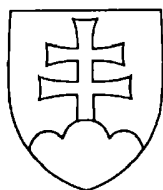


SLOVENSKÁ REPUBLIKA

(19) **SK**



ÚRAD  
PRIEMYSELNÉHO  
VLASTNÍCTVA  
SLOVENSKEJ REPUBLIKY

**ZVEREJNENÁ  
PATENTOVÁ PRIHLÁŠKA**

- (22) Dátum podania prihlášky: **21. 3. 2001**  
(31) Číslo prioritnej prihlášky: **00106225.6  
60/203 249**  
(32) Dátum podania prioritnej prihlášky: **22. 3. 2000  
8. 5. 2000**  
(33) Krajina alebo regionálna  
organizácia priority: **EP, US**  
(40) Dátum zverejnenia prihlášky: **11. 9. 2003**  
Vestník ÚPV SR č.: **9/2003**  
(62) Číslo pôvodnej prihlášky  
v prípade vylúčenej prihlášky:  
(86) Číslo podania medzinárodnej prihlášky  
podľa PCT: **PCT/EP01/03220**  
(87) Číslo zverejnenia medzinárodnej prihlášky  
podľa PCT: **WO01/70968**

(11), (21) Číslo dokumentu:

**1504-2002**

(13) Druh dokumentu: **A3**

(51) Int. Cl. 7 :

**C12N 15/12,  
C07K 14/745,  
C07K 14/755,  
C12N 15/57,  
C12N 9/64,  
A61K 38/36,  
A61K 38/37,  
A61K 38/48,  
A61K 48/00,  
A61P 7/04**

(71) Prihlasovateľ: **OCTAGENE GmbH, Munich, DE;**

(72) Pôvodca: **Hauser Charlotte, Munich, DE;  
Hörster Andrea, Munich, DE;  
Schröder Carola, Munich, DE;  
Lehnerer Michael, Munich, DE;**

(74) Zástupca: **Bezák Marián, Ing., Bratislava, SK;**

(54) Názov: **Produkcia rekombinantných faktorov krvnej zrážanlivosti v ľudských bunkových líniah**

(57) Anotácia:

Je opísaný spôsob produkcie rekombinantných ľudských faktorov krvnej zrážanlivosti, konkrétne faktora VIII a faktora IX, s využitím nesmrteľnej ľudskej bunkovej línie stabilne exprimujúcej vírusový transkripčný aktivačný proteín a nesúcej vektor, ktorý má promótor funkčne viazaný so sekvenciou DNA kódujúcou faktor krvnej zrážanlivosti za predpokladu, že uvedený promótor nie je vírusový promótor, ktorý je stimulovaný uvedenými vírusovými transkripčnými aktivačnými proteínmi; nesmrteľná ľudská bunková línia nesúca uvedený vektor; muteíny faktora VIII obzvlášť vhodné na vyššie uvedený spôsob produkcie; farmaceutické kompozície obsahujúce muteíny faktora VIII a použitie muteínov faktora VIII na prípravu liečiva na liečenie hemofílie.

**SK 1504-2002 A3**

## PRODUKCIA REKOMBINANTNÝCH FAKTOROV KRVNEJ ZRÁŽANLIVOSTI V ĽUDSKÝCH BUNKOVÝCH LÍNIÁCH.

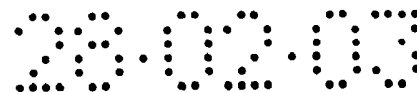
### Oblasť techniky

Predkladaný vynález sa týka zlepšeného spôsobu produkcie rekombinantných ľudských faktorov krvnej zrážanlivosti, konkrétne faktora VIII a faktora IX, ktorý využíva nesmrteľné ľudské bunkové línie stabilne exprimujúce vírusové transkripčné aktivačné proteíny a nesúce vektor, ktorý má promótor funkčne viazaný s DNA sekvenciou kódujúcou faktor krvnej zrážanlivosti, za predpokladu, že uvedený promótor nie je vírusový promótor, ktorý je stimulovaný už uvedenými vírusovými transkripčnými aktivačnými proteínmi; nesmrteľnej ľudskej bunkovej línie, ktorá nesie uvedený vektor; muteínov faktora VIII zvlášť vhodných pre vyššie uvedený spôsob produkcie; farmaceutických kompozícií obsahujúcich muteíny faktora VIII a použitia muteínov faktora VIII na prípravu liečiva na liečenie hemofílie.

### Doterajší stav techniky

Hemofilici trpia na chorobné krvácanie zapríčinené narušenou funkciou proteínových komponentov kaskády zrážania krvi. V závislosti od postihnutého faktora krvnej zrážanlivosti, rozoznávame dva typy hemofílie. V oboch prípadoch je vo všeobecnosti potlačená konverzia rozpustného fibrinogénu na nerozpustnú zrazeninu fibrínu. Sú to recesívne genetické choroby spojené s X-chromozómami, ktoré postihujú najmä mužskú populáciu.

Hemofília A postihuje 1 až 2 jedincov z 10 000 mužov. Je zapríčinená nedostatkom alebo neprítomnosťou faktora VIII, veľmi veľkého glykoproteínu (Mr približne 330 kDa (Furie B., Furie B.C., *Cell* (1988) 53, 505-518)), ktorý predstavuje dôležitý prvok v kaskáde zrážania krvi. Polypeptidová sekvencia môže byť rozdelená na tri oblasti, N-koncovú oblasť pozostávajúcu z takzvaných A1 a A2-domén, centrálnej B-domény a C-koncovej oblasti zloženej z A3, C1 a C2 domén. Pri zrážaní krvi sa stáva faktor VIII neaktívnym

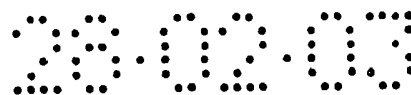


prekurzorom. Je tesne a nekovalentne zviazaný s von Willebrandovým faktorom (vWF), ktorý pôsobí ako stabilizujúci nosičový proteín. Proteolytické štiepenie faktora VIII trombínom na troch špecifických pozíciách (740, 372, 1689) vedie k jeho disociácii od vWF a uvoľňuje prokoagulačnú funkciu vnútri kaskády. Faktor VIII v aktívnej forme funguje ako kofaktor pre faktor IXa, tým zrýchľuje proteolytickú aktiváciu faktora X o niekoľko rádov.

Hemofília B postihuje 1 z 25 000 mužov. Je charakterizovaná nedostatkom serínovej proteázy faktora IX (Christmas faktor). Tento polypeptid so 415 aminokyselinami sa syntetizuje v pečeni ako 56 kDa glykoproteín. Aby sa dosiahla jeho riadna funkcia je potrebná posttranslačná karboxylácia, ktorá je možná len za prítomnosti vitamínu K.

Pri liečbe oboch typov krvácania sa tradične používajú infúzie koncentrátov proteínov faktora VIII alebo faktora IX derivovaných z ľudskej plazmy. Hoci tento spôsob predstavuje účinnú terapiu pre hemofilikov, nesie so sebou riziko prenosu rôznych infekčných pôvodcov, ako napríklad vírusu hepatitídy alebo AIDS alebo tromboembolické faktory. Alternatívne je opísaných niekoľko rekombinantných DNA techník na produkciu faktorov zrážanlivosti. Na tento účel boli zodpovedajúce cDNA štandardného typu (wild type) faktora VIII a faktora IX izolované a klonované do vhodných expresných vektorov (EP-A-160457; WO-A-86/01961, US patenty 4,770,999, 5,521,070 a 5,521,070).

V prípade faktora VIII je známa zo stavu techniky rekombinantná expresia podjednotiek pre produkciu komplexov vykazujúcich zrážaciu aktivitu. (napr. z EP-A-150735, EP-A-232112, EP-A-0500734, WO-91/07490, WO-95/13300 US patenty 5,045,455 a 5,789,203). Navyše bola opísaná expresia skrátenej cDNA-verzie s čiastočne alebo úplne chýbajúcou sekvenciou na kódovanie vysoko glykozylovanej B-domény (napr. vo WO-86/06101, WO-87/04187, WO-87/07144, WO-88/00381, EP-A-251843, EP-A-253455, EP-A-254076, US patenty 4,868,112 a 4,980,456, EP-A-294910, EP-A-265778, EP-A-303540 a WO-91/09122). Nedávno boli predstavené rozličné vybrané bodové mutácie na inhibíciu proteolytickej inaktivácie faktora VIII aktivovaným

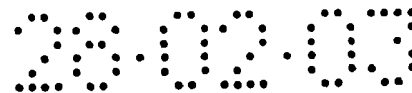


proteínom C alebo na redukcii imunogenicity vedúcej k tvorbe inhibičných protilátok liečenými pacientami (napr. US patenty 5,859,204, 5,422,260 a 5,451,521, WO-97/49725 a WO-99/29848).

Rekombinantné faktory krvnej zrážanlivosti sa zvyčajne izolovali z média stabilne transfekovaných eukaryotických a výhodne cicavčích bunkových línií. Všeobecnou praxou však bolo využitie nie-ludských bunkových línií pri produkčných metódach podľa vyššie uvedených odkazov s tým, že sa vylúčilo riziko zanesenia infekčných činidiel, ktoré môžu byť prenášané a exprimované ľudskými bunkami.

Avšak použitie nie-ludských bunkových línií naráža na určité nevýhody, najmä v prípade faktora VIII. Napríklad bola zaznamenaná neuspokojivá hladina sekrécie exprimovaného proteínu do média. Toto môže byť spôsobené jemnými odlišnosťami medzi rozdielnymi cicavčiami bunkami, ktoré sa týkajú intracelulárnych ciest pre transláciu a modifikáciu proteínu, a môžu tiež mať účinok na biologickú aktivitu exprimovaného polypeptidu. Okrem toho boli obavy, že terapeutické proteíny purifikované z nie-ludských expresných systémov sú kontaminované bunkovými komponentmi, ktoré môžu viesť u pacientov ku vzniku antigénovej reakcie.

Navyše, proteíny exprimované nie-ludskými expresnými systémami môžu mať nie-ludské glykozylačné vzory, čo môže mať za následok nárast antigénových reakcií u pacienta. Avšak na biologickú stabilitu a účinnosť zrážacích faktorov podstatne vplýva N-glykozylačná schéma. Dôležité sú najmä periférne a terminálne monosacharidy, pretože tie sú detegované špecifickými bunkovými receptormi, ktoré sú zodpovedné za ich degradáciu. Faktory krvnej zrážanlivosti nesú ako terminálne monosacharidy zvyšky kyseliny sialovej. Modifikácie v zložení sialových kyselín vo vláknach glykoproteínov, ktorým je napríklad faktor krvnej zrážanlivosti, majú za následok heterogénne glykozylačné schémy. Preto má biologická stabilita a účinnosť podstatný význam v prípade modifikácie. Z tohto dôvodu je dôležité pri produkcii rekombinantných faktorov krvnej zrážanlivosti zhodnotiť vplyv glykozylácie z nie-ludských produkčných bunkových línií verus ľudských bunkových línií.

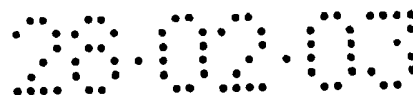


Všeobecne povedané, zdá sa prijateľné, že ľudské bunkové línie sú kvalifikovanejšie pre produkciu rekombinantných faktorov krvnej zrážanlivosti ako nie-ľudské. Dôvod pre tento predpoklad je pravdepodobne ten, že žiaden cudzorodý oligosacharid nemôže byť včlenený do reťazca oligosacharidov počas syntézy rekombinantných faktorov.

Na druhej strane, boli nedávno sprístupnené (napr. US patent 5,712,119) všeobecné metódy pre exprimovanie vysokej hladiny proteínov požadovaného génu zahrňujúce nesmrteľné, stabilne transfekované cicavčie bunkové línie exprimujúce vírusový transkripčný aktivačný proteín. Následne sú tieto bunkové línie transformované konštruktom vektora, kde je vhodný vírusový transkripčný promótor operatívne spájaný so DNA sekvenciou definujúcou uvedený gén, pričom transkripčný aktivačný proteín aktivuje vírusový transkripčný promótor a preto iniciuje expresiu uvedeného génu. Predpokladá sa, že transkripčný aktivačný proteín exprimovaný týmito bunkovými líniami môže zvýšiť kontamináciu v cieľových terapeutických proteínoch.

Z pohľadu vyššie uvedeného stále existuje potreba efektívnej produkčnej metódy ľudských faktorov krvnej zrážanlivosti.

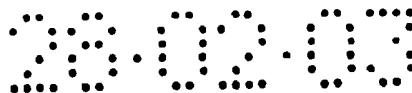
Prekvapujúco sa zistilo, že nekontaminované faktory krvnej zrážanlivosti sa môžu získať s už uvedenými nesmrteľnými ľudskými bunkovými líniami. Obzvlášť nesmrteľné bunkové línie - ak nesú vektor, ktorý má promótor funkčne viazaný s DNA sekvenciou kódujúcou faktor krvnej zrážanlivosti a napriek tomu, že promótor nie je vírusový promótor, ktorý je stimulovaný už uvedeným vírusovým transkripčným aktivačným proteínom - sú schopné exprimovať faktor krvnej zrážanlivosti. V kombinácii s vhodnou purifikáciou proteínov a inaktiváciou vírusov, tento spôsob predstavuje efektívny systém produkcie bezpečných a vysoko aktívnych rekombinantných faktorov krvnej zrážanlivosti na terapeutickú aplikáciu u ľudí. Navyše sa zistilo, že najmä muteíny faktora VIII sú výnimočne stabilné voči proteolytickej inaktivácii a to umožňuje, aby boli podrobené vigoróznej vírusovej inaktivácii.



### Podstata vynálezu

Predkladaný vynález poskytuje:

- (1) spôsob produkcie rekombinantných ľudských faktorov krvnej zrážanlivosti, ktorý zahŕňa
  - (a) kultiváciu nesmrteľnej ľudskej bunkovej línie trvalo exprimujúcej aspoň jeden vírusový transkripčný aktivačný proteín a nesúcej vektor, ktorý má promótor funkčne viazaný s DNA sekvenciou kódujúcou faktor ľudskej krvnej zrážanlivosti, za predpokladu, že uvedený promótor nie je vírusový promótor, ktorý je stimulovaný aspoň jedným vírusovým transkripčným aktivátorom proteínov, a
  - (b) izoláciu faktora krvnej zrážanlivosti z tekutej kultúry;
- (2) výhodné uskutočnenie spôsobu definovaného vo vyššie uvedenom bode (1), kde ľudským faktorom krvnej zrážanlivosti je faktor VIII alebo jeho muteíny;
- (3) výhodné uskutočnenie spôsobu definovaného vo vyššie uvedenom bode (2) vyššie, kde faktor VIII je muteín, ktorý má aspoň jednu z nasledovných mutácií:
  - (a) Val v pozícii 162 bol nahradený iným neutrálnym aminokyselinovým zvyškom,
  - (b) Ser v pozícii 2011 bol nahradený iným hydrofilným aminokyselinovým zvyškom,
  - (c) Val v pozícii 2223 bol nahradený kyslým aminokyselinovým zvyškom, a
  - (d) B-doména medzi pozíciou Arg740 a Glu1649 bola nahradená linkerovým peptidom bohatým na arginín obsahujúcim 10 až 25, výhodne 14 až 20 aminokyselinových zvyškov, kde poradie aminokyselín sa vzťahuje k maturovanej sekvencii faktora VIII štandardného typu zobrazeného v SEQ ID NO: 2;



- (4) výhodné uskutočnenie spôsobu definovaného v (1) vyššie, kde faktor ľudskej krvnej zrážanlivosti je faktor IX alebo jeho muteíny;
- (5) nesmrteľné ľudské bunkové línie nesúce vektor kódujúci ľudský faktor krvnej zrážanlivosti definovaný už v (1) až (4);
- (6) muteín faktora VIII ako je definovaný v (3) vyššie;
- (7) DNA sekvencia kódujúca muteín faktora VIII ako je definovaný v (6) vyššie;
- (8) vektor zahŕňajúci DNA ako je už definované v (7) vyššie;
- (9) vektor ako je definovaný v (8) vyššie, ktorým je gén transferujúci vektor;
- (10) hostiteľská bunka transformovaná vektorom ako je definované v (8) vyššie a/alebo obsahujúca DNA sekvenciu definovanú v (7);
- (11) farmaceutická kompozícia obsahujúca muteín faktora VIII ako je definované v (6) vyššie alebo gén transferujúci vektor ako je definované v (9) vyššie;
- (12) použitie muteínu faktora VIII ako je definované v (6) vyššie alebo gén transferujúceho vektora ako je definované v (9) vyššie na prípravu liečiv na liečenie hemofílie; a
- (13) spôsob liečenia hemofílie, ktoré zahŕňa podanie ľudským hemofilikom muteínu faktora VIII ako je definované v (6) vyššie alebo gén transferujúceho vektora ako je definovaný v (9) vyššie.

#### **Prehľad obrázkov na výkresoch**

Obr.1 znázorňuje fragmenty použité na vytvorenie faktora VIII s deletovanou B-doménou (príklad 1)

Obr.2 znázorňuje vektor pTGF8-1, 8720 bps kruhovú DNA, jej presná DNA sekvencia je daná v SEQ ID NO: 3 (pre proteín faktora VIII kódovaného DNA sekvenciou pozri SEQ ID NO: 4).

Obr.3 znázorňuje vektor pTGFG36, 5753 bps kruhovú DNA, jej presná

DNA sekvencia je daná v SEQ ID NO: 6 (bázy 689-2071 vo vnútri SEQ ID NO: 6 kódujúce proteín faktora IX):

Obr.4 znázorňuje vektor pTG36hyg, 8124 bps kruhová DNA.

Obr.5A ilustruje výhodné linkerové sekvencie podľa predkladaného vynálezu (SEQ ID NO: 9).

Obr.5B znázorňuje zrážací čas rekombinantného hFVIII ako je stanovený v príklade 6.

Obr.6 znázorňuje bežnú molekulovú štruktúru pTGF8-2hyg-s a pTGF8-3, 10698 bps kruhová DNA, ich presné DNA sekvencie sú dané v SEQ ID NO: 12 a 14 (pre proteín faktora VIII kódovaného uvedenou DNA sekvenciou pozri SEQ ID NO: 13 a 15).

Obr.7A znázorňuje kalibračnú krivku FVIII ELISA testu ako je opísané v príklade 5.

Obr.7B ilustruje výsledky stanovenia koncentrácií rekombinantného FVIII v rôznych filtrátoch kultúr ako je opísané v príklade 5.

Obr.8 ukazuje výsledky špecifického imunofluorescenčného testu faktora VIII ako je opísaný v príklade 9. Horný rad: 293T bunky stabilne transfekované s pTGF8-3, klon 49/19. Spodný rad: Negatívna kontrola: Netransfekované 293T bunky. A a C: biele svetlo, bez filtra; B a D: detekcia faktora VIII fluorescenčne, filter 550 nm.

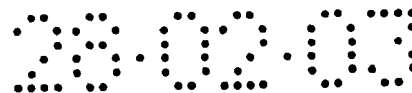
Obr.9 znázorňuje vplyv ošetrenia teplom na aktivitu FIX vo filtráte kultúry ako je opísané v príklade 10.

Obr.10 znázorňuje závislosť expresie aktívneho rekombinantného faktora IX od doplnenia vitamínu K do média kultúry.

### **Podrobný opis vynálezu**

„Funkčne viazaný,“ znamená konfiguráciu vektora, kde je promótor umiestnený vo vektore takým spôsobom, že môže stimulovať transkripciu DNA





sekvencie kódujúcej ľudský faktor krvnej zrážanlivosti. „Ne-funkčne viazaný,“ znamená konfiguráciu, kde promótor je tak ďaleko umiestnený od exprimovanej génovej sekvencie faktora krvnej zrážanlivosti, že nemôže stimulovať jeho transkripciu.

„Gén,“ znamená DNA sekvenciu kódujúcu polypeptidy fubovoľne zahŕňajúce vedúce a koncové sekvencie a intróny a exóny.

„Vektor,“ znamená akýkoľvek genetický konštrukt, ako je plazmid, fág, kozmid, atd., ktorý je schopný replikácie, keď sa spojí s vhodnými kontrolnými prvkami. Termín zahŕňa klonovacie a expresné prostriedky. „Nesenie vektora,“ zahŕňa oboje, stabilnú a dočasnú inkorporáciu funkčných DNA segmentov do hostiteľskej bunky. Výhodná je najmä stabilná inkorporácia.

„Gén transferujúci vektor,“ podľa predkladaného vynálezu zahŕňa vektor vhodný na génovú terapiu. Taký vektor zahŕňa funkčné sekvencie pre požadovaný cieľ ako je známe z doterajších poznatkov.

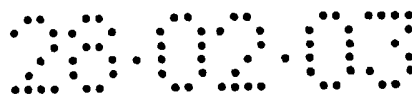
Termín „maturovaný,“ opisuje molekulovú štruktúru daného proteínu priamo po bunkovej sekrécii. (napr. postrádajúci svoj N-koncový polypeptidový exportný signál).

„Promótor,“ znamená oblasť regulačných DNA sekvencií pre kontrolu transkripcie génov, na ktoré sa viaže RNA polymeráza.

„Terapeuticky účinná dávka,“ farmaceutickej kompozície vynálezu znamená dávkovanie efektívne pri liečbe alebo profylaxii, napríklad dávka, ktorá poskytuje efektívnu liečbu alebo redukciu symptómov hemofílie. Stanovenie terapeuticky účinnej dávky by mal byť schopný urobiť odborník v tejto oblasti.

„Kódovať,“ alebo „kódovanie,“ znamená vlastnosť sekvencie nukleovej kyseliny byť transkribovaná (v prípade DNA) alebo translatovaná (v prípade mRNA) do polypeptidu *in vitro* alebo *in vivo*, kde podlieha kontrole vhodnej regulačnej sekvencie.

Pre účely tohto vynálezu výrazy „exprimovať“, „exprimujúci“, „expresia“ znamenajú transkripciu a transláciu génu kódujúceho proteín.



Predkladaný vynález ako je už opísaný v bodoch (1) až (13) je ďalej opísaný detailnejšie. Podľa uskutočnenia v bode (1) vynálezu predkladanej prihlášky, promótor funkčne spojený s DNA sekvenciou kódujúcou ľudský faktor krvnej zrážanlivosti nie je vírusový promótor, ktorý je stimulovaný aspoň jedným vírusovým transkripčným aktivačným proteínom exprimovaným nesmrteľnou ľudskou bunkovou líniou.

Nesmrteľnou bunkovou líniou je výhodne nesmrteľná bunka z obličiek, z močového mechúra, z pečene, z pľúc, srdcovosvalová bunka, bunka z hladkých svalov, z vaječníkov alebo bunka z gastrointestinálneho traktu. Výhodnejšia je nesmrteľná ľudská bunková línia odvodená od embryonálnej ľudskej obličkovej bunky a najvýhodnejšie je to bunková línia 293 T (ECACC: tsa201, ref. 96121229; DSM ACC2494).

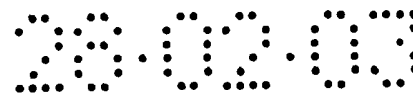
Aspoň jeden transkripčný aktivačný proteín exprimovaný nesmrteľnou bunkovou líniou zahŕňa opičí vírusový T antigén, E1A alebo E1B proteíny z adenovírusu, proteín kódovaný v DNA sekvencii skorej oblasti hovädzieho papiloma vírusu a IE proteíny vírusu herpes. Výhodne nesmrteľná bunka exprimuje aspoň dva vírusové transkripčné aktivátory proteínov, napr. na teplotu citlivý T antigén SV40 a E1A proteín z adenovírusu (ako uvedená bunková línia 293T).

Promótor funkčne spojený s DNA sekvenciou kódujúcou ľudský faktor krvnej zrážanlivosti výhodne zahŕňa

(i) vírusové promótory, ktoré nie sú stimulované aktivačným proteínom exprimovaným nesmrteľnou bunkou ako je definované vyššie (ako sú SV40 a CMV);

(ii) housekeeping promótory z hostiteľa (albumín); a

(iii) tkanivovo špecifické promótory (ako je napr.  $\alpha$ -antitrypsín pre pečeň). Najvýhodnejší promótor podľa vynálezu je CMV promótor (pokiaľ transkripčným aktivačným proteínom exprimovaným nesmrteľnou bunkou nie je uvedený stimulujúci promótor).



Podľa vynálezu vektor môže niesť prídavné vírusové promótoary, ktoré sú stimulované uvedenými vírusovými transkripčnými aktivačnými proteínmi, ale ktoré nie sú funkčne spojené k faktoru krvnej zrážanlivosti. Takéto vírusové promótoary sú vybrané z promótorov odvodených z adenovírusu, Rousovho sarkómového vírusu a cytomegalovírusu. Vektor môže ďalej obsahovať jednu alebo viacej z nasledujúcich funkčných sekvencií: markéry selekcie, regulačné sekvencie (napr. PRE), atď.

Ľudský faktor krvnej zrážanlivosti v súlade s uskutočnením v bode (1) vynálezu zahŕňa, ale nie je na ne obmedzený, faktor IX, faktor VIII, faktor VII, faktor V, von Willebrandov faktor (vWF) a pod.

Vo výhodnom uskutočnení v bode (2) vynálezu, vektor obsahuje DNA sekvenciu kódujúcu faktor VIII alebo jeho muteíny. Zatiaľ čo rekombinantný faktor IX je vo všeobecnosti štruktúrne identický k štandardnému typu proteínu izolovanému z krvnej plazmy, niekoľko modifikovaných expresných konštruktov faktora VIII bolo navrhnutých pre rekombinantnú expresiu. V prípade štruktúry domény funkčného polypeptidu faktora VIII, dôležité miesta interakcie s vWF sú umiestnené v A3-doméne (aminokyselina 1680-1689) a v C2-doméne (Kaufman and Pipe, *Haemophilia* (1998) 4, 370-379). Bolo navrhnuté štiepenie po 1689 s cieľom uvoľniť faktor VIII od vWF a dovoliť faktoru VIII interagovať s nabitými fosfolipidmi. Rekombinantný konštrukt faktora VIII bez vWF-väzbového miesta sa ukázal veľmi náchylný k proteolytickému štiepeniu, keď je injikovaný do myši trpiacich nedostatkom faktora VIII. Rekombinantná expresia skrátených konštruktov faktora VIII v cicavčích bunkových kultúrach ukazuje, že úplná delécia B-domény nemeňte biologickú aktivitu korešpondujúceho proteínu podobného faktoru VIII (Eaton et al., *Biochemistry* (1986) 25, 8343-8347). Navyše pozorovaná rýchlosť expresie konštruktov s deletovanou B-doménou bola významne vyššia v porovnaní s štandardným typom (wild-type) faktora VIII z dôvodu nárastu hladiny mRNA v bunkách (Pittman et al., *Blood* (1993) 81, 2925-2935). Štyri produkty rekombinantného faktora VIII (Recombinate<sup>®</sup> Baxter HealthCare; Kogenate<sup>®</sup> and Kogenate FS<sup>®</sup> Bayer Corporation and Refacto<sup>®</sup> Wyeth, Genetic Institute) sú v súčasnosti v predaji.



Vo výhodnom uskutočnení (3) vynálezu má muteín faktora VIII aspoň jednu z nasledujúcich mutácií (a) až (d):

(a) Val v pozícii 162 bol nahradený iným neutrálnym aminokyselinovým zvyškom,

(b) Ser v pozícii 2011 bol nahradený iným hydrofilným aminokyselinovým zvyškom,

(c) Val v pozícii 2223 bol nahradený kyslým aminokyselinovým zvyškom,  
a

(d) B-doména medzi pozíciou Arg740 a Glu1649 bola nahradená linkerovým peptidom bohatým na arginín obsahujúcim 10 až 25, výhodne 14 až 20 aminokyselinových zvyškov, kde sa poradie aminokyselín vzťahuje k sekvencii faktora VIII štandardného typu zobrazeného v SEQ ID NO: 2 (aminokyselinová sekvencia maturovaného peptidu nezahŕňa 19 aminokyselín signálneho peptidu, ale zahŕňa úplne B-doménu (WO 99/29848)).

„Ďalší neutrálny aminokyselinový zvyšok,“ podľa predkladaného vynálezu zahŕňa Gly, Ala, Leu, Ile, Met a Pro a výhodne Ala. „Ďalšia hydrofilná aminokyselina,“ zahŕňa Asn, Thr, a Gln a výhodne Asn. Kyslý aminokyselinový zvyšok je vybraný z Glu a Asp, výhodne je Glu.

Medzi muteínmi faktora VIII podľa uskutočnenia (3) sa uprednostňuje muteín faktora VIII, ktorý má aspoň jednu z mutácií (a), (b) a (c), výhodnejšie aspoň jednu z mutácií (a) a (b), a najvýhodnejšie všetky tri mutácie (a) až (c) ako sú definované vyššie. Obzvlášť výhodné je, keď muteín obsahuje všetky tri mutácie V162A, S2011N a V2223E.

Tak isto, DNA sekvencia obsahujúca vektor podľa uskutočnenia (4) vynálezu má mutácie T485C, G6032A a T6668A vzťahujúce sa k DNA sekvencii maturovaného faktora VIII štandardného typu zobrazeného v SEQ ID NO: 1. Vo výhodnom uskutočnení DNA sekvencia tiež obsahuje tiché (silent) mutácie T6816C (uvedené poradie aminokyselín sa znovu vzťahuje sa k DNA sekvencii maturovaného faktora VIII štandardného typu).

Medzi muteínmi faktora VIII podľa uskutočnenia (3) je alternatívne výhodné, že muteín faktora VIII má mutáciu (d) ako bolo definované vyššie.

Výhodný expresný systém vynálezu využíva unikátny muteín faktora VIII, ktorému - okrem bodovej mutácie (a) až (c) ako je definované vyššie - čiastočne alebo úplne chýba jeho B-doména, výhodne muteín, kde B-doména medzi pozíciami R740 a E1649 je nahradená charakteristickým aminokyselinovým medzernikom bohatým na arginín ako je definované už v (d) vyššie. „Bohatý na arginín“ (Arg-rich) podľa predkladaného vynálezu znamená, že medzerník zahŕňa aspoň 3, výhodne aspoň 4 Arg zvyšky. V najvýhodnejšom uskutočnení sa medzerník skladá z ôsmich aminokyselín B-domény štandardného typu nasledovné ôsmymi aminokyselinami variabilnej domény (pozri obr. 5A, SEQ ID NO: 9). V takýchto konštruktoch, ktoré majú modifikácie B-domény opísané tu vyššie, navrhované vWF-väzbové miesto zostáva nezmenené, aby sa predišlo bezprostrednému proteolytickému štiepeniu secernovaného faktora VIII v médiu bunkovej kultúry alebo neskôr v krvi liečených pacientov. Len po špecifickej aktivácii trombínovým štiepením sa faktor VIII uvoľní z vWF. cDNA pre výhodný faktor VIII bola konštruovaná spojením štyroch DNA fragmentov, napr. ako je opísané v príklade 1.

