



(19)  
Bundesrepublik Deutschland  
Deutsches Patent- und Markenamt

(10) **DE 694 34 428 T2** 2006.05.24

(12)

## Übersetzung der europäischen Patentschrift

(97) **EP 0 657 468 B1**

(21) Deutsches Aktenzeichen: **694 34 428.1**

(96) Europäisches Aktenzeichen: **94 116 169.7**

(96) Europäischer Anmeldetag: **13.10.1994**

(97) Erstveröffentlichung durch das EPA: **14.06.1995**

(97) Veröffentlichungstag

der Patenterteilung beim EPA: **20.07.2005**

(47) Veröffentlichungstag im Patentblatt: **24.05.2006**

(51) Int Cl.<sup>8</sup>: **C07K 14/475** (2006.01)

**C12N 15/00** (2006.01)

**A61K 38/19** (2006.01)

(30) Unionspriorität:

**28050593**

**14.10.1993**

**JP**

(73) Patentinhaber:

**Ono Pharmaceutical Co. Ltd., Osaka, JP**

(74) Vertreter:

**Henkel, Feiler & Hänzeler, 80333 München**

(84) Benannte Vertragsstaaten:

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

(72) Erfinder:

**Honjo, Tasuku, Sakyo-ku, Kyoto, JP; Shirozu, Michio, Kyoto-shi, Kyoto, JP; Tada, Hideaki, Shimamotocho, Osaka, JP**

(54) Bezeichnung: **Neue Polypeptide und diese codierende DNAs**

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****Gebiet der Erfindung**

**[0001]** Die vorliegende Erfindung betrifft neue Polypeptide, die durch eine humane Pro-B-Zelllinie produziert werden und diese codierende DNAs.

**[0002]** Die EP-A-0 607 054, die ein Dokument des Standes der Technik unter Artikel 54(3) und (4) EPÜ ist, offenbart ein Verfahren zur Konstruktion einer cDNA-Bibliothek, die Selektivität für Signalpeptide aufweist, das die effiziente Identifizierung eines unbekannten und verwendbaren Polypeptids, das ein Signalpeptid umfasst, ermöglicht. Ein aus 89 Aminosäuren bestehendes neues Polypeptid (das ein Signalpeptid umfasst), das durch eine Stromazelllinie produziert wird, das als Mittel zur Prävention oder Behandlung von beispielsweise Anämie, Leukopenie oder Infektionen und dergleichen verwendbar ist, und für dieses Polypeptid codierende DNAs wurden unter Verwendung des Verfahrens identifiziert.

**[0003]** Science 261, S. 600 – 603 (1993) offenbart ein Verfahren zur Klonierung komplementärer DNAs (cDNAs), die spezifische aminoterminalen Signalsequenzen, beispielsweise solche mit Codierung für Moleküle und Rezeptoren der interzellulären Signalübermittlung, tragen, ohne die Verwendung spezieller funktionaler Assays. Der in diesem System verwendete Vektor dirigierte die Zelloberflächenexpression von Interleukin-2-Rezeptor-Fusionsproteinen, wenn Inserts mit Signalsequenzen in-frame mit der richtigen Orientierung kloniert wurden. Eine Expressions-cDNA-Bibliothek wurde aus einer Knochenmarkstromazelllinie, die im 5'-Teil angereicherte cDNAs enthielt (die durchschnittliche Größe betrug 400 Basenpaare), konstruiert. Zwei cDNAs, die für vermutliche Cytokinmoleküle, von Stromazellen abgeleiteter Faktor-1 $\alpha$  (SDF-1 $\alpha$ ) und SDF-1 $\beta$ , die zu der Entzündungsproteinsuperfamilie interkriner Makrophagen gehören, codierten, wurden kloniert.

**[0004]** In Proc. Natl. Acad. Sci., USA, Band 91, S. 2305 – 2309 (1994) wird gelehrt, dass bekannt ist, dass die Erzeugung und Proliferation früher B-Zellen-Vorläuferzellen von Stromazellen stammende Moleküle erforderlich sind. Es wurde ermittelt, dass eine Stromazelllinie, PA6, einen löslichen Mediator produziert, der von Interleukin 7 (IL-7) und Stammzellenfaktor verschieden war und die Proliferation eines stromazellabhängigen Pre-B-Zellklons, DW34, unterstützte. Ein cDNA-Klon mit Codierung für diesen das Wachstum von DW34 stimulierenden Faktor wurde durch Expressionsklonierung isoliert. Die Nucleotidsequenz enthielt ein einziges wesentliches offenes Leseraster mit 267 Nucleotiden mit Codierung für ein Polypeptid von 89 Aminosäuren. Die Aminosäuresequenz dieses Cytokins, das als Pre-B-Cell-Growth-Stimulating-Faktor (PBSF) bezeichnet wurde, ergab, dass dies ein Mitglied der interkrinen  $\alpha$ -Subfamilie ist. Rekombinanter PBSF stimulierte die Proliferation von DW34-Zellen selbst und erhöhte ferner synergistisch das Wachstum von DW34 sowie Knochenmark-B-Zellen-Vorläuferzellen in Gegenwart von IL-7.

**Aufgabe der Erfindung**

**[0005]** Die vorliegende Erfindung betrifft neue Polypeptide, die durch hämopoetische Zellen produziert werden, und diese codierende DNAs. Es ist bekannt, dass viele Arten von Wachstums- und Differenzierungsfaktoren, wie Interleukin (IL), von hämopoetischen Zellen produziert werden.

**[0006]** Diese Tatsache legt nahe, dass Faktoren mit ähnlichen oder neuen Funktionen zusätzlich zu den bereits ermittelten bekannten sezernierenden Faktoren sezerniert werden könnten.

**[0007]** Die Erfinder der vorliegenden Erfindung schenken diesem Punkt Aufmerksamkeit und versuchten, neue Faktoren (Polypeptid) zu finden, die von hämopoetischen Zellen produziert werden. Die Erfinder der vorliegenden Erfindung führten ein Screening durch Kreuzhybridisierung unter Verwendung von cDNA von Maus-SDF-1 (Stromal Derived Factor 1; Beschreibung in der japanischen Patentanmeldung Nr. 5-22098) als Sonde durch und erhielten auf diese Weise humanen SDF-1 (2 Arten,  $\alpha$  und  $\beta$ ), der von humanen Pro-B-Zellen produziert wurde, und gelangten dadurch zur vorliegenden Erfindung.

**[0008]** Bei der Recherche nach Polypeptiden mit Sequenzen, die mit der des Polypeptids der vorliegenden Erfindung identisch oder hoch homolog sind, und DNAs mit Codierung für dieselben mit einem Computer, wurden keine ermittelt. Dadurch wurde nachgewiesen, dass das Polypeptid der vorliegenden Erfindung und die für dieses codierende DNA neu sind.

- (1) Ein Polypeptid mit der in SEQ ID NO:1 gezeigten Aminosäuresequenz
- (2) DNA mit der in SEQ ID NO:2 gezeigten Nucleotidsequenz und
- (3) DNA mit der in SEQ ID NO:3 gezeigten Nucleotidsequenz

- (4) ein Polypeptid mit der in SEQ ID No. 5 gezeigten Aminosäuresequenz
- (5) DNA mit der in SEQ ID NO:6 gezeigten Nucleotidsequenz und
- (6) DNA mit der in SEQ ID NO:7 gezeigten Nucleotidsequenz.

**[0009]** Gegenstand der vorliegenden Erfindung sind Polypeptide mit der in SEQ ID NO:1 oder 5 gezeigten Aminosäure und DNA mit Codierung für ein derartiges Polypeptid. Insbesondere betrifft die vorliegende Erfindung DNA mit der in SEQ ID NO: 2 oder 3 und 6 oder 7 gezeigten Nucleotidsequenz.

**[0010]** Eine weitere Ausführungsform der Erfindung stellt Replikations- und Expressionsvektoren bereit, die DNA gemäß der Erfindung umfassen. Die Vektoren können beispielsweise Plasmid-, Virus- oder Phagenvektoren sein, die mit einem Replikationsursprung, optional einem Promotor für die Expression der DNA und optional einem Regulator des Promotors ausgestattet sind. Der Vektor kann ein oder mehrere Gene eines selektierbaren Markers, beispielsweise ein Ampicillinresistenzgen, enthalten. Der Vektor kann in vitro, beispielsweise zur Produktion von der DNA entsprechenden RNA, verwendet werden oder zur Transfektion oder Transformation einer Wirtszelle verwendet werden.

**[0011]** Eine weitere Ausführungsform der Erfindung stellt Wirtszellen bereit, die mit den Vektoren für die Replikation und Expression von DNA gemäß der Erfindung, die die DNA von SEQ ID NO:2 oder 3 und 6 oder 7 oder das offene Leseraster derselben umfasst, transformiert oder transfiziert sind. Die Zellen werden derart gewählt, dass sie mit dem Vektor kompatibel sind, und sie können beispielsweise Bakterien-, Hefe-, Insekten- oder Säugerzellen sein.

**[0012]** Ein weiteres Verfahren der Erfindung stellt ein Verfahren zur Produktion eines Polypeptids bereit, das die Kultivierung von Wirtszellen der vorliegenden Erfindung unter zur Expression eines Polypeptids der Erfindung wirksamen Bedingungen umfasst. Vorzugsweise wird ferner ein derartiges Verfahren unter Bedingungen durchgeführt, wobei das Polypeptid gemäß der Erfindung exprimiert und dann von den Wirtszellen produziert wird.

**[0013]** DNA gemäß der Erfindung kann auch in die oben beschriebenen Vektoren in Antisense-Orientierung inseriert werden, um die Produktion von Antisense-RNA zu ergeben. Antisense-RNA kann auch durch synthetische Mittel produziert werden. Derartige Antisense-RNA kann in einem Verfahren zur Steuerung der Mengen eines Polypeptids gemäß der Erfindung in einer Zelle verwendet werden.

**[0014]** Monoklonale oder polyklonale Antikörper gegen ein Polypeptid gemäß der Erfindung werden beschrieben. Ferner wird ein Verfahren zur Herstellung von monoklonalen oder polyklonalen Antikörpern gegen die Polypeptide der Erfindung beschrieben. Monoklonale Antikörper können durch herkömmliche Hybridomtechnologien unter Verwendung eines Polypeptids der Erfindung oder eines Fragments derselben als Immunogen hergestellt werden. Polyklonale Antikörper können auch durch herkömmliche Mittel, die die Impfung eines Wirtstiers, beispielsweise einer Ratte oder eines Kaninchens, mit einem Polypeptid der Erfindung und die Gewinnung des Immunserums umfassen, hergestellt werden.

**[0015]** Die vorliegende Erfindung stellt ferner pharmazeutische Zusammensetzungen, die ein Polypeptid der Erfindung in Verbindung mit einem pharmazeutisch akzeptablen Verdünnungsmittel und/oder Träger enthalten, bereit.

**[0016]** Das Polypeptid der vorliegenden Erfindung umfasst eines, bei dem ein Teil von dessen Aminosäuresequenz fehlt (beispielsweise ein Polypeptid, das nur aus der zum Zeigen einer biologischen Aktivität essentiellen Sequenz in der in SEQ ID NO:1 oder 5 gezeigten Aminosäuresequenz besteht), eines, bei dem ein Teil von dessen Aminosäuresequenz durch andere Aminosäuren ersetzt ist (beispielsweise durch eine Aminosäure mit einer ähnlichen Eigenschaft ersetzt ist), und eines, bei dem andere Aminosäuren an einen oder in einen Teil von dessen Aminosäuresequenz addiert oder inseriert sind, sowie diejenigen mit der in SEQ ID NO:1 oder 5 gezeigten Aminosäuresequenz.

**[0017]** Wie bekannt ist, gibt es eine bis sechs Codonarten, die für eine Aminosäure codieren (beispielsweise sind eine Codonart für Met und sechs Codonarten für Leucin (Leu) bekannt). Daher kann die Nucleotidsequenz von DNA verändert werden, um für ein Polypeptid mit der gleichen Aminosäuresequenz zu codieren.

**[0018]** Die in (2) und (5) spezifizierte DNA ist die Sequenz in der natürlichen Form.

**[0019]** Die in (3) und (6) gezeigte DNA gibt die in (2) und (5) spezifizierte DNA mit einer nicht-translatierten

Region an.

**[0020]** Ein Signalpeptid ist eine hydrophobe Region, die unmittelbar strangabwärts der Translationsinitiations-aminosäure Met lokalisiert ist. Es wird angenommen, dass das Signalpeptid im Polypeptid der vorliegenden Erfindung in einer Region im Bereich von Met an der 1-Position bis Gly an der 21-Position in der durch SEQ ID NO:1 oder 5 dargestellten Aminosäuresequenz sitzt. Die für die Expression der biologischen Aktivität essentiell verantwortliche Region entspricht dem Teil der Aminosäuresequenzen der SEQ ID NO:1 und 5 ohne die Signalpeptide, d.h. dem reifen Proteinteil. Daher betreffen die Signalpeptide niemals die Aktivität.

