



(19)
Bundesrepublik Deutschland
Deutsches Patent- und Markenamt

(10) **DE 693 33 731 T2 2006.03.09**

(12) **Übersetzung der europäischen Patentschrift**

(97) **EP 0 653 940 B1**
(21) Deutsches Aktenzeichen: **693 33 731.1**
(86) PCT-Aktenzeichen: **PCT/US93/06228**
(96) Europäisches Aktenzeichen: **93 918 139.2**
(87) PCT-Veröffentlichungs-Nr.: **WO 94/000140**
(86) PCT-Anmeldetag: **29.06.1993**
(87) Veröffentlichungstag
der PCT-Anmeldung: **06.01.1994**
(97) Erstveröffentlichung durch das EPA: **24.05.1995**
(97) Veröffentlichungstag
der Patenterteilung beim EPA: **29.12.2004**
(47) Veröffentlichungstag im Patentblatt: **09.03.2006**

(51) Int Cl.⁸: **C12N 15/12 (2006.01)**
C12Q 1/68 (2006.01)
C12Q 1/00 (2006.01)

(30) Unionspriorität:
907138 30.06.1992 US
940389 03.09.1992 US
965173 23.10.1992 US
36555 24.03.1993 US

(73) Patentinhaber:
**Ludwig Institute for Cancer Research, New York,
N.Y., US; Acorda Therapeutics, Inc., Hawthorne,
N.Y., US**

(74) Vertreter:
**Gille Hrabal Struck Neidlein Prop Roos, 40593
Düsseldorf**

(84) Benannte Vertragsstaaten:
**AT, BE, CH, DE, DK, ES, FR, GB, GR, IE, IT, LI, LU,
MC, NL, PT, SE**

(72) Erfinder:
**GOODEARL, Andrew, Hertfordshire WD3 5PY, GB;
STROOBANT, Paul, Foster City, CA 94404, GB;
MINGHETTI, Luisa, I-48012 Bagnacavallo, IT;
WATERFIELD, Michael, Speen Newberry,
Berkshire RG13 1RN, GB; MARCHIONI, Mark,
Arlington, US; CHEN, Su, Maio, Arlington, US;
HILES, Ian, London W1P 8BT, GB**

(54) Bezeichnung: **GLIALMITOGENE FAKTOREN, IHRE HERSTELLUNG UND VERWENDUNG**

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

[0001] Die Erfindung bezieht sich auf in Wirbeltierarten gefundener Polypeptide, die mitogenetische Wachstumsfaktoren für Gliazellen, einschließlich Schwann-Zellen, darstelle. Die Erfindung betrifft ferner Verfahren zur Herstellung von solchen Faktoren sowie die therapeutische Anwendung von diesen Faktoren.

[0002] Die Gliazellen von Wirbeltieren stellen das spezialisierte Bindegewebe des zentralen und peripheren Nervensystems dar. Wichtige Gliazellen umfassen die Schwann-Zellen, die eine metabolische Unterstützung für die Neuronen sowie die Myelinscheiden um die Axone von bestimmten peripheren Neuronen, wodurch individuelle Nervenfasern gebildet werden, bereitstellen. Die Schwann-Zellen unterstützen die Neuronen und stellen eine Scheidenwirkung durch die Ausbildung von konzentrischen Membranschichten um die benachbarten Nervenaxone bereit, wobei sie sich bei ihrer Entwicklung um die Axone drehen. Diese Myelinscheiden sind ein empfindliches Element von vielen Nervenfasern und eine Beschädigung der Schwann-Zellen oder ein Fehler im Wachstum und in der Entwicklung kann mit einer signifikanten Demyelinisation oder Nervendegeneration assoziiert sein, was für eine Anzahl von Krankheiten und Störungen des peripheren Nervensystems charakteristisch ist. Es wurde erkannt, dass bei der Entwicklung des Nervensystems, die Zellen verschiedene Faktoren benötigen, um ihre Teilung und ihr Wachstum zu steuern. Verschiedene Faktoren wurden in den vergangenen Jahren identifiziert, wobei auch einige gefunden wurden, die eine Wirkung auf die Teilung und die Entwicklung der Schwann-Zellen besitzen.

[0003] Brockes et al. beschreiben unter anderem in *J. Neuroscience*, 4 (1984), 75–83, einen Proteinwachstumsfaktor, der in Extrakten vom Rindergehirn und Hypophysengewebe vorhanden ist und der bezeichnet wurde als „Glial Growth Factor“ (GGF). Dieser Faktor stimuliert kultivierte Schwann-Zellen aus der Ratte zur Teilung in einem Grundmedium, das 10% fötales Kälberserum enthielt. Es wurde auch beschrieben, dass dieser Faktor eine Molekülmasse von 31.000 Daltons hat und vollkommen dimerisiert ist. In *Meth. Enz.*, 147 (1987), 217–225, beschreibt Brockes einen Test für GGF mit Schwann-Zellen.

[0004] Brockes et al., siehe oben, beschreiben auch ein Verfahren für die Reinigung von GGF bis zur augenscheinlichen Homogenität. In Kürze umfasst ein beschriebenes, größeres Reinigungsverfahren die Extraktion aus lyophilisierten Vorderlappen vom Rind und die Chromatographie des erzielten Materials unter Verwendung der NaCl-Gradientenelution von CM-Cellulose. Die Gelfiltration wird dann mit einer Ultrogel-Säule durchgeführt, gefolgt von einer Elution aus einer Phosphocellulosesäule. Abschließend erfolgt eine SDS-Gelelektrophorese im Labormaßstab. Alternativ wird das CM-Cellulosematerial direkt auf eine Phosphorcellulosesäule aufgetragen, die Fraktionen aus der Säule werden vereinigt und mit einer präparativen, nativen Gelelektrophorese und anschließend durch eine abschließende SDS-Gelelektrophorese gereinigt.

[0005] Brockes et al. haben beobachtet, dass bei den zuvor berichteten Gelfiltrationsexperimenten (Brockes et al., *J. Biol. Chem.* 255 (1980), 8374–8377) der Hauptpeak der Wachstumsfaktoraktivität bei einer relativen Molekülmasse von 56.000 Daltons auftrat, während bei dem ersten der oben beschriebenen Verfahren die Aktivität vorwiegend bei einer relativen Molekülmasse von 31.000 beobachtet wurde. Es wurde berichtet, dass das GGF-Dimer in einem großen Umfang als Ergebnis der Gradientenelution aus der CM-Cellulose bei diesem Verfahren entfernt wird.

[0006] Benveniste et al. (*PNAS*, 82 (1985), 3930–3934) beschreiben einen von T-Lymphozyten abstammenden, das Gliawachstum fördernden Faktor. Dieser Faktor zeigt unter reduzierenden Bedingungen einen Wechsel in der relativen Molekülmasse auf SDS-Gelen.

[0007] Kimura et al. (*Nature*, 348 (1990), 257–260) beschreiben einen Faktor, den sie als „Schwannoma-derived growth factor“ (SDGF) bezeichnet haben, der von einem Tumor der Ischiasnervenscheiden abstammte. Die Autoren haben vermerkt, dass SDGF nicht die Einlagerung von Tritium markierten TdR in kultivierte Schwann-Zellen unter Bedingungen stimuliert, wo eine partiell gereinigte Hypophysenfraktion, die GGF enthält, aktiv ist. SDGF hat ein scheinbares Molekulargewicht zwischen 31.000 und 35.000.

[0008] Davis und Stroobant (*J. Cell. Biol.*, 110 (1990), 1353–1360) beschreiben die Testung von einer Reihe von möglichen Mitogenen. Es wurden Schwann-Zellen aus der Ratte verwendet und die ausgewählten Kandidatensubstanzen wurden hinsichtlich ihrer Fähigkeit überprüft, die DNA-Synthese in den Schwann-Zellen in Gegenwart von 10% FCS (fötales Kälberserum) mit und ohne Forskolin zu stimulieren. Einer der getesteten Faktoren war die GGF-Carboxymethylcellulose-Fraktion (GGF-CM), die in Gegenwart von FCS, mit und ohne Forskolin mitogenetisch war. Die Arbeit zeigt, dass in Gegenwart von Forskolin der aus Blutplättchen gewonnene Wachstumsfaktor (PDGF) ein potentes Mitogen für die Schwann-Zellen ist, wobei zuvor geglaubt wurde,

dass PDGF keinen Effekt auf die Schwann-Zellen besitzt.

[0009] Holmes et al. Science (1992) 256: 1205 und Wen et al. Cell (1992) 69 559 zeigen, dass die DNA-Sequenzen, welche für Proteine codieren, die an einen Rezeptor (p185^{erbB2}) binden, mit verschiedenen menschlichen Tumoren assoziiert sind.

[0010] Das p185^{erbB2}-Protein ist ein 185 Kilodalton, die Membran durchdringendes Protein mit Tyrosinkinaseaktivität. Das Protein wird durch das erbB2 Proto-Onkogen kodiert (Yarden und Ullrich, Ann. Rev. Biochem. 57: 443(1988)). Das erbB2-Gen, auch als „HER-2“ (in menschlichen Zellen) und als „neu“ (in Rattenzellen) bezeichnet, ist eng verwandt mit dem Rezeptor für den epidermalen Wachstumsfaktor (EGF). Kürzliche Belege zeigen, dass Proteine, die interagieren mit (und die Kinase aktivieren von) p185^{erbB2} die Proliferation in den Zellen, welche p185^{erbB2} besitzen, induzieren (Holmes et al., Science 256: 1205 (1992); Dobashi et al., Proc. Natl. Acad. Sci. 88: 8582 (1991); Lupu et al., Proc. Natl. Acad. Sci. 89: 2287 (1992)). Es ist ferner offensichtlich, dass das Gen, welches die p185^{erbB2} Bindeproteine codiert, eine Reihe von unterschiedlich großen, unterschiedlich gespleißte RNA-Transkripte herstellt, die zu einer Serie von Proteinen führen, die unterschiedlich lang sind und einige gemeinsame Peptidsequenzen und einige einmalige Peptidsequenzen enthalten. Dies wird unterstützt durch unterschiedlich gespleißte RNA-Transkripte, die aus menschlichem Brustkrebs gewinnbar sind (MDA-MB-231) (Holmes et al. Science 256: 1205 (1992)). Eine weitere Unterstützung kommt von Proteinen mit einem breiten Größenbereich, die (wie hier offenbart) als Liganden für den p185^{erbB2} Rezeptor agieren (siehe unten).

[0011] Die Erfindung stellt im Allgemeinen Verfahren für die Stimulierung der Mitogenese von Gliazellen (insbesondere von Schwann-Zellen und Gliazellen des Zentralnervensystems) sowie neue Proteine, die solch eine mitogenetische Aktivität auf Gliazellen ausüben, bereit. Ferner wird DNA bereitgestellt, die für diese Proteine und Antikörper codiert, welche an diese und an verwandte Proteine binden.

[0012] Die neuen Proteine gemäß der Erfindung umfassen alternative Spleißprodukte von Sequenzen, die für bekannte Polypeptide codieren. Diese bekannten Proteine sind im Allgemeinen Mitglieder der GGF/p185^{erbB2}-Proteinfamilie.

[0013] Die Erfindung stellt insbesondere Polypeptide mit einer beschriebenen Formel bereit und DNA-Sequenzen, die für diese Polypeptide codieren.

[0014] Die Erfindung stellt ein Polypeptid bereit, das von einem GGF/p185^{erbB2} Ligandengen codiert wird und mit einem p185^{erbB2}-Rezeptor interagiert, wobei das Polypeptid eine E-Domäne, die von SEQ ID Nr. 163 codiert wird, oder eine E-Domäne, welche die Aminosäuresequenz von SEQ ID Nr. 210 umfasst, und eine dem epidermalen Wachstumsfaktor ähnliche Domäne umfasst, die

- a) eine C-Nukleinsäuresequenz (SEQ ID Nr. 177) und entweder eine C/D Nukleinsäuresequenz (SEQ ID Nr. 178) oder eine C/D' Nukleinsäuresequenz (SEQ ID Nr. 143) in der 5' zu 3'-Reihenfolge C-C/D oder C-CD';
- b) die Aminosäuresequenz von SEQ ID Nr. 151, 152, 220, 221, 222, 223, 224 oder 225; oder
- c) die Aminosäuren 362–411 von SEQ ID Nr. 170

umfasst.

[0015] Gemäß einem ersten Aspekt der Erfindung induziert das Polypeptid die Zellteilung von Gliazellen.

[0016] Gemäß einem zweiten Aspekt der Erfindung induziert das Polypeptid die Acetylcholinrezeptor-Synthese in einer Zelle.

[0017] Gemäß einem dritten Aspekt der Erfindung induziert das Polypeptid die Myelinisierung einer Neuralzelle durch eine Gliazelle.

[0018] Gemäß einer bevorzugten Ausführungsform der Erfindung umfasst das Polypeptid die Aminosäuresequenz von SEQ ID Nr. 170.

[0019] Die Erfindung stellt ferner eine isolierte Nukleinsäuresequenz bereit, die für das oben definierte Polypeptid codiert.

[0020] Gemäß einer bevorzugten Ausführungsform der Erfindung umfasst die Nukleinsäuresequenz SEQ ID

Nr. 21.

[0021] Die Erfindung umfasst ferner Vektoren, die DNA-Sequenzen umfassen, welche für die oben definierten Aminosäuresequenzen codieren. Ferner umfasst ist eine Wirtszelle, welche die isolierte DNA enthält, welche für die oben definierten Aminosäuresequenzen codiert. Die Erfindung umfasst ferner solche Verbindungen, die an den p185^{erbB2}-Rezeptor binden und die Zellteilung von Gliazellen in vivo und/oder in vitro stimulieren, wie hierin definiert.

[0022] Ferner können Antikörper gegen die hier beschriebenen Peptide für die Reinigung der hier beschriebenen Polypeptide verwendet werden. Die Antikörper gegen die Polypeptide können auch für die therapeutische Hemmung der Zellteilung der Gliazellen verwendet werden.

[0023] Die Erfindung umfasst ferner ein Verfahren für die Herstellung eines mitogenetischen Faktors für die Gliazellen, dass die Kultur von modifizierten Wirtszellen, wie oben definiert, unter Bedingungen umfasst, welche die Expression der DNA-Sequenzen nach der Erfindung ermöglichen.

[0024] Ein Verfahren für die Stimulierung der Zellteilung von Gliazellen kann bewirkt werden durch das Inkontaktbringen der Gliazellen mit einem oben definierten Polypeptid als ein Gliazellenmitogen in vivo oder in vitro. Ein Verfahren für das Erzeugen eines mitogenetischen Effektes von Gliazellen in einem Wirbeltier (vorzugsweise einem Säugetier, mehr bevorzugt bei Menschen) kann bewirkt werden durch die Verabreichung einer wirksamen Menge des hier definierten Polypeptides.

[0025] Ein Verfahren zur Behandlung oder Prophylaxe für eine Nervenerkrankung oder Störung kann mit den hier beschriebenen Polypeptiden erreicht werden. Ein Verfahren für die Prophylaxe oder die Behandlung eines pathophysiologischen Zustandes des Nervensystems, bei dem ein Zelltyp involviert ist, der gegenüber den hier definierten Polypeptiden empfindlich oder reagierend ist, kann mit den vorliegenden Polypeptiden auch erzielt werden.

[0026] Die erwähnten Verfahren zur Behandlung umfassen Verfahren, welche die Störung eines peripheren Nervenschadens beinhaltet, einen Nervenschaden in dem zentralen Nervensystem, eine neurodegenerative Störung, eine Demyelinisation im peripheren oder im zentralen Nervensystem oder ein Schaden oder ein Verlust von Schwann-Zellen, Oligodendrozyte, Mikroglia oder Astrozyte. Zum Beispiel sind Nervenleiden von sensorischen oder motorischen Nervenfasern oder die Behandlung einer neurodegenerativen Störung mit umfasst. In jedem dieser Fälle besteht die Behandlung in der Verabreichung einer wirksamen Menge des Polypeptides.

[0027] Ein Verfahren zur Induktion der Nervenregeneration und/oder zur Reparatur kann auch durch die Verabreichung einer wirksamen Menge des oben definierten Polypeptides bewirkt werden. Solch ein Medikament wird hergestellt durch Verabreichung des Polypeptides mit einem pharmazeutisch wirksamen Träger.

[0028] Die Erfindung umfasst die Verwendung eines Polypeptides, wie oben definiert, bei der Herstellung eines Medikamentes.

[0029] Die oben definierten Polypeptide können verwendet werden

- um ein Säugetier zu immunisieren für die Produktion von Antikörpern, die optional für therapeutische oder diagnostische Zwecke verwendet werden können,
- in einer kompetitiven Prüfung zur Identifikation oder Quantifizierung von Molekülen mit Rezeptorbindungseigenschaften, die denen des Polypeptides entsprechen, und/oder
- für den Kontakt einer Probe mit einem Polypeptid, wie oben erwähnt, zusammen mit einem Rezeptor, der spezifisch an das Polypeptid binden kann, um die kompetitive Hemmung der Bindung an das Polypeptid nachzuweisen,
- in einem Affinitätsisolierungsverfahren, optional Affinitätschromatographie, für die Abtrennung eines entsprechenden Rezeptors.

[0030] Die Erfindung umfasst ferner EGFL1, EGFL2, EGFL3, EGFL4, EGFL5 und EGFL6 Polypeptide, die [Fig. 38](#) bis [Fig. 43](#) und die SEQ ID Nrn. 220–225 zur Verwendung bei der Stimulierung der Zellteilung von Gliazellen in vivo und in vitro.

[0031] Von der Erfindung ist auch die Verabreichung des GGF-II Polypeptides, dessen Sequenz in der [Fig. 45A](#) dargestellt ist, für die Stimulierung der Zellteilung von Gliazellen umfasst.

[0032] Gemäß einem zusätzlichen Aspekt der vorliegenden Erfindung können die hier beschriebenen, neuen Polypeptide dazu verwendet werden, um die Synthese von Acetylcholinrezeptoren zu stimulieren.

[0033] Wie oben erwähnt, stellt die Erfindung neue Gliawachstumsfaktoren aus Säugetierquellen, einschließlich Rind und Mensch, bereit, welche von bekannten Faktoren verschieden sind. Diese Faktoren sind mitogenetisch für Schwann-Zellen gegenüber einem Hintergrund von fötalem Kälberplasma (FCP). Die Erfindung stellt ferner Verfahren für die Herstellung von diesen Faktoren bereit sowie ein verbessertes Verfahren für die Definition der Aktivität von diesen und anderen Faktoren. Therapeutische Anwendungen der Faktoren sind ferner ein signifikanter Aspekt der vorliegenden Erfindung.

[0034] Die Erfindung umfasst ferner Sequenzen, die eine Sequenzidentität der Homologie zu den oben angezeigten Sequenzen von mehr als 60%, vorzugsweise mehr als 80%, haben.

[0035] Obwohl die vorliegende Erfindung nicht auf eine besondere Gruppe an Hybridisierungsbedingungen beschränkt ist, gibt das folgende Protokoll eine allgemeine Anleitung, die befolgt werden kann, falls dies gewünscht ist.

[0036] DNA-Proben können mit einer hohen spezifischen Aktivität (etwa 10^8 bis 10^9 ^{32}P dmp/ μg) durch Nick-Translation oder durch PCR-Reaktionen gemäß Schowalter und Sommer (Anal. Biochem., 177: 90–94, 1989) markiert und durch Entsalzung auf G-150 Sephadex-Säulen gereinigt werden. Die Proben können denaturiert (10 Minuten in kochendem Wasser und anschließendem Eintauchen in Eiswasser) und dann zu Hybridisierungslösungen von 80% Puffer B gegeben werden (2 g Polyvinylpyrrolidin, 2 g Ficoll-400, 2 g Rinderserumalbumin, 50 ml 1 M Tris HCL (pH 7,5), 58 g NaCl, 1 g Natriumpyrophosphat, 10 g Natriumdodecylsulfat, 950 ml Wasser), der 10% Dextransulfat enthält, wobei die Zugabe mit 10^6 dpm ^{32}P pro ml erfolgen kann.

[0037] Es erfolgt dann eine Inkubation über Nacht (etwa 16 Stunden) bei 60°C. Die Filter können dann bei 60°C gewaschen werden, zuerst in Puffer B für 15 Minuten und anschließend dreimal für jeweils 20 Minuten in $2 \times \text{SSC}$, 0,1% SDS und dann einmal für 20 Minuten in $1 \times \text{SSC}$, 0,1% SDS.

[0038] In anderer Hinsicht stellt die Erfindung bereit:

(a) Einen Grundpolypeptidfaktor, der bei Erzielung aus Rinderhypophysenmaterial ein beobachtetes Molekulargewicht, ob unter reduzierenden Bedingungen oder nicht, von etwa 30 kD bis etwa 36 kD auf SDS-Polyacrylamid-Gelelektrophorese unter Verwendung der folgenden Molekulargewichtsstandards hat:

Lysozym (Hühnereiweiß)	14.400
Sojabohnen-Trypsininhibitor	21.500
Carboanhydrase (Rind)	31.000
Ovalbumin (Hühnereiweiß)	45.000
Rinderserumalbumin	66.200
Phosphorylase B (Kaninchenmuskel)	97.400;

wobei der Faktor eine mitogenetische Aktivität auf Gliazellen hat, einschließlich der Stimulierung der Teilung von Schwann-Zellen der Ratte in Gegenwart von fötalem Kälberplasma, und bei Isolierung unter Verwendung der Hochdruck-Flüssigkeitschromatographie an Umkehrphasen wenigstens 50% dieser Aktivität nach 10 Wochen Inkubation in 0,1% Trifluoressigsäure bei 4°C behält; und

(b) ein Grundpolypeptidfaktor, der bei Erzielung aus Rinderhypophysenmaterial ein beobachtetes Molekulargewicht unter nicht-reduzierenden Bedingungen von etwa 55 kD bis etwa 63 kD auf SDS-Polyacrylamid-Gelelektrophorese unter Verwendung der folgenden Molekulargewichtsstandards zeigt:

Lysozym (Hühnereiweiß)	14.400
Sojabohnen-Trypsininhibitor	21.500
Carboanhydrase (Rind)	31.000
Ovalbumin (Hühnereiweiß)	45.000
Rinderserumalbumin	66.200
Phosphorylase B (Kaninchenmuskel)	97.400;

wobei das menschliche Äquivalent von diesem Faktor durch den hierin beschriebenen DNA-Klon GGF2HBS5 codiert wird, und dieser Faktor eine mitogenetische Aktivität auf Gliazellen hat, einschließlich der Stimulierung der Teilung von Schwann-Zellen der Ratte in Gegenwart von fötalem Kälberserum, und

bei Isolierung unter Verwendung der Hochdruck-Flüssigkeitschromatographie an Umkehrphasen wenigstens 50% der Aktivität nach 4 Tagen Inkubation in 0,1% Trifluoressigsäure bei 4°C behält.

[0039] Nur zur Darstellung in dieser Beschreibung werden die Niedrigmolekulargewichtsfaktoren und die Hochmolekulargewichtsfaktoren gemäß der vorliegenden Erfindung im Folgenden als „GGF-I“ und „GGF-II“ bezeichnet. Die „GGF2“ Bezeichnung wird für alle Klone verwendet, die mit den Peptidsequenzdaten isoliert wurden, welche von dem GGF-II Protein abstammen (das heißt, GGF2HBS5, GGF2BPP3).

[0040] Es sei angemerkt, dass die Grenzen der Molekulargewichtsbereiche nicht exakt anzugeben sind, sondern Gegenstand von leichten Variationen in Abhängigkeit von der Quelle des einzelnen Polypeptidfaktors ist. Eine Variation von etwa 10% würde zum Beispiel nicht unmöglich sein für ein Material aus einer anderen Quelle.

[0041] Ein anderer Aspekt der vorliegenden Erfindung benutzt die Tatsache, dass die Gliawachstumsfaktoren und die p185^{erbB2} Ligandenproteine von dem gleichen Gen codiert werden. Eine Reihe von messenger-RNA Spleißvarianten (und die daraus resultierenden Proteine) stammen von diesem Gen ab und viele von diesen Produkten zeigen eine p185^{erbB2} Bindung und Aktivierung. Verschiedene (GGF-II) Genprodukte zeigen eine mitogenetische Aktivität für Schwann-Zellen. Die Erfindung stellt die Verwendung von all diesen bekannten Produkten des GGF/p185^{erbB2} Ligandengens (beschrieben in den oben aufgeführten Referenzen) als Schwann-Zellmitogene bereit.

[0042] Diese Erfindung bezieht sich auch auf andere, noch nicht natürlich isolierte Spleißvarianten des Gens für den Gliawachstumsfaktor. Die [Fig. 30](#) zeigt das bekannte Muster des Spleißens, welches von Polymerase-Kettenreaktions-Experimenten abstammt (auf umgekehrt transkribierter RNA) und die Analyse der cDNA-Klone (wie hier dargestellt), die abstammen von Sequenzen, die publiziert sind als Sequenzen, welche p185^{erbB2} Liganden codieren (Peles et al., Cell 69: 205 (1992) und Wen et al., Cell 69: 559 (1992)). Diese Muster sowie die zusätzlichen, hier offenbarten Muster stellen vermutlich Spleißvarianten dar, die existieren. Ein weiterer Aspekt der vorliegenden Erfindung bezieht sich auf Nukleotidsequenzen, die neue Proteinfaktoren codieren, welche von diesem Gen abstammen. Die Erfindung stellt ferner Verfahren für die Herstellung von diesen Faktoren bereit. Die therapeutische Anwendung von diesen neuen Faktoren ist ein weiterer Aspekt der Erfindung.

[0043] Diese anderen wichtigen Aspekte der Erfindung sind:

Eine Reihe von Polypeptidfaktoren, die mitogenetische Aktivität für Gliazellen besitzen, einschließlich der Stimulierung der Teilung von Schwann-Zellen, und deren Reinigung und Charakterisierung gemäß den Verfahren, die dargestellt sind durch Lupu et al., Science 249: 1552 (1990); Lupu et al., Proc. Natl. Acad. Sci USA, 89: 2287 (1992); Holmes et al., Science 256: 1205 (1992); Peles et al. 69: 205 (1992); Yarden und Peles, Biochemistry 30: 3543 (1991); Dobashi et al., Proc. Natl. Acad. Sci. 88: 8582 (1991); Davin et al., Biochem. Biophys. Res. Commun. 179: 1536 (1991); Beaumont et al., Patentanmeldung PCT/US 91/03443 (1990); Greene et al., Patentanmeldung PCT/US 91/02331 (1990); Usdin und Fischbach, J. Cell. Biol. 103: 493–507 (1986); Falls et al., Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. 55: 397–406 (1990); Harris et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 88: 7664–7668 (1991) und Falls et al., Cell 72: 801–815 (1993).

[0044] Die menschlichen Peptidsequenzen, die oben beschrieben und in den **Fig. 31, 32, 33 und 34** (SEQ ID Nrn. 192, 194, 195 und 147–219) dargestellt sind, stellen eine Reihe von Spleißvarianten dar, die aus vollständigen komplementären DNAs (cDNAs) aus natürlichen Quellen (cDNA-Bibliotheken, hergestellt mit den geeigneten Geweben) isoliert werden können oder die als DNA-Konstrukte mit einzelnen Exons (zum Beispiel abstammend von separaten Exons) durch Fachleute zusammengesetzt werden können.

[0045] Andere Verbindungen, insbesondere Peptide, die spezifisch an den p185^{erbB2}-Rezeptor binden, können auch als Gliazellenmitogen verwendet werden. Eine Kandidatenverbindung kann routinemäßig für eine p185^{erbB2} Bindung überprüft werden und bei Bindung kann sie dann auf mitogenetische Aktivität für Gliazellen unter Verwendung der hier beschriebenen Verfahren getestet werden.

[0046] Die Erfindung umfasst jegliche Modifikationen oder Äquivalente der obigen Polypeptidfaktoren, sofern sie keine signifikant reduzierte Aktivität zeigen. Modifikationen, bei denen der Aminosäuregehalt oder die Aminosäuresequenz verändert sind, ohne das im Wesentlichen die Aktivität nachteilig beeinflusst wird, sind umfasst. Zur Darstellung sei auf die EP-A-109748 verwiesen, wo Mutationen von nativen Proteinen offenbart sind, bei denen die Möglichkeit einer nicht gewünschten Disulfidbindung dadurch vermieden ist, dass Cystein, das für die biologische Aktivität nicht notwendig ist, durch eine neutrale Aminosäure in der nativen Sequenz ersetzt

ist. Die Feststellungen zur Wirkung und Verwendung, wie sie hier getroffen werden, treffen somit auch auf solche Verwendungen und Wirkungen zu, welche modifizierte oder äquivalente Faktoren, die Teil der Erfindung sind, verwenden.

[0047] Die neuen Sequenzen gemäß der Erfindung unterliegen den Vorteilen der rekombinanten Technologie. Die Erfindung umfasst somit auch die folgenden Aspekte:

(a) DNA-Konstrukte, welche die oben definierten DNA-Sequenzen umfassen, in operablen offenen Leserahmpositionen innerhalb von Vektoren (benachbart angeordnet zu Steuersequenzen, um die Expression der Sequenzen zu ermöglichen) in ausgewählten Wirtszellen nach deren Transformation durch die Konstrukte (vorzugsweise umfasst die Steuersequenz regulierbare Promotoren, zum Beispiel Trp). Es sei angemerkt, dass die Auswahl eines Promotors und der regulatorischen Sequenzen, falls notwendig, Gegenstände sind, die ein Fachmann auswählen kann;

(b) Wirtszellen, die durch die Einlagerung der in (a) definierten Konstrukte modifiziert sind, so dass diese DNA-Sequenzen in diesen Wirtszellen exprimiert werden können. Die Wahl des Wirtes ist nicht kritisch und die ausgewählten Zellen können prokaryontisch oder eukaryontisch sein und können genetisch modifiziert sein, um diese Konstrukte durch bekannte Verfahren einzubauen; und

(c) Verfahren für die Herstellung der oben definierten Faktoren, welches die Kultur der modifizierten Wirtszellen unter Bedingungen umfasst, welche die Expression der DNA-Sequenzen erlauben. Für jede besondere Ausführungsform können diese Bedingungen von Fachleuten auf dem Gebiet der rekombinanten DNA-Technologie vollständig bestimmt werden. Gliazellmitogene, die durch diese Mittel hergestellt werden, sind von der vorliegenden Erfindung umfasst. Keiner der im Stand der Technik beschriebenen Faktoren hat die Kombination an Eigenschaften, welche die vorliegenden neuen Polypeptidfaktoren besitzen.

[0048] Wie dargelegt, verwendet der Schwann-Zelltest, der für die vorliegenden Faktoren zur Charakterisierung verwendet wird, einen Hintergrund aus fötalem Kalbsplasma. In allen anderen Aspekten kann der Test der gleiche sein, der von Brockes et al. in Meth. Enz., siehe oben, beschrieben ist, wobei aber 10% FCS ersetzt ist durch 10% FCP. Dieser Unterschied in der Testtechnik ist wichtig, da die Abwesenheit der aus Blutplättchen gewonnenen Faktoren im fötalen Kalbsplasma (wie entgegengesetzt zum Serum) eine strengere Definition der Affinität auf die Schwann-Zellen ermöglicht, da mögliche falsche Wirkungen von einigen anderen Faktoren eliminiert sind.

[0049] Die Erfindung umfasst auch ein Verfahren für die Herstellung eines oben definierten Polypeptides, wobei aus Wirbeltiergehirnmaterial extrahiert wird, um das Protein zu erzielen. Der erzielte Extrakt wird einer chromatographischen Reinigung mittels Hydroxyapatit-HPLC unterworfen und dann wird mit diesen Fraktionen eine SDS-Polyacrylamid-Gelelektrophorese durchgeführt. Die Fraktion, die ein beobachtetes Molekulargewicht von etwa 30 kD bis 36 kD hat, und/oder die Fraktion, die ein beobachtetes Molekulargewicht von etwa 55 kD bis 63 kD hat, werden gesammelt. In jedem Fall wird die Fraktion einer SDS-Polyacrylamid-Gelelektrophorese unter Verwendung der folgenden Molekulargewichtsstandards unterworfen:

Lysozym (Hühnereiweiß)	14.400
Sojabohnen-Trypsininhibitor	21.500
Carboanhydrase (Rind)	31.000
Ovalbumin (Hühnereiweiß)	45.000
Rinderserumalbumin	66.200
Phosphorylase B (Kaninchenmuskel)	97.400

[0050] Im Falle der kleineren Molekulargewichtsfraction läuft das SDS- Polyacrylamidgel unter nicht reduzierenden Bedingungen, unter reduzierenden Bedingungen, oder im Falle der größeren Molekulargewichtsfraction unter nicht reduzierenden Bedingungen. Die Fraktionen werden dann hinsichtlich ihrer Aktivität zur Stimulierung der Teilung von Schwann-Zellen der Ratte gegenüber einem Hintergrund von fötalem Kalbsplasma getestet.

[0051] Vorzugsweise startet das obige Verfahren mit der Isolierung einer relevanten Fraktion, die durch Carboxymethylcellulosechromatographie erzielt wird, das heißt, Material von der Rinderhypophyse. Es ist auch bevorzugt, das Hydroxylapatit-HPLC, Kationenaustauscherchromatographie, Gelfiltration und/oder einer Hochdruck-Flüssigkeitschromatographie mit umgekehrten Phasen vor der SDS-Polyacrylamid-Gelelektrophorese durchgeführt wird. Bei jedem Stadium in dem Verfahren kann die Aktivität bestimmt werden unter Verwendung der Einlagerung von radioaktivem Ioddeoxyuridin in die Schwann-Zellen als eine Maßnahme in dem Test, der allgemein beschrieben ist von Brockes in Meth. Enz., siehe oben, wobei aber 10% FCS ersetzt ist durch 10% FCP. Wie bereits angemerkt, ist solch ein Test ein Aspekt der Erfindung für die mitogenetischen Wirkun-

gen einer Substanz auf die Zellen des zentralen Nervensystems oder des peripheren Nervensystems, zum Beispiel Schwann-Zellen.

[0052] Die Erfindung umfasst somit auch einen Test für die mitogenetische Aktivität von Gliazellen, wobei ein Hintergrund aus fötalem Kalbsplasma verwendet wird, um die DNA-Synthese in Gliazellen zu testen, die durch eine Testsubstanz (wenn überhaupt) stimuliert sind.

[0053] Ein weiterer Aspekt der Erfindung ist eine pharmazeutische Formulierung oder Veterinärformulierung, die einen der oben definierten Faktoren umfasst, der für die pharmazeutische oder Veterinärverwendung formuliert ist und zwar optional zusammen mit einem akzeptablen Verdünnungsmittel, Träger oder Bindemittel und/oder in einer Einheitsarzneiform. Bei Verwendung der Faktoren gemäß der vorliegenden Erfindung kann die konventionelle pharmazeutische oder Veterinärpraxis angewandt werden, um geeignete Formulierungen oder Zusammensetzungen bereitzustellen.

[0054] Die Formulierungen gemäß der vorliegenden Erfindung können somit angewandt werden für die parenterale Verabreichung, zum Beispiel die intravenöse, subkutane, intramuskuläre, intraorbitale, ophthalmische, intraventrikuläre, intrakraniale, intrakapsuläre, intraspinale, intracisternale, intraperitoneale, lokale, intranasale, Aerosol-, Skarifikation- und auch orale, bukkale, rektale oder vaginale Verabreichung.

[0055] Die Formulierungen gemäß der vorliegenden Erfindung können auch durch Transplantation in den Patienten von Wirtszellen verabreicht werden, welche die DNA der vorliegenden Erfindung exprimieren, oder durch Verwendung von chirurgischen Implantaten, welche die Formulierungen der Erfindung freisetzen.

[0056] Parenterale Formulierungen können in der Form von Flüssiglösungen oder Suspensionen vorliegen. Für die orale Verabreichung können die Formulierungen in der Form von Tabletten oder Kapseln vorliegen. Für die intranasale Formulierung können Pulver, Nasentropfen oder Aerosole benutzt werden.

[0057] Im Stand der Technik gut bekannte Verfahren für die Herstellung von Formulierungen sind zum Beispiel dargestellt in „Remington's Pharmaceutical Sciences“. Formulierungen für die parenterale Verabreichung können zum Beispiel als Bindemittel steriles Wasser oder Salzlösung enthalten. Polyalkylenglycole, wie Polyethylenglycol, Öle von pflanzlichem Ursprung oder hydrierte Naphthalene, biokompatible, bioabbaubare Lactidpolymere oder Polyoxyethylen-Polyoxypropylen-Copolymere können verwendet werden, um die Freisetzung der vorliegenden Faktoren zu steuern. Andere potentiell nützliche, parenterale Abgabesysteme für die Faktoren umfassen Ethylen-Vinylacetat-Copolymer-Partikel, osmotische Pumpen, implantierbare Infusionssysteme und Liposomen. Formulierungen für die Inhalation können zum Beispiel als Bindemittel Laktose enthalten und können wässrige Lösungen sein, die zum Beispiel Polyoxyethylen-2-Laurylether, Glycocholol und Deoxycholol enthalten, oder können ölige Lösungen für die Verabreichung in Form von Nasentropfen sein oder können intranasal als ein Gel angewandt werden. Formulierungen für die parenterale Verabreichung können auch Glycocholol für die bukkale Verabreichung, Methoxysalicylat für die rektale Verabreichung oder Zitronensäure für die vaginale Verabreichung enthalten.

[0058] Die vorliegenden Faktoren können als alleiniges aktives Mittel oder können in Kombination mit anderen aktiven Mitteln verwendet werden, zum Beispiel mit anderen Wachstumsfaktoren, welche das neuronale Überleben bei neurologischen Krankheiten erleichtern, oder Peptidase- oder Proteaseinhibitoren.

[0059] Die Konzentration der vorliegenden Faktoren in den Formulierungen gemäß der Erfindung wird in Abhängigkeit von einer Reihe von Faktoren variieren, einschließlich der zu verabreichenden Dosierung und der Art der Verabreichung.

[0060] Im Allgemeinen können die Faktoren der vorliegenden Erfindung in einer wässrigen, physiologischen Pufferlösung bereitgestellt werden, die etwa 0,1 bis 10% (Gewicht/Volumen) Verbindung für die parenterale Verabreichung enthält. Allgemeine Dosisbereiche erstrecken sich von etwa 1 mg/kg bis etwa 1 g/kg Körpergewicht pro Tag. Ein bevorzugter Dosisbereich liegt bei etwa 0,01 mg/kg bis 100 mg/kg Körpergewicht pro Tag. Die bevorzugte, zu verabreichende Dosierung wird wahrscheinlich vom Typ und dem Ausmaß des Fortschreitens der pathophysiologischen Störung, die zu behandeln ist, abhängig sein sowie von dem allgemeinen Gesundheitszustand des Patienten, der Herstellungsart der Formulierung und der Art der Verabreichung.

[0061] Wie oben angezeigt sind die Schwann-Zellen (die Gliazellen des peripheren Nervensystems) stimuliert, um in Gegenwart der Faktoren gemäß der vorliegenden Erfindung sich zu teilen. Schwann-Zellen des peripheren Nervensystems sind beteiligt bei der Unterstützung der Neuronen und bei der Schaffung der Myelin-

scheiden um die einzelnen Nervenfasern. Diese Scheiden sind wichtig für die geeignete Weiterleitung von elektrischen Impulsen zu den Muskeln und von den sensorischen Rezeptoren.

[0062] Es gibt eine Reihe von peripheren Nervenleiden, bei denen die Schwann-Zellen und die Nervenfasern beschädigt sind und zwar entweder primär oder sekundär. Es gibt viele Nervenleiden von sowohl sensorischen als auch motorischen Fasern (Adams und Victor, „Principles of Neurology“). Die wichtigsten dieser Nervenleiden sind wahrscheinlich die Nervenleiden, die mit Diabetes, multiple Sklerose, Landry-Guillain-Barr-Syndrom assoziiert sind, Nervenleiden, die durch Karzinome hervorgerufen werden sowie Nervenleiden, die durch toxische Mittel (einige von ihnen werden verwendet zur Behandlung von Karzinomen) hervorgerufen werden.

[0063] Die Erfindung zielt jedoch allgemein auf die Behandlung oder Prophylaxe von Zuständen, bei denen ein Schaden des Nervensystems durch jegliche Ursache entstanden ist, zum Beispiel durch Infektion oder Verletzung. Zusätzlich zu der Verwendung der vorliegenden Faktoren bei der Behandlung von Störungen oder Krankheiten des Nervensystems, wo eine Demyelinisation oder ein Verlust von Schwann-Zellen vorliegt, können solche Gliawachstumsfaktoren auch bei der Behandlung von Störungen des Nervensystems wertvoll sein, die hervorgerufen werden durch einen Schaden an den peripheren Nerven. Nach Schädigung von peripheren Nerven führt der Regenerationsprozess zu einem Wachstum oder Wiederherstellung der Schwann-Zellen, wobei sich die Beförderung der Nervenfasern zurück zu ihrem Ziel anschließt. Durch Erhöhung der Teilung der Schwann-Zellen könnte dieser regenerative Prozess nach einem Schaden gefördert werden.

[0064] Ähnliche Ansätze könnten benutzt werden, um Verletzungen oder neurodegenerative Erkrankungen des zentralen Nervensystems (Gehirn und Rückenmark) zu behandeln.

[0065] Ferner gibt es eine Reihe von Tumoren der Gliazellen, wobei der häufigste Tumor wahrscheinlich die Neurofibromatose ist, die einen unregelmäßigen, kleinen Tumor darstellt, der durch eine Überwachsung der Gliazellen erzeugt wird. Es wurde ferner gefunden, dass eine Aktivität, die GGF sehr ähnlich ist, in einigen Tumoren der Schwann-Zellen auftritt, wodurch Hemmstoffe der Wirkung der vorliegenden Faktoren auf ihre Rezeptoren eine Therapie für einen Gliatumor darstellen, was die Verabreichung einer wirksamen Menge einer Substanz umfasst, welche die Bindung eines Faktors, wie oben definiert, an einen Rezeptor hemmt.

[0066] Im Allgemeinen erlaubt die Erfindung die Verwendung der vorliegenden Polypeptidfaktoren bei der Prophylaxe oder der Behandlung von jeglichem pathophysiologischen Zustand des Nervensystems, bei dem ein Faktor sensitiver oder ein auf den Faktor reagierender Zelltyp beteiligt ist.

[0067] Die Polypeptidfaktoren gemäß der vorliegenden Erfindung können auch als Immunogene zur Herstellung von Antikörpern, wie monoklonale Antikörper, unter Benutzung von Standardtechniken verwendet werden. Solche Antikörper werden von der vorliegenden Erfindung umfasst. Diese Antikörper können andererseits für therapeutische oder diagnostische Zwecke verwendet werden. Zustände, die wahrscheinlich mit anormalen Mengen des Faktors assoziiert sind, können durch Verwendung von solchen Antikörpern erfasst werden. In vitro Techniken können benutzt werden, wobei unter Verwendung von Standardverfahren Anwendungstests auf isolierte Proben fallen. Bildgebende Verfahren, bei denen die Antikörper zum Beispiel mit radioaktiven Isotopen markiert werden, die außerhalb des Körpers dargestellt werden können, können unter Verwendung von Techniken hinsichtlich der Art der Tumordarstellung auch verwendet werden.

[0068] Die Erfindung zielt ferner auf die allgemeine Verwendung der vorliegenden Faktoren als Gliazell-Mitogene in vivo oder in vitro sowie auf Faktoren für solch eine Verwendung. Eine spezifische Ausführungsform umfasst die Verabreichung einer wirksamen Menge eines Faktors gemäß der vorliegenden Erfindung, insbesondere ein Verfahren für die Herstellung eines mitogenetischen Gliazelleffektes in einem Wirbeltier für die Behandlung oder die Prophylaxe einer Erkrankung oder Störung des Nervensystems.

[0069] Ein weiterer allgemeiner Aspekt der Erfindung besteht in der Verwendung eines Faktors gemäß der vorliegenden Erfindung bei der Herstellung eines Medikamentes, vorzugsweise für die Behandlung einer Nervenkrankung oder Störung oder für die neurale Regeneration oder Reparatur.

[0070] Von der Erfindung ist ferner die Verwendung der Faktoren gemäß der vorliegenden Erfindung in kompetitiven Tests umfasst, um Moleküle mit Rezeptorbindungseigenschaften, die denen der Polypeptide entsprechen, zu identifizieren oder zu quantifizieren. Die Polypeptide können markiert werden, optional mit einem Radioisotop. Ein kompetitiver Test kann sowohl Antagonisten als auch Agonisten des relevanten Rezeptors identifizieren.

[0071] Gemäß einem anderen Aspekt stellt die Erfindung die Verwendung von jedem einzelnen der Faktoren gemäß der vorliegenden Erfindung in einem Affinitätsisolierungsverfahren, optional Affinitätschromatographie, für die Trennung der entsprechenden Rezeptoren bereit. Solche Verfahren für die Isolierung von Rezeptoren, die bestimmten Proteinen entsprechen, sind im Stand der Technik bekannt und eine Reihe von Techniken sind verfügbar und können auf die Faktoren gemäß der vorliegenden Erfindung angewandt werden. Der Leser wird zum Beispiel in Bezug auf IL-6 und IFN_γ verwiesen auf Novick, D. et al., J. Chromatogr. (1990) 510: 331–7. In Bezug auf das Gonadotropin-Freisetzungshormon wird verwiesen auf Hazum, E., J. (1990) Chromatogr. 510: 233–8. In Bezug auf G-CSF-Referenz wird verwiesen auf Fukunaga, R., et al., J. Biol. Chem., 265: 13386–90. In Bezug auf den IL-2 Verweis wird verwiesen auf Smart, J. E., et al., (1990) J. Invest. Dermatol., 94: 158S–163S, und in Bezug auf den Verweis auf menschliches IFN-Gamma wird verwiesen auf Stefanos, S. et al., (1989) J. Interferon Res., 9: 719–30.

[0072] Die Zeichnungen werden als erstes beschrieben.

Zeichnungen

[0073] Die [Fig. 1](#) bis [Fig. 8](#) beziehen sich auf das Beispiel 1 und werden im folgenden kurz beschrieben:

[0074] [Fig. 1](#) ist das Profil für ein Produkt von der Carboxymethylcellulose-Chromatographie.

[0075] [Fig. 2](#) ist das Profil für ein Produkt von der Hydroxylapatit-HPLC.

[0076] [Fig. 3](#) ist das Profil für ein Produkt von Mono-S-FPLC.

[0077] [Fig. 4](#) ist das Profil für ein Produkt von der Gelfiltration FPLC.

[0078] Die [Fig. 5](#) und [Fig. 6](#) zeigen die Profile für zwei, teilweise gereinigte Polypeptidprodukte von der Hochdruck-Flüssigkeitschromatographie mit umgekehrten Phasen.

[0079] Die [Fig. 7](#) und [Fig. 8](#) zeigen Dosis-Effekt-Kurven für die GGF-I und GGF-II Fraktionen von HPLC mit umgekehrten Phasen unter Verwendung von fötalem Kalbsserum oder einem fötalen Kalbsplasma-Hintergrund.

[0080] Die [Fig. 9](#) bis [Fig. 12](#) zeigen die Peptidsequenzen, die abstammen von GGF-I und GGF-II, SEQ ID Nrn. 1–20, 22–29, 32–41, 43 und 44–169 (siehe folgendes Beispiel 2).

[0081] [Fig. 9](#) zeigt die 21 Peptidsequenzen (SEQ ID Nrn. 1–20 und 169), erzielt von Lysylendopeptidase- und Protease V8-Verdau von gereinigter Rinderhypophyse GGF-1.

[0082] In den [Fig. 10A](#) und 10B sind die Sequenzen der GGF-I Peptide aufgeführt, die für die Herstellung der degenerierten Oligonukleotidproben und degenerierten PCR-Primer verwendet wurden (SEQ ID Nrn. 1, 22–29 und 17). Einige von den Sequenzen in der [Fig. 10A](#) wurden auch für die Herstellung von synthetischen Peptiden verwendet. Die [Fig. 10B](#) zeigt die Sequenzen der Peptide, die zu kurz waren (weniger als 9 Aminosäuren) für die Erstellung der degenerierten Proben oder degenerierten PCR-Primer (SEQ ID Nrn. 19 und 32).

[0083] [Fig. 11](#) zeigt verschiedene Trypsinpeptidsequenzen und Lysylendopeptidase-C Peptidsequenzen, die abstammen von GGF-II, SEQ ID Nrn. 33–39, 164–166, 51 und 52.

[0084] In der [Fig. 12](#) sind unter A die Sequenzen der GGF-II Peptide gezeigt, die verwendet wurden, um die degenerierten Oligonukleotidproben und die degenerierten PCR-Primer zu entwerfen (SEQ ID Nrn. 45–52). Einige der Sequenzen unter A wurden verwendet, um synthetische Peptide zu entwerfen. Unter B ist das Peptid gezeigt, das zu kurz war (weniger als 6 Aminosäuren), um degenerierte Proben oder degenerierte PCR-Primer (SEQ ID Nr. 53) zu entwerfen.

[0085] Die [Fig. 13](#) bis 20 beziehen sich auf das Beispiel 3 und veranschaulichen die mitogenetische Aktivität der Faktoren gemäß der Erfindung.

[0086] [Fig. 13](#) ist ein Diagramm und zeigt den Vergleich der BrUdR ELISA und der [¹²⁵I]UdR Zählverfahren für die DNA-Syntheseanalyse in Schwann-Zellkulturen.

- [0087] Die [Fig. 14A](#) und [Fig. 14B](#) sind Diagramme und zeigen die Br-UdR Immunoreaktivität mit der Zahl der Br-UdR markierten Zellen.
- [0088] [Fig. 15](#) zeigt die mitogenetische Antwort von Schwann-Zellen des Ischiasnervs der Ratte auf GGFs.
- [0089] [Fig. 16](#) ist ein Diagramm und zeigt die DNA-Synthese in Schwann-Zellen des Ischiasnervs der Ratte und in 3T3-Fibroblasten in Gegenwart von GGFs.
- [0090] [Fig. 17](#) zeigt im Diagramm die mitogenetische Antwort von BHK 21 C13 Zellen auf FCS und GGFs.
- [0091] [Fig. 18](#) zeigt im Diagramm das Überleben und die Vermehrung von BH 21 C13 Zellmikrokulturen nach 48 Stunden in Gegenwart von GGFs.
- [0092] [Fig. 19](#) zeigt im Diagramm die mitogenetische Antwort von C6 Zellen auf FCS.
- [0093] Die [Fig. 20A](#) und [Fig. 20B](#) zeigen im Diagramm die mitogenetische Antwort von C6 Zellen auf aFGF und GGFs.
- [0094] Die [Fig. 21](#) bis 28(a, b und c) beziehen sich auf das folgende Beispiel 4 und werden im Folgenden kurz dargestellt:
- [0095] [Fig. 21](#) ist eine Liste von degenerierten Oligonukleotidproben (SEQ ID Nrn. 54–76, 78–88), entworfen von den Peptidsequenzen in der [Fig. 10](#) unter A und der [Fig. 12](#) unter A.
- [0096] [Fig. 22](#) zeigt die mutmaßliche GGF-II Gensequenz vom Rind von dem rekombinanten genomischen Phagen GGF2BG1 (Rind), enthaltend die Bindungsstelle der degenerierten Oligonukleotidproben 609 und 650 (siehe die [Fig. 21](#), SEQ ID Nrn. 69 und bzw. 72). Die Figur stellt den codierenden Strang der DNA-Sequenz (SEQ ID Nr. 89) und die abgeleitete Aminosäuresequenz (SEQ ID Nr. 169) im dritten Leserahmen dar. Die Sequenz von Peptid 12 vom Faktor 2 (Fett) ist Teil eines offenen Leserahmens von 66 Aminosäuren (Nukleotide 75272).
- [0097] [Fig. 23](#) zeigt die degenerierten PCR-Primer (SEQ ID Nrn. 90–108) und die [Fig. 23B](#) zeigt die PCR-Primer (SEQ ID Nrn. 109–119), die in Experimenten verwendet wurden, um Segmente der GGF-II codierenden Sequenzen (Rind) zu isolieren, die in RNA von dem Hypophysenhinterlappen vorhanden sind.
- [0098] [Fig. 24](#) zeigt die neun distinkten, benachbarten GGF-II cDNA-Strukturen und Sequenzen (Rind), die in PCR-Amplifikationsexperimenten erzielt wurden unter Verwendung der Primer der [Fig. 12](#) unter A und B, und RNA von dem Hypophysenhinterlappen. Die obere Linie der Figur zeigt schematisch die codierenden Sequenzen, welche zu den cDNA-Strukturen beitragen, die charakterisiert wurden.
- [0099] [Fig. 25](#) ist eine physikalische Karte des rekombinanten Phagen von GGF2BG1 (Rind). Das Rindfragment hat eine Länge von etwa 20 kb und enthält zwei Exons (Fett) des GGF-II Gens vom Rind. Die Restriktionsstellen für die Enzyme XbaI, SpeI, NdeI, EcoRI, KpnI und SstI sind auf dieser physikalischen Karte angegeben. Die schraffierten Abschnitte entsprechen den Fragmenten, die für die Sequenzierung subkloniert wurden.
- [0100] [Fig. 26](#) zeigt die schematische Struktur von drei alternativen Genprodukten des mutmaßlichen GGF-II Gens vom Rind. Die Exons sind von A bis E in der Reihenfolge ihrer Entdeckung gekennzeichnet. Die alternativen Spleißmuster 1, 2 und 3 erzeugen drei überlappende, abgeleitete Proteinstrukturen (GGF2BPP1, 2 und 3), die in den verschiedenen [Fig. 28a](#) b, c (unten beschrieben) angezeigt sind.
- [0101] [Fig. 27](#) (SEQ ID Nrn. 120–132, 45, 52 und 53) ist ein Vergleich der GGF-I und der GGF-II Sequenzen, identifiziert in den abgeleiteten Proteinsequenzen, die in den [Fig. 28A–Fig. 28E](#) gezeigt sind (siehe unten), mit den Peptidsequenzen, die in den [Fig. 10](#) und [Fig. 12](#) aufgeführt sind. Die Figur zeigt, dass sechs von neun GGF-II Peptidsequenzen in diesen abgeleiteten Proteinsequenzen berücksichtigt sind. Zwei Peptidsequenzen, die ähnlich zu den GGF-I Sequenzen sind, wurden auch gefunden.
- [0102] [Fig. 28A](#) zeigt die DNA-Sequenz des codierenden Stranges (SEQ ID Nr. 133) und die abgeleitete Aminosäuresequenz (SEQ ID Nr. 190) der cDNA, erzielt von dem Spleißmuster Nr. 1 in der [Fig. 26](#). Diese partielle cDNA des mutmaßlichen Rind GGF-II Gens codiert ein Protein von 206 Aminosäuren. Peptide in Fettdruck wa-

ren solche, die von den Listen der [Fig. 10](#) und [Fig. 12](#) identifiziert wurden. Potentielle Glykosilierungsstellen sind unterstrichen (zusammen mit dem Polyadenylierungssignal AATAAA) (SEQ ID Nr. 189).

[0103] Die [Fig. 28B](#) und [Fig. 28C](#) zeigen die DNA-Sequenz des codierenden Stranges (SEQ ID Nr. 134) und die abgeleitete Aminosäuresequenz (SEQ ID Nr. 191) der cDNA, erzielt aus dem Spleißmuster Nummer 2 der [Fig. 26](#). Diese partielle cDNA des mutmaßlichen Rind GGF-II Gens codiert für ein Protein von 281 Aminosäuren. Peptide im Fettdruck sind solche, die von den Listen der [Fig. 10](#) und [Fig. 12](#) identifiziert wurden. Potentielle Glykosilierungsstellen sind unterstrichen (zusammen mit dem Polyadenylierungssignal AATAAA) (SEQ ID Nr. 189).

[0104] Die [Fig. 28D](#) und [Fig. 28E](#) zeigen die DNA-Sequenz des codierenden Stranges (SEQ ID Nr. 135) und die abgeleitete Aminosäuresequenz (SEQ ID Nr. 193) der cDNA, erzielt aus dem Spleißmuster Nummer 3 in der [Fig. 26](#). Diese partielle cDNA des mutmaßlichen Rind GGF-II Gens codiert für ein Protein mit 257 Aminosäuren. Peptide im Fettdruck sind solche, die von den Listen der [Fig. 10](#) und [Fig. 12](#) identifiziert wurden. Potentielle Glykosilierungsstellen sind unterstrichen (zusammen mit dem Polyadenylierungssignal AATAAA) (SEQ ID Nr. 189).

[0105] [Fig. 29](#), die sich auf das folgende Beispiel 6 bezieht, ist ein Autoradiogramm einer Kreuzhybridisierungsanalyse der mutmaßlichen GGF-II Rindergensequenzen mit einer Reihe von Säugetier DNAs auf einem Southern Blot. Der Filter enthält Linien von mit EcoRI geschnittener DNA (5 µg pro Reihe) von den in der Figur aufgeführten Arten. Die Probe detektiert ein einzelnes starkes Band in jeder DNA-Probe, einschließlich eines vier Kilobasen Fragmentes in der Rind-DNA, wie dies durch die physikalische Mappe von [Fig. 25](#) erwartet wurde. Banden mit relativ geringer Intensität wurden auch beobachtet und diese könnten verwandte DNA-Sequenzen darstellen. Das starke Hybridisierungsband von jeder der anderen Säugetier-DNA-Proben stellt vermutlich das GGF-II Homologe von diesen Arten dar.

[0106] [Fig. 30](#) ist ein Diagramm von beispielhaften Spleißvarianten. Die codierenden Segmente sind dargestellt durch F, E, B, A, G, C, C/D, C/D', D, D', H, K und L. Die Lokalisierung der Peptidsequenzen, die von dem gereinigten Protein abstammen, sind angezeigt durch „o“.

[0107] Die [Fig. 31A–R](#) zeigen DNA-Sequenzen (SEQ ID Nrn. 42, 44, 77, 136–147, 160, 161, 163 und 173–210) und die vorhergesagten Peptidsequenzen der Codierungssegmente von GGF. Die Linie 1 zeigt die vorhergesagten Aminosäuresequenzen von Rind-GGF, die Linie 2 zeigt die Nukleotidsequenzen von Rind-GGF, die Linie 3 zeigt die Nukleotidsequenzen von menschlichem GGF (Heregulin) (Nukleotidbasenübereinstimmungen sind mit einer vertikalen Linie angezeigt), und Linie 4 zeigt die vorhergesagten Aminosäuresequenzen von menschlichen GGF/Heregulin, wo es von der vorhergesagten Rindsequenz abweicht. Die codierenden Segmente E, A' und K stellen nur die Rindsequenzen dar. Das codierende Segment D' stellt nur die menschliche (Heregulin) Sequenz dar.

[0108] Die [Fig. 32A–B](#) zeigen die vorhergesagte GGF2 Aminosäuresequenz und die Nukleotidsequenz von BPP5 (SEQ ID Nr. 195 und SEQ ID Nr. 148). Die obere Linie ist die Nukleotidsequenz und die untere Linie ist die vorhergesagte Aminosäuresequenz.

[0109] Die [Fig. 33A–B](#) zeigen die vorhergesagte Aminosäuresequenz und die Nukleotidsequenz von GGF2BPP2 (SEQ ID Nr. 149 und SEQ ID Nr. 142). Die obere Linie ist die Nukleotidsequenz und die untere Linie ist die vorhergesagte Aminosäuresequenz.

[0110] Die [Fig. 34A–C](#) zeigen die vorhergesagte Aminosäuresequenz und die Nukleotidsequenz von GGF2BPP4 (SEQ ID Nr. 194 und SEQ ID Nr. 150). Die obere Linie ist die Nukleotidsequenz und die untere Linie ist die vorhergesagte Aminosäuresequenz.

[0111] [Fig. 35](#) (SEQ ID Nrn. 151–152) zeigt die Ausrichtung der zwei GGF Peptidsequenzen (GGF2bpp4 und GGF2bpp5) mit der menschlichen EGF (hEGF). Sternchen zeigen die Stellen der konservierten Cysteine an.

[0112] [Fig. 36](#) zeigt die Höhe der GGF-Aktivität (mitogenetischer Test mit Schwann-Zellen) und der Tyrosinphosphorylierung eines etwa 200 kD Proteins (Intensität einer 200 kD Bande auf einem Autoradiogramm eines Western Blots, entwickelt mit einem polyklonalen Antiphosphotyrosin-Antikörper) in Reaktion auf zunehmende Mengen an GGF.

[0113] Die [Fig. 37A–B](#) zeigen die Spleißvariante, die von den in der [Fig. 31A–R](#) gezeigten Sequenzen ab-

stammen.

[0114] [Fig. 38](#) zeigt die vorhergesagte Aminosäuresequenz (unten; SEQ ID Nr. 220) und die Nukleinsäuresequenz (oben; SEQ ID Nr. 154) von EGFL1.

[0115] [Fig. 39](#) zeigt die vorhergesagte Aminosäuresequenz (unten; SEQ ID Nr. 221) und die Nukleinsäuresequenz (oben; SEQ ID Nr. 155) von EGFL2.

[0116] [Fig. 40](#) zeigt die vorhergesagte Aminosäuresequenz (unten; SEQ ID Nr. 222) und die Nukleinsäuresequenz (oben; SEQ ID Nr. 156) von EGFL3.

[0117] [Fig. 41](#) zeigt die vorhergesagte Aminosäuresequenz (unten; SEQ ID Nr. 223) und die Nukleinsäuresequenz (oben; SEQ ID Nr. 157) von EGFL4.

[0118] [Fig. 42](#) zeigt die vorhergesagte Aminosäuresequenz (unten; SEQ ID Nr. 224) und die Nukleinsäuresequenz (oben; SEQ ID Nr. 158) von EGFL5.

[0119] [Fig. 43](#) zeigt die vorhergesagte Aminosäuresequenz (unten; SEQ ID Nr. 225) und die Nukleinsäuresequenz (oben; SEQ ID Nr. 159) von EGFL6.

[0120] [Fig. 44](#) ist eine maßstabgerechte Mappe des codierenden Segmentes des Klon. T3 bezieht sich auf den verwendeten Bakteriophagen-Promotor zur Herstellung von mRNA von dem Klon. R = flankierende Stelle für das Restriktionsenzym EcoRI. 5' UT bezieht sich auf die 5' nicht-translatierte Region. E, B, A, C, C/D' und D beziehen sich auf die codierenden Segmente. 0 = Start der Translation. A = 5' Grenze der Region, die zu dem Rinder E-Segment homolog ist (siehe Beispiel 6) und 3' UT bezieht sich auf die 3' nicht-translatierte Region.

[0121] Die [Fig. 45A–D](#) zeigen die vorhergesagte Aminosäuresequenz (in der Mitte; SEQ ID Nr. 170) und die Nukleinsäuresequenz (oben; SEQ ID Nr. 21) von GGF2HBS5. Die untere (mit Unterbrechung) Sequenz stellt die Peptidsequenzen dar, die von den GGF-II Zubereitungen abstammen (siehe die [Fig. 11](#), [Fig. 12](#)).

[0122] [Fig. 46](#) ist eine graphische Darstellung der mitogenetischen Aktivität von rekombinanten, menschlichen und vom Rind abstammenden Gliawachstumsfaktoren auf Schwann-Zellen.

[0123] [Fig. 47](#) ist eine Dosis-Effekt-Kurve und zeigt die Proliferationsaktivitätsdaten von Schwann-Zellen, die von der Verabreichung von Aliquots mit unterschiedlicher Größe von konditioniertem Medium von CHO-Zellen abstammen.

[0124] [Fig. 48](#) ist eine Dosis-Effekt-Kurve bei Schwann-Zellen und zeigt die mitogenetische Aktivität, die in das extrazelluläre Medium von SF9 Insektenzellen abgegeben wurde, welche mit Baculovirus infiziert waren, die den GGF2HBS5 cDNA-Klon enthielten.

[0125] [Fig. 49](#) ist ein Western Blot des konditioniertem Mediums von rekombinanten CHO-Zellen unter Verwendung eines GGF Peptidantikörpers.

[0126] [Fig. 50\(A\)](#) ist eine graphische Darstellung für Schwann-Zellen und zeigt die Proliferationsaktivität des rekombinanten (von COS-Zellen produzierten), menschlichen GGF-II (rhGGF-II) Peaks, der aus der Kationenaustauschersäule eluierte. (B) ist ein Immunoblot gegen den rekombinanten GGFII Peak unter Verwendung des polyklonalen Antikörpers, der gegen das spezifische Peptid von rhGGFII gemacht wurde.

[0127] [Fig. 51\(A\)](#) ist ein Diagramm und zeigt die Reinigung von rhGGF-II (von CHO-Zellen produziert) auf einer Kationenaustauschersäule mittels Fraktionierung. (B–C) sind Photographien eines Western Blots, der unter Verwendung der Fraktionen von (A) und eines rhGGF-II spezifischen Antikörpers erstellt wurde.

[0128] [Fig. 52](#) ist die Fotografie eines Gels und veranschaulicht die Tyrosinphosphorylierung in Schwann-Zellen, die mit rekombinanten Gliawachstumsfaktoren behandelt wurden.

[0129] [Fig. 53](#) zeigt die Sequenzen der GGFHBS5-, GGFHFB1- und GGFBPP5-Polypeptide (SEQ ID Nrn. 170, 171 bzw. 172).

[0130] [Fig. 54](#) ist eine Karte des CHO-Zell-Expressionsvektors pcDHFRpolyA.

[0131] Die Erfindung bezieht sich auf die Isolierung und Reinigung von neuen Gliawachstumsfaktoren und auf die Klonierung von DNA-Sequenzen, welche für diese Faktoren codieren. Andere Komponenten der Erfindung sind verschiedene Genspleißvarianten, die potentiell eine Reihe von Gliawachstumsfaktoren codieren, insbesondere GGF2HBS5, insbesondere eine Variante, die für das menschliche Äquivalent von Rind GGF-II codiert. Es ist offensichtlich, dass das Gen, welches für die GGF's und p185^{erbB2} Bindungsproteine codiert, eine Reihe von unterschiedlich großen, verschieden gespleißten RNA-Transkripte produziert, die zu einer Reihe von Proteinen führen, die eine unterschiedliche Länge besitzen und einige gemeinsame Peptidsequenzen und einige einzigartige Peptidsequenzen enthalten. Dies wird unterstützt durch unterschiedlich gespleißte Sequenzen, die gewonnen werden aus der RNA des Hypophysenhinterlappens vom Rind (wie hier dargestellt), menschlichem Brustkrebs (MDA-MB-231) (Holmes et al. *Science* 256: 1205 (1992) und RNA vom Hühnchenhirn (Falls et al. *Cell* 72: 1–20 (1993)). Eine weitere Unterstützung kommt von Proteinen mit einem breiten Größenbereich, die sowohl als Mitogene für Schwann-Zellen (wie hier offenbart) als auch als Liganden für den p185^{erbB2} Rezeptor wirken (siehe unten).

[0132] Weitere Unterstützung für die Tatsache, dass die Gene, welche für GGF und p185^{erbB2} codieren, homolog sind, kommt von einem Vergleich der Nukleotidsequenzen. *Science*, 256 (1992), 1205–1210, Holmes et al. zeigen die Reinigung eines 45 kD humanen Proteins (Heregulin- α), das spezifisch interagiert mit dem Rezeptorprotein p185^{erbB2}, welches mit verschiedenen menschlichen Bösartigkeiten verbunden ist. Mehrere komplementäre DNA-Klone, die für Heregulin- α codieren, wurden isoliert. Peles et al. (*Cell* 69: 205 (1992)) und Wen et al (*Cell* 69: 559 (1992)) beschreiben eine komplementäre DNA, die aus Rattenzellen isoliert wurde und für ein Protein codiert, das „neu differentiation factor“ (NDF) genannt wurde. Das Translationsprodukt von der NDF cDNA hat eine p185^{erbB2} Bindungsaktivität. Usdin und Fischbach, *J. Cell. Biol.* 103: 493–507 (1986); Falls et al., *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.* 55: 397–406 (1990); Harris et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 88: 7664–7668 (1991) und Falls et al., *Cell* 72: 801–815 (1993) zeigen die Reinigung eines 42 kD Glycoproteins, das mit einem Rezeptorprotein p185^{erbB2} interagiert und verschiedene komplementäre cDNA-Klone wurden isoliert (Falls et al., *Cell* 72: 801–815 (1993). Verschiedene andere Gruppen haben die Reinigung von Proteinen mit verschiedenen Molekulargewichten mit p185^{erbB2} Bindungsaktivität berichtet. Diese Gruppen umfassen Lupu et al. (1992), *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 89: 2287; Yarden und Peles (1991), *Biochemistry* 30: 3543; Lupu et al. (1990), *Science* 249: 1552; Dobashi et al. (1991), *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 179: 1536, und Huang et al. (1992), *J. Biol. Chem.* 257: 11508–11512.

Andere Ausführungsformen:

[0133] Die Erfindung umfasst jedes Protein, welches im Wesentlichen homolog zu den Codierungssegmenten der **Fig. 31** (wie im folgenden definiert) sowie zu anderen, natürlich vorkommenden GGF-Polypeptiden ist. Auch umfasst sind allelische Variationen, natürliche Mutanten, induzierte Mutanten, Proteine, die von DNA codiert werden, die unter hoch oder niedrig stringenten Bedingungen mit einer Nukleinsäure hybridisieren, die natürlich vorkommt (für Definitionen einer hohen und niedrigen Stringens, siehe *Current Protocols in Molecular Biology*, John Wiley & Sons, New York, 1989, 6.3.1–6.3.6), und Polypeptide oder Proteine, die spezifisch durch Antiseren an GGF-Polypeptid binden. Der Ausdruck umfasst auch chimäre Polypeptide, welche die GGF-Polypeptide umfassen, welche die Sequenzen der **Fig. 31** umfassen.

[0134] Die folgenden Beispiele sollen nicht die Erfindung begrenzen, sondern sollen die Erfindung erläutern und eine spezifische Anleitung für wirksame Präparationstechniken bereitstellen.

[0135] Wie bei dem folgenden Beispiel 3 zu erkennen sein wird, zeigen die vorliegenden Faktoren eine mitogenetische Aktivität für eine Reihe von Zelltypen. Die Aktivität in Bezug auf Fibroplasten zeigt eine Wundreparaturfähigkeit an und die Erfindung umfasst diese Verwendung. Die allgemeinen Aussagen zu der Erfindung in Bezug auf Formulierungen und/oder Medikamente und ihre Herstellung sollen deutlich geeignete Produkte und Verwendungen umfassen. Dies ist klar eine angemessene Erwartung für die vorliegende Erfindung unter Betracht von Berichten von ähnlichen Aktivitäten für Fibroplastwachstumsfaktoren (FGFs). Es kann zum Beispiel verwiesen werden auf Sporn et al., „Peptide Growth Factors and their Receptors I“, Seite 396 (Baird und Bohlen) in dem Abschnitt mit der Überschrift „FGFs in Wound Healing and Tissue Repair“.

Beispiel 1

Reinigung von GGF-I und GGF-II aus Rinderhypophysenhinterlappen

I. Herstellung der Faktor-CM Fraktion

[0136] 4.000 gefrorene ganze Rinderhypophysenhinterlappen (ca. 12 Kilo) wurden über Nacht aufgetaut, kurz mit Wasser gewaschen und dann mit einem gleichen Volumen von 0,15 M Ammoniumsulfat in Chargen in einem Waring-Mischer homogenisiert. Das Homogenat wurde mit 1,0 M HCl auf einen pH von 4,5 eingestellt und bei 4.900 g für 80 Minuten zentrifugiert. Jegliches fettiges Material in dem Überstand wurde durch eine Passage durch Glaswolle entfernt. Nach Einstellung des pH's des Überstandes auf 6,5 unter Verwendung von 1,0 M NaOH wurde festes Ammoniumsulfat zugegeben, um eine 36% gesättigte Lösung zu erzielen. Es wurde mehrere Stunden gerührt und die Suspension wurde dann bei 4.900 g für 80 Minuten zentrifugiert und der Niederschlag wurde verworfen. Nach Filtration durch Glaswolle wurde weiteres festes Ammoniumsulfat dem Überstand zugegeben, um eine 75% gesättigte Lösung zu erzielen, die dann einmal bei 4.900 g für 80 Minuten zentrifugiert wurde, nachdem zuvor mehrere Stunden gerührt wurde. Das Pellet wurde in ca. 2 L von 0,1 M Natriumphosphat, pH 6,0, resuspendiert und gegen 3 × 40 L des gleichen Puffers dialysiert. Nach Bestätigung, dass die Leitfähigkeit des Dialysats unterhalb von 20,0 µSiemens lag, wurde das Dialysat auf eine Bioprocess-Säule geladen (120 × 113 mm, Pharmacia), die mit einer Fließrate von 2 ml pro Minute mit Carboxymethylcellulose (CM-52, Whatman) bepackt worden war. Die Säule wurde mit 2 Volumen 0,1 M Natriumphosphat, pH 6,0, gewaschen und anschließend mit 2 Volumen von 50 mM NaCl und abschließend mit 2 Volumen von 0,2 M NaCl, beides im gleichen Puffer. Während des abschließendes Schrittes wurden 10 ml (5 Minuten) Fraktionen gesammelt. Die Fraktionen 73 bis 118 wurden zusammengegeben, gegen 10 Volumen von 10 mM Natriumphosphat, pH 6,0, zweimal dialysiert und durch Zentrifugation bei 100.000 g für 60 Minuten geklärt.

II. Hydroxylapatit-HPLC

[0137] Hydroxylapatit-HPLC war bisher keine Technik, die bei der Isolierung von Gliawachstumsfaktoren verwendet wurde. Bei der vorliegenden Erfindung hat sie sich jedoch als besonders effizient herausgestellt. Das von der obigen CM-Cellulosechromatographie erzielte Material wurde durch einen 0,22 µm Filter (Nalgene) filtriert, bei Raumtemperatur auf eine Hochleistungshydroxylapatit-Säule (50 × 50 mm, Biorad) geladen, die mit einer Vorsäule (15 × 25 mm, Biorad) ausgerüstet und mit 10 mM Kaliumphosphat, pH 6,0, äquilibriert wurde. Die Elution bei Raumtemperatur wurde mit einer Fließrate von 2 ml pro Minute unter Verwendung des folgenden, programmierten, linearen Gradienten durchgeführt:

Zeit (Min)	%B
0,0	0
5,0	0
7,0	20
70,0	20
150,0	100
180,0	100
185,0	0

Lösungsmittel A: 10 mM Kaliumphosphat, pH 6,0

Lösungsmittel B: 1,0 M Kaliumphosphat, pH 6,0

[0138] 6,0 ml (3 Minuten) Fraktionen wurden während der Gradientenelution gesammelt. Die Fraktionen 39–45 wurden zusammengefasst und gegen 10 Volumen von 50 mM Natriumphosphat, pH 6,0, dialysiert.

III. Mono S FPLC

[0139] Mono S FPLC ermöglicht ein stärker konzentrierteres Material für die nachfolgende Gelfiltration herzustellen.

[0140] Jedes partikuläre Material in dem zusammengefassten Material aus der Hydroxylapatitsäule wurde durch Klärzentrifugation bei 100.000 g für 60 Minuten entfernt vor der Beladung auf eine präparative HR10/10 Mono S Kationenaustauschersäule (100 × 10 mm, Pharmacia), die dann wieder äquilibriert wurde auf 50 mM Natriumphosphat, pH 6,0, bei Raumtemperatur mit einer Fließrate von 1,0 ml/Minute. Unter diesen Bedingungen wurde gebundenes Protein unter Verwendung des folgenden programmierten linearen Gradienten eluiert:

Zeit (Min)	%B
0,0	0
70,0	30
240,0	100
250,0	100
260,0	0

Lösungsmittel A: 50 mM Kaliumphosphat, pH 6,0

Lösungsmittel B: 1,2 M Natriumchlorid, 50 mM Natriumphosphat, pH 6,0

[0141] 1 ml (1 Minute) Fraktionen wurden während diesem Gradientenprogramm gesammelt. Die Fraktionen 99 bis 115 wurden zusammengefasst.

IV. Gelfiltration FPLC

[0142] Mit diesem Schritt beginnt die Trennung der zwei Faktoren gemäß der Erfindung vor der abschließenden Reinigung und liefert angereicherte Fraktionen.

[0143] Für die Zwecke von diesem Schritt wurde eine präparative Superose 12 FPLC-Säule (510 × 20 mm, Pharmacia) gemäß den Anleitungen des Herstellers gepackt. Um diese Säule zu standardisieren, wurde eine Messung der theoretischen Trennstufen gemäß den Anleitungen des Herstellers durchgeführt und es ergab sich ein Wert von 9.700 theoretischen Trennstufen.

[0144] Das zusammengefasste Material von dem Mono S eluiertem Material wurde bei Raumtemperatur in 2,5 ml Aliquots auf dieser Säule in 50 mM Natriumphosphat, 0,75 NaCl, pH 6,0 aufgebracht (zuvor durch eine C18 Umkehrphasensäule (Sep-pak, Millipore) passiert) bei einer Fließrate von 1,0 ml/Minute. 1 ml (0,5 Minuten) Fraktionen wurden nach 35 Minuten, nachdem jede Probe auf die Säule aufgetragen worden war, gesammelt. Die Fraktionen 27 bis 41 (GGF-II) und 42 bis 57 (GGF-I) wurden bei jedem Lauf zusammengefasst.

V. HPLC mit umgekehrten Phasen

[0145] Die GGF-I und GGF-II Pools von den obigen Superose 12 Läufen wurden jeweils in drei gleiche Aliquots aufgeteilt. Jedes Aliquot wurde auf eine C8 Umkehrphasensäule (Aquapore RP-300 7 µ C8 220 × 4,6 mm, Applied Biosystems) gebracht, geschützt durch eine Vorpatrone (RP-8, 15 × 3,2 mm, Applied Biosystems) und äquilibriert auf 40°C mit 0,5 ml pro Minute. Das Protein wurde unter diesen Bedingungen und unter Verwendung des folgenden, programmierten, linearen Gradienten eluiert:

Zeit (Min)	%B
0	
60	66,6
62,0	100
72,0	100
75,0	0

Lösungsmittel A: 0,1% Trifluoressigsäure (TFA)

Lösungsmittel B: 90% Acetonitril, 0,1% TFA

[0146] 200 µl (0,4 Minuten) Fraktionen wurden in silikonisierte Röhrchen (aus „Multilube tubes“, Bioquote) von 15,2 Minuten nach Beginn des programmierten Gradienten gesammelt.

VI. SDS-Polyacrylamid-Gelelektrophorese

[0147] Bei diesem Schritt wurden Proteinmolekulargewichtsstandards, niedriger Bereich, Katalog Nr. 161-0304, von Bio-Rad Laboratories Limited, Watford, England, verwendet. Die tatsächlich verwendeten Proteine und ihre Molekulargewichtsstandards wurden zuvor schon angegeben.

[0148] Die Fraktionen 47 bis 53 (GGF-I) und die Fraktionen 61 bis 67 (GGF-II) von den Umkehrphasenläufen wurden individuell zusammengefasst. 7 µl des zusammengefassten Materials wurden in einem gleichen Volumen von 0,0125 M Tris Cl, 4% SDS, 20% Glycerin und 10% β-Mercaptoethanol für GGF-I für 5 Minuten gekocht und auf ein 11% Polyacrylamid-Laemmli-Gel mit einem 4% Stacking-Gel geladen, und der Lauf erfolgte

bei einer konstanten Spannung von 50 V für 16 Stunden. Dieses Gel wurde dann fixiert und gefärbt unter Verwendung eines Silberfärbekits (Amersham). Unter diesen Bedingungen wurden die Faktoren jeweils als eine etwas diffuse Bande bei relativen Molekulargewichten von 30.000 bis 36.000 Daltons (GGF-I) sowie bei 55.000 bis 63.000 Daltons (GGF-II) gemäß der Definition durch die Molekulargewichtsmarker erkannt. Aus der Gelfärbung war abzuleiten, dass es noch eine kleine Zahl an anderen Proteinspezies mit äquivalenten Mengen zu den GGF-I und GGF-II Spezies in dem aus den Umkehrphasenläufen zusammengefassten Material gab.

VII. Stabilität in Trifluoressigsäure

[0149] Die Stabilitätsdaten wurden für die vorliegenden Faktoren in Gegenwart von Trifluoressigsäure wie folgt erzielt:

GGF-I: Das Material von der Hochdruck-Flüssigkeitschromatographie mit umgekehrten Phasen wurde in Gegenwart von 0,1% TFA und Acetonitril innerhalb von 12 Stunden nach Fertigstellung des Säulenlaufs und dann nach 10-wöchiger Inkubation bei 40°C überprüft. Nach der Inkubation hatte GGF-I wenigstens 50% der Aktivität des Materials, welches direkt nach der Säule getestet wurde.

GGF-II: Das Material von der Hochdruck-Flüssigkeitschromatographie mit umgekehrten Phasen wurde in Gegenwart von 0,1% TFA und Acetonitril, und gelagert bei -20°C, nach dem Auftauen und dann nach 4-tägiger Inkubation bei 40°C getestet. Nach der Inkubation zeigte GGF-II wenigstens 50% der Aktivität des Materials, welches frisch aufgetaut worden war.

[0150] Es ist klar, dass die bei den obigen Studien verwendete Trifluoressigsäurekonzentration die am meisten verwendete für die Umkehrphasenchromatographie ist.

VIII. Bedingungen für den Aktivitätstest

[0151] Soweit nichts anderes angegeben ist, wurden alle Schritte bei 37°C und unter Verweis auf die [Fig. 1](#) bis [Fig. 6](#) wurde die Aktivität bei jeder Stufe gemäß den Brockes (Meth. Enz., siehe oben)-Techniken mit den folgenden Modifikationen bestimmt. Bei der Präparation der Schwann-Zellen wurde 5 µM Forskolin zusätzlich zu der Zugabe von DMEM (Sulbecco's modifiziertes Eagle's Medium), FCS und GGF zugesetzt. Die bei dem Test verwendeten Zellen waren fibroplastenfreie Schwann-Zellen mit einer Passagezahl von weniger als 10. Diese Zellen wurden aus den Flaschen mit Trypsin entfernt und in Platten mit einem flachen Boden und mit 96 Vertiefungen angeordnet zu 3,3 tausend Zellen pro Mikrovertiefung.

[0152] [¹²⁵I]IudR wurde für die abschließenden 24 Stunden nach der Testlösungszugabe zugesetzt. Die (nicht stimulierte) Hintergrundeinlagerung bei jedem Test betrug weniger als 100 cpm und die maximale Einlagerung war 20- bis 200-fach über diesem Hintergrund in Abhängigkeit von der Schwann-Zellcharge und der Passagezahl.

[0153] Im Falle der GGF-I und GGF-II Fraktionen von der oben beschriebenen Hochdruck-Flüssigkeitschromatographie mit umgekehrten Phasen wurden zwei Dosis-Effekt-Kurven für jeden Faktor erstellt, wobei exakt das gleiche Verfahren für jede Kurve und für jeden Faktor verwendet wurde. Das obige Verfahren wurde bei dem Testaufbau nur durch Substitution des fötalen Kalbplasmas für fötales Kalbserum modifiziert, um die andere Kurve für jeden Faktor zu erzielen. Die Ergebnisse sind in den [Fig. 7](#) und [Fig. 8](#) dargestellt.

Beispiel 2

Aminosäuresequenzen der gereinigten GGF-I und GGF-II

[0154] Die Studien für die Analyse der Aminosäuresequenz wurden durchgeführt unter Verwendung von hoch gereinigtem Rinderhypophysen GGF-I und GGF-II. Der konventionelle Einbuchstabencode wurde verwendet, um die Sequenzen darzustellen. Die Peptide wurden durch Lysylendopeptidase- und Protease V8-Verdau erzielt, durchgeführt mit reduzierten und carboxymethylierten Proben, wobei der Lysylendopeptidase-Verdau von GGF-II mit Material durchgeführt wurde, das von der 55-65 RD Region eines 11% SDS-PAGE eluiert wurde (Molekulargewicht relativ zu den oben angegebenen Markern).

[0155] Insgesamt wurden 21 Peptidsequenzen (siehe [Fig. 9](#), SEQ ID Nrn. 1-20, 169) für GGF-I erzielt, von denen 12 Peptide (siehe [Fig. 10](#), SEQ ID Nrn. 1, 22-29, 17, 19 und 32) nicht in den gegenwärtigen Proteindatenbanken vorhanden sind und somit einmalige Sequenzen darstellen. Insgesamt 12 Peptidsequenzen (siehe [Fig. 11](#), SEQ ID Nrn. 33-39, 51, 52 und 164-166) wurden für GGF-II erzielt, wobei davon 10 Peptide ([Fig. 12](#), SEQ ID Nrn. 45-53) in den gegenwärtigen Proteindatenbanken nicht vorhanden sind und somit einmalige Se-

quenzen darstellen (eine Ausnahme ist das Peptid GGF-II 06, das identische Sequenzen in vielen Proteinen zeigt, die wahrscheinlich keine Bedeutung unter Anbetracht der kleinen Zahl an Resten besitzen). Die neuen Sequenzen entsprechen höchstwahrscheinlich den Abschnitten von wirklichen Aminosäuresequenzen von GGFs I und II.

[0156] Besondere Aufmerksamkeit sei auf die Sequenzen GGF-I 07 und GGF-II 12 gerichtet, die sehr stark miteinander verwandt sind. Diese Ähnlichkeiten deuten an, dass die Sequenzen von diesen Peptiden fast sicher diejenigen der zugeordneten GGF-Spezies sind, wobei es sehr unwahrscheinlich ist, dass sie von kontaminierenden Proteinen abstammen.

[0157] In dem Peptid GGF-II 02 ist die Sequenz X S S konsistent mit der Gegenwart einer N-verbundenen Kohlenhydratgruppe auf einem Asparagin bei der als X bezeichneten Position.

[0158] In den [Fig. 9](#) und [Fig. 11](#) stellt X im Allgemeinen einen unbekanntes Rest dar und kennzeichnet einen Sequenzzyklus, wo eine einzelne Position nicht mit Sicherheit benannt werden konnte, weil entweder mehr als ein Signal von gleicher Größe in dem Zyklus vorlag oder weil kein Signal vorhanden war. Mit Sternchen sind solche Peptide gekennzeichnet, wo die zuletzt genannte Aminosäure der letzten Aminosäure entspricht, die in diesem Peptid vorhanden ist. In den restlichen Peptiden war die Signalstärke nach der zuletzt genannten Aminosäure nicht ausreichend, um die Sequenzbenennung bis zum Ende von diesem Peptid weiterzuführen. Die Säule zur rechten Hand zeigt die Ergebnisse einer Computerdatenbankrecherche unter Verwendung der GCG FASTA und TFASTA Paketprogramme, um die NBRF- und EMBL-Sequenzdatenbanken zu analysieren. Der Name eines Proteins in dieser Säule bezeichnet die Identität eines Teils von seiner Sequenz mit der Peptidaminosäuresequenz, wobei maximal zwei Fehlanpassungen erlaubt waren. Die verwendeten Abkürzungen sind die folgenden:

HMG-1	Hochmobilitätsgruppe Protein-1
HMG-2	Hochmobilitätsgruppe Protein-2
LH-alpha	Alpha-Untereinheit des luteinisierenden Hormons
LH-beta	Beta-Untereinheit des luteinisierenden Hormons

Beispiel 3

Mitogenetische Aktivität von gereinigtem GGF-I und GGF-II

[0159] Die mitogenetische Aktivität von hochgereinigten Proben, die GGFs I und II enthielten, wurden unter Verwendung einer quantitativen Methode studiert, die es ermöglicht, dass eine einzelne Mikrokultur hinsichtlich der DNA-Synthese, der Zellmorphologie, der Zellzahl und der Expression der Zellantigene getestet wird. Diese Technik wurde modifiziert von einem Verfahren, das zuvor berichtet wurde von Muir et al., Analytical Biochemistry 185, 377–382, 1990. Die Hauptmodifikationen waren: 1) die Verwendung von nicht-beschichteten Mikrotiterplatten, 2) die Zellzahl pro Vertiefung, 3) die Verwendung von 5% fötalem Rinderplasma (FBP) anstelle von 10% fötalem Kalbsserum (FCS), und 4) die Zeit der Inkubation in Gegenwart des Mitogens und Bromdeoxyuridin (BrdU), die simultan den Kulturen zugesetzt wurden. Ferner wurde die Zellmonoschicht vor der Fixierung nicht gewaschen, um einen Verlust an Zellen zu vermeiden. Die Inkubationszeit des monoklonalen Maus Anti-BrdU Antikörpers und des Peroxidase-konjugierten Ziege Anti-Maus Immunglobulin (IgG) Antikörpers wurden verdoppelt, um die Empfindlichkeit des Tests zu erhöhen. Der Test, der für Schwann-Zellen des Schiasnervs der Ratte optimiert war, wurde auch für verschiedene Zelllinien nach geeigneter Modifikation der Zellkulturbedingungen verwendet.

I. Verfahren der Mitogenesetestung

[0160] Am Tag 1 wurden gereinigte Schwann-Zellen auf nicht-beschichtete Platten mit 96 Vertiefungen in 5% FBP/Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM) (5.000 Zellen/Vertiefung) aufgetragen. Am Tag 2 wurden GGFs und andere Testfaktoren den Kulturen zugegeben, sowie BrdU mit einer Endkonzentration von 10 µm. Nach 48 Stunden (Tag 4) wurde die BrdU-Einlagerung durch Absaugen des Mediums beendet und die Zellen wurden mit 200 µl/Vertiefung von 70% Ethanol für 20 Minuten bei Raumtemperatur fixiert. Die Zellen wurden dann mit Wasser gewaschen und die DNA wurde durch Inkubation mit 100 µl 2 N HCl für 10 Minuten bei 37°C denaturiert. Nach Absaugung wurde die Restsäure durch Füllen der Vertiefungen mit 0,1 M Boratpuffer, pH 9,0, neutralisiert und die Zellen wurden mit Phosphat gepufferter Kochsalzlösung (PBS) gewaschen. Die Zellen wurden dann mit 50 µl Blockpuffer (PBS, 0,1% Triton × 100 und 2% normales Ziegenserum enthaltend) für 15 Minuten bei 37°C behandelt. Nach Absaugung wurde der monoklonale Maus Anti-BrdU Antikörper (Dako

Corp., Santa Barbara, CA) (50 µl/Vertiefung; 1,4 µg/ml, verdünnt in Blockpuffer) zugegeben und für 2 Stunden bei 37°C inkubiert. Nicht gebundene Antikörper wurden durch drei Waschungen in PBS entfernt. Mit Peroxidase konjugierter Ziege Anti-Maus IgG Antikörper (Dako Corp., Santa Barbara, CA) (50 µl/Vertiefung; 2 µg/ml, verdünnt in Blockpuffer) wurde zugegeben und für 1 Stunde bei 37°C inkubiert. Nach dreimaligem Waschen in PBS/Triton und einer abschließenden Spülung in PBS wurden 100 µl/Vertiefung von 50 mM Phosphat/Citrat-Puffer, pH 5,0, in die Vertiefungen gegeben, wobei der Puffer 0,05% an löslichem Chromogen o-Phenylen-diamin (OPD) und 0,02% H₂O₂ enthielt. Die Reaktion wurde nach 5–20 Minuten bei Raumtemperatur durch Pipettieren von 80 µl von jeder Vertiefung zu einer sauberen Platte beendet, die 40 µl/Vertiefung an 2 N Schwefelsäure enthielt. Die Extinktion wurde bei 490 nm unter Verwendung eines Plattenlesers (Dynatech Labs) bestimmt. Die Testplatten, welche die Zellmonoschichten enthielten, wurden zweimal mit PBS gewaschen und immunozytochemisch gefärbt für BrdU-DNA, indem 100 µl/Vertiefung des Substrates Diaminobenzidin (DAB) und 0,02% H₂O₂ hinzugegeben wurde, um ein nicht lösliches Produkt zu bilden. Nach 10–20 Minuten wurde die Farbreaktion durch Waschen mit Wasser gewaschen und die BrdU-positiven Kerne wurden unter Verwendung eines Umkehrmikroskops beobachtet und gezählt. Gelegentlich wurden negative Kerne mit 0,001% Toluidinblau gegengefärbt und wie oben gezählt.

II. Zelllinien, die für die Mitogenesetests verwendet wurden

[0161] Swiss 3T3 Fibroblasten: Zellen von Flow Labs wurden in DMEM, ergänzt mit 10% FCS, Penicillin und Streptomycin bei 37°C in einer feuchten Atmosphäre von 10% CO₂ in Luft gehalten. Die Zellen wurden gefüttert oder alle zwei Tage subkultiviert. Für den mitogenetischen Test wurden die Zellen mit einer Dichte von 5.000 Zellen/Vertiefung in Komplettmedium gegeben und für 1 Woche inkubiert, bis die Zellen zusammenfließend und ruhig waren. Das Medium enthaltende Serum wurde entfernt und die Zellmonoschicht wurde zweimal mit Serum freiem Medium gewaschen. 100 µl von Serum freiem Medium, das die Mitogene und 10 µM an BrdU enthielt, wurden zu jeder Vertiefung gegeben und für 48 Stunden inkubiert. Die Dosisreaktionen auf GGFs und Serum oder PDGF (als eine positive Kontrolle) wurden aufgenommen.