Proteín podľa uskutočnenia (3) vynálezu môže obsahovať prídavné N- alebo C-terminálne sekvencie vrátane, ale nie je na ne obmedzený, prirodzeného exportného signálneho peptidu (zodpovedajúci aminokyselinovým zvyškom -19 až -1 proteínov zobrazených v SEQ ID NO: 4, 13 a 15) alebo fragmentu alebo jeho analógov, umelých peptidov (napr. oligo-His-tagy pre vysoko afinitnú purifikáciu) a podobne.

Najvýhodnejší vektor pre expresiu faktora VIII je vektor pTGF8-1 na obr. 2. DNA sekvencia tohto vektora je zobrazená v SEQ ID NO: 3, a obsahuje všetkých päť mutácií adresovaných vyššie (muteíny T485C, G6032A, T6668A a T6816C (tu: muteíny: T1217C, G4088A, T4724A a T4872C) a DNA sekvencia kódujúca linker B-domény v SEQ ID NO: 9) a kóduje muteín faktora VIII zobrazený v SEQ ID NO: 4.

Ďalej, najvýhodnejšie vektory sú pTGF8-2hyg-s a pTGF8-3, ich jednoduchá molekulová štruktúra je zobrazená na obr. 6. pTGF8-2hyg-s zobrazený v SEQ ID NO: 12 obsahuje len tiché mutácie T6816C, výsledkom čoho je muteín faktora VIII majúci substitúciu B-domény spôsobenú linkerovým peptidom SEQ ID NO: 9, ale žiadnu ďalšiu zmenu v primárnej štruktúre proteínu v porovnaní k štandardnému typu sekvencie SEQ ID NO: 2.

PTGF8-3 zobrazený v SEQ ID NO: 14 obsahuje mutácie T485C, T6668A a T6816C, výsledkom čoho je muteín faktora VIII ukazujúci aminokyselinové substitúcie V162A a V2223E vzťahujúce sa k SEQ ID NO: 2 okrem substitúcie B-domény ako je opísané vyššie.

V prípade produkcie faktora VIII kultivácia sa uskutočňuje za prítomnosti von Willebrandovho faktora. von Willebrandov faktor sa výhodne používa v množstve od 10 do 100, výhodne od 50 do 60 mol vWF/mol faktora VIII (v tekutej kultúre a/alebo v roztoku faktora VIII počas purifikácie (pozri ďalej).

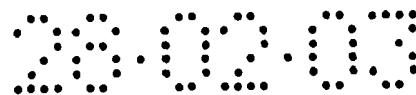
Vo výhodnom uskutočnení (4) predkladaného vynálezu ľudským faktorom krvnej zrážanlivosti je faktor IX alebo jeho muteín, výhodným je štandardný typ faktora IX zobrazený v SEQ ID NO: 5. Vhodné muteíny faktora IX zahŕňajú bodovo mutované a skrátené formy faktora IX. Najvýhodnejšie vektory pre expresiu faktora IX sú vektory pTGFG36 a pTG36hyg zobrazené na obr. 3 a 4.

V prípade produkcie faktora IX, sa kultivácia výhodne uskutočňuje v prítomnosti vitamínu K, ktorý môže byť prítomný v rozmedzí 0,1 až 100 µg/ml tekutej kultúry, výhodnejšie od 1 do 20 µg/ml tekutej kultúry.

Spôsob podľa uskutočnenia (1) vynálezu ďalej zahŕňa kroky

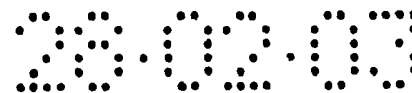
- (c) purifikáciu faktora krvnej zrážanlivosti izolovaného v kroku (b) a/alebo
- (d) podrobenie faktora krvnej zrážanlivosti izolovaného v kroku (b) alebo purifikovaného v kroku (c) opracovaniu, ktoré inaktivuje vírus.

Vhodné purifikačné kroky zahŕňajú spôsoby, ktoré sú známe zo stavu techniky pre maximalizáciu výťažku, čistého, stabilného a vysoko aktívneho



produktu a sú vybrané z imunoafinitnej chromatografie, iónomeničovej chromatografie, vylučovacej chromatografie, atď. a ich kombinácií. Obzvlášť, detailné purifikačné protokoly pre zrážacie faktory z ľudskej krvnej plazmy sú napr. uverejnené v WO93/15105, EP0813597, WO96/40883 a WO96/15140/50. Môžu sa ľahko adaptovať na špecifické požiadavky potrebné pri izolácii rekombinantných faktorov VIII a IX. Pre faktor IX bol uvedený účinný protokol obsahujúci zrážanie síranom amónnym nasledované DEAE a HIC „tentacle“ chromatografiou, tak ako aj heparín afinitnou chromatografiou (US5919909). Kvantita a aktivita purifikovaných proteínov počas a po purifikačnom postupe môže byť sledovaná ELISA a koagulačnými skúškami.

Aby sa predišlo problémom s možnou infekčnou kontamináciou pri purifikovaní proteínových vzoriek alebo v produkte priamo získanom zo supernatantu bunkovej kultúry obsahujúceho secernované rekombinantné proteíny podľa výberu, vzorky a/alebo supernatant kultúry môžu byť spracované postupmi na vírusovú inaktiváciu vrátane spracovania teplom (v suchom alebo kvapalnom stave, s alebo bez prídania chemických látok vrátane inhibítorov proteáz). Po vírusovej inaktivácii je ďalej potrebný čistiaci krok na odstránenie chemických látok. Najmä pre faktor VIII izolovaný z krvnej plazmy je opísaná regenerácia proteínu inaktivovaného vírusu vysokej čistoty iónomeničovou chromatografiou (WO93/15105). Okrem toho bolo publikovaných viacero postupov na produkciu vysoko čistých, neinfekčných zrážacích faktorov z krvnej plazmy alebo iných biologických zdrojov. Lipidmi obalené vírusy sú efektívne inaktivované spracovaním potenciálne infekčným materiálom s hydrofóbnou fázou vytvárajúcou dvojfázový systém, z ktorého je postupne odstránená vo vode nerozpustná časť. Ďalším zlepšením sa ukázalo doplnenie opracovania hydrofóbnou fázou simultánnym alebo postupným opracovaním neiónovými biokompatibilnými detergentami a dialkyl alebo trialkyl fosfátmi. (WO 9636369, EP 0131740, US 6,007,979). Vírusy neobalené tukmi vyžadujú inaktivačný protokol pozostávajúci zo spracovania s neiónovými detergentami s následným pôsobením tepla (60 - 65 °C) počas niekoľkých hodín (WO 94/17834).



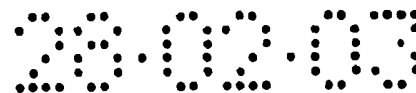
S ohľadom na uvedené výsledky sa predpokladá, že kombinácia efektívneho expresného systému proteínov, ktorý je založený na ľudských bunkových líniách spolu so schválenými spôsobmi na inaktiváciu potenciálne nebezpečných infekčných látok, slúži ako bezpečný a ľahko použiteľný systém na produkciu rekombinantných faktorov krvnej zrážanlivosti.

Navyše v súlade s uskutočnením (6) vynálezu je poskytnutý lepší mutant faktora VIII. Uvedený mutant faktora VIII môže byť časťou farmaceutickej kompozície, môže byť použitý na prípravu liečiv na liečenie hemofilie a môže sa aplikovať spôsobmi na liečenie hemofilie (uskutočnenia podľa bodov (11) až (13) vynálezu). Vyššie uvedené farmaceutické kompozície a vyššie uvedené liečivá môžu obsahovať faktor VIII v terapeuticky účinnej dávke, napr. od 50 do 500 µg (pričom 200 ng faktora VIII zodpovedá jednej medzinárodnej jednotke (International Unit (IU))). V závislosti od typu hemofilie, pacient prijme ročne dávku faktora VIII do 200,000 IU, ktorá je obvykle podávaná raz alebo dva krát do týždňa.

Farmaceutické kompozície, liečivá alebo prípravky podávané v spôsoboch pri liečení hemofilie v súlade s uskutočneniami (11) až (13) obsahujú terapeuticky účinnú dávku muteínu faktora VIII v súlade s uskutočnením v (6) alebo gén transferujúci vektor v (9). V predchádzajúcom prípade, môže ďalej zahŕňať farmaceuticky prijateľné aditíva vrátane ľudského sérového albumínu (HSA; výhodne roztok s koncentráciou asi 1 mg/ml roztoku); anorganické soli ako  $\text{CaCl}_2$  (výhodne 2 - 5 mM), aminokyseliny ako glycín, lyzín a histidín (výhodne 0,1 - 1 M na aminokyselinu); disacharidy ako sacharózu a/alebo trehalózu (výhodne 0,4 - 1 M); organické soli ako citrát sodný (výhodne do 50 mM); a pod. Prípravky môžu byť vodné alebo nevodné. V poslednom prípade hlavnou zložkou je glycerol a/alebo polyetylén glykol (napr. PEG-300). Prípravok môže tiež byť v suchej forme (aby bol pred podávaním rozpustený v požadovanom rozpúšťadle).

Ako je ukázané vyššie, gén transferujúci vektor v súlade s uskutočnením (9) vynálezu môže byť tiež časťou farmaceutických kompozícií, môže byť používaný na prípravu liečiv na liečenie hemofilie a môže byť aplikovaný v





spôsoboch na liečenie hemofilie (uskutočnenia (11) až (13) vynálezu). Uvedené farmaceutické kompozície a liečivá môžu ďalej obsahovať vhodné formulácie matrixu, napr. lipidy alebo hormóny ako je diskutované v WO 00/49147 (je tu zahrnutý formou odkazu). Farmaceutická kompozícia alebo liečivo, ktoré obsahuje gén transferujúci vektor alebo gén transferujúci vektor podľa predkladaného vynálezu môže byť podávané orálne, intravenózne, intramuskulárne, subkutánne, topicky cez sliznicu (vrátane bukálneho spôsobu, nosným sprejom) alebo génovým delom. Výhodné je orálne podávanie (napr. v mikronizovaných hormónových disperziách).

Muteín faktora VIII podľa uskutočnenia (6) vynálezu je výhodne definovaný v odkaze na uskutočnenie (3) vyššie. Uvedený muteín faktora VIII môže byť ďalej pripravený štandardnými rekombinantnými technikami, napr. spôsobom zahŕňajúcim

(a) kultiváciu hostiteľských buniek transformovaných vektorom podľa uskutočnenia (8) a/alebo obsahujúcich DNA podľa uskutočnenia (7) (ktoré tiež zahŕňa kultiváciu nesmrteľných ľudských bunkových línií stabilne exprimujúcich aspoň jeden vírusový transkripčný aktivátor proteínu a nesúcich vektor, ktorý má vírusový transkripčný promótor funkčne viazaný s DNA sekvenciou kódujúcou ľudský faktor krvnej zrážanlivosti, pričom uvedený vírusový promótor je stimulovaný aspoň jedným vírusovým transkripčným aktivátor proteínu); a

(c) izoláciu faktora krvnej zrážanlivosti z tekutej kultúry. Vhodné nesmrteľné ľudské bunkové línie, transkripčný aktivačný proteín a vírusové promótory tu boli spomenuté vyššie. Nesmrteľná ľudská bunková línia využitá v uvedenom spôsobe výhodne exprimuje dva vírusové transkripčné aktivátory proteínov, najvýhodnejšie SV40 T antigén citlivý na teplo a E1A proteín z adenovírusu. Spôsob môže ďalej zahŕňať kroky purifikácie a vírusovej inaktivácie (c) a (d) opísané vyššie.

20. februára 2001 bola uložená v DMSZ (Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH, Mascheroder Weg 1b, 38124 Braunschweig, Germany) komerčne dostupná bunková línia 293 T (ECACC: tsa201, ref. 96121229) pod deponitárnym číslom č. DSM ACC2494.



Vynález je ďalej ilustrovaný nasledujúcimi príkladmi.

### Príklady uskutočnenia vynálezu

#### **Príklad 1**

##### Klonovanie faktora VIII

Z kompletného ľudského hepatocelulárneho RNA fondu sa získala reverznou transkripciou sekvencia pre rekombinantný faktor VIII. Potom boli amplifikované štyri fragmenty (1/2, 3/4, 5/6, 7/8) štandardnou PCR s použitím primérov, ktoré obsahovali reštrikčné miesta. Aby zapadli do seba fragmenty 3/4 a 5/6, SmaI/SalI fragment z plazmidu pBSFVIII3/4 sa inzeroval do SalI miesta pBSFVII5/6 za získania pBSFVIII3/6. Ďalej, fragment 3/6 sa získal štiepením pBSFVIII3/6 s XhoI/BspHI a čiastočne s Alw44I. Tento fragment a PstI/Alw44I fragment z pBSFVIII1/2 boli ligované v jednom kroku do hlavného reťazca vektora pBSFVIII1/2 štiepeného s PstI a XhoI čím sa získa pBSFVIII1/6. Fragment 7/8 sa získal štiepením pBSFVIII7/8 so SmaI a čiastočne s Mva1269I a ligoval sa do pBSFVIII1/6 strihom s XhoI a Mva1269I dávajúceho vznik pBSFVIII1/8. Nakoniec boli fragmenty SmaI/XhoI z pBSFVIII1/8 vložené na tupo do SalI miesta vektora Octagene pTGFG67. (produkcia uvedeného vektora je uverejnená v PCT/EP00/01368) čo viedlo k expresii vektora ľudského faktora VIII pTGF8-1 (pozri obr. 1 a 2). Výsledný vektor kóduje muteín faktora VIII, ktorý má mutácie V162A, S2011N a V2223E.

#### **Príklad 2**

##### Klonovanie faktora IX

Vektor pUC19 (MBI Fermentas) bol štiepený s XbaI, opracovaný Klenowovým enzýmom a religovaný. Tento deletovaný vektor XbaI bol potom štiepený s EcoRI, opracovaný Klenowovým enzýmom a religovaný, kvôli odstráneniu EcoRI miesta. Na vnesenie XbaI miesta do SacI miesta tohto vektora, sa vektor štiepil SacI, opracoval s T4-DNA-polymerázou, defosforyloval



s alkalickou fosfatázou a ligoval Xbal-linkerom CTCTAGAG (Biolabs #1032). Ďalšie Xbal miesto bolo vnesené štiepením novovytvoreného vektora HindIII, opracovaním s Klenowovým enzýmom, defosforyláciou pomocou alkalickéj fosfatázy a ligáciou s Xbal-linkerom CTCTAGAG (Biolabs #1032). Tento vektor sa volal pUC19/X.

Aby sa zničilo Xbal miesto vo vektore pHGFP-S65T (Clontech), bol tento vektor štiepený Xbal, opracovaný s Klenowovým enzýmom a religovaný za vzniku vektora pGFP/0. Izoloval sa 2,3 kb fragment obsahujúci GFP-gén po štiepení pGFP/0 s MluI, jeho opracovaní Klenowovým enzýmom a jeho štiepení BamHI. Tento fragment sa vniesol do viacnásobne klonovacieho miesta vektora pUC19/X, ktorý bol štiepený Sall, opracovaný Klenowovým enzýmom a štiepený BamHI. Výsledný vektor sa volal pTGFG1.

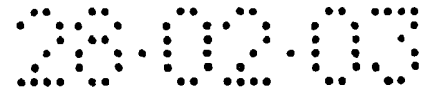
Oligonukleotidy (Metabion) PRE-S (5'-GGG GTA CCA GCT TCG TAG CTA GAA CAT CAT GTT CTG GGA TAT CAG CTT CGT AGC TAG AAC ATC ATG TTC TGG TAC CCC-3'; SEQ ID NO: 10) a

PRE-AS (5'-GGG GTA CCA GAA CAT GAT GTT CTA GCT ACG AAG CTG ATA TCC CAG AAC ATG ATG TTC TAG CTA CGA AGC TGG TAC CCC-3'; SEQ ID NO: 11)

boli hybridizované a fosforylované reakciou s kinázou, výsledkom je inzercia PRE(ds).

Vektor pTGF1 sa štiepil EcoO109I, spracoval Klenowovým enzýmom a defosforyloval alkalickou fosfatázou. Potom bol ligovaný s PRE(ds) inzertom, výsledkom je vektor pTGFG5. Vektor pUC19 (MBI Fermentas) bol štiepený Sall, opracovaný Klenowovým enzýmom a defosforylovaný s alkalickou fosfatázou. Bol ligovaný s NotI-linkerom GCGGCCGC (Biolabs # 1045), výsledkom je vektor pUC19/N.

Z ľudskej pečenej cDNA bola amplifikovaná cDNA faktora IX (Clontech) za použitia dvoch primérov pokrývajúcich štartovací a terminačný kodón otvoreného čítacieho rámca faktora IX, výsledkom čoho je fragment dlhý 1387 bp obsahujúci úplný otvorený čítací rámeč. Na konci každého priméra sú



zahrnuté reštrikčné miesta pre EcoRI (upstream) a BamHI (downstream) na umožnenie klonovania. Amplifikácia bola urobená s Pwo DNA-polymerázou (Boehringer Mannheim) v 50  $\mu$ l reakčnom objeme [10 mM Tris HCl pH 8,85, 25 mM KCl, 5 mM  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ , 2 mM  $\text{MgSO}_4$ ] s 30-timi inkubačnými cyklami pri 96 °C počas 1 min, 60 °C počas 1 min, 72 °C počas 2 min, potom nasledoval konečný prídavok pri 72 °C počas 10 min.

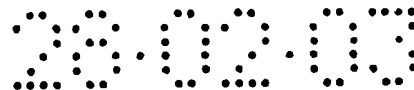
Reakčné produkty sa ligovali do EcoRI- a BamHI- miest pUC19 a transformovali do *E. coli* DH5- $\alpha$ . Vybrali sa pozitívne klony. Sekvencie boli potvrdené cyklickým sekvencovaním (Amersham) z oboch koncov s označenými primérami (IR-700) a automatizovanými analýzami na LiCor sekvencovacím systéme (MWG, Biotech).

Boli použité nasledujúce priméry:

GGAATTCCGCAAAGGTTATGCAGCGCGTGAACATGATCATGGC (upstream;  
SEQ. ID NO: 16)

CGCGGATCCATTAAGTGAGCTTTGTTTTTTCCTTAATCC (downstream;  
SEQ. ID NO: 17)

1,4 kb fragment obsahujúci otvorený čítací rámec ľudského faktora zrážanlivosti IX, izolovaný z ľudskej cDNA knižnice, sa inzeroval do PstI miesta vyššie pripraveného vektora pUC19/N, ktorý bol štiepený PstI, opracovaný T4-polymerázou a defosforylovaný alkalickou fosfatázou. Dvojitém štiepením s Hind III a NotI bol z výsledného vektora pUC19/N-FIX odstránený 1,4 kb fragment obsahujúci otvorený čítací rámec ľudského faktora zrážanlivosti IX. Na obr. 3 je zobrazený tento fragment ligovaný k 4,3 kb fragmentu HindIII a NotI dvojito štiepeného vektora pTGFG5 a poskytol tak vektor pTGFG36. Tento vektor je výhodný na vnesenie expresnej kazety kódujúcej faktor IX do bunky, a jeho DNA sekvencia je zobrazená v SEQ ID NO: 6.



### Príklad 3

Ludská bunková línia pre expresiu proteínov

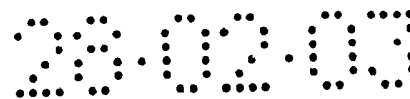
Výhodná bunková línia je tsA201 (ECACC Ref.: 96121229), ktorá je transformovanou embryonálnou ľudskou obličkovou bunkovou líniou (293, ECACC číslo 85120602) stabilne exprimujúcou SV40 na teplo citlivý T antigén (J. Membrane Biol. 1996; 152:39; Gene 1995; 156:235; PNAS USA 1994; 91:12785; Pflügers Arch. 1994; 427:136; J. Gen. Physiol. 1994; 104:507; BioTechniques 1993; 15:906). Iné mená pre túto bunkovú líniu zahŕňajú 293tsA1609neo (Mol. Cell. Biol., 1987, 7:379) a 293T. Táto bunková línia podobná epitelovej bola použitá v rôznych funkčných expresných skúškach a pričom sa zaznamenali vysoké hladiny rekombinantných proteínov. Tieto mohli byť kultivované v DMEM doplnenom 2 mM glutamínom a 10 % FCS. Pre účinnú produkciu faktora IX, médium môže byť modifikované prídavkom vitamínu K až do koncentrácie 100 µg/ml. (US4770999).

Aby sme zjednodušili purifikáciu exprimovaných polypeptidov, môžu sa bunky kultivovať v médiu, ktoré obsahuje vhodné prísady a je bez séra alebo bez proteínov. Pre stabilitu vylúčeného faktora VIII sa požaduje prítomnosť vWF v médiu (US5198349). Bol tiež zaznamenaný prídavok lipoproteínov, fosfolipidov, polyglykolov, stopových kovov, heparínu, neiónových surfaktantov alebo cyklodextrínu (EP0254076, US5679549, US5198349, US5250421, US5576194, EP0872487, WO94/11525, US5378612).

### Príklad 4

Transfekcia 293T buniek na transietnú produkciu faktorov VIII a IX pomocou fosfátu vápenatého

Konfluentné 293T bunky boli vysiate na 10 cm misky v malej hustote v 6 ml DMEM/10 % FSC (10 µg/ml vitamínu K pre FIX) deň pred transfekciou. Transfekcia sa uskutočnila približne podľa Chen a Okayama (Mol. Cell Biol., 7:



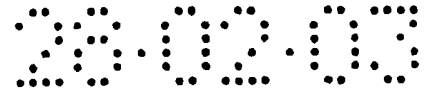
2745 (1987). 12  $\mu\text{g}$  plazmidu pTGF8-1 sa transfekovalo pre produkciu faktora VIII a pTGFG36 pre produkciu faktora IX. Šesť hodín po transfekcii sa médium nahradilo čerstvým a supernatant sa odobral tri dni po transfekcii a ďalej sa purifikoval alebo analyzoval bez purifikácie ELISA testom alebo koagulometriou (pozri príklady 5 a 6).

### **Príklad 5**

Stanovenie koncentrácie FIX a FVIII ELISA testom:

Faktor IX:

Hladiny ľudského rekombinantného faktora IX v supernatante transfekovaných 293T buniek boli stanovené ELISA za použitia kozích polyklonálnych anti-humánnych FIX (Enzyme Research Laboratories) ako záchytných protilátok. Všetky inkubácie sa uskutočnili počas dvoch hodín vo vlhkej komore pri 22 °C. Na platne (Dynex, Immulon-4) sa pridalo 100  $\mu\text{l}$  8,8  $\mu\text{l}$  protilátky/ml tlmivého roztoku (Dynex, Immulon-4). Pri opísaných podmienkach nie je požadované blokovanie. Štvornásobné premývanie platne (Encore 2000, Merck) s PBS-Tweenom<sup>®</sup> (0,1% v/v) je dostatočné na blokovanie nešpecifických interakcií. Premývanie je požadované po každom ďalšom kroku kvôli eliminácii nenaviazaných proteínov. 100  $\mu\text{l}$  supernatantu spracovaného 10  $\mu\text{l}$  10 mM PMSF a 10  $\mu\text{l}$  0,11 M citrátu sodného sa pridalo do každej jamky. Riedenie vzoriek a štandardov (ľudský faktor IX, domáci štandard, Octapharma) sa robilo v riediacom pufri (HBS-BSA-EDTA-Tween<sup>®</sup>) a inkubovalo pri 100  $\mu\text{l}$ /jamka. Detegujúcou protilátkou bola peroxidázou označená kozia polyklonálna anti-FIX (Enzyme Research Laboratories) v koncentrácii 1  $\mu\text{l}$  protilátky/ml riediaceho pufru a inkubovaná pri 100  $\mu\text{l}$ /jamka. 150  $\mu\text{l}$  ABTS (Roche) sa pridalo do každej jamky ako substrát, kolorimetrická reakcia sa detegovala pri 405 nm po 1 - 2 hodinách. Na výpočet výsledkov bola použitá lineárna regresia štandardnej koncentrácie voči štandardnej absorbancii a výsledky sú zhrnuté v nasledujúcej tabuľke:



Počet buniek [/ml]	Koncentrácia faktora IX [ng/ml]	Čas zrážania [s]
$2,1 \times 10^5$	36	45
$8,7 \times 10^5$	20	79

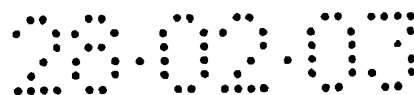
Normálna plazma: 37 - 39 s

Faktor IX deficitnej plazmy: 137 - 140 s

Faktor VIII:

Hladina ľudského rekombinantného faktora VIII vo filtráte kultúry transfekovaných 293T buniek bola stanovená s ELISA za použitia afinitne purifikovaných polyklonálnych ovčích anti FVIII:C prípravkov (F8C-EIA-C, Affinity Biologicals) ako zachytných protilátok. Poťahovanie sa uskutočňovalo počas dvoch hodín vo vlhkej komore pri 22 °C. Platne (Dynex, Immulon-4) boli potiahnuté 100 µl 100-násobne zriedeného roztoku protilátky v poťahovacom pufri (50 mM uhličitan sodný, pH 9,6). Štvornásobné premytie platne (Encore 2000, Merck) PBS-Tweenom<sup>®</sup> (0,1% v/v) bolo postačujúce na blokovanie nešpecifických interakcií.

Premývanie je potrebné po každom ďalšom kroku na to, aby sa eliminovali nenaviazané proteíny. 100 µl filtrátu každej kultúry odobratých z rôznych 293T klonov stabilne transfekovaných s pTGF8-3 po 48 hodinách inkubácie sa pridalo do každej jamky. Roztok štandardu FVIII (domáci štandard, Octapharma) sa zriedil riediacim pufrom (HBS-BSA-EDTA-Tween<sup>®</sup>) a inkuboval pri 100 µl na jamku. Kvôli detekcii sa inkuboval peroxidázou označený polyklonálny anti-FVIII roztok pripravený k upotrebeniu (F8C-EIA-D, Affinity Biologicals) 60 minút pri 100 µl na jamku. Pre kolorimetrickú reakciu bola krátko pred použitím 5 mg o-fenyéndiamínová tableta (P-6912, Sigma) rozpustená v 12 ml substrátového pufru a roztok bol doplnený 12 µl 30 % H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. 150 µl tohto roztoku substrátu sa pridalo do každej jamky a urobil sa



kolorimetrický záznam v MRX Reader (Dynex) pri 490 nm po 10 min inkubácie pri izbovej teplote v tme a reakcia sa zastavila prídavkom 50  $\mu$ l 2,5 M  $H_2SO_4$  do každej jamky. Na výpočet výsledkov bola použitá lineárna regresia štandardnej koncentrácie voči štandardnej absorbancii (obr. 7A) a výsledky sú zhrnuté na obr. 7 B.

### Príklad 6

Detekcia aktivity ľudských faktorov krvnej zrážanlivosti VIII a IX

Zrážacia aktivita ľudského rekombinantného faktora VIII v supernatantoch kultúry buniek 293T (transfekovaných precipitáciou fosforečnanom vápenatým s pTGF8-1 ako je opísané v príklade 4) bola stanovená nasledovne:

Zrážacia aktivita bola skúšaná na základe parciálneho tromboplastínového časového testu za použitia aktivácie Cephalinom (fosfatidyletanolamín) s ručným koagulačným prístrojom (ML-2, Instrumentation Laboratories). Na štúdiu sa inkubovalo 100  $\mu$ l nezriedeného supernatantu z transfekovaných 293T buniek, 100  $\mu$ l deficientnej plazmy (Progen) a 100  $\mu$ l Cephalinu (Instrumentation Laboratories) sa inkubovalo 5 minút pri 37 °C. Koagulácia sa začala prídavkom 100  $\mu$ l  $CaCl_2$ . Koagulačný čas vzorky bol porovnávaný s normálnou plazmou. Výsledky sú zhrnuté na obr. 5B. Ako možno vidieť z obr. 5B bunkový supernatant z buniek transfekovaných s pTGF8-1 ukazuje koagulačnú aktivitu porovnateľnú s normálnou plazmou, kým bunky ktoré neboli transfekované, dávajú hodnoty ekvivalentné k plazme bez faktora VIII. Podobný test sa uskutočnil s vzhľadom na faktor IX. Výsledky sú uvedené v tabuľke k príkladu 5. Závislosť expresie od prítomnosti vitamínu K pozri obr. 10.



### Príklad 7

Vírusová inaktivácia:

Vírusová inaktivácia sa uskutočnila podľa metódy v US patente č. 6 007 979. Menovite, postupne za miešania boli pridávané k potenciálne infekčnému proteínovému roztoku nasledujúce zlúčeniny:

1. 0,2 ml Tweenu<sup>®</sup> 80 a 0,06 ml TNBP sa pridalo k 19,74 ml roztoku alebo

2. 0,2 ml Triton<sup>®</sup> X-100 a 0,2 ml TNBP sa pridalo do 19,6 ml roztoku.

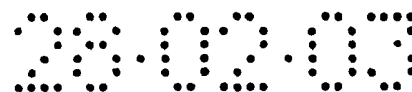
1 ml ricínového oleja sa pridal k prípravkom 1 a 2, ktoré boli potom intenzívne extrahované pri izbovej teplote asi 1 hodinu.

V oboch prípadoch sa uskutočnila centrifugácia kvôli oddeleniu fáz. Z každej vzorky sa odobral 1 ml z vodnej frakcie na uskutočnenie kontroly infekčnosti.

### Príklad 8

Založenie bunkových línií stabilne exprimujúcich faktor VIII a faktor IX:

Výhodné vektory pTGF8-1 a pTGFG36 obsahujú konštrukty pre transiентú expresiu faktora VIII a faktora IX, každý zvlášť, v cicavčích bunkách. Na umožnenie selekcie stabilne transfekovaného bunkového klonu sa subklonovala do SmaI miest prítomných v oboch vektoroch kazeta pre hygromycín-B-fosfotransferázu (HindIII-Mva 1260I fragment z TK-Hyg, Clontech). Výsledný konštrukt (pTGF8-1-hyg a pTG36hyg) potom zahŕňa v *cis* polohe expresné kazety pre ľudský faktor VIII alebo faktor IX s CMV-promótorom a SV40-polyadenylačným signálom a hygromycín-B-fosfotransferázovú expresnú kazetu s HSV tymidínkinázovým promótorom a s HSV tymidínkinázovým polyadenylačným signálom (pozri obr. 4).