**[0021]** Die DNA mit einer in SEQ ID NO:3 oder 7 gezeigten Nucleotidsequenz kann nach den folgenden Verfahren hergestellt werden, d.h.:

- (i) durch Isolieren von mRNA aus einer Zelle, die das Polypeptid der vorliegenden Erfindung produziert (beispielsweise eine humane Pro-B-Zelllinie),
- (ii) durch Herstellen eines ersten Strangs (Einzelstrang-cDNA) aus der auf diese Weise erhaltenen mRNA, anschließende Herstellung eines zweiten Strangs (Doppelstrang-cDNA) (Synthese von cDNA),
- (iii) durch Insertion der auf diese Weise erhaltenen cDNA in einen geeigneten Phagenvektor,
- (iv) durch Transfektion von rekombinantem Phagen in Wirtszellen (Konstruktion einer cDNA-Bibliothek),
- (v) durch Screening einer cDNA-Bibliothek mit Plaquehybridisierung unter Verwendung von Maus-SDF-1-cDNA als Sonde,
- (vi) durch Herstellen von Phagen-DNA, die den erhaltenen positiven Klon enthält, anschließende Subklonierung von ausgeschnittener cDNA in einen Plasmidvektor und anschließende Herstellung der Restriktionsenzymkarte,
- (vii) durch Bestimmen der Nucleotidsequenz der einzelnen mit Restriktionsenzym geschnittenen Fragmente und anschließenden Zusammenbau der Sequenz voller Länge.

**[0022]** Genauer erklärt, kann die Stufe (i) gemäß dem Verfahren von H. Okayama et al. (Beschreibung in Method in Enzymology, Band 154, S. 3, 1987) nach der Stimulation einer humanen Pro-B-Zelllinie mit einem geeigneten Stimulanz (beispielsweise IL-1 und dergleichen) oder ohne Stimulation durchgeführt werden.

**[0023]** Beispiele für die Zellen, die die Polypeptide der vorliegenden Erfindung sezernieren, sind vorzugsweise die humane Pro-B-Zelllinie FLEB14. Diese humane Zelllinie FLEB14 kann von 1st Lecture, Medicinal Chemistry, School of Medicine, Kyoto University, geliefert werden.

**[0024]** Die Stufen (ii), (iii) und (iv) sind eine Reihe von Stufen zur Herstellung einer cDNA-Bibliothek und können gemäß dem Verfahren von Glubler & Hoffman (Gene, Band 25, S. 263, 1983) mit einer leichten Modifikation durchgeführt werden.

**[0025]** Als Beispiele für den in der Stufe (iii) verwendeten Vektor sind viele Plasmidvektoren (beispielsweise pB322, pBluescript und dergleichen), Phagenvektoren (beispielsweise  $\lambda$ gt10,  $\lambda$ DASH II und dergleichen) bekannt, wobei ein Phagenvektor  $\lambda$ gt10 (43,3 kbp, Stratagene) bevorzugt ist.

**[0026]** Die in Stufe (iv) verwendete Wirtszelle ist vorzugsweise E. coli NM514 (Stratagene).

**[0027]** Die Stufen (v) und (vi) können gemäß dem in Molecular Cloning (Verfasser Sam Brook, E.F. Fritsh und T. Maniatis, Verlag Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989) beschriebenen Verfahren durchgeführt werden.

**[0028]** Die Sequenzierung in der Stufe (vii) kann nach dem Maxam-Gilbert-Verfahren oder dem Didesoxyterminationsverfahren durchgeführt werden.

**[0029]** Es ist notwendig, zu bestätigen, dass die erhaltene cDNA die vollständige oder nahezu vollständige Länge intakter mRNA umfasst. Diese Bestätigung kann durch Northern-Analyse unter Verwendung der cDNA als Sonde durchgeführt werden (s. Molecular Cloning).

**[0030]** Wenn die Größe von aus der hybridisierten Bande erhaltener mRNA und die Größe der cDNA nahezu gleich sind, wird angenommen, dass die cDNA nahezu die volle Länge aufweist.

**[0031]** Sobald die in SEQ ID NO:2, 3, 6, 7 gezeigten Nucleotidsequenzen bestimmt sind, kann DNA der vorliegenden Erfindung durch chemische Synthese, durch PCR-Verfahren oder durch Hybridisierung unter Verwendung eines Fragments von DNA der vorliegenden Erfindung als Sonde erhalten werden. Ferner kann DNA

der vorliegenden Erfindung in einer gewünschten Menge durch Transformation mit einer Vektor-DNA, in die eine DNA der vorliegenden Erfindung inseriert ist, in einem geeigneten Wirt und anschließendes Kultivieren der Transformanten erhalten werden.

**[0032]** Die Polypeptide der vorliegenden Erfindung (die in SEQ ID NO:1 oder 5 gezeigt sind) können durch:  
 (1) Isolieren und Reinigen aus einem Organismus oder einer kultivierten Zelle,  
 (2) chemische Synthese oder  
 (3) unter Verwendung biotechnologischer Verfahren,

vorzugsweise durch das in (3) beschriebene Verfahren, hergestellt werden.

**[0033]** Beispiele für ein Expressionssystem bei der Herstellung eines Polypeptids unter Verwendung biotechnologischer Verfahren sind beispielsweise das Expressionssystem von Bakterien, Hefe, Insektenzellen und Säugerzellen.

**[0034]** Beispielsweise kann die Expression in *E. coli* durch Addition des Initiationscodons (ATG) an das 5'-Ende einer DNA mit Codierung für das reife Protein, Verbinden der auf diese Weise erhaltenen DNA mit der strangabwärtigen Seite eines geeigneten Promotors (beispielsweise trp-Promotor, lac-Promotor, IPL-Promotor, T7-Promotor und dergleichen) und anschließendes Insertieren derselben in einen Vektor (beispielsweise pBR322, pUC18, pUC19 und dergleichen), der in einem *E. coli*-Stamm funktioniert, wobei ein Expressionsvektor hergestellt wird, durchgeführt werden.

**[0035]** Wenn ein Signalpeptid von Bakterien (beispielsweise das Signalpeptid pel B) verwendet wird, kann das gewünschte Polypeptid auch im Periplasma produziert werden. Ferner kann ein Fusionsprotein mit einem andern Polypeptid ebenfalls ohne weiteres produziert werden.

**[0036]** Ferner kann die Expression in einer Säugerzelle beispielsweise durch Insertion der in SEQ ID NO:3 oder 6 gezeigten DNA in die strangabwärtige Seite eines geeigneten Promotors (beispielsweise SV40-Promotor, LTR-Promotor, Metallothioneinpromotor und dergleichen) in einem geeigneten Vektor (beispielsweise Retrovirusvektor, Papillomavirusvektor, Vacciniavirusvektor, SV40-Vektor und dergleichen) unter Bildung eines Expressionsvektors und Transfektion einer geeigneten Säugerzelle (beispielsweise Affen-COS-7-Zelle, Chinese-Hamster-CHO-Zelle, Maus-L-Zelle und dergleichen) mit dem auf diese Weise erhaltenen Expressionsvektor und anschließendes Kultivieren der Transformante in einem geeigneten Medium durchgeführt werden, wobei ein gewünschtes Polypeptid in dem Kulturmedium erhalten wird. Das auf diese Weise erhaltene Polypeptid kann durch herkömmliche biochemische Verfahren isoliert und gereinigt werden.

#### Wirkungen der Erfindung

**[0037]** Die Polypeptide der vorliegenden Erfindung werden in Pro-B-Zellen produziert und sezerniert, weshalb sie für Erkrankungen, die mit mangelnder oder anomaler Proliferation von hämopoetischen Zellen, neuronaler Verstärkung oder Depression, immunologischer Verstärkung und Depression in Verbindung stehen, beispielsweise entzündliche Erkrankungen (rheumatoide Arthritis, ulzeröse Colitis und dergleichen), hämopoetische Stammcytopenie nach einer Knochenmarktransplantation, Leukocytopenie, Thrombocytopenie, B-Lymphopenie und T-Lymphopenie nach einer Chemotherapie, Anämie, infektiöse Krankheiten, Krebs, Leukocytose, AIDS, neurodegenerative Erkrankungen (Alzheimer, Multiple Sklerose und dergleichen), Prävention oder Behandlung neuronaler Läsionen, Prävention oder Behandlung einer Störung des Knochenstoffwechsels (Osteoporose und dergleichen) oder Gewebereparatur verwendet werden können.

**[0038]** Bei den obigen Aktivitäten wurde bestätigt, dass der Maus-SDF-1 $\alpha$  die Proliferation der Maus-Knochenmark-Vorläuferzelllinie DA1G im Labortest stimulierte. Es wurde nahegelegt, dass der humane SDF-1 $\alpha$  ebenfalls die gleiche Aktivität aufweist.

**[0039]** Ferner können polyklonale oder monoklonale Antikörper gegen das Polypeptid der vorliegenden Erfindung bei der Bestimmung der Mengen des Polypeptids im Organismus verwendet werden und dadurch zum Zwecke der Untersuchung der Beziehung zwischen dem Polypeptid und Erkrankungen oder zum Zweck der Diagnose von Erkrankungen und dergleichen verwendet werden. Polyklonale und monoklonale Antikörper desselben können durch herkömmliche Verfahren unter Verwendung des Polypeptids oder Fragments desselben als Antigen hergestellt werden.

**[0040]** Die DNA der vorliegenden Erfindung kann als wichtiges und essentielles Templat bei der Herstellung

des Polypeptids der vorliegenden Erfindung verwendet werden, wobei erwartet wird, dass es verschiedene Verwendungsmöglichkeiten für die Diagnose und bei der Behandlung von Genkrankheiten (die Behandlung einer Gendefektkrankheit und die Behandlung durch Hemmung der Expression des Polypeptids durch Antisense-DNA (RNA) und dergleichen) besitzt. Ferner kann genomische DNA durch Verwendung der DNA der vorliegenden Erfindung als Sonde isoliert werden. In ähnlicher Weise ist es möglich, Gene mit hoher Homologie zu der DNA der vorliegenden Erfindung bei Menschen oder der anderer Arten zu isolieren.

#### Anwendung für Arzneimittel

**[0041]** Die Polypeptide der vorliegenden Erfindung werden in Pro-B-Zellen produziert und sezerniert, weshalb sie für Erkrankungen, die mit mangelnder oder anomaler Proliferation von hämopoetischen Zellen, neuronaler Verstärkung oder Depression, immunologischer Verstärkung und Depression in Verbindung stehen, beispielsweise entzündliche Erkrankungen (rheumatoide Arthritis, ulzeröse Colitis und dergleichen), hämopoetische Stammcytopenie nach einer Knochenmarktransplantation, Leukocytopenie, Thrombocytopenie, B-Lymphopenie und T-Lymphopenie nach einer Chemotherapie, Anämie, infektiöse Krankheiten, Krebs, Leukocytose, AIDS, neurodegenerative Erkrankungen (Alzheimer, Multiple Sklerose und dergleichen), Prävention oder Behandlung neuronaler Läsionen, Prävention oder Behandlung einer Störung des Knochenstoffwechsels (Osteoporose und dergleichen) oder Gewebereparatur verwendet werden können.

**[0042]** Die Polypeptide der vorliegenden Erfindung können normalerweise systemisch oder partiell, üblicherweise durch orale oder parenterale Verabreichung, vorzugsweise oral, intravenös oder intraventrikulär verabreicht werden.

**[0043]** Die zu verabreichenden Dosen werden in Abhängigkeit von dem Alter, Körpergewicht, Symptom, der gewünschten therapeutischen Wirkung, dem Verabreichungsweg und der Dauer der Behandlung und dergleichen bestimmt. Bei dem erwachsenen Menschen betragen die Dosen pro Person pro Dosis allgemein zwischen 100 µg und 100 mg bei oraler Verabreichung bis zu mehrere Male pro Tag und zwischen 10 µg und 100 mg bei parenteraler Verabreichung bis zu mehrere Male pro Tag.

**[0044]** Wie im Vorhergehenden angegeben, hängen die zu verwendenden Dosen von verschiedenen Bedingungen ab. Daher gibt es Fälle, in denen geringere oder größere Dosen als die oben angegebenen Bereiche verwendet werden können.

**[0045]** Die Verabreichung der Verbindungen der vorliegenden Erfindung kann als feste Zusammensetzungen, flüssige Zusammensetzungen oder andere Zusammensetzungen zur oralen Verabreichung, als Injektionen, Liniments oder Suppositorien und dergleichen zur parenteralen Verabreichung erfolgen.

