



(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.⁸: **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:

Octogene 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 ZELLINIEN**

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

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

Beschreibung

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 Fibringerinnsel. 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 posttranslatiionaler 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 kontaminierter 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 Virusinaktivierungsvorschriften 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-Muteine gefunden, die außergewöhnlich stabil gegenüber proteolytischer Inaktivierung sind und daher stark beanspruchenden Virusinaktivierungsvorschriften unterzogen werden können.

Kurzbeschreibung der Erfindung

[0013] Die vorliegende Erfindung stellt Folgendes bereit:

- (1) ein 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) eine DNA-Sequenz, die für das Faktor-VIII-Mutein 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 Immunofluoreszenzassays, 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 Transcription 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 Transcription 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 Kontrollelementen 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 Transcription 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 Transcription 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 Transcriptionsaktivatorproteine, 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 Transcriptionsaktivatorproteine 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 Immunaффinitätschromatographie, 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 Zugabe 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 virusinaktivierten 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 verwendendes 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 ersteren kann sie weiterhin pharmazeutisch annehmbare Additive umfassen; dazu gehören Humanserumalbumin (HSA; vorzugsweise etwa 1 mg/ml Lösung), anorganische Salze, wie 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 Transkriptionsaktivatorproteine, am meisten bevorzugt temperaturempfindliches SV40-T-Antigen und Adenovirus-E1A-Protein. Das Verfahren kann weiterhin die oben beschriebenen Reinigungs- und Virusinaktivierungsschritte (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 *Sma*I/*Sall*I-Fragment aus dem Plasmid pBSFVIII3/4 glatt in die *Sall*I-Stelle von pBSFVII5/6 eingesetzt, wobei man pBSFVIII3/6 erhielt. Dann wurde das Fragment 3/6 erhalten, indem man pBSFVIII3/6 mit *Xho*I/*Bsp*HI und partiell mit *Alw*44I abbaute. Dieses Fragment und das *Pst*I/*Alw*44I-Fragment aus pBSFVIII1/2 wurden in einem Schritt in das Vektorgerüst von pBSFVIII1/2 ligiert, das mit *Pst*I und *Xho*I abgebaut worden war, wodurch pBSFVIII1/6 erhalten wurde. Das Fragment 7/8 wurde erhalten, indem man pBSFVIII7/8 mit *Sma*I und partiell mit *Mva*1269I abbaute, und in pBSFVIII1/6 ligiert, das mit *Xho*I und *Mva*1269I geschnitten worden war, was pBSFVIII1/8 ergab. Schließlich wurde das *Sma*I/*Xho*I-Fragment aus pBSFVIII1/8 glatt in die *Sall*I-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 epithelzellen-ähnliche 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-FVIII: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 H₂O₂ 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 H₂SO₄ 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 CaCl₂ 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 Rühren 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 SmaI-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-Expressions cassette mit dem HSV-Thymin-Kinase-Promotor und HSV-Thymin-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 Wild-typsequenz 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 5×10^7 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 Trypsinisierung aus den Kulturschalen gelöst, mehrmals gewaschen und in 5 ml PBS-Puffer resuspendiert.

[0074] 2 µl 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

<110> Octogene GmbH

<120> Herstellung von rekombinanten Blutgerinnungsfaktoren in
Humanzelllinien

<130> 010613wo/JH/ml

<140>

<141>

<160> 17

<170> PatentIn Ver. 2.1

<210> 1

<211> 6996

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(6996)

<400> 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	
ggt 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 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	

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 cgg tgc	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 ctc 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	2064
Phe Ser Gly Glu Thr Val Phe Met Ser Met Glu Asn Pro Gly Leu Trp	
675 680 685	
att ctg ggg tgc cac aac tca gac ttt cgg aac aga ggc atg acc gcc	2112
Ile Leu Gly Cys His Asn Ser Asp Phe Arg Asn Arg Gly Met Thr Ala	
690 695 700	
tta ctg aag gtt tct agt tgt gac aag aac act ggt gat tat tac gag	2160
Leu Leu Lys Val Ser Ser Cys Asp Lys Asn Thr Gly Asp Tyr Tyr Glu	
705 710 715 720	
gac agt tat gaa gat att tca gca tac ttg ctg agt aaa aac aat gcc	2208
Asp Ser Tyr Glu Asp Ile Ser Ala Tyr Leu Leu Ser Lys Asn Asn Ala	
725 730 735	
att gaa cca aga agc ttc tcc cag aat tca aga cac cct agc act agg	2256
Ile Glu Pro Arg Ser Phe Ser Gln Asn Ser Arg His Pro Ser Thr Arg	
740 745 750	
caa aag caa ttt aat gcc acc aca att cca gaa aat gac ata gag aag	2304
Gln Lys Gln Phe Asn Ala Thr Thr Ile Pro Glu Asn Asp Ile Glu Lys	
755 760 765	
act gac cct tgg ttt gca cac aga aca cct atg cct aaa ata caa aat	2352
Thr Asp Pro Trp Phe Ala His Arg Thr Pro Met Pro Lys Ile Gln Asn	
770 775 780	
gtc tcc tct agt gat ttg ttg atg ctc ttg cga cag agt cct act cca	2400
Val Ser Ser Ser Asp Leu Leu Met Leu Leu Arg Gln Ser Pro Thr Pro	
785 790 795 800	
cat ggg cta tcc tta tct gat ctc caa gaa gcc aaa tat gag act ttt	2448
His Gly Leu Ser Leu Ser Asp Leu Gln Glu Ala Lys Tyr Glu Thr Phe	
805 810 815	
tct gat gat cca tca cct gga gca ata gac agt aat aac agc ctg tct	2496
Ser Asp Asp Pro Ser Pro Gly Ala Ile Asp Ser Asn Asn Ser Leu Ser	
820 825 830	
gaa atg aca cac ttc agg cca cag ctc cat cac agt ggg gac atg gta	2544
Glu Met Thr His Phe Arg Pro Gln Leu His His Ser Gly Asp Met Val	
835 840 845	
ttt acc cct gag tca ggc ctc caa tta aga tta aat gag aaa ctg ggg	2592
Phe Thr Pro Glu Ser Gly Leu Gln Leu Arg Leu Asn Glu Lys Leu Gly	
850 855 860	

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	
ggg 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 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 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	

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 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	4368
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 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 tgg 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	
ggt 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 2075 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 gct 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 2155 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	

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 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

<400> 2

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	Glu	Asp	Trp	Asp	Tyr	Ala	Pro	Leu	Val	Leu	385	390	395
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
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
Gln	Arg	Gly	Asn	Gln	Ile	Met	Ser	Asp	Lys	Arg	Asn	Val	Ile	Leu	Phe	565	570	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	1105	1110	1115 1120

DE 601 15 613 T2 2006.08.24

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	1185	1190	1195
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	Glu	Asn	Leu	Glu	Gly	Leu	1265	1270	1275
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	1345	1350	1355
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 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
225 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 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)