Vektory pTGF8-2hyg-s a pTGF8-3 (obr. 6, SEQ ID NO: 12 a 14) a deriváty pTGF8-1hyg, mutácie v týchto bodoch V162A, S2011N a V2223E (pTGF8-2hyg-s) a S2011N (pTGF8-3) boli vrátené k sekvencii štandardného typu PCR-závislou metódou za použitia QuikChange® protokolu (Stratagene).

Sekvencia kódujúca faktor zrážanlivosti môže byť nahradená akoukoľvek inou génovou sekvenciou podľa výberu. Tieto konštrukty dovoľujú pri vyhotovovaní stabilne exprimujúcich bunkových línií transfekciu fosforečnanom vápenatým a nasledovnú selekciu podľa hygromycínovej rezistencie. Navyše plazmidy obsahujú element reagujúci na progesterón (progesteron responsive element - PRE). V experimentoch transietnou transfekciou s pTG36hyg produkcia približne 40 ng aktívneho faktora IX na 1 ml média kultúry môže byť zameraná skúškou ELISA a koagulometrickou skúškou (pozri Príklady 5 a 6).

Pre produkciu faktora IX boli 293T bunky kultivované v DNEM suplementovanom s 10 % FCS a 10 g/ml vitamín K. (US patent č. 4 077 999; pozri tiež obr. 10). Najskôr sa stanovila kritická koncentrácia antibiotík pre efektívnu selekciu stabilne transfekovaných buniek 293T. Na tento účel sa bunky vysiali s malým zriedením a pestovali sa v prítomnosti 10 až 800  $\mu\text{l/ml}$  hygromicínu B. Po dvoch týždňoch pri 200  $\mu\text{l/ml}$  alebo viac už nerástli žiadne bunky, a teda táto koncentrácia bola vybraná pre selekciu stabilne transfekovaných buniek.

Uskutočnila sa typická transfekcia v 10 cm miskách s 293T bunkami rozbitými deň vopred v pomere 1:15. Za použitia precipitačnej metódy s fosforečnanom vápenatým (*Biotechniques* 1988, 6:7 632 - 638) sa transfekovalo 12  $\mu\text{g}$  plazmidu na miskú a o dva dni neskôr sa médium nahradilo čerstvým, ktoré obsahovalo 200  $\mu\text{g/ml}$  hygromicínu B. Po 2-3 týždňoch selekcie sa médium testovalo ELISA (pozri príklad 5) kvôli prítomnosti faktora VIII alebo IX. Pozitívne klony sa izolovali a transferovali na 24-jamkovú platňu. Po skriningu ELISA metódou a stanovení aktivity pozitívnych klonov sa podrobili dvom ďalším subklonovaniám a potom sa expandovali a alikvótna časť z nich bola zmrazená pre ďalšie použitie a charakterizáciu.

### Príklad 9

Dôkaz fenotypovej uniformity stabilne transfektovaných buniek *in-situ* imunofluorescenčnou detekciou expresie faktora VIII

Každých  $5 \times 10^7$  293T buniek stabilne transfektovaných s pTGF8-3 (klon 49/19) a netransfektovaných 293T buniek (negatívna kontrola) z adhéznych kultúr v DMEM + 9,1 % FBS bolo oddelených z kultivačných misiek trypsináciou, premývaných niekoľko krát a resuspendovaných v 5 ml pufra PBS.

2  $\mu$ l týchto bunkových suspenzií sa prenieslo na sterilné mikroskopické sklíčka a inkubovalo pri izbovej teplote, kým sa všetka kvapalina nevyparila. Bunky sa fixovali 70 % etanolom asi 10 min a sušili 5 min pri izbovej teplote. Sklíčka boli blokované voči nešpecifickej detekcii inkubáciou v 10 % roztoku FBS v PBS pufri. Primárna protilátka (sh antiFVIII:C F8C-EIA-C, Affinity Biologicals) sa 100-násobne zriedila s PBS pufrom obsahujúcim 10 % FBS a 0,1 % saponínu a inkubovala sa približne 60 min pri izbovej teplote vo vlhkej inkubačnej komore. Po intenzívnom premývaní s PBS a 100-násobnom zriedení sekundárnou protilátkou (rb anti sh CY3 konjugovaná 313-165-003, Jackson ImmunoResearch) sa prepravila a inkubovala postupom opísaným vyššie. Následne sa mikroskopický preparát intenzívne premýval a prekryl vrstvou 50 % glycerolu a krycím sklíčkom. Bunky sa vizualizovali mikroskopiou pri bielom svetle a fluorescenčnou mikroskopiou (emisia pri 570 nm). Výsledky sú zobrazené na obr. 8.

### Príklad 10

Test tepelnej stability rekombinantného faktora IX vo filtráte kultúry

Filtrát kultúry pozbieraný z 293T buniek 48 h po transietnej transfekcii s pTGFG36 za prítomnosti 100  $\mu$ g/ml vitamínu K a skladovaný pri  $-80$  °C počas 7 dní sa rýchlo rozpustil, rozdelil na 7 500  $\mu$ l alikvóne časti, ktoré sa potom

postupne podrobili nasledovným tepelným inkubáciám:

Vzorka	Teplota (°C)	Čas (min)
1	0	240
2	20	30
3	20	60
4	20	240
5	37	30
6	37	60
7	37	240

Vzorky boli chladené na ľade a aktivita FIX sa stanovila ako je opísané v príklade 6 (dvojité stanovenie). Výsledky sú zobrazené na obr. 9. Aktivita zostala takmer rovnaká v inkubačných podmienkach do 240 min pri 37 °C.

## PATENTOVÉ NÁROKY

1. Muteín faktora VIII, ktorý má aspoň jednu z nasledujúcich mutácií:

(a) Val v pozícii 162 bol nahradený neutrálnym aminokyselinovým zvyškom vybraným z Gly, Ala, Leu, Ile, Met a Pro;

(b) Ser v pozícii 2011 bol nahradený hydrofilným aminokyselinovým zvyškom vybraným z Asn, Thr, Gln;

(c) Val v pozícii 2223 bol nahradený kyslým aminokyselinovým zvyškom vybraným z Glu a Asp; a

(d) B-doména medzi pozíciou Arg740 a Glu1649 bola nahradená linkerovým peptidom bohatým na arginín, ktorý má aspoň 3 Arg zvyšky a obsahuje 10 až 25 aminokyselinových zvyškov;

**vyznačujúci sa tým, že** poradie aminokyselín uvedeného faktora VIII sa vzťahuje k maturovanej sekvencii faktora VIII štandardného typu zobrazeného v SEQ ID NO: 2.

2. Muteín faktora VIII podľa nároku 1, **vyznačujúci sa tým, že** muteín faktora VIII má aspoň jednu z mutácií (a), (b) a (c), výhodne aspoň jednu z mutácií (a) a (b).

3. Muteín faktora VIII podľa nároku 1 alebo 2, **vyznačujúci sa tým, že** muteín faktora VIII má všetky tri mutácie (a), (b) a (c).

4. Muteín faktora VIII podľa ktoréhokoľvek z nárokov 1 až 3, **vyznačujúci sa tým, že** v mutácii (a) Val v pozícii 162 bol nahradený Ala, v mutácii (b) Ser v pozícii 2011 bol nahradený Asn a/alebo v mutácii (c) Val v pozícii 2223 bol nahradený Glu.

5. Muteín faktora VIII podľa ktoréhokoľvek z nárokov 2 až 4, **vyznačujúci sa tým, že** muteínu faktora VIII čiastočne alebo úplne chýba jeho B-doména.

6. Muteín faktora VIII podľa nároku 1 alebo 5, ktorý má mutáciu (d) definovanú v nároku 1.

7. Muteín faktora VIII podľa nároku 6, **vyznačujúci sa tým, že** linkerový peptid bohatý na arginín má 14 až 20 aminokyselinových zvyškov.

8. Muteín faktora VIII podľa nárokov 1, 6 alebo 7, **vyznačujúci sa tým, že** linker obsahuje:

aminokyselinovú sekvenciu SFSQNSRH a/alebo

aminokyselinovú sekvenciu QAYRYRRG, a výhodne linker má sekvenciu SFSQNSRHQAYRYRRG.

9. Muteín faktora VIII podľa nároku 1, ktorý obsahuje aminokyseliny 1 až 1440 SEQ ID NO: 4, 13 alebo 15.

10. DNA sekvencia kódujúca muteín faktora VIII ako je definované v ktoromkoľvek z nárokov 1 až 9.

11. DNA sekvencia podľa nároku 10, ktorá má aspoň jednu z mutácií T485C, G6032A a T6668A, ktorá sa vzťahuje sa k DNA sekvencii maturovaného faktora VIII štandardného typu zobrazeného v SEQ ID NO: 1, výhodne DNA sekvencia zahŕňa všetky tri uvedené mutácie.

12. Vektor obsahujúci DNA, ako je definované v nárokoch 10 alebo 11.
13. Vektor podľa nároku 11, ktorým je pTGF8-1, pTGT8-2hyg-s alebo pTGF8-3 ako je zobrazené v SEQ ID NO: 3, 12 a 14.
14. Vektor podľa nároku 12, ktorým je gén transferujúci vektor.
15. Hostiteľská bunka transformovaná vektorom ako je definované v nároku 12 a/alebo obsahujúca DNA sekvenciu ako je definované v nároku 10.
16. Spôsob produkcie muteínu faktora VIII podľa nároku 1, ktorý zahŕňa kultiváciu transformovaných hostiteľských buniek ako sú definované v nároku 15 a izoláciu muteínu faktora VIII z tekutej kultúry.
17. Farmaceutická kompozícia obsahujúca muteín faktora VIII ako je definované v ktoromkoľvek z nárokov 1 až 9 alebo gén transferujúci vektor ako je definované v nároku 14.
18. Použitie muteínu faktora VIII ako je definované v ktoromkoľvek z nárokov 1 až 9 alebo gén transferujúceho vektora ako je definované v nároku 14 na prípravu liečiva na liečenie hemofílie, výhodne na liečenie hemofílie A.
19. Spôsob liečenia hemofílie, výhodne liečenia hemofílie A, ktorý zahŕňa podávanie ľudským hemofilikom muteínu faktora VIII ako je definované v ktoromkoľvek z nárokov 1 až 9 alebo gén transferujúceho vektora ako je definované v nároku 14.

20. Spôsob produkcie rekombinantného ľudského faktora krvnej zrážanlivosti vybraného z faktora IX, faktora VIII, faktora VII, faktora V a von Willebrandovho faktora, ktorý zahŕňa

(a) kultiváciu nesmrteľnej ľudskej bunkovej línie stabilne exprimujúcej opičí vírusový T antigén a nesúca vektor, ktorý má promótor funkčne viazaný s DNA sekvenciou kódujúcou ľudský faktor krvnej zrážanlivosti, kde promótor je vybraný z vírusových promótorov, housekeeping promótorov z hostiteľa a tkanivovo špecifických promótorov, za predpokladu, že uvedený promótor nie je vírusový promótor, ktorý je stimulovaný opičím vírusovým T antigénom; a

(b) izoláciu faktora krvnej zrážanlivosti z tekutej kultúry.

21. Spôsob podľa nároku 20, **vyznačujúci sa tým, že** nesmrteľnou ľudskou bunkovou líniou je nesmrteľná bunka z obličiek, z močového mechúra, z pečene, z pľúc, srdcovosvalová bunka, bunka z hladkých svalov, z vaječnikov alebo bunka z gastrointestinálneho traktu.

22. Spôsob podľa nároku 21, **vyznačujúci sa tým, že** nesmrteľná ľudská bunková línia je odvodená z embryonálnej ľudskej obličkovej bunky a výhodne je to bunková línia 293T (DSM ACC2494), a promótor je CMV promótor.

23. Spôsob podľa ktoréhokoľvek z nárokov 20 až 22, **vyznačujúci sa tým, že** vektor ďalej obsahuje markér selekcie a/alebo regulačné sekvencie.

24. Spôsob podľa ktoréhokoľvek z nárokov 20 až 21, **vyznačujúci sa tým, že** vektor obsahuje DNA sekvenciu kódujúcu ľudský faktor VIII alebo jeho muteíny.

25. Spôsob podľa nároku 24, **vyznačujúci sa tým, že** vektor obsahuje



DNA sekvenciu kódujúcu maturovaný faktor VIII štandardného typu zobrazený v SEQ ID NO: 2.

26. Spôsob podľa nároku 24, **vyznačujúci sa tým, že** vektor obsahuje DNA sekvenciu kódujúcu muteín faktora VIII ako je definované v nárokoch 1 až 9 alebo je to vektor ako je definované v nárokoch 12 až 13.

27. Spôsob podľa ktoréhokoľvek z nárokov 24 až 26, **vyznačujúci sa tým, že** kultivácia sa uskutočňuje za prítomnosti von Willebrandovho faktora (vWF), výhodne v množstve 10 až 100, výhodnejšie 50 až 60 mólov vWF na mól faktora VIII.

28. Spôsob podľa ktoréhokoľvek z nárokov 20 až 23, **vyznačujúci sa tým, že** vektor obsahuje DNA sekvenciu kódujúcu ľudský faktor IX.

29. Spôsob podľa nároku 28, **vyznačujúci sa tým, že** vektor obsahuje DNA sekvenciu kódujúcu faktor IX štandardného typu zobrazenú v SEQ ID NO: 5 a výhodný je vektor pTG36h získateľný inkorporáciou HindIII-Mva 12601 fragmentu z TK-Hyg vektora (Clontech), ktorý obsahuje kazetu pre hygromycín-B-fosfotransferázu, do SmaI miesta vektora zobrazeného v SEQ ID NO: 6, pričom výsledný konštrukt obsahuje v cis pozícii expresnú kazetu pre ľudský faktor IX s CMV promótorom a s SV40 polyadenylačným signálom, a hygromycín-B-fosfotransferázovú expresnú kazetu s HSV tymidínkinázovým promótorom a s HSV tymidínkinázovým polyadenylačným signálom.

30. Spôsob podľa nárokov 28 alebo 29, **vyznačujúci sa tým, že** kultivácia prebieha v prítomnosti vitamínu K, výhodne v množstve od 0,1 až 100 µg/ml, výhodnejšie 1 až 20 µg/ml tekutej kultúry.

31. Spôsob podľa ktoréhokoľvek z nárokov 20 až 30, ktorý ďalej zahŕňa

- c) purifikáciu faktora krvnej zrážanlivosti izolovaného v kroku (b) a/alebo
- d) podrobenie faktora krvnej zrážanlivosti izolovaného v kroku (b) alebo purifikovaného v kroku (c) opracovaniu, ktoré inaktivuje vírus.

32. Nesmrteľná ľudská bunková línia stabilne exprimujúca aspoň jeden vírusový transkripčný aktivačný proteín a nesúca vektor, ktorý kóduje ľudský faktor krvnej zrážanlivosti ako je definované v ktoromkoľvek z nárokov 20 až 27, 28 a 29.

## ZOZNAM SEKVENCII

&lt;110&gt; Octagene GmbH

&lt;120&gt; Produkcia rekombinantných faktorov krvnej zrážanlivosti v ľudských bunkových liniách

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

&lt;140&gt;

&lt;141&gt;

&lt;160&gt; 17

&lt;170&gt; PatentIn Ver. 2.1

&lt;210&gt; 1

&lt;211&gt; 6996

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; CDS

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

&lt;400&gt; 1

```

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

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

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

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

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

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

agt ctt cat gct gtt ggt gta tcc tac tgg aaa gct tct gag gga gct 336
Ser Leu His Ala Val Gly Val Ser Tyr Trp Lys Ala Ser Glu Gly Ala
                100                    105                    110

gaa tat gat gat cag acc agt caa agg gag aaa gaa gat gat aaa gtc 384
Glu Tyr Asp Asp Gln Thr Ser Gln Arg Glu Lys Glu Asp Asp Lys Val
                115                    120                    125

ttc cct ggt gga agc cat aca tat gtc tgg cag gtc ctg aaa gag aat 432
Phe Pro Gly Gly Ser His Thr Tyr Val Trp Gln Val Leu Lys Glu Asn
                130                    135                    140

ggt cca atg gcc tct gac cca ctg tgc ctt acc tac tca tat ctt tct 480
Gly Pro Met Ala Ser Asp Pro Leu Cys Leu Thr Tyr Ser Tyr Leu Ser
 145                    150                    155                    160

```

cat gtg gac ctg gta aaa gac ttg aat tca ggc ctc att gga gcc cta	528
His Val Asp Leu Val Lys Asp Leu Asn Ser Gly Leu Ile Gly Ala Leu	
165 170 175	
cta gta tgt aga gaa ggg agt ctg gcc aag gaa aag aca cag acc ttg	576
Leu Val Cys Arg Glu Gly Ser Leu Ala Lys Glu Lys Thr Gln Thr Leu	
180 185 190	
cac aaa ttt ata cta ctt ttt gct gta ttt gat gaa ggg aaa agt tgg	624
His Lys Phe Ile Leu Leu Phe Ala Val Phe Asp Glu Gly Lys Ser Trp	
195 200 205	
cac tca gaa aca aag aac tcc ttg atg cag gat agg gat gct gca tct	672
His Ser Glu Thr Lys Asn Ser Leu Met Gln Asp Arg Asp Ala Ala Ser	
210 215 220	
gct cgg gcc tgg cct aaa atg cac aca gtc aat ggt tat gta aac agg	720
Ala Arg Ala Trp Pro Lys Met His Thr Val Asn Gly Tyr Val Asn Arg	
225 230 235 240	
tct ctg cca ggt ctg att gga tgc cac agg aaa tca gtc tat tgg cat	768
Ser Leu Pro Gly Leu Ile Gly Cys His Arg Lys Ser Val Tyr Trp His	
245 250 255	
gtg att gga atg ggc acc act cct gaa gtg cac tca ata ttc ctc gaa	816
Val Ile Gly Met Gly Thr Thr Pro Glu Val His Ser Ile Phe Leu Glu	
260 265 270	
ggt cac aca ttt ctt gtg agg aac cat cgc cag gcg tcc ttg gaa atc	864
Gly His Thr Phe Leu Val Arg Asn His Arg Gln Ala Ser Leu Glu Ile	
275 280 285	
tcg cca ata act ttc ctt act gct caa aca ctc ttg atg gac ctt gga	912
Ser Pro Ile Thr Phe Leu Thr Ala Gln Thr Leu Leu Met Asp Leu Gly	
290 295 300	
cag ttt cta ctg ttt tgt cat atc tct tcc cac caa cat gat ggc atg	960
Gln Phe Leu Leu Phe Cys His Ile Ser Ser His Gln His Asp Gly Met	
305 310 315 320	
gaa gct tat gtc aaa gta gac agc tgt cca gag gaa ccc caa cta cga	1008
Glu Ala Tyr Val Lys Val Asp Ser Cys Pro Glu Glu Pro Gln Leu Arg	
325 330 335	
atg aaa aat aat gaa gaa gcg gaa gac tat gat gat gat ctt act gat	1056
Met Lys Asn Asn Glu Glu Ala Glu Asp Tyr Asp Asp Asp Leu Thr Asp	
340 345 350	
tct gaa atg gat gtg gtc agg ttt gat gat gac aac tct cct tcc ttt	1104
Ser Glu Met Asp Val Val Arg Phe Asp Asp Asp Asn Ser Pro Ser Phe	
355 360 365	
atc caa att cgc tca gtt gcc aag aag cat cct aaa act tgg gta cat	1152
Ile Gln Ile Arg Ser Val Ala Lys Lys His Pro Lys Thr Trp Val His	
370 375 380	
tac att gct gct gaa gag gag gac tgg gac tat gct ccc tta gtc ctc	1200
Tyr Ile Ala Ala Glu Glu Glu Asp Trp Asp Tyr Ala Pro Leu Val Leu	
385 390 395 400	
gcc ccc gat gac aga agt tat aaa agt caa tat ttg aac aat ggc cct	1248
Ala Pro Asp Asp Arg Ser Tyr Lys Ser Gln Tyr Leu Asn Asn Gly Pro	
405 410 415	
cag cgg att ggt agg aag tac aaa aaa gtc cga ttt atg gca tac aca	1296

Gln	Arg	Ile	Gly	Arg	Lys	Tyr	Lys	Lys	Val	Arg	Phe	Met	Ala	Tyr	Thr		
			420					425					430				
gat	gaa	acc	ttt	aag	act	cgt	gaa	gct	att	cag	cat	gaa	tca	gga	atc		1344
Asp	Glu	Thr	Phe	Lys	Thr	Arg	Glu	Ala	Ile	Gln	His	Glu	Ser	Gly	Ile		
			435				440					445					
ttg	gga	cct	tta	ctt	tat	ggg	gaa	gtt	gga	gac	aca	ctg	ttg	att	ata		1392
Leu	Gly	Pro	Leu	Leu	Tyr	Gly	Glu	Val	Gly	Asp	Thr	Leu	Leu	Ile	Ile		
			450			455					460						
ttt	aag	aat	caa	gca	agc	aga	cca	tat	aac	atc	tac	cct	cac	gga	atc		1440
Phe	Lys	Asn	Gln	Ala	Ser	Arg	Pro	Tyr	Asn	Ile	Tyr	Pro	His	Gly	Ile		
			465		470				475						480		
act	gat	gtc	cgt	cct	ttg	tat	tca	agg	aga	tta	cca	aaa	ggt	gta	aaa		1488
Thr	Asp	Val	Arg	Pro	Leu	Tyr	Ser	Arg	Arg	Leu	Pro	Lys	Gly	Val	Lys		
				485					490					495			
cat	ttg	aag	gat	ttt	cca	att	ctg	cca	gga	gaa	ata	ttc	aaa	tat	aaa		1536
His	Leu	Lys	Asp	Phe	Pro	Ile	Leu	Pro	Gly	Glu	Ile	Phe	Lys	Tyr	Lys		
			500				505						510				
tgg	aca	gtg	act	gta	gaa	gat	ggg	cca	act	aaa	tca	gat	cct	cgg	tgc		1584
Trp	Thr	Val	Thr	Val	Glu	Asp	Gly	Pro	Thr	Lys	Ser	Asp	Pro	Arg	Cys		
			515				520						525				
ctg	acc	cgc	tat	tac	tct	agt	ttc	gtt	aat	atg	gag	aga	gat	cta	gct		1632
Leu	Thr	Arg	Tyr	Tyr	Ser	Ser	Phe	Val	Asn	Met	Glu	Arg	Asp	Leu	Ala		
			530			535						540					
tca	gga	ctc	att	ggc	cct	ctc	ctc	atc	tgc	tac	aaa	gaa	tct	gta	gat		1680
Ser	Gly	Leu	Ile	Gly	Pro	Leu	Leu	Ile	Cys	Tyr	Lys	Glu	Ser	Val	Asp		
			545		550				555						560		
caa	aga	gga	aac	cag	ata	atg	tca	gac	aag	agg	aat	gtc	atc	ctg	ttt		1728
Gln	Arg	Gly	Asn	Gln	Ile	Met	Ser	Asp	Lys	Arg	Asn	Val	Ile	Leu	Phe		
				565					570					575			
tct	gta	ttt	gat	gag	aac	cga	agc	tgg	tac	ctc	aca	gag	aat	ata	caa		1776
Ser	Val	Phe	Asp	Glu	Asn	Arg	Ser	Trp	Tyr	Leu	Thr	Glu	Asn	Ile	Gln		
			580					585					590				
cgc	ttt	ctc	ccc	aat	cca	gct	gga	gtg	cag	ctt	gag	gat	cca	gag	ttc		1824
Arg	Phe	Leu	Pro	Asn	Pro	Ala	Gly	Val	Gln	Leu	Glu	Asp	Pro	Glu	Phe		
			595			600						605					
caa	gcc	tcc	aac	atc	atg	cac	agc	atc	aat	ggc	tat	gtt	ttt	gat	agt		1872
Gln	Ala	Ser	Asn	Ile	Met	His	Ser	Ile	Asn	Gly	Tyr	Val	Phe	Asp	Ser		
			610			615					620						
ttg	cag	ttg	tca	gtt	tgt	ttg	cat	gag	gtg	gca	tac	tgg	tac	att	cta		1920
Leu	Gln	Leu	Ser	Val	Cys	Leu	His	Glu	Val	Ala	Tyr	Trp	Tyr	Ile	Leu		
			625		630				635						640		
agc	att	gga	gca	cag	act	gac	ttc	ctt	tct	gtc	ttc	ttc	tct	gga	tat		1968
Ser	Ile	Gly	Ala	Gln	Thr	Asp	Phe	Leu	Ser	Val	Phe	Phe	Ser	Gly	Tyr		
				645					650					655			
acc	ttc	aaa	cac	aaa	atg	gtc	tat	gaa	gac	aca	ctc	acc	cta	ttc	cca		2016
Thr	Phe	Lys	His	Lys	Met	Val	Tyr	Glu	Asp	Thr	Leu	Thr	Leu	Phe	Pro		
			660					665					670				
ttc	tca	gga	gaa	act	gtc	ttc	atg	tcg	atg	gaa	aac	cca	ggt	cta	tgg		2064
Phe	Ser	Gly	Glu	Thr	Val	Phe	Met	Ser	Met	Glu	Asn	Pro	Gly	Leu	Trp		
			675				680					685					

att ctg ggg tgc cac aac tca gac ttt cgg aac aga ggc atg acc gcc	2112
Ile Leu Gly Cys His Asn Ser Asp Phe Arg Asn Arg Gly Met Thr Ala	
690 695 700	
tta ctg aag gtt tct agt tgt gac aag aac act ggt gat tat tac gag	2160
Leu Leu Lys Val Ser Ser Cys Asp Lys Asn Thr Gly Asp Tyr Tyr Glu	
705 710 715 720	
gac agt tat gaa gat att tca gca tac ttg ctg agt aaa aac aat gcc	2208
Asp Ser Tyr Glu Asp Ile Ser Ala Tyr Leu Leu Ser Lys Asn Asn Ala	
725 730 735	
att gaa cca aga agc ttc tcc cag aat tca aga cac cct agc act agg	2256
Ile Glu Pro Arg Ser Phe Ser Gln Asn Ser Arg His Pro Ser Thr Arg	
740 745 750	
caa aag caa ttt aat gcc acc aca att cca gaa aat gac ata gag aag	2304
Gln Lys Gln Phe Asn Ala Thr Thr Ile Pro Glu Asn Asp Ile Glu Lys	
755 760 765	
act gac cct tgg ttt gca cac aga aca cct atg cct aaa ata caa aat	2352
Thr Asp Pro Trp Phe Ala His Arg Thr Pro Met Pro Lys Ile Gln Asn	
770 775 780	
gtc tcc tct agt gat ttg ttg atg ctc ttg cga cag agt cct act cca	2400
Val Ser Ser Ser Asp Leu Leu Met Leu Leu Arg Gln Ser Pro Thr Pro	
785 790 795 800	
cat ggg cta tcc tta tct gat ctc caa gaa gcc aaa tat gag act ttt	2448
His Gly Leu Ser Leu Ser Asp Leu Gln Glu Ala Lys Tyr Glu Thr Phe	
805 810 815	
tct gat gat cca tca cct gga gca ata gac agt aat aac agc ctg tct	2496
Ser Asp Asp Pro Ser Pro Gly Ala Ile Asp Ser Asn Asn Ser Leu Ser	
820 825 830	
gaa atg aca cac ttc agg cca cag ctc cat cac agt ggg gac atg gta	2544
Glu Met Thr His Phe Arg Pro Gln Leu His His Ser Gly Asp Met Val	
835 840 845	
ttt acc cct gag tca ggc ctc caa tta aga tta aat gag aaa ctg ggg	2592
Phe Thr Pro Glu Ser Gly Leu Gln Leu Arg Leu Asn Glu Lys Leu Gly	
850 855 860	
aca act gca gca aca gag ttg aag aaa ctt gat ttc aaa gtt tct agt	2640
Thr Thr Ala Ala Thr Glu Leu Lys Lys Leu Asp Phe Lys Val Ser Ser	
865 870 875 880	
aca tca aat aat ctg att tca aca att cca tca gac aat ttg gca gca	2688
Thr Ser Asn Asn Leu Ile Ser Thr Ile Pro Ser Asp Asn Leu Ala Ala	
885 890 895	
ggt act gat aat aca agt tcc tta gga ccc cca agt atg cca gtt cat	2736
Gly Thr Asp Asn Thr Ser Ser Leu Gly Pro Pro Ser Met Pro Val His	
900 905 910	
tat gat agt caa tta gat acc act cta ttt ggc aaa aag tca tct ccc	2784
Tyr Asp Ser Gln Leu Asp Thr Thr Leu Phe Gly Lys Lys Ser Ser Pro	
915 920 925	
ctt act gag tct ggt gga cct ctg agc ttg agt gaa gaa aat aat gat	2832
Leu Thr Glu Ser Gly Gly Pro Leu Ser Leu Ser Glu Glu Asn Asn Asp	
930 935 940	
tca aag ttg tta gaa tca ggt tta atg aat agc caa gaa agt tca tgg	2880