[0162] BHK (Babyhamsternieren) 21 C13 Fibroblasten: Die Zellen von European Collection of Animal Cell Cultures (ECACC), wurden gehalten in Glasgow Modified Eagle Medium (GMEM), das mit 5% Tryptosephosphatnährlösung, 5% FCS, Penicillin und Streptomycin ergänzt war. Die Zellen wurden bei 37°C in feuchter Atmosphäre von 5% CO₂ in Luft gehalten. Die Zellen wurden gefüttert oder alle 2 bis 3 Tage subkultiviert. Für den mitogenetischen Test wurden die Zellen mit einer Dichte von 2.000 Zellen/Vertiefung in einem Komplettmedium für 24 Stunden angeordnet. Das Serum enthaltende Medium wurde dann entfernt und es wurde mit Serum freiem Medium gewaschen und ersetzt mit 100 µl von 0,1% FCS, das GMEM enthielt, oder GMEM alleine. GGFs und FCS oder bFGF als positive Kontrollen wurden zugegeben, zusammen mit 10 µM BrdU, und für 48 Stunden inkubiert. Die Zellkulturen wurden dann verarbeitet, wie oben für die Schwann-Zellen beschrieben.

[0163] C6 Ratten Glioma-Zelllinie: Zellen, die bei der Passage 39 erzielt wurden, wurden in DMEM, das 5% FCS, 5% Pferdeserum (HS), Penicillin und Streptomycin enthielt, bei 37°C in einer feuchten Atmosphäre von 10% CO₂ in Luft gehalten. Die Zellen wurden gefüttert oder alle 3 Tage subkultiviert. Für den mitogenetischen Test wurden die Platten mit einer Dichte von 2.000 Zellen/Vertiefung in einem Komplettmedium angeordnet und für 24 Stunden inkubiert. Dann wurde das Medium nach Waschung in Serum freiem Medium ersetzt durch einer Mischung von 1 : 1 DMEM und F12 Medium, das 0,1% FCS enthielt. Die Dosisreaktionen auf GGFs, FCS und αFGF wurden dann durchgeführt und die Zellen wurden mittels ELISA verarbeitet, wie dies zuvor für die anderen Zelltypen beschrieben worden war.

[0164] PC12 (Rattennebenieren-Pheochromocytomazellen): Zellen von ECACC wurden in RPMI 1640, ergänzt mit 10% HS, 5% FCS, Penicillin und Streptomycin, in Kollagen beschichteten Flaschen bei 37°C in einer feuchten Atmosphäre von 5% CO₂ in Luft gehalten. Die Zellen wurden gefüttert alle 3 Tage durch Ersatz von 80% des Mediums. Für den mitogenetischen Test wurden die Zellen mit einer Dichte von 3.000 Zellen/Vertiefung in Komplettmedium auf Kollagen beschichteten Platten angeordnet (50 µl/Vertiefung Kollagen, Vitrogen Collagen Corp., verdünnt 1 : 50, 30 Minuten bei 37°C) und für 24 Stunden inkubiert. Das Medium wurde dann ersetzt durch frisches RPMI, entweder alleine oder 1 mM Insulin oder 1% FCS enthaltend. Dosisreaktionen auf FCS/HS (1 : 2) als positive Kontrolle und auf GGFs wurden wie oben durchgeführt. Nach 48 Stunden wurden die Zellen fixiert und ELISA wurde, wie oben beschrieben, durchgeführt.

III. Ergebnisse der mitogenetischen Tests

[0165] Alle Experimente in diesem Beispiel wurden unter Verwendung einer hoch gereinigten Probe aus dem

Sepharose 12 Chromatographiereinigungsschritt (siehe Beispiel 1, Abschnitt D), die eine Mischung von GGF-I und GGF-II (GGFs) enthielt, durchgeführt.

[0166] Zunächst wurden die Ergebnisse, die mit dem BrdU Einlagerungstest erzielt wurden, mit dem klassischen mitogenetischen Test für Schwann-Zellen verglichen, der basiert auf einer $[^{125}\text{I}]\text{-UdR}$ Einlagerung in DNA von sich teilenden Zellen, wie dies beschrieben ist von J. P. Brockes (Methods Enzymol. 147: 217, 1987).

[0167] [Fig. 13](#) zeigt den Vergleich der mit den beiden Tests erzielten Daten, wobei die gleichen Zellkulturbedingungen (5.000 Zellen/Vertiefung in 5% FBP/DMEM; inkubiert in Gegenwart von GGFs für 48 Stunden) angelegt wurden. Wie deutlich zu erkennen ist, sind die Ergebnisse vergleichbar, wobei der BrdU-Einlagerungstest etwas mehr empfindlich erscheint, wie dies durch die Verlagerung der Kurve zur linken Seite der graphischen Darstellung erscheint, das heißt, zu niedrigeren Konzentrationen von GGFs.

[0168] Wie unter dem Abschnitt „Verfahren für die Mitogenesetestung“ beschrieben, können die Originaltestplatten, welche die Zellmonoschichten enthalten, die zweite Reaktion durchführen, was zu dem unlöslichen DAB-Produkt führt, welches die BrdU positiven Kerne erbt, nachdem die immunoreaktive BrdU-DNA durch Lesen der Intensität des löslichen Produktes der OPD Peroxidasereaktion quantifiziert worden ist. Die Mikrostrukturen können dann unter einem Umkehrmikroskop überprüft werden und die Zellmorphologie und die Zahl der BrdU positiven und der negativen Kerne können beobachtet werden.

[0169] In der [Fig. 14a](#) und in der [Fig. 14b](#) ist die BrdU-DNA Immunoreaktivität, die durch Ablesen der Extinktion bei 490 nm bestimmt wurde, verglichen mit der Zahl der BrdU positiven Kerne und mit dem Prozentsatz der BrdU positiven Kerne hinsichtlich der Gesamtzahl der Zellen pro Vertiefung, was in den gleichen Kulturen gezählt wurde. Die Standardabweichungen waren weniger als 10%. Die zwei Prüfverfahren zeigen eine gute Korrelation und die Diskrepanz zwischen den Werten bei der höchsten Dosis der GGFs kann durch das unterschiedliche Maß der DNA-Synthese in den Zellen, die als BrdU positiv detektiert wurden, erklärt werden.

[0170] Der BrdU Einlagerungstest kann somit nützliche zusätzliche Information über die biologische Aktivität der Polypeptide auf die Schwann-Zellen bereitstellen, wenn der Test mit dem $(^{125}\text{I})\text{-UdR}$ Einlagerungstest verglichen wird. Die in der [Fig. 15](#) dargestellten Daten zeigen, dass GGFs auf die Schwann-Zellen wirken kann, um die DNA-Synthese zu induzieren, wobei aber bei niedrigeren Dosen die Zahl der negativen Zellen, die in der Mikrokultur nach 48 Stunden vorhanden sind, zunimmt.

[0171] Der Test wurde dann auf verschiedene Zelllinien von unterschiedlichem Ursprung angewandt. In der [Fig. 16](#) sind die mitogenetischen Reaktionen der Schwann-Zellen und der Swiss 3T3 Fibroblasten auf GGFs verglichen. Trotz der schwachen Antwort bei den 3T3 Fibroblasten wurden in diesen Kulturen einige deutliche BrdU positive Kerne nachgewiesen. Kontrollkulturen liefen parallel in Gegenwart von unterschiedlichen Dosierungen von FCS oder menschlichem rekombinanten PDGF, was anzeigt, dass die Zellen in der Lage waren, auf geeignete Anreize zu reagieren (nicht gezeigt).

[0172] Die Fähigkeit der Fibroblasten zur Reaktion auf GGFs wurde ferner untersucht unter Verwendung der BHK 21 C13 Zelllinie. Diese Fibroblasten, die von der Niere abstammten, zeigten keine Kontakthemmung und erreichten ein Ruhestadium, wenn sie zusammen geflossen waren. Deshalb wurden die experimentellen Bedingungen so gewählt, dass eine sehr geringe Hintergrundproliferation vorhanden war, ohne dass die Zellvitalität beeinträchtigt wurde. GGFs besitzen eine signifikante mitogenetische Aktivität auf die BHK 21 C13 Zellen, wie dies in den [Fig. 17](#) und [Fig. 18](#) dargestellt ist. Die [Fig. 17](#) zeigt die BrdU Einlagerung in die DNA durch BHK 21 C13 Zellen, welche durch GGFs in Gegenwart von 0,1% FCS stimuliert war.

[0173] Die gute mitogenetische Reaktion auf FCS zeigt, dass die Zellkulturbedingungen nicht limitierend waren. In der [Fig. 18](#) ist der mitogenetische Effekt von GGFs als Zahl der BrdU positiven Zellen und der BrdU negativen Zellen und als die Gesamtzahl der Zellen, die pro Vertiefung gezählt wurden, ausgedrückt. Die Daten sind repräsentativ für zwei experimentelle Läufe in zweifacher Ausfertigung, wobei wenigstens drei Felder pro Vertiefung gezählt wurden. Wie bei Schwann-Zellen beobachtet, führt GGFs zusätzlich zu einem proliferativen Effekt bei niedrigen Dosen auch zu einer Erhöhung der Zahl der überlebenden Zellen, die nicht reagieren. Der Prozentsatz der BrdU positiven Zellen ist proportional zu der Zugabemenge von GGFs, das den Kulturen zugesetzt wurde. Die Gesamtzahl der Zellen nach 48 Stunden in Gegenwart von höheren Dosen von GGFs ist wenigstens verdoppelt, was bestätigt, dass GGFs die DNA-Synthese und die Proliferation in den BHK 21 C13 Zellen induziert. Unter den gleichen Bedingungen zeigten Zellen, die für 48 Stunden in Gegenwart von 2% FCS gehalten wurden, eine Zunahme um das 6-fache (nicht gezeigt).

[0174] C6 Gliomazellen sind ein nützliches Modell zum Studium der Eigenschaften von Gliazellen. Der exprimierte Phenotyp scheint abhängig von der Zellpassage zu sein. Zu einem frühen Stadium ähneln die Zellen mehr dem Astrozytenphänotyp, während ein Oligodendrozytenphänotyp zu späteren Stadien auftritt (jenseits von Passage 70). C6 Zellen, die bei diesen Experimenten verwendet wurden, stammten von der Passage 39 bis Passage 52. C6 Zellen sind eine hoch proliferierende Population, so dass die experimentellen Bedingungen so optimiert wurden, dass nur ein sehr geringer Hintergrund an BrdU Einbau auftrat. Die Gegenwart von 0,1% Serum war notwendig, um die Zellvitalität zu erhalten, ohne dass dies signifikant die mitogenetischen Reaktionen beeinflusste, wie dies durch die Dosisreaktion auf FCS ([Fig. 19](#)) dargestellt ist.

[0175] In der [Fig. 20](#) sind die mitogenetischen Reaktionen auf aFGF (saurer Fibroblastenwachstumsfaktor) und auf GGFs als Prozentsätze des maximalen BrdU Einbaus dargestellt, der in Gegenwart von FCS (8%) erzielt wurde. Die Werte sind Durchschnittswerte von zwei Experimenten in zweifacher Ausfertigung. Die Wirkung der GGFs war vergleichbar mit der einer reinen Zubereitung von aFGF. aFGF wurde als ein spezifischer Wachstumsfaktor für C6 Zellen beschrieben (Lim R. et al., Cell Regulation 1: 741–746, 1990) und deshalb wurden sie als positive Kontrolle hier verwendet. Das direkte Zählen der BrdU positiven und negativen Zellen war nicht möglich, da in den Mikroturen eine hohe Zelldichte vorlag. Im Gegensatz zu den bisher berichteten Zelllinien zeigten PC12 Zellen keine deutliche Reaktion auf GGFs, wenn sie unter Kulturbedingungen behandelt wurden, bei denen PC12 auf Seren reagieren kann (Mischung von FCS und HS, wie dies routinemäßig für die Zellerhaltung verwendet wird). Die Zahl der pro Vertiefung vorhandenen Zellen scheint jedoch das Verhalten der PC12 Zellen zu beeinflussen, so dass weitere Experimente erforderlich sind.

Beispiel 4

Isolierung und Klonierung von Nukleotidsequenzen, die für Proteine codieren, welche GGF-I und GGF-II Peptide enthalten

[0176] Die Isolierung und die Klonierung der GGF-II Nukleotidsequenzen wurde durchgeführt, wie hier dargestellt, unter Verwendung der Peptidsequenzinformation und Selektion aus einer Bibliothek. Diese wurde durchgeführt, wie unten dargestellt. Es ist deutlich, dass die Peptide der [Fig. 4](#) und [Fig. 5](#) als Ausgangspunkt für die Isolierung und Klonierung der GGF-I Sequenzen gemäß den hier beschriebenen Techniken verwendet werden können. In der Tat zeigt die [Fig. 21](#), SEQ ID Nrn. 54–76 und 78–88 mögliche degenerierte Oligonukleotidproben für diesen Zweck und die [Fig. 23\(A–B\)](#), SEQ ID Nrn. 90–119, listet mögliche PCR Primer auf. Die DNA-Sequenz und die Polypeptid-Sequenz sollte mit diesen Mitteln erhältlich sein, wie bei GGF-II, und auch die DNA-Konstrukte und die Expressionsvektoren, welche solche DNA-Sequenzen aufnehmen, Wirtszellen, die genetisch verändert sind durch Einbau von solchen Konstrukten/Vektoren sowie Proteine, die durch die Kultivierung von solchen Wirtszellen erzielbar sind. Die Erfindung umfasst solche Gegenstände.

I. Aufbau und Synthese von Oligonukleotidsonden und Primer

[0177] Degenerierte DNA-Oligomersonden wurden durch Rücktranslation der Aminosäuresequenzen (abstammend von den Peptiden, die von dem gereinigten GGF-Protein erzeugt wurden) in Nukleotidsequenzen erstellt. Die Oligomere stellten entweder den codierenden Strang oder den nicht-codierenden Strang der DNA-Sequenz dar. Wenn Serin, Arginin oder Leucin in dem Oligomeraufbau vorhanden waren, wurden zwei getrennte Synthesen durchgeführt, um Mehrdeutigkeiten zu vermeiden. Serin wird zum Beispiel durch TCN oder durch AGY, wie bei 537 und 539 oder bei 609 und 610, codiert. Eine ähnliche Codonaufteilung wurde für Arginin oder Leucin vorgenommen (zum Beispiel 544, 545). Die DNA-Oligomere wurden auf einem Biosearch 8750 4-Säulen DNA-Synthesegerät unter Verwendung der β -Cyanoethylchemie und betrieben auf der 0,2 Mikromol-Syntheseskala, synthetisiert. Die Oligomere wurden von der Säule (500 Angstrom CpG Harze) abgespalten und in konzentriertem Ammoniumhydroxid für 6–24 Stunden bei 55–60°C entschützt. Die entschützten Oligomere wurden unter Vakuum (Speedvac) getrocknet und mittels Elektrophorese in Gelen von 15% Acrylamid (20 Mono 1 Bis) gereinigt mit 50 mM Tris-Borat-EDTA Puffer, der 7 M Harnstoff enthielt. Die Oligomere mit voller Länge wurden in Gelen durch UV-Abschattung nachgewiesen und dann wurden die Banden ausgeschnitten und die DNA-Oligomere wurden unter Schütteln in 1,5 ml H₂O für 4 bis 16 Stunden eluiert. Das Eluat wurde getrocknet, in 0,1 ml H₂O wieder gelöst und bei 260 nm wurde die Extinktion gemessen.

[0178] Die Konzentrationen wurden gemäß der folgenden Formel bestimmt:

$$(A_{260} \times \text{Einheiten/ml}) / (60,6 / \text{Länge}) = \times \mu\text{M}$$

[0179] Durch Zugabe von H₂O wurden alle Oligomere auf 50 μM Konzentration eingestellt.

[0180] Die wie oben aufgebauten, degenerierten Sonden sind in der [Fig. 21](#), SEQ ID Nrn. 54–76 und 78–88, gezeigt.

[0181] Die PCR-Primer wurden im Wesentlichen mit den gleichen Verfahren hergestellt, die auch für die Sonden verwendet wurden, wobei aber die folgenden Modifikationen eingeführt wurden. Linker von dreizehn Nucleotiden, die Restriktionsstellen enthielten, wurden an den 5' Enden der degenerierten Oligomere, um die Restriktionsstellen beim Klonieren in Vektoren zu benutzen. Die DNA-Synthese wurde auf der 1 Mikromol-Skala unter Verwendung von 1.000 Angstrom CpG Harzen durchgeführt und Inosin wurde an den Positionen verwendet, wo alte vier Nucleotide normal in die degenerierten Proben eingeführt wurden. Die Reinigung der PCR-Primer umfasste eine Ethanol-fällung mit anschließender Gelelektrophoresereinigung.

II. Aufbau der Bibliothek und Screening

[0182] Eine genomische Rinder-DNA-Bibliothek wurde von Stratagene (Katalog Nr. 945701) gekauft. Die Bibliothek enthielt 2×10^6 15–20 kb Sau3A1 partielle Rinder-DNA-Fragmente, die in den Vektor Lambda DashII kloniert waren. Eine cDNA-Bibliothek von dem gesamten Rindergehirn wurde gekauft von Clontech (Katalog Nr. BL 10139). Komplementäre DNA-Bibliotheken wurden von mRNA hergestellt (In Vitrogen; Stratagene), wobei die mRNA aus dem Rindergesamthirn, der Rinderhypophyse und dem Rinderhypophysenhinterlappen hergestellt wurde. In Vitrogen stellte zwei cDNA-Bibliotheken her: Eine Bibliothek war in dem Vektor Lambda g10 und die andere Bibliothek war in dem Vektor pcDNA1 (eine Plasmidbibliothek). Die Stratagene-Bibliotheken wurden in dem Vektor Lambda unizap hergestellt.

[0183] Zusammenfassend enthielten die cDNA-Bibliotheken 14 Millionen primär rekombinante Phagen.

[0184] Die genomische Rinderbibliothek wurde auf E. Coli K12 Wirtsstamm LE392 auf 23×23 cm Platten (Nunc) mit 150.000 bis 200.000 Phagenplaques pro Platte aufgetragen. Jede Platte stellte etwa ein genomisches Rinderäquivalent dar. Nach einer über Nacht Inkubation bei 37°C wurden die Platten abgekühlt und Replikafilter wurden gemäß dem Verfahren von Maniatis et al. (2: 60–81) hergestellt. Vier Plaquelifts wurden von jeder Platte auf nicht-beladenen Nylonmembranen hergestellt (Pall Biotyne A oder MSI Nitropure). Die DNA wurde auf den Membranen durch Quervernetzung unter UV-Licht für 5 Minuten oder durch Backen bei 80°C unter Vakuum für 2 Stunden immobilisiert. Die DNA-Sonden wurden unter Verwendung von T4-Polynukleotidkinase (New England Biotabs) mit gamma-32P ATP (New England Nuclear; 6500 Ci/mMol) gemäß den Angaben des Lieferanten markiert. 50 pMole von degenerierten DNA-Oligomeren wurden in Gegenwart von 600 µCi gamma 32P-ATP und 5 Einheiten der T4-Polynukleotidkinase für 30 Minuten bei 37°C inkubiert. Die Reaktionen wurden beendet, der Ladepuffer für die Gelelektrophorese wurde hinzugefügt und die radiomarkierten Sonden wurden mit Elektrophorese gereinigt. Die 32P markierten Sonden wurden aus den Gelstückchen ausgeschnitten und im Wasser eluiert. Alternativ wurden die DNA-Sonden über die PCR-Amplifizierung durch Einlagerung von alpha-32P-dATP oder alpha-32P-dCTP markiert gemäß dem Protokoll von Schowalter und Sommer, Anal. Biochem 177: 90–94 (1989). Die in den PCR-Reaktionen markierten Sonden wurden mittels Entsalzung auf Sephadex G-150 Säulen gereinigt.

[0185] Die Prehybridisierung und die Hybridisierung wurden durchgeführt in GMC Puffer (0,52 M NaPi, 7% SDS, 1% BSA, 1,5 mM EDTA, 0,1 M NaCl, 10 mg/ml tRNA). Das Waschen wurde durchgeführt in Oligowaschungen (160 ml 1 M Na₂HPO₄, 200 ml 20% SDS, 8,0 ml 0,5 M EDTA, 100 ml 5 M NaCl, 3632 ml H₂O). Typischerweise wurden 20 Filter (jeweils 400 cm²), die Replikatkopien von zehn Rindergenomäquivalenten darstellten, in 200 ml Hybridisierungslösung mit 100 pMole degenerierter Oligonukleotidsonde (128–512 fach degeneriert) inkubiert. Die Hybridisierung geschah über Nacht mit 5°C unterhalb der Minimumschmelztemperatur, die für die degenerierte Sonde berechnet wurde. Die Berechnung der Minimumschmelztemperatur basiert auf 2°C für ein AT-Paar und auf 4°C für ein GC-Paar.

[0186] Die Filter wurden unter wiederholtem Wechseln der Oligowaschungen bei den Hybridisierungstemperaturen für 4 bis 5 Stunden gewaschen und abschließend in 3,2 M Tetramethylammoniumchlorid, 1% SDS, zweimal für 30 Minuten bei einer Temperatur in Abhängigkeit von der DNA-Sondenlänge. Für 20mers betrug die abschließende Waschttemperatur 60°C. Die Filter wurden aufgelegt und dann wurde mit Röntgenstrahlfilm (Kodak XAR5) unter Verwendung von Verstärkerfolien (Dupont Cronex Lightening Plus) entwickelt. Normalerweise war eine drei- bis fünftägige Filmentwicklung bei –80°C ausreichend, um die Duplikatsignale in diesen Bibliothekstests zu detektieren. Nach Analyse der Ergebnisse konnten die Filter abgezogen und wieder verwendet werden. Die Filter wurden abgezogen durch Inkubation über zwei aufeinander folgende Zyklen von 15 Minuten in einem Mikrowellenofen mit voller Kraft in einer Lösung von 1% SDS, das 10 mM EDTA pH 8, enthielt. Die Filter wurden wenigstens für drei bis vier Zyklen von Stripping und wieder beladen mit verschiedenen

Sonden verwendet.

III. Isolierung und Wachstum von rekombinanten Phagen und DNA-Aufarbeitung

[0187] Diese Verfahren wurden gemäß dem Standardprotokoll durchgeführt, das beschrieben ist in „Recombinant DNA“ (Maniatis et al. 2: 60–2: 81).

IV. Analyse der isolierten Klone unter Verwendung von DNA-Verdau und Southern Blots

[0188] Rekombinante Phagen-DNA-Proben (2 Mikrogramm) wurden gemäß den Bedingungen geschnitten, die von dem Lieferanten der Restriktionsendonuklease empfohlen waren (New England Biolabs). Nach einer vierstündigen Inkubation bei 37°C wurden die Reaktionsprodukte in Gegenwart von 0,1 M Natriumacetat und drei Volumen Ethanol gefällt. Die gefällte DNA wurde mittels Zentrifugation gesammelt, in 75% Ethanol gespült und dann getrocknet. Alle resuspendierten Proben wurden auf Agarosegels aufgetragen (typischerweise 1% in TAE-Puffer; 0,04 M Tris-Acetat; 0,002 M EDTA). Die Gele liefen bei 1 Volt pro Zentimeter für 4 bis 20 Stunden. Die Marker umfassten lambda Hind III DNA-Fragmente und/oder ϕ X174HaeIII DNA-Fragmente (New England Biolabs). Die Gele wurden mit 0,5 Mikrogramm/ml von Ethidiumbromid gefärbt und fotografiert. Für das Southern Blotting wurde die DNA in dem Gel durch Behandlung mit 0,125 N HCl depuriniert, in 0,5 N NaOH denaturiert und in 20 × SSC überführt (3 M Natriumchlorid; 0,03 M Natriumcitrat), um die Nylonmembranen zu entladen. Das Blotting wurde über einen Zeitraum von 6 bis 24 Stunden durchgeführt und dann wurden die Filter in 0,5 Tris-HCl, pH 7,5, 0,15 M Natriumchlorid neutralisiert und dann kurz in 50 mM Tris-Borat-EDTA gespült.

[0189] Für die Vernetzung wurden die Filter zuerst in eine transparente Kunststoffolie eingewickelt und die DNA-Seite wurde dann für 5 Minuten ultraviolettem Licht ausgesetzt. Die Hybridisierung und das Waschen wurde durchgeführt, wie dies für die Bibliothekstestung (siehe Abschnitt 2 von diesem Beispiel) beschrieben ist. Für die Hybridisierungsanalyse zur Bestimmung, wo ähnliche Gene in anderen Arten existieren, wurden leichte Modifikationen durchgeführt. Der DNA-Filter wurde gekauft von Clontech (Katalog Nr. 7753-1) und enthielt 5 Mikrogramm von EcoRI geschnittene DNA von verschiedenen Arten pro Linie. Die Sonde wurde mit den PCR-Amplifikationsreaktionen markiert, wie dies oben im Abschnitt 2 beschrieben ist. Die Hybridisierungen wurden durchgeführt in 80% Puffer B (2 g Polyvinylpyrrolidin, 2 g Ficoll-400, 2 g Rinderserumalbumin, 50 ml 1 M Tris-HCl (pH 7,5) 58 g NaCl, 1 g Natriumpyrophosphat, 10 g Natriumdodecylsulfat, 950 ml H₂O), der 10% Dextransulfat enthielt. Die Sonden wurden durch Kochen für 10 Minuten und anschließendes schnelles Abkühlen in Eiswasser denaturiert. Die Sonde wurde dem Hybridisierungspuffer mit 106 dpm 32P pro ml zugegeben und über Nacht bei 60°C inkubiert. Die Filter wurden bei 60°C zunächst gewaschen in Puffer B, gefolgt von 2 × SSC, 0,1% SDS, dann in 1 × SSC, 0,1% SDS. Für Experimente mit hoher Stringens wurden die abschließenden Waschungen in 0,1 × SSC, 1% SDS durchgeführt und die Temperatur wurde auf 65°C angehoben.

[0190] Die Ergebnisse der Southern Blots wurden verwendet, um eine Restriktionskarte des genomischen Klons herzustellen und um darzustellen, welche Subfragmente mit den GGF-Sonden (Kandidaten für die Subklonierung) hybridisierten.

V. Subklonierung der DNA-Segmente, die zu den Hybridisierungssonden homolog waren

[0191] Die DNA-Verdaus (zum Beispiel 5 Mikrogramm) wurden auf 1% Agarosegels aufgebracht und geeignete Fragmente wurden nach Anfärbung aus den Gelen geschnitten. Die DNA wurde durch Adsorption an Glaskügelchen und anschließender Elution unter Verwendung des Protokolls, wie es von dem Lieferanten (Bio 101) beschrieben war, gereinigt. Die gewonnenen DNA-Fragmente (100–200 ng) wurden in linearisierte, dephosphorierte Vektoren, zum Beispiel pT3T7 (Ambion), was ein Derivat von pUC18 ist, unter Verwendung der T4-Ligase (New England Biolabs) ligiert. Dieser Vektor trägt das E. Coli β -Lactamasegen, so dass die Transformanten auf Platten mit Ampicillin selektiert werden können. Der Vektor führt auch zu einer β -Galactosidase-Komplementierung der Wirtszelle, so dass nicht-Rekombinanten (blau) unter Verwendung von Isopropylthiogalactosid und Blugol (Bethesda Research Labs) delektiert werden konnten. Ein Teil der Ligierungsreaktionen wurde verwendet für die Transformation von E. Coli K12 XL1 blau-kompetente Zellen (Stratagene, Katalog Nr. 200236). Die Transformanten wurden dann auf LB-Platten selektiert, die 50 Mikrogramm pro ml Ampicillin enthielten. Weiße Kolonien wurden ausgewählt und Plasmid-mini-Präparationen wurden für den DNA-Verdau und für die DNA-Sequenzanalyse hergestellt. Die ausgewählten Klone wurden wieder getestet, um zu bestimmen, ob ihre insertierte DNA mit den GGF-Sonden hybridisierte.

VI. DNA-Sequenzierung

[0192] Doppelsträngige Plasmid-DNA-Template wurden hergestellt aus 5 ml Kulturen gemäß Standardprotokollen. Die Sequenzierung wurde durch die Dideoxy-Kettenabbruchreaktion unter Verwendung von Sequenase 2.0 und einem Dideoxynukleotid-Sequenzierkits (US Biochemical) gemäß dem Protokoll der Hersteller durchgeführt (eine Modifikation von Sanger et al. PNAS; USA 74: 5463 (1977)). Alternativ wurde die Sequenzierung in einem thermischen DNA-Zyklussequenzierer (Perkin Elmer, Modell 4800) unter Verwendung eines Zyklussequenzierkits (New England Biolabs; Bethesda Research Laboratories) durchgeführt, wobei die Angaben des Herstellers unter Verwendung eines 5'-endmarkierten Primers angewandt wurden. Die Sequenzprimer waren solche, die mit den Sequenzierkits geliefert wurden, oder wurden gemäß der Sequenz synthetisiert, die von den Klonen bestimmt wurde. Die Sequenzierreaktionsansätze wurden auf ein 0,4 mm dickes Sequenziergel von 6% Polyacrylamid geladen und dort aufgelöst. Die Gele wurden getrocknet und mit Röntgenstrahlfilm entwickelt. Typischerweise wurde 35S eingelagert, wenn Standardsequenzierkits verwendet wurden, und 32P endmarkierte Primer wurden verwendet für die Zyklussequenzierreaktionen. Die Sequenzen wurden in einem DNA-Sequenziereditor vom Boden der Gele bis zu ihrer Spitze (5' zu 3' Richtung) gelesen und die Daten wurden analysiert unter Verwendung von Programmen, die von Genetics Computer Group (GCG, University of Wisconsin) geliefert wurden.

VII. RNA-Zubereitung und PCR-Amplifizierung

[0193] Offene Leserahmen, die in der genomischen DNA entdeckt wurden und die Sequenzen für die Kodierung von GGF-Peptiden enthielten, wurden via PCR-Amplifizierung von Hypophysen-RNA verlängert. Die RNA wurde hergestellt aus gefrorenem Rindergewebe (Pelfreeze) gemäß dem Guanidin neutral-CsCl Verfahren (Chirgwin et. al. Biochemistry 18: 5294 (1979)). Polyadenylierte RNA wurde ausgewählt mit Oligo-dT Cellulosesäulenchromatographie (Aviv und Leder, PNAS (USA) 69: 1408 (1972)).

[0194] Spezifische DNA-Zielsequenzen wurden amplifiziert, wobei entweder mit Gesamt-RNA begonnen wurde oder mit polyadenylierten RNA-Proben, die zu cDNA unter Verwendung des Perkin Elmer PCR/RNA Kits Nr.: N808-0017 umgewandelt worden waren. Die strangreversen Transkriptionsreaktionen verwendeten 1 µg Templat-RNA und Primer von Oligo-dT mit angehefteten Linkern mit Restriktionsenzymstellen, oder spezifische Antisense-Primer mit angehefteten Restriktionsorten, wobei die Primer von klonierten Sequenzen bestimmt wurden. Um den zweiten Strang herzustellen, waren die Primer entweder einmalige Plusstrangsequenzen, wie sie verwendet wurden bei den 3' RACE Reaktionen (Frohman et. al., PNAS (USA) 85: 8998 (1988)), oder Oligo-dT Primer mit angebrachten Restriktionsstellen, wenn die zweite Zielstelle durch terminales Transferasetailing an die ersten Strangreaktionsprodukte mit dATP hinzugefügt worden ist (z. B. 5' RACE Reaktion, Frohman et. al., *ibid*). Alternativ, wie bei anchored-PCR-Reaktionen, wurden die zweiten Strangprimer degeneriert und repräsentierten somit besondere Peptidsequenzen.

[0195] Das Amplifizierungsprofil folgte dem folgenden allgemeinen Schema: 1) Einweichen des Ansatzes für 5 Minuten bei 95°C; 2) thermaler Zyklus Ansätze von 1 Minute, 95°C; 1 Minute abflachen auf eine Schmelztemperatur von 45°C, 50°C oder 55°C; Aufrechterhaltung der Schmelztemperatur für 1 Minute; Erwärmen über 1 Minute auf 72°C; Ausdehnen bei 72°C für 1 Minute oder für 1 Minute plus eine 10 Sekunden Autoausdehnung; 3) Ausdehnungszyklus bei 72°C, 5 Minuten und 4) Einweichen des Ansatzes bei 4°C für unbegrenzte Zeit. Die thermischen Zyklusansätze (Nr. 2) liefen normalerweise für 30 Zyklen. Eine sechzehn µl Probe von jeder 100 µl Amplifizierungsreaktion wurde durch Elektrophorese in 2% Nusieve 1% Agarose Gels analysiert, welche in TAE-Puffer bei 4 Volt pro Zentimeter für 3 Stunden tiefen. Die Gele wurden gefärbt und dann gegen nicht beladene Nylonmembranen geblottet, welche mit markierten DNA-Sonden, die intern zu den Primern waren, getestet.

[0196] Spezifische Sets der DNA-Amplifizierungsprodukte konnten bei den Blottingexperimenten identifiziert werden und ihre Positionen wurden als Anhaltspunkt für die Reinigung und Reamplifikation verwendet. Wo es geeignet war, wurden die restlichen Teile der ausgewählten Proben auf präparative Gele geladen und nach Elektrophorese wurden vier bis fünf Stücke von 0,5 mm Dicke (welche die erwartete Position des spezifischen Produktes umfassten) dem Gel entnommen. Die Agarose wurde zerdrückt und dann in 0,5 ml Elektrophorese-puffer bei 40°C für 2–16 Stunden eingeweicht. Die zerdrückte Agarose wurde für 2 Minuten zentrifugiert und die wässrige Phase wurde in frische Röhrchen transferiert.

[0197] Die Reamplifikation wurde auf fünf Mikroliter (etwa 1% des Produktes) des eluierten Materials durchgeführt, wobei die gleichen Sets von Primer und Reaktionsprofilen, wie bei den Originalreaktionen, verwendet wurden. Nach Vollendung der Reamplifikationsreaktionen wurden die Proben mit Chloroform extrahiert und in

frische Röhrcchen transferiert. Konzentrierte Restriktionsenzym-puffer und Enzyme wurden den Reaktionen zugesetzt, um sie an den Restriktionsstellen, die in den Linkern vorhanden waren, zu schneiden. Die verdauten PCR-Produkte wurden mit Gelelektrophorese gereinigt und dann in Vektoren subkloniert, wie dies oben in dem Subklonierungsabschnitt beschrieben ist. Die DNA-Sequenzierung wurde wie oben beschrieben, durchgeführt.

VIII. DNA-Sequenzanalyse

[0198] Die DNA-Sequenzen wurden unter Verwendung eines Fragmentassemblierprogramms bereitgestellt und die Aminosäuresequenzen wurden unter Verwendung der GCG-Programme GelAssemble, Map und Translate abgeleitet. Die abgeleiteten Proteinsequenzen wurden verwendet als Abfragesequenz, um Proteinsequenzdatenbanken unter Verwendung von WordSearch zu durchsuchen. Die Analyse wurde auf einer VAX Station 3100 Workstation, die unter VMS 5.1 lief, gemacht. Die Datenbankrecherche wurde gemacht auf Swis-Prot Freigabenummer 21 unter Verwendung der GCG Version 7,0.

IX. Ergebnisse der Klonierung und der Sequenzierung von Genen, die für GGF-I und GGF-II codieren

[0199] Wie oben dargelegt wurden zur Identifikation der DNA-Sequenz, die für Rind GGF-II codiert, degenerierte Oligonukleotidsonden aus GGF-II Peptidsequenzen erstellt. GGF-II 12 (SEQ ID Nr. 44), ein Peptid, welches via Lysylendopeptidaseverdau einer gereinigten GGF-II Zubereitung (siehe die [Fig. 11](#) und [Fig. 12](#)) erstellt wurde, zeigte eine starke Aminosäuresequenzhomologie mit GGF-I 07 (SEQ ID Nr. 39), ein tryptisches Peptid, das aus einer gereinigten GGF-I Zubereitung hergestellt wurde. GGF-II 12 wurde somit verwendet, um zehn degenerierte Oligonukleotidproben zu erzeugen (siehe Oligos 609, 610 und 649 bis 656 in der [Fig. 21](#), SEQ ID Nrn. 69, 70, 71 und 79). Ein zweifacher Satz an Filtern wurden mit zwei Sätzen (Satz 1 = 609, 610; Satz 2 = 649–5656) von Sonden getestet, die für zwei überlappende Abschnitte von GGF-II 12 codieren. Hybridisierungssignale wurden beobachtet, wobei aber nur ein Klon mit beiden SONDENSÄTZEN hybridisierte. Der Klon (als GGF2BG1 bezeichnet) wurde gereinigt.

[0200] Die Southern Blot Analyse der DNA aus dem Phargenklon GGF2BG1 bestätigte, dass beide Sätze der Sonden mit dieser Rind-DNA-Sequenz hybridisierten und zeigte ferner, dass beide Sonden mit dem gleichen Satz an DNA-Fragmenten innerhalb des Klons reagierte. Basierend auf diesen Experimenten wurde ein 4 kb Eco RI Subfragment des Ursprungsklons identifiziert, subkloniert und partiell sequenziert. Die [Fig. 22](#) zeigt die Nukleotidsequenz (SEQ ID Nr. 89) und die abgeleitete Aminosäuresequenz (SEQ ID Nr. 196) der anfänglichen DNA-Sequenzlesungen, welche die Hybridisierungsstellen der Sonden 609 und 650 umfassten, und bestätigte, dass ein Teil dieser genomischen Rind DNA für das Peptid 12 (KASLADSGEYM; SEQ ID Nr. 129) codiert.

[0201] Die weitere Sequenzanalyse zeigte, dass GGF-II 12 auf einem offenen Leserahmen von 66 Aminosäuren beruht (siehe unten), was der Startpunkt wurde für die Isolierung der überlappenden Sequenzen, die ein mutmaßliches GGF-II Rindergen und eine cDNA darstellen.

[0202] Verschiedene PCR-Verfahren wurden verwendet, um zusätzliche Codiersequenzen für das mutmaßliche GGF-II Rindergen zu erhalten. Gesamt-RNA und Oligo dT-ausgewählte (Poly A enthaltend) RNA Proben wurden aus der Rindergesamthypophyse, des Hypophysenvorderlappens, des Hypophysenhinterlappens und aus dem Hypothalamus hergestellt. Unter Verwendung der Primer aus der Liste, die in der [Fig. 23](#) gezeigt ist, SEQ ID Nrn. 109–119, wurden einseitige PCR-Reaktionen (RACE) verwendet, um die cDNA-Enden in der 3' sowie in der 5' Richtung zu amplifizieren. Anchored PCR-Reaktionen wurden mit den degenerierten Oligonukleotidprimern durchgeführt, welche zusätzliche GGF-II Peptide darstellen. Die [Fig. 24](#) fasst die angrenzenden DNA-Strukturen und die Sequenzen, die bei diesen Experimenten erzielt wurden, zusammen. Von den 3' RACE-Reaktionen wurden drei alternativ gespleißte cDNA-Sequenzen hergestellt, die kloniert und sequenziert wurden. Eine 5' RACE-Reaktion führte zur Entdeckung eines zusätzlichen Exons, das die codierende Sequenz für wenigstens 52 Aminosäuren enthielt. Die Analyse der abgeleiteten Aminosäuresequenz ergab die Peptide GGF-II-6 und eine Sequenz ähnlich zu GGF-I-18 (siehe unten). Die anchored-PCR-Reaktionen führten zu der Identifikation der (cDNA) codierenden Sequenzen der Peptide GGF-II-1, 2, 3 und 10, die innerhalb eines zusätzlichen cDNA-Segmentes von 300 Basenpaaren enthalten waren. Die 5' Grenze dieses Segmentes (das heißt Segment E, siehe [Fig. 31](#)) wird durch das Oligonukleotid definiert, welches für das Peptid GGF-II-1 codiert und das in der PCR-Reaktion verwendet wurde (zusätzliche 5' Sequenzdaten existieren, wie dargestellt, für den menschlichen Klon von Beispiel 6). Somit enthält dieser Klon die Nukleotidsequenz, die für sechs von den insgesamt neun neuen GGF-II Peptidsequenzen codieren.

[0203] Das klonierte Gen wurde zunächst charakterisiert durch die Erstellung einer physikalischen Karte von

GGF2BG1, welche es uns erlaubte, die codierenden Sequenzen, wie sie gefunden worden waren (siehe unten, [Fig. 25](#)), zu positionieren. Die DNA-Sonden von den codierenden Sequenzen, die oben beschrieben sind, wurden verwendet, um weitere DNA-Fragmente zu identifizieren, welche die Exons von diesem Phagenklon enthielten, und um Klone, welche in beiden Richtungen überlappen, zu identifizieren. Das mutmaßliche GGF-II Rindergen wird in wenigstens fünf codierende Segmente aufgeteilt. Die codierenden Segmente werden als diskrete Längen der DNA-Sequenz definiert, die in Polypeptidsequenzen unter Verwendung des universellen genetischen Codes translatiert werden können. Die in der [Fig. 31](#) beschriebenen, codierenden Segmente, auf die in der vorliegenden Anwendung verwiesen wird, sind: 1) einzelne Exons, die innerhalb des GGF-Gens (zum Beispiel codierendes Segment a) vorhanden sind oder 2) abstammen von Sätzen von zwei oder mehr Exons, die in spezifischen Untergruppen der mRNAs erscheinen, wobei jeder Satz in die spezifischen Polypeptidsegmente, wie in den Genprodukten gezeigt, translatiert werden können. Die Polypeptidsegmente, auf die in den Ansprüchen bezogen wird, sind die Translationsprodukte der analogen codierenden DNA-Segmente. Nur die codierenden Segmente A und B wurden als Exons definiert und sequenziert und bisher kartiert. Die Übersicht für die angrenzenden, identifizierten, codierenden Sequenzen ist in der [Fig. 26](#) wiedergegeben. Die Exons sind aufgelistet (alphabetisch) in der Reihenfolge ihrer Entdeckung. Es ist von den Intron/Exon-Grenzen erkennbar, das Exon B in den cDNAs enthalten sein kann, welche das codierende Segment E und das codierende Segment A verbinden. Dies bedeutet, dass Exon B nicht herausgespleißt werden kann, ohne den Leserahmen zu beeinträchtigen. Deshalb vermuten wir, dass drei alternative Spleißmuster die mutmaßlichen GGF-II cDNA-Rindsequenzen 1, 2 und 3 herstellen können. Die codierenden Sequenzen davon, bezeichnet als GGF2BPP1.CDS, GGF2BPP2.CDS und GGF2BPP3.CDS, sind dargestellt in den [Fig. 28A](#) (SEQ ID Nr. 133), [Fig. 28B–C](#) (SEQ ID Nr. 134) bzw. [Fig. 28D–E](#) (SEQ ID Nr. 135). Die abgeleiteten Aminosäuresequenzen von diesen drei cDNAs sind auch in den [Fig. 28A](#) (SEQ ID Nr. 190), [Fig. 28B–C](#) (SEQ ID Nr. 191) und [Fig. 28D–E](#) (SEQ ID Nr. 143) gezeigt.

[0204] Die drei abgeleiteten Strukturen codieren für Proteine mit einer Länge von 206, 281 und 257 Aminosäuren. Die ersten 183 Reste der abgeleiteten Proteinsequenzen sind in allen drei Genprodukten identisch. An der Position 184 unterscheiden sich die Klone signifikant. Ein Codon für Glycin GGT in GGF2BPP1 dient auch als Spleißdonor für GGF2BPP2 und GGF2BPP3, der alternativ auf den Exons C, C/D, C/D' und D oder C, C/D bzw. D hinzugefügt ist und in der [Fig. 33](#) (SEQ ID Nr. 149) gezeigt ist. GGF2BPP1 ist ein abgestumpftes Genprodukt, das erzeugt wird durch Lesen vorbei an der Spleißstelle des codierenden Segmentes A in die folgende Intron-Sequenz (Intron). Dies stellt das codierende Segment A' in der [Fig. 31](#) dar (SEQ ID Nr. 140). Das Transkript endet benachbart zu einer kanonischen AATAAA Polyadenylierungssequenz, wobei wir vermuten, dass dieses abgestumpfte Genprodukt ein echtes reifes Transkript darstellt. Die zwei anderen, längeren Genprodukte teilen sich die gleiche 3' nicht translatierte Sequenz und die Polyadenylierungsstelle.

[0205] Alle drei Moleküle enthalten sechs der neun, neuen GGF-II Peptidsequenzen (siehe [Fig. 12](#)) und ein anderes Peptid ist hoch homolog zu GGF-I-18 (siehe [Fig. 27](#)). Dieses Ergebnis beinhaltet eine hohe Wahrscheinlichkeit, dass dieses rekombinante Molekül wenigstens für einen Teil des Rind GGF-II codiert. Ferner sind die berechneten, isoelektrischen Punkte für die drei Peptide konsistent mit den physikalischen Eigenschaften von GGF-I und II. Da die Molekülgröße von GGF-II etwa 60 kD beträgt, sollte die längste der drei cDNAs für ein Protein codieren mit annähernd der Hälfte der vorausgesagten Zahl an Aminosäuren.

[0206] Eine Probe, welche die Exons B und A umfasste, wurde mittels PCR-Amplifizierung markiert und verwendet, um eine cDNA-Bibliothek zu screenen, welche aus RNA hergestellt wurde, die aus Rinderhypophysenhinterlappen isoliert wurde. Ein Klon (GGF2BPP5) zeigte das Muster, das in der [Fig. 30](#) angezeigt ist, und enthielt ein zusätzliches codierendes DNA-Segment (G) zwischen den codierenden Segmenten A und C. Die gesamte Nukleinsäuresequenz ist in der [Fig. 32](#) gezeigt (SEQ ID Nr. 148). Das vorhergesagte Translationsprodukt von dem längsten offenen Leserahmen hat 241 Aminosäuren. Ein Teil von einer zweiten cDNA (GGF2BPP4) wurde auch aus der Bibliothek des Rinderhypophysenhinterlappens unter Verwendung der oben beschriebenen Sonde isoliert. Dieser Klon zeigte das Muster, das in der [Fig. 30](#) dargestellt ist. Dieser Klon ist an dem 5' Ende nicht vollständig, wobei er aber eine Spleißvariante in dem Sinne darstellt, dass die codierenden Segmente G und D fehlen. BPP4 zeigt auch ein neues 3' Ende mit den Regionen H, K und L jenseits der Region C/D. Die Sequenz von BPP4 ist in der [Fig. 34\(A–C\)](#) gezeigt (SEQ ID Nr. 150).

Beispiel 5

GGF-Sequenzen in verschiedenen Arten

[0207] Eine Datenbankrecherche hat keine bedeutungsvollen Ähnlichkeiten zwischen einem prognostizierten GGF Translationsprodukt und bekannten Proteinsequenzen ergeben. Dies lässt vermuten, dass GGF-II das

erste Mitglied einer neuen Familie oder Superfamilie von Proteinen ist. Bei Kreuzhybridisierungsstudien mit hoher Stringenz (DNA-Blottingversuche) mit anderen Säugetier-DNAs haben wir klar gezeigt, dass DNA-Sonden von diesem rekombinanten Rindermolekül spezifische Sequenzen in einer Reihe von getesteten Proben ohne weiteres nachweisen kann. Eine hoch homologe Sequenz wurde auch in der menschlichen genomischen DNA detektiert. Das Autoradiogramm ist in der [Fig. 29](#) gezeigt. Die Signale in den Spuren, die Ratten und menschliche DNA enthielten, stellen die menschlichen und Ratten Äquivalente des GGF Gens dar, wobei die Sequenzen für die verschiedenen cDNA's, welche für dieses Gen codieren, vor kurzem dargestellt wurden von Holmes et al., (Science 256: 1205 (1992)) und Wen et al. (Cell 69: 559 (1992)).

Beispiel 6

Isolierung der menschlichen Sequenz, die für das menschliche GGF2 codiert

[0208] Verschiedene menschliche Klone, die Sequenzen aus dem GGF-II codierenden Segment E vom Rind enthielten, wurden durch Screening einer menschlichen cDNA-Bibliothek isoliert, welche aus dem Gehirnstamm isoliert wurde (Stratagene Katalog Nr. 935206). Diese Strategie wurde verfolgt auf Basis der starken Verbindung zwischen den meisten GGF2-Peptiden (einmalig vorhanden für GGF2) und der prognostizierten Peptidsequenz aus den Klonen, die das E-Rindersegment enthielten. Diese Bibliothek wurde, wie im Beispiel 4, Abschnitt II beschrieben, getestet unter Verwendung der Oligonukleotidsonde 914–919, die im folgenden aufgeführt sind.

914TCGGGCTCCATGAAGAAGATGTA	(SEQ ID Nr. 179)
915TCCATGAAGAAGATGTACCTGCT	(SEQ ID Nr. 180)
916ATGTACCTGCTGTCCTCCTTGA	(SEQ ID Nr. 181)
917TTGAAGAAGGACTCGCTGCTCA	(SEQ ID Nr. 182)
918AAAGCCGGGGGCTTGAAGAA	(SEQ ID Nr. 183)
919ATGARGTGTGGGCGGCGAAA	(SEQ ID Nr. 184)

[0209] Die mit diesen Sonden nachgewiesenen Klone wurden ferner mittels Hybridisierung analysiert. Eine von dem codierenden Segment A (siehe [Fig. 21](#)) abstammende Sonde, welche durch Markierung eines Polymerasekettenreaktion (PCR)-Produktes vom Segment A hergestellt wurde, wurde auch verwendet, um die primäre Bibliothek zu testen. Verschiedene Klone, die mit den von A und E abstammenden Sonden hybridisierten, wurden ausgewählt und ein besonderer Klon, GGF2HBS5, wurde für die weitere Analyse ausgewählt. Dieser Klon ist dargestellt durch das Muster der codierenden Segmente (EBACC/D'D, wie in der [Fig. 31](#) gezeigt). Das E-Segment in diesem Klon ist das menschliche Äquivalent der abgestumpften Rinderversion von E, die in der [Fig. 37](#) gezeigt ist. GGF2HBS5 ist der wahrscheinlichste Kandidat für die Codierung von GGF-II von all den „mutmaßlichen“ GGF-II Kandidaten. Die Länge des codierenden Sequenzsegmentes E beträgt 786 Nukleotide plus 264 Basen einer nicht-translatierten Sequenz. Die prognostizierte Größe des Proteins, welches von GGF2HBS5 codiert wird, beträgt etwa 423 Aminosäuren (ungefähr 45 Kilodaltons, siehe [Fig. 45\(A–D\)](#), SEQ ID Nr. 170), was in etwa der Größe der deglykosylierten Form von GGF-II entspricht (siehe Beispiel 16). Ferner haben sieben der GGF-II Peptide, die in der [Fig. 27](#) aufgeführt sind, äquivalente Sequenzen, die in die Proteinsequenz, die von der Region E prognostiziert wurde, fallen. Die Peptide II-6 und II-12 sind Ausnahmen und fallen in das codierende Segment B bzw. in das codierende Segment A. Die GGF2HBS5 proteincodierende RNA wurde in einem in vitro Transkriptionssystem hergestellt, das von dem Bakteriophagen T7-Promotor angetrieben wird, der in dem Vektor (Bluescript SK (Stratagene Inc.) siehe [Fig. 44](#)) vorliegt, welcher das GGF2HBS5-Insert enthält. Diese RNA wurde in einem zellfreien (Kaninchen-Reticulyt) Translationsystem translatiert und die Größe des Proteinproduktes betrug 45 kD.

[0210] Das zellfreie Produkt wurde ferner in einem mitogenetischen Schwann-Zelltest überprüft, um die biologische Aktivität zu bestätigen. Die mit konditioniertem Medium behandelten Schwann-Zellen zeigten eine erhöhte Proliferation, gemessen durch die Einlagerung von ¹²⁵I-Uridin, und eine Phosphorylierung am Tyrosin von einem Protein im 185 Kilodalton-Bereich. Die Größe des von GGF2HBS5 codierten Produktes und die Gegenwart der DNA-Sequenzen, welche für menschliche Peptide codieren, die hoch homolog zu den Rinderpeptiden sind, gezeigt in der [Fig. 12](#), bestätigen, dass GGF2HBS5 für das menschliche Äquivalent von Rind-GGF2 codiert. Die Tatsache, dass konditioniertes Medium, welches aus mit diesem Klon transformierten Zellen hergestellt wurde, die mitogenetische Aktivität der Schwann-Zellen auslöst, bestätigt, dass das GGF2HBS5-Genprodukt (verschieden von dem BPP5-Genprodukt) sekretiert wird. Ferner scheint das GGF2HBS5-Genprodukt

die Reaktion der Schwann-Zellproliferation über eine Rezeptortyrosinkinase, wie p185^{erbB2}, oder einen nahen verwandten Rezeptor (siehe Beispiel 14) zu vermitteln.

Beispiel 7

Expression von menschlichem rekombinanten GGF2 in Säugetierzellen und Insektenzellen

[0211] Der GGF2HBS2 cDNA Klon, der für das menschliche GGF2 codiert (wie im Beispiel 6 beschrieben und hier auch als HBS5 bezeichnet) wurde kloniert in den Vektor pcDL-SR α 296 (Takebe et al., Mol. Cell. Biol. 8: 466–472 (1988) und COS-7 Zellen wurden in 100 mm Schalen transfiziert mittels dem DEAE-Dextranverfahren (Sambrook et al. Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 2. Auflage CSH Laboratory NY (1989). Zelllysate oder konditioniertes Medium von Transient exprimierenden COS-Zellen wurden drei oder vier Tage nach der Transfektion geerntet. Um die Lysate herzustellen, wurden die Zellmonoschichten mit PBS gewaschen, von den Schalen abgekratzt und durch drei Einfrier/Auftau-Zyklen in 150 μ l von 0,25 M Tris-HCl, pH 8,0, lysiert. Die Zelltrümmer wurden pelletiert und der Überstand wurde verwendet. Proben von konditionierten Medien (7 ml) wurden gesammelt, dann konzentriert und der Puffer wurde ausgetauscht mit 10 mM Tris, pH 7,4, unter Verwendung von Centiprep-10 und Centricon-10-Einheiten, wie vom Hersteller beschrieben (Amicon, Beverly, MA). Schwann-Zellen von Rattennerven wurden hinsichtlich der Einlagerung von DNA-Synthesevorläufern, wie beschrieben (Beispiel 3), getestet. Proben von konditionierten Medien oder Zelllysaten wurden in dem Schwann-Zellproliferationstest überprüft, wie dies in Beispiel 3 beschrieben ist. Die mitogenetischen Aktivitätsdaten sind in der [Fig. 46](#) dargestellt. Die cDNA, GGF2HBS5, die GGF2 codiert, steuerte die Sekretion es Proteinproduktes in das Medium. Ein kleiner Teil der Gesamtaktivität war innerhalb der Zellen nachweisbar, wie dies durch Tests unter Verwendung von Zelllysaten bestimmt wurde. GGF2HFB1 und GGF2BPP5 cDNA's steuerten nicht die Sekretion des Produktes zu dem extrazellulären Medium. Die GGF-Aktivität von diesen Klonen wurde nur in den Zelllysaten nachgewiesen ([Fig. 46](#)).

[0212] Rekombinantes GGF2 wurde auch in CHO-Zellen exprimiert. Die GGF2HBS5 cDNA, die für GGF2 codiert, wurde in die EcoRI-Stelle des Vektors pcdhfrpolyA ([Fig. 54](#)) kloniert und in die DHFR negative CHO-Zelllinie (DG44) transfiziert mittels des Calciumphosphat-Coprecipitationsverfahrens (Graham und Van Der Eb, Virology 52: 456–467 (1973). Die Klone wurden in einem nukleotid- und nukleosidfreien α -Medium (Gibco) in Platten mit 96 Vertiefungen ausgewählt. Nach 3 Wochen wurden Proben von konditioniertem Medium von unterschiedlichen Klonen hinsichtlich der Expression von GGF durch den Schwann-Zellproliferationstest, beschrieben in Beispiel 3, getestet. Stabile Klone, die signifikante Mengen von GGF-Aktivität in das Medium abgaben, wurden identifiziert. Die Daten der Schwann-Zellproliferationsaktivität von verschiedenen Volumenali-quots von CHO-Zellen konditioniertem Medium wurden verwendet, um die Dosisreaktionskurve aufzustellen, die in der [Fig. 47](#) gezeigt ist (Graham und Van Der Eb, Virology 52: 456, 1973). Dieses Material wurde auf einem Western-Blot analysiert, der mit polyklonalen Antiseren, die gegen ein GGF2 spezifisches Peptid erstellt wurden, untersucht wurde. Ein breites Band von etwa 69–90 kD (die erwartete Größe von GGF2, extrahiert von Hypophysen und höher Molekulargewichts-Glycoformen) wurde spezifisch markiert ([Fig. 49](#), Spur 12).

[0213] Rekombinantes GGF2 wurde auch in Insektenzellen unter Verwendung der Baculovirusexpression exprimiert. Sf9 Insektenzellen wurden mit Baculovirus infiziert, welche den GGF2HBS5 cDNA Klon enthielten, mit einer Menge von 3–5 (10^6 Zellen/ml) und in Sf900-II Medium (Gibco) kultiviert. Die mitogenetische Aktivität der Schwann-Zellen wurde in das extrazelluläre Medium ([Fig. 48](#)) abgegeben. Verschiedene Volumen von konditioniertem Medium der Insektenzellen wurden in dem Schwann-Zellproliferationstest in Abwesenheit von Forskolin getestet und die verwendeten Daten zur Herstellung der Dosisreaktionskurve sind in der [Fig. 48](#) gezeigt.

[0214] Dieses Material wurde auch auf einem Western-Blot ([Fig. 47](#)) analysiert, der mit dem oben beschriebenen GGF-II spezifischen Antikörper untersucht wurde. Ein Band von 45 kD, was der Größe von deglycosiliertem GGF-II (siehe Beispiel 16) entspricht, wurde gesehen.

[0215] Die in diesem Beispiel verwendeten Verfahren waren die folgenden:

Die mitogenetische Schwann-Zellaktivität von rekombinanten, menschlichen und Rinder-Gliawachstumsfaktoren wurde wie folgt bestimmt:

Die mitogenetischen Reaktionen von kultivierten Schwann-Zellen wurden in Gegenwart von 5 μ M Forskolin gemessen, wobei rohe rekombinante GGF-Zubereitungen verwendet wurden, die von den transienten Säugetier-expressionsexperimenten erzielt wurden.

[0216] Einlagerung von [¹²⁵I]-Uridin wurde bestimmt nach einer 18 bis 24 Stunden Exposition von Materialien,

die von transfizierten oder scheintransfizierten COS-Zellen, wie beschrieben bei den Verfahren, erzielt wurden. Die mittlere und die Standardabweichung von vier Datensätzen sind dargestellt. Die mitogenetische Reaktion auf die partiell gereinigte, native Rinderhypophysen GGF (Carboxymethylcellulosefraktion; Goodearl et al., eingereicht) als Standard von 100% Aktivität dargestellt (GGF).

[0217] cDNAs ([Fig. 53](#)) wurden in pcDL-SR α 296 (Takebe et al., Mol. Cell Biol. 8: 466–472 (1988)) kloniert und COS-7 Zellen wurden in 100 mm Schalen transfiziert mittels des DEAE-Dextranverfahrens (Sambrook et al., In Molecular Cloning. A Laboratory Manual, 2. Auflage (Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY, 1989)). Zelllysate oder konditionierte Medien wurden 3 oder 4 Tage nach der Transfektion geerntet. Um die Lysate herzustellen, wurden die Zellmonoschichten mit PBS gewaschen, von den Schalen abgekratzt und durch drei Einfrier/Auftau-Zyklen in 150 μ l von 0,25 M Tris-HCl, pH 8, lysiert. Die Zelltrümmer wurden pelletiert und der Überstand wurde verwendet. Proben von konditionierten Medien (7 ml) wurden gesammelt, dann konzentriert und der Puffer wurde mit 10 mM Tris, pH 7,4, ausgetauscht unter Verwendung von Centriprep-10 und Centricon-10 Einheiten, wie dies von dem Hersteller beschrieben ist (Amicon, Beverly, MA). Schwann-Zellen vom Rattenischiasnerv wurden hinsichtlich der Einlagerung von DNA-Synthesevorläufern getestet, wie beschrieben von Davis und Stroobant, J. Cell Biol. 110: 1353–1360 (1990); Brockes et al., Brain Res. 165: 105–118 (1979)).

[0218] Western-Blots von konditionierten Medien von rekombinanten CHO-Zellen wurden wie folgt durchgeführt: Ein rekombinanter CHO-Klon wurde in 7 ml von MCDB302 proteinfreiem Medium für 3 Tage kultiviert. 2 ml des konditionierten Mediums wurde konzentriert, und der Puffer wurde gegen 10 mM Tris-HCl, pH 7,4, ausgetauscht und bis zur Trockenheit lyophilisiert. Das Pellet wurde in SDS-PAGE Probenpuffer resuspendiert und einer reduzierenden SDS-Gelelektrophorese unterworfen und durch Western-Blotting mit einem GGF-Peptidantikörper analysiert. Eine CHO-Kontrolle wurde unter Verwendung von konditioniertem Medium von nicht-transfiziertem CHO-DG44 Wirt durchgeführt und die CHOHS5 Mengen wurden unter Verwendung von konditioniertem Medium aus einem rekombinanten Klon getestet.

Beispiel 8

Isolierung von anderen menschlichen Sequenzen, die mit Rind-GGF verwandt sind

[0219] Die Ergebnisse der Beispiele 5 und 6 zeigen, dass verwandte Sequenzen von GGF aus menschlichen Quellen auch einfach isoliert werden können unter Verwendung der DNA-Sonden, die von GGF-Rindersequenzen abstammen. Alternativ kann das von Holmes et al. (Science 256: 1205 (1992)) beschriebene Verfahren verwendet werden. In diesem Beispiel wurde ein menschliches Protein (Heregulin α), welches an den p185^{erbB2} Rezeptor bindet und diesen aktiviert (und das mit GGF verwandt ist), aus einer Tumorzelllinie gereinigt und die erhaltende Peptidsequenz wurde verwendet, um Oligonukleotidsonden herzustellen, die verwendet wurden, um cDNAs, welche für Heregulin codieren, zu klonieren. Der biochemische Test für die p185^{erbB2} Rezeptoraktivierung ist verschieden von der Schwann-Zellproliferation. Dies ist ein ähnliches Verfahren zu den in den Beispielen 1–4 für die Klonierung der GGF-Sequenzen aus Hypophysen-cDNAs verwendeten Verfahren. Das Heregulinprotein und die komplementären DNAs wurden aus den Tumorzelllinien gemäß den folgenden Verfahren isoliert.

[0220] Heregulin wurde aus Medium gereinigt, das durch MDA-MB-231 Brustkrebszellen konditioniert war (ATCC # HTB 26), gewachsen auf Percell Biolytica Microcarrier-Beads (Hyclone Labs). Das Medium (10 Liter) wurde 25-fach durch Filtration durch eine Membran (10 kD Absperrung) (Millipore) konzentriert und durch Zentrifugation und Filtration durch einen Filter (0,22 μ m) gereinigt. Das Filtrat wurde auf eine Heparin-Sepharose-Säule (Pharmacia) aufgetragen und die Proteine wurden in Schritten von 0,3, 0,6 und 0,9 M NaCl in physiologische Kochsalzlösung, gepuffert mit Phosphat, eluiert. Die Aktivität in den verschiedenen chromatographischen Fraktionen wurde gemessen durch Quantifizierung der Zunahme bei der Tyrosinphosphorylierung von p185^{erbB2} in MCF-7 Brusttumorzellen (ATCC # HTB 22). MCF-7 Zellen wurden auf Costar-Platten mit 24 Vertiefungen und F12 (50%) Dulbecco's essentielles Minimalmedium (50%) gegeben, das Serum (10%) (10⁵ Zellen pro Vertiefung) enthielt. Zur Festhaftung standen die Zellen für wenigstens 24 Stunden. Vor dem Test wurden die Zellen in ein Medium ohne Serum für mindestens 1 Stunde überführt. Die Säulenfraktionen (10 bis 100 μ l) wurden für 30 Minuten bei 37°C inkubiert. Die Überstände wurden dann verdampft und die Reaktion wurde durch Zugabe von SDS-PAGE Probenpuffer (100 μ l) gestoppt. Die Proben wurden für 5 Minuten auf 100°C erhitzt und Teile (10 bis 15 μ l) wurden auf ein Tris-Glycinegel aufgetragen (4 bis 20%) (Novex). Nach der Elektrophorese wurden die Proteine auf eine Polyvinylidendifluorid (PVDF)-Membran elektrogeblottet und dann mit Rinderserumalbumin (5%) in Tris-gepufferter Kochsalzlösung mit Tween-20 (0,05%) (TBST) blockiert. Die Blots wurden mit einem monoklonalen Antikörper (1 : 1.000 Verdünnung) gegen Phosphotyrosin (Upstate Bi-

otechnology) für mindestens 1 Stunde bei Raumtemperatur getestet. Die Blots wurden mit TBST gewaschen, mit einem Antikörper gegen Mausimmunoglobulin G, konjugiert gegen alkalische Phosphatase (Promega) (verdünnt 1 : 7.500) für mindestens 30 Minuten bei Raumtemperatur überprüft. Reaktive Banden wurden visualisiert mit 5-Brom-4-chlor-3-indoyl-1-phosphat und Nitro-Blautetrazolium. Immunblots wurden mit einem Scan Jet Plus (Hewlett-Packard) Densitometer gescannt. Die Intensitäten der Signale für die nicht-stimulierten MCF-7 Zellen betragen 20 bis 30 Einheiten. Voll stimulierte, von p185^{erbB2} abstammende Signale hatten 180 bis 200 Einheiten. Der 0,6 M NaCl Pool, welcher die meiste Aktivität enthielt, wurde auf einer Polyaspartinsäure (PolyLC)-Säule aufgetragen, die mit 17 mM Natriumphosphat (pH 6,8), welches Ethanol (30%) enthielt, äquilibriert war. Ein linearer Gradient von 0,3 M bis 0,6 M NaCl in dem Äquilibrierungspuffer wurde verwendet, um die gebundenen Proteine zu eluieren. Ein Aktivitätsspeak (bei ca. 0,45 M NaCl) wurde ferner auf einer C4-Umkehrsäule (SynChropak RP-4) weiter fraktioniert, die mit Puffer, der TFA (0,1%) und Acetonitril (15%) enthielt, äquilibriert war. Die Proteine wurden von dieser Säule mit einem Acetonitrilgradienten von 25 bis 40% über 60 Minuten eluiert. Die Fraktionen (1 ml) wurden gesammelt, hinsichtlich ihrer Aktivität getestet und mit SDS-PAGE auf Tris-Glycinen (4–20%, Novex) analysiert.

[0221] HPLC gereinigte HRG- α wurde mit Lysin C in SDS (0,1%), 10 mM Dithiothreitol, 0,1 M NH_4HCO_3 (pH 8,0) für 20 Stunden bei 37°C verdaut und die erzielten Fragmente wurden auf einer Synchrom C4-Säule aufgelöst (4.000 Å, 0,2–10 cm). Die Säule war in 0,1% TFA äquilibriert und wurde mit einem 1-Propanolgradienten in 0,1% TFA (W. J. Henzel, J. T. Stults, C. Hsu, D. W. Aswad, J. Biol. Chem. 264, 15905 (1989)) eluiert. Die Peaks von dem chromatographischen Lauf wurden unter Vakuum getrocknet und sequenziert. Eines der Peptide (eluierend bei etwa 24% 1-Propanol) gab die Sequenz [A]AEKEKTF[C]VNGGEXFMVKDLXNP (SEQ ID Nr. 162). Die Reste in den Klammern waren nicht sicher und ein X stellt einen Zyklus dar, bei dem es nicht möglich war, die Aminosäure zu identifizieren. Der Anfangertrag betrug 8,5 pMol und die Sequenz entsprach keinem bekannten Protein. Die Reste 1, 9, 15 und 22 wurden später als Cystein in der cDNA-Sequenz identifiziert. Eine direkte Sequenzierung der etwa 45 kD Bande von dem Gel, welches überladen war und auf eine PVDF Membran gebロットet wurde, ergab eine geringe Häufigkeitssequenz XEXKE[G][R]GK[G]K[G]KKK-EXGXG[K] (SEQ ID Nr. 30) mit einem sehr geringen anfänglichen Ertrag (0,2 pMol). Diese entsprach den Aminosäureresten 2 bis 22 von Heregulin- α (**Fig. 31**), was vermuten lässt, dass Serin 2 der NH_2 -Terminus von proHRG- α ist. Obgleich der NH_2 -Terminus blockiert war, wurde beobachtet, dass gelegentlich eine geringe Menge eines normal blockierten Proteins nicht post-translational modifiziert werden kann.

[0222] Die NH_2 terminale Stellung wurde durch Massenspektrometrie des Proteins nach Verdau mit Cyanogenbromid bestätigt. Der COOH-Terminus des isolierten Proteins wurde nicht definitiv identifiziert. Durch Mischungssequenzierung der proteolytischen Fragmente scheint jedoch die Reifesequenz sich nicht über den Rest 241 hinaus zu erstrecken. Die Abkürzungen für die Aminosäurereste sind: A, Ala; C, Cys; D, Asp; E, Glu; F, Phe; G, Gly; H, His; I, Ile; K, Lys; L, Leu; M, Met; N, Asn; P, Pro; Q, Gln; R, Arg; S, Ser; T, Thr; V, Val; W, Trp; und Y, Tyr.

[0223] Als eine Quelle der cDNA-Klone wurde eine Oligo(dT)-primed λ gt10 (T. V. Huynn, R. A. Young, R. W. Davis, λ gt10 und λ gt11 DNA Cloning Techniques: A Practical Approach, D. Glover, Ed. (ICR Press, Oxford, (1984)) cDNA-Bibliothek hergestellt (U. Gubler und B. J. Hoffman, Gene 25, 263 (1983)) mit gereinigter mRNA (J. M. Chirwin, A. E. Przybyla, R. J. MacDonald, W. J. Rutter, Biochemistry 18, 5294 (1979)) aus MDA-MB-231 Zellen. Das folgende, achtfach degenerierte Antisens-Deoxyoligonukleotid, welches die 13-Aminosäuresequenz AEKEKTFVNGGE (SEQ ID Nr. 31) (13) codiert, wurde aufgebaut auf Basis der menschlichen Codonhäufigkeitsoptima (R. Lathe, J. Mol. Biol. 183, 1 (1985)) und chemisch synthetisiert: 5'-CTCGCC (G oder T) CC (A oder G) TTCAC (A oder G) CAGAAGGTCTTCTCCTTCTCAGC-3' (SEQ ID Nr. 40). Für den Zweck eines Sondenaufbaus wurde ein Cystein für einen unbekanntes Rest in der Aminosäuresequenz verwendet. Die Sonde wurde durch Phosphorylierung markiert und unter Niedrigstringenzbedingungen mit der cDNA-Bibliothek hybridisiert. Das proHRG- α Protein wurde in dieser Bibliothek identifiziert. HRB- β 1 cDNA wurde durch Testung einer sekundären Oligo(dT)-primed λ gt10-Bibliothek identifiziert, die aus MDA-MB-231 Zell-mRNA hergestellt wurde, mit Sequenzen, die von den 5' und 3' Enden von proHRG- α abstammten. Der Klon 13 (**Fig. 2A**) war ein Produkt der Testung eines primed (5'-CCTCGCTCCTTCTTCTTGCCCTTC-3' Primers (SEQ ID Nr. 41); proHRG- α Antisens-Nukleotide 33 bis 56) MDA-MB-231 λ gt10 Bibliothek mit 5' HRG- α Sequenz. Eine Sequenz, die dem 5'-Ende des Klons 13 entsprach, wurde als eine Sonde verwendet für die Identifizierung von proHRG β 2 und proHRG β 3 in einer dritten Oligo(dT)-primed λ gt10 Bibliothek, die von MDA-MB-231 Zell-mRNA abstammte. Zwei cDNA Klone, die für jede der vier HRGs codieren, wurden sequenziert (F. Sanger, S. Milken, A. R. Coulson, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 74, 5463 (1977)). Eine andere, als Klon 84 bezeichnete cDNA hatte eine Aminosäuresequenz, die bis zur Aminosäure 420 mit proHRG β 2 identisch war. Dem Stoppcodon in der Position 421 folgt eine unterschiedliche 3' nicht-translatierte Sequenz.

Isolierung einer weiteren Spleißvariante

[0224] Die Verfahren nach Beispiel 6 ergaben vier nahe verwandte Sequenzen (Heregulin α , β 1, β 2, β 3), die als ein Ergebnis der Spleißvariation entstanden sind. (Peles et al. (Cell 69, 205 (1992) und Wen et al. (Cell 69, 559 (1992)) haben eine andere Spleißvariante (von der Ratte) unter Verwendung eines Reinigungs- und Klo- nierungsansatzes isoliert, der ähnlich zu dem ist, der in den Beispielen 1 bis 4 und 6 beschrieben ist, wobei ein Protein, dass an p185^{erbB2} bindet, beteiligt ist. Der cDNA-Klon wurde wie folgt erzielt (über die Reinigung und Sequenzierung eines p185^{erbB2} Bindungsproteins von einer transformierten Fibroblastenzelllinie der Ratte). Ein p185^{erbB2} Bindungsprotein wurde aus konditioniertem Medium wie folgt gereinigt. Die konditionierten Medien von drei Ernten von 500 Rollerflaschen (insgesamt 120 Liter) wurden gesammelt und durch Filtration durch 0,2 μ Filter gereinigt und 31-fach mit einem Pelicon-Ultrafiltrationssystem unter Verwendung von Membranen mit einer molekularen Größenabsperrung von 20 kD konzentriert. Alte Reinigungsschritte wurden durchgeführt unter Verwendung eines schnellen-Protein-Flüssigkeitschromatographiesystems von Pharmacia. Das konzentrierte Material wurde direkt auf eine Säule von Heparin-Celulose (150 ml, präequilibriert mit phosphatgepufferter Kochsalzlösung (PBS)) gegeben. Die Säule wurde mit PBS, das 0,2 M NaCl enthielt, gewaschen, bis keine Extinktion bei 280 nm Wellenlänge entdeckt werden konnte. Die gewonnenen Proteine wurden dann mit einem kontinuierlichen Gradienten (250 ml) von NaCl (von 0,2 M bis 1,0 M) eluiert und 5 ml Fraktionen wurden gesammelt. Proben (0,01 ml) der gesammelten Fraktionen wurden verwendet für den quantitativen Test der Kinase stimulierenden Aktivität. Aktive Fraktionen von drei Säulenläufen (Gesamtvolumen 360 ml) wurden zusammengegeben, auf 25 ml unter Verwendung einer YM10-Ultrafiltrationsmembran (Amicon, Danvers, MA) konzentriert und Ammoniumsulfat wurde zugegeben, um eine Konzentration von 1,7 M zu erzielen. Nach Reinigung durch Zentrifugation (10.000 \times g, 15 Minuten) wurde das gepoolte Material auf eine Phenyl-Superose-Säule geladen (HR10/10, Pharmacia). Die Säule wurde entwickelt mit einem 45 ml Gradienten aus $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (von 1,7 M bis kein Salz) in 0,1 M Na_2PO_4 (pH 7,4) und 2 ml Fraktionen wurden gesammelt und getestet (0,002 ml pro Probe) für die Kinasestimulierung (wie im Beispiel 6 beschrieben). Der Hauptpeak der Aktivität wurde zusammengefasst und gegen 50 mM Natriumphosphatpuffer (pH 7,3) dialysiert. Eine Mono-S-Kationenaustauschersäule (HR5/5, Pharmacia) wurde präequilibriert mit 50 mM Natriumphosphat. Nach Beladung des aktiven Materials (0,884 mg Protein; 35 ml) wurde die Säule mit dem Startpuffer gewaschen und dann entwickelt mit einer Rate von 1 ml/Minute mit einem Gradienten von NaCl. Die stimulierende Kinaseaktivität wurde bei 0,45–0,55 M Salz entdeckt und über vier Fraktionen von jeweils 2 ml verteilt. Diese wurden zusammengefasst und direkt auf eine Cu^{+2} Chelatsäule (1,6 ml, HR2/5 Chelatsuperose, Pharmacia) geladen. Der Großteil des Proteins adsorbierte an dem Harz und wurde graduell eluiert mit einem 30 ml linearen Gradienten aus Ammoniumchlorid (0–1 M). Die Aktivität eluierte in einem einzelnen Proteinpeak im Bereich von 0,05 bis 0,2 M NH_4Cl . Proben von den verschiedenen Schritten der Reinigung wurden mit Gelelektrophorese analysiert und anschließend mit Silber gefärbt unter Verwendung eines Kits von ICN (Costa Mesa, CA). Die Proteingehalte wurden bestimmt mit einem Coomassie-Blau-Färbungstest unter Verwendung eines Kits von Bio-Rad (Richmond, CA).

[0225] Das p44-Protein (10 μ g) wurde in 200 μ l von 0,1 M Ammoniumbicarbonatpuffer (pH 7,8) wieder gelöst. Der Verdau wurde durchgeführt mit L-1-Tosyl-Amid-2-phenylethylchloromethylketon behandeltem Trypsin (Serva) bei 37°C für 18 Stunden bei einem Enzym-Substrat-Verhältnis von 1 : 10. Die erzielte Peptidmischung wurde mit Hochdruck-Flüssigkeitschromatographie mit umgekehrten Phasen getrennt und bei 215 nm unter Verwendung einer Vydac C4 Mikrosäule (2,1 mm Innendurchmesser \times 15 cm, 300 A) und einem HP 1090 Flüssigkeitschromatographiesystems, ausgerüstet mit einem Diodenarraydetektor und einer Arbeitsstation, überwacht. Die Säule wurde mit 0,1% Trifluoressigsäure (mobile Phase A) äquilibriert und die Elution wurde mit einem linearen Gradienten von 0%–55% mobile Phase B (90% Acetonitril in 0,1% Trifluoressigsäure) über 70 Minuten durchgeführt. Die Fließrate betrug 0,2 ml/Minute und die Säulentemperatur betrug 25°C. Ein dritter Aliquot der Peptidpeaks, die manuell von dem HPLC-System gesammelt wurden, wurde charakterisiert durch N-terminate Sequenzanalyse durch Edman-Abbau. Die nach 27,7 Minuten (T 27,7) eluierte Fraktion enthielt die gemischten Aminosäuresequenzen und wurde nach Reduktion wie folgt weiter chromatographiert. Ein 70% Aliquot der Peptidfraktion wurde im Vakuum getrocknet und in 100 μ l von 0,2 M Ammoniumbicarbonatpuffer (pH 7,8) wieder gelöst. DTT (Endkonzentration 2 mM) wurde der Lösung zugegeben, die dann für 30 Minuten bei 37°C inkubiert wurde. Die reduzierte Peptidmischung wurde dann mit Hochdruck-Flüssigkeitschromatographie mit umgekehrten Phasen unter Verwendung einer Vydac-Säule (2,1 mm Innendurchmesser \times 15 cm) getrennt. Die Elutionsbedingungen und die Fließrate waren identisch mit dem oben beschriebenen Verfahren. Die Analyse der Aminosäuresequenz des Peptides wurde durchgeführt mit einem Modell 477 Proteinsequenziergerät (Applied Biosystems, Inc., Foster City, CA), das mit einem on-line Phenylthiohydantoin (PTH)-Aminosäureanalysator und einem Modell 900 Datenanalysesystem ausgerüstet war (Hunkapiller et al. (1986) In Methods

of Protein Microcharacterization, J. E. Shively, ed. (Clifton, New Jersey: Humana Press; S. 223–247). Das Protein wurde auf eine Glasfaserscheibe geladen, die mit Trifluoressigsäure behandelt war und präcyclesiert mit Polypren und NaCl. Die PTH-Aminosäureanalyse wurde mit einem Mikroflüssigkeitschromatographiesystem (Modell 120) unter Verwendung von zwei Spritzpumpen und englumigen Umkehrphasen (C-18)-Säulen (Applied Biosystems, 2,1 mm × 250 mm) durchgeführt.

[0226] RNA wurde isoliert aus Rat1-EJ Zellen durch Standardverfahren (Maniatis et al., Molecular Cloning: A Laboratory Manual (Cold Spring Harbor, New York (1982) und Poly (A)⁺ wurde selektiert unter Verwendung eines mRNA-Separatorkits (Clontech Lab, Inc., Palo Alto, CA). cDNA wurde synthetisiert mit dem Superscript Kit (von BRL Life Technologies, Inc., Bethesda, MD). Säulen-fractionierte, doppelsträngige cDNA wurde in einen Sal1- und Not1-geschnittenen pJT-2 Plasmidvektor legiert, ein Derivat von dem pCD-X Vektor (Okayama und Berg, Mol. Cell Biol. 3: 280 (1983), und transformiert in DH10B E. Coli Zellen durch Elektroporation (Dower et al., Nucl. Acids Res. 16: 6127 (1988)). Etwa 5×10^5 primäre Transformanten wurden mit zwei Oligonukleotidproben getestet, die abstammten von den Proteinsequenzen des N-Terminus von NDF (Reste 5–24) und von dem T40.4 tryptischen Peptid (Reste 7–12). Ihre entsprechenden Sequenzen waren wie folgt (N zeigt alle 4 nt):

(1) 5'-ATA GGG AAG GGC GGG GGA AGG GTC NCC CTC NGC

A T

AGG GCC GGG CTT GCC TCT GGA GCC TCT-3'

(2) 5'-TTT ACA CAT ATA TTC NCC-3'

C G G C

(1: SEQ ID Nr. 167; 2: SEQ ID Nr. 168)

[0227] Die synthetischen Oligonukleotide wurden endmarkiert mit (γ -³²p)ATP mit T4 Polynukleotidkinase und wurden verwendet, um Replikasets von Nitrocellulosefilter zu screenen. Die Hybridisierungslösung enthielt $6 \times$ SSC, 50 mM Natriumphosphat (pH 6,8), 0,1% Natriumpyrophosphat, 2 × Denhardt's Lösung, 50 µg/ml Lachssperma-DNA und 20% Formamid (für Probe 1) oder kein Formamid (für Probe 2). Die Filter wurden entweder bei 50°C mit $0,5 \times$ SSC, 0,2% SDS, 2 mM EDTA (für Probe 1) oder bei 37°C mit $2 \times$ SSC, 0,2% SDS, 2 mM EDTA (für Probe 2) gewaschen. Die Autoradiographie der Filter ergab zehn Klone, die mit beiden Sonden hybridisierten. Diese Klone wurden durch Wiederplattieren und Probenhybridisierung, wie oben beschrieben, gereinigt.

[0228] Die cDNA-Klone wurden sequenziert unter Verwendung eines Applied Biosystems 373A automatischer DNA Sequenzierer und Applied Biosystems Taq DyeDeoxy™ Terminator cycle sequencing Kits gemäß den Anweisungen des Herstellers. In einigen Fällen wurden die Sequenzen erzielt unter Verwendung von [³⁵S]dATP (Amersham) und Sequenase™ Kits von U.S. Biochemicals gemäß den Anweisungen des Herstellers. Beide Stränge des cDNA-Klons 44 wurden verwendet unter Verwendung der synthetischer Oligonukleotide als Primer. Die Sequenz der meisten 5' 350 nt wurde in sieben unabhängigen cDNA-Klonen bestimmt. Der erzielte Klon zeigte das Muster, welches in der [Fig. 30](#) (NDF) gezeigt ist.

Beispiel 10

Strategien für den Nachweis von anderen möglichen Spleißvarianten

[0229] Die Ausrichtung der abgeleiteten Aminosäuresequenzen von den cDNA-Klonen und den PCR-Produkten vom Rind mit den veröffentlichten menschlichen ([Fig. 31](#)) und Rattensequenzen zeigen ein hohes Maß an Ähnlichkeit, was anzeigt, dass diese Sequenzen von homologen Genen innerhalb der drei Arten abstammen. Die variable Zahl der Boten-RNA-Transkripte, die auf dem cDNA/PCR Produktniveau nachweisbar ist, beruht wahrscheinlich auf einem intensiven gewebespezifischen Splicing. Die erzielten und in der [Fig. 30](#) gezeigten Muster lassen vermuten, dass andere Spleißvarianten existieren. Eine Liste von wahrscheinlichen Spleißvarianten ist in der [Fig. 37](#) angezeigt. Viele von diesen Varianten können durch spezifische codierende Segmenttestung von cDNA-Bibliotheken, die von verschiedenen Geweben abstammen, und durch PCR-Experimente unter Verwendung von Primerpaaren, die spezifisch zu besonderen codierenden Segmenten sind, erzielt werden. Alternativ können die Varianten von spezifischen cDNA-Klonen, PCR-Produkten oder genomischen DNA-Regionen über einen Fachmann bekannte Schneid- und Spleißtechniken zusammengestellt werden. Zum Beispiel kann eine seltene Stelle zum Schneiden mit einem Restriktionsenzym in einem allgemein

codierenden Segment (zum Beispiel A) verwendet werden, um den FBA-Aminoterminus von GGF2BPP5 mit den terminalen Carboxysequenzen von GGF2BPP1, GGF2BPP2, GGF2BPP3 oder GGF2BPP4 zu verbinden. Wenn die Gegenwart oder die Abwesenheit von den codierenden Segmenten E und/oder G einen Vorteil für die betrachteten und angegebenen Verwendungen bereitstellt, können diese codierenden Segmente in die Expressionskonstrukte aufgenommen werden. Diese Variantensequenzen können in rekombinanten Systemen exprimiert werden und die rekombinanten Produkte können getestet werden, um die mitogenetische Aktivität auf Schwann-Zellen zu bestimmen sowie hinsichtlich der Fähigkeit an den p185^{erbB2} Rezeptor zu binden und diesen zu aktivieren.

Beispiel 11

Identifikation von funktionalen Elementen von GGF

[0230] Die abgeleiteten Strukturen der Familie der GGF-Sequenzen zeigen, dass die längsten Formen (repräsentiert durch GGF2BPP4) für Transmembranproteine codieren, wo der extrazelluläre Teil eine Domäne enthält, die dem epidermalen Wachstumsfaktor ähnelt (siehe Carpenter und Wahl in *Peptide Growth Factors and Their Receptors I*, Seite 69–133, Springer-Verlag, NY 1991). Die Positionen der Cysteinreste in den codierenden Segmenten C und C/D oder C/D' Peptidsequenzen sind konserviert bezüglich den analogen Resten in der Peptidsequenz des epidermalen Wachstumsfaktors (EGF) (siehe [Fig. 35](#), SEQ ID Nrn. 151–153). Dies lässt vermuten, dass die extrazelluläre Domäne als Rezeptorerkennungs- und biologische Aktivierungsstelle fungiert. Verschiedene Variantenformen fehlen, wie H, K und L codierende Segmente und können somit als sekretierte, diffusionsfähige, biologisch aktive Proteine exprimiert werden. Die GGF DNA-Sequenzen, die für Polypeptide codieren, welche die EGF-ähnliche Domäne (EGFL) umfassen, können eine volle biologische Aktivität für die Stimulierung der mitogenetischen Gliazellaktivität besitzen.

[0231] Membrangebundene Versionen von diesem Protein können die Schwann-Zellproliferation induzieren, wenn sie auf der Oberfläche von Neuronen während der Embryogenese oder während der Nervenregeneration exprimiert werden (wo die Oberflächen der Neuronen eng assoziiert sind mit den Oberflächen der proliferierenden Schwann-Zellen). Sekretierte (nicht Membran gebundene) GGFs können als klassisch diffusionsfähige Faktoren wirken, die mit den Schwann-Zellen in einiger Entfernung von ihrem Sekretionsort interagieren können. Andere Formen können durch Gewebeverletzung und Zellzerstörung freigesetzt werden. Ein Beispiel für ein sekretiertes GGF ist das Protein, das durch GGF2HBS5 (siehe Beispiel 6) codiert wird. Dies ist das einzig bekannte GGF, das aus der Zelle (Beispiel 7) herausgeführt wird. Sekretion ist wahrscheinlich über eine N-terminale, hydrophobe Sequenz gesteuert, die nur in der Region E gefunden wird, was die N-terminale Domäne darstellt, die innerhalb des rekombinanten GGF-II, das von GGF2HBS5 codiert wird, enthalten ist.

[0232] Andere GGFs scheinen nicht sekretiert zu werden (siehe Beispiel 6). Diese GGFs können Formen auf Verletzungsreaktionen sein, die als Konsequenz einer Gewebeschädigung freigesetzt werden.

[0233] Andere Regionen der prognostizierten Proteinstruktur von GGF-II (codiert von GGF2HBS5) und andere Proteine, welche die Region B und A enthalten, zeigen Ähnlichkeiten zu dem menschlichen Basalmembran-Heparan-Sulfat-Proteoglycan-Kernprotein (Referenz). Das Peptid ADSGEY, das als nächstes zu dem zweiten Cystein der C2 Immunglobulinfalte in diesen GGFs lokalisiert ist, tritt in neun von zweiundzwanzig C-2 Wiederholungen auf, die in diesem Basalmembranprotein gefunden werden. Dieser Hinweis lässt stark vermuten, dass diese Proteine mit Matrixproteinen assoziiert sein können, wie solche, die mit Neuronen und der Glial assoziiert sind und es kann ein Verfahren für die Absonderung von Gliawachstumsfaktoren an den Zielorten vermutet werden.

Beispiel 12

Reinigung von GGFs aus rekombinanten Zellen

[0234] Um die volle Länge oder Teile von GGFs zu erzielen für den Test auf biologische Aktivität, können die Proteine unter Verwendung von klonierter DNA überproduziert werden. Verschiedene Ansätze können angewandt werden. Eine rekombinante E. Coli Zelle, welche die oben beschriebenen Sequenzen enthält, kann hergestellt werden. Expressionssysteme, wie pNH8a oder pHH16a (Stratagene, Inc.), können für diesen Zweck gemäß den Anweisungen des Herstellers verwendet werden. Alternativ können diese Sequenzen in einen Säugetierexpressionsvektor eingefügt werden und eine überproduzierende Zelllinie kann so aufgebaut werden. Für diesen Zweck wurde zum Beispiel DNA, die für einen GGF codiert, Klon GGF2BPP5, in COS-Zellen und in Chinesischen Hamstereizellen exprimiert (siehe Beispiel 7) (*J. Biol. Chem.* 263, 3521–3527, (1981)).

Dieser Vektor enthält die GGF DNA-Sequenzen und kann in Wirtszellen unter Verwendung von etablierten Verfahren transfiziert werden.

[0235] Die transiente Expression kann überprüft werden oder G418 resistente Klone können in Gegenwart von Methotrexat wachsen, um solche Zellen auszuwählen, die das dhfr Gen amplifizieren (enthaltend auf dem pMSXND Vektor) und bei dem Verfahren die benachbarte GGF Protein codierende Sequenz co-amplifizieren. Da die CHO-Zellen in einem total serumfreien, proteinfreien Medium (Hamilton und Ham, *in vitro* 13, 537–547 (1977)) gehalten werden können, kann das gewünschte Protein aus dem Medium gereinigt werden. Western-Analyse unter Verwendung der im Beispiel 9 hergestellten Antiseren kann verwendet werden, um die Gegenwart des gewünschten Proteins in dem konditionierten Medium der überproduzierenden Zellen nachzuweisen.

[0236] Das gewünschte Protein (rGGF-II) wurde aus dem Medium gereinigt, das durch transientexprimierende COS-Zellen konditioniert war. rGGF-II wurde von dem konditionierten Medium geerntet und partiell gereinigt unter Verwendung der Kationenaustauscherchromatographie (POROS-HS). Die Säule wurde äquilibriert mit 33,3 mM MES, pH 6,0. Konditionierte Medien wurden mit einer Fließrate von 10 ml/Minute geladen. Der Peak, der die Schwann-Zellproliferationsaktivität enthielt und immunreaktiv war (unter Verwendung der polyklonalen Antiseren gegen ein oben beschriebenes GGFII Peptid) wurde eluiert mit 50 mM Tris, 1 M NaCl, pH 8,0, ([Fig. 50A](#) und [Fig. 50B](#)).