<400> 3

```

cgcggttgaca ttgattattg actagttatt aatagtaatc aattacgggg tcattagttc 60
atagcccata tatggagttc cgcgttacat aacttacggt aaatggcccc cctggctgac 120
cgcccaacga cccccgccca ttgacgtcaa taatgacgta tgttcccata gtaacgccaa 180
tagggacttt ccattgacgt caatgggtgg agtattttacg gtaaactgcc cacttggcag 240
tacatcaagt gtatcatatg ccaagtacgc cccctattga cgtcaatgac ggtaaatggc 300
ccgcctggca ttatgcccag tacatgacct tatgggactt tcctacttgg cagtacatct 360
acgtattagt catcgctatt accatgggtga tgcgggttttg gcagtacatc aatgggcgtg 420
gatagcgggtt tgactcacgg ggattttccaa gtctccaccc cattgacgtc aatgggagtt 480
tgttttggca ccaaaatcaa cgggactttc caaaatgtcg taacaactcc gccccattga 540
cgcaaatggg cggtaggcgt gtacgggtggg aggtctatat aagcagagct ctctggctaa 600
ctagagaacc cactgcttac tggcttatcg aaattaatac gactcactat agggagaccc 660
aagcttgacc tcgag atg caa ata gag ctg 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 ctg 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	
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 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	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	
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	
750 755 760	
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	
765 770 775	
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	
780 785 790	
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	
795 800 805	
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	
810 815 820 825	
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	
830 835 840	
gtt ttc 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	
845 850 855	

DE 601 15 613 T2 2006.08.24

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	
860 865 870	
gaa gtt gaa gat aat atc atg gta act ttc aga aat cag gcc tct cgt	3399
Glu Val Glu Asp Asn Ile Met Val Thr Phe Arg Asn Gln Ala Ser Arg	
875 880 885	
ccc tat tcc ttc 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	
890 895 900 905	
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	
910 915 920	
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	
925 930 935	
ttt gac tgc aaa gcc tgg gct tat ttc tct gat gtt 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 aac aca ctt ttt ctg gtg tac agc aat aag tgt	4119
Leu His Ala Gly Met Asn Thr Leu Phe Leu Val Tyr Ser Asn Lys Cys	
1115 1120 1125	
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	

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	
cg t 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	

DE 601 15 613 T2 2006.08.24

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

tgtgaaggaa ccttacttct gtggtgtgac ataattggac aaactaccta cagagattta 5142
 aagctctaag gtaaataataa aatttttaag tgtataatgt gttaaactac tgattctaata 5202
 tgtttgtgta ttttagattc caacctatgg aactgatgaa tgggagcagt ggtggaatgc 5262
 ctttaatgag gaaaacctgt tttgctcaga agaaatgcca tctagtgatg atgaggctac 5322
 tgctgactct caacattcta ctctccaaa aaagaagaga aaggtagaag accccaagga 5382
 ctttccttca gaattgctaa gttttttgag tcatgctgtg tttagtaata gaactcttgc 5442
 ttgctttgct atttacacca caaaggaaaa agctgcactg ctatacaaga aaattatgga 5502
 aaaatattct gtaaccttta taagtaggca taacagttat aatcataaca tactgttttt 5562
 tcttactcca cacaggcata gagtgtctgc tattaataac tatgctcaaa aattgtgtac 5622
 ctttagcttt ttaatttgta aaggggttaa taaggaatat ttgatgtata gtgccttgac 5682
 tagagatcat aatcagccat accacatttg tagaggtttt acttgcttta aaaaacctcc 5742
 cacacctccc cctgaacctg aaacataaaa tgaatgcaat tgttggtgtt aacttgttta 5802
 ttgcagctta taatggttac aaataaagca atagcatcac aaatttcaca aataaagcat 5862
 ttttttcaact gcattctagt tgtggtttgt ccaaactcat caatgtatct tatcatgtct 5922
 ggatccccgg gtacctcta gagcgaatta attcactggc cgtcgtttta caacgtcgtg 5982
 actgggaaaa ccttggcggt acccaactta atcgccctgc agcacatccc cttttcgcca 6042
 gctggcgtaa tagcgaagag gcccgcaccg atcgcccttc ccaacagttg cgcagcctga 6102
 atggcgaatg gcgcctgatg cggatattttc tccttacgca tctgtgcggt atttcacacc 6162
 gcatatggtg cactctcagt acaatctgct ctgatgccgc atagttaagc cagccccgac 6222
 acccgccaac acccgtgac gcgcctgac gggcttgtct gctccccgca tccgcttaca 6282
 gacaagctgt gaccgtctcc gggagctgca tgtgtcagag gttttcaccg tcatcaccga 6342
 aacgcgcgag acgaaagggg gggtagcgc ttcgtagcta gaacatcatg ttctgggata 6402
 tcagcttctg agctagaaca tcatgttctg gtacccccct cgtgatacgc ctatttttat 6462

aggttaatgt catgataata atggtttctt agacgtcagg tggcactttt cggggaaatg 6522
 tgcgcggaac ccctatttgt ttatttttct aaatacatte aaatatgtat ccgctcatga 6582
 gacaataacc ctgataaatg cttcaataat attgaaaaag gaagagtatg agtattcaac 6642
 atttccgtgt cgcccttatt cccttttttg cggcattttg ccttcctggt tttgctcacc 6702
 cagaaacgct ggtgaaagta aaagatgctg aagatcagtt ggggtgcacga gtgggttaca 6762
 tcgaactgga tctcaacagc ggtaagatcc ttgagagttt tcgccccgaa gaacgttttc 6822
 caatgatgag cactttttaa gttctgctat gtggcgcggt attatcccgt attgacgccg 6882
 ggcaagagca actcggtcgc cgcatacact attctcagaa tgacttggtt gactactcac 6942
 cagtcacaga aaagcatctt acggatggca tgacagtaag agaattatgc agtgctgcca 7002
 taaccatgag tgataacact gcggccaact tactttctgac aacgatcgga ggaccgaagg 7062
 agctaaccgc ttttttgac aacatggggg atcatgtaac tcgccttgat cgttggggaac 7122
 cggagctgaa tgaagccata ccaaacgacg agcgtgacac cacgatgcct gtagcaatgg 7182
 caacaacggt gcgcaaacta ttaactggcg aactacttac tctagcttcc cggcaacaat 7242
 taatagactg gatggaggcg gataaagttg caggaccact tctgcgctcg gcccttcagg 7302
 ctggctggtt tattgctgat aaatctggag ccggtgagcg tgggtctcgc ggtatcattg 7362
 cagcactggg gccagatggt aagccctccc gtatcgtagt tatctacacg acggggagtc 7422
 aggcaactat ggatgaacga aatagacaga tcgctgagat aggtgcctca ctgattaagc 7482
 attggtaact gtcagaccaa gtttactcat atatacttta gattgattta aaacttcatt 7542
 tttaatttaa aaggatctag gtgaagatcc tttttgataa tctcatgacc aaaatccctt 7602
 aacgtgagtt ttcggtccac tgagcgtcag accccgtaga aaagatcaaa ggatcttctt 7662
 gagatccttt ttttctgcg gtaatctgct gcttgcaaac aaaaaacca ccgctaccag 7722
 cggtggtttg tttgccgat caagagctac caactctttt tccgaaggta actggcttca 7782
 gcagagcgca gataccaaat actgtcttct agtgtagccg tagttaggcc accacttcaa 7842
 gaactctgta gcaccgcta catacctcgc tctgctaate ctgttaccag tggctgctgc 7902
 cagtggcgat aagtcgtgtc ttaccgggtt ggactcaaga cgatagttac cggataaggc 7962

gcagcgggtcg ggctgaacgg ggggttcgtg cacacagccc agcttgagc gaacgaccta 8022
 caccgaactg agatacctac agcgtgagct atgagaaagc gccacgcttc ccgaaggag 8082
 aaaggcggac aggtatccgg taagcggcag ggtcggaaca ggagagcgca cgaggagct 8142