Ser Lys Leu Leu Glu Ser Gly Leu Met Asn Ser Gln Glu Ser Ser Trp	
945	950 955 960
gga aaa aat gta tcg tca aca gag agt ggt agg tta ttt aaa ggg aaa	2928
Gly Lys Asn Val Ser Ser Thr Glu Ser Gly Arg Leu Phe Lys Gly Lys	965 970 975
aga gct cat gga cct gct ttg ttg act aaa gat aat gcc tta ttc aaa	2976
Arg Ala His Gly Pro Ala Leu Leu Thr Lys Asp Asn Ala Leu Phe Lys	980 985 990
gtt agc atc tct ttg tta aag aca aac aaa act tcc aat aat tca gca	3024
Val Ser Ile Ser Leu Leu Lys Thr Asn Lys Thr Ser Asn Asn Ser Ala	995 1000 1005
act aat aga aag act cac att gat ggc cca tca tta tta att gag aat	3072
Thr Asn Arg Lys Thr His Ile Asp Gly Pro Ser Leu Leu Ile Glu Asn	1010 1015 1020
agt cca tca gtc tgg caa aat ata tta gaa agt gac act gag ttt aaa	3120
Ser Pro Ser Val Trp Gln Asn Ile Leu Glu Ser Asp Thr Glu Phe Lys	1025 1030 1035 1040
aaa gtg aca cct ttg att cat gac aga atg ctt atg gac aaa aat gct	3168
Lys Val Thr Pro Leu Ile His Asp Arg Met Leu Met Asp Lys Asn Ala	1045 1050 1055
aca gct ttg agg cta aat cat atg tca aat aaa act act tca tca aaa	3216
Thr Ala Leu Arg Leu Asn His Met Ser Asn Lys Thr Thr Ser Ser Lys	1060 1065 1070
aac atg gaa atg gtc caa cag aaa aaa gag ggc ccc att cca cca gat	3264
Asn Met Glu Met Val Gln Gln Lys Lys Glu Gly Pro Ile Pro Pro Asp	1075 1080 1085
gca caa aat cca gat atg tgg ttc ttt aag atg cta ttc ttg cca gaa	3312
Ala Gln Asn Pro Asp Met Ser Phe Phe Lys Met Leu Phe Leu Pro Glu	1090 1095 1100
tca gca agg tgg ata caa agg act cat gga aag aac tct ctg aac tct	3360
Ser Ala Arg Trp Ile Gln Arg Thr His Gly Lys Asn Ser Leu Asn Ser	1105 1110 1115 1120
ggg caa ggc ccc agt cca aag caa tta gta tcc tta gga cca gaa aaa	3408
Gly Gln Gly Pro Ser Pro Lys Gln Leu Val Ser Leu Gly Pro Glu Lys	1125 1130 1135
tct gtg gaa ggt cag aat ttc ttg tct gag aaa aac aaa gtg gta gta	3456
Ser Val Glu Gly Gln Asn Phe Leu Ser Glu Lys Asn Lys Val Val Val	1140 1145 1150
gga aag ggt gaa ttt aca aag gac gta gga ctc aaa gag atg gtt ttt	3504
Gly Lys Gly Glu Phe Thr Lys Asp Val Gly Leu Lys Glu Met Val Phe	1155 1160 1165
cca agc agc aga aac cta ttt ctt act aac ttg gat aat tta cat gaa	3552
Pro Ser Ser Arg Asn Leu Phe Leu Thr Asn Leu Asp Asn Leu His Glu	1170 1175 1180
aat aat aca cac aat caa gaa aaa aaa att cag gaa gaa ata gaa aag	3600
Asn Asn Thr His Asn Gln Glu Lys Lys Ile Gln Glu Glu Ile Glu Lys	1185 1190 1195 1200
aag gaa aca tta atc caa gag aat gta gtt ttg cct cag ata cat aca	3648
Lys Glu Thr Leu Ile Gln Glu Asn Val Leu Pro Gln Ile His Thr	1205 1210 1215

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

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

caa gat ttt agg tca tta aat gat tca aca aat aga aca aag aaa cac 3792  
 Gln Asp Phe Arg Ser Leu Asn Asp Ser Thr Asn Arg Thr Lys Lys His  
 1250 1255 1260

aca gct cat ttc tca aaa aaa ggg gag gaa gaa aac ttg gaa ggc ttg 3840  
 Thr Ala His Phe Ser Lys Lys Gly Glu Glu Glu Asn Leu Glu Gly Leu  
 1265 1270 1275 1280

gga aat caa acc aag caa att gta gag aaa tat gca tgc acc aca agg 3888  
 Gly Asn Gln Thr Lys Gln Ile Val Glu Lys Tyr Ala Cys Thr Thr Arg  
 1285 1290 1295

ata tct cct aat aca agc cag cag aat ttt gtc acg caa cgt agt aag 3936  
 Ile Ser Pro Asn Thr Ser Gln Gln Asn Phe Val Thr Gln Arg Ser Lys  
 1300 1305 1310

aga gct ttg aaa caa ttc aga ctc cca cta gaa gaa aca gaa ctt gaa 3984  
 Arg Ala Leu Lys Gln Phe Arg Leu Pro Leu Glu Glu Thr Glu Leu Glu  
 1315 1320 1325

aaa agg ata att gtg gat gac acc tca acc cag tgg tcc aaa aac atg 4032  
 Lys Arg Ile Ile Val Asp Asp Thr Ser Thr Gln Trp Ser Lys Asn Met  
 1330 1335 1340

aaa cat ttg acc ccg agc acc ctc aca cag ata gac tac aat gag aag 4080  
 Lys His Leu Thr Pro Ser Thr Leu Thr Gln Ile Asp Tyr Asn Glu Lys  
 1345 1350 1355 1360

gag aaa ggg gcc att act cag tct ccc tta tca gat tgc ctt acg agg 4128  
 Glu Lys Gly Ala Ile Thr Gln Ser Pro Leu Ser Asp Cys Leu Thr Arg  
 1365 1370 1375

agt cat agc atc cct caa gca aat aga tct cca tta ccc att gca aag 4176  
 Ser His Ser Ile Pro Gln Ala Asn Arg Ser Pro Leu Pro Ile Ala Lys  
 1380 1385 1390

gta tca tca ttt cca tct att aga cct ata tat ctg acc agg gtc cta 4224  
 Val Ser Ser Phe Pro Ser Ile Arg Pro Ile Tyr Leu Thr Arg Val Leu  
 1395 1400 1405

ttc caa gac aac tct tct cat ctt cca gca gca tct tat aga aag aaa 4272  
 Phe Gln Asp Asn Ser Ser His Leu Pro Ala Ala Ser Tyr Arg Lys Lys  
 1410 1415 1420

gat tct ggg gtc caa gaa agc agt cat ttc tta caa gga gcc aaa aaa 4320  
 Asp Ser Gly Val Gln Glu Ser Ser His Phe Leu Gln Gly Ala Lys Lys  
 1425 1430 1435 1440

aat aac ctt tct tta gcc att cta acc ttg gag atg act ggt gat caa 4368  
 Asn Asn Leu Ser Leu Ala Ile Leu Thr Leu Glu Met Thr Gly Asp Gln  
 1445 1450 1455

aga gag gtt ggc tcc ctg ggg aca agt gcc aca aat tca gtc aca tac 4416  
 Arg Glu Val Gly Ser Leu Gly Thr Ser Ala Thr Asn Ser Val Thr Tyr  
 1460 1465 1470

aag aaa gtt gag aac act gtt ctc ccg aaa cca gac ttg ccc aaa aca 4464



Lys	Lys	Val	Glu	Asn	Thr	Val	Leu	Pro	Lys	Pro	Asp	Leu	Pro	Lys	Thr		
		1475					1480					1485					
tct	ggc	aaa	ggt	gaa	ttg	ctt	cca	aaa	ggt	cac	att	tat	cag	aag	gac	4512	
Ser	Gly	Lys	Val	Glu	Leu	Leu	Pro	Lys	Val	His	Ile	Tyr	Gln	Lys	Asp		
		1490				1495				1500							
cta	ttc	cct	acg	gaa	act	agc	aat	ggg	tct	cct	ggc	cat	ctg	gat	ctc	4560	
Leu	Phe	Pro	Thr	Glu	Thr	Ser	Asn	Gly	Ser	Pro	Gly	His	Leu	Asp	Leu		
		1505			1510					1515					1520		
gtg	gaa	ggg	agc	ctt	ctt	cag	gga	aca	gag	gga	gcg	att	aag	tgg	aat	4608	
Val	Glu	Gly	Ser	Leu	Leu	Gln	Gly	Thr	Glu	Gly	Ala	Ile	Lys	Trp	Asn		
				1525					1530					1535			
gaa	gca	aac	aga	cct	gga	aaa	ggt	ccc	ttt	ctg	aga	gta	gca	aca	gaa	4656	
Glu	Ala	Asn	Arg	Pro	Gly	Lys	Val	Pro	Phe	Leu	Arg	Val	Ala	Thr	Glu		
			1540					1545						1550			
agc	tct	gca	aag	act	ccc	tcc	aag	cta	ttg	gat	cct	ctt	gct	tgg	gat	4704	
Ser	Ser	Ala	Lys	Thr	Pro	Ser	Lys	Leu	Leu	Asp	Pro	Leu	Ala	Trp	Asp		
			1555				1560					1565					
aac	cac	tat	ggt	act	cag	ata	cca	aaa	gaa	gag	tgg	aaa	tcc	caa	gag	4752	
Asn	His	Tyr	Gly	Thr	Gln	Ile	Pro	Lys	Glu	Glu	Trp	Lys	Ser	Gln	Glu		
			1570			1575					1580						
aag	tca	cca	gaa	aaa	aca	gct	ttt	aag	aaa	aag	gat	acc	att	ttg	tcc	4800	
Lys	Ser	Pro	Glu	Lys	Thr	Ala	Phe	Lys	Lys	Lys	Asp	Thr	Ile	Leu	Ser		
			1585			1590				1595					1600		
ctg	aac	gct	tgt	gaa	agc	aat	cat	gca	ata	gca	gca	ata	aat	gag	gga	4848	
Leu	Asn	Ala	Cys	Glu	Ser	Asn	His	Ala	Ile	Ala	Ala	Ile	Asn	Glu	Gly		
				1605					1610						1615		
caa	aat	aag	ccc	gaa	ata	gaa	gtc	acc	tgg	gca	aag	caa	ggt	agg	act	4896	
Gln	Asn	Lys	Pro	Glu	Ile	Glu	Val	Thr	Trp	Ala	Lys	Gln	Gly	Arg	Thr		
			1620					1625						1630			
gaa	agg	ctg	tgc	tct	caa	aac	cca	cca	gtc	ttg	aaa	cgc	cat	caa	cgg	4944	
Glu	Arg	Leu	Cys	Ser	Gln	Asn	Pro	Pro	Val	Leu	Lys	Arg	His	Gln	Arg		
			1635				1640					1645					
gaa	ata	act	cgt	act	act	ctt	cag	tca	gat	caa	gag	gaa	att	gac	tat	4992	
Glu	Ile	Thr	Arg	Thr	Thr	Leu	Gln	Ser	Asp	Gln	Glu	Glu	Ile	Asp	Tyr		
			1650			1655					1660						
gat	gat	acc	ata	tca	ggt	gaa	atg	aag	aag	gaa	gat	ttt	gac	att	tat	5040	
Asp	Asp	Thr	Ile	Ser	Val	Glu	Met	Lys	Lys	Glu	Asp	Phe	Asp	Ile	Tyr		
					1670					1675					1680		
gat	gag	gat	gaa	aat	cag	agc	ccc	cgc	agc	ttt	caa	aag	aaa	aca	cga	5088	
Asp	Glu	Asp	Glu	Asn	Gln	Ser	Pro	Arg	Ser	Phe	Gln	Lys	Lys	Thr	Arg		
				1685				1690							1695		
cac	tat	ttt	att	gct	gca	gtg	gag	agg	ctc	tgg	gat	tat	ggg	atg	agt	5136	
His	Tyr	Phe	Ile	Ala	Ala	Val	Glu	Arg	Leu	Trp	Asp	Tyr	Gly	Met	Ser		
			1700					1705						1710			
agc	tcc	cca	cat	ggt	cta	aga	aac	agg	gct	cag	agt	ggc	agt	gtc	cct	5184	
Ser	Ser	Pro	His	Val	Leu	Arg	Asn	Arg	Ala	Gln	Ser	Gly	Ser	Val	Pro		
			1715				1720					1725					
cag	ttc	aag	aaa	ggt	ggt	ttc	cag	gaa	ttt	act	gat	ggc	tcc	ttt	act	5232	
Gln	Phe	Lys	Lys	Val	Val	Phe	Gln	Glu	Phe	Thr	Asp	Gly	Ser	Phe	Thr		
			1730			1735					1740						

cag ccc tta tac cgt gga gaa cta aat gaa cat ttg gga ctc ctg ggg 5280  
 Gln Pro Leu Tyr Arg Gly Glu Leu Asn Glu His Leu Gly Leu Leu Gly  
 1745 1750 1755 1760

cca tat ata aga gca gaa gtt gaa gat aat atc atg gta act ttc aga 5328  
 Pro Tyr Ile Arg Ala Glu Val Glu Asp Asn Ile Met Val Thr Phe Arg  
 1765 1770 1775

aat cag gcc tct cgt ccc tat tcc ttc tat tct agc ctt att tct tat 5376  
 Asn Gln Ala Ser Arg Pro Tyr Ser Phe Tyr Ser Ser Leu Ile Ser Tyr  
 1780 1785 1790

gag gaa gat cag agg caa gga gca gaa cct aga aaa aac ttt gtc aag 5424  
 Glu Glu Asp Gln Arg Gln Gly Ala Glu Pro Arg Lys Asn Phe Val Lys  
 1795 1800 1805

cct aat gaa acc aaa act tac ttt tgg aaa gtg caa cat cat atg gca 5472  
 Pro Asn Glu Thr Lys Thr Tyr Phe Trp Lys Val Gln His His Met Ala  
 1810 1815 1820

ccc act aaa gat gag ttt gac tgc aaa gcc tgg gct tat ttc tct gat 5520  
 Pro Thr Lys Asp Glu Phe Asp Cys Lys Ala Trp Ala Tyr Phe Ser Asp  
 1825 1830 1835 1840

gtt gac ctg gaa aaa gat gtg cac tca ggc ctg att gga ccc ctt ctg 5568  
 Val Asp Leu Glu Lys Asp Val His Ser Gly Leu Ile Gly Pro Leu Leu  
 1845 1850 1855

gtc tgc cac act aac aca ctg aac cct gct cat ggg aga caa gtg aca 5616  
 Val Cys His Thr Asn Thr Leu Asn Pro Ala His Gly Arg Gln Val Thr  
 1860 1865 1870

gta cag gaa ttt gct ctg ttt ttc acc atc ttt gat gag acc aaa agc 5664  
 Val Gln Glu Phe Ala Leu Phe Phe Thr Ile Phe Asp Glu Thr Lys Ser  
 1875 1880 1885

tgg tac ttc act gaa aat atg gaa aga aac tgc agg gct ccc tgc aat 5712  
 Trp Tyr Phe Thr Glu Asn Met Glu Arg Asn Cys Arg Ala Pro Cys Asn  
 1890 1895 1900

atc cag atg gaa gat ccc act ttt aaa gag aat tat cgc ttc cat gca 5760  
 Ile Gln Met Glu Asp Pro Thr Phe Lys Glu Asn Tyr Arg Phe His Ala  
 1905 1910 1915 1920

atc aat ggc tac ata atg gat aca cta cct ggc tta gta atg gct cag 5808  
 Ile Asn Gly Tyr Ile Met Asp Thr Leu Pro Gly Leu Val Met Ala Gln  
 1925 1930 1935

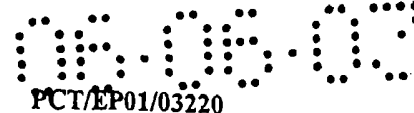
gat caa agg att cga tgg tat ctg ctc agc atg ggc agc aat gaa aac 5856  
 Asp Gln Arg Ile Arg Trp Tyr Leu Leu Ser Met Gly Ser Asn Glu Asn  
 1940 1945 1950

atc cat tct att cat ttc agt gga cat gtg ttc act gta cga aaa aaa 5904  
 Ile His Ser Ile His Phe Ser Gly His Val Phe Thr Val Arg Lys Lys  
 1955 1960 1965

gag gag tat aaa atg gca ctg tac aat ctc tat cca ggt gtt ttt gag 5952  
 Glu Glu Tyr Lys Met Ala Leu Tyr Asn Leu Tyr Pro Gly Val Phe Glu  
 1970 1975 1980

aca gtg gaa atg tta cca tcc aaa gct gga att tgg cgg gtg gaa tgc 6000  
 Thr Val Glu Met Leu Pro Ser Lys Ala Gly Ile Trp Arg Val Glu Cys  
 1985 1990 1995 2000

ctt att ggc gag cat cta cat gct ggg atg agc aca ctt ttt ctg gtg 6048



Leu	Ile	Gly	Glu	His	Leu	His	Ala	Gly	Met	Ser	Thr	Leu	Phe	Leu	Val	
				2005					2010						2015	
tac	agc	aat	aag	tgt	cag	act	ccc	ctg	gga	atg	gct	tct	gga	cac	att	6096
Tyr	Ser	Asn	Lys	Cys	Gln	Thr	Pro	Leu	Gly	Met	Ala	Ser	Gly	His	Ile	
			2020					2025					2030			
aga	gat	ttt	cag	att	aca	gct	tca	gga	caa	tat	gga	cag	tgg	gcc	cca	6144
Arg	Asp	Phe	Gln	Ile	Thr	Ala	Ser	Gly	Gln	Tyr	Gly	Gln	Trp	Ala	Pro	
		2035					2040					2045				
aag	ctg	gcc	aga	ctt	cat	tat	tcc	gga	tca	atc	aat	gcc	tgg	agc	acc	6192
Lys	Leu	Ala	Arg	Leu	His	Tyr	Ser	Gly	Ser	Ile	Asn	Ala	Trp	Ser	Thr	
	2050					2055					2060					
aag	gag	ccc	ttt	tct	tgg	atc	aag	gtg	gat	ctg	ttg	gca	cca	atg	att	6240
Lys	Glu	Pro	Phe	Ser	Trp	Ile	Lys	Val	Asp	Leu	Leu	Ala	Pro	Met	Ile	
2065					2070					2075				2080		
att	cac	ggc	atc	aag	acc	cag	ggt	gcc	cgt	cag	aag	ttc	tcc	agc	ctc	6288
Ile	His	Gly	Ile	Lys	Thr	Gln	Gly	Ala	Arg	Gln	Lys	Phe	Ser	Ser	Leu	
				2085					2090					2095		
tac	atc	tct	cag	ttt	atc	atc	atg	tat	agt	ctt	gat	ggg	aag	aag	tgg	6336
Tyr	Ile	Ser	Gln	Phe	Ile	Ile	Met	Tyr	Ser	Leu	Asp	Gly	Lys	Lys	Trp	
			2100					2105					2110			
cag	act	tat	cga	gga	aat	tcc	act	gga	acc	tta	atg	gtc	ttc	ttt	ggc	6384
Gln	Thr	Tyr	Arg	Gly	Asn	Ser	Thr	Gly	Thr	Leu	Met	Val	Phe	Phe	Gly	
		2115					2120					2125				
aat	gtg	gat	tca	tct	ggg	ata	aaa	cac	aat	att	ttt	aac	cct	cca	att	6432
Asn	Val	Asp	Ser	Ser	Gly	Ile	Lys	His	Asn	Ile	Phe	Asn	Pro	Pro	Ile	
	2130					2135					2140					
att	gct	cga	tac	atc	cgt	ttg	cac	cca	act	cat	tat	agc	att	cgc	agc	6480
Ile	Ala	Arg	Tyr	Ile	Arg	Leu	His	Pro	Thr	His	Tyr	Ser	Ile	Arg	Ser	
2145					2150					2155				2160		
act	ctt	cgc	atg	gag	ttg	atg	ggc	tgt	gat	tta	aat	agt	tgc	agc	atg	6528
Thr	Leu	Arg	Met	Glu	Leu	Met	Gly	Cys	Asp	Leu	Asn	Ser	Cys	Ser	Met	
			2165					2170					2175			
cca	ttg	gga	atg	gag	agt	aaa	gca	ata	tca	gat	gca	cag	att	act	gct	6576
Pro	Leu	Gly	Met	Glu	Ser	Lys	Ala	Ile	Ser	Asp	Ala	Gln	Ile	Thr	Ala	
			2180					2185					2190			
tca	tcc	tac	ttt	acc	aat	atg	ttt	gcc	acc	tgg	tct	cct	tca	aaa	gct	6624
Ser	Ser	Tyr	Phe	Thr	Asn	Met	Phe	Ala	Thr	Trp	Ser	Pro	Ser	Lys	Ala	
		2195					2200					2205				
cga	ctt	cac	ctc	caa	ggg	agg	agt	aat	gcc	tgg	aga	cct	cag	gtg	aat	6672
Arg	Leu	His	Leu	Gln	Gly	Arg	Ser	Asn	Ala	Trp	Arg	Pro	Gln	Val	Asn	
	2210					2215					2220					
aat	cca	aaa	gag	tgg	ctg	caa	gtg	gac	ttc	cag	aag	aca	atg	aaa	gtc	6720
Asn	Pro	Lys	Glu	Trp	Leu	Gln	Val	Asp	Phe	Gln	Lys	Thr	Met	Lys	Val	
2225					2230					2235				2240		
aca	gga	gta	act	act	cag	gga	gta	aaa	tct	ctg	ctt	acc	agc	atg	tat	6768
Thr	Gly	Val	Thr	Thr	Gln	Gly	Val	Lys	Ser	Leu	Leu	Thr	Ser	Met	Tyr	
			2245					2250					2255			
gtg	aag	gag	ttc	ctc	atc	tcc	agc	agt	caa	gat	ggc	cat	cag	tgg	act	6816
Val	Lys	Glu	Phe	Leu	Ile	Ser	Ser	Ser	Gln	Asp	Gly	His	Gln	Trp	Thr	
			2260					2265					2270			

ctc ttt ttt cag aat ggc aaa gta aag gtt ttt cag gga aat caa gac 6864  
 Leu Phe Phe Gln Asn Gly Lys Val Lys Val Phe Gln Gly Asn Gln Asp  
 2275 2280 2285

tcc ttc aca cct gtg gtg aac tct cta gac cca ccg tta ctg act cgc 6912  
 Ser Phe Thr Pro Val Val Asn Ser Leu Asp Pro Pro Leu Leu Thr Arg  
 2290 2295 2300

tac ctt cga att cac ccc cag agt tgg gtg cac cag att gcc ctg agg 6960  
 Tyr Leu Arg Ile His Pro Gln Ser Trp Val His Gln Ile Ala Leu Arg  
 2305 2310 2315 2320

atg gag gtt ctg ggc tgc gag gca cag gac ctc tac 6996  
 Met Glu Val Leu Gly Cys Glu Ala Gln Asp Leu Tyr  
 2325 2330

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

<400> 2  
 Ala Thr Arg Arg Tyr Tyr Leu Gly Ala Val Glu Leu Ser Trp Asp Tyr  
 1 5 10 15  
 Met Gln Ser Asp Leu Gly Glu Leu Pro Val Asp Ala Arg Phe Pro Pro  
 20 25 30  
 Arg Val Pro Lys Ser Phe Pro Phe Asn Thr Ser Val Val Tyr Lys Lys  
 35 40 45  
 Thr Leu Phe Val Glu Phe Thr Val His Leu Phe Asn Ile Ala Lys Pro  
 50 55 60  
 Arg Pro Pro Trp Met Gly Leu Leu Gly Pro Thr Ile Gln Ala Glu Val  
 65 70 75 80  
 Tyr Asp Thr Val Val Ile Thr Leu Lys Asn Met Ala Ser His Pro Val  
 85 90 95  
 Ser Leu His Ala Val Gly Val Ser Tyr Trp Lys Ala Ser Glu Gly Ala  
 100 105 110  
 Glu Tyr Asp Asp Gln Thr Ser Gln Arg Glu Lys Glu Asp Asp Lys Val  
 115 120 125  
 Phe Pro Gly Gly Ser His Thr Tyr Val Trp Gln Val Leu Lys Glu Asn  
 130 135 140  
 Gly Pro Met Ala Ser Asp Pro Leu Cys Leu Thr Tyr Ser Tyr Leu Ser  
 145 150 155 160  
 His Val Asp Leu Val Lys Asp Leu Asn Ser Gly Leu Ile Gly Ala Leu  
 165 170 175  
 Leu Val Cys Arg Glu Gly Ser Leu Ala Lys Glu Lys Thr Gln Thr Leu  
 180 185 190  
 His Lys Phe Ile Leu Leu Phe Ala Val Phe Asp Glu Gly Lys Ser Trp  
 195 200 205  
 His Ser Glu Thr Lys Asn Ser Leu Met Gln Asp Arg Asp Ala Ala Ser  
 210 215 220

Ala Arg Ala Trp Pro Lys Met His Thr Val Asn Gly Tyr Val Asn Arg  
 225 230 235 240

Ser Leu Pro Gly Leu Ile Gly Cys His Arg Lys Ser Val Tyr Trp His  
 245 250 255

Val Ile Gly Met Gly Thr Thr Pro Glu Val His Ser Ile Phe Leu Glu  
 260 265 270

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

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

Gln Phe Leu Leu Phe Cys His Ile Ser Ser His Gln His Asp Gly Met  
 305 310 315 320

Glu Ala Tyr Val Lys Val Asp Ser Cys Pro Glu Glu Pro Gln Leu Arg  
 325 330 335

Met Lys Asn Asn Glu Glu Ala Glu Asp Tyr Asp Asp Asp Leu Thr Asp  
 340 345 350

Ser Glu Met Asp Val Val Arg Phe Asp Asp Asp Asn Ser Pro Ser Phe  
 355 360 365

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

Tyr Ile Ala Ala Glu Glu Glu Asp Trp Asp Tyr Ala Pro Leu Val Leu  
 385 390 395 400

Ala Pro Asp Asp Arg Ser Tyr Lys Ser Gln Tyr Leu Asn Asn Gly Pro  
 405 410 415

Gln Arg Ile Gly Arg Lys Tyr Lys Lys Val Arg Phe Met Ala Tyr Thr  
 420 425 430

Asp Glu Thr Phe Lys Thr Arg Glu Ala Ile Gln His Glu Ser Gly Ile  
 435 440 445

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

Phe Lys Asn Gln Ala Ser Arg Pro Tyr Asn Ile Tyr Pro His Gly Ile  
 465 470 475 480

Thr Asp Val Arg Pro Leu Tyr Ser Arg Arg Leu Pro Lys Gly Val Lys  
 485 490 495

His Leu Lys Asp Phe Pro Ile Leu Pro Gly Glu Ile Phe Lys Tyr Lys  
 500 505 510

Trp Thr Val Thr Val Glu Asp Gly Pro Thr Lys Ser Asp Pro Arg Cys  
 515 520 525

Leu Thr Arg Tyr Tyr Ser Ser Phe Val Asn Met Glu Arg Asp Leu Ala  
 530 535 540

Ser Gly Leu Ile Gly Pro Leu Leu Ile Cys Tyr Lys Glu Ser Val Asp  
 545 550 555 560

Gln Arg Gly Asn Gln Ile Met Ser Asp Lys Arg Asn Val Ile Leu Phe  
 565 570 575

Ser Val Phe Asp Glu Asn Arg Ser Trp Tyr Leu Thr Glu Asn Ile Gln  
580 585 590  
Arg Phe Leu Pro Asn Pro Ala Gly Val Gln Leu Glu Asp Pro Glu Phe  
595 600 605  
Gln Ala Ser Asn Ile Met His Ser Ile Asn Gly Tyr Val Phe Asp Ser  
610 615 620  
Leu Gln Leu Ser Val Cys Leu His Glu Val Ala Tyr Trp Tyr Ile Leu  
625 630 635 640  
Ser Ile Gly Ala Gln Thr Asp Phe Leu Ser Val Phe Phe Ser Gly Tyr  
645 650 655  
Thr Phe Lys His Lys Met Val Tyr Glu Asp Thr Leu Thr Leu Phe Pro  
660 665 670  
Phe Ser Gly Glu Thr Val Phe Met Ser Met Glu Asn Pro Gly Leu Trp  
675 680 685  
Ile Leu Gly Cys His Asn Ser Asp Phe Arg Asn Arg Gly Met Thr Ala  
690 695 700  
Leu Leu Lys Val Ser Ser Cys Asp Lys Asn Thr Gly Asp Tyr Tyr Glu  
705 710 715 720  
Asp Ser Tyr Glu Asp Ile Ser Ala Tyr Leu Leu Ser Lys Asn Asn Ala  
725 730 735  
Ile Glu Pro Arg Ser Phe Ser Gln Asn Ser Arg His Pro Ser Thr Arg  
740 745 750  
Gln Lys Gln Phe Asn Ala Thr Thr Ile Pro Glu Asn Asp Ile Glu Lys  
755 760 765  
Thr Asp Pro Trp Phe Ala His Arg Thr Pro Met Pro Lys Ile Gln Asn  
770 775 780  
Val Ser Ser Ser Asp Leu Leu Met Leu Leu Arg Gln Ser Pro Thr Pro  
785 790 795 800  
His Gly Leu Ser Leu Ser Asp Leu Gln Glu Ala Lys Tyr Glu Thr Phe  
805 810 815  
Ser Asp Asp Pro Ser Pro Gly Ala Ile Asp Ser Asn Asn Ser Leu Ser  
820 825 830  
Glu Met Thr His Phe Arg Pro Gln Leu His His Ser Gly Asp Met Val  
835 840 845  
Phe Thr Pro Glu Ser Gly Leu Gln Leu Arg Leu Asn Glu Lys Leu Gly  
850 855 860  
Thr Thr Ala Ala Thr Glu Leu Lys Lys Leu Asp Phe Lys Val Ser Ser  
865 870 875 880  
Thr Ser Asn Asn Leu Ile Ser Thr Ile Pro Ser Asp Asn Leu Ala Ala  
885 890 895  
Gly Thr Asp Asn Thr Ser Ser Leu Gly Pro Pro Ser Met Pro Val His  
900 905 910  
Tyr Asp Ser Gln Leu Asp Thr Thr Leu Phe Gly Lys Lys Ser Ser Pro  
915 920 925

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Ser Ala Arg Trp Ile Gln Arg Thr His Gly Lys Asn Ser Leu Asn Ser  
 1105 1110 1115 1120

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

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

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

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

Asn Asn Thr His Asn Gln Glu Lys Lys Ile Gln Glu Glu Ile Glu Lys  
 1185 1190 1195 1200

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

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

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

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

Thr Ala His Phe Ser Lys Lys Gly Glu Glu Glu Asn Leu Glu Gly Leu  
 1265 1270 1275 1280

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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



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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Asn Pro Lys Glu Trp Leu Gln Val Asp Phe Gln Lys Thr Met Lys Val  
 225 2230 2235 2240

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

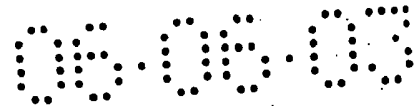
Val Lys Glu Phe Leu Ile Ser Ser Ser Gln Asp Gly His Gln Trp Thr  
 2260 2265 2270

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

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

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

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



<210> 3  
 <211> 8720  
 <212> DNA  
 <213> Umelá sekvencia

<220>  
 <223> Opis umelej sekvencie: pTGF8-1

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

<220>  
 <221> mat\_peptid  
 <222> (733)..(5052)