[0237] rGGF-II wurde auch unter Verwendung einer stabilen Eizelllinie vom Chinesischen Hamster exprimiert. rGGF-II von den geernteten, konditionierten Medien wurde teilweise gereinigt unter Verwendung der Kationenaustauscherchromatographie (POROS-HS). Die Säule wurde äquilibriert mit PBS, pH 7,4. Die konditionierten Medien wurden bei 10 ml/Minute beladen. Der Peak, der die Schwann-Zellproliferationsaktivität und die Immunoreaktivität enthielt (unter Verwendung der GGFII polyklonalen Antiseren) wurde eluiert mit 50 mM HEPES, 500 mM NaCl, pH 8,0. Ein zusätzlicher Peak wurde beobachtet bei 50 mM HEPES, 1 M NaCl, pH 8,0, mit sowohl Proliferation als auch Immunoreaktivitätsaktivität (**Fig. 51**).

[0238] rGGF-II kann ferner gereinigt werden unter Verwendung der hydrophoben Interaktionschromatographie als ein hochauflösender Schritt, der Kationenaustauscher/Umkehrphasenchromatographie (falls notwendig als zweiter hochauflösender Schritt), eines viralen Inaktivitätsschrittes und eines DNA-Entfernungsschrittes, wie eine Anionenaustauscherchromatographie.

[0239] Es folgt eine detaillierte Beschreibung der verwendeten Verfahren:

Die Schwann-Zellproliferationsaktivität des rekombinanten GGF-II Peaks, der von der Kationenaustauschersäule eluiert wurde, wurde wie folgt bestimmt: Die mitogenetischen Reaktionen der kultivierten Schwann-Zellen wurden gemessen in Gegenwart von 5 M Forskolin unter Verwendung des Peaks, der bei 50 mM Tris, 1 M NaCl, pH 8,0, eluiert wurde. Der Peak wurde zugegeben zu 20 1, 10 1 (1 : 10) 10 1 und (1 : 100) 10 1. Die Einlagerung von ¹²⁵I-Uridin wurde bestimmt und nach 18 bis 24-stündiger Exposition exprimiert als (CPM).

[0240] Ein Immunoblot unter Verwendung eines polyklonalen Antikörpers, der gegen ein Peptid von GGF-II gebildet wurde, wurde wie folgt durchgeführt: 10 µl von verschiedenen Fraktionen liefen auf 4–12 Gradientengelen. Die Gele wurden auf Nitrocellulosepapier übertragen und die Nitrocelluloseblots wurden mit 5% BSA blockiert und gegen GGF-II spezifischen Antikörper (1 250 Verdünnung) entwickelt. ¹²⁵I Protein A (1 : 500 Verdünnung, spezifische Aktivität = 9,0/Ci/g) wurde als zweiter Antikörper verwendet. Die Immunoblots wurden auf Kodak Röntgenfilmen für 6 Stunden entwickelt. Die Peakfraktionen, die mit 1 M NaCl eluierten, zeigten ein breites immunreaktives Band bei 65–90 kD, was der erwartete Größenbereich für die GGFII und die Glycoformen mit höheren Molekulargewichten ist.

[0241] Die GGF-II Reinigung auf den Kationenaustauschersäulen wurde wie folgt durchgeführt: Konditionierte Medien von CHO-Zellen, welche rGGFII exprimierten, wurden auf die Kationenaustauschersäule mit 10 ml/Minute geladen und die Säule wurde äquilibriert mit PBS, pH 7,4. Die Elution wurde erzielt mit 50 mM HEPES, 500 mM NaCl, pH 8,0, und 50 mM HEPES, 1 M NaCl, pH 8,0. Alle Fraktionen wurden unter Verwendung des hier beschriebenen Schwann-Zellproliferationstests (CPM) analysiert. Die Proteinkonzentration (mg/ml) wurde unter Verwendung des Bradford Tests unter Verwendung von BSA als Standard bestimmt.

[0242] Ein Western-Blot unter Verwendung von 10 µl von jeder Fraktion wurde durchgeführt. Wie in den [Fig. 51A](#) und [Fig. 51B](#) angezeigt, comigrierte die Immunoreaktivität und die Schwann-Zellaktivität.

[0243] Der hier beschriebene, mitogenetische Schwann-Zelltest kann verwendet werden, um das exprimierte

Produkt des Klons mit voller Länge oder jeden biologisch aktiven Teil davon zu testen. Der Klon mit voller Länge GGF2BPP5 wurde transient in COS-Zellen exprimiert. Intrazelluläre Extrakte von transfizierten COS-Zellen zeigen eine biologische Aktivität, wenn sie in dem in Beispiel 1 beschriebenen Schwann-Zellproliferationstest überprüft wurden. Ferner wurde der GGF2HBS5 codierende Klon mit voller Länge transient in CHO und in Insekten (Beispiel 7)-Zellen exprimiert. In diesem Fall zeigten sowohl der Zellextrakt als auch die konditionierten Medien eine biologische Aktivität in dem in Beispiel 1 beschriebenen Schwann-Zellproliferationstest. Jedes Mitglied der spleißvarianten Familie von komplementärer DNAs, die von dem GGF-Gen (einschließlich den Heregulinen), kann auf diese Weise exprimiert und in dem Schwann-Zellproliferationstest durch einen Fachmann getestet werden.

[0244] Alternativ kann das rekombinante Material von anderen Varianten gemäß Wen et al. (Cell 69, 559 (1992)) isoliert werden, die die Splicingvariante neu Differenzierungsfaktor (NDF) in COS-7 Zellen exprimierten. CDNA Klone, die in dem pJT-2 eukaryontischen Plasmidvektor inseriert sind, sind unter der Kontrolle des frühen SV40 Promotors und werden 3'-flankiert von den SV40 Terminierungs- und Polyadenylierungssignalen. COS-7 Zellen wurden mit der pJT-2 Plasmid-DNA durch Elektroporation wie folgt transfiziert: 6×10^6 Zellen (in 0,8 ml DMEM und 10% FEBS) wurden in eine 0,4 cm Cuvette überführt und gemischt mit 20 µg Plasmid-DNA in 10 µl TE Lösung (10 mM Tris-HCl (pH 8,0), 1 mM EDTA). Die Elektroporation wurde bei Raumtemperatur und bei 1.600 V und 25 µF unter Verwendung eines Bio-Rad Gene Pulser Gerätes durchgeführt, wobei die Pulskontrolleinheit auf 200 Ohm eingestellt wurde. Die Zellen wurden dann in 20 ml DMEM, 10% FBS verdünnt und in eine T75 Flasche (Falcon) überführt. Nach 14 Stunden Inkubation bei 37°C wurde das Medium ersetzt durch DMEM, 1% FBS und die Inkubation wurde für weitere 48 Stunden fortgeführt. Konditioniertes Medium, das rekombinantes Protein enthielt, wurde von den Zellen geerntet, was die biologische Aktivität in einer Zelllinie anzeigt, die den Rezeptor für dieses Protein exprimiert. Diese Zelllinie (kultivierte, menschliche Brustkarzinomzelllinie AU 565) wurde mit dem rekombinanten Material behandelt. Die behandelten Zellen zeigten eine morphologische Veränderung, was charakteristisch für die Aktivierung des erbB2 Rezeptors ist. Konditioniertes Medium von diesem Typ kann auch in dem Schwann-Zellproliferationstest getestet werden.

Beispiel 13 Reinigung und Test der anderen Proteine, die den p185^{erbB2} Rezeptor binden

I. Reinigung von gp30 und p70

[0245] Lupu et al. (Science 249, 1552 (1990)) und Lippman und Lupu (Patentanmeldung Nr. PCT/US91/03443 (1990)), hiermit durch Verweis eingeführt, haben ein Protein aus konditioniertem Medium einer menschlichen Brustkrebszelllinie, MDA-MB-231, wie folgt gereinigt.

[0246] Das Sammeln der konditionierten Medien wurde unter Verwendung von bekannten Verfahren durchgeführt. Die Medien wurden 100-fach in einer Amicon Ultrafiltrationszelle (YM5 Membran) (Amicon, Danvers, MA) konzentriert. Nach Reinigung und Konzentrierung wurden die Medien bei -20°C gelagert, wobei aufeinander folgende Sammlungen während den folgenden Tagen gemacht wurden. Die konzentrierten Medien wurden dialysiert unter Verwendung von Spectra/por® 3 Tubing (Spectrum Medical Industries, Los Angeles, CA) gegen 100 Volumen von 0,1 M Essigsäure über einen zwei Tageszeitraum bei 4°C. Das Material, welches während der Dialyse gefällt wurde, wurde durch Zentrifugation bei 4.000 Umdrehungen pro Minute für 30 Minuten und bei 4°C entfernt. Proteaseinhibitoren wurden zugesetzt. Die gereinigte Probe wurde dann lyophilisiert.

[0247] Lyophilisiertes, konditioniertes Medium wurde in 1 M Essigsäure bis zu einer Endkonzentration von etwa 25 mg/ml Gesamtprotein gelöst. Unlösliches Material wurde durch Zentrifugation bei 10.000 Umdrehungen pro Minute für 15 Minuten entfernt. Die Probe wurde dann auf eine Sephadex G-100 Säule (XK 16, Pharmacia, Piscataway, NJ) geladen, äquilibriert und mit 1 M Essigsäure bei 4°C mit einem Aufwärtsstrom von 30 ml/Stunde eluiert. 100 ng Protein wurde aus 4 ml von 100-fach konzentriertem Medium gewonnen. Fraktionen, die 3 ml des Eluates enthielten, wurden lyophilisiert und resuspendiert in 300 µl PBS für den Test und dienten als Quelle für die weitere Reinigung.

[0248] Sephadex G-100 gereinigtes Material lief auf einer Hochdruck-Flüssigkeitschromatographie mit umgekehrten Phasen (HPLC). Der erste Schritt umfasste einen steilen Acetonitrilgradienten. Der steile Acetonitrilgradient und alle anderen HPLC-Schritte wurden bei Raumtemperatur nach Äquilibrierung der C3-Umkehrphasensäule mit 0,05% TFA (Trifluoressigsäure) in Wasser (HPLC-Qualität) durchgeführt. Die Proben wurden geladen und die Fraktionen wurden mit einem linearen Gradienten (0-45% Acetonitril in 0,05% TFA) bei einer Fließrate von 1 ml/Minute über einen Zeitraum von 30 Minuten eluiert. Die Extinktion wurde bei 280 nm aufgenommen. Ein ml Fraktionen wurden gesammelt und lyophilisiert vor Analyse auf die EGF-Rezeptor-Konkurrenzreaktion.

[0249] Ein zweiter HPLC-Schritt umfasste einen flachen Acetonitrilgradienten. Der Pool der aktiven Fraktionen von dem vorherigen HPLC-Schritt wurde über die gleiche Säule wieder chromatographiert. Die Elution wurde durchgeführt mit einem 0–18% Acetonitrilgradienten in 0,05% TFA über einen Zeitraum von 5 Minuten, worauf sich ein linearer 18–45% Acetonitrilgradient in 0,05% TFA über einen Zeitraum von 30 Minuten anschloss. Die Fließrate betrug 1,0 ml/Minute und 1 ml Fraktionen wurden gesammelt. Der menschliche TG-F α -ähnliche Faktor wurde bei einer 30–32% Acetonitrilkonzentration als ein einzelner Peak, nachweisbar durch RRA, eluiert.

[0250] Lupu et al. (Proc. Natl. Acad. Sci. 89, 2287 (1992)) reinigten ein anderes Protein, das an den p185^{erbB2} Rezeptor bindet. Dieses besondere Protein, p75, wurde aus konditioniertem Medium gereinigt, das für das Wachstum von SKBr-3 (eine menschliche Brustkrebszelllinie) verwendet wurde.

[0251] Die Zelllinie wurde vermehrt in verbessertem Eagle's Medium (IMEM: GIBCO), ergänzt mit 10% fötalem Rinderserum (GIBCO). Das Protein p75 wurde gereinigt aus konzentriertem (100-fach), konditioniertem Medium unter Verwendung einer p185^{erbB2} Affinitätssäule. Die 94 Kilodalton extrazelluläre Domäne von p185^{erbB2} (die p75 bindet) wurde über eine rekombinante Expression hergestellt und an eine Polyacrylamid-Hydrazido-Sepharose Affinitätschromatographiematrix gebunden. Nach Bindung wurde die Matrix intensiv mit eiskalter, 1,0 M HCl gewaschen und die Kügelchen wurden mit 0,5 M NaNO₂ aktiviert. Die Temperatur wurde auf 0°C für 20 Minuten gehalten. Anschließend wurde filtriert und mit eiskalter 0,1 M HCl gewaschen. 500 ml an konzentriertem, konditioniertem Medium lief aufgrund der Schwerkraft durch die Kügelchen. Die Säule wurde gewaschen und stufenweise eluiert mit 1,0 M Zitronensäure bei pH-Werten von 4,0 bis 2,0 (um die Dissoziation von erbB2 und p75 zu erlauben). Alle Fraktionen wurden auf Pharmacia PD10 Säulen entsalzt. Die Reinigung ergab ein homogenes Polypeptid von 75 kDa bei einem 3,0–3,5 Elutions-pH (bestätigt durch Analyse auf SDS/PAGE durch Silberfärbung).

II. Bindung von gp30 an p185^{erbB2}

[0252] Das gereinigte gp30 Protein wurde in einem Test überprüft, um zu bestimmen, ob es an p185^{erbB2} bindet. Ein Konkurrenztest mit einem monoklonalen Antikörper gegen p185^{erbB2}. Das gp30 Protein verdrängte die Antikörperbindung an p185^{erbB2} in SK-BR-3 und MDA-MB-453 Zellen (menschliche Brustkarzinomzelllinien, die den p185^{erbB2} Rezeptor exprimieren). Die Schwann-Zellproliferationsaktivität von gp30 kann auch nachgewiesen werden durch Behandlung der Schwann-Zellkulturen mit gereinigtem gp30 unter Verwendung des in den Beispielen 1–3 beschriebenen Testverfahrens.

III. Bindung von p75 an p185^{erbB2}

[0253] Um zu bestimmen, ob das 75 kDa Polypeptid (p75), das aus dem SKBr-3 konditioniertem Medium erzielt worden war, tatsächlich ein Ligand für das erbB2 Onkoprotein in den SKBr-3 Zellen ist, wurde ein Verdrängungstest, wie oben für gp30 beschrieben, durchgeführt.

[0254] Es wurde gefunden, dass das p75 eine Bindungsaktivität zeigte, wobei das Material von anderen Chromatographiefraktionen solch eine Aktivität nicht zeigte (Daten nicht gezeigt). Das Durchflussmaterial zeigte einige Bindungsaktivität. Dies kann aufgrund der Gegenwart von ausgeschüttetem erbB2 ECD erfolgt sein.

IV. Andere p185^{erbB2} Liganden

[0255] Peles et al. (Cell 69, 205 (1992)) haben auch einen p185^{erbB2} stimulierenden Liganden aus Rattenzellen gereinigt (NDF, siehe Beispiel 8 für die Methode). Holmes et al. (Science 256, 1205 (1992)) haben Heregulin α aus menschlichen Zellen gereinigt, das an 185^{erbB2} bindet und dieses stimuliert (siehe Beispiel 6). Tarakovsky et al. Onkogene 6: 218 (1991) haben die Bindung eines 25 kD Polypeptides, das aus aktivierten Makrophagen isoliert worden war, an den neu Rezeptor gezeigt, eine p185^{erbB2} Homologie, hier durch Verweis eingeführt.

VI. NDF-Isolierung

[0256] Yarden und Peles (Biochemistry 30, 3543 (1991)) haben ein 35 kD Glycoprotein identifiziert, das den 185^{erbB2} Rezeptor stimuliert. Das Protein wurde in konditioniertem Medium gemäß dem folgenden Verfahren identifiziert. I-EJ Rattenzellen wuchsen bis zum Zusammenströmen in 175 cm² Flaschen (Falcon). Einzelschichten wurden mit PBS gewaschen und in einem serumfreien Medium für 10 bis 16 Stunden belassen. Das Medium wurde verworfen und durch frisches, serumfreies Medium ersetzt, das nach dreitägiger Kultur gesam-

melt wurde. Das konditionierte Medium wurde durch Zentrifugation bei geringer Geschwindigkeit gereinigt und in einer Amicon-Ultrafiltrationszelle mit einer YM2-Membran (Absperrung bei einem Molekulargewicht von 2.000) konzentriert. Die biochemischen Analysen der neu stimulierenden Aktivität in dem konditionierten Medium zeigten, dass der Ligand ein 35-kD Glycoprotein ist, welches hitzestabil aber empfindlich gegenüber einer Reduktion ist. Der Faktor ist entweder durch hohe Salzkonzentrationen oder durch sauren Alkohol fällbar. Eine partielle Reinigung des Moleküls durch selektive Fällung, Heparin-Agarose-Chromatographie und Gelfiltration in verdünnter Säure führte zu einem aktiven Liganden, der zur Stimulierung des protoonkogenen Rezeptors in der Lage ist, und der aber nicht wirksam ist auf tumorerzeugendes neu Protein, welches konstitutiv aktiv ist. Die gereinigte Fraktion zeigte jedoch die Fähigkeit auch zur Stimulierung des verwandten Rezeptors von EGF, was vermuten lässt, dass diese zwei Rezeptoren durch einen bidirektionalen Mechanismus funktional verbunden sind. Alternativ interagiert der angenommene Ligand simultan mit beiden Rezeptoren. Die dargestellte biochemische Charakterisierung des Faktors kann benutzt werden, um einen vollständig gereinigten Faktor zu erzielen, mit dem diese Möglichkeiten zu testen sind.

[0257] In anderen Publikationen beschreiben Davis et al. (Biochem. Biophys. Res. Commun. 179, 1536 (1991), Proc. Natl. Acad. Sci. 88, 8582 (1991) und Greene et al., PCT-Patentanmeldung PCT/US91/02331 (1990) die Reinigung eines Proteins aus konditioniertem Medium einer menschlichen T-Zell (ATL-2)-Zelllinie.

[0258] Die ATL-2 Zelllinie ist eine IL-2 unabhängige HTLV-1 (+) T Zelllinie. Mycoplasmenfreie ATL-2 Zellen wurden in RPMI 1640 Medium, das 10% FCB enthielt, als Kulturmedium (10% FCS-RPMI 1640) bei 37°C in einer befeuchteten Atmosphäre mit 5% CO₂ gehalten.

[0259] Für die Reinigung der proteinartigen Substanz wurden die ATL-2 Zellen zweimal in 1 × PBS gewaschen und zu 3 × 10⁵ ml in serumfreiem RPMI 1640 Medium/2 mM L-Glutamin kultiviert für 72 Stunden. Anschließend wurden die Zellen pelletiert. Der Kulturüberstand, der so hergestellt wurde, wird als „konditioniertes Medium“ (C. M.) bezeichnet.

[0260] C. M. wurde 100-fach von 1 Liter auf 10 ml konzentriert unter Verwendung einer YM-2 Diaflo-Membran (Amicon, Boston, MA) mit einer Absperrung bei 1.000 Dalton. Zur Verwendung bei einigen Tests wurde konzentriertes Kulturmedium, das Komponenten mit einem größeren Molekulargewicht als 1.000 enthielt, wieder auf das Ursprungsvolumen mit RPMI Medium verdünnt. Eine Gelelektrophorese unter Verwendung eines Polyacrylamid-Gradientengels (Integrated Separation Systems, Hyde Park, MD oder Phorecast System by Amersham, Arlington Heights, IL) mit anschließender Silberfärbung von einigem Material aus diesem zwei-Säulen-gereinigtem Material von der 1 Liter Zubereitung ergab wenigstens vier bis fünf Banden, von denen die 10 kD und die 20 kD Banden für dieses Material einzigartig waren. Passiertes Kulturmedium mit Komponenten mit einem Molekulargewicht von weniger als 1.000 wurde ohne Verdünnung verwendet.

[0261] Konzentriertes, konditioniertes Medium wurde filtersterilisiert mit einem 0,45 µ Uniflo-Filter (Schleicher und Schuell, Keene, NH) und dann weiter gereinigt durch Anwendung einer DEAE-SW Anionenaustauschersäule (Waters, Inc., Milford, MA), die zuvor mit 10 mM Tris-Cl, pH 8,1, präequilibriert worden war. Konzentrierte C. M. Proteine, die 1 Liter des ursprünglichen ATL-2 konditionierten Medium pro HPLC-Lauf darstellten, wurden an die Säule absorbiert und dann mit einem linearen Gradienten von 0 mM bis 40 mM NaCl bei einer Fließrate von 4 ml/Minute eluiert. Die Fraktionen wurden getestet unter Verwendung eines in vitro Immunkomplex-Kinasetests mit 10% der geeigneten DEAE-Fraktion (ein Säulen gereinigtes Material) oder 1% der geeigneten C18 Fraktion (zwei Säulen gereinigtes Material). Die Aktivität, welche die Tyrosinkinaseaktivität von p185c-neu in einer dosisabhängigen Weise unter Verwendung des in vitro Immunkomplex-Kinasetests ansteigen ließ, wurde als ein dominanter Peak über vier bis fünf Fraktionen (36–40) bei etwa 220 bis 240 mM von NaCl eluiert. Nach HPLC-DEAE Reinigung wurden die Proteine in den aktiven Fraktionen konzentriert und vereinigt, konzentriert und einer C18 (Millionenmatrix) Umkehrphasenchromatographie (Waters, Inc. Milford, MA) (bezeichnet als der C18 + 1 Schritt oder zwei Säulen gereinigtes Material) unterworfen. Die Elution wurde mit einem linearen Gradienten von 2-Propanol gegen 0,1% TFA durchgeführt. Alle Fraktionen wurden gegen RPMI 1640 Medium dialysiert, um das 2-Propanol zu entfernen, und unter Verwendung des in vitro Immunkomplex-Kinasetests getestet, der unten beschrieben ist, und eine 1% Konzentration der geeigneten Fraktion. Die Aktivität, welche die Tyrosinkinaseaktivität in p185c-neu ansteigen ließ, wurde in zwei Peaks eluiert. Ein Peak eluierte in der Fraktion 11–13, während ein zweiter, etwas weniger aktive Peak in den Fraktionen 20–23 eluierte. Diese zwei Peaks entsprachen etwa 5 bis 7% Isopropanol beziehungsweise 11 bis 14% Isopropanol. C18#1 erzeugte Fraktionen 11–13 wurden in den Charakterisierungsstudien verwendet. Die aktiven Fraktionen, die von dem zweiten Chromatographieschritt erzielt wurden, wurden zusammengefasst und als die proteinartige Substanzprobe bezeichnet.

[0262] Eine 20 Liter Zubereitung verwendete die gleiche Reinigungsstrategie. Die DEAE aktiven Fraktionen 35–41 wurden gesammelt und einer C18 Chromatographie, wie oben diskutiert, unterworfen. Die C18#1 Fraktionen 11–13 und 21–24 hatten beide eine dosisabhängige Aktivität. Der Pool der Fraktion 11–13 wurde einem zusätzlichen C18 Chromatographieschritt unterworfen (bezeichnet als C18#2 oder drei Säulen gereinigtes Material). Wiederum hatten die Fraktionen 11–13 und 21–24 die Aktivität. Die Dosisreaktion der Fraktion 23 wurde durch den in vitro Immunkomplex-Kinasetest, wie im Beispiel 8 beschrieben, bestimmt und kann erzielt werden durch Zugabe von 0,005 Volumenprozent an Fraktion 23 und 0,05 Volumenprozent an Fraktion 23. Dies stellt die größte erzielte Reinheit dar.

[0263] Die Molekulargewichtsbereiche wurden auf Basis einer Gelfiltrationschromatographie und einer Ultrafiltrationsmembrananalyse bestimmt. Nahezu gleiche Mengen an Tyrosinkinaseaktivität wurden beibehalten und passierten einen Filter mit einer Absperrung bei einem Molekulargewicht von 10.000. Fast die gesamte Aktivität passierte einen Filter mit einer Absperrung bei einem Molekulargewicht von 30.000. Die Molekulargewichtsbereiche für die aktiven chromatographischen Fraktionen wurden bestimmt durch Vergleich der Fraktionen, welche die dosisabhängige, neu aktivierende Aktivität enthielten, mit den Elutionsprofilen eines Satz an Proteinen als Molekulargewichtsstandards (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO), die unter den gleichen Laufbedingungen erzeugt wurden. Eine Aktivität mit einem niedrigen Molekulargewicht wurde zwischen 7.000 und 14.000 Daltons identifiziert. Ein zweiter Bereich an Aktivität ergab sich bei 14.000 bis etwa 24.000 Daltons.

[0264] Nach der Gelelektrophorese unter Verwendung eines Polyacrylamid- Gradientengels (integrated Separation Systems, Hyde Park, MD oder Phorecase System von Amersham, Arlington Heights, IL), wurde die Silberfärbung des drei Säulen gereinigten Materials (C18#2) mit einem kommerziell verfügbaren Silberfärbungskit (BioRad, Rockville Centre, NY) durchgeführt. Die Fraktionen 21, 22, 23 und 24 von der C18#2 Reinigung der 20 Liter Zubereitung liefen mit den Markern. Die Fraktionen 22 und 23 zeigten die höchsten Dosierungsreaktionen in dem 185^{erbB2} (neu) Kinasetest (siehe unten). Die Tatsache, dass die ausgewählten Molekulargewichtsfractionen mit 185^{erbB2} interagieren, wurde mit einem Immunkomplex-Kinasetest demonstriert.

[0265] Huang et al. (1992, J. Biol. Chem. 257: 11508–11512), hiermit durch Referenz eingeführt, isolierten einen zusätzlichen neu/erbB2 Ligandenwachstumsfaktor aus der Rinderniere. Der 25 kD Polypeptidfaktor wurde durch ein Verfahren mit Säulenfraktionierung und anschließender sequenzieller Säulenchromatographie auf DEAE/Cellulose (DE52), Sulfadex (sulfatiertes Sephadex G-50), Heparin-Sepharose 4B und Superdex 75 (schnelle Proteinflüssigchromatographie) isoliert. Der Faktor, NEL-GF, stimuliert die tyrosinspezifische Autophosphorylierung des neu/erbB2 Genproduktes.

VII. Immunkomplextest NDF für die Ligandenbindung an p185^{erbB2}

[0266] Dieser Test zeigt die Unterschiede in der Autophosphorylierungsaktivität von immungefälltem p185 durch die Präinkubation von PN-NR6 Zelllysate mit verschiedenen Mengen von ATL-2 konditioniertem Medium (C. H.) oder der proteinartigen Substanz, und wird folgenden bezeichnet als die neu aktivierende Aktivität.

[0267] Die bei dem Immunkomplex-Kinasetest verwendeten Zelllinien wurden erzielt, hergestellt und kultiviert gemäß den Verfahren, die offenbart sind in Kokai et al., Cell 55, 287–292 (Juli 28, 1989), deren Offenbarungen hiermit durch Verweis eingeführt sind, als seien sie selbst hier aufgeführt, und in der US-Anmeldung mit der Nummer 386,820, eingereicht am 27. Juli 1989 im Namen von Mark I. Green, bezeichnet „Methods of Treating Cancerous Cells with Anti-Receptor Antibodies“, deren Offenbarungen hiermit durch Verweis eingeführt sind als seien sie vollständig hier aufgeführt.

[0268] Die Zelllinien wurden alle erhalten in DMEM Medium, das 5% FCS enthielt, als das Kulturmedium (5% FCS-DMEM) bei 37°C in einer angefeuchteten Atmosphäre bei 5% CO₂.

[0269] Dichte Kulturen von Zellen in 150 mm Schalen wurden zweimal mit kaltem PBS gewaschen, in 10 ml gefrorenem-aufgetauten Puffer (150 mM NaCl, 1 mM MgCl₂, 20 mM Hepes, pH 7,2, 10% Glycerin, 1 mM EDTA, 1% Aprotinin) gekratzt und zentrifugiert (600 × g, 10 Minuten). Zellpellets wurden resuspendiert in 1 ml Lysis-puffer (50 mM Hepes, pH 7,5, 150 mM NaCl, 3% Brij 35, 1 mM EDTA, 1,5 mM MgCl₂, 1% Aprotinin, 1 mM EGTA, 20 μM Na₃VO₄, 10% Glycerin) und für 30 Minuten bei 4°C zentrifugiert. Alle Chemikalien stammten von Sigma Chemical Co., St. Louis, Mo, soweit nichts anderes angegeben ist. Das unlösliche Material wurde durch Zentrifugation bei 40.000 × g für 30 Minuten entfernt. Der klare Überstand, der im folgenden verwendet wurde, wird als Zelllysate bezeichnet.

[0270] Die Zelllysate wurden für 15 Minuten mit 50 µl von 50% (Volumen/Volumen) Protein A-Sepharose (Sigma Chemical Co., St. Louis, Missouri) inkubiert und für zwei Minuten zentrifugiert, um die Lysate zu klären. 50 µl Aliquots der geklärten Zelllysate wurden auf Eis für 15 Minuten mit konditioniertem Medium, der proteinartigen Substanz oder anderen Faktoren, wie spezifiziert, in einem Endvolumen von 1 ml mit Lysispuffer inkubiert. Die Proben wurden dann mit 5 µg von 7,164 monoklonalem Antikörper inkubiert, der die extrazelluläre Domäne von p185neu und p185c-neu erkennt, oder mit anderen geeigneten Antikörpern für 20 Minuten auf Eis inkubiert und anschließend erfolgte eine 20 Minuten Inkubation mit 50 µl von 50% (Volumen/Volumen) Protein A-Sepharose mit Drehung bei 4°C. Immunkomplexe wurden durch Zentrifugation gesammelt, viermal mit 500 µl Waschpuffer (50 mM Hepes, pH 7,5, 0,1% Brij 35, 150 mM NaCl, 2 mM EDTA, 1% Aprontinin, 30 µM Na₃VO₄) gewaschen, dann zweimal mit Reaktionspuffer (20 mM Hepes (pH 7,4), 3 mM MnCl₂ und 0,1% Brij 35, 30 µM Na₃VO₄). Die Pellets wurden resuspendiert in 50 µl Reaktionspuffer und (Gamma-³³P)-ATP (Amersham, Arlington Heights, IL) wurde zugegeben, um eine Endkonzentration von 0,2 µM zu erzielen. Die Proben wurden bei 27°C für 20 Minuten inkubiert oder bei 4°C für 25 Minuten mit reineren Proben. Die Reaktionen wurden beendet durch Zugabe von 3 × SDS Probenpuffer, der 2 mM ATP und 2 mM EDTA enthielt, und wurden dann bei 100°C für 5 Minuten inkubiert. Die Proben wurden dann einer SDS-PAGE Analyse aus 10% Acrylamidgel unterworfen. Die Gele wurden gefärbt, getrocknet und mit Kodak XAR oder XRP Film mit Verstärkerfolien entwickelt.

VIII. Reinigung der den Acetylcholin-Rezeptor induzierenden Aktivität (ARIA)

[0271] ARIA, ein 24 kD Protein, welches die Acetylcholin-Rezeptorsynthese stimuliert, wurde im Labor von Gerald Fischbach (Falls et al., Cell 72: 801–815 (1993)) isoliert. ARIA induziert die Tyrosinphosphorylierung eines 185 kD Muskelmembranproteins, das p185^{erbB2} ähnelt und die Acetylcholinrezeptorsynthese in kultivierten Embryomyotubes stimuliert. Die Sequenzanalyse der cDNA Klone, die ARIA codieren, zeigt, dass ARIA ein Mitglied der GGF/erbB2 Ligandengruppe von Proteinen ist, wobei dies potentiell nützlich bei der Stimulierung der Gliazellmitogenese und anderen Anwendungen von zum Beispiel GGF2, wie hier beschrieben, ist.

Beispiel 14

Proteintyrosinphosphorylierung, vermittelt durch GGF in Schwann-Zellen

[0272] Schwann-Zellen der Ratte zeigen eine Stimulierung der Proteintyrosinphosphorylierung ([Fig. 36](#)) nach Behandlung mit ausreichenden Mengen an Gliawachstumsfaktor, um die Proliferation zu induzieren. Unterschiedliche Mengen an partiell gereinigtem GGF wurden bei einer primären Kultur von Schwann-Zellen der Ratte gemäß dem Verfahren, das im Beispiel 3 dargestellt ist, angewandt. Die Schwann-Zellen wuchsen in DMEM/10% fötales Kalbsserum/5 µM Forskolin/0,5 µg pro ml GGF-CM (0,5 ml pro Vertiefung) in Poly-D-Lysin beschichteten Platten mit 24 Vertiefungen. Wenn die Zellen zusammenflossen, wurden die Zellen mit DMEM/10% fötalem Kälberserum mit 0,5 ml pro Vertiefung gefüttert und in einem Inkubator über Nacht belassen, um sie still zu legen. Am folgenden Tag wurden die Zellen mit 0,2 ml von DMEM/10% fötalem Kälberserum gefüttert und im Inkubator für 1 Stunde belassen. Testproben wurden dann direkt dem Medium mit verschiedenen Konzentrationen zugesetzt und für verschiedene Zeiträume, wie erforderlich. Die Zellen wurden dann in kochendem Lysispuffer (Natriumphosphat, 5 mM, pH 6,8; SDS, 2%, β-Mercaptoethanol, 5%; Dithiothreitol, 0,1 M; Glycerin, 10%; Bromphenol-Blau, 0,4%; Natriumvanadat, 10 mM) lysiert, im kochenden Wasserbad für 10 Minuten inkubiert und dann entweder direkt analysiert oder bei –70°C eingefroren.

[0273] Die Proben wurden analysiert durch einen Lauf auf 7,5% SDS-PAGE Gelen und durch Elektroblothing auf Nitrocellulose unter Verwendung der Standardverfahren, wie sie beschrieben sind von Towbin et al. (1979) Proc. Natl. Acad. Sci, USA 76: 4350–4354. Die gebloottete Nitrocellulose wurde mit Antiphosphotyrosin-Antikörper unter Verwendung von Standardverfahren getestet, wie sie beschrieben sind in Kamps und Selton (1983), Oncogene 2: 305–315. Die entwickelten Blots wurden über Nacht einem Autoradiographiefilm ausgesetzt und unter Verwendung eines Standardlaborentwicklers entwickelt. Die densitometrischen Messungen wurden durchgeführt unter Verwendung eines Ultrascan XL Enhanced Laserdensitometer (LKB). Die Molekulargewichtsbestimmungen wurden relativ zu vorgefärbten Standards mit hohem Molekulargewicht (Sigma) gemacht. Die Dosisreaktionen der Proteinphosphorylierung und der Schwann-Zellproliferationen waren sehr ähnlich ([Fig. 36](#)). Das Molekulargewicht der phosphorylierten Bande ist sehr nahe an dem Molekulargewicht von p185^{erbB2}. Ähnliche Resultate wurden erzielt, wenn Schwann-Zellen direkt mit konditionierten Medien behandelt wurden, die von COS-Zellen hergestellt wurden, die mit dem GGF2HBS5 Klon translatiert worden waren. Diese Ergebnisse korrelieren sehr gut mit der erwarteten Interaktion der GGFs mit und der Aktivierung von 185^{erbB2}.

[0274] Dieses Experiment wurde mit rekombinantem GGF-II wiederholt. Das konditionierte Medium, das von

einer CHO Zelllinie abstammte, die stabil mit dem GGF-II Klon (GGF2HBS5) transformiert war, stimulierte die Proteintyrosinphosphorylierung unter Verwendung des oben beschriebenen Tests. Pseudotransfizierte CH Zellen stimulierten diese Aktivität nicht ([Fig. 52](#)).

Beispiel 15

Test für die Schwann-Zellproliferation durch den Proteinfaktor aus der MDA-MB-231 Zelllinie

[0275] Die Schwann-Zellproliferation wird vermittelt durch das konditionierte Medium, das von der menschlichen Brustkrebszelllinie MDA-MB-231 abstammt. Am Tag 1 des Tests wurden 10^4 primäre Schwann-Zellen der Ratte in 100 μ l von Dulbecco's modifiziertem Eagle's Medium gegeben, das mit 5% fötalem Rinderplasma pro Vertiefung in einer Mikrotiterplatte mit 96 Vertiefungen ergänzt war. Am Tag 2 des Tests wurden 10 μ l des konditionierten Mediums (von der menschlichen Brustkrebszelllinie MDA-MB-231, kultiviert wie in Beispiel 6 beschrieben) zu jeder Vertiefung der Mikrotiterplatte zugesetzt. Am Tag 6 wurde die Zahl der Schwann-Zellen pro Platte bestimmt unter Verwendung eines sauren Phosphatsetests (gemäß dem Verfahren von Connolly et al. Anal. Biochem. 152: 136 (1986)). Die Schale wurde mit 100 μ l phosphatgepufferter Kochsalzlösung (PBS) gewaschen und mit 100 μ l Reaktionspuffer (0,1 M Natriumacetat, (pH 5,5), 0,1% Triton X-100 und 10 mM p-Nitrophenylphosphat) wurde pro Vertiefung zugesetzt. Die Schale wurde bei 37°C für 2 Stunden inkubiert und die Reaktion wurde durch Zugabe von 10 μ l von 1 N NaOH gestoppt. Die optische Dichte von jeder Probe wurde in einem Spektrophotometer bei 410 nm bestimmt. Eine 38% Stimulation der Zellzahl von Schwann-Zellen, die mit konditioniertem Medium behandelt waren, gegenüber einer Kontrollzelllinie (HS-294T, ein Nichtproduzent von den erbB-2 Liganden) wurde beobachtet. Dieses Ergebnis zeigt, dass ein Protein, das durch die MDA-MB-231Zelllinie abgegeben wird (welche eine p185^{erbB2} Bindungsaktivität abgibt), die Schwann-Zellproliferation stimuliert.

Beispiel 16

N-Glykosylierung von GGF

[0276] Die Proteinsequenz, die von der cDNA Sequenz der GGF-II Kandidatenklone GGF2BPP1, 2 und 3 abgeleitet ist, enthält eine Reihe an Consensus-N-Glykosylierungsmotiven. Eine Lücke in der GGFII02 Peptidsequenz stimmt mit dem Asparaginrest in einem von diesen Motiven überein, was anzeigt, dass ein Kohlenhydrat wahrscheinlich an dieser Stelle gebunden ist.

[0277] Die N-Glykosylierung der GGFs wurde untersucht durch Beobachtung der Mobilitätsveränderungen auf SDS-PAGE nach Inkubation mit N-Glycanase, was ein Protein ist, das die kovalenten Bindungen zwischen Kohlenhydraten und Asparaginresten in Proteinen spaltet.

[0278] Die N-Glycanasebehandlung von GGF-II ergab eine Hauptbande bei MW 40–42 kDa und eine kleinere Bande bei 45–48 kDa. Aktivitätselektrophoreseexperimente unter nicht-reduzierenden Bedingungen zeigten eine einzelne, aktive deglykosylierte Spezies von etwa 45–50 kDa.

[0279] Aktivitätselektrophoreseexperimente mit GGF-I zeigten auch eine Zunahme der elektrophoretischen Mobilität, wenn eine Behandlung mit N-Glycanase erfolgte, was eine aktive Spezies von MW 26–28 kDa ergab. Die Silberfärbung bestätigte, dass eine Mobilitätsveränderung vorlag, obgleich keine N-deglycolisierte Bande entdeckt werden konnte aufgrund der Hintergrundfärbung in der verwendeten Probe.

Hinterlegung

[0280] Die Nukleinsäure, codierend für GGF-II (cDNA, GGF2HBS5) Protein (Beispiel 6) in einem Plasmid pBluescript 5k unter der Kontrolle des T7 Promotors wurde hinterlegt bei American Type Culture Collection, Rockville, Maryland, am 2. September 1992 und erhielt die ATCC Zugangsnummer 75298. Der Anmelder erkennt seine Verantwortlichkeit hinsichtlich des Ersatzes dieses Plasmides, wenn dieses vor Ende des Ablaufs des herausgegebenen Patentes nicht lebensfähig werden sollte, sowie seine Verantwortlichkeit hinsichtlich der Information des ATCC bei der Erteilung von solch einem Patent, wobei dann die Hinterlegung der Öffentlichkeit verfügbar gemacht werden wird. Vor diesem Zeitpunkt wird die Hinterlegung verfügbar sein durch den „Commissioner of Patents“ gemäß 37 CFR § 1.14 und 35 USC § 112.

Sequenzliste

<110> GOODEARL, ANDREW
 STROOBANT, PAUL
 MINGHETTI, LUISA
 WATERFIELD, MICHAEL
 MARCHIONNI, MARK
 CHEN, MARIO S.
 HILES, IAN

<120> Mitogenetische Gliafaktoren, ihre Herstellung
 und Verwendung

<130> 04585/002EP5

<140> 93918139.2
 <141> 1993-06-29

<150> 07/907,138
 <151> 1992-06-30

<150> 07/940,389
 <151> 1992-09-03

<150> 07/965,173
 <151> 1992-10-23

<150> 08/036,555
 <151> 1993-03-24

<150> PCT/US93/06228
 <151> 1993-06-29

<160> 257

<170> FastSEQ for Windows Version 4.0

<210> 1
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Bos taurus

<400> 1
 Phe Lys Gly Asp Ala His Thr Glu
 1 5

<210> 2
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> Bos taurus

<220>
 <221> VARIANT
 <222> (1)...(12)
 <223> Xaa in Pos. 1 ist Lysin oder Arginin; Xaa in Pos.12
 ist unbekannt

<400> 2
 Xaa Ala Ser Leu Ala Asp Glu Tyr Glu Tyr Met Xaa Lys

1

5

10

<210> 3
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Bos taurus

<220>
 <221> VARIANT
 <222> (1)...(10)
 <223> Xaa in Pos.1 ist Lysin oder Arginin;Xaa in Pos.10
 ist unbekannt

<400> 3
 Xaa Thr Glu Thr Ser Ser Ser Gly Leu Xaa Leu Lys
 1 5 10

<210> 4
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Bos taurus

<220>
 <221> VARIANT
 <222> (1)...(1)
 <223> Xaa in Pos.1 ist Lysin oder Arginin

<400> 4
 Xaa Lys Leu Gly Glu Met Trp Ala Glu
 1 5

<210> 5
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Bos taurus

<220>
 <221> VARIANT
 <222> (1)...(1)
 <223> Xaa in Pos.1 ist Lysin oder Arginin

<400> 5
 Xaa Leu Gly Glu Lys Arg Ala
 1 5

<210> 6
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Bos taurus

<220>
 <221> VARIANT
 <222> (1)...(1)
 <223> Xaa in Pos.1 ist Lysin oder Arginin

<400> 6
 Xaa Ile Lys Ser Glu His Ala Gly Leu Ser Ile Gly Asp Thr Ala Lys
 1 5 10 15

<210> 7
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> Bos taurus

<220>
 <221> VARIANT
 <222> (1)...(1)
 <223> Xaa in Pos.1 ist Lysin oder Arginin;

<400> 7
 Xaa Ala Ser Leu Ala Asp Glu Tyr Glu Tyr Met Arg Lys
 1 5 10

<210> 8
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Bos taurus

<220>
 <221> VARIANT
 <222> (1).. (1)
 <223>Xaa in Pos. 1 ist Lysin oder Arginin

<400> 8
 Xaa Ile Lys Gly Glu His Pro Gly Leu Ser Ile Gly Asp Val Ala Lys
 1 5 10 15

<210> 9
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> Bos taurus

<220>
 <221> VARIANT
 <222> (1)...(12)
 <223>Xaa in Pos.1 ist Lysin oder Arginin und Xaa in Pos.12
 ist unbekannt

<400> 9
 Xaa Met Ser Glu Tyr Ala Phe Phe Val Gln Thr Xaa Arg
 1 5 10

<210> 10
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Bos taurus

<220>
 <221> VARIANT
 <222> (1)...(1)
 <223> Xaa in Pos.1 ist Lysin oder Arginin

<400> 10
 Xaa Ser Glu His Pro Gly Leu Ser Ile Gly Asp Thr Ala Lys
 1 5 10

<210> 11

<211> 10
 <212> PRT
 <213> Bos taurus

<220>
 <221> VARIANT
 <222> (1)...(8)
 <223> Xaa in Pos.1 ist Lysin oder Arginin; Xaa in Pos.8
 ist unbekannt

<400> 11
 Xaa Ala Gly Tyr Phe Ala Glu Xaa Ala Arg
 1 5 10

<210> 12
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Bos taurus

<220>
 <221> VARIANT
 <222> (1)...(7)
 <223> Xaa in Pos.1 ist Lysin oder Arginin; Xaa in Pos.7 ist
 unbekannt

<400> 12
 Xaa Lys Leu Glu Phe Leu Xaa Ala Lys
 1 5

<210> 13
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Bos taurus

<220>
 <221> VARIANT
 <222> (1)...(1)
 <223> Xaa in Pos. 1 ist Lysin oder Arginin

<400> 13
 Xaa Thr Thr Glu Met Ala Ser Glu Gln Gly Ala
 1 5 10

<210> 14
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Bos taurus

<220>
 <221> VARIANT
 <222> (1)...(1)
 <223> Xaa in Pos.1 ist Lysin oder Arginin

<400> 14
 Xaa Ala Lys Glu Ala Leu Ala Ala Leu Lys
 1 5 10

<210> 15
 <211> 8

<212> PRT
 <213> Bos taurus

<220>
 <221> VARIANT
 <222> (1)...(1)
 <223> Xaa in Pos.1 ist Lysin oder Arginin

<400> 15
 Xaa Phe Val Leu Gln Ala Lys Lys
 1 5

<210> 16
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Bos taurus

<220>
 <221> VARIANT
 <222> (1)...(1)
 <223> Xaa in Pos.1 ist Lysin oder Arginin

<400> 16
 Xaa Leu Gly Glu Met Trp
 1 5

<210> 17
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Bos taurus

<400> 17
 Glu Tyr Lys Cys Leu Lys Phe Lys Trp Phe Lys Lys Ala Thr Val Met
 1 5 10 15

<210> 18
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Bos taurus

<220>
 <221> VARIANT
 <222> (8)...(8)
 <223> Xaa in Pos.8 ist unbekannt

<400> 18
 Glu Ala Lys Tyr Phe Ser Lys Xaa Asp Ala
 1 5 10

<210> 19
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Bos taurus

<220>
 <221> VARIANT
 <222> (2)...(2)
 <223> Xaa in Pos.2 ist unbekannt

<400> 19
 Glu Xaa Lys Phe Tyr Val Pro
 1 5

<210> 20
 <211> 26
 <212> PRT
 <213> Bos taurus

<400> 20
 Glu Leu Ser Phe Ala Ser Val Arg Leu Pro Gly Cys Pro Pro Gly Val
 1 5 10 15
 Asp Pro Met Val Ser Phe Pro Val Ala Leu
 20 25

<210> 21
 <211> 2003
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<220>
 <221> variation
 <222> (31)...(32)
 <223> N in Pos.31oder 32 kann A oder G sein

<221> CDS
 <222> (265)...(1530)

<400> 21
 ggaattcctt tttttttttt ttttttctt nttttttttt tgcccttata cctcttcgcc
 60
 tttctgtggt tccatccact tcttccccct cctcctccca taaacaactc tcctaccct
 120
 gcacccccaa taaataaata aaaggaggag ggcaaggggg gaggaggagg agtggtgctg
 180
 cgaggggaag gaaaaggag gcagcgcgag aagagccggg cagagtccga accgacagcc
 240
 agaagcccgc acgcacctcg cacc atg aga tgg cga cgc gcc ccg cgc cgc
 291

Met Arg Trp Arg Arg Ala Pro Arg Arg
 1 5

tcc ggg cgt ccc ggc ccc cgg gcc cag cgc ccc ggc tcc gcc gcc cgc
 339
 Ser Gly Arg Pro Gly Pro Arg Ala Gln Arg Pro Gly Ser Ala Ala Arg
 10 15 20 25

tcg tcg ccg ccg ctg ccg ctg ctg cca cta ctg ctg ctg ctg ggg acc
 387
 Ser Ser Pro Pro Leu Pro Leu Leu Pro Leu Leu Leu Leu Leu Gly Thr
 30 35 40

gcg gcc ctg gcg ccg ggg gcg gcg gcc ggc aac gag gcg gct ccc gcg
 435
 Ala Ala Leu Ala Pro Gly Ala Ala Ala Gly Asn Glu Ala Ala Pro Ala
 45 50 55

ggg gcc tcg gtg tgc tac tcg tcc ccg ccc agc gtg gga tcg gtg cag
 483
 Gly Ala Ser Val Cys Tyr Ser Ser Pro Pro Ser Val Gly Ser Val Gln

60	65	70
gag cta gct cag cgc gcc gcg gtg gtc atc gag gga aag gtg cac ccg		
531		
Glu	Leu Ala Gln Arg Ala Ala Val Val Ile Glu Gly Lys Val His Pro	
75	80	85
cag cgg cgg cag cag ggg gca ctc gac agg aag gcg gcg gcg gcg gcg		
579		
Gln	Arg Arg Gln Gln Gly Ala Leu Asp Arg Lys Ala Ala Ala Ala Ala	
90	95	100 105
ggc gag gca ggg gcg tgg ggc ggc gat cgc gag ccg cca gcc gcg ggc		
627		
Gly	Glu Ala Gly Ala Trp Gly Gly Asp Arg Glu Pro Pro Ala Ala Gly	
	110	115 120
cca cgg gcg ctg ggg ccg ccc gcc gag gag ccg ctg ctc gcc gcc aac		
675		
Pro	Arg Ala Leu Gly Pro Pro Ala Glu Glu Pro Leu Leu Ala Ala Asn	
	125	130 135
ggg acc gtg ccc tct tgg ccc acc gcc ccg gtg ccc agc gcc ggc gag		
723		
Gly	Thr Val Pro Ser Trp Pro Thr Ala Pro Val Pro Ser Ala Gly Glu	
	140	145 150
ccc ggg gag gag gcg ccc tat ctg gtg aag gtg cac cag gtg tgg gcg		
771		
Pro	Gly Glu Glu Ala Pro Tyr Leu Val Lys Val His Gln Val Trp Ala	
155	160	165
gtg aaa gcc ggg ggc ttg aag aag gac tcg ctg ctc acc gtg cgc ctg		
819		
Val	Lys Ala Gly Gly Leu Lys Lys Asp Ser Leu Leu Thr Val Arg Leu	
170	175	180 185
ggg acc tgg ggc cac ccc gcc ttc ccc tcc tgc ggg agg ctc aag gag		
867		
Gly	Thr Trp Gly His Pro Ala Phe Pro Ser Cys Gly Arg Leu Lys Glu	
	190	195 200
gac agc agg tac atc ttc ttc atg gag ccc gac gcc aac agc acc agc		
915		
Asp	Ser Arg Tyr Ile Phe Phe Met Glu Pro Asp Ala Asn Ser Thr Ser	
	205	210 215
cgc gcg ccg gcc gcc ttc cga gcc tct ttc ccc cct ctg gag acg ggc		
963		
Arg	Ala Pro Ala Ala Phe Arg Ala Ser Phe Pro Pro Leu Glu Thr Gly	
	220	225 230
cgg aac ctc aag aag gag gtc agc cgg gtg ctg tgc aag cgg tgc gcc		
1011		
Arg	Asn Leu Lys Lys Glu Val Ser Arg Val Leu Cys Lys Arg Cys Ala	
235	240	245
ttg cct ccc caa ttg aaa gag atg aaa agc cag gaa tcg gct gca ggt		
1059		
Leu	Pro Pro Gln Leu Lys Glu Met Lys Ser Gln Glu Ser Ala Ala Gly	
250	255	260 265
tcc aaa cta gtc ctt cgg tgt gaa acc agt tct gaa tac tcc tct ctc		

1107

Ser Lys Leu Val Leu Arg Cys Glu Thr Ser Ser Glu Tyr Ser Ser Leu
 270 275 280

aga ttc aag tgg ttc aag aat ggg aat gaa ttg aat cga aaa aac aaa
 1155

Arg Phe Lys Trp Phe Lys Asn Gly Asn Glu Leu Asn Arg Lys Asn Lys
 285 290 295

cca caa aat atc aag ata caa aaa aag cca ggg aag tca gaa ctt cgc
 1203

Pro Gln Asn Ile Lys Ile Gln Lys Lys Pro Gly Lys Ser Glu Leu Arg
 300 305 310

att aac aaa gca tca ctg gct gat tct gga gag tat atg tgc aaa gtg
 1251

Ile Asn Lys Ala Ser Leu Ala Asp Ser Gly Glu Tyr Met Cys Lys Val
 315 320 325

atc agc aaa tta gga aat gac agt gcc tct gcc aat atc acc atc gtg
 1299

Ile Ser Lys Leu Gly Asn Asp Ser Ala Ser Ala Asn Ile Thr Ile Val
 330 335 340 345

gaa tca aac gct aca tct aca tcc acc act ggg aca agc cat ctt gta
 1347

Glu Ser Asn Ala Thr Ser Thr Ser Thr Thr Gly Thr Ser His Leu Val
 350 355 360

aaa tgt gcg gag aag gag aaa act ttc tgt gtg aat gga ggg gag tgc
 1395

Lys Cys Ala Glu Lys Glu Lys Thr Phe Cys Val Asn Gly Gly Glu Cys
 365 370 375

ttc atg gtg aaa gac ctt tca aac ccc tcg aga tac ttg tgc aag tgc
 1443

Phe Met Val Lys Asp Leu Ser Asn Pro Ser Arg Tyr Leu Cys Lys Cys
 380 385 390

cca aat gag ttt act ggt gat cgc tgc caa aac tac gta atg gcc agc
 1491

Pro Asn Glu Phe Thr Gly Asp Arg Cys Gln Asn Tyr Val Met Ala Ser
 395 400 405

ttc tac agt acg tcc act ccc ttt ctg tct ctg cct gaa taggagcatg
 1540

Phe Tyr Ser Thr Ser Thr Pro Phe Leu Ser Leu Pro Glu
 410 415 420

ctcagttggt gctgctttct tgttgctgca tctcccctca gattccacct agagctagat
 1600

gtgtcttacc agatctaata ttgactgcct ctgcctgtcg catgagaaca ttaacaaaag
 1660

caattgtatt acttctctg ttcgcgacta gttggctctg agatactaata aggtgtgtga
 1720

ggctccggat gtttctggaa ttgatattga atgatgtgat acaaattgat agtcaatatac
 1780

aagcagttaa atatgataat aaaggcattt caaagtctca cttttattga taaaataaaa
 1840

atcattctac tgaacagtcc atcttcttta tacaatgacc acatcctgaa aagggtgttg
 1900

ctaagctgta accgatatgc acttgaaatg atggtaagtt aattttgatt cagaatgtgt
 1960

tatttgtcac aaataaacat aataaaagga aaaaaaaaaa aaa
2003

<210> 22
<211> 12
<212> PRT
<213> Bos taurus

<220>
<221> VARIANT
<222> (11)...(11)
<223> Xaa in Pos.11 ist unbekannt

<400> 22
Ala Ser Leu Ala Asp Glu Tyr Glu Tyr Met Xaa Lys
1 5 10

<210> 23
<211> 11
<212> PRT
<213> Bos taurus

<220>
<221> VARIANT
<222> (9)...(9)
<223> Xaa in Pos.9 ist unbekannt

<400> 23
Thr Glu Thr Ser Ser Ser Gly Leu Xaa Leu Lys
1 5 10

<210> 24
<211> 12
<212> PRT
<213> Bos taurus

<400> 24
Ala Ser Leu Ala Asp Glu Tyr Glu Tyr Met Arg Lys
1 5 10

<210> 25
<211> 9
<212> PRT
<213> Bos taurus

<220>
<221> VARIANT
<222> (7)...(7)
<223> Xaa in Pos.7 ist unbekannt

<400> 25
Ala Gly Tyr Phe Ala Glu Xaa Ala Arg
1 5

<210> 26
<211> 10
<212> PRT
<213> Bos taurus

<400> 26

Thr Thr Glu Met Ala Ser Glu Gln Gly Ala
 1 5 10

<210> 27

<211> 9

<212> PRT

<213> Bos taurus

<400> 27

Ala Lys Glu Ala Leu Ala Ala Leu Lys
 1 5

<210> 28

<211> 7

<212> PRT

<213> Bos taurus

<400> 28

Phe Val Leu Gln Ala Lys Lys
 1 5

<210> 29

<211> 21

<212> PRT

<213> Bos taurus

<400> 29

Glu Thr Gln Pro Asp Pro Gly Gln Ile Leu Lys Lys Val Pro Met Val
 1 5 10 15
 Ile Gly Ala Tyr Thr
 20

<210> 30

<211> 21

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<221> VARIANT

<222> (1)...(19)

<223> Xaa in Pos. 1,3,17 und 19 ist unbekannt

<400> 30

Xaa Glu Xaa Lys Glu Gly Arg Gly Lys Gly Lys Gly Lys Lys Lys Glu
 1 5 10 15
 Xaa Gly Xaa Gly Lys
 20

<210> 31

<211> 13

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 31

Ala Glu Lys Glu Lys Thr Phe Cys Val Asn Gly Gly Glu
 1 5 10

<210> 32
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Bos taurus

<220>
 <221> VARIANT
 <222> (6)...(6)
 <223> Xaa in Pos. 6 ist unbekannt

<400> 32
 Lys Leu Glu Phe Leu Xaa Ala Lys
 1 5

<210> 33
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Bos taurus

<220>
 <221> VARIANT
 <222> (1)...(1)
 <223> Xaa in Pos. 1 ist Lysin oder Arginin

<400> 33
 Xaa Val His Gln Val Trp Ala Ala Lys
 1 5

<210> 34
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Bos taurus

<220>
 <221> VARIANT
 <222> (1)...(11)
 <223> Xaa in Pos. 1 ist Lysin oder Arginin; Xaa in
 Pos. 11 ist unbekannt

<400> 34
 Xaa Tyr Ile Phe Phe Met Glu Pro Glu Ala Xaa Ser Ser Gly
 1 5 10

<210> 35
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Bos taurus

<220>
 <221> VARIANT
 <222> (1)...(13)
 <223> Xaa in Pos. 1 ist Lysin oder Arginin; Xaa in
 Pos. 13 ist unbekannt

<400> 35
 Xaa Leu Gly Ala Trp Gly Pro Pro Ala Phe Pro Val Xaa Tyr
 1 5 10

<210> 36
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Bos taurus

<220>
 <221> VARIANT
 <222> (1)...(1)
 <223> Xaa in Pos. 1 ist Lysin oder Arginin

<400> 36
 Xaa Trp Phe Val Val Ile Glu Gly Lys
 1 5

<210> 37
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Bos taurus

<220>
 <221> VARIANT
 <222> (1)...(1)
 <223> Xaa in Pos. 1 ist Lysin oder Arginin

<400> 37
 Xaa Ala Ser Pro Val Ser Val Gly Ser Val Gln Glu Leu Val Gln Arg
 1 5 10 15

<210> 38
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> Bos taurus

<220>
 <221> VARIANT
 <222> (1)...(1)
 <223> Xaa in Pos. 1 ist Lysin oder Arginin

<400> 38
 Xaa Val Cys Leu Leu Thr Val Ala Ala Leu Pro Pro Thr
 1 5 10

<210> 39
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Bos taurus

<220>
 <221> VARIANT
 <222> (1)...(6)
 <223> Xaa in Pos. 1 ist Lysin oder Arginin; Xaa in
 Pos. 6 ist unbekannt

<400> 39
 Xaa Asp Leu Leu Leu Xaa Val
 1 5

<210> 40
 <211> 23

<212> DNA
<213> Bos taurus

<400> 40
cagaaggtct tctccttctc agc
23

<210> 41
<211> 24
<212> DNA
<213> Bos taurus

<400> 41
cctcgctcct tcttcttgcc cttc
24

<210> 42
<211> 4
<212> PRT
<213> Bos taurus

<400> 42
Leu Val Leu Arg
1

<210> 43
<211> 36
<212> DNA
<213> Bos taurus

<400> 43
agtacgtcca ctccctttct gtctctgct gaatag
36

<210> 44
<211> 569
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> CDS
<222> (1)...(569)

<400> 44
aag gcg gag gag ctg tac cag aag aga gtg ctg acc ata acc ggc atc
48

Lys Ala Glu Glu Leu Tyr Gln Lys Arg Val Leu Thr Ile Thr Gly Ile
1 5 10 15

tgc atc gcc ctc ctt gtg gtc ggc atc atg tgt gtg gtg gcc tac tgc
96

Cys Ile Ala Leu Leu Val Val Gly Ile Met Cys Val Val Ala Tyr Cys
20 25 30

aaa acc aag aaa cag cgg aaa aag ctg cat gac cgt ctt cgg cag agc
144

Lys Thr Lys Lys Gln Arg Lys Lys Leu His Asp Arg Leu Arg Gln Ser
35 40 45

ctt cgg tct gaa cga aac aat atg atg aac att gcc aat ggg cct cac
192

Leu Arg Ser Glu Arg Asn Asn Met Met Asn Ile Ala Asn Gly Pro His

50	55	60
cat cct aac cca ccc ccc gag aat gtc cag ctg gtg aat caa tac gta 240		
His Pro Asn Pro Pro Pro Glu Asn Val Gln Leu Val Asn Gln Tyr Val 65 70 75 80		
tct aaa aac gtc atc tcc agt gag cat att gtt gag aga gaa gca gag 288		
Ser Lys Asn Val Ile Ser Ser Glu His Ile Val Glu Arg Glu Ala Glu 85 90 95		
aca tcc ttt tcc acc agt cac tat act tcc aca gcc cat cac tcc act 336		
Thr Ser Phe Ser Thr Ser His Tyr Thr Ser Thr Ala His His Ser Thr 100 105 110		
act gtc acc cag act cct agc cac agc tgg agc aac gga cac act gaa 384		
Thr Val Thr Gln Thr Pro Ser His Ser Trp Ser Asn Gly His Thr Glu 115 120 125		
agc atc ctt tcc gaa agc cac tct gta atc gtg atg tca tcc gta gaa 432		
Ser Ile Leu Ser Glu Ser His Ser Val Ile Val Met Ser Ser Val Glu 130 135 140		
aac agt agg cac agc agc cca act ggg ggc cca aga gga cgt ctt aat 480		
Asn Ser Arg His Ser Ser Pro Thr Gly Gly Pro Arg Gly Arg Leu Asn 145 150 155 160		
ggc aca gga ggc cct cgt gaa tgt aac agc ttc ctc agg cat gcc aga 528		
Gly Thr Gly Gly Pro Arg Glu Cys Asn Ser Phe Leu Arg His Ala Arg 165 170 175		
gaa acc cct gat tcc tac cga gac tct cct cat agt gaa ag 569		
Glu Thr Pro Asp Ser Tyr Arg Asp Ser Pro His Ser Glu 180 185		

<210> 45
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Bos taurus

<400> 45
 Val His Gln Val Trp Ala Ala Lys
 1 5

<210> 46
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> Bos taurus

<220>
 <221> VARIANT
 <222> (10)...(10)
 <223> Xaa in Pos. 10 ist unbekannt

<400> 46

Tyr Ile Phe Phe Met Glu Pro Glu Ala Xaa Ser Ser Gly
 1 5 10

<210> 47

<211> 13

<212> PRT

<213> Bos taurus

<220>

<221> VARIANT

<222> (12)...(12)

<223> Xaa in Pos. 12 ist unbekannt

<400> 47

Leu Gly Ala Trp Gly Pro Pro Ala Phe Pro Val Xaa Tyr
 1 5 10

<210> 48

<211> 8

<212> PRT

<213> Bos taurus

<400> 48

Trp Phe Val Val Ile Glu Gly Lys
 1 5

<210> 49

<211> 15

<212> PRT

<213> Bos taurus

<400> 49

Ala Ser Pro Val Ser Val Gly Ser Val Gln Glu Leu Val Gln Arg
 1 5 10 15

<210> 50

<211> 12

<212> PRT

<213> Bos taurus

<400> 50

Val Cys Leu Leu Thr Val Ala Ala Leu Pro Pro Thr
 1 5 10

<210> 51

<211> 9

<212> PRT

<213> Bos taurus

<400> 51

Lys Val His Gln Val Trp Ala Ala Lys
 1 5

<210> 52

<211> 13

<212> PRT

<213> Bos taurus

<220>

<221> VARIANT

<222> (12)...(12)

<223> Xaa in Pos. 12 ist unbekannt

<400> 52

Lys Ala Ser Leu Ala Asp Ser Gly Glu Tyr Met Xaa Lys
 1 5 10

<210> 53

<211> 6

<212> PRT

<213> Bos taurus

<220>

<221> VARIANT

<222> (5)...(5)

<223> Xaa in Pos. 5 ist unbekannt

<400> 53

Asp Leu Leu Leu Xaa Val
 1 5

<210> 54

<211> 20

<212> DNA

<213> Bos taurus

<220>

<221> variation

<222> (1)...(18)

<223> N bei Pos. 3, 12 und 18 ist C oder T; N bei Pos. 6 ist
 A oder G; N bei Pos. 9 und 15 ist A, T, G oder C

<400> 54

ttnaanggng angcncanac
 20

<210> 55

<211> 21

<212> DNA

<213> Bos taurus

<220>

<221> variation

<222> (1)...(21)

<223> N bei Pos. 7 und 13 ist C oder T; N bei Pos. 4, 10 und
 16 ist A oder G; N bei Pos. 19 ist A, T, G oder C

<400> 55

catntantcn tantctcng c
 21

<210> 56

<211> 20

<212> DNA

<213> Bos taurus

<220>

<221> variation

<222> (3)...(18)

<223> N bei Pos. 3 und 15 ist C oder T; N bei Pos. 6, 9 und 18 ist A, T, G oder C

<400> 56

tgntcngang ccatntcngt

20

<210> 57

<211> 20

<212> DNA

<213> Bos taurus

<220>

<221> variation

<222> (3)...(17)

<223> N bei Pos. 3 und 15 ist C oder T; N bei Pos. 6 ist A oder G; N bei Pos. 9 und 18 ist A, T, G oder C

<400> 57

tgntcncng ccatntcngt

20

<210> 58

<211> 20

<212> DNA

<213> Bos taurus

<220>

<221> variation

<222> (3)...(18)

<223> N bei Pos. 3 ist A, G oder T; N bei Pos. 18 ist C oder T; N bei Pos. 6, 12 und 15 ist A, T, G oder c

<400> 58

ccnatnaccca tnggnacntt

20

<210> 59

<211> 20

<212> DNA

<213> Bos taurus

<220>

<221> variation

<222> (3)...(18)

<223> N bei Pos. 12 ist C oder T; N bei Pos. 15 ist A oder G; N bei Pos. 3, 9 und 18 ist A, T, G oder C

<400> 59

gcngcccana cytgrtgnac

20

<210> 60

<211> 20

<212> DNA

<213> Bos taurus

<220>

<221> variation

<222> (1)...(20)

<223> N bei Pos. 3 und 9 ist C oder T; N bei Pos. 5 und 8 ist A oder G; N bei Pos. 6 ist A, T, G oder C; N bei Pos. 15 und 18 ist A oder G

<400> 60

gcntcnggnt ccatnaanaa
20

<210> 61

<211> 20

<212> DNA

<213> Bos taurus

<220>

<221> variation

<222> (1)...(20)

<223> N bei Pos. 6 ist A, G oder T; N bei Pos. 3 ist C oder T; N bei Pos. 15 ist A oder G; N bei Pos. 9 und 12 ist A, T, G oder C

<400> 61

ccntcnaatna cnacnaacca
20

<210> 62

<211> 17

<212> DNA

<213> Bos taurus

<220>

<221> variation

<222> (1)...(17)

<223> N bei Pos. 6 und 9 ist A oder G; N bei Pos. 3, 12 und 15 ist A, T, G oder C

<400> 62

tcngcnaant anccngc
17

<210> 63

<211> 20

<212> DNA

<213> Bos taurus

<220>

<221> variation

<222> (1)...(20)

<223> N bei Pos. 12 und 15 ist C oder T; N bei Pos. 3, 6, 9 und 18 ist A, T, G oder C

<400> 63

gcngcnagn cncnttngc
20

<210> 64

<211> 20

<212> DNA

<213> Bos taurus

<220>

<221> variation

<222> (1)...(20)

<223> N bei Pos. 6, 12 und 15 ist C oder T; N bei Pos. 3, 9
und 18 ist A, T, G oder C

<400> 64

gcngcnaang cntcntngc

20

<210> 65

<211> 20

<212> DNA

<213> Bos taurus

<220>

<221> variation

<222> (1)...(20)

<223> N bei Pos. 3 und 9 ist C oder T; N bei Pos. 18 ist A oder
G; N bei Pos. 6, 12 und 15 ist A, T, G oder C

<400> 65

ttntngcnt gnagnacnaa

20

<210> 66

<211> 20

<212> DNA

<213> Bos taurus

<220>

<221> variation

<222> (1)...(20)

<223> N bei Pos. 3, 9 und 12 ist C oder T; N bei Pos. 18 ist
A oder G; N bei Pos. 6 und 15 ist A, T, G oder C

<400> 66

ttntngcnt gnaanacnaa

20

<210> 67

<211> 17

<212> DNA

<213> Bos taurus

<220>

<221> variation

<222> (1)...(17)

<223> N bei Pos. 9 und 12 ist C oder T; N bei Pos. 3,6 und 15
ist A, T, G oder C

<400> 67

tgnacnagnt cntgnac

17

<210> 68

<211> 17

<212> DNA
<213> Bos taurus

<220>
<221> variation
<222> (1)...(17)
<223> N bei Pos. 6, 9 und 12 ist C oder T; N bei Pos. 3 und 15
ist A, T, G oder C

<400> 68
tgnacnaant cntgnac
17

<210> 69
<211> 21
<212> DNA
<213> Bos taurus

<220>
<221> variation
<222> (1)...(21)
<223> N bei Pos. 7 ist C oder T; N bei Pos. 4 und 16 ist A oder
G; N bei Pos. 10, 13 und 19 ist A, T, G oder C

<400> 69
catntantcn ccngantcng c
21

<210> 70
<211> 21
<212> DNA
<213> Bos taurus

<220>
<221> variation
<222> (1)...(21)
<223> N bei Pos. 7 ist C oder T; N bei Pos. 4, 13 und 16 ist
A oder G; N bei Pos. 10 und 19 ist A, T, G oder C

<400> 70
catntantcn ccnctntcng c
21

<210> 71
<211> 21
<212> DNA
<213> Bos taurus

<220>
<221> variation
<222> (1)...(21)
<223> N bei Pos. 10 und 19 ist C oder T; N bei Pos. 4 ist
A oder G; N bei Pos. 1, 7, 13 und 16 ist A, T, G oder C

<400> 71
ngantcngcn aangangcnt t
21

<210> 72
 <211> 21
 <212> DNA
 <213> Bos taurus

<220>
 <221> variation
 <222> (1)...(21)
 <223> N bei Pos. 19 ist C oder T; N bei Pos. 4 ist A oder G;
 N bei Pos. 1, 7, 10, 13 und 16 ist A, T, G oder C

<400> 72
 ngantcngcn agngangcnt t
 21

<210> 73
 <211> 21
 <212> DNA
 <213> Bos taurus

<220>
 <221> variation
 <222> (1)...(21)
 <223> N bei Pos. 10 und 19 ist C oder T; N bei Pos. 1 und 4 ist
 A oder G; N bei Pos. 7, 13 und 16 ist A, T, G oder C

<400> 73
 nctntcngcn aangangcnt t
 21

<210> 74
 <211> 21
 <212> DNA
 <213> Bos taurus

<220>
 <221> variation
 <222> (1)...(21)
 <223> N bei Pos. 19 ist C oder T; N bei Pos. 1 und 4 ist A oder
 G; N bei Pos. 7, 10, 13 und 16 ist A, T, G oder C

<400> 74
 nctntcngcn agngangcnt t
 21

<210> 75
 <211> 21
 <212> DNA
 <213> Bos taurus

<220>
 <221> variation
 <222> (1)...(21)
 <223> N bei Pos. 10 und 19 ist C oder T; N bei Pos. 4 und 13
 ist A oder G; N bei Pos. 1, 7 und 16 ist A, T, G oder C

<400> 75

ngantcngcn aanctngcnt t
21

<210> 76
<211> 21
<212> DNA
<213> Bos taurus

<220>
<221> variation
<222> (1)...(21)
<223> N bei Pos. 19 ist C oder T; N bei Pos. 4 und 13 ist A
oder G; N bei Pos. 1, 7, 10 und 16 ist A, T, G oder C

<400> 76
ngantcngcn agnctngcnt t
21

<210> 77
<211> 730
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 77
gtatgtgtca gccatgacca ccccggtctg tatgtcacct gtagatttcc acacgccaag
60
ctcccccaaa tcgccccctt cggaaatgtc tccacccgtg tccagcatga cgggtgtccat
120
gccttccatg gcggtcagcc ccttcatgga agaagagaga cctctacttc tcgtgacacc
180
accaaggctg cgggagaaga agtttgacca tcaccctcag cagttcagct ccttccacca
240
caacccccgcg catgacagta acagcctccc tgctagcccc ttgaggatag tggaggatga
300
ggagtatgaa acgaccaag agtacgagcc agcccaagag cctgttaaga aactcgccaa
360
tagccggcgg gccaaaagaa ccaagcccaa tggccacatt gctaacagat tgggaagtga
420
cagcaacaca agctcccaga gcagtaactc agagagtga acagaagatg aaagagttagg
480
tgaagatagc cctttcctgg gcatacagaa ccccctggca gccagtcttg aggcaacacc
540
tgccttccgc ctggctgaca gcaggactaa cccagcaggc cgcttctcga cacaggaaga
600
aatccaggcc aggctgteta gtgtaattgc taaccaagac cctattgctg tataaaacct
660
aaataaacac atagattcac ctgtaaaact ttattttata taataaagta ttccacctta
720
aattaaacaa
730

<210> 78
<211> 21
<212> DNA
<213> Bos taurus

<220>
<221> variation
<222> (1)...(21)
<223> N bei Pos. 10 und 19 ist C oder T; N bei Pos. 1, 4 und
13 ist A oder G; N bei Pos. 7 und 16 ist A, T, G oder C

<400> 78
nctntcngcn aanctngcnt t
21

<210> 79
<211> 21
<212> DNA
<213> Bos taurus

<220>
<221> variation
<222> (1)...(21)
<223> N bei Pos. 19 ist C oder T; N bei Pos. 1, 4 und 13 ist
A oder G; N bei POs. 7, 10 und 16 ist A, T, G oder C

<400> 79
nctnctngcn agnctngcnt t
21

<210> 80
<211> 20
<212> DNA
<213> Bos taurus

<220>
<221> variation
<222> (1)...(20)
<223> N bei Pos. 9 ist A oder G; N bei Pos. 3, 6; 17 und 18
ist A, T, G oder C

<400> 80
acnacngana tggctcngna
20

<210> 81
<211> 20
<212> DNA
<213> Bos taurus

<220>
<221> variation
<222> (1)...(20)
<223> N bei Pos. 16 ist C oder T; N bei Pos. 9 ist A oder G;
N bei Pos. 3, 6, 17 und 18 ist A, T, G oder C

<400> 81
acnacngana tggcagnnga
20

<210> 82
<211> 20
<212> DNA
<213> Bos taurus

<220>
<221> variation

<222> (1)...(20)

<223> N bei Pos. 3 ist C oder T; N bei Pos. 6 ist A oder G;
N bei Pos. 9, 15 und 18 ist A, T, G oder C

<400> 82

cancangtnt gggcngcnaa
20

<210> 83

<211> 20

<212> DNA

<213> Bos taurus

<220>

<221> variation

<222> (1)...(20)

<223> N bei Pos. 3 ist C oder T; N bei Pos. 15 ist A oder G;
N bei Pos. 5, 9 und 18 ist A, T, G oder C; N bei Pos. 12
A, T, G oder C

<400> 83

ttngtngtna tnganggnaa
20

<210> 84

<211> 20

<212> DNA

<213> Bos taurus

<220>

<221> variation

<222> (1)...(20)

<223> N bei Pos. 9 und 15 ist C oder T; N bei Pos. 3 ist A
G; N bei Pos. 6, 12 und 18 ist A, T, G oder C

<400> 84

aangngang cncanacnga
20

<210> 85

<211> 20

<212> DNA

<213> Bos taurus

<220>

<221> variation

<222> (1)...(20)

<223> N bei Pos. 7 und 16 ist C oder T; N bei Pos. 3 ist A oder
G; N bei Pos. 6, 9, 12, 15 und 18 ist A, T, G oder C

<400> 85

gangcnntng cngcnntnaa
20

<210> 86

<211> 20

<212> DNA

<213> Bos taurus

<220>

<221> variation

<222> (1)...(20)

<223> N bei Pos. 19 ist C oder T; N bei Pos. 15 und 18 ist A oder G; N bei Pos. 3, 6, 9 und 12 ist A, T, G oder C

<400> 86

gtnggntcng tncangannt

20

<210> 87

<211> 20

<212> DNA

<213> Bos taurus

<220>

<221> variation

<222> (1)...(20)

<223> N bei Pos. 9 und 19 ist C oder T; N bei Pos. 15 und 18 A oder G; N bei Pos. 3, 6 und 12 ist A, T, G oder C

<400> 87

gtnggnagng tncangannt

20

<210> 88

<211> 21

<212> DNA

<213> Bos taurus

<220>

<221> variation

<222> (1)...(21)

<223> N bei Pos. 4, 7 und 16 ist C oder T; N bei Pos. 12 ist A oder G; N bei Pos. 13 ist A, C oder T

<400> 88

nacnttnttn annatntgnc c

21

<210> 89

<211> 417

<212> DNA

<213> Bos taurus

<400> 89

tctaaaacta cagagactgt attttcatga tcatcatagt tctgtgaaat atacttaaac
60cgctttggtc ctgatcttgt aggaagtcag aacttcgcat tagcaaagcg tcaactggctg
120attctggaga atatatgtgc aaagtgatca gcaaactagg aaatgacagt gcctctgcca
180acatcacat tgtggagtca aacggtaaga gatgcctact gcgtgctatt tctcagtctc
240taagaggagt gatcaaggta tgtggtcaca cttgaatcac gcaggtgtct gaaatctcat
300tgtgaacaaa taaaaatcat gaaaggaaaa ctctatgttt gaaatatctt atgggtcctc
360

ctgtaaagct cttcactcca taagggtgaaa tagacctgaa atatatatag attattt

417

<210> 90
 <211> 33
 <212> DNA
 <213> Bos taurus

<220>
 <221> variation
 <222> (1)...(33)
 <223> N bei Pos. 16 ist A oder G; N bei Pos. 22 ist A oder G;
 N bei Pos. 28 ist C oder T

<400> 90
 ccgaattctg cagganacuc anccugancc ugg
 33

<210> 91
 <211> 37
 <212> DNA
 <213> Bos taurus

<220>
 <221> variation
 <222> (1)...(37)
 <223> N bei Pos. 17 ist A oder G; N bei Pos. 26 ist A, C oder T

<400> 91
 aaggatcctg cagugtntau gcuccnatua ccatugg
 37

<210> 92
 <211> 34
 <212> DNA
 <213> Bos taurus

<220>
 <221> variation
 <222> (1)...(34)
 <223> N bei Pos. 19 ist C oder T; N bei Pos. 28 ist A oder G;
 N bei Pos. 31 ist C oder T

<400> 92
 ccgaattctg caggcugant cugguganta natg
 34

<210> 93
 <211> 33
 <212> DNA
 <213> Bos taurus

<220>
 <221> variation
 <222> (1)...(33)
 <223> N bei Pos. 19 ist C oder T; N bei Pos. 22 ist C oder T;
 N bei Pos. 28 ist A oder G; N bei Pos. 31 ist C oder T

<400> 93
 ccgaattctg caggcugana gngguganta nat
 33

<210> 94
 <211> 34
 <212> DNA
 <213> Bos taurus

<220>
 <221> variation
 <222> (1)...(34)
 <223> N bei Pos. 20 ist A oder G; N bei Pos. 23 ist C oder T;
 N bei Pos. 32 ist A oder G

<400> 94
 aaggatcctg caguucacn tantcuccug antc
 34

<210> 95
 <211> 34
 <212> DNA
 <213> Bos taurus

<220>
 <221> variation
 <222> (1)...(34)
 <223> N bei Pos. 20 ist A oder G; N bei Pos. 23 ist C oder T;
 N bei Pos. 29 und 30 ist A oder G; N bei Pos. 32 ist
 A oder G

<400> 95
 aaggatcctg caguucacn tantcuccnn tntc
 34

<210> 96
 <211> 33
 <212> DNA
 <213> Bos taurus

<220>
 <221> variation
 <222> (1)...(33)
 <223> N bei Pos. 16 ist C oder T; N bei Pos. 19 ist A oder G

<400> 96
 ccgaattctg cagcancang tutgggcugc taa
 33

<210> 97
 <211> 35
 <212> DNA
 <213> Bos taurus

<220>
 <221> variation
 <222> (1)...(35)
 <223> N bei Pos. 16 ist A oder G; N bei Pos. 19 ist c oder T;
 N bei Pos. 22 ist C oder T; N bei Pos. 28 ist A oder G;
 N bei Pos. 34 ist A oder G

<400> 97
 ccgaattctg cagatnttnt tnatggancc ugang
 35

<210> 98
 <211> 35
 <212> DNA
 <213> Bos taurus

<220>
 <221> variation
 <222> (30)...(30)
 <223> N bei Pos. 30 ist C oder T

<400> 98
 ccgaattctg caggggggucc uccugcuttn ccugt
 35

<210> 99
 <211> 33
 <212> DNA
 <213> Bos taurus

<220>
 <221> variation
 <222> (1)...(33)
 <223> N bei Pos. 19 ist C oder T; N bei Pos. 28 ist A oder C
 oder T; N in Pos. 31 ist A oder G

<400> 99
 ccgaattctg cagtgggtng tugtuatnga ngg
 33

<210> 100
 <211> 34
 <212> DNA
 <213> Bos taurus

<220>
 <221> variation
 <222> (1)...(34)
 <223> N bei Pos. 17, 20 und 26 ist Inosinc; Y bei 14 und 29
 ist Cytidin oder Thymidin

<400> 100
 aaggatcctg cagyttnngcn gcccanacyt grtg
 34

<210> 101
 <211> 33
 <212> DNA
 <213> Bos taurus

<220>
 <221> variation
 <222> (1)...(33)
 <223> N bei Pos. 16 ist C oder T; N bei Pos. 22 ist C oder T;
 N bei Pos. 28 ist A oder G; N bei Pos. 31 ist A oder G

<400> 101

aaggatcctg caggcntcug gntccatnaa naa
33

<210> 102
<211> 33
<212> DNA
<213> Bos taurus

<220>
<221> variation
<222> (1)...(33)
<223> N bei Pos. 19 ist A oder G

<400> 102
aaggatcctg cagacuggna augcuggugg ucc
33

<210> 103
<211> 35
<212> DNA
<213> Bos taurus

<220>
<221> variation
<222> (1)...(35)
<223> N bei Pos. 14 ist C oder T; N bei Pos. 20 ist C oder T; N
bei Pos. 23 ist A oder G; N bei Pos. 32 ist A oder G

<400> 103
aaggatcctg cagnttuccn tcnatuacua cnaac
35

<210> 104
<211> 33
<212> DNA
<213> Bos taurus

<220>
<221> variation
<222> (1)...(33)
<223> N bei Pos. 4 ist A oder G; N bei Pos. 7 ist C oder T; N bei
Pos. 10 ist A oder G; N bei Pos. 13 ist C oder T

<400> 104
catntantcn tantctcugc aaggatcctg cag
33

<210> 105
<211> 33
<212> DNA
<213> Bos taurus

<220>
<221> variation
<222> (1)...(33)
<223> N bei Pos. 16 ist A oder G; N bei Pos. 22 ist C oder T; N
bei Pos. 28 ist C oder T

<400> 105
ccgaattctg cagaanggug angcucanac uga
33

<210> 106
<211> 33
<212> DNA
<213> Bos taurus

<220>
<221> variation
<222> (1)...(33)
<223> N bei Pos. 6 ist C oder T; N bei Pos. 12 ist C oder T;
N bei Pos. 15 ist C oder T

<400> 106
gcugcnaaug cntcnttugc aaggatcctg cag
33

<210> 107
<211> 33
<212> DNA
<213> Bos taurus

<220>
<221> variation
<222> (1)...(33)
<223> N bei Pos. 12 ist C oder T; N bei Pos. 15 ist c oder T

<400> 107
gcugcuagug cntcnttttgc aaggatcctg cag
33

<210> 108
<211> 30
<212> DNA
<213> Bos taurus

<220>
<221> variation
<222> (1)...(30)
<223> N bei Pos. 6 ist A oder G; N bei Pos. 9 ist a oder G

<400> 108
tcugcnaant auccugcaag gatcctgcag
30

<210> 109
<211> 38
<212> DNA
<213> Bos taurus

<400> 109
catcgatctg caggctgatt ctggagaata tatgtgca
38

<210> 110
<211> 37
<212> DNA

<213> Bos taurus

<400> 110

aaggatcctg cagccacatc tcgagtcgac atcgatt
37

<210> 111

<211> 37

<212> DNA

<213> Bos taurus

<400> 111

ccgaattctg cagtgatcag caaactagga aatgaca
37

<210> 112

<211> 37

<212> DNA

<213> Bos taurus

<400> 112

catcgatctg cagcctagtt tgctgatcac tttgcac
37

<210> 113

<211> 37

<212> DNA

<213> Bos taurus

<400> 113

aaggatcctg cagtatatcc tccagaatca gccagtg
37

<210> 114

<211> 34

<212> DNA

<213> Bos taurus

<400> 114

aaggatcctg caggcacgca gtaggcatct ctta
34

<210> 115

<211> 35

<212> DNA

<213> Bos taurus

<400> 115

ccgaattctg cagcagaact tcgcattagc aaagc
35

<210> 116

<211> 33

<212> DNA

<213> Bos taurus

<400> 116

catcccggga tgaagagtca ggagtctgtg gca
33

<210> 117

<211> 39

<212> DNA

<213> Bos taurus

<400> 117

atācccgggc tgcagacaat gagatttcac acacctgcg
39

<210> 118

<211> 36

<212> DNA

<213> Bos taurus

<400> 118

aaggatcctg cagtttgga cctgccacag actcct
36

<210> 119

<211> 39

<212> DNA

<213> Bos taurus

<400> 119

atācccgggc tgcagatgag atttcacaca cctgctgga
39

<210> 120

<211> 12

<212> PRT

<213> Bos taurus

<400> 120

His Gln Val Trp Ala Ala Lys Ala Ala Gly Leu Lys
1 5 10

<210> 121

<211> 16

<212> PRT

<213> Bos taurus

<400> 121

Gly Gly Leu Lys Lys Asp Ser Leu Leu Thr Val Arg Leu Gly Ala Asn
1 5 10 15

<210> 122

<211> 13

<212> PRT

<213> Bos taurus

<220>

<221> VARIANT

<222> (1)...(12)

<223> Xaa bei Pos. 12 ist unbekannt

<400> 122

Leu Gly Ala Trp Gly Pro Pro Ala Phe Pro Val Xaa Tyr
1 5 10

<210> 123

<211> 23

<212> PRT

<213> Bos taurus

<400> 123

Leu Leu Thr Val Arg Leu Gly Ala Trp Gly His Pro Ala Phe Pro Ser
 1 5 10 15
 Cys Gly Arg Leu Lys Glu Asp
 20

<210> 124

<211> 13

<212> PRT

<213> Bos taurus

<220>

<221> VARIANT

<222> (10)...(10)

<223> Xaa bei Pos. 10 ist unbekannt

<400> 124

Tyr Ile Phe Phe Met Glu Pro Glu Ala Xaa Ser Ser Gly
 1 5 10

<210> 125

<211> 23

<212> PRT

<213> Bos taurus

<400> 125

Lys Glu Asp Ser Arg Tyr Ile Phe Phe Met Glu Pro Glu Ala Asn Ser
 1 5 10 15
 Ser Gly Gly Pro Gly Arg Leu
 20

<210> 126

<211> 14

<212> PRT

<213> Bos taurus

<400> 126

Val Ala Gly Ser Lys Leu Val Leu Arg Cys Glu Thr Ser Ser
 1 5 10

<210> 127

<211> 16

<212> PRT

<213> Bos taurus

<400> 127

Glu Tyr Lys Cys Leu Lys Phe Lys Trp Phe Lys Lys Ala Thr Val Met
 1 5 10 15

<210> 128

<211> 26

<212> PRT

<213> Bos taurus

<400> 128

Cys Glu Thr Ser Ser Glu Tyr Ser Ser Leu Lys Phe Lys Trp Phe Lys
 1 5 10 15
 Asn Gly Ser Glu Leu Ser Arg Lys Asn Lys

20

25

<210> 129
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Bos taurus

<400> 129
 Lys Ala Ser Leu Ala Asp Ser Gly Glu Tyr Met
 1 5 10

<210> 130
 <211> 23
 <212> PRT
 <213> Bos taurus

<400> 130
 Glu Leu Arg Ile Ser Lys Ala Ser Leu Ala Asp Ser Gly Glu Tyr Met
 1 5 10 15
 Cys Lys Val Ile Ser Lys Leu
 20

<210> 131
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Bos taurus

<400> 131
 Ala Ser Leu Ala Asp Glu Tyr Glu Tyr Met Arg Lys
 1 5 10

<210> 132
 <211> 22
 <212> PRT
 <213> Bos taurus

<400> 132
 Leu Arg Ile Ser Lys Ala Ser Leu Ala Asp Ser Gly Glu Tyr Met Cys
 1 5 10 15
 Lys Val Ile Ser Lys Leu
 20

<210> 133
 <211> 744
 <212> DNA
 <213> Bos taurus

<220>
 <221> CDS
 <222> (8)...(625)

<400> 133
 cctgcag cat caa gtg tgg gcg gcg aaa gcc ggg ggc ttg aag aag gac
 49
 His Gln Val Trp Ala Ala Lys Ala Gly Gly Leu Lys Lys Asp
 1 5 10
 tcg ctg ctc acc gtg cgc ctg ggc gcc tgg ggc cac ccc gcc ttc ccc

97
 Ser Leu Leu Thr Val Arg Leu Gly Ala Trp Gly His Pro Ala Phe Pro
 15 20 25 30

tcc tgc ggg cgc ctc aag gag gac agc agg tac atc ttc ttc atg gag
 145

Ser Cys Gly Arg Leu Lys Glu Asp Ser Arg Tyr Ile Phe Phe Met Glu
 35 40 45

ccc gag gcc aac agc agc ggc ggg ccc ggc cgc ctt ccg agc ctc ctt
 193

Pro Glu Ala Asn Ser Ser Gly Gly Pro Gly Arg Leu Pro Ser Leu Leu
 50 55 60

ccc ccc tct cga gac ggg ccg gaa cct caa gaa gga ggt cag ccg ggt
 241

Pro Pro Ser Arg Asp Gly Pro Glu Pro Gln Glu Gly Gly Gln Pro Gly
 65 70 75

gct gtg caa cgg tgc gcc ttg cct ccc cgc ttg aaa gag atg aag agt
 289

Ala Val Gln Arg Cys Ala Leu Pro Pro Arg Leu Lys Glu Met Lys Ser
 80 85 90

cag gag tct gtg gca ggt tcc aaa cta gtg ctt cgg tgc gag acc agt
 337

Gln Glu Ser Val Ala Gly Ser Lys Leu Val Leu Arg Cys Glu Thr Ser
 95 100 105 110

tct gaa tac tcc tct ctc aag ttc aag tgg ttc aag aat ggg agt gaa
 385

Ser Glu Tyr Ser Ser Leu Lys Phe Lys Trp Phe Lys Asn Gly Ser Glu
 115 120 125

tta agc cga aag aac aaa cca gaa aac atc aag ata cag aaa agg ccg
 433

Leu Ser Arg Lys Asn Lys Pro Glu Asn Ile Lys Ile Gln Lys Arg Pro
 130 135 140

ggg aag tca gaa ctt cgc att agc aaa gcg tca ctg gct gat tct gga
 481

Gly Lys Ser Glu Leu Arg Ile Ser Lys Ala Ser Leu Ala Asp Ser Gly
 145 150 155

gaa tat atg tgc aaa gtg atc agc aaa cta gga aat gac agt gcc tct
 529

Glu Tyr Met Cys Lys Val Ile Ser Lys Leu Gly Asn Asp Ser Ala Ser
 160 165 170

gcc aac atc acc att gtg gag tca aac ggt aag aga tgc cta ctg cgt
 577

Ala Asn Ile Thr Ile Val Glu Ser Asn Gly Lys Arg Cys Leu Leu Arg
 175 180 185 190

gct att tct cag tct cta aga gga gtg atc aag gta tgt ggt cac act
 625

Ala Ile Ser Gln Ser Leu Arg Gly Val Ile Lys Val Cys Gly His Thr
 195 200 205

tgaatcacgc aggtgtgtga aatctcattg tcaacaaata aaaatcatga aaggaaaaaa
 685

aaaaaaaaaa aatcgatgtc gactcgagat gtggctgcag gtcgactcta gaggatccc
 744

<210> 134
 <211> 1193
 <212> DNA
 <213> Bos taurus

<400> 134
 cctgcagcat caagtgtggg cggcgaaagc cgggggcttg aagaaggact cgctgctcac
 60
 cgtgcgcctg ggcgcctggg gccaccccgc cttcccctcc tgcgggcgcc tcaaggagga
 120
 cagcaggtac atcttcttca tggagcccga ggccaacagc agcggcgggc ccggccgcct
 180
 tccgagcctc cttccccctc ctcgagacgg gccggaacct caagaaggag gtcagccggg
 240
 tgctgtgcaa cgggtgcgct tgcctccccg cttgaaagag atgaagagtc aggagtctgt
 300
 ggcaggttcc aaactagtgc ttcggtgcga gaccagttct gaatactcct ctctcaagtt
 360
 caagtggttc aagaatggga gtgaattaag ccgaaagaac aaaccagaaa acatcaagat
 420
 acagaaaagg ccggggaagt caggacttcg cattagcaaa gcgtcactgg ctgattctgg
 480
 agaatatatg tgcaaagtga tcagcaaaact aggaaatgac agtgcctctg ccaacatcac
 540
 cattgtggag tcaaacgcca catccacatc tacagctggg acaagccatc ttgtcaagtg
 600
 tgcagagaag gagaaaactt tctgtgtgaa tggaggcgag tgcttcatgg tgaaagacct
 660
 ttcaaatccc tcaagatact tgtgcaagtg ccaacctgga ttcactggag cgagatgtac
 720
 tgagaatgtg cccatgaaag tccaaaccca agaaagtgcc caaatgagtt tactggtgat
 780
 cgctgccaaa actacgtaat ggccagcttc tacagtacgt ccaactcctt tctgtctctg
 840
 cctgaatagc gcatctcagt cgggtgccgt ttcttgttgc cgcactctccc ctcagattcc
 900
 tcctagagct agatgcgttt taccaggtct aacattgact gcctctgcct gtcgcatgag
 960
 aacattaaca caagcgattg tatgacttcc tctgtccgtg actagtgggc tctgagctac
 1020
 tcgtaggtgc gtaaggctcc agtgtttctg aaattgatct tgaattactg tgatacgaca
 1080
 tgatagtccc tctcaccagc tgcaatgaca ataaaggcct tgaaaagtca aaaaaaaaaa
 1140
 aaaaaaaaaa aatcgatgtc gactcgagat gtggctgcag gtcgactcta gag
 1193