**[0046]** Feste Zusammensetzungen zur oralen Verabreichung umfassen Presstabletten, Pillen, Kapseln, dispergierbare Pulver, Granulate. Kapseln umfassen Weichkapseln und Hartkapseln.

**[0047]** In derartigen Zusammensetzungen sind eine oder mehrere der aktiven Verbindung(en) mit mindestens einem inerten Verdünnungsmittel (wie Lactose, Mannit, Glucose, Hydroxypropylcellulose, mikrokristalline Cellulose, Stärke, Polyvinylpyrrolidon, Magnesiummetasilicataluminat und dergleichen) gemischt. Die Zusammensetzungen können auch, wie es normale Praxis ist, weitere Substanzen außer inerten Verdünnungsmitteln: beispielsweise Gleitmittel (wie Magnesiumstearat und dergleichen), den Zerfall fördernde Mittel (wie Cellulosecalciumglykolat und dergleichen), Stabilisierungsmittel (wie humanes Serumalbumin, Lactose und dergleichen) und Lösungshilfsstoffe (wie Arginin, Asparaginsäure und dergleichen) umfassen.

**[0048]** Die Tabletten oder Pillen können, falls gewünscht, mit einem Film aus gastrischem oder enterischem Material (wie Zucker, Gelatine, Hydroxypropylcellulose oder Hydroxypropylmethylcellulosephthalat und dergleichen) beschichtet oder mit mehr als zwei Filmen beschichtet sein. Und ferner kann eine Beschichtung das Enthaltensein in Kapseln aus absorbierbaren Materialien, wie Gelatine, umfassen.

**[0049]** Andere Zusammensetzungen zur oralen Verabreichung umfassen Sprayzusammensetzungen, die durch bekannte Verfahren hergestellt werden können und die eine oder mehrere aktive Verbindungen umfassen. Sprayzusammensetzungen können weitere Substanzen außer inerten Verdünnungsmitteln umfassen: beispielsweise Stabilisierungsmittel (Natriumsulfit und dergleichen), isotonischen Puffer (Natriumchlorid, Natriumcitrat, Citronensäure und dergleichen). Zur Herstellung derartiger Sprayzusammensetzungen kann beispielsweise das Verfahren gemäß der Beschreibung in dem US-Patent Nr. 2 868 691 oder 3 095 355 (hier in ihrer Gesamtheit als Bezug aufgenommen) verwendet werden.

**[0050]** Injektionen können außer inerten Verdünnungsmitteln weitere Mittel enthalten: beispielsweise Konservierungsmittel, Befeuchtungsmittel, Emulgatoren, Dispergiemittel, Stabilisierungsmittel (wie humanes Serumalbumin, Lactose und dergleichen) und Hilfsmittel, wie Lösungshilfsstoffe (Arginin, Asparginsäure und dergleichen), umfassen.

**[0051]** Diese können beispielsweise durch Filtration über ein Bakterienrückhaltefilter, durch Einarbeiten von Sterilisierungsmitteln in den Zusammensetzungen oder durch Bestrahlung sterilisiert werden. Sie können auch in der Form steriler fester Zusammensetzungen, beispielsweise durch Gefriertrocknen, die in sterilem Wasser oder einem anderen sterilen Verdünnungsmittel zu Injektionszwecken unmittelbar vor der Verwendung gelöst werden können, hergestellt werden.

**[0052]** Andere Zusammensetzungen zur parenteralen Verabreichung umfassen Flüssigkeiten zur äußerlichen Verwendung und endermische Liniments (Salbe und dergleichen), Suppositorien zur rektalen Verabreichung und Zäpfchen, die eine oder mehrere der aktiven Verbindungen umfassen und nach bekannten Verfahren hergestellt werden können.

#### Beispiele

**[0053]** Die folgenden Beispiele erläutern die vorliegende Erfindung, ohne diese zu beschränken.

#### Beispiel 1

##### Northern-Analysis der humanen Zelllinie FLEB14

**[0054]** Zellen der humanen Pro-8-Zelllinie FLEB14 (siehe S. Katamine et al., Nature, 309, 369 (1984)) wurden homogenisiert. Das Homogenat wurde mit oligo-dT-Cellulose inkubiert. Poly(A)-RNA wurde nach Auswaschen eluiert (B. Vennstorm et al., Cell, 28, 135 (1982)). 1 µg Poly(A)-RNA wurde in einem 1,0 % Agarosegel einer Elektrophorese unterzogen und dann auf eine Nitrocellulosemembran geblottet.

**[0055]** Die Membran wurde mit 32P-markierter cDNA von Maus-SDF-1 (Beschreibung als SEQ ID NO:3 in der japanischen Patentanmeldung Nr. 5-22098; die Sequenz ist in SEQ ID NO:9 gezeigt; der Faktor wird nun als SDF-1α bezeichnet, da ein weiterer SDF-1 von Maus ermittelt wurde.) mit 50 % Formamid, 5 X SSC, 0,1 % SDC, 0,1 % SDS, 5 X Denhardt's, 0,1 mg/ml Lachssperma-DNA bei 39 °C hybridisiert und mit 0,3 M NaCl, 30 mM Na-Citrat, 0,1 % SDS bei 50 °C gewaschen und dann wurde ein Autoradiogramm erstellt. 3,5-kb- und 1,9-kb-mRNA waren hybridisiert.

#### Beispiel 2

##### Herstellung von cDNA aus mRNA von humaner Pro-B-Zelllinie

**[0056]** Eine cDNA-Bibliothek wurde aus Zellen der humanen Pro-B-Zelllinie FLEB14 durch herkömmliche Verfahren konstruiert (siehe Molecular Cloning; J. Sambrook, E.F. Fritsh & T. Maniatis, Cold Spring Harbor Laboratory Press (1989)). cDNA wurde unter Verwendung des Time Saver cDNA Synthesis Kit (Pharmacia) synthetisiert.

**[0057]** Der erste Strang wurde ausgehend von FLEB14-Poly(A)-RNA (5 µg) unter Verwendung einer reversen Transkriptase und eines oligo-dT-Primers synthetisiert. Und unter Verwendung eines DNA-Polymerase I wurde Doppelstrang-cDNA synthetisiert.

**[0058]** cDNA wurde an einen EcoRI-NotI-Adapter:

AATTCGCGGCCGCT (SEQ ID NO:10)

GCGCCGGCGAp (SEQ ID NO:11)

ligiert und dann phosphoryliert, wobei cDNA, die mehr als 800 bp aufwies, von einem 0,8 % Agarosegel mit einem Glaspulver gewonnen wurde (GeneClean II DNA Purification Kit, erhältlich von Bio101).

#### Beispiel 3

##### Herstellung einer cDNA-Bibliothek und Kreuzhybridisierung

**[0059]** Die erhaltene cDNA wurde mit einem λgt10-Phagenvektor (erhältlich von Stratagene) ligiert, wobei ein

EcoRI-Arm mit Phosphatase behandelt wurde.

**[0060]** Zur In-vitro-Packung wurde dem Protokoll des In-vitro-Packungskits LAMDA INN (erhältlich von Nihon gene) gefolgt. Der Wirt E. coli NM514 (erhältlich von Stratagene) wurde mit den rekombinanten Phagen transfiziert. Eine cDNA-Bibliothek, die  $1 \times 10^6$  Plaques enthielt, wurde erhalten.  $1 \times 10^6$   $\lambda$ gt10-Phagenplaques der cDNA-Bibliothek wurden auf Nitrocellulosemembranen transfiziert. Die Membranen wurden mit der  $^{32}\text{P}$ -markierten cDNA von Maus-SDF-1 $\alpha$  (in SEQ ID NO:9 gezeigt, die in Beispiel 1 verwendete cDNA) in 50 Formamid, 5 X SSD, 0,1 % SDS, 5 X Denhardt's, 0,1 mg/ml Lachssperma-DNA bei 39 °C hybridisiert und in 0,3 M NaCl, 30 mM Na-Citrat, 0,1 % SDS bei 50 °C gewaschen und es wurde ein Autoradiogramm erstellt. 40 positive Klone wurden erhalten.

#### Beispiel 4

##### Isolierung positiver Klone

**[0061]** Phagen-DNA wurde ausgehend von 9 positiven Klonen durch das herkömmliche Verfahren hergestellt (siehe Cell Technology Experimental Protocol, S. 8, veröffentlicht bei Shuujun-sha) hergestellt. Phagen-DNA wurde an Not I verdaut. Die Länge der Insert-cDNA wurde durch Agarosegelelektrophorese ermittelt. Die Länge von 8 Klonen betrug 1,9 kb und die Länge von einem Klon betrug 3,5 kb. Es wurde angenommen, dass diese zwei Arten von Klonen aufgrund des Ergebnisses einer Northern-Analyse fast die volle Länge von humaner SDF-1 $\alpha$ - und SDF- $\beta$ -cDNA darstellten.

**[0062]** cDNA von einem Klon wurde von 8 Klonen einer Länge von 1,9 kb aufgenommen und ein Klon einer Länge von 3,5 kb wurden an Not I verdaut, einer Agaroseelektrophorese unterzogen und die Fragmente wurden ausgeschnitten und an der Not I-Stelle des Plasmids pBluescript subkloniert.

#### Beispiel 5

##### Herstellung einer Restriktionsenzymkarte und Sequenzierung

**[0063]** Eine Restriktionsenzymkarte von humanem SDF-1 (1,9 kb) wurde hergestellt (in [Fig. 1](#) gezeigt). Die einzelnen Restriktionsenzymfragmente wurden als cDNA in pBluescript subkloniert und anschließend wurden Nucleotidsequenzen von etwa 300 bp von beiden Enden jedes Inserts bestimmt. Unter Zusammenbau dieser Sequenzen wurden Nucleotidsequenzen voller Länge bestimmt (in SEQ ID NO:3 gezeigt).

**[0064]** Ein offenes Leseraster und eine Aminosäuresequenz wurden ausgehend von der Nucleotidsequenz der cDNA voller Länge bestimmt, wobei die Ergebnisse in SEQ ID NO:1 gezeigt sind. Unter Vergleich mit bekannten Signalpeptiden wurden 30 – 40 Aminosäuren der erhaltenen N-Termini mit einem bekannten Signalpeptid verglichen, ein Signalpeptid der Polypeptide der vorliegenden Erfindung angenommen und die erhaltene Sequenz in SEQ ID NO:4 gezeigt (s. G. Von Heuane, Nucleic Acids Res. 14, 4683 (1986)).

**[0065]** Durch das gleiche Verfahren wie oben beschrieben wurden eine Restriktionsenzymkarte (in [Fig. 2](#) gezeigt), Nucleotidsequenzen voller Länge (in SEQ ID NO:7 gezeigt), ein offenes Leseraster (in SEQ ID NO:6 gezeigt), eine Aminosäuresequenz (in SEQ ID NO:5 gezeigt) und eine Sequenz, die mit Signalpeptid gezeigt ist, (in SEQ ID NO:8 gezeigt) des 3,5 kb-Klons erhalten.

**[0066]** Die abgeleiteten Aminosäuresequenzen des 3,5 kb-Klons und 1,9 kb-Klons waren einander sehr ähnlich, weshalb der 1,9 kb-Klon als SDF-1 $\alpha$  und der 3,5 kb-Klon als SDF-1 $\beta$  bezeichnet wurden.

**[0067]** Die Nucleotidsequenzen wurden durch ein Cyclusequenzverfahren unter Verwendung einer Fluoreszenzbestimmungsvorrichtung (von Applied Biosystem Inc. geliefert) bestimmt. Das Lesen von Nucleotidsequenzen wurde durch einen DNA Sequencer (Modell 373, von Applied Biosystem Inc. geliefert) durchgeführt.

**[0068]** Nucleotidsequenzen und abgeleitete Aminosäuresequenzen von SDF-1 $\alpha$  und -1 $\beta$  wurden einer Homologierecherche durch einen Computer in einer Datenbank (GENBANK und EMBL für DNA, NBRF und SWISSPROT für Aminosäuresequenz) unterzogen. Es wurde bestätigt, dass cDNAs der vorliegenden Erfindung neue Peptide codieren.



## Beispiel 6

## Konstruktion von Plasmidvektor zur Verwendung bei der Herstellung eines Expressionsvektors

**[0069]** Als Expressionsvektor wurde ein Derivat von pUC-SRαML-1 (Dieser Vektor selbst und die Herstellung desselben sind in der europäischen Patentveröffentlichung Nr. 559428 offenbart) verwendet. Dieses Derivat wurde unter Insertion von zwei Arten von Fragmenten, die im folgenden angegeben sind:

Fragment T7 5' GTAATACGACTCACTATAGGGGAGAGCT 3' (SEQ ID NO:12)

3' ACGTCATTATGCTGAGTGATATCCCCTC 5' (SEQ ID NO:13)

zwischen PstI und SacI bzw.