<400> 3  
 cgcggtgaca ttgattattg actagttatt aatagtaatc aattacgggg tcattagttc 60  
 atagcccata tatggagttc cgcggtacat aacttacggt aaatggcccg cctggctgac 120  
 cgccaacga cccccgcca ttgacgtcaa taatgacgta tgttcccata gtaacgccaa 180  
 tagggacttt ccattgacgt caatgggtgg agtatttacg gtaaactgcc cacttggcag 240  
 tacatcaagt gtatcatatg ccaagtacgc cccctattga cgtcaatgac ggtaaattggc 300  
 ccgctggca ttatgcccag tacatgacct tatgggactt tcctacttgg cagtacatct 360  
 acgtattagt catcgtatt accatggtga tgcggttttg gcagtacatc aatggggcgtg 420  
 gatagcgggtt tgactcacgg ggatttccaa gtctccacc cattgacgtc aatgggagtt 480  
 tgttttgca ccaaaatcaa cgggactttc caaaatgtcg taacaactcc gcccattga 540  
 cgcaaattggg cggtaggcgt gtacggtggg aggtctatat aagcagagct ctctggctaa 600  
 ctagagaacc cactgcttac tggcttatcg aaattaatac gactcactat agggagacc 660  
 aagcttgacc tcgag atg caa ata gag ctg tcc acc tgc ttc ttt ctg tgc 711  
 Met Gln Ile Glu Leu Ser Thr Cys Phe Phe Leu Cys  
 -15 -10

ctt ttg cga ttc tgc ttt agt gcc acc aga aga tac tac ctg ggt gca 759  
 Leu Leu Arg Phe Cys Phe Ser Ala Thr Arg Arg Tyr Tyr Leu Gly Ala  
 -5 -1 1 5

gtg gaa ctg tca tgg gac tat atg caa agt gat ctg ggt gag ctg cct 807  
 Val Glu Leu Ser Trp Asp Tyr Met Gln Ser Asp Leu Gly Glu Leu Pro  
 10 15 20 25

gtg gac gca aga ttt cct cct aga gtg cca aaa tct ttt cca ttc aac 855  
 Val Asp Ala Arg Phe Pro Pro Arg Val Pro Lys Ser Phe Pro Phe Asn  
 30 35 40

acc tca gtc gtg tac aaa aag act ctg ttt gta gaa ttc acg gat cac 903  
 Thr Ser Val Val Tyr Lys Lys Thr Leu Phe Val Glu Phe Thr Asp His  
 45 50 55

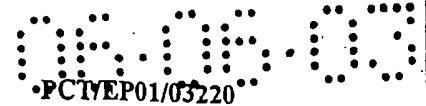
ctt ttc aac atc gct aag cca agg cca ccc tgg atg ggt ctg cta ggt 951  
 Leu Phe Asn Ile Ala Lys Pro Arg Pro Pro Trp Met Gly Leu Leu Gly  
 60 65 70

cct acc atc cag gct gag gtt tat gat aca gtg gtc att aca ctt aag 999

Pro	Thr	Ile	Gln	Ala	Glu	Val	Tyr	Asp	Thr	Val	Val	Ile	Thr	Leu	Lys	
	75					80					85					
aac	atg	gct	tcc	cat	cct	gtc	agt	ctt	cat	gct	ggt	ggt	gta	tcc	tac	1047
Asn	Met	Ala	Ser	His	Pro	Val	Ser	Leu	His	Ala	Val	Gly	Val	Ser	Tyr	
	90				95					100					105	
tgg	aaa	gct	tct	gag	gga	gct	gaa	tat	gat	gat	cag	acc	agt	caa	agg	1095
Trp	Lys	Ala	Ser	Glu	Gly	Ala	Glu	Tyr	Asp	Asp	Gln	Thr	Ser	Gln	Arg	
				110					115					120		
gag	aaa	gaa	gat	gat	aaa	gtc	ttc	cct	ggt	gga	agc	cat	aca	tat	gtc	1143
Glu	Lys	Glu	Asp	Asp	Lys	Val	Phe	Pro	Gly	Gly	Ser	His	Thr	Tyr	Val	
			125					130					135			
tgg	cag	gtc	ctg	aaa	gag	aat	ggt	cca	atg	gcc	tct	gac	cca	ctg	tgc	1191
Trp	Gln	Val	Leu	Lys	Glu	Asn	Gly	Pro	Met	Ala	Ser	Asp	Pro	Leu	Cys	
	140						145					150				
ctt	acc	tac	tca	tat	ctt	tct	cat	gcg	gac	ctg	gta	aaa	gac	ttg	aat	1239
Leu	Thr	Tyr	Ser	Tyr	Leu	Ser	His	Ala	Asp	Leu	Val	Lys	Asp	Leu	Asn	
	155					160					165					
tca	ggc	ctc	att	gga	gcc	cta	cta	gta	tgt	aga	gaa	ggg	agt	ctg	gcc	1287
Ser	Gly	Leu	Ile	Gly	Ala	Leu	Leu	Val	Cys	Arg	Glu	Gly	Ser	Leu	Ala	
	170				175					180					185	
aag	gaa	aag	aca	cag	acc	ttg	cac	aaa	ttt	ata	cta	ctt	ttt	gct	gta	1335
Lys	Glu	Lys	Thr	Gln	Thr	Leu	His	Lys	Phe	Ile	Leu	Leu	Phe	Ala	Val	
				190					195					200		
ttt	gat	gaa	ggg	aaa	agt	tgg	cac	tca	gaa	aca	aag	aac	tcc	ttg	atg	1383
Phe	Asp	Glu	Gly	Lys	Ser	Trp	His	Ser	Glu	Thr	Lys	Asn	Ser	Leu	Met	
			205					210					215			
cag	gat	agg	gat	gct	gca	tct	gct	cgg	gcc	tgg	cct	aaa	atg	cac	aca	1431
Gln	Asp	Arg	Asp	Ala	Ala	Ser	Ala	Arg	Ala	Trp	Pro	Lys	Met	His	Thr	
		220					225					230				
gtc	aat	ggt	tat	gta	aac	agg	tct	ctg	cca	ggt	ctg	att	gga	tgc	cac	1479
Val	Asn	Gly	Tyr	Val	Asn	Arg	Ser	Leu	Pro	Gly	Leu	Ile	Gly	Cys	His	
	235					240					245					
agg	aaa	tca	gtc	tat	tgg	cat	gtg	att	gga	atg	ggc	acc	act	cct	gaa	1527
Arg	Lys	Ser	Val	Tyr	Trp	His	Val	Ile	Gly	Met	Gly	Thr	Thr	Pro	Glu	
	250					255				260					265	
gtg	cac	tca	ata	ttc	ctc	gaa	ggt	cac	aca	ttt	ctt	gtg	agg	aac	cat	1575
Val	His	Ser	Ile	Phe	Leu	Glu	Gly	His	Thr	Phe	Leu	Val	Arg	Asn	His	
				270					275					280		
cgc	cag	gcg	tcc	ttg	gaa	atc	tcg	cca	ata	act	ttc	ctt	act	gct	caa	1623
Arg	Gln	Ala	Ser	Leu	Glu	Ile	Ser	Pro	Ile	Thr	Phe	Leu	Thr	Ala	Gln	
			285					290					295			
aca	ctc	ttg	atg	gac	ctt	gga	cag	ttt	cta	ctg	ttt	tgt	cat	atc	tct	1671
Thr	Leu	Leu	Met	Asp	Leu	Gly	Gln	Phe	Leu	Leu	Phe	Cys	His	Ile	Ser	
		300				305					310					
tcc	cac	caa	cat	gat	ggc	atg	gaa	gct	tat	gtc	aaa	gta	gac	agc	tgt	1719
Ser	His	Gln	His	Asp	Gly	Met	Glu	Ala	Tyr	Val	Lys	Val	Asp	Ser	Cys	
		315				320					325					
cca	gag	gaa	ccc	caa	cta	cga	atg	aaa	aat	aat	gaa	gaa	gcg	gaa	gac	1767
Pro	Glu	Glu	Pro	Gln	Leu	Arg	Met	Lys	Asn	Asn	Glu	Glu	Ala	Glu	Asp	
					330					340					345	

tat gat gat gat ctt act gat tct gaa atg gat gtg gtc agg ttt gat	1815
Tyr Asp Asp Asp Leu Thr Asp Ser Glu Met Asp Val Val Arg Phe Asp	
350 355 360	
gat gac aac tct cct tcc ttt atc caa att cgc tca gtt gcc aag aag	1863
Asp Asp Asn Ser Pro Ser Phe Ile Gln Ile Arg Ser Val Ala Lys Lys	
365 370 375	
cat cct aaa act tgg gta cat tac att gct gct gaa gag gag gac tgg	1911
His Pro Lys Thr Trp Val His Tyr Ile Ala Ala Glu Glu Glu Asp Trp	
380 385 390	
gac tat gct ccc tta gtc ctc gcc ccc gat gac aga agt tat aaa agt	1959
Asp Tyr Ala Pro Leu Val Leu Ala Pro Asp Asp Arg Ser Tyr Lys Ser	
395 400 405	
caa tat ttg aac aat ggc cct cag cgg att ggt agg aag tac aaa aaa	2007
Gln Tyr Leu Asn Asn Gly Pro Gln Arg Ile Gly Arg Lys Tyr Lys Lys	
410 415 420 425	
gtc cga ttt atg gca tac aca gat gaa acc ttt aag act cgt gaa gct	2055
Val Arg Phe Met Ala Tyr Thr Asp Glu Thr Phe Lys Thr Arg Glu Ala	
430 435 440	
att cag cat gaa tca gga atc ttg gga cct tta ctt tat ggg gaa gtt	2103
Ile Gln His Glu Ser Gly Ile Leu Gly Pro Leu Leu Tyr Gly Glu Val	
445 450 455	
gga gac aca ctg ttg att ata ttt aag aat caa gca agc aga cca tat	2151
Gly Asp Thr Leu Leu Ile Ile Phe Lys Asn Gln Ala Ser Arg Pro Tyr	
460 465 470	
aac atc tac cct cac gga atc act gat gtc cgt cct ttg tat tca agg	2199
Asn Ile Tyr Pro His Gly Ile Thr Asp Val Arg Pro Leu Tyr Ser Arg	
475 480 485	
aga tta cca aaa ggt gta aaa cat ttg aag gat ttt cca att ctg cca	2247
Arg Leu Pro Lys Gly Val Lys His Leu Lys Asp Phe Pro Ile Leu Pro	
490 495 500 505	
gga gaa ata ttc aaa tat aaa tgg aca gtg act gta gaa gat ggg cca	2295
Gly Glu Ile Phe Lys Tyr Lys Trp Thr Val Thr Val Glu Asp Gly Pro	
510 515 520	
act aaa tca gat cct cgg tgc ctg acc cgc tat tac tct agt ttc gtt	2343
Thr Lys Ser Asp Pro Arg Cys Leu Thr Arg Tyr Tyr Ser Ser Phe Val	
525 530 535	
aat atg gag aga gat cta gct tca gga ctc att ggc cct ctc ctc atc	2391
Asn Met Glu Arg Asp Leu Ala Ser Gly Leu Ile Gly Pro Leu Leu Ile	
540 545 550	
tgc tac aaa gaa tct gta gat caa aga gga aac cag ata atg tca gac	2439
Cys Tyr Lys Glu Ser Val Asp Gln Arg Gly Asn Gln Ile Met Ser Asp	
555 560 565	
aag agg aat gtc atc ctg ttt tct gta ttt gat gag aac cga agc tgg	2487
Lys Arg Asn Val Ile Leu Phe Ser Val Phe Asp Glu Asn Arg Ser Trp	
570 575 580 585	
tac ctc aca gag aat ata caa cgc ttt ctc ccc aat cca gct gga gtg	2535
Tyr Leu Thr Glu Asn Ile Gln Arg Phe Leu Pro Asn Pro Ala Gly Val	
590 595 600	
cag ctt gag gat cca gag ttc caa gcc tcc aac atc atg cac agc atc	2583

Gln	Leu	Glu	Asp	Pro	Glu	Phe	Gln	Ala	Ser	Asn	Ile	Met	His	Ser	Ile	
			605					610					615			
aat	ggc	tat	gtt	ttt	gat	agt	ttg	cag	ttg	tca	gtt	tgt	ttg	cat	gag	2631
Asn	Gly	Tyr	Val	Phe	Asp	Ser	Leu	Gln	Leu	Ser	Val	Cys	Leu	His	Glu	
		620					625					630				
gtg	gca	tac	tgg	tac	att	cta	agc	att	gga	gca	cag	act	gac	ttc	ctt	2679
Val	Ala	Tyr	Trp	Tyr	Ile	Leu	Ser	Ile	Gly	Ala	Gln	Thr	Asp	Phe	Leu	
	635					640					645					
tct	gtc	ttc	ttc	tct	gga	tat	acc	ttc	aaa	cac	aaa	atg	gtc	tat	gaa	2727
Ser	Val	Phe	Phe	Ser	Gly	Tyr	Thr	Phe	Lys	His	Lys	Met	Val	Tyr	Glu	
650					655					660					665	
gac	aca	ctc	acc	cta	ttc	cca	ttc	tca	gga	gaa	act	gtc	ttc	atg	tcg	2775
Asp	Thr	Leu	Thr	Leu	Phe	Pro	Phe	Ser	Gly	Glu	Thr	Val	Phe	Met	Ser	
				670					675					680		
atg	gaa	aac	cca	ggt	cta	tgg	att	ctg	ggg	tgc	cac	aac	tca	gac	ttt	2823
Met	Glu	Asn	Pro	Gly	Leu	Trp	Ile	Leu	Gly	Cys	His	Asn	Ser	Asp	Phe	
			685					690					695			
cgg	aac	aga	ggc	atg	acc	gcc	tta	ctg	aag	ggt	tct	agt	tgt	gac	aag	2871
Arg	Asn	Arg	Gly	Met	Thr	Ala	Leu	Leu	Lys	Val	Ser	Ser	Cys	Asp	Lys	
		700					705					710				
aac	act	ggt	gat	tat	tac	gag	gac	agt	tat	gaa	gat	att	tca	gca	tac	2919
Asn	Thr	Gly	Asp	Tyr	Tyr	Glu	Asp	Ser	Tyr	Glu	Asp	Ile	Ser	Ala	Tyr	
	715					720					725					
ttg	ctg	agt	aaa	aac	aat	gcc	att	gaa	cca	aga	agc	ttc	tcc	cag	aat	2967
Leu	Leu	Ser	Lys	Asn	Asn	Ala	Ile	Glu	Pro	Arg	Ser	Phe	Ser	Gln	Asn	
730					735				740						745	
tca	aga	cat	caa	gct	tat	cga	tac	cgt	cga	ggg	gaa	ata	act	cgt	act	3015
Ser	Arg	His	Gln	Ala	Tyr	Arg	Tyr	Arg	Arg	Gly	Glu	Ile	Thr	Arg	Thr	
				750					755					760		
act	ctt	cag	tca	gat	caa	gag	gaa	att	gac	tat	gat	gat	acc	ata	tca	3063
Thr	Leu	Gln	Ser	Asp	Gln	Glu	Glu	Ile	Asp	Tyr	Asp	Asp	Thr	Ile	Ser	
			765					770					775			
gtt	gaa	atg	aag	aag	gaa	gat	ttt	gac	att	tat	gat	gag	gat	gaa	aat	3111
Val	Glu	Met	Lys	Lys	Glu	Asp	Phe	Asp	Ile	Tyr	Asp	Glu	Asp	Glu	Asn	
		780					785					790				
cag	agc	ccc	cgc	agc	ttt	caa	aag	aaa	aca	cga	cac	tat	ttt	att	gct	3159
Gln	Ser	Pro	Arg	Ser	Phe	Gln	Lys	Lys	Thr	Arg	His	Tyr	Phe	Ile	Ala	
		795				800					805					
gca	gtg	gag	agg	ctc	tgg	gat	tat	ggg	atg	agt	agc	tcc	cca	cat	gtt	3207
Ala	Val	Glu	Arg	Leu	Trp	Asp	Tyr	Gly	Met	Ser	Ser	Ser	Pro	His	Val	
810					815					820					825	
cta	aga	aac	agg	gct	cag	agt	ggc	agt	gtc	cct	cag	ttc	aag	aaa	gtt	3255
Leu	Arg	Asn	Arg	Ala	Gln	Ser	Gly	Ser	Val	Pro	Gln	Phe	Lys	Lys	Val	
				830					835					840		
gtt	ttc	cag	gaa	ttt	act	gat	ggc	tcc	ttt	act	cag	ccc	tta	tac	cgt	3303
Val	Phe	Gln	Glu	Phe	Thr	Asp	Gly	Ser	Phe	Thr	Gln	Pro	Leu	Tyr	Arg	
			845					850					855			
gga	gaa	cta	aat	gaa	cat	ttg	gga	ctc	ctg	ggg	cca	tat	ata	aga	gca	3351
Gly	Glu	Leu	Asn	Glu	His	Leu	Gly	Leu	Leu	Gly	Pro	Tyr	Ile	Arg	Ala	
		860					865					870				



gaa gtt gaa gat aat atc atg gta act ttc aga aat cag gcc tct cgt	3399
Glu Val Glu Asp Asn Ile Met Val Thr Phe Arg Asn Gln Ala Ser Arg	
875 880 885	
ccc tat tcc ttc tat tct agc ctt att tct tat gag gaa gat cag agg	3447
Pro Tyr Ser Phe Tyr Ser Ser Leu Ile Ser Tyr Glu Glu Asp Gln Arg	
890 895 900 905	
caa gga gca gaa cct aga aaa aac ttt gtc aag cct aat gaa acc aaa	3495
Gln Gly Ala Glu Pro Arg Lys Asn Phe Val Lys Pro Asn Glu Thr Lys	
910 915 920	
act tac ttt tgg aaa gtg caa cat cat atg gca ccc act aaa gat gag	3543
Thr Tyr Phe Trp Lys Val Gln His His Met Ala Pro Thr Lys Asp Glu	
925 930 935	
ttt gac tgc aaa gcc tgg gct tat ttc tct gat gtt gac ctg gaa aaa	3591
Phe Asp Cys Lys Ala Trp Ala Tyr Phe Ser Asp Val Asp Leu Glu Lys	
940 945 950	
gat gtg cac tca ggc ctg att gga ccc ctt ctg gtc tgc cac act aac	3639
Asp Val His Ser Gly Leu Ile Gly Pro Leu Leu Val Cys His Thr Asn	
955 960 965	
aca ctg aac cct gct cat ggg aga caa gtg aca gta cag gaa ttt gct	3687
Thr Leu Asn Pro Ala His Gly Arg Gln Val Thr Val Gln Glu Phe Ala	
970 975 980 985	
ctg ttt ttc acc atc ttt gat gag acc aaa agc tgg tac ttc act gaa	3735
Leu Phe Phe Thr Ile Phe Asp Glu Thr Lys Ser Trp Tyr Phe Thr Glu	
990 995 1000	
aat atg gaa aga aac tgc agg gct ccc tgc aat atc cag atg gaa gat	3783
Asn Met Glu Arg Asn Cys Arg Ala Pro Cys Asn Ile Gln Met Glu Asp	
1005 1010 1015	
ccc act ttt aaa gag aat tat cgc ttc cat gca atc aat ggc tac ata	3831
Pro Thr Phe Lys Glu Asn Tyr Arg Phe His Ala Ile Asn Gly Tyr Ile	
1020 1025 1030	
atg gat aca cta cct ggc tta gta atg gct cag gat caa agg att cga	3879
Met Asp Thr Leu Pro Gly Leu Val Met Ala Gln Asp Gln Arg Ile Arg	
1035 1040 1045	
tgg tat ctg ctc agc atg ggc agc aat gaa aac atc cat tct att cat	3927
Trp Tyr Leu Leu Ser Met Gly Ser Asn Glu Asn Ile His Ser Ile His	
1050 1055 1060 1065	
ttc agt gga cat gtg ttc act gta cga aaa aaa gag gag tat aaa atg	3975
Phe Ser Gly His Val Phe Thr Val Arg Lys Lys Glu Glu Tyr Lys Met	
1070 1075 1080	
gca ctg tac aat ctc tat cca ggt gtt ttt gag aca gtg gaa atg tta	4023
Ala Leu Tyr Asn Leu Tyr Pro Gly Val Phe Glu Thr Val Glu Met Leu	
1085 1090 1095	
cca tcc aaa gct gga att tgg cgg gtg gaa tgc ctt att ggc gag cat	4071
Pro Ser Lys Ala Gly Ile Trp Arg Val Glu Cys Leu Ile Gly Glu His	
1100 1105 1110	
cta cat gct ggg atg aac aca ctt ttt ctg gtg tac agc aat aag tgt	4119
Leu His Ala Gly Met Asn Thr Leu Phe Leu Val Tyr Ser Asn Lys Cys	
1115 1120 1125	
cag act ccc ctg gga atg gct tct gga cac att aga gat ttt cag att	4167



Gln Thr Pro Leu Gly Met Ala Ser Gly His Ile Arg Asp Phe Gln Ile	
1130	1135 1140 1145
aca gct tca gga caa tat gga cag tgg gcc cca aag ctg gcc aga ctt	4215
Thr Ala Ser Gly Gln Tyr Gly Gln Trp Ala Pro Lys Leu Ala Arg Leu	1150 1155 1160
cat tat tcc gga tca atc aat gcc tgg agc acc aag gag ccc ttt tct	4263
His Tyr Ser Gly Ser Ile Asn Ala Trp Ser Thr Lys Glu Pro Phe Ser	1165 1170 1175
tgg atc aag gtg gat ctg ttg gca cca atg att att cac ggc atc aag	4311
Trp Ile Lys Val Asp Leu Leu Ala Pro Met Ile Ile His Gly Ile Lys	1180 1185 1190
acc cag ggt gcc cgt cag aag ttc tcc agc ctc tac atc tct cag ttt	4359
Thr Gln Gly Ala Arg Gln Lys Phe Ser Ser Leu Tyr Ile Ser Gln Phe	1195 1200 1205
atc atc atg tat agt ctt gat ggg aag aag tgg cag act tat cga gga	4407
Ile Ile Met Tyr Ser Leu Asp Gly Lys Lys Trp Gln Thr Tyr Arg Gly	1210 1215 1220 1225
aat tcc act gga acc tta atg gtc ttc ttt ggc aat gtg gat tca tct	4455
Asn Ser Thr Gly Thr Leu Met Val Phe Phe Gly Asn Val Asp Ser Ser	1230 1235 1240
ggg ata aaa cac aat att ttt aac cct cca att att gct cga tac atc	4503
Gly Ile Lys His Asn Ile Phe Asn Pro Pro Ile Ile Ala Arg Tyr Ile	1245 1250 1255
cgt ttg cac cca act cat tat agc att cgc agc act ctt cgc atg gag	4551
Arg Leu His Pro Thr His Tyr Ser Ile Arg Ser Thr Leu Arg Met Glu	1260 1265 1270
ttg atg ggc tgt gat tta aat agt tgc agc atg cca ttg gga atg gag	4599
Leu Met Gly Cys Asp Leu Asn Ser Cys Ser Met Pro Leu Gly Met Glu	1275 1280 1285
agt aaa gca ata tca gat gca cag att act gct tca tcc tac ttt acc	4647
Ser Lys Ala Ile Ser Asp Ala Gln Ile Thr Ala Ser Ser Tyr Phe Thr	1290 1295 1300 1305
aat atg ttt gcc acc tgg tct cct tca aaa gct cga ctt cac ctc caa	4695
Asn Met Phe Ala Thr Trp Ser Pro Ser Lys Ala Arg Leu His Leu Gln	1310 1315 1320
ggg agg agt aat gcc tgg aga cct cag gag aat aat cca aaa gag tgg	4743
Gly Arg Ser Asn Ala Trp Arg Pro Gln Glu Asn Asn Pro Lys Glu Trp	1325 1330 1335
ctg caa gtg gac ttc cag aag aca atg aaa gtc aca gga gta act act	4791
Leu Gln Val Asp Phe Gln Lys Thr Met Lys Val Thr Gly Val Thr Thr	1340 1345 1350
cag gga gta aaa tct ctg ctt acc agc atg tat gtg aag gag ttc ctc	4839
Gln Gly Val Lys Ser Leu Leu Thr Ser Met Tyr Val Lys Glu Phe Leu	1355 1360 1365
atc tcc agc agt caa gat ggc cat cag tgg acc ctc ttt ttt cag aat	4887
Ile Ser Ser Ser Gln Asp Gly His Gln Trp Thr Leu Phe Phe Gln Asn	1370 1375 1380 1385
ggc aaa gta aag gtt ttt cag gga aat caa gac tcc ttc aca cct gtg	4935
Gly Lys Val Lys Val Phe Gln Gly Asn Gln Asp Ser Phe Thr Pro Val	1390 1395 1400



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

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

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

tgtgaaggaa ccttacttct gtggtgtgac ataattggac aaactaccta cagagattta 5142  
 aagctctaag gtaaataaa aatttttaag tgtataatgt gttaaactac tgattctaata 5202  
 tgtttgtgta ttttagattc caacctatgg aactgatgaa tgggagcagt ggtggaatgc 5262  
 ctttaatgag gaaaacctgt tttgctcaga agaaatgccca tctagtgatg atgaggctac 5322  
 tgctgactct caacattcta ctctccaaa aaagaagaga aaggtagaag accccaagga 5382  
 ctttccttca gaattgctaa gttttttgag tcatgctgtg cttagtaata gaactcttgc 5442  
 ttgctttgct atttacacca caaggaaaa agctgcactg ctatacaaga aaattatgga 5502  
 aaaatattct gtaaccttta taagtaggca taacagttat aatcataaca tactgttttt 5562  
 tcttactoca cacaggcata gagtgtctgc tattaataac tatgctcaaa aattgtgtac 5622  
 ctttagcttt ttaatttgta aaggggttaa taaggaatat ttgatgtata gtgccttgac 5682  
 tagagatcat aatcagccat accacatttg tagaggtttt acttgcttta aaaaacctcc 5742  
 cacacctccc cctgaacctg aaacataaaa tgaatgcaat tgttgttgtt aacttgttta 5802  
 ttgcagctta taatggttac aaataaagca atagcatcac aaatttcaca aataaagcat 5862  
 ttttttcaact gcattotagt tgtggtttgt ccaaactcat caatgtatct tatcatgtct 5922  
 ggatccccgg gtacctcta gagcgaatta attcactggc cgtcgtttta caacgctcgtg 5982  
 actgggaaaa ccttgggcgtt acccaactta atcgccctgc agcacatccc cetttcgcca 6042  
 gctggcgtaa tagcgaagag gcccgaccg atcgcccttc ccaacagttg cgcagcctga 6102  
 atggcgaatg gcgcctgatg cggatatttc tcettaogca tctgtgcggt atttcacacc 6162  
 gcatatggtg cactctcagt acaatctgct ctgatgccgc atagttaagc cagccccgac 6222  
 acccgccaac acccgctgac gcgcctgac gggcttgtct gctccggca tccgcttaca 6282  
 gacaagctgt gaccgtctcc gggagctgca tgtgtcagag gttttcaccg tcatcaccga 6342  
 aacgcgcgag acgaaagggg gggtagcagc ttcgtagcta gaacatcatg ttctgggata 6402  
 tcagcttctg agctagaaca tcatgttctg gtacccccct cgtgatacgc ctatttttat 6462  
 aggttaatgt catgataata atggtttctt agacgtcagg tggcactttt cggggaaatg 6522  
 tgccggaac ccctatttgt ttatttttct aaatacattc aaatatgtat ccgctcatga 6582  
 gacaataacc ctgataaatg cttcaataat attgaaaaag gaagagtatg agtattcaac 6642  
 atttccgtgt cgccttatt cccttttttg cggcattttg ccttctgtt tttgctcacc 6702

cagaaacgct ggtgaaagta aaagatgctg aagatcagtt ggggtgcacga gtgggttaca 6762  
tcgaactgga tctcaacagc ggtaagatcc ttgagagttt tcgccccgaa gaacgttttc 6822  
caatgatgag cacttttaaa gttctgctat gtggcgcggt attatcccgt attgacgccg 6882  
ggcaagagca actcggtcgc cgcatacact attctcagaa tgacttggtt gagtactcac 6942  
cagtcacaga aaagcatctt acggatggca tgacagtaag agaattatgc agtgctgccca 7002  
taaccatgag tgataacact gcggccaact tacttctgac aacgatcggga ggaccgaagg 7062  
agctaaccgc ttttttgcaac aacatggggg atcatgtaac tcgccttgat cgttgggaaac 7122  
cggagctgaa tgaagccata ccaaacgacg agcgtgacac cacgatgcct gtagcaatgg 7182  
caacaacggt gcgcaaaact ttaactggcg aactacttac tctagcttcc cggcaacaat 7242  
taatagactg gatggaggcg gataazagttg caggaccact tctgogctcg gcccttccgg 7302  
ctggctggtt tattgctgat aaatctggag ccggtgagcg tgggtctcgc ggtatcattg 7362  
cagcactggg gccagatggt aagccctccc gtatcgtagt tatctacacg acggggagtc 7422  
aggcaactat ggatgaacga aatagacaga tcgctgagat aggtgcctca ctgattaagc 7482  
attgtaact gtcagaccaa gtttactcat atatacttta gattgattta aaacttcatt 7542  
tttaatttaa aaggatctag gtgaagatcc tttttgataa tctcatgacc aaaatccctt 7602  
aacgtgagtt ttcgttccac tgagcgtcag accccgtaga aaagatcaaaa ggatcttctt 7662  
gagatccttt ttttctgcgc gtaatctgct gcttgcaaac aaaaaaacca ccgctaccag 7722  
cggtggtttg tttgccggat caagagctac caactctttt tccgaaggta actggcttca 7782  
gcagagcgca gataccaaat actgtcttct agtgtagccg tagttaggcc accacttcaa 7842  
gaactctgta gcaccgccta catacctcgc tctgctaate ctgttaccag tggctgctgc 7902  
cagtggcgat aagtcgtgct ttaccgggtt ggactcaaga cgatagttac cggataaggc 7962  
gcagcggctg ggctgaacgg ggggttcgtg cacacagccc agcttggagc gaacgacctà 8022  
caccgaactg agatacctac agcgtgagct atgagaaagc gccacgcttc ccgaagggag 8082  
aaaggcggac aggtatccgg taagcggcag ggtcggaaaca ggagagcgca cgagggagct 8142  
tccaggggga aacgcctggt atctttatag tccctgctggg tttcgccacc tctgacttga 8202  
gcgtcgattt ttgtgatgct cgtcaggggg gcggagccta tggaaaaacg ccagcaacgc 8262  
ggccttttta cggttcctgg ccttttgctg gccttttgct cacatgttct ttcctgctt 8322  
atcccctgat tctgtggata accgtattac cgcctttgag tgagctgata ccgctcgccg 8382  
cagccgaacg accgagcgca gcgagtcagt gagcgaggaa gcggaagagc gcccaatacg 8442  
caaaccgcct ctccccgcgc gttggccgat tcattaatgc agctggcacg acaggtttcc 8502  
cgactggaaa gcgggcagtg agcgcaacgc aattaatgtg agttagctca ctcattaggc 8562  
accccaggct ttacacttta tgcttccggc tcgtatggtg tgtggaattg tgagcggata 8622  
acaatttcac acaggaaca gctatgacca tgattacgcc aagctctcta gagctctaga 8682

gctctagagc tctagagagc ttgcatgect gcagggtcg

8720

&lt;210&gt; 4

&lt;211&gt; 1459

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Umelá sekvencia

&lt;223&gt; Opis umelej sekvencie: pTGF8-1

&lt;400&gt; 4

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

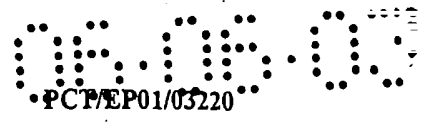
Lys Ser Trp His Ser Glu Thr Lys Asn Ser Leu Met Gln Asp Arg Asp  
 210 215 220