<210> 135
 <211> 1108
 <212> DNA
 <213> Bos taurus

<220>
 <221> CDS
 <222> (8)...(778)

<400> 135
 cctgcag cat caa gtg tgg gcg gcg aaa gcc ggg ggc ttg aag aag gac
 49
 His Gln Val Trp Ala Ala Lys Ala Gly Gly Leu Lys Lys Asp
 1 5 10
 tcg ctg ctc acc gtg cgc ctg ggc gcc tgg ggc cac ccc gcc ttc ccc

97
 Ser Leu Leu Thr Val Arg Leu Gly Ala Trp Gly His Pro Ala Phe Pro
 15 20 25 30

tcc tgc ggg cgc ctc aag gag gac agc agg tac atc ttc ttc atg gag
 145

Ser Cys Gly Arg Leu Lys Glu Asp Ser Arg Tyr Ile Phe Phe Met Glu
 35 40 45

ccc gag gcc aac agc agc ggc ggg ccc ggc cgc ctt ccg agc ctc ctt
 193

Pro Glu Ala Asn Ser Ser Gly Gly Pro Gly Arg Leu Pro Ser Leu Leu
 50 55 60

ccc ccc tct cga gac ggg ccg gaa cct caa gaa gga ggt cag ccg ggt
 241

Pro Pro Ser Arg Asp Gly Pro Glu Pro Gln Glu Gly Gly Gln Pro Gly
 65 70 75

gct gtg caa cgg tgc gcc ttg cct ccc cgc ttg aaa gag atg aag agt
 289

Ala Val Gln Arg Cys Ala Leu Pro Pro Arg Leu Lys Glu Met Lys Ser
 80 85 90

cag gag tct gtg gca ggt tcc aaa cta gtg ctt cgg tgc gag acc agt
 337

Gln Glu Ser Val Ala Gly Ser Lys Leu Val Leu Arg Cys Glu Thr Ser
 95 100 105 110

tct gaa tac tcc tct ctc aag ttc aag tgg ttc aag aat ggg agt gaa
 385

Ser Glu Tyr Ser Ser Leu Lys Phe Lys Trp Phe Lys Asn Gly Ser Glu
 115 120 125

tta agc cga aag aac aaa cca gaa aac atc aag ata cag aaa agg ccg
 433

Leu Ser Arg Lys Asn Lys Pro Glu Asn Ile Lys Ile Gln Lys Arg Pro
 130 135 140

ggg aag tca gaa ctt cgc att agc aaa gcg tca ctg gct gat tct gga
 481

Gly Lys Ser Glu Leu Arg Ile Ser Lys Ala Ser Leu Ala Asp Ser Gly
 145 150 155

gaa tat atg tgc aaa gtg atc agc aaa cta gga aat gac agt gcc tct
 529

Glu Tyr Met Cys Lys Val Ile Ser Lys Leu Gly Asn Asp Ser Ala Ser
 160 165 170

gcc aac atc acc att gtg gag tca aac gcc aca tcc aca tct aca gct
 577

Ala Asn Ile Thr Ile Val Glu Ser Asn Ala Thr Ser Thr Ser Thr Ala
 175 180 185 190

ggg aca agc cat ctt gtc aag tgt gca gag aag gag aaa act ttc tgt
 625

Gly Thr Ser His Leu Val Lys Cys Ala Glu Lys Glu Lys Thr Phe Cys
 195 200 205

gtg aat gga ggc gag tgc ttc atg gtg aaa gac ctt tca aat ccc tca
 673

Val Asn Gly Gly Glu Cys Phe Met Val Lys Asp Leu Ser Asn Pro Ser
 210 215 220

aga tac ttg tgc aag tgc cca aat gag ttt act ggt gat cgc tgc caa
721
Arg Tyr Leu Cys Lys Cys Pro Asn Glu Phe Thr Gly Asp Arg Cys Gln
225 230 235

aac tac gta atg gcc agc ttc tac agt acg tcc act ccc ttt ctg tct
769
Asn Tyr Val Met Ala Ser Phe Tyr Ser Thr Ser Thr Pro Phe Leu Ser
240 245 250

ctg cct gaa tagcgcacatct cagtcgggtgc cgctttccttg ttgccgcac
818
Leu Pro Glu
255

tcccctcaga ttccgcctag agctagatgc gttttaccag gtctaacatt gactgcctct
878
gcctgtcgca tgagaacatt aacacaagcg attgtatgac ttcctctgtc cgtgactagt
938
gggctctgag ctactcgtag gtgcgtaagg ctccagtgtt tctgaaattg atcttgaatt
998
actgtgatac gacatgatag tccctctcac ccagtgcaat gacaataaag gccttgaaaa
1058
gtcaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaatcgat gtcgactcga gatgtggctg
1108

<210> 136
<211> 559
<212> DNA
<213> Bos taurus

<220>
<221> CDS
<222> (459)...(558)

<221> variation
<222> (214)...(214)
<223> N bei Pos. 214 ist unbekannt

<400> 136
agtttcccc cccaacttgt cggaactctg ggctcgcgcg cagggcagga gcggagcggc
60
ggcggctgac caggcgatgc gagcgcgggc cggacggtaa tcgcctctcc ctccctcgggc
120
tgcgagcgcg ccggaccgag gcagcgacag gagcggaccg cggcgggaac cgaggactcc
180
ccagcggcgc gccagcagga gccacccgcg gagnctgctg accgggacgg agcgcgccgc
240
agtcccaggt ggcccggacc gcacgttgcg tccccgcgct cccgcgccgc gacaggagac
300
gtccccccc acgcccgcgc cgccctcgcc cggtcgctgg cccgcctcca ctccggggac
360
aaacttttcc cgaagccgat cccagccctc ggacccaaac ttgtcgcgcg tcgccttcgc
420
cgggagccgt ccgcgcagag cgtgcacttc tcgggcga gat gtc gga gcg cag aga
476

Asp Val Gly Ala Gln Arg
1 5

agg caa agg caa ggg gaa ggg cgg caa gaa gga ccg agg ctc cgg gaa
524
Arg Gln Arg Gln Gly Glu Gly Arg Gln Glu Gly Pro Arg Leu Arg Glu

10

15

20

gaa gcc cgt gcc cgc ggc tgg cgg ccc gag ccc a g
559

Glu Ala Arg Ala Arg Gly Trp Arg Pro Glu Pro
25 30

<210> 137
<211> 252
<212> DNA
<213> Bos taurus

<220>
<221> CDS
<222> (3)...(251)

<221> variation
<222> (8)...(8)
<223> N bei Pos. 8 ist A oder G

<221> variation
<222> (2)...(2)
<223> Xaa ist unbekannt

<400> 137

cc cat can gtg tgg gcg gcg aaa gcc ggg ggc ttg aag aag gac tcg
47

His Xaa Val Trp Ala Ala Lys Ala Gly Gly Leu Lys Lys Asp Ser
1 5 10 15

ctg ctc acc gtg cgc ctg ggc gcc tgg ggc cac ccc gcc ttc ccc tcc
95

Leu Leu Thr Val Arg Leu Gly Ala Trp Gly His Pro Ala Phe Pro Ser
20 25 30

tgc ggg cgc ctc aag gag gac agc agg tac atc ttc ttc atg gag ccc
143

Cys Gly Arg Leu Lys Glu Asp Ser Arg Tyr Ile Phe Phe Met Glu Pro
35 40 45

gag gcc aac agc agc ggc ggg ccc ggc cgc ctt ccg agc ctc ctt ccc
191

Glu Ala Asn Ser Ser Gly Gly Pro Gly Arg Leu Pro Ser Leu Leu Pro
50 55 60

ccc tct cga gac ggg ccg gaa cct caa gaa gga ggt cag ccg ggt gct
239

Pro Ser Arg Asp Gly Pro Glu Pro Gln Glu Gly Gly Gln Pro Gly Ala
65 70 75

gtg caa cgg tgc g

252

Val Gln Arg Cys

80

<210> 138
<211> 178
<212> DNA
<213> Bos taurus

<400> 138

ccttgcctcc ccgcttgaaa gagatgaaga gtcaggagtc tgtggcaggt tccaaactag
60
tgcttcgggtg cgagaccagt tctgaatact cctctctcaa gttcaagtgg ttcaagaatg
120
ggagtgaatt aagccgaaag aacaaaccac aaaacatcaa gatacagaaa aggccggg
178

<210> 139

<211> 122

<212> DNA

<213> Bos taurus

<220>

<221> CDS

<222> (2)...(121)

<400> 139

g aag tca gaa ctt cgc att agc aaa gcg tca ctg gct gat tct gga gaa
49
Lys Ser Glu Leu Arg Ile Ser Lys Ala Ser Leu Ala Asp Ser Gly Glu
1 5 10 15

tat atg tgc aaa gtg atc agc aaa cta gga aat gac agt gcc tct gcc
97
Tyr Met Cys Lys Val Ile Ser Lys Leu Gly Asn Asp Ser Ala Ser Ala
20 25 30

aac atc acc att gtg gag tca aac g
122
Asn Ile Thr Ile Val Glu Ser Asn
35 40

<210> 140

<211> 417

<212> DNA

<213> Bos taurus

<220>

<221> CDS

<222> (84)...(272)

<400> 140

tctaaaacta cagagactgt attttcatga tcatcatagt tctgtgaaat atacttaaac
60
cgctttggtc ctgatcttgt agg aag tca gaa ctt cgc att agc aaa gcg tca
113
Lys Ser Glu Leu Arg Ile Ser Lys Ala Ser
1 5 10

ctg gct gat tct gga gaa tat atg tgc aaa gtg atc agc aaa cta gga
161
Leu Ala Asp Ser Gly Glu Tyr Met Cys Lys Val Ile Ser Lys Leu Gly
15 20 25

aat gac agt gcc tct gcc aac atc acc att gtg gag tca aac ggt aag
209
Asn Asp Ser Ala Ser Ala Asn Ile Thr Ile Val Glu Ser Asn Gly Lys
30 35 40

aga tgc cta ctg cgt gct att tct cag tct cta aga gga gtg atc aag
257

Arg Cys Leu Leu Arg Ala Ile Ser Gln Ser Leu Arg Gly Val Ile Lys
 45 50 55

gta tgt ggt cac act tgaatcacgc aggtgtgtga aatctcattg tgaacaaata
 312
 Val Cys Gly His Thr
 60

aaaatcatga aaggaaaact ctatgtttga aatatcttat gggtcctcct gtaaagctct
 372
 tcaactccata aggtgaaata gacctgaaat atatatagat tattt
 417

<210> 141
 <211> 102
 <212> DNA
 <213> Bos taurus

<220>
 <221> CDS
 <222> (3)...(101)

<400> 141
 ag atc acc act ggc atg cca gcc tca act gag aca gcg tat gtg tct
 47

Ile Thr Thr Gly Met Pro Ala Ser Thr Glu Thr Ala Tyr Val Ser
 1 5 10 15

tca gag tct ccc att aga ata tca gta tca aca gaa gga aca aat act
 95

Ser Glu Ser Pro Ile Arg Ile Ser Val Ser Thr Glu Gly Thr Asn Thr
 20 25 30

tct tca t
 102
 Ser Ser

<210> 142
 <211> 69
 <212> DNA
 <213> Bos taurus

<220>
 <221> CDS
 <222> (1)...(69)

<400> 142
 aag tgc caa cct gga ttc act gga gcg aga tgt act gag aat gtg ccc
 48

Lys Cys Gln Pro Gly Phe Thr Gly Ala Arg Cys Thr Glu Asn Val Pro
 1 5 10 15

atg aaa gtc caa acc caa gaa
 69

Met Lys Val Gln Thr Gln Glu
 20

<210> 143
 <211> 60
 <212> DNA

<213> Bos taurus

<220>

<221> CDS

<222> (1)...(60)

<400> 143

aag tgc cca aat gag ttt act ggt gat cgc tgc caa aac tac gta atg
48

Lys Cys Pro Asn Glu Phe Thr Gly Asp Arg Cys Gln Asn Tyr Val Met
1 5 10 15

gcc agc ttc tac
60

Ala Ser Phe Tyr
20

<210> 144

<211> 36

<212> DNA

<213> Bos taurus

<400> 144

agtacgtcca ctccctttct gtctctgcct gaatag
36

<210> 145

<211> 27

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> CDS

<222> (1)...(27)

<400> 145

aag cat ctt ggg att gaa ttt atg gag
27

Lys His Leu Gly Ile Glu Phe Met Glu
1 5

<210> 146

<211> 569

<212> DNA

<213> Bos taurus

<220>

<221> CDS

<222> (1)...(565)

<400> 146

aaa gcg gag gag ctc tac cag aag aga gtg ctc acc att acc ggc att
48

Lys Ala Glu Glu Leu Tyr Gln Lys Arg Val Leu Thr Ile Thr Gly Ile
1 5 10 15

tgc atc gcg ctg ctc gtg gtt ggc atc atg tgt gtg gtg gtc tac tgc
96

Cys Ile Ala Leu Leu Val Val Gly Ile Met Cys Val Val Val Tyr Cys
20 25 30

aaa acc aag aaa caa cgg aaa aag ctt cat gac cgg ctt cgg cag agc
 144
 Lys Thr Lys Lys Gln Arg Lys Lys Leu His Asp Arg Leu Arg Gln Ser
 35 40 45

ctt cgg tct gaa aga aac acc atg atg aac gta gcc aac ggg ccc cac
 192
 Leu Arg Ser Glu Arg Asn Thr Met Met Asn Val Ala Asn Gly Pro His
 50 55 60

cac ccc aat ccg ccc ccc gag aac gtg cag ctg gtg aat caa tac gta
 240
 His Pro Asn Pro Pro Pro Glu Asn Val Gln Leu Val Asn Gln Tyr Val
 65 70 75 80

tct aaa aat gtc atc tct agc gag cat att gtt gag aga gag gcg gag
 288
 Ser Lys Asn Val Ile Ser Ser Glu His Ile Val Glu Arg Glu Ala Glu
 85 90 95

agc tct ttt tcc acc agt cac tac act tcg aca gct cat cat tcc act
 336
 Ser Ser Phe Ser Thr Ser His Tyr Thr Ser Thr Ala His His Ser Thr
 100 105 110

act gtc act cag act ccc agt cac agc tgg agc aat gga cac act gaa
 384
 Thr Val Thr Gln Thr Pro Ser His Ser Trp Ser Asn Gly His Thr Glu
 115 120 125

agc atc att tcg gaa agc cac tct gtc atc gtg atg tca tcc gta gaa
 432
 Ser Ile Ile Ser Glu Ser His Ser Val Ile Val Met Ser Ser Val Glu
 130 135 140

aac agt agg cac agc agc ccg act ggg ggc ccg aga gga cgt ctc aat
 480
 Asn Ser Arg His Ser Ser Pro Thr Gly Gly Pro Arg Gly Arg Leu Asn
 145 150 155 160

ggc ttg gga ggc cct cgt gaa tgt aac agc ttc ctc agg cat gcc aga
 528
 Gly Leu Gly Gly Pro Arg Glu Cys Asn Ser Phe Leu Arg His Ala Arg
 165 170 175

gaa acc cct gac tcc tac cga gac tct cct cat agt g aaag
 569
 Glu Thr Pro Asp Ser Tyr Arg Asp Ser Pro His Ser
 180 185

<210> 147
 <211> 730
 <212> DNA
 <213> Bos taurus

<220>
 <221> CDS
 <222> (2)...(652)

<400> 147
 g tat gta tca gca atg acc acc ccg gct cgt atg tca cct gta gat ttc
 49

Tyr Val Ser Ala Met Thr Thr Pro Ala Arg Met Ser Pro Val Asp Phe
 1 5 10 15
 cac acg cca agc tcc ccc aag tca ccc cct tcg gaa atg tcc ccg ccc
 97
 His Thr Pro Ser Ser Pro Lys Ser Pro Pro Ser Glu Met Ser Pro Pro
 20 25 30
 gtg tcc agc acg acg gtc tcc atg ccc tcc atg gcg gtc agt ccc ttc
 145
 Val Ser Ser Thr Thr Val Ser Met Pro Ser Met Ala Val Ser Pro Phe
 35 40 45
 gtg gaa gag gag aga ccc ctg ctc ctt gtg acg cca cca cgg ctg cgg
 193
 Val Glu Glu Glu Arg Pro Leu Leu Leu Val Thr Pro Pro Arg Leu Arg
 50 55 60
 gag aag tat gac cac cac gcc cag caa ttc aac tcg ttc cac tgc aac
 241
 Glu Lys Tyr Asp His His Ala Gln Gln Phe Asn Ser Phe His Cys Asn
 65 70 75 80
 ccc gcg cat gag agc aac agc ctg ccc ccc agc ccc ttg agg ata gtg
 289
 Pro Ala His Glu Ser Asn Ser Leu Pro Pro Ser Pro Leu Arg Ile Val
 85 90 95
 gag gat gag gaa tat gaa acg acc cag gag tac gaa cca gct caa gag
 337
 Glu Asp Glu Glu Tyr Glu Thr Thr Gln Glu Tyr Glu Pro Ala Gln Glu
 100 105 110
 ccg gtt aag aaa ctc acc aac agc agc cgg cgg gcc aaa aga acc aag
 385
 Pro Val Lys Lys Leu Thr Asn Ser Ser Arg Arg Ala Lys Arg Thr Lys
 115 120 125
 ccc aat ggt cac att gcc cac agg ttg gaa atg gac aac aac aca ggc
 433
 Pro Asn Gly His Ile Ala His Arg Leu Glu Met Asp Asn Asn Thr Gly
 130 135 140
 gct gac agc agt aac tca gag agc gaa aca gag gat gaa aga gta gga
 481
 Ala Asp Ser Ser Asn Ser Glu Ser Glu Thr Glu Asp Glu Arg Val Gly
 145 150 155 160
 gaa gat acg cct ttc ctg gcc ata cag aac ccc ctg gca gcc agt ctc
 529
 Glu Asp Thr Pro Phe Leu Ala Ile Gln Asn Pro Leu Ala Ala Ser Leu
 165 170 175
 gag gcg gcc cct gcc ttc cgc ctg gtc gac agc agg act aac cca aca
 577
 Glu Ala Ala Pro Ala Phe Arg Leu Val Asp Ser Arg Thr Asn Pro Thr
 180 185 190
 ggc ggc ttc tct ccg cag gaa gaa ttg cag gcc agg ctc tcc ggt gta
 625
 Gly Gly Phe Ser Pro Gln Glu Glu Leu Gln Ala Arg Leu Ser Gly Val
 195 200 205

atc gct aac caa gac cct atc gct gtc taaaaccgaa atacacccat

672

Ile Ala Asn Gln Asp Pro Ile Ala Val

210

215

agattcacct gtaaaacttt attttatata ataaagtatt ccaccttaaa ttaaacia

730

<210> 148

<211> 1652

<212> DNA

<213> Bos taurus

<220>

<221> CDS

<222> (459)...(1181)

<400> 148

agtttccccc cccaacttgt cggaactctg ggctcgcgcg cagggcagga gcggagcggc

60

ggcggctgcc caggcgatgc gagcgcgggc cggacggtaa tcgcctctcc ctctcgggc

120

tgcgagcgcg ccggaccgag gcagcgacag gagcggaccg cggcgggaac cgaggactcc

180

ccagcggcgc gccagcagga gccaccccgc gagcgtgcga ccgggacgga gcgcccgcca

240

gtcccagggtg gcccggaccg cacgttgcgt ccccgcgctc cccgcccggc acaggagacg

300

ctccccccca cgccgcgcgc gcctcggccc ggtcgctggc ccgcctccac tccggggaca

360

aacttttccc gaagccgatc ccagccctcg gaccctaaact tgcgcgcgt cgccttcgcc

420

gggagccgtc cgcgcagagc gtgcacttct cgggagag atg tcg gag cgc aga gaa

476

Met Ser Glu Arg Arg Glu

1

5

ggc aaa ggc aag ggg aag ggc ggc aag aag gac cga ggc tcc ggg aag

524

Gly Lys Gly Lys Gly Lys Gly Gly Lys Lys Asp Arg Gly Ser Gly Lys

10

15

20

aag ccc gtg ccc gcg gct ggc ggc ccg agc cca gcc ttg cct ccc cgc

572

Lys Pro Val Pro Ala Ala Gly Gly Pro Ser Pro Ala Leu Pro Pro Arg

25

30

35

ttg aaa gag atg aag atg cag gag tct gtg gca ggt tcc aaa cta gtg

620

Leu Lys Glu Met Lys Met Gln Glu Ser Val Ala Gly Ser Lys Leu Val

40

45

50

ctt cgg tgc gag acc agt tct gaa tac tcc tct ctc aag ttc aag tgg

668

Leu Arg Cys Glu Thr Ser Ser Glu Tyr Ser Ser Leu Lys Phe Lys Trp

55

60

65

70

ttc aag aat ggg agt gaa tta agc cga aag aac aaa cca caa aac atc

716

Phe Lys Asn Gly Ser Glu Leu Ser Arg Lys Asn Lys Pro Gln Asn Ile

75

80

85

aag ata cag aaa agg ccg ggg aag tca gaa ctt cgc att agc aaa gcg

764
 Lys Ile Gln Lys Arg Pro Gly Lys Ser Glu Leu Arg Ile Ser Lys Ala
 90 95 100

tca ctg gct gat tct gga gaa tat atg tgc aaa gtg atc agc aaa cta
 812
 Ser Leu Ala Asp Ser Gly Glu Tyr Met Cys Lys Val Ile Ser Lys Leu
 105 110 115

gga aat gac agt gcc tct gcc aac atc acc att gtg gag tca aac gag
 860
 Gly Asn Asp Ser Ala Ser Ala Asn Ile Thr Ile Val Glu Ser Asn Glu
 120 125 130

atc acc act ggc atg cca gcc tca act gag aca gcg tat gtg tct tca
 908
 Ile Thr Thr Gly Met Pro Ala Ser Thr Glu Thr Ala Tyr Val Ser Ser
 135 140 145 150

gag tct ccc att aga ata tca gta tca aca gaa gga aca aat act tct
 956
 Glu Ser Pro Ile Arg Ile Ser Val Ser Thr Glu Gly Thr Asn Thr Ser
 155 160 165

tca tcc aca tcc aca tct aca gct ggg aca agc cat ctt gtc aag tgt
 1004
 Ser Ser Thr Ser Thr Ser Thr Ala Gly Thr Ser His Leu Val Lys Cys
 170 175 180

gca gag aag gag aaa act ttc tgt gtg aat gga ggc gag tgc ttc atg
 1052
 Ala Glu Lys Glu Lys Thr Phe Cys Val Asn Gly Gly Glu Cys Phe Met
 185 190 195

gtg aaa gac ctt tca aat ccc tca aga tac ttg tgc aag tgc cca aat
 1100
 Val Lys Asp Leu Ser Asn Pro Ser Arg Tyr Leu Cys Lys Cys Pro Asn
 200 205 210

gag ttt act ggt gat cgc tgc caa aac tac gta atg gcc agc ttc tac
 1148
 Glu Phe Thr Gly Asp Arg Cys Gln Asn Tyr Val Met Ala Ser Phe Tyr
 215 220 225 230

agt acg tcc act ccc ttt ctg tct ctg cct gaa taggcgcatg ctcagtcggt
 1201
 Ser Thr Ser Thr Pro Phe Leu Ser Leu Pro Glu
 235 240

gccgctttct tgttgccgca tctcccctca gattcaacct agagctagat gcgttttacc
 1261
 aggtctaaca ttgactgcct ctgcctgtcg catgagaaca ttaacacaag cgattgtatg
 1321
 acttcctctg tccgtgacta gtgggctctg agctactcgt aggtgcgtaa ggctccagtg
 1381
 tttctgaaat tgatcttgaa ttactgtgat acgacatgat agtccctctc acccagtgca
 1441
 atgacaataa aggccttgaa aagtctcact tttattgaga aaataaaaaat cgttccacgg
 1501
 gacagtcctt cttctttata aaatgacctt atccttgaaa aggaggtgtg ttaagttgta
 1561
 accagtacac acttgaaatg atggtaagtt cgcttcggtt cagaatgtgt tctttctgac
 1621

aaataaacag aataaaaaaa aaaaaaaaaa a
1652

<210> 149
<211> 1140
<212> DNA
<213> Bos taurus

<220>
<221> CDS
<222> (1)...(840)

<221> variation
<222> (6)...(6)
<223> N ist unbekannt

<221> variation
<222> (2)...(2)
<223> Xaa ist unbekannt

<400> 149
cat can gtg tgg gcg gcg aaa gcc ggg ggc ttg aag aag gac tcg ctg
48
His Xaa Val Trp Ala Ala Lys Ala Gly Gly Leu Lys Lys Asp Ser Leu
1 5 10 15
ctc acc gtg cgc ctg ggc gcc tgg ggc cac ccc gcc ttc ccc tcc tgc
96
Leu Thr Val Arg Leu Gly Ala Trp Gly His Pro Ala Phe Pro Ser Cys
20 25 30
ggg cgc ctc aag gag gac agc agg tac atc ttc ttc atg gag ccc gag
144
Gly Arg Leu Lys Glu Asp Ser Arg Tyr Ile Phe Phe Met Glu Pro Glu
35 40 45
gcc aac agc agc ggc ggg ccc ggc cgc ctt ccg agc ctc ctt ccc ccc
192
Ala Asn Ser Ser Gly Gly Pro Gly Arg Leu Pro Ser Leu Leu Pro Pro
50 55 60
tct cga gac ggg ccg gaa cct caa gaa gga ggt cag ccg ggt gct gtg
240
Ser Arg Asp Gly Pro Glu Pro Gln Glu Gly Gly Gln Pro Gly Ala Val
65 70 75 80
caa cgg tgc gcc ttg cct ccc cgc ttg aaa gag atg aag agt cag gag
288
Gln Arg Cys Ala Leu Pro Pro Arg Leu Lys Glu Met Lys Ser Gln Glu
85 90 95
tct gtg gca ggt tcc aaa cta gtg ctt cgg tgc gag acc agt tct gaa
336
Ser Val Ala Gly Ser Lys Leu Val Leu Arg Cys Glu Thr Ser Ser Glu
100 105 110
tac tcc tct ctc aag ttc aag tgg ttc aag aat ggg agt gaa tta agc
384
Tyr Ser Ser Leu Lys Phe Lys Trp Phe Lys Asn Gly Ser Glu Leu Ser
115 120 125
cga aag aac aaa cca gaa aac atc aag ata cag aaa agg ccg ggg aag
432

Arg Lys Asn Lys Pro Glu Asn Ile Lys Ile Gln Lys Arg Pro Gly Lys
 130 135 140
 tca gaa ctt cgc att agc aaa gcg tca ctg gct gat tct gga gaa tat
 480
 Ser Glu Leu Arg Ile Ser Lys Ala Ser Leu Ala Asp Ser Gly Glu Tyr
 145 150 155 160
 atg tgc aaa gtg atc agc aaa cta gga aat gac agt gcc tct gcc aac
 528
 Met Cys Lys Val Ile Ser Lys Leu Gly Asn Asp Ser Ala Ser Ala Asn
 165 170 175
 atc acc att gtg gag tca aac gcc aca tcc aca tct aca gct ggg aca
 576
 Ile Thr Ile Val Glu Ser Asn Ala Thr Ser Thr Ser Thr Ala Gly Thr
 180 185 190
 agc cat ctt gtc aag tgt gca gag aag gag aaa act ttc tgt gtg aat
 624
 Ser His Leu Val Lys Cys Ala Glu Lys Glu Lys Thr Phe Cys Val Asn
 195 200 205
 gga ggc gag tgc ttc atg gtg aaa gac ctt tca aat ccc tca aga tac
 672
 Gly Gly Glu Cys Phe Met Val Lys Asp Leu Ser Asn Pro Ser Arg Tyr
 210 215 220
 ttg tgc aag tgc caa cct gga ttc act gga gcg aga tgt act gag aat
 720
 Leu Cys Lys Cys Gln Pro Gly Phe Thr Gly Ala Arg Cys Thr Glu Asn
 225 230 235 240
 gtg ccc atg aaa gtc caa acc caa gaa aag tgc cca aat gag ttt act
 768
 Val Pro Met Lys Val Gln Thr Gln Glu Lys Cys Pro Asn Glu Phe Thr
 245 250 255
 ggt gat cgc tgc caa aac tac gta atg gcc agc ttc tac agt acg tcc
 816
 Gly Asp Arg Cys Gln Asn Tyr Val Met Ala Ser Phe Tyr Ser Thr Ser
 260 265 270
 act ccc ttt ctg tct ctg cct gaa tagcgcacatct cagtcggtgc cgctttcttg
 870
 Thr Pro Phe Leu Ser Leu Pro Glu
 275 280
 ttgccgcac tcccctcaga ttccnctag agctagatgc gttttaccag gtctaacatt
 930
 gactgcctct gcctgtcgca tgagaacatt aacacaagcg attgtatgac ttcctctgtc
 990
 cgtgactagt gggctctgag ctactcgtag gtgcgtaagg ctccagtgtt tctgaaattg
 1050
 atcttgaatt actgtgatac gacatgatag tccctctcac ccagtgcaat gacaataaag
 1110
 gccttgaaaa gtcaaaaaaaaa aaaaaaaaaa
 1140
 <210> 150
 <211> 1764
 <212> DNA
 <213> Bos taurus

<220>

<221> CDS

<222> (2)...(1681)

<400> 150

g aag tca gaa ctt cgc att agc aaa gcg tca ctg gct gat tct gga gaa
49Lys Ser Glu Leu Arg Ile Ser Lys Ala Ser Leu Ala Asp Ser Gly Glu
1 5 10 15tat atg tgc aaa gtg atc agc aaa cta gga aat gac agt gcc tct gcc
97Tyr Met Cys Lys Val Ile Ser Lys Leu Gly Asn Asp Ser Ala Ser Ala
20 25 30aac atc acc att gtg gag tca aac gcc aca tcc aca tct aca gct ggg
145Asn Ile Thr Ile Val Glu Ser Asn Ala Thr Ser Thr Ser Thr Ala Gly
35 40 45aca agc cat ctt gtc aag tgt gca gag aag gag aaa act ttc tgt gtg
193Thr Ser His Leu Val Lys Cys Ala Glu Lys Glu Lys Thr Phe Cys Val
50 55 60aat gga ggc gac tgc ttc atg gtg aaa gac ctt tca aat ccc tca aga
241Asn Gly Gly Asp Cys Phe Met Val Lys Asp Leu Ser Asn Pro Ser Arg
65 70 75 80tac ttg tgc aag tgc caa cct gga ttc act gga gcg aga tgt act gag
289Tyr Leu Cys Lys Cys Gln Pro Gly Phe Thr Gly Ala Arg Cys Thr Glu
85 90 95aat gtg ccc atg aaa gtc caa acc caa gaa aaa gcg gag gag ctc tac
337Asn Val Pro Met Lys Val Gln Thr Gln Glu Lys Ala Glu Glu Leu Tyr
100 105 110cag aag aga gtg ctc acc att acc ggc att tgc atc gcg ctg ctc gtg
385Gln Lys Arg Val Leu Thr Ile Thr Gly Ile Cys Ile Ala Leu Leu Val
115 120 125gtt ggc atc atg tgt gtg gtg gtc tac tgc aaa acc aag aaa caa cgg
433Val Gly Ile Met Cys Val Val Val Tyr Cys Lys Thr Lys Lys Gln Arg
130 135 140aaa aag ctt cat gac cgg ctt cgg cag agc ctt cgg tct gaa aga aac
481Lys Lys Leu His Asp Arg Leu Arg Gln Ser Leu Arg Ser Glu Arg Asn
145 150 155 160acc atg atg aac gta gcc aac ggg ccc cac cac ccc aat ccg ccc ccc
529Thr Met Met Asn Val Ala Asn Gly Pro His His Pro Asn Pro Pro Pro
165 170 175gag aac gtg cag ctg gtg aat caa tac gta tct aaa aat gtc atc tct
577

Glu Asn Val Gln Leu Val Asn Gln Tyr Val Ser Lys Asn Val Ile Ser

180					185					190					
agc	gag	cat	att	gtt	gag	aga	gag	gcg	gag	agc	tct	ttt	tcc	acc	agt
625															
Ser	Glu	His	Ile	Val	Glu	Arg	Glu	Ala	Glu	Ser	Ser	Phe	Ser	Thr	Ser
		195					200					205			
cac	tac	act	tcg	aca	gct	cat	cat	tcc	act	act	gtc	act	cag	act	ccc
673															
His	Tyr	Thr	Ser	Thr	Ala	His	His	Ser	Thr	Thr	Val	Thr	Gln	Thr	Pro
	210					215					220				
agt	cac	agc	tgg	agc	aat	gga	cac	act	gaa	agc	atc	att	tcg	gaa	agc
721															
Ser	His	Ser	Trp	Ser	Asn	Gly	His	Thr	Glu	Ser	Ile	Ile	Ser	Glu	Ser
225					230					235					240
cac	tct	gtc	atc	gtg	atg	tca	tcc	gta	gaa	aac	agt	agg	cac	agc	agc
769															
His	Ser	Val	Ile	Val	Met	Ser	Ser	Val	Glu	Asn	Ser	Arg	His	Ser	Ser
				245					250					255	
ccg	act	ggg	ggc	ccg	aga	gga	cgt	ctc	aat	ggc	ttg	gga	ggc	cct	cgt
817															
Pro	Thr	Gly	Gly	Pro	Arg	Gly	Arg	Leu	Asn	Gly	Leu	Gly	Gly	Pro	Arg
			260					265					270		
gaa	tgt	aac	agc	ttc	ctc	agg	cat	gcc	aga	gaa	acc	cct	gac	tcc	tac
865															
Glu	Cys	Asn	Ser	Phe	Leu	Arg	His	Ala	Arg	Glu	Thr	Pro	Asp	Ser	Tyr
		275					280					285			
cga	gac	tct	cct	cat	agt	gaa	aga	cat	aac	ctt	ata	gct	gag	cta	agg
913															
Arg	Asp	Ser	Pro	His	Ser	Glu	Arg	His	Asn	Leu	Ile	Ala	Glu	Leu	Arg
	290					295					300				
aga	aac	aag	gcc	cac	aga	tcc	aaa	tgc	atg	cag	atc	cag	ctt	tcc	gca
961															
Arg	Asn	Lys	Ala	His	Arg	Ser	Lys	Cys	Met	Gln	Ile	Gln	Leu	Ser	Ala
305					310					315					320
act	cat	ctt	aga	gct	tct	tcc	att	ccc	cat	tgg	gct	tca	ttc	tct	aag
1009															
Thr	His	Leu	Arg	Ala	Ser	Ser	Ile	Pro	His	Trp	Ala	Ser	Phe	Ser	Lys
				325					330					335	
acc	cct	tgg	cct	tta	gga	agg	tat	gta	tca	gca	atg	acc	acc	ccg	gct
1057															
Thr	Pro	Trp	Pro	Leu	Gly	Arg	Tyr	Val	Ser	Ala	Met	Thr	Thr	Pro	Ala
			340					345					350		
cgt	atg	tca	cct	gta	gat	ttc	cac	acg	cca	agc	tcc	ccc	aag	tca	ccc
1105															
Arg	Met	Ser	Pro	Val	Asp	Phe	His	Thr	Pro	Ser	Ser	Pro	Lys	Ser	Pro
		355					360					365			
cct	tcg	gaa	atg	tcc	ccg	ccc	gtg	tcc	agc	acg	acg	gtc	tcc	atg	ccc
1153															
Pro	Ser	Glu	Met	Ser	Pro	Pro	Val	Ser	Ser	Thr	Thr	Val	Ser	Met	Pro
	370					375					380				
tcc	atg	gcg	gtc	agt	ccc	ttc	gtg	gaa	gag	gag	aga	ccc	ctg	ctc	ctt

1201

Ser Met Ala Val Ser Pro Phe Val Glu Glu Glu Arg Pro Leu Leu Leu
 385 390 395 400

gtg acg cca cca cgg ctg cgg gag aag tat gac cac cac gcc cag caa
 1249

Val Thr Pro Pro Arg Leu Arg Glu Lys Tyr Asp His His Ala Gln Gln
 405 410 415

ttc aac tcg ttc cac tgc aac ccc gcg cat gag agc aac agc ctg ccc
 1297

Phe Asn Ser Phe His Cys Asn Pro Ala His Glu Ser Asn Ser Leu Pro
 420 425 430

ccc agc ccc ttg agg ata gtg gag gat gag gaa tat gaa acg acc cag
 1345

Pro Ser Pro Leu Arg Ile Val Glu Asp Glu Glu Tyr Glu Thr Thr Gln
 435 440 445

gag tac gaa cca gct caa gag ccg gtt aag aaa ctc acc aac agc agc
 1393

Glu Tyr Glu Pro Ala Gln Glu Pro Val Lys Lys Leu Thr Asn Ser Ser
 450 455 460

cgg cgg gcc aaa aga acc aag ccc aat ggt cac att gcc cac agg ttg
 1441

Arg Arg Ala Lys Arg Thr Lys Pro Asn Gly His Ile Ala His Arg Leu
 465 470 475 480

gaa atg gac aac aac aca ggc gct gac agc agt aac tca gag agc gaa
 1489

Glu Met Asp Asn Asn Thr Gly Ala Asp Ser Ser Asn Ser Glu Ser Glu
 485 490 495

aca gag gat gaa aga gta gga gaa gat acg cct ttc ctg gcc ata cag
 1537

Thr Glu Asp Glu Arg Val Gly Glu Asp Thr Pro Phe Leu Ala Ile Gln
 500 505 510

aac ccc ctg gca gcc agt ctc gag gcg gcc cct gcc ttc cgc ctg gtc
 1585

Asn Pro Leu Ala Ala Ser Leu Glu Ala Ala Pro Ala Phe Arg Leu Val
 515 520 525

gac agc agg act aac cca aca ggc ggc ttc tct ccg cag gaa gaa ttg
 1633

Asp Ser Arg Thr Asn Pro Thr Gly Gly Phe Ser Pro Gln Glu Glu Leu
 530 535 540

cag gcc agg ctc tcc ggt gta atc gct aac caa gac cct atc gct gtc
 1681

Gln Ala Arg Leu Ser Gly Val Ile Ala Asn Gln Asp Pro Ile Ala Val
 545 550 555 560

taaaaccgaa atacacccat agattcacct gtaaaacttt attttatata ataaagtatt
 1741

ccaccttaaa ttaaacaataaa aaa
 1764

<210> 151

<211> 50

<212> PRT

<213> Bos taurus

<400> 151

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

<210> 152

<211> 50

<212> PRT

<213> Bos taurus

<400> 152

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

<210> 153

<211> 46

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 153

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

<210> 154

<211> 198

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> CDS

<222> (1)...(195)

<400> 154

agc cat ctt gtc aag tgt gca gag aag gag aaa act ttc tgt gtg aat
 48
 Ser His Leu Val Lys Cys Ala Glu Lys Glu Lys Thr Phe Cys Val Asn
 1 5 10 15
 gga ggc gag tgc ttc atg gtg aaa gac ctt tca aat ccc tca aga tac
 96
 Gly Gly Glu Cys Phe Met Val Lys Asp Leu Ser Asn Pro Ser Arg Tyr
 20 25 30
 ttg tgc aag tgc cca aat gag ttt act ggt gat cgc tgc caa aac tac
 144

Leu Cys Lys Cys Pro Asn Glu Phe Thr Gly Asp Arg Cys Gln Asn Tyr
 35 40 45
 gta atg gcc agc ttc tac agt acg tcc act ccc ttt ctg tct ctg cct
 192
 Val Met Ala Ser Phe Tyr Ser Thr Ser Thr Pro Phe Leu Ser Leu Pro
 50 55 60
 gaa tag
 198

<210> 155
 <211> 192
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<220>
 <221> CDS
 <222> (1)...(189)

<400> 155
 agc cat ctt gtc aag tgt gca gag aag gag aaa act ttc tgt gtg aat
 48
 Ser His Leu Val Lys Cys Ala Glu Lys Glu Lys Thr Phe Cys Val Asn
 1 5 10 15
 gga ggc gag tgc ttc atg gtg aaa gac ctt tca aat ccc tca aga tac
 96
 Gly Gly Glu Cys Phe Met Val Lys Asp Leu Ser Asn Pro Ser Arg Tyr
 20 25 30
 ttg tgc aag tgc caa cct gga ttc act gga gcg aga tgt act gag aat
 144
 Leu Cys Lys Cys Gln Pro Gly Phe Thr Gly Ala Arg Cys Thr Glu Asn
 35 40 45
 gtg ccc atg aaa gtc caa acc caa gaa aaa gcg gag gag ctc tac
 189
 Val Pro Met Lys Val Gln Thr Gln Glu Lys Ala Glu Glu Leu Tyr
 50 55 60

taa
 192
 <210> 156
 <211> 183
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<220>
 <221> CDS
 <222> (1)...(180)

<400> 156
 agc cat ctt gtc aag tgt gca gag aag gag aaa act ttc tgt gtg aat
 48
 Ser His Leu Val Lys Cys Ala Glu Lys Glu Lys Thr Phe Cys Val Asn
 1 5 10 15
 gga ggc gag tgc ttc atg gtg aaa gac ctt tca aat ccc tca aga tac
 96
 Gly Gly Glu Cys Phe Met Val Lys Asp Leu Ser Asn Pro Ser Arg Tyr
 20 25 30

ttg tgc aag tgc cca aat gag ttt act ggt gat cgc tgc caa aac tac
 144
 Leu Cys Lys Cys Pro Asn Glu Phe Thr Gly Asp Arg Cys Gln Asn Tyr
 35 40 45

gta atg gcc agc ttc tac aaa gcg gag gag ctc tac taa
 183
 Val Met Ala Ser Phe Tyr Lys Ala Glu Glu Leu Tyr
 50 55 60

<210> 157
 <211> 210
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<220>
 <221> CDS
 <222> (1)...(207)

<400> 157
 agc cat ctt gtc aag tgt gca gag aag gag aaa act ttc tgt gtg aat
 48
 Ser His Leu Val Lys Cys Ala Glu Lys Glu Lys Thr Phe Cys Val Asn
 1 5 10 15

gga ggc gag tgc ttc atg gtg aaa gac ctt tca aat ccc tca aga tac
 96
 Gly Gly Glu Cys Phe Met Val Lys Asp Leu Ser Asn Pro Ser Arg Tyr
 20 25 30

ttg tgc aag tgc cca aat gag ttt act ggt gat cgc tgc caa aac tac
 144
 Leu Cys Lys Cys Pro Asn Glu Phe Thr Gly Asp Arg Cys Gln Asn Tyr
 35 40 45

gta atg gcc agc ttc tac aag cat ctt ggg att gaa ttt atg gag aaa
 192
 Val Met Ala Ser Phe Tyr Lys His Leu Gly Ile Glu Phe Met Glu Lys
 50 55 60

gcg gag gag ctc tac taa
 210
 Ala Glu Glu Leu Tyr
 65

<210> 158
 <211> 267
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<220>
 <221> CDS
 <222> (1)...(264)

<400> 158
 agc cat ctt gtc aag tgt gca gag aag gag aaa act ttc tgt gtg aat
 48
 Ser His Leu Val Lys Cys Ala Glu Lys Glu Lys Thr Phe Cys Val Asn
 1 5 10 15

gga ggc gag tgc ttc atg gtg aaa gac ctt tca aat ccc tca aga tac
 96
 Gly Gly Glu Cys Phe Met Val Lys Asp Leu Ser Asn Pro Ser Arg Tyr
 20 25 30

ttg tgc aag tgc caa cct gga ttc act gga gcg aga tgt act gag aat
 144
 Leu Cys Lys Cys Gln Pro Gly Phe Thr Gly Ala Arg Cys Thr Glu Asn
 35 40 45

gtg ccc atg aaa gtc caa acc caa gaa aag tgc cca aat gag ttt act
 192
 Val Pro Met Lys Val Gln Thr Gln Glu Lys Cys Pro Asn Glu Phe Thr
 50 55 60

ggt gat cgc tgc caa aac tac gta atg gcc agc ttc tac agt acg tcc
 240
 Gly Asp Arg Cys Gln Asn Tyr Val Met Ala Ser Phe Tyr Ser Thr Ser
 65 70 75 80

act ccc ttt ctg tct ctg cct gaa tag
 267
 Thr Pro Phe Leu Ser Leu Pro Glu
 85

<210> 159
 <211> 252
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<220>
 <221> CDS
 <222> (1)...(249)

<400> 159
 agc cat ctt gtc aag tgt gca gag aag gag aaa act ttc tgt gtg aat
 48
 Ser His Leu Val Lys Cys Ala Glu Lys Glu Lys Thr Phe Cys Val Asn
 1 5 10 15

gga ggc gag tgc ttc atg gtg aaa gac ctt tca aat ccc tca aga tac
 96
 Gly Gly Glu Cys Phe Met Val Lys Asp Leu Ser Asn Pro Ser Arg Tyr
 20 25 30

ttg tgc aag tgc caa cct gga ttc act gga gcg aga tgt act gag aat
 144
 Leu Cys Lys Cys Gln Pro Gly Phe Thr Gly Ala Arg Cys Thr Glu Asn
 35 40 45

gtg ccc atg aaa gtc caa acc caa gaa aag tgc cca aat gag ttt act
 192
 Val Pro Met Lys Val Gln Thr Gln Glu Lys Cys Pro Asn Glu Phe Thr
 50 55 60

ggt gat cgc tgc caa aac tac gta atg gcc agc ttc tac aaa gcg gag
 240
 Gly Asp Arg Cys Gln Asn Tyr Val Met Ala Ser Phe Tyr Lys Ala Glu
 65 70 75 80

gag ctc tac taa
 252

Glu Leu Tyr

<210> 160
 <211> 128
 <212> DNA
 <213> Bos taurus

<220>
 <221> CDS
 <222> (3)...(125)

<400> 160
 cc aca tcc aca tct aca gct ggg aca agc cat ctt gtc aag tgt gca
 47
 Thr Ser Thr Ser Thr Ala Gly Thr Ser His Leu Val Lys Cys Ala
 1 5 10 15
 gag aag gag aaa act ttc tgt gtg aat gga ggc gag tgc ttc atg gtg
 95
 Glu Lys Glu Lys Thr Phe Cys Val Asn Gly Gly Glu Cys Phe Met Val
 20 25 30
 aaa gac ctt tca aat ccc tca aga tac ttg tgc
 128
 Lys Asp Leu Ser Asn Pro Ser Arg Tyr Leu
 35 40

<210> 161
 <211> 141
 <212> DNA
 <213> Bos taurus

<220>
 <221> CDS
 <222> (2)...(139)

<400> 161
 a cat aac ctt ata gct gag cta agg aga aac aag gcc cac aga tcc aaa
 49
 His Asn Leu Ile Ala Glu Leu Arg Arg Asn Lys Ala His Arg Ser Lys
 1 5 10 15
 tgc atg cag atc cag ctt tcc gca act cat ctt aga gct tct tcc att
 97
 Cys Met Gln Ile Gln Leu Ser Ala Thr His Leu Arg Ala Ser Ser Ile
 20 25 30
 ccc cat tgg gct tca ttc tct aag acc cct tgg cct tta gga
 139
 Pro His Trp Ala Ser Phe Ser Lys Thr Pro Trp Pro Leu Gly
 35 40 45

ag
 141

<210> 162
 <211> 24
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<220>
 <221> VARIANT
 <222> (15)...(22)
 <223> Xaa bei Pos. 15 und 22 ist unbekannt

<400> 162
 Ala Ala Glu Lys Glu Lys Thr Phe Cys Val Asn Gly Gly Glu Xaa Phe
 1 5 10 15
 Met Val Lys Asp Leu Xaa Asn Pro
 20

<210> 163
 <211> 745
 <212> DNA
 <213> Bos taurus

<220>
 <221> CDS
 <222> (1)...(744)

<400> 163
 atg aga tgg cga cgc gcc ccg cgc cgc tcc ggg cgt ccc ggc ccc cgg
 48
 Met Arg Trp Arg Arg Ala Pro Arg Arg Ser Gly Arg Pro Gly Pro Arg
 1 5 10 15
 gcc cag cgc ccc ggc tcc gcc gcc cgc tcg tcg ccg ccg ctg ccg ctg
 96
 Ala Gln Arg Pro Gly Ser Ala Ala Arg Ser Ser Pro Pro Leu Pro Leu
 20 25 30
 ctg cca cta ctg ctg ctg ctg ggg acc gcg gcc ctg gcg ccg ggg gcg
 144
 Leu Pro Leu Leu Leu Leu Leu Gly Thr Ala Ala Leu Ala Pro Gly Ala
 35 40 45
 gcg gcc ggc aac gag gcg gct ccc gcg ggg gcc tcg gtg tgc tac tcg
 192
 Ala Ala Gly Asn Glu Ala Ala Pro Ala Gly Ala Ser Val Cys Tyr Ser
 50 55 60
 tcc ccg ccc agc gtg gga tcg gtg cag gag cta gct cag cgc gcc gcg
 240
 Ser Pro Pro Ser Val Gly Ser Val Gln Glu Leu Ala Gln Arg Ala Ala
 65 70 75 80
 gtg gtg atc gag gga aag gtg cac ccg cag cgg cgg cag cag ggg gca
 288
 Val Val Ile Glu Gly Lys Val His Pro Gln Arg Arg Gln Gln Gly Ala
 85 90 95
 ctc gac agg aag gcg gcg gcg gcg gcg ggc gag gca ggg gcg tgg ggc
 336
 Leu Asp Arg Lys Ala Ala Ala Ala Ala Gly Glu Ala Gly Ala Trp Gly
 100 105 110
 ggc gat cgc gag ccg cca gcc gcg ggc cca cgg gcg ctg ggg ccg ccc
 384
 Gly Asp Arg Glu Pro Pro Ala Ala Gly Pro Arg Ala Leu Gly Pro Pro
 115 120 125

gcc gag gag ccg ctg ctc gcc gcc aac ggg acc gtg ccc tct tgg ccc
 432
 Ala Glu Glu Pro Leu Leu Ala Ala Asn Gly Thr Val Pro Ser Trp Pro
 130 135 140

 acc gcc ccg gtg ccc agc gcc ggc gag ccc ggg gag gag gcg ccc tat
 480
 Thr Ala Pro Val Pro Ser Ala Gly Glu Pro Gly Glu Glu Ala Pro Tyr
 145 150 155 160

 ctg gtg aag gtg cac cag gtg tgg gcg gtg aaa gcc ggg ggc ttg aag
 528
 Leu Val Lys Val His Gln Val Trp Ala Val Lys Ala Gly Gly Leu Lys
 165 170 175

 aag gac tcg ctg ctc acc gtg cgc ctg ggg acc tgg ggc cac ccc gcc
 576
 Lys Asp Ser Leu Leu Thr Val Arg Leu Gly Thr Trp Gly His Pro Ala
 180 185 190

 ttc ccc tcc tgc ggg agg ctc aag gag gac agc agg tac atc ttc ttc
 624
 Phe Pro Ser Cys Gly Arg Leu Lys Glu Asp Ser Arg Tyr Ile Phe Phe
 195 200 205

 atg gag ccc gac gcc aac agc acc agc cgc gcg ccg gcc gcc ttc cga
 672
 Met Glu Pro Asp Ala Asn Ser Thr Ser Arg Ala Pro Ala Ala Phe Arg
 210 215 220

 gcc tct ttc ccc cct ctg gag acg ggc cgg aac ctc aag aag gag gtc
 720
 Ala Ser Phe Pro Pro Leu Glu Thr Gly Arg Asn Leu Lys Lys Glu Val
 225 230 235 240

 agc cgg gtg ctg tgc aag cgg tgc g
 745
 Ser Arg Val Leu Cys Lys Arg Cys
 245

<210> 164
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Bos taurus

<220>
 <221> VARIANT
 <222> (1)...(1)
 <223> Xaa bei Pos. 1 ist Lys oder Arg

<400> 164
 Xaa Ala Leu Ala Ala Ala Gly Tyr Asp Val Glu Lys
 1 5 10

<210> 165
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Bos taurus

<220>

<221> VARIANT
 <222> (1)...(1)
 <223> Xaa bei Pos. 1 ist Lys oder Arg

<400> 165
 Xaa Leu Val Leu Arg
 1 5

<210> 166
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Bos taurus

<220>
 <221> VARIANT
 <222> (1)...(3)
 <223> Xaa bei Pos. 1 ist Lys oder Arg; Xaa bei Pos. 2 und 3
 ist unbekannt

<400> 166
 Xaa Xaa Xaa Tyr Pro Gly Gln Ile Thr Ser Asn
 1 5 10

<210> 167
 <211> 60
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<220>
 <221> variation
 <222> (25)...(36)
 <223> N bei Pos. 25 und 31 ist unbekannt

<400> 167
 ataggaagg gcgggggaag ggtcnccctc ngcagggccg ggcttgccctc tggagcctct
 60

<210> 168
 <211> 18
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<220>
 <221> variation
 <222> (16)...(16)
 <223> N bei Pos. 16 ist unbekannt

<400> 168
 tttacacata tattcncc
 18

<210> 169
 <211> 21
 <212> PRT
 <213> Bos taurus

<400> 169

Glu Thr Gln Pro Asp Pro Gly Gln Ile Leu Lys Lys Val Pro Met Val
 1 5 10 15
 Ile Gly Ala Tyr Thr
 20

<210> 170

<211> 422

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 170

Met Arg Trp Arg Arg Ala Pro Arg Arg Ser Gly Arg Pro Gly Pro Arg
 1 5 10 15
 Ala Gln Arg Pro Gly Ser Ala Ala Arg Ser Ser Pro Pro Leu Pro Leu
 20 25 30
 Leu Pro Leu Leu Leu Leu Leu Gly Thr Ala Ala Leu Ala Pro Gly Ala
 35 40 45
 Ala Ala Gly Asn Glu Ala Ala Pro Ala Gly Ala Ser Val Cys Tyr Ser
 50 55 60
 Ser Pro Pro Ser Val Gly Ser Val Gln Glu Leu Ala Gln Arg Ala Ala
 65 70 75 80
 Val Val Ile Glu Gly Lys Val His Pro Gln Arg Arg Gln Gln Gly Ala
 85 90 95
 Leu Asp Arg Lys Ala Ala Ala Ala Ala Gly Glu Ala Gly Ala Trp Gly
 100 105 110
 Gly Asp Arg Glu Pro Pro Ala Ala Gly Pro Arg Ala Leu Gly Pro Pro
 115 120 125
 Ala Glu Glu Pro Leu Leu Ala Ala Asn Gly Thr Val Pro Ser Trp Pro
 130 135 140
 Thr Ala Pro Val Pro Ser Ala Gly Glu Pro Gly Glu Glu Ala Pro Tyr
 145 150 155 160
 Leu Val Lys Val His Gln Val Trp Ala Val Lys Ala Gly Gly Leu Lys
 165 170 175
 Lys Asp Ser Leu Leu Thr Val Arg Leu Gly Thr Trp Gly His Pro Ala
 180 185 190
 Phe Pro Ser Cys Gly Arg Leu Lys Glu Asp Ser Arg Tyr Ile Phe Phe
 195 200 205
 Met Glu Pro Asp Ala Asn Ser Thr Ser Arg Ala Pro Ala Ala Phe Arg
 210 215 220
 Ala Ser Phe Pro Pro Leu Glu Thr Gly Arg Asn Leu Lys Lys Glu Val
 225 230 235 240
 Ser Arg Val Leu Cys Lys Arg Cys Ala Leu Pro Pro Gln Leu Lys Glu
 245 250 255
 Met Lys Ser Gln Glu Ser Ala Ala Gly Ser Lys Leu Val Leu Arg Cys
 260 265 270
 Glu Thr Ser Ser Glu Tyr Ser Ser Leu Arg Phe Lys Trp Phe Lys Asn
 275 280 285
 Gly Asn Glu Leu Asn Arg Lys Asn Lys Pro Gln Asn Ile Lys Ile Gln
 290 295 300
 Lys Lys Pro Gly Lys Ser Glu Leu Arg Ile Asn Lys Ala Ser Leu Ala
 305 310 315 320
 Asp Ser Gly Glu Tyr Met Cys Lys Val Ile Ser Lys Leu Gly Asn Asp
 325 330 335
 Ser Ala Ser Ala Asn Ile Thr Ile Val Glu Ser Asn Ala Thr Ser Thr
 340 345 350
 Ser Thr Thr Gly Thr Ser His Leu Val Lys Cys Ala Glu Lys Glu Lys
 355 360 365
 Thr Phe Cys Val Asn Gly Gly Glu Cys Phe Met Val Lys Asp Leu Ser
 370 375 380
 Asn Pro Ser Arg Tyr Leu Cys Lys Cys Pro Asn Glu Phe Thr Gly Asp
 385 390 395 400

Arg Cys Gln Asn Tyr Val Met Ala Ser Phe Tyr Ser Thr Ser Thr Pro
 405 410 415
 Phe Leu Ser Leu Pro Glu
 420

<210> 171
 <211> 69
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 171
 Met Ser Glu Arg Lys Glu Gly Arg Gly Lys Gly Lys Gly Lys Lys Lys
 1 5 10 15
 Glu Arg Gly Ser Gly Lys Lys Pro Glu Ser Ala Ala Gly Ser Gln Ser
 20 25 30
 Pro Arg Glu Ile Ile Thr Gly Met Pro Ala Ser Thr Glu Gly Ala Tyr
 35 40 45
 Val Ser Ser Glu Ser Pro Ile Arg Ile Ser Val Ser Thr Glu Gly Ala
 50 55 60
 Asn Thr Ser Ser Ser
 65

<210> 172
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Bos taurus

<400> 172
 Arg Lys Gly Asp Val Pro Gly Pro Arg Val Lys Ser Ser Arg Ser Thr
 1 5 10 15
 Thr Thr Ala

<210> 173
 <211> 231
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<220>
 <221> CDS
 <222> (132)...(231)

<400> 173
 cgcgagcgcc tcagcgggc cgctcgctt cccctcgag ggacaaactt ttcccaaacc
 60
 cgatccgagc ccttggacca aactcgctg cgccgagagc cgtccgcgta gacgctccg
 120
 tctccggcga g atg tcc gag cgc aaa gaa ggc aga ggc aaa ggg aag ggc
 170
 Met Ser Glu Arg Lys Glu Gly Arg Gly Lys Gly Lys Gly
 1 5 10
 aag aag aag gag cga ggc tcc ggc aag aag ccg gag tcc gcg gcg ggc
 218
 Lys Lys Lys Glu Arg Gly Ser Gly Lys Lys Pro Glu Ser Ala Ala Gly
 15 20 25
 agc cag agc cca g
 231
 Ser Gln Ser Pro

30

<210> 174
 <211> 178
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<220>
 <221> CDS
 <222> (3)...(178)

<400> 174
 cc ttg cct ccc cga ttg aaa gag atg aaa agc cag gaa tcg gct gca
 47
 Leu Pro Pro Arg Leu Lys Glu Met Lys Ser Gln Glu Ser Ala Ala
 1 5 10 15
 ggt tcc aaa cta gtc ctt cgg tgt gaa acc agt tct gaa tac tcc tct
 95
 Gly Ser Lys Leu Val Leu Arg Cys Glu Thr Ser Ser Glu Tyr Ser Ser
 20 25 30
 ctc aga ttc aag tgg ttc aag aat ggg aat gaa ttg aat cga aaa aac
 143
 Leu Arg Phe Lys Trp Phe Lys Asn Gly Asn Glu Leu Asn Arg Lys Asn
 35 40 45
 aaa cca caa aat atc aag ata caa aaa aag cca gg
 178
 Lys Pro Gln Asn Ile Lys Ile Gln Lys Lys Pro
 50 55

<210> 175
 <211> 122
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<220>
 <221> CDS
 <222> (2)...(122)

<400> 175
 g aag tca gaa ctt cgc att aac aaa gca tca ctg gct gat tct gga gag
 49
 Lys Ser Glu Leu Arg Ile Asn Lys Ala Ser Leu Ala Asp Ser Gly Glu
 1 5 10 15
 tat atg tgc aaa gtg atc agc aaa tta gga aat gac agt gcc tct gcc
 97
 Tyr Met Cys Lys Val Ile Ser Lys Leu Gly Asn Asp Ser Ala Ser Ala
 20 25 30
 aat atc acc atc gtg gaa tca aac g
 122
 Asn Ile Thr Ile Val Glu Ser Asn
 35 40

<210> 176
 <211> 102
 <212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> CDS

<222> (3)...(101)

<400> 176

```

ag atc atc act ggt atg cca gcc tca act gaa gga gca tat gtg tct .47
   Ile Ile Thr Gly Met Pro Ala Ser Thr Glu Gly Ala Tyr Val Ser
     1           5           10           15

tca gag tct ccc att aga ata tca gta tcc aca gaa gga gca aat act 95
Ser Glu Ser Pro Ile Arg Ile Ser Val Ser Thr Glu Gly Ala Asn Thr
           20           25           30

tct tca t
Ser Ser 102

```

<210> 177

<211> 128

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> CDS

<222> (3)...(128)

<400> 177

```

ct aca tct aca tcc acc act ggg aca agc cat ctt gta aaa tgt gcg
47
   Thr Ser Thr Ser Thr Thr Gly Thr Ser His Leu Val Lys Cys Ala
     1           5           10           15

gag aag gag aaa act ttc tgt gtg aat gga ggg gag tgc ttc atg gtg
95
Glu Lys Glu Lys Thr Phe Cys Val Asn Gly Gly Glu Cys Phe Met Val
           20           25           30

aaa gac ctt tca aac ccc tcg aga tac ttg tgc
128
Lys Asp Leu Ser Asn Pro Ser Arg Tyr Leu Cys
           35           40

```

<210> 178

<211> 69

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> CDS

<222> (1)...(69)

<400> 178

```

aag tgc caa cct gga ttc act gga gca aga tgt act gag aat gtg ccc
48
Lys Cys Gln Pro Gly Phe Thr Gly Ala Arg Cys Thr Glu Asn Val Pro
  1           5           10           15

atg aaa gtc caa aac caa gaa
69

```

Met Lys Val Gln Asn Gln Glu
20

<210> 179
<211> 23
<212> DNA
<213> Bos taurus

<400> 179
tcgggctcca tgaagaagat gta
23

<210> 180
<211> 23
<212> DNA
<213> Bos taurus

<400> 180
tccatgaaga agatgtacct gct
23

<210> 181
<211> 22
<212> DNA
<213> Bos taurus

<400> 181
atgtacctgc tgcctcctt ga
22

<210> 182
<211> 22
<212> DNA
<213> Bos taurus

<400> 182
atgtacctgc tgcctcctt ga
22

<210> 183
<211> 22
<212> DNA
<213> Bos taurus

<400> 183
atgtacctgc tgcctcctt ga
22

<210> 184
<211> 20
<212> DNA
<213> Bos taurus

<400> 184
atgargtgtg ggcggcga
20

<210> 185
<211> 15
<212> PRT
<213> Bos taurus

<400> 185

Glu Gly Lys Val His Pro Gln Arg Arg Gly Ala Leu Asp Arg Lys
 1 5 10 15

<210> 186

<211> 17

<212> PRT

<213> Bos taurus

<400> 186

Pro Ser Cys Gly Arg Leu Lys Glu Asp Ser Arg Tyr Ile Phe Phe Met
 1 5 10 15
 Glu

<210> 187

<211> 16

<212> PRT

<213> Bos taurus

<400> 187

Glu Leu Asn Arg Lys Asn Lys Pro Gln Asn Ile Lys Ile Gln Lys Lys
 1 5 10 15

<210> 188

<211> 349

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 188

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

Ser Arg Val Leu Cys Lys Arg Cys Ala Leu Pro Pro Arg Leu Lys Glu
 245 250 255
 Met Lys Ser Gln Glu Ser Ala Ala Gly Ser Lys Leu Val Leu Arg Cys
 260 265 270
 Glu Thr Ser Ser Glu Tyr Ser Ser Leu Arg Phe Lys Trp Phe Lys Asn
 275 280 285
 Gly Asn Glu Leu Asn Arg Lys Asn Lys Pro Gln Asn Ile Lys Ile Gln
 290 295 300
 Lys Lys Pro Gly Lys Ser Glu Leu Arg Ile Asn Lys Ala Ser Leu Ala
 305 310 315 320
 Asp Ser Gly Glu Tyr Met Cys Lys Val Ile Ser Lys Leu Gly Asn Asp
 325 330 335
 Ser Ala Ser Ala Asn Ile Thr Ile Val Glu Ser Asn Ala
 340 345

<210> 189
 <211> 6
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens & Bos taurus

<400> 189
 aataaa
 6

<210> 190
 <211> 206
 <212> PRT
 <213> Bos taurus

<400> 190
 His Gln Val Trp Ala Ala Lys Ala Gly Gly Leu Lys Lys Asp Ser Leu
 1 5 10 15
 Leu Thr Val Arg Leu Gly Ala Trp Gly His Pro Ala Phe Pro Ser Cys
 20 25 30
 Gly Arg Leu Lys Glu Asp Ser Arg Tyr Ile Phe Phe Met Glu Pro Glu
 35 40 45
 Ala Asn Ser Ser Gly Gly Pro Gly Arg Leu Pro Ser Leu Leu Pro Pro
 50 55 60
 Ser Arg Asp Gly Pro Glu Pro Gln Glu Gly Gly Gln Pro Gly Ala Val
 65 70 75 80
 Gln Arg Cys Ala Leu Pro Pro Arg Leu Lys Glu Met Lys Ser Gln Glu
 85 90 95
 Ser Val Ala Gly Ser Lys Leu Val Leu Arg Cys Glu Thr Ser Ser Glu
 100 105 110
 Tyr Ser Ser Leu Lys Phe Lys Trp Phe Lys Asn Gly Ser Glu Leu Ser
 115 120 125
 Arg Lys Asn Lys Pro Glu Asn Ile Lys Ile Gln Lys Arg Pro Gly Lys
 130 135 140
 Ser Glu Leu Arg Ile Ser Lys Ala Ser Leu Ala Asp Ser Gly Glu Tyr
 145 150 155 160
 Met Cys Lys Val Ile Ser Lys Leu Gly Asn Asp Ser Ala Ser Ala Asn
 165 170 175
 Ile Thr Ile Val Glu Ser Asn Gly Lys Arg Cys Leu Leu Arg Ala Ile
 180 185 190
 Ser Gln Ser Leu Arg Gly Val Ile Lys Val Cys Gly His Thr
 195 200 205

<210> 191
 <211> 263
 <212> PRT
 <213> Bos taurus

<400> 191
 His Gln Val Trp Ala Ala Lys Ala Gly Gly Leu Lys Lys Asp Ser Leu
 1 5 10 15
 Leu Thr Val Arg Leu Gly Ala Trp Gly His Pro Ala Phe Pro Ser Cys
 20 25 30
 Gly Arg Leu Lys Glu Asp Ser Arg Tyr Ile Phe Phe Met Glu Pro Glu
 35 40 45
 Ala Lys Ser Ser Gly Gly Pro Gly Arg Leu Pro Ser Leu Leu Pro Pro
 50 55 60
 Ser Arg Asp Gly Pro Glu Pro Gln Glu Gly Gly Gln Pro Gly Ala Val
 65 70 75 80
 Gln Arg Cys Ala Leu Pro Pro Arg Leu Lys Glu Met Lys Ser Gln Glu
 85 90 95
 Ser Val Ala Gly Ser Lys Leu Val Leu Arg Cys Glu Thr Ser Ser Glu
 100 105 110
 Tyr Ser Ser Leu Lys Phe Lys Trp Phe Lys Asn Gly Ser Glu Leu Ser
 115 120 125
 Arg Lys Asn Lys Gly Gly Asn Ile Lys Ile Gln Lys Arg Pro Gly Lys
 130 135 140
 Ser Gly Leu Arg Ile Ser Lys Ala Ser Leu Ala Asp Ser Gly Glu Tyr
 145 150 155 160
 Met Cys Lys Val Ile Ser Lys Leu Gly Asn Asp Ser Ala Ser Ala Asn
 165 170 175
 Ile Thr Ile Val Glu Ser Asn Ala Thr Ser Thr Ser Thr Ala Gly Thr
 180 185 190
 Ser His Leu Val Lys Ser Ala Glu Lys Glu Lys Thr Phe Cys Val Asn
 195 200 205
 Gly Gly Glu Cys Phe Met Val Lys Asp Leu Ser Asn Pro Ser Arg Tyr
 210 215 220
 Leu Cys Lys Cys Gln Pro Gly Phe Thr Gly Ala Arg Cys Thr Glu Asn
 225 230 235 240
 Val Pro Met Lys Val Gln Thr Gln Glu Ser Ala Gln Met Ser Leu Leu
 245 250 255
 Val Ile Ala Ala Lys Thr Thr
 260

<210> 192
 <211> 280
 <212> PRT
 <213> Bos taurus

<400> 192
 His Gln Val Trp Ala Ala Lys Ala Gly Gly Leu Lys Lys Asp Ser Leu
 1 5 10 15
 Leu Thr Val Arg Leu Gly Ala Trp Gly His Pro Ala Phe Pro Ser Cys
 20 25 30
 Gly Arg Leu Lys Glu Asp Ser Arg Tyr Ile Phe Phe Met Glu Pro Glu
 35 40 45
 Ala Asn Ser Ser Gly Gly Pro Gly Arg Leu Pro Ser Leu Leu Pro Pro
 50 55 60
 Ser Arg Asp Gly Pro Glu Pro Gln Glu Gly Gly Gln Pro Gly Ala Val
 65 70 75 80
 Gln Arg Cys Ala Leu Pro Pro Arg Leu Lys Glu Met Lys Ser Gln Glu
 85 90 95
 Ser Val Ala Gly Ser Lys Leu Val Leu Arg Cys Glu Thr Ser Ser Glu
 100 105 110
 Tyr Ser Ser Leu Lys Phe Lys Trp Phe Lys Asn Gly Ser Glu Leu Ser
 115 120 125
 Arg Lys Asn Lys Pro Glu Asn Ile Lys Ile Gln Lys Arg Pro Gly Lys
 130 135 140
 Ser Glu Leu Arg Ile Ser Lys Ala Ser Leu Ala Asp Ser Gly Glu Tyr
 145 150 155 160

Met Cys Lys Val Ile Ser Lys Leu Gly Asn Asp Ser Ala Ser Ala Asn
 165 170 175
 Ile Thr Ile Val Glu Ser Asn Ala Thr Ser Thr Ser Thr Ala Gly Thr
 180 185 190
 Ser His Leu Val Lys Cys Ala Glu Lys Glu Lys Thr Phe Cys Val Asn
 195 200 205
 Gly Gly Glu Cys Phe Met Val Lys Asp Leu Ser Asn Pro Ser Arg Tyr
 210 215 220
 Leu Cys Lys Cys Gln Pro Gly Phe Thr Gly Ala Arg Cys Thr Glu Asn
 225 230 235 240
 Val Pro Met Lys Val Gln Thr Gln Glu Lys Cys Pro Asn Glu Phe Thr
 245 250 255
 Gly Asp Arg Cys Gln Asn Tyr Val Met Ala Ser Phe Tyr Ser Thr Ser
 260 265 270
 Thr Pro Phe Leu Ser Leu Pro Glu
 275 280

<210> 193
 <211> 254
 <212> PRT
 <213> Bos taurus

<400> 193
 His Gln Val Trp Ala Ala Lys Ala Gly Gly Leu Lys Lys Asp Ser Leu
 1 5 10 15
 Leu Thr Val Arg Leu Gly Ala Trp Gly His Pro Ala Phe Pro Ser Cys
 20 25 30
 Gly Arg Leu Lys Glu Asp Ser Arg Tyr Ile Phe Phe Met Glu Pro Glu
 35 40 45
 Ala Asn Ser Ser Gly Gly Pro Gly Arg Leu Pro Ser Leu Leu Pro Pro
 50 55 60
 Ser Arg Asp Gly Pro Glu Pro Gln Glu Gly Gly Gln Pro Gly Ala Val
 65 70 75 80
 Gln Arg Cys Ala Leu Pro Pro Arg Leu Lys Glu Met Lys Ser Gln Glu
 85 90 95
 Ser Val Ala Gly Ser Lys Leu Val Leu Arg Cys Glu Thr Ser Ser Glu
 100 105 110
 Tyr Ser Ser Leu Lys Phe Lys Trp Phe Lys Asn Gly Ser Glu Leu Ser
 115 120 125
 Arg Lys Asn Lys Pro Glu Asn Ile Lys Ile Gln Lys Arg Pro Gly Lys
 130 135 140
 Ser Glu Leu Arg Ile Ser Lys Ala Ser Leu Ala Asp Ser Gly Glu Tyr
 145 150 155 160
 Met Cys Lys Val Ile Ser Lys Leu Gly Asn Asp Ser Ala Ser Ala Asn
 165 170 175
 Ile Thr Ile Val Glu Ser Asn Ala Thr Ser Thr Ser Thr Ala Gly Thr
 180 185 190
 Ser His Leu Val Lys Cys Ala Glu Lys Glu Lys Thr Phe Cys Val Asn
 195 200 205
 Gly Gly Glu Cys Phe Met Val Lys Asp Leu Ser Asn Pro Ser Arg Tyr
 210 215 220
 Leu Cys Lys Cys Pro Asn Glu Phe Thr Gly Asp Arg Cys Gln Asn Tyr
 225 230 235 240
 Val Met Ala Ser Phe Tyr Ser Thr Ser Thr Pro Phe Leu Ser
 245 250

<210> 194
 <211> 560
 <212> PRT
 <213> Bos taurus

<400> 194
 Lys Ser Glu Leu Arg Ile Ser Lys Ala Ser Leu Ala Asp Ser Gly Glu
 1 5 10 15
 Tyr Met Cys Lys Val Ile Ser Lys Leu Gly Asn Asp Ser Ala Ser Ala
 20 25 30
 Asn Ile Thr Ile Val Glu Ser Asn Ala Thr Ser Thr Ser Thr Ala Gly
 35 40 45
 Thr Ser His Leu Val Lys Cys Ala Glu Lys Glu Lys Thr Phe Cys Val
 50 55 60
 Asn Gly Gly Asp Cys Phe Met Val Lys Asp Leu Ser Asn Pro Ser Arg
 65 70 75 80
 Tyr Leu Cys Lys Cys Gln Pro Gly Phe Thr Gly Ala Arg Cys Thr Glu
 85 90 95
 Asn Val Pro Met Lys Val Gln Thr Gln Glu Lys Ala Glu Glu Leu Tyr
 100 105 110
 Gln Lys Arg Val Leu Thr Ile Thr Gly Ile Cys Ile Ala Leu Leu Val
 115 120 125
 Val Gly Ile Met Cys Val Val Val Tyr Cys Lys Thr Lys Lys Gln Arg
 130 135 140
 Lys Lys Leu His Asp Arg Leu Arg Gln Ser Leu Arg Ser Glu Arg Asn
 145 150 155 160
 Thr Met Met Asn Val Ala Asn Gly Pro His His Pro Asn Pro Pro Pro
 165 170 175
 Glu Asn Val Gln Leu Val Asn Gln Tyr Val Ser Lys Asn Val Ile Ser
 180 185 190
 Ser Glu His Ile Val Glu Arg Glu Ala Glu Ser Ser Phe Ser Thr Ser
 195 200 205
 His Tyr Thr Ser Thr Ala His His Ser Thr Thr Val Thr Gln Thr Pro
 210 215 220
 Ser His Ser Trp Ser Asn Gly His Thr Glu Ser Ile Ile Ser Glu Ser
 225 230 235 240
 His Ser Val Ile Val Met Ser Ser Val Glu Asn Ser Arg His Ser Ser
 245 250 255
 Pro Thr Gly Gly Pro Arg Gly Arg Leu Asn Gly Leu Gly Gly Pro Arg
 260 265 270
 Glu Cys Asn Ser Phe Leu Arg His Ala Arg Glu Thr Pro Asp Ser Tyr
 275 280 285
 Arg Asp Ser Pro His Ser Glu Arg His Asn Leu Ile Ala Glu Leu Arg
 290 295 300
 Arg Asn Lys Ala His Arg Ser Lys Cys Met Gln Ile Gln Leu Ser Ala
 305 310 315 320
 Thr His Leu Arg Ala Ser Ser Ile Pro His Trp Ala Ser Phe Ser Lys
 325 330 335
 Thr Pro Trp Pro Leu Gly Arg Tyr Val Ser Ala Met Thr Thr Pro Ala
 340 345 350
 Arg Met Ser Pro Val Asp Phe His Thr Pro Ser Ser Pro Lys Ser Pro
 355 360 365
 Pro Ser Glu Met Ser Pro Pro Val Ser Ser Thr Thr Val Ser Met Pro
 370 375 380
 Ser Met Ala Val Ser Pro Phe Val Glu Glu Glu Arg Pro Leu Leu Leu
 385 390 395 400
 Val Thr Pro Pro Arg Leu Arg Glu Lys Tyr Asp His His Ala Gln Gln
 405 410 415
 Phe Asn Ser Phe His Cys Asn Pro Ala His Glu Ser Asn Ser Leu Pro
 420 425 430
 Pro Ser Pro Leu Arg Ile Val Glu Asp Glu Glu Tyr Glu Thr Thr Gln
 435 440 445
 Glu Tyr Glu Pro Ala Gln Glu Pro Val Lys Lys Leu Thr Asn Ser Ser
 450 455 460
 Arg Arg Ala Lys Arg Thr Lys Pro Asn Gly His Ile Ala His Arg Leu
 465 470 475 480
 Glu Met Asp Asn Asn Thr Gly Ala Asp Ser Ser Asn Ser Glu Ser Glu
 485 490 495

Thr Glu Asp Glu Arg Val Gly Glu Asp Thr Pro Phe Leu Ala Ile Gln
 500 505 510
 Asn Pro Leu Ala Ala Ser Leu Glu Ala Ala Pro Ala Phe Arg Leu Val
 515 520 525
 Asp Ser Arg Thr Asn Pro Thr Gly Gly Phe Ser Pro Gln Glu Glu Leu
 530 535 540
 Gln Ala Arg Leu Ser Gly Val Ile Ala Asn Gln Asp Pro Ile Ala Val
 545 550 555 560

<210> 195
 <211> 241
 <212> PRT
 <213> Bos taurus

<400> 195
 Met Ser Glu Arg Arg Glu Gly Lys Gly Lys Gly Lys Gly Gly Lys Lys
 1 5 10 15
 Asp Arg Gly Ser Gly Lys Lys Pro Val Pro Ala Ala Gly Gly Pro Ser
 20 25 30
 Pro Ala Leu Pro Pro Arg Leu Lys Glu Met Lys Met Gln Glu Ser Val
 35 40 45
 Ala Gly Ser Lys Leu Val Leu Arg Cys Glu Thr Ser Ser Glu Tyr Ser
 50 55 60
 Ser Leu Lys Phe Lys Trp Phe Lys Asn Gly Ser Glu Leu Ser Arg Lys
 65 70 75 80
 Asn Lys Pro Gln Asn Ile Lys Ile Gln Lys Arg Pro Gly Lys Ser Glu
 85 90 95
 Leu Arg Ile Ser Lys Ala Ser Leu Ala Asp Ser Gly Glu Tyr Met Cys
 100 105 110
 Lys Val Ile Ser Lys Leu Gly Asn Asp Ser Ala Ser Ala Asn Ile Thr
 115 120 125
 Ile Val Glu Ser Asn Glu Ile Thr Thr Gly Met Pro Ala Ser Thr Glu
 130 135 140
 Thr Ala Tyr Val Ser Ser Glu Ser Pro Ile Arg Ile Ser Val Ser Thr
 145 150 155 160
 Glu Gly Thr Asn Thr Ser Ser Ser Thr Ser Thr Ser Thr Ala Gly Thr
 165 170 175
 Ser His Leu Val Lys Cys Ala Glu Lys Glu Lys Thr Phe Cys Val Asn
 180 185 190
 Gly Gly Glu Cys Phe Met Val Lys Asp Leu Ser Asn Pro Ser Arg Tyr
 195 200 205
 Leu Cys Lys Cys Pro Asn Glu Phe Thr Gly Asp Arg Cys Gln Asn Tyr
 210 215 220
 Val Met Ala Ser Phe Tyr Ser Thr Ser Thr Pro Phe Leu Ser Leu Pro
 225 230 235 240
 Glu

<210> 196
 <211> 137
 <212> PRT
 <213> Bos taurus

<220>
 <221> VARIANT
 <222> (14)...(135)
 <223> Xaa bei Pos. 14, 23, 90, 100, 126 und 135 ist unbekannt

<400> 196
 Asn Tyr Arg Asp Cys Ile Phe Met Ile Ile Ile Val Leu Xaa Asn Ile

```

1           5           10           15
Leu Lys Pro Leu Trp Ser Xaa Ser Cys Arg Lys Ser Glu Leu Arg Ile
      20
Ser Lys Ala Ser Leu Ala Asp Ser Gly Glu Ser Met Cys Lys Val Ile
      35
Ser Lys Leu Gly Asn Asp Ser Ala Ser Ala Asn Ile Arg Ile Val Glu
      50
Ser Asn Gly Lys Arg Cys Leu Leu Arg Ala Ile Ser Gln Ser Leu Arg
      65
Gly Val Ile Lys Val Cys Gly His Thr Xaa Ile Thr Gln Val Ser Glu
      85
Ile Ser Cys Xaa Thr Asn Lys Asn His Glu Arg Lys Thr Leu Cys Leu
      100
Lys Tyr Leu Met Gly Pro Pro Val Lys Leu Phe Thr Pro Xaa Gly Glu
      115
Ile Asp Leu Lys Tyr Ile Xaa Ile Ile
      130

```

<210> 197
 <211> 34
 <212> PRT
 <213> Bos taurus

```

<400> 197
Met Ser Glu Arg Arg Glu Gly Lys Gly Lys Gly Lys Gly Gly Lys Lys
1           5           10           15
Asp Arg Gly Ser Gly Lys Lys Pro Val Pro Ala Ala Gly Gly Pro Ser
      20
Pro Ala

```

<210> 198
 <211> 83
 <212> PRT
 <213> Bos taurus

```

<400> 198
His Gln Val Trp Ala Ala Lys Ala Gly Gly Leu Lys Lys Asp Ser Leu
1           5           10           15
Leu Thr Val Arg Leu Gly Ala Trp Gly His Pro Ala Phe Pro Ser Cys
      20
Gly Arg Leu Lys Glu Asp Ser Arg Tyr Ile Phe Phe Met Glu Pro Glu
      35
Ala Asn Ser Ser Gly Gly Pro Gly Arg Leu Pro Ser Leu Leu Pro Pro
      50
Ser Arg Asp Gly Pro Glu Pro Gln Glu Gly Gly Gln Pro Gly Ala Val
      65
Gln Arg Cys

```

<210> 199
 <211> 59
 <212> PRT
 <213> Bos taurus

```

<400> 199
Leu Pro Pro Arg Leu Lys Glu His Lys Ser Gln Glu Ser Val Ala Gly
1           5           10           15
Ser Lys Leu Val Leu Arg Cys Glu Thr Ser Ser Glu Tyr Ser Ser Leu
      20

```

Lys Phe Lys Trp Phe Lys Asn Gly Ser Glu Leu Ser Arg Lys Asn Lys
 35 40 45
 Pro Gly Asn Ile Lys Ile Gln Lys Arg Pro Gly
 50 55

<210> 200
 <211> 41
 <212> PRT
 <213> Bos taurus

<400> 200
 Lys Ser Glu Leu Arg Ile Ser Lys Ala Ser Leu Ala Asp Ser Gly Glu
 1 5 10 15
 Tyr Met Cys Lys Val Ile Ser Lys Leu Gly Asn Asp Ser Ala Ser Ala
 20 25 30
 Asn Ile Thr Ile Val Glu Ser Asn Ala
 35 40

<210> 201
 <211> 35
 <212> PRT
 <213> Bos taurus

<400> 201
 Glu Ile Thr Thr Gly Met Pro Ala Ser Thr Glu Thr Ala Tyr Val Ser
 1 5 10 15
 Ser Glu Ser Pro Ile Arg Ile Ser Val Ser Thr Glu Gly Thr Asn Thr
 20 25 30
 Ser Ser Ser
 35

<210> 202
 <211> 42
 <212> PRT
 <213> Bos taurus

<400> 202
 Thr Ser Thr Ser Thr Ala Gly Thr Ser His Leu Val Lys Cys Ala Glu
 1 5 10 15
 Lys Glu Lys Thr Phe Cys Val Asn Gly Gly Glu Cys Phe Met Val Lys
 20 25 30
 Asp Leu Ser Asn Pro Ser Arg Tyr Leu Cys
 35 40

<210> 203
 <211> 23
 <212> PRT
 <213> Bos taurus

<400> 203
 Lys Cys Gln Pro Gly Phe Thr Gly Ala Arg Cys Thr Glu Asn Val Pro
 1 5 10 15
 Met Lys Val Gln Thr Gln Glu
 20

<210> 204
 <211> 188
 <212> PRT

<213> Bos taurus

<400> 204

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

<210> 205

<211> 217

<212> PRT

<213> Bos taurus

<400> 205

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

<210> 206
 <211> 63
 <212> PRT
 <213> Bos taurus & Homo sapiens

<400> 206
 Lys Ser Glu Leu Arg Ile Ser Lys Ala Ser Leu Ala Asp Ser Gly Glu
 1 5 10 15
 Tyr Met Cys Lys Val Ile Ser Lys Leu Gly Asn Asp Ser Ala Ser Ala
 20 25 30
 Asn Ile Thr Ile Val Glu Ser Asn Gly Lys Arg Cys Leu Leu Arg Ala
 35 40 45
 Ile Ser Gln Ser Leu Arg Gly Val Ile Lys Val Cys Gly His Thr
 50 55 60

<210> 207
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Bos taurus & Homo sapiens

<400> 207
 Lys Cys Pro Asn Glu Phe Thr Gly Asp Arg Cys Gln Asn Tyr Val Met
 1 5 10 15
 Ala Ser Phe Tyr
 20

<210> 208
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Bos taurus & Homo sapiens

<400> 208
 Ser Thr Ser Thr Pro Phe Leu Ser Leu Pro Glu
 1 5 10

<210> 209
 <211> 33
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 209
 Met Ser Glu Arg Lys Glu Gly Arg Gly Lys Gly Lys Gly Lys Lys Lys
 1 5 10 15
 Glu Arg Gly Ser Gly Lys Lys Pro Glu Ser Ala Ala Gly Ser Gln Ser
 20 25 30
 Pro

<210> 210
 <211> 248
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 210
 Met Arg Trp Arg Arg Ala Pro Arg Arg Ser Gly Arg Pro Gly Pro Arg
 1 5 10 15
 Ala Gln Arg Pro Gly Ser Ala Ala Arg Ser Ser Pro Pro Leu Pro Leu
 20 25 30

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

<210> 211
 <211> 58
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 211
 Leu Pro Pro Arg Leu Lys Glu Met Lys Ser Gln Glu Ser Ala Ala Gly
 1 5 10 15
 Ser Lys Leu Val Leu Arg Cys Glu Thr Ser Ser Glu Tyr Ser Ser Leu
 20 25 30
 Arg Phe Lys Trp Phe Lys Asn Gly Asn Glu Leu Asn Arg Lys Asn Lys
 35 40 45
 Pro Gln Asn Ile Lys Ile Gln Lys Lys Pro
 50 55

<210> 212
 <211> 41
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 212
 Lys Ser Glu Leu Arg Ile Asn Lys Ala Ser Leu Ala Asp Ser Gly Glu
 1 5 10 15
 Tyr Met Cys Lys Val Ile Ser Lys Leu Gly Asn Asp Ser Ala Ser Ala
 20 25 30
 Asn Ile Thr Ile Val Glu Ser Asn Ala
 35 40

<210> 213
 <211> 20
 <212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 213

Glu Ile Ile Thr Gly Met Pro Ala Ser Thr Glu Gly Ala Tyr Val Ser
 1 5 10 15
 Ser Glu Ser Pro
 20

<210> 214

<211> 42

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 214

Thr Ser Thr Ser Thr Thr Gly Thr Ser His Leu Val Lys Cys Ala Glu
 1 5 10 15
 Lys Glu Lys Thr Phe Cys Val Asn Gly Gly Glu Cys Phe Met Val Lys
 20 25 30
 Asp Leu Ser Asn Pro Ser Arg Tyr Leu Cys
 35 40

<210> 215

<211> 23

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 215

Lys Cys Gln Pro Gly Phe Thr Gly Ala Arg Cys Thr Glu Asn Val Pro
 1 5 10 15
 Met Lys Val Gln Asn Gln Glu
 20

<210> 216

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 216

Lys His Leu Gly Ile Glu Phe Met Glu
 1 5

<210> 217

<211> 190

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 217

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

Thr Ser Phe Ser Thr Ser His Tyr Thr Ser Thr Ala His His Ser Thr
 100 105 110
 Thr Val Thr Gln Thr Pro Ser His Ser Trp Ser Asn Gly His Thr Glu
 115 120 125
 Ser Ile Leu Ser Glu Ser His Ser Val Ile Val Met Ser Ser Val Glu
 130 135 140
 Asn Ser Arg His Ser Ser Pro Thr Gly Gly Pro Arg Gly Arg Leu Asn
 145 150 155 160
 Gly Thr Gly Gly Pro Arg Glu Cys Asn Ser Phe Leu Arg His Ala Arg
 165 170 175
 Glu Thr Pro Asp Ser Tyr Arg Asp Ser Pro His Ser Glu Arg
 180 185 190

<210> 218
 <211> 47
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 218
 His Asn Leu Ile Ala Glu Leu Arg Arg Asn Lys Ala His Arg Ser Lys
 1 5 10 15
 Cys Met Gln Ile Gln Leu Ser Ala Thr His Leu Arg Ala Ser Ser Ile
 20 25 30
 Pro His Trp Ala Ser Phe Ser Lys Thr Pro Trp Pro Leu Gly Arg
 35 40 45

<210> 219
 <211> 239
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 219
 Tyr Val Ser Ala Met Thr Thr Pro Ala Arg Met Ser Pro Val Asp Phe
 1 5 10 15
 His Thr Pro Ser Ser Pro Lys Ser Pro Pro Ser Glu Met Ser Pro Pro
 20 25 30
 Val Ser Ser Met Thr Val Ser Met Pro Ser Met Ala Val Ser Pro Phe
 35 40 45
 Met Glu Glu Glu Arg Pro Leu Leu Leu Val Thr Pro Pro Arg Leu Arg
 50 55 60
 Glu Lys Lys Phe Asp His His Pro Gln Gln Phe Ser Ser Phe His His
 65 70 75 80
 Asn Pro Ala His Asp Ser Asn Ser Leu Pro Ala Ser Pro Leu Arg Ile
 85 90 95
 Val Glu Asp Glu Glu Tyr Glu Thr Thr Gln Glu Tyr Glu Pro Ala Gln
 100 105 110
 Glu Pro Val Lys Lys Leu Ala Asn Ser Arg Arg Ala Lys Arg Thr Lys
 115 120 125
 Pro Asn Gly His Ile Ala Asn Arg Leu Glu Val Asp Ser Asn Thr Ser
 130 135 140
 Ser Gln Ser Ser Asn Ser Glu Ser Glu Thr Glu Asp Glu Arg Val Gly
 145 150 155 160
 Glu Asp Thr Pro Phe Leu Gly Ile Gln Asn Pro Leu Ala Ala Ser Leu
 165 170 175
 Glu Ala Thr Pro Ala Phe Arg Leu Ala Asp Ser Arg Thr Asn Pro Ala
 180 185 190
 Gly Arg Phe Ser Thr Gln Glu Glu Ile Gln Ala Arg Leu Ser Ser Val
 195 200 205
 Ile Ala Asn Gln Asp Pro Ile Ala Val Asn Leu Asn Lys His Ile Asp
 210 215 220
 Ser Pro Val Lys Leu Tyr Phe Ile Ser Ile Pro Pro Ile Lys Gln

225

230

235

<210> 220
 <211> 65
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 220
 Ser His Leu Val Lys Cys Ala Glu Lys Glu Lys Thr Phe Cys Val Asn
 1 5 10 15
 Gly Gly Glu Cys Phe Met Val Lys Asp Leu Ser Asn Pro Ser Arg Tyr
 20 25 30
 Leu Cys Lys Cys Pro Asn Glu Phe Thr Gly Asp Arg Cys Gln Asn Tyr
 35 40 45
 Val Met Ala Ser Phe Tyr Ser Thr Ser Thr Pro Phe Leu Ser Leu Pro
 50 55 60
 Glu
 65

<210> 221
 <211> 63
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 221
 Ser His Leu Val Lys Cys Ala Glu Lys Glu Lys Thr Phe Cys Val Asn
 1 5 10 15
 Gly Gly Glu Cys Phe Met Val Lys Asp Leu Ser Asn Pro Ser Arg Tyr
 20 25 30
 Leu Cys Lys Cys Gln Pro Gly Phe Thr Gly Ala Arg Cys Thr Glu Asn
 35 40 45
 Val Pro Met Lys Val Gln Thr Gln Glu Lys Ala Glu Glu Leu Tyr
 50 55 60

<210> 222
 <211> 60
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 222
 Ser His Leu Val Lys Cys Ala Glu Lys Glu Lys Thr Phe Cys Val Asn
 1 5 10 15
 Gly Gly Glu Cys Phe Met Val Lys Asp Leu Ser Asn Pro Ser Arg Tyr
 20 25 30
 Leu Cys Lys Cys Pro Asn Glu Phe Thr Gly Asp Arg Cys Gln Asn Tyr
 35 40 45
 Val Met Ala Ser Phe Tyr Lys Ala Glu Glu Leu Tyr
 50 55 60

<210> 223
 <211> 69
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 223
 Ser His Leu Val Lys Cys Ala Glu Lys Glu Lys Thr Phe Cys Val Asn
 1 5 10 15
 Gly Gly Glu Cys Phe Met Val Lys Asp Leu Ser Asn Pro Ser Arg Tyr
 20 25 30

Leu Cys Lys Cys Pro Asn Glu Phe Thr Gly Asp Arg Cys Gln Asn Tyr
 35 40 45
 Val Met Ala Ser Phe Tyr Lys His Leu Gly Ile Glu Phe Met Glu Lys
 50 55 60
 Ala Glu Glu Leu Tyr
 65

<210> 224
 <211> 88
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 224
 Ser His Leu Val Lys Cys Ala Glu Lys Glu Lys Thr Phe Cys Val Asn
 1 5 10 15
 Gly Gly Glu Cys Phe Met Val Lys Asp Leu Ser Asn Pro Ser Arg Tyr
 20 25 30
 Leu Cys Lys Cys Gln Pro Gly Phe Thr Gly Ala Arg Cys Thr Glu Asn
 35 40 45
 Val Pro Met Lys Val Gln Thr Gln Glu Lys Cys Pro Asn Glu Phe Thr
 50 55 60
 Gly Asp Arg Cys Gln Asn Tyr Val Met Ala Ser Phe Tyr Ser Thr Ser
 65 70 75 80
 Thr Pro Phe Leu Ser Leu Pro Glu
 85

<210> 225
 <211> 83
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 225
 Ser His Leu Val Lys Cys Ala Glu Lys Glu Lys Thr Phe Cys Val Asn
 1 5 10 15
 Gly Gly Glu Cys Phe Met Val Lys Asp Leu Ser Asn Pro Ser Arg Tyr
 20 25 30
 Leu Cys Lys Cys Gln Pro Gly Phe Thr Gly Ala Arg Cys Thr Glu Asn
 35 40 45
 Val Pro Met Lys Val Gln Thr Gln Glu Lys Cys Pro Asn Glu Phe Thr
 50 55 60
 Gly Asp Arg Cys Gln Asn Tyr Val Met Ala Ser Phe Tyr Lys Ala Glu
 65 70 75 80
 Glu Leu Tyr

<210> 226
 <211> 425
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 226
 Met Arg Trp Arg Arg Ala Pro Arg Arg Ser Gly Arg Pro Gly Pro Arg
 1 5 10 15
 Ala Gln Arg Pro Gly Ser Ala Ala Arg Ser Ser Pro Pro Leu Pro Leu
 20 25 30
 Leu Pro Leu Leu Leu Leu Gly Thr Ala Ala Leu Ala Pro Gly Ala
 35 40 45
 Ala Ala Gly Asn Glu Ala Ala Pro Ala Gly Ala Ser Val Cys Tyr Ser
 50 55 60
 Ser Pro Pro Ser Val Gly Ser Val Gln Glu Leu Ala Gln Arg Ala Ala

```

65          70          75          80
Val Val Ile Glu Gly Lys Val His Pro Gln Arg Arg Gln Gln Gly Ala
85
Leu Asp Arg Lys Ala Ala Ala Ala Ala Gly Glu Ala Gly Ala Trp Gly
100
Gly Asp Arg Glu Pro Pro Ala Ala Gly Pro Arg Ala Leu Gly Pro Pro
115
Ala Glu Glu Pro Leu Leu Ala Ala Asn Gly Thr Val Pro Ser Trp Pro
130
Thr Ala Pro Val Pro Ser Ala Gly Glu Pro Gly Glu Glu Ala Pro Tyr
145
Leu Val Lys Val His Gln Val Trp Ala Val Lys Ala Gly Gly Leu Lys
165
Lys Asp Ser Leu Leu Thr Val Arg Leu Gly Thr Trp Gly His Pro Ala
180
Phe Pro Ser Cys Gly Arg Leu Lys Glu Asp Ser Arg Tyr Ile Phe Phe
195
Met Glu Pro Asp Ala Asn Ser Thr Ser Arg Ala Pro Ala Ala Phe Arg
210
Ala Ser Phe Pro Pro Leu Glu Thr Gly Arg Asn Leu Lys Lys Glu Val
225
Ser Arg Val Leu Cys Lys Arg Cys Ala Leu Pro Pro Arg Leu Lys Glu
245
Met Lys Ser Gln Glu Ser Ala Ala Gly Ser Lys Leu Val Leu Arg Cys
260
Glu Thr Ser Ser Glu Tyr Ser Ser Leu Arg Phe Lys Trp Phe Lys Asn
275
Gly Asn Glu Leu Asn Arg Lys Asn Lys Pro Gln Asn Ile Lys Ile Gln
290
Lys Lys Pro Gly Lys Ser Glu Leu Arg Ile Asn Lys Ala Ser Leu Ala
305
Asp Ser Gly Glu Tyr Met Cys Lys Val Ile Ser Lys Leu Gly Asn Asp
325
Ser Ala Ser Ala Asn Ile Thr Ile Val Glu Ser Asn Ala Thr Ser Thr
340
Ser Thr Thr Gly Thr Ser His Leu Val Lys Cys Ala Glu Lys Glu Lys
355
Thr Phe Cys Val Asn Gly Gly Glu Cys Phe Met Val Lys Asp Leu Ser
370
Asn Pro Ser Arg Tyr Leu Cys Lys Cys Gln Pro Gly Phe Thr Gly Ala
385
Arg Cys Thr Glu Asn Val Pro Met Lys Val Gln Asn Gln Glu Ser Thr
405
Ser Thr Pro Phe Leu Ser Leu Pro Glu
420

```

<210> 227
<211> 604
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<221> VARIANT
<222> (604)...(604)
<223> Xaa istArg.