Fragment SP6 5' CTAGTCTATAGTGTCACCTAAATCGTGGGTAC 3' (SEQ ID NO:14)

3' AGATATCACAGTGGATTAGCAC 5' (SEQ ID NO:15)

zwischen der SpeI- und KpnI-Stelle in der Multiklonierungsstelle konstruiert.

**[0070]** Der pUC-SRαML1-Vektor wurde mit PstI und SacI verdaut und der gebildete Verdau wurde Agarosegelelektrophorese unterzogen, wobei ein Fragment von etwa 4,1 kbp hergestellt und gewonnen wurde und danach die Phosphorsäuregruppe des 5'-Endes durch BAP (Bacterial Alkaline Phosphatase)-Behandlung entfernt wurde. Das phosphorylierte DNA-Fragment T7 wurde mit dem auf diese Weise hergestellten Fragment von etwa 4,1 kbp aus pUC-SRαML1 ligiert, wobei es in eine Ringform gebracht wurden. Der gebildete Vektor wurde darüber hinaus mit SpeI und KpnI verdaut und der gebildete Verdau wurde Agarosegelelektrophorese unterzogen, wobei ein Fragment von etwa 4,1 kbp hergestellt und gewonnen wurde und danach wurde die Phosphorsäuregruppe des 5'-Endes durch BAP (Bacterial Alkaline Phosphatase)-Behandlung entfernt. Das phosphorylierte DNA-Fragment SP6 wurde mit dem auf diese Weise hergestellten Fragment von etwa 4,1 kbp ligiert, wobei es in Ringform gebracht wurden. Der auf diese Weise konstruierte Plasmidvektor wurde als pUC-SRαML2 bezeichnet (siehe [Fig. 3](#)).

## Beispiel 7

## Konstruktion eines Expressionsvektors

**[0071]** Im Hinblick auf hSDF-1α wurden die Primer X, Y und YH synthetisiert. Die Sequenzen der Primer X, Y und YH sind die folgenden:

Primer X

5'- A ATA TAG TCG ACC ACC ATG AAC GCC AAG GTC GTG GTC GTG CTG G-3' (SEQ ID NO:16)

Primer Y

5'-CGG CGG ACT AGT TTA CTT GTT TAA AGC TTT CTC GAG G-3' (SEQ ID NO:17)

Primer YH

5'-GCC GCC ACT AGT TTA GTG GTG GTG GTG GTG GTG CTT GTT TAA AGC TTT CTC CAG G-3' (SEQ ID NO : 18 )

**[0072]** Das hSDF-1α-Plasmid wurde unter Verwendung der auf diese Weise synthetisierten Oligonucleotide X und Y als Primer PCR unterzogen. Das auf diese Weise erhaltene PCR-Fragment enthält eine Sequenz, die 5' angrenzend an den Initiationscodon plaziert ist, d.h. entsprechend einer Kozac-Sequenz, die dem Fachmann bekannt ist, und cDNA, die für ein aus dem hSDF-1α-Protein bestehendes Proteinmolekül codiert. Das PCR-Fragment wurde mit Sall und SpeI verdaut und der gebildete Verdau wurde abgetrennt und gereinigt und dann an der Sall-SpeI-Stelle des in Beispiel 6 hergestellten pUC-SRαML2 inseriert, wobei ein Expressionsvektor pUC-SRαML2-hSDF-1αA erhalten wurde.

**[0073]** Darüber hinaus wurde das hSDF-1α-Plasmid unter Verwendung der auf diese Weise synthetisierten Oligonucleotide X und YH als Primer PCR unterzogen. Das auf diese Weise erhaltene PCR-Fragment enthält eine Sequenz, die 5' angrenzend an den Initiationscodon plaziert ist, d.h. entsprechend einer Kozac-Sequenz, die dem Fachmann bekannt ist, und cDNA, die für ein aus dem hSDF-1α-Protein und sechs zusätzlichen Histidin (His)-Resten, die an dessen C-terminalem Ende gebunden sind, bestehendes Proteinmolekül codiert. Das PCR-Fragment wurde mit Sall und SpeI verdaut und der gebildete Verdau wurde abgetrennt und gereinigt und dann an der Sall-SpeI-Stelle des in Beispiel 6 hergestellten pUC-SRαML2 inseriert, wobei ein Expressionsvektor pUC-SRαML2-hSDF-1αB erhalten wurde.

**[0074]** Im Hinblick auf hSDF-1β wurden die Primer Z und ZH synthetisiert. Die Sequenzen der Primer Z und ZH sind die folgenden:

Primer Z

5'-CGG CGG ACT AGT TCA CAT CTT GAA CCT CTT GTT TAA AGC -3' (SEQ ID NO:19)

Primer ZH

5'- GCC GCC ACT AGT TCA GTG GTG GTG GTG GTG GTG CAT CTT GAA CCT CTT GTT TAA AGC -3'  
(SEQ ID NO: 20)

**[0075]** Das hSDF-1 $\beta$ -Plasmid wurde unter Verwendung der auf diese Weise synthetisierten Oligonucleotide X und Z als Primer PCR unterzogen. Das auf diese Weise erhaltene PCR-Fragment enthält eine Sequenz, die 5' angrenzend an den Initiationscodon plaziert ist, d.h. entsprechend einer Kozac-Sequenz, die dem Fachmann bekannt ist, und cDNA, die für ein aus dem hSDF-1 $\beta$ -Protein bestehendes Proteinmolekül codiert. Das PCR-Fragment wurde mit Sall und SpeI verdaut und der gebildete Verdau wurde abgetrennt und gereinigt und dann an der Sall-SpeI-Stelle des in Beispiel 6 hergestellten pUC-SRaML2 inseriert, wobei ein Expressionsvektor pUC-SRaML2-hSDF-1 $\beta$ A erhalten wurde.

**[0076]** Darüber hinaus wurde das hSDF-1 $\beta$ -Plasmid unter Verwendung der auf diese Weise synthetisierten Oligonucleotide X und ZH als Primer PCR unterzogen. Das auf diese Weise erhaltene PCR-Fragment enthält eine Sequenz, die 5' angrenzend an den Initiationscodon plaziert ist, d.h. entsprechend einer Kozac-Sequenz, die dem Fachmann bekannt ist, und cDNA, die für ein aus dem hSDF-1 $\beta$ -Protein und sechs zusätzlichen Histidin (His)-Resten, die an dessen C-terminalem Ende gebunden sind, bestehendes Proteinmolekül codiert. Das PCR-Fragment wurde mit Sall und SpeI verdaut und der gebildete Verdau wurde abgetrennt und gereinigt und dann an der Sall-SpeI-Stelle des in Beispiel 6 hergestellten pUC-SRaML2 inseriert, wobei ein Expressionsvektor pUC-SRaML2-hSDF-1 $\beta$ B erhalten wurde.

**[0077]** Jedes der auf diese Weise konstruierten pUC-SRaML2-hSDF-1 $\alpha$ A-, pUC-SRaML2-hSDF-1 $\alpha$ B-, pUC-SRaML2-hSDF-1 $\beta$ A- und pUC-SRaML2-hSDF-1 $\beta$ B-Plasmide wurde in einen E. coli-Stamm DH5 transfiziert, aus einer 100-ml-Kultur der gebildeten Transformante gewonnen und dann durch zweimalige CsCl-Dichtegradientenzentrifugation gereinigt.

#### Beispiel 8

##### Expression in COS-Zellen

**[0078]** Jedes der Plasmid-DNA-Präparate pUC-SRaML2, pUC-SRaML2-hSDF-1 $\alpha$ A, pUC-SRaML2-hSDF-1 $\alpha$ B, pUC-SRaML2-hSDF-1 $\beta$ A und pUC-SRaML2-hSDF-1 $\beta$ B wurde in COS-7-Zellen (Cell, Band 23, S. 175, 1981) mittels des Diethylaminoethyl (DEAE)-Dextranverfahrens eingeführt (J. Immunology, Band 136, S. 4291, 1986).

**[0079]** Das heißt, etwa  $1,8 \times 10^6$  COS-7-Zellen wurden in einen Kolben eines Fassungsvermögens von 225 cm<sup>2</sup> (hergestellt von Corning) zusammen mit 50 ml eines flüssigen Kulturmediums (Dulbecco's modified MEM-Medium, das mit 10 % dekomplementiertem fötalem Rinderserum ergänzt war) inokuliert. Nach Inkubation über Nacht in einem Kohlendioxidinkubator (37 °C, 5 % CO<sub>2</sub>) und anschließender Entfernung des Kulturüberstands wurden 12 ml eines DNA-Cocktails (Dulbecco's modified MEM-Medium, ergänzt mit 15  $\mu$ g der jeweiligen Plasmid-DNA, 50 mM Tris-HCl-Puffer (pH-Wert 7,4) und 400  $\mu$ g/ml DEAE-Dextran) zu jedem Kolben gegeben und eine Kultur 3 h bei 37 °C in einer Atmosphäre von 5 % CO<sub>2</sub> durchgeführt. Danach wurde der DNA-Cocktail durch 15 ml einer Chloroquinlösung (Dulbecco's modified MEM-Medium, ergänzt mit 150  $\mu$ M Chloroquin und 7 % dekomplementiertem fötalem Rinderserum) ersetzt und weitere 3 h eine Kultur durchgeführt.

**[0080]** Nach dem Entfernen der Chloroquinlösung wurde das im Vorhergehenden genannte flüssige Kulturmedium (50 ml) zu jedem der erhaltenen Kolben gegeben, die dann bei 37 °C in einer Atmosphäre von 5 % CO<sub>2</sub> 72 h inkubiert wurden, wobei ein Wachstum der Zellen in jedem Kolben in nahezu Monoschichtform ermittelt wurde. Nach dem Entfernen des Kulturüberstands wurden die Zellen in jedem Kolben mit einem serumfreien flüssigen Kulturmedium (Handelsbezeichnung SFM-101, erhältlich von Nissui Pharmaceutical Co., Ltd.) gewaschen und dann mit 75 ml des gleichen serumfreien flüssigen Kulturmediums versetzt und die Kultur weitere 72 h fortgesetzt. Danach wurde der erhaltene Kulturüberstand gewonnen und über ein Membranfilter (Handelsbezeichnung STERIVEX-GS; erhältlich von Millipore Corp.) zur Entfernung von Zellen und Zellresten filtriert. Die auf diese Weise erhaltenen Kulturüberstandproben wurden zur weiteren Verwendung bei 4 °C aufbewahrt. Es wird angenommen, dass ein Kulturüberstand von COS-Zellen, die mit Plasmid, das die hSDF-1 $\alpha$ - und - $\beta$ -cDNA-Inserts enthält, transformiert wurden, exprimierte und sezernierte reife Proteineinheiten von Polypeptiden, die hSDF-1 $\alpha$  und - $\beta$  entsprechen, enthält.

## Beispiel 9

## Bestätigung der Expression

**[0081]** Eine 2-ml-Portion von jedem der Kulturüberstände transformierter COS-Zellen, die in Beispiel 8 erhalten wurde, wurde unter Verwendung eines Zentrifugenkonzentrationsfilters (Handelsbezeichnung Centri-con-10; erhältlich von Millipore Corp.) auf ein Volumen von 100  $\mu$ l eingengt. Eine 1- $\mu$ l-Portion von jeder der auf diese Weise konzentrierten Proben wurde mit dem gleichen Volumen eines Beladungspuffers (0,125 M Tris-HCl-Puffer (pH-Wert 6,8), 4 % Natriumdodecylsulfat und 30 % Glycerin) zur Verwendung für SDS-PAGE (Natriumdodecylsulfat-Polyacrylamidgelelektrophorese) gemischt und das Gemisch wurde bei 90 °C 3 min lang behandelt und dann SDS-PAGE unterzogen.

**[0082]** Im Falle der hSDF-1 $\alpha$ B- und - $\beta$ B-Proteine mit am C-Terminus der Proteine eingeführtem His-Hexamer wurden nicht nur deren entsprechender COS-Zellkulturüberstand, sondern auch deren gereinigte Produkte der SDS-PAGE-Analyse unterzogen.

