tyr Ile Arg Ala	860	865	870	3351	
gaa gtt gaa gat aat atc atg gta act ttc aga aat cag gcc tct cgt Glu Val Glu Asp Asn Ile Met Val Thr Phe Arg Asn Gln Ala Ser Arg	875	880	885	3399	
ccc tat tcc ttc tat tct agc ctt att tct tat gag gaa gat cag agg Pro Tyr Ser Phe Tyr Ser Ser Leu Ile Ser Tyr Glu Glu Asp Gln Arg	890	895	900	905	3447
caa gga gca gaa cct aga aaa aac ttt gtc aag cct aat gaa acc aaa Gln Gly Ala Glu Pro Arg Lys Asn Phe Val Lys Pro Asn Glu Thr Lys	910	915	920	3495	
act tac ttt tgg aaa gtg caa cat cat atg gca ccc act aaa gat gag Thr Tyr Phe Trp Lys Val Gln His His Met Ala Pro Thr Lys Asp Glu	925	930	935	3543	
ttt gac tgc aaa gcc tgg gct tat ttc tct gat gtt gac ctg gaa aaa Phe Asp Cys Lys Ala Trp Ala Tyr Phe Ser Asp Val Asp Leu Glu Lys	940	945	950	3591	
gat gtg cac tca ggc ctg att gga ccc ctt ctg gtc tgc cac act aac Asp Val His Ser Gly Leu Ile Gly Pro Leu Leu Val Cys His Thr Asn	955	960	965	3639	
aca ctg aac cct gct cat ggg aga caa gtg aca gta cag gaa ttt gct Thr Leu Asn Pro Ala His Gly Arg Gln Val Thr Val Gln Glu Phe Ala	970	975	980	985	3687
ctg ttt ttc acc atc ttt gat gag acc aaa agc tgg tac ttc act gaa Leu Phe Phe Thr Ile Phe Asp Glu Thr Lys Ser Trp Tyr Phe Thr Glu	990	995	1000	3735	
aat atg gaa aga aac tgc agg gct ccc tgc aat atc cag atg gaa gat Asn Met Glu Arg Asn Cys Arg Ala Pro Cys Asn Ile Gln Met Glu Asp	1005	1010	1015	3783	
ccc act ttt aaa gag aat tat cgc ttc cat gca atc aat ggc tac ata Pro Thr Phe Lys Glu Asn Tyr Arg Phe His Ala Ile Asn Gly Tyr Ile	1020	1025	1030	3831	
atg gat aca cta cct ggc tta gta atg gct cag gat caa agg att cga Met Asp Thr Leu Pro Gly Leu Val Met Ala Gln Asp Gln Arg Ile Arg	1035	1040	1045	3879	

## DE 601 15 613 T2 2006.08.24

tgg tat ctg ctc agc atg ggc agc aat gaa aac atc cat tct att cat Trp Tyr Leu Leu Ser Met Gly Ser Asn Glu Asn Ile His Ser Ile His 1050 1055 1060 1065	3927
ttc agt gga cat gtg ttc act gta cga aaa aaa gag gag tat aaa atg Phe Ser Gly His Val Phe Thr Val Arg Lys Lys Glu Glu Tyr Lys Met 1070 1075 1080	3975
gca ctg tac aat ctc tat cca ggt gtt ttt gag aca gtg gaa atg tta Ala Leu Tyr Asn Leu Tyr Pro Gly Val Phe Glu Thr Val Glu Met Leu 1085 1090 1095	4023
cca tcc aaa gct gga att tgg cgg gtg gaa tgc ctt att ggc gag cat Pro Ser Lys Ala Gly Ile Trp Arg Val Glu Cys Leu Ile Gly Glu His 1100 1105 1110	4071
cta cat gct ggg atg aac aca ctt ttt ctg gtg tac agc aat aag tgt Leu His Ala Gly Met Asn Thr Leu Phe Leu Val Tyr Ser Asn Lys Cys 1115 1120 1125	4119
cag act ccc ctg gga atg gct tct gga cac att aga gat ttt cag att Gln Thr Pro Leu Gly Met Ala Ser Gly His Ile Arg Asp Phe Gln Ile 1130 1135 1140 1145	4167
aca gct tca gga caa tat gga cag tgg gcc cca aag ctg gcc aga ctt Thr Ala Ser Gly Gln Tyr Gly Gln Trp Ala Pro Lys Leu Ala Arg Leu 1150 1155 1160	4215
cat tat tcc gga tca atc aat gcc tgg agc acc aag gag ccc ttt tct His Tyr Ser Gly Ser Ile Asn Ala Trp Ser Thr Lys Glu Pro Phe Ser 1165 1170 1175	4263
tgg atc aag gtg gat ctg ttg gca cca atg att att cac ggc atc aag Trp Ile Lys Val Asp Leu Leu Ala Pro Met Ile Ile His Gly Ile Lys 1180 1185 1190	4311
acc cag ggt gcc cgt cag aag ttc tcc agc ctc tac atc tct cag ttt Thr Gln Gly Ala Arg Gln Lys Phe Ser Ser Leu Tyr Ile Ser Gln Phe 1195 1200 1205	4359
atc atc atg tat agt ctt gat ggg aag aag tgg cag act tat cga gga Ile Ile Met Tyr Ser Leu Asp Gly Lys Lys Trp Gln Thr Tyr Arg Gly 1210 1215 1220 1225	4407
aat tcc act gga acc tta atg gtc ttc ttt ggc aat gtg gat tca tct Asn Ser Thr Gly Thr Leu Met Val Phe Phe Gly Asn Val Asp Ser Ser 1230 1235 1240	4455

## DE 601 15 613 T2 2006.08.24

ggg ata aaa cac aat att ttt aac cct cca att att gct cga tac atc			4503
Gly Ile Lys His Asn Ile Phe Asn Pro Pro Ile Ile Ala Arg Tyr Ile			
1245	1250	1255	
cgt ttg cac cca act cat tat agc att cgc agc act ctt cgc atg gag			4551
Arg Leu His Pro Thr His Tyr Ser Ile Arg Ser Thr Leu Arg Met Glu			
1260	1265	1270	
ttg atg ggc tgt gat tta aat agt tgc agc atg cca ttg gga atg gag			4599
Leu Met Gly Cys Asp Leu Asn Ser Cys Ser Met Pro Leu Gly Met Glu			
1275	1280	1285	
agt aaa gca ata tca gat gca cag att act gct tca tcc tac ttt acc			4647
Ser Lys Ala Ile Ser Asp Ala Gln Ile Thr Ala Ser Ser Tyr Phe Thr			
1290	1295	1300	1305
aat atg ttt gcc acc tgg tct cct tca aaa gct cga ctt cac ctc caa			4695
Asn Met Phe Ala Thr Trp Ser Pro Ser Lys Ala Arg Leu His Leu Gln			
1310	1315	1320	
ggg agg agt aat gcc tgg aga cct cag gag aat aat cca aaa gag tgg			4743
Gly Arg Ser Asn Ala Trp Arg Pro Gln Glu Asn Asn Pro Lys Glu Trp			
1325	1330	1335	
ctg caa gtg gac ttc cag aag aca atg aaa gtc aca gga gta act act			4791
Leu Gln Val Asp Phe Gln Lys Thr Met Lys Val Thr Gly Val Thr Thr			
1340	1345	1350	
cag gga gta aaa tct ctg ctt acc agc atg tat gtg aag gag ttc ctc			4839
Gln Gly Val Lys Ser Leu Leu Thr Ser Met Tyr Val Lys Glu Phe Leu			
1355	1360	1365	
atc tcc agc agt caa gat ggc cat cag tgg acc ctc ttt ttt cag aat			4887
Ile Ser Ser Ser Gln Asp Gly His Gln Trp Thr Leu Phe Phe Gln Asn			
1370	1375	1380	1385
ggc aaa gta aag gtt ttt cag gga aat caa gac tcc ttc aca cct gtg			4935
Gly Lys Val Lys Val Phe Gln Gly Asn Gln Asp Ser Phe Thr Pro Val			
1390	1395	1400	
gtg aac tct cta gac cca ccg tta ctg act cgc tac ctt cga att cac			4983
Val Asn Ser Leu Asp Pro Pro Leu Leu Thr Arg Tyr Leu Arg Ile His			
1405	1410	1415	
ccc cag agt tgg gtg cac cag att gcc ctg agg atg gag gtt ctg ggc			5031
Pro Gln Ser Trp Val His Gln Ile Ala Leu Arg Met Glu Val Leu Gly			
1420	1425	1430	

tgc gag gca cag gac ctc tac tgagcggccg cgactctact agaggatctt 5082  
 Cys Glu Ala Gln Asp Leu Tyr  
 1435 1440

tgtgaaggaa ccttacttct gtgggtgtac ataattggac aaactaccta cagagattta 5142  
 aagctctaag gttaaatataa aatttttaag tgtataatgt gttaaactac tgattcta 5202  
 ttttgtgtta ttttagattc caacctatgg aactgatgaa tgggagcagt ggtggaatgc 5262  
 cttaatgag gaaaacctgt tttgctcaga agaaatgcc 5322  
 tgctgactct caacattcta ctcctccaaa aaagaagaga aaggtagaag accccaagga 5382  
 ctttccttca gaattgctaa gtttttgag tcatgctgtg ttttagtaata gaactcttgc 5442  
 ttgccttgct atttacacca caaaggaaaa agctgcactg ctatacaaga aaattatgga 5502  
 aaaatattct gtaaccttta taagtaggca taacagttt aatcataaca tactgtttt 5562  
 tcttactcca cacaggcata gagtgtctgc tattaataac tatgctcaa 5622  
 cttagcttt ttaatttgta aagggtttaa taaggaatat ttgatgtata gtgccttgac 5682  
 tagagatcat aatcagccat accacattt 5742  
 cacacccccc cctgaacctg aaacataaaa tgaatgcaat tttgttgc 5802  
 ttgcagctta taatggttac aaataaagca atagcatcac aaatttcaca aataaagcat 5862  
 tttttcact gcattctagt tgtggttgt ccaaactcat caatgtatct tatcatgtct 5922  
 ggatccccgg gtaccctcta gagcgaatta attcactggc cgtcgttta caacgtcgtg 5982  
 actggaaaaa ccctggcg 6042  
 gctggcgtaa tagcgaagag gcccgcaccc atcgcccttc ccaacagttg cgcagcctga 6102  
 atggcgaatg gcgcctgatg cggattttc tccttacgca tctgtgcgg 6162  
 gcatatggtg cactctcagt acaatctgct ctgatgccgc atagttaa 6222  
 acccgccaaac acccgctgac ggcgcctgac gggcttgc 6282  
 gacaagctgt gaccgtctcc gggagctgca tgtgtcagag gtttcaccc 6342  
 aacgcgcgag acgaaagggg gggtaaccagc ttctgtacta gaacatcatg ttctggata 6402  
 tcagcttcgt agctagaaca tcatgttctg gtacccccc 6462  
 cgtgatacgc ctat 5582

aggttaatgt catgataata atggtttctt agacgtcagg tggcactttt cggggaaatg 6522  
 tgcgcggaac ccctatttgc ttatTTTCTT aaatacattc aaatatgtat ccgctcatga 6582  
 gacaataacc ctgataaaatg cttcaataat attgaaaaaag gaagagtatg agtattcaac 6642  
 atttccgtgt cgcccttattt ccctttttg cggcattttg ctttcctgtt tttgctcacc 6702  
 cagaaacgct ggtgaaagta aaagatgctg aagatcagg gggtgcacga gtgggttaca 6762  
 tcgaactgga tctcaacagc ggtaagatcc ttgagagtt tcgccccgaa gaacgttttc 6822  
 caatgatgag cactttaaa gttctgctat gtggcgccgt attatccgt attgacgccc 6882  
 ggcaagagca actcggtcgc cgcatacact attctcagaa tgacttggtt gagtactcac 6942  
 cagtcacaga aaagcatctt acggatggca tgacagtaag agaattatgc agtgctgcca 7002  
 taaccatgag tgataaacact gcggccaact tacttctgac aacgatcggaa ggaccgaagg 7062  
 agctaaccgc tttttgcac aacatgggg atcatgtaac tcgccttgat cggtggaaac 7122  
 cggagctgaa tgaagccata ccaaacgacg agcgtgacac cacgatgcct gtagcaatgg 7182  
 caacaacggtt ggcacaaacta ttaactggcg aactacttac tctagttcc cggcaacaat 7242  
 taatagactg gatggaggcg gataaagttg caggaccact tctgcgtcg gcccttccgg 7302  
 ctggctggtt tattgctgat aaatctggag ccggtgagcg tgggtctcgc ggtatcattg 7362  
 cagcaactggg gccagatggt aagccctccc gtatcgtagt tatctacacg acggggagtc 7422  
 aggcaactat ggatgaacga aatagacaga tcgctgagat aggtgcctca ctgattaagc 7482  
 attggtaact gtcagaccaa gtttactcat atatacttta gattgattta aaacttcatt 7542  
 tttaatttaa aaggatctag gtgaagatcc ttttgataa tctcatgacc aaaatccctt 7602  
 aacgtgagtt ttgcgttccac tgagcgtcag accccgtaga aaagatcaaa ggatcttctt 7662  
 gagatcctt tttctgcgc gtaatctgct gcttgcaaaac aaaaaaaacca ccgctaccag 7722  
 cggtggtttg tttgccggat caagagctac caactcttt tccgaaggta actggcttca 7782  
 gcagagcgca gataccaaat actgtttctt agtgttagccg tagttaggcc accacttcaa 7842  
 gaactctgta gcaccgccta catacctcgc totgctaattc ctgttaccag tggctgctgc 7902  
 cagtggcgat aagtctgtc ttaccgggtt ggactcaaga cgatagttac cgataaggc 7962

gcagcggtcg ggctgaacgg ggggttcgtg cacacagccc agcttggagc gaacgaccta 8022  
 caccgaactg agataacctac agcgtgagct atgagaaaagc gccacgcttc ccgaaggag 8082  
 aaaggcggac aggtatccgg taagcggcag ggtcggaaaca ggagagcgca cgagggagct 8142  
 tccaggggga aacgcctggt atctttagt tcctgtcggg tttcgccacc tctgacttga 8202  
 cggtcgattt ttgtgatgct cgtcaggggg gcgagccta tggaaaaacg ccagcaacgc 8262  
 ggcctttta cggttctgg cctttgctg gcctttgct cacatgttct ttcctgcgtt 8322  
 atccctgat tctgtggata accgttattac cgccttgag tgagctgata ccgctcgccg 8382  
 cagccgaacg accgagcgca gcgagtcagt gagcgaggaa gcggaagagc gccaatacg 8442  
 caaaccgcct ctccccgcgc gttggccat tcattaatgc agctggcacg acaggttcc 8502  
 cgactggaaa gcgggcagtg agcgcaacgc aattaatgtg agttagctca ctcattagc 8562  
 accccaggct ttacacttta tgcttccggc tcgtatgtt tggtggattt tgagcggata 8622  
 acaatttcac acagggaaaca gctatgacca tgattacgcc aagctctcta gagctctaga 8682  
 gctctagagc tctagagagc ttgcatgcct gcaggtcg 8720

&lt;210&gt; 4

&lt;211&gt; 1459

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; künstliche Sequenz

&lt;223&gt; Beschreibung der künstlichen Sequenz: pTGF8-1

&lt;400&gt; 4

Met	Gln	Ile	Glu	Leu	Ser	Thr	Cys	Phe	Phe	Leu	Cys	Leu	Leu	Arg	Phe

-15

-10

-5

Cys	Phe	Ser	Ala	Thr	Arg	Arg	Tyr	Tyr	Leu	Gly	Ala	Val	Glu	Leu	Ser

-1

5

10

Trp	Asp	Tyr	Met	Gln	Ser	Asp	Leu	Gly	Glu	Leu	Pro	Val	Asp	Ala	Arg

15

20

25

Phe	Pro	Pro	Arg	Val	Pro	Lys	Ser	Phe	Pro	Phe	Asn	Thr	Ser	Val	Val

30

35

40

45

Tyr	Lys	Lys	Thr	Leu	Phe	Val	Glu	Phe	Thr	Asp	His	Leu	Phe	Asn	Ile

50

55

60

DE 601 15 613 T2 2006.08.24

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

## DE 601 15 613 T2 2006.08.24

Gln Leu Arg Met Lys Asn Asn Glu Glu Ala Glu Asp Tyr Asp Asp Asp  
335 340 345

Leu Thr Asp Ser Glu Met Asp Val Val Arg Phe Asp Asp Asp Asn Ser  
350 355 360 365

Pro Ser Phe Ile Gln Ile Arg Ser Val Ala Lys Lys His Pro Lys Thr  
370 375 380

Trp Val His Tyr Ile Ala Ala Glu Glu Asp Trp Asp Tyr Ala Pro  
385 390 395

Leu Val Leu Ala Pro Asp Asp Arg Ser Tyr Lys Ser Gln Tyr Leu Asn  
400 405 410

Asn Gly Pro Gln Arg Ile Gly Arg Lys Tyr Lys Lys Val Arg Phe Met  
415 420 425

Ala Tyr Thr Asp Glu Thr Phe Lys Thr Arg Glu Ala Ile Gln His Glu  
430 435 440 445

Ser Gly Ile Leu Gly Pro Leu Leu Tyr Gly Glu Val Gly Asp Thr Leu  
450 455 460

Leu Ile Ile Phe Lys Asn Gln Ala Ser Arg Pro Tyr Asn Ile Tyr Pro  
465 470 475

His Gly Ile Thr Asp Val Arg Pro Leu Tyr Ser Arg Arg Leu Pro Lys  
480 485 490

Gly Val Lys His Leu Lys Asp Phe Pro Ile Leu Pro Gly Glu Ile Phe  
495 500 505

Lys Tyr Lys Trp Thr Val Thr Val Glu Asp Gly Pro Thr Lys Ser Asp  
510 515 520 525

Pro Arg Cys Leu Thr Arg Tyr Tyr Ser Ser Phe Val Asn Met Glu Arg  
530 535 540

Asp Leu Ala Ser Gly Leu Ile Gly Pro Leu Leu Ile Cys Tyr Lys Glu  
545 550 555

Ser Val Asp Gln Arg Gly Asn Gln Ile Met Ser Asp Lys Arg Asn Val  
560 565 570

Ile Leu Phe Ser Val Phe Asp Glu Asn Arg Ser Trp Tyr Leu Thr Glu  
575 580 585

## DE 601 15 613 T2 2006.08.24

Asn Ile Gln Arg Phe Leu Pro Asn Pro Ala Gly Val Gln Leu Glu Asp  
 590 595 600 605  
 Pro Glu Phe Gln Ala Ser Asn Ile Met His Ser Ile Asn Gly Tyr Val  
 610 615 620  
 Phe Asp Ser Leu Gln Leu Ser Val Cys Leu His Glu Val Ala Tyr Trp  
 625 630 635  
 Tyr Ile Leu Ser Ile Gly Ala Gln Thr Asp Phe Leu Ser Val Phe Phe  
 640 645 650  
 Ser Gly Tyr Thr Phe Lys His Lys Met Val Tyr Glu Asp Thr Leu Thr  
 655 660 665  
 Leu Phe Pro Phe Ser Gly Glu Thr Val Phe Met Ser Met Glu Asn Pro  
 670 675 680 685  
 Gly Leu Trp Ile Leu Gly Cys His Asn Ser Asp Phe Arg Asn Arg Gly  
 690 695 700  
 Met Thr Ala Leu Leu Lys Val Ser Ser Cys Asp Lys Asn Thr Gly Asp  
 705 710 715  
 Tyr Tyr Glu Asp Ser Tyr Glu Asp Ile Ser Ala Tyr Leu Leu Ser Lys  
 720 725 730  
 Asn Asn Ala Ile Glu Pro Arg Ser Phe Ser Gln Asn Ser Arg His Gln  
 735 740 745  
 Ala Tyr Arg Tyr Arg Arg Gly Glu Ile Thr Arg Thr Thr Leu Gln Ser  
 750 755 760 765  
 Asp Gln Glu Glu Ile Asp Tyr Asp Asp Thr Ile Ser Val Glu Met Lys  
 770 775 780  
 Lys Glu Asp Phe Asp Ile Tyr Asp Glu Asp Glu Asn Gln Ser Pro Arg  
 785 790 795  
 Ser Phe Gln Lys Lys Thr Arg His Tyr Phe Ile Ala Ala Val Glu Arg  
 800 805 810  
 Leu Trp Asp Tyr Gly Met Ser Ser Ser Pro His Val Leu Arg Asn Arg  
 815 820 825  
 Ala Gln Ser Gly Ser Val Pro Gln Phe Lys Lys Val Val Phe Gln Glu  
 830 835 840 845  
 Phe Thr Asp Gly Ser Phe Thr Gln Pro Leu Tyr Arg Gly Glu Leu Asn  
 850 855 860