<400> 227
Met Arg Trp Arg Arg Ala Pro Arg Arg Ser Gly Arg Pro Gly Pro Arg
1 5 10 15
Ala Gln Arg Pro Gly Ser Ala Ala Arg Ser Ser Pro Pro Leu Pro Leu
20 25 30
Leu Pro Leu Leu Leu Leu Leu Gly Thr Ala Ala Leu Ala Pro Gly Ala

		35				40			45						
Ala	Ala	Gly	Asn	Glu	Ala	Ala	Pro	Ala	Gly	Ala	Ser	Val	Cys	Tyr	Ser
	50					55					60				
Ser	Pro	Pro	Ser	Val	Gly	Ser	Val	Gln	Glu	Leu	Ala	Gln	Arg	Ala	Ala
65					70					75					80
Val	Val	Ile	Glu	Gly	Lys	Val	His	Pro	Gln	Arg	Arg	Gln	Gln	Gly	Ala
				85					90					95	
Leu	Asp	Arg	Lys	Ala	Ala	Ala	Ala	Ala	Gly	Glu	Ala	Gly	Ala	Trp	Gly
			100					105					110		
Gly	Asp	Arg	Glu	Pro	Pro	Ala	Ala	Gly	Pro	Arg	Ala	Leu	Gly	Pro	Pro
	115							120					125		
Ala	Glu	Glu	Pro	Leu	Leu	Ala	Ala	Asn	Gly	Thr	Val	Pro	Ser	Trp	Pro
	130							135							
Thr	Ala	Pro	Val	Pro	Ser	Ala	Gly	Glu	Pro	Gly	Glu	Glu	Ala	Pro	Tyr
145					150						155				160
Leu	Val	Lys	Val	His	Gln	Val	Trp	Ala	Val	Lys	Ala	Gly	Gly	Leu	Lys
				165					170					175	
Lys	Asp	Ser	Leu	Leu	Thr	Val	Arg	Leu	Gly	Thr	Trp	Gly	His	Pro	Ala
			180					185					190		
Phe	Pro	Ser	Cys	Gly	Arg	Leu	Lys	Glu	Asp	Ser	Arg	Tyr	Ile	Phe	Phe
		195					200					205			
Met	Glu	Pro	Asp	Ala	Asn	Ser	Thr	Ser	Arg	Ala	Pro	Ala	Ala	Phe	Arg
	210					215					220				
Ala	Ser	Phe	Pro	Pro	Leu	Glu	Thr	Gly	Arg	Asn	Leu	Lys	Lys	Glu	Val
225					230					235					240
Ser	Arg	Val	Leu	Cys	Lys	Arg	Cys	Ala	Leu	Pro	Pro	Arg	Leu	Lys	Glu
				245					250					255	
Met	Lys	Ser	Gln	Glu	Ser	Ala	Ala	Gly	Ser	Lys	Leu	Val	Leu	Arg	Cys
			260					265						270	
Glu	Thr	Ser	Ser	Glu	Tyr	Ser	Ser	Leu	Arg	Phe	Lys	Trp	Phe	Lys	Asn
		275					280						285		
Gly	Asn	Glu	Leu	Asn	Arg	Lys	Asn	Lys	Pro	Gln	Asn	Ile	Lys	Ile	Gln
	290					295					300				
Lys	Lys	Pro	Gly	Lys	Ser	Glu	Leu	Arg	Ile	Asn	Lys	Ala	Ser	Leu	Ala
305					310					315					320
Asp	Ser	Gly	Glu	Tyr	Met	Cys	Lys	Val	Ile	Ser	Lys	Leu	Gly	Asn	Asp
				325					330					335	
Ser	Ala	Ser	Ala	Asn	Ile	Thr	Ile	Val	Glu	Ser	Asn	Ala	Thr	Ser	Thr
			340					345						350	
Ser	Thr	Thr	Gly	Thr	Ser	His	Leu	Val	Lys	Cys	Ala	Glu	Lys	Glu	Lys
		355					360					365			
Thr	Phe	Cys	Val	Asn	Gly	Gly	Glu	Cys	Phe	Met	Val	Lys	Asp	Leu	Ser
	370				375						380				
Asn	Pro	Ser	Arg	Tyr	Leu	Cys	Lys	Cys	Gln	Pro	Gly	Phe	Thr	Gly	Ala
385					390					395					400
Arg	Cys	Thr	Glu	Asn	Val	Pro	Met	Lys	Val	Gln	Asn	Gln	Glu	Lys	Ala
				405					410					415	
Glu	Glu	Leu	Tyr	Gln	Lys	Arg	Val	Leu	Thr	Ile	Thr	Gly	Ile	Cys	Ile
			420					425						430	
Ala	Leu	Leu	Val	Val	Gly	Ile	Met	Cys	Val	Val	Ala	Tyr	Cys	Lys	Thr
	435						440					445			
Lys	Lys	Gln	Arg	Lys	Lys	Leu	His	Asp	Arg	Leu	Arg	Gln	Ser	Leu	Arg
	450					455					460				
Ser	Glu	Arg	Asn	Asn	Met	Met	Asn	Ile	Ala	Asn	Gly	Pro	His	His	Pro
465					470					475					480
Asn	Pro	Pro	Pro	Glu	Asn	Val	Gln	Leu	Val	Asn	Gln	Tyr	Val	Ser	Lys
				485					490					495	
Asn	Val	Ile	Ser	Ser	Glu	His	Ile	Val	Glu	Arg	Glu	Ala	Glu	Thr	Ser
			500					505						510	
Phe	Ser	Thr	Ser	His	Tyr	Thr	Ser	Thr	Ala	His	His	Ser	Thr	Thr	Val
		515					520						525		
Thr	Gln	Thr	Pro	Ser	His	Ser	Trp	Ser	Asn	Gly	His	Thr	Glu	Ser	Ile
	530					535									

Leu Ser Glu Ser His Ser Val Ile Val Met Ser Ser Val Glu Asn Ser
 545 550 555 560
 Arg His Ser Ser Pro Thr Gly Gly Pro Arg Gly Arg Leu Asn Gly Thr
 565 570 575
 Gly Gly Pro Arg Glu Cys Asn Ser Phe Leu Arg His Ala Arg Glu Thr
 580 585 590
 Pro Asp Ser Tyr Arg Asp Ser Pro His Ser Glu Xaa
 595 600

<210> 228
 <211> 821
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 228
 Met Arg Trp Arg Arg Ala Pro Arg Arg Ser Gly Arg Pro Gly Pro Arg
 1 5 10 15
 Ala Gln Arg Pro Gly Ser Ala Ala Arg Ser Ser Pro Pro Leu Pro Leu
 20 25 30
 Leu Pro Leu Leu Leu Leu Gly Thr Ala Ala Leu Ala Pro Gly Ala
 35 40 45
 Ala Ala Gly Asn Glu Ala Ala Pro Ala Gly Ala Ser Val Cys Tyr Ser
 50 55 60
 Ser Pro Pro Ser Val Gly Ser Val Gln Glu Leu Ala Gln Arg Ala Ala
 65 70 75 80
 Val Val Ile Glu Gly Lys Val His Pro Gln Arg Arg Gln Gln Gly Ala
 85 90 95
 Leu Asp Arg Lys Ala Ala Ala Ala Gly Glu Ala Gly Ala Trp Gly
 100 105 110
 Gly Asp Arg Glu Pro Pro Ala Ala Gly Pro Arg Ala Leu Gly Pro Pro
 115 120 125
 Ala Glu Glu Pro Leu Leu Ala Ala Asn Gly Thr Val Pro Ser Trp Pro
 130 135 140
 Thr Ala Pro Val Pro Ser Ala Gly Glu Pro Gly Glu Glu Ala Pro Tyr
 145 150 155 160
 Leu Val Lys Val His Gln Val Trp Ala Val Lys Ala Gly Gly Leu Lys
 165 170 175
 Lys Asp Ser Leu Leu Thr Val Arg Leu Gly Thr Trp Gly His Pro Ala
 180 185 190
 Phe Pro Ser Cys Gly Arg Leu Lys Glu Asp Ser Arg Tyr Ile Phe Phe
 195 200 205
 Met Glu Pro Asp Ala Asn Ser Thr Ser Arg Ala Pro Ala Ala Phe Arg
 210 215 220
 Ala Ser Phe Pro Pro Leu Glu Thr Gly Arg Asn Leu Lys Lys Glu Val
 225 230 235 240
 Ser Arg Val Leu Cys Lys Arg Cys Ala Leu Pro Pro Arg Leu Lys Glu
 245 250 255
 Met Lys Ser Gln Glu Ser Ala Ala Gly Ser Lys Leu Val Leu Arg Cys
 260 265 270
 Glu Thr Ser Ser Glu Tyr Ser Ser Leu Arg Phe Lys Trp Phe Lys Asn
 275 280 285
 Gly Asn Glu Leu Asn Arg Lys Asn Lys Pro Gln Asn Ile Lys Ile Gln
 290 295 300
 Lys Lys Pro Gly Lys Ser Glu Leu Arg Ile Asn Lys Ala Ser Leu Ala
 305 310 315 320
 Asp Ser Gly Glu Tyr Met Cys Lys Val Ile Ser Lys Leu Gly Asn Asp
 325 330 335
 Ser Ala Ser Ala Asn Ile Thr Ile Val Glu Ser Asn Ala Thr Ser Thr
 340 345 350
 Ser Thr Thr Gly Thr Ser His Leu Val Lys Cys Ala Glu Lys Glu Lys
 355 360 365
 Thr Phe Cys Val Asn Gly Gly Glu Cys Phe Met Val Lys Asp Leu Ser

370						375					380					
Asn	Pro	Ser	Arg	Tyr	Leu	Cys	Lys	Cys	Gln	Pro	Gly	Phe	Thr	Gly	Ala	
385					390					395					400	
Arg	Cys	Thr	Glu	Asn	Val	Pro	Met	Lys	Val	Gln	Asn	Gln	Glu	Lys	Ala	
				405					410					415		
Glu	Glu	Leu	Tyr	Gln	Lys	Arg	Val	Leu	Thr	Ile	Thr	Gly	Ile	Cys	Ile	
			420					425					430			
Ala	Leu	Leu	Val	Val	Gly	Ile	Met	Cys	Val	Val	Ala	Tyr	Cys	Lys	Thr	
			435				440					445				
Lys	Lys	Gln	Arg	Lys	Lys	Leu	His	Asp	Arg	Leu	Arg	Gln	Ser	Leu	Arg	
	450					455					460					
Ser	Glu	Arg	Asn	Asn	Met	Met	Asn	Ile	Ala	Asn	Gly	Pro	His	His	Pro	
465					470					475					480	
Asn	Pro	Pro	Pro	Glu	Asn	Val	Gln	Leu	Val	Asn	Gln	Tyr	Val	Ser	Lys	
				485					490					495		
Asn	Val	Ile	Ser	Ser	Glu	His	Ile	Val	Glu	Arg	Glu	Ala	Glu	Thr	Ser	
			500					505					510			
Phe	Ser	Thr	Ser	His	Tyr	Thr	Ser	Thr	Ala	His	His	Ser	Thr	Thr	Val	
		515					520					525				
Thr	Gln	Thr	Pro	Ser	His	Ser	Trp	Ser	Asn	Gly	His	Thr	Glu	Ser	Ile	
	530					535					540					
Leu	Ser	Glu	Ser	His	Ser	Val	Ile	Val	Met	Ser	Ser	Val	Glu	Asn	Ser	
545					550					555					560	
Arg	His	Ser	Ser	Pro	Thr	Gly	Gly	Pro	Arg	Gly	Arg	Leu	Asn	Gly	Thr	
				565					570					575		
Gly	Gly	Pro	Arg	Glu	Cys	Asn	Ser	Phe	Leu	Arg	His	Ala	Arg	Glu	Thr	
			580					585					590			
Pro	Asp	Ser	Tyr	Arg	Asp	Ser	Pro	His	Ser	Glu	Arg	Tyr	Val	Ser	Ala	
		595					600					605				
Met	Thr	Thr	Pro	Ala	Arg	Met	Ser	Pro	Val	Asp	Phe	His	Thr	Pro	Ser	
	610					615					620					
Ser	Pro	Lys	Ser	Pro	Pro	Ser	Glu	Met	Ser	Pro	Pro	Val	Ser	Ser	Met	
625					630					635					640	
Thr	Val	Ser	Met	Pro	Ser	Met	Ala	Val	Ser	Pro	Phe	Met	Glu	Glu	Glu	
				645					650					655		
Arg	Pro	Leu	Leu	Val	Thr	Pro	Pro	Arg	Leu	Arg	Glu	Lys	Lys	Phe		
			660					665					670			
Asp	His	His	Pro	Gln	Gln	Phe	Ser	Ser	Phe	His	His	Asn	Pro	Ala	His	
		675					680					685				
Asp	Ser	Asn	Ser	Leu	Pro	Ala	Ser	Pro	Leu	Arg	Ile	Val	Glu	Asp	Glu	
	690					695					700					
Glu	Tyr	Glu	Thr	Thr	Gln	Glu	Tyr	Glu	Pro	Ala	Gln	Glu	Pro	Val	Lys	
705					710					715					720	
Lys	Leu	Ala	Asn	Ser	Arg	Arg	Ala	Lys	Arg	Thr	Lys	Pro	Asn	Gly	His	
				725					730					735		
Ile	Ala	Asn	Arg	Leu	Glu	Val	Asp	Ser	Asn	Thr	Ser	Ser	Gln	Ser	Ser	
			740					745					750			
Asn	Ser	Glu	Ser	Glu	Thr	Glu	Asp	Glu	Arg	Val	Gly	Glu	Asp	Thr	Pro	
		755					760					765				
Phe	Leu	Gly	Ile	Gln	Asn	Pro	Leu	Ala	Ala	Ser	Leu	Glu	Ala	Thr	Pro	
	770					775					780					
Ala	Phe	Arg	Leu	Ala	Asp	Ser	Arg	Thr	Asn	Pro	Ala	Gly	Arg	Phe	Ser	
785					790					795					800	
Thr	Gln	Glu	Glu	Ile	Gln	Ala	Arg	Leu	Ser	Ser	Val	Ile	Ala	Asn	Gln	
				805					810					815		
Asp	Pro	Ile	Ala	Val												
			820													

<210> 229

<211> 868

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 229

Met Arg Trp Arg Arg Ala Pro Arg Arg Ser Gly Arg Pro Gly Pro Arg
 1 5 10 15
 Ala Gln Arg Pro Gly Ser Ala Ala Arg Ser Ser Pro Pro Leu Pro Leu
 20 25 30
 Leu Pro Leu Leu Leu Leu Leu Gly Thr Ala Ala Leu Ala Pro Gly Ala
 35 40 45
 Ala Ala Gly Asn Glu Ala Ala Pro Ala Gly Ala Ser Val Cys Tyr Ser
 50 55 60
 Ser Pro Pro Ser Val Gly Ser Val Gln Glu Leu Ala Gln Arg Ala Ala
 65 70 75 80
 Val Val Ile Glu Gly Lys Val His Pro Gln Arg Arg Gln Gln Gly Ala
 85 90 95
 Leu Asp Arg Lys Ala Ala Ala Ala Gly Glu Ala Gly Ala Trp Gly
 100 105 110
 Gly Asp Arg Glu Pro Pro Ala Ala Gly Pro Arg Ala Leu Gly Pro Pro
 115 120 125
 Ala Glu Glu Pro Leu Leu Ala Ala Asn Gly Thr Val Pro Ser Trp Pro
 130 135 140
 Thr Ala Pro Val Pro Ser Ala Gly Glu Pro Gly Glu Glu Ala Pro Tyr
 145 150 155 160
 Leu Val Lys Val His Gln Val Trp Ala Val Lys Ala Gly Gly Leu Lys
 165 170 175
 Lys Asp Ser Leu Leu Thr Val Arg Leu Gly Thr Trp Gly His Pro Ala
 180 185 190
 Phe Pro Ser Cys Gly Arg Leu Lys Glu Asp Ser Arg Tyr Ile Phe Phe
 195 200 205
 Met Glu Pro Asp Ala Asn Ser Thr Ser Arg Ala Pro Ala Ala Phe Arg
 210 215 220
 Ala Ser Phe Pro Pro Leu Glu Thr Gly Arg Asn Leu Lys Lys Glu Val
 225 230 235 240
 Ser Arg Val Leu Cys Lys Arg Cys Ala Leu Pro Pro Arg Leu Lys Glu
 245 250 255
 Met Lys Ser Gln Glu Ser Ala Ala Gly Ser Lys Leu Val Leu Arg Cys
 260 265 270
 Glu Thr Ser Ser Glu Tyr Ser Ser Leu Arg Phe Lys Trp Phe Lys Asn
 275 280 285
 Gly Asn Glu Leu Asn Arg Lys Asn Lys Pro Gln Asn Ile Lys Ile Gln
 290 295 300
 Lys Lys Pro Gly Lys Ser Glu Leu Arg Ile Asn Lys Ala Ser Leu Ala
 305 310 315 320
 Asp Ser Gly Glu Tyr Met Cys Lys Val Ile Ser Lys Leu Gly Asn Asp
 325 330 335
 Ser Ala Ser Ala Asn Ile Thr Ile Val Glu Ser Asn Ala Thr Ser Thr
 340 345 350
 Ser Thr Thr Gly Thr Ser His Leu Val Lys Cys Ala Glu Lys Glu Lys
 355 360 365
 Thr Phe Cys Val Asn Gly Gly Glu Cys Phe Met Val Lys Asp Leu Ser
 370 375 380
 Asn Pro Ser Arg Tyr Leu Cys Lys Cys Gln Pro Gly Phe Thr Gly Ala
 385 390 395 400
 Arg Cys Thr Glu Asn Val Pro Met Lys Val Gln Asn Gln Glu Lys Ala
 405 410 415
 Glu Glu Leu Tyr Gln Lys Arg Val Leu Thr Ile Thr Gly Ile Cys Ile
 420 425 430
 Ala Leu Leu Val Val Gly Ile Met Cys Val Val Ala Tyr Cys Lys Thr
 435 440 445
 Lys Lys Gln Arg Lys Lys Leu His Asp Arg Leu Arg Gln Ser Leu Arg
 450 455 460
 Ser Glu Arg Asn Asn Met Met Asn Ile Ala Asn Gly Pro His His Pro
 465 470 475 480
 Asn Pro Pro Pro Glu Asn Val Gln Leu Val Asn Gln Tyr Val Ser Lys
 485 490 495

Asn Val Ile Ser Ser Glu His Ile Val Glu Arg Glu Ala Glu Thr Ser
 500 505 510
 Phe Ser Thr Ser His Tyr Thr Ser Thr Ala His His Ser Thr Thr Val
 515 520 525
 Thr Gln Thr Pro Ser His Ser Trp Ser Asn Gly His Thr Glu Ser Ile
 530 535 540
 Leu Ser Glu Ser His Ser Val Ile Val Met Ser Ser Val Glu Asn Ser
 545 550 555 560
 Arg His Ser Ser Pro Thr Gly Gly Pro Arg Gly Arg Leu Asn Gly Thr
 565 570 575
 Gly Gly Pro Arg Glu Cys Asn Ser Phe Leu Arg His Ala Arg Glu Thr
 580 585 590
 Pro Asp Ser Tyr Arg Asp Ser Pro His Ser Glu Arg His Asn Leu Ile
 595 600 605
 Ala Glu Leu Arg Arg Asn Lys Ala His Arg Ser Lys Cys Met Gln Ile
 610 615 620
 Gln Leu Ser Ala Thr His Leu Arg Ala Ser Ser Ile Pro His Trp Ala
 625 630 635 640
 Ser Phe Ser Lys Thr Pro Trp Pro Leu Gly Arg Tyr Val Ser Ala Met
 645 650 655
 Thr Thr Pro Ala Arg Met Ser Pro Val Asp Phe His Thr Pro Ser Ser
 660 665 670
 Pro Lys Ser Pro Pro Ser Glu Met Ser Pro Pro Val Ser Ser Met Thr
 675 680 685
 Val Ser Met Pro Ser Met Ala Val Ser Pro Phe Met Glu Glu Glu Arg
 690 695 700
 Pro Leu Leu Leu Val Thr Pro Pro Arg Leu Arg Glu Lys Lys Phe Asp
 705 710 715 720
 His His Pro Gln Gln Phe Ser Ser Phe His His Asn Pro Ala His Asp
 725 730 735
 Ser Asn Ser Leu Pro Ala Ser Pro Leu Arg Ile Val Glu Asp Glu Glu
 740 745 750
 Tyr Glu Thr Thr Gln Glu Tyr Glu Pro Ala Gln Glu Pro Val Lys Lys
 755 760 765
 Leu Ala Asn Ser Arg Arg Ala Lys Arg Thr Lys Pro Asn Gly His Ile
 770 775 780
 Ala Asn Arg Leu Glu Val Asp Ser Asn Thr Ser Ser Gln Ser Ser Asn
 785 790 795 800
 Ser Glu Ser Glu Thr Glu Asp Glu Arg Val Gly Glu Asp Thr Pro Phe
 805 810 815
 Leu Gly Ile Gln Asn Pro Leu Ala Ala Ser Leu Glu Ala Thr Pro Ala
 820 825 830
 Phe Arg Leu Ala Asp Ser Arg Thr Asn Pro Ala Gly Arg Phe Ser Thr
 835 840 845
 Gln Glu Glu Ile Gln Ala Arg Leu Ser Ser Val Ile Ala Asn Gln Asp
 850 855 860
 Pro Ile Ala Val
 865

<210> 230
 <211> 613
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<220>
 <221> VARIANT
 <222> (613)...(613)
 <223> Xaa ist Arg.

<400> 230
 Met Arg Trp Arg Arg Ala Pro Arg Arg Ser Gly Arg Pro Gly Pro Arg
 1 5 10 15

Ala Gln Arg Pro Gly Ser Ala Ala Arg Ser Ser Pro Pro Leu Pro Leu
 20 25 30
 Leu Pro Leu Leu Leu Leu Leu Gly Thr Ala Ala Leu Ala Pro Gly Ala
 35 40 45
 Ala Ala Gly Asn Glu Ala Ala Pro Ala Gly Ala Ser Val Cys Tyr Ser
 50 55 60
 Ser Pro Pro Ser Val Gly Ser Val Gln Glu Leu Ala Gln Arg Ala Ala
 65 70 75 80
 Val Val Ile Glu Gly Lys Val His Pro Gln Arg Arg Gln Gln Gly Ala
 85 90 95
 Leu Asp Arg Lys Ala Ala Ala Ala Ala Gly Glu Ala Gly Ala Trp Gly
 100 105 110
 Gly Asp Arg Glu Pro Pro Ala Ala Gly Pro Arg Ala Leu Gly Pro Pro
 115 120 125
 Ala Glu Glu Pro Leu Leu Ala Ala Asn Gly Thr Val Pro Ser Trp Pro
 130 135 140
 Thr Ala Pro Val Pro Ser Ala Gly Glu Pro Gly Glu Glu Ala Pro Tyr
 145 150 155 160
 Leu Val Lys Val His Gln Val Trp Ala Val Lys Ala Gly Gly Leu Lys
 165 170 175
 Lys Asp Ser Leu Leu Thr Val Arg Leu Gly Thr Trp Gly His Pro Ala
 180 185 190
 Phe Pro Ser Cys Gly Arg Leu Lys Glu Asp Ser Arg Tyr Ile Phe Phe
 195 200 205
 Met Glu Pro Asp Ala Asn Ser Thr Ser Arg Ala Pro Ala Ala Phe Arg
 210 215 220
 Ala Ser Phe Pro Pro Leu Glu Thr Gly Arg Asn Leu Lys Lys Glu Val
 225 230 235 240
 Ser Arg Val Leu Cys Lys Arg Cys Ala Leu Pro Pro Arg Leu Lys Glu
 245 250 255
 Met Lys Ser Gln Glu Ser Ala Ala Gly Ser Lys Leu Val Leu Arg Cys
 260 265 270
 Glu Thr Ser Ser Glu Tyr Ser Ser Leu Arg Phe Lys Trp Phe Lys Asn
 275 280 285
 Gly Asn Glu Leu Asn Arg Lys Asn Lys Pro Gln Asn Ile Lys Ile Gln
 290 295 300
 Lys Lys Pro Gly Lys Ser Glu Leu Arg Ile Asn Lys Ala Ser Leu Ala
 305 310 315 320
 Asp Ser Gly Glu Tyr Met Cys Lys Val Ile Ser Lys Leu Gly Asn Asp
 325 330 335
 Ser Ala Ser Ala Asn Ile Thr Ile Val Glu Ser Asn Ala Thr Ser Thr
 340 345 350
 Ser Thr Thr Gly Thr Ser His Leu Val Lys Cys Ala Glu Lys Glu Lys
 355 360 365
 Thr Phe Cys Val Asn Gly Gly Glu Cys Phe Met Val Lys Asp Leu Ser
 370 375 380
 Asn Pro Ser Arg Tyr Leu Cys Lys Cys Gln Pro Gly Phe Thr Gly Ala
 385 390 395 400
 Arg Cys Thr Glu Asn Val Pro Met Lys Val Gln Asn Gln Glu Lys His
 405 410 415
 Leu Gly Ile Glu Phe Met Glu Lys Ala Glu Glu Leu Tyr Gln Lys Arg
 420 425 430
 Val Leu Thr Ile Thr Gly Ile Cys Ile Ala Leu Leu Val Val Gly Ile
 435 440 445
 Met Cys Val Val Ala Tyr Cys Lys Thr Lys Lys Gln Arg Lys Lys Leu
 450 455 460
 His Asp Arg Leu Arg Gln Ser Leu Arg Ser Glu Arg Asn Asn Met Met
 465 470 475 480
 Asn Ile Ala Asn Gly Pro His His Pro Asn Pro Pro Pro Glu Asn Val
 485 490 495
 Gln Leu Val Asn Gln Tyr Val Ser Lys Asn Val Ile Ser Ser Glu His
 500 505 510
 Ile Val Glu Arg Glu Ala Glu Thr Ser Phe Ser Thr Ser His Tyr Thr

	515					520						525			
Ser	Thr	Ala	His	His	Ser	Thr	Val	Thr	Gln	Thr	Pro	Ser	His	Ser	
	530					535					540				
Trp	Ser	Asn	Gly	His	Thr	Glu	Ser	Ile	Leu	Ser	Glu	Ser	His	Ser	Val
545					550					555					560
Ile	Val	Met	Ser	Ser	Val	Glu	Asn	Ser	Arg	His	Ser	Ser	Pro	Thr	Gly
				565					570					575	
Gly	Pro	Arg	Gly	Arg	Leu	Asn	Gly	Thr	Gly	Gly	Pro	Arg	Glu	Cys	Asn
			580					585					590		
Ser	Phe	Leu	Arg	His	Ala	Arg	Glu	Thr	Pro	Asp	Ser	Tyr	Arg	Asp	Ser
	595						600					605			
Pro	His	Ser	Glu	Xaa											
	610														

<210> 231
 <211> 830
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 231

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

Ser Ala Ser Ala Asn Ile Thr Ile Val Glu Ser Asn Ala Thr Ser Thr
 340 345 350
 Ser Thr Thr Gly Thr Ser His Leu Val Lys Cys Ala Glu Lys Glu Lys
 355 360 365
 Thr Phe Cys Val Asn Gly Gly Glu Cys Phe Met Val Lys Asp Leu Ser
 370 375 380
 Asn Pro Ser Arg Tyr Leu Cys Lys Cys Gln Pro Gly Phe Thr Gly Ala
 385 390 395 400
 Arg Cys Thr Glu Asn Val Pro Met Lys Val Gln Asn Gln Glu Lys His
 405 410 415
 Leu Gly Ile Glu Phe Met Glu Lys Ala Glu Glu Leu Tyr Gln Lys Arg
 420 425 430
 Val Leu Thr Ile Thr Gly Ile Cys Ile Ala Leu Leu Val Val Gly Ile
 435 440 445
 Met Cys Val Val Ala Tyr Cys Lys Thr Lys Lys Gln Arg Lys Lys Leu
 450 455 460
 His Asp Arg Leu Arg Gln Ser Leu Arg Ser Glu Arg Asn Asn Met Met
 465 470 475 480
 Asn Ile Ala Asn Gly Pro His His Pro Asn Pro Pro Pro Glu Asn Val
 485 490 495
 Gln Leu Val Asn Gln Tyr Val Ser Lys Asn Val Ile Ser Ser Glu His
 500 505 510
 Ile Val Glu Arg Glu Ala Glu Thr Ser Phe Ser Thr Ser His Tyr Thr
 515 520 525
 Ser Thr Ala His His Ser Thr Thr Val Thr Gln Thr Pro Ser His Ser
 530 535 540
 Trp Ser Asn Gly His Thr Glu Ser Ile Leu Ser Glu Ser His Ser Val
 545 550 555 560
 Ile Val Met Ser Ser Val Glu Asn Ser Arg His Ser Ser Pro Thr Gly
 565 570 575
 Gly Pro Arg Gly Arg Leu Asn Gly Thr Gly Gly Pro Arg Glu Cys Asn
 580 585 590
 Ser Phe Leu Arg His Ala Arg Glu Thr Pro Asp Ser Tyr Arg Asp Ser
 595 600 605
 Pro His Ser Glu Arg Tyr Val Ser Ala Met Thr Thr Pro Ala Arg Met
 610 615 620
 Ser Pro Val Asp Phe His Thr Pro Ser Ser Pro Lys Ser Pro Pro Ser
 625 630 635 640
 Glu Met Ser Pro Pro Val Ser Ser Met Thr Val Ser Met Pro Ser Met
 645 650 655
 Ala Val Ser Pro Phe Met Glu Glu Glu Arg Pro Leu Leu Leu Val Thr
 660 665 670
 Pro Pro Arg Leu Arg Glu Lys Lys Phe Asp His His Pro Gln Gln Phe
 675 680 685
 Ser Ser Phe His His Asn Pro Ala His Asp Ser Asn Ser Leu Pro Ala
 690 695 700
 Ser Pro Leu Arg Ile Val Glu Asp Glu Glu Tyr Glu Thr Thr Gln Glu
 705 710 715 720
 Tyr Glu Pro Ala Gln Glu Pro Val Lys Lys Leu Ala Asn Ser Arg Arg
 725 730 735
 Ala Lys Arg Thr Lys Pro Asn Gly His Ile Ala Asn Arg Leu Glu Val
 740 745 750
 Asp Ser Asn Thr Ser Ser Gln Ser Ser Asn Ser Glu Ser Glu Thr Glu
 755 760 765
 Asp Glu Arg Val Gly Glu Asp Thr Pro Phe Leu Gly Ile Gln Asn Pro
 770 775 780
 Leu Ala Ala Ser Leu Glu Ala Thr Pro Ala Phe Arg Leu Ala Asp Ser
 785 790 795 800
 Arg Thr Asn Pro Ala Gly Arg Phe Ser Thr Gln Glu Glu Ile Gln Ala
 805 810 815
 Arg Leu Ser Ser Val Ile Ala Asn Gln Asp Pro Ile Ala Val
 820 825 830

<210> 232
 <211> 877
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 232

Met Arg Trp Arg Arg Ala Pro Arg Arg Ser Gly Arg Pro Gly Pro Arg
 1 5 10 15
 Ala Gln Arg Pro Gly Ser Ala Ala Arg Ser Ser Pro Pro Leu Pro Leu
 20 25 30
 Leu Pro Leu Leu Leu Leu Leu Gly Thr Ala Ala Leu Ala Pro Gly Ala
 35 40 45
 Ala Ala Gly Asn Glu Ala Ala Pro Ala Gly Ala Ser Val Cys Tyr Ser
 50 55 60
 Ser Pro Pro Ser Val Gly Ser Val Gln Glu Leu Ala Gln Arg Ala Ala
 65 70 75 80
 Val Val Ile Glu Gly Lys Val His Pro Gln Arg Arg Gln Gln Gly Ala
 85 90 95
 Leu Asp Arg Lys Ala Ala Ala Ala Gly Glu Ala Gly Ala Trp Gly
 100 105 110
 Gly Asp Arg Glu Pro Pro Ala Ala Gly Pro Arg Ala Leu Gly Pro Pro
 115 120 125
 Ala Glu Glu Pro Leu Leu Ala Ala Asn Gly Thr Val Pro Ser Trp Pro
 130 135 140
 Thr Ala Pro Val Pro Ser Ala Gly Glu Pro Gly Glu Glu Ala Pro Tyr
 145 150 155 160
 Leu Val Lys Val His Gln Val Trp Ala Val Lys Ala Gly Gly Leu Lys
 165 170 175
 Lys Asp Ser Leu Leu Thr Val Arg Leu Gly Thr Trp Gly His Pro Ala
 180 185 190
 Phe Pro Ser Cys Gly Arg Leu Lys Glu Asp Ser Arg Tyr Ile Phe Phe
 195 200 205
 Met Glu Pro Asp Ala Asn Ser Thr Ser Arg Ala Pro Ala Ala Phe Arg
 210 215 220
 Ala Ser Phe Pro Pro Leu Glu Thr Gly Arg Asn Leu Lys Lys Glu Val
 225 230 235 240
 Ser Arg Val Leu Cys Lys Arg Cys Ala Leu Pro Pro Arg Leu Lys Glu
 245 250 255
 Met Lys Ser Gln Glu Ser Ala Ala Gly Ser Lys Leu Val Leu Arg Cys
 260 265 270
 Glu Thr Ser Ser Glu Tyr Ser Ser Leu Arg Phe Lys Trp Phe Lys Asn
 275 280 285
 Gly Asn Glu Leu Asn Arg Lys Asn Lys Pro Gln Asn Ile Lys Ile Gln
 290 295 300
 Lys Lys Pro Gly Lys Ser Glu Leu Arg Ile Asn Lys Ala Ser Leu Ala
 305 310 315 320
 Asp Ser Gly Glu Tyr Met Cys Lys Val Ile Ser Lys Leu Gly Asn Asp
 325 330 335
 Ser Ala Ser Ala Asn Ile Thr Ile Val Glu Ser Asn Ala Thr Ser Thr
 340 345 350
 Ser Thr Thr Gly Thr Ser His Leu Val Lys Cys Ala Glu Lys Glu Lys
 355 360 365
 Thr Phe Cys Val Asn Gly Gly Glu Cys Phe Met Val Lys Asp Leu Ser
 370 375 380
 Asn Pro Ser Arg Tyr Leu Cys Lys Cys Gln Pro Gly Phe Thr Gly Ala
 385 390 395 400
 Arg Cys Thr Glu Asn Val Pro Met Lys Val Gln Asn Gln Glu Lys His
 405 410 415
 Leu Gly Ile Glu Phe Met Glu Lys Ala Glu Glu Leu Tyr Gln Lys Arg
 420 425 430
 Val Leu Thr Ile Thr Gly Ile Cys Ile Ala Leu Leu Val Val Gly Ile
 435 440 445
 Met Cys Val Val Ala Tyr Cys Lys Thr Lys Lys Gln Arg Lys Lys Leu

450	455	460
His Asp Arg Leu Arg Gln	Ser Leu Arg Ser Glu	Arg Asn Asn Met Met
465	470	475
Asn Ile Ala Asn Gly Pro	His His Pro Asn Pro	Pro Pro Glu Asn Val
	485	490
Gln Leu Val Asn Gln Tyr	Val Ser Lys Asn Val	Ile Ser Ser Glu His
	500	505
Ile Val Glu Arg Glu Ala	Glu Thr Ser Phe Ser	Thr Ser His Tyr Thr
	515	520
Ser Thr Ala His His Ser	Thr Thr Val Thr Gln	Thr Pro Ser His Ser
	530	535
Trp Ser Asn Gly His Thr	Glu Ser Ile Leu Ser	Glu Ser His Ser Val
545	550	555
Ile Val Met Ser Ser Val	Glu Asn Ser Arg His	Ser Ser Pro Thr Gly
	565	570
Gly Pro Arg Gly Arg Leu	Asn Gly Thr Gly Gly	Pro Arg Glu Cys Asn
	580	585
Ser Phe Leu Arg His Ala	Arg Glu Thr Pro Asp	Ser Tyr Arg Asp Ser
	595	600
Pro His Ser Glu Arg His	Asn Leu Ile Ala Glu	Leu Arg Arg Asn Lys
	610	615
Ala His Arg Ser Lys Cys	Met Gln Ile Gln Leu	Ser Ala Thr His Leu
625	630	635
Arg Ala Ser Ser Ile Pro	His Trp Ala Ser Phe	Ser Lys Thr Pro Trp
	645	650
Pro Leu Gly Arg Tyr Val	Ser Ala Met Thr Thr	Pro Ala Arg Met Ser
	660	665
Pro Val Asp Phe His Thr	Pro Ser Ser Pro Lys	Ser Pro Pro Ser Glu
	675	680
Met Ser Pro Pro Val Ser	Ser Met Thr Val Ser	Met Pro Ser Met Ala
	690	695
Val Ser Pro Phe Met Glu	Glu Glu Arg Pro Leu	Leu Leu Val Thr Pro
705	710	715
Pro Arg Leu Arg Glu Lys	Lys Phe Asp His His	Pro Gln Gln Phe Ser
	725	730
Ser Phe His His Asn Pro	Ala His Asp Ser Asn	Ser Leu Pro Ala Ser
	740	745
Pro Leu Arg Ile Val Glu	Asp Glu Glu Tyr Glu	Thr Thr Gln Glu Tyr
	755	760
Glu Pro Ala Gln Glu Pro	Val Lys Lys Leu Ala	Asn Ser Arg Arg Ala
	770	775
Lys Arg Thr Lys Pro Asn	Gly His Ile Ala Asn	Arg Leu Glu Val Asp
785	790	795
Ser Asn Thr Ser Ser Gln	Ser Ser Asn Ser Glu	Ser Glu Thr Glu Asp
	805	810
Glu Arg Val Gly Glu Asp	Thr Pro Phe Leu Gly	Ile Gln Asn Pro Leu
	820	825
Ala Ala Ser Leu Glu Ala	Thr Pro Ala Phe Arg	Leu Ala Asp Ser Arg
	835	840
Thr Asn Pro Ala Gly Arg	Phe Ser Thr Gln Glu	Glu Ile Gln Ala Arg
	850	855
Leu Ser Ser Val Ile Ala	Asn Gln Asp Pro Ile	Ala Val
865	870	875

<210> 233
 <211> 601
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<220>
 <221> VARIANT
 <222> (601)...(601)

<223> Xaa is Arg.

<400> 233

Met Arg Trp Arg Arg Ala Pro Arg Arg Ser Gly Arg Pro Gly Pro Arg
 1 5 10 15
 Ala Gln Arg Pro Gly Ser Ala Ala Arg Ser Ser Pro Pro Leu Pro Leu
 20 25 30
 Leu Pro Leu Leu Leu Leu Leu Gly Thr Ala Ala Leu Ala Pro Gly Ala
 35 40 45
 Ala Ala Gly Asn Glu Ala Ala Pro Ala Gly Ala Ser Val Cys Tyr Ser
 50 55 60
 Ser Pro Pro Ser Val Gly Ser Val Gln Glu Leu Ala Gln Arg Ala Ala
 65 70 75 80
 Val Val Ile Glu Gly Lys Val His Pro Gln Arg Arg Gln Gln Gly Ala
 85 90 95
 Leu Asp Arg Lys Ala Ala Ala Ala Ala Gly Glu Ala Gly Ala Trp Gly
 100 105 110
 Gly Asp Arg Glu Pro Pro Ala Ala Gly Pro Arg Ala Leu Gly Pro Pro
 115 120 125
 Ala Glu Glu Pro Leu Leu Ala Ala Asn Gly Thr Val Pro Ser Trp Pro
 130 135 140
 Thr Ala Pro Val Pro Ser Ala Gly Glu Pro Gly Glu Glu Ala Pro Tyr
 145 150 155 160
 Leu Val Lys Val His Gln Val Trp Ala Val Lys Ala Gly Gly Leu Lys
 165 170 175 180
 Lys Asp Ser Leu Leu Thr Val Arg Leu Gly Thr Trp Gly His Pro Ala
 185 190
 Phe Pro Ser Cys Gly Arg Leu Lys Glu Asp Ser Arg Tyr Ile Phe Phe
 195 200 205
 Met Glu Pro Asp Ala Asn Ser Thr Ser Arg Ala Pro Ala Ala Phe Arg
 210 215 220
 Ala Ser Phe Pro Pro Leu Glu Thr Gly Arg Asn Leu Lys Lys Glu Val
 225 230 235 240
 Ser Arg Val Leu Cys Lys Arg Cys Ala Leu Pro Pro Arg Leu Lys Glu
 245 250 255
 Met Lys Ser Gln Glu Ser Ala Ala Gly Ser Lys Leu Val Leu Arg Cys
 260 265 270
 Glu Thr Ser Ser Glu Tyr Ser Ser Leu Arg Phe Lys Trp Phe Lys Asn
 275 280 285
 Gly Asn Glu Leu Asn Arg Lys Asn Lys Pro Gln Asn Ile Lys Ile Gln
 290 295 300
 Lys Lys Pro Gly Lys Ser Glu Leu Arg Ile Asn Lys Ala Ser Leu Ala
 305 310 315 320
 Asp Ser Gly Glu Tyr Met Cys Lys Val Ile Ser Lys Leu Gly Asn Asp
 325 330 335
 Ser Ala Ser Ala Asn Ile Thr Ile Val Glu Ser Asn Ala Thr Ser Thr
 340 345 350
 Ser Thr Thr Gly Thr Ser His Leu Val Lys Cys Ala Glu Lys Glu Lys
 355 360 365
 Thr Phe Cys Val Asn Gly Gly Glu Cys Phe Met Val Lys Asp Leu Ser
 370 375 380
 Asn Pro Ser Arg Tyr Leu Cys Lys Cys Pro Asn Glu Phe Thr Gly Asp
 385 390 395 400
 Arg Cys Gln Asn Tyr Val Met Ala Ser Phe Tyr Lys Ala Glu Glu Leu
 405 410 415
 Tyr Gln Lys Arg Val Leu Thr Ile Thr Gly Ile Cys Ile Ala Leu Leu
 420 425 430
 Val Val Gly Ile Met Cys Val Val Ala Tyr Cys Lys Thr Lys Lys Gln
 435 440 445
 Arg Lys Lys Leu His Asp Arg Leu Arg Gln Ser Leu Arg Ser Glu Arg
 450 455 460
 Asn Asn Met Met Asn Ile Ala Asn Gly Pro His His Pro Asn Pro Pro
 465 470 475 480

Pro Glu Asn Val Gln Leu Val Asn Gln Tyr Val Ser Lys Asn Val Ile
 485 490 495
 Ser Ser Glu His Ile Val Glu Arg Glu Ala Glu Thr Ser Phe Ser Thr
 500 505 510
 Ser His Tyr Thr Ser Thr Ala His His Ser Thr Thr Val Thr Gln Thr
 515 520 525
 Pro Ser His Ser Trp Ser Asn Gly His Thr Glu Ser Ile Leu Ser Glu
 530 535 540
 Ser His Ser Val Ile Val Met Ser Ser Val Glu Asn Ser Arg His Ser
 545 550 555 560
 Ser Pro Thr Gly Gly Pro Arg Gly Arg Leu Asn Gly Thr Gly Gly Pro
 565 570 575
 Arg Glu Cys Asn Ser Phe Leu Arg His Ala Arg Glu Thr Pro Asp Ser
 580 585 590
 Tyr Arg Asp Ser Pro His Ser Glu Xaa
 595 600

<210> 234

<211> 818

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 234

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

305					310					315					320
Asp	Ser	Gly	Glu	Tyr	Met	Cys	Lys	Val	Ile	Ser	Lys	Leu	Gly	Asn	Asp
				325					330					335	
Ser	Ala	Ser	Ala	Asn	Ile	Thr	Ile	Val	Glu	Ser	Asn	Ala	Thr	Ser	Thr
			340					345					350		
Ser	Thr	Thr	Gly	Thr	Ser	His	Leu	Val	Lys	Cys	Ala	Glu	Lys	Glu	Lys
		355					360					365			
Thr	Phe	Cys	Val	Asn	Gly	Gly	Glu	Cys	Phe	Met	Val	Lys	Asp	Leu	Ser
	370					375					380				
Asn	Pro	Ser	Arg	Tyr	Leu	Cys	Lys	Cys	Pro	Asn	Glu	Phe	Thr	Gly	Asp
385					390					395					400
Arg	Cys	Gln	Asn	Tyr	Val	Met	Ala	Ser	Phe	Tyr	Lys	Ala	Glu	Glu	Leu
			405						410					415	
Tyr	Gln	Lys	Arg	Val	Leu	Thr	Ile	Thr	Gly	Ile	Cys	Ile	Ala	Glu	Leu
			420					425					430		
Val	Val	Gly	Ile	Met	Cys	Val	Val	Ala	Tyr	Cys	Lys	Thr	Lys	Lys	Gln
		435					440					445			
Arg	Lys	Lys	Leu	His	Asp	Arg	Leu	Arg	Gln	Ser	Leu	Arg	Ser	Glu	Arg
	450					455					460				
Asn	Asn	Met	Met	Asn	Ile	Ala	Asn	Gly	Pro	His	His	Pro	Asn	Pro	Pro
465					470					475					480
Pro	Glu	Asn	Val	Gln	Leu	Val	Asn	Gln	Tyr	Val	Ser	Lys	Asn	Val	Ile
				485					490					495	
Ser	Ser	Glu	His	Ile	Val	Glu	Arg	Glu	Ala	Glu	Thr	Ser	Phe	Ser	Thr
			500					505					510		
Ser	His	Tyr	Thr	Ser	Thr	Ala	His	His	Ser	Thr	Thr	Val	Thr	Gln	Thr
	515						520					525			
Pro	Ser	His	Ser	Trp	Ser	Asn	Gly	His	Thr	Glu	Ser	Ile	Leu	Ser	Glu
	530					535					540				
Ser	His	Ser	Val	Ile	Val	Met	Ser	Ser	Val	Glu	Asn	Ser	Arg	His	Ser
545					550					555					560
Ser	Pro	Thr	Gly	Gly	Pro	Arg	Gly	Arg	Leu	Asn	Gly	Thr	Gly	Gly	Pro
				565					570					575	
Arg	Glu	Cys	Asn	Ser	Phe	Leu	Arg	His	Ala	Arg	Glu	Thr	Pro	Asp	Ser
			580					585					590		
Tyr	Arg	Asp	Ser	Pro	His	Ser	Glu	Arg	Tyr	Val	Ser	Ala	Met	Thr	Thr
		595					600					605			
Pro	Ala	Arg	Met	Ser	Pro	Val	Asp	Phe	His	Thr	Pro	Ser	Ser	Pro	Lys
	610					615					620				
Ser	Pro	Pro	Ser	Glu	Met	Ser	Pro	Pro	Val	Ser	Ser	Met	Thr	Val	Ser
625					630					635					640
Met	Pro	Ser	Met	Ala	Val	Ser	Pro	Phe	Met	Glu	Glu	Glu	Arg	Pro	Leu
				645					650					655	
Leu	Leu	Val	Thr	Pro	Pro	Arg	Leu	Arg	Glu	Lys	Lys	Phe	Asp	His	His
			660					665					670		
Pro	Gln	Gln	Phe	Ser	Ser	Phe	His	His	Asn	Pro	Ala	His	Asp	Ser	Asn
		675					680					685			
Ser	Leu	Pro	Ala	Ser	Pro	Leu	Arg	Ile	Val	Glu	Asp	Glu	Glu	Tyr	Glu
	690					695					700				
Thr	Thr	Gln	Glu	Tyr	Glu	Pro	Ala	Gln	Glu	Pro	Val	Lys	Lys	Leu	Ala
705					710					715					720
Asn	Ser	Arg	Arg	Ala	Lys	Arg	Thr	Lys	Pro	Asn	Gly	His	Ile	Ala	Asn
				725					730					735	
Arg	Leu	Glu	Val	Asp	Ser	Asn	Thr	Ser	Ser	Gln	Ser	Ser	Asn	Ser	Glu
			740					745					750		
Ser	Glu	Thr	Glu	Asp	Glu	Arg	Val	Gly	Glu	Asp	Thr	Pro	Phe	Leu	Gly
		755					760					765			
Ile	Gln	Asn	Pro	Leu	Ala	Ala	Ser	Leu	Glu	Ala	Thr	Pro	Ala	Phe	Arg
	770					775					780				
Leu	Ala	Asp	Ser	Arg	Thr	Asn	Pro	Ala	Gly	Arg	Phe	Ser	Thr	Gln	Glu
785					790					795					800
Glu	Ile	Gln	Ala	Arg	Leu	Ser	Ser	Val	Ile	Ala	Asn	Gln	Asp	Pro	Ile
				805					810					815	

Ala Val

<210> 235
 <211> 865
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 235

Met	Arg	Trp	Arg	Arg	Ala	Pro	Arg	Arg	Ser	Gly	Arg	Pro	Gly	Pro	Arg
1				5					10					15	
Ala	Gln	Arg	Pro	Gly	Ser	Ala	Ala	Arg	Ser	Ser	Pro	Pro	Leu	Pro	Leu
			20					25					30		
Leu	Pro	Leu	Leu	Leu	Leu	Leu	Gly	Thr	Ala	Ala	Leu	Ala	Pro	Gly	Ala
		35					40					45			
Ala	Ala	Gly	Asn	Glu	Ala	Ala	Pro	Ala	Gly	Ala	Ser	Val	Cys	Tyr	Ser
		50				55					60				
Ser	Pro	Pro	Ser	Val	Gly	Ser	Val	Gln	Glu	Leu	Ala	Gln	Arg	Ala	Ala
65					70					75					80
Val	Val	Ile	Glu	Gly	Lys	Val	His	Pro	Gln	Arg	Arg	Gln	Gln	Gly	Ala
				85					90					95	
Leu	Asp	Arg	Lys	Ala	Ala	Ala	Ala	Ala	Gly	Glu	Ala	Gly	Ala	Trp	Gly
			100					105					110		
Gly	Asp	Arg	Glu	Pro	Pro	Ala	Ala	Gly	Pro	Arg	Ala	Leu	Gly	Pro	Pro
			115				120						125		
Ala	Glu	Glu	Pro	Leu	Leu	Ala	Ala	Asn	Gly	Thr	Val	Pro	Ser	Trp	Pro
						135						140			
Thr	Ala	Pro	Val	Pro	Ser	Ala	Gly	Glu	Pro	Gly	Glu	Glu	Ala	Pro	Tyr
145						150					155				160
Leu	Val	Lys	Val	His	Gln	Val	Trp	Ala	Val	Lys	Ala	Gly	Gly	Leu	Lys
				165						170				175	
Lys	Asp	Ser	Leu	Leu	Thr	Val	Arg	Leu	Gly	Thr	Trp	Gly	His	Pro	Ala
			180					185					190		
Phe	Pro	Ser	Cys	Gly	Arg	Leu	Lys	Glu	Asp	Ser	Arg	Tyr	Ile	Phe	Phe
			195				200						205		
Met	Glu	Pro	Asp	Ala	Asn	Ser	Thr	Ser	Arg	Ala	Pro	Ala	Ala	Phe	Arg
						215						220			
Ala	Ser	Phe	Pro	Pro	Leu	Glu	Thr	Gly	Arg	Asn	Leu	Lys	Lys	Glu	Val
225					230					235					240
Ser	Arg	Val	Leu	Cys	Lys	Arg	Cys	Ala	Leu	Pro	Pro	Arg	Leu	Lys	Glu
				245					250					255	
Met	Lys	Ser	Gln	Glu	Ser	Ala	Ala	Gly	Ser	Lys	Leu	Val	Leu	Arg	Cys
			260					265						270	
Glu	Thr	Ser	Ser	Glu	Tyr	Ser	Ser	Leu	Arg	Phe	Lys	Trp	Phe	Lys	Asn
			275				280						285		
Gly	Asn	Glu	Leu	Asn	Arg	Lys	Asn	Lys	Pro	Gln	Asn	Ile	Lys	Ile	Gln
			290				295					300			
Lys	Lys	Pro	Gly	Lys	Ser	Glu	Leu	Arg	Ile	Asn	Lys	Ala	Ser	Leu	Ala
305						310					315				320
Asp	Ser	Gly	Glu	Tyr	Met	Cys	Lys	Val	Ile	Ser	Lys	Leu	Gly	Asn	Asp
				325						330				335	
Ser	Ala	Ser	Ala	Asn	Ile	Thr	Ile	Val	Glu	Ser	Asn	Ala	Thr	Ser	Thr
			340					345						350	
Ser	Thr	Thr	Gly	Thr	Ser	His	Leu	Val	Lys	Cys	Ala	Glu	Lys	Glu	Lys
			355				360							365	
Thr	Phe	Cys	Val	Asn	Gly	Gly	Glu	Cys	Phe	Met	Val	Lys	Asp	Leu	Ser
			370			375						380			
Asn	Pro	Ser	Arg	Tyr	Leu	Cys	Lys	Cys	Pro	Asn	Glu	Phe	Thr	Gly	Asp
385					390						395				400
Arg	Cys	Gln	Asn	Tyr	Val	Met	Ala	Ser	Phe	Tyr	Lys	Ala	Glu	Glu	Leu
				405						410				415	
Tyr	Gln	Lys	Arg	Val	Leu	Thr	Ile	Thr	Gly	Ile	Cys	Ile	Ala	Leu	Leu

			420					425					430							
Val	Val	Gly	Ile	Met	Cys	Val	Val	Ala	Tyr	Cys	Lys	Thr	Lys	Lys	Gln					
		435					440					445								
Arg	Lys	Lys	Leu	His	Asp	Arg	Leu	Arg	Gln	Ser	Leu	Arg	Ser	Glu	Arg					
	450					455					460									
Asn	Asn	Met	Met	Asn	Ile	Ala	Asn	Gly	Pro	His	His	Pro	Asn	Pro	Pro					
465				470						475					480					
Pro	Glu	Asn	Val	Gln	Leu	Val	Asn	Gln	Tyr	Val	Ser	Lys	Asn	Val	Ile					
			485						490					495						
Ser	Ser	Glu	His	Ile	Val	Glu	Arg	Glu	Ala	Glu	Thr	Ser	Phe	Ser	Thr					
			500					505					510							
Ser	His	Tyr	Thr	Ser	Thr	Ala	His	His	Ser	Thr	Thr	Thr	Val	Thr	Gln	Thr				
	515						520						525							
Pro	Ser	His	Ser	Trp	Ser	Asn	Gly	His	Thr	Glu	Ser	Ile	Leu	Ser	Glu					
	530					535					540									
Ser	His	Ser	Val	Ile	Val	Met	Ser	Ser	Val	Glu	Asn	Ser	Arg	His	Ser					
545				550						555				560						
Ser	Pro	Thr	Gly	Gly	Pro	Arg	Gly	Arg	Leu	Asn	Gly	Thr	Gly	Gly	Pro					
			565						570					575						
Arg	Glu	Cys	Asn	Ser	Phe	Leu	Arg	His	Ala	Arg	Glu	Thr	Pro	Asp	Ser					
			580					585					590							
Tyr	Arg	Asp	Ser	Pro	His	Ser	Glu	Arg	His	Asn	Leu	Ile	Ala	Glu	Leu					
		595					600					605								
Arg	Arg	Asn	Lys	Ala	His	Arg	Ser	Lys	Cys	Met	Gln	Ile	Gln	Leu	Ser					
	610					615					620									
Ala	Thr	His	Leu	Arg	Ala	Ser	Ser	Ile	Pro	His	Trp	Ala	Ser	Phe	Ser					
625				630						635				640						
Lys	Thr	Pro	Trp	Pro	Leu	Gly	Arg	Tyr	Val	Ser	Ala	Met	Thr	Thr	Pro					
			645						650					655						
Ala	Arg	Met	Ser	Pro	Val	Asp	Phe	His	Thr	Pro	Ser	Ser	Pro	Lys	Ser					
			660					665					670							
Pro	Pro	Ser	Glu	Met	Ser	Pro	Pro	Val	Ser	Ser	Met	Thr	Val	Ser	Met					
		675					680					685								
Pro	Ser	Met	Ala	Val	Ser	Pro	Phe	Met	Glu	Glu	Glu	Arg	Pro	Leu	Leu					
	690					695					700									
Leu	Val	Thr	Pro	Pro	Arg	Leu	Arg	Glu	Lys	Lys	Phe	Asp	His	His	Pro					
705				710						715				720						
Gln	Gln	Phe	Ser	Ser	Phe	His	His	Asn	Pro	Ala	His	Asp	Ser	Asn	Ser					
			725					730						735						
Leu	Pro	Ala	Ser	Pro	Leu	Arg	Ile	Val	Glu	Asp	Glu	Glu	Tyr	Glu	Thr					
			740					745					750							
Thr	Gln	Glu	Tyr	Glu	Pro	Ala	Gln	Glu	Pro	Val	Lys	Lys	Leu	Ala	Asn					
		755					760					765								
Ser	Arg	Arg	Ala	Lys	Arg	Thr	Lys	Pro	Asn	Gly	His	Ile	Ala	Asn	Arg					
	770					775					780									
Leu	Glu	Val	Asp	Ser	Asn	Thr	Ser	Ser	Gln	Ser	Ser	Asn	Ser	Glu	Ser					
785				790						795				800						
Glu	Thr	Glu	Asp	Glu	Arg	Val	Gly	Glu	Asp	Thr	Pro	Phe	Leu	Gly	Ile					
			805						810					815						
Gln	Asn	Pro	Leu	Ala	Ala	Ser	Leu	Glu	Ala	Thr	Pro	Ala	Phe	Arg	Leu					
			820					825					830							
Ala	Asp	Ser	Arg	Thr	Asn	Pro	Ala	Gly	Arg	Phe	Ser	Thr	Gln	Glu	Glu					
	835						840					845								
Ile	Gln	Ala	Arg	Leu	Ser	Ser	Val	Ile	Ala	Asn	Gln	Asp	Pro	Ile	Ala					
	850					855					860									
Val																				
865																				

<210> 236

<211> 610

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>
 <221> VARIANT
 <222> (610)...(610)
 <223> Xaa ist Arg.

<400> 236

Met Arg Trp Arg Arg Ala Pro Arg Arg Ser Gly Arg Pro Gly Pro Arg
 1 5 10 15
 Ala Gln Arg Pro Gly Ser Ala Ala Arg Ser Ser Pro Pro Leu Pro Leu
 20 25 30
 Leu Pro Leu Leu Leu Leu Gly Thr Ala Ala Leu Ala Pro Gly Ala
 35 40 45
 Ala Ala Gly Asn Glu Ala Ala Pro Ala Gly Ala Ser Val Cys Tyr Ser
 50 55 60
 Ser Pro Pro Ser Val Gly Ser Val Gln Glu Leu Ala Gln Arg Ala Ala
 65 70 75 80
 Val Val Ile Glu Gly Lys Val His Pro Gln Arg Arg Gln Gln Gly Ala
 85 90 95
 Leu Asp Arg Lys Ala Ala Ala Ala Gly Glu Ala Gly Ala Trp Gly
 100 105 110
 Gly Asp Arg Glu Pro Pro Ala Ala Gly Pro Arg Ala Leu Gly Pro Pro
 115 120 125
 Ala Glu Glu Pro Leu Leu Ala Ala Asn Gly Thr Val Pro Ser Trp Pro
 130 135 140
 Thr Ala Pro Val Pro Ser Ala Gly Glu Pro Gly Glu Glu Ala Pro Tyr
 145 150 155 160
 Leu Val Lys Val His Gln Val Trp Ala Val Lys Ala Gly Gly Leu Lys
 165 170 175
 Lys Asp Ser Leu Leu Thr Val Arg Leu Gly Thr Trp Gly His Pro Ala
 180 185 190
 Phe Pro Ser Cys Gly Arg Leu Lys Glu Asp Ser Arg Tyr Ile Phe Phe
 195 200 205
 Met Glu Pro Asp Ala Asn Ser Thr Ser Arg Ala Pro Ala Ala Phe Arg
 210 215 220
 Ala Ser Phe Pro Pro Leu Glu Thr Gly Arg Asn Leu Lys Lys Glu Val
 225 230 235 240
 Ser Arg Val Leu Cys Lys Arg Cys Ala Leu Pro Pro Arg Leu Lys Glu
 245 250 255
 Met Lys Ser Gln Glu Ser Ala Ala Gly Ser Lys Leu Val Leu Arg Cys
 260 265 270
 Glu Thr Ser Ser Glu Tyr Ser Ser Leu Arg Phe Lys Trp Phe Lys Asn
 275 280 285
 Gly Asn Glu Leu Asn Arg Lys Asn Lys Pro Gln Asn Ile Lys Ile Gln
 290 295 300
 Lys Lys Pro Gly Lys Ser Glu Leu Arg Ile Asn Lys Ala Ser Leu Ala
 305 310 315 320
 Asp Ser Gly Glu Tyr Met Cys Lys Val Ile Ser Lys Leu Gly Asn Asp
 325 330 335
 Ser Ala Ser Ala Asn Ile Thr Ile Val Glu Ser Asn Ala Thr Ser Thr
 340 345 350
 Ser Thr Thr Gly Thr Ser His Leu Val Lys Cys Ala Glu Lys Glu Lys
 355 360 365
 Thr Phe Cys Val Asn Gly Gly Glu Cys Phe Met Val Lys Asp Leu Ser
 370 375 380
 Asn Pro Ser Arg Tyr Leu Cys Lys Cys Pro Asn Glu Phe Thr Gly Asp
 385 390 395 400
 Arg Cys Gln Asn Tyr Val Met Ala Ser Phe Tyr Lys His Leu Gly Ile
 405 410 415
 Glu Phe Met Glu Lys Ala Glu Glu Leu Tyr Gln Lys Arg Val Leu Thr
 420 425 430
 Ile Thr Gly Ile Cys Ile Ala Leu Leu Val Val Gly Ile Met Cys Val
 435 440 445
 Val Ala Tyr Cys Lys Thr Lys Lys Gln Arg Lys Lys Leu His Asp Arg

450	455	460
Leu Arg Gln Ser Leu Arg Ser Glu Arg Asn Asn Met Met Asn Ile Ala		
465	470	475
Asn Gly Pro His His Pro Asn Pro Pro Pro Glu Asn Val Gln Leu Val		480
	485	490
Asn Gln Tyr Val Ser Lys Asn Val Ile Ser Ser Glu His Ile Val Glu		495
	500	505
Arg Glu Ala Glu Thr Ser Phe Ser Thr Ser His Tyr Thr Ser Thr Ala		510
	515	520
His His Ser Thr Thr Val Thr Gln Thr Pro Ser His Ser Trp Ser Asn		525
	530	535
Gly His Thr Glu Ser Ile Leu Ser Glu Ser His Ser Val Ile Val Met		540
545	550	555
Ser Ser Val Glu Asn Ser Arg His Ser Ser Pro Thr Gly Gly Pro Arg		560
	565	570
Gly Arg Leu Asn Gly Thr Gly Gly Pro Arg Glu Cys Asn Ser Phe Leu		575
	580	585
Arg His Ala Arg Glu Thr Pro Asp Ser Tyr Arg Asp Ser Pro His Ser		590
	595	600
		605
Glu Xaa		
610		

<210> 237
 <211> 827
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 237

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

Glu Thr Ser Ser Glu Tyr Ser Ser Leu Arg Phe Lys Trp Phe Lys Asn
 275 280 285
 Gly Asn Glu Leu Asn Arg Lys Asn Lys Pro Gln Asn Ile Lys Ile Gln
 290 295 300
 Lys Lys Pro Gly Lys Ser Glu Leu Arg Ile Asn Lys Ala Ser Leu Ala
 305 310 315 320
 Asp Ser Gly Glu Tyr Met Cys Lys Val Ile Ser Lys Leu Gly Asn Asp
 325 330 335
 Ser Ala Ser Ala Asn Ile Thr Ile Val Glu Ser Asn Ala Thr Ser Thr
 340 345 350
 Ser Thr Thr Gly Thr Ser His Leu Val Lys Cys Ala Glu Lys Glu Lys
 355 360 365
 Thr Phe Cys Val Asn Gly Gly Glu Cys Phe Met Val Lys Asp Leu Ser
 370 375 380
 Asn Pro Ser Arg Tyr Leu Cys Lys Cys Pro Asn Glu Phe Thr Gly Asp
 385 390 395 400
 Arg Cys Gln Asn Tyr Val Met Ala Ser Phe Tyr Lys His Leu Gly Ile
 405 410 415
 Glu Phe Met Glu Lys Ala Glu Glu Leu Tyr Gln Lys Arg Val Leu Thr
 420 425 430
 Ile Thr Gly Ile Cys Ile Ala Leu Leu Val Val Gly Ile Met Cys Val
 435 440 445
 Val Ala Tyr Cys Lys Thr Lys Lys Gln Arg Lys Lys Leu His Asp Arg
 450 455 460
 Leu Arg Gln Ser Leu Arg Ser Glu Arg Asn Asn Met Met Asn Ile Ala
 465 470 475 480
 Asn Gly Pro His His Pro Asn Pro Pro Pro Glu Asn Val Gln Leu Val
 485 490 495
 Asn Gln Tyr Val Ser Lys Asn Val Ile Ser Ser Glu His Ile Val Glu
 500 505 510
 Arg Glu Ala Glu Thr Ser Phe Ser Thr Ser His Tyr Thr Ser Thr Ala
 515 520 525
 His His Ser Thr Thr Val Thr Gln Thr Pro Ser His Ser Trp Ser Asn
 530 535 540
 Gly His Thr Glu Ser Ile Leu Ser Glu Ser His Ser Val Ile Val Met
 545 550 555 560
 Ser Ser Val Glu Asn Ser Arg His Ser Ser Pro Thr Gly Gly Pro Arg
 565 570 575
 Gly Arg Leu Asn Gly Thr Gly Gly Pro Arg Glu Cys Asn Ser Phe Leu
 580 585 590
 Arg His Ala Arg Glu Thr Pro Asp Ser Tyr Arg Asp Ser Pro His Ser
 595 600 605
 Glu Arg Tyr Val Ser Ala Met Thr Thr Pro Ala Arg Met Ser Pro Val
 610 615 620
 Asp Phe His Thr Pro Ser Ser Pro Lys Ser Pro Pro Ser Glu Met Ser
 625 630 635 640
 Pro Pro Val Ser Ser Met Thr Val Ser Met Pro Ser Met Ala Val Ser
 645 650 655
 Pro Phe Met Glu Glu Glu Arg Pro Leu Leu Leu Val Thr Pro Pro Arg
 660 665 670
 Leu Arg Glu Lys Lys Phe Asp His His Pro Gln Gln Phe Ser Ser Phe
 675 680 685
 His His Asn Pro Ala His Asp Ser Asn Ser Leu Pro Ala Ser Pro Leu
 690 695 700
 Arg Ile Val Glu Asp Glu Glu Tyr Glu Thr Thr Gln Glu Tyr Glu Pro
 705 710 715 720
 Ala Gln Glu Pro Val Lys Lys Leu Ala Asn Ser Arg Arg Ala Lys Arg
 725 730 735
 Thr Lys Pro Asn Gly His Ile Ala Asn Arg Leu Glu Val Asp Ser Asn
 740 745 750
 Thr Ser Ser Gln Ser Ser Asn Ser Glu Ser Glu Thr Glu Asp Glu Arg
 755 760 765
 Val Gly Glu Asp Thr Pro Phe Leu Gly Ile Gln Asn Pro Leu Ala Ala

770	775	780
Ser Leu Glu Ala Thr	Pro Ala Phe Arg Leu	Ala Asp Ser Arg Thr Asn
785	790	795
Pro Ala Gly Arg Phe	Ser Thr Gln Glu Glu	Ile Gln Ala Arg Leu Ser
	805	810
Ser Val Ile Ala Asn	Gln Asp Pro Ile Ala	Val
	820	825

<210> 238
 <211> 874
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 238

Met Arg Trp Arg Arg	Ala Pro Arg Arg Ser	Gly Arg Pro Gly Pro	Arg
1	5	10	15
Ala Gln Arg Pro Gly	Ser Ala Ala Arg Ser	Ser Pro Pro Leu Pro	Leu
	20	25	30
Leu Pro Leu Leu Leu	Leu Leu Gly Thr Ala	Ala Leu Ala Pro Gly	Ala
	35	40	45
Ala Ala Gly Asn Glu	Ala Ala Pro Ala Gly	Ala Ser Val Cys Tyr	Ser
	50	55	60
Ser Pro Pro Ser Val	Gly Ser Val Gln Glu	Leu Ala Gln Arg Ala	Ala
65	70	75	80
Val Val Ile Glu Gly	Lys Val His Pro Gln	Arg Arg Gln Gln Gly	Ala
	85	90	95
Leu Asp Arg Lys Ala	Ala Ala Ala Ala Gly	Glu Ala Gly Ala Trp	Gly
	100	105	110
Gly Asp Arg Glu Pro	Pro Ala Ala Gly Pro	Arg Ala Leu Gly Pro	Pro
	115	120	125
Ala Glu Glu Pro Leu	Leu Ala Ala Asn Gly	Thr Val Pro Ser Trp	Pro
	130	135	140
Thr Ala Pro Val Pro	Ser Ala Gly Glu Pro	Gly Glu Glu Ala Pro	Tyr
145	150	155	160
Leu Val Lys Val His	Gln Val Trp Ala Val	Lys Ala Gly Gly Leu	Lys
	165	170	175
Lys Asp Ser Leu Thr	Val Arg Leu Gly Thr	Trp Gly His Pro Ala	
	180	185	190
Phe Pro Ser Cys Gly	Arg Leu Lys Glu Asp	Ser Arg Tyr Ile Phe	Phe
	195	200	205
Met Glu Pro Asp Ala	Asn Ser Thr Ser Arg	Ala Pro Ala Ala Phe	Arg
	210	215	220
Ala Ser Phe Pro Pro	Leu Glu Thr Gly Arg	Asn Leu Lys Lys Glu	Val
225	230	235	240
Ser Arg Val Leu Cys	Lys Arg Cys Ala Leu	Pro Pro Arg Leu Lys	Glu
	245	250	255
Met Lys Ser Gln Glu	Ser Ala Ala Gly Ser	Lys Leu Val Leu Arg	Cys
	260	265	270
Glu Thr Ser Ser Glu	Tyr Ser Ser Leu Arg	Phe Lys Trp Phe Lys	Asn
	275	280	285
Gly Asn Glu Leu Asn	Arg Lys Asn Lys Pro	Gln Asn Ile Lys Ile	Gln
	290	295	300
Lys Lys Pro Gly Lys	Ser Glu Leu Arg Ile	Asn Lys Ala Ser Leu	Ala
305	310	315	320
Asp Ser Gly Glu Tyr	Met Cys Lys Val Ile	Ser Lys Leu Gly Asn	Asp
	325	330	335
Ser Ala Ser Ala Asn	Ile Thr Ile Val Glu	Ser Asn Ala Thr Ser	Thr
	340	345	350
Ser Thr Thr Gly Thr	Ser His Leu Val Lys	Cys Ala Glu Lys Glu	Lys
	355	360	365
Thr Phe Cys Val Asn	Gly Gly Glu Cys Phe	Met Val Lys Asp Leu	Ser
	370	375	380

Asn Pro Ser Arg Tyr Leu Cys Lys Cys Pro Asn Glu Phe Thr Gly Asp
 385 390 395 400
 Arg Cys Gln Asn Tyr Val Met Ala Ser Phe Tyr Lys His Leu Gly Ile
 405 410 415
 Glu Phe Met Glu Lys Ala Glu Glu Leu Tyr Gln Lys Arg Val Leu Thr
 420 425 430
 Ile Thr Gly Ile Cys Ile Ala Leu Leu Val Val Gly Ile Met Cys Val
 435 440 445
 Val Ala Tyr Cys Lys Thr Lys Lys Gln Arg Lys Lys Leu His Asp Arg
 450 455 460
 Leu Arg Gln Ser Leu Arg Ser Glu Arg Asn Asn Met Met Asn Ile Ala
 465 470 475 480
 Asn Gly Pro His His Pro Asn Pro Pro Pro Glu Asn Val Gln Leu Val
 485 490 495
 Asn Gln Tyr Val Ser Lys Asn Val Ile Ser Ser Glu His Ile Val Glu
 500 505 510
 Arg Glu Ala Glu Thr Ser Phe Ser Thr Ser His Tyr Thr Ser Thr Ala
 515 520 525
 His His Ser Thr Thr Val Thr Gln Thr Pro Ser His Ser Trp Ser Asn
 530 535 540
 Gly His Thr Glu Ser Ile Leu Ser Glu Ser His Ser Val Ile Val Met
 545 550 555 560
 Ser Ser Val Glu Asn Ser Arg His Ser Ser Pro Thr Gly Gly Pro Arg
 565 570 575
 Gly Arg Leu Asn Gly Thr Gly Gly Pro Arg Glu Cys Asn Ser Phe Leu
 580 585 590
 Arg His Ala Arg Glu Thr Pro Asp Ser Tyr Arg Asp Ser Pro His Ser
 595 600 605
 Glu Arg His Asn Leu Ile Ala Glu Leu Arg Arg Asn Lys Ala His Arg
 610 615 620
 Ser Lys Cys Met Gln Ile Gln Leu Ser Ala Thr His Leu Arg Ala Ser
 625 630 635 640
 Ser Ile Pro His Trp Ala Ser Phe Ser Lys Thr Pro Trp Pro Leu Gly
 645 650 655
 Arg Tyr Val Ser Ala Met Thr Thr Pro Ala Arg Met Ser Pro Val Asp
 660 665 670
 Phe His Thr Pro Ser Ser Pro Lys Ser Pro Pro Ser Glu Met Ser Pro
 675 680 685
 Pro Val Ser Ser Met Thr Val Ser Met Pro Ser Met Ala Val Ser Pro
 690 695 700
 Phe Met Glu Glu Glu Arg Pro Leu Leu Leu Val Thr Pro Pro Arg Leu
 705 710 715 720
 Arg Glu Lys Lys Phe Asp His His Pro Gln Gln Phe Ser Ser Phe His
 725 730 735
 His Asn Pro Ala His Asp Ser Asn Ser Leu Pro Ala Ser Pro Leu Arg
 740 745 750
 Ile Val Glu Asp Glu Glu Tyr Glu Thr Thr Gln Glu Tyr Glu Pro Ala
 755 760 765
 Gln Glu Pro Val Lys Lys Leu Ala Asn Ser Arg Arg Ala Lys Arg Thr
 770 775 780
 Lys Pro Asn Gly His Ile Ala Asn Arg Leu Glu Val Asp Ser Asn Thr
 785 790 795 800
 Ser Ser Gln Ser Ser Asn Ser Glu Ser Glu Thr Glu Asp Glu Arg Val
 805 810 815
 Gly Glu Asp Thr Pro Phe Leu Gly Ile Gln Asn Pro Leu Ala Ala Ser
 820 825 830
 Leu Glu Ala Thr Pro Ala Phe Arg Leu Ala Asp Ser Arg Thr Asn Pro
 835 840 845
 Ala Gly Arg Phe Ser Thr Gln Glu Glu Ile Gln Ala Arg Leu Ser Ser
 850 855 860
 Val Ile Ala Asn Gln Asp Pro Ile Ala Val
 865 870

<210> 239
 <211> 459
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 239

```

Met Arg Trp Arg Arg Ala Pro Arg Arg Ser Gly Arg Pro Gly Pro Arg
 1           5           10           15
Ala Gln Arg Pro Gly Ser Ala Ala Arg Ser Ser Pro Pro Leu Pro Leu
 20           25           30
Leu Pro Leu Leu Leu Leu Leu Gly Thr Ala Ala Leu Ala Pro Gly Ala
 35           40           45
Ala Ala Gly Asn Glu Ala Ala Pro Ala Gly Ala Ser Val Cys Tyr Ser
 50           55           60
Ser Pro Pro Ser Val Gly Ser Val Gln Glu Leu Ala Gln Arg Ala Ala
 65           70           75           80
Val Val Ile Glu Gly Lys Val His Pro Gln Arg Arg Gln Gln Gly Ala
 85           90           95
Leu Asp Arg Lys Ala Ala Ala Ala Ala Gly Glu Ala Gly Ala Trp Gly
 100          105
Gly Asp Arg Glu Pro Pro Ala Ala Gly Pro Arg Ala Leu Gly Pro Pro
 115          120          125
Ala Glu Glu Pro Leu Leu Ala Ala Asn Gly Thr Val Pro Ser Trp Pro
 130          135          140
Thr Ala Pro Val Pro Ser Ala Gly Glu Pro Gly Glu Glu Ala Pro Tyr
 145          150          155          160
Leu Val Lys Val His Gln Val Trp Ala Val Lys Ala Gly Gly Leu Lys
 165          170          175
Lys Asp Ser Leu Leu Thr Val Arg Leu Gly Thr Trp Gly His Pro Ala
 180          185          190
Phe Pro Ser Cys Gly Arg Leu Lys Glu Asp Ser Arg Tyr Ile Phe Phe
 195          200          205
Met Glu Pro Asp Ala Asn Ser Thr Ser Arg Ala Pro Ala Ala Phe Arg
 210          215          220
Ala Ser Phe Pro Pro Leu Glu Thr Gly Arg Asn Leu Lys Lys Glu Val
 225          230          235          240
Ser Arg Val Leu Cys Lys Arg Cys Ala Leu Pro Pro Arg Leu Lys Glu
 245          250          255
Met Lys Ser Gln Glu Ser Ala Ala Gly Ser Lys Leu Val Leu Arg Cys
 260          265          270
Glu Thr Ser Ser Glu Tyr Ser Ser Leu Arg Phe Lys Trp Phe Lys Asn
 275          280          285
Gly Asn Glu Leu Asn Arg Lys Asn Lys Pro Gln Asn Ile Lys Ile Gln
 290          295          300
Lys Lys Pro Gly Lys Ser Glu Leu Arg Ile Asn Lys Ala Ser Leu Ala
 305          310          315          320
Asp Ser Gly Glu Tyr Met Cys Lys Val Ile Ser Lys Leu Gly Asn Asp
 325          330          335
Ser Ala Ser Ala Asn Ile Thr Ile Val Glu Ser Asn Glu Ile Ile Thr
 340          345          350
Gly Met Pro Ala Ser Thr Glu Gly Ala Tyr Val Ser Ser Glu Ser Pro
 355          360          365
Ile Arg Ile Ser Val Ser Thr Glu Gly Ala Asn Thr Ser Ser Ser Thr
 370          375          380
Ser Thr Ser Thr Thr Gly Thr Ser His Leu Val Lys Cys Ala Glu Lys
 385          390          395          400
Glu Lys Thr Phe Cys Val Asn Gly Gly Glu Cys Phe Met Val Lys Asp
 405          410          415
Leu Ser Asn Pro Ser Arg Tyr Leu Cys Lys Cys Gln Pro Gly Phe Thr
 420          425          430
Gly Ala Arg Cys Thr Glu Asn Val Pro Met Lys Val Gln Asn Gln Glu
 435          440          445
Ser Thr Ser Thr Pro Phe Leu Ser Leu Pro Glu

```

450

455

<210> 240
 <211> 638
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<220>
 <221> VARIANT
 <222> (638)..(638)
 <223> Xaa istArg.