 tccaggggga aacgcctggt atctttatag tcctgtcggg ttctgccacc tctgacttga 8202
 gcgtcgattt ttgtgatgct cgtcaggggg gcggagccta tggaaaaacg ccagcaacgc 8262
 ggctttttta cggttcctgg ccttttgctg gccttttgct cacatgttct ttctgcgtt 8322
 atccccgat tctgtggata accgtattac cgcctttgag tgagctgata ccgctcgccg 8382
 cagccgaacg accgagcgca gcgagtcagt gagcgaggaa gcggaagagc gcccaatacg 8442
 caaacgcct ctccccgcgc gttggccgat tcattaatgc agctggcacg acaggtttcc 8502
 cgactggaaa gcgggcagtg agcgcaacgc aattaatgtg agttagctca ctcattaggc 8562
 accccaggct ttacacttta tgcttccggc tcgtatgttg tgtggaattg tgagcggata 8622
 acaatttcac acaggaaaca gctatgacca tgattacgcc aagctctcta gagctctaga 8682
 gctctagagc tctagagagc ttgcatgcct gcaggtcg 8720

<210> 4

<211> 1459

<212> PRT

<213> künstliche Sequenz

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: pTGF8-1

<400> 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 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	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	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	

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	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

DE 601 15 613 T2 2006.08.24

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

<220>

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

<400> 9

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

<210> 12

<211> 10698

<212> DNA

<213> künstliche Sequenz

<220>

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

<220>

<221> CDS

<222> (676)..(5052)

<220>

<221> mat-Peptid

<222> (733)..(5052)

<400> 12

cgcggttgaca ttgattattg actagttatt aatagtaatc aattacgggg tcattagttc 60
atagcccata tatggagttc cgcgttacat aacttacggt aaatggccc cctggctgac 120
cgcccaacga ccccgccca ttgacgtcaa taatgacgta tgttcccata gtaacgcaa 180
tagggacttt ccattgacgt caatgggtgg agtatattacg gtaaactgcc cacttggcag 240
tacatcaagt gtatcatatg ccaagtacgc cccctattga cgtcaatgac ggtaaagtgc 300
ccgcctggca ttatgccag tacatgacct tatgggactt tctacttgg cagtacatct 360
acgtattagt catcgctatt accatgggtga tgcgggtttg gcagtacatc aatgggctg 420
gatagcgggt tgactcacgg ggatttccaa gtctccacc cattgacgtc aatgggagtt 480
tgttttggca ccaaatcaa cgggactttc caaatgtcg taacaactcc gcccattga 540
cgcaaatggg cggtaggcgt gtacggtggg aggtctatat 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 gtg gac ctg gta aaa gac ttg aat 1239
Leu Thr Tyr Ser Tyr Leu Ser His Val 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	

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 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	
750 755 760	
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	
765 770 775	
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	
780 785 790	
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	
795 800 805	
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	
810 815 820 825	
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	
830 835 840	
gtt ttc 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	
845 850 855	
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	
860 865 870	
gaa gtt gaa gat aat atc atg gta act ttc aga aat cag gcc tct cgt	3399
Glu Val Glu Asp Asn Ile Met Val Thr Phe Arg Asn Gln Ala Ser Arg	
875 880 885	
ccc tat tcc ttc 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	
890 895 900 905	
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	
910 915 920	
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	
925 930 935	

ttt gac tgc aaa gcc tgg gct tat ttc tct gat gtt 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	

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 gtggtgtgac ataattggac aaactaccta cagagattta 5142
 aagctctaag gtaaataataa aatttttaag tgtataatgt gttaaactac tgattctaata 5202
 tgtttgtgta ttttagattc caacctatgg aactgatgaa tgggagcagt ggtggaatgc 5262
 cttaaatgag gaaaacctgt tttgctcaga agaaatgcca tctagtgatg atgaggctac 5322
 tgctgactct caacattcta ctctccaaa aaagaagaga aaggtagaag accccaagga 5382
 ctttccttca gaattgctaa gttttttgag tcatgctgtg tttagtaata gaactcttgc 5442
 ttgctttgct atttacacca caaaggaaaa agctgcactg ctatacaaga aaattatgga 5502
 aaaatattct gtaaccttta taagtaggca taacagttat aatcataaca tactgttttt 5562
 tcttactcca cacaggcata gagtgtctgc tattaataac tatgctcaaa aattgtgtac 5622

ctttagcttt ttaatttgta aaggggttaa taaggaatat ttgatgtata gtgccttgac 5682
 tagagatcat aatcagccat accacatttg tagaggtttt acttgcttta aaaaacctcc 5742
 cacacctccc cctgaacctg aaacataaaa tgaatgcaat tgttggtggt aacttgctta 5802
 ttgcagctta taatggttac aaataaagca atagcatcac aaatttcaca aataaagcat 5862
 ttttttctact gcattctagt tgtggtttgt ccaaactcat caatgtatct tatcatgtct 5922
 ggatcccccg aacgccagca agacgtagcc cagcgcgtcg gccccgagat gcgcgcgtg 5982
 cggctgctgg agatggcgga cgcgatggat atgttctgcc aagggttggt ttgcgcattc 6042
 acagttctcc gcaagaattg attggctcca attcttgagg tggatgaatcc gttagcgagg 6102
 tgccgccctg ctcatcccc gtggcccgtt gctcgcgttt gctggcgggtg tccccggaag 6162
 aaatatatth gcatgtcttt agttctatga tgacacaaac cccgccagc gtcttgctcat 6222
 tggcgaattc gaacacgcag atgcagtcgg ggccggcggg tccgaggtcc acttcgcata 6282
 ttaaggtgac gcgtgtggcc tcgaacaccg agcgaccctg cagcgacccg cttaacagcg 6342
 tcaacagcgt gccgcagatc agcttgatat gaaaaagcct gaactcaccg cgacgtctgt 6402
 cgagaagttt ctgatcgaaa agttcgacag cgtctccgac ctgatgcagc tctcggaggg 6462
 cgaagaatct cgtgctttca gcttcgatgt aggagggcgt ggatatgtcc tgcgggtaaa 6522
 tagctgcgcc gatggtttct acaaagatcg ttatgtttat cggcactttg catcggccgc 6582
 gctcccgatt ccggaagtgc ttgacattgg ggaattcagc gagagcctga cctattgcat 6642
 ctcccgccgt gcacaggggtg tcacgttgca agacctgcct gaaaccgaac tgcccgctgt 6702
 tctgcagccg gtcgcggagg ccatggatgc gatcgtcgcg gccgatctta gccagacgag 6762
 cgggttcggc ccattcggac cgcaaggaat cgggtcaatac actacatggc gtgatttcat 6822
 atgcgcgatt gctgatcccc atgtgtatca ctggcaaact gtgatggacg acaccgtcag 6882
 tgcgtccgtc gcgcaggctc tcgatgagct gatgctttgg gccgaggact gccccgaagt 6942
 ccggcacctc gtgcacgcgg atttcggctc caacaatgtc ctgacggaca atggccgcat 7002
 aacagcggtc attgactgga gcgaggcgat gttcggggat tcccaatacg aggtcgccaa 7062
 catcttcttc tggaggccgt ggttggttg tatggagcag cagacgcgt acttcgagcg 7122

gagggcatccg gagcttgcag gatcgccgcg gctccgggcg tatatgctcc gcattggtct 7182
tgaccaactc tatcagagct tggttgacgg caatttcgat gatgcagctt gggcgcaggg 7242