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

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

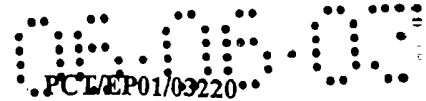
Tyr Trp His Val Ile Gly Met Gly Thr Thr Pro Glu Val His Ser Ile  
 255 260 265

Phe Leu Glu Gly His Thr Phe Leu Val Arg Asn His Arg Gln Ala Ser

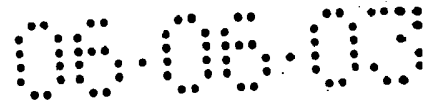


270					275					280					285
Leu	Glu	Ile	Ser	Pro	Ile	Thr	Phe	Leu	Thr	Ala	Gln	Thr	Leu	Leu	Met
				290					295					300	
Asp	Leu	Gly	Gln	Phe	Leu	Leu	Phe	Cys	His	Ile	Ser	Ser	His	Gln	His
			305					310					315		
Asp	Gly	Met	Glu	Ala	Tyr	Val	Lys	Val	Asp	Ser	Cys	Pro	Glu	Glu	Pro
		320					325					330			
Gln	Leu	Arg	Met	Lys	Asn	Asn	Glu	Glu	Ala	Glu	Asp	Tyr	Asp	Asp	Asp
	335					340					345				
Leu	Thr	Asp	Ser	Glu	Met	Asp	Val	Val	Arg	Phe	Asp	Asp	Asp	Asn	Ser
350					355					360					365
Pro	Ser	Phe	Ile	Gln	Ile	Arg	Ser	Val	Ala	Lys	Lys	His	Pro	Lys	Thr
				370					375					380	
Trp	Val	His	Tyr	Ile	Ala	Ala	Glu	Glu	Glu	Asp	Trp	Asp	Tyr	Ala	Pro
			385				390						395		
Leu	Val	Leu	Ala	Pro	Asp	Asp	Arg	Ser	Tyr	Lys	Ser	Gln	Tyr	Leu	Asn
		400					405					410			
Asn	Gly	Pro	Gln	Arg	Ile	Gly	Arg	Lys	Tyr	Lys	Lys	Val	Arg	Phe	Met
	415					420					425				
Ala	Tyr	Thr	Asp	Glu	Thr	Phe	Lys	Thr	Arg	Glu	Ala	Ile	Gln	His	Glu
430					435					440					445
Ser	Gly	Ile	Leu	Gly	Pro	Leu	Leu	Tyr	Gly	Glu	Val	Gly	Asp	Thr	Leu
				450					455					460	
Leu	Ile	Ile	Phe	Lys	Asn	Gln	Ala	Ser	Arg	Pro	Tyr	Asn	Ile	Tyr	Pro
			465					470					475		
His	Gly	Ile	Thr	Asp	Val	Arg	Pro	Leu	Tyr	Ser	Arg	Arg	Leu	Pro	Lys
		480					485					490			
Gly	Val	Lys	His	Leu	Lys	Asp	Phe	Pro	Ile	Leu	Pro	Gly	Glu	Ile	Phe
	495					500					505				
Lys	Tyr	Lys	Trp	Thr	Val	Thr	Val	Glu	Asp	Gly	Pro	Thr	Lys	Ser	Asp
510					515					520					525
Pro	Arg	Cys	Leu	Thr	Arg	Tyr	Tyr	Ser	Ser	Phe	Val	Asn	Met	Glu	Arg
				530					535					540	
Asp	Leu	Ala	Ser	Gly	Leu	Ile	Gly	Pro	Leu	Leu	Ile	Cys	Tyr	Lys	Glu
			545					550					555		
Ser	Val	Asp	Gln	Arg	Gly	Asn	Gln	Ile	Met	Ser	Asp	Lys	Arg	Asn	Val
		560					565					570			
Ile	Leu	Phe	Ser	Val	Phe	Asp	Glu	Asn	Arg	Ser	Trp	Tyr	Leu	Thr	Glu
	575					580					585				
Asn	Ile	Gln	Arg	Phe	Leu	Pro	Asn	Pro	Ala	Gly	Val	Gln	Leu	Glu	Asp
590					595					600					605
Pro	Glu	Phe	Gln	Ala	Ser	Asn	Ile	Met	His	Ser	Ile	Asn	Gly	Tyr	Val
				610					615					620	
Phe	Asp	Ser	Leu	Gln	Leu	Ser	Val	Cys	Leu	His	Glu	Val	Ala	Tyr	Trp

625					630					635					
Tyr	Ile	Leu	Ser	Ile	Gly	Ala	Gln	Thr	Asp	Phe	Leu	Ser	Val	Phe	Phe
		640					645					650			
Ser	Gly	Tyr	Thr	Phe	Lys	His	Lys	Met	Val	Tyr	Glu	Asp	Thr	Leu	Thr
	655					660					665				
Leu	Phe	Pro	Phe	Ser	Gly	Glu	Thr	Val	Phe	Met	Ser	Met	Glu	Asn	Pro
670					675					680					685
Gly	Leu	Trp	Ile	Leu	Gly	Cys	His	Asn	Ser	Asp	Phe	Arg	Asn	Arg	Gly
				690					695					700	
Met	Thr	Ala	Leu	Leu	Lys	Val	Ser	Ser	Cys	Asp	Lys	Asn	Thr	Gly	Asp
			705					710					715		
Tyr	Tyr	Glu	Asp	Ser	Tyr	Glu	Asp	Ile	Ser	Ala	Tyr	Leu	Leu	Ser	Lys
		720					725					730			
Asn	Asn	Ala	Ile	Glu	Pro	Arg	Ser	Phe	Ser	Gln	Asn	Ser	Arg	His	Gln
		735				740					745				
Ala	Tyr	Arg	Tyr	Arg	Arg	Gly	Glu	Ile	Thr	Arg	Thr	Thr	Leu	Gln	Ser
750					755					760					765
Asp	Gln	Glu	Glu	Ile	Asp	Tyr	Asp	Asp	Thr	Ile	Ser	Val	Glu	Met	Lys
				770					775					780	
Lys	Glu	Asp	Phe	Asp	Ile	Tyr	Asp	Glu	Asp	Glu	Asn	Gln	Ser	Pro	Arg
			785					790					795		
Ser	Phe	Gln	Lys	Lys	Thr	Arg	His	Tyr	Phe	Ile	Ala	Ala	Val	Glu	Arg
		800					805					810			
Leu	Trp	Asp	Tyr	Gly	Met	Ser	Ser	Ser	Pro	His	Val	Leu	Arg	Asn	Arg
	815					820					825				
Ala	Gln	Ser	Gly	Ser	Val	Pro	Gln	Phe	Lys	Lys	Val	Val	Phe	Gln	Glu
830					835					840					845
Phe	Thr	Asp	Gly	Ser	Phe	Thr	Gln	Pro	Leu	Tyr	Arg	Gly	Glu	Leu	Asn
				850					855					860	
Glu	His	Leu	Gly	Leu	Leu	Gly	Pro	Tyr	Ile	Arg	Ala	Glu	Val	Glu	Asp
			865					870					875		
Asn	Ile	Met	Val	Thr	Phe	Arg	Asn	Gln	Ala	Ser	Arg	Pro	Tyr	Ser	Phe
		880					885					890			
Tyr	Ser	Ser	Leu	Ile	Ser	Tyr	Glu	Glu	Asp	Gln	Arg	Gln	Gly	Ala	Glu
	895					900						905			
Pro	Arg	Lys	Asn	Phe	Val	Lys	Pro	Asn	Glu	Thr	Lys	Thr	Tyr	Phe	Trp
910					915					920					925
Lys	Val	Gln	His	His	Met	Ala	Pro	Thr	Lys	Asp	Glu	Phe	Asp	Cys	Lys
				930					935					940	
Ala	Trp	Ala	Tyr	Phe	Ser	Asp	Val	Asp	Leu	Glu	Lys	Asp	Val	His	Ser
			945					950					955		
Gly	Leu	Ile	Gly	Pro	Leu	Leu	Val	Cys	His	Thr	Asn	Thr	Leu	Asn	Pro
		960					965					970			
Ala	His	Gly	Arg	Gln	Val	Thr	Val	Gln	Glu	Phe	Ala	Leu	Phe	Phe	Thr



975	980	985
Ile Phe Asp Glu Thr Lys Ser Trp Tyr Phe Thr Glu Asn Met Glu Arg 990 995 1000 1005		
Asn Cys Arg Ala Pro Cys Asn Ile Gln Met Glu Asp Pro Thr Phe Lys 1010 1015 1020		
Glu Asn Tyr Arg Phe His Ala Ile Asn Gly Tyr Ile Met Asp Thr Leu 1025 1030 1035		
Pro Gly Leu Val Met Ala Gln Asp Gln Arg Ile Arg Trp Tyr Leu Leu 1040 1045 1050		
Ser Met Gly Ser Asn Glu Asn Ile His Ser Ile His Phe Ser Gly His 1055 1060 1065		
Val Phe Thr Val Arg Lys Lys Glu Glu Tyr Lys Met Ala Leu Tyr Asn 070 1075 1080 1085		
Leu Tyr Pro Gly Val Phe Glu Thr Val Glu Met Leu Pro Ser Lys Ala 1090 1095 1100		
Gly Ile Trp Arg Val Glu Cys Leu Ile Gly Glu His Leu His Ala Gly 1105 1110 1115		
Met Asn Thr Leu Phe Leu Val Tyr Ser Asn Lys Cys Gln Thr Pro Leu 1120 1125 1130		
Gly Met Ala Ser Gly His Ile Arg Asp Phe Gln Ile Thr Ala Ser Gly 1135 1140 1145		
Gln Tyr Gly Gln Trp Ala Pro Lys Leu Ala Arg Leu His Tyr Ser Gly 150 1155 1160 1165		
Ser Ile Asn Ala Trp Ser Thr Lys Glu Pro Phe Ser Trp Ile Lys Val 1170 1175 1180		
Asp Leu Leu Ala Pro Met Ile Ile His Gly Ile Lys Thr Gln Gly Ala 1185 1190 1195		
Arg Gln Lys Phe Ser Ser Leu Tyr Ile Ser Gln Phe Ile Ile Met Tyr 1200 1205 1210		
Ser Leu Asp Gly Lys Lys Trp Gln Thr Tyr Arg Gly Asn Ser Thr Gly 1215 1220 1225		
Thr Leu Met Val Phe Phe Gly Asn Val Asp Ser Ser Gly Ile Lys His 230 1235 1240 1245		
Asn Ile Phe Asn Pro Pro Ile Ile Ala Arg Tyr Ile Arg Leu His Pro 1250 1255 1260		
Thr His Tyr Ser Ile Arg Ser Thr Leu Arg Met Glu Leu Met Gly Cys 1265 1270 1275		
Asp Leu Asn Ser Cys Ser Met Pro Leu Gly Met Glu Ser Lys Ala Ile 1280 1285 1290		
Ser Asp Ala Gln Ile Thr Ala Ser Ser Tyr Phe Thr Asn Met Phe Ala 1295 1300 1305		
Thr Trp Ser Pro Ser Lys Ala Arg Leu His Leu Gln Gly Arg Ser Asn 310 1315 1320 1325		
Ala Trp Arg Pro Gln Glu Asn Asn Pro Lys Glu Trp Leu Gln Val Asp		



1330 1335 1340

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

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

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

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

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

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

Asp Leu Tyr  
1440

<210> 5  
<211> 461  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 5

Met Gln Arg Val Asn Met Ile Met Ala Glu Ser Pro Gly Leu Ile Thr  
1 5 10 15

Ile Cys Leu Leu Gly Tyr Leu Leu Ser Ala Glu Cys Thr Val Phe Leu  
20 25 30

Asp His Glu Asn Ala Asn Lys Ile Leu Asn Arg Pro Lys Arg Tyr Asn  
35 40 45

Ser Gly Lys Leu Glu Glu Phe Val Gln Gly Asn Leu Glu Arg Glu Cys  
50 55 60

Met Glu Glu Lys Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Val Phe Glu Asn  
65 70 75 80

Thr Glu Arg Thr Thr Glu Phe Trp Lys Gln Tyr Val Asp Gly Asp Gln  
85 90 95

Cys Glu Ser Asn Pro Cys Leu Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Asp Ile  
100 105 110

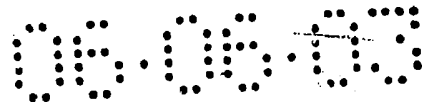
Asn Ser Tyr Glu Cys Trp Cys Pro Phe Gly Phe Glu Gly Lys Asn Cys  
115 120 125

Glu Leu Asp Val Thr Cys Asn Ile Lys Asn Gly Arg Cys Glu Gln Phe  
130 135 140

Cys Lys Asn Ser Ala Asp Asn Lys Val Val Cys Ser Cys Thr Glu Gly  
145 150 155 160

Tyr Arg Leu Ala Glu Asn Gln Lys Ser Cys Glu Pro Ala Val Pro Phe  
165 170 175

Pro Cys Gly Arg Val Ser Val Ser Gln Thr Ser Lys Leu Thr Arg Ala  
180 185 190



Glu Ala Val Phe Pro Asp Val Asp Tyr Val Asn Ser Thr Glu Ala Glu  
195 200 205

Thr Ile Leu Asp Asn Ile Thr Gln Ser Thr Gln Ser Phe Asn Asp Phe  
210 215 220

Thr Arg Val Val Gly Gly Glu Asp Ala Lys Pro Gly Gln Phe Pro Trp  
225 230 235 240

Gln Val Val Leu Asn Gly Lys Val Asp Ala Phe Cys Gly Gly Ser Ile  
245 250 255

Val Asn Glu Lys Trp Ile Val Thr Ala Ala His Cys Val Glu Thr Gly  
260 265 270

Val Lys Ile Thr Val Val Ala Gly Glu His Asn Ile Glu Glu Thr Glu  
275 280 285

His Thr Glu Gln Lys Arg Asn Val Ile Arg Ile Ile Pro His His Asn  
290 295 300

Tyr Asn Ala Ala Ile Asn Lys Tyr Asn His Asp Ile Ala Leu Leu Glu  
305 310 315 320

Leu Asp Glu Pro Leu Val Leu Asn Ser Tyr Val Thr Pro Ile Cys Ile  
325 330 335

Ala Asp Lys Glu Tyr Thr Asn Ile Phe Leu Lys Phe Gly Ser Gly Tyr  
340 345 350

Val Ser Gly Trp Gly Arg Val Phe His Lys Gly Arg Ser Ala Leu Val  
355 360 365

Leu Gln Tyr Leu Arg Val Pro Leu Val Asp Arg Ala Thr Cys Leu Arg  
370 375 380

Ser Thr Lys Phe Thr Ile Tyr Asn Asn Met Phe Cys Ala Gly Phe His  
385 390 395 400

Glu Gly Gly Arg Asp Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Val  
405 410 415

Thr Glu Val Glu Gly Thr Ser Phe Leu Thr Gly Ile Ile Ser Trp Gly  
420 425 430

Glu Glu Cys Ala Met Lys Gly Lys Tyr Gly Ile Tyr Thr Lys Val Ser  
435 440 445

Arg Tyr Val Asn Trp Ile Lys Glu Lys Thr Lys Leu Thr  
450 455 460

<210> 6

<211> 5753

<212> DNA

<213> Umelá sekvencia

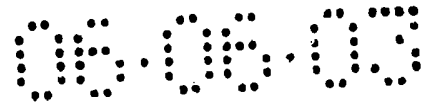
<220>

<223> Opis umelej sekvencie: pTGFG3 6

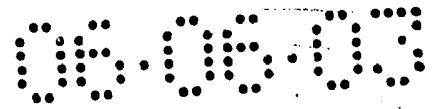
<400> 6

cgcggttgaca ttgattattg actagttatt aatagtaatc aattacgggg tcattagttc 60  
atagcccata tatggagttc cgcgttacat aacttacggt aaatggcccg cctggctgac 120  
cgcccaacga cccccgccca ttgacgtcaa taatgacgta tgttcccata gtaacgcaa 180  
tagggacttt ccattgacgt caatgggtgg agtatttacg gtaaactgcc cacttggcag 240





tacatcaagt	gtatcatatg	ccaagtaacg	cccctattga	cgatcaatgac	ggtaaattggc	300
ccgcctggca	ttatgccag	tacatgacct	tatgggactt	tcctacttgg	cagtacatct	360
acgtattagt	catcgctatt	accatgggtga	tgcggttttg	gcagtacatc	aatgggcgtg	420
gatagcgggt	tgactcacgg	ggatttccaa	gtctccacc	cattgacgtc	aatgggagtt	480
tgttttggca	ccaaaatcaa	cgggactttc	caaaatgtcg	taacaactcc	gccccattga	540
cgaaaatggg	cggtaggcgt	gtacgggtggg	aggtctatat	aagcagagct	ctctggctaa	600
ctagagaacc	cactgcttac	tggttatatg	aaattaatac	gactcactat	agggagaccc	660
aagcttgcat	gccaattccg	caaaggttat	gcagcgcgtg	aacatgatca	tggcagaatc	720
accaggcctc	atcaccatct	gccttttagg	atatctactc	agtgcgtaat	gtacagtttt	780
tcttgatcat	gaaaacgcca	acaaaattct	gaatcggcca	aagaggata	attcaggtaa	840
attggaagag	tttgttcaag	ggaaccttga	gagagaatgt	atggaagaaa	agtgtagttt	900
tgaagaagca	cgagaagttt	ttgaaaacac	tgaaagaaca	actgaatttt	ggaagcagta	960
tgttgatgga	gatcagtggt	agtccaatcc	atgtttaa	ggcggcagtt	gcaaggatga	1020
cattaattcc	tatgaatggt	ggtgtccctt	tggatttgaa	ggaaagaact	gtgaattaga	1080
tgtaacatgt	aacattaaga	atggcagatg	cgagcagttt	tgtaaaaaata	gtgctgataa	1140
caaggtgggt	tgctcctgta	ctgagggata	tcgacttgca	gaaaaccaga	agtcctgtga	1200
accagcagtg	ccatttccat	gtggaagagt	ttctgtttca	caaacttcta	agctcaccog	1260
tgctgagact	gtttttcctg	atgtggacta	tgtaaatctt	actgaagctg	aaaccatttt	1320
ggataacatc	actcaaagca	cccaatcatt	taatgacttc	actcgggttg	ttgggtggaga	1380
agatgccaaa	ccaggtcaat	tcccttggca	ggttgttttg	aatggtaaag	ttgatgcatt	1440
ctgtggaggc	tctatcgтта	atgaaaaatg	gattgtaact	gctgccact	gtgttgaaac	1500
tggtgttaaa	attacagttg	tcgcaggtga	acataatatt	gaggagacag	aacatacaga	1560
gcaaaagcga	aatgtgattc	gaattattcc	tcaccacaac	tacaatgcag	ctattaataa	1620
gtacaacccat	gacattgccc	ttctggaact	ggacgaacct	ttagtgttaa	acagatcagt	1680
tacacctatt	tgcaattgctg	acaaggaata	cacgaacatc	ttcctcaaat	ttggatctgg	1740
ctatgtaagt	ggctggggaa	gagtcttcca	caaagggaga	tcagctttag	ttcttcagta	1800
ccttagagtt	ccacttgttg	accgagccac	atgtcttcca	tctacaaagt	tcaccatcta	1860
taacaacatg	ttctgtgctg	gcttccatga	aggaggtaga	gattcatgtc	aaggagatag	1920
tgggggaccc	catgttactg	aagtgggaagg	gaccagtttc	ttactggaa	ttattagctg	1980
gggtgaagag	tgtgcaatga	aaggcaataa	tggaaatata	accaaggtat	cccggtatgt	2040
caactggatt	aaggaaaaaa	caaagctcac	ttaatgggat	cggtcgagcg	gccgcgactc	2100
tactagagga	tctttgtgaa	ggaaccttac	ttctgtggtg	tgacataatt	ggacaaacta	2160
cctacagaga	tttaaagctc	taaggtaaat	ataaaatttt	taagtgtata	atgtgttaaa	2220
ctactgattc	taattgtttg	tgtatttttag	attccaacct	atggaactga	tgaatgggag	2280
cagtgggtgga	atgcctttaa	tgaggaaaaac	ctgttttgct	cagaagaaat	gccatctagt	2340
gatgatgagg	ctactgctga	ctctcaacat	tctactcctc	caaaaaagaa	gagaaaggta	2400
gaagacccca	aggactttcc	ttcagaattg	ctaagttttt	tgagtcatgc	tgtgtttagt	2460
aatagaactc	ttgcttgctt	tgctatttac	accacaaagg	aaaaagctgc	actgctatac	2520
aagaaaatta	tggaaaaata	ttctgtaacc	tttataagta	ggcataacag	ttataatcat	2580
aacatactgt	tttttcttac	tccacacagg	catagagtgt	ctgctattaa	taactatgct	2640
caaaaattgt	gtacctttag	ctttttaatt	tgtaaagggg	ttaataagga	atattttagt	2700
tatagtgcct	tgactagaga	tcataatcag	ccataccaca	ttttagagag	tttacttgc	2760
tttaaaaaac	ctcccacacc	tccccctgaa	cctgaaacat	aaaatgaatg	caattgttgt	2820
tgtaacttg	tttattgcag	cttataatgg	ttacaaataa	agcaatagca	tcacaaattt	2880
cacaaataaa	gcattttttt	cactgcattc	tagttgtggt	ttgtccaaac	tcacaaatgt	2940
atcttatcat	gtctggatcc	ccgggtaccc	tctagagcga	attaattcac	tggccgtcgt	3000
ttacaacgt	cgtgactggg	aaaaccctgg	cgttacccaa	cttaatcgcc	ttgcagaca	3060
tcccccttc	gccagctggc	gtaatagcga	agaggcccgc	accgatcgcc	cttcccaaca	3120
ggtgcgcagc	ctgaatggcg	aatggcgctt	gatggcgtat	tttctcctta	cgcactctgtg	3180
cgttatttca	caccgcatac	ggtgcactct	cagtacaatc	tgctctgatg	cgcctatagt	3240
aagccagccc	cgacacccgc	caacaccgc	tgacgcgcc	tgacgggctt	gtctgctccc	3300
ggcatccgct	tacagacaag	ctgtgaccgt	ctccgggagc	tgcatgtgtc	agaggttttc	3360
accgtcatca	ccgaaacgcg	cgagacgaaa	gggggggtac	cagcttcgta	gctagaacat	3420
catgttctgg	gatatcagct	tcgtagctag	aacatcatgt	tctggtaccc	ccctcgtgat	3480
acgcctattt	ttataggtta	atgtcatgat	aataatggtt	tcttagacgt	caggtggcac	3540
tttccgggga	aatgtgcgcg	gaaccctat	ttgtttattt	ttctaaatac	attcaaatat	3600
gtatccgctc	atgagacaat	aaccctgata	aatgtctcaa	taatattgaa	aaaggaagag	3660
tatgagtatt	caacattttc	gtgtcgcctt	tattcccttt	tttgccgcat	tttgcccttc	3720
tgtttttgct	caccagaaa	cgctggtgaa	agtaaaagat	gctgaagatc	agttgggtgc	3780
acgagtgggt	tacatcgaac	tggatctcaa	cagcggtaag	atccttgaga	gttttcgccc	3840
cgaagaacgt	tttccaatga	tgagcacttt	taaagttctg	ctatgtggcg	cggattatc	3900
ccgtattgac	gccgggcaag	agcaactcgg	tcgccgata	cactattctc	agaatgactt	3960
ggttgagtac	tcaccagtca	cagaaaagca	tcttacggat	ggcatgacag	taagagaatt	4020
atgcagtgct	gccataacca	tgagtataa	cactgcggcc	aacttacttc	tgacaacgat	4080
cggaggaccg	aaggagctaa	ccgctttttt	gcacaacatg	gggatcatg	taactcgcct	4140
tgatcgttgg	gaaccggagc	tgaatgaagc	cataccaaac	gacgagcgtg	acaccacgat	4200



gcctgtagca atggcaacaa cgttgcgcaa actattaact ggcgaaactac ttactctage 4260  
ttcccggcaa caattaatag actggatgga ggcggataaa gttgcaggac cacttctgcy 4320  
ctcggccctt ccggctggct ggtttattgc tgataaatct ggagccggty agcgtgggtc 4380  
tcgcygtatc attgcagcac tggggccaga tggtaaagccc tcccgtatcy tagttatcta 4440  
cacgacgggg agtcaggcaa ctatggatga acgaaataga cagatcgcgy agataggtgc 4500  
ctcactgatt aagcattggt aactgtcaga ccaagtttac tcatatatac tttagattga 4560  
tttaaaactt catttttaat ttaaaaggat ctaggtgaag atcctttttg ataactcat 4620  
gaccaaaatc ccttaacgyt agttttcgtt ccactgagcy tcagaccccg tagaaaagat 4680  
caaaggatct tcttgagatc ctttttttct gcgcgtaatc tgctgcttgc aaacaaaaaa 4740  
accaccgcta ccagcgytgy tttgtttgcg gyatcaagag ctaccaactc tttttccgaa 4800  
ggtaactgcy ttcagcagag cgcagatacc aaatactgtt cttctagtyt agccgytagtt 4860  
aggtaccacc ttcaagaact ctgtagcacc gcctacatac ctcgctctgc taatcctggt 4920  
accagtygct gctgccagty gcgataagty gtgtcttacc ggyttggact caagacgata 4980  
gttaccgyt aaggycgcagc ggtcgygcty aacgyggggyt tcgtycacac agcccagctt 5040  
ggagcgaacy acctacaccg aactgagata cctacagcyt gagctatgag aaagcgyccac 5100  
gcttcccga gggagaaagy cggacaggyt tccgytaagy ggcaggytgy gaacaggyaga 5160  
gcgcacgagy gagcttccag ggggaaacyc ctgytatctt tatagtccty tcgyggttcty 5220  
ccacctctga cttgagcgyt gatttttgyt atgctcgytca gggggcggya gcctatggya 5280  
aaagcgycgc aacyggycct ttttacgytt cctggycttt tgctggyctt ttgctcacat 5340  
gttctttcct gcggtatccc ctgattctgt gyataaccgt attaccgyct ttgagtygagc 5400  
tgataccgyt cgyccgagcc gaacyagcgy gcgcagcgyt tcagtygagcy aggyagcgya 5460  
agagcgycca atacgaaacy cgcctctccc gcgcgytgy cgyattcatt aatgcagcty 5520  
gcagcagagy tttcccgyt ggyaaacyggy cagtygagcy aacycaatta atgtgagtya 5580  
gctcactcat taggcacccc agcctttaca ctttatgctt ccgyctcgyt tgyttgtyggy 5640  
aattgtygagc gyataaacyt ttcacacyt aacyagctat gacctgatt acgycaagct 5700  
ctctagagct ctgagctct agagctctag agagcttyga tgcctgcyg tcy 5753

<210> 7

<211> 8

<212> PRT

<213> Umeľá sekvencia

<220>

<223> Opis umelej sekvencie: B-doména linkerového peptidu

<400> 7

Ser Phe Ser Gln Asn Ser Arg His

1

5

<210> 8

<211> 8

<212> PRT

<213> Umeľá sekvencia

<220>

<223> Opis umelej sekvencie: B-doména linkerového peptidu

<400> 8

Gln Ala Tyr Arg Tyr Arg Arg Gly

1

5

<210> 9

<211> 16

<212> PRT

<213> Umeľá sekvencia

<220>

<223> Opis umelej sekvencie: B-doména linkerového peptidu

<400> 9



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

<210> 10  
<211> 78  
<212> DNA  
<213> Homo sapiens

<400> 10  
gggggtaccag cttcgtagct agaacatcat gttctgggat atcagcttcg tagctagaac 60  
atcatgttct ggtacccc 78

<210> 11  
<211> 78  
<212> DNA  
<213> Homo sapiens

<400> 11  
gggggtaccag aacatgatgt tctagctacg aagctgatat cccagaacat gatgttctag 60  
ctacgaagct ggtacccc 78

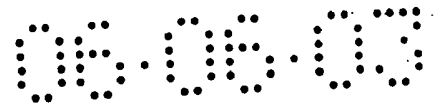
<210> 12  
<211> 10698  
<212> DNA  
<213> Umelá sekvencia

<220>  
<223> Opis umelej sekvencie: pTGF8-2hyg-S

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

<220>  
<221> mat\_peptid  
<222> (733)..(5052)