<400> 240

Met	Arg	Trp	Arg	Arg	Ala	Pro	Arg	Arg	Ser	Gly	Arg	Pro	Gly	Pro	Arg
1				5					10					15	
Ala	Gln	Arg	Pro	Gly	Ser	Ala	Ala	Arg	Ser	Ser	Pro	Pro	Leu	Pro	Leu
			20					25					30		
Leu	Pro	Leu	Leu	Leu	Leu	Leu	Gly	Thr	Ala	Ala	Leu	Ala	Pro	Gly	Ala
		35					40					45			
Ala	Ala	Gly	Asn	Glu	Ala	Ala	Pro	Ala	Gly	Ala	Ser	Val	Cys	Tyr	Ser
	50					55					60				
Ser	Pro	Pro	Ser	Val	Gly	Ser	Val	Gln	Glu	Leu	Ala	Gln	Arg	Ala	Ala
65				70					75						80
Val	Val	Ile	Glu	Gly	Lys	Val	His	Pro	Gln	Arg	Arg	Gln	Gln	Gly	Ala
				85					90					95	
Leu	Asp	Arg	Lys	Ala	Ala	Ala	Ala	Ala	Gly	Glu	Ala	Gly	Ala	Trp	Gly
			100					105					110		
Gly	Asp	Arg	Glu	Pro	Pro	Ala	Ala	Gly	Pro	Arg	Ala	Leu	Gly	Pro	Pro
		115					120					125			
Ala	Glu	Glu	Pro	Leu	Leu	Ala	Ala	Asn	Gly	Thr	Val	Pro	Ser	Trp	Pro
						135					140				
Thr	Ala	Pro	Val	Pro	Ser	Ala	Gly	Glu	Pro	Gly	Glu	Glu	Ala	Pro	Tyr
145					150					155					160
Leu	Val	Lys	Val	His	Gln	Val	Trp	Ala	Val	Lys	Ala	Gly	Gly	Leu	Lys
				165					170					175	
Lys	Asp	Ser	Leu	Leu	Thr	Val	Arg	Leu	Gly	Thr	Trp	Gly	His	Pro	Ala
			180					185					190		
Phe	Pro	Ser	Cys	Gly	Arg	Leu	Lys	Glu	Asp	Ser	Arg	Tyr	Ile	Phe	Phe
		195					200					205			
Met	Glu	Pro	Asp	Ala	Asn	Ser	Thr	Ser	Arg	Ala	Pro	Ala	Ala	Phe	Arg
	210					215					220				
Ala	Ser	Phe	Pro	Pro	Leu	Glu	Thr	Gly	Arg	Asn	Leu	Lys	Lys	Glu	Val
225					230					235					240
Ser	Arg	Val	Leu	Cys	Lys	Arg	Cys	Ala	Leu	Pro	Pro	Arg	Leu	Lys	Glu
				245					250					255	
Met	Lys	Ser	Gln	Glu	Ser	Ala	Ala	Gly	Ser	Lys	Leu	Val	Leu	Arg	Cys
			260					265					270		
Glu	Thr	Ser	Ser	Glu	Tyr	Ser	Ser	Leu	Arg	Phe	Lys	Trp	Phe	Lys	Asn
		275					280						285		
Gly	Asn	Glu	Leu	Asn	Arg	Lys	Asn	Lys	Pro	Gln	Asn	Ile	Lys	Ile	Gln
	290					295					300				
Lys	Lys	Pro	Gly	Lys	Ser	Glu	Leu	Arg	Ile	Asn	Lys	Ala	Ser	Leu	Ala
305					310					315					320
Asp	Ser	Gly	Glu	Tyr	Met	Cys	Lys	Val	Ile	Ser	Lys	Leu	Gly	Asn	Asp
				325					330					335	
Ser	Ala	Ser	Ala	Asn	Ile	Thr	Ile	Val	Glu	Ser	Asn	Glu	Ile	Ile	Thr
			340					345					350		
Gly	Met	Pro	Ala	Ser	Thr	Glu	Gly	Ala	Tyr	Val	Ser	Ser	Glu	Ser	Pro
		355					360					365			
Ile	Arg	Ile	Ser	Val	Ser	Thr	Glu	Gly	Ala	Asn	Thr	Ser	Ser	Ser	Thr
	370					375					380				
Ser	Thr	Ser	Thr	Thr	Gly	Thr	Ser	His	Leu	Val	Lys	Cys	Ala	Glu	Lys

385					390					395				400	
Glu	Lys	Thr	Phe	Cys	Val	Asn	Gly	Gly	Glu	Cys	Phe	Met	Val	Lys	Asp
				405					410					415	
Leu	Ser	Asn	Pro	Ser	Arg	Tyr	Leu	Cys	Lys	Cys	Gln	Pro	Gly	Phe	Thr
			420					425					430		
Gly	Ala	Arg	Cys	Thr	Glu	Asn	Val	Pro	Met	Lys	Val	Gln	Asn	Gln	Glu
		435					440					445			
Lys	Ala	Glu	Glu	Leu	Tyr	Gln	Lys	Arg	Val	Leu	Thr	Ile	Thr	Gly	Ile
	450					455					460				
Cys	Ile	Ala	Leu	Leu	Val	Val	Gly	Ile	Met	Cys	Val	Val	Ala	Tyr	Cys
465					470					475					480
Lys	Thr	Lys	Lys	Gln	Arg	Lys	Lys	Leu	His	Asp	Arg	Leu	Arg	Gln	Ser
				485					490					495	
Leu	Arg	Ser	Glu	Arg	Asn	Asn	Met	Met	Asn	Ile	Ala	Asn	Gly	Pro	His
			500					505					510		
His	Pro	Asn	Pro	Pro	Pro	Glu	Asn	Val	Gln	Leu	Val	Asn	Gln	Tyr	Val
		515				520						525			
Ser	Lys	Asn	Val	Ile	Ser	Ser	Glu	His	Ile	Val	Glu	Arg	Glu	Ala	Glu
	530					535					540				
Thr	Ser	Phe	Ser	Thr	Ser	His	Tyr	Thr	Ser	Thr	Ala	His	His	Ser	Thr
545					550					555					560
Thr	Val	Thr	Gln	Thr	Pro	Ser	His	Ser	Trp	Ser	Asn	Gly	His	Thr	Glu
				565					570					575	
Ser	Ile	Leu	Ser	Glu	Ser	His	Ser	Val	Ile	Val	Met	Ser	Ser	Val	Glu
			580				585						590		
Asn	Ser	Arg	His	Ser	Ser	Pro	Thr	Gly	Gly	Pro	Arg	Gly	Arg	Leu	Asn
		595					600					605			
Gly	Thr	Gly	Gly	Pro	Arg	Glu	Cys	Asn	Ser	Phe	Leu	Arg	His	Ala	Arg
	610					615					620				
Glu	Thr	Pro	Asp	Ser	Tyr	Arg	Asp	Ser	Pro	His	Ser	Glu	Xaa		
625					630					635					

<210> 241

<211> 855

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 241

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

Phe	Pro	Ser	Cys	Gly	Arg	Leu	Lys	Glu	Asp	Ser	Arg	Tyr	Ile	Phe	Phe
		195					200					205			
Met	Glu	Pro	Asp	Ala	Asn	Ser	Thr	Ser	Arg	Ala	Pro	Ala	Ala	Phe	Arg
	210					215					220				
Ala	Ser	Phe	Pro	Pro	Leu	Glu	Thr	Gly	Arg	Asn	Leu	Lys	Lys	Glu	Val
225					230					235					240
Ser	Arg	Val	Leu	Cys	Lys	Arg	Cys	Ala	Leu	Pro	Pro	Arg	Leu	Lys	Glu
				245					250					255	
Met	Lys	Ser	Gln	Glu	Ser	Ala	Ala	Gly	Ser	Lys	Leu	Val	Leu	Arg	Cys
			260					265					270		
Glu	Thr	Ser	Ser	Glu	Tyr	Ser	Ser	Leu	Arg	Phe	Lys	Trp	Phe	Lys	Asn
		275					280					285			
Gly	Asn	Glu	Leu	Asn	Arg	Lys	Asn	Lys	Pro	Gln	Asn	Ile	Lys	Ile	Gln
	290					295					300				
Lys	Lys	Pro	Gly	Lys	Ser	Glu	Leu	Arg	Ile	Asn	Lys	Ala	Ser	Leu	Ala
305					310					315					320
Asp	Ser	Gly	Glu	Tyr	Met	Cys	Lys	Val	Ile	Ser	Lys	Leu	Gly	Asn	Asp
				325					330					335	
Ser	Ala	Ser	Ala	Asn	Ile	Thr	Ile	Val	Glu	Ser	Asn	Glu	Ile	Ile	Thr
			340					345					350		
Gly	Met	Pro	Ala	Ser	Thr	Glu	Gly	Ala	Tyr	Val	Ser	Ser	Glu	Ser	Pro
		355					360					365			
Ile	Arg	Ile	Ser	Val	Ser	Thr	Glu	Gly	Ala	Asn	Thr	Ser	Ser	Ser	Thr
	370					375					380				
Ser	Thr	Ser	Thr	Thr	Gly	Thr	Ser	His	Leu	Val	Lys	Cys	Ala	Glu	Lys
385					390					395					400
Glu	Lys	Thr	Phe	Cys	Val	Asn	Gly	Gly	Glu	Cys	Phe	Met	Val	Lys	Asp
				405					410					415	
Leu	Ser	Asn	Pro	Ser	Arg	Tyr	Leu	Cys	Lys	Cys	Gln	Pro	Gly	Phe	Thr
			420					425					430		
Gly	Ala	Arg	Cys	Thr	Glu	Asn	Val	Pro	Met	Lys	Val	Gln	Asn	Gln	Glu
		435					440					445			
Lys	Ala	Glu	Glu	Leu	Tyr	Gln	Lys	Arg	Val	Leu	Thr	Ile	Thr	Gly	Ile
	450					455					460				
Cys	Ile	Ala	Leu	Leu	Val	Val	Gly	Ile	Met	Cys	Val	Val	Ala	Tyr	Cys
465					470					475					480
Lys	Thr	Lys	Lys	Gln	Arg	Lys	Lys	Leu	His	Asp	Arg	Leu	Arg	Gln	Ser
				485					490					495	
Leu	Arg	Ser	Glu	Arg	Asn	Asn	Met	Met	Asn	Ile	Ala	Asn	Gly	Pro	His
			500					505					510		
His	Pro	Asn	Pro	Pro	Pro	Glu	Asn	Val	Gln	Leu	Val	Asn	Gln	Tyr	Val
		515					520					525			
Ser	Lys	Asn	Val	Ile	Ser	Ser	Glu	His	Ile	Val	Glu	Arg	Glu	Ala	Glu
	530					535					540				
Thr	Ser	Phe	Ser	Thr	Ser	His	Tyr	Thr	Ser	Thr	Ala	His	His	Ser	Thr
545					550					555					560
Thr	Val	Thr	Gln	Thr	Pro	Ser	His	Ser	Trp	Ser	Asn	Gly	His	Thr	Glu
				565					570					575	
Ser	Ile	Leu	Ser	Glu	Ser	His	Ser	Val	Ile	Val	Met	Ser	Ser	Val	Glu
				580				585					590		
Asn	Ser	Arg	His	Ser	Ser	Pro	Thr	Gly	Gly	Pro	Arg	Gly	Arg	Leu	Asn
		595					600					605			
Gly	Thr	Gly	Gly	Pro	Arg	Glu	Cys	Asn	Ser	Phe	Leu	Arg	His	Ala	Arg
	610					615					620				
Glu	Thr	Pro	Asp	Ser	Tyr	Arg	Asp	Ser	Pro	His	Ser	Glu	Arg	Tyr	Val
625					630					635					640
Ser	Ala	Met	Thr	Thr	Pro	Ala	Arg	Met	Ser	Pro	Val	Asp	Phe	His	Thr
				645					650					655	
Pro	Ser	Ser	Pro	Lys	Ser	Pro	Pro	Ser	Glu	Met	Ser	Pro	Pro	Val	Ser
			660					665					670		
Ser	Met	Thr	Val	Ser	Met	Pro	Ser	Met	Ala	Val	Ser	Pro	Phe	Met	Glu
		675					680					685			
Glu	Glu	Arg	Pro	Leu	Leu	Leu	Val	Thr	Pro	Pro	Arg	Leu	Arg	Glu	Lys

690						695						700					
Lys	Phe	Asp	His	His	Pro	Gln	Gln	Phe	Ser	Ser	Phe	His	His	Asn	Pro		
705					710						715				720		
Ala	His	Asp	Ser	Asn	Ser	Leu	Pro	Ala	Ser	Pro	Leu	Arg	Ile	Val	Glu		
				725					730					735			
Asp	Glu	Glu	Tyr	Glu	Thr	Thr	Gln	Glu	Tyr	Glu	Pro	Ala	Gln	Glu	Pro		
			740					745					750				
Val	Lys	Lys	Leu	Ala	Asn	Ser	Arg	Arg	Ala	Lys	Arg	Thr	Lys	Pro	Asn		
		755					760					765					
Gly	His	Ile	Ala	Asn	Arg	Leu	Glu	Val	Asp	Ser	Asn	Thr	Ser	Ser	Gln		
	770					775					780						
Ser	Ser	Asn	Ser	Glu	Ser	Glu	Thr	Glu	Asp	Glu	Arg	Val	Gly	Glu	Asp		
785					790					795					800		
Thr	Pro	Phe	Leu	Gly	Ile	Gln	Asn	Pro	Leu	Ala	Ala	Ser	Leu	Glu	Ala		
			805						810					815			
Thr	Pro	Ala	Phe	Arg	Leu	Ala	Asp	Ser	Arg	Thr	Asn	Pro	Ala	Gly	Arg		
			820					825					830				
Phe	Ser	Thr	Gln	Glu	Glu	Ile	Gln	Ala	Arg	Leu	Ser	Ser	Val	Ile	Ala		
		835					840						845				
Asn	Gln	Asp	Pro	Ile	Ala	Val											
	850					855											

<210> 242
 <211> 902
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 242

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

Glu Thr Ser Ser Glu Tyr Ser Ser Leu Arg Phe Lys Trp Phe Lys Asn
 275 280 285
 Gly Asn Glu Leu Asn Arg Lys Asn Lys Pro Gln Asn Ile Lys Ile Gln
 290 295 300
 Lys Lys Pro Gly Lys Ser Glu Leu Arg Ile Asn Lys Ala Ser Leu Ala
 305 310 315 320
 Asp Ser Gly Glu Tyr Met Cys Lys Val Ile Ser Lys Leu Gly Asn Asp
 325 330 335
 Ser Ala Ser Ala Asn Ile Thr Ile Val Glu Ser Asn Glu Ile Ile Thr
 340 345 350
 Gly Met Pro Ala Ser Thr Glu Gly Ala Tyr Val Ser Ser Glu Ser Pro
 355 360 365
 Ile Arg Ile Ser Val Ser Thr Glu Gly Ala Asn Thr Ser Ser Ser Thr
 370 375 380
 Ser Thr Ser Thr Thr Gly Thr Ser His Leu Val Lys Cys Ala Glu Lys
 385 390 395 400
 Glu Lys Thr Phe Cys Val Asn Gly Gly Glu Cys Phe Met Val Lys Asp
 405 410 415
 Leu Ser Asn Pro Ser Arg Tyr Leu Cys Lys Cys Gln Pro Gly Phe Thr
 420 425 430
 Gly Ala Arg Cys Thr Glu Asn Val Pro Met Lys Val Gln Asn Gln Glu
 435 440 445
 Lys Ala Glu Glu Leu Tyr Gln Lys Arg Val Leu Thr Ile Thr Gly Ile
 450 455 460
 Cys Ile Ala Leu Leu Val Val Gly Ile Met Cys Val Val Ala Tyr Cys
 465 470 475 480
 Lys Thr Lys Lys Gln Arg Lys Lys Leu His Asp Arg Leu Arg Gln Ser
 485 490 495
 Leu Arg Ser Glu Arg Asn Asn Met Met Asn Ile Ala Asn Gly Pro His
 500 505 510
 His Pro Asn Pro Pro Pro Glu Asn Val Gln Leu Val Asn Gln Tyr Val
 515 520 525
 Ser Lys Asn Val Ile Ser Ser Glu His Ile Val Glu Arg Glu Ala Glu
 530 535 540
 Thr Ser Phe Ser Thr Ser His Tyr Thr Ser Thr Ala His His Ser Thr
 545 550 555 560
 Thr Val Thr Gln Thr Pro Ser His Ser Trp Ser Asn Gly His Thr Glu
 565 570 575
 Ser Ile Leu Ser Glu Ser His Ser Val Ile Val Met Ser Ser Val Glu
 580 585 590
 Asn Ser Arg His Ser Ser Pro Thr Gly Gly Pro Arg Gly Arg Leu Asn
 595 600 605
 Gly Thr Gly Gly Pro Arg Glu Cys Asn Ser Phe Leu Arg His Ala Arg
 610 615 620
 Glu Thr Pro Asp Ser Tyr Arg Asp Ser Pro His Ser Glu Arg His Asn
 625 630 635 640
 Leu Ile Ala Glu Leu Arg Arg Asn Lys Ala His Arg Ser Lys Cys Met
 645 650 655
 Gln Ile Gln Leu Ser Ala Thr His Leu Arg Ala Ser Ser Ile Pro His
 660 665 670
 Trp Ala Ser Phe Ser Lys Thr Pro Trp Pro Leu Gly Arg Tyr Val Ser
 675 680 685
 Ala Met Thr Thr Pro Ala Arg Met Ser Pro Val Asp Phe His Thr Pro
 690 695 700
 Ser Ser Pro Lys Ser Pro Pro Ser Glu Met Ser Pro Pro Val Ser Ser
 705 710 715 720
 Met Thr Val Ser Met Pro Ser Met Ala Val Ser Pro Phe Met Glu Glu
 725 730 735
 Glu Arg Pro Leu Leu Val Thr Pro Pro Arg Leu Arg Glu Lys Lys
 740 745 750
 Phe Asp His His Pro Gln Gln Phe Ser Ser Phe His His Asn Pro Ala
 755 760 765
 His Asp Ser Asn Ser Leu Pro Ala Ser Pro Leu Arg Ile Val Glu Asp

```

      770              775              780
Glu Glu Tyr Glu Thr Thr Gln Glu Tyr Glu Pro Ala Gln Glu Pro Val
785              790              795              800
Lys Lys Leu Ala Asn Ser Arg Arg Ala Lys Arg Thr Lys Pro Asn Gly
      805              810              815
His Ile Ala Asn Arg Leu Glu Val Asp Ser Asn Thr Ser Ser Gln Ser
      820              825              830
Ser Asn Ser Glu Ser Glu Thr Glu Asp Glu Arg Val Gly Glu Asp Thr
      835              840              845
Pro Phe Leu Gly Ile Gln Asn Pro Leu Ala Ala Ser Leu Glu Ala Thr
      850              855              860
Pro Ala Phe Arg Leu Ala Asp Ser Arg Thr Asn Pro Ala Gly Arg Phe
865              870              875              880
Ser Thr Gln Glu Glu Ile Gln Ala Arg Leu Ser Ser Val Ile Ala Asn
      885              890              895
Gln Asp Pro Ile Ala Val
      900

```

```

<210> 243
<211> 647
<212> PRT
<213> Homo sapiens

```

```

<220>
<221> VARIANT
<222> (647)..(647)
<223> Xaa ist Arg.

```

```

<400> 243
Met Arg Trp Arg Arg Ala Pro Arg Arg Ser Gly Arg Pro Gly Pro Arg
1      5      10
Ala Gln Arg Pro Gly Ser Ala Ala Arg Ser Ser Pro Pro Leu Pro Leu
20     25     30
Leu Pro Leu Leu Leu Leu Leu Gly Thr Ala Ala Leu Ala Pro Gly Ala
35     40     45
Ala Ala Gly Asn Glu Ala Ala Pro Ala Gly Ala Ser Val Cys Tyr Ser
50     55     60
Ser Pro Pro Ser Val Gly Ser Val Gln Glu Leu Ala Gln Arg Ala Ala
65     70     75     80
Val Val Ile Glu Gly Lys Val His Pro Gln Arg Arg Gln Gln Gly Ala
85     90     95
Leu Asp Arg Lys Ala Ala Ala Ala Ala Gly Glu Ala Gly Ala Trp Gly
100    105    110
Gly Asp Arg Glu Pro Pro Ala Ala Gly Pro Arg Ala Leu Gly Pro Pro
115    120    125
Ala Glu Glu Pro Leu Leu Ala Ala Asn Gly Thr Val Pro Ser Trp Pro
130    135    140
Thr Ala Pro Val Pro Ser Ala Gly Glu Pro Gly Glu Glu Ala Pro Tyr
145    150    155    160
Leu Val Lys Val His Gln Val Trp Ala Val Lys Ala Gly Gly Leu Lys
165    170    175
Lys Asp Ser Leu Leu Thr Val Arg Leu Gly Thr Trp Gly His Pro Ala
180    185    190
Phe Pro Ser Cys Gly Arg Leu Lys Glu Asp Ser Arg Tyr Ile Phe Phe
195    200    205
Met Glu Pro Asp Ala Asn Ser Thr Ser Arg Ala Pro Ala Ala Phe Arg
210    215    220
Ala Ser Phe Pro Pro Leu Glu Thr Gly Arg Asn Leu Lys Lys Glu Val
225    230    235    240
Ser Arg Val Leu Cys Lys Arg Cys Ala Leu Pro Pro Arg Leu Lys Glu
245    250    255
Met Lys Ser Gln Glu Ser Ala Ala Gly Ser Lys Leu Val Leu Arg Cys

```

			260						265					270			
Glu	Thr	Ser	Ser	Glu	Tyr	Ser	Ser	Leu	Arg	Phe	Lys	Trp	Phe	Lys	Asn		
		275					280					285					
Gly	Asn	Glu	Leu	Asn	Arg	Lys	Asn	Lys	Pro	Gln	Asn	Ile	Lys	Ile	Gln		
		290				295					300						
Lys	Lys	Pro	Gly	Lys	Ser	Glu	Leu	Arg	Ile	Asn	Lys	Ala	Ser	Leu	Ala		
305					310					315					320		
Asp	Ser	Gly	Glu	Tyr	Met	Cys	Lys	Val	Ile	Ser	Lys	Leu	Gly	Asn	Asp		
				325					330					335			
Ser	Ala	Ser	Ala	Asn	Ile	Thr	Ile	Val	Glu	Ser	Asn	Glu	Ile	Ile	Thr		
			340					345						350			
Gly	Met	Pro	Ala	Ser	Thr	Glu	Gly	Ala	Tyr	Val	Ser	Ser	Glu	Ser	Pro		
		355					360							365			
Ile	Arg	Ile	Ser	Val	Ser	Thr	Glu	Gly	Ala	Asn	Thr	Ser	Ser	Ser	Thr		
	370					375					380						
Ser	Thr	Ser	Thr	Thr	Gly	Thr	Ser	His	Leu	Val	Lys	Cys	Ala	Glu	Lys		
385					390					395					400		
Glu	Lys	Thr	Phe	Cys	Val	Asn	Gly	Gly	Glu	Cys	Phe	Met	Val	Lys	Asp		
				405					410					415			
Leu	Ser	Asn	Pro	Ser	Arg	Tyr	Leu	Cys	Lys	Cys	Gln	Pro	Gly	Phe	Thr		
			420					425						430			
Gly	Ala	Arg	Cys	Thr	Glu	Asn	Val	Pro	Met	Lys	Val	Gln	Asn	Gln	Glu		
		435					440						445				
Lys	His	Leu	Gly	Ile	Glu	Phe	Met	Glu	Lys	Ala	Glu	Glu	Leu	Tyr	Gln		
	450					455					460						
Lys	Arg	Val	Leu	Thr	Ile	Thr	Gly	Ile	Cys	Ile	Ala	Leu	Leu	Val	Val		
465					470					475					480		
Gly	Ile	Met	Cys	Val	Ala	Tyr	Cys	Lys	Thr	Lys	Lys	Gln	Arg	Arg	Lys		
				485				490						495			
Lys	Leu	His	Asp	Arg	Leu	Arg	Gln	Ser	Leu	Arg	Ser	Glu	Arg	Asn	Asn		
			500					505						510			
Met	Met	Asn	Ile	Ala	Asn	Gly	Pro	His	His	Pro	Asn	Pro	Pro	Pro	Glu		
		515					520					525					
Asn	Val	Gln	Leu	Val	Asn	Gln	Tyr	Val	Ser	Lys	Asn	Val	Ile	Ser	Ser		
		530				535					540						
Glu	His	Ile	Val	Glu	Arg	Glu	Ala	Glu	Thr	Ser	Phe	Ser	Thr	Ser	His		
545					550					555					560		
Tyr	Thr	Ser	Thr	Ala	His	His	Ser	Thr	Thr	Val	Thr	Gln	Thr	Pro	Ser		
				565					570					575			
His	Ser	Trp	Ser	Asn	Gly	His	Thr	Glu	Ser	Ile	Leu	Ser	Glu	Ser	His		
				580				585						590			
Ser	Val	Ile	Val	Met	Ser	Ser	Val	Glu	Asn	Ser	Arg	His	Ser	Ser	Pro		
		595					600							605			
Thr	Gly	Gly	Pro	Arg	Gly	Arg	Leu	Asn	Gly	Thr	Gly	Gly	Pro	Arg	Glu		
	610					615					620						
Cys	Asn	Ser	Phe	Leu	Arg	His	Ala	Arg	Glu	Thr	Pro	Asp	Ser	Tyr	Arg		
625					630					635					640		
Asp	Ser	Pro	His	Ser	Glu	Xaa											
				645													

<210> 244
 <211> 864
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 244
 Met Arg Trp Arg Arg Ala Pro Arg Arg Ser Gly Arg Pro Gly Pro Arg
 1 5 10 15
 Ala Gln Arg Pro Gly Ser Ala Ala Arg Ser Ser Pro Pro Leu Pro Leu
 20 25 30
 Leu Pro Leu Leu Leu Leu Leu Gly Thr Ala Ala Leu Ala Pro Gly Ala
 35 40 45

Ala Ala Gly Asn Glu Ala Ala Pro Ala Gly Ala Ser Val Cys Tyr Ser
50 55 60
Ser Pro Pro Ser Val Gly Ser Val Gln Glu Leu Ala Gln Arg Ala Ala
65 70 75 80
Val Val Ile Glu Gly Lys Val His Pro Gln Arg Arg Gln Gln Gly Ala
85 90 95
Leu Asp Arg Lys Ala Ala Ala Ala Ala Gly Glu Ala Gly Ala Trp Gly
100 105 110
Gly Asp Arg Glu Pro Pro Ala Ala Gly Pro Arg Ala Leu Gly Pro Pro
115 120 125
Ala Glu Glu Pro Leu Leu Ala Ala Asn Gly Thr Val Pro Ser Trp Pro
130 135 140
Thr Ala Pro Val Pro Ser Ala Gly Glu Pro Gly Glu Glu Ala Pro Tyr
145 150 155 160
Leu Val Lys Val His Gln Val Trp Ala Val Lys Ala Gly Gly Leu Lys
165 170 175
Lys Asp Ser Leu Leu Thr Val Arg Leu Gly Thr Trp Gly His Pro Ala
180 185 190
Phe Pro Ser Cys Gly Arg Leu Lys Glu Asp Ser Arg Tyr Ile Phe Phe
195 200 205
Met Glu Pro Asp Ala Asn Ser Thr Ser Arg Ala Pro Ala Ala Phe Arg
210 215 220
Ala Ser Phe Pro Pro Leu Glu Thr Gly Arg Asn Leu Lys Lys Glu Val
225 230 235 240
Ser Arg Val Leu Cys Lys Arg Cys Ala Leu Pro Pro Arg Leu Lys Glu
245 250 255 260
Met Lys Ser Gln Glu Ser Ala Ala Gly Ser Lys Leu Val Leu Arg Cys
260 265 270
Glu Thr Ser Ser Glu Tyr Ser Ser Leu Arg Phe Lys Trp Phe Lys Asn
275 280 285
Gly Asn Glu Leu Asn Arg Lys Asn Lys Pro Gln Asn Ile Lys Ile Gln
290 295 300
Lys Lys Pro Gly Lys Ser Glu Leu Arg Ile Asn Lys Ala Ser Leu Ala
305 310 315 320
Asp Ser Gly Glu Tyr Met Cys Lys Val Ile Ser Lys Leu Gly Asn Asp
325 330 335
Ser Ala Ser Ala Asn Ile Thr Ile Val Glu Ser Asn Glu Ile Ile Thr
340 345 350
Gly Met Pro Ala Ser Thr Glu Gly Ala Tyr Val Ser Ser Glu Ser Pro
355 360 365
Ile Arg Ile Ser Val Ser Thr Glu Gly Ala Asn Thr Ser Ser Ser Thr
370 375 380
Ser Thr Ser Thr Thr Gly Thr Ser His Leu Val Lys Cys Ala Glu Lys
385 390 395 400
Glu Lys Thr Phe Cys Val Asn Gly Gly Glu Cys Phe Met Val Lys Asp
405 410 415
Leu Ser Asn Pro Ser Arg Tyr Leu Cys Lys Cys Gln Pro Gly Phe Thr
420 425 430
Gly Ala Arg Cys Thr Glu Asn Val Pro Met Lys Val Gln Asn Gln Glu
435 440 445
Lys His Leu Gly Ile Glu Phe Met Glu Lys Ala Glu Glu Leu Tyr Gln
450 455 460
Lys Arg Val Leu Thr Ile Thr Gly Ile Cys Ile Ala Leu Leu Val Val
465 470 475 480
Gly Ile Met Cys Val Val Ala Tyr Cys Lys Thr Lys Lys Gln Arg Lys
485 490 495
Lys Leu His Asp Arg Leu Arg Gln Ser Leu Arg Ser Glu Arg Asn Asn
500 505 510
Met Met Asn Ile Ala Asn Gly Pro His His Pro Asn Pro Pro Glu
515 520 525
Asn Val Gln Leu Val Asn Gln Tyr Val Ser Lys Asn Val Ile Ser Ser
530 535 540
Glu His Ile Val Glu Arg Glu Ala Glu Thr Ser Phe Ser Thr Ser His

545 550 555 560
Tyr Thr Ser Thr Ala His His Ser Thr Thr Val Thr Gln Thr Pro Ser
565 570
His Ser Trp Ser Asn Gly His Thr Glu Ser Ile Leu Ser Glu Ser His
580 585
Ser Val Ile Val Met Ser Ser Val Glu Asn Ser Arg His Ser Ser Pro
595 600
Thr Gly Gly Pro Arg Gly Arg Leu Asn Gly Thr Gly Gly Pro Arg Glu
610 615 620
Cys Asn Ser Phe Leu Arg His Ala Arg Glu Thr Pro Asp Ser Tyr Arg
625 630 635 640
Asp Ser Pro His Ser Glu Arg Tyr Val Ser Ala Met Thr Thr Pro Ala
645 650 655
Arg Met Ser Pro Val Asp Phe His Thr Pro Ser Ser Pro Lys Ser Pro
660 665 670
Pro Ser Glu Met Ser Pro Pro Val Ser Ser Met Thr Val Ser Met Pro
675 680 685
Ser Met Ala Val Ser Pro Phe Met Glu Glu Glu Arg Pro Leu Leu Leu
690 695 700
Val Thr Pro Pro Arg Leu Arg Glu Lys Lys Phe Asp His His Pro Gln
705 710 715 720
Gln Phe Ser Ser Phe His His Asn Pro Ala His Asp Ser Asn Ser Leu
725 730 735
Pro Ala Ser Pro Leu Arg Ile Val Glu Asp Glu Glu Tyr Glu Thr Thr
740 745 750
Gln Glu Tyr Glu Pro Ala Gln Glu Pro Val Lys Lys Leu Ala Asn Ser
755 760 765
Arg Arg Ala Lys Arg Thr Lys Pro Asn Gly His Ile Ala Asn Arg Leu
770 775 780
Glu Val Asp Ser Asn Thr Ser Ser Gln Ser Ser Asn Ser Glu Ser Glu
785 790 795 800
Thr Glu Asp Glu Arg Val Gly Glu Asp Thr Pro Phe Leu Gly Ile Gln
805 810 815
Asn Pro Leu Ala Ala Ser Leu Glu Ala Thr Pro Ala Phe Arg Leu Ala
820 825 830
Asp Ser Arg Thr Asn Pro Ala Gly Arg Phe Ser Thr Gln Glu Glu Ile
835 840 845
Gln Ala Arg Leu Ser Ser Val Ile Ala Asn Gln Asp Pro Ile Ala Val
850 855 860

<210> 245
<211> 911
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 245
Met Arg Trp Arg Arg Ala Pro Arg Arg Ser Gly Arg Pro Gly Pro Arg
1 5 10 15
Ala Gln Arg Pro Gly Ser Ala Ala Arg Ser Ser Pro Pro Leu Pro Leu
20 25 30
Leu Pro Leu Leu Leu Leu Gly Thr Ala Ala Leu Ala Pro Gly Ala
35 40 45
Ala Ala Gly Asn Glu Ala Ala Pro Ala Gly Ala Ser Val Cys Tyr Ser
50 55 60
Ser Pro Pro Ser Val Gly Ser Val Gln Glu Leu Ala Gln Arg Ala Ala
65 70 75 80
Val Val Ile Glu Gly Lys Val His Pro Gln Arg Arg Gln Gln Gly Ala
85 90 95
Leu Asp Arg Lys Ala Ala Ala Ala Ala Gly Glu Ala Gly Ala Trp Gly
100 105
Gly Asp Arg Glu Pro Pro Ala Ala Gly Pro Arg Ala Leu Gly Pro Pro
115 120 125

Ala Glu Glu Pro Leu Leu Ala Ala Asn Gly Thr Val Pro Ser Trp Pro
 130 135 140
 Thr Ala Pro Val Pro Ser Ala Gly Glu Pro Gly Glu Glu Ala Pro Tyr
 145 150 155 160
 Leu Val Lys Val His Gln Val Trp Ala Val Lys Ala Gly Gly Leu Lys
 165 170 175
 Lys Asp Ser Leu Leu Thr Val Arg Leu Gly Thr Trp Gly His Pro Ala
 180 185 190
 Phe Pro Ser Cys Gly Arg Leu Lys Glu Asp Ser Arg Tyr Ile Phe Phe
 195 200 205
 Met Glu Pro Asp Ala Asn Ser Thr Ser Arg Ala Pro Ala Ala Phe Arg
 210 215 220
 Ala Ser Phe Pro Pro Leu Glu Thr Gly Arg Asn Leu Lys Lys Glu Val
 225 230 235 240
 Ser Arg Val Leu Cys Lys Arg Cys Ala Leu Pro Pro Arg Leu Lys Glu
 245 250 255
 Met Lys Ser Gln Glu Ser Ala Ala Gly Ser Lys Leu Val Leu Arg Cys
 260 265 270
 Glu Thr Ser Ser Glu Tyr Ser Ser Leu Arg Phe Lys Trp Phe Lys Asn
 275 280 285
 Gly Asn Glu Leu Asn Arg Lys Asn Lys Pro Gln Asn Ile Lys Ile Gln
 290 295 300
 Lys Lys Pro Gly Lys Ser Glu Leu Arg Ile Asn Lys Ala Ser Leu Ala
 305 310 315 320
 Asp Ser Gly Glu Tyr Met Cys Lys Val Ile Ser Lys Leu Gly Asn Asp
 325 330 335
 Ser Ala Ser Ala Asn Ile Thr Ile Val Glu Ser Asn Glu Ile Ile Thr
 340 345 350
 Gly Met Pro Ala Ser Thr Glu Gly Ala Tyr Val Ser Ser Glu Ser Pro
 355 360 365
 Ile Arg Ile Ser Val Ser Thr Glu Gly Ala Asn Thr Ser Ser Ser Thr
 370 375 380
 Ser Thr Ser Thr Thr Gly Thr Ser His Leu Val Lys Cys Ala Glu Lys
 385 390 395 400
 Glu Lys Thr Phe Cys Val Asn Gly Gly Glu Cys Phe Met Val Lys Asp
 405 410 415
 Leu Ser Asn Pro Ser Arg Tyr Leu Cys Lys Cys Gln Pro Gly Phe Thr
 420 425 430
 Gly Ala Arg Cys Thr Glu Asn Val Pro Met Lys Val Gln Asn Gln Glu
 435 440 445
 Lys His Leu Gly Ile Glu Phe Met Glu Lys Ala Glu Glu Leu Tyr Gln
 450 455 460
 Lys Arg Val Leu Thr Ile Thr Gly Ile Cys Ile Ala Leu Leu Val Val
 465 470 475 480
 Gly Ile Met Cys Val Val Ala Tyr Cys Lys Thr Lys Lys Gln Arg Lys
 485 490 495
 Lys Leu His Asp Arg Leu Arg Gln Ser Leu Arg Ser Glu Arg Asn Asn
 500 505 510
 Met Met Asn Ile Ala Asn Gly Pro His His Pro Asn Pro Pro Pro Glu
 515 520 525
 Asn Val Gln Leu Val Asn Gln Tyr Val Ser Lys Asn Val Ile Ser Ser
 530 535 540
 Glu His Ile Val Glu Arg Glu Ala Glu Thr Ser Phe Ser Thr Ser His
 545 550 555 560
 Tyr Thr Ser Thr Ala His His Ser Thr Thr Val Thr Gln Thr Pro Ser
 565 570 575
 His Ser Trp Ser Asn Gly His Thr Glu Ser Ile Leu Ser Glu Ser His
 580 585 590
 Ser Val Ile Val Met Ser Ser Val Glu Asn Ser Arg His Ser Ser Pro
 595 600 605
 Thr Gly Gly Pro Arg Gly Arg Leu Asn Gly Thr Gly Gly Pro Arg Glu
 610 615 620
 Cys Asn Ser Phe Leu Arg His Ala Arg Glu Thr Pro Asp Ser Tyr Arg

625					630					635				640
Asp	Ser	Pro	His	Ser	Glu	Arg	His	Asn	Leu	Ile	Ala	Glu	Leu	Arg
				645					650					655
Asn	Lys	Ala	His	Arg	Ser	Lys	Cys	Met	Gln	Ile	Gln	Leu	Ser	Ala
			660					665					670	
His	Leu	Arg	Ala	Ser	Ser	Ile	Pro	His	Trp	Ala	Ser	Phe	Ser	Lys
		675					680					685		Thr
Pro	Trp	Pro	Leu	Gly	Arg	Tyr	Val	Ser	Ala	Met	Thr	Thr	Pro	Ala
	690					695					700			Arg
Met	Ser	Pro	Val	Asp	Phe	His	Thr	Pro	Ser	Ser	Pro	Lys	Ser	Pro
705				710						715				720
Ser	Glu	Met	Ser	Pro	Pro	Val	Ser	Ser	Met	Thr	Val	Ser	Met	Pro
				725					730					735
Met	Ala	Val	Ser	Pro	Phe	Met	Glu	Glu	Glu	Arg	Pro	Leu	Leu	Val
			740					745					750	
Thr	Pro	Pro	Arg	Leu	Arg	Glu	Lys	Lys	Phe	Asp	His	His	Pro	Gln
		755					760					765		Gln
Phe	Ser	Ser	Phe	His	His	Asn	Pro	Ala	His	Asp	Ser	Asn	Ser	Leu
	770					775					780			Pro
Ala	Ser	Pro	Leu	Arg	Ile	Val	Glu	Asp	Glu	Glu	Tyr	Glu	Thr	Thr
785					790					795				800
Glu	Tyr	Glu	Pro	Ala	Gln	Glu	Pro	Val	Lys	Lys	Leu	Ala	Asn	Ser
			805						810					815
Arg	Ala	Lys	Arg	Thr	Lys	Pro	Asn	Gly	His	Ile	Ala	Asn	Arg	Leu
			820					825					830	Glu
Val	Asp	Ser	Asn	Thr	Ser	Ser	Gln	Ser	Ser	Asn	Ser	Glu	Ser	Glu
	835						840					845		Thr
Glu	Asp	Glu	Arg	Val	Gly	Glu	Asp	Thr	Pro	Phe	Leu	Gly	Ile	Gln
	850					855					860			Asn
Pro	Leu	Ala	Ala	Ser	Leu	Glu	Ala	Thr	Pro	Ala	Phe	Arg	Leu	Ala
865					870					875				880
Ser	Arg	Thr	Asn	Pro	Ala	Gly	Arg	Phe	Ser	Thr	Gln	Glu	Glu	Ile
			885						890					895
Ala	Arg	Leu	Ser	Ser	Val	Ile	Ala	Asn	Gln	Asp	Pro	Ile	Ala	Val
			900					905					910	

<210> 246
 <211> 456
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 246

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

Leu Val Lys Val His Gln Val Trp Ala Val Lys Ala Gly Gly Leu Lys
 165 170 175
 Lys Asp Ser Leu Leu Thr Val Arg Leu Gly Thr Trp Gly His Pro Ala
 180 185 190
 Phe Pro Ser Cys Gly Arg Leu Lys Glu Asp Ser Arg Tyr Ile Phe Phe
 195 200 205
 Met Glu Pro Asp Ala Asn Ser Thr Ser Arg Ala Pro Ala Ala Phe Arg
 210 215 220
 Ala Ser Phe Pro Pro Leu Glu Thr Gly Arg Asn Leu Lys Lys Glu Val
 225 230 235 240
 Ser Arg Val Leu Cys Lys Arg Cys Ala Leu Pro Pro Arg Leu Lys Glu
 245 250 255
 Met Lys Ser Gln Glu Ser Ala Ala Gly Ser Lys Leu Val Leu Arg Cys
 260 265 270
 Glu Thr Ser Ser Glu Tyr Ser Ser Leu Arg Phe Lys Trp Phe Lys Asn
 275 280 285
 Gly Asn Glu Leu Asn Arg Lys Asn Lys Pro Gln Asn Ile Lys Ile Gln
 290 295 300
 Lys Lys Pro Gly Lys Ser Glu Leu Arg Ile Asn Lys Ala Ser Leu Ala
 305 310 315 320
 Asp Ser Gly Glu Tyr Met Cys Lys Val Ile Ser Lys Leu Gly Asn Asp
 325 330 335
 Ser Ala Ser Ala Asn Ile Thr Ile Val Glu Ser Asn Glu Ile Ile Thr
 340 345 350
 Gly Met Pro Ala Ser Thr Glu Gly Ala Tyr Val Ser Ser Glu Ser Pro
 355 360 365
 Ile Arg Ile Ser Val Ser Thr Glu Gly Ala Asn Thr Ser Ser Ser Thr
 370 375 380
 Ser Thr Ser Thr Thr Gly Thr Ser His Leu Val Lys Cys Ala Glu Lys
 385 390 395 400
 Glu Lys Thr Phe Cys Val Asn Gly Gly Glu Cys Phe Met Val Lys Asp
 405 410 415
 Leu Ser Asn Pro Ser Arg Tyr Leu Cys Lys Cys Pro Asn Glu Phe Thr
 420 425 430
 Gly Asp Arg Cys Gln Asn Tyr Val Met Ala Ser Phe Tyr Ser Thr Ser
 435 440 445
 Thr Pro Phe Leu Ser Leu Pro Glu
 450 455

<210> 247
 <211> 635
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<220>
 <221> VARIANT
 <222> (635)...(635)
 <223> Xaa is Arg.

<400> 247
 Met Arg Trp Arg Arg Ala Pro Arg Arg Ser Gly Arg Pro Gly Pro Arg
 1 5 10 15
 Ala Gln Arg Pro Gly Ser Ala Ala Arg Ser Ser Pro Pro Leu Pro Leu
 20 25 30
 Leu Pro Leu Leu Leu Leu Leu Gly Thr Ala Ala Leu Ala Pro Gly Ala
 35 40 45
 Ala Ala Gly Asn Glu Ala Ala Pro Ala Gly Ala Ser Val Cys Tyr Ser
 50 55 60
 Ser Pro Pro Ser Val Gly Ser Val Gln Glu Leu Ala Gln Arg Ala Ala
 65 70 75 80
 Val Val Ile Glu Gly Lys Val His Pro Gln Arg Arg Gln Gln Gly Ala
 85 90 95

Leu Asp Arg Lys Ala Ala Ala Ala Ala Gly Glu Ala Gly Ala Trp Gly
 100 105 110
 Gly Asp Arg Glu Pro Pro Ala Ala Gly Pro Arg Ala Leu Gly Pro Pro
 115 120 125
 Ala Glu Glu Pro Leu Leu Ala Ala Asn Gly Thr Val Pro Ser Trp Pro
 130 135 140
 Thr Ala Pro Val Pro Ser Ala Gly Glu Pro Gly Glu Glu Ala Pro Tyr
 145 150 155 160
 Leu Val Lys Val His Gln Val Trp Ala Val Lys Ala Gly Gly Leu Lys
 165 170 175
 Lys Asp Ser Leu Leu Thr Val Arg Leu Gly Thr Trp Gly His Pro Ala
 180 185 190
 Phe Pro Ser Cys Gly Arg Leu Lys Glu Asp Ser Arg Tyr Ile Phe Phe
 195 200 205
 Met Glu Pro Asp Ala Asn Ser Thr Ser Arg Ala Pro Ala Ala Phe Arg
 210 215 220
 Ala Ser Phe Pro Pro Leu Glu Thr Gly Arg Asn Leu Lys Lys Glu Val
 225 230 235 240
 Ser Arg Val Leu Cys Lys Arg Cys Ala Leu Pro Pro Arg Leu Lys Glu
 245 250 255
 Met Lys Ser Gln Glu Ser Ala Ala Gly Ser Lys Leu Val Leu Arg Cys
 260 265 270
 Glu Thr Ser Ser Glu Tyr Ser Ser Leu Arg Phe Lys Trp Phe Lys Asn
 275 280 285
 Gly Asn Glu Leu Asn Arg Lys Asn Lys Pro Gln Asn Ile Lys Ile Gln
 290 295 300
 Lys Lys Pro Gly Lys Ser Glu Leu Arg Ile Asn Lys Ala Ser Leu Ala
 305 310 315 320
 Asp Ser Gly Glu Tyr Met Cys Lys Val Ile Ser Lys Leu Gly Asn Asp
 325 330 335
 Ser Ala Ser Ala Asn Ile Thr Ile Val Glu Ser Asn Glu Ile Ile Thr
 340 345 350
 Gly Met Pro Ala Ser Thr Glu Gly Ala Tyr Val Ser Ser Glu Ser Pro
 355 360 365
 Ile Arg Ile Ser Val Ser Thr Glu Gly Ala Asn Thr Ser Ser Ser Thr
 370 375 380
 Ser Thr Ser Thr Thr Gly Thr Ser His Leu Val Lys Cys Ala Glu Lys
 385 390 395 400
 Glu Lys Thr Phe Cys Val Asn Gly Gly Glu Cys Phe Met Val Lys Asp
 405 410 415
 Leu Ser Asn Pro Ser Arg Tyr Leu Cys Lys Cys Pro Asn Glu Phe Thr
 420 425 430
 Gly Asp Arg Cys Gln Asn Tyr Val Met Ala Ser Phe Tyr Lys Ala Glu
 435 440 445
 Glu Leu Tyr Gln Lys Arg Val Leu Thr Ile Thr Gly Ile Cys Ile Ala
 450 455 460
 Leu Leu Val Val Gly Ile Met Cys Val Val Ala Tyr Cys Lys Thr Lys
 465 470 475 480
 Lys Gln Arg Lys Lys Leu His Asp Arg Leu Arg Gln Ser Leu Arg Ser
 485 490 495
 Glu Arg Asn Asn Met Met Asn Ile Ala Asn Gly Pro His His Pro Asn
 500 505 510
 Pro Pro Pro Glu Asn Val Gln Leu Val Asn Gln Tyr Val Ser Lys Asn
 515 520 525
 Val Ile Ser Ser Glu His Ile Val Glu Arg Glu Ala Glu Thr Ser Phe
 530 535 540
 Ser Thr Ser His Tyr Thr Ser Thr Ala His His Ser Thr Thr Val Thr
 545 550 555 560
 Gln Thr Pro Ser His Ser Trp Ser Asn Gly His Thr Glu Ser Ile Leu
 565 570 575
 Ser Glu Ser His Ser Val Ile Val Met Ser Ser Val Glu Asn Ser Arg
 580 585 590
 His Ser Ser Pro Thr Gly Gly Pro Arg Gly Arg Leu Asn Gly Thr Gly

	595					600						605			
Gly	Pro	Arg	Glu	Cys	Asn	Ser	Phe	Leu	Arg	His	Ala	Arg	Glu	Thr	Pro
	610					615					620				
Asp	Ser	Tyr	Arg	Asp	Ser	Pro	His	Ser	Glu	Xaa					
625					630					635					

<210> 248
 <211> 852
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 248

Met	Arg	Trp	Arg	Arg	Ala	Pro	Arg	Arg	Ser	Gly	Arg	Pro	Gly	Pro	Arg
1				5					10					15	
Ala	Gln	Arg	Pro	Gly	Ser	Ala	Ala	Arg	Ser	Ser	Pro	Pro	Leu	Pro	Leu
			20					25					30		
Leu	Pro	Leu	Leu	Leu	Leu	Leu	Gly	Thr	Ala	Ala	Leu	Ala	Pro	Gly	Ala
		35					40					45			
Ala	Ala	Gly	Asn	Glu	Ala	Ala	Pro	Ala	Gly	Ala	Ser	Val	Cys	Tyr	Ser
	50					55					60				
Ser	Pro	Pro	Ser	Val	Gly	Ser	Val	Gln	Glu	Leu	Ala	Gln	Arg	Ala	Ala
65					70					75					80
Val	Val	Ile	Glu	Gly	Lys	Val	His	Pro	Gln	Arg	Arg	Gln	Gln	Gly	Ala
				85					90					95	
Leu	Asp	Arg	Lys	Ala	Ala	Ala	Ala	Ala	Gly	Glu	Ala	Gly	Ala	Trp	Gly
			100					105					110		
Gly	Asp	Arg	Glu	Pro	Pro	Ala	Ala	Gly	Pro	Arg	Ala	Leu	Gly	Pro	Pro
			115				120					125			
Ala	Glu	Glu	Pro	Leu	Leu	Ala	Ala	Asn	Gly	Thr	Val	Pro	Ser	Trp	Pro
	130					135					140				
Thr	Ala	Pro	Val	Pro	Ser	Ala	Gly	Glu	Pro	Gly	Glu	Glu	Ala	Pro	Tyr
145					150					155					160
Leu	Val	Lys	Val	His	Gln	Val	Trp	Ala	Val	Lys	Ala	Gly	Gly	Leu	Lys
				165					170					175	
Lys	Asp	Ser	Leu	Thr	Val	Arg	Leu	Gly	Thr	Trp	Gly	His	Pro	Ala	
			180					185				190			
Phe	Pro	Ser	Cys	Gly	Arg	Leu	Lys	Glu	Asp	Ser	Arg	Tyr	Ile	Phe	Phe
			195				200					205			
Met	Glu	Pro	Asp	Ala	Asn	Ser	Thr	Ser	Arg	Ala	Pro	Ala	Ala	Phe	Arg
	210				215						220				
Ala	Ser	Phe	Pro	Pro	Leu	Glu	Thr	Gly	Arg	Asn	Leu	Lys	Lys	Glu	Val
225					230					235					240
Ser	Arg	Val	Leu	Cys	Lys	Arg	Cys	Ala	Leu	Pro	Pro	Arg	Leu	Lys	Glu
				245					250					255	
Met	Lys	Ser	Gln	Glu	Ser	Ala	Ala	Gly	Ser	Lys	Leu	Val	Leu	Arg	Cys
			260					265					270		
Glu	Thr	Ser	Ser	Glu	Tyr	Ser	Ser	Leu	Arg	Phe	Lys	Trp	Phe	Lys	Asn
		275					280					285			
Gly	Asn	Glu	Leu	Asn	Arg	Lys	Asn	Lys	Pro	Gln	Asn	Ile	Lys	Ile	Gln
	290					295					300				
Lys	Lys	Pro	Gly	Lys	Ser	Glu	Leu	Arg	Ile	Asn	Lys	Ala	Ser	Leu	Ala
305					310					315					320
Asp	Ser	Gly	Glu	Tyr	Met	Cys	Lys	Val	Ile	Ser	Lys	Leu	Gly	Asn	Asp
				325					330					335	
Ser	Ala	Ser	Ala	Asn	Ile	Thr	Ile	Val	Glu	Ser	Asn	Glu	Ile	Ile	Thr
			340					345					350		
Gly	Met	Pro	Ala	Ser	Thr	Glu	Gly	Ala	Tyr	Val	Ser	Ser	Glu	Ser	Pro
		355					360					365			
Ile	Arg	Ile	Ser	Val	Ser	Thr	Glu	Gly	Ala	Asn	Thr	Ser	Ser	Ser	Thr
	370					375					380				
Ser	Thr	Ser	Thr	Thr	Gly	Thr	Ser	His	Leu	Val	Lys	Cys	Ala	Glu	Lys
385					390					395					400

Glu Lys Thr Phe Cys Val Asn Gly Gly Glu Cys Phe Met Val Lys Asp
 405 410 415
 Leu Ser Asn Pro Ser Arg Tyr Leu Cys Lys Cys Pro Asn Glu Phe Thr
 420 425 430
 Gly Asp Arg Cys Gln Asn Tyr Val Met Ala Ser Phe Tyr Lys Ala Glu
 435 440 445
 Glu Leu Tyr Gln Lys Arg Val Leu Thr Ile Thr Gly Ile Cys Ile Ala
 450 455 460
 Leu Leu Val Val Gly Ile Met Cys Val Val Ala Tyr Cys Lys Thr Lys
 465 470 475 480
 Lys Gln Arg Lys Lys Leu His Asp Arg Leu Arg Gln Ser Leu Arg Ser
 485 490 495
 Glu Arg Asn Asn Met Met Asn Ile Ala Asn Gly Pro His His Pro Asn
 500 505 510
 Pro Pro Pro Glu Asn Val Gln Leu Val Asn Gln Tyr Val Ser Lys Asn
 515 520 525
 Val Ile Ser Ser Glu His Ile Val Glu Arg Glu Ala Glu Thr Ser Phe
 530 535 540
 Ser Thr Ser His Tyr Thr Ser Thr Ala His His Ser Thr Thr Val Thr
 545 550 555 560
 Gln Thr Pro Ser His Ser Trp Ser Asn Gly His Thr Glu Ser Ile Leu
 565 570 575
 Ser Glu Ser His Ser Val Ile Val Met Ser Ser Val Glu Asn Ser Arg
 580 585 590
 His Ser Ser Pro Thr Gly Gly Pro Arg Gly Arg Leu Asn Gly Thr Gly
 595 600 605
 Gly Pro Arg Glu Cys Asn Ser Phe Leu Arg His Ala Arg Glu Thr Pro
 610 615 620
 Asp Ser Tyr Arg Asp Ser Pro His Ser Glu Arg Tyr Val Ser Ala Met
 625 630 635 640
 Thr Thr Pro Ala Arg Met Ser Pro Val Asp Phe His Thr Pro Ser Ser
 645 650 655
 Pro Lys Ser Pro Pro Ser Glu Met Ser Pro Pro Val Ser Ser Met Thr
 660 665 670
 Val Ser Met Pro Ser Met Ala Val Ser Pro Phe Met Glu Glu Glu Arg
 675 680 685
 Pro Leu Leu Leu Val Thr Pro Pro Arg Leu Arg Glu Lys Lys Phe Asp
 690 695 700
 His His Pro Gln Gln Phe Ser Ser Phe His His Asn Pro Ala His Asp
 705 710 715 720
 Ser Asn Ser Leu Pro Ala Ser Pro Leu Arg Ile Val Glu Asp Glu Glu
 725 730 735
 Tyr Glu Thr Thr Gln Glu Tyr Glu Pro Ala Gln Glu Pro Val Lys Lys
 740 745 750
 Leu Ala Asn Ser Arg Arg Ala Lys Arg Thr Lys Pro Asn Gly His Ile
 755 760 765
 Ala Asn Arg Leu Glu Val Asp Ser Asn Thr Ser Ser Gln Ser Ser Asn
 770 775 780
 Ser Glu Ser Glu Thr Glu Asp Glu Arg Val Gly Glu Asp Thr Pro Phe
 785 790 795 800
 Leu Gly Ile Gln Asn Pro Leu Ala Ala Ser Leu Glu Ala Thr Pro Ala
 805 810 815
 Phe Arg Leu Ala Asp Ser Arg Thr Asn Pro Ala Gly Arg Phe Ser Thr
 820 825 830
 Gln Glu Glu Ile Gln Ala Arg Leu Ser Ser Val Ile Ala Asn Gln Asp
 835 840 845
 Pro Ile Ala Val
 850

<210> 249
 <211> 899
 <212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 249

Met Arg Trp Arg Arg Ala Pro Arg Arg Ser Gly Arg Pro Gly Pro Arg
 1 5 10 15
 Ala Gln Arg Pro Gly Ser Ala Ala Arg Ser Ser Pro Pro Leu Pro Leu
 20 25 30
 Leu Pro Leu Leu Leu Leu Leu Gly Thr Ala Ala Leu Ala Pro Gly Ala
 35 40 45
 Ala Ala Gly Asn Glu Ala Ala Pro Ala Gly Ala Ser Val Cys Tyr Ser
 50 55 60
 Ser Pro Pro Ser Val Gly Ser Val Gln Glu Leu Ala Gln Arg Ala Ala
 65 70 75 80
 Val Val Ile Glu Gly Lys Val His Pro Gln Arg Arg Gln Gln Gly Ala
 85 90 95
 Leu Asp Arg Lys Ala Ala Ala Ala Ala Gly Glu Ala Gly Ala Trp Gly
 100 105 110
 Gly Asp Arg Glu Pro Pro Ala Ala Gly Pro Arg Ala Leu Gly Pro Pro
 115 120 125
 Ala Glu Glu Pro Leu Leu Ala Ala Asn Gly Thr Val Pro Ser Trp Pro
 130 135 140
 Thr Ala Pro Val Pro Ser Ala Gly Glu Pro Gly Glu Glu Ala Pro Tyr
 145 150 155 160
 Leu Val Lys Val His Gln Val Trp Ala Val Lys Ala Gly Gly Leu Lys
 165 170 175
 Lys Asp Ser Leu Leu Thr Val Arg Leu Gly Thr Trp Gly His Pro Ala
 180 185 190
 Phe Pro Ser Cys Gly Arg Leu Lys Glu Asp Ser Arg Tyr Ile Phe Phe
 195 200 205
 Met Glu Pro Asp Ala Asn Ser Thr Ser Arg Ala Pro Ala Ala Phe Arg
 210 215 220
 Ala Ser Phe Pro Pro Leu Glu Thr Gly Arg Asn Leu Lys Lys Glu Val
 225 230 235 240
 Ser Arg Val Leu Cys Lys Arg Cys Ala Leu Pro Pro Arg Leu Lys Glu
 245 250 255
 Met Lys Ser Gln Glu Ser Ala Ala Gly Ser Lys Leu Val Leu Arg Cys
 260 265 270
 Glu Thr Ser Ser Glu Tyr Ser Ser Leu Arg Phe Lys Trp Phe Lys Asn
 275 280 285
 Gly Asn Glu Leu Asn Arg Lys Asn Lys Pro Gln Asn Ile Lys Ile Gln
 290 295 300
 Lys Lys Pro Gly Lys Ser Glu Leu Arg Ile Asn Lys Ala Ser Leu Ala
 305 310 315 320
 Asp Ser Gly Glu Tyr Met Cys Lys Val Ile Ser Lys Leu Gly Asn Asp
 325 330 335
 Ser Ala Ser Ala Asn Ile Thr Ile Val Glu Ser Asn Glu Ile Ile Thr
 340 345 350
 Gly Met Pro Ala Ser Thr Glu Gly Ala Tyr Val Ser Ser Glu Ser Pro
 355 360 365
 Ile Arg Ile Ser Val Ser Thr Glu Gly Ala Asn Thr Ser Ser Ser Thr
 370 375 380
 Ser Thr Ser Thr Thr Gly Thr Ser His Leu Val Lys Cys Ala Glu Lys
 385 390 395 400
 Glu Lys Thr Phe Cys Val Asn Gly Gly Glu Cys Phe Met Val Lys Asp
 405 410 415
 Leu Ser Asn Pro Ser Arg Tyr Leu Cys Lys Cys Pro Asn Glu Phe Thr
 420 425 430
 Gly Asp Arg Cys Gln Asn Tyr Val Met Ala Ser Phe Tyr Lys Ala Glu
 435 440 445
 Glu Leu Tyr Gln Lys Arg Val Leu Thr Ile Thr Gly Ile Cys Ile Ala
 450 455 460
 Leu Leu Val Val Gly Ile Met Cys Val Val Ala Tyr Cys Lys Thr Lys
 465 470 475 480

Lys Gln Arg Lys Lys Leu His Asp Arg Leu Arg Gln Ser Leu Arg Ser
 485 490 495
 Glu Arg Asn Asn Met Met Asn Ile Ala Asn Gly Pro His His Pro Asn
 500 505 510
 Pro Pro Pro Glu Asn Val Gln Leu Val Asn Gln Tyr Val Ser Lys Asn
 515 520 525
 Val Ile Ser Ser Glu His Ile Val Glu Arg Glu Ala Glu Thr Ser Phe
 530 535 540
 Ser Thr Ser His Tyr Thr Ser Thr Ala His His Ser Thr Thr Val Thr
 545 550 555 560
 Gln Thr Pro Ser His Ser Trp Ser Asn Gly His Thr Glu Ser Ile Leu
 565 570 575
 Ser Glu Ser His Ser Val Ile Val Met Ser Ser Val Glu Asn Ser Arg
 580 585 590
 His Ser Ser Pro Thr Gly Gly Pro Arg Gly Arg Leu Asn Gly Thr Gly
 595 600 605
 Gly Pro Arg Glu Cys Asn Ser Phe Leu Arg His Ala Arg Glu Thr Pro
 610 615 620
 Asp Ser Tyr Arg Asp Ser Pro His Ser Glu Arg His Asn Leu Ile Ala
 625 630 635 640
 Glu Leu Arg Arg Asn Lys Ala His Arg Ser Lys Cys Met Gln Ile Gln
 645 650 655
 Leu Ser Ala Thr His Leu Arg Ala Ser Ser Ile Pro His Trp Ala Ser
 660 665 670
 Phe Ser Lys Thr Pro Trp Pro Leu Gly Arg Tyr Val Ser Ala Met Thr
 675 680 685
 Thr Pro Ala Arg Met Ser Pro Val Asp Phe His Thr Pro Ser Ser Pro
 690 695 700
 Lys Ser Pro Pro Ser Glu Met Ser Pro Pro Val Ser Ser Met Thr Val
 705 710 715 720
 Ser Met Pro Ser Met Ala Val Ser Pro Phe Met Glu Glu Glu Arg Pro
 725 730 735
 Leu Leu Leu Val Thr Pro Pro Arg Leu Arg Glu Lys Lys Phe Asp His
 740 745 750
 His Pro Gln Gln Phe Ser Ser Phe His His Asn Pro Ala His Asp Ser
 755 760 765
 Asn Ser Leu Pro Ala Ser Pro Leu Arg Ile Val Glu Asp Glu Glu Tyr
 770 775 780
 Glu Thr Thr Gln Glu Tyr Glu Pro Ala Gln Glu Pro Val Lys Lys Leu
 785 790 795 800
 Ala Asn Ser Arg Arg Ala Lys Arg Thr Lys Pro Asn Gly His Ile Ala
 805 810 815
 Asn Arg Leu Glu Val Asp Ser Asn Thr Ser Ser Gln Ser Ser Asn Ser
 820 825 830
 Glu Ser Glu Thr Glu Asp Glu Arg Val Gly Glu Asp Thr Pro Phe Leu
 835 840 845
 Gly Ile Gln Asn Pro Leu Ala Ala Ser Leu Glu Ala Thr Pro Ala Phe
 850 855 860
 Arg Leu Ala Asp Ser Arg Thr Asn Pro Ala Gly Arg Phe Ser Thr Gln
 865 870 875 880
 Glu Glu Ile Gln Ala Arg Leu Ser Ser Val Ile Ala Asn Gln Asp Pro
 885 890 895
 Ile Ala Val

<210> 250
 <211> 644
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<220>
 <221> VARIANT

<222> (644)...(644)

<223> Xaa ist Arg.

<400> 250

Met Arg Trp Arg Arg Ala Pro Arg Arg Ser Gly Arg Pro Gly Pro Arg
 1 5 10 15
 Ala Gln Arg Pro Gly Ser Ala Ala Arg Ser Ser Pro Pro Leu Pro Leu
 20 25 30
 Leu Pro Leu Leu Leu Leu Leu Gly Thr Ala Ala Leu Ala Pro Gly Ala
 35 40 45
 Ala Ala Gly Asn Glu Ala Ala Pro Ala Gly Ala Ser Val Cys Tyr Ser
 50 55 60
 Ser Pro Pro Ser Val Gly Ser Val Gln Glu Leu Ala Gln Arg Ala Ala
 65 70 75 80
 Val Val Ile Glu Gly Lys Val His Pro Gln Arg Arg Gln Gln Gly Ala
 85 90 95
 Leu Asp Arg Lys Ala Ala Ala Ala Ala Gly Glu Ala Gly Ala Trp Gly
 100 105 110
 Gly Asp Arg Glu Pro Pro Ala Ala Gly Pro Arg Ala Leu Gly Pro Pro
 115 120 125
 Ala Glu Glu Pro Leu Leu Ala Ala Asn Gly Thr Val Pro Ser Trp Pro
 130 135 140
 Thr Ala Pro Val Pro Ser Ala Gly Glu Pro Gly Glu Glu Ala Pro Tyr
 145 150 155 160
 Leu Val Lys Val His Gln Val Trp Ala Val Lys Ala Gly Gly Leu Lys
 165 170 175
 Lys Asp Ser Leu Leu Thr Val Arg Leu Gly Thr Trp Gly His Pro Ala
 180 185 190
 Phe Pro Ser Cys Gly Arg Leu Lys Glu Asp Ser Arg Tyr Ile Phe Phe
 195 200 205
 Met Glu Pro Asp Ala Asn Ser Thr Ser Arg Ala Pro Ala Ala Phe Arg
 210 215 220
 Ala Ser Phe Pro Pro Leu Glu Thr Gly Arg Asn Leu Lys Lys Glu Val
 225 230 235 240
 Ser Arg Val Leu Cys Lys Arg Cys Ala Leu Pro Pro Arg Leu Lys Glu
 245 250 255
 Met Lys Ser Gln Glu Ser Ala Ala Gly Ser Lys Leu Val Leu Arg Cys
 260 265 270
 Glu Thr Ser Ser Glu Tyr Ser Ser Leu Arg Phe Lys Trp Phe Lys Asn
 275 280 285
 Gly Asn Glu Leu Asn Arg Lys Asn Lys Pro Gln Asn Ile Lys Ile Gln
 290 295 300
 Lys Lys Pro Gly Lys Ser Glu Leu Arg Ile Asn Lys Ala Ser Leu Ala
 305 310 315 320
 Asp Ser Gly Glu Tyr Met Cys Lys Val Ile Ser Lys Leu Gly Asn Asp
 325 330 335
 Ser Ala Ser Ala Asn Ile Thr Ile Val Glu Ser Asn Glu Ile Ile Thr
 340 345 350
 Gly Met Pro Ala Ser Thr Glu Gly Ala Tyr Val Ser Ser Glu Ser Pro
 355 360 365
 Ile Arg Ile Ser Val Ser Thr Glu Gly Ala Asn Thr Ser Ser Ser Thr
 370 375 380
 Ser Thr Ser Thr Thr Gly Thr Ser His Leu Val Lys Cys Ala Glu Lys
 385 390 395 400
 Glu Lys Thr Phe Cys Val Asn Gly Gly Glu Cys Phe Met Val Lys Asp
 405 410 415
 Leu Ser Asn Pro Ser Arg Tyr Leu Cys Lys Cys Pro Asn Glu Phe Thr
 420 425 430
 Gly Asp Arg Cys Gln Asn Tyr Val Met Ala Ser Phe Tyr Lys His Leu
 435 440 445
 Gly Ile Glu Phe Met Glu Lys Ala Glu Glu Leu Tyr Gln Lys Arg Val
 450 455 460
 Leu Thr Ile Thr Gly Ile Cys Ile Ala Leu Leu Val Val Gly Ile Met

465					470					475				480	
Cys	Val	Val	Ala	Tyr	Cys	Lys	Thr	Lys	Lys	Gln	Arg	Lys	Lys	Leu	His
				485					490					495	
Asp	Arg	Leu	Arg	Gln	Ser	Leu	Arg	Ser	Glu	Arg	Asn	Asn	Met	Met	Asn
			500					505					510		
Ile	Ala	Asn	Gly	Pro	His	His	Pro	Asn	Pro	Pro	Pro	Glu	Asn	Val	Gln
		515					520					525			
Leu	Val	Asn	Gln	Tyr	Val	Ser	Lys	Asn	Val	Ile	Ser	Ser	Glu	His	Ile
	530					535					540				
Val	Glu	Arg	Glu	Ala	Glu	Thr	Ser	Phe	Ser	Thr	Ser	His	Tyr	Thr	Ser
545					550					555					560
Thr	Ala	His	His	Ser	Thr	Thr	Val	Thr	Gln	Thr	Pro	Ser	His	Ser	Trp
				565					570					575	
Ser	Asn	Gly	His	Thr	Glu	Ser	Ile	Leu	Ser	Glu	Ser	His	Ser	Val	Ile
			580					585					590		
Val	Met	Ser	Ser	Val	Glu	Asn	Ser	Arg	His	Ser	Ser	Pro	Thr	Gly	Gly
		595				600						605			
Pro	Arg	Gly	Arg	Leu	Asn	Gly	Thr	Gly	Gly	Pro	Arg	Glu	Cys	Asn	Ser
	610					615					620				
Phe	Leu	Arg	His	Ala	Arg	Glu	Thr	Pro	Asp	Ser	Tyr	Arg	Asp	Ser	Pro
625					630					635					640
His	Ser	Glu	Xaa												

<210> 251
 <211> 861
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 251

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

Met Lys Ser Gln Glu Ser Ala Ala Gly Ser Lys Leu Val Leu Arg Cys
 260 265 270
 Glu Thr Ser Ser Glu Tyr Ser Ser Leu Arg Phe Lys Trp Phe Lys Asn
 275 280 285
 Gly Asn Glu Leu Asn Arg Lys Asn Lys Pro Gln Asn Ile Lys Ile Gln
 290 295 300
 Lys Lys Pro Gly Lys Ser Glu Leu Arg Ile Asn Lys Ala Ser Leu Ala
 305 310 315 320
 Asp Ser Gly Glu Tyr Met Cys Lys Val Ile Ser Lys Leu Gly Asn Asp
 325 330 335
 Ser Ala Ser Ala Asn Ile Thr Ile Val Glu Ser Asn Glu Ile Ile Thr
 340 345 350
 Gly Met Pro Ala Ser Thr Glu Gly Ala Tyr Val Ser Ser Glu Ser Pro
 355 360 365
 Ile Arg Ile Ser Val Ser Thr Glu Gly Ala Asn Thr Ser Ser Ser Thr
 370 375 380
 Ser Thr Ser Thr Thr Gly Thr Ser His Leu Val Lys Cys Ala Glu Lys
 385 390 395 400
 Glu Lys Thr Phe Cys Val Asn Gly Gly Glu Cys Phe Met Val Lys Asp
 405 410 415
 Leu Ser Asn Pro Ser Arg Tyr Leu Cys Lys Cys Pro Asn Glu Phe Thr
 420 425 430
 Gly Asp Arg Cys Gln Asn Tyr Val Met Ala Ser Phe Tyr Lys His Leu
 435 440 445
 Gly Ile Glu Phe Met Glu Lys Ala Glu Glu Leu Tyr Gln Lys Arg Val
 450 455 460
 Leu Thr Ile Thr Gly Ile Cys Ile Ala Leu Leu Val Val Gly Ile Met
 465 470 475 480
 Cys Val Val Ala Tyr Cys Lys Thr Lys Lys Gln Arg Lys Lys Leu His
 485 490 495
 Asp Arg Leu Arg Gln Ser Leu Arg Ser Glu Arg Asn Asn Met Met Asn
 500 505 510
 Ile Ala Asn Gly Pro His His Pro Asn Pro Pro Pro Glu Asn Val Gln
 515 520 525
 Leu Val Asn Gln Tyr Val Ser Lys Asn Val Ile Ser Ser Glu His Ile
 530 535 540
 Val Glu Arg Glu Ala Glu Thr Ser Phe Ser Thr Ser His Tyr Thr Ser
 545 550 555 560
 Thr Ala His His Ser Thr Thr Val Thr Gln Thr Pro Ser His Ser Trp
 565 570 575
 Ser Asn Gly His Thr Glu Ser Ile Leu Ser Glu Ser His Ser Val Ile
 580 585 590
 Val Met Ser Ser Val Glu Asn Ser Arg His Ser Ser Pro Thr Gly Gly
 595 600 605
 Pro Arg Gly Arg Leu Asn Gly Thr Gly Gly Pro Arg Glu Cys Asn Ser
 610 615 620
 Phe Leu Arg His Ala Arg Glu Thr Pro Asp Ser Tyr Arg Asp Ser Pro
 625 630 635 640
 His Ser Glu Arg Tyr Val Ser Ala Met Thr Thr Pro Ala Arg Met Ser
 645 650 655
 Pro Val Asp Phe His Thr Pro Ser Ser Pro Lys Ser Pro Pro Ser Glu
 660 665 670
 Met Ser Pro Pro Val Ser Ser Met Thr Val Ser Met Pro Ser Met Ala
 675 680 685
 Val Ser Pro Phe Met Glu Glu Glu Arg Pro Leu Leu Leu Val Thr Pro
 690 695 700
 Pro Arg Leu Arg Glu Lys Lys Phe Asp His His Pro Gln Gln Phe Ser
 705 710 715 720
 Ser Phe His His Asn Pro Ala His Asp Ser Asn Ser Leu Pro Ala Ser
 725 730 735
 Pro Leu Arg Ile Val Glu Asp Glu Glu Tyr Glu Thr Thr Gln Glu Tyr
 740 745 750
 Glu Pro Ala Gln Glu Pro Val Lys Lys Leu Ala Asn Ser Arg Arg Ala

	755						760						765			
Lys	Arg	Thr	Lys	Pro	Asn	Gly	His	Ile	Ala	Asn	Arg	Leu	Glu	Val	Asp	
	770					775						780				
Ser	Asn	Thr	Ser	Ser	Gln	Ser	Ser	Asn	Ser	Glu	Ser	Glu	Thr	Glu	Asp	
785					790					795					800	
Glu	Arg	Val	Gly	Glu	Asp	Thr	Pro	Phe	Leu	Gly	Ile	Gln	Asn	Pro	Leu	
				805					810					815		
Ala	Ala	Ser	Leu	Glu	Ala	Thr	Pro	Ala	Phe	Arg	Leu	Ala	Asp	Ser	Arg	
			820					825					830			
Thr	Asn	Pro	Ala	Gly	Arg	Phe	Ser	Thr	Gln	Glu	Glu	Ile	Gln	Ala	Arg	
	835					840						845				
Leu	Ser	Ser	Val	Ile	Ala	Asn	Gln	Asp	Pro	Ile	Ala	Val				
	850					855					860					

<210> 252
 <211> 908
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 252

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

Ser Ala Ser Ala Asn Ile Thr Ile Val Glu Ser Asn Glu Ile Ile Thr
 340 345 350
 Gly Met Pro Ala Ser Thr Glu Gly Ala Tyr Val Ser Ser Glu Ser Pro
 355 360 365
 Ile Arg Ile Ser Val Ser Thr Glu Gly Ala Asn Thr Ser Ser Ser Thr
 370 375 380
 Ser Thr Ser Thr Thr Gly Thr Ser His Leu Val Lys Cys Ala Glu Lys
 385 390 395 400
 Glu Lys Thr Phe Cys Val Asn Gly Gly Glu Cys Phe Met Val Lys Asp
 405 410 415
 Leu Ser Asn Pro Ser Arg Tyr Leu Cys Lys Cys Pro Asn Glu Phe Thr
 420 425 430
 Gly Asp Arg Cys Gln Asn Tyr Val Met Ala Ser Phe Tyr Lys His Leu
 435 440 445
 Gly Ile Glu Phe Met Glu Lys Ala Glu Glu Leu Tyr Gln Lys Arg Val
 450 455 460
 Leu Thr Ile Thr Gly Ile Cys Ile Ala Leu Leu Val Val Gly Ile Met
 465 470 475 480
 Cys Val Val Ala Tyr Cys Lys Thr Lys Lys Gln Arg Lys Lys Leu His
 485 490 495
 Asp Arg Leu Arg Gln Ser Leu Arg Ser Glu Arg Asn Asn Met Met Asn
 500 505 510
 Ile Ala Asn Gly Pro His His Pro Asn Pro Pro Pro Glu Asn Val Gln
 515 520 525
 Leu Val Asn Gln Tyr Val Ser Lys Asn Val Ile Ser Ser Glu His Ile
 530 535 540
 Val Glu Arg Glu Ala Glu Thr Ser Phe Ser Thr Ser His Tyr Thr Ser
 545 550 555 560
 Thr Ala His His Ser Thr Thr Val Thr Gln Thr Pro Ser His Ser Trp
 565 570 575
 Ser Asn Gly His Thr Glu Ser Ile Leu Ser Glu Ser His Ser Val Ile
 580 585 590
 Val Met Ser Ser Val Glu Asn Ser Arg His Ser Ser Pro Thr Gly Gly
 595 600 605
 Pro Arg Gly Arg Leu Asn Gly Thr Gly Gly Pro Arg Glu Cys Asn Ser
 610 615 620
 Phe Leu Arg His Ala Arg Glu Thr Pro Asp Ser Tyr Arg Asp Ser Pro
 625 630 635 640
 His Ser Glu Arg His Asn Leu Ile Ala Glu Leu Arg Arg Asn Lys Ala
 645 650 655
 His Arg Ser Lys Cys Met Gln Ile Gln Leu Ser Ala Thr His Leu Arg
 660 665 670
 Ala Ser Ser Ile Pro His Trp Ala Ser Phe Ser Lys Thr Pro Trp Pro
 675 680 685
 Leu Gly Arg Tyr Val Ser Ala Met Thr Thr Pro Ala Arg Met Ser Pro
 690 695 700
 Val Asp Phe His Thr Pro Ser Ser Pro Lys Ser Pro Pro Ser Glu Met
 705 710 715 720
 Ser Pro Pro Val Ser Ser Met Thr Val Ser Met Pro Ser Met Ala Val
 725 730 735
 Ser Pro Phe Met Glu Glu Glu Arg Pro Leu Leu Leu Val Thr Pro Pro
 740 745 750
 Arg Leu Arg Glu Lys Lys Phe Asp His His Pro Gln Gln Phe Ser Ser
 755 760 765
 Phe His His Asn Pro Ala His Asp Ser Asn Ser Leu Pro Ala Ser Pro
 770 775 780
 Leu Arg Ile Val Glu Asp Glu Glu Tyr Glu Thr Thr Gln Glu Tyr Glu
 785 790 795 800
 Pro Ala Gln Glu Pro Val Lys Lys Leu Ala Asn Ser Arg Arg Ala Lys
 805 810 815
 Arg Thr Lys Pro Asn Gly His Ile Ala Asn Arg Leu Glu Val Asp Ser
 820 825 830
 Asn Thr Ser Ser Gln Ser Ser Asn Ser Glu Ser Glu Thr Glu Asp Glu

	835					840						845			
Arg	Val	Gly	Glu	Asp	Thr	Pro	Phe	Leu	Gly	Ile	Gln	Asn	Pro	Leu	Ala
	850					855					860				
Ala	Ser	Leu	Glu	Ala	Thr	Pro	Ala	Phe	Arg	Leu	Ala	Asp	Ser	Arg	Thr
	865					870				875					880
Asn	Pro	Ala	Gly	Arg	Phe	Ser	Thr	Gln	Glu	Glu	Ile	Gln	Ala	Arg	Leu
				885					890					895	
Ser	Ser	Val	Ile	Ala	Asn	Gln	Asp	Pro	Ile	Ala	Val				
			900					905							

<210> 253
 <211> 371
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 253

Met	Arg	Trp	Arg	Arg	Ala	Pro	Arg	Arg	Ser	Gly	Arg	Pro	Gly	Pro	Arg
1				5					10					15	
Ala	Gln	Arg	Pro	Gly	Ser	Ala	Ala	Arg	Ser	Ser	Pro	Pro	Leu	Pro	Leu
			20					25					30		
Leu	Pro	Leu	Leu	Leu	Leu	Gly	Thr	Ala	Ala	Leu	Ala	Pro	Gly	Ala	
		35				40					45				
Ala	Ala	Gly	Asn	Glu	Ala	Ala	Pro	Ala	Gly	Ala	Ser	Val	Cys	Tyr	Ser
	50					55					60				
Ser	Pro	Pro	Ser	Val	Gly	Ser	Val	Gln	Glu	Leu	Ala	Gln	Arg	Ala	Ala
65					70					75					80
Val	Val	Ile	Glu	Gly	Lys	Val	His	Pro	Gln	Arg	Arg	Gln	Gln	Gly	Ala
				85					90					95	
Leu	Asp	Arg	Lys	Ala	Ala	Ala	Ala	Gly	Glu	Ala	Gly	Ala	Gly	Trp	Gly
			100					105					110		
Gly	Asp	Arg	Glu	Pro	Pro	Ala	Ala	Gly	Pro	Arg	Ala	Leu	Gly	Pro	Pro
		115					120						125		
Ala	Glu	Glu	Pro	Leu	Leu	Ala	Ala	Asn	Gly	Thr	Val	Pro	Ser	Trp	Pro
	130					135					140				
Thr	Ala	Pro	Val	Pro	Ser	Ala	Gly	Glu	Pro	Gly	Glu	Glu	Ala	Pro	Tyr
145						150				155					160
Leu	Val	Lys	Val	His	Gln	Val	Trp	Ala	Val	Lys	Ala	Gly	Gly	Leu	Lys
				165					170					175	
Lys	Asp	Ser	Leu	Leu	Thr	Val	Arg	Leu	Gly	Thr	Trp	Gly	His	Pro	Ala
			180					185					190		
Phe	Pro	Ser	Cys	Gly	Arg	Leu	Lys	Glu	Asp	Ser	Arg	Tyr	Ile	Phe	Phe
		195					200					205			
Met	Glu	Pro	Asp	Ala	Asn	Ser	Thr	Ser	Arg	Ala	Pro	Ala	Ala	Phe	Arg
	210					215					220				
Ala	Ser	Phe	Pro	Pro	Leu	Glu	Thr	Gly	Arg	Asn	Leu	Lys	Lys	Glu	Val
225					230					235					240
Ser	Arg	Val	Leu	Cys	Lys	Arg	Cys	Ala	Leu	Pro	Pro	Arg	Leu	Lys	Glu
				245					250					255	
Met	Lys	Ser	Gln	Glu	Ser	Ala	Ala	Gly	Ser	Lys	Leu	Val	Leu	Arg	Cys
			260					265					270		
Glu	Thr	Ser	Ser	Glu	Tyr	Ser	Ser	Leu	Arg	Phe	Lys	Trp	Phe	Lys	Asn
		275					280					285			
Gly	Asn	Glu	Leu	Asn	Arg	Lys	Asn	Lys	Pro	Gln	Asn	Ile	Lys	Ile	Gln
	290					295					300				
Lys	Lys	Pro	Gly	Lys	Ser	Glu	Leu	Arg	Ile	Ser	Lys	Ala	Ser	Leu	Ala
305						310				315					320
Asp	Ser	Gly	Glu	Tyr	Met	Cys	Lys	Val	Ile	Ser	Lys	Leu	Gly	Asn	Asp
				325					330					335	
Ser	Ala	Ser	Ala	Asn	Ile	Thr	Ile	Val	Glu	Ser	Asn	Gly	Lys	Arg	Cys
			340					345					350		
Leu	Leu	Arg	Ala	Ile	Ser	Gln	Ser	Leu	Arg	Gly	Val	Ile	Lys	Val	Cys
		355					360					365			

Gly His Thr
370

<210> 254
<211> 133
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 254

Met Ser Glu Arg Lys Glu Gly Arg Gly Lys Gly Lys Gly Lys Lys Lys
1 5 10 15
Glu Arg Gly Ser Gly Lys Lys Pro Glu Ser Ala Ala Gly Ser Gln Ser
20 25 30
Pro Ala Leu Pro Pro Arg Leu Lys Glu Met Lys Ser Gln Glu Ser Ala
35 40 45
Ala Gly Ser Lys Leu Val Leu Arg Cys Glu Thr Ser Ser Glu Tyr Ser
50 55 60
Ser Leu Arg Phe Lys Trp Phe Lys Asn Gly Asn Glu Leu Asn Arg Lys
65 70 75 80
Asn Lys Pro Gln Asn Ile Lys Ile Gln Lys Lys Pro Gly Lys Ser Glu
85 90 95
Leu Arg Ile Asn Lys Ala Ser Leu Ala Asp Ser Gly Glu Tyr Met Cys
100 105 110
Lys Val Ile Ser Lys Leu Gly Asn Asp Ser Ala Ser Ala Asn Ile Thr
115 120 125
Ile Val Glu Ser Asn
130

<210> 255
<211> 381
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 255

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

210	215	220
Ala Phe Pro Ser Cys Gly Arg Leu Lys Glu Asp Ser Arg Tyr Ile Phe		
225	230	235
Phe Met Glu Pro Asp Ala Asn Ser Thr Ser Arg Ala Pro Ala Ala Phe		
	245	250
Arg Ala Ser Phe Pro Pro Leu Glu Thr Gly Arg Asn Leu Lys Lys Glu		
	260	265
Val Ser Arg Val Leu Cys Lys Arg Cys Ala Leu Pro Pro Arg Leu Lys		
	275	280
Glu Met Lys Ser Gln Glu Ser Ala Ala Gly Ser Lys Leu Val Leu Arg		
	290	295
Cys Glu Thr Ser Ser Glu Tyr Ser Ser Leu Arg Phe Lys Trp Phe Lys		
305	310	315
Asn Gly Asn Glu Leu Asn Arg Lys Asn Lys Pro Gln Asn Ile Lys Ile		
	325	330
Gln Lys Lys Pro Gly Lys Ser Glu Leu Arg Ile Asn Lys Ala Ser Leu		
	340	345
Ala Asp Ser Gly Glu Tyr Met Cys Lys Val Ile Ser Lys Leu Gly Asn		
	355	360
Asp Ser Ala Ser Ala Asn Ile Thr Ile Val Glu Ser Asn		
370	375	380

<210> 256
 <211> 155
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 256

Met Ser Glu Arg Lys Glu Gly Arg Gly Lys Gly Lys Gly Lys Lys Lys	
1	5
Glu Arg Gly Ser Gly Lys Lys Pro Glu Ser Ala Ala Gly Ser Gln Ser	
	20
Pro Ala Leu Pro Pro Arg Leu Lys Glu Met Lys Ser Gln Glu Ser Ala	
	35
Ala Gly Ser Lys Leu Val Leu Arg Cys Glu Thr Ser Ser Glu Tyr Ser	
	50
Ser Leu Arg Phe Lys Trp Phe Lys Asn Gly Asn Glu Leu Asn Arg Lys	
65	70
Asn Lys Pro Gln Asn Ile Lys Ile Gln Lys Lys Pro Lys Ser Glu Leu	
	85
Arg Ile Ser Lys Ala Ser Leu Ala Asp Ser Gly Glu Tyr Met Cys Lys	
	100
Val Ile Ser Lys Leu Gly Asn Asp Ser Ala Ser Ala Asn Ile Thr Ile	
	115
Val Glu Ser Asn Gly Lys Arg Cys Leu Leu Arg Ala Ile Ser Gln Ser	
	130
Leu Arg Gly Val Ile Lys Val Cys Gly His Thr	
145	150
	155

<210> 257
 <211> 404
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 257

Met Ser Glu Arg Lys Glu Gly Arg Gly Lys Gly Lys Gly Lys Lys Lys	
1	5
Glu Arg Gly Ser Gly Lys Lys Pro Glu Ser Ala Ala Gly Ser Gln Ser	
	20
Pro Met Arg Trp Arg Arg Ala Pro Arg Arg Ser Gly Arg Pro Gly Pro	
	35
	40
	45

Arg Ala Gln Arg Pro Gly Ser Ala Ala Arg Ser Ser Pro Pro Leu Pro
 50 55 60
 Leu Leu Pro Leu Leu Leu Leu Gly Thr Ala Ala Leu Ala Pro Gly
 65 70 75 80
 Ala Ala Ala Gly Asn Glu Ala Ala Pro Ala Gly Ala Ser Val Cys Tyr
 85 90 95
 Ser Ser Pro Pro Ser Val Gly Ser Val Gln Glu Leu Ala Gln Arg Ala
 100 105 110
 Ala Val Val Ile Glu Gly Lys Val His Pro Gln Arg Arg Gln Gln Gly
 115 120 125
 Ala Leu Asp Arg Lys Ala Ala Ala Ala Ala Gly Glu Ala Gly Ala Trp
 130 135 140
 Gly Gly Asp Arg Glu Pro Pro Ala Ala Gly Pro Arg Ala Leu Gly Pro
 145 150 155 160
 Pro Ala Glu Glu Pro Leu Leu Ala Ala Asn Gly Thr Val Pro Ser Trp
 165 170 175
 Pro Thr Ala Pro Val Pro Ser Ala Gly Glu Pro Gly Glu Glu Ala Pro
 180 185 190
 Tyr Leu Val Lys Val His Gln Val Trp Ala Val Lys Ala Gly Gly Leu
 195 200 205
 Lys Lys Asp Ser Leu Leu Thr Val Arg Leu Gly Thr Trp Gly His Pro
 210 215 220
 Ala Phe Pro Ser Cys Gly Arg Leu Lys Glu Asp Ser Arg Tyr Ile Phe
 225 230 235 240
 Phe Met Glu Pro Asp Ala Asn Ser Thr Ser Arg Ala Pro Ala Ala Phe
 245 250 255
 Arg Ala Ser Phe Pro Pro Leu Glu Thr Gly Arg Asn Leu Lys Lys Glu
 260 265 270
 Val Ser Arg Val Leu Cys Lys Arg Cys Ala Leu Pro Pro Arg Leu Lys
 275 280 285
 Glu Met Lys Ser Gln Glu Ser Ala Ala Gly Ser Lys Leu Val Leu Arg
 290 295 300
 Cys Glu Thr Ser Ser Glu Tyr Ser Ser Leu Arg Phe Lys Trp Phe Lys
 305 310 315 320
 Asn Gly Asn Glu Leu Asn Arg Lys Asn Lys Pro Gln Asn Ile Lys Ile
 325 330 335
 Gln Lys Lys Pro Gly Lys Ser Glu Leu Arg Ile Ser Lys Ala Ser Leu
 340 345 350
 Ala Asp Ser Gly Glu Tyr Met Cys Lys Val Ile Ser Lys Leu Gly Asn
 355 360 365
 Asp Ser Ala Ser Ala Asn Ile Thr Ile Val Glu Ser Asn Gly Lys Arg
 370 375 380
 Cys Leu Leu Arg Ala Ile Ser Gln Ser Leu Arg Gly Val Ile Lys Val
 385 390 395 400
 Cys Gly His Thr

Patentansprüche

1. Polypeptid, das von einem GGF/p185erbB2-Ligandengen codiert wird und mit einem p185erbB2-Rezeptor interagiert, wobei das Polypeptid eine E-Domäne, die von SEQ ID Nr. 163 codiert wird, oder eine E-Domäne, welche die Aminosäuresequenz von SEQ ID Nr. 210 umfasst, und eine dem epidermalen Wachstumsfaktor ähnliche Domäne umfasst, die

a) eine C-Nukleinsäuresequenz (SEQ ID Nr. 177) und entweder eine C/D-Nukleinsäuresequenz (SEQ ID Nr. 178) oder eine C/D'-Nukleinsäuresequenz (SEQ ID Nr. 143) in der 5' zu 3'-Reihenfolge C-C/D oder C-C/D';

b) die Aminosäuresequenz von SEQ ID Nr. 151, 152, 220, 221, 222, 223, 224 oder 225; oder

c) die Aminosäuren 362–411 von SEQ ID Nr. 170

umfasst.

2. Polypeptid nach Anspruch 1, wobei das Polypeptid die Zellteilung von Gliazellen induziert.

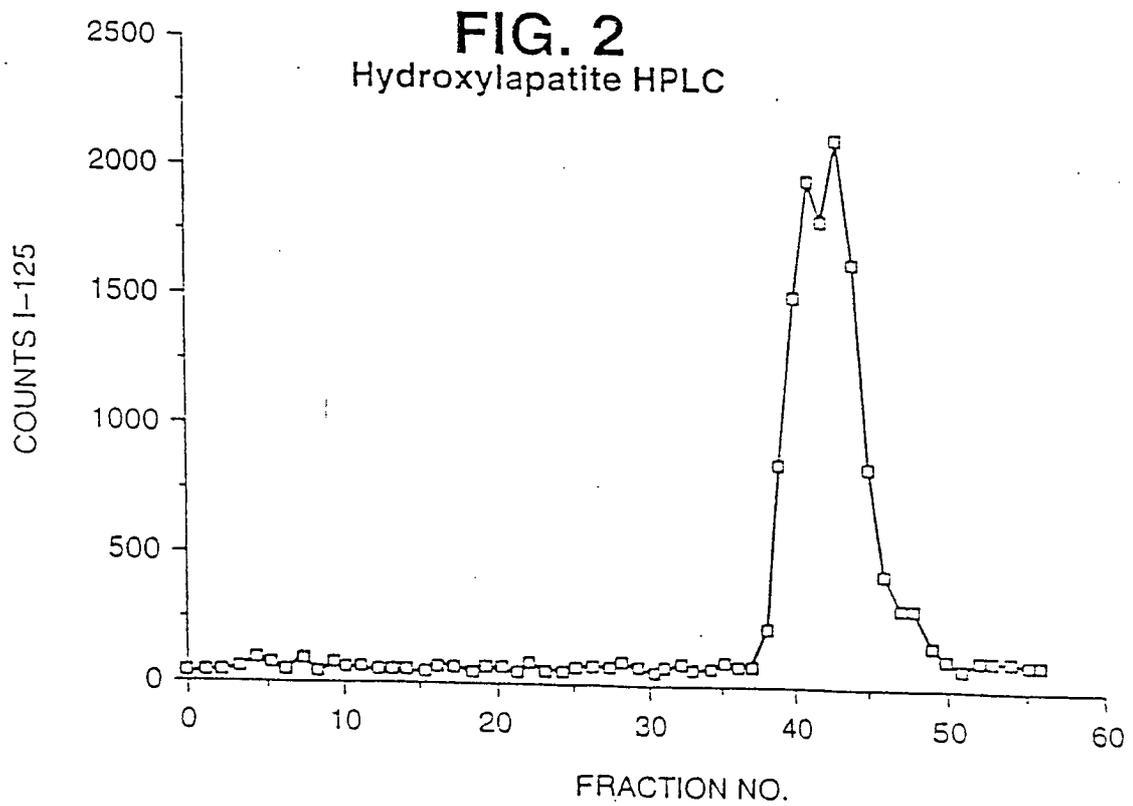
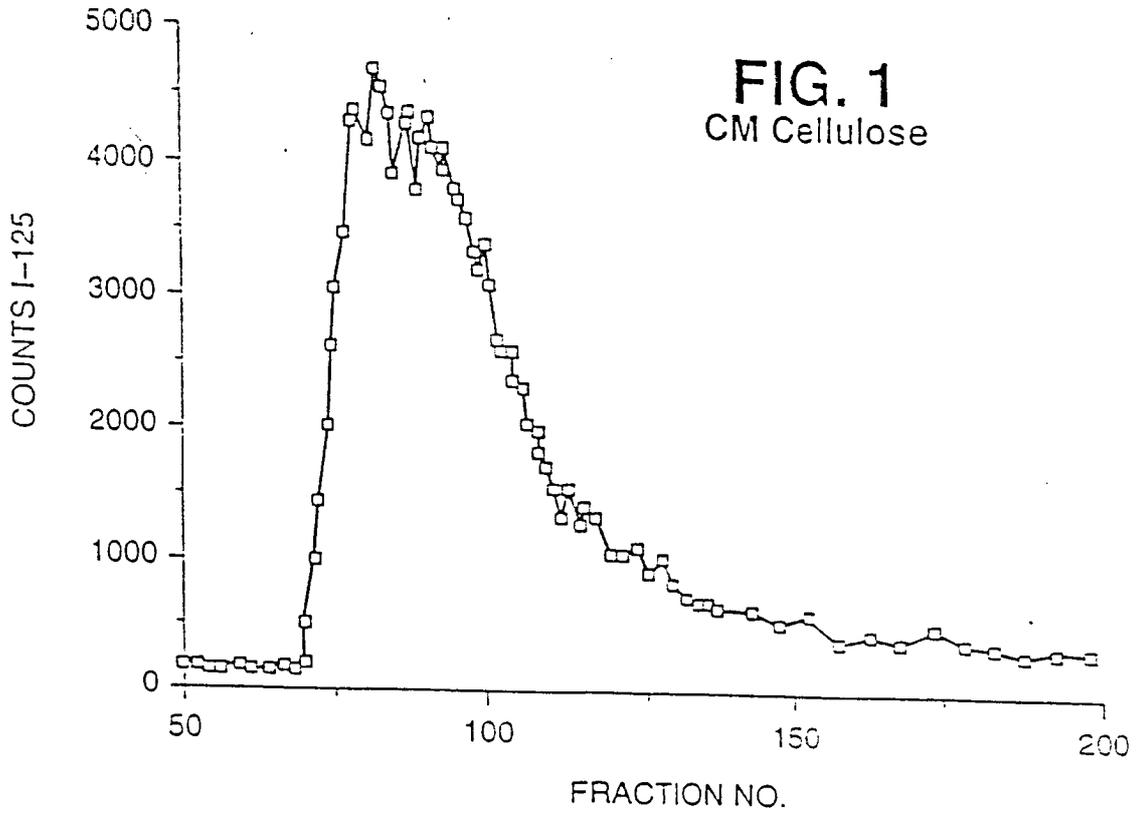
3. Polypeptid nach Anspruch 1, wobei das Polypeptid die Acetylcholinrezeptor-Synthese in einer Zelle induziert.