tcgatgcgac gcaatcgtec gatccggagc cgggactgtc gggcgtagac aaatcgcccc 7302
cagaagcgcg gccgtctgga ccgatggctg tgtagaagta ctcgccgata gtggaaaccg 7362
acgccccagc actcgteccg atcgggagat gggggaggct aactgaaaca cggaaggaga 7422
caataccgga aggaaccgc gctatgacgg caataaaaag acagaataaa acgcacgggt 7482
gttgggtcgt ttgttcataa acgcgggggt cggtcccagg gctggcactc tgtagatacc 7542
ccaccgagac ccattgggg ccaatacgcc cgcgtttctt ctttttcccc accccacccc 7602
ccaagtccg gtgaaggccc agggctcgca gccaacgtcg gggcggcagg ccctgccata 7662
gccactggcc ccgtgggtta gggacgggg ccccatggg gaatggttta tggttcgtgg 7722
gggttattat tttgggcgtt gcgtggggtc aggtccacga ctggactgag cagacagacc 7782
catggttttt ggatggcctg ggcatggacc gcatgtactg gcgcgacacg aacaccgggc 7842
gtctgtggct gccaaacacc cccgaccccc aaaaaccacc gcgcggattt ctggcgtgcc 7902
aagctgggta ccctctagag cgaattaatt cactggccgt cgttttaciaa cgtcgtgact 7962
gggaaaaccc tggcgttacc caacttaatc gccttgcagc acatccccct ttcgccagct 8022
ggcataatag cgaagaggcc cgcaccgac gcccttccca acagttgcgc agcctgaatg 8082
gcgaatggcg cctgatgcgg tattttctcc ttacgcactt gtgcggtatt tcacaccgca 8142
tatggtgcac tctcagtaca atctgctctg atgccgcata gttaagccag ccccgacacc 8202
cgccaacacc cgtgacgcg ccctgacggg cttgtctgct cccggcatcc gcttacagac 8262
aagctgtgac cgtctccggg agctgcatgt gtcagagggt ttcaccgtca tcaccgaaac 8322
gcgcgagacg aaaggggggg taccagcttc gtagctagaa catcatgttc tgggatatca 8382
gcttcgtagc tagaacatca tgttctggta cccccctcgt gatacgccta tttttatagg 8442
ttaatgtcat gataataatg gtttcttaga cgtcaggtgg cacttttcgg ggaaatgtgc 8502
gcggaacccc tatttgttta tttttctaaa tacattcaaa tatgtatccg ctcatgagac 8562
aataaccctg ataaatgctt caataatatt gaaaaaggaa gagtatgagt attcaacatt 8622

tccgtgtcgc ccttattccc ttttttgcgg cattttgcct tcctgttttt gctcaccag 8682
 aaacgctggt gaaagtaaaa gatgctgaag atcagttggg tgcacgagtg ggttacatcg 8742
 aactggatct caacagcggg aagatccttg agagttttcg ccccgaaaga cgttttccaa 8802
 tgatgagcac ttttaaagtt ctgctatgtg gcgcggtatt atcccgattt gacgccgggc 8862
 aagagcaact cggtcgccgc atacactatt ctccagaatga cttggttgag tactcaccag 8922
 tcacagaaaa gcatcttacg gatggcatga cagtaagaga attatgcagt gctgccataa 8982
 ccatgagtga taacactgcy gccaaacttac ttctgacaac gatcggagga ccgaaggagc 9042
 taaccgcttt ttgacacaac atgggggagc atgtaactcg ccttgatcgt tgggaaccgg 9102
 agctgaatga agccatacca aacgacgagc gtgacaccac gatgcctgta gcaatggcaa 9162
 caacgttgcy caaactatta actggcgaac tacttactct agcttcccgg caacaattaa 9222
 tagactggat ggaggcggat aaagttgcag gaccacttct gcgctcggcc cttccggctg 9282
 gctggtttat tgctgataaa tctggagccg gtgagcgtgg gtctcgcggg atcattgcag 9342
 cactggggcc agatggtaag cctcccgtat tcgtagttat ctacacgacg gggagtcagg 9402
 caactatgga tgaacgaaat agacagatcg ctgagatagg tgccctactg attaagcatt 9462
 ggtaactgtc agaccaagtt tactcatata tacttttagat tgatttaaaa cttcattttt 9522
 aatttaaaag gatctaggtg aagatccttt ttgataatct catgaccaa atcccttaac 9582
 gtgagttttc gttccactga gcgtcagacc ccgtagaaaa gatcaaagga tcttcttgag 9642
 atcctttttt tctgcgcgta atctgctgct tgcaaacaaa aaaaccaccg ctaccagcgg 9702
 tggtttggtt gccggatcaa gagctaccaa ctctttttcc gaaggtaact ggcttcagca 9762
 gagcgcagat accaaatact gttcttctag tgtagccgta gttaggccac cacttcaaga 9822
 actctgtagc accgcctaca tacctcgctc tgctaatact gttaccagtg gctgctgcca 9882
 gtggcgataa gtcgtgtctt accgggttgg actcaagacg atagttaccg gataaggcgc 9942
 agcggtcggg ctgaacgggg ggttcgtgca cacagcccag cttggagcga acgacctaca 10002
 ccgaactgag atacctacag cgtgagctat gagaaagcgc cacgcttccc gaaggagaga 10062
 aggcggacag gtatccggta agcggcaggg tcggaacagg agagcgcacg agggagcttc 10122

caggggggaaa cgcttggtat ctttatagtc ctgtcggggtt tcgccacctc tgacttgagc 10182
 gtcgattttt gtgatgctcg tcagggggggc ggagcctatg gaaaaacgcc agcaacgcgg 10242
 ccttttttacg gttcctggcc ttttgctggc cttttgctca 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
 cccaggcttt acactttatg cttccggctc gtatgttgtg tggaattgtg agcggataac 10602
 aatttcacac aggaaacagc tatgaccatg attacgcaa gctctctaga gctctagagc 10662
 tctagagctc tagagagctt gcatgcctgc aggtcg 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

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

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

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
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
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
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

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
cgcggttgaca ttgattattg actagttatt aatagtaatc aattacgggg tcattagttc 60
atagcccata tatggagttc cgcgttacat aacttacggt aaatggcccg cctggctgac 120
cgcccaacga ccccgccca ttgacgtcaa taatgacgta tgttcccata gtaacgccaa 180
tagggacttt ccattgacgt caatgggtgg agtatttacg gtaaactgcc cacttggcag 240
tacatcaagt gtatcatatg ccaagtacgc cccctattga cgtcaatgac ggtaaattggc 300
cgcctggca ttatgccag tacatgacct tatgggactt tcctacttgg cagtacatct 360
acgtattagt catcgctatt accatgggtga tgcggttttg gcagtacatc aatgggcgtg 420
gatagcgggt tgactcacgg ggatttccaa gtctccaccc cattgacgtc aatgggagtt 480
tgttttggca caaaaatcaa cgggactttc caaatgtcg taacaactcc gcccattga 540
cgcaaatggg cggtaggcgt gtacggtggg aggtctatat 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	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 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	
750 755 760	
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	
765 770 775	
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	
780 785 790	
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	
795 800 805	
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	
810 815 820 825	
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	
830 835 840	
gtt ttc 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	
845 850 855	
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	
860 865 870	
gaa gtt gaa gat aat atc atg gta act ttc aga aat cag gcc tct cgt	3399
Glu Val Glu Asp Asn Ile Met Val Thr Phe Arg Asn Gln Ala Ser Arg	
875 880 885	
ccc tat tcc ttc 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	
890 895 900 905	
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	
910 915 920	
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	
925 930 935	

DE 601 15 613 T2 2006.08.24

ttt gac tgc aaa gcc tgg gct tat ttc tct gat gtt 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	

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	