## DE 601 15 613 T2 2006.08.24

Glu His Leu Gly Leu Leu Gly Pro Tyr Ile Arg Ala Glu Val Glu Asp  
 865 870 875

Asn Ile Met Val Thr Phe Arg Asn Gln Ala Ser Arg Pro Tyr Ser Phe  
 880 885 890

Tyr Ser Ser Leu Ile Ser Tyr Glu Glu Asp Gln Arg Gln Gly Ala Glu  
 895 900 905

Pro Arg Lys Asn Phe Val Lys Pro Asn Glu Thr Lys Thr Tyr Phe Trp  
 910 915 920 925

Lys Val Gln His His Met Ala Pro Thr Lys Asp Glu Phe Asp Cys Lys  
 930 935 940

Ala Trp Ala Tyr Phe Ser Asp Val Asp Leu Glu Lys Asp Val His Ser  
 945 950 955

Gly Leu Ile Gly Pro Leu Leu Val Cys His Thr Asn Thr Leu Asn Pro  
 960 965 970

Ala His Gly Arg Gln Val Thr Val Gln Glu Phe Ala Leu Phe Phe Thr  
 975 980 985

Ile Phe Asp Glu Thr Lys Ser Trp Tyr Phe Thr Glu Asn Met Glu Arg  
 990 995 1000 1005

Asn Cys Arg Ala Pro Cys Asn Ile Gln Met Glu Asp Pro Thr Phe Lys  
 1010 1015 1020

Glu Asn Tyr Arg Phe His Ala Ile Asn Gly Tyr Ile Met Asp Thr Leu  
 1025 1030 1035

Pro Gly Leu Val Met Ala Gln Asp Gln Arg Ile Arg Trp Tyr Leu Leu  
 1040 1045 1050

Ser Met Gly Ser Asn Glu Asn Ile His Ser Ile His Phe Ser Gly His  
 1055 1060 1065

Val Phe Thr Val Arg Lys Lys Glu Glu Tyr Lys Met Ala Leu Tyr Asn  
 070 1075 1080 1085

Leu Tyr Pro Gly Val Phe Glu Thr Val Glu Met Leu Pro Ser Lys Ala  
 1090 1095 1100

Gly Ile Trp Arg Val Glu Cys Leu Ile Gly Glu His Leu His Ala Gly  
 1105 1110 1115

## DE 601 15 613 T2 2006.08.24

Met Asn Thr Leu Phe Leu Val Tyr Ser Asn Lys Cys Gln Thr Pro Leu  
 1120 1125 1130

Gly Met Ala Ser Gly His Ile Arg Asp Phe Gln Ile Thr Ala Ser Gly  
 1135 1140 1145

Gln Tyr Gly Gln Trp Ala Pro Lys Leu Ala Arg Leu His Tyr Ser Gly  
 1150 1155 1160 1165

Ser Ile Asn Ala Trp Ser Thr Lys Glu Pro Phe Ser Trp Ile Lys Val  
 1170 1175 1180

Asp Leu Leu Ala Pro Met Ile Ile His Gly Ile Lys Thr Gln Gly Ala  
 1185 1190 1195

Arg Gln Lys Phe Ser Ser Leu Tyr Ile Ser Gln Phe Ile Ile Met Tyr  
 1200 1205 1210

Ser Leu Asp Gly Lys Lys Trp Gln Thr Tyr Arg Gly Asn Ser Thr Gly  
 1215 1220 1225

Thr Leu Met Val Phe Phe Gly Asn Val Asp Ser Ser Gly Ile Lys His  
 1230 1235 1240 1245

Asn Ile Phe Asn Pro Pro Ile Ile Ala Arg Tyr Ile Arg Leu His Pro  
 1250 1255 1260

Thr His Tyr Ser Ile Arg Ser Thr Leu Arg Met Glu Leu Met Gly Cys  
 1265 1270 1275

Asp Leu Asn Ser Cys Ser Met Pro Leu Gly Met Glu Ser Lys Ala Ile  
 1280 1285 1290

Ser Asp Ala Gln Ile Thr Ala Ser Ser Tyr Phe Thr Asn Met Phe Ala  
 1295 1300 1305

Thr Trp Ser Pro Ser Lys Ala Arg Leu His Leu Gln Gly Arg Ser Asn  
 1310 1315 1320 1325

Ala Trp Arg Pro Gln Glu Asn Asn Pro Lys Glu Trp Leu Gln Val Asp  
 1330 1335 1340

Phe Gln Lys Thr Met Lys Val Thr Gly Val Thr Thr Gln Gly Val Lys  
 1345 1350 1355

Ser Leu Leu Thr Ser Met Tyr Val Lys Glu Phe Leu Ile Ser Ser Ser  
 1360 1365 1370

Gln Asp Gly His Gln Trp Thr Leu Phe Phe Gln Asn Gly Lys Val Lys  
 1375 1380 1385

Val Phe Gln Gly Asn Gln Asp Ser Phe Thr Pro Val Val Asn Ser Leu  
390 1395 1400 1405

Asp Pro Pro Leu Leu Thr Arg Tyr Leu Arg Ile His Pro Gln Ser Trp  
1410 1415 1420

Val His Gln Ile Ala Leu Arg Met Glu Val Leu Gly Cys Glu Ala Gln  
1425 1430 1435

Asp Leu Tyr  
1440

<210> 7  
<211> 8  
<212> PRT  
<213> künstliche Sequenz

<220>  
<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: B-Domäne  
Linkerpeptid

<400> 7  
Ser Phe Ser Gln Asn Ser Arg His  
1 5

<210> 8  
<211> 8  
<212> PRT  
<213> künstliche Sequenz

<220>  
<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: B-Domäne  
Linkerpeptid

<400> 8  
Gln Ala Tyr Arg Tyr Arg Arg Gly  
1 5

<210> 9  
<211> 16  
<212> PRT  
<213> künstliche Sequenz

&lt;220&gt;

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: B-Domäne  
Linkerpeptid

&lt;400&gt; 9

Ser Phe Ser Gln Asn Ser Arg His Gln Ala Tyr Arg Tyr Arg Arg Gly  
1 5 10 15

&lt;210&gt; 12

&lt;211&gt; 10698

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; künstliche Sequenz

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Beschreibung der künstlichen Sequenz: pTGF8-2hyg-s

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; CDS

&lt;222&gt; (676) .. (5052)

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; mat-Peptid

&lt;222&gt; (733) .. (5052)

&lt;400&gt; 12

cgcgttgaca ttgattattg actagttatt aatagtaatc aattacgggg tcattagttc 60

atagccata tatggagttc cgcggtacat aacttacggt aaatggcccg cctggctgac 120

cgcccaacga ccccccggca ttgacgtcaa taatgacgta tgttccata gtaacgcaa 180

tagggacttt ccattgacgt caatgggtgg agtatttacg gtaaactgcc cacttggcag 240

tacatcaagt gtatcatatg ccaagtacgc cccctattga cgtcaatgac ggttaatggc 300

ccgcctggca ttatgcccag tacatgaccc tatggactt tcctacttgg cagtagatct 360

acgtatttagt catcgctatt accatggtga tgcgggtttg gcagtagatc aatgggcgtg 420

gatagcggtt tgactcacgg ggatttccaa gtctccaccc cattgacgtc aatgggagtt 480

tgaaaaatggca ccaaaatcaa cgggactttc caaaaatgtcg taacaactcc gccccattga 540

cgaaaaatggg cggtaggcgt gtacgggtgg aggtctata aagcagagct ctctggctaa 600

ctagagaacc cactgcttac tggcttatcg aaattaatac gactcactat agggagaccc 660

DE 601 15 613 T2 2006.08.24

## DE 601 15 613 T2 2006.08.24

tca ggc ctc att gga gcc cta cta gta tgt aga gaa ggg agt ctg gcc	1287
Ser Gly Leu Ile Gly Ala Leu Leu Val Cys Arg Glu Gly Ser Leu Ala	
170 175 180 185	
aag gaa aag aca cag acc ttg cac aaa ttt ata cta ctt ttt gct gta	1335
Lys Glu Lys Thr Gln Thr Leu His Lys Phe Ile Leu Leu Phe Ala Val	
190 195 200	
ttt gat gaa ggg aaa agt tgg cac tca gaa aca aag aac tcc ttg atg	1383
Phe Asp Glu Gly Lys Ser Trp His Ser Glu Thr Lys Asn Ser Leu Met	
205 210 215	
cag gat agg gat gct gca tct gct cggt gcc tgg cct aaa atg cac aca	1431
Gln Asp Arg Asp Ala Ala Ser Ala Arg Ala Trp Pro Lys Met His Thr	
220 225 230	
gtc aat ggt tat gta aac agg tct ctg cca ggt ctg att gga tgc cac	1479
Val Asn Gly Tyr Val Asn Arg Ser Leu Pro Gly Leu Ile Gly Cys His	
235 240 245	
agg aaa tca gtc tat tgg cat gtg att gga atg ggc acc act cct gaa	1527
Arg Lys Ser Val Tyr Trp His Val Ile Gly Met Gly Thr Thr Pro Glu	
250 255 260 265	
gtg cac tca ata ttc ctc gaa ggt cac aca ttt ctt gtg agg aac cat	1575
Val His Ser Ile Phe Leu Glu Gly His Thr Phe Leu Val Arg Asn His	
270 275 280	
cgc cag gcg tcc ttg gaa atc tcg cca ata act ttc ctt act gct caa	1623
Arg Gln Ala Ser Leu Glu Ile Ser Pro Ile Thr Phe Leu Thr Ala Gln	
285 290 295	
aca ctc ttg atg gac ctt gga cag ttt cta ctg ttt tgt cat atc tct	1671
Thr Leu Leu Met Asp Leu Gly Gln Phe Leu Leu Phe Cys His Ile Ser	
300 305 310	
tcc cac caa cat gat ggc atg gaa gct tat gtc aaa gta gac agc tgt	1719
Ser His Gln His Asp Gly Met Glu Ala Tyr Val Lys Val Asp Ser Cys	
315 320 325	
cca gag gaa ccc caa cta cga atg aaa aat aat gaa gaa gcg gaa gac	1767
Pro Glu Glu Pro Gln Leu Arg Met Lys Asn Asn Glu Glu Ala Glu Asp	
330 335 340 345	
tat gat gat gat ctt act gat tct gaa atg gat gtg gtc agg ttt gat	1815
Tyr Asp Asp Asp Leu Thr Asp Ser Glu Met Asp Val Val Arg Phe Asp	
350 355 360	

gat gac aac tct cct tcc ttt atc caa att cgc tca gtt gcc aag aag			1863
Asp Asp Asn Ser Pro Ser Phe Ile Gln Ile Arg Ser Val Ala Lys Lys			
365	370	375	
cat cct aaa act tgg gta cat tac att gct gct gaa gag gag gag tgg			1911
His Pro Lys Thr Trp Val His Tyr Ile Ala Ala Glu Glu Glu Asp Trp			
380	385	390	
gac tat gct ccc tta gtc ctc gcc ccc gat gac aga agt tat aaa agt			1959
Asp Tyr Ala Pro Leu Val Leu Ala Pro Asp Asp Arg Ser Tyr Lys Ser			
395	400	405	
caa tat ttg aac aat ggc cct cag cgg att ggt agg aag tac aaa aaa			2007
Gln Tyr Leu Asn Asn Gly Pro Gln Arg Ile Gly Arg Lys Tyr Lys Lys			
410	415	420	425
gtc cga ttt atg gca tac aca gat gaa acc ttt aag act cgt gaa gct			2055
Val Arg Phe Met Ala Tyr Thr Asp Glu Thr Phe Lys Thr Arg Glu Ala			
430	435	440	
att cag cat gaa tca gga atc ttg gga cct tta ctt tat ggg gaa gtt			2103
Ile Gln His Glu Ser Gly Ile Leu Gly Pro Leu Leu Tyr Gly Glu Val			
445	450	455	
gga gac aca ctg ttg att ata ttt aag aat caa gca agc aga cca tat			2151
Gly Asp Thr Leu Leu Ile Ile Phe Lys Asn Gln Ala Ser Arg Pro Tyr			
460	465	470	
aac atc tac cct cac gga atc act gat gtc cgt cct ttg tat tca agg			2199
Asn Ile Tyr Pro His Gly Ile Thr Asp Val Arg Pro Leu Tyr Ser Arg			
475	480	485	
aga tta cca aaa ggt gta aaa cat ttg aag gat ttt cca att ctg cca			2247
Arg Leu Pro Lys Gly Val Lys His Leu Lys Asp Phe Pro Ile Leu Pro			
490	495	500	505
gga gaa ata ttc aaa tat aaa tgg aca gtg act gta gaa gat ggg cca			2295
Gly Glu Ile Phe Lys Tyr Lys Trp Thr Val Thr Val Glu Asp Gly Pro			
510	515	520	
act aaa tca gat cct cgg tgc ctg acc cgc tat tac tct agt ttc gtt			2343
Thr Lys Ser Asp Pro Arg Cys Leu Thr Arg Tyr Tyr Ser Ser Phe Val			
525	530	535	
aat atg gag aga gat cta gct tca gga ctc att ggc cct ctc ctc atc			2391
Asn Met Glu Arg Asp Leu Ala Ser Gly Leu Ile Gly Pro Leu Leu Ile			
540	545	550	

## DE 601 15 613 T2 2006.08.24

tgc tac aaa gaa tct gta gat caa aga gga aac cag ata atg tca gac	2439
Cys Tyr Lys Glu Ser Val Asp Gln Arg Gly Asn Gln Ile Met Ser Asp	
555 560 565	
aag agg aat gtc atc ctg ttt tct gta ttt gat gag aac cga agc tgg	2487
Lys Arg Asn Val Ile Leu Phe Ser Val Phe Asp Glu Asn Arg Ser Trp	
570 575 580 585	
tac ctc aca gag aat ata caa cgc ttt ctc ccc aat cca gct gga gtg	2535
Tyr Leu Thr Glu Asn Ile Gln Arg Phe Leu Pro Asn Pro Ala Gly Val	
590 595 600	
cag ctt gag gat cca gag ttc caa gcc tcc aac atc atg cac agc atc	2583
Gln Leu Glu Asp Pro Glu Phe Gln Ala Ser Asn Ile Met His Ser Ile	
605 610 615	
aat ggc tat gtt ttt gat agt ttg cag ttg tca gtt tgt ttg cat gag	2631
Asn Gly Tyr Val Phe Asp Ser Leu Gln Leu Ser Val Cys Leu His Glu	
620 625 630	
gtg gca tac tgg tac att cta agc att gga gca cag act gac ttc ctt	2679
Val Ala Tyr Trp Tyr Ile Leu Ser Ile Gly Ala Gln Thr Asp Phe Leu	
635 640 645	
tct gtc ttc ttc tct gga tat acc ttc aaa cac aaa atg gtc tat gaa	2727
Ser Val Phe Phe Ser Gly Tyr Thr Phe Lys His Lys Met Val Tyr Glu	
650 655 660 665	
gac aca ctc acc cta ttc cca ttc tca gga gaa act gtc ttc atg tcg	2775
Asp Thr Leu Thr Leu Phe Pro Phe Ser Gly Glu Thr Val Phe Met Ser	
670 675 680	
atg gaa aac cca ggt cta tgg att ctg ggg tgc cac aac tca gac ttt	2823
Met Glu Asn Pro Gly Leu Trp Ile Leu Gly Cys His Asn Ser Asp Phe	
685 690 695	
cgg aac aga ggc atg acc gcc tta ctg aag gtt tct agt tgt gac aag	2871
Arg Asn Arg Gly Met Thr Ala Leu Leu Lys Val Ser Ser Cys Asp Lys	
700 705 710	
aac act ggt gat tat tac gag gac agt tat gaa gat att tca gca tac	2919
Asn Thr Gly Asp Tyr Tyr Glu Asp Ser Tyr Glu Asp Ile Ser Ala Tyr	
715 720 725	
ttg ctg agt aaa aac aat gcc att gaa cca aga agc ttc tcc cag aat	2967
Leu Leu Ser Lys Asn Asn Ala Ile Glu Pro Arg Ser Phe Ser Gln Asn	
730 735 740 745	