<400> 12  
cgcgttgaca ttgattattg actagttatt aatagtaatc aattacgggg tcattagttc 60  
atagcccata tatggagttc cgcgttacat aacttacggg aaatggcccg cctgggctgac 120  
cgcccaacga cccccgccca ttgacgtcaa taatgacgta tgttccata gtaacgccaa 180  
tagggacttt ccattgacgt caatgggtgg agtatttacg gtaaactgcc cacttggcag 240  
tacatcaagt gtatcatatg ccaagtacgc cccctattga cgtcaatgac ggtaaattggc 300  
cgcctggca ttatgccag tacatgacct tatgggactt tcctacttgg cagtacatct 360  
acgtattagt catcgtatt accatggtga tgcgggtttg gcagtacatc aatgggcgtg 420  
gatagcgggt tgactcacgg ggatttccaa gtctccacc cattgacgtc aatgggagtt 480  
tgttttggca ccaaatcaa cgggactttc caaatgtcg taacaactcc gccccattga 540  
cgcaaatggg cggtaggcgt gtacgggtgg aggtctatat aagcagagct ctctggctaa 600  
ctagagaacc cactgcttac tggcttatcg aaattaatac gactcactat agggagacct 660  
aagcttgacc tcgag atg caa ata gag ctc tcc acc tgc ttc ttt ctg tgc 711  
Met Gln Ile Glu Leu Ser Thr Cys Phe Phe Leu Cys



ctt ttg cga ttc tgc ttt agt gcc acc aga aga tac tac ctg ggt gca 759  
Leu Leu Arg Phe Cys Phe Ser Ala Thr Arg Arg Tyr Tyr Leu Gly Ala  
-5 -1 1 5

gtg gaa ctg tca tgg gac tat atg caa agt gat ctc ggt gag ctg cct 807  
Val Glu Leu Ser Trp Asp Tyr Met Gln Ser Asp Leu Gly Glu Leu Pro  
10 15 20 25

gtg gac gca aga ttt cct cct aga gtg cca aaa tct ttt cca ttc aac 855  
Val Asp Ala Arg Phe Pro Pro Arg Val Pro Lys Ser Phe Pro Phe Asn  
30 35 40

acc tca gtc gtg tac aaa aag act ctg ttt gta gaa ttc acg gat cac 903  
Thr Ser Val Val Tyr Lys Lys Thr Leu Phe Val Glu Phe Thr Asp His  
45 50 55

ctt ttc aac atc gct aag cca agg cca ccc tgg atg ggt ctg cta ggt 951  
Leu Phe Asn Ile Ala Lys Pro Arg Pro Pro Trp Met Gly Leu Leu Gly  
60 65 70

cct acc atc cag gct gag gtt tat gat aca gtg gtc att aca ctt aag 999  
Pro Thr Ile Gln Ala Glu Val Tyr Asp Thr Val Val Ile Thr Leu Lys  
75 80 85

aac atg gct tcc cat cct gtc agt ctt cat gct gtt ggt gta tcc tac 1047  
Asn Met Ala Ser His Pro Val Ser Leu His Ala Val Gly Val Ser Tyr  
90 95 100 105

tgg aaa gct tct gag gga gct gaa tat gat gat cag acc agt caa agg 1095  
Trp Lys Ala Ser Glu Gly Ala Glu Tyr Asp Asp Gln Thr Ser Gln Arg  
110 115 120

gag aaa gaa gat gat aaa gtc ttc cct ggt gga agc cat aca tat gtc 1143  
Glu Lys Glu Asp Asp Lys Val Phe Pro Gly Gly Ser His Thr Tyr Val  
125 130 135

tgg cag gtc ctg aaa gag aat ggt cca atg gcc tct gac cca ctg tgc 1191  
Trp Gln Val Leu Lys Glu Asn Gly Pro Met Ala Ser Asp Pro Leu Cys  
140 145 150

ctt acc tac tca tat ctt tct cat gtg gac ctg gta aaa gac ttg aat 1239  
Leu Thr Tyr Ser Tyr Leu Ser His Val Asp Leu Val Lys Asp Leu Asn  
155 160 165

tca ggc ctc att gga gcc cta cta gta tgt aga gaa ggg agt ctg gcc 1287  
Ser Gly Leu Ile Gly Ala Leu Leu Val Cys Arg Glu Gly Ser Leu Ala  
170 175 180 185

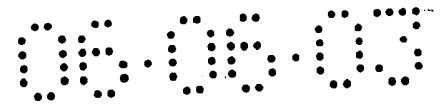
aag gaa aag aca cag acc ttg cac aaa ttt ata cta ctt ttt gct gta 1335  
Lys Glu Lys Thr Gln Thr Leu His Lys Phe Ile Leu Leu Phe Ala Val  
190 195 200

ttt gat gaa ggg aaa agt tgg cac tca gaa aca aag aac tcc ttg atg 1383  
Phe Asp Glu Gly Lys Ser Trp His Ser Glu Thr Lys Asn Ser Leu Met  
205 210 215

cag gat agg gat gct gca tct gct cgg gcc tgg cct aaa atg cac aca 1431  
Gln Asp Arg Asp Ala Ala Ser Ala Arg Ala Trp Pro Lys Met His Thr  
220 225 230

gtc aat ggt tat gta aac agg tct ctg cca ggt ctg att gga tgc cac 1479  
Val Asn Gly Tyr Val Asn Arg Ser Leu Pro Gly Leu Ile Gly Cys His  
235 240 245

agg aaa tca gtc tat tgg cat gtg att gga atg gcc acc act cct gaa 1527

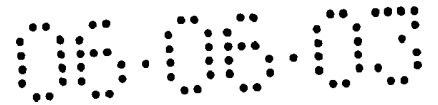


Arg	Lys	Ser	Val	Tyr	Trp	His	Val	Ile	Gly	Met	Gly	Thr	Thr	Pro	Glu	
250					255					260					265	
gtg	cac	tca	ata	ttc	ctc	gaa	ggt	cac	aca	ttt	ctt	gtg	agg	aac	cat	1575
Val	His	Ser	Ile	Phe	Leu	Glu	Gly	His	Thr	Phe	Leu	Val	Arg	Asn	His	
			270						275					280		
cgc	cag	gcg	tcc	ttg	gaa	atc	tcg	cca	ata	act	ttc	ctt	act	gct	caa	1623
Arg	Gln	Ala	Ser	Leu	Glu	Ile	Ser	Pro	Ile	Thr	Phe	Leu	Thr	Ala	Gln	
			285					290					295			
aca	ctc	ttg	atg	gac	ctt	gga	cag	ttt	cta	ctg	ttt	tgt	cat	atc	tct	1671
Thr	Leu	Leu	Met	Asp	Leu	Gly	Gln	Phe	Leu	Leu	Phe	Cys	His	Ile	Ser	
		300					305					310				
tcc	cac	caa	cat	gat	ggc	atg	gaa	gct	tat	gtc	aaa	gta	gac	agc	tgt	1719
Ser	His	Gln	His	Asp	Gly	Met	Glu	Ala	Tyr	Val	Lys	Val	Asp	Ser	Cys	
	315					320					325					
cca	gag	gaa	ccc	caa	cta	cga	atg	aaa	aat	aat	gaa	gaa	gcg	gaa	gac	1767
Pro	Glu	Glu	Pro	Gln	Leu	Arg	Met	Lys	Asn	Asn	Glu	Glu	Ala	Glu	Asp	
330					335					340					345	
tat	gat	gat	gat	ctt	act	gat	tct	gaa	atg	gat	gtg	gtc	agg	ttt	gat	1815
Tyr	Asp	Asp	Asp	Leu	Thr	Asp	Ser	Glu	Met	Asp	Val	Val	Arg	Phe	Asp	
				350					355					360		
gat	gac	aac	tct	cct	tcc	ttt	atc	caa	att	cgc	tca	gtt	gcc	aag	aag	1863
Asp	Asp	Asn	Ser	Pro	Ser	Phe	Ile	Gln	Ile	Arg	Ser	Val	Ala	Lys	Lys	
			365					370					375			
cat	cct	aaa	act	tgg	gta	cat	tac	att	gct	gct	gaa	gag	gag	gac	tgg	1911
His	Pro	Lys	Thr	Trp	Val	His	Tyr	Ile	Ala	Ala	Glu	Glu	Glu	Asp	Trp	
		380					385					390				
gac	tat	gct	ccc	tta	gtc	ctc	gcc	ccc	gat	gac	aga	agt	tat	aaa	agt	1959
Asp	Tyr	Ala	Pro	Leu	Val	Leu	Ala	Pro	Asp	Asp	Arg	Ser	Tyr	Lys	Ser	
	395					400					405					
caa	tat	ttg	aac	aat	ggc	cct	cag	cgg	att	ggt	agg	aag	tac	aaa	aaa	2007
Gln	Tyr	Leu	Asn	Asn	Gly	Pro	Gln	Arg	Ile	Gly	Arg	Lys	Tyr	Lys	Lys	
410					415					420					425	
gtc	cga	ttt	atg	gca	tac	aca	gat	gaa	acc	ttt	aag	act	cgt	gaa	gct	2055
Val	Arg	Phe	Met	Ala	Tyr	Thr	Asp	Glu	Thr	Phe	Lys	Thr	Arg	Glu	Ala	
				430					435					440		
att	cag	cat	gaa	tca	gga	atc	ttg	gga	cct	tta	ctt	tat	ggg	gaa	gtt	2103
Ile	Gln	His	Glu	Ser	Gly	Ile	Leu	Gly	Pro	Leu	Leu	Tyr	Gly	Glu	Val	
			445				450						455			
gga	gac	aca	ctg	ttg	att	ata	ttt	aag	aat	caa	gca	agc	aga	cca	tat	2151
Gly	Asp	Thr	Leu	Leu	Ile	Ile	Phe	Lys	Asn	Gln	Ala	Ser	Arg	Pro	Tyr	
		460				465						470				
aac	atc	tac	cct	cac	gga	atc	act	gat	gtc	cgt	cct	ttg	tat	tca	agg	2199
Asn	Ile	Tyr	Pro	His	Gly	Ile	Thr	Asp	Val	Arg	Pro	Leu	Tyr	Ser	Arg	
	475					480					485					
aga	tta	cca	aaa	ggt	gta	aaa	cat	ttg	aag	gat	ttt	cca	att	ctg	cca	2247
Arg	Leu	Pro	Lys	Gly	Val	Lys	His	Leu	Lys	Asp	Phe	Pro	Ile	Leu	Pro	
490					495					500					505	
gga	gaa	ata	ttc	aaa	tat	aaa	tgg	aca	gtg	act	gta	gaa	gat	ggg	cca	2295
Gly	Glu	Ile	Phe	Lys	Tyr	Lys	Trp	Thr	Val	Thr	Val	Glu	Asp	Gly	Pro	
			510						515					520		



act	aaa	tca	gat	cct	cgg	tgc	ctg	acc	cgc	tat	tac	tct	agt	ttc	gtt	2343
Thr	Lys	Ser	Asp	Pro	Arg	Cys	Leu	Thr	Arg	Tyr	Tyr	Ser	Ser	Phe	Val	
			525					530					535			
aat	atg	gag	aga	gat	cta	gct	tca	gga	ctc	att	ggc	cct	ctc	ctc	atc	2391
Asn	Met	Glu	Arg	Asp	Leu	Ala	Ser	Gly	Leu	Ile	Gly	Pro	Leu	Leu	Ile	
		540					545					550				
tgc	tac	aaa	gaa	tct	gta	gat	caa	aga	gga	aac	cag	ata	atg	tca	gac	2439
Cys	Tyr	Lys	Glu	Ser	Val	Asp	Gln	Arg	Gly	Asn	Gln	Ile	Met	Ser	Asp	
	555					560					565					
aag	agg	aat	gtc	atc	ctg	ttt	tct	gta	ttt	gat	gag	aac	cga	agc	tgg	2487
Lys	Arg	Asn	Val	Ile	Leu	Phe	Ser	Val	Phe	Asp	Glu	Asn	Arg	Ser	Trp	
570					575					580					585	
tac	ctc	aca	gag	aat	ata	caa	cgc	ttt	ctc	ccc	aat	cca	gct	gga	gtg	2535
Tyr	Leu	Thr	Glu	Asn	Ile	Gln	Arg	Phe	Leu	Pro	Asn	Pro	Ala	Gly	Val	
				590					595					600		
cag	ctt	gag	gat	cca	gag	ttc	caa	gcc	tcc	aac	atc	atg	cac	agc	atc	2583
Gln	Leu	Glu	Asp	Pro	Glu	Phe	Gln	Ala	Ser	Asn	Ile	Met	His	Ser	Ile	
			605					610					615			
aat	ggc	tat	gtt	ttt	gat	agt	ttg	cag	ttg	tca	gtt	tgt	ttg	cat	gag	2631
Asn	Gly	Tyr	Val	Phe	Asp	Ser	Leu	Gln	Leu	Ser	Val	Cys	Leu	His	Glu	
		620					625					630				
gtg	gca	tac	tgg	tac	att	cta	agc	att	gga	gca	cag	act	gac	ttc	ctt	2679
Val	Ala	Tyr	Trp	Tyr	Ile	Leu	Ser	Ile	Gly	Ala	Gln	Thr	Asp	Phe	Leu	
	635					640					645					
tct	gtc	ttc	ttc	tct	gga	tat	acc	ttc	aaa	cac	aaa	atg	gtc	tat	gaa	2727
Ser	Val	Phe	Phe	Ser	Gly	Tyr	Thr	Phe	Lys	His	Lys	Met	Val	Tyr	Glu	
650					655					660					665	
gac	aca	ctc	acc	cta	ttc	cca	ttc	tca	gga	gaa	act	gtc	ttc	atg	tcg	2775
Asp	Thr	Leu	Thr	Leu	Phe	Pro	Phe	Ser	Gly	Glu	Thr	Val	Phe	Met	Ser	
				670					675					680		
atg	gaa	aac	cca	ggt	cta	tgg	att	ctg	ggg	tgc	cac	aac	tca	gac	ttt	2823
Met	Glu	Asn	Pro	Gly	Leu	Trp	Ile	Leu	Gly	Cys	His	Asn	Ser	Asp	Phe	
			685					690					695			
cgg	aac	aga	ggc	atg	acc	gcc	tta	ctg	aag	gtt	tct	agt	tgt	gac	aag	2871
Arg	Asn	Arg	Gly	Met	Thr	Ala	Leu	Leu	Lys	Val	Ser	Ser	Cys	Asp	Lys	
		700				705						710				
aac	act	ggt	gat	tat	tac	gag	gac	agt	tat	gaa	gat	att	tca	gca	tac	2919
Asn	Thr	Gly	Asp	Tyr	Tyr	Glu	Asp	Ser	Tyr	Glu	Asp	Ile	Ser	Ala	Tyr	
		715				720					725					
ttg	ctg	agt	aaa	aac	aat	gcc	att	gaa	cca	aga	agc	ttc	tcc	cag	aat	2967
Leu	Leu	Ser	Lys	Asn	Asn	Ala	Ile	Glu	Pro	Arg	Ser	Phe	Ser	Gln	Asn	
730					735					740					745	
tca	aga	cat	caa	gct	tat	cga	tac	cgt	cga	ggg	gaa	ata	act	cgt	act	3015
Ser	Arg	His	Gln	Ala	Tyr	Arg	Tyr	Arg	Arg	Gly	Glu	Ile	Thr	Arg	Thr	
				750					755					760		
act	ctt	cag	tca	gat	caa	gag	gaa	att	gac	tat	gat	gat	acc	ata	tca	3063
Thr	Leu	Gln	Ser	Asp	Gln	Glu	Glu	Ile	Asp	Tyr	Asp	Asp	Thr	Ile	Ser	
			765					770					775			
gtt	gaa	atg	aag	aag	gaa	gat	ttt	gac	att	tat	gat	gag	gat	gaa	aat	3111





tgg tat ctg ctc agc atg ggc agc aat gaa aac atc cat tct att cat 3927  
Trp Tyr Leu Leu Ser Met Gly Ser Asn Glu Asn Ile His Ser Ile His  
1050 1055 1060 1065

ttc agt gga cat gtg ttc act gta cga aaa aaa gag gag tat aaa atg 3975  
Phe Ser Gly His Val Phe Thr Val Arg Lys Lys Glu Glu Tyr Lys Met  
1070 1075 1080

gca ctg tac aat ctc tat cca ggt gtt ttt gag aca gtg gaa atg tta 4023  
Ala Leu Tyr Asn Leu Tyr Pro Gly Val Phe Glu Thr Val Glu Met Leu  
1085 1090 1095

cca tcc aaa gct gga att tgg cgg gtg gaa tgc ctt att ggc gag cat 4071  
Pro Ser Lys Ala Gly Ile Trp Arg Val Glu Cys Leu Ile Gly Glu His  
1100 1105 1110

cta cat gct ggg atg agc aca ctt ttt ctg gtg tac agc aat aag tgt 4119  
Leu His Ala Gly Met Ser Thr Leu Phe Leu Val Tyr Ser Asn Lys Cys  
1115 1120 1125

cag act ccc ctg gga atg gct tct gga cac att aga gat ttt cag att 4167  
Gln Thr Pro Leu Gly Met Ala Ser Gly His Ile Arg Asp Phe Gln Ile  
1130 1135 1140 1145

aca gct tca gga caa tat gga cag tgg gcc cca aag ctg gcc aga ctt 4215  
Thr Ala Ser Gly Gln Tyr Gly Gln Trp Ala Pro Lys Leu Ala Arg Leu  
1150 1155 1160

cat tat tcc gga tca atc aat gcc tgg agc acc aag gag ccc ttt tct 4263  
His Tyr Ser Gly Ser Ile Asn Ala Trp Ser Thr Lys Glu Pro Phe Ser  
1165 1170 1175

tgg atc aag gtg gat ctg ttg gca cca atg att att cac ggc atc aag 4311  
Trp Ile Lys Val Asp Leu Leu Ala Pro Met Ile Ile His Gly Ile Lys  
1180 1185 1190

acc cag ggt gcc cgt cag aag ttc tcc agc ctc tac atc tct cag ttt 4359  
Thr Gln Gly Ala Arg Gln Lys Phe Ser Ser Leu Tyr Ile Ser Gln Phe  
1195 1200 1205

atc atc atg tat agt ctt gat ggg aag aag tgg cag act tat cga gga 4407  
Ile Ile Met Tyr Ser Leu Asp Gly Lys Lys Trp Gln Thr Tyr Arg Gly  
1210 1215 1220 1225

aat tcc act gga acc tta atg gtc ttc ttt ggc aat gtg gat tca tct 4455  
Asn Ser Thr Gly Thr Leu Met Val Phe Phe Gly Asn Val Asp Ser Ser  
1230 1235 1240

ggg ata aaa cac aat att ttt aac cct cca att att gct cga tac atc 4503  
Gly Ile Lys His Asn Ile Phe Asn Pro Pro Ile Ile Ala Arg Tyr Ile  
1245 1250 1255

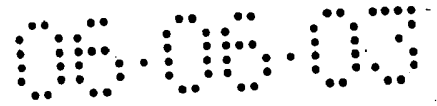
cgt ttg cac cca act cat tat agc att cgc agc act ctt cgc atg gag 4551  
Arg Leu His Pro Thr His Tyr Ser Ile Arg Ser Thr Leu Arg Met Glu  
1260 1265 1270

ttg atg ggc tgt gat tta aat agt tgc agc atg cca ttg gga atg gag 4599  
Leu Met Gly Cys Asp Leu Asn Ser Cys Ser Met Pro Leu Gly Met Glu  
1275 1280 1285

agt aaa gca ata tca gat gca cag att act gct tca tcc tac ttt acc 4647  
Ser Lys Ala Ile Ser Asp Ala Gln Ile Thr Ala Ser Ser Tyr Phe Thr  
1290 1295 1300 1305

aat atg ttt gcc acc tgg tct cct tca aaa gct cga ctt cac ctc caa 4695





Asn Met Phe Ala Thr Trp Ser Pro Ser Lys Ala Arg Leu His Leu Gln  
                          1310                          1315                          1320

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

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

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

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

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

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

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

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

tggaaggaa ccttacttct gtggtgtgac ataattggac aaactaccta cagagattta 5142

aagctctaag gtaaataaa aatttttaag tgtataatgt gttaaactac tgattctaata 5202

tgtttggtgta ttttagattc caacctatgg aactgatgaa tgggagcagt ggtggaatgc 5262

ctttaatgag gaaaacctgt tttgctcaga agaaatgcca tctagtgatg atgaggctac 5322

tgctgactct caacattcta ctctccaaa aaagaagaga aaggtagaag accccaagga 5382

ctttccttca gaattgctaà gttttttgag tcatgctgtg tttagtaata gaactcttgc 5442

ttgctttgct atttacacca caaaggaaaa agctgcactg ctatacaaga aaattatgga 5502

aaaatattct gtaaccttta taagtaggca taacagttat aatcataaca tactgttttt 5562

tcttactoca cacaggcata gagtgtctgc tattaataac tatgctcaa aattgtgtac 5622

ctttagcttt ttaatttgta aaggggttaa taaggaatat ttgatgtata gtgccttgac 5682

tagagatcat aatcagccat accacatttg tagaggtttt acttgcttta aaaaacctcc 5742

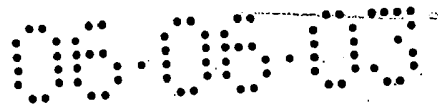
cacacctccc cctgaacctg aaacataaaa tgaatgcaat tgttggtggt aacttgttta 5802

ttgcagctta taatggttac aaataaagca atagcatcac aaatttcaca aataaagcat 5862

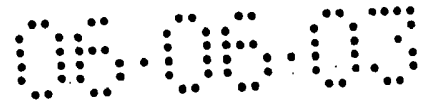
ttttttcact gcattctagt tgtggtttgt ccaaactcat caatgtatct tatcatgtct 5922

ggatcccccg aacgccagca agacgtagcc cagcgcgtcg gccccgagat gcgcccgcgtg 5982

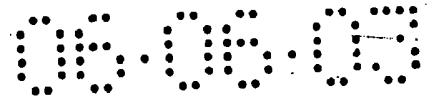
cggctgctgg agatggcggga cgcgatggat atgttctgcc aagggttggt ttgcgcattc 6042



acagttctcc gcaagaattg attggctcca attcttgag tggatcc gttagcgagg 6102  
tgccgccctg cttcatcccc gtggcccgtt gctcgcgttt gctggcggtg tccccggaag 6162  
aaatatattt gcatgtcttt agttctatga tgacacaaac cccgccccage gtcttgtcat 6222  
tggcgaatte gaacacgcag atgcagtcgg ggcgccgcgg tccgaggtcc acttcgcata 6282  
ttaaggtgac gcgtgtggcc tcgaacaccg agcgaccctg cagcgacccg cttaacagcg 6342  
tcaacagcgt gccgcagatc agcttgatat gaaaaagcct gaactcaccg cgacgtctgt 6402  
cgagaagttt ctgatcgaag agttcgacag cgtctccgac ctgatgcagc tctcggaggg 6462  
cgaagaatct cgtgctttca gcttcgatgt aggagggcgt ggatatgtcc tgccggtaaa 6522  
tagctgcgcc gatggtttct acaaagatcg ttatgtttat cggcactttg catcggccgc 6582  
gctcccgatt ccggaagtgc ttgacattgg ggaattcagc gagagcctga cctattgcat 6642  
ctcccgcctg gcacaggggtg tcacgttgca agacctgcct gaaaccgaac tgcccgtgt 6702  
tctgcagccg gtcgcccagg ccatggatgc gatcgtcgcg gccgatctta gccagacgag 6762  
cgggttcggc ccattcggac cgcaaggaat cggtaatac actacatggc gtgatttcat 6822  
atgcgcgatt gctgatcccc atgtgtatca ctggcaaact gtgatggacg acaccgtcag 6882  
tgcgtccgtc gcgcaggctc tcgatgagct gatgctttgg gccgaggact gccccgaagt 6942  
ccggcacctc gtgcacgcgg atttcggctc caacaatgct ctgacggaca atggccgcat 7002  
aacagcggtc attgactgga gcgaggggat gttcggggat tccaatacag aggtcgcaa 7062  
catcttcttc tggaggccgt ggttggttgg tatggagcag cagacgcgct acttcgagcg 7122  
gaggcatccg gagcttgcag gatcgcgcgg gctccggggc tatatgctcc gcattggtct 7182  
tgaccaactc tatcagagct tggttgacgg caatttcgat gatgcagctt gggcgcaggg 7242  
tcgatgcgac gcaatcgtcc gatccggagc cgggactgct gggcgtacac aaatcggccg 7302  
cagaagcgcg gccgtctgga ccgatggctg tgtagaagta ctcgccgata gtggaaaccg 7362  
acgccccagc actcgtccgg atcgggagat gggggaggct aactgaaaca cggaaggaga 7422  
caataccgga aggaaccgac gctatgacgg caataaaaag acagaataaa acgcacgggt 7482  
gttgggtcgt ttgttcataa acgcgggggt cggctcccagg gctggcactc tgtcgatacc 7542  
ccaccgagac ccattgggg ccaatacgc cgcgtttctt ccttttcccc accccacccc 7602  
ccaagttcgg gtgaaggccc agggctcgc gccaacgtcg gggcggcagg ccctgccata 7662  
gccactggcc ccgtgggta gggacgggggt ccccatggg gaatggttta tggttcgtgg 7722  
gggttattat tttggcggtt gcgtggggtc aggtccacga ctggactgag cagacagacc 7782  
catggttttt ggatggcctg ggcattggacc gcatgtactg gcgcgacacg aacaccgggc 7842  
gtctgtggct gccaaacacc cccgaccccc aaaaaccacc gcgcggattt ctggcgtgcc 7902  
aagctgggta ccctctagag cgaattaatt cactggccgt cgttttacia cgtcgtgact 7962  
gggaaaacc tggcgttacc caacttaac gccttgcagc acatccccct ttcgccagct 8022



ggcataatag cgaagaggcc cgcaccgatc gcccttccca acagttgccc agcctgaatg 8082  
gccaatggcg cctgatgccc tattttctcc ttacgcattc gtgcggattt tcacaccgca 8142  
tatgggtgac tctcagtaca atctgctctg atgccgcata gttaagccag ccccgacacc 8202  
cgccaacacc cgctgacgcg ccctgacggg cttgtctgct cccggcatcc gcttacagac 8262  
aagctgtgac cgtctccggg agctgcatgt gtcagaggtt ttcaccgtca tcaccgaaac 8322  
gcccggagacg aaaggggggg taccagcttc gtagctagaa catcatgttc tgggatatca 8382  
gcttcgtagc tagaacatca tgttctggta cccccctcgt gatagccta tttttatagg 8442  
ttaatgtcat gataataatg gtttcttaga cgtcagggtg cacttttcgg ggaaatgtgc 8502  
gcccgaacccc tatttgttta tttttctaaa tacattcaa tatgtatccg ctcattgagac 8562  
aataaccctg ataatgctt caataatatt gaaaaaggaa gagtatgagt attcaacatt 8622  
tccgtgtcgc ccttattccc tttttgccc cattttgcct tccgtttttt gctcaccag 8682  
aaacgctggt gaaagtaaaa gatgctgaag atcagttggg tgcacgagtg ggttacatcg 8742  
aactggatct caacagcggg aagatccttg agagtttccg ccccgaagaa cgttttccaa 8802  
tgatgagcac ttttaaagtt ctgctatgtg gcccggattt atcccgtatt gacgcccggc 8862  
aagagcaact cggtcgccc atacactatt ctcagaatga cttggttgag tactcaccag 8922  
tcacagaaaa gcatcttacg gatggcatga cagtaagaga attatgcagt gctgccataa 8982  
ccatgagtg taacactgcg gccaaacttac ttctgacaac gatcggagga ccgaaggagc 9042  
taaccgcttt tttgcacaac atgggggatc atgtaactcg ccttgatcgt tgggaaccgg 9102  
agctgaatga agccatacca aacgacgagc gtgacaccac gatgcctgta gcaatggcaa 9162  
caacgttgcg caaactatta actggcgaac tacttactct agcttcccgg caacaattaa 9222  
tagactggat ggaggcggat aaagttgcag gaccatttct gcgctcggcc cttccggctg 9282  
gctggtttat tgctgataaa tctggagccg gtgagcgtgg gtctcgcggg atcattgcag 9342  
cactggggcc agatggtaag ccctcccgtc tcgtagttat ctacacgagc gggagtcagg 9402  
caactatgga tgaacgaaat agacagatcg ctgagatagg tgcctcactg attaagcatt 9462  
ggtaactgtc agaccaagtt tactcatata tacttttagat tgatttaaaa cttcattttt 9522  
aatttaaaag gatctagggt aagatccttt ttgataatct catgacaaa atccctaac 9582  
gtgagttttc gttccactga gcgtcagacc ccgtagaaaa gatcaaagga tcttcttgag 9642  
atcctttttt tctgcccgtc atctgctgct tgcaacaaa aaaaccaccg ctaccagcgg 9702  
tggtttgttt gccggatcaa gagctaccaa ctcttttcc gaaggtaact ggcttcagca 9762  
gagcgcagat accaaatact gttcttctag tctagccgta gttaggccac cacttcaaga 9822  
actctgtagc accgcctaca tacctcgtct tgctaatect gttaccagtg gctgctgcca 9882  
gtggcgataa gtcgtgtctt accgggttgg actcaagacg atagttaccg gataaggcgc 9942  
agcgtcggg ctgaacggg gggtcgtgca cacagcccag cttggagcga acgacctaca 10002



ccgaactgag atacctacag cgtgagctat gagaaagcgc cacgcttccc gaagggagaa 10062  
aggcggacag gtatccgta agcggcaggg tcggaacagg agagcgcacg agggagcttc 10122  
cagggggaaa cgcctggtat ctttatagtc ctgtcggggtt tcgccacctc tgacttgagc 10182  
gtcgattttt gtgatgctcg tcaggggggc ggagcctatg gaaaaacgcc agcaacgcgg 10242  
cctttttacg gttcctggcc ttttgctggc cttttgctca catgttcttt cctgcgttat 10302  
cccctgattc tgtggataac cgtattaccg cctttgagtg agctgatacc gctcgcgcga 10362  
gccgaacgac cgagcgcagc gagtcagtga gcgaggaagc ggaagagcgc ccaatacgca 10422  
aaccgcctct ccccgcgctg tggccgattc attaatgcag ctggcacgac aggtttcccg 10482  
actggaaagc gggcagtgag cgcaacgcaa ttaatgtgag ttagctcact cattaggcac 10542  
cccaggcttt acactttatg cttccggctc gtatgttggtg tggaattgtg agcggataac 10602  
aatttcacac aggaaacagc tatgaccatg attacgcaa gctctctaga gctctagagc 10662  
tctagagctc tagagagctt gcatgcctgc aggtcg 10698

<210> 13

<211> 1459

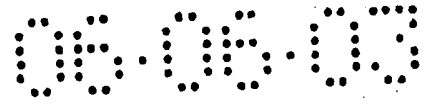
<212> PRT

<213> Umelá sekvencia

<223> Opis umelej sekvencie: pTGF8-2hyg-S

<400> 13

Met Gln Ile Glu Leu Ser Thr Cys Phe Phe Leu Cys Leu Leu Arg Phe  
-15 -10 -5  
Cys Phe Ser Ala Thr Arg Arg Tyr Tyr Leu Gly Ala Val Glu Leu Ser  
-1 1 5 10  
Trp Asp Tyr Met Gln Ser Asp Leu Gly Glu Leu Pro Val Asp Ala Arg  
15 20 25  
Phe Pro Pro Arg Val Pro Lys Ser Phe Pro Phe Asn Thr Ser Val Val  
30 35 40 45  
Tyr Lys Lys Thr Leu Phe Val Glu Phe Thr Asp His Leu Phe Asn Ile  
50 55 60  
Ala Lys Pro Arg Pro Pro Trp Met Gly Leu Leu Gly Pro Thr Ile Gln  
65 70 75  
Ala Glu Val Tyr Asp Thr Val Val Ile Thr Leu Lys Asn Met Ala Ser  
80 85 90  
His Pro Val Ser Leu His Ala Val Gly Val Ser Tyr Trp Lys Ala Ser  
95 100 105  
Glu Gly Ala Glu Tyr Asp Asp Gln Thr Ser Gln Arg Glu Lys Glu Asp  
110 115 120 125  
Asp Lys Val Phe Pro Gly Gly Ser His Thr Tyr Val Trp Gln Val Leu  
130 135 140  
Lys Glu Asn Gly Pro Met Ala Ser Asp Pro Leu Cys Leu Thr Tyr Ser  
145 150 155