```

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 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 gtggtgtgac ataattggac aaactaccta cagagattta 5142
aagctctaag gtaaataataa aatttttaag tgtataatgt gttaaactac tgattctaata 5202
tgtttgtgta ttttagattc caacctatgg aactgatgaa tgggagcagt ggtggaatgc 5262
ctttaatgag gaaaacctgt tttgctcaga agaaatgcc a tctagtgatg atgaggctac 5322
tgctgactct caacattcta ctctccaaa aaagaagaga aaggtagaag accccaagga 5382
ctttccttca gaattgctaa gttttttgag tcatgctgtg tttagtaata gaactcttgc 5442
ttgctttgct atttacacca caaaggaaaa agctgcactg ctatacaaga aaattatgga 5502
aaaatattct gtaaccttta taagtaggca taacagttat aatcataaca tactgttttt 5562
tcttactoca cacaggcata gagtgtctgc tattaataac tatgctcaaa aattgtgtac 5622

```

ctttagcttt ttaatttgta aaggggttaa taaggaatat ttgatgtata gtgccttgac 5682
 tagagatcat aatcagccat accacatttg tagaggtttt acttgcttta aaaaacctcc 5742
 cacacctccc cctgaacctg aaacataaaa tgaatgcaat tgttggtggt aacttgctta 5802
 ttgcagctta taatggttac aaataaagca atagcatcac aaatttcaca aataaagcat 5862
 ttttttcact gcattctagt tgtggtttgt ccaaactcat caatgtatct tatcatgtct 5922
 ggatcccccg aacgccagca agacgtagcc cagcgcgtcg gccccgagat gcgccgcgtg 5982
 cggctgctgg agatggcgga cgcgatggat atgttctgcc aagggttgggt ttgcgcattc 6042
 acagttctcc gcaagaattg attggctcca attcttggag tggatgaatcc gttagcgagg 6102
 tgccgccctg cttcatcccc gtggcccgtt gctcgcgttt gctggcgggtg tccccggaag 6162
 aaatatattht gcatgtcttht agttctatga tgacacaaac cccgccagc gtcttgtcat 6222
 tggcgaattc gaacacgcag atgcagtcgg ggccggcggg tccgaggtcc acttcgcata 6282
 ttaaggtgac gcgtgtggcc tcgaacaccg agcgaccctg cagcgacccg cttaacagcg 6342
 tcaacagcgt gccgcagatc agcttgatat gaaaaagcct gaactcaccg cgacgtctgt 6402
 cgagaagtht ctgatcgaaa agttcgacag cgtctccgac ctgatgcagc tctcggaggg 6462
 cgaagaatct cgtgctthtca gcttcgatgt aggagggcgt ggatatgtcc tgcgggtaaa 6522
 tagctgcgcc gatggthtct acaaagatcg ttatgttht atcggcacttht catcgccgc 6582
 gctcccgatt ccggaagtgc ttgacattgg ggaattcagc gagagcctga cctattgcat 6642