## DE 601 15 613 T2 2006.08.24

tca	aga	cat	caa	gct	tat	cga	tac	cgt	cga	ggg	gaa	ata	act	cgt	act	3015	
Ser	Arg	His	Gln	Ala	Tyr	Arg	Tyr	Arg	Arg	Gly	Glu	Ile	Thr	Arg	Thr		
750															760		
act	ctt	cag	tca	gat	caa	gag	gaa	att	gac	tat	gat	gat	acc	ata	tca	3063	
Thr	Leu	Gln	Ser	Asp	Gln	Glu	Glu		Ile	Asp	Tyr	Asp	Asp	Thr	Ile	Ser	
765															775		
gtt	gaa	atg	aag	aag	gaa	gat	ttt	gac	att	tat	gat	gag	gat	gaa	aat	3111	
Val	Glu	Met	Lys	Lys	Glu	Asp	Phe	Asp	Ile	Tyr	Asp	Glu	Asp	Glu	Asn		
780															790		
cag	agc	ccc	cgc	agc	ttt	caa	aag	aaa	aca	cga	cac	tat	ttt	att	gct	3159	
Gln	Ser	Pro	Arg	Ser	Phe	Gln	Lys	Lys	Thr	Arg	His	Tyr	Phe	Ile	Ala		
795															805		
gca	gtg	gag	agg	ctc	tgg	gat	tat	ggg	atg	agt	agc	tcc	cca	cat	gtt	3207	
Ala	Val	Glu	Arg	Leu	Trp	Asp	Tyr	Gly	Met	Ser	Ser	Ser	Pro	His	Val		
810															825		
cta	aga	aac	agg	gct	cag	agt	ggc	agt	gtc	cct	cag	ttc	aag	aaa	gtt	3255	
Leu	Arg	Asn	Arg	Ala	Gln	Ser	Gly	Ser	Val	Pro	Gln	Phe	Lys	Lys	Val		
830															840		
gtt	tcc	cag	gaa	ttt	act	gat	ggc	tcc	ttt	act	cag	ccc	tta	tac	cgt	3303	
Val	Phe	Gln	Glu	Phe	Thr	Asp	Gly	Ser	Phe	Thr	Gln	Pro	Leu	Tyr	Arg		
845															855		
gga	gaa	cta	aat	gaa	cat	ttg	gga	ctc	ctg	ggg	cca	tat	ata	aga	gca	3351	
Gly	Glu	Leu	Asn	Glu	His	Leu	Gly	Leu	Leu	Gly	Pro	Tyr	Ile	Arg	Ala		
860															870		
gaa	gtt	gaa	gat	aat	atc	atg	gta	act	tcc	aga	aat	cag	gcc	tct	cgt	3399	
Glu	Val	Glu	Asp	Asn	Ile	Met	Val	Thr	Phe	Arg	Asn	Gln	Ala	Ser	Arg		
875															885		
ccc	tat	tcc	tcc	tat	tct	agc	ctt	att	tct	tat	gag	gaa	gat	cag	agg	3447	
Pro	Tyr	Ser	Phe	Tyr	Ser	Ser	Leu	Ile	Ser	Tyr	Glu	Glu	Asp	Gln	Arg		
890															905		
caa	gga	gca	gaa	cct	aga	aaa	aac	ttt	gtc	aag	cct	aat	gaa	acc	aaa	3495	
Gln	Gly	Ala	Glu	Pro	Arg	Lys	Asn	Phe	Val	Lys	Pro	Asn	Glu	Thr	Lys		
910															920		
act	tac	ttt	tgg	aaa	gtg	caa	cat	cat	atg	gca	ccc	act	aaa	gat	gag	3543	
Thr	Tyr	Phe	Trp	Lys	Val	Gln	His	His	Met	Ala	Pro	Thr	Lys	Asp	Glu		
925															935		

ttt gac tgc aaa gcc tgg gct tat ttc tct gat gtc gac ctg gaa aaa	3591																																																																																										
Phe Asp Cys Lys Ala Trp Ala Tyr Phe Ser Asp Val Asp Leu Glu Lys																																																																																											
940	945	950		gat gtg cac tca ggc ctg att gga ccc ctt ctg gtc tgc cac act aac	3639	Asp Val His Ser Gly Leu Ile Gly Pro Leu Leu Val Cys His Thr Asn		955	960	965		aca ctg aac cct gct cat ggg aga caa gtg aca gta cag gaa ttt gct	3687	Thr Leu Asn Pro Ala His Gly Arg Gln Val Thr Val Gln Glu Phe Ala		970	975	980	985	ctg ttt ttc acc atc ttt gat gag acc aaa agc tgg tac ttc act gaa	3735	Leu Phe Phe Thr Ile Phe Asp Glu Thr Lys Ser Trp Tyr Phe Thr Glu		990	995	1000		aat atg gaa aga aac tgc agg gct ccc tgc aat atc cag atg gaa gat	3783	Asn Met Glu Arg Asn Cys Arg Ala Pro Cys Asn Ile Gln Met Glu Asp		1005	1010	1015		ccc act ttt aaa gag aat tat cgc ttc cat gca atc aat ggc tac ata	3831	Pro Thr Phe Lys Glu Asn Tyr Arg Phe His Ala Ile Asn Gly Tyr Ile		1020	1025	1030		atg gat aca cta cct ggc tta gta atg gct cag gat caa agg att cga	3879	Met Asp Thr Leu Pro Gly Leu Val Met Ala Gln Asp Gln Arg Ile Arg		1035	1040	1045		tgg tat ctg ctc agc atg ggc agc aat gaa aac atc cat tct att cat	3927	Trp Tyr Leu Leu Ser Met Gly Ser Asn Glu Asn Ile His Ser Ile His		1050	1055	1060	1065	ttc agt gga cat gtg ttc act gta cga aaa aaa gag gag tat aaa atg	3975	Phe Ser Gly His Val Phe Thr Val Arg Lys Lys Glu Glu Tyr Lys Met		1070	1075	1080		gca ctg tac aat ctc tat cca ggt gtt ttt gag aca gtg gaa atg tta	4023	Ala Leu Tyr Asn Leu Tyr Pro Gly Val Phe Glu Thr Val Glu Met Leu		1085	1090	1095		cca tcc aaa gct gga att tgg cgg gtg gaa tgc ctt att ggc gag cat	4071	Pro Ser Lys Ala Gly Ile Trp Arg Val Glu Cys Leu Ile Gly Glu His		1100	1105	1110		cta cat gct ggg atg agc aca ctt ttt ctg gtg tac agc aat aag tgt	4119	Leu His Ala Gly Met Ser Thr Leu Phe Leu Val Tyr Ser Asn Lys Cys		1115	1120	1125	
950																																																																																											
gat gtg cac tca ggc ctg att gga ccc ctt ctg gtc tgc cac act aac	3639																																																																																										
Asp Val His Ser Gly Leu Ile Gly Pro Leu Leu Val Cys His Thr Asn																																																																																											
955	960	965		aca ctg aac cct gct cat ggg aga caa gtg aca gta cag gaa ttt gct	3687	Thr Leu Asn Pro Ala His Gly Arg Gln Val Thr Val Gln Glu Phe Ala		970	975	980	985	ctg ttt ttc acc atc ttt gat gag acc aaa agc tgg tac ttc act gaa	3735	Leu Phe Phe Thr Ile Phe Asp Glu Thr Lys Ser Trp Tyr Phe Thr Glu		990	995	1000		aat atg gaa aga aac tgc agg gct ccc tgc aat atc cag atg gaa gat	3783	Asn Met Glu Arg Asn Cys Arg Ala Pro Cys Asn Ile Gln Met Glu Asp		1005	1010	1015		ccc act ttt aaa gag aat tat cgc ttc cat gca atc aat ggc tac ata	3831	Pro Thr Phe Lys Glu Asn Tyr Arg Phe His Ala Ile Asn Gly Tyr Ile		1020	1025	1030		atg gat aca cta cct ggc tta gta atg gct cag gat caa agg att cga	3879	Met Asp Thr Leu Pro Gly Leu Val Met Ala Gln Asp Gln Arg Ile Arg		1035	1040	1045		tgg tat ctg ctc agc atg ggc agc aat gaa aac atc cat tct att cat	3927	Trp Tyr Leu Leu Ser Met Gly Ser Asn Glu Asn Ile His Ser Ile His		1050	1055	1060	1065	ttc agt gga cat gtg ttc act gta cga aaa aaa gag gag tat aaa atg	3975	Phe Ser Gly His Val Phe Thr Val Arg Lys Lys Glu Glu Tyr Lys Met		1070	1075	1080		gca ctg tac aat ctc tat cca ggt gtt ttt gag aca gtg gaa atg tta	4023	Ala Leu Tyr Asn Leu Tyr Pro Gly Val Phe Glu Thr Val Glu Met Leu		1085	1090	1095		cca tcc aaa gct gga att tgg cgg gtg gaa tgc ctt att ggc gag cat	4071	Pro Ser Lys Ala Gly Ile Trp Arg Val Glu Cys Leu Ile Gly Glu His		1100	1105	1110		cta cat gct ggg atg agc aca ctt ttt ctg gtg tac agc aat aag tgt	4119	Leu His Ala Gly Met Ser Thr Leu Phe Leu Val Tyr Ser Asn Lys Cys		1115	1120	1125									
965																																																																																											
aca ctg aac cct gct cat ggg aga caa gtg aca gta cag gaa ttt gct	3687																																																																																										
Thr Leu Asn Pro Ala His Gly Arg Gln Val Thr Val Gln Glu Phe Ala																																																																																											
970	975	980	985	ctg ttt ttc acc atc ttt gat gag acc aaa agc tgg tac ttc act gaa	3735	Leu Phe Phe Thr Ile Phe Asp Glu Thr Lys Ser Trp Tyr Phe Thr Glu		990	995	1000		aat atg gaa aga aac tgc agg gct ccc tgc aat atc cag atg gaa gat	3783	Asn Met Glu Arg Asn Cys Arg Ala Pro Cys Asn Ile Gln Met Glu Asp		1005	1010	1015		ccc act ttt aaa gag aat tat cgc ttc cat gca atc aat ggc tac ata	3831	Pro Thr Phe Lys Glu Asn Tyr Arg Phe His Ala Ile Asn Gly Tyr Ile		1020	1025	1030		atg gat aca cta cct ggc tta gta atg gct cag gat caa agg att cga	3879	Met Asp Thr Leu Pro Gly Leu Val Met Ala Gln Asp Gln Arg Ile Arg		1035	1040	1045		tgg tat ctg ctc agc atg ggc agc aat gaa aac atc cat tct att cat	3927	Trp Tyr Leu Leu Ser Met Gly Ser Asn Glu Asn Ile His Ser Ile His		1050	1055	1060	1065	ttc agt gga cat gtg ttc act gta cga aaa aaa gag gag tat aaa atg	3975	Phe Ser Gly His Val Phe Thr Val Arg Lys Lys Glu Glu Tyr Lys Met		1070	1075	1080		gca ctg tac aat ctc tat cca ggt gtt ttt gag aca gtg gaa atg tta	4023	Ala Leu Tyr Asn Leu Tyr Pro Gly Val Phe Glu Thr Val Glu Met Leu		1085	1090	1095		cca tcc aaa gct gga att tgg cgg gtg gaa tgc ctt att ggc gag cat	4071	Pro Ser Lys Ala Gly Ile Trp Arg Val Glu Cys Leu Ile Gly Glu His		1100	1105	1110		cta cat gct ggg atg agc aca ctt ttt ctg gtg tac agc aat aag tgt	4119	Leu His Ala Gly Met Ser Thr Leu Phe Leu Val Tyr Ser Asn Lys Cys		1115	1120	1125																	
980	985																																																																																										
ctg ttt ttc acc atc ttt gat gag acc aaa agc tgg tac ttc act gaa	3735																																																																																										
Leu Phe Phe Thr Ile Phe Asp Glu Thr Lys Ser Trp Tyr Phe Thr Glu																																																																																											
990	995	1000		aat atg gaa aga aac tgc agg gct ccc tgc aat atc cag atg gaa gat	3783	Asn Met Glu Arg Asn Cys Arg Ala Pro Cys Asn Ile Gln Met Glu Asp		1005	1010	1015		ccc act ttt aaa gag aat tat cgc ttc cat gca atc aat ggc tac ata	3831	Pro Thr Phe Lys Glu Asn Tyr Arg Phe His Ala Ile Asn Gly Tyr Ile		1020	1025	1030		atg gat aca cta cct ggc tta gta atg gct cag gat caa agg att cga	3879	Met Asp Thr Leu Pro Gly Leu Val Met Ala Gln Asp Gln Arg Ile Arg		1035	1040	1045		tgg tat ctg ctc agc atg ggc agc aat gaa aac atc cat tct att cat	3927	Trp Tyr Leu Leu Ser Met Gly Ser Asn Glu Asn Ile His Ser Ile His		1050	1055	1060	1065	ttc agt gga cat gtg ttc act gta cga aaa aaa gag gag tat aaa atg	3975	Phe Ser Gly His Val Phe Thr Val Arg Lys Lys Glu Glu Tyr Lys Met		1070	1075	1080		gca ctg tac aat ctc tat cca ggt gtt ttt gag aca gtg gaa atg tta	4023	Ala Leu Tyr Asn Leu Tyr Pro Gly Val Phe Glu Thr Val Glu Met Leu		1085	1090	1095		cca tcc aaa gct gga att tgg cgg gtg gaa tgc ctt att ggc gag cat	4071	Pro Ser Lys Ala Gly Ile Trp Arg Val Glu Cys Leu Ile Gly Glu His		1100	1105	1110		cta cat gct ggg atg agc aca ctt ttt ctg gtg tac agc aat aag tgt	4119	Leu His Ala Gly Met Ser Thr Leu Phe Leu Val Tyr Ser Asn Lys Cys		1115	1120	1125																									
1000																																																																																											
aat atg gaa aga aac tgc agg gct ccc tgc aat atc cag atg gaa gat	3783																																																																																										
Asn Met Glu Arg Asn Cys Arg Ala Pro Cys Asn Ile Gln Met Glu Asp																																																																																											
1005	1010	1015		ccc act ttt aaa gag aat tat cgc ttc cat gca atc aat ggc tac ata	3831	Pro Thr Phe Lys Glu Asn Tyr Arg Phe His Ala Ile Asn Gly Tyr Ile		1020	1025	1030		atg gat aca cta cct ggc tta gta atg gct cag gat caa agg att cga	3879	Met Asp Thr Leu Pro Gly Leu Val Met Ala Gln Asp Gln Arg Ile Arg		1035	1040	1045		tgg tat ctg ctc agc atg ggc agc aat gaa aac atc cat tct att cat	3927	Trp Tyr Leu Leu Ser Met Gly Ser Asn Glu Asn Ile His Ser Ile His		1050	1055	1060	1065	ttc agt gga cat gtg ttc act gta cga aaa aaa gag gag tat aaa atg	3975	Phe Ser Gly His Val Phe Thr Val Arg Lys Lys Glu Glu Tyr Lys Met		1070	1075	1080		gca ctg tac aat ctc tat cca ggt gtt ttt gag aca gtg gaa atg tta	4023	Ala Leu Tyr Asn Leu Tyr Pro Gly Val Phe Glu Thr Val Glu Met Leu		1085	1090	1095		cca tcc aaa gct gga att tgg cgg gtg gaa tgc ctt att ggc gag cat	4071	Pro Ser Lys Ala Gly Ile Trp Arg Val Glu Cys Leu Ile Gly Glu His		1100	1105	1110		cta cat gct ggg atg agc aca ctt ttt ctg gtg tac agc aat aag tgt	4119	Leu His Ala Gly Met Ser Thr Leu Phe Leu Val Tyr Ser Asn Lys Cys		1115	1120	1125																																	
1015																																																																																											
ccc act ttt aaa gag aat tat cgc ttc cat gca atc aat ggc tac ata	3831																																																																																										
Pro Thr Phe Lys Glu Asn Tyr Arg Phe His Ala Ile Asn Gly Tyr Ile																																																																																											
1020	1025	1030		atg gat aca cta cct ggc tta gta atg gct cag gat caa agg att cga	3879	Met Asp Thr Leu Pro Gly Leu Val Met Ala Gln Asp Gln Arg Ile Arg		1035	1040	1045		tgg tat ctg ctc agc atg ggc agc aat gaa aac atc cat tct att cat	3927	Trp Tyr Leu Leu Ser Met Gly Ser Asn Glu Asn Ile His Ser Ile His		1050	1055	1060	1065	ttc agt gga cat gtg ttc act gta cga aaa aaa gag gag tat aaa atg	3975	Phe Ser Gly His Val Phe Thr Val Arg Lys Lys Glu Glu Tyr Lys Met		1070	1075	1080		gca ctg tac aat ctc tat cca ggt gtt ttt gag aca gtg gaa atg tta	4023	Ala Leu Tyr Asn Leu Tyr Pro Gly Val Phe Glu Thr Val Glu Met Leu		1085	1090	1095		cca tcc aaa gct gga att tgg cgg gtg gaa tgc ctt att ggc gag cat	4071	Pro Ser Lys Ala Gly Ile Trp Arg Val Glu Cys Leu Ile Gly Glu His		1100	1105	1110		cta cat gct ggg atg agc aca ctt ttt ctg gtg tac agc aat aag tgt	4119	Leu His Ala Gly Met Ser Thr Leu Phe Leu Val Tyr Ser Asn Lys Cys		1115	1120	1125																																									
1030																																																																																											
atg gat aca cta cct ggc tta gta atg gct cag gat caa agg att cga	3879																																																																																										
Met Asp Thr Leu Pro Gly Leu Val Met Ala Gln Asp Gln Arg Ile Arg																																																																																											
1035	1040	1045		tgg tat ctg ctc agc atg ggc agc aat gaa aac atc cat tct att cat	3927	Trp Tyr Leu Leu Ser Met Gly Ser Asn Glu Asn Ile His Ser Ile His		1050	1055	1060	1065	ttc agt gga cat gtg ttc act gta cga aaa aaa gag gag tat aaa atg	3975	Phe Ser Gly His Val Phe Thr Val Arg Lys Lys Glu Glu Tyr Lys Met		1070	1075	1080		gca ctg tac aat ctc tat cca ggt gtt ttt gag aca gtg gaa atg tta	4023	Ala Leu Tyr Asn Leu Tyr Pro Gly Val Phe Glu Thr Val Glu Met Leu		1085	1090	1095		cca tcc aaa gct gga att tgg cgg gtg gaa tgc ctt att ggc gag cat	4071	Pro Ser Lys Ala Gly Ile Trp Arg Val Glu Cys Leu Ile Gly Glu His		1100	1105	1110		cta cat gct ggg atg agc aca ctt ttt ctg gtg tac agc aat aag tgt	4119	Leu His Ala Gly Met Ser Thr Leu Phe Leu Val Tyr Ser Asn Lys Cys		1115	1120	1125																																																	
1045																																																																																											
tgg tat ctg ctc agc atg ggc agc aat gaa aac atc cat tct att cat	3927																																																																																										
Trp Tyr Leu Leu Ser Met Gly Ser Asn Glu Asn Ile His Ser Ile His																																																																																											
1050	1055	1060	1065	ttc agt gga cat gtg ttc act gta cga aaa aaa gag gag tat aaa atg	3975	Phe Ser Gly His Val Phe Thr Val Arg Lys Lys Glu Glu Tyr Lys Met		1070	1075	1080		gca ctg tac aat ctc tat cca ggt gtt ttt gag aca gtg gaa atg tta	4023	Ala Leu Tyr Asn Leu Tyr Pro Gly Val Phe Glu Thr Val Glu Met Leu		1085	1090	1095		cca tcc aaa gct gga att tgg cgg gtg gaa tgc ctt att ggc gag cat	4071	Pro Ser Lys Ala Gly Ile Trp Arg Val Glu Cys Leu Ile Gly Glu His		1100	1105	1110		cta cat gct ggg atg agc aca ctt ttt ctg gtg tac agc aat aag tgt	4119	Leu His Ala Gly Met Ser Thr Leu Phe Leu Val Tyr Ser Asn Lys Cys		1115	1120	1125																																																									
1060	1065																																																																																										
ttc agt gga cat gtg ttc act gta cga aaa aaa gag gag tat aaa atg	3975																																																																																										
Phe Ser Gly His Val Phe Thr Val Arg Lys Lys Glu Glu Tyr Lys Met																																																																																											
1070	1075	1080		gca ctg tac aat ctc tat cca ggt gtt ttt gag aca gtg gaa atg tta	4023	Ala Leu Tyr Asn Leu Tyr Pro Gly Val Phe Glu Thr Val Glu Met Leu		1085	1090	1095		cca tcc aaa gct gga att tgg cgg gtg gaa tgc ctt att ggc gag cat	4071	Pro Ser Lys Ala Gly Ile Trp Arg Val Glu Cys Leu Ile Gly Glu His		1100	1105	1110		cta cat gct ggg atg agc aca ctt ttt ctg gtg tac agc aat aag tgt	4119	Leu His Ala Gly Met Ser Thr Leu Phe Leu Val Tyr Ser Asn Lys Cys		1115	1120	1125																																																																	
1080																																																																																											
gca ctg tac aat ctc tat cca ggt gtt ttt gag aca gtg gaa atg tta	4023																																																																																										
Ala Leu Tyr Asn Leu Tyr Pro Gly Val Phe Glu Thr Val Glu Met Leu																																																																																											
1085	1090	1095		cca tcc aaa gct gga att tgg cgg gtg gaa tgc ctt att ggc gag cat	4071	Pro Ser Lys Ala Gly Ile Trp Arg Val Glu Cys Leu Ile Gly Glu His		1100	1105	1110		cta cat gct ggg atg agc aca ctt ttt ctg gtg tac agc aat aag tgt	4119	Leu His Ala Gly Met Ser Thr Leu Phe Leu Val Tyr Ser Asn Lys Cys		1115	1120	1125																																																																									
1095																																																																																											
cca tcc aaa gct gga att tgg cgg gtg gaa tgc ctt att ggc gag cat	4071																																																																																										
Pro Ser Lys Ala Gly Ile Trp Arg Val Glu Cys Leu Ile Gly Glu His																																																																																											
1100	1105	1110		cta cat gct ggg atg agc aca ctt ttt ctg gtg tac agc aat aag tgt	4119	Leu His Ala Gly Met Ser Thr Leu Phe Leu Val Tyr Ser Asn Lys Cys		1115	1120	1125																																																																																	
1110																																																																																											
cta cat gct ggg atg agc aca ctt ttt ctg gtg tac agc aat aag tgt	4119																																																																																										
Leu His Ala Gly Met Ser Thr Leu Phe Leu Val Tyr Ser Asn Lys Cys																																																																																											
1115	1120	1125																																																																																									
1125																																																																																											