**[0083]** Die Reinigung des Proteins wurde mittels einer Metallchelataffinitätschromatographie (Biotechnology, Band 9, 5. 273, 1991), wobei die Funktion von His zur Bildung von Komplexverbindungen mit verschiedenen Übergangsmetallionen genutzt wurde, durchgeführt. Das heißt, ein von COS-Zellen erhaltener Kulturüberstand (350 ml) wurde mit einer wässrigen Natriumchloridlösung in einer derartigen Menge gemischt, dass die Endkonzentration des Salzes 1 M wurde, und das gebildete Gemisch wurde auf eine Säule appliziert, die mit 4 ml einer mit Zink verknüpften chelatbildenden Sepharose (Handelsbezeichnung Chelating Sepharose Fast-Flow; erhältlich von Pharmacia) gepackt war, um das Protein am Harz zu adsorbieren. Die Säule wurde mit 50 mM Phosphatpuffer (pH-Wert 7,0), der eine wässrige 1 M Natriumchloridlösung enthielt (40 ml) gewaschen, und das in der Säule verbliebene Protein wurde mit 50 mM Phosphatpuffer (pH-Wert 7,0), der wässrige 1 M Natriumchloridlösung und 0,4 M Imidazol enthielt, eluiert. Danach wurde das gebildete Eluat auf ein Volumen von 100  $\mu$ l eingengt und ein Teil der konzentrierten Probe wurde SDS-PAGE-Analyse unterzogen. Die SDS-PAGE-Analyse wurde unter Verwendung eines SEDS-10/20-Gradientengels durchgeführt, und ein Produkt, das dem Molekulargewicht von hSDF-1 $\alpha$  und SDF-1 $\beta$  entspricht, wurde jeweils detektiert.

## (1) ALLGEMEINE ANGABEN:

## (i) ANMELDER:

- (A) NAME: Ono Pharmaceutical Co., Ltd.
- (B) STRASSE: 1-5, Doshomachi 2-chome
- (C) STADT: Chuo-ku, Osaka-shi
- (D) STAAT: Osaka
- (E) LAND: JAPAN
- (F) POSTLEITZAHL (ZIP): 541

(ii) BEZEICHNUNG DER ERFINDUNG: Neue Polypeptid und diese codierende DNAs.

(iii) ZAHL DER SEQUENZEN: 20

## (iv) COMPUTERLESBARE FORM:

- (A) ART DES MEDIUMS: Diskette
- (B) COMPUTER: IBM-PC-kompatibel
- (C) BETRIEBSSYSTEM: PC-DOS/MS-DOS
- (D) SOFTWARE: PatentIn Release 1.0, Version 1.25 (EPO)

## (2) ANGABEN FÜR SEQ ID NO: 1

## (i) SEQUENZKENNZEICHEN:

- (A) LÄNGE: 89 Aminosäuren
- (B) ART: Aminosäure
- (D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Protein

(xi) BESCHREIBUNG DER SEQUENZ: SEQ ID NO:1:

```

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

```

## (2) ANGABEN FÜR SEQ ID NO:2:

- (i) SEQUENZKENNZEICHEN:  
 (A) LÄNGE: 267 Basenpaare  
 (B) ART: Nucleinsäure  
 (C) STRANGFORM: Einzelstrang  
 (D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: cDNA zu mRNA

(xi) BESCHREIBUNG DER SEQUENZ: SEQ ID NO:2:

```

ATGAACGCCA AGGTCGTGGT CGTGCTGGTC CTCGTGCTGA CCGCGCTCTG CCTCAGCGAC      60
GGGAAGCCCG TCAGCCTGAG CTACAGATGC CCATGCCGAT TCTTCGAAAG CCATGTTGCC      120
AGAGCCAACG TCAAGCATCT CAAAATTCTC AACACTCCAA ACTGTGCCCT TCAGATTGTA      180
GCCCCGGCTGA AGAACAACAA CAGACAAGTG TGCATTGACC CGAAGCTAAA GTGGATTGAG      240
GAGTACCTGG AGAAAGCTTT AAACAAG                                     267
  
```

## (2) ANGABEN FÜR SEQ ID NO:3:

- (i) SEQUENZKENNZEICHEN:  
 (A) LÄNGE: 1856 Basenpaare  
 (B) ART: Nucleinsäure  
 (C) STRANGFORM: Einzelstrang  
 (D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: cDNA zu mRNA

(xi) BESCHREIBUNG DER SEQUENZ: SEQ ID NO:3:

```

TCTCCGTCAG CCGCATTGCC CGCTCGGCGT CCGGCCCCCG ACCCGTGCTC GTCCGCCCCG      60
CCGCCCCGCC GCGCGGCCA TGAACGCCAA GGTCGTGGTC GTGCTGGTCC TCGTGCTGAC      120
CGCGCTCTGC CTCAGCGACG GGAAGCCCGT CAGCCTGAGC TACAGATGCC CATGCCGATT      180
CTTCGAAAGC CATGTTGCCA GAGCCAACGT CAAGCATCTC AAAATTCTCA ACACTCCAAA      240
CTGTGCCCTT CAGATTGTAG CCCGGCTGAA GAACAACAAC AGACAAGTGT GCATTGACCC      300
GAAGCTAAAG TGGATTCAGG AGTACCTGGA GAAAGCTTTA AACAAGTAAG CACAACAGCC      360
AAAAAGGACT TTCCGCTAGA CCCACTCGAG GAAACTAAA ACCTTGTGAG AGATGAAAGG      420
GCAAAGACGT GGGGGAGGGG GCCTTAACCA TGAGGACCAG GTGTGTGTGT GGGGTGGGCA      480
CATTGATCTG GGATCGGGCC TGAGGTTTGC AGCATTTAGA CCCTGCATTT ATAGCATACG      540
  
```

GTATGATATT GCAGCTTATA TTCATCCATG CCCTGTACCT GTGCACGTTG GAACTTTTAT	600
TACTGGGGTT TTTCTAAGAA AGAAATTGTA TTATCAACAG CATTTTCAAG CAGTTAGTTC	660
CTTCATGATC ATCACAATCA TCATCATTCT CATTCTCATT TTTTAAATCA ACGAGTACTT	720
CAAGATCTGA ATTTGGCTTG TTTGGAGCAT CTCCTCTGCT CCCCTGGGGA GTCTGGGCAC	780
AGTCAGGTGG TGGCTTAACA GGGAGCTGGA AAAAGTGTCC TTTCTTCAGA CACTGAGGCT	840
CCCGCAGCAG CGCCCCCTCCC AAGAGGAAGG CCTCTGTGGC ACTCAGATAC CGACTGGGGC	900
TGGGGCGCCG CCACTGCCTT CACCTCCTCT TTCAAACCTC AGTGATTGGC TCTGTGGGCT	960
CCATGTAGAA GCCACTATTA CTGGGACTGT CTCAGAGACC CCTCTCCCAG CTATTCCTAC	1020
TCTCTCCCCG ACTCCGAGAG CATGCTTAAT CTTGCTTCTG CTTCTCATTT CTGTAGCCTG	1080
ATCAGCGCCG CACCAGCCGG GAAGAGGGTG ATTGCTGGGG CTCGTGCCCT GCATCCCTCT	1140
CCTCCCAGGG CCTGCCCCAC AGCTCGGGCC CTCTGTGAGA TCCGTCTTTG GCCTCCTCCA	1200
GAATGGAGCT GGCCCTCTCC TGGGGATGTG TAATGGTCCC CCTGCTTACC CGCAAAGAC	1260
AAGTCTTTAC AGAATCAAAT GCAATTTTAA ATCTGAGAGC TCGCTTGAGT GACTGGGTTT	1320
GTGATTGCCT CTGAAGCCTA TGTATGCCAT GGAGGCACTA ACAAACTCTG AGGTTTCCGA	1380
AATCAGAAGC GAAAAAATCA GTGAATAAAC CATCATCTTG CCACTACCCC CTCCTGAAGC	1440
CACAGCAGGG GTTCAGGTTT CAATCAGAAC TGTTGGCAAG GTGACATTTT CATGCATAGA	1500
TGCGATCCAC AGAAGGTCCT GGTGGTATTT GTAACTTTTT GCAAGGCATT TTTTATATA	1560
TATTTTTGTG CACATTTTTT TTTACGATTC TTTAGAAAAC AAATGTATTT CAAAATATAT	1620
TTATAGTCGA ACAAGTCATA TATATGAATG AGAGCCATAT GAATGTCAGT AGTTTATACT	1680
TCTCTATTAT CTCAAACCTAC TGGCAATTTG TAAAGAAATA TATATGATAT ATAAATGTGA	1740
TTGCAGCTTT TCAATGTTAG CCACAGTGTA TTTTTTCACT TGTACTAAAA TTGTATCAAA	1800
TGTGACATTA TATGCACTAG CAATAAAATG CTAATTGTTT CATGGTAAAA AAAAAA	1856

(2) ANGABEN FÜR SEQ ID NO:4:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

- (A) LÄNGE: 1856 Basenpaare
- (B) ART: Nucleinsäure
- (C) STRANGFORM: Einzelstrang
- (D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: cDNA zu mRNA

(vi) URSPRÜNGLICHE HERKUNFT:

- (A) ORGANISMUS: Homo sapiens

(H) ZELLINIE: FLEB14

(ix) MERKMAL:

(A) NAME/SCHLÜSSEL: CDS

(B) LAGE: 80..349

(C) ERMITTLUNGSMETHODE: Durch Ähnlichkeit mit  
anderem Muster

(ix) MERKMAL:

(A) NAME/SCHLÜSSEL: sig\_peptide

(B) LAGE: 80..142

(C) ERMITTLUNGSMETHODE: Durch Ähnlichkeit mit be-  
kannter Sequenz oder einem etablierten Konsensus

(ix) MERKMAL:

(A) NAME/SCHLÜSSEL: mat\_peptide

(B) LAGE: 143..346

(C) ERMITTLUNGSMETHODE: Durch Ähnlichkeit mit be-  
kannter Sequenz oder einem etablierten Konsensus

(xi) BESCHREIBUNG DER SEQUENZ: SEQ ID NO:4:

TCTCCGTCAG CCGCATTGCC CGCTCGGCGT CCGGCCCCCG ACCCGTGCTC GTCCGCCCCG	60
CCGCCCCGCC GCGCGGCC ATG AAC GCC AAG GTC GTG GTC GTG CTG GTC CTC	112
Met Asn Ala Lys Val Val Val Val Leu Val Leu	
-21 -20 -15	
GTG CTG ACC GCG CTC TGC CTC AGC GAC GGG AAG CCC GTC AGC CTG AGC	160
Val Leu Thr Ala Leu Cys Leu Ser Asp Gly Lys Pro Val Ser Leu Ser	
-10 -5 1 5	
TAC AGA TGC CCA TGC CGA TTC TTC GAA AGC CAT GTT GCC AGA GCC AAC	208
Tyr Arg Cys Pro Cys Arg Phe Phe Glu Ser His Val Ala Arg Ala Asn	
10 15 20	
GTC AAG CAT CTC AAA ATT CTC AAC ACT CCA AAC TGT GCC CTT CAG ATT	256
Val Lys His Leu Lys Ile Leu Asn Thr Pro Asn Cys Ala Leu Gln Ile	
25 30 35	
GTA GCC CGG CTG AAG AAC AAC AAC AGA CAA GTG TGC ATT GAC CCG AAG	304
Val Ala Arg Leu Lys Asn Asn Asn Arg Gln Val Cys Ile Asp Pro Lys	
40 45 50	
CTA AAG TGG ATT CAG GAG TAC CTG GAG AAA GCT TTA AAC AAG TAAGCACAAC	356
Leu Lys Trp Ile Gln Glu Tyr Leu Glu Lys Ala Leu Asn Lys	
55 60 65	
AGCCAAAAAG GACTTTCGCG TAGACCCACT CGAGGAAAAC TAAAACCTTG TGAGAGATGA	416
AAGGGCAAAG ACGTGGGGGA GGGGGCCTTA ACCATGAGGA CCAGGTGTGT GTGTGGGGTG	476
GGCACATTGA TCTGGGATCG GGCCTGAGGT TTGCAGCATT TAGACCCTGC ATTTATAGCA	536
TACGGTATGA TATTGCAGCT TATATTCATC CATGCCCTGT ACCTGTGCAC GTTGGAACCT	596
TTATTACTGG GGTTTTTCTA AGAAAGAAAT TGTATTATCA ACAGCATTTT CAAGCAGTTA	656