 ctcccgccgt gcacaggggtg tcacgttgca agacctgcct gaaaccgaac tgcccgctgt 6702
 tctgcagccg gtcgcggagg ccatggatgc gatcgctgcg gccgatctta gccagacgag 6762
 cgggttcggc ccattcggac cgcaaggaat cgggtcaatac actacatggc gtgatttcat 6822
 atgcgcgatt gctgatcccc atgtgtatca ctggcaaact gtgatggacg acaccgtcag 6882
 tgcgtccgtc gcgcaggctc tcgatgagct gatgctthtgg gccgaggact gccccgaagt 6942
 ccggcacctc gtgcacgcgg atttcggctc caacaatgtc ctgacggaca atggccgcat 7002
 aacagcggtc attgactgga gcgaggcgat gttcggggat tcccaatacg aggtcgccaa 7062
 catcttcttc tggaggccgt ggttggttgg tatggagcag cagacgcgct acttcgagcg 7122

gagggcatccg gagcttgcag gatcgccgcg gctccgggcg tatatgctcc gcattggtct 7182
tgaccaactc tatcagagct tggttgacgg caatttcgat gatgcagctt gggcgcaggg 7242
tcgatgcgac gcaatcgtcc gatccggagc cgggactgtc gggcgtacac aaatcgcccc 7302
cagaagcgcg gccgtctgga ccgatggctg tgtagaagta ctcgccgata gtggaaaccg 7362
acgccccagc actcgtccgg atcgggagat gggggaggct aactgaaaca cggaaggaga 7422
caataccgga aggaaccgcg gctatgacgg caataaaaag acagaataaa acgcacgggt 7482
gttgggtcgt ttgttcataa acgcgggggt cgggccaggg gctggcactc tgtcgatacc 7542
ccaccgagac cccattgggg ccaatacgcc cgcgtttctt ccttttcccc accccacccc 7602
ccaagttcgg gtgaaggccc agggctcgca gccaacgtcg gggcggcagg ccctgccata 7662
gccactggcc ccgtgggtta gggacgggggt ccccatggg gaatggttta tggttcgtgg 7722
gggttattat tttgggcgtt gcgtggggtc aggtccacga ctggactgag cagacagacc 7782
catggttttt ggatggcctg ggcattggacc gcattgtactg gcgcgacacg aacaccgggc 7842
gtctgtggct gccaaacacc cccgaccccc aaaaaccacc gcgcggattt ctggcgtgcc 7902
aagctgggta ccctctagag cgaattaatt cactggccgt cgttttaciaa cgtcgtgact 7962
gggaaaaccc tggcgttacc caacttaatc gccttgcagc acatccccct ttccgcagct 8022
ggcgtaatag cgaagaggcc cgcaccgatc gcccttccca acagttgcgc agcctgaatg 8082
gcgaatggcg cctgatgcgg tattttctcc ttacgcatct gtgcggattt tcacaccgca 8142
tatggtgcac tctcagtaca atctgctctg atgccgcata gtttaagccag ccccgacacc 8202
cgccaacacc cgctgacgcg ccctgacggg cttgtctgct cccggcatcc gcttacagac 8262
aagctgtgac cgtctccggg agctgcatgt gtcagagggt ttcaccgtca tcaccgaaac 8322