## DE 601 15 613 T2 2006.08.24

cag act ccc ctg gga atg gct tct gga cac att aga gat ttt cag att			4167
Gln Thr Pro Leu Gly Met Ala Ser Gly His Ile Arg Asp Phe Gln Ile			
1130	1135	1140	1145
aca gct tca gga caa tat gga cag tgg gcc cca aag ctg gcc aga ctt			4215
Thr Ala Ser Gly Gln Tyr Gly Gln Trp Ala Pro Lys Leu Ala Arg Leu			
1150	1155	1160	
cat tat tcc gga tca atc aat gcc tgg agc acc aag gag ccc ttt tct			4263
His Tyr Ser Gly Ser Ile Asn Ala Trp Ser Thr Lys Glu Pro Phe Ser			
1165	1170	1175	
tgg atc aag gtg gat ctg ttg gca cca atg att att cac ggc atc aag			4311
Trp Ile Lys Val Asp Leu Leu Ala Pro Met Ile Ile His Gly Ile Lys			
1180	1185	1190	
acc cag ggt gcc cgt cag aag ttc tcc agc ctc tac atc tct cag ttt			4359
Thr Gln Gly Ala Arg Gln Lys Phe Ser Ser Leu Tyr Ile Ser Gln Phe			
1195	1200	1205	
atc atc atg tat agt ctt gat ggg aag aag tgg cag act tat cga gga			4407
Ile Ile Met Tyr Ser Leu Asp Gly Lys Lys Trp Gln Thr Tyr Arg Gly			
1210	1215	1220	1225
aat tcc act gga acc tta atg gtc ttc ttt ggc aat gtg gat tca tct			4455
Asn Ser Thr Gly Thr Leu Met Val Phe Phe Gly Asn Val Asp Ser Ser			
1230	1235	1240	
ggg ata aaa cac aat att ttt aac cct cca att att gct cga tac atc			4503
Gly Ile Lys His Asn Ile Phe Asn Pro Pro Ile Ile Ala Arg Tyr Ile			
1245	1250	1255	
cgt ttg cac cca act cat tat agc att cgc agc act ctt cgc atg gag			4551
Arg Leu His Pro Thr His Tyr Ser Ile Arg Ser Thr Leu Arg Met Glu			
1260	1265	1270	
ttg atg ggc tgt gat tta aat agt tgc agc atg cca ttg gga atg gag			4599
Leu Met Gly Cys Asp Leu Asn Ser Cys Ser Met Pro Leu Gly Met Glu			
1275	1280	1285	
agt aaa gca ata tca gat gca cag att act gct tca tcc tac ttt acc			4647
Ser Lys Ala Ile Ser Asp Ala Gln Ile Thr Ala Ser Ser Tyr Phe Thr			
1290	1295	1300	1305
aat atg ttt gcc acc tgg tct cct tca aaa gct cga ctt cac ctc caa			4695
Asn Met Phe Ala Thr Trp Ser Pro Ser Lys Ala Arg Leu His Leu Gln			
1310	1315	1320	

## DE 601 15 613 T2 2006.08.24

ggg agg agt aat gcc tgg aga cct cag gtg aat aat cca aaa gag tgg 4743  
 Gly Arg Ser Asn Ala Trp Arg Pro Gln Val Asn Asn Pro Lys Glu Trp  
 1325 1330 1335

ctg caa gtg gac ttc cag aag aca atg aaa gtc aca gga gta act act 4791  
 Leu Gln Val Asp Phe Gln Lys Thr Met Lys Val Thr Gly Val Thr Thr  
 1340 1345 1350

cag gga gta aaa tct ctg ctt acc agc atg tat gtg aag gag ttc ctc 4839  
 Gln Gly Val Lys Ser Leu Leu Thr Ser Met Tyr Val Lys Glu Phe Leu  
 1355 1360 1365

atc tcc agc agt caa gat ggc cat cag tgg acc ctc ttt ttt cag aat 4887  
 Ile Ser Ser Ser Gln Asp Gly His Gln Trp Thr Leu Phe Phe Gln Asn  
 1370 1375 1380 1385

ggc aaa gta aag gtt ttt cag gga aat caa gac tcc ttc aca cct gtg 4935  
 Gly Lys Val Lys Val Phe Gln Gly Asn Gln Asp Ser Phe Thr Pro Val  
 1390 1395 1400

gtg aac tct cta gac cca ccg tta ctg act cgc tac ctt cga att cac 4983  
 Val Asn Ser Leu Asp Pro Pro Leu Leu Thr Arg Tyr Leu Arg Ile His  
 1405 1410 1415

ccc cag agt tgg gtg cac cag att gcc ctg agg atg gag gtt ctg ggc 5031  
 Pro Gln Ser Trp Val His Gln Ile Ala Leu Arg Met Glu Val Leu Gly  
 1420 1425 1430

tgc gag gca cag gac ctc tac tgagcggccg cgactctact agaggatctt 5082  
 Cys Glu Ala Gln Asp Leu Tyr  
 1435 1440

tgtgaaggaa ccttacttct gtgggtgtac ataattggac aaactaccta cagagattta 5142  
 aagctctaag gtaaaatataa aatttttaag tgtataatgt gttaaactac tgattcta 5202  
 tgtttgtgtta ttttagattc caacctatgg aactgatgaa tgggagcagt ggtggaatgc 5262  
 ctttaatgag gaaaacctgt tttgctcaga agaaatgcca tctagtgtg atgaggotac 5322  
 tgctgactct caacattcta ctcctccaaa aaagaagaga aaggtagaag accccaagga 5382  
 ctttccttca gaattgctaa gtttttgag tcatgctgtg ttttagtaata gaactcttgc 5442  
 ttgccttgct atttacacca caaaggaaaa agctgcactg ctatacaaga aaattatgga 5502  
 aaaatattct gtaaccttta taagtaggca taacagttat aatcataaca tactgtttt 5562  
 tcttactcca cacaggcata gagtgtctgc tattaataac tatgctcaaa aattgtgtac 5622

cttagctt ttaatttcta aagggttaa taaggaatat ttgatgtata gtgccttgac 5682  
 tagagatcat aatcagccat accacattt tagaggtttt acttgcttta aaaaacctcc 5742  
 cacacccccc cctgaacctg aaacataaaa tgaatgcaat tttgttggta aacttggta 5802  
 ttgcagctta taatggttac aaataaagca atagcatcac aaatttcaca aataaagcat 5862  
 tttttcaact gcattctagt tgtggttgt ccaaactcat caatgtatct tatcatgtct 5922  
 gatatccccg aacgccagca agacgttagcc cagcgcgtcg gccccgagat gcgccgcgtg 5982  
 cggctgctgg agatggcgga cgcgatggat atgttctgcc aagggttggt ttgcgcattc 6042  
 acagttctcc gcaagaattt attggctcca attcttggag tggtaatcc gttagcgagg 6102  
 tgccgcctg cttcatcccc gtggcccggtt gctcgcggtt gctggcggtg tccccggaaag 6162  
 aaatatattt gcatgtctt agttctatga tgacacaaac cccgcccagc gtcttgcatt 6222  
 tggcgaattc gaacacgcag atgcagtcgg ggccggcgccg tccgaggtcc acttcgcata 6282  
 ttaaggtgac gcgtgtggcc tcgaacacccg agcgaccctg cagcgaccccg cttAACAGCG 6342  
 tcaacagcgt gcccgcagatc agcttgatata gaaaaagcct gaactcaccg cgacgtctgt 6402  
 cgagaagttt ctgatcgaaa agttcgacag cgtctccgac ctgatgcagc tctcgagggg 6462  
 cgaagaatct cgtgctttca gttcgatgt aggagggcgt ggatatgtcc tgcgggtaaa 6522  
 tagctgcgcc gatggtttct acaaagatcg ttatgtttat cggcactttg catcgccgc 6582  
 gctcccgatt ccggaaagtgc ttgacattgg ggaattcagc gagagcctga cctattgcatt 6642  
 ctccgcgt gcacagggtg tcacgttgca agacctgcct gaaaccgaac tgcccgctgt 6702  
 tctgcagccg gtcgcggagg ccatggatgc gatcgctgcg gccgatctta gccagacgag 6762  
 cgggttcggc ccattcggac cgcaaggaat cggtaatac actacatggc gtgatttcat 6822  
 atgcgcgatt gctgatcccc atgtgtatca ctggcaaact gtgatggacg acaccgtcag 6882  
 tgcgtccgtc ggcaggctc tcgatgagct gatgcttgg gccgaggact gccccgaagt 6942  
 ccggcacctc gtgcacgcgg atttcggctc caacaatgtc ctgacggaca atggccgcat 7002  
 aacagcggtc attgactgga gcgaggcgat gttcggggat tcccaatacg aggtcgccaa 7062  
 catcttcttc tggaggccgt gttggcttg tatggagcag cagacgcgt acttcgcacg 7122

gagggcatccg gagcttgcag gatcgccgag gctccggcg tatatgctcc gcattggct 7182  
 tgaccaactc tatcagagct tggttgacgg caatttcgat gatcagctt gggcgccagg 7242  
 tcgatgcgac gcaatcgcc gatccggagc cgggactgtc gggcgtacac aaatcgcccg 7302  
 cagaagcgcg gccgtctgga ccgatggctg ttagaagta ctcgcccata gtggaaaccg 7362  
 acgccccagc actcgccgg atcgggagat gggggaggct aactgaaaca cggaaaggaga 7422  
 caataccgga aggaacccgc gctatgacgg caataaaaag acagaataaa acgcacgggt 7482  
 gttgggtcgt ttgttcataa acgcggggtt cggtcccagg gctggcactc tgcataacc 7542  
 ccaccgagac cccattgggg ccaatacgcc cgcgtttctt cttttcccc accccacccc 7602  
 ccaagttcgg gtgaaggccc agggctcgca gccaacgtcg gggcggcagg ccctgcccata 7662  
 gccactggcc ccgtgggtta gggacggggtt ccccatggg gaatggttt tgggtcggtt 7722  
 gggttattat tttgggcgtt gcgtggggtc aggtccacga ctggactgag cagacagacc 7782  
 catggttttt ggatggcctg ggcattggacc gcatgtactg ggcgcacacg aacaccgggc 7842  
 gtctgtggct gccaaacacc cccgacccccc aaaaaccacc ggcgggattt ctggcggtt 7902  
 aagctggta ccctctagag cgaattaatt cactggccgt cgtttacaa cgtcgact 7962  
 gggaaaaccc tggcggttacc caacttaatc gccttgcagc acatccccct ttcgcccagct 8022  
 ggcataatag cgaagaggcc cgcaccgatc gccttccccca acagttgcgc agcctgaatg 8082  
 gcgaatggcg cctgatgcgg tattttctcc ttacgcacact gtgcggattt tcacaccgca 8142  
 tatggtgac tctcagtaca atctgctctg atgcgcata gttaagccag cccgcacacc 8202  
 cgccaaacacc cgctgacgagc ccctgacggg cttgtctgct cccggcatcc gcttacagac 8262  
 aagctgtgac cgtctccggg agctgcgtgt gtcagagggtt ttcaccgtca tcaccgaaac 8322  
 ggcgcgagacg aaagggggggg taccagttc gtagctagaa catcatgttc tgggatatca 8382  
 gcttcgttagc tagaacatca tggctggta ccccccgt gatacgccata tttttatagg 8442  
 ttaatgtcat gataataatg gtttctttaga cgtcaggtgg cactttccg ggaaatgtgc 8502  
 gcggaacccc tatttggta tttttctaaa tacattcaaa tatgtatccg ctcatgagac 8562  
 aataaccctg ataaatgctt caataatatt gaaaaaggaa gagtatgagt attcaacatt 8622

tccgtgtcgc ctttattccc tttttgcgg cattttgcct tcctgtttt gtcacccag 8682  
 aaacgctggt gaaagtaaaa gatgctgaag atcagttggg tgcacgagtg ggttacatcg 8742  
 aactggatct caacagcggt aagatcctg agagtttcg ccccaagaa cgttttccaa 8802  
 tcatgagcac ttttaaagtt ctgctatgtg gcgcggattt atcccgattt gacgcccggc 8862  
 aagagcaact cggtcgccgc atacactatt ctcagaatga cttgggtttag tactcaccag 8922  
 tcacagaaaaa gcatcttacg gatggcatga cagtaagaga attatgcagt gctgccataa 8982  
 ccatgagtga taacactgcg gccaacttac ttctgacaac gatcggagga ccgaaggagc 9042  
 taaccgcttt tttgcacaac atgggggatc atgtaactcg cttgtatcg tggaaaccgg 9102  
 agctgaatga agccatacca aacgacgagc gtgacaccac gatgcctgta gcaatggcaa 9162  
 caacgttgcg caaactatta actggcgaac tacttactct agcttccgg caacaattaa 9222  
 tagactggat ggaggcggat aaagttgcag gaccacttct gcgcctggcc cttccggctg 9282  
 gctggtttat tgctgataaa tctggagccg gtgagcgtgg gtctcgccgt atcattgcag 9342  
 cactggggcc agatggtaag ccctccgta tcgtagttat ctacacgacg gggagtcagg 9402  
 caactatgga tgaacgaaat agacagatcg ctgagatagg tgcctcactg attaagcatt 9462  
 ggttaactgtc agaccaagtt tactcatata tacttttagat tgatttaaaa cttcattttt 9522  
 aatttaaaag gatcttaggtg aagatccttt ttgataatct catgaccaaa atcccttaac 9582  
 gtgagtttc gttccactga gcgtcagacc ccgtagaaaa gatcaaagga tcttctttag 9642  
 atcctttttt tctgcgcgta atctgctgct tgcaaacaaa aaaaccaccg ctaccagcgg 9702  
 tggtttgggg gccggatcaa gagctaccaa ctctttcc gaaggtaact ggcttcagca 9762  
 gagcgcagat accaaatact gttttcttag tgttagccgt a cacttcaaga 9822  
 actctgttagc accgcctaca tacctcgctc tgctaatcct gttaccagtg gctgctgcca 9882  
 gtggcgataa gtcgtgtctt accgggttgg actcaagacg atagttacgg gataaggcgc 9942  
 agcggcggcgg ctgaacgggg gttcgtgca cacagcccag cttggagcga acgacctaca 10002  
 ccgaactgag atacctacag cgtgagctat gagaagcgc cacttccca gaaggagaaa 10062  
 aggccggacag gtatccggta agcggcaggg tcgaaacagg agagcgcacg agggagcttc 10122

cagggggaaa cgccctggtat ctttatagtc ctgtcgggtt tcgcccaccc tcgacttgagc 10182  
gtcgatttt gtgatgctcg tcaggggggc ggagcctatg gaaaaacgcc agcaacgcgg 10242  
ccttttacg gttcctggcc ttttgctggc cttttgctca catgttcttt cctgcgttat 10302  
ccccctgattc tgtggataac cgtattaccg cctttgagtg agctgataacc gctcgccgca 10362  
gccgaacgac cgagcgcagc gagtcagtga gcgaggaagc ggaagagcgc ccaatacgca 10422  
aaccgcctct ccccgcgctg tggccgattc attaatgcag ctggcacgac aggtttcccg 10482  
actggaaagc gggcagttag cgcaacgcaa ttaatgttag ttagctcact cattaggcac 10542  
cccaggctt acactttatg cttccggctc gtatgttg tggaattgtg agcggataac 10602  
aatttcacac aggaaacagc tatgaccatg attacgccaa gctctctaga gctctagagc 10662  
tctagagctc tagagagctt qcatqcctqc aqqtcq 10698

<210> 13

<211> 1459

<212> PRT

<213> künstliche Sequenz

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: pTGF8-2hyg-s

<400> 13

Met Gln Ile Glu Leu Ser Thr Cys Phe Phe Leu Cys Leu Leu Arg Phe  
-15 -10 -5

Cys Phe Ser Ala Thr Arg Arg Tyr Tyr Leu Gly Ala Val Glu Leu Ser  
           -1         1                 5                         10

Trp Asp Tyr Met Gln Ser Asp Leu Gly Glu Leu Pro Val Asp Ala Arg  
 15 20 25

Phe Pro Pro Arg Val Pro Lys Ser Phe Pro Phe Asn Thr Ser Val Val  
30 35 40 45

Tyr Lys Lys Thr Leu Phe Val Glu Phe Thr Asp His Leu Phe Asn Ile  
                  50                 55                 60

Ala Lys Pro Arg Pro Pro Trp Met Gly Leu Leu Gly Pro Thr Ile Gln  
65 70 75

Ala Glu Val Tyr Asp Thr Val Val Ile Thr Leu Lys Asn Met Ala Ser  
80 85 90

## DE 601 15 613 T2 2006.08.24

His Pro Val Ser Leu His Ala Val Gly Val Ser Tyr Trp Lys Ala Ser  
95 100 105

Glu Gly Ala Glu Tyr Asp Asp Gln Thr Ser Gln Arg Glu Lys Glu Asp  
110 115 120 125

Asp Lys Val Phe Pro Gly Gly Ser His Thr Tyr Val Trp Gln Val Leu  
130 135 140

Lys Glu Asn Gly Pro Met Ala Ser Asp Pro Leu Cys Leu Thr Tyr Ser  
145 150 155

Tyr Leu Ser His Val Asp Leu Val Lys Asp Leu Asn Ser Gly Leu Ile  
160 165 170

Gly Ala Leu Leu Val Cys Arg Glu Gly Ser Leu Ala Lys Glu Lys Thr  
175 180 185

Gln Thr Leu His Lys Phe Ile Leu Leu Phe Ala Val Phe Asp Glu Gly  
190 195 200 205

Lys Ser Trp His Ser Glu Thr Lys Asn Ser Leu Met Gln Asp Arg Asp  
210 215 220

Ala Ala Ser Ala Arg Ala Trp Pro Lys Met His Thr Val Asn Gly Tyr  
225 230 235

Val Asn Arg Ser Leu Pro Gly Leu Ile Gly Cys His Arg Lys Ser Val  
240 245 250

Tyr Trp His Val Ile Gly Met Gly Thr Thr Pro Glu Val His Ser Ile  
255 260 265

Phe Leu Glu Gly His Thr Phe Leu Val Arg Asn His Arg Gln Ala Ser  
270 275 280 285

Leu Glu Ile Ser Pro Ile Thr Phe Leu Thr Ala Gln Thr Leu Leu Met  
290 295 300

Asp Leu Gly Gln Phe Leu Leu Phe Cys His Ile Ser Ser His Gln His  
305 310 315

Asp Gly Met Glu Ala Tyr Val Lys Val Asp Ser Cys Pro Glu Glu Pro  
320 325 330

Gln Leu Arg Met Lys Asn Asn Glu Glu Ala Glu Asp Tyr Asp Asp Asp  
335 340 345

Leu Thr Asp Ser Glu Met Asp Val Val Arg Phe Asp Asp Asp Asn Ser  
350 355 360 365

Pro Ser Phe Ile Gln Ile Arg Ser Val Ala Lys Lys His Pro Lys Thr  
 370 375 380

Trp Val His Tyr Ile Ala Ala Glu Glu Glu Asp Trp Asp Tyr Ala Pro  
 385 390 395

Leu Val Leu Ala Pro Asp Asp Arg Ser Tyr Lys Ser Gln Tyr Leu Asn  
 400 405 410

Asn Gly Pro Gln Arg Ile Gly Arg Lys Tyr Lys Lys Val Arg Phe Met  
 415 420 425

Ala Tyr Thr Asp Glu Thr Phe Lys Thr Arg Glu Ala Ile Gln His Glu  
 430 435 440 445