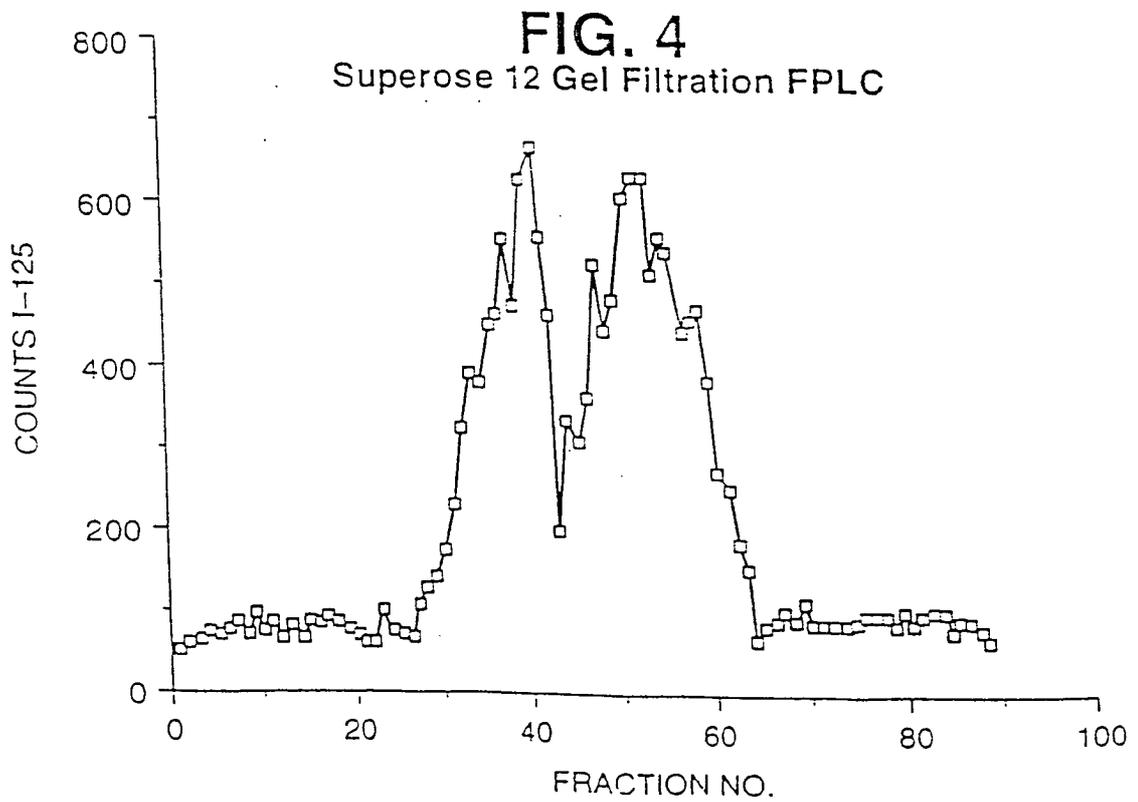
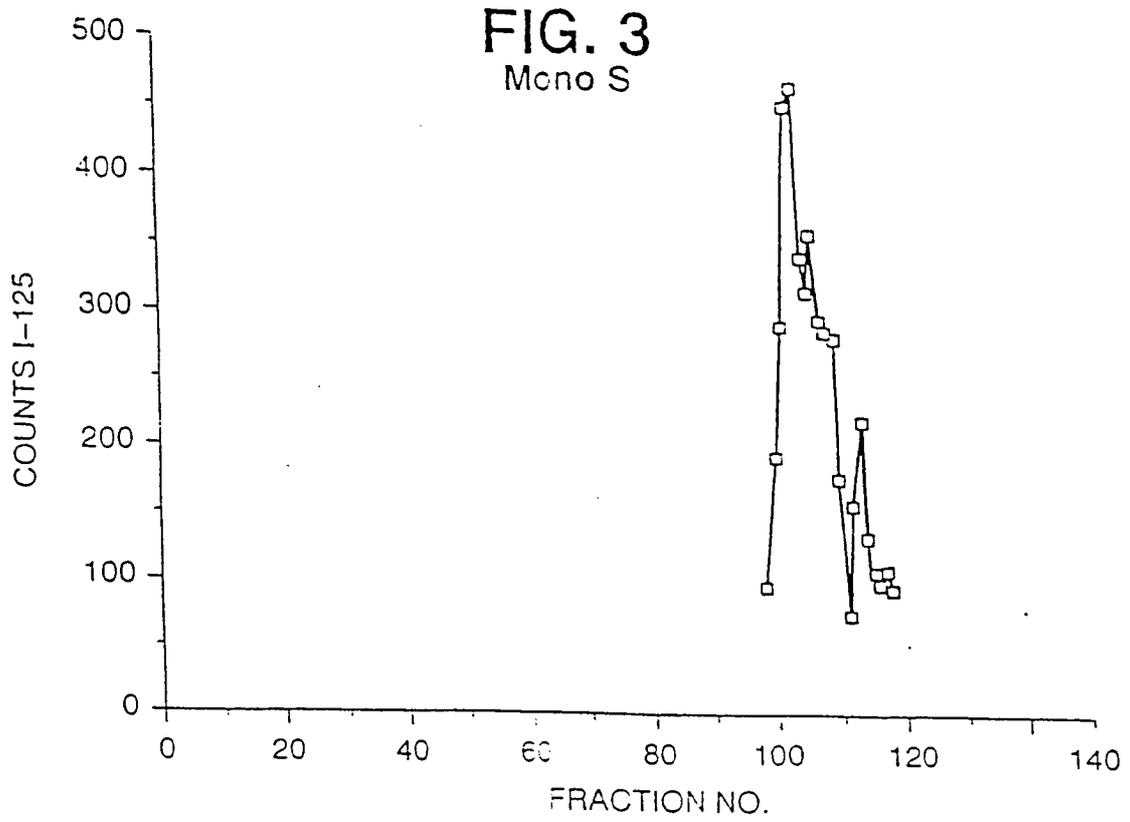
4. Polypeptid nach Anspruch 1, wobei das Polypeptid die Myelinisierung einer Neuralzelle durch eine Gliazelle induziert.

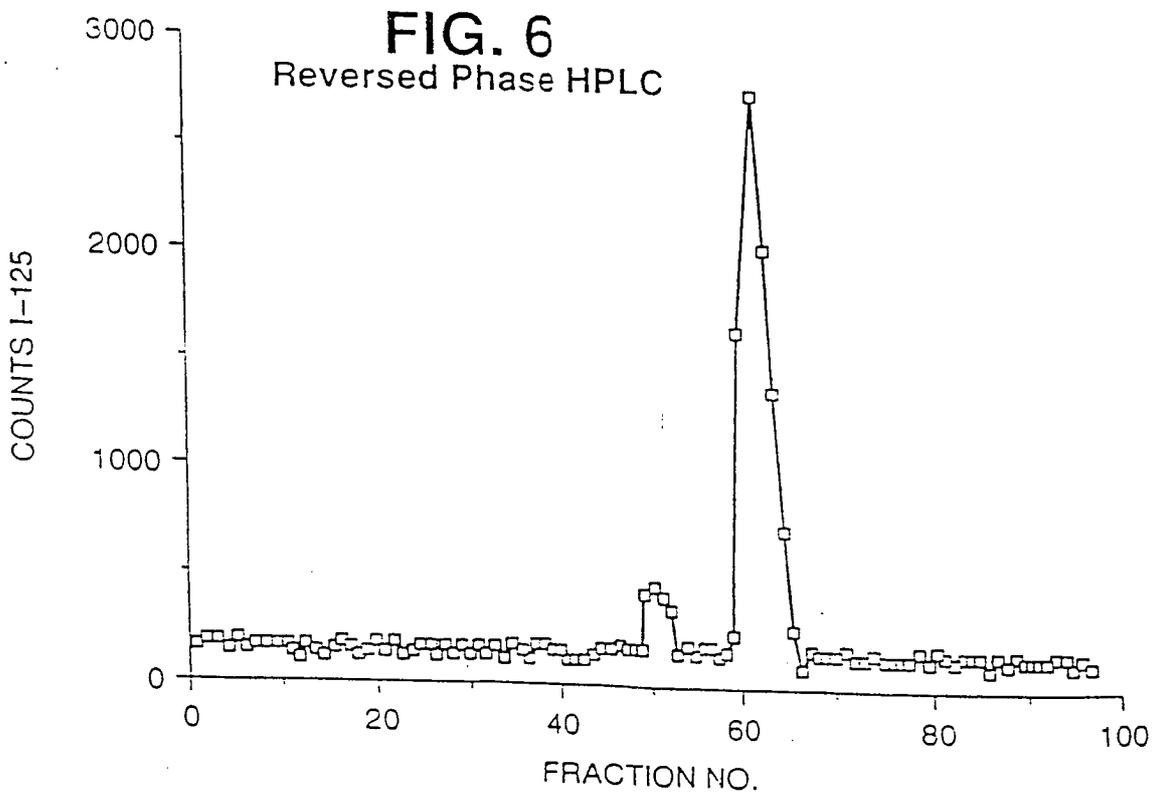
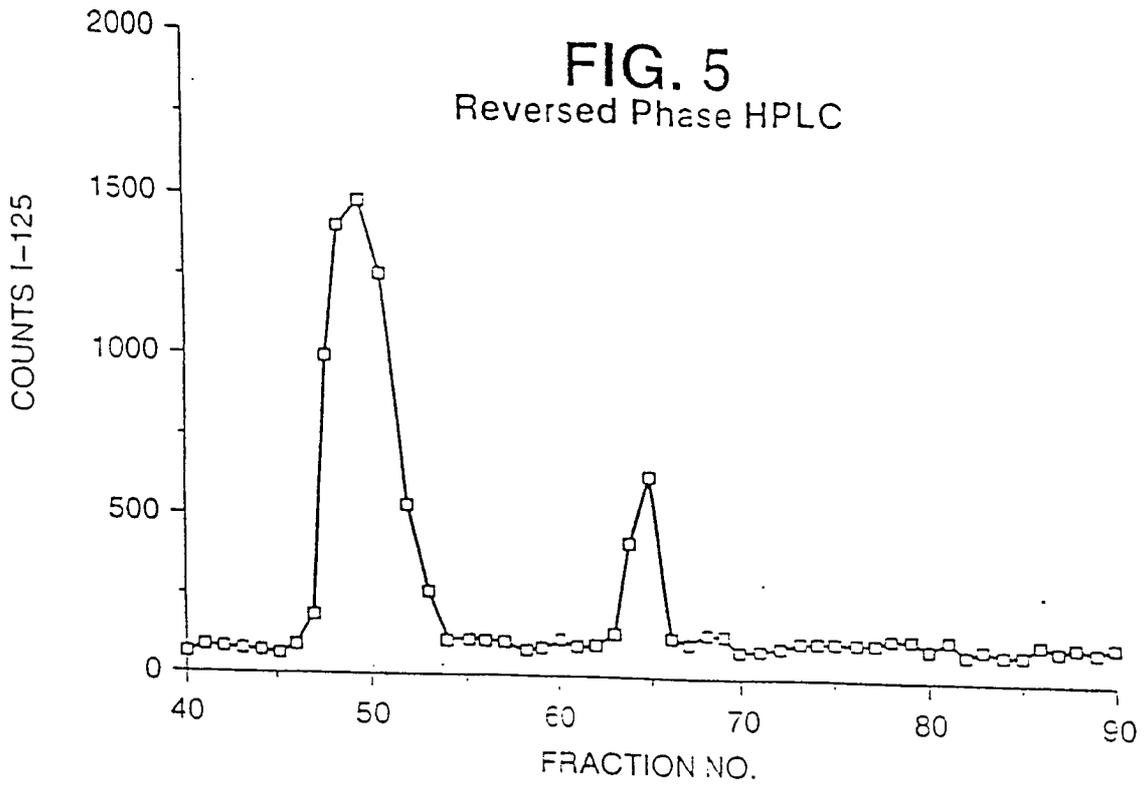
5. Polypeptid nach Anspruch 1, wobei das Polypeptid die Aminosäuresequenz von SEQ ID Nr. 170 umfasst.
6. Isolierte Nukleinsäuresequenz, welche für das Polypeptid nach Anspruch 1 codiert.
7. Nukleinsäuresequenz nach Anspruch 6, wobei die Nukleinsäuresequenz SEQ ID Nr. 21 umfasst.
8. Rekombinanter Vektor, umfassend das isolierte Nukleinsäuremolekül nach Anspruch 6, das funktionsfähig mit einem Promotor verbunden ist.
9. Zelllinie, die mit dem isolierten Nukleinsäuremolekül nach Anspruch 6 transformiert oder transfiziert ist.
10. Verfahren zur Herstellung des Polypeptides nach Anspruch 1, welches die Bereitstellung der Zelllinie nach Anspruch 9, die Kultivierung dieser Zelllinie unter Bedingungen, welche die Expression der Nukleinsäuresequenz erlauben, und die Isolierung des Polypeptides umfasst.
11. Antikörper, der spezifisch zu einem Polypeptid nach Anspruch 1 ist.
12. Verfahren zur Reinigung eines Polypeptides mit einer mitogenen Aktivität für Gliazellen, wobei das Verfahren das Inkontaktbringen eines Zellextraktes mit einem Antikörper nach Anspruch 11 umfasst.
13. Verfahren zur Identifizierung der Gegenwart eines Rezeptors für das Polypeptid nach Anspruch 1 in einer Probe, welches das Inkontaktbringen der Probe mit dem Polypeptid und die Bestimmung einer Bindung zwischen der Probe und dem Polypeptid umfasst, wobei eine Bindung die Gegenwart des Rezeptors anzeigt.
14. Pharmazeutische oder Veterinärformulierung, umfassend ein Polypeptid nach Anspruch 1, welches für die pharmazeutische oder die Veterinär Anwendung zusammen mit einem akzeptablem Verdünnungsmittel, Träger oder Bindemittel und/oder in einer Einheitsarzneiform formuliert ist.

Es folgen 79 Blatt Zeichnungen

Anhängende Zeichnungen







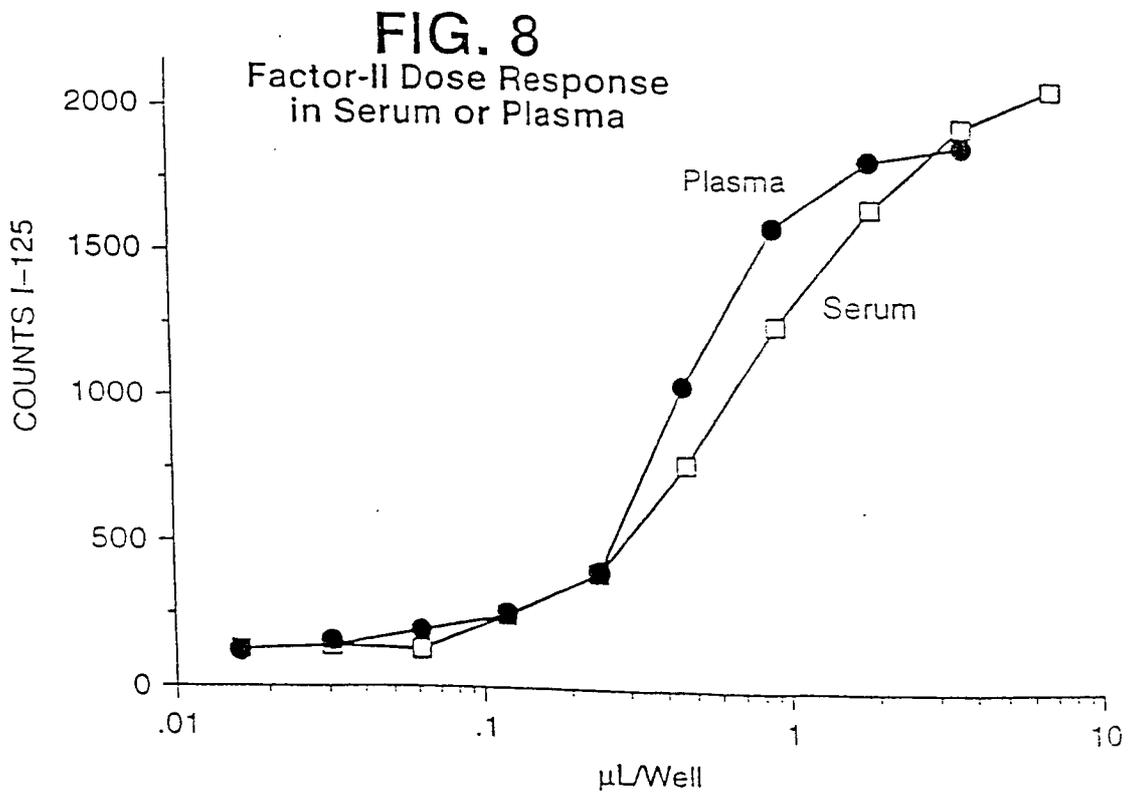
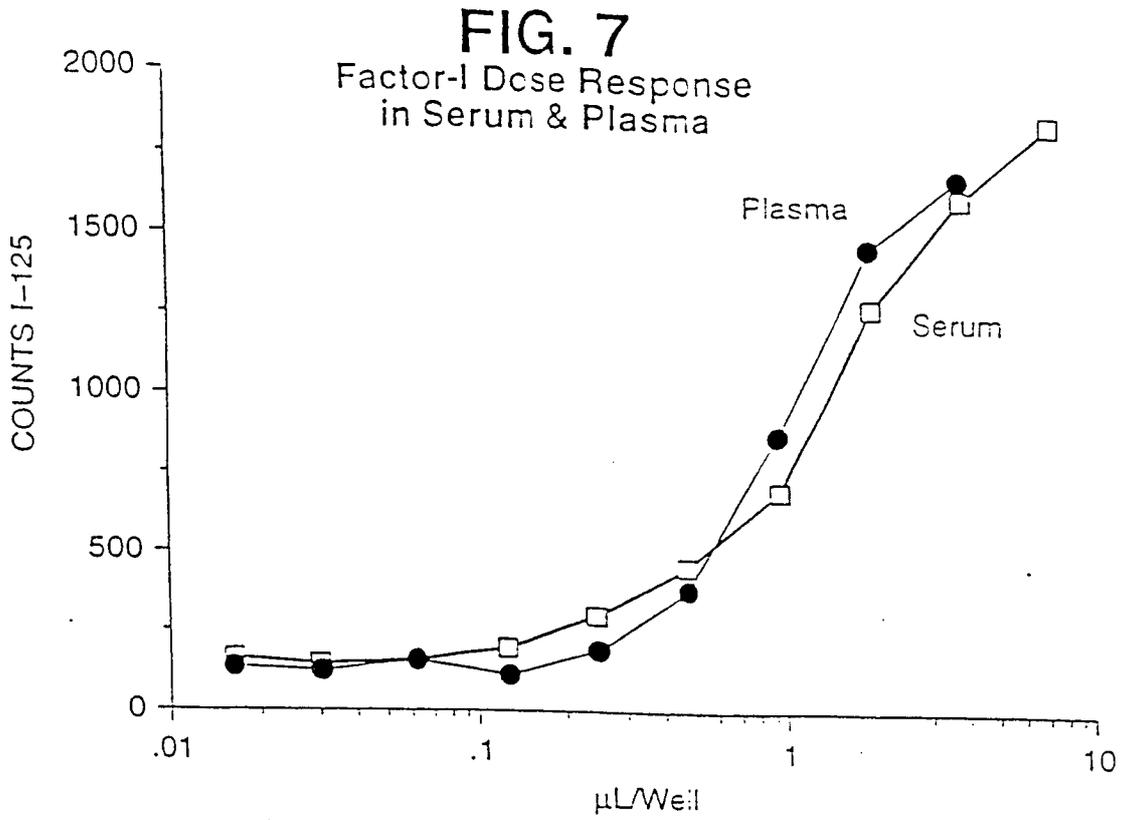


FIG. 9

GGF-I 01	N-terminus F K G D A H T E	(SEQ ID NO: 1)	
GGF-I 02	Trypsin peptides K/R A S L A D E Y E Y M X K *	(SEQ ID NO: 2)	
GGF-I 03	K/R T E T S S G L X L K *	(SEQ ID NO: 3)	
GGF-I 04	K/R K L G E M W A F	(SEQ ID NO: 4)	HMG-1
GGF-I 05	K/R L G E K R A	(SEQ ID NO: 5)	HMG-1?
GGF-I 06	K/R I K S E H A G L S I G D T A K *	(SEQ ID NO: 6)	HMG-2
GGF-I 07	K/R A S L A D E Y E Y M R K *	(SEQ ID NO: 7)	
GGF-I 08	K/R I K G E H P G L S I G D V A K *	(SEQ ID NO: 8)	HMG-1
GGF-I 09	K/R M S E Y A F F V Q T X R *	(SEQ ID NO: 9)	HMG-2
GGF-I 10	K/R S E H P G L S I G D T A K *	(SEQ ID NO: 10)	HMG-1
GGF-I 11	K/R A G Y F A E X A R *	(SEQ ID NO: 11)	
GGF-I 12	K/R K L E F L X A K *	(SEQ ID NO: 12)	
GGF-I 13	K/R T T E M A S E Q G A	(SEQ ID NO: 13)	
GGF-I 14	K/R A K E A L A A L K *	(SEQ ID NO: 14)	
GGF-I 15	K/R F V L Q A K K *	(SEQ ID NO: 15)	
GGF-I 16	K/R L G E M W	(SEQ ID NO: 16)	HMG-1
GGF-I 17	Protease V8 peptides E T Q P D P G Q I L K K V P M V I G A Y T	(SEQ ID NO: 169)	
GGF-I 18	E Y K C L K F K W F K K A T V M	(SEQ ID NO: 17)	
GGF-I 19	E A K Y F S K X D A	(SEQ ID NO: 18)	LH-alpha
GGF-I 20	E X K F Y V P	(SEQ ID NO: 19)	
GGF-I 21	E L S F A S V R L P G C P P G V D P M V S F P V A L	(SEQ ID NO: 20)	LH-beta

FIG. 10

10 A	GGF-I 01	F K G D A H T E	(SEQ ID NO: 1)
	GGF-I 02	A S L A D E Y E Y M X K	(SEQ ID NO: 22)
	GGF-I 03	T E T S S G L X L K	(SEQ ID NO: 23)
	GGF-I 07	A S L A D E Y E Y M R K	(SEQ ID NO: 24)
	GGF-I 11	A G Y F A E X A R	(SEQ ID NO: 25)
	GGF-I 13	T T E M A S E Q G A	(SEQ ID NO: 26)
	GGF-I 14	A K E A L A A L K	(SEQ ID NO: 27)
	GGF-I 15	F V L Q A K K	(SEQ ID NO: 28)
	GGF-I 17	E T Q P D P G Q I L K K V P M V I G A Y T	(SEQ ID NO: 29)
	GGF-I 18	E Y K C L K F K W F K K A T V M	(SEQ ID NO: 17)
10 B	GGF-I 20	E X K F Y V P	(SEQ ID NO: 19)
	GGF-I 12	K I, E F I, X A K	(SEQ ID NO: 32)

FIG. 11

GGF-II 01	Trypsin peptides	V H Q V W A A K *	(SEQ ID NO: 33)
GGF-II 02	K/R	Y I F F M E P E A X S S G	(SEQ ID NO: 34)
GGF-II 03	K/R	L G A W G P P A F P V X Y	(SEQ ID NO: 35)
GGF-II 04	K/R	W F V V I E G K *	(SEQ ID NO: 36)
GGF-II 05	K/R	A L A A A G Y D V E K *	(SEQ ID NO: 164)
GGF-II 06	K/R	L V L R *	(SEQ ID NO: 165)
GGF-II 07	K/R	X X Y P G Q I T S N	(SEQ ID NO: 166)
GGF-II 08	K/R	A S P V S V G S V Q E L V Q R *	(SEQ ID NO: 37)
GGF-II 09	K/R	V C I L T V A A P P T	(SEQ ID NO: 38)
GGF-II 10	K/R	D L L L X V	(SEQ ID NO: 39)
		Hisitone III.	
		Trypsin	
GGF-II 11	Lysyl Endopeptidase-C peptides	K V H Q V W A A K *	(SEQ ID NO: 51)
GGF-II 12		K A S L A D S G E Y M X K*	(SEQ ID NO: 52)

FIG. 12

A				
GGF-II 01	V H Q V W A A K	(SEQ ID NO: 45)		
GGF-II 02	Y I F M E P E A X S S G	(SEQ ID NO: 46)		
GGF-II 03	L G A W G P P A F P V X Y	(SEQ ID NO: 47)		
GGF-II 04	W F V V I E G K	(SEQ ID NO: 48)		
GGF-II 08	A S P V S V G S V Q E L V Q R	(SEQ ID NO: 49)		
GGF-II 09	V C L L T V A A P P T	(SEQ ID NO: 50)		
GGF-II 11	K V H Q V W A A K	(SEQ ID NO: 51)		
GGF-II 12	K A S L A D S G E Y M X K	(SEQ ID NO: 52)		
B				
	Novel Factor II Peptides - others			
GGF-II 10	D L L L X V	(SEQ ID NO: 53)		

FIG. 13

Comparison of BrdU-ELISA and [¹²⁵I]UdR Counting Method for the DNA Synthesis Assay in Schwann Cell Cultures

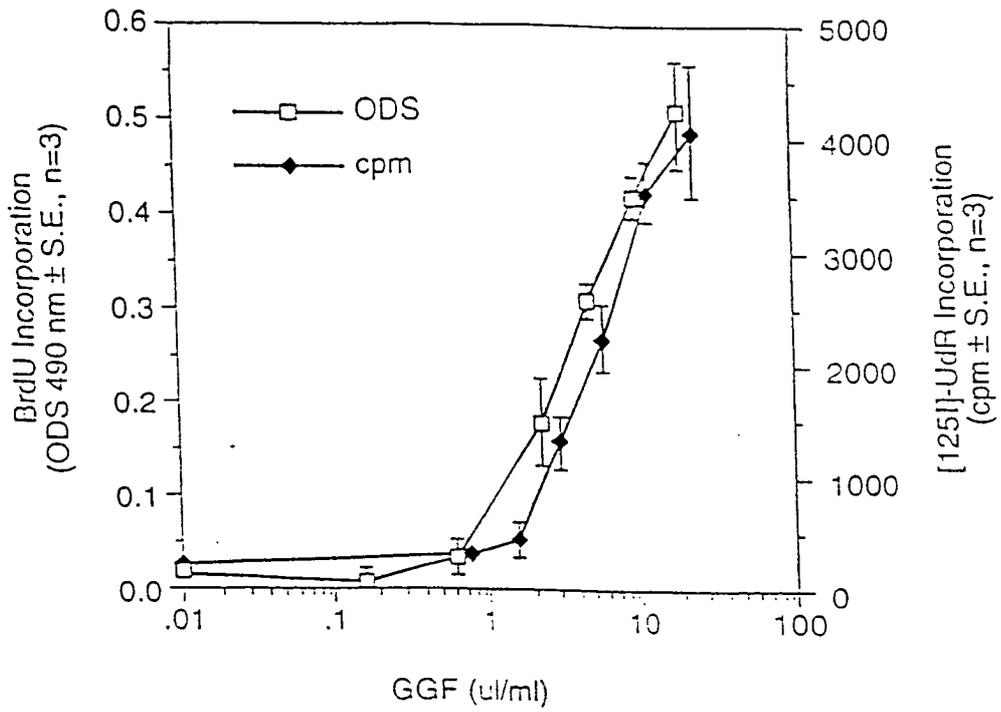


FIG. 14A

Comparison of Br-UdR Immunoreactivity and Br-UdR Labelled Cell Number

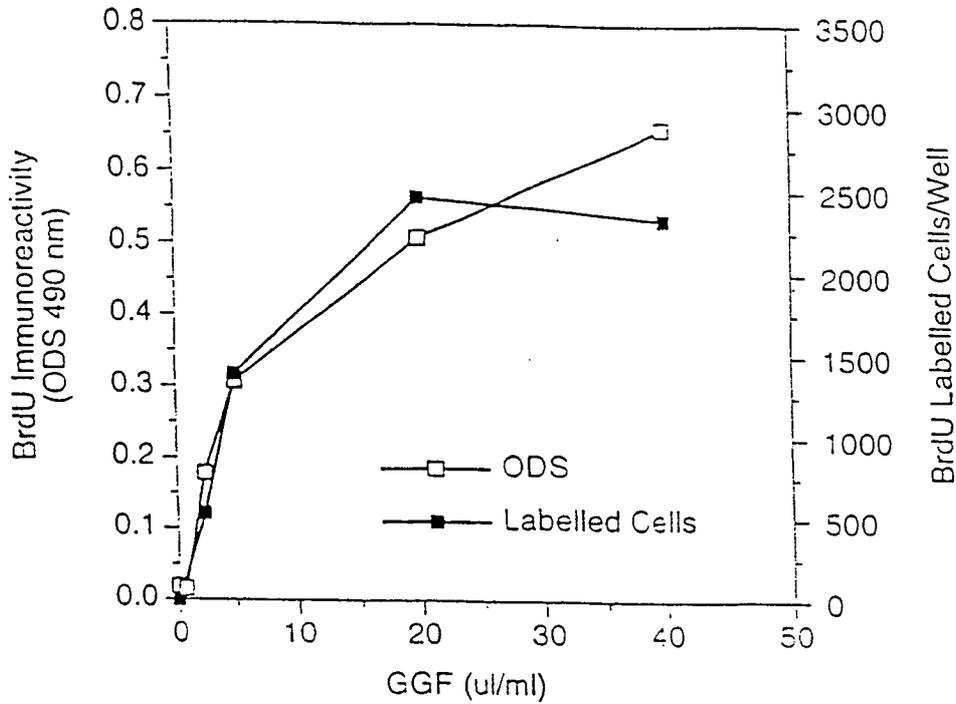


FIG. 14B

Comparison of Br-UdR Immunoreactivity and Br-UdR Labelled Cell Number

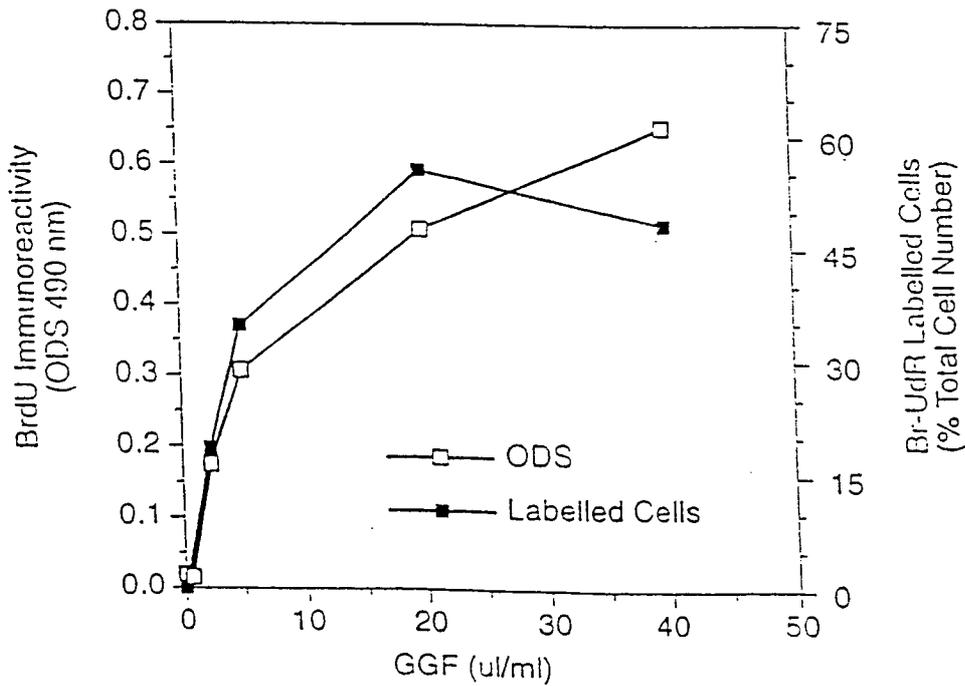


FIG. 15
 Mitogenic Response of Rat Sciatic
 Nerve Schwann cell to GGFs

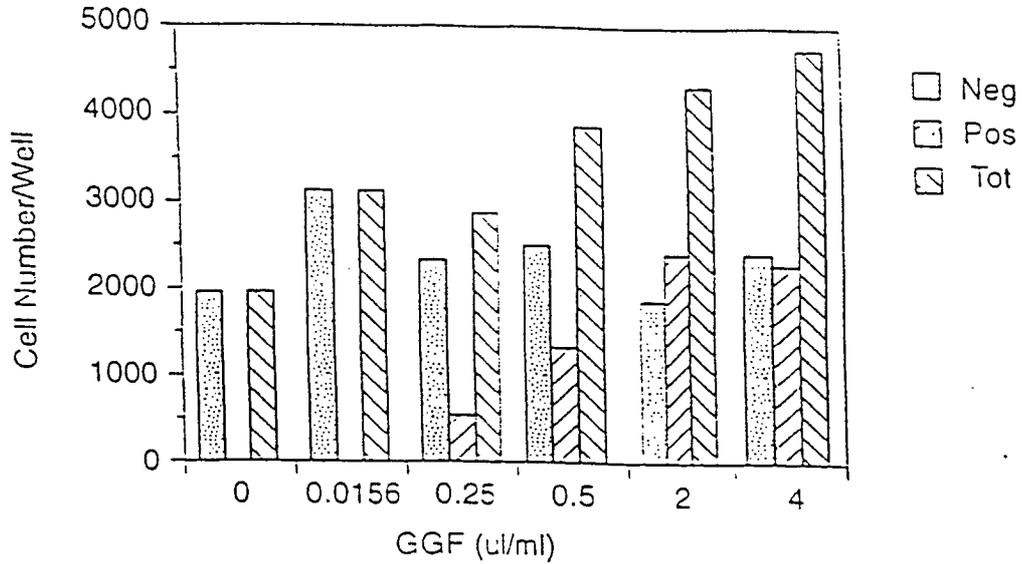


FIG. 16
 DNA Synthesis in Rat Sciatic Nerve Schwann
 Cells and 3T3 Fibroblasts in the presence of GGFs

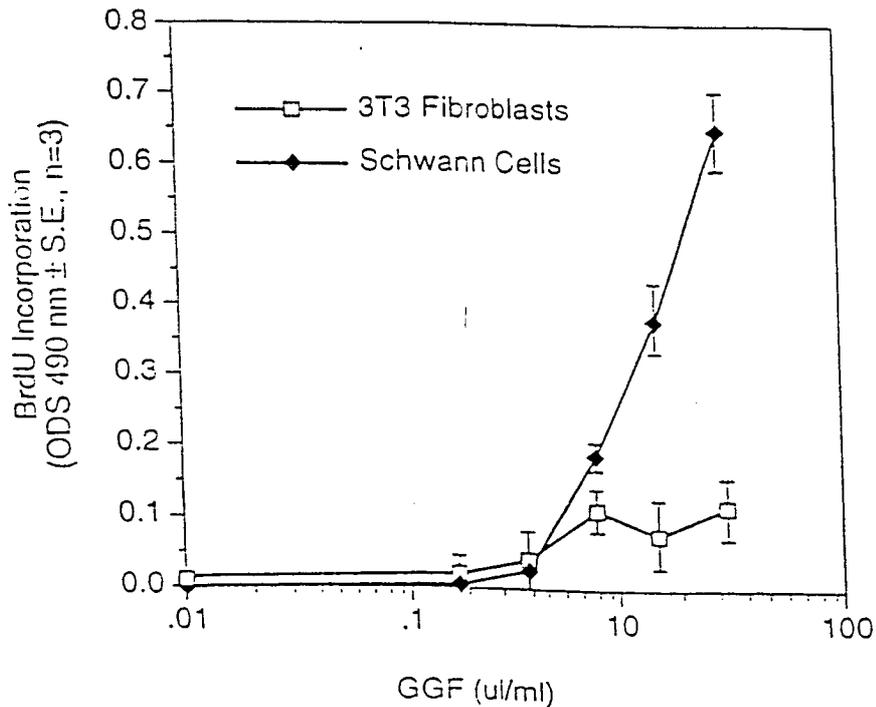


FIG. 17
 Mitogenic Response of
 BHK 21 C13 Cells to FCS and GGFs

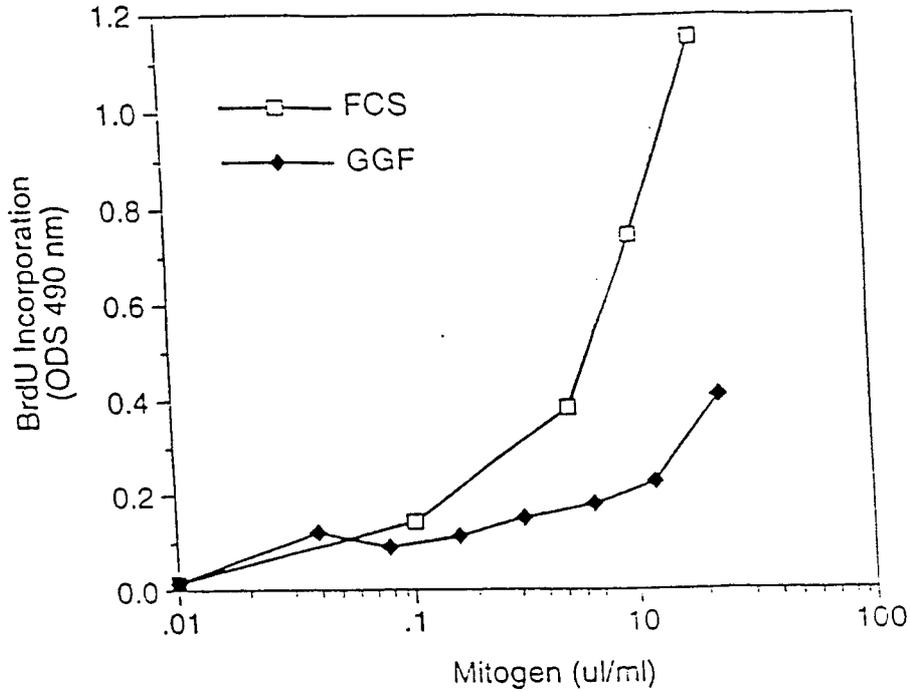


FIG. 18
 Survival and Proliferation of BHK21 C13 Cell
 Microcultures After 48 Hours in Presence of GGFs

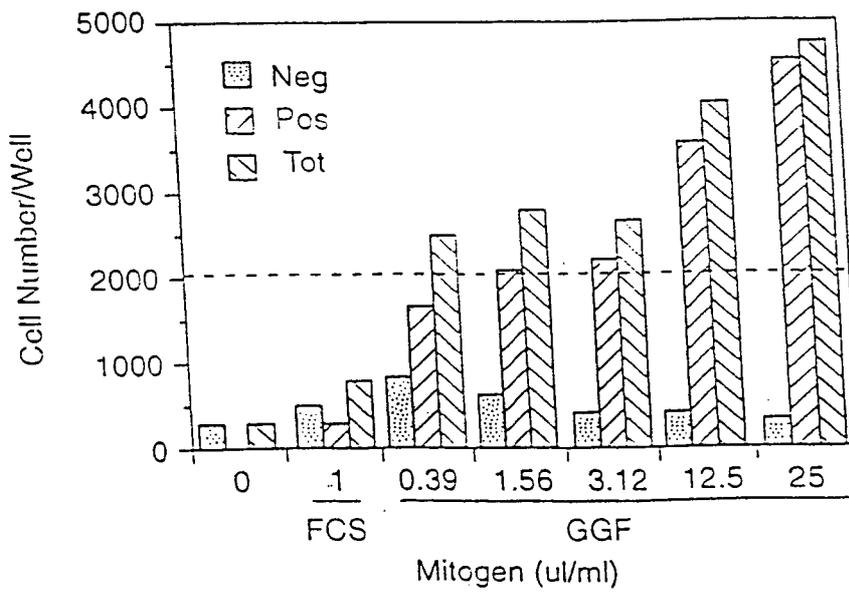


FIG. 19
Mitogenic Response
of C6 Cells to FCS

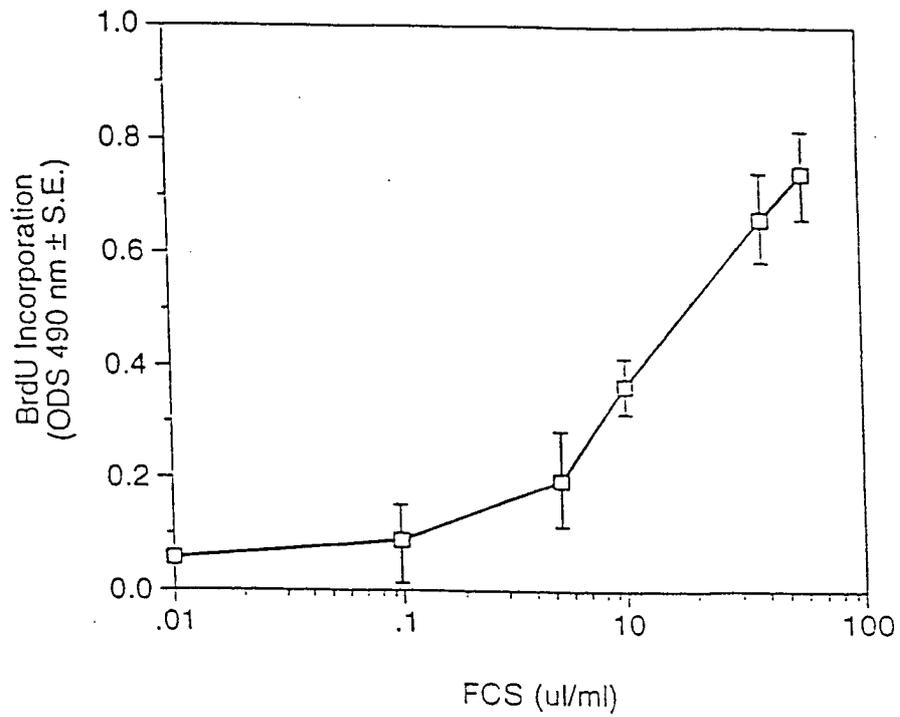


FIG. 20B
Mitogenic Response of
C6 Cells to aFGF & GGFs

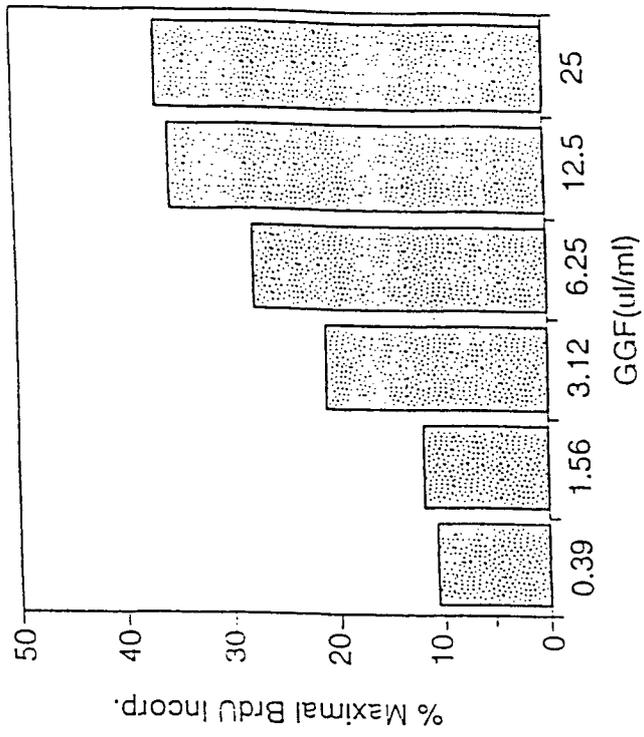


FIG. 20A
Mitogenic Response of
C6 Cells to aFGF & GGFs

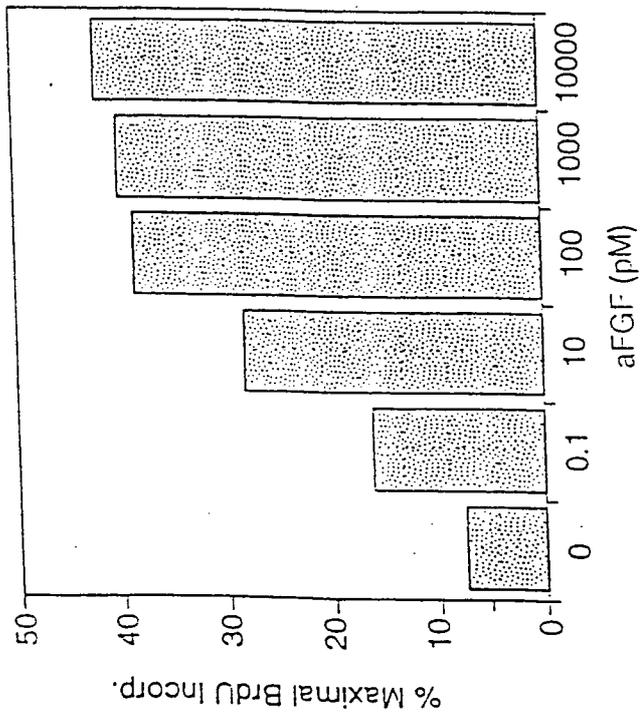


FIG. 21

Degenerate Oligonucleotide Probes for Factor I & Factor II

Oligo	Sequence	Peptide	
535	TTYAARGGNGAYGCNCAYAC!	GGFI-1	(SEQ ID NO: 54)
536	CATRTAYTCRTAYTCRTCNGC!	GGFI-2	(SEQ ID NO: 55)
537	TGYTCNGANGCCATYTCNGT!	GGFI-13	(SEQ ID NO: 56)
538	TGYTCRCTNGCCATYTCNGT!	GGFI-13	(SEQ ID NO: 57)
539	CCDATNACCATNGGNACYTT!	GGFI-17	(SEQ ID NO: 58)
540	GCNGCCCANACYTGRTGNAC!	GGFII-1	(SEQ ID NO: 59)
541	GCYTCNGGYTCCATRAARAA!	GGFII-2	(SEQ ID NO: 60)
542	CCYTCDATNACNACRAACCA!	GGFII-4	(SEQ ID NO: 61)
543	TCNGCRAARTANCCNGC!	GGFI-11	(SEQ ID NO: 62)
544	GCNGCNAGNGCYTCYTTNGC!	GGFI-14	(SEQ ID NO: 63)
545	GCNGCYAANGCYTCYTTNGC!	GGFI-14	(SEQ ID NO: 64)
546	TTYTTNGCYTGNAGNACRAA!	GGFI-15	(SEQ ID NO: 65)
551	TTYTTNGCYTGAAANACRAA!	GGFI-15	(SEQ ID NO: 66)
562	TGNACNAGYTCYTGAC!	GGFII-2	(SEQ ID NO: 67)
569	TGNACYAAYTCYTGAC!	GGFII-2	(SEQ ID NO: 68)
609	CATRTAYTCNCCNGARTCNGC!	GGFII-12	(SEQ ID NO: 69)
610	CATRTAYTCNCCRCTRTCNGC!	GGFII-12	(SEQ ID NO: 70)
649	NGARTCNGCYAANGANGCYTT!	GGFII-12	(SEQ ID NO: 71)
650	NGARTCNGCNAGNGANGCYTT!	GGFII-12	(SEQ ID NO: 72)
651	RCTRTCNGCYAANGANGCYTT!	GGFII-12	(SEQ ID NO: 73)
652	RCTRTCNGCNAGNGANGCYTT!	GGFII-12	(SEQ ID NO: 74)
653	NGARTCNGCYAARCTNGCYTT!	GGFII-12	(SEQ ID NO: 75)
654	NGARTCNGCNAGRCTNGCYTT!	GGFII-12	(SEQ ID NO: 76)
655	RCTRTCNGCYAARCTNGCYTT!	GGFII-12	(SEQ ID NO: 78)
656	RCTRTCNGCNAGRCTNGCYTT!	GGFII-12	(SEQ ID NO: 79)
659	ACNACNGARATGGCTCNGA!	GGFI-13	(SEQ ID NO: 80)
660	ACNACNGARATGGCAGYNGA!	GGFI-13	(SEQ ID NO: 81)
661	CAYCARGTNTGGGCGNCNAA!	GGFII-1	(SEQ ID NO: 82)
662	TTYGTNGTNATHGARGGNA!	GGFII-4	(SEQ ID NO: 83)
663	AARGGNGAYGCNCAYACNGA!	GGFI-1	(SEQ ID NO: 84)
664	GARGCNYTNGCNGCNYTNAA!	GGDI-14	(SEQ ID NO: 85)
665	GTNGGNTCNGTNCARGARYT!	GGFII-2	(SEQ ID NO: 86)
666	GTNGGNAGYGTNCARGARYT!	GGFII-2	(SEQ ID NO: 87)
694	NACYTTYTTNARHATYTGACC!	GGFI-17	(SEQ ID NO: 88)

FIG. 22

Putative Bovine Factor II Gene Sequences

(SEQ ID NO: 89) TCTAA AAC TAC AGA GAC TGT ATT TTC ATG ATC ATA GTT CTG TGA AAT ATA 53
 (SEQ ID NO: 196) Asn Tyr Arg Asp Cys Ile Phe Met Ile Ile Val Leu Xaa Asn Ile
 CTT AAA CCG CTT TGG TCC TGA TCT TGT AGG AAG TCA GAA CTT CGC ATT 101
 Leu Lys Pro Leu Trp Ser Xaa Ser Cys Arg Lys Ser Glu Leu Arg Ile
 AGC AAA CCG TCA CTG GCT GAT TCT GGA GAA TAT ATG TGC AAA GTG ATC 149
 Ser Lys Ala Ser Leu Ala Asp Ser Gly Glu Ser Met Cys Lys Val Ile
 AGC AAA CTA GGA AAT GAC AGT GCC TCT GCC AAC ATC ACC ATT GTC GAG 197
 Ser Lys Leu Gly Asn Asp Ser Ala Ser Ala Asn Ile Arg Ile Val Glu
 TCA AAC GGT AAG AGA TGC CTA CTG CGT GCT ATT TCT CAG TCT CTA AGA 245
 Ser Asn Gly Lys Arg Cys Leu Leu Arg Ala Ile Ser Gln Ser Leu Arg
 GGA GTG ATC AAG GTA TGT GGT CAC ACT TGA ATC ACG CAG CTG TGT GAA 293
 Gly Val Ile Lys Val Cys Gly His Thr Xaa Ile Thr Gln Val Cys Glu
 ATC TCA TTG TGA ACA AAT AAA AAT CAT GAA AGG AAA ACT CTA TGT TTG 341
 Ile Ser Cys Xaa Thr Asn Lys Asn His Glu Arg Lys Thr Leu Cys Leu
 AAA TAT CTT ATG GGT CCT CCT GTA AAG CTC TTC ACT CCA TAA GGT GAA 389
 Lys Tyr Leu Met Gly Pro Pro Val Lys Leu Phe Thr Pro Xaa Gly Glu
 ATA GAC CTG AAA TAT ATA TAG ATT ATT T 417
 Ile Asp Leu Lys Tyr Ile Xaa Ile Ile

FIG. 22

Putative Bovine Factor II Gene Sequences

(SEQ ID NO: 89) TCTAA AAC TAC AGA GAC TGT ATT TTC ATG ATC ATA GTT CTG TGA AAT ATA 53
 (SEQ ID NO: 196) Asn Tyr Arg Asp Cys Ile Phe Met Ile Ile Val Leu Xaa Asn Ile

CTT AAA CCG CTT TGG TCC TGA TCT TGT AGG AAG TCA GAA CTT CGC ATT 101
 Leu Lys Pro Leu Trp Ser Xaa Ser Cys Arg Lys Ser Glu Leu Arg Ile

AGC AAA GCG TCA CTG GCT GAT TCT GGA GAA TAT ATG TGC AAA GTG ATC 149
 Ser Lys Ala Ser Leu Ala Asp Ser Gly Glu Ser Met Cys Lys Val Ile

AGC AAA CTA GGA AAT GAC AGT GCC TCT GCC AAC ATC ACC AAT CTC GAG 197
 Ser Lys Leu Gly Asn Asp Ser Ala Ser Ala Asn Ile Arg Ile Val Glu

TCA AAC GGT AAG AGA TGC CTA CTG CGT GCT ATT TCT CAG TCT CTA AGA 245
 Ser Asn Gly Lys Arg Cys Leu Leu Arg Ala Ile Ser Glu Ser Leu Arg

GGA GTG ATC AAG GTA TGT GGT CAC ACT TGA ATC ACG CAG GTG TGT GAA 293
 Gly Val Ile Lys Val Cys Gly His Thr Xaa Ile Thr Gln Val Cys Glu

ATC TCA TTG TGA ACA AAT AAA AAT CAT GAA AGG AAA ACT CTA TGT TTG 341
 Ile Ser Cys Xaa Thr Asn Lys Asn His Glu Arg Lys Thr Leu Cys Leu

AAA TAT CTT ATG GGT CCT CCT GTA AAG CTC TTC ACT CCA TAA GGT GAA 389
 Lys Tyr Leu Met Gly Pro Pro Val Lys Leu Phe Thr Pro Xaa Gly Glu

ATA GAC CTG AAA TAT ATA TAG AAT AAT T 417
 Ile Asp Leu Lys Tyr Ile Xaa Ile Ile

FIG. 23A

PCR Primers for Factor I & Factor II

Degenerate PCR Primers

Oligo Sequence	Peptide	(SEQ ID NO:)
657 CCGAATTCTGCAGGARACNCARCCNGAYCCNNG!	GGFI-17	(SEQ ID NO: 90)
658 AAGGATCCTGCAGNGTRTANGCNCCHATNACCATNGG!	GGFI-17	(SEQ ID NO: 91)
667 CCGAATTCTGCAGGCNGAYTCNGGNGARTAYATG!	GGFII-12	(SEQ ID NO: 92)
668 CCGAATTCTGCAGGCNGAYATYGGNGARTAYAT!	GGFII-12	(SEQ ID NO: 93)
669 AAGGATCCTGCAGNNCATRTAYTCNCCNGARTIC!	GGFII-12	(SEQ ID NO: 94)
670 AAGGATCCTGCAGNNCATRTAYTCNCCRRTRTC!	GGFII-12	(SEQ ID NO: 95)
671 CCGAATTCTGCAGCAYCARGTNTGGCNCNAA!	GGFII-1	(SEQ ID NO: 96)
672 CCGAATTCTGCAGATRTTYTYATGGARCCNGARG!	GGFII-2	(SEQ ID NO: 97)
673 CCGAATTCTGCAGGGGNCNCNCNGCNTTYCCNGT!	GGFII-3	(SEQ ID NO: 98)
674 CCGAATTCTGCAGTGGTTYGTNGTNATHGARGG!	GGFII-4	(SEQ ID NO: 99)
677 AAGGATCCTGCAGYTNNGCNGCCCCANACYTGRIG!	GGFII-1	(SEQ ID NO: 100)
678 AAGGATCCTGCAGGCYTCNGGYTCCATRAARA!	GGFII-2	(SEQ ID NO: 101)
679 AAGGATCCTGCAGACNNGRAANGCNGGNGNCC!	GGFII-3	(SEQ ID NO: 102)
680 AAGGATCCTGCAGYTNCCYTCDATNACNACRAAC!	GGFII-4	(SEQ ID NO: 103)
681 CATRTAYTCRTAYTCNCGCAAGGATCCTGCAG!	GGFI-2	(SEQ ID NO: 104)
682 CCGAATTCTGCAGAARGGNGAYGCNCAVACNGA!	GGFI-1	(SEQ ID NO: 105)
683 GCNGCYAANGCYRITYTNGCAAGGATCCTGCAG!	GGFI-14	(SEQ ID NO: 106)
684 GCNGCNAGNGCYTCYTTNGCAAGGATCCTGCAG!	GGFI-14.	(SEQ ID NO: 107)
685 TCNGCRAARTANCCNGCAAGGATCCTGCAG!	GGFII-1	(SEQ ID NO: 108)

FIG. 23B

PCR Primers for Factor I & Factor II

Unique PCR Primers for Factor II

711	712	713	721	722	725	726	771	772	773	776
CATCGATCTGCAGGCTGATTCTGGAGAATATATGTGCA!	AAGGATCCTGCAGGCCACATCTCGAGTCGACATCGATTT!	CCGAATTTCTGCAGTGCATCAGCAAACCTAGGAAATGACA!	CATCGATCTGCAGCCTAGTTTGTGTGATCACCTTTGCAC!	AAGGATCCTGCAGTATATTTCTCCAGAAATCAGCCAGTG!	AAGGATCCTGCAGGCACGCAGTAGGCATCTCTTA!	CCGAATTTCTGCAGCAGAACTTGGCATTAGCAAAAGC!	CATCCCGGGATGAAGAGTCAGGAGTCTGTGGCA!	ATACCCGGGCTGCAGACAATGAGATTTCCACACACCTGCCG!	AAGGATCCTGCAGTTTGGAACTTCCACAGACTCCT!	ATACCCGGGCTGCAGATGAGATTTCCACACACCTGCCGTGA!
(SEQ ID NO: 109)	(SEQ ID NO: 110)	(SEQ ID NO: 111)	(SEQ ID NO: 112)	(SEQ ID NO: 113)	(SEQ ID NO: 114)	(SEQ ID NO: 115)	(SEQ ID NO: 116)	(SEQ ID NO: 117)	(SEQ ID NO: 118)	(SEQ ID NO: 119)
3' RACE	3' RACE	3' RACE	5' RACE	5' RACE; ANCHORED	EXON A	EXON A	EXONS B+A	ANCHORED	ANCHORED	EXONS B+A
Comment										

FIG. 24
Summary of Contiguous GGF-II
cDNA Structures & Sequences

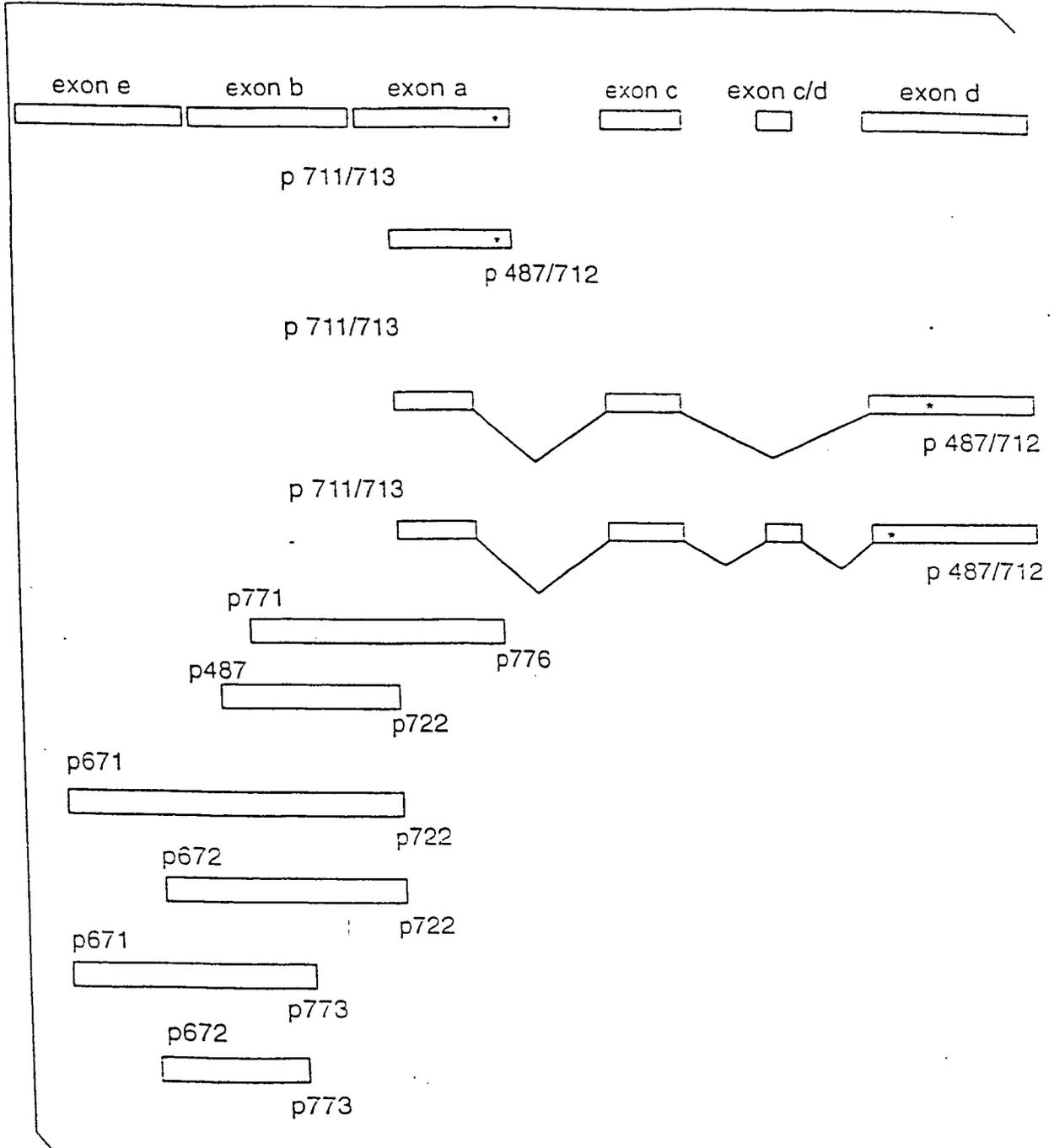


FIG. 25

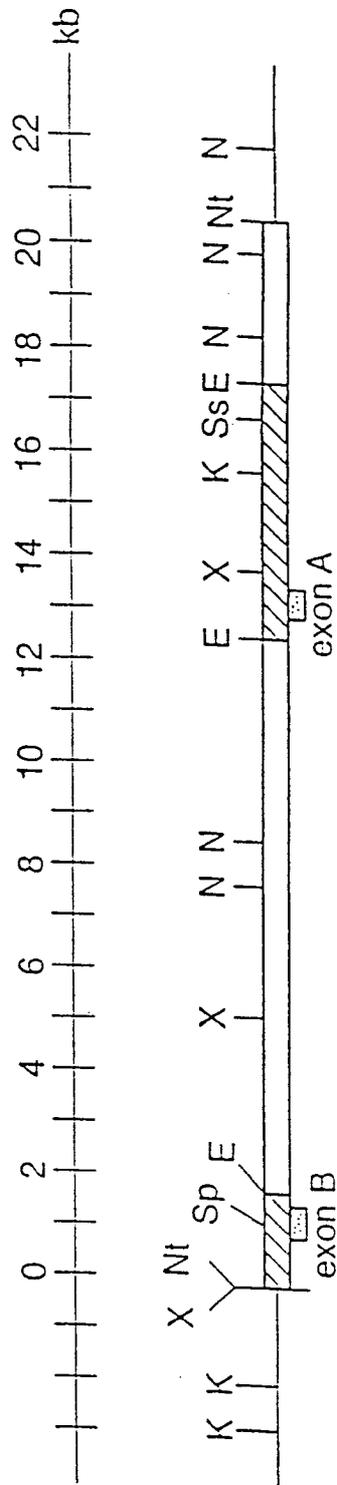


FIG. 26
Alternative Gene Products of Putative Bovine GGF-II

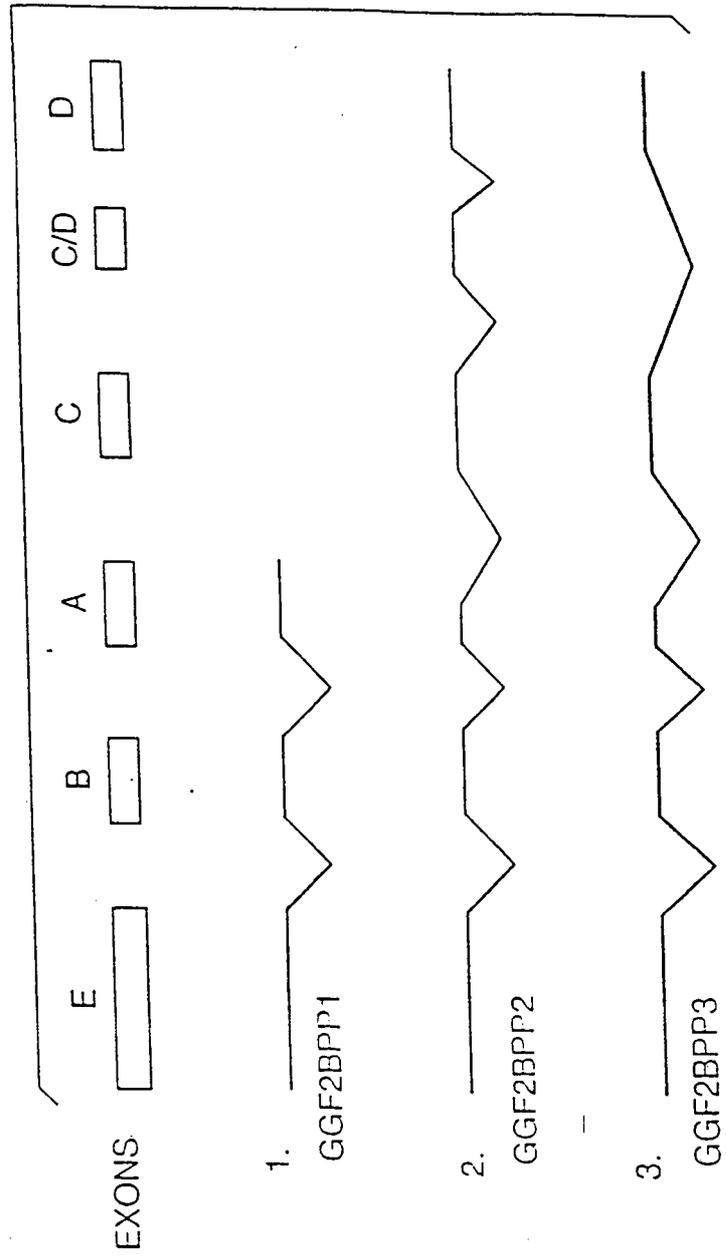


FIG. 27

GGF-II Peptides Identified in Deduced Amino Acid
Sequences of Putative Bovine GGF-II Proteins

Peptide	Pos.	Sequence match	ID Sequences
II-1	1:	VHQVWAAK HQVWAAK AAGLK	(SEQ ID NO:45) (SEQ ID NO:120)
II-10	14:	DLLLXV GGLKK dslltv RLGAW	(SEQ ID NO:53) (SEQ ID NO:121)
II-03	21:	LGAWGPPAFFVXY LLTVR lgawghpafpsc RLKED	(SEQ ID NO:122) (SEQ ID NO:123)
II-02	41:	YIFFMEPEAXSSG KEDSR YIFFMEPEANSSG GPGRL	(SEQ ID NO:124) (SEQ ID NO:125)
II-6	103:	LVLR VAGSK LVLR CETSS	(SEQ ID NO:42) (SEQ ID NO:126)
I-18	112:	EYKCLKFKWFKKATVM CETSS eysslkfkfwkngsel SRKNK	(SEQ ID NO:127) (SEQ ID NO:128)
II-12	151:	KASLADSGEYMXK ELRIS KASLADSGEYMCK VISKL	(SEQ ID NO:52) (SEQ ID NO:130)
I-07	152:	ASLADYEYMPK LRISK asladseymck VISKL	(SEQ ID NO:131) (SEQ ID NO:132)

FIG. 28A

CCTGCAG CAT CAA GTG TGG GCG GCG AAA GCC GGG GGC TTG AAG AAG CAC TCG CTG 55
 His Gln Val Trp Ala Ala Lys Ala Gly Gly Leu Lys Lys Asp Ser Leu
 (SEQ ID NO: 133) CTC ACC GTG CGC CTG GGC GCC TGG GGC CAC CCC GCC TTC CCC TCC TGC 103
 (SEQ ID NO: 190) Leu Thr Val Arg Leu Gly Ala Trp Gly His Pro Ala Phe Pro Ser Cys
 GGG CGC CTC AAG GAG GAC AGC AGG TAC ATC TTC TTC ATG GAG CCC GAG 151
 Gly Arg Leu Lys Glu Asp Ser Arg Tyr Ile Phe Phe Met Glu Pro Glu
 GCC AAC AGC AGC GGC GCC CCG CGC CTT CCG AGC CTC CTT CCC CCC 199
 Ala Asn Ser Ser Gly Pro Gly Arg Leu Pro Ser Leu Leu Pro Pro
 TCT CGA GAC GGG CCG GAA CCT CAA GAA GGA GGT CAG CCG GGT GCT GTG 247
 Ser Arg Asp Gly Pro Glu Pro Gln Glu Gly Gly Gln Pro Gly Ala Val
 CAA CGG TGC GCC TTT CCT CCC CGC TTT AAA GAG ATG AAG AGT CAG GAG 295
 Gln Arg Cys Ala Leu Pro Pro Arg Leu Lys Glu Met Lys Ser Gln Glu
 TCT GTG GCA GGT TCC AAA CTA GTG CTT CCG TCC GAG ACC AGT TCT GAA 343
 Ser Val Ala Gly Ser Lys Leu Val Leu,Arg Cys Glu Thr Ser Ser Glu
 TAC TCC TCT CTC AAG TTC AAG TGG TTC AAG AAT GGG AGT GAA TTA AGC 391
 Tyr Ser Ser Leu Lys Phe Lys,Trp Phe Lys Asn Gly Ser Glu Leu Ser
 CGA AAG AAC AAA CCA GAA AAC ATC AAG ATA CAG AAA AGG CCG GGG AAG 439
 Arg Lys Asn Lys Pro Glu Asn Ile Lys Ile Gln Lys Arg Pro Gly Lys
 TCA GAA CTT CGC AAT AGC AAA GCG TCA CTC GCT GAT TCT GGA GAA TAT 487
 Ser Glu Leu Arg Ile Ser Lys Ala Ser Leu Ala Asp Ser Gly Glu Tyr
 ATG TGC AAA GTG ATC AGC AAA CTA GGA AAT CAC AGT GCC TCT GCC AAC 535
 Met Cys Lys Val Ile Ser Lys Leu Gly Asn Asp Ser Ala Ser Ala Asn
 ATC ACC AAT GTG GAG TCA AAC GGT AAG AGA TGC CTA CTG CGT GCT AAT 583
 Ile Thr Ile Val Glu Ser Asn Gly Lys Arg Cys Leu Leu Arg Ala Ile
 TCT CAG TCT CTA AGA GGA GTG ATC AAG GTA TGT GGT CAC ACT 625
 Ser Gln Ser Leu Arg Gly Val Ile Lys Val Cys Gly His Thr
 TGAATCACCG AGGTGTGTGA AATCTCATTG TGAACAATA AAAAAATAA AAGGAAAAA 685
 AAAAAAAAAA AATCGATGTC GACTCGAGAT GTGGCTGCAG GTCCACTCTA GAGGATCCC 744

FIG. 28B

Nucleotide Sequences & Deduced Amino Acid Sequences of GGF2BPPP2

SEQ ID NO: 134) C C T G C A G C A T C A A G T G T G G C G C A A G C C G G G G G C T T G A A G A A G G A C T C G C T G 55
 SEQ ID NO: 191) His Gln Val Trp Ala Ala Lys Ala Lys Ala Gly Gly Leu Lys Asp Ser Leu

CTC ACC GTG CGC CTG GGC GCC TGG GGC CAC CCC GCC TTC CCC TCC TGC 103
 Leu Thr Val Arg Leu Gly Ala Trp Gly His Pro Ala Phe Pro Ser Cys

GGG CGC CTC AAG GAG GAC AGC AGG TAC ATC TTC TTC ATG GAG CCC GAG 151
 Gly Arg Leu Lys Glu Asp Ser Arg Tyr Ile Phe Phe Met Glu Pro Glu

GCC AAC AGC AGC GGC GGC CCC GGC CGC CTT CCG AGC CTC CTT CCC CCC 199
 Ala Lys Ser Ser Gly Gly Pro Gly Arg Leu Pro Ser Leu Leu Pro Pro

TCT CGA GAC GGC CCG GAA CCT CAA GAA GGA GGT CAG CCG GGT GCT GTG 247
 Ser Arg Asp Gly Pro Glu Pro Gln Glu Gly Gly Gln Pro Gly Ala Val

CAA CGG TGC GCC TTG CCT CCC CGC TTG AAA GAG ATG AAG AGT CAG GAG 295
 Gln Arg Cys Ala Leu Pro Pro Arg Leu Lys Glu Met Lys Ser Gln Glu

TCT GTG GCA GGT TCC AAA CTA GTG CTT CGG TGC GAG ACC AGT TCT GAA 343
 Ser Val Ala Gly Ser Lys Leu Val Leu Arg Cys Glu Thr Ser Ser Glu

TAC TCC TCT CTC AAG TTC AAG TGG TTC AAG AAT GGG AGT GAA TTA AGC 391
 Tyr Ser Ser Ser Leu Lys Phe Lys Trp Phe Lys Asn Gly Ser Glu Leu Ser

CGA AAG AAC AAA CCA GAA AAC ATC AAG ATA CAG AAA AGG CCG GGG AAG 439
 Arg Lys Asn Lys Gly Gly Asn Ile Lys Ile Gln Lys Arg Pro Gly Lys

TCA GAA CTT CGC ATT AGC AAA GCG TCA CTG GCT GAT TCT GGA GAA TAT 487
 Ser Glu Leu Arg Ile Ser Lys Ala Ser Leu Ala Asp Ser Gly Glu Tyr

ATG TGC AAA GTG ATC AGC AAA CTA GGA AAT GAC AGT GCC TCT GCC AAC 535
 Met Cys Lys Val Ile Ser Lys Leu Gly Asn Asp Ser Ala Ser Ala Asn

FIG. 28C

Nucleotide Sequences & Deduced Amino Acid Sequences of 66F2BPP2

ATC ACC ATT GTG GAG TCA AAC GCC ACA TCC ACA TCT ACA GCT GGG ACA
 Ile Thr Ile Val Glu Ser Asn Ala Thr Ser Thr Ser Thr Ala Gly Thr 583
 AGC CAT CTT GTC AAG TGT GCA GAG AAG GAG AAA ACT TTC TGT GTG AAT
 Ser His Leu Val Lys Ser Ala Glu Lys Glu Lys Thr Phe Cys Val Asn 631
 GGA GGC GAG TGC TTC ATG GTG AAA GAC CTT TCA AAT CCC TCA AGA TAC
 Gly Glu Glu Cys Phe Met Val Lys Asp Leu Ser Asn Pro Ser Arg Tyr 679
 TTG TGC AAG TGC CAA CCT GGA TTC ACT GGA GCG AGA TGT ACT GAG AAT
 Leu Cys Lys Cys Gln Pro Gly Phe Thr Gly Ala Arg Cys Thr Glu Asn 727
 GTG CCC ATG AAA GTC CAA ACC CAA GAA AGT GCC CAA ATG AGT TTA CTG
 Val Pro Met Lys Val Gln Thr Gln Glu Ser Ala Gln Met Ser Leu Leu 775
 GTG ATC GCT GCC AAA ACT ACC TAATGGCCAG CTTCTACAGT ACGTCCACTC
 Val Ile Ala Ala Lys Thr Thr 826
 CCTTCTCTTC TCTGCCCTGAA TAGCGCCTCT CAGTCCGGTGC CCGTTCTTGT TGGCCGCATC 886
 TCCCCCTCAGA TTCCCTCCTAG AGCTAGATGC GTTTTACCAG GTCTAACATT GACTGCCCTCT 946
 GCCTGTCCGA TGAGAACATT AACACAAGCG ATTGTATGAC TTCCCTCTGTC CGTGACTAGT 1006
 GGGCTCTGAG CTACTCGTAG GTCCGFMAGG CTCCAGTGT TCTGAAATTG ATCTTGAAAT 1066
 ACTGTGATAC GACATGATAG TCCCTCTCAC CCAGTGCAAT GACAATAAAG GCCTTGAAAA 1126
 GTCAAAAAA AAAAAAAAAA AAAAAATCGA TGTCGACTCG AGATGTGGCT GCAGGTCCGAC 1186
 TCTAGAG 1193

FIG. 28D

Nucleotide Sequences & Deduced Amino Acid Sequences of GGF2BPP3

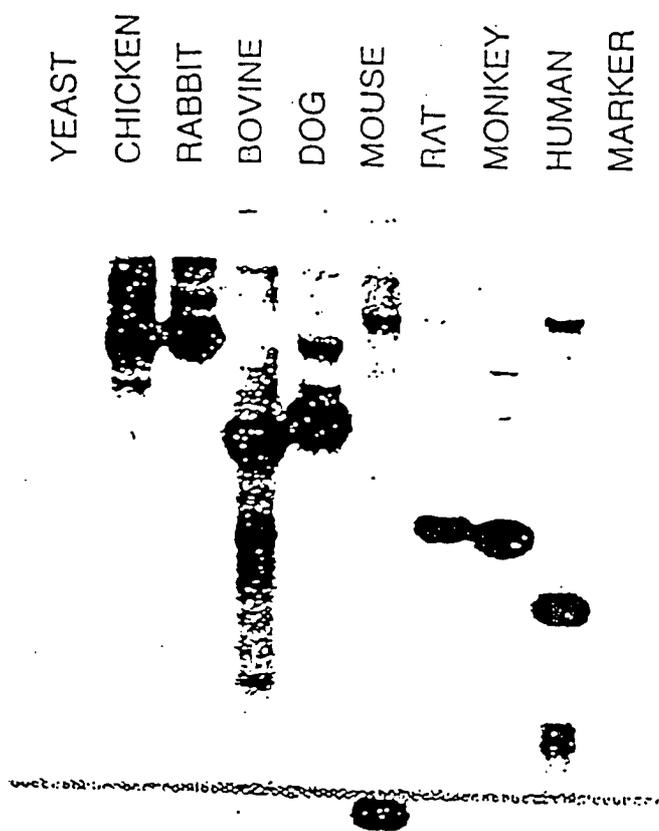
(SEQ ID NO: 135)	CCTGCAG	CAT	CAA	GTG	TGG	GCG	GCG	AAA	GCC	GGG	GGC	TTG	AAG	AAG	GAC	TCG	CTG	55
		His	Gln	Val	Trp	Ala	Ala	Lys	Ala	Gly	Gly	Leu	Lys	Lys	Asp	Ser	Leu	
(SEQ ID NO: 193)																		103
	CTC	ACC	GTG	CGC	CTG	GCC	GCC	TGG	GGC	CAC	CCC	GCC	TTC	CCC	TCC	TGC		
	Leu	Thr	Val	Val	Arg	Leu	Gly	Ala	Trp	Gly	His	Pro	Ala	Phe	Pro	Ser	Cys	
	GGG	CGC	CTC	AAG	GAG	GAC	AGC	AGG	AGC	TAC	ATC	TTC	ATG	GAG	CCC	GAG		151
	Gly	Arg	Leu	Lys	Glu	Asp	Ser	Arg	Tyr	Ile	Phe	Phe	Met	Glu	Pro	Glu		
	GCC	AAC	AGC	AGC	GGC	GGC	CCC	GGC	CGC	CGC	CTT	CCG	AGC	CTC	CTT	CCC	CCC	199
	Ala	Asn	Ser	Ser	Gly	Gly	Pro	Gly	Arg	Leu	Pro	Ser	Leu	Leu	Pro	Pro		
	TCT	CGA	GAC	GGG	CCG	GAA	CCT	CAA	GAA	GGA	GGT	CAG	CCG	GGT	GCT	GTG		247
	Ser	Arg	Asp	Gly	Pro	Glu	Pro	Gln	Glu	Gly	Gly	Gln	Pro	Gly	Ala	Val		
	CAA	CGG	TGC	GCC	TTG	CCT	CCC	CGC	TTG	AAA	GAG	ATC	AAG	ACT	CAG	GAG		295
	Gln	Arg	Cys	Ala	Leu	Pro	Pro	Arg	Leu	Lys	Glu	Met	Lys	Ser	Gln	Glu		
	TCT	GTG	GCA	GGT	TCC	AAA	CTA	GTG	CTT	CGG	TGC	GAG	ACC	AGT	TCT	GAA		343
	Ser	Val	Ala	Gly	Ser	Lys	Leu	Val	Leu	Arg	Cys	Glu	Thr	Ser	Ser	Glu		
	TAC	TCC	TCT	CTC	AAG	TTT	AAG	TGG	Trp	Phe	Lys	Asn	Gly	Ser	Glu	Ser		391
	Tyr	Ser	Ser	Leu	Lys	Lys	Phe	Lys	Trp	Phe	Lys	Asn	Gly	Ser	Glu	Ser		
	CGA	AAG	MAC	AAA	CCA	GAA	AAC	ATC	AAG	ATA	CAG	AAA	AGG	CCG	GGG	AAG		439
	Arg	Lys	Asn	Lys	Pro	Glu	Asn	Ile	Lys	Ile	Gln	Lys	Arg	Pro	Pro	Lys		
	TCA	GAA	CTT	CGC	ATT	AGC	AAA	GCG	TCA	CTG	GCT	GAT	TCT	GGA	GAA	TAT		487
	Ser	Glu	Leu	Arg	Ile	Ser	Lys	Ala	Ser	Leu	Ala	Asp	Ser	Gly	Glu	Tyr		

FIG. 28E

Nucleotide Sequences & Deduced Amino Acid Sequences of GGF2BPP3

535 ATG TGC AAA GTG ATC AGC AAA CTA GGA AAT GAC AGT GCC TCT GCC AAC
 Met Cys Lys Val Ile Ser Lys Lys Leu Gly Leu Gly Asn Asp Ser Ala Ser Ala Asn
 583 ATC ACC ATT GTG GAG TCA AAC GCC ACA TCC ACA TCT ACA GCT GGG ACA
Ile Arg Ile Val Glu Ser Asn Ala Thr Ser Thr Ser Thr Ala Gly Thr
 631 AGC CAT CTT GTC AAG TGT GCA GAG AAG GAG AAA ACT TTC TGT GTG AAT
 Ser His Leu Val Lys Cys Ala Glu Lys Glu Lys Thr Phe Cys Val Asn
 679 GGA GGC GAG TGC TTC ATG GTG AAA GAC CTT TCA AAT CCC TCA AGA TAC
 Gly Gly Glu Cys Phe Met Val Lys Asp Leu Ser Asn Pro Ser Arg Tyr
 727 TTG TGC AAG TGC CCA AAT GAG TTT ACT GGT GAT CGC TGC CAA AAC TAC
 Leu Cys Lys Cys Pro Asn Glu Phe Thr Gly Asp Arg Cys Gln Asn Tyr
 775 GTA ATG GCC AGC TTC TAC AGT ACG TCC ACT CCC TTT CTG TCT CTG CCT
 Val Met Ala Ser Phe Tyr Ser Thr Ser Thr Pro Phe Leu Ser Leu Pro
 838 GAA TAGCGCATCT CAGTCGGTGC CGCTTTCITG TTGCCCGCATC TCCCCCTCAGA TCCCGCCTAG
 Glu
 898 AGCTAGATGC GTTTACCAG GTCTAACATT GACTGCCCTCT GCCTGTGCGA TGAGAACATT
 958 AACACAAAGCG ATTGTATGAC TTCCTCTGTC CGTGACTAGT GGGCTCTGAG CTACTCGTAG
 1018 GTGGTAAGG CTCCAGTGTT TCTGAAATTC AICTTGAATTT ACTGTGNTAC GACNTGATAC
 1078 TCCCTCTCAC CCAGTGCAAT GACAATAAAG GCCTTGAAAA GTCAAAAAAA AAAAAAAA
 1108 AAAAAATCGAT GTCGACTCGA GATGTGGCTG

FIG. 29



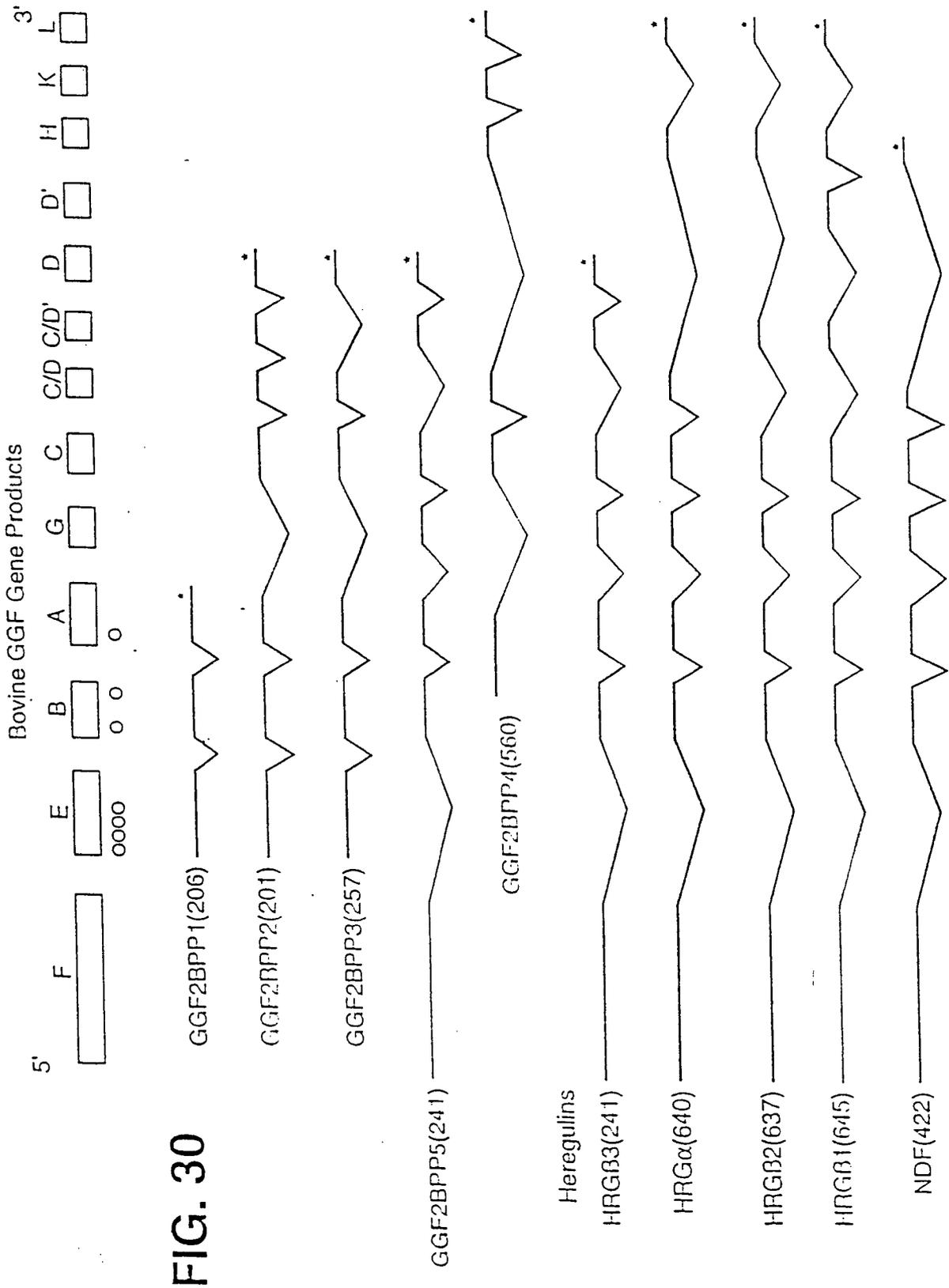


FIG. 30

FIG. 31A

CODING SEGMENT F:(bovine, top; human, bottom)

1 AGT¹TTCCCC CCNAACTTGT CGGAAC²TCTG GGCTCGCGCG CAGGGCAGGA GCGGAGCGGC 60

GGCGGCTGCC CAGGGGATGC GAGGGGGGGC CGGACGGTAA TCGCCTCTCC CTCCCTCGGGC 120

TGGAGCGCG CCGGACCGAG GCAGCGACAG GAGCGGACCG CGGCGGGAAC CGAGGACTCC 180

CCAGCGGGC GCCAGCAGGA GCCACCCCGC GAGNCGTGG ACCGGGACGG AGCGGCCCGCC 240

AG¹CCCCAGG¹ GGCCCCGACC GCAGTTGG TCCCCCGCGT CCCCCCGGC GACAGGAGAC 300

GCTCCCCCCC ACGCGCGCG CGCTCGGCC CGGTGGCTGG CCGGCCCTCA CTCCGGGGAC 360

||||| ||||||| ||||||| ||||||| ||||||| ||||||| ||||||| ||||||| ||||||| |||||||

CGCGAG CGCCTCAGCG CGGCCGCTCG CTCTC..CCC CTCGAGGGAC

2

AAACTTTTCC CGAAGCCGAT CCCAGCCCTC GGACCCAAAC TTGTGGCGCG TCGCCTTCGC 420

||||| ||||||| ||||||| ||||||| ||||||| ||||||| ||||||| ||||||| ||||||| |||||||

AAACTTTTCC CAAACCCGAT CCGAGCCCTT GGACCAA... ..C TCGCCTGCGC

3

CGGGAGCCCGT CCGCGCAGAG CGTGCAC¹TTC TCGGGCGAG ATG TCG GAG CGC AGA 474

||||| ||||||| ||||||| ||||||| ||||||| ||||||| ||||||| ||||||| ||||||| |||||||

CGAGAGCCGT CCGCGTAGAG CGCTC.CGTC TCCGGCGAG ATG TCC GAG CGC AAA^K

4

Glu Gly Lys Gly Lys Gly Lys Gly Lys Lys Asp Arg Gly Ser Gly 522

GAA GGC AAA GGC AAG GGG AAG GGC GGC AAG AAG GAG CGA GGC TCC GGG

||||| ||||||| ||||||| ||||||| ||||||| ||||||| ||||||| ||||||| ||||||| |||||||

GAA GGC AGA GGC AAA GGG AAG GGC AAG AAG AAG GAG CGA GGC TCC GGC

R E

Lys Lys Pro Val Pro Ala Ala Gly Gly Pro Ser Pro Ala

AAG AAG CCC GTG CCC GCG GCT GGC GGC CCC AGC CCA G

||||| ||||||| ||||||| ||||||| ||||||| ||||||| ||||||| ||||||| ||||||| |||||||

AAG AAG CCG GAG TCC GCG GCG GGC AGC CAG AGC CCA G

E S S

1. (SEQ ID NO: 136)

2. (SEQ ID NO: 173)

3. (SEQ ID NO: 197)

4. (SEQ ID NO: 209)

Coding Segments of Glial Growth Factor/Heregulin Gene

FIG. 31B

CODING SEGMENT E: (BOVINE)

(SEQ ID NO: 137)	CC	CAT	CAN	GTG	TGG	GCG	GCG	AAA	GCC	GGG	GCG	GGC	TTG	AAG	AAG	GAC	TCG	47
(SEQ ID NO: 198)		His	Gln	Val	Trp	Ala	Ala	Lys	Ala	Gly	Gly	Leu	Leu	Lys	Lys	Asp	Ser	
	CTG	CTC	ACC	GTG	CGC	CTG	GCC	GCC	TGG	GGC	CAC	CCC	GCC	TTC	TTC	CCC	TCC	95
	Leu	Leu	Thr	Val	Arg	Leu	Gly	Ala	Trp	Gly	His	Pro	Ala	Phe	Pro	Ser		
	TGC	GGG	CGC	CTC	AAG	GAG	GAC	AGC	AGG	TAC	ATC	TTC	TTC	ATG	GAG	CCC		143
	Cys	Gly	Arg	Leu	Lys	Glu	Asp	Ser	Arg	Tyr	Ile	Phe	Phe	Met	Glu	Pro		
	GAG	GCC	AAC	AGC	AGC	GGC	GGG	CCC	GGC	CGC	CTT	CCG	AGC	CTC	CTT	CCC		191
	Glu	Ala	Asn	Ser	Ser	Gly	Gly	Pro	Gly	Arg	Leu	Pro	Ser	Leu	Leu	Pro		
	CCC	TCT	CGA	GAC	GGG	CCG	GAA	CCT	CAA	GAA	GGT	GGT	CAG	CCG	GGT	GCT		239
	Pro	Ser	Arg	Asp	Gly	Pro	Glu	Pro	Gln	Glu	Gly	Gly	Gln	Pro	Gly	Ala		
	GTG	CAA	CGG	TGC	G													252
	Val	Gln	Arg	Cys														

FIG. 31E

CODING SEGMENT A'