GTTCCCTTCAT GATCATCACA ATCATCATCA TTCTCATTCT CATTTTTTTAA ATCAACGAGT	716
ACTTCAAGAT CTGAATTTGG CTTGTTTGGA GCATCTCCTC TGCTCCCCCTG GGGAGTCTGG	776
GCACAGTCAG GTGGTGGCTT AACAGGGAGC TGGAAAAAGT GTCCTTTCTT CAGACACTGA	836
GGCTCCCGCA GCAGCGCCCC TCCCAAGAGG AAGGCCTCTG TGGCACTCAG ATACCGACTG	896
GGGCTGGGGC GCCGCCACTG CCTTCACCTC CTCTTTCAA CCTCAGTGAT TGGCTCTGTG	956
GGCTCCATGT AGAAGCCACT ATTACTGGGA CTGTCTCAGA GACCCCTCTC CCAGCTATTC	1016
CTACTCTCTC CCCGACTCCG AGAGCATGCT TAATCTTGCT TCTGCTTCTC ATTTCTGTAG	1076
CCTGATCAGC GCCGCACCAG CCGGGAAGAG GGTGATTGCT GGGGCTCGTG CCCTGCATCC	1136
CTCTCCTCCC AGGGCCTGCC CCACAGCTCG GGCCCTCTGT GAGATCCGTC TTTGGCCTCC	1196
TCCAGAATGG AGCTGGCCCT CTCCTGGGGA TGTGTAATGG TCCCCCTGCT TACCCGCAA	1256
AGACAAGTCT TTACAGAATC AAATGCAATT TTAAATCTGA GAGCTCGCTT GAGTGACTGG	1316
GTTTGTGATT GCCTCTGAAG CCTATGTATG CCATGGAGGC ACTAACAAAC TCTGAGGTTT	1376
CCGAAATCAG AAGCGAAAAA ATCAGTGAAT AAACCATCAT CTTGCCACTA CCCCCTCCTG	1436
AAGCCACAGC AGGGGTTTCA GTTCCAATCA GAACTGTTGG CAAGGTGACA TTTCCATGCA	1496
TAGATGCGAT CCACAGAAGG TCCTGGTGGT ATTTGTAAT TTTTGCAAGG CATTTTTTTA	1556
TATATATTTT TGTGCACATT TTTTTTTACG ATTCTTTAGA AAACAAATGT ATTTCAAAT	1616
ATATTTATAG TCGAACAAGT CATATATATG AATGAGAGCC ATATGAATGT CAGTAGTTTA	1676
TACTTCTCTA TTATCTCAA CTACTGGCAA TTTGTAAAGA AATATATATG ATATATAAAT	1736
GTGATTGCAG CTTTTCATG TTAGCCACAG TGTATTTTTT CACTTGTAAT AAAATTGTAT	1796
CAAATGTGAC ATTATATGCA CTAGCAATAA AATGCTAATT GTTTCATGGT AAAAAAAAAA	1856

## (2) ANGABEN FÜR SEQ ID NO:5

- (i) SEQUENZKENNZEICHEN:  
 (A) LÄNGE: 93 Aminosäuren  
 (B) ART: Aminosäure  
 (D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Protein

(xi) BESCHREIBUNG DER SEQUENZ SEQ ID NO.5:

Met Asn Ala Lys Val Val Val Val Leu Val Leu Val Leu Thr Ala Leu



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

## (2) ANGABEN FÜR SEQ ID NO:6:

- (i) SEQUENZKENNZEICHEN:  
 (A) LÄNGE: 279 Basenpaare  
 (B) ART: Nucleinsäure  
 (C) STRANGFORM: Einzelstrang  
 (D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: cDNA zu mRNA

(xi) BESCHREIBUNG DER SEQUENZ: SEQ ID NO:6:

ATGAACGCCA AGGTCGTGGT CGTGCTGGTC CTCGTGCTGA CCGCGCTCTG CCTCAGCGAC	60
GGGAAGCCCG TCAGCCTGAG CTACAGATGC CCATGCCGAT TCTTCGAAAG CCATGTTGCC	120
AGAGCCAACG TCAAGCATCT CAAAATTCTC AACACTCCAA ACTGTGCCCT TCAGATTGTA	180
GCCCGGCTGA AGAACAACAA CAGACAAGTG TGCATTGACC CGAAGCTAAA GTGGATTCA	240
GAGTACCTGG AGAAAGCTTT AAACAAGAGG TTCAAGATG	279

## (2) ANGABEN FÜR SEQ ID NO:7:

- (i) SEQUENZKENNZEICHEN:  
 (A) LÄNGE: 3526 Basenpaare  
 (B) ART: Nucleinsäure  
 (C) STRANGFORM: Einzelstrang  
 (D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: cDNA zu mRNA

(xi) BESCHREIBUNG DER SEQUENZ: SEQ ID NO:7:

TCTCCGTCAG CCGCATTGCC CGCTCGGCGT CCGGCCCCCG ACCCGTGCTC GTCCGCCCCG	60
---	----

CCGCCCCCCC GCCCGCGCCA TGAACGCCAA GGTCGTGGTC GTGCTGGTCC TCGTGCTGAC	120
CGCGCTCTGC CTCAGCGACG GGAAGCCCGT CAGCCTGAGC TACAGATGCC CATGCCGATT	180
CTTCGAAAGC CATGTTGCCA GAGCCAACGT CAAGCATCTC AAAATTCTCA ACACTCCAAA	240
CTGTGCCCTT CAGATTGTAG CCCGGCTGAA GAACAACAAC AGACAAGTGT GCATTGACCC	300
GAAGCTAAAG TGGATTGAGG AGTACCTGGA GAAAGCTTTA AACAAGAGGT TCAAGATGTG	360
AGAGGGTCAG ACGCCTGAGG AACCTTACA GTAGGAGCCC AGCTCTGAAA CCAGTGTTAG	420
GGAAGGGCCT GCCACAGCCT CCCCTGCCAG GGCAGGGCCC CAGGCATTGC CAAGGGCTTT	480
GTTTTGCACA CTTTGCCATA TTTTCACCAT TTGATTATGT AGCAAAATAC ATGACATTTA	540
TTTTTCATTT AGTTTGATTA TTCAGTGTCA CTGGCGACAC GTAGCAGCTT AGACTAAGGC	600
CATTATTGTA CTTGCCTTAT TAGAGTGTCT TTCCACGGAG CCACTCCTCT GACTCAGGGC	660
TCCTGGGTTT TGTATTCTCT GAGCTGTGCA GGTGGGGAGA CTGGGCTGAG GGAGCCTGGC	720
CCCATGGTCA GCCCTAGGGT GGAGAGCCAC CAAGAGGGAC GCCTGGGGGT GCCAGGACCA	780
GTCAACCTGG GCAAAGCCTA GTGAAGGCTT CTCTCTGTGG GATGGGATGG TGGAGGGCCA	840
CATGGGAGGC TCACCCCTT CTCCATCCAC ATGGGAGCCG GGTCTGCCTC TTCTGGGAGG	900
GCAGCAGGGC TACCCTGAGC TGAGGCAGCA GTGTGAGGCC AGGGCAGAGT GAGACCCAGC	960
CCTCATCCCG AGCACCTCCA CATCCTCCAC GTTCTGCTCA TCATTCTCTG TCTCATCCAT	1020
CATCATGTGT GTCCACGACT GTCTCCATGG CCCCGCAAAA GGA CTCTCAG GACCAAAGCT	1080
TTCATGTAAA CTGTGCACCA AGCAGGAAAT GAAAATGTCT TGTGTTACCT GAAAACACTG	1140
TGCACATCTG TGTCTTGTGT GGAATATTGT CCATTGTCCA ATCCTATGTT TTTGTTCAAA	1200
GCCAGCGTCC TCCTCTGTGA CCAATGTCTT GATGCATGCA CTGTTCCCCC TGTGCAGCCG	1260
CTGAGCGAGG AGATGCTCCT TGGGCCCTTT GAGTGCAGTC CTGATCAGAG CCGTGGTCCT	1320
TTGGGGTGAA CTACCTTGGT TCCCCACTG ATCACAAAAA CATGGTGGGT CCATGGGCAG	1380
AGCCCAAGGG AATTCGGTGT GCACCAGGGT TGACCCAGAG GGATTGCTGC CCCATCAGTG	1440
CTCCCTCACA TGTCAGTACC TTCAAAC TAG GGCCAAGCCC AGCACTGCTT GAGGAAAACA	1500
AGCATTCACA ACTTGTTTTT GGTTTTTTAAA ACCCAGTCCA CAAAATAACC AATCCTGGAC	1560
ATGAAGATTC TTTCCCAATT CACATCTAAC CTCATCTTCT TCACCATTG GCAATGCCAT	1620
CATCTCCTGC CTTCTCCTG GGCCCTCTCT GCTCTGCGTG TCACCTGTGC TTCGGGCCCT	1680
TCCCACAGGA CATTTCTCTA AGAGAACAAT GTGCTATGTG AAGAGTAAGT CAACCTGCCT	1740

GACATTTGGA GTGTTCCCCT CCCACTGAGG GCAGTCGATA GAGCTGTATT AAGCCACTTA	1800
AAATGTTTAC TTTTGACAAA GGCAAGCACT TGTGGGTTTT TGTTTTGTTT TTCATTTCAGT	1860
CTTACGAATA CTTTTGCCCT TTGATTAAAG ACTCCAGTTA AAAAAAATTT TAATGAAGAA	1920
AGTGGAAAAC AAGGAAGTCA AAGCAAGGAA ACTATGTAAC ATGTAGGAAG TAGGAAGTAA	1980
ATTATAGTGA TGTAATCTTG AATTGTAACT GTTCGTGAAT TTAATAATCT GTAGGGTAAT	2040
TAGTAACATG TGTTAAGTAT TTTCATAAGT ATTTCAAATT GGAGCTTCAT GGCAGAAGGC	2100
AAACCCATCA ACAAAAATTG TCCCTTAAAC AAAAATTAAA ATCCTCAATC CAGCTATGTT	2160
ATATTGAAAA AATAGAGCCT GAGGGATCTT TACTAGTTAT AAAGATACAG AACTCTTTCA	2220
AAACCTTTTG AAATTAACCT CTCACTATAC CAGTATAATT GAGTTTTTCAG TGGGGCAGTC	2280
ATTATCCAGG TAATCCAAGA TATTTTAAAA TCTGTCACGT AGAACTTGGA TGTACCTGCC	2340
CCCAATCCAT GAACCAAGAC CATTGAATTC TTGGTTGAGG AAACAAACAT GACCCTAAAT	2400
CTTGACTACA GTCAGGAAAG GAATCATTTT TATTTCTCCT CCATGGGAGA AAATAGATAA	2460
GAGTAGAAAC TGCAGGGAAA ATTATTTGCA TAACAATTCC TCTACTAACA ATCAGCTCCT	2520
TCCTGGAGAC TGCCCAGCTA AAGCAATATG CATTTAAATA CAGTCTTCCA TTTGCAAGGG	2580
AAAAGTCTCT TGTAATCCGA ATCTCTTTTT GCTTTCGAAC TGCTAGTCAA GTGCGTCCAC	2640
GAGCTGTTTA CTAGGGATCC CTCATCTGTC CCTCCGGGAC CTGGTGCTGC CTCTACCTGA	2700
CACTCCCTTG GGCTCCCTGT AACCTCTTCA GAGGCCCTCG CTGCCAGCTC TGTATCAGGA	2760
CCCAGAGGAA GGGGCCAGAG GCTCGTTGAC TGGCTGTGTG TTGGGATTGA GTCTGTGCCA	2820
CGTGTATGTG CTGTGGTGTG TCCCCCTCTG TCCAGGCACT GAGATACCAG CGAGGAGGCT	2880
CCAGAGGGCA CTCTGCTTGT TATTAGAGAT TACCTCCTGA GAAAAAAGCT TCCGCTTGGA	2940
GCAGAGGGGC TGAATAGCAG AAGGTTGCAC CTCCCCAAC CTTAGATGTT CTAAGTCTTT	3000
CCATTGGATC TCATTGGACC CTTCCATGGT GTGATCGTCT GACTGGTGTT ATCACCGTGG	3060
GCTCCCTGAC TGGGAGTTGA TCGCCTTTCC CAGGTGCTAC ACCCTTTTCC AGCTGGATGA	3120
GAATTTGAGT GCTCTGATCC CTCTACAGAG CTTCCCTGAC TCATTCTGAA GGAGCCCCAT	3180
TCCTGGGAAA TATTCCTAG AAACTTCCAA ATCCCCTAAG CAGACCACTG ATAAAACCAT	3240
GTAGAAAATT TGTTATTTTG CAACCTCGCT GGA CTCTCAG TCTCTGAGCA GTGAATGATT	3300
CAGTGTTAAA TGTGATGAAT ACTGTATTTT GTATTGTTTC AAGTGCATCT CCCAGATAAT	3360
GTGAAAATGG TCCAGGAGAA GGCCAATTCC TATACGCAGC GTGCTTTAAA AAATAAATAA	3420

GAAACAACTC TTTGAGAAAC AACAATTTCT ACTTTGAAGT CATACCAATG AAAAAATGTA 3480  
TATGCACTTA TAAATTTCTCT AATAAAGTTC TGTACTCAA TGTAAA 3526

(2) ANGABEN FÜR SEQ ID NO:8:

- (i) SEQUENZKENNZEICHEN:  
(A) LÄNGE: 3526 Basenpaare  
(B) ART: Nucleinsäure  
(C) STRANGFORM: Einzelstrang  
(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: cDNA zu mRNA