Ser Gly Ile Leu Gly Pro Leu Leu Tyr Gly Glu Val Gly Asp Thr Leu  
 450 455 460

Leu Ile Ile Phe Lys Asn Gln Ala Ser Arg Pro Tyr Asn Ile Tyr Pro  
 465 470 475

His Gly Ile Thr Asp Val Arg Pro Leu Tyr Ser Arg Arg Leu Pro Lys  
 480 485 490

Gly Val Lys His Leu Lys Asp Phe Pro Ile Leu Pro Gly Glu Ile Phe  
 495 500 505

Lys Tyr Lys Trp Thr Val Thr Val Glu Asp Gly Pro Thr Lys Ser Asp  
 510 515 520 525

Pro Arg Cys Leu Thr Arg Tyr Tyr Ser Ser Phe Val Asn Met Glu Arg  
 530 535 540

Asp Leu Ala Ser Gly Leu Ile Gly Pro Leu Leu Ile Cys Tyr Lys Glu  
 545 550 555

Ser Val Asp Gln Arg Gly Asn Gln Ile Met Ser Asp Lys Arg Asn Val  
 560 565 570

Ile Leu Phe Ser Val Phe Asp Glu Asn Arg Ser Trp Tyr Leu Thr Glu  
 575 580 585

Asn Ile Gln Arg Phe Leu Pro Asn Pro Ala Gly Val Gln Leu Glu Asp  
 590 595 600 605

Pro Glu Phe Gln Ala Ser Asn Ile Met His Ser Ile Asn Gly Tyr Val  
 610 615 620

## DE 601 15 613 T2 2006.08.24

Phe Asp Ser Leu Gln Leu Ser Val Cys Leu His Glu Val Ala Tyr Trp  
 625 630 635  
  
 Tyr Ile Leu Ser Ile Gly Ala Gln Thr Asp Phe Leu Ser Val Phe Phe  
 640 645 650  
  
 Ser Gly Tyr Thr Phe Lys His Lys Met Val Tyr Glu Asp Thr Leu Thr  
 655 660 665  
  
 Leu Phe Pro Phe Ser Gly Glu Thr Val Phe Met Ser Met Glu Asn Pro  
 670 675 680 685  
  
 Gly Leu Trp Ile Leu Gly Cys His Asn Ser Asp Phe Arg Asn Arg Gly  
 690 695 700  
  
 Met Thr Ala Leu Leu Lys Val Ser Ser Cys Asp Lys Asn Thr Gly Asp  
 705 710 715  
  
 Tyr Tyr Glu Asp Ser Tyr Glu Asp Ile Ser Ala Tyr Leu Ser Lys  
 720 725 730  
  
 Asn Asn Ala Ile Glu Pro Arg Ser Phe Ser Gln Asn Ser Arg His Gln  
 735 740 745  
  
 Ala Tyr Arg Tyr Arg Arg Gly Glu Ile Thr Arg Thr Thr Leu Gln Ser  
 750 755 760 765  
  
 Asp Gln Glu Glu Ile Asp Tyr Asp Asp Thr Ile Ser Val Glu Met Lys  
 770 775 780  
  
 Lys Glu Asp Phe Asp Ile Tyr Asp Glu Asp Glu Asn Gln Ser Pro Arg  
 785 790 795  
  
 Ser Phe Gln Lys Lys Thr Arg His Tyr Phe Ile Ala Ala Val Glu Arg  
 800 805 810  
  
 Leu Trp Asp Tyr Gly Met Ser Ser Ser Pro His Val Leu Arg Asn Arg  
 815 820 825  
  
 Ala Gln Ser Gly Ser Val Pro Gln Phe Lys Lys Val Val Phe Gln Glu  
 830 835 840 845  
  
 Phe Thr Asp Gly Ser Phe Thr Gln Pro Leu Tyr Arg Gly Glu Leu Asn  
 850 855 860  
  
 Glu His Leu Gly Leu Leu Gly Pro Tyr Ile Arg Ala Glu Val Glu Asp  
 865 870 875  
  
 Asn Ile Met Val Thr Phe Arg Asn Gln Ala Ser Arg Pro Tyr Ser Phe  
 880 885 890

## DE 601 15 613 T2 2006.08.24

Tyr Ser Ser Leu Ile Ser Tyr Glu Glu Asp Gln Arg Gln Gly Ala Glu  
 895 900 905

Pro Arg Lys Asn Phe Val Lys Pro Asn Glu Thr Lys Thr Tyr Phe Trp  
 910 915 920 925

Lys Val Gln His His Met Ala Pro Thr Lys Asp Glu Phe Asp Cys Lys  
 930 935 940

Ala Trp Ala Tyr Phe Ser Asp Val Asp Leu Glu Lys Asp Val His Ser  
 945 950 955

Gly Leu Ile Gly Pro Leu Leu Val Cys His Thr Asn Thr Leu Asn Pro  
 960 965 970

Ala His Gly Arg Gln Val Thr Val Gln Glu Phe Ala Leu Phe Phe Thr  
 975 980 985

Ile Phe Asp Glu Thr Lys Ser Trp Tyr Phe Thr Glu Asn Met Glu Arg  
 990 995 1000 1005

Asn Cys Arg Ala Pro Cys Asn Ile Gln Met Glu Asp Pro Thr Phe Lys  
 1010 1015 1020

Glu Asn Tyr Arg Phe His Ala Ile Asn Gly Tyr Ile Met Asp Thr Leu  
 1025 1030 1035

Pro Gly Leu Val Met Ala Gln Asp Gln Arg Ile Arg Trp Tyr Leu Leu  
 1040 1045 1050

Ser Met Gly Ser Asn Glu Asn Ile His Ser Ile His Phe Ser Gly His  
 1055 1060 1065

Val Phe Thr Val Arg Lys Lys Glu Glu Tyr Lys Met Ala Leu Tyr Asn  
 070 1075 1080 1085

Leu Tyr Pro Gly Val Phe Glu Thr Val Glu Met Leu Pro Ser Lys Ala  
 1090 1095 1100

Gly Ile Trp Arg Val Glu Cys Leu Ile Gly Glu His Leu His Ala Gly  
 1105 1110 1115

Met Ser Thr Leu Phe Leu Val Tyr Ser Asn Lys Cys Gln Thr Pro Leu  
 1120 1125 1130

Gly Met Ala Ser Gly His Ile Arg Asp Phe Gln Ile Thr Ala Ser Gly  
 1135 1140 1145

## DE 601 15 613 T2 2006.08.24

Gln Tyr Gly Gln Trp Ala Pro Lys Leu Ala Arg Leu His Tyr Ser Gly  
 150 1155 1160 1165  
  
 Ser Ile Asn Ala Trp Ser Thr Lys Glu Pro Phe Ser Trp Ile Lys Val  
 1170 1175 1180  
  
 Asp Leu Leu Ala Pro Met Ile Ile His Gly Ile Lys Thr Gln Gly Ala  
 1185 1190 1195  
  
 Arg Gln Lys Phe Ser Ser Leu Tyr Ile Ser Gln Phe Ile Ile Met Tyr  
 1200 1205 1210  
  
 Ser Leu Asp Gly Lys Lys Trp Gln Thr Tyr Arg Gly Asn Ser Thr Gly  
 1215 1220 1225  
  
 Thr Leu Met Val Phe Phe Gly Asn Val Asp Ser Ser Gly Ile Lys His  
 230 1235 1240 1245  
  
 Asn Ile Phe Asn Pro Pro Ile Ile Ala Arg Tyr Ile Arg Leu His Pro  
 1250 1255 1260  
  
 Thr His Tyr Ser Ile Arg Ser Thr Leu Arg Met Glu Leu Met Gly Cys  
 1265 1270 1275  
  
 Asp Leu Asn Ser Cys Ser Met Pro Leu Gly Met Glu Ser Lys Ala Ile  
 1280 1285 1290  
  
 Ser Asp Ala Gln Ile Thr Ala Ser Ser Tyr Phe Thr Asn Met Phe Ala  
 1295 1300 1305  
  
 Thr Trp Ser Pro Ser Lys Ala Arg Leu His Leu Gln Gly Arg Ser Asn  
 310 1315 1320 1325  
  
 Ala Trp Arg Pro Gln Val Asn Asn Pro Lys Glu Trp Leu Gln Val Asp  
 1330 1335 1340  
  
 Phe Gln Lys Thr Met Lys Val Thr Gly Val Thr Thr Gln Gly Val Lys  
 1345 1350 1355  
  
 Ser Leu Leu Thr Ser Met Tyr Val Lys Glu Phe Leu Ile Ser Ser Ser  
 1360 1365 1370  
  
 Gln Asp Gly His Gln Trp Thr Leu Phe Phe Gln Asn Gly Lys Val Lys  
 1375 1380 1385  
  
 Val Phe Gln Gly Asn Gln Asp Ser Phe Thr Pro Val Val Asn Ser Leu  
 390 1395 1400 1405  
  
 Asp Pro Pro Leu Leu Thr Arg Tyr Leu Arg Ile His Pro Gln Ser Trp  
 1410 1415 1420

Val His Gln Ile Ala Leu Arg Met Glu Val Leu Gly Cys Glu Ala Gln  
1425 1430 1435  
Asp Leu Tyr  
1440

<210> 14  
<211> 10698  
<212> DNA  
<213> künstliche Sequenz

<220>  
<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: pTGF8-3

<220>  
<221> CDS  
<222> (676)..(5052)

<220>  
<221> mat-Peptid  
<222> (733)..(5052)

<400> 14  
cgcgttgaca ttgattattg actagttatt aatagtaatc aattacgggg tcattagttc 60  
atagccata tatggagttc cgcgttacat aacttacggt aaatggcccg cctggctgac 120  
cgcccaacga ccccccggcca ttgacgtcaa taatgacgta tgttccata gtaacgccaa 180  
tagggacttt ccattgacgt caatgggtgg agtatttacg gttaaactgcc cacttggcag 240  
tacatcaagt gtatcatatg ccaagtacgc cccctattga cgtcaatgac ggtaaatggc 300  
ccgcctggca ttatgcccag tacatgacccct tatggactt tcctacttgg cagtacatct 360  
acgtatttagt catcgctatt accatggta tgccgttttgc gcaatgtcg aatgggcgtg 420  
gatacggtt tgactcacgg ggatttccaa gtctccaccc cattgacgta aatgggagtt 480  
tgtttggca ccaaaatcaa cgggactttc caaaatgtcg taacaactcc gccccattga 540  
cgcaaatggg cggtaggcgt gtacgggtgg aggtctataat aagcagagct ctctggctaa 600  
ctagagaacc cactgcttac tggcttatcg aaattaatac gactcactat agggagaccc 660

## DE 601 15 613 T2 2006.08.24

aagcttgacc tcgag atg caa ata gag ctc tcc acc tgc ttc ttt ctg tgc	711		
Met Gln Ile Glu Leu Ser Thr Cys Phe Phe Leu Cys			
-15	-10		
ctt ttg cga ttc tgc ttt agt gcc acc aga aga tac tac ctg ggt gca	759		
Leu Leu Arg Phe Cys Phe Ser Ala Thr Arg Arg Tyr Tyr Leu Gly Ala			
-5	-1	1	5
gtg gaa ctg tca tgg gac tat atg caa agt gat ctc ggt gag ctg cct	807		
Val Glu Leu Ser Trp Asp Tyr Met Gln Ser Asp Leu Gly Glu Leu Pro			
10	15	20	25
gtg gac gca aga ttt cct cct aga gtg cca aaa tct ttt cca ttc aac	855		
Val Asp Ala Arg Phe Pro Pro Arg Val Pro Lys Ser Phe Pro Phe Asn			
30	35	40	
acc tca gtc gtg tac aaa aag act ctg ttt gta gaa ttc acg gat cac	903		
Thr Ser Val Val Tyr Lys Lys Thr Leu Phe Val Glu Phe Thr Asp His			
45	50	55	
ctt ttc aac atc gct aag cca agg cca ccc tgg atg ggt ctg cta ggt	951		
Leu Phe Asn Ile Ala Lys Pro Arg Pro Pro Trp Met Gly Leu Leu Gly			
60	65	70	
cct acc atc cag gct gag gtt tat gat aca gtg gtc att aca ctt aag	999		
Pro Thr Ile Gln Ala Glu Val Tyr Asp Thr Val Val Ile Thr Leu Lys			
75	80	85	
aac atg gct tcc cat cct gtc agt ctt cat gct gtt ggt gta tcc tac	1047		
Asn Met Ala Ser His Pro Val Ser Leu His Ala Val Gly Val Ser Tyr			
90	95	100	105
tgg aaa gct tct gag gga gct gaa tat gat gat cag acc agt caa agg	1095		
Trp Lys Ala Ser Glu Gly Ala Glu Tyr Asp Asp Gln Thr Ser Gln Arg			
110	115	120	
gag aaa gaa gat gat aaa gtc ttc cct ggt gga agc cat aca tat gtc	1143		
Glu Lys Glu Asp Asp Lys Val Phe Pro Gly Gly Ser His Thr Tyr Val			
125	130	135	
tgg cag gtc ctg aaa gag aat ggt cca atg gcc tct gac cca ctg tgc	1191		
Trp Gln Val Leu Lys Glu Asn Gly Pro Met Ala Ser Asp Pro Leu Cys			
140	145	150	
ctt acc tac tca tat ctt tct cat gcg gac ctg gta aaa gac ttg aat	1239		
Leu Thr Tyr Ser Tyr Leu Ser His Ala Asp Leu Val Lys Asp Leu Asn			
155	160	165	

## DE 601 15 613 T2 2006.08.24

tca ggc ctc att gga gcc cta cta gta tgt aga gaa ggg agt ctg gcc	1287
Ser Gly Leu Ile Gly Ala Leu Leu Val Cys Arg Glu Gly Ser Leu Ala	
170 175 180 185	
aag gaa aag aca cag acc ttg cac aaa ttt ata cta ctt ttt gct gta	1335
Lys Glu Lys Thr Gln Thr Leu His Lys Phe Ile Leu Leu Phe Ala Val	
190 195 200	
ttt gat gaa ggg aaa agt tgg cac tca gaa aca aag aac tcc ttg atg	1383
Phe Asp Glu Gly Lys Ser Trp His Ser Glu Thr Lys Asn Ser Leu Met	
205 210 215	
cag gat agg gat gct gca tct gct cgg gcc tgg cct aaa atg cac aca	1431
Gln Asp Arg Asp Ala Ala Ser Ala Arg Ala Trp Pro Lys Met His Thr	
220 225 230	
gtc aat ggt tat gta aac agg tct ctg cca ggt ctg att gga tgc cac	1479
Val Asn Gly Tyr Val Asn Arg Ser Leu Pro Gly Leu Ile Gly Cys His	
235 240 245	
agg aaa tca gtc tat tgg cat gtg att gga atg ggc acc act cct gaa	1527
Arg Lys Ser Val Tyr Trp His Val Ile Gly Met Gly Thr Thr Pro Glu	
250 255 260 265	
gtg cac tca ata ttc ctc gaa ggt cac aca ttt ctt gtg agg aac cat	1575
Val His Ser Ile Phe Leu Glu Gly His Thr Phe Leu Val Arg Asn His	
270 275 280	
cgc cag gcg tcc ttg gaa atc tcg cca ata act ttc ctt act gct caa	1623
Arg Gln Ala Ser Leu Glu Ile Ser Pro Ile Thr Phe Leu Thr Ala Gln	
285 290 295	
aca ctc ttg atg gac ctt gga cag ttt cta ctg ttt tgt cat atc tct	1671
Thr Leu Leu Met Asp Leu Gly Gln Phe Leu Leu Phe Cys His Ile Ser	
300 305 310	
tcc cac caa cat gat ggc atg gaa gct tat gtc aaa gta gac agc tgt	1719
Ser His Gln His Asp Gly Met Glu Ala Tyr Val Lys Val Asp Ser Cys	
315 320 325	
cca gag gaa ccc caa cta cga atg aaa aat aat gaa gaa gcg gaa gac	1767
Pro Glu Glu Pro Gln Leu Arg Met Lys Asn Asn Glu Glu Ala Glu Asp	
330 335 340 345	
tat gat gat gat ctt act gat tct gaa atg gat gtg gtc agg ttt gat	1815
Tyr Asp Asp Asp Leu Thr Asp Ser Glu Met Asp Val Val Arg Phe Asp	
350 355 360	

## DE 601 15 613 T2 2006.08.24

gat gac aac tct cct tcc ttt atc caa att cgc tca gtt gcc aag aag	365	370	375	1863
Asp Asp Asn Ser Pro Ser Phe Ile Gln Ile Arg Ser Val Ala Lys Lys				
cat cct aaa act tgg gta cat tac att gct gct gaa gag gag gac tgg	380	385	390	1911
His Pro Lys Thr Trp Val His Tyr Ile Ala Ala Glu Glu Glu Asp Trp				
gac tat gct ccc tta gtc ctc gcc ccc gat gac aga agt tat aaa agt	395	400	405	1959
Asp Tyr Ala Pro Leu Val Leu Ala Pro Asp Asp Arg Ser Tyr Lys Ser				
caa tat ttg aac aat ggc cct cag cgg att ggt agg aag tac aaa aaa	410	415	420	2007
Gln Tyr Leu Asn Asn Gly Pro Gln Arg Ile Gly Arg Lys Tyr Lys Lys				
gtc cga ttt atg gca tac aca gat gaa acc ttt aag act cgt gaa gct	430	435	440	2055
Val Arg Phe Met Ala Tyr Thr Asp Glu Thr Phe Lys Thr Arg Glu Ala				
att cag cat gaa tca gga atc ttg gga cct tta ctt tat ggg gaa gtt	445	450	455	2103
Ile Gln His Glu Ser Gly Ile Leu Gly Pro Leu Leu Tyr Gly Glu Val				
gga gac aca ctg ttg att ata ttt aag aat caa gca agc aga cca tat	460	465	470	2151
Gly Asp Thr Leu Leu Ile Ile Phe Lys Asn Gln Ala Ser Arg Pro Tyr				
aac atc tac cct cac gga atc act gat gtc cgt cct ttg tat tca agg	475	480	485	2199
Asn Ile Tyr Pro His Gly Ile Thr Asp Val Arg Pro Leu Tyr Ser Arg				
aga tta cca aaa ggt gta aaa cat ttg aag gat ttt cca att ctg cca	490	495	500	2247
Arg Leu Pro Lys Gly Val Lys His Leu Lys Asp Phe Pro Ile Leu Pro				
gga gaa ata ttc aaa tat aaa tgg aca gtg act gta gaa gat ggg cca	510	515	520	2295
Gly Glu Ile Phe Lys Tyr Lys Trp Thr Val Thr Val Glu Asp Gly Pro				
act aaa tca gat cct cgg tgc ctg acc cgc tat tac tct agt ttc gtt	525	530	535	2343
Thr Lys Ser Asp Pro Arg Cys Leu Thr Arg Tyr Tyr Ser Ser Phe Val				
aat atg gag aga gat cta gct tca gga ctc att ggc cct ctc ctc atc	540	545	550	2391
Asn Met Glu Arg Asp Leu Ala Ser Gly Leu Ile Gly Pro Leu Leu Ile				