(SEQ ID NO: 140)	TCTAAACTA CAGAGACTGT ATTTTCATGA TCATCATAGT TCTGTGAAAT ATACTTAAAC	60
(SEQ ID NO: 206)	CGCTTTGGTC CTGATCTTGT AGG AAG TCA GAA CTT CGC ATT AGC AAA GCG Lys Ser Glu Leu Arg Ile Ser Lys Ala	110
	TCA CTG GCT GAT TCT GGA GAA TAT ATG TGC AAA GTG ATC AGC AAA CTA Ser Leu Ala Asp Ser Gly Glu Tyr Met Cys Lys Val Ile Ser Lys Leu	158
	GGA AAT GAC AGT GCC TCT GCC AAC ATC ACC ATT GTG GAG TCA AAC GGT Gly Asn Asp Ser Ala Ser Ala Asn Ile Thr Ile Val Glu Ser Asn Gly	206
	AAG AGA TGC CTA CTG CGT GCT ATT TCT CAG TCT CTA AGA GGA GTG ATC Lys Arg Cys Leu Leu Arg Ala Ile Ser Glu Ser Leu Arg Gly Val Ile	254
	AAG GTA TGT GGT CAC ACT TGAATCACGC AGGTCTCTTGA AATCTCATTCG	302
	Lys Val Cys Gly His Thr	
	TGAACAAATA AAAATCATGA AAGGAAAACCT CTATGTTTGA AATATCTTTAT GGGTCCTCCT	362
	GTAAGCTCTT TCACCTCCATA AGGTGAAATA GACCTGAAAT ATATATAGAT TATTT	417

FIG. 31F

CODING SEGMENT G: (bovine, top; human, bottom)

SEQ ID NO: 201)Glu	Ile	Thr	Thr	Gly	Met	Pro	Ala	Ser	Thr	Glu	Thr	Ala	Tyr	Val	Ser	47
(SEQ ID NO: 141)AG	ATC	ACC	ACT	GGC	ATG	CCA	GCC	TCA	ACT	GAG	ACA	GCG	TAT	GTG	TCT	
(SEQ ID NO: 176)AG	ATC	ATC	ACT	GGT	ATG	CCA	GCC	TCA	ACT	GAA	GGA	GCA	TAT	GTG	TCT	
(SEQ ID NO: 213)				I						G						
Ser	Glu	Ser	Pro	Ile	Arg	Ile	Ser	Val	Ser	Thr	Glu	Gly	Thr	Asn	Thr	95
TCA	GAG	TCT	CCC	ATT	AGA	ATA	TCA	GTA	TCA	ACA	GAA	GGA	ACA	AAT	ACT	
TCA	GAG	TCT	CCC	ATT	AGA	ATA	TCA	GTA	TCC	ACA	GAA	GGA	GCA	AAT	ACT	
													A			
Ser	Ser	Ser														102
TCT	TCA	T														
TCT	TCA	T														

FIG. 31G

CODING SEGMENT C: (bovine, top; human, bottom)

(SEQ ID NO: 202) Thr Ser Thr Ser Thr Ala Gly Thr Ser His Leu Val Lys Cys Ala 47
(SEQ ID NO: 160)CC ACA TCC ACA TCT ACA TCT ACA ACC ACT GGG ACA AGC CAT CTT GTC AAG TGT GCA

|||||
|||||
(SEQ ID NO: 177)CT ACA TCT ACA TCC ACC ACT GGG ACA AGC CAT CTT GTA AAA TGT GCG
(SEQ ID NO: 214) T

Glu Lys Glu Lys Thr Phe Cys Val Asn Gly Gly Glu Cys Phe Met Val 95
GAG AAG GAG AAA ACT TTC TGT GTG AAT GGA GGC GAG TGC TTC ATG GTG
|||||
GAG AAG GAG AAA ACT TTC TGT GTG AAT GGA GGC GAG TGC TTC ATG GTG

Lys Asp Leu Ser Asn Pro Ser Arg Tyr Leu Cys 128
AAA GAC CTT TCA AAT CCC TCA AGA TAC TTG TGC
|||||
AAA GAC CTT TCA AAC CCC TCG AGA TAC TTG TGC

FIG. 31H

CODING SEGMENT C/D: (bovine, top; human, bottom)

1	Lys	Cys	Gln	Pro	Gly	Phe	Thr	Gly	Ala	Arg	Cys	Thr	Glu	Asn	Val	Pro	
2	AAAG	TGC	CAA	CCT	GGA	TTC	ACT	GGA	GCG	AGA	TGT	ACT	GAG	AAT	GTG	CCC	48
3	AAAG	TGC	CAA	CCT	GGA	TTC	ACT	GGA	GCA	AGA	TGT	ACT	GAG	AAT	GTG	CCC	
4																	
	Met	Lys	Val	Gln	Thr	Gln	Glu										69
	ATG	AAA	GTC	CAA	ACC	CAA	GAA										
	ATG	AAA	GTC	CAA	AAC	CAA	GAA										
							N										

- 1. (SEQ ID NO: 203)
- 2. (SEQ ID NO: 142)
- 3. (SEQ ID NO: 178)
- 4. (SEQ ID NO: 215)

FIG 31I CODING SEGMENT c/p' (bovine, top; human, bottom)
 (SEQ ID NO: 207) Lys Cys Pro Asn Glu Phe Thr Gly Asp Arg Cys Gln Asn Tyr Val Met
 (SEQ ID NO: 143) AAG TGC CCA AAT GAG TTT ACT GGT GAT CGC TGC CAA AAC AAC TAC GTA ATG
 |||| |||| |||| |||| |||| |||| |||| |||| |||| |||| |||| |||| ||||
 AAG TGC CCA AAT GAG TTT ACT GGT GAT CGC TGC CAA AAC TAC GTA ATG

48

Ala Ser Phe Tyr
 GCC AGC TTC TAC
 |||| |||| |||| ||||
 GCC AGC TTC TAC

60

FIG. 31J CODING SEGMENT D: (bovine, top; human, bottom)
 (SEQ ID NO: 208) Ser Thr Ser Thr Pro Phe Leu Ser Leu Pro Glu *
 (SEQ ID NO: 144) AGT ACG TCC ACT CCC TTT CTG TCT CTG CCT GAA TAG
 |||| |||| |||| |||| |||| |||| |||| |||| |||| |||| |||| ||||
 AGT ACG TCC ACT CCC TTT CTG TCT CTG CCT GAA TAG

36

FIG. 31K CODING SEGMENT D': (human)
 (SEQ ID NO: 216) Lys His Leu Gly Ile Glu Phe Met Glu
 (SEQ ID NO: 145) AAG CAT CTT GGG ATT GAA TTT ATG GAG

27

CODING SEGMENT II: (bovine, top; human, bottom)

FIG. 31L

(SEQ ID NO: 204) Lys Ala Glu Glu Leu Tyr Gln Lys Arg Val Leu Thr Ile Thr Gly Ile 48
 (SEQ ID NO: 146) AAA GCG GAG GAG CTC TAC CAG AAG AGA AGA GTG CTC ACC ATT ACC GGC ATT

(SEQ ID NO: 44) AAG GCG GAG GAG CTG TAC CAG AAG AGA GTG CTG ACC ATA ACC GGC ATC
 (SEQ ID NO: 217)

Cys Ile Ala Leu Leu Val Val Gly Ile Met Cys Val Val Val Tyr Cys 96
 TGC ATC GCG CTG CTC GTG GTT GGC ATC ATG TGT GTG GTG GTC TAC TGC
 TGC ATC GCC CTC CTT GTG GTC GGC ATC ATG TGT GTG GTG GCC TAC TGC

Lys Thr Lys Lys Gln Arg Lys Lys Leu His Asp Arg Leu Arg Gln Ser 144
 AAA ACC AAG AAA CAA CGG AAA AAG CTT CAT GAC CGG CTT CGG CAG AGC
 AAA ACC AAG AAA CAG CGG AAA AAG CTG CAT GAC CGT CTT CGG CAG AGC

Leu Arg Ser Glu Arg Asn Thr Met Met Asn Val Ala Asn Gly Pro His 192
 CTT CGG TCT GAA AGA AAC ACC ATG ATG AAC GTA GCC AAC GGC CCC CAC
 CTT CGG TCT GAA CGA AAC AAT ATG ATG AAC AAT GCC AAT GGC CCT CAC

His Pro Asn Pro Pro Pro Glu Asn Val Gln Leu Val Asn Gln Tyr Val 240
 CAC CCC AAT CCG CCC CCG GAG AAC GTG CAG CTG GTG AAT CAA TAC GTA
 CAT CCT AAC CCA CCC CCC GAG AAT GTC CAG CTG AAT CAA TAC GTA

Ser Lys Asn Val Ile Ser Ser Ser Glu His Ile Val Glu Arg Glu Ala Glu 288
 TCT AAA AAT CTC ATC TCT ACC GAG CAT AAT GTT GAG AGA GAG GCG GAG
 TCT AAA AAC GTC ATC TCC AGT GAG CAT ATT GTT GAG AGA GAA GCA GAG

FIG. 31N

CODING SEGMENT K: (HUMAN)

(SEQ ID NO: 161)	A	CAT	AAC	CTT	ATA	GCT	GAG	CTA	AGG	AGA	AAC	AAG	GCC	CAC	AGA	TCC	46
(SEQ ID NO: 218)		His	Asn	Leu	Ile	Ala	Glu	Leu	Arg	Arg	Asn	Lys	Ala	His	Arg	Ser	
	AAA	TGC	ATG	CAG	ATC	CAG	CIT	TCC	GCA	ACT	CAT	CTT	AGA	GCT	TCT	TCC	94
	Lys	Cys	Met	Gln	Ile	Gln	Leu	Ser	Ala	Thr	His	Leu	Arg	Ala	Ser	Ser	
	ATT	CCC	CAT	TGG	GCT	TCA	TTC	TCT	AAG	ACC	CCT	TGG	CCT	TTA	GGA	AG	141
	Ile	Pro	His	Trp	Ala	Ser	Phe	Ser	Lys	Thr	Pro	Trp	Pro	Leu	Gly	Arg	

FIG. 31P

Ile Val Glu Asp Glu Glu Tyr Glu Thr Thr Gln Glu Tyr Glu Pro Ala	
ATA GTG GAG GAT GAG GAA TAT GAA ACG ACC CAG GAG TAC GAA CCA GCT	334
ATA GTG GAG GAT GAG GAG TAT GAA ACG ACC CAA GAG TAC GAG CCA GCC	
Gln Glu Pro Val Lys Lys Leu Thr Asn Ser Ser Arg Arg Ala Lys Arg	
CAA GAG CCG GTT AAG AAA CTC ACC AAC AGC AGC CGG CGG GCC AAA AGA	382
CAA GAG CCT GTT AAG AAA CTC GCC AA. .T AGC CGG CGG GCC AAA AGA	
Thr Lys Pro Asn Gly His Ile Ala His Arg Leu Glu Met Asp Asn Asn	
ACC AAG CCC AAT GGT CAC AAT GCC CAC AGG TTG GAA ATG GAC AAC AAC	430
ACC AAG CCC AAT GGC CAC AAT GCT AAC AGA TTG GAA GTG GAC AGC AAC	
Thr Gly Ala Asp Ser Ser Asn Ser Glu Ser Glu Thr Glu Asp Glu Arg	
ACA GGC CCT GAC AGC AGT AAC TCA GAG AGC GAA ACA GAG GAT GAA AGA	478
ACA AGC TCC CAG AGC AGT AAC TCA GAG AGT GAA ACA GAA GAT GAA AGA	

(SEQ ID NO: 163)
(SEQ ID NO: 210)

FIG. 31R

HUMAN CODING SEGMENT E:

ATG AGA TGG CGA CGC GCC CGC CGC TCC GGG CGT CCC GGC CCC CCG CCG	48
Met Arg Trp Arg Arg Ala Pro Arg Arg Ser Gly Arg Pro Gly Pro Arg	
GCC CAG CGC CCC GGC TCC GCC GGC CGC TCG TCG CCG CCG CTG CCG CTG	96
Ala Gln Arg Pro Gly Ser Ala Ala Arg Ser Ser Pro Pro Leu Pro Leu	
CTG CCA CTA CTG CTG CTG GGG ACC GCG GCC CTG GCG CCG GGG CCG	144
Leu Pro Leu Leu Leu Leu Leu Gly Thr Ala Ala Leu Ala Pro Gly Ala	
GCG GCC GGC AAC GAG GCG GCT CCC GCG GCG TCG GTG TGC TAC TCG	192
Ala Ala Gly Asn Glu Ala Ala Ala Pro Ala Gly Ala Ser Val Cys Tyr Ser	
TCC CCG CCC AGC GTG GGA TCG GTG CAG GAG CTA GCT CAG CGC GCC CCG	240
Ser Pro Pro Ser Val Gly Ser Val His Pro Gln Glu Leu Ala Gln Arg Ala Ala	
GTG GTG ATC GAG GGA AAG GTG CAC CCG CAG CGG CAG CAG GGG GCA	288
Val Val Ile Glu Gly Lys Val His Pro Gln Arg Arg Arg Gln Gln Gly Ala	
CTC GAC AGG AAG GCG GCG GCG GCG GCA GAG GCG GCG TGG GGC	336
Leu Asp Arg Arg Lys Ala Ala Ala Ala Ala Gly Ala Ala Gly Ala Trp Gly	
GGC GAT CGC GAG CCG CCA GCC GCG CCA CCG GCG CTG GGG CCG CCC	384
Gly Asp Arg Glu Glu Pro Pro Ala Ala Gly Pro Arg Ala Leu Gly Pro Pro	
GCC GAG GAG CCG CTG CTC GCC GCC AAC GGG ACC GTG CCC TCT TGG CCC	432
Ala Glu Glu Pro Leu Leu Leu Ala Ala Ala Asn Gly Thr Val Pro Ser Trp Pro	
ACC GCC CCG GTG CCC AGC GCC GGC GAG CCC GGG GAG GAG CCG CCG TAT	480
Thr Ala Pro Val Pro Ser Ala Ala Gly Glu pro Gly Glu Ala Pro Tyr	
CTG GTG AAG GTG CAC CAG GTG TGG GCG GTG AAA GCC GGG GGC TTG AAG	528
Leu Val Lys Val His Gln Val Trp Ala Val Lys Ala Gly Gly Leu Lys	
AAG GAC TCG CTG CTC ACC GTG CGC CTG GGG ACC TGG GGC CAC CCC GCC	576
Lys Asp Ser Leu Leu Thr Val Arg Leu Leu Gly Thr Trp Gly His Pro Ala	
TTC CCC TCC TGC GGG AGG CTC AAG GAG GAC AGC AGG TAC ATC TTC TTC	624
Phe Pro Ser Cys Gly Arg Leu Lys Glu Asp Ser Arg Tyr Ile Phe Phe	
ATG GAG CCC GAC GCC AAC AGC ACC AGC CGC CCG GCG CCC TTC CGA	672
Met Glu Pro Asp Ala Asn Ser Thr Ser Arg Ala Pro Ala Ala Phe Arg	
GCC TCT TTC CCC CCT CTG GAG ACG GGC CCG AAC CTC AAG AAG GAG GTC	720
Ala Ser Phe Pro Pro Leu Leu Thr Gly Arg Asn Leu Lys Lys Glu Val	
AGC CCG GTC TGC AAG CCG TGC G	745
Ser Arg Val Leu Cys Lys Arg Cys	

FIG. 32A

GGF2BPP5 Nucleotide Sequence & Deduced Protein Sequence

(SEQ ID NO: 148)	AGTTTCCCCC	60
	AGTTTCCCCC CCCAACTTGT CGGAACCTCTG GGCTCGGGG CAGGGCAGGA GCGGAGCGGC	
	GGCGGCTGCC CAGGCGATGC GAGCGGGGC CGGACGGTAA TCGCCTCTCC CTCCTCGGGC	120
	TGGAGCGGG CCGGACCGAG GCAGCGACAG GAGCGGACCG CGGCGGGAAC CGAGGACTCC	180
	CCAGCGGGC GCCAGCAGGA GCCACCCCG GAGCGTGCGA CCGGGACGGA GCGCCCCGCCA	240
	GTCCCAGGTG GCGCGGACCG CACGTTGCGT CCGCGCGCTC CCGCGCGGCG ACAGGAGAGC	300
	CTCCCCCCCC CGCGCGGGC GCCTCGGGCC GGTCGCTGGC CCGCCTCCAC TCCGGGGACA	360
	AACTTTTCCC GAAGCCGATC CCAGCCCTCG GACCCAAACT TGTCGCCCGT CCGCTTCGCC	420
	GGFAGCCGTC CGCGCAGAGC GTGCACTTCT CCGGGGAG ATG TCG GAG CGC AGA	475
(SEQ ID NO: 195)	Met Ser Glu Arg Arg	
	GAA GGC AAA GGC MAG GGG MAG GGC GGC AAG MAG GAC CGA GGC TCC GGG	523
	Glu Gly Lys Lys Gly Lys Lys Gly Lys Lys Asp Arg Gly Ser Gly	
	AAG AAG CCC GTG CCC GCG GCT GGC GGC CCG AGC CCA GCC TTG CCT CCC	571
	Lys Lys Pro Val Pro Ala Ala Gly Gly Pro Ser Pro Ala Leu Pro Pro	
	CGC TTG AAA GAG ATG AAG ATG CAG GAG TCT GTG GCA GCT TCC AAA CTA	619
	Arg Leu Lys Lys Glu Met Lys Met Gln Glu Ser Val Ala Gly Ser Lys Leu	
	GTG CTT CGG TGC GAG ACC AGT TCT GAA TAC TCC TCT CTC AAG TTC AAG	667
	Val Leu Arg Cys Glu Thr Ser Ser Glu Tyr Ser Ser Leu Lys Phe Lys	
	TGG TTC AAG AAT GGG AGT GAA TTA AGC CGA AAG AAC AAA CCA CAA AAC	715
	Trp Phe Lys Asn Gly Ser Glu Leu Ser Arg Lys Asn Lys Pro Gln Asn	
	ATC AAG ATA CAG AAA AGG CCG GGG AAG TCA GAA CTT CGC ATT AGC AAA	763
	Ile Lys Ile Gln Lys Arg Pro Gly Lys Ser Glu Leu Arg Ile Ser Lys	
	GCG TCA CTG GCT GAT TCT GGA GAA TAT ATG TGC AAA GTG ATC AGC AAA	811
	Ala Ser Leu Ala Asp Ser Gly Glu Tyr Met Cys Lys Val Ile Ser Lys	

FIG. 32B

GGF2BPP5 Nucleotide Sequence & Deduced Protein Sequence

C/T	GCA	AAT	GAC	AGT	GCC	TCT	GCC	AAC	ATC	ACC	ATT	GTG	GAG	TCA	AAC	859
Leu	Gly	Asn	Asp	Ser	Ala	Ser	Ala	Asn	Ile	Thr	Ile	Val	Glu	Ser	Asn	
GAG	ATC	ACC	ACT	GGC	ATG	CCA	GCC	TCA	ACT	GAG	ACA	CGG	TAT	GTG	TCT	907
Glu	Ile	Thr	Thr	Gly	Met	Pro	Ala	Ser	Thr	Glu	Thr	Ala	Tyr	Val	Ser	
TCA	GAG	TCT	CCT	ATT	AGA	ATA	TCA	GTA	TCA	ACA	GAA	GGA	ACA	AAT	ACT	955
Ser	Glu	Ser	Pro	Ile	Arg	Ile	Ser	Val	Ser	Thr	Glu	Gly	Thr	Asn	Thr	
TCT	TCA	TCC	ACA	TCC	ACA	TCT	ACA	GCT	GGG	ACA	AGC	CAT	CTT	GTC	AAG	1003
Ser	Ser	Ser	Thr	Ser	Thr	Ser	Thr	Ala	Gly	Thr	Ser	His	Leu	Val	Lys	
TGT	GCA	GAG	AAG	GAG	AAA	ACT	TTC	TGT	GAG	AAT	GGA	GGC	GAG	TGC	TTC	1051
Cys	Ala	Glu	Lys	Glu	Lys	Thr	Phe	Cys	Val	Asn	Gly	Gly	Glu	Cys	Phe	
ATG	GTG	AAA	GAC	CTT	TCA	AAT	CCC	TCA	AGA	TAC	TTG	TGC	AAG	TGC	CCA	1099
Met	Val	Lys	Asp	Leu	Ser	Asn	Pro	Ser	Arg	Tyr	Leu	Cys	Lys	Cys	Pro	
AAT	GAG	TTT	ACT	GGT	GAT	CGC	TGC	CAA	AAC	TAC	GTA	ATG	GCC	AGC	TTC	1147
Asn	Glu	Phe	Thr	Gly	Asp	Arg	Cys	Gln	Asn	Tyr	Val	Met	Ala	Ser	Phe	
TAC	AGT	ACG	TCC	ACT	CCC	TCT	CTG	TCT	CTG	CCT	GAA	TAG	CCG	CAATG		1193
Tyr	Ser	Thr	Ser	Thr	Pro	Phe	Leu	Ser	Leu	Pro	Glu					
CTCAGT	CGGT	GCCGC	TCT	TGT	TGGCCGCA	TCT	CCCCCTCA	GAT	TCA	ACC	T	AGAGC	TAGAT			1253
GC	GT	T	T	A	C	A	C	A	C	A	C	A	C	A	C	1313
CGATT	GTATG	ACTT	CCCTCTG	TCCG	TGACTA	GTGG	GGCTCTG	AGCT	TACT	CTCG	TAA	AGGT	GC	GTAA		1373
GGCT	CCAGTG	T	T	CT	CGAAAT	TGAT	CTT	TGAA	T	T	ACT	T	T	GT		1433
ACCC	AGTGCA	ATGAC	AATAA	AGGC	CTT	GAA	AAG	TCT	CACT	T	T	T	T	T		1493
CGT	CCACGG	GACAG	TCCC	T	CTT	CTT	ATA	AAAT	GACCC	T	ATCC	TT	GAA	AGG		1553
TTA	AGTTGTA	ACCAG	TACAC	ACT	TGAAATG	ATGG	TAA	AGTT	CGCT	T	CGG	T	CGG	T		1613
TCT	TTCTGAC	AAATA	AACAG	AATA	AAAAAA	AAAA	AAAA	AAAA	AAAA	AAAA	A					1654

FIG. 33A

GGF2BPP2 Nucleotide Sequence & Deduced Protein Sequence

(SEQ ID NO: 149)	CAT CAN GTG TGG GCG GCG AAA GCC GGG GGC TTG AAG AAG GAC TCG CTG	48
(SEQ ID NO: 192)	His Gln Val Trp Ala Ala Lys Ala Gly Gly Leu Lys Lys Asp Ser Leu	
	CTC ACC GTG CGC CTG GGC GCC TGG GGC CAC CCC GCC TTC CCC TCC TGC	96
	Leu Thr Val Arg Leu Gly Ala Trp Gly His Pro Ala Phe Pro Ser Cys	
	GGG CGC CTC AAG GAG GAC AGC AGG TAC ATC TTC ATG GAG CCC GAG	144
	Gly Arg Leu Lys Glu Asp Ser Arg Tyr Ile Phe Met Glu Pro Glu	
	GCC AAC AGC AGC GGC GGC GCC CTT CCG AGC CTC CTT CCC CCC	192
	Ala Asn Ser Ser Gly Gly Pro Gly Arg Leu Pro Ser Leu Leu Pro Pro	
	TCT CGA GAC GGC CCG GAA CCT CAA GGA GGT CAG CCG GGT GCT GTG	240
	Ser Arg Asp Gly Pro Glu Pro Gln Glu Gly Gln Pro Gly Ala Val	
	CAA CGG TGC GCC TTG CCT CCC CGC TTG AAA GAG ATG AAG AGT CAG GAG	288
	Gln Arg Cys Ala Leu Pro Pro Arg Leu Lys Glu Met Lys Ser Gln Glu	
	TCT GTG GCA GGT TCC AAA CTA CTG CTT CCG TGC GAG ACC ACT TCT GAA	336
	Ser Val Ala Gly Ser Lys Leu Val Leu Arg Cys Glu Thr Ser Ser Glu	
	TAC TCC TCT CTC AAG TTC AAG TGG TTC AAG AAT GGG AGT GAA TTA AGC	384
	Tyr Ser Ser Leu Lys Phe Lys Trp Phe Lys Asn Gly Ser Glu Leu Ser	
	CGA AAG AAC AAA CCA GAA AAC ATC AAG ATA CAG AAA AGG CCG GGG AAG	432
	Arg Lys Asn Lys Pro Glu Asn Ile Lys Ile Gln Lys Arg Pro Gly Lys	
	TCA GAA CTT CGC ATT AGC AAA GCG TCA CTG GCT GAT TCT GGA GAA TAT	480
	Ser Glu Leu Arg Ile Ser Lys Ala Ser Leu Ala Asp Ser Gly Glu Tyr	
	ATG TGC AAA GTG ATC AGC AAA CTA GGA AAT GAC AGT GCC TCT GCC AAC	528
	Met Cys Lys Val Ile Ser Lys Leu Gly Asn Asp Ser Ala Ser Ala Asn	

FIG. 33B

GGF2BPP2 Nucleotide Sequence & Deduced Protein Sequence

ATC ACC AIT GTG GAG TCA AAC GCC ACA TCC ACA TCT ACA GCT GGG ACA Ile Thr Ile Val Glu Ser Asn Ala Thr Ser Thr Ser Thr Ala Gly Thr	576
AGC CAT CTT GTC AAG TGT GCA GAG AAG GAG AAA ACT TTC TGT GTG AAT Ser His Leu Val Lys Cys Ala Glu Lys Glu Lys Thr Phe Cys Val Asn	624
GGA GGC GAG TGC TTC ATG GTG AAA GAC CTT TCA AAT CCC TCA AGA TAC Gly Gly Glu Cys Phe Met Val Lys Asp Leu Ser Asn Pro Ser Arg Tyr	672
TTG TGC AAG TGC CAA CCT GGA TTC ACT GGA GCG AGA TGT ACT GAG AAT Leu Cys Lys Cys Gln Pro Gly Phe Thr Gly Ala Arg Cys Thr Glu Asn	720
GTG CCC ATG AAA GTC CAA ACC CAA AAG TGC CCA AAT GAG TTT ACT Val Pro Met Lys Val Gln Thr Gln Glu Lys Cys Pro Asn Glu Phe Thr	768
GGT GAT CGC TGC CAA AAC TAC GTA ATG GCC AGC TTC TAC AGT ACG TCC Gly Asp Arg Cys Gln Asn Tyr Val Met Ala Ser Phe Tyr Ser Thr Ser	816
ACT CCC TTT CTG TCT CTG CCT GAA TAGCGCATCT CAGTCGGTGC CGCTTCTTG Thr Pro Phe Leu Ser Leu Pro Glu	870
TTGCCGCATC TCCCCCTCAGA TTCCNCCTAG AGCTAGATGC GTTTACCAG GTCTAACATT 930	930
GACTGCCCTCT GCCTGTGCGCA TGAGAACATT AACACAAGCG ATTGTATGAC TTCCCTCTGTC 990	990
CGTGACTAGT GGGCTCTGAG CTACTCGTAG GTGCGTAAGG CTCCAGTGT TCTGAAATTG 1050	1050
ATCTTGAATT ACTGTGATAC GACATGATAG TCCCTCTCAC CCAGTGAAT GACAATAAG 1110	1110
GCCTTGAAA GTCAAAAAA AAAAAAAAAA 1140	1140

FIG. 34A

GGF2BPP4 Nucleotide Sequence & Deduced Protein Sequence

(SEQ ID NO: 150)	G AAG TCA GAA CTT CGC ATT AGC AAA GCG TCA CTG GCT GAT TCT GGA GAA	49
(SEQ ID NO: 194)	Lys Ser Glu Leu Arg Ile Ser Lys Ala Ser Leu Ala Asp Ser Gly Glu	
	TAT ATG TGC AAA CTG ATC AGC AAA CTA GGA AAT GAC AGT GCC TCT GCC	97
	Tyr Met Cys Lys Val Ile Ser Lys Leu Gly Asn Asp Ser Ala Ser Ala	
	AAC ATC ACC ATT GTG GAG TCA AAC GCC ACA TCC ACA TCT ACA GCT GGG	145
	Asn Ile Thr Ile Val Glu Ser Asn Ala Thr Ser Thr Ser Thr Ala Gly	
	ACA AGC CAT CTT GTC AAG TGT GCA GAG AAG GAG AAA ACT TTC TGT GTG	193
	Thr Ser His Leu Val Lys Cys Ala Glu Lys Glu Lys Thr Phe Cys Val	
	AAT GGA GGC GAC TGC TTC ATG GTG AAA GAC CTT TCA AAT CCC TCA AGA	241
	Asn Gly Gly Asp Cys Phe Met Val Lys Asp Leu Ser Asn Pro Ser Arg	
	TAC TTG TGC AAG TGC CAA CCT GGA TTC ACT GGA GCG AGA TGT ACT GAG	289
	Tyr Leu Cys Lys Cys Gln Pro Gly Phe Thr Gly Ala Arg Cys Thr Glu	
	AAT CTG CCC ATG AAA GTC CAA ACC CAA GAA AAA GCG GAG GAG CTC TAC	337
	Asn Val Pro Met Lys Val Gln Thr Gln Glu Lys Ala Glu Glu Leu Tyr	
	CAG AAG AGA-GTG CTC ACC ATT ACC GGC ATT TGC ATC GCG CTC GTG	385
	Gln Lys Arg Val Leu Thr Ile Thr Gly Ile Cys Ile Ala Leu Leu Val	
	GTT GGC ATC ATG TGT GTG GTC TAC TGC AAA ACC AAG AAA CAA CCG	433
	Val Gly Ile Met Cys Val Val Tyr Cys Lys Thr Lys Lys Gln Arg	
	AAA AAG CTT CAT GAC CCG CTT CGG CAG AGC CTT CGG TCT GAA AGA AAC	481
	Lys Lys Leu His Asp Arg Leu Arg Gln Ser Leu Arg Ser Glu Arg Asn	
	ACC ATG ATG AAC GTA GCC AAC GGG CCC CAC CAC CCC AAT CCG CCC CCC	529
	Thr Met Met Asn Val Ala Asn Gly Pro His His Pro Asn Pro Pro Pro	
	GAG AAC GTG CAG CTG ATG AAT CAA TAC GTA TCT AAA AAT GTC ATC TCT	577
	Glu Asn Val Gln Leu Val Asn Gln Tyr Val Ser Lys Asn Val Ile Ser	

FIG. 34B

GGF2BPPP4 Nucleotide Sequence & Deduced Protein Sequence

AGC GAG CAT ATT GTT GAG AGA GAG GCG GAG AGC TCT TTT TCC ACC AGT	625
Ser Glu His Ile Val Glu Arg Glu Ala Glu Ser Ser Phe Ser Thr Ser	
CAC TAC ACT TCG ACA GCT CAT CAT His His Ser TCC ACT ACT GTC ACT CAG ACT CCC	673
His Tyr Thr Ser Thr Ala His His Ser Thr Thr Val Thr Gln Thr Pro	
AGT CAC AGC TGG AGC AAT GGA CAC ACT GAA AGC ATC ATT TCG GAA AGC	721
Ser His Ser Ser Trp Ser Asn Gly His Thr Glu Ser Ile Ile Ser Glu Ser	
CAC TCT GTC ATC GTG ATG TCA TCC GTA GAA AAC AGT AGG CAC AGC AGC	769
His Ser Val Ile Val Met Ser Ser Val Glu Asn Ser Arg His Ser Ser	
CCG ACT GGG GGC CCG AGA GGA CGT CTC AAT GGC TTG GGA GGC CCT CGT	817
Pro Thr Gly Gly Pro Arg Gly Arg Leu Asn Gly Leu Gly Gly Pro Arg	
GAA TGT AAC AGC TTC CTC AGG CAT GCC AGA GAA ACC CCT GAC TCC TAC	865
Glu Cys Asn Ser Phe Leu Arg His Ala Arg Glu Thr Pro Asp Ser Tyr	
CGA GAC TCT CCT CAT AGT GAA AGA CAT AAC CTT ATA GCT GAG CTA AGG	913
Arg Asp Ser Pro His Ser Glu Arg His Asn Leu Ile Ala Glu Leu Arg	
AGA AAC AAG GCC CAC AGA TCC AAA TGC ATG CAG ATC CAG CTT TCC GCA	961
Arg Asn Lys Ala His Arg Ser Lys Cys Met Gln Ile Gln Leu Ser Ala	
ACT CAT CTT AGA GCT TCT TCC ATT CCC CAT TGG GCT TCA TTC TCT AAG	1009
Thr His Leu Arg Ala Ser Ser Ile Pro His Trp Ala Ser Phe Ser Lys	
ACC CCT TGG CCT TTA GGA AGG TAT GTA TCA GCA ATG ACC ACC CCG GCT	1057
Thr Pro Trp Pro Leu Gly Arg Tyr Val Ser Ala Met Thr Thr Pro Ala	
CGT ATG TCA CCT GTA GAT TTC CAC ACC CCA AGC TCC CCG AAG TCA CCC	1105
Arg Met Ser Pro Val Asp Phe His Thr Pro Ser Ser Pro Lys Ser Pro	
CCT TCG GAA ATG TCC CCG CCC GTG TCC AGC ACG ACG GTC TCC ATG CCC	1153
Pro Ser Glu Met Ser Pro Pro Val Ser Ser Thr Thr Val Ser Met Pro	

FIG. 34C

GGF2BPP4 Nucleotide Sequence & Deduced Protein Sequence

TCC ATG GCG GTG AGT CCC TTC GTG GAA GAG GAG AGA CCC CTG CTC CTT Ser Met Ala Val Ser Pro Phe Val Glu Glu Arg Pro Leu Leu Leu	1201
GTG ACG CCA CCA CCG CTG CCG GAG AAG TAT GAC CAC CAC GCC CAG CAA Val Thr Pro Pro Arg Leu Arg Glu Lys Tyr Asp His His Ala Gln Gln	1249
TTC AAC TCG TTC CAC TGC AAC CCC GCG CAT GAG AGC AAC AGC CTG CCC Phe Asn Ser Phe His Cys Asn Pro Ala His Glu Ser Asn Ser Leu Pro	1297
CCC AGC CCC TTG AGG ATA GTG GAG GAT GAG GAA TAT GAA ACG ACC CAG Pro Ser Pro Leu Arg Ile Val Glu Asp Glu Glu Tyr Glu Thr Thr Gln	1345
GAG TAC GAA CCA GCT CAA GAG CCG GTT AAG AAA CTC ACC AAC AGC AGC Glu Tyr Glu Pro Ala Gln Glu Pro Val Lys Lys Leu Thr Asn Ser Ser	1393
CGG CCG GCC AAA AGA ACC AAG CCC AAT GGT CAC APT GCC CAC AGG TTG Arg Arg Ala Lys Arg Thr Lys Pro Asn Gly His Ile Ala His Arg Leu	1441
GAA ATG GAC AAC AAC ACA GGC GCT GAC AGC AGT AAC TCA GAG AGC GAA Glu Met Asp Asn Asn Thr Gly Ala Asp Ser Ser Asn Ser Glu Ser Glu	1489
ACA GAG GAT GAA AGA GTA GGA GAA GAT ACG CCT TTC CTG GCC ATA CAG Thr Glu Asp Glu Arg Val Gly Glu Asp Thr Pro Phe Leu Ala Ile Gln	1537
AAC CCC CTG GCA GCC AGT CTC GAG GCG GCC CCT GCC TTC CGC CTG GTC Asn Pro Leu Ala Ala Ser Leu Glu Ala Ala Pro Ala Phe Arg Leu Val	1585
GAC AGC AGG ACT AAC CCA ACA GGC GGC TTC TCT CCG CAG GAA GAA TTG Asp Ser Arg Thr Asn Pro Thr Gly Gly Phe Ser Pro Gln Glu Glu Leu	1633
CAG GCC AGG CTC TCC GGT GTA ATC GCT AAC CAA GAC CCT ATC GCT GTC Gln Ala Arg Leu Ser Gly Val Ile Ala Asn Gln Asp Pro Ile Ala Val	1681
TAAACCCGAA ATACACCCAT AGATTACCT GTAAAACCTT ATTTTATATA ATAAAGTATT CCACCTTAAA TTAACAAAA AAA	1741 1764

FIG. 35

* * * * *

GGF2bpp5 (SEQ ID NO: 151) KCAEKEKTFVCVNGGECFMVKDLSNPSRYLCKCPNEFTGDRQCQNYVVMASFY
GGF2bpp4 (SEQ ID-NO: 152) KCAEKEKTFVCVNGGDCFMVKDLSNPSRYLCKCQPGFTGARCTENVPMKVQ
hEGF (SEQ ID NO: 153) ECLRKYKDFCIH-GECKYVKELRAPF--CKCQQEYFGERCGEKSNNKTIIS

FIG. 36
200 kDa Tyrosine Phosphorylation
Compared with Mitogenic Activity

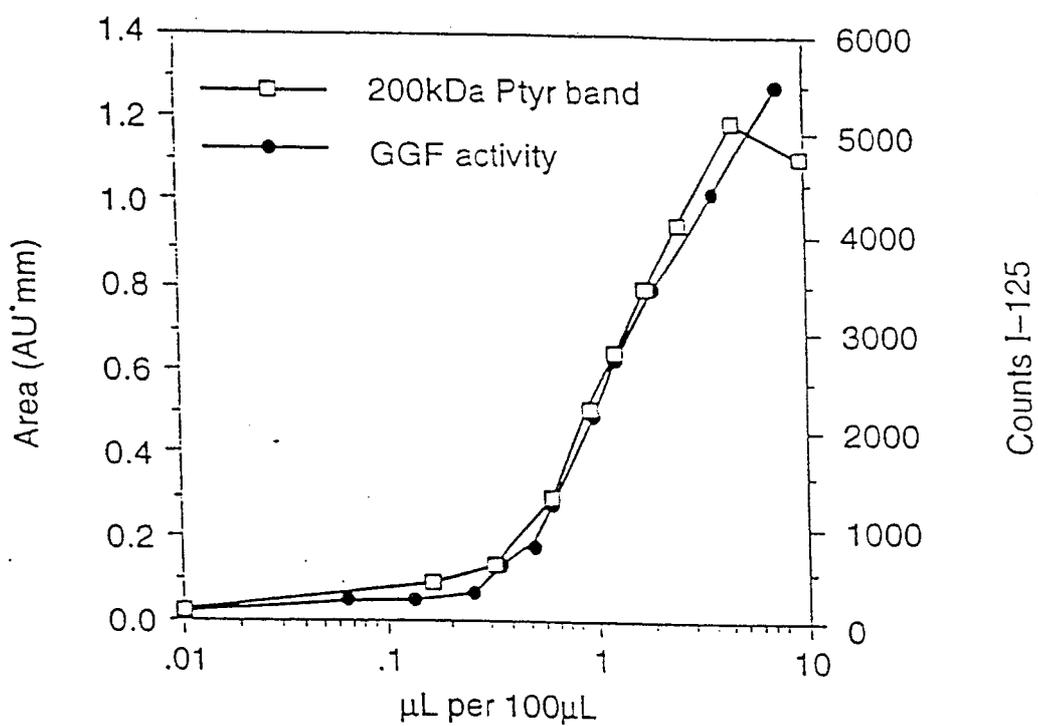


FIG. 37A GGF/Heregulin Splicing Variants

F-B-A'

F-B-A-C-C/D-D
 F-B-A-C-C/D-H
 F-B-A-C-C/D-H-L
 F-B-A-C-C/D-H-K-L
 F-B-A-C-C/D-D'-H
 F-B-A-C-C/D-D'-H-L
 F-B-A-C-C/D-D'-H-K-L
 F-B-A-C-C/D'-D
 F-B-A-C-C/D'-H
 F-B-A-C-C/D'-H-L
 F-B-A-C-C/D'-H-K-L
 F-B-A-C-C/D'-D'-H
 F-B-A-C-C/D'-D'-H-L
 F-B-A-C-C/D'-D'-H-K-L
 F-B-A-C-C/D-C/D'-D
 F-B-A-C-C/D-C/D'-H
 F-B-A-C-C/D-C/D'-H-L
 F-B-A-C-C/D-C/D'-H-K-L
 F-B-A-C-C/D-C/D'-D'-H
 F-B-A-C-C/D-C/D'-D'-H-L
 F-B-A-C-C/D-C/D'-D'-H-K-L

F-B-A-G-C-C/D-D
 F-B-A-G-C-C/D-H
 F-B-A-G-C-C/D-H-L
 F-B-A-G-C-C/D-H-K-L
 F-B-A-G-C-C/D-D'-H
 F-B-A-G-C-C/D-D'-H-L
 F-B-A-G-C-C/D-D'-H-K-L
 F-B-A-G-C-C/D'-D
 F-B-A-G-C-C/D'-H
 F-B-A-G-C-C/D'-H-L
 F-B-A-G-C-C/D'-H-K-L
 F-B-A-G-C-C/D'-D'-H
 F-B-A-G-C-C/D'-D'-H-L
 F-B-A-G-C-C/D'-D'-H-K-L
 F-B-A-G-C-C/D-C/D'-D
 F-B-A-G-C-C/D-C/D'-H
 F-B-A-G-C-C/D-C/D'-H-L
 F-B-A-G-C-C/D-C/D'-H-K-L
 F-B-A-G-C-C/D-C/D'-D'-H
 F-B-A-G-C-C/D-C/D'-D'-H-L
 F-B-A-G-C-C/D-C/D'-D'-H-K-L

F-E-B-A'

F-E-B-A-C-C/D-D
 F-E-B-A-C-C/D-H
 F-E-B-A-C-C/D-H-L
 F-E-B-A-C-C/D-H-K-L
 F-E-B-A-C-C/D-D'-H
 F-E-B-A-C-C/D-D'-H-L
 F-E-B-A-C-C/D-D'-H-K-L
 F-E-B-A-C-C/D'-D
 F-E-B-A-C-C/D'-H
 F-E-B-A-C-C/D'-H-L
 F-E-B-A-C-C/D'-H-K-L
 F-E-B-A-C-C/D'-D'-H
 F-E-B-A-C-C/D'-D'-H-L
 F-E-B-A-C-C/D'-D'-H-K-L
 F-E-B-A-C-C/D-C/D'-D
 F-E-B-A-C-C/D-C/D'-H
 F-E-B-A-C-C/D-C/D'-H-L
 F-E-B-A-C-C/D-C/D'-H-K-L
 F-E-B-A-C-C/D-C/D'-D'-H
 F-E-B-A-C-C/D-C/D'-D'-H-L
 F-E-B-A-C-C/D-C/D'-D'-H-K-L

F-E-B-A-G-C-C/D-D
 F-E-B-A-G-C-C/D-H
 F-E-B-A-G-C-C/D-H-L
 F-E-B-A-G-C-C/D-H-K-L
 F-E-B-A-G-C-C/D-D'-H
 F-E-B-A-G-C-C/D-D'-H-L
 F-E-B-A-G-C-C/D-D'-H-K-L
 F-E-B-A-G-C-C/D'-D
 F-E-B-A-G-C-C/D'-H
 F-E-B-A-G-C-C/D'-H-L
 F-E-B-A-G-C-C/D'-H-K-L
 F-E-B-A-G-C-C/D'-D'-H
 F-E-B-A-G-C-C/D'-D'-H-L
 F-E-B-A-G-C-C/D'-D'-H-K-L
 F-E-B-A-G-C-C/D-C/D'-D
 F-E-B-A-G-C-C/D-C/D'-H
 F-E-B-A-G-C-C/D-C/D'-H-L
 F-E-B-A-G-C-C/D-C/D'-H-K-L
 F-E-B-A-G-C-C/D-C/D'-D'-H
 F-E-B-A-G-C-C/D-C/D'-D'-H-L
 F-E-B-A-G-C-C/D-C/D'-D'-H-K-L

FIG. 37B
GGF/Heregulin
Splicing Variants

E-B-A'

E-B-A-C-C/D-D
E-B-A-C-C/D-H
E-B-A-C-C/D-H-L
E-B-A-C-C/D-H-K-L
E-B-A-C-C/D-D'-H
E-B-A-C-C/D-D'-H-L
E-B-A-C-C/D-D'-H-K-L
E-B-A-C-C/D'-D
E-B-A-C-C/D'-H
E-B-A-C-C/D'-H-L
E-B-A-C-C/D'-H-K-L
E-B-A-C-C/D'-D'-H
E-B-A-C-C/D'-D'-H-L
E-B-A-C-C/D'-D'-H-K-L
E-B-A-C-C/D-C/D'-D
E-B-A-C-C/D-C/D'-H
E-B-A-C-C/D-C/D'-H-L
E-B-A-C-C/D-C/D'-H-K-L
E-B-A-C-C/D-C/D'-D'-H
E-B-A-C-C/D-C/D'-D'-H-L
E-B-A-C-C/D-C/D'-D'-H-K-L

E-B-A-G-C-C/D-D
E-B-A-G-C-C/D-H
E-B-A-G-C-C/D-H-L
E-B-A-G-C-C/D-H-K-L
E-B-A-G-C-C/D-D'-H
E-B-A-G-C-C/D-D'-H-L
E-B-A-G-C-C/D-D'-H-K-L
E-B-A-G-C-C/D'-D
E-B-A-G-C-C/D'-H
E-B-A-G-C-C/D'-H-L
E-B-A-G-C-C/D'-H-K-L
E-B-A-G-C-C/D'-D'-H
E-B-A-G-C-C/D'-D'-H-L
E-B-A-G-C-C/D'-D'-H-K-L
E-B-A-G-C-C/D-C/D'-D
E-B-A-G-C-C/D-C/D'-H
E-B-A-G-C-C/D-C/D'-H-L
E-B-A-G-C-C/D-C/D'-H-K-L
E-B-A-G-C-C/D-C/D'-D'-H
E-B-A-G-C-C/D-C/D'-D'-H-L
E-B-A-G-C-C/D-C/D'-D'-H-K-L

FIG. 38

EGFL1

```

(SEQ ID NO: 154) AGC CAT CTT GTC AAG TGT GCA GAG AAG GAG AAA ACT TTC TGT GTG AAT 48
(SEQ ID NO: 220) Ser His Leu Val Lys Cys Ala Glu Lys Glu Lys Thr Phe Cys Val Asn
      GGA GGC GAG TGC TTC ATG CTG AAA GAC CTT TCA AAT CCC TCA AGA TAC 96
      Gly Gly Glu Cys Phe Met Val Lys Asp Leu Ser Asn Pro Ser Arg Tyr
      TTG TGC AAG TGC CCA AAT GAG TTT ACT GGT GAT CGC TGC CAA AAC TAC 144
      Leu Cys Lys Cys Pro Asn Glu Phe Thr Gly Asp Arg Cys Gln Asn Tyr
      GTA ATG GCC AGC TTC TAC AGT ACG TCC ACT CCC TTT CTG TCT CCT 192
      Val Met Ala Ser Phe Tyr Ser Thr Ser Thr Pro Phe Leu Ser Leu Pro

      GAA TAG 198
      Glu

```

FIG. 39
EGFL2

```

(SEQ ID NO: 155) AGC CAT CTT GTC AAG TGT GCA GAG AAG GAG AAA ACT TTC TGT GTG AAT      48
(SEQ ID NO: 221) Ser His Leu Val Lys Cys Ala Glu Lys Glu Lys Thr Phe Cys Val Asn
      GGA GCC GAG TGC TTC ATG GTG AAA GAC CTT TCA AAT CCC TCA AGA TAC      96
      Gly Gly Glu Cys Phe Met Val Lys Asp Leu Ser Asn Pro Ser Arg Tyr
      TTG TGC AAG TGC CAA CCT GGA TTC ACT GGA GCG AGA TGT ACT GAG AAT      144
      Leu Cys Lys Cys Gln Pro Gly Phe Thr Gly Ala Arg Cys Thr Glu Asn
      GTG CCC ATG AAA GTC CAA ACC CAA GAA AAA GCG GAG GAG CTC TAC TAA      192
      Val Pro Met Lys Val Gln Thr Gln Glu Lys Ala Glu Leu Tyr
    
```

FIG. 40

EGFL3

(SEQ ID NO: 156)	AGC	CAT	CTT	GTC	AAG	TGT	GCA	GAG	AAG	GAG	AAA	ACT	TTC	TGT	GTG	AAT	48
(SEQ ID NO: 222)	Ser	His	Leu	Val	Lys	Cys	Ala	Glu	Lys	Glu	Lys	Thr	Phe	Cys	Val	Asn	
	GGA	GGC	GAG	TGC	TTC	ATG	GTG	AAA	GAC	CTT	TCA	AAT	CCC	TCA	AGA	TAC	96
	Gly	Gly	Glu	Cys	Phe	Met	Val	Lys	Asp	Leu	Ser	Asn	Pro	Ser	Arg	Tyr	
	TTG	TGC	AAG	TGC	CCA	AAT	GAG	TTT	ACT	GGT	GAT	CGC	TGC	CAA	AAC	TAC	144
	Leu	Cys	Lys	Cys	Pro	Asn	Glu	Phe	Thr	Gly	Asp	Arg	Cys	Gln	Asn	Tyr	
	GTA	ATG	GCC	AGC	TTC	TAC	AAA	GCG	GAG	GAG	CTC	TAC	TAA				183
	Val	Met	Ala	Ser	Phe	Tyr	Lys	Ala	Glu	Glu	Leu	Tyr					

FIG. 41

EGFL4

(SEQ ID NO: 157)	AGC	CAT	CTT	GTC	AAG	TGT	GCA	GAG	AAG	GAG	AAA	ACT	TTC	TGT	GTG	AAT	48
(SEQ ID NO: 223)	Ser	His	Leu	Val	Lys	Cys	Ala	Glu	Lys	Glu	Lys	Thr	Phe	Cys	Val	Asn	
	GGA	GGC	GAG	TGC	TTC	ATG	GTG	AAA	GAC	CTT	TCA	AAT	CCC	TCA	AGA	TAC	96
	Gly	Gly	Glu	Cys	Phe	Met	Val	Lys	Asp	Leu	Ser	Asn	Pro	Ser	Arg	Tyr	
	TTG	TGC	AAG	TGC	CCA	AAT	GAG	TTT	ACT	GGT	GAT	CGC	TGC	CAA	AAC	TAC	144
	Leu	Cys	Lys	Cys	Pro	Asn	Glu	Phe	Thr	Gly	Asp	Arg	Cys	Gln	Asn	Tyr	
	GTA	ATG	GCC	AGC	TTC	TAC	AAG	CAT	CTT	GGG	ATT	GAA	TTT	ATG	GAG	AAA	192
	Val	Met	Ala	Ser	Phe	Tyr	Lys	His	Leu	Gly	Ile	Glu	Phe	Met	Glu	Lys	
	GCG	GAG	GAG	CTC	TAC	TAA											210
	Ala	Glu	Glu	Leu	Tyr												

FIG. 42

EGFL5

```

(SEQ ID NO: 158) AGC CAT CTT GTC AAG TGT GCA GAG AAG GAG AAA ACT TTC TGT GTG AAT      48
(SEQ ID NO: 224) Ser His Leu Val Lys Cys Ala Glu Lys Glu Lys Thr Phe Cys Val Asn
      GGA GGC GAG TGC TTC ATG GTG AAA GAC CTT TCA AAT CCC TCA AGA TAC      96
      Gly Gly Glu Cys Phe Met Val Lys Asp Leu Ser Asn Pro Ser Arg Tyr
      TTG TGC AAG TGC CAA CCT GGA TTC ACT GGA GCG AGA TGT ACT GAG AAT      144
      Leu Cys Lys Cys Gln Pro Gly Phe Thr Gly Ala Arg Cys Thr Glu Asn
      GTG CCC ATG AAA GTC CAA ACC CAA AAG TGC CCA AAT GAG TTT ACT      192
      Val Pro Met Lys Val Gln Thr Gln Glu Lys Cys Pro Asn Glu Phe Thr
      GGT GAT CGC TGC CAA AAC TAC GTA ATG GCC AGC TTC TAC AGT ACG TCC      240
      Gly Asp Arg Cys Gln Asn Tyr Val Met Ala Ser Phe Tyr Ser Thr Ser
      ACT CCC TTT CTG TCT CTG CCT GAA TAG      267
      Thr Pro Phe Leu Ser Leu Pro Glu

```

FIG. 43

EGFL6

```

(SEQ ID NO: 159) AGC CAT CTT GTC AAG TGT GCA GAG AAG GAG AAA ACT TTC TGT GTG AAT      48
(SEQ ID NO: 225) Ser His Leu Val Lys Cys Ala Glu Lys Glu Lys Thr Phe Cys Val Asn

      GGA GGC GAG TGC TTC ATG GTG AAA GAC CTT TCA AAT CCC TCA AGA TAC      96
      Gly Gly Glu Cys Phe Met Val Lys Asp Leu Ser Asn Pro Ser Arg Tyr

      TTG TGC AAG TGC CAA CCT GGA TTC ACT GGA GCG AGA TGT ACT GAG AAT      144
      Leu Cys Lys Cys Gln Pro Gly Phe Thr Gly Ala Arg Cys Thr Glu Asn

      GTG CCC ATG AAA GTC CAA ACC CAA GAA AAG TGC CCA AAT GAG TTT ACT      192
      Val Pro Met Lys Val Gln Thr Gln Glu Lys Cys Pro Asn Glu Phe Thr

      GGT GAT CGC TGC CAA AAC TAC GTA ATG GCC AGC TTC TAC AAA GCC GAG      240
      Gly Asp Arg Cys Gln Asn Tyr Val Met Ala Ser Phe Tyr Lys Ala Glu

      GAG CTC TAC TAA
      Glu Leu Tyr
      252

```

FIG. 44
GGF2HBS5

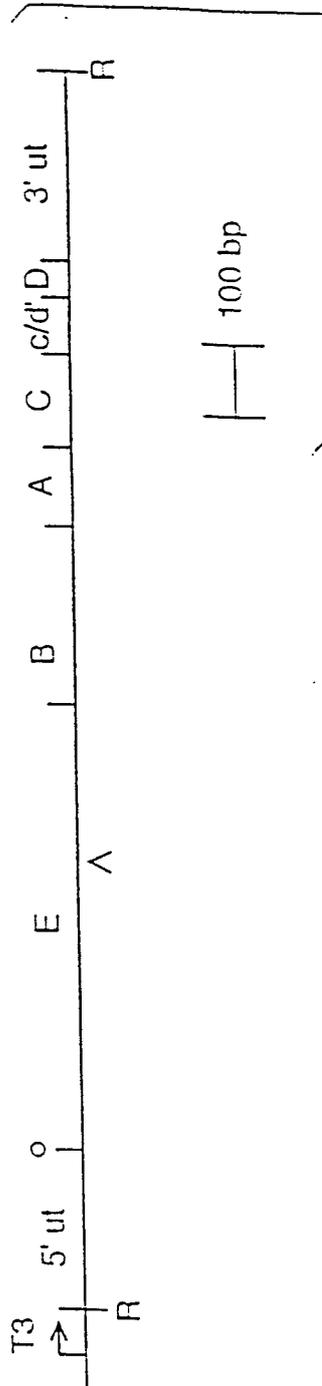


FIG. 45A

Nucleotide Sequence & Deduced Acid Sequence of GGF2HDS5

```

(SEQ ID NO: 21)GGAATTCCTT TTTTITTTTT TTTTITTCIT NNTTTTTTTT TGCCCTTATA CCTCTTCGCC      60
TTTCTGTGGT TCCATCCACT TCTTCCCCCT CCTCTCCCA TAAACAACCTC TCCCTACCCCT      120
GCACCCCAA TAAATAAATA AAAGGAGGAG GCAAGGGGG GAGGAGGAGG AGTGGTGTGTG      180
CGAGGGGAAG GAAAGGGAG GCAGGGCGAG AAGAGCCGGG CAGAGTCCGA ACCGACAGCC      240
AGAAAGCCCGC ACGCACCTCG CACC ATG AGA TGG CGA CGC GCC CGC CGC CGC      291
Met Arg Trp Arg Arg Ala Pro Arg Arg
(SEQ ID NO: 170)
TCC GGG CGT CCC GGC CCC CGG GCC CAG CGC CCC GGC TCC GCC GCC CGC      339
Ser Gly Arg Pro Gly Pro Arg Ala Gln Arg Pro Gly Ser Ala Ala Arg
TCG TCG CCG CCG CTG CTG CCA CTA CTG CTG CTG CTG GGG ACC      387
Ser Ser Pro Pro Leu Pro Leu Pro Leu Pro Leu Leu Leu Leu Thr
Val Cys Leu Leu Thr Val
(SEQ ID NO: 50)GGF-II 09
GGC GCC CTG GCG CCG GGG GCG GCC GCG AAC GAG GCG GCT CCC GCG      435
Ala Ala Leu Ala Pro Gly Ala Ala Ala Gly Asn Glu Ala Ala Pro Ala
Ala Ala Leu Pro Pro
GGG GCC TCG GTG TGC TAC TCG TCC CCG CCC AGC GTG GGA TCG GTG CAG      483
Gly Ala Ser Val Cys Tyr Ser Ser Pro pro Ser Val Gly Ser Val Gln
Ala Ser pro Val Ser Val Gly Ser Val Gln
(SEQ ID NO: 49)GGF-II 08
GAG CTA GCT CAG CGC GCC GCG GTG ATC GAG GGA AAG GTG CAC CCG      531
Glu Leu Ala Gln Arg|Ala Ala Val Val Ile Glu Gly Lys Val His Pro
Glu Leu Val Gln Arg,Trp Phe Val Val Ile Glu Gly Lys
(SEQ ID NO: 48)GGF-II 04

```

FIG. 45B

Nucleotide Sequence & Deduced Acid Sequence of GGF2HBS5

CAG CCG CGG CAG CAG GGG GCA CTC GAC AGG AAG GCG GCG GCG GCG GCG 579
 Gln Arg Arg Gln Gln Gly Ala Leu Asp Arg Lys Ala Ala Ala Ala Ala
 GGC GAG GCA GGG GCG TGG GGC GAT CGC GAG CCG CCA GCC GCG GGC 627
 Gly Glu Ala Gly Ala Trp Gly Gly Asp Arg Glu Pro Pro Ala Ala Gly
 CCA CCG GCG CTG GGG CCG CCC GCC GAG GAG CCG CTG CTC GCC GCC AAC 675
 Pro Arg Ala Leu Gly Pro Pro Ala Glu Glu Pro Leu Leu Ala Ala Asn
 GGG ACC GTG CCC TCT TGG CCC ACC GCC CCG GTG CCC ACC GCC GCG GAG 723
 Gly Thr Val Pro Ser Trp Pro Thr Ala Pro Val Pro Ser Ala Gly Glu
 CCC GGG GAG GAG GCG CCC TAT CTG CTG AAG CTC CAC CAG CTG TCG GCG 771
 Pro Gly Glu Glu Ala Pro Tyr Leu Val Lys Val His Gln Val Trp Ala
 Lys Val His Glu Val Trp Ala
 (SEQ ID NO: 45&NO: 51) GGF-II 01 & GGF-II 11
 GTG AAA GCC GCG GCG TTG AAG AAG GAG TCG CTG CTC ACC CTG GCG CTG 819
 Val Lys Ala Gly Gly Leu Lys Lys Asp Ser Leu Leu Thr Val Arg Leu
 Ala Lys
 Asp Leu Leu Leu Xaa Val
 (SEQ ID NO: 53) GGF-II 10
 GGG ACC TCG GCG CAC CCC GCC TTC CCC TCC TGC GGG AGG CTC AAG GAG 867
 Gly Thr Trp Gly His Pro Ala Phe Pro Ser Cys Gly Arg Leu Lys Glu
 Gly Ala Trp Gly Pro Pro Ala Phe Pro Val Xaa Tyr
 (SEQ ID NO: 47) GGF-II 03
 GAC AGC AGG TAC ATC TTC ATG GAG CCC GAC GCC AAC AGC ACC AGC 915
 Asp Ser Arg Tyr Ile Phe Phe Met Glu Pro Asp Ala Asn Ser Thr Ser
 Tyr Ile Phe Phe Met Glu Pro Glu Ala Xaa Ser Ser Gly
 (SEQ ID NO: 46) GGF-II 02

FIG. 45C

Nucleotide Sequence & Deduced Acid Sequence of GGF2HBS5

CGC GCG CCG GCC GCC TTC CGA GCC TCT TTC CCC CCT CTG GAG ACG GGC Arg Ala Pro Ala Ala Phe Arg Ala Ser Phe Pro Pro Leu Glu Thr Gly	963
CGG AAC CTC AAG AAG GAG GTC AGC CCG GTG CTG TGC AAG CGG TGC GCC Arg Asn Leu Lys Lys Glu Val Ser Arg Val Leu Cys Lys Arg Cys Ala	1011
TTG CCT CCC CAA TTG AAA GAG ATG AAA AGC CAG GAA TCG GCT GCA GGT Leu Pro Pro Gln Leu Lys Glu Met Lys Ser Gln Glu Ser Ala Ala Gly	1059
TCC AAA CTA GTC CTT CGG TGT GAA ACC AGT TCT GAA TAC TCC TCT CTC Ser Lys Leu Val Leu Arg Cys Glu Thr Ser Ser Glu Tyr Ser Ser Leu Leu Val Leu Arg	1107
(SEQ ID NO: 42 GGF-II 06	
AGA TTC AAG TGG TTC AAG AAT GGG AAT GAA TTG AAT CGA AAA AAC AAA Arg Phe Lys Trp Phe Lys Asn Gly Asn Glu Leu Asn Arg Lys Asn Lys	1155
CCA CAA AAT ATC AAG ATA CAA AAA AAG CCA GGG AAG TCA GAA CTT CGC Pro Gln Asn Ile Lys Ile Gln Lys Lys Pro Gly Lys Ser Glu Leu Arg	1203
ATT AAC AAA GCA TCA CTG GCT GAT TCT GGA GAG TAT ATG TGC AAA GTG Ile Asn Lys Ala Ser Leu Ala Asp Ser Gly Glu Tyr Met Cys Lys Val Lys Ala Ser Leu Ala Asp Ser Gly Glu Tyr Met Xaa Lys	1251
(SEQ ID NO: 52) GGF-II 12	
ATC AGC AAA TTA GGA AAT GAC AGT GCC TCT GCC AAT ATC ACC ATC GTG Ile Ser Lys Leu Gly Asn Asp Ser Ala Ser Ala Asn Ile Thr Ile Val	1299
GAA TCA AAC GCT ACA TCT ACA TCC ACC ACT GGG ACA AGC CAT CTT GTA Glu Ser Asn Ala Thr Ser Thr Ser Thr Thr Gly Thr Ser His Leu Val	1347

FIG. 45D

Nucleotide Sequence & Deduced Acid Sequence of GGF2HBS5

AAA TGT GCG GAG AAG GAG AAA ACT TTC TGT GTG AAT GGA GGG GAG TGC Lys Cys Ala Glu Lys Glu Lys Thr Phe Cys Val Asn Gly Gly Glu Cys	1395
TTC ATG GTG AAA GAC CTT TCA AAC CCC TCG AGA TAC TTG TGC AAG TGC Phe Met Val Lys Asp Leu Ser Asn Pro Ser Arg Tyr Leu Cys Lys Cys	1443
CCA AAT GAG TTT ACT GGT GAT CGC TGC CAA AAC TAC GTA ATG GCC AGC Pro Asn Glu Phe Thr Gly Asp Arg Cys Gln Asn Tyr Val Met Ala Ser	1491
TTC TAC AGT ACG TCC ACT CCC TTT CTG TCT CTG CCT GAA Phe Tyr Ser Thr Ser Thr Pro Phe Leu Ser Leu Pro Glu	1530
TAGGAGCATG CTCAGTTGGT GCTGCTTTCT TGTTCCTGCA TCTCCCCCTCA GATTCCACCT	1590
AGAGCTACAT GTGTCTTACC AGATCTAATA TTGACTGCCCT CTGCCCTGTCG CATGAGAACAA	1650
TTAAACAANAAG CAATTGTATT ACTTCCCTCTG TTCCGGACTA GTTGGCCTG AGATTACTAAT	1710
AGGTGTGTGA GGCTCCGGAT GTTCTGGAA TTGATATTGA ATGATGTGAT ACAAAATIGAT	1770
ACTCAATATC AAGCAGTGAA ATATGATAAT AAAGGCATTT CAAAGTCTCA CTTTTATTGA	1830
TAAATAAANA ATCATTCTAC TGAACAGTCC ATCTTCTTTA TACAANTGACC ACATCCCTGAA	1890
AAGGGTGTG CTAAGCTGTA ACCGATATGC ACTTGAAATG ATGGTAAGTT AATTTTGATT	1950
CAGAAATGTGT TATTTGTAC AAATAAACAT AATAAAAGGA AAAAAAAAA AAA	2003

FIG. 46
Schwann Cell Proliferation Assay

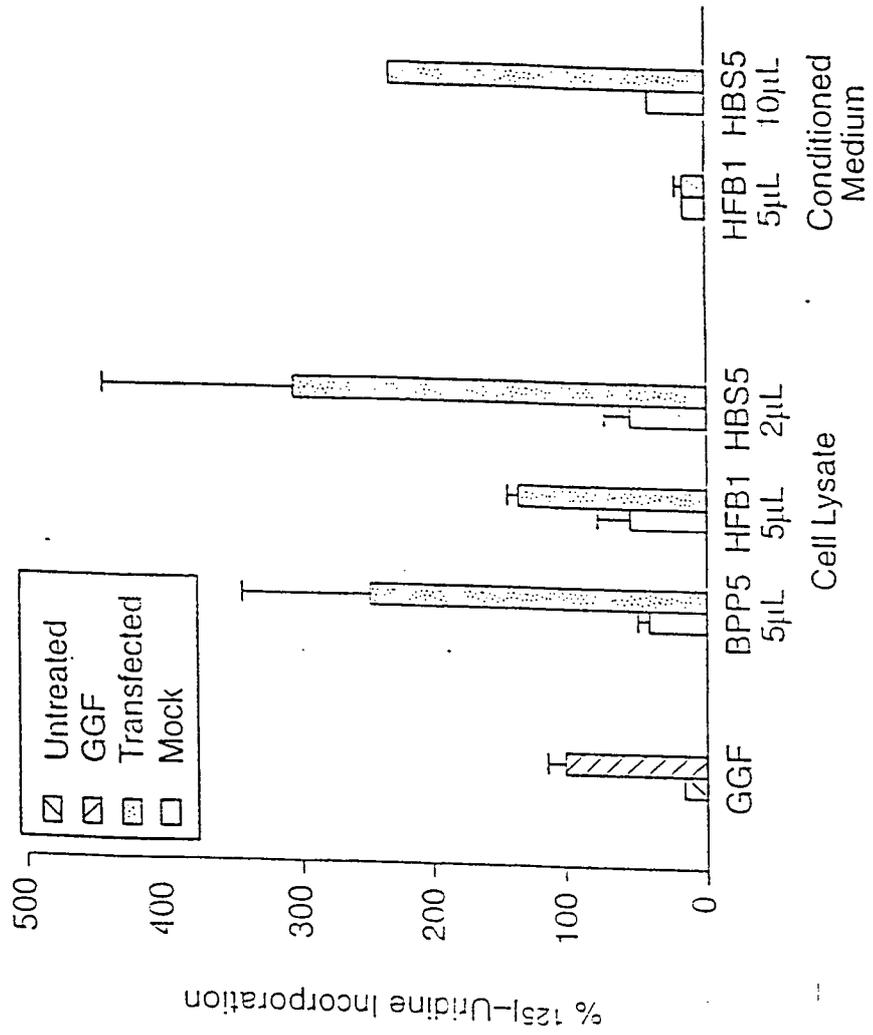


FIG. 47

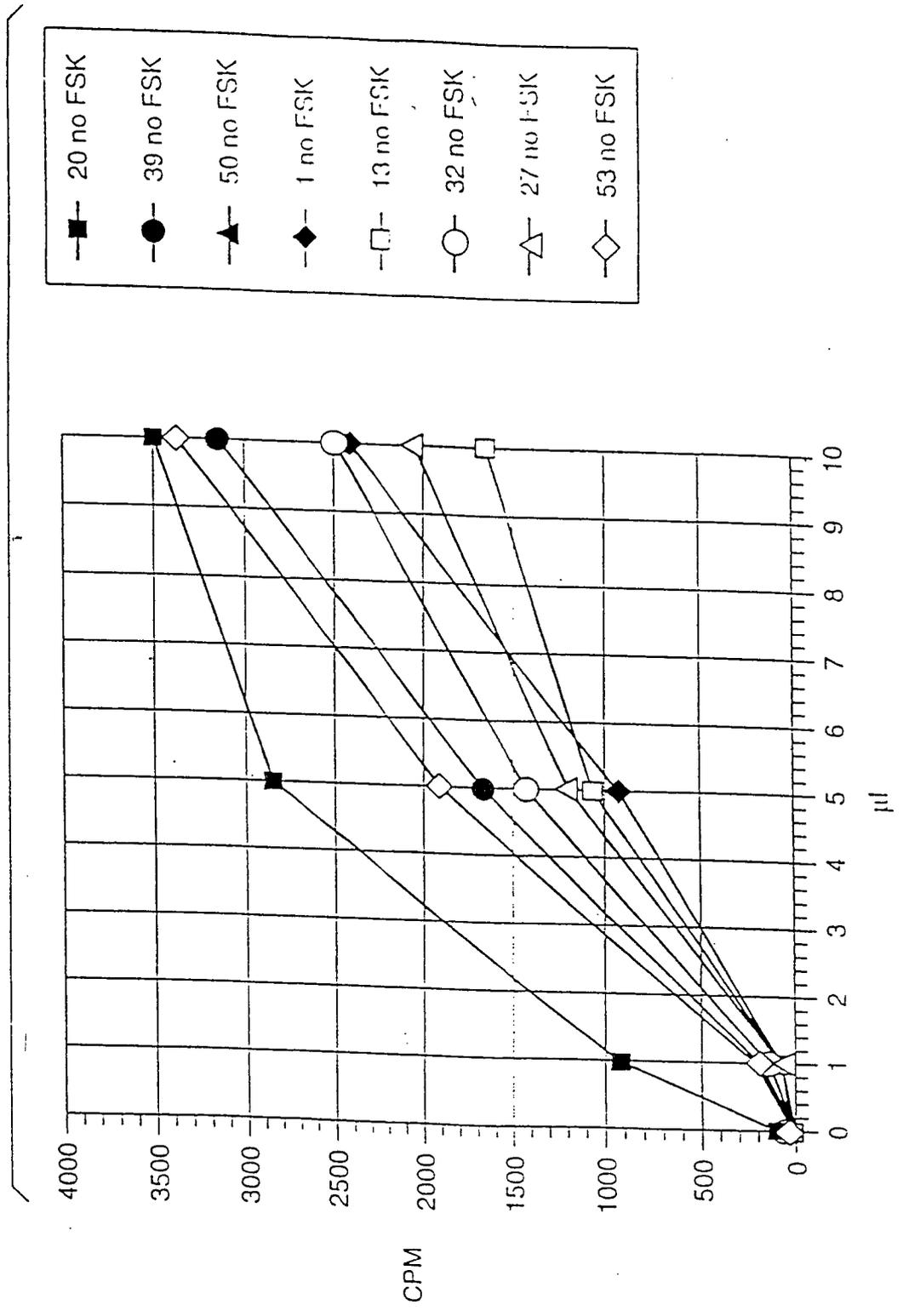


FIG. 48
Schwann Cell Assay/Baculovirus Clones

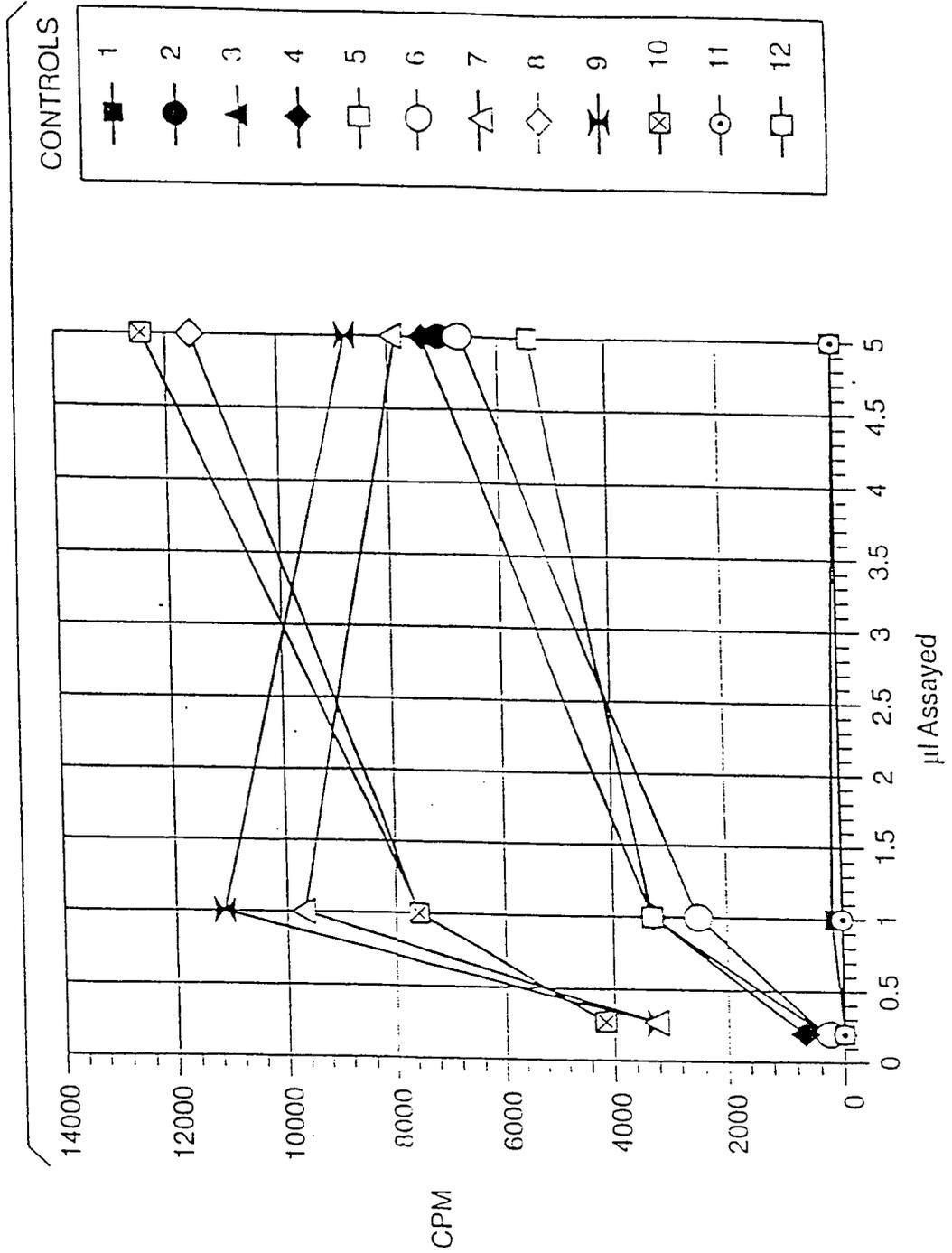


FIG. 49

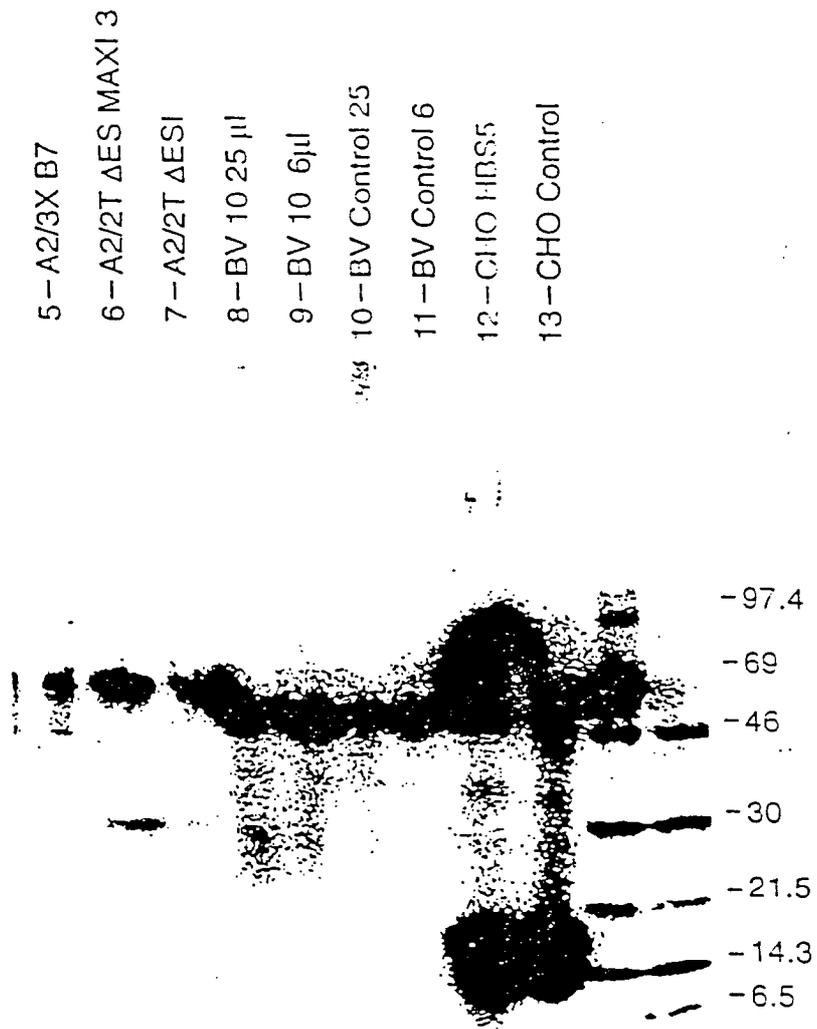


FIG. 50A

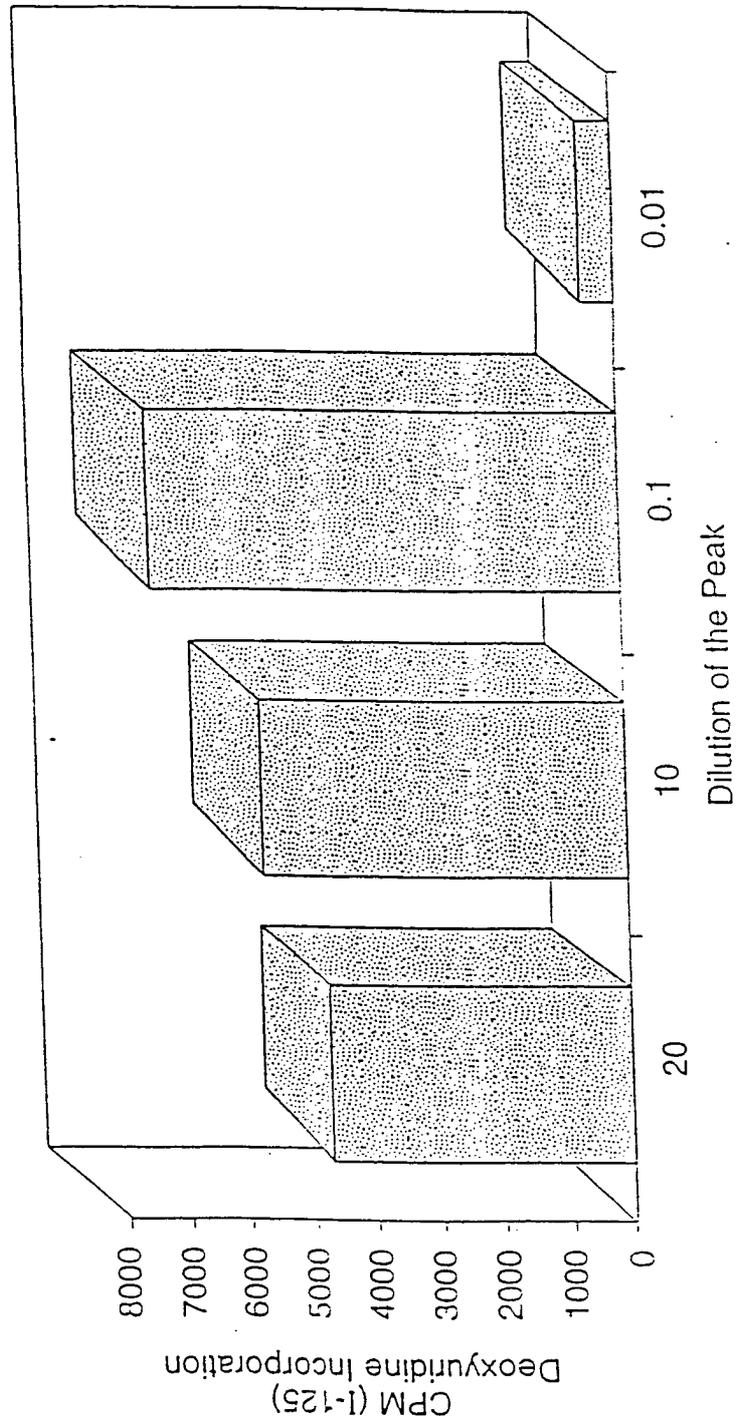


FIG. 50B

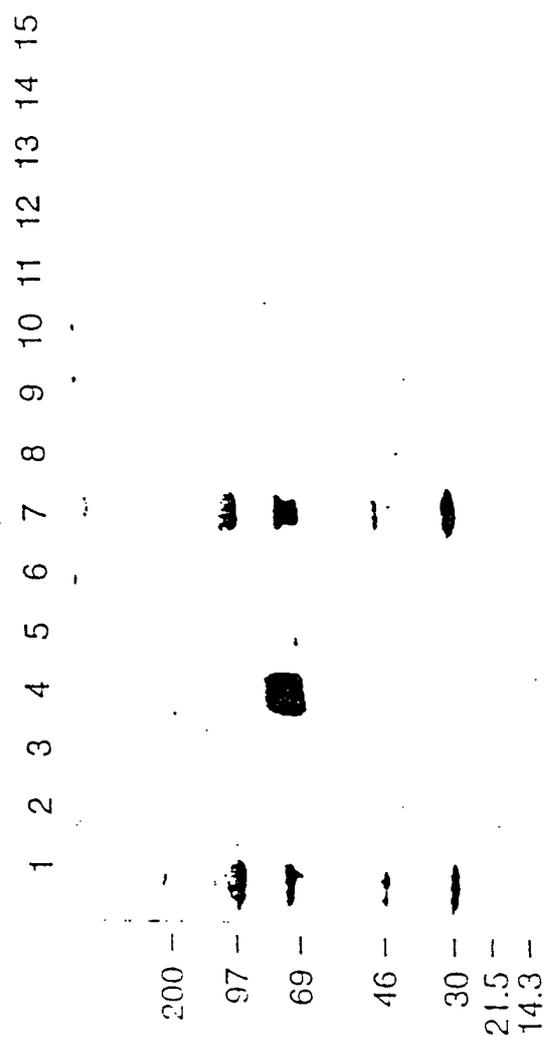


FIG. 51 A
 rGGF Purification on Cation Exchange Column

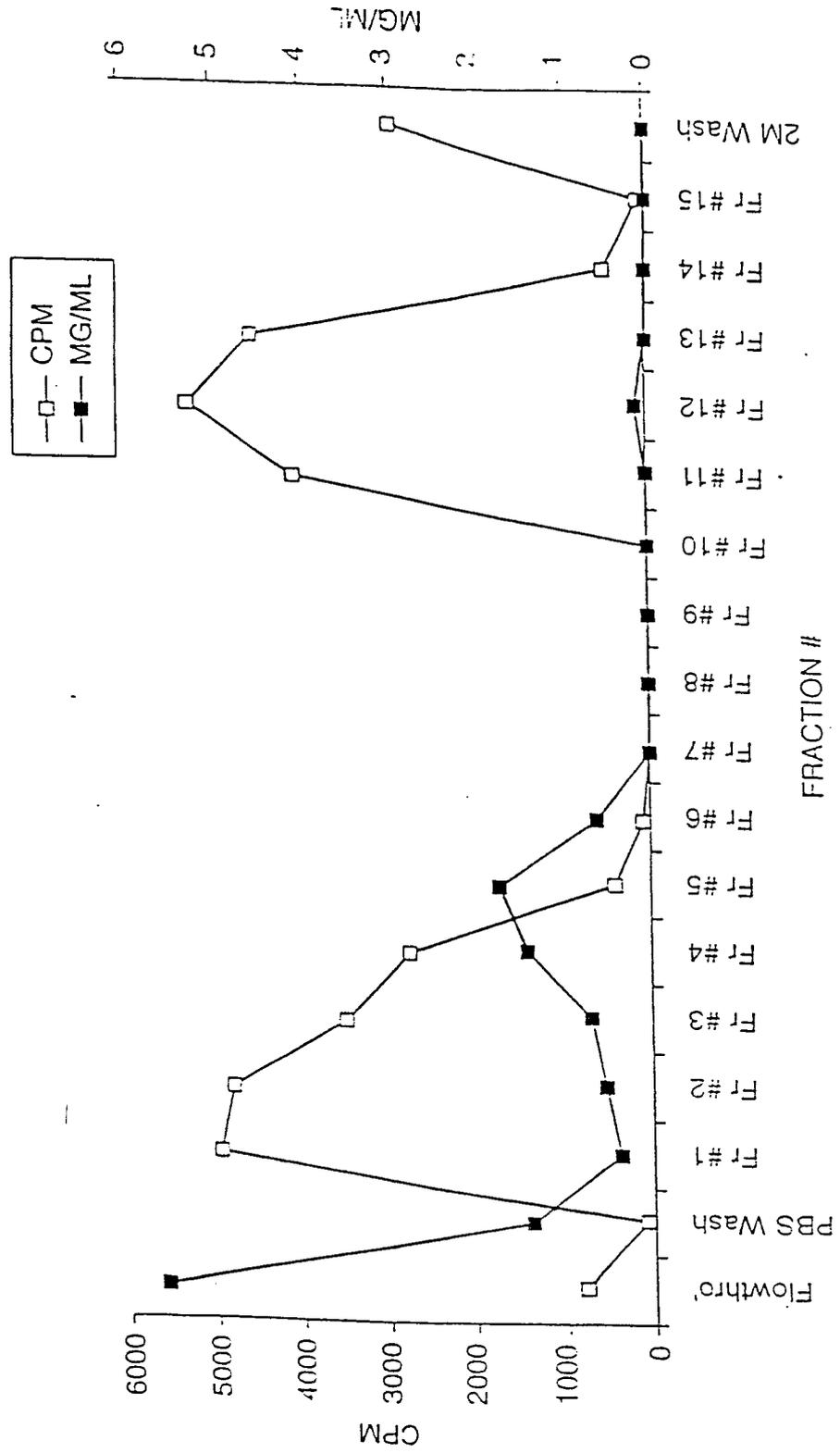


FIG. 51B

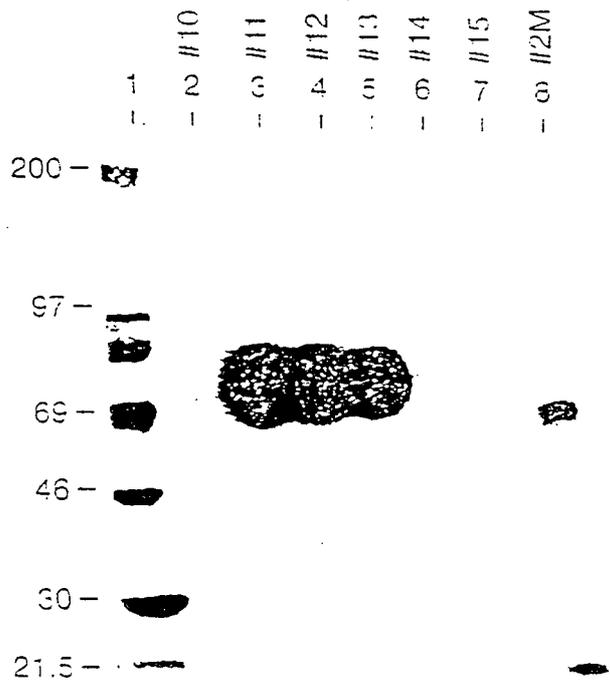
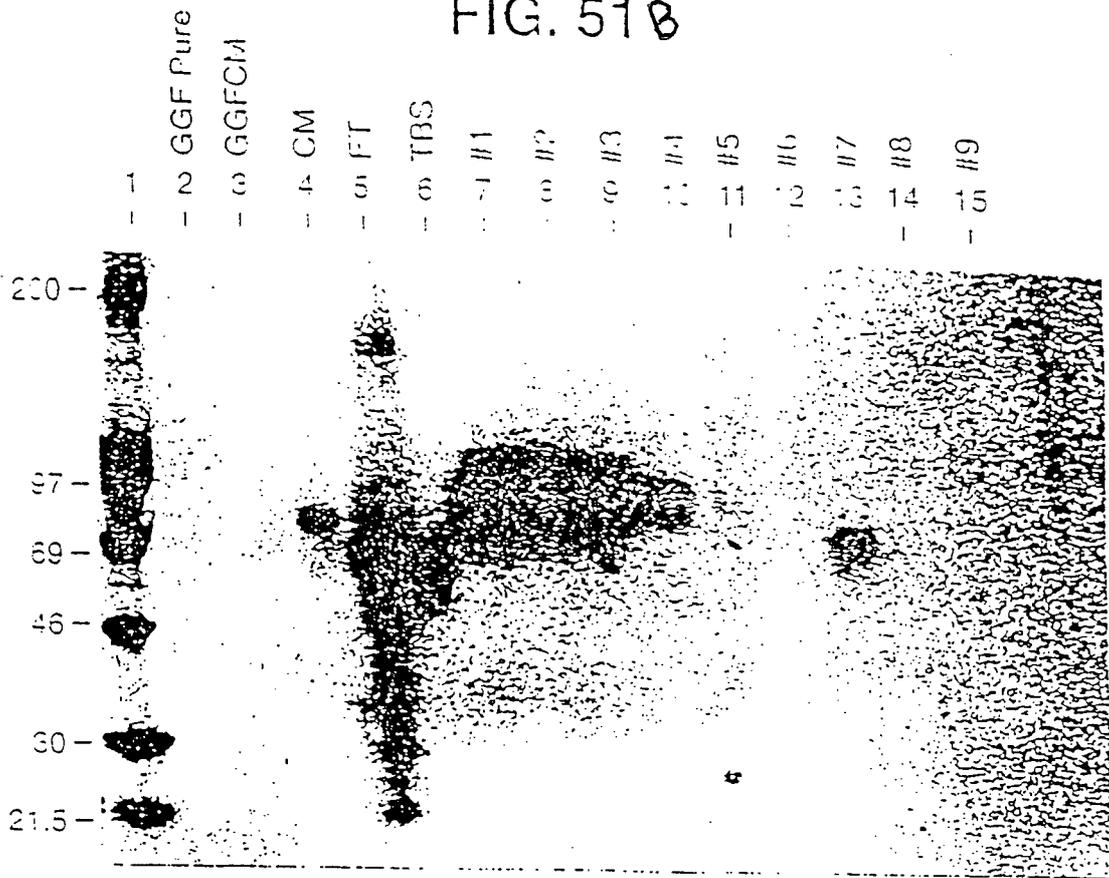


FIG. 52

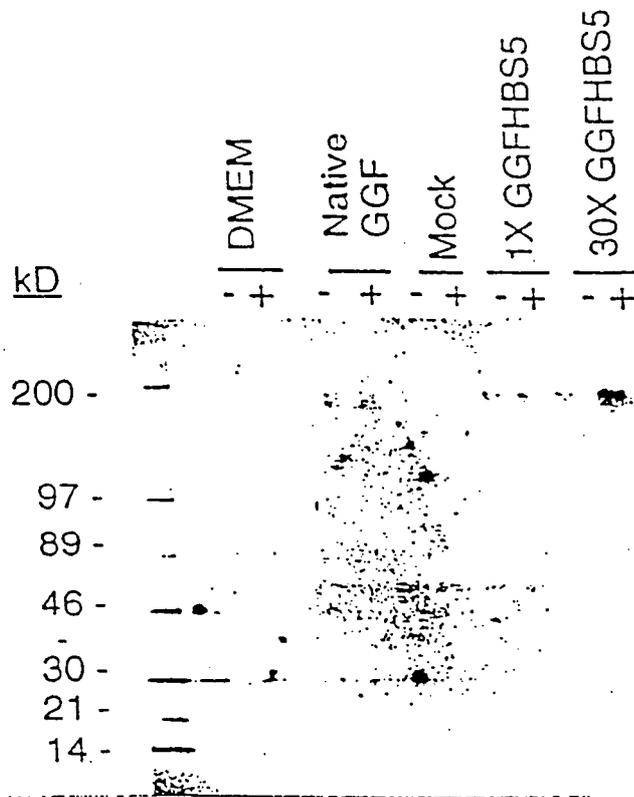


FIG. 54