gcgcgagacg aaaggggggg taccagcttc gtagctagaa catcatgttc tgggatatca 8382
gcttcgtagc tagaacatca tgttctggta cccccctcgt gatacgcta tttttatagg 8442
ttaatgtcat gataataatg gtttcttaga cgtcagggtg cacttttcgg ggaaatgtgc 8502
gcggaacccc tatttgttta tttttctaaa tacattcaaa tatgtatccg ctcatgagac 8562
aataaccctg ataaatgctt caataatatt gaaaaaggaa gagtatgagt attcaacatt 8622

tccgtgtcgc ccttattccc ttttttgccg cattttgcct tctgttttt gctcaccag 8682
 aaacgctggt gaaagtaaaa gatgctgaag atcagttggg tgcacgagtg ggttacatcg 8742
 aactggatct caacagcggg aagatccttg agagttttcg cccgaagaa cgttttccaa 8802
 tgatgagcac ttttaaagtt ctgctatgtg ggcgcgtatt atcccgtatt gacgccgggc 8862
 aagagcaact cggctgcgcg atacactatt ctgagaatga cttgggttgag tactcaccag 8922
 tcacagaaaa gcatcttacg gatggcatga cagtaagaga attatgcagt gctgccataa 8982
 ccatgagtga taacactgcg gccaaacttac ttctgacaac gatcggagga ccgaaggagc 9042
 taaccgcttt tttgcacaac atgggggatc atgtaactcg ccttgatcgt tgggaaccgg 9102
 agctgaatga agccatacca aacgacgagc gtgacaccac gatgcctgta gcaatggcaa 9162
 caacgttgcg caaactatta actggcgaac tacttactct agcttcccg caacaattaa 9222
 tagactggat ggaggcggat aaagttgcag gaccacttct gcgctcggcc cttccggctg 9282
 gctggtttat tgctgataaa tctggagccg gtgagcgtgg gtctcgcggg atcattgcag 9342
 cactggggcc agatggtaag ccctcccgta tcgtagttat ctacacgacg gggagtcagg 9402
 caactatgga tgaacgaaat agacagatcg ctgagatagg tgccctactg attaagcatt 9462
 ggtaactgtc agaccaagtt tactcatata tacttttagat tgatttaaaa cttcattttt 9522
 aatttaaaaag gatctaggtg aagatccttt ttgataatct catgaccaa atcccttaac 9582
 gtgagttttc gttccactga gcgtcagacc ccgtagaaaa gatcaaagga tcttcttgag 9642
 atcctttttt tctgcgcgta atctgctgct tgcaaacaaa aaaaccaccg ctaccagcgg 9702
 tggtttgttt gccggatcaa gagctaccaa ctctttttcc gaaggtaact ggcttcagca 9762
 gagcgcagat accaaatact gttcttctag tgtagccgta gttaggccac cacttcaaga 9822
 actctgtagc accgcctaca tacctcgtc tgctaatact gttaccagtg gctgctgcca 9882
 gtggcgataa gtcgtgtctt accgggttg actcaagacg atagttaccg gataaggcgc 9942
 agcggtcggg ctgaacgggg ggttcgtgca cacagcccag cttggagcga acgacctaca 10002