## DE 601 15 613 T2 2006.08.24

tgc tac aaa gaa tct gta gat caa aga gga aac cag ata atg tca gac	555	560	565	2439
Cys Tyr Lys Glu Ser Val Asp Gln Arg Gly Asn Gln Ile Met Ser Asp				
aag agg aat gtc atc ctg ttt tct gta ttt gat gag aac cga agc tgg	570	575	580	2487
Lys Arg Asn Val Ile Leu Phe Ser Val Phe Asp Glu Asn Arg Ser Trp				
tac ctc aca gag aat ata caa cgc ttt ctc ccc aat cca gct gga gtg	590	595	600	2535
Tyr Leu Thr Glu Asn Ile Gln Arg Phe Leu Pro Asn Pro Ala Gly Val				
cag ctt gag gat cca gag ttc caa gcc tcc aac atc atg cac agc atc	605	610	615	2583
Gln Leu Glu Asp Pro Glu Phe Gln Ala Ser Asn Ile Met His Ser Ile				
aat ggc tat gtt ttt gat agt ttg cag ttg tca gtt tgt ttg cat gag	620	625	630	2631
Asn Gly Tyr Val Phe Asp Ser Leu Gln Leu Ser Val Cys Leu His Glu				
gtg gca tac tgg tac att cta agc att gga gca cag act gac ttc ctt	635	640	645	2679
Val Ala Tyr Trp Tyr Ile Leu Ser Ile Gly Ala Gln Thr Asp Phe Leu				
tct gtc ttc ttc tct gga tat acc ttc aaa cac aaa atg gtc tat gaa	650	655	660	2727
Ser Val Phe Phe Ser Gly Tyr Thr Phe Lys His Lys Met Val Tyr Glu				
gac aca ctc acc cta ttc cca ttc tca gga gaa act gtc ttc atg tcg	670	675	680	2775
Asp Thr Leu Thr Leu Phe Pro Phe Ser Gly Glu Thr Val Phe Met Ser				
atg gaa aac cca ggt cta tgg att ctg ggg tgc cac aac tca gac ttt	685	690	695	2823
Met Glu Asn Pro Gly Leu Trp Ile Leu Gly Cys His Asn Ser Asp Phe				
cgg aac aga ggc atg acc gcc tta ctg aag gtt tct agt tgt gac aag	700	705	710	2871
Arg Asn Arg Gly Met Thr Ala Leu Leu Lys Val Ser Ser Cys Asp Lys				
aac act ggt gat tat tac gag gac agt tat gaa gat att tca gca tac	715	720	725	2919
Asn Thr Gly Asp Tyr Tyr Glu Asp Ser Tyr Glu Asp Ile Ser Ala Tyr				
ttg ctg agt aaa aac aat gcc att gaa cca aga agc ttc tcc cag aat	730	735	740	2967
Leu Leu Ser Lys Asn Asn Ala Ile Glu Pro Arg Ser Phe Ser Gln Asn				
745				

## DE 601 15 613 T2 2006.08.24

tca aga cat caa gct tat cga tac cgt cga ggg gaa ata act cgt act	750	755	760	3015
Ser Arg His Gln Ala Tyr Arg Tyr Arg Gly Glu Ile Thr Arg Thr				
act ctt cag tca gat caa gag gaa att gac tat gat gat acc ata tca	765	770	775	3063
Thr Leu Gln Ser Asp Gln Glu Glu Ile Asp Tyr Asp Asp Thr Ile Ser				
gtt gaa atg aag aag gaa gat ttt gac att tat gat gag gat gaa aat	780	785	790	3111
Val Glu Met Lys Lys Glu Asp Phe Asp Ile Tyr Asp Glu Asp Glu Asn				
cag agc ccc cgc agc ttt caa aag aaa aca cga cac tat ttt att gct	795	800	805	3159
Gln Ser Pro Arg Ser Phe Gln Lys Lys Thr Arg His Tyr Phe Ile Ala				
gca gtg gag agg ctc tgg gat tat ggg atg agt agc tcc cca cat gtt	810	815	820	3207
Ala Val Glu Arg Leu Trp Asp Tyr Gly Met Ser Ser Ser Pro His Val				
cta aga aac agg gct cag agt ggc agt gtc cct cag ttc aag aaa gtt	830	835	840	3255
Leu Arg Asn Arg Ala Gln Ser Gly Ser Val Pro Gln Phe Lys Lys Val				
gtt ttc cag gaa ttt act gat ggc tcc ttt act cag ccc tta tac cgt	845	850	855	3303
Val Phe Gln Glu Phe Thr Asp Gly Ser Phe Thr Gln Pro Leu Tyr Arg				
gga gaa cta aat gaa cat ttg gga ctc ctg ggg cca tat ata aga gca	860	865	870	3351
Gly Glu Leu Asn Glu His Leu Gly Leu Leu Gly Pro Tyr Ile Arg Ala				
gaa gtt gaa gat aat atc atg gta act ttc aga aat cag gcc tct cgt	875	880	885	3399
Glu Val Glu Asp Asn Ile Met Val Thr Phe Arg Asn Gln Ala Ser Arg				
ccc tat tcc ttc tat tct agc ctt att tct tat gag gaa gat cag agg	890	895	900	3447
Pro Tyr Ser Phe Tyr Ser Ser Leu Ile Ser Tyr Glu Glu Asp Gln Arg				
caa gga gca gaa cct aga aaa aac ttt gtc aag cct aat gaa acc aaa	910	915	920	3495
Gln Gly Ala Glu Pro Arg Lys Asn Phe Val Lys Pro Asn Glu Thr Lys				
act tac ttt tgg aaa gtg caa cat cat atg gca ccc act aaa gat gag	925	930	935	3543
Thr Tyr Phe Trp Lys Val Gln His His Met Ala Pro Thr Lys Asp Glu				

## DE 601 15 613 T2 2006.08.24

ttt gac tgc aaa gcc tgg gct tat ttc tct gat gtt gac ctg gaa aaa	940	945	950	3591
Phe Asp Cys Lys Ala Trp Ala Tyr Phe Ser Asp Val Asp Leu Glu Lys				
gat gtg cac tca ggc ctg att gga ccc ctt ctg gtc tgc cac act aac	955	960	965	3639
Asp Val His Ser Gly Leu Ile Gly Pro Leu Leu Val Cys His Thr Asn				
aca ctg aac cct gct cat ggg aga caa gtg aca gta cag gaa ttt gct	970	975	980	3687
Thr Leu Asn Pro Ala His Gly Arg Gln Val Thr Val Gln Glu Phe Ala				
ctg ttt ttc acc atc ttt gat gag acc aaa agc tgg tac ttc act gaa	990	995	1000	3735
Leu Phe Phe Thr Ile Phe Asp Glu Thr Lys Ser Trp Tyr Phe Thr Glu				
aat atg gaa aga aac tgc agg gct ccc tgc aat atc cag atg gaa gat	1005	1010	1015	3783
Asn Met Glu Arg Asn Cys Arg Ala Pro Cys Asn Ile Gln Met Glu Asp				
ccc act ttt aaa gag aat tat cgc ttc cat gca atc aat ggc tac ata	1020	1025	1030	3831
Pro Thr Phe Lys Glu Asn Tyr Arg Phe His Ala Ile Asn Gly Tyr Ile				
atg gat aca cta cct ggc tta gta atg gct cag gat caa agg att cga	1035	1040	1045	3879
Met Asp Thr Leu Pro Gly Leu Val Met Ala Gln Asp Gln Arg Ile Arg				
tgg tat ctg ctc agc atg ggc agc aat gaa aac atc cat tct att cat	1050	1055	1060	3927
Trp Tyr Leu Leu Ser Met Gly Ser Asn Glu Asn Ile His Ser Ile His				
ttc agt gga cat gtg ttc act gta cga aaa aaa gag gag tat aaa atg	1070	1075	1080	3975
Phe Ser Gly His Val Phe Thr Val Arg Lys Lys Glu Glu Tyr Lys Met				
gca ctg tac aat ctc tat cca ggt gtt ttt gag aca gtg gaa atg tta	1085	1090	1095	4023
Ala Leu Tyr Asn Leu Tyr Pro Gly Val Phe Glu Thr Val Glu Met Leu				
cca tcc aaa gct gga att tgg cgg gtg gaa tgc ctt att ggc gag cat	1100	1105	1110	4071
Pro Ser Lys Ala Gly Ile Trp Arg Val Glu Cys Leu Ile Gly Glu His				
cta cat gct ggg atg agc aca ctt ttt ctg gtg tac agc aat aag tgt	1115	1120	1125	4119
Leu His Ala Gly Met Ser Thr Leu Phe Leu Val Tyr Ser Asn Lys Cys				

## DE 601 15 613 T2 2006.08.24

cag act ccc ctg gga atg gct tct gga cac att aga gat ttt cag att			4167
Gln Thr Pro Leu Gly Met Ala Ser Gly His Ile Arg Asp Phe Gln Ile			
1130	1135	1140	1145
aca gct tca gga caa tat gga cag tgg gcc cca aag ctg gcc aga ctt			4215
Thr Ala Ser Gly Gln Tyr Gly Gln Trp Ala Pro Lys Leu Ala Arg Leu			
1150	1155	1160	
cat tat tcc gga tca atc aat gcc tgg agc acc aag gag ccc ttt tct			4263
His Tyr Ser Gly Ser Ile Asn Ala Trp Ser Thr Lys Glu Pro Phe Ser			
1165	1170	1175	
tgg atc aag gtg gat ctg ttg gca cca atg att att cac ggc atc aag			4311
Trp Ile Lys Val Asp Leu Leu Ala Pro Met Ile Ile His Gly Ile Lys			
1180	1185	1190	
acc cag ggt gcc cgt cag aag ttc tcc agc ctc tac atc tct cag ttt			4359
Thr Gln Gly Ala Arg Gln Lys Phe Ser Ser Leu Tyr Ile Ser Gln Phe			
1195	1200	1205	
atc atc atg tat agt ctt gat ggg aag aag tgg cag act tat cga gga			4407
Ile Ile Met Tyr Ser Leu Asp Gly Lys Lys Trp Gln Thr Tyr Arg Gly			
1210	1215	1220	1225
aat tcc act gga acc tta atg gtc ttc ttt ggc aat gtg gat tca tct			4455
Asn Ser Thr Gly Thr Leu Met Val Phe Phe Gly Asn Val Asp Ser Ser			
1230	1235	1240	
ggg ata aaa cac aat att ttt aac cct cca att att gct cga tac atc			4503
Gly Ile Lys His Asn Ile Phe Asn Pro Pro Ile Ile Ala Arg Tyr Ile			
1245	1250	1255	
cgt ttg cac cca act cat tat agc att cgc agc act ctt cgc atg gag			4551
Arg Leu His Pro Thr His Tyr Ser Ile Arg Ser Thr Leu Arg Met Glu			
1260	1265	1270	
ttg atg ggc tgt gat tta aat agt tgc agc atg cca ttg gga atg gag			4599
Leu Met Gly Cys Asp Leu Asn Ser Cys Ser Met Pro Leu Gly Met Glu			
1275	1280	1285	
agt aaa gca ata tca gat gca cag att act gct tca tcc tac ttt acc			4647
Ser Lys Ala Ile Ser Asp Ala Gln Ile Thr Ala Ser Ser Tyr Phe Thr			
1290	1295	1300	1305
aat atg ttt gcc acc tgg tct cct tca aaa gct cga ctt cac ctc caa			4695
Asn Met Phe Ala Thr Trp Ser Pro Ser Lys Ala Arg Leu His Leu Gln			
1310	1315	1320	

## DE 601 15 613 T2 2006.08.24

ggg agg agt aat gcc tgg aga cct cag gag aat aat cca aaa gag tgg	4743
Gly Arg Ser Asn Ala Trp Arg Pro Gln Glu Asn Asn Pro Lys Glu Trp	
1325 1330 1335	
ctg caa gtg gac ttc cag aag aca atg aaa gtc aca gga gta act act	4791
Leu Gln Val Asp Phe Gln Lys Thr Met Lys Val Thr Gly Val Thr Thr	
1340 1345 1350	
cag gga gta aaa tct ctg ctt acc agc atg tat gtg aag gag ttc ctc	4839
Gln Gly Val Lys Ser Leu Leu Thr Ser Met Tyr Val Lys Glu Phe Leu	
1355 1360 1365	
atc tcc agc agt caa gat ggc cat cag tgg acc ctc ttt ttt cag aat	4887
Ile Ser Ser Ser Gln Asp Gly His Gln Trp Thr Leu Phe Phe Gln Asn	
1370 1375 1380 1385	
ggc aaa gta aag gtt ttt cag gga aat caa gac tcc ttc aca cct gtg	4935
Gly Lys Val Lys Val Phe Gln Gly Asn Gln Asp Ser Phe Thr Pro Val	
1390 1395 1400	
gtg aac tct cta gac cca ccg tta ctg act cgc tac ctt cga att cac	4983
Val Asn Ser Leu Asp Pro Pro Leu Leu Thr Arg Tyr Leu Arg Ile His	
1405 1410 1415	
ccc cag agt tgg gtg cac cag att gcc ctg agg atg gag gtt ctg ggc	5031
Pro Gln Ser Trp Val His Gln Ile Ala Leu Arg Met Glu Val Leu Gly	
1420 1425 1430	
tgc gag gca cag gac ctc tac tgagcggccg cgactctact agaggatctt	5082
Cys Glu Ala Gln Asp Leu Tyr	
1435 1440	
tgtgaaggaa ccttacttct gtgggtgtac ataattggac aaactaccta cagagattta	5142
aagctctaag gtaaaatataa aatttttaag tgtataatgt gttaaactac tgattcta	5202
tgttgtgtta ttttagattc caacctatgg aactgatgaa tgggagcagt ggtggatgc	5262
ctttaatgag gaaaacctgt tttgctcaga agaaatgcc tctagtgtg atgaggctac	5322
tgctgactct caacattcta ctcctccaaa aaagaagaga aaggtagaag accccaagga	5382
ctttccttca gaattgctaa gtttttgag tcatgctgtg ttttagtaata gaactcttgc	5442
ttgctttgct atttacacca caaaggaaaa agctgcactg ctataacaaga aaattatgga	5502
aaaatattct gtaaccttta taagtaggca taacagttat aatcataaca tactgtttt	5562
tcttactcca cacaggcata gagtgtctgc tattaataac tatgctcaaa aattgtgtac	5622

cttagctt ttaatttcta aagggttaa taaggaatat ttgatgtata gtgccttgac 5682  
 tagagatcat aatcagccat accacattt tagaggtttt acttgcttta aaaaacctcc 5742  
 cacacccccc cctgaacctg aaacataaaa tgaatgcaat tgggttttt aacttgttta 5802  
 ttgcagctta taatggttac aaataaagca atagcatcac aaatttcaca aataaagcat 5862  
 tttttcaact gcattctagt tgtggttgt ccaaactcat caatgtatct tatcatgtct 5922  
 ggatcccccg aacgccagca agacgttagcc cagcgcgtcg gccccgagat gcgccgcgtg 5982  
 cggctgctgg agatggcgga cgcgatggat atgttctgcc aagggttggt ttgcgcattc 6042  
 acagttctcc gcaagaattt attggctcca attcttggag tggtaatcc gttagcgagg 6102  
 tgccgcctg cttcatcccc gtggcccggtt gctcgcggtt gctggcggtg tccccggaag 6162  
 aaatatattt gcatgtctt agttctatga tgacacaaac cccgcccagc gtcttgcatt 6222  
 tggcgaattc gaacacgcag atgcagtcgg ggccggcgcc tccgaggtcc acttcgcata 6282  
 ttaaggtgac gcgtgtggcc tcgaacacccg agcgaccctg cagcgacccg cttAACAGCG 6342  
 tcaacagcgt gccgcagatc agcttgatat gaaaaagcct gaactcaccg cgacgtctgt 6402  
 cgagaagttt ctgatcgaaa agttcgacag cgtctccgac ctgatgcagc tctcgaggg 6462  
 cgaagaatct cgtgctttca gttcgatgt aggagggcgt ggatatgtcc tgcgggtaaa 6522  
 tagctgcgcc gatggtttct acaaagatcg ttatgtttat cggcactttg catcgccgc 6582  
 gctcccgatt ccggaagtgc ttgacattgg ggaattcagc gagagcctga cctattgcat 6642  
 ctccgcgt gcacagggtg tcacgttgca agacctgcct gaaaccgaac tgcccgctgt 6702  
 tctgcagccg gtcgcggagg ccatggatgc gatcgctgcg gccgatctt aCCAGACGAG 6762  
 cgggttcggc ccattcgac cgcaaggaat cggtaatac actacatggc gtgatttcat 6822  
 atgcgcgatt gctgatcccc atgtgtatca ctggcaaact gtgatggacg acaccgtcag 6882  
 tgcgtccgtc gcgcaggctc tcgatgagct gatgcttgg gccgaggact gccccgaagt 6942  
 ccggcacctc gtgcacgcgg atttcggctc caacaatgtc ctgacggaca atggccgcatt 7002  
 aacagcggtc attgactgga gcgaggcgat gttcggggat tcccaatacg aggtcgccaa 7062  
 catcttcttc tggaggccgt gttggctt gatggagcag cagacgcgt acttcgagcgt 7122

gaggcatccg gagcttgcag gatcgcccg gctccggcg tatatgctcc gcattggct 7182  
tgaccaactc taticagagct tggttgacgg caatttcgat gatgcagctt gggcgcaggg 7242  
tcgatgcgac gcaatcgtcc gatccggagc cgggactgtc gggcgtacac aaatcgcccg 7302  
cagaagcgcg gccgtctgga ccgatggctg tgtagaagta ctcgcccata gtggaaaccg 7362  
acgccccagc actcgccccgg atcgggagat gggggaggct aactgaaaca cggaaaggaga 7422  
caataccgga aggaacccgc gctatgacgg caataaaaag acagaataaa acgcacgggt 7482  
gttgggtcgt ttgttcataa acgcggggtt cggtcccagg gctggcactc tgtcgatacc 7542  
ccaccgagac cccattgggg ccaatacggc cgcggttctt cctttcccc accccacccc 7602  
ccaagttcgg gtgaaggccc agggctcgca gccaacgtcg gggcggcagg ccctgccata 7662  
gccactggcc ccgtgggtta gggacggggt ccccatggg gaatggtttta tggttcgtgg 7722  
gggttattat tttgggcgtt gcgtggggtc aggtccacga ctggactgag cagacagacc 7782  
catggttttt ggtatggcctg ggcattggacc gcatgtactg gcgacacacg aacaccggc 7842  
gtctgtggct gccaaacacc cccgacccccc aaaaaccacc gcgccggattt ctggcgtgcc 7902  
aagctggta ccctctagag cgaattaatt cactggccgt cgtttacaa cgtcgtgact 7962  
gggaaaaccc tggcggttacc caacttaatc gccttgcagc acatccccct ttgcgcagct 8022  
ggcgtaatag cgaagaggcc cgcaccgatc gccttccccca acagttgcgc agcctgaatg 8082  
gcgaatggcg cctgatgcgg tattttctcc ttacgcacatct gtgcggattt tcacaccgca 8142  
tatggtgcac tctcagtaca atctgctctg atgccgcata gttaaaggccag ccccgacacc 8202  
cgccaaacacc cgctgacgcg ccctgacggg cttgtctgct cccggcatcc gcttacagac 8262  
aagctgtgac cgtctccggg agctgcacgt gtcagaggtt ttcaccgtca tcaccgaaac 8322  
gcgcgagacg aaagggggggg taccagcttc gtagctagaa catcatgttc tgggatata 8382  
gcttcgttagc tagaacatca tgttctggta ccccccctcgat gatacgccta tttttatagg 8442  
ttaatgtcat gataataatg gtttctttaga cgtcaggtgg cactttcgg ggaaatgtgc 8502  
gcggaaacccc tatttggta tttttctaaa tacattcaaa tatgtatccg ctcatgagac 8562  
aataaccctg ataaatgctt caataatatt gaaaaaggaa gagtatgagt attcaacatt 8622