- (vi) URSPRÜNGLICHE HERKUNFT:  
(A) ORGANISMUS: Homo sapiens  
(H) ZELLINIE: FLEB14

- (ix) MERKMAL:  
(A) NAME/SCHLÜSSEL: CDS  
(B) LÄNGE: 80..361  
(C) ERMITTLUNGSMETHODE: Durch Ähnlichkeit mit  
anderem Muster

- (ix) MERKMAL:  
(A) NAME/SCHLÜSSEL: sig\_peptide  
(B) LÄNGE: 80..142  
(C) ERMITTLUNGSMETHODE: Durch Ähnlichkeit mit be-  
kannter Sequenz oder einem etablierten Konsensus

- (ix) MERKMAL:  
(A) NAME/SCHLÜSSEL: mat\_peptide  
(B) LÄNGE: 143..358  
(C) ERMITTLUNGSMETHODE: Durch Ähnlichkeit mit be-  
kannter Sequenz oder einem etablierten Konsensus

(xi) BESCHREIBUNG DER SEQUENZ: SEQ ID NO:8:

TCTCCGTCAG CCGCATTGCC CGCTCGGCGT CCGGCCCCCG ACCCGTGCTC GTCCGCCCCG	60
CCGCCCCGCC GCCCGCGCC ATG AAC GCC AAG GTC GTG GTC GTG CTG GTC CTC	112
Met Asn Ala Lys Val Val Val Val Leu Val Leu	
-21 -20 -15	
GTG CTG ACC GCG CTC TGC CTC AGC GAC GGG AAG CCC GTC AGC CTG AGC	160
Val Leu Thr Ala Leu Cys Leu Ser Asp Gly Lys Pro Val Ser Leu Ser	
-10 -5 1 5	
TAC AGA TGC CCA TGC CGA TTC TTC GAA AGC CAT GTT GCC AGA GCC AAC	208
Tyr Arg Cys Pro Cys Arg Phe Phe Glu Ser His Val Ala Arg Ala Asn	
10 15 20	
GTC AAG CAT CTC AAA ATT CTC AAC ACT CCA AAC TGT GCC CTT CAG ATT	256
Val Lys His Leu Lys Ile Leu Asn Thr Pro Asn Cys Ala Leu Gln Ile	
25 30 35	

GTA GCC CGG CTG AAG AAC AAC AAC AGA CAA GTG TGC ATT GAC CCG AAG	304
Val Ala Arg Leu Lys Asn Asn Asn Arg Gln Val Cys Ile Asp Pro Lys	
40 45 50	
CTA AAG TGG ATT CAG GAG TAC CTG GAG AAA GCT TTA AAC AAG AGG TTC	352
Leu Lys Trp Ile Gln Glu Tyr Leu Glu Lys Ala Leu Asn Lys Arg Phe	
55 60 65 70	
AAG ATG TGAGAGGGTC AGACGCCTGA GGAACCCCTTA CAGTAGGAGC CCAGCTCTGA	408
Lys Met	
AACCAGTGTT AGGGAAGGGC CTGCCACAGC CTCCCCTGCC AGGGCAGGGC CCCAGGCATT	468
GCCAAGGGCT TTGTTTTGCA CACTTTGCCA TATTTTCACC ATTTGATTAT GTAGCAAAAT	528
ACATGACATT TATTTTTCAT TTAGTTTGAT TATTCAGTGT CACTGGCGAC ACGTAGCAGC	588
TTAGACTAAG GCCATTATTG TACTTGCCTT ATTAGAGTGT CTTTCCACGG AGCCACTCCT	648
CTGACTCAGG GCTCCTGGGT TTTGTATTCT CTGAGCTGTG CAGGTGGGGA GACTGGGCTG	708
AGGGAGCCTG GCCCCATGGT CAGCCCTAGG GTGGAGAGCC ACCAAGAGGG ACGCCTGGGG	768
GTGCCAGGAC CAGTCAACCT GGGCAAAGCC TAGTGAAGGC TTCTCTCTGT GGGATGGGAT	828
GGTGGAGGGC CACATGGGAG GCTCACCCCC TTCTCCATCC ACATGGGAGC CGGGTCTGCC	888
TCTTCTGGGA GGGCAGCAGG GCTACCCTGA GCTGAGGCAG CAGTGTGAGG CCAGGGCAGA	948
GTGAGACCCA GCCCTCATCC CGAGCACCTC CACATCCTCC ACGTTCTGCT CATCATTTCTC	1008
TGTCTCATCC ATCATCATGT GTGTCCACGA CTGTCTCCAT GGCCCCGCAA AAGGACTCTC	1068
AGGACCAAAG CTTTCATGTA AACTGTGCAC CAAGCAGGAA ATGAAAATGT CTTGTGTTAC	1128
CTGAAAACAC TGTGCACATC TGTGTCTTGT GTGGAATATT GTCCATTGTC CAATCCTATG	1188
TTTTTGTTCA AAGCCAGCGT CCTCCTCTGT GACCAATGTC TTGATGCATG CACTGTTCCC	1248
CCTGTGCAGC CGCTGAGCGA GGAGATGCTC CTTGGGCCCT TTGAGTGCAG TCCTGATCAG	1308
AGCCGTGGTC CTTTGGGGTG AACTACCTTG GTTCCCCCAC TGATCACAAA AACATGGTGG	1368
GTCCATGGGC AGAGCCCAAG GGAATTCGGT GTGCACCAGG GTTGACCCCA GAGGATTGCT	1428
GCCCCATCAG TGCTCCCTCA CATGTCAGTA CCTTCAAACCT AGGGCCAAGC CCAGCACTGC	1488
TTGAGGAAAA CAAGCATTCA CAACTTGTTT TTGGTTTTTA AAACCCAGTC CACAAAATAA	1548
CCAATCCTGG ACATGAAGAT TCTTTCCCAA TTCACATCTA ACCTCATCTT CTTACCATT	1608
TGGCAATGCC ATCATCTCCT GCCTTCCTCC TGGGCCCTCT CTGCTCTGCG TGTCACCTGT	1668
GCTTCGGGCC CTTCCCACAG GACATTTCTC TAAGAGAACA ATGTGCTATG TGAAGAGTAA	1728

GTCAACCTGC CTGACATTTG GAGTGTTCCC CTCCCCTGA GGGCAGTCGA TAGAGCTGTA	1788
TTAAGCCACT TAAAATGTTT ACTTTTGACA AAGGCAAGCA CTTGTGGGTT TTTGTTTTGT	1848
TTTTCATTCA GTCTTACGAA TACTTTTGCC CTTTGATTAA AGACTCCAGT TAAAAAAAT	1908
TTTAATGAAG AAAGTGGAAA ACAAGGAAGT CAAAGCAAGG AAATATGTA ACATGTAGGA	1968
AGTAGGAAGT AAATTATAGT GATGTAATCT TGAATTGTAA CTGTTCGTGA ATTTAATAAT	2028
CTGTAGGGTA ATTAGTAACA TGTGTTAAGT ATTTTCATAA GTATTTCAA TTGGAGCTTC	2088
ATGGCAGAAG GCAAACCCAT CAACAAAAAT TGTCCTTAA ACAAAAATTA AAATCCTCAA	2148
TCCAGCTATG TTATATTGAA AAAATAGAGC CTGAGGGATC TTTACTAGTT ATAAAGATAC	2208
AGAACTCTTT CAAAACCTTT TGAAATTAAC CTCTCACTAT ACCAGTATAA TTGAGTTTTC	2268
AGTGGGGCAG TCATTATCCA GGTAATCCAA GATATTTTAA AATCTGTCAC GTAGAACTTG	2328
GATGTACCTG CCCCCAATCC ATGAACCAAG ACCATTGAAT TCTTGGTTGA GGAAACAAAC	2388
ATGACCCTAA ATCTTGACTA CAGTCAGGAA AGGAATCATT TCTATTTCTC CTCCATGGGA	2448
GAAAATAGAT AAGAGTAGAA ACTGCAGGGA AAATTATTTG CATAACAATT CCTCTACTAA	2508
CAATCAGCTC CTTCTGGAG ACTGCCCAGC TAAAGCAATA TGCATTTAAA TACAGTCTTC	2568
CATTTGCAAG GGAAAAGTCT CTTGTAATCC GAATCTCTTT TTGCTTTTCA ACTGCTAGTC	2628
AAGTGCGTCC ACGAGCTGTT TACTAGGGAT CCCTCATCTG TCCCTCCGGG ACCTGGTGCT	2688
GCCTCTACCT GACACTCCCT TGGGCTCCCT GTAACCTCTT CAGAGGCCCT CGCTGCCAGC	2748
TCTGTATCAG GACCCAGAGG AAGGGGCCAG AGGCTCGTTG ACTGGCTGTG TGTGGGATT	2808
GAGTCTGTGC CACGTGTATG TGCTGTGGTG TGTCCCCCTC TGTCCAGGCA CTGAGATACC	2868
AGCGAGGAGG CTCCAGAGGG CACTCTGCTT GTTATTAGAG ATTACCTCCT GAGAAAAAAG	2928
CTTCCGCTTG GAGCAGAGGG GCTGAATAGC AGAAGGTTGC ACCTCCCCCA ACCTTAGATG	2988
TTCTAAGTCT TTCCATTGGA TCTCATTGGA CCCTTCCATG GTGTGATCGT CTGACTGGTG	3048
TTATCACCGT GGGCTCCCTG ACTGGGAGTT GATCGCCTTT CCCAGGTGCT ACACCCTTTT	3108
CCAGCTGGAT GAGAATTTGA GTGCTCTGAT CCCTCTACAG AGCTTCCCTG ACTCATTCTG	3168
AAGGAGCCCC ATTCCTGGGA AATATTCCCT AGAACTTCC AAATCCCCTA AGCAGACCAC	3228
TGATAAAACC ATGTAGAAAA TTTGTTATTT TGCAACCTCG CTGGACTCTC AGTCTCTGAG	3288
CAGTGAATGA TTCAGTGTTA AATGTGATGA ATACTGTATT TTGTATTGTT TCAAGTGCAT	3348
CTCCAGATA ATGTGAAAAT GGTCCAGGAG AAGGCCAATT CCTATACGCA GCGTGCTTTA	3408

AAAAATAAAT AAGAAACAAC TCTTTGAGAA ACAACAATTT CTACTTTGAA GTCATACCAA 3468  
 TGAAAAAATG TATATGCACT TATAATTTTC CTAATAAAGT TCTGTACTCA AATGTAAA 3526

(2) ANGABEN FÜR SEQ ID NO:9:

- (i) SEQUENZKENNZEICHEN:  
 (A) LÄNGE: 1797 Basenpaare  
 (B) ART: Nucleinsäure  
 (C) STRANGFORM: Einzelstrang  
 (D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: cDNA zu mRNA

(xi) BESCHREIBUNG DER SEQUENZ: SEQ ID NO:9

GACCACTTTC CCTCTCGGTC CACCTCGGTG TCCTCTTGCT GTCCAGCTCT GCAGCCTCCG	60
GCGCGCCCTC CCGCCCACGC CATGGACGCC AAGGTCGTCG CCGTGCTGGC CCTGGTGCTG	120
GCCGCGCTCT GCATCAGTGA CGGTAAACCA GTCAGCCTGA GCTACCGATG CCCCTGCCGG	180
TTCTTCGAGA GCCACATCGC CAGAGCCAAC GTCAAGCATC TGAAAATCCT CAACACTCCA	240
AACTGTGCCC TTCAGATTGT TGCACGGCTG AAGAACAACA ACAGACAAGT GTGCATTGAC	300
CCGAAATTAA AGTGGATCCA AGAGTACCTG GAGAAAGCTT TAAACAAGTA AGCACAACAG	360
CCCAAAGGAC TTTCCAGTAG ACCCCCAGAG AAGGCTGACA TCCGTGGGAG ATGCAAGGGC	420
AGTGGTGGGG AGGAGGGCCT GAACCCTGGC CAGGATGGCC GCGGGGACAG CACTGACTGG	480
GGTCATGCTA AGGTTTGCCA GCATAAAGAC ACTCCGCCAT AGCATATGGT ACGATATTGC	540
AGCTTATATT CATCCCTGCC CTCGCCCCTG CACAATGGAG CTTTATAAC TGGGGTTTTT	600
CTAAGGAATT GTATTACCCT AACCAGTTAG CTTTCATCCC ATTCTCCTCA TCCTCATCTT	660
CATTTTAAAA AGCAGTGATT ACTTCAAGGG CTGTATTGAG TTTGCTTTGG AGCTTCTCTT	720
TGCCCTGGGG CCTCTGGGCA CAGTTATAGA CGGTGGCTTT GCAGGGAGCC CTAGAGAGAA	780
ACCTTCCACC AGAGCAGAGT CCGAGGAACG CTGCAGGGCT TGTCTGCAG GGGGCGCTCC	840
TCGACAGATG CCTTGTCCTG AGTCAACACA AGATCCGGCA GAGGGAGGCT CCTTTATCCA	900
GTTCAAGTGC AGGGTCGGGA AGCTTCCTTT AGAAGTGATC CCTGAAGCTG TGCTCAGAGA	960
CCCTTCTCTA GCCGTTCTCT CTCTCTGCTT GCCTCCAAAC GCATGCTTCA TCTGACTTCC	1020
GCTTCTCACC TCTGTAGCCT GACGGACCAA TGCTGCAATG GAAGGGAGGA GAGTGATGTG	1080
GGGTGCCCCC TCCCTCTCTT CCCTTTGCTT TCCTCTCACT TGGGCCCTTT GTGAGATTTT	1140