 ccgaactgag atacctacag cgtgagctat gagaaagcgc cacgcttccc gaaggagaa 10062
 aggcggacag gtatccggta agcggcaggg tcggaacagg agagcgcacg agggagcttc 10122

cagggggaaa cgctggtat ctttatagtc ctgtcgggtt tcgccacctc tgacttgagc 10182
 gtcgattttt gtgatgctcg tcaggggggc ggagcctatg gaaaaacgcc agcaacgcgg 10242
 cctttttacg gttcctggcc ttttgctggc cttttgctca catgttcttt cctgcgttat 10302
 cccctgattc tgtggataac cgtattaccg cctttgagtg agctgatacc gctcgccgca 10362
 gccgaacgac cgagcgcagc gagtcagtga gcgaggaagc ggaagagcgc ccaatacgca 10422
 aaccgcctct ccccgcgcggt tggccgattc attaatgcag ctggcacgac aggtttcccg 10482
 actggaaagc gggcagtgag cgcaacgcaa ttaatgtgag ttagctcact cattaggcac 10542
 cccaggcttt acactttatg cttccggctc gtatgttggtg tggaattgtg agcggataac 10602
 aatttcacac aggaaacagc tatgaccatg attacgcaa 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	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	
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	

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
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
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
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
 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	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 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-VIII-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 Transkriptionsaktivatorprotein 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 Transkriptionsaktivatorprotein 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

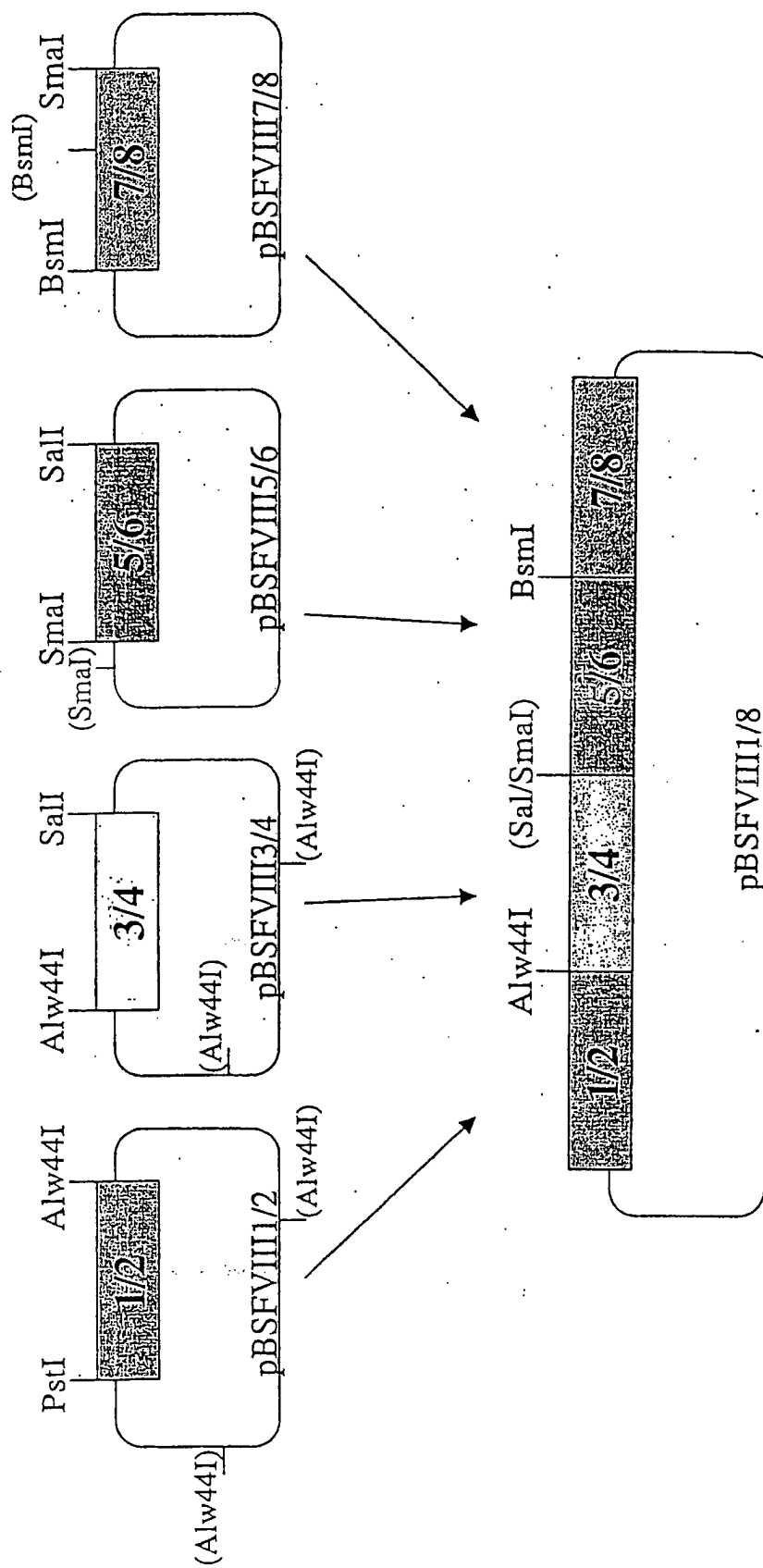


Fig. 2

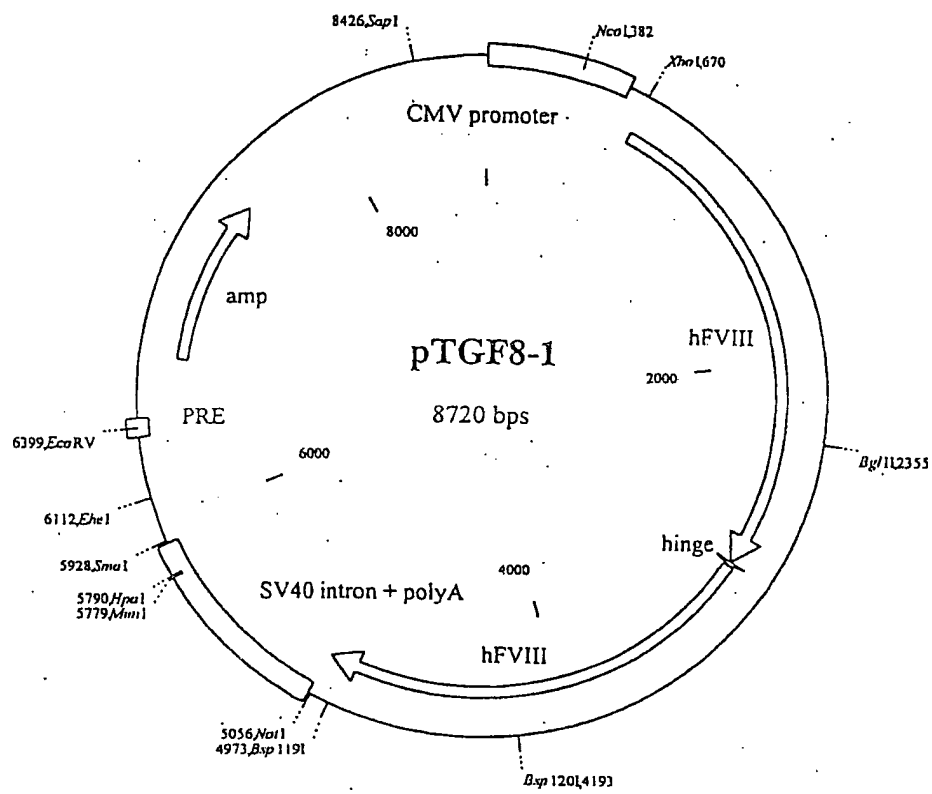


Fig. 3

Fig. 3 A

aga| agc ttc tcc cag aat tca aga cat caa gct tat 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

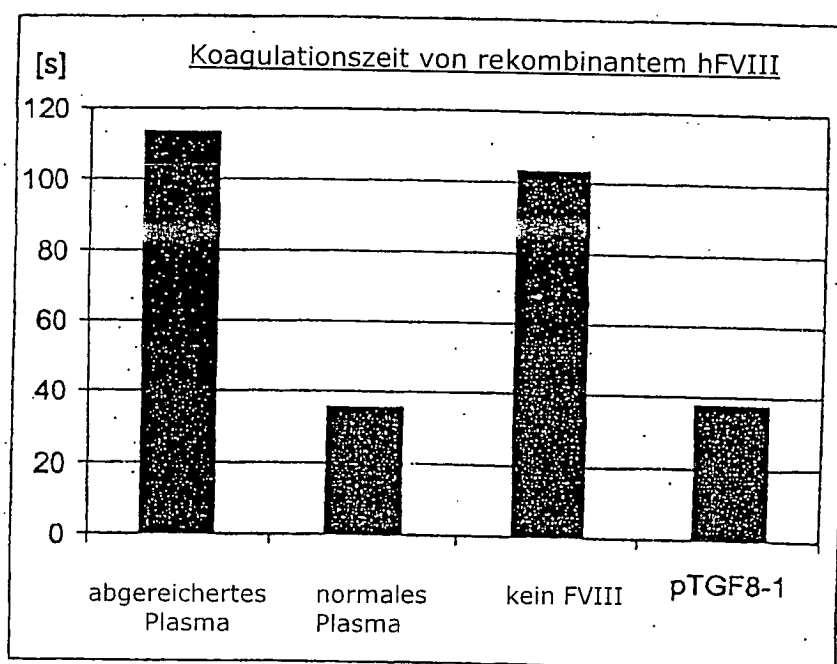


Fig. 4

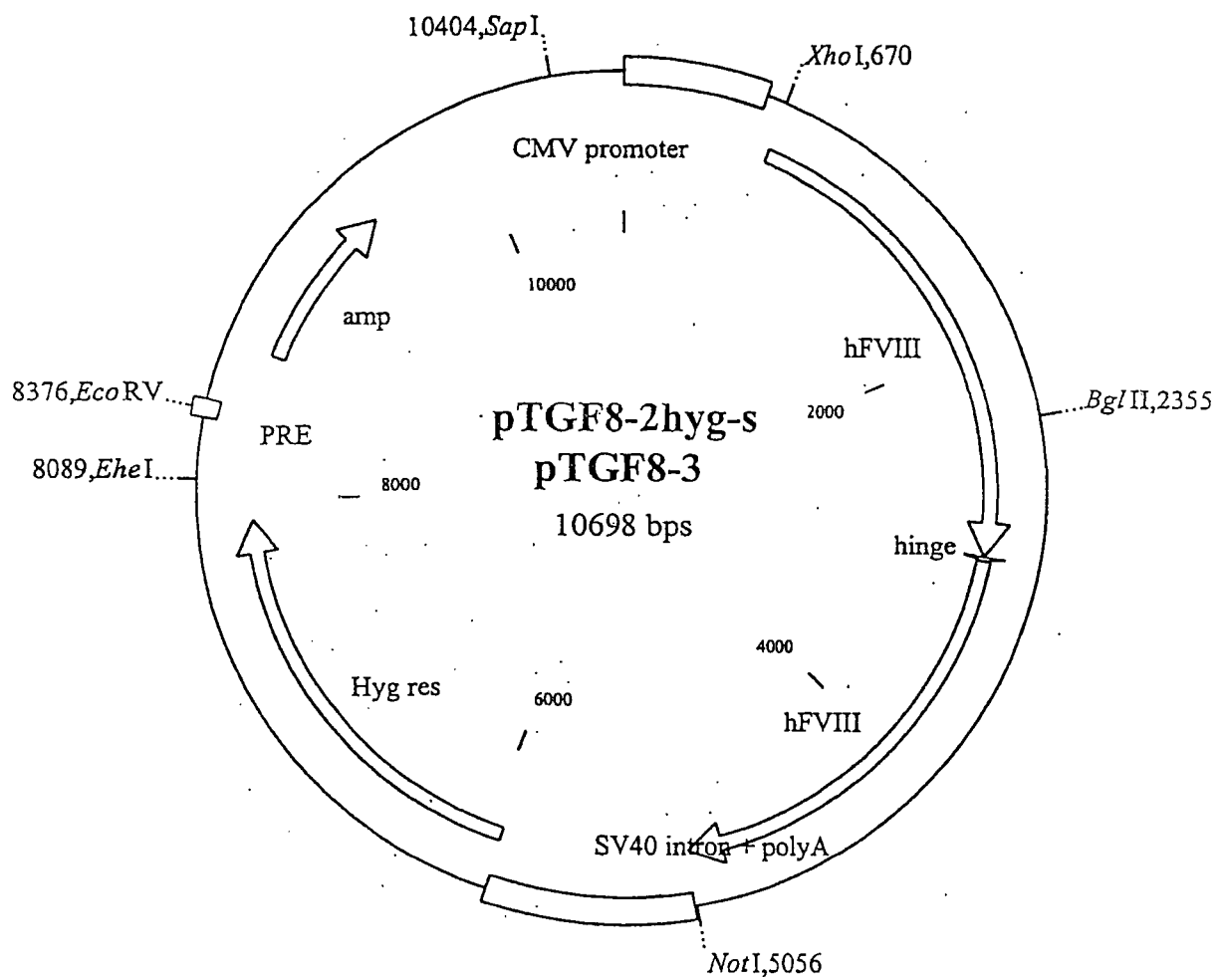


Fig. 5

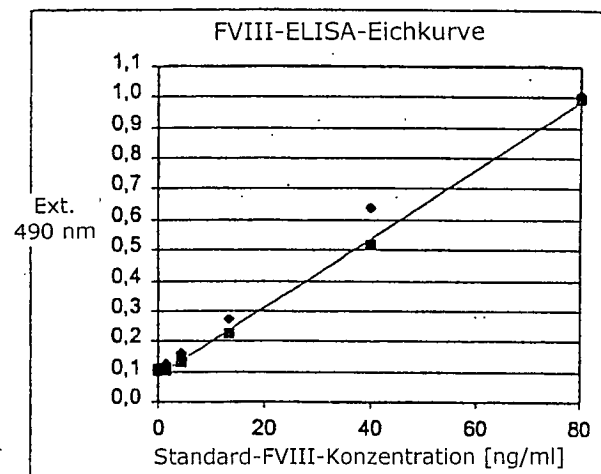


Fig. 5 A

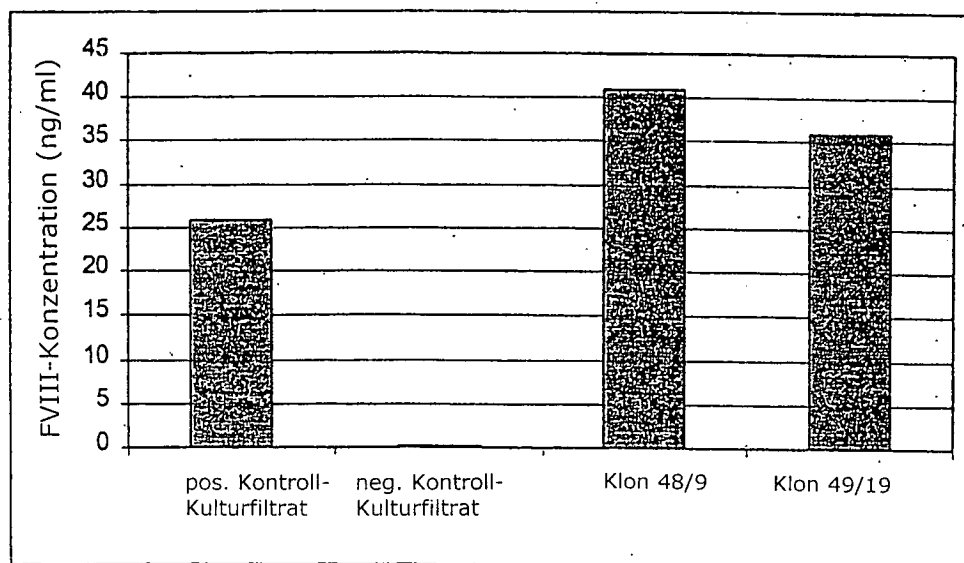


Fig. 5 B

Fig. 6