tccgtgtcgc ctttattccc tttttgcgg cattttgcct tcctgtttt gtcacccag 8682  
 aaacgctggt gaaagtaaaa gatgctgaag atcagttggg tgcacgagtg ggttacatcg 8742  
 aactggatct caacagcggt aagatcctt agagtttcg cccgaagaa cgtttccaa 8802  
 tcatgagcac ttttaaagtt ctgctatgtg gcgcggattt atcccgattt gacgcccggc 8862  
 aagagcaact cggtcgccgc atacactatt ctcagaatga cttggtttag tactcaccag 8922  
 tcacagaaaa gcatcttacg gatggcatga cagtaagaga attatgcagt gctgccataa 8982  
 ccatgagtga taacactgctg gccaacttac ttctgacaac gatcggagga ccgaaggagc 9042  
 taaccgctt tttgcacaac atgggggatc atgttaactcg ctttgatcgt tgggaaccgg 9102  
 agctgaatga agccatacca aacgacgagc gtgacaccac gatgcctgta gcaatggcaa 9162  
 caacggtgcg caaactatta actggcgaac tacttactct agcttccgg caacaattaa 9222  
 tagactggat ggaggcggat aaagttgcag gaccacttct gcgcctggcc ctccggctg 9282  
 gctggtttat tgctgataaa tctggagccg gtgagcgtgg gtctcggtt atcattgcag 9342  
 cactggggcc agatggtaag ccctcccgta tcgtagttat ctacacgacg gggagtcagg 9402  
 caactatgga tgaaacgaaat agacagatcg ctgagatagg tgcctcactg attaagcatt 9462  
 ggtaactgtc agaccaagtt tactcatata tacttttagat tgatttaaaa cttcattttt 9522  
 aatttaaaag gatcttaggtg aagatcctt ttgataatct catgaccaaa atcccttaac 9582  
 gtgagtttc gttccactga gcgtcagacc ccgtagaaaa gatcaaagga tcttctttag 9642  
 atcccttttt tctgcgcgta atctgctgct tgcaaacaaa aaaaccaccg ctaccagcgg 9702  
 tggtttgggg gccggatcaa gagctaccaa ctcttttcc gaaggtaact ggcttcagca 9762  
 gagcgcagat accaaatact gttcttctag tgttagccgta gttaggccac cacttcaaga 9822  
 actctgtac accgcctaca tacctcgctc tgctaattct gttaccagtg gctgctgcca 9882  
 gtggcgataa gtcgtgtctt accgggttgg actcaagacg atagttaccg gataaggcgc 9942  
 agcggtcggg ctgaacgggg gttcgtgca cacagccag cttggagcga acgacctaca 10002  
 ccgaactgag atacctacag cgtgagctat gagaagcgc cacgcttccc gaagggagaa 10062  
 aggccggacag gtatccggta agcggcaggg tcggaacagg agagcgcacg agggagcttc 10122

caggggaaa cgcctggat cttatagtc ctgtcggtt tcgccaccc tgacttgagc 10182  
 gtcgatttt gtgatgctcg tcagggggc ggagcctatg gaaaaacgcc agcaacgcgg 10242  
 ccttttacg gttcctggcc ttttgcgtgc ctttgctca catgttcttt cctgcgttat 10302  
 cccctgattc tgtggataac cgtattaccg cctttgagtg agctgatacc gctcgccgca 10362  
 gccgaacgac cgagcgcagc gagtcagtga gcgaggaagc ggaagagcgc ccaatacgca 10422  
 aaccgcctct ccccgcgctg tggccgattc attaatgcag ctggcacgac aggtttcccg 10482  
 actggaaagc gggcagtgag cgcaacgcaa ttaatgtgag ttagctcact cattaggcac 10542  
 cccaggctt acactttatg cttccggctc gtatgttg tgaaattgtg agcggataac 10602  
 aatttcacac aggaaacagc tatgaccatg attacgccaa gctctctaga gctctagagc 10662  
 tctagagctc tagagagctt gcatgcctgc aggtcg 10698

<210> 15  
 <211> 1459  
 <212> PRT  
 <213> künstliche Sequenz  
 <223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: pTGF8-3

<400> 15  
 Met Gln Ile Glu Leu Ser Thr Cys Phe Phe Leu Cys Leu Leu Arg Phe  
 -15 -10 -5  
 Cys Phe Ser Ala Thr Arg Arg Tyr Tyr Leu Gly Ala Val Glu Leu Ser  
 -1 1 5 10  
 Trp Asp Tyr Met Gln Ser Asp Leu Gly Glu Leu Pro Val Asp Ala Arg  
 15 20 25  
 Phe Pro Pro Arg Val Pro Lys Ser Phe Pro Phe Asn Thr Ser Val Val  
 30 35 40 45  
 Tyr Lys Lys Thr Leu Phe Val Glu Phe Thr Asp His Leu Phe Asn Ile  
 50 55 60  
 Ala Lys Pro Arg Pro Pro Trp Met Gly Leu Leu Gly Pro Thr Ile Gln  
 65 70 75  
 Ala Glu Val Tyr Asp Thr Val Val Ile Thr Leu Lys Asn Met Ala Ser  
 80 85 90

## DE 601 15 613 T2 2006.08.24

His	Pro	Val	Ser	Leu	His	Ala	Val	Gly	Val	Ser	Tyr	Trp	Lys	Ala	Ser
95															105
Glu	Gly	Ala	Glu	Tyr	Asp	Asp	Gln	Thr	Ser	Gln	Arg	Glu	Lys	Glu	Asp
110															125
Asp	Lys	Val	Phe	Pro	Gly	Gly	Ser	His	Thr	Tyr	Val	Trp	Gln	Val	Leu
															130 135 140
Lys	Glu	Asn	Gly	Pro	Met	Ala	Ser	Asp	Pro	Leu	Cys	Leu	Thr	Tyr	Ser
															145 150 155
Tyr	Leu	Ser	His	Ala	Asp	Leu	Val	Lys	Asp	Leu	Asn	Ser	Gly	Leu	Ile
															160 165 170
Gly	Ala	Leu	Leu	Val	Cys	Arg	Glu	Gly	Ser	Leu	Ala	Lys	Glu	Lys	Thr
															175 180 185
Gln	Thr	Leu	His	Lys	Phe	Ile	Leu	Leu	Phe	Ala	Val	Phe	Asp	Glu	Gly
															190 195 200 205
Lys	Ser	Trp	His	Ser	Glu	Thr	Lys	Asn	Ser	Leu	Met	Gln	Asp	Arg	Asp
															210 215 220
Ala	Ala	Ser	Ala	Arg	Ala	Trp	Pro	Lys	Met	His	Thr	Val	Asn	Gly	Tyr
															225 230 235
Val	Asn	Arg	Ser	Leu	Pro	Gly	Leu	Ile	Gly	Cys	His	Arg	Lys	Ser	Val
															240 245 250
Tyr	Trp	His	Val	Ile	Gly	Met	Gly	Thr	Thr	Pro	Glu	Val	His	Ser	Ile
															255 260 265
Phe	Leu	Glu	Gly	His	Thr	Phe	Leu	Val	Arg	Asn	His	Arg	Gln	Ala	Ser
															270 275 280 285
Leu	Glu	Ile	Ser	Pro	Ile	Thr	Phe	Leu	Thr	Ala	Gln	Thr	Leu	Leu	Met
															290 295 300
Asp	Leu	Gly	Gln	Phe	Leu	Leu	Phe	Cys	His	Ile	Ser	Ser	His	Gln	His
															305 310 315
Asp	Gly	Met	Glu	Ala	Tyr	Val	Lys	Val	Asp	Ser	Cys	Pro	Glu	Glu	Pro
															320 325 330
Gln	Leu	Arg	Met	Lys	Asn	Asn	Glu	Glu	Ala	Glu	Asp	Tyr	Asp	Asp	Asp
															335 340 345
Leu	Thr	Asp	Ser	Glu	Met	Asp	Val	Val	Arg	Phe	Asp	Asp	Asp	Asn	Ser
															350 355 360 365

## DE 601 15 613 T2 2006.08.24

Pro Ser Phe Ile Gln Ile Arg Ser Val Ala Lys Lys His Pro Lys Thr  
370 375 380

Trp Val His Tyr Ile Ala Ala Glu Glu Glu Asp Trp Asp Tyr Ala Pro  
385 390 395

Leu Val Leu Ala Pro Asp Asp Arg Ser Tyr Lys Ser Gln Tyr Leu Asn  
400 405 410

Asn Gly Pro Gln Arg Ile Gly Arg Lys Tyr Lys Lys Val Arg Phe Met  
415 420 425

Ala Tyr Thr Asp Glu Thr Phe Lys Thr Arg Glu Ala Ile Gln His Glu  
430 435 440 445

Ser Gly Ile Leu Gly Pro Leu Leu Tyr Gly Glu Val Gly Asp Thr Leu  
450 455 460

Leu Ile Ile Phe Lys Asn Gln Ala Ser Arg Pro Tyr Asn Ile Tyr Pro  
465 470 475

His Gly Ile Thr Asp Val Arg Pro Leu Tyr Ser Arg Arg Leu Pro Lys  
480 485 490

Gly Val Lys His Leu Lys Asp Phe Pro Ile Leu Pro Gly Glu Ile Phe  
495 500 505

Lys Tyr Lys Trp Thr Val Thr Val Glu Asp Gly Pro Thr Lys Ser Asp  
510 515 520 525

Pro Arg Cys Leu Thr Arg Tyr Tyr Ser Ser Phe Val Asn Met Glu Arg  
530 535 540

Asp Leu Ala Ser Gly Leu Ile Gly Pro Leu Leu Ile Cys Tyr Lys Glu  
545 550 555

Ser Val Asp Gln Arg Gly Asn Gln Ile Met Ser Asp Lys Arg Asn Val  
560 565 570

Ile Leu Phe Ser Val Phe Asp Glu Asn Arg Ser Trp Tyr Leu Thr Glu  
575 580 585

Asn Ile Gln Arg Phe Leu Pro Asn Pro Ala Gly Val Gln Leu Glu Asp  
590 595 600 605

Pro Glu Phe Gln Ala Ser Asn Ile Met His Ser Ile Asn Gly Tyr Val  
610 615 620

## DE 601 15 613 T2 2006.08.24

Phe Asp Ser Leu Gln Leu Ser Val Cys Leu His Glu Val Ala Tyr Trp  
 625 630 635

Tyr Ile Leu Ser Ile Gly Ala Gln Thr Asp Phe Leu Ser Val Phe Phe  
 640 645 650

Ser Gly Tyr Thr Phe Lys His Lys Met Val Tyr Glu Asp Thr Leu Thr  
 655 660 665

Leu Phe Pro Phe Ser Gly Glu Thr Val Phe Met Ser Met Glu Asn Pro  
 670 675 680 685

Gly Leu Trp Ile Leu Gly Cys His Asn Ser Asp Phe Arg Asn Arg Gly  
 690 695 700

Met Thr Ala Leu Leu Lys Val Ser Ser Cys Asp Lys Asn Thr Gly Asp  
 705 710 715

Tyr Tyr Glu Asp Ser Tyr Glu Asp Ile Ser Ala Tyr Leu Leu Ser Lys  
 720 725 730

Asn Asn Ala Ile Glu Pro Arg Ser Phe Ser Gln Asn Ser Arg His Gln  
 735 740 745

Ala Tyr Arg Tyr Arg Arg Gly Glu Ile Thr Arg Thr Thr Leu Gln Ser  
 750 755 760 765

Asp Gln Glu Glu Ile Asp Tyr Asp Asp Thr Ile Ser Val Glu Met Lys  
 770 775 780

Lys Glu Asp Phe Asp Ile Tyr Asp Glu Asp Glu Asn Gln Ser Pro Arg  
 785 790 795

Ser Phe Gln Lys Lys Thr Arg His Tyr Phe Ile Ala Ala Val Glu Arg  
 800 805 810

Leu Trp Asp Tyr Gly Met Ser Ser Ser Pro His Val Leu Arg Asn Arg  
 815 820 825

Ala Gln Ser Gly Ser Val Pro Gln Phe Lys Lys Val Val Phe Gln Glu  
 830 835 840 845

Phe Thr Asp Gly Ser Phe Thr Gln Pro Leu Tyr Arg Gly Glu Leu Asn  
 850 855 860

Glu His Leu Gly Leu Leu Gly Pro Tyr Ile Arg Ala Glu Val Glu Asp  
 865 870 875

Asn Ile Met Val Thr Phe Arg Asn Gln Ala Ser Arg Pro Tyr Ser Phe  
 880 885 890

Tyr Ser Ser Leu Ile Ser Tyr Glu Glu Asp Gln Arg Gln Gly Ala Glu  
 895 900 905

Pro Arg Lys Asn Phe Val Lys Pro Asn Glu Thr Lys Thr Tyr Phe Trp  
 910 915 920 925

Lys Val Gln His His Met Ala Pro Thr Lys Asp Glu Phe Asp Cys Lys  
 930 935 940

Ala Trp Ala Tyr Phe Ser Asp Val Asp Leu Glu Lys Asp Val His Ser  
 945 950 955

Gly Leu Ile Gly Pro Leu Leu Val Cys His Thr Asn Thr Leu Asn Pro  
 960 965 970

Ala His Gly Arg Gln Val Thr Val Gln Glu Phe Ala Leu Phe Phe Thr  
 975 980 985

Ile Phe Asp Glu Thr Lys Ser Trp Tyr Phe Thr Glu Asn Met Glu Arg  
 990 995 1000 1005

Asn Cys Arg Ala Pro Cys Asn Ile Gln Met Glu Asp Pro Thr Phe Lys  
 1010 1015 1020

Glu Asn Tyr Arg Phe His Ala Ile Asn Gly Tyr Ile Met Asp Thr Leu  
 1025 1030 1035

Pro Gly Leu Val Met Ala Gln Asp Gln Arg Ile Arg Trp Tyr Leu Leu  
 1040 1045 1050

Ser Met Gly Ser Asn Glu Asn Ile His Ser Ile His Phe Ser Gly His  
 1055 1060 1065

Val Phe Thr Val Arg Lys Lys Glu Glu Tyr Lys Met Ala Leu Tyr Asn  
 1070 1075 1080 1085

Leu Tyr Pro Gly Val Phe Glu Thr Val Glu Met Leu Pro Ser Lys Ala  
 1090 1095 1100

Gly Ile Trp Arg Val Glu Cys Leu Ile Gly Glu His Leu His Ala Gly  
 1105 1110 1115

Met Ser Thr Leu Phe Leu Val Tyr Ser Asn Lys Cys Gln Thr Pro Leu  
 1120 1125 1130

Gly Met Ala Ser Gly His Ile Arg Asp Phe Gln Ile Thr Ala Ser Gly  
 1135 1140 1145

## DE 601 15 613 T2 2006.08.24

Gln Tyr Gly Gln Trp Ala Pro Lys Leu Ala Arg Leu His Tyr Ser Gly  
 150 1155 1160 1165  
  
 Ser Ile Asn Ala Trp Ser Thr Lys Glu Pro Phe Ser Trp Ile Lys Val  
 1170 1175 1180  
  
 Asp Leu Leu Ala Pro Met Ile Ile His Gly Ile Lys Thr Gln Gly Ala  
 1185 1190 1195  
  
 Arg Gln Lys Phe Ser Ser Leu Tyr Ile Ser Gln Phe Ile Ile Met Tyr  
 1200 1205 1210  
  
 Ser Leu Asp Gly Lys Lys Trp Gln Thr Tyr Arg Gly Asn Ser Thr Gly  
 1215 1220 1225  
  
 Thr Leu Met Val Phe Phe Gly Asn Val Asp Ser Ser Gly Ile Lys His  
 230 1235 1240 1245  
  
 Asn Ile Phe Asn Pro Pro Ile Ile Ala Arg Tyr Ile Arg Leu His Pro  
 1250 1255 1260  
  
 Thr His Tyr Ser Ile Arg Ser Thr Leu Arg Met Glu Leu Met Gly Cys  
 1265 1270 1275  
  
 Asp Leu Asn Ser Cys Ser Met Pro Leu Gly Met Glu Ser Lys Ala Ile  
 1280 1285 1290  
  
 Ser Asp Ala Gln Ile Thr Ala Ser Ser Tyr Phe Thr Asn Met Phe Ala  
 1295 1300 1305  
  
 Thr Trp Ser Pro Ser Lys Ala Arg Leu His Leu Gln Gly Arg Ser Asn  
 310 1315 1320 1325  
  
 Ala Trp Arg Pro Gln Glu Asn Asn Pro Lys Glu Trp Leu Gln Val Asp  
 1330 1335 1340  
  
 Phe Gln Lys Thr Met Lys Val Thr Gly Val Thr Thr Gln Gly Val Lys  
 1345 1350 1355  
  
 Ser Leu Leu Thr Ser Met Tyr Val Lys Glu Phe Leu Ile Ser Ser Ser  
 1360 1365 1370  
  
 Gln Asp Gly His Gln Trp Thr Leu Phe Phe Gln Asn Gly Lys Val Lys  
 1375 1380 1385  
  
 Val Phe Gln Gly Asn Gln Asp Ser Phe Thr Pro Val Val Asn Ser Leu  
 390 1395 1400 1405  
  
 Asp Pro Pro Leu Leu Thr Arg Tyr Leu Arg Ile His Pro Gln Ser Trp  
 1410 1415 1420

Val His Gln Ile Ala Leu Arg Met Glu Val Leu Gly Cys Glu Ala Gln		
1425	1430	1435

Asp Leu Tyr	
1440	

### Patentansprüche

1. Faktor-VIII-Mutein, bei dem die B-Domäne zwischen den Positionen Arg740 und Glu1649 durch ein Arg-reiches Linkerpeptid ersetzt ist, das wenigstens 3 Arg-Reste aufweist und 10 bis 25 Aminosäurereste umfasst, wobei sich die Faktor-VIII-Nummerierung auf die in SEQ ID Nr. 2 gezeigte Sequenz des reifen Wildtyp-Faktor-VIII bezieht.
2. Faktor-VIII-Mutein gemäß Anspruch 1, wobei das Faktor-VIII-Mutein wenigstens eine der folgenden zusätzlichen Mutationen (a), (b) und (c) aufweist:
  - (a) Val auf Position 162 ist durch einen neutralen Aminosäurerest ersetzt, der aus Gly, Ala, Leu, Ile, Met und Pro ausgewählt ist;
  - (b) Ser auf Position 2011 ist durch einen hydrophilen Aminosäurerest ersetzt, der aus Asn, Thr und Gln ausgewählt ist; und
  - (c) Val auf Position 2223 ist durch einen sauren Aminosäurerest ersetzt, der aus Glu und Asp ausgewählt ist.
3. Faktor-VIII-Mutein gemäß Anspruch 2, das wenigstens eine der Mutationen (a) und (b) aufweist.
4. Faktor-VIII-Mutein gemäß Anspruch 2, das alle drei Mutationen (a), (b) und (c) aufweist.
5. Faktor-VIII-Mutein gemäß einem der Ansprüche 2 bis 4, wobei in Mutation (a) Val auf Position 162 durch Ala ersetzt ist, in Mutation (b) Ser auf Position 2011 durch Asn ersetzt ist und/oder in Mutation (c) Val auf Position 2223 durch Glu ersetzt ist.
6. Faktor-VIII-Mutein gemäß einem der Ansprüche 1 bis 5, wobei das Arg-reiche Linkerpeptid 14 bis 20 Aminosäurereste aufweist.
7. Faktor-VIII-Mutein gemäß einem der Ansprüche 1 bis 6, wobei der Linker folgendes umfasst:  
die Aminosäuresequenz SFSQNSRH; und/oder  
die Aminosäuresequenz QAYRYRRG.
8. Faktor-VIII-Mutein gemäß Anspruch 7, wobei der Linker die Sequenz SFSQNSRHQAYRYRRG hat.
9. Faktor-VIII-Mutein gemäß Anspruch 1, das die Aminosäuren 1 bis 1440 der SEQ ID Nr. 4, 13 oder 15 umfasst.
10. DNA-Sequenz, die für das Faktor-VIII-Mutein gemäß einem der Ansprüche 1 bis 9 codiert.
11. DNA-Sequenz gemäß Anspruch 10, die wenigstens eine der Mutationen T485C, G6032A und T6668A in Bezug auf die in SEQ ID Nr. 1 gezeigte DNA-Sequenz des reifen Wildtyp-Faktor-VIII aufweist, wobei die DNA-Sequenz vorzugsweise alle drei Mutationen umfasst.
12. Vektor, der die DNA gemäß Anspruch 10 oder 11 umfasst.
13. Vektor gemäß Anspruch 12, bei dem es sich um pTGF8-1, pTGT8-2hyg-s oder pTGF8-3 handelt, die in SEQ ID Nr. 3, 12 bzw. 14 gezeigt sind.
14. Vektor gemäß Anspruch 12, bei dem es sich um einen Genübertragungsvektor handelt.
15. Isolierte Wirtszelle, die mit einem Vektor gemäß Anspruch 12 transformiert ist und/oder eine DNA-Sequenz gemäß Anspruch 10 umfasst.
16. Verfahren zur Herstellung des Faktor-VIII-Muteins gemäß einem der Ansprüche 1 bis 9, umfassend:
  - (a) Kultivieren einer transformierten Wirtszelle gemäß Anspruch 15; und

(b) Isolieren des Faktor-VIII-Muteins aus der Kulturbrühe.