TCTTTGGCCT CCTGTAGAAT GGAGCCAGAC CATCCTGGAT AATGTGAGAA CATGCCTAGA	1200
TTTACCCACA AAACACAAGT CTGAGAATTA ATCATAAACG GAAGTTTAAA TGAGGATTTG	1260
GACCTTGGTA ATTGTCCCTG AGTCCTATAT ATTTCAACAG TGGCTCTATG GGCTCTGATC	1320
GAATATCAGT GATGAAAATA ATAATAATAA TAATAATAAC GAATAAGCCA GAATCTTGCC	1380
ATGAAGCCAC AGTGGGGATT CTGGGTTCCA ATCAGAAATG GAGACAAGAT AAAACTTGCA	1440
TACATTCTTA TGATCACAGA CGGCCCTGGT GGTTTTTGGT AACTATTTAC AAGGCATTTT	1500
TTTACATATA TTTTGTGCA CTTTTTATGT TTCTTTGGAA GACAAATGTA TTTCAGAATA	1560
TATTTGTAGT CAATTCATAT ATTTGAAGTG GAGCCATAGT AATGCCAGTA GATATCTCTA	1620
TGATCTTGAG CTACTGGCAA CTTGTAAAGA AATATATATG ACATATAAAT GTATTGTAGC	1680
TTTCCGGTGT CAGCCACGGT GTATTTTCC ACTTGAATG AAATTGTATC AACTGTGACA	1740
TTATATGCAC TAGCAATAAA ATGCTAATTG TTTCATGCTG TAAAAA AAAA	1797

(2) ANGABEN FÜR SEQ ID NO:10:

- (i) SEQUENZKENNZEICHEN:
  - (A) LÄNGE: 14 Basenpaare
  - (B) ART: Nucleinsäure
  - (C) STRANGFORM: Doppelstrang
  - (D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: cDNA

(xi) BESCHREIBUNG DER SEQUENZ: SEQ ID NO:10:

AATTCGCGGC CGCT

14

(2) ANGABEN FÜR SEQ ID NO:11:

- (i) SEQUENZKENNZEICHEN:
  - (A) LÄNGE: 10 Basenpaare
  - (B) ART: Nucleinsäure
  - (C) STRANGFORM: Doppelstrang
  - (D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: cDNA

(ix) MERKMAL:

- (A) NAME/SCHLÜSSEL: misc\_feature
- (B) LÄNGE: 1
- (C) WEITERE ANGABEN: /Markierung = phosphoryliert

(xi) BESCHREIBUNG DER SEQUENZ: SEQ ID NO:11:

AGCGGCCGCG

10



(2) ANGABEN FÜR SEQ ID NO:12:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

- (A) LÄNGE: 28 Basenpaare
- (B) ART: Nucleinsäure
- (C) STRANGFORM: Doppelstrang
- (D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: DNA (synthetisch)

(xi) BESCHREIBUNG DER SEQUENZ: SEQ ID NO:12:

GTAATACGAC TCACTATAGG GGAGAGCT

28

(2) ANGABEN FÜR SEQ ID NO:13:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

- (A) LÄNGE: 28 Basenpaare
- (B) ART: Nucleinsäure
- (C) STRANGFORM: Doppelstrang
- (D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: cDNA (synthetisch)

(xi) BESCHREIBUNG DER SEQUENZ: SEQ ID NO:13:

CTCCCCTATA GTGAGTCGTA TTACTGCA

28

(2) ANGABEN FÜR SEQ ID NO:14:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

- (A) LÄNGE: 32 Basenpaare
- (B) ART: Nucleinsäure
- (C) STRANGFORM: Doppelstrang
- (D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: DNA (synthetisch)

(xi) BESCHREIBUNG DER SEQUENZ: SEQ ID NO:14:

CTAGTCTATA GTGTCACCTA AATCGTGGGT AC

32

(2) ANGABEN FÜR SEQ ID NO:15:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

- (A) LÄNGE: 23 Basenpaare
- (B) ART: Nucleinsäure
- (C) STRANGFORM: Doppelstrang
- (D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: DNA (synthetisch)

(xi) BESCHREIBUNG DER SEQUENZ: SEQ ID NO:15:

CACGATTTAG GTGACACTAT AGA

23

(2) ANGABEN FÜR SEQ ID NO:16:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

- (A) LÄNGE: 44 Basenpaare
- (B) ART: Nucleinsäure
- (C) STRANGFORM: Einzelstrang
- (D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: DNA (synthetisch)

(xi) BESCHREIBUNG DER SEQUENZ: SEQ ID NO:16:

AATATAGTCG ACCACCATGA ACGCCAAGGT CGTGGTCGTG CTGG

44

(2) ANGABEN FÜR SEQ ID NO:17:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

- (A) LÄNGE: 37 Basenpaare
- (B) ART: Nucleinsäure
- (C) STRANGFORM: Einzelstrang
- (D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: DNA (synthetisch)

(xi) BESCHREIBUNG DER SEQUENZ: SEQ ID NO:17:

CGGCGGACTA GTTTACTTGT TTAAAGCTTT CTCCAGG

37

(2) ANGABEN FÜR SEQ ID NO:18:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

- (A) LÄNGE: 55 Basenpaare
- (B) ART: Nucleinsäure
- (C) STRANGFORM: Einzelstrang
- (D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: DNA (synthetisch)

(xi) BESCHREIBUNG DER SEQUENZ: SEQ ID NO:18:

GCCGCCACTA GTTTAGTGGT GGTGGTGGTG GTGCTTGTTT AAAGCTTTCT CCAGG 55

(2) ANGABEN FÜR SEQ ID NO:19:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

- (A) LÄNGE: 39 Basenpaare
- (B) ART: Nucleinsäure
- (C) STRANGFORM: Einzelstrang
- (D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: DNA (synthetisch)

(xi) BESCHREIBUNG DER SEQUENZ: SEQ ID NO:19:

CGGCGGACTA GTTCACATCT TGAACCTCTT GTTTAAAGC 39

(2) ANGABEN FÜR SEQ ID NO:20:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

- (A) LÄNGE: 57 Basenpaare
- (B) ART: Nucleinsäure
- (C) STRANGFORM: Einzelstrang
- (D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: DNA (synthetisch)

(xi) BESCHREIBUNG DER SEQUENZ: SEQ ID NO:20:

GCCGCCACTA GTTCAGTGGT GGTGGTGGTG GTGCATCTTG AACCTCTTGT TTAAAGC 57

**Patentansprüche**

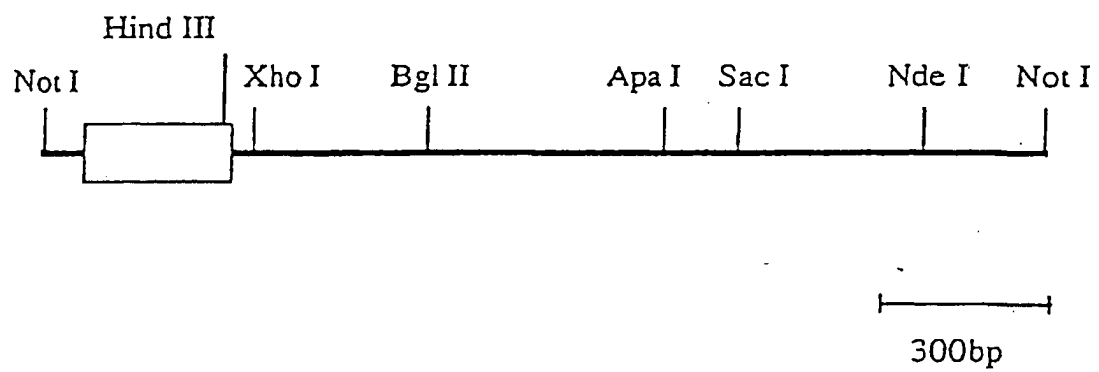
1. Polypeptid mit der Aminosäuresequenz, die in SEQ ID No. 1 angegeben ist.
2. DNA mit der Nucleotidsequenz, die in SEQ ID No. 2 angegeben ist.
3. DNA mit der Nucleotidsequenz, die in SEQ ID No. 3 angegeben ist.
4. Replikations- und Expressionsvektor, der DNA gemäß einem der Ansprüche 2 oder 3 umfasst.
5. Wirtszellen, die mit einem Replikations- und Expressionsvektor gemäß Anspruch 4 transformiert oder transfiziert sind.
6. Verfahren zur Herstellung eines Polypeptids, das das Kultivieren von Wirtszellen gemäß Anspruch 5 unter zur Expression eines Polypeptids gemäß Anspruch 1 wirksamen Bedingungen umfasst.

7. Pharmazeutische Zusammensetzung, die ein Polypeptid gemäß Anspruch 1 in Verbindung mit einem pharmazeutisch akzeptablen Verdünnungsmittel und/oder Träger enthält.
8. Polypeptid mit der Aminosäuresequenz, die in SEQ ID No. 5 angegeben ist.
9. DNA mit der Nucleotidsequenz, die in SEQ ID No. 6 angegeben ist.
10. DNA mit der Nucleotidsequenz, die in SEQ ID No. 7 angegeben ist.
11. Replikations- und Expressionsvektor, der DNA gemäß einem der Ansprüche 9 oder 10 umfasst.
12. Wirtszellen, die mit einem Replikations- und Expressionsvektor gemäß Anspruch 11 transformiert oder transfiziert sind.
13. Verfahren zur Herstellung eines Polypeptids, das das Kultivieren von Wirtszellen gemäß Anspruch 12 unter zur Expression eines Polypeptids gemäß Anspruch 8 wirksamen Bedingungen umfasst.
14. Pharmazeutische Zusammensetzung, die ein Polypeptid gemäß Anspruch 8 in Verbindung mit einem pharmazeutisch akzeptablen Verdünnungsmittel und/oder Träger enthält.
15. Polypeptid mit einer Region, die von Position 22 bis Position 89 in der in SEQ ID No. 1 angegebenen Aminosäuresequenz reicht.
16. Polypeptid mit einer Region, die von Position 22 bis Position 93 in der in SEQ ID No. 5 angegebenen Aminosäuresequenz reicht.

Es folgen 3 Blatt Zeichnungen

Anhängende Zeichnungen

Figur. 1



Figur. 2

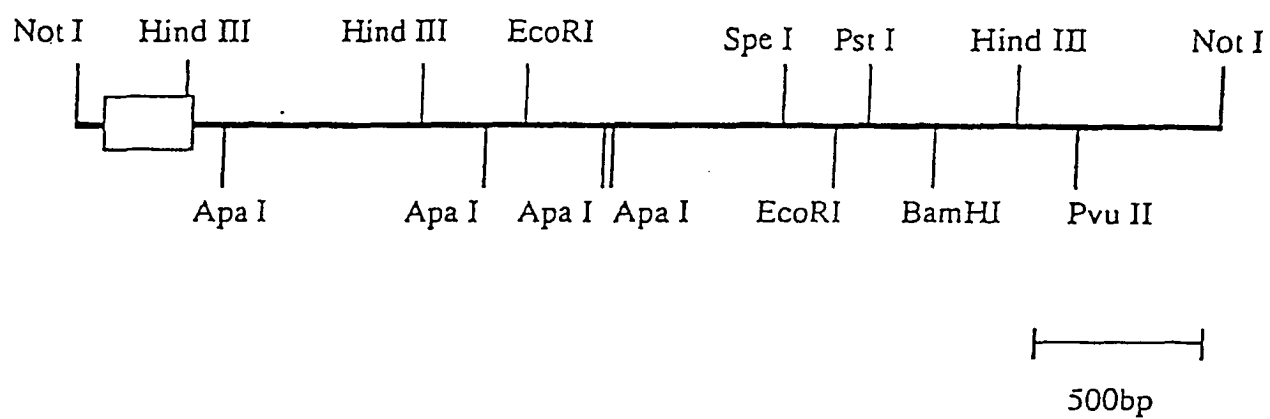


Figure 3