17. Pharmazeutische Zusammensetzung, die das Faktor-VIII-Mutein gemäß einem der Ansprüche 1 bis 9 oder einen Genübertragungsvektor gemäß Anspruch 14 umfasst.

18. Verwendung des Faktor-VIII-Muteins gemäß einem der Ansprüche 1 bis 9 oder eines Genübertragungsvektors gemäß Anspruch 14 zur Herstellung eines Medikaments zur Behandlung von Hämophilie, vorzugsweise zur Behandlung von Hämophilie A.

19. Verfahren gemäß Anspruch 16, wobei Schritt (a) Folgendes umfasst:

Kultivieren einer immortalisierten Humanzelllinie, die Simian-Virus-T-Antigen stabil exprimiert und einen Vektor mit einem CMV-Promotor trägt, der funktionell mit einer DNA-Sequenz verknüpft ist, die für das Faktor-VI-II-Mutein codiert.

20. Verfahren gemäß Anspruch 19, wobei es sich bei der immortalisierten Humanzelllinie um eine immortalisierte Nieren-, Blasen-, Leber-, Lungen-, Herzmuskel-, Glatte-Muskulatur-, Eierstock- oder Magen-Darm-Zelle handelt.

21. Verfahren gemäß Anspruch 20, wobei die immortalisierte Humanzelllinie von einer Humannierenzelle abgeleitet ist und es sich dabei vorzugsweise um die Zelllinie 293T (DSM ACC2494) handelt.

22. Verfahren gemäß einem der Ansprüche 19 bis 21, wobei der Vektor weiterhin einen Selektionsmarker und/oder regulatorische Sequenzen umfasst.

23. Verfahren gemäß Anspruch 16, wobei es sich bei der Wirtszelle um eine immortalisierte humane Nieren-, Blasen-, Leber-, Lungen-, Herzmuskel-, Glatte-Muskulatur-, Eierstock- oder Magen-Darm-Zelle handelt und sie vorzugsweise von einer humanen Nierenzelle abgeleitet ist.

24. Verfahren gemäß Anspruch 23, wobei die immortalisierte Zelllinie wenigstens ein virales Transcriptionsaktivatorprotein exprimiert, wie Aktivatorproteine, die aus Adenovirus-E1A- oder -E1B-Protein, einem Protein, das von der DNA-Sequenz des frühen Bereichs des Rinderpapillomvirus codiert wird, und Herpesvirus-IE-Proteinen ausgewählt ist.

25. Verfahren gemäß einem der Ansprüche 19 bis 24, wobei das Kultivieren in Gegenwart von von-Willebrand-Faktor (vWF) erfolgt.

26. Verfahren gemäß einem der Ansprüche 16 und 19 bis 25, das weiterhin folgendes umfasst:

(c) Reinigen des in Schritt (b) isolierten Blutgerinnungsfaktors; und/oder

(d) Durchführen einer Virusinaktivierungsbehandlung mit dem in Schritt (b) isolierten oder in Schritt (c) gereinigten Blutgerinnungsfaktor.

27. Immortalisierte Humanzelllinie, wie sie in einem der Verfahren gemäß Anspruch 19 bis 21 definiert ist, die wenigstens ein virales Transcriptionsaktivatorprotein stabil exprimiert und einen Vektor trägt, der für ein Faktor-VIII-Mutein codiert, wie es in den Ansprüchen 1 bis 9 definiert ist.

Es folgen 6 Blatt Zeichnungen

## Anhängende Zeichnungen

Fig. 1

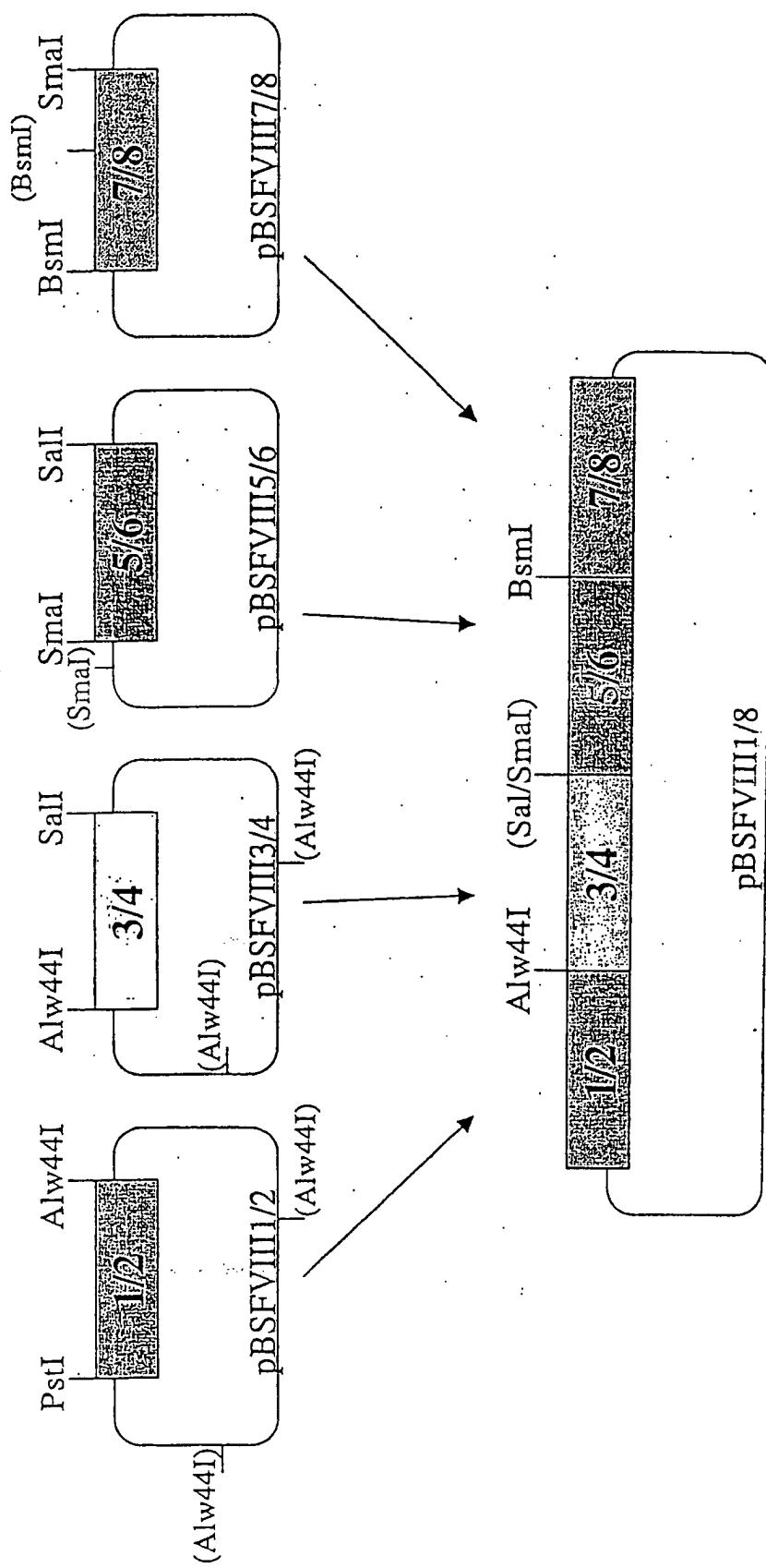


Fig. 2

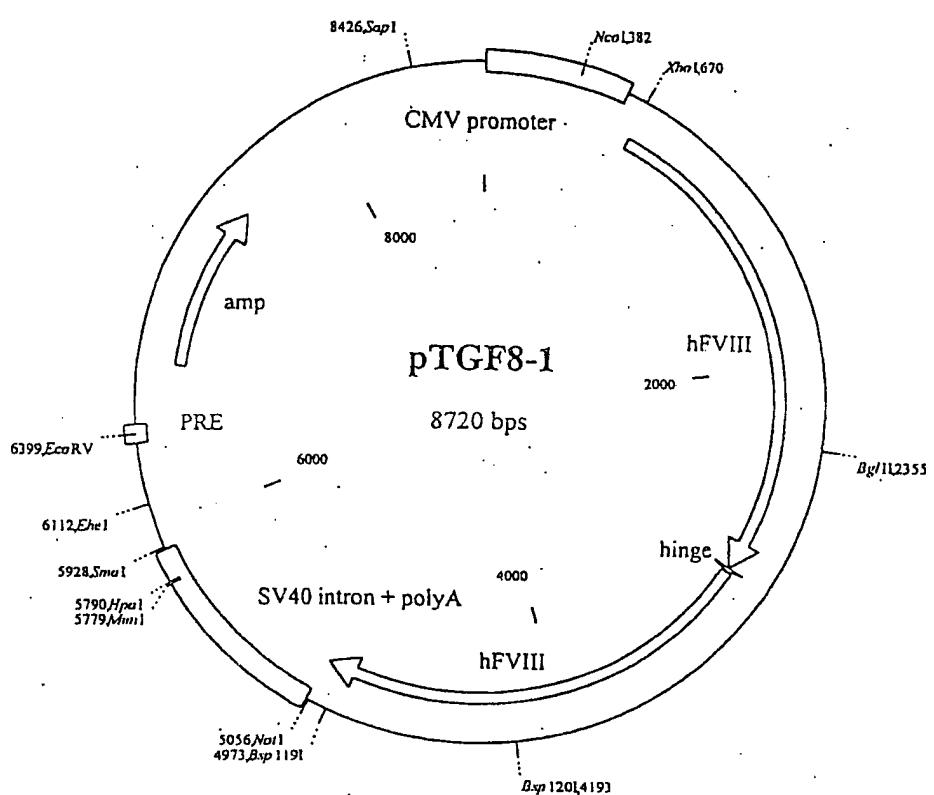


Fig. 3

Fig. 3 A

aga| agc ttc tcc cag aat tca aga cat caa gct tat cgt cga tac cgt cga ggg gaa  
R740 S F S Q N S R H Q A Y R Y R R G E1649  
Wt-B-Domäne variable Domäne

Fig. 3 B

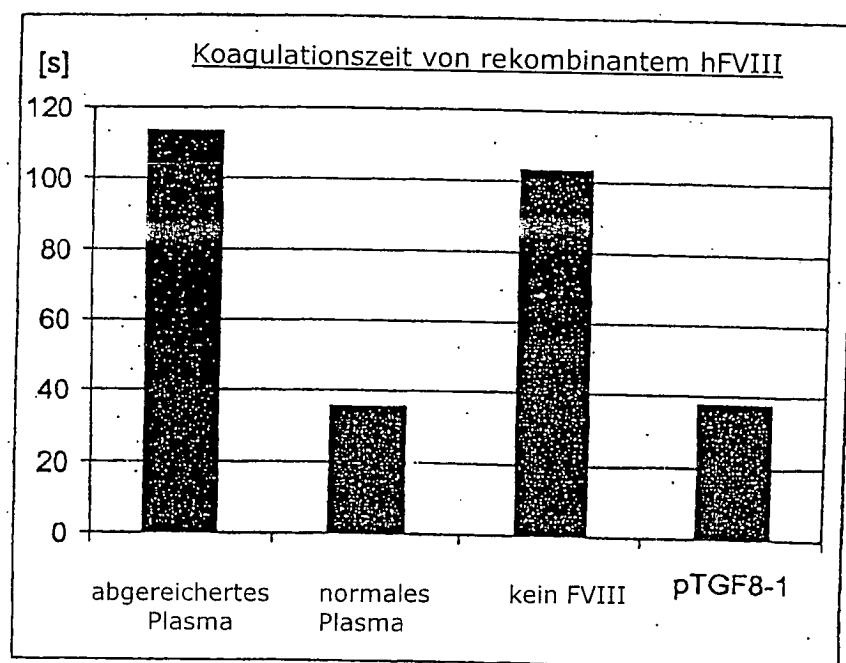


Fig. 4

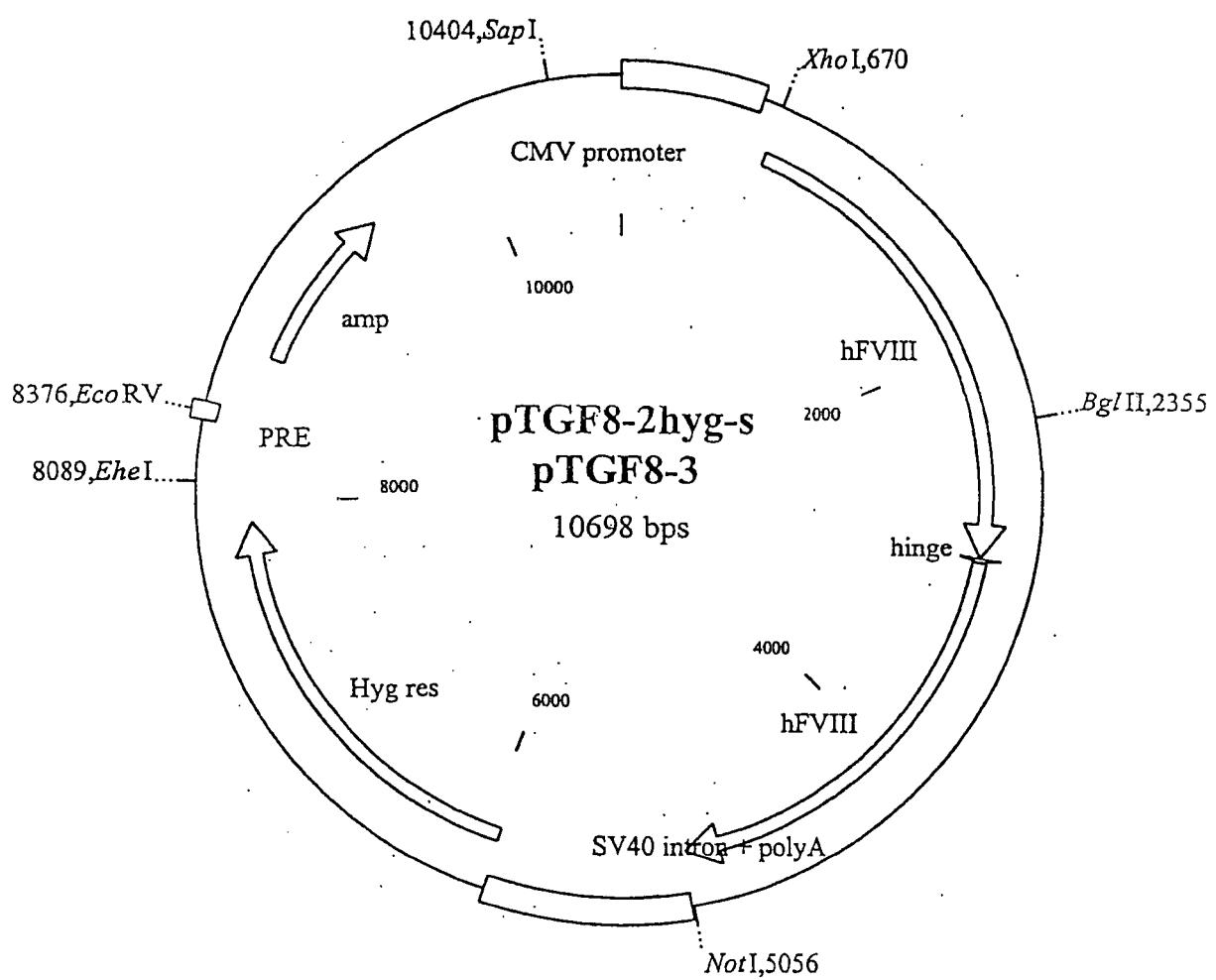


Fig. 5

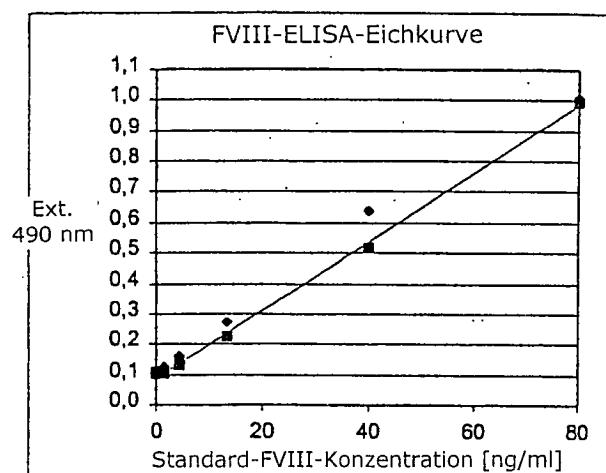


Fig. 5 A

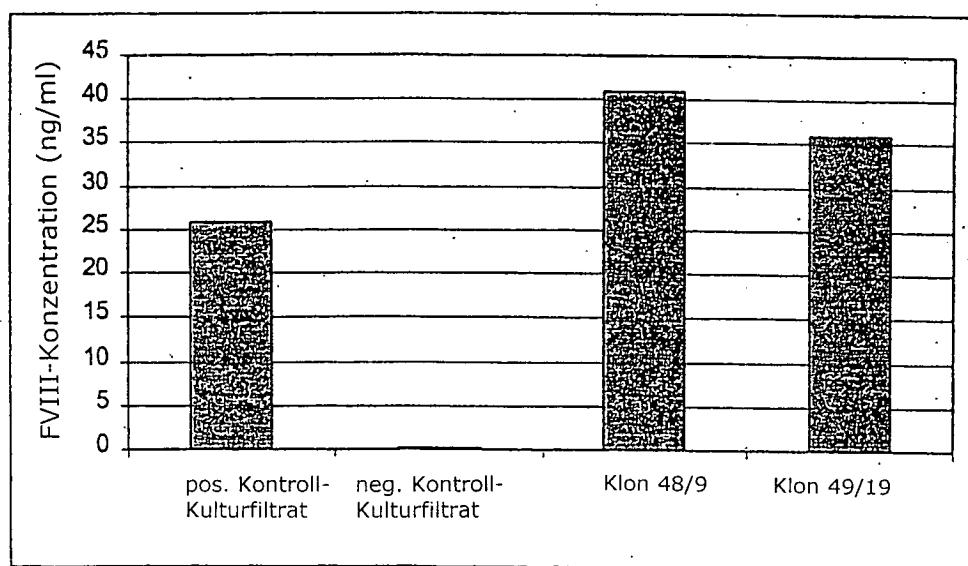


Fig. 5 B

Fig. 6