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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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



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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

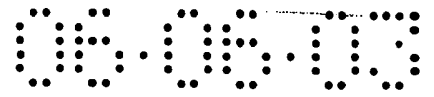
Lys Glu Asp Phe Asp Ile Tyr Asp Glu Asp Glu Asn Gln Ser Pro Arg  
785 790 795

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

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

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

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



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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

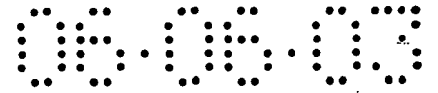
Gly Met Ala Ser Gly His Ile Arg Asp Phe Gln Ile Thr Ala Ser Gly  
1135 1140 1145

Gln Tyr Gly Gln Trp Ala Pro Lys Leu Ala Arg Leu His Tyr Ser Gly  
150 1155 1160 1165

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

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

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



WO 01/70968

PCT/EP01/03220

46

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

Thr Leu Met Val Phe Phe Gly Asn Val Asp Ser Ser Gly Ile Lys His  
230 1235 1240 1245

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

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

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

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

Thr Trp Ser Pro Ser Lys Ala Arg Leu His Leu Gln Gly Arg Ser Asn  
310 1315 1320 1325

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

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

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

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

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

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

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

Asp Leu Tyr  
1440

<210> 14

<211> 10698

<212> DNA

<213> Umelá sekvencia

<220>

<223> Opis umelej sekvencie: pTGF8-2hyg-3

<220>

<221> CDS

<222> (676)..(5052)

<220>

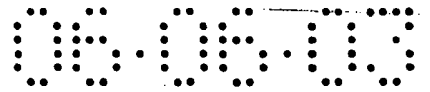
<221> mat\_peptid

<222> (733)..(5052)

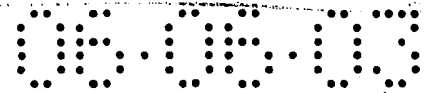
<400> 14

cgcggttgaca ttgattattg actagttatt aatagtaatc aattacgggg tcattagttc 60





atagcccata tatggagttc cgcgttacat aacttacggt aatggcccg cctggctgac 120  
cgcccaacga cccccgcca ttgacgtcaa taatgacgta tgttcccata gtaacgccaa 180  
tagggacttt ccattgacgt caatgggtgg agtatttacg gtaaactgcc cacttggcag 240  
tacatcaagt gtatcatatg ccaagtacgc cccctattga cgtcaatgac ggtaaattggc 300  
ccgcttggca ttatgccag tacatgacct tatgggactt tctacttgg cagtacatct 360  
acgtattagt catcgtatt accatggtga tgcggttttg gcagtacatc aatgggcgtg 420  
gatagcggtt tgactcaocgg ggatttccaa gtctccaccc cattgacgtc aatgggagtt 480  
tgttttggca ccaaaatcaa cgggactttc caaatgtcg taacaactcc gccccattga 540  
cgcaaatggg cggtaggcgt gtacgggtggg aggtctatat aagcagagct ctctggctaa 600  
ctagagaacc cactgcttac tggcttatcg aaattaatac gactcactat agggagaccc 660  
aagcttgacc tcgag atg caa ata gag ctc tcc acc tgc ttc ttt ctg tgc 711  
Met Gln Ile Glu Leu Ser Thr Cys Phe Phe Leu Cys  
-15 -10  
ctt ttg cga ttc tgc ttt agt gcc acc aga aga tac tac ctg ggt gca 759  
Leu Leu Arg Phe Cys Phe Ser Ala Thr Arg Arg Tyr Tyr Leu Gly Ala  
-5 -1 1 5  
gtg gaa ctg tca tgg gac tat atg caa agt gat ctc ggt gag ctg cct 807  
Val Glu Leu Ser Trp Asp Tyr Met Gln Ser Asp Leu Gly Glu Leu Pro  
10 15 20 25  
gtg gac gca aga ttt cct cct aga gtg cca aaa tct ttt cca ttc aac 855  
Val Asp Ala Arg Phe Pro Pro Arg Val Pro Lys Ser Phe Pro Phe Asn  
30 35 40  
acc tca gtc gtg tac aaa aag act ctg ttt gta gaa ttc acg gat cac 903  
Thr Ser Val Val Tyr Lys Lys Thr Leu Phe Val Glu Phe Thr Asp His  
45 50 55  
ctt ttc aac atc gct aag cca agg cca ccc tgg atg ggt ctg cta ggt 951  
Leu Phe Asn Ile Ala Lys Pro Arg Pro Pro Trp Met Gly Leu Leu Gly  
60 65 70  
cct acc atc cag gct gag gtt tat gat aca gtg gtc att aca ctt aag 999  
Pro Thr Ile Gln Ala Glu Val Tyr Asp Thr Val Val Ile Thr Leu Lys  
75 80 85  
aac atg gct tcc cat cct gtc agt ctt cat gct gtt ggt gta tcc tac 1047  
Asn Met Ala Ser His Pro Val Ser Leu His Ala Val Gly Val Ser Tyr  
90 95 100 105  
tgg aaa gct tct gag gga gct gaa tat gat gat cag acc agt caa agg 1095  
Trp Lys Ala Ser Glu Gly Ala Glu Tyr Asp Asp Gln Thr Ser Gln Arg  
110 115 120  
gag aaa gaa gat gat aaa gtc ttc cct ggt gga agc cat aca tat gtc 1143  
Glu Lys Glu Asp Asp Lys Val Phe Pro Gly Gly Ser His Thr Tyr Val  
125 130 135  
tgg cag gtc ctg aaa gag aat ggt cca atg gcc tct gac cca ctg tgc 1191  
Trp Gln Val Leu Lys Glu Asn Gly Pro Met Ala Ser Asp Pro Leu Cys  
140 145 150  
ctt acc tac tca tat ctt tct cat gcg gac ctg gta aaa gac ttg aat 1239  
Leu Thr Tyr Ser Tyr Leu Ser His Ala Asp Leu Val Lys Asp Leu Asn

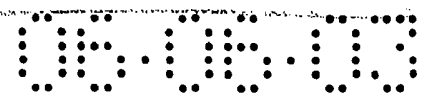


155	160	165	
tca ggc ctc att gga gcc cta cta gta tgt aga gaa ggg agt ctg gcc Ser Gly Leu Ile Gly Ala Leu Leu Val Cys Arg Glu Gly Ser Leu Ala 170 175 180 185			1287
aag gaa aag aca cag acc ttg cac aaa ttt ata cta ctt ttt gct gta Lys Glu Lys Thr Gln Thr Leu His Lys Phe Ile Leu Leu Phe Ala Val 190 195 200			1335
ttt gat gaa ggg aaa agt tgg cac tca gaa aca aag aac tcc ttg atg Phe Asp Glu Gly Lys Ser Trp His Ser Glu Thr Lys Asn Ser Leu Met 205 210 215			1383
cag gat agg gat gct gca tct gct cgg gcc tgg cct aaa atg cac aca Gln Asp Arg Asp Ala Ala Ser Ala Arg Ala Trp Pro Lys Met His Thr 220 225 230			1431
gtc aat ggt tat gta aac agg tct ctg cca ggt ctg att gga tgc cac Val Asn Gly Tyr Val Asn Arg Ser Leu Pro Gly Leu Ile Gly Cys His 235 240 245			1479
agg aaa tca gtc tat tgg cat gtg att gga atg ggc acc act cct gaa Arg Lys Ser Val Tyr Trp His Val Ile Gly Met Gly Thr Thr Pro Glu 250 255 260 265			1527
gtg cac tca ata ttc ctc gaa ggt cac aca ttt ctt gtg agg aac cat Val His Ser Ile Phe Leu Glu Gly His Thr Phe Leu Val Arg Asn His 270 275 280			1575
cgc cag gcg tcc ttg gaa atc tcg cca ata act ttc ctt act gct caa Arg Gln Ala Ser Leu Glu Ile Ser Pro Ile Thr Phe Leu Thr Ala Gln 285 290 295			1623
aca ctc ttg atg gac ctt gga cag ttt cta ctg ttt tgt cat atc tct Thr Leu Leu Met Asp Leu Gly Gln Phe Leu Leu Phe Cys His Ile Ser 300 305 310			1671
tcc cac caa cat gat ggc atg gaa gct tat gtc aaa gta gac agc tgt Ser His Gln His Asp Gly Met Glu Ala Tyr Val Lys Val Asp Ser Cys 315 320 325			1719
cca gag gaa ccc caa cta cga atg aaa aat aat gaa gaa gcg gaa gac Pro Glu Glu Pro Gln Leu Arg Met Lys Asn Asn Glu Glu Ala Glu Asp 330 335 340 345			1767
tat gat gat gat ctt act gat tct gaa atg gat gtg gtc agg ttt gat Tyr Asp Asp Asp Leu Thr Asp Ser Glu Met Asp Val Val Arg Phe Asp 350 355 360			1815
gat gac aac tct cct tcc ttt atc caa att cgc tca gtt gcc aag aag Asp Asp Asn Ser Pro Ser Phe Ile Gln Ile Arg Ser Val Ala Lys Lys 365 370 375			1863
cat cct aaa act tgg gta cat tac att gct gct gaa gag gag gac tgg His Pro Lys Thr Trp Val His Tyr Ile Ala Ala Glu Glu Glu Asp Trp 380 385 390			1911
gac tat gct ccc tta gtc ctc gcc ccc gat gac aga agt tat aaa agt Asp Tyr Ala Pro Leu Val Leu Ala Pro Asp Asp Arg Ser Tyr Lys Ser 395 400 405			1959
caa tat ttg aac aat ggc cct cag cgg att ggt agg aag tac aaa aaa Gln Tyr Leu Asn Asn Gly Pro Gln Arg Ile Gly Arg Lys Tyr Lys Lys 410 415 420 425			2007

gtc cga ttt atg gca tac aca gat gaa acc ttt aag act cgt gaa gct	2055
Val Arg Phe Met Ala Tyr Thr Asp Glu Thr Phe Lys Thr Arg Glu Ala	
430 435 440	
att cag cat gaa tca gga atc ttg gga cct tta ctt tat ggg gaa gtt	2103
Ile Gln His Glu Ser Gly Ile Leu Gly Pro Leu Leu Tyr Gly Glu Val	
445 450 455	
gga gac aca ctg ttg att ata ttt aag aat caa gca agc aga cca tat	2151
Gly Asp Thr Leu Leu Ile Ile Phe Lys Asn Gln Ala Ser Arg Pro Tyr	
460 465 470	
aac atc tac cct cac gga atc act gat gtc cgt cct ttg tat tca agg	2199
Asn Ile Tyr Pro His Gly Ile Thr Asp Val Arg Pro Leu Tyr Ser Arg	
475 480 485	
aga tta cca aaa ggt gta aaa cat ttg aag gat ttt cca att ctg cca	2247
Arg Leu Pro Lys Gly Val Lys His Leu Lys Asp Phe Pro Ile Leu Pro	
490 495 500 505	
gga gaa ata ttc aaa tat aaa tgg aca gtg act gta gaa gat ggg cca	2295
Gly Glu Ile Phe Lys Tyr Lys Trp Thr Val Thr Val Glu Asp Gly Pro	
510 515 520	
act aaa tca gat cct cgg tgc ctg acc cgc tat tac tct agt ttc gtt	2343
Thr Lys Ser Asp Pro Arg Cys Leu Thr Arg Tyr Tyr Ser Ser Phe Val	
525 530 535	
aat atg gag aga gat cta gct tca gga ctc att ggc cct ctc ctc atc	2391
Asn Met Glu Arg Asp Leu Ala Ser Gly Leu Ile Gly Pro Leu Leu Ile	
540 545 550	
tgc tac aaa gaa tct gta gat caa aga gga aac cag ata atg tca gac	2439
Cys Tyr Lys Glu Ser Val Asp Gln Arg Gly Asn Gln Ile Met Ser Asp	
555 560 565	
aag agg aat gtc atc ctg ttt tct gta ttt gat gag aac cga agc tgg	2487
Lys Arg Asn Val Ile Leu Phe Ser Val Phe Asp Glu Asn Arg Ser Trp	
570 575 580 585	
tac ctc aca gag aat ata caa cgc ttt ctc ccc aat cca gct gga gtg	2535
Tyr Leu Thr Glu Asn Ile Gln Arg Phe Leu Pro Asn Pro Ala Gly Val	
590 595 600	
cag ctt gag gat cca gag ttc caa gcc tcc aac atc atg cac agc atc	2583
Gln Leu Glu Asp Pro Glu Phe Gln Ala Ser Asn Ile Met His Ser Ile	
605 610 615	
aat ggc tat gtt ttt gat agt ttg cag ttg tca gtt tgt ttg cat gag	2631
Asn Gly Tyr Val Phe Asp Ser Leu Gln Leu Ser Val Cys Leu His Glu	
620 625 630	
gtg gca tac tgg tac att cta agc att gga gca cag act gac ttc ctt	2679
Val Ala Tyr Trp Tyr Ile Leu Ser Ile Gly Ala Gln Thr Asp Phe Leu	
635 640 645	
tct gtc ttc ttc tct gga tat acc ttc aaa cac aaa atg gtc tat gaa	2727
Ser Val Phe Phe Ser Gly Tyr Thr Phe Lys His Lys Met Val Tyr Glu	
650 655 660 665	
gac aca ctc acc cta ttc cca ttc tca gga gaa act gtc ttc atg tcg	2775
Asp Thr Leu Thr Leu Phe Pro Phe Ser Gly Glu Thr Val Phe Met Ser	
670 675 680	
atg gaa aac cca ggt cta tgg att ctg ggg tgc cac aac tca gac ttt	2823
Met Glu Asn Pro Gly Leu Trp Ile Leu Gly Cys His Asn Ser Asp Phe	



685					690					695					
cgg aac aga ggc atg acc gcc tta ctg aag gtt tct agt tgt gac aag	Arg Asn Arg Gly Met Thr Ala Leu Leu Lys Val Ser Ser Cys Asp Lys	700	705	710	2871										
aac act ggt gat tat tac gag gac agt tat gaa gat att tca gca tac	Asn Thr Gly Asp Tyr Tyr Glu Asp Ser Tyr Glu Asp Ile Ser Ala Tyr	715	720	725	2919										
ttg ctg agt aaa aac aat gcc att gaa cca aga agc ttc tcc cag aat	Leu Leu Ser Lys Asn Asn Ala Ile Glu Pro Arg Ser Phe Ser Gln Asn	730	735	740	2967										
tca aga cat caa gct tat cga tac cgt cga ggg gaa ata act cgt act	Ser Arg His Gln Ala Tyr Arg Tyr Arg Arg Gly Glu Ile Thr Arg Thr	750	755	760	3015										
act ctt cag tca gat caa gag gaa att gac tat gat gat acc ata tca	Thr Leu Gln Ser Asp Gln Glu Glu Ile Asp Tyr Asp Asp Thr Ile Ser	765	770	775	3063										
gtt gaa atg aag aag gaa gat ttt gac att tat gat gag gat gaa aat	Val Glu Met Lys Lys Glu Asp Phe Asp Ile Tyr Asp Glu Asp Glu Asn	780	785	790	3111										
cag agc ccc cgc agc ttt caa aag aaa aca cga cac tat ttt att gct	Gln Ser Pro Arg Ser Phe Gln Lys Lys Thr Arg His Tyr Phe Ile Ala	795	800	805	3159										
gca gtg gag agg ctc tgg gat tat ggg atg agt agc tcc cca cat gtt	Ala Val Glu Arg Leu Trp Asp Tyr Gly Met Ser Ser Ser Pro His Val	810	815	820	3207										
cta aga aac agg gct cag agt ggc agt gtc cct cag ttc aag aaa gtt	Leu Arg Asn Arg Ala Gln Ser Gly Ser Val Pro Gln Phe Lys Lys Val	830	835	840	3255										
gtt ttc cag gaa ttt act gat ggc tcc ttt act cag ccc tta tac cgt	Val Phe Gln Glu Phe Thr Asp Gly Ser Phe Thr Gln Pro Leu Tyr Arg	845	850	855	3303										
gga gaa cta aat gaa cat ttg gga ctc ctg ggg cca tat ata aga gca	Gly Glu Leu Asn Glu His Leu Gly Leu Leu Gly Pro Tyr Ile Arg Ala	860	865	870	3351										
gaa gtt gaa gat aat atc atg gta act ttc aga aat cag gcc tct cgt	Glu Val Glu Asp Asn Ile Met Val Thr Phe Arg Asn Gln Ala Ser Arg	875	880	885	3399										
ccc tat tcc ttc tat tct agc ctt att tct tat gag gaa gat cag agg	Pro Tyr Ser Phe Tyr Ser Ser Leu Ile Ser Tyr Glu Glu Asp Gln Arg	890	895	900	3447										
caa gga gca gaa cct aga aaa aac ttt gtc aag cct aat gaa acc aaa	Gln Gly Ala Glu Pro Arg Lys Asn Phe Val Lys Pro Asn Glu Thr Lys	910	915	920	3495										
act tac ttt tgg aaa gtg caa cat cat atg gca ccc act aaa gat gag	Thr Tyr Phe Trp Lys Val Gln His His Met Ala Pro Thr Lys Asp Glu	925	930	935	3543										
ttt gac tgc aaa gcc tgg gct tat ttc tct gat gtt gac ctg gaa aaa	Phe Asp Cys Lys Ala Trp Ala Tyr Phe Ser Asp Val Asp Leu Glu Lys	940	945	950	3591										



gat gtg cac tca ggc ctg att gga ccc ctt ctg gtc tgc cac act aac 3639  
 Asp Val His Ser Gly Leu Ile Gly Pro Leu Leu Val Cys His Thr Asn  
 955 960 965

aca ctg aac cct gct cat ggg aga caa gtg aca gta cag gaa ttt gct 3687  
 Thr Leu Asn Pro Ala His Gly Arg Gln Val Thr Val Gln Glu Phe Ala  
 970 975 980 985

ctg ttt ttc acc atc ttt gat gag acc aaa agc tgg tac ttc act gaa 3735  
 Leu Phe Phe Thr Ile Phe Asp Glu Thr Lys Ser Trp Tyr Phe Thr Glu  
 990 995 1000

aat atg gaa aga aac tgc agg gct ccc tgc aat atc cag atg gaa gat 3783  
 Asn Met Glu Arg Asn Cys Arg Ala Pro Cys Asn Ile Gln Met Glu Asp  
 1005 1010 1015

ccc act ttt aaa gag aat tat cgc ttc cat gca atc aat ggc tac ata 3831  
 Pro Thr Phe Lys Glu Asn Tyr Arg Phe His Ala Ile Asn Gly Tyr Ile  
 1020 1025 1030

atg gat aca cta cct ggc tta gta atg gct cag gat caa agg att cga 3879  
 Met Asp Thr Leu Pro Gly Leu Val Met Ala Gln Asp Gln Arg Ile Arg  
 1035 1040 1045

tgg tat ctg ctc agc atg ggc agc aat gaa aac atc cat tct att cat 3927  
 Trp Tyr Leu Leu Ser Met Gly Ser Asn Glu Asn Ile His Ser Ile His  
 1050 1055 1060 1065

ttc agt gga cat gtg ttc act gta cga aaa aaa gag gag tat aaa atg 3975  
 Phe Ser Gly His Val Phe Thr Val Arg Lys Lys Glu Glu Tyr Lys Met  
 1070 1075 1080

gca ctg tac aat ctc tat cca ggt gtt ttt gag aca gtg gaa atg tta 4023  
 Ala Leu Tyr Asn Leu Tyr Pro Gly Val Phe Glu Thr Val Glu Met Leu  
 1085 1090 1095

cca tcc aaa gct gga att tgg cgg gtg gaa tgc ctt att ggc gag cat 4071  
 Pro Ser Lys Ala Gly Ile Trp Arg Val Glu Cys Leu Ile Gly Glu His  
 1100 1105 1110

cta cat gct ggg atg agc aca ctt ttt ctg gtg tac agc aat aag tgt 4119  
 Leu His Ala Gly Met Ser Thr Leu Phe Leu Val Tyr Ser Asn Lys Cys  
 1115 1120 1125

cag act ccc ctg gga atg gct tct gga cac att aga gat ttt cag att 4167  
 Gln Thr Pro Leu Gly Met Ala Ser Gly His Ile Arg Asp Phe Gln Ile  
 1130 1135 1140 1145

aca gct tca gga caa tat gga cag tgg gcc cca aag ctg gcc aga ctt 4215  
 Thr Ala Ser Gly Gln Tyr Gly Gln Trp Ala Pro Lys Leu Ala Arg Leu  
 1150 1155 1160

cat tat tcc gga tca atc aat gcc tgg agc acc aag gag ccc ttt tct 4263  
 His Tyr Ser Gly Ser Ile Asn Ala Trp Ser Thr Lys Glu Pro Phe Ser  
 1165 1170 1175

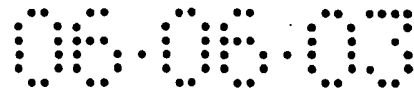
tgg atc aag gtg gat ctg ttg gca cca atg att att cac ggc atc aag 4311  
 Trp Ile Lys Val Asp Leu Leu Ala Pro Met Ile Ile His Gly Ile Lys  
 1180 1185 1190

acc cag ggt gcc cgt cag aag ttc tcc agc ctc tac atc tct cag ttt 4359  
 Thr Gln Gly Ala Arg Gln Lys Phe Ser Ser Leu Tyr Ile Ser Gln Phe  
 1195 1200 1205

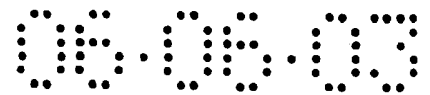
atc atc atg tat agt ctt gat ggg aag aag tgg cag act tat cga gga 4407  
 Ile Ile Met Tyr Ser Leu Asp Gly Lys Lys Trp Gln Thr Tyr Arg Gly



1210	1215	1220	1225	
aat tcc act gga acc tta atg gtc ttc ttt ggc aat gtg gat tca tct				4455
Asn Ser Thr Gly Thr Leu Met Val Phe Phe Gly Asn Val Asp Ser Ser	1230	1235	1240	
ggg ata aaa cac aat att ttt aac cct cca att att gct cga tac atc				4503
Gly Ile Lys His Asn Ile Phe Asn Pro Pro Ile Ile Ala Arg Tyr Ile	1245	1250	1255	
cgt ttg cac cca act cat tat agc att cgc agc act ctt cgc atg gag				4551
Arg Leu His Pro Thr His Tyr Ser Ile Arg Ser Thr Leu Arg Met Glu	1260	1265	1270	
ttg atg ggc tgt gat tta aat agt tgc agc atg cca ttg gga atg gag				4599
Leu Met Gly Cys Asp Leu Asn Ser Cys Ser Met Pro Leu Gly Met Glu	1275	1280	1285	
agt aaa gca ata tca gat gca cag att act gct tca tcc tac ttt acc				4647
Ser Lys Ala Ile Ser Asp Ala Gln Ile Thr Ala Ser Ser Tyr Phe Thr	1290	1295	1300	1305
aat atg ttt gcc acc tgg tct cct tca aaa gct cga ctt cac ctc caa				4695
Asn Met Phe Ala Thr Trp Ser Pro Ser Lys Ala Arg Leu His Leu Gln	1310	1315	1320	
ggg agg agt aat gcc tgg aga cct cag gag aat aat cca aaa gag tgg				4743
Gly Arg Ser Asn Ala Trp Arg Pro Gln Glu Asn Asn Pro Lys Glu Trp	1325	1330	1335	
ctg caa gtg gac ttc cag aag aca atg aaa gtc aca gga gta act act				4791
Leu Gln Val Asp Phe Gln Lys Thr Met Lys Val Thr Gly Val Thr Thr	1340	1345	1350	
cag gga gta aaa tct ctg ctt acc agc atg tat gtg aag gag ttc ctc				4839
Gln Gly Val Lys Ser Leu Leu Thr Ser Met Tyr Val Lys Glu Phe Leu	1355	1360	1365	
atc tcc agc agt caa gat ggc cat cag tgg acc ctc ttt ttt cag aat				4887
Ile Ser Ser Ser Gln Asp Gly His Gln Trp Thr Leu Phe Phe Gln Asn	1370	1375	1380	1385
ggc aaa gta aag gtt ttt cag gga aat caa gac tcc ttc aca cct gtg				4935
Gly Lys Val Lys Val Phe Gln Gly Asn Gln Asp Ser Phe Thr Pro Val	1390	1395	1400	
gtg aac tct cta gac cca ccg tta ctg act cgc tac ctt cga att cac				4983
Val Asn Ser Leu Asp Pro Pro Leu Leu Thr Arg Tyr Leu Arg Ile His	1405	1410	1415	
ccc cag agt tgg gtg cac cag att gcc ctg agg atg gag gtt ctg ggc				5031
Pro Gln Ser Trp Val His Gln Ile Ala Leu Arg Met Glu Val Leu Gly	1420	1425	1430	
tgc gag gca cag gac ctc tac tgagcggccg cgactctact agaggatctt				5082
Cys Glu Ala Gln Asp Leu Tyr	1435	1440		
tgtgaaggaa ccttacttct gtggtgtgac ataattggac aaactaccta cagagattta				5142
aagctctaag gtaaatataa aatttttaag tgtataatgt gttaaactac tgattcta				5202
tgtttgtgta ttttagattc caacctatgg aactgatgaa tgggagcagt ggtggaatgc				5262
ctttaatgag gaaaacctgt tttgctcaga agaaatgccca tctagtgatg atgaggctac				5322

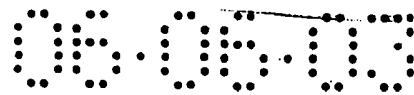


tgctgactct caacatteta ctccctccaaa aaagaagaga aaggtagaag accccaagga 5382  
ctttccttca gaattgctaa gttttttgag tcatgctgtg tttagtaata gaactcttgc 5442  
ttgctttgct atttacacca caaaggaaaa agctgcactg ctatacaaga aaattatgga 5502  
aaaatattct gtaaccttta taagtaggca taacagttat aatcataaca tactgttttt 5562  
tcttactcca cacaggcata gagtgtctgc tattaataac tatgctcaaa aattgtgtac 5622  
cttttagcttt ttaatttgta aaggggtaa taaggaatat ttgatgtata gtgccttgac 5682  
tagagatcat aatcagccat accacatttg tagaggtttt acttgcttta aaaaacctcc 5742  
cacacctccc cctgaacctg aaacataaaa tgaatgcaat tgttggtggt aacttgttta 5802  
ttgcagotta taatggttac aaataaagca atagcatcac aaatttcaca aataaagcat 5862  
ttttttcact gcattctagt tgtggtttgt ccaaactcat caatgtatct tatcatgtct 5922  
ggatcccccg aacgccagca agacgtagcc cagcgcgtcg gccccgagat gcgcccgtg 5982  
cggctgctgg agatggcgga cgcgatggat atgttctgcc aagggttggt ttgcgcattc 6042  
acagttctcc gcaagaattg attggtccca attcttgag tggtgaatcc gttagcgagg 6102  
tgccgcctcg cttcatcccc gtggcccgtt gctcgcgttt gctggcgtg tccccggaag 6162  
aaatatattt gcatgtcttt agttctatga tgacacaaac cccgccagc gtcttgcata 6222  
tggcgaattc gaacacgcag atgcagtcgg ggcggcgcgg tccgaggtcc acttcgcata 6282  
ttaaggtgac gcgtgtggcc tcgaacaccg agcgacctg cagcgacctg cttaacagcg 6342  
tcaacagcgt gccgcagatc agcttgatat gaaaaagcct gaactcaccg cgacgtctgt 6402  
cgagaagttt ctgatcgaaa agttcgacag cgtctccgac ctgatgcagc tctcgagggg 6462  
cgaagaatct cgtgctttca gcttcgatgt aggagggcgt ggatatgtcc tgcgggtaaa 6522  
tagctgcgcc gatggtttct acaaagatcg ttatgtttat cggcactttg catcggccgc 6582  
gctcccgatt ccggaagtgc ttgacattgg ggaattcagc gagagcctga cctattgcat 6642  
ctcccgcctg gcacaggggtg tcacgttgca agacctgctt gaaaccgaac tgcccgtctg 6702  
tctgcagccg gtcgcggagg ccatggatgc gatcgtctgc gccgatctta gccagacgag 6762  
cgggttcggc ccattcggac cgcaaggaat cggtaatac actacatggc gtgatttcat 6822  
atgcgcgatt gctgatcccc atgtgtatca ctggcaaact gtgatggacg acaccgtcag 6882  
tgcgtccgtc gcgcaggctc tcgatgagct gatgctttgg gccgaggact gccccgaagt 6942  
ccggcacctc gtgcacgcgg atttcggctc caacaatgct ctgacggaca atggccgcat 7002  
aacagcggtc attgactgga gcgagggcat gttcggggat tccaatacg aggtcgccaa 7062  
catctttctc tggaggccgt ggttggettg tatggagcag cagacgcgct acttcgagcg 7122  
gaggcatccg gagcttgacg gatcgcgcgc gctccggggc tatatgctcc gcattggtct 7182  
tgaccaactc tatcagagct tggttgacgg caatttcgat gatgcagctt gggcgcaggg 7242  
tcgatgcgac gcaatcgtcc gatccggagc cgggactgct gggcgtacac aaatcgcccc 7302



cagaagcgcg gccgtctgga ccgatggctg tgtagaagta ctgcgccgata gtggaaaccg 7362  
acgccccagc actcgtccgg atcgggagat gggggaggct aactgaaaca cggaaggaga 7422  
caataccgga aggaaccgcg gctatgacgg caataaaaag acagaataaa acgcacgggt 7482  
gttgggtcgt ttgttcataa acgcgggggt cgggccagg gctggcactc tgtcgatacc 7542  
ccaccgagac ccattgggg ccaatacgcc cgcgtttctt cttttcccc accccacccc 7602  
ccaagtccg gtgaaggccc agggctcgca gccaacgtcg gggcggcagg cctgcccata 7662  
gccactggcc ccgtgggtta gggacgggggt cccccatggg gaatggttta tggttcgtgg 7722  
gggttattat tttgggcgtt gcgtggggtc aggtccacga ctggactgag cagacagacc 7782  
catggttttt ggatggcctg ggcattggacc gcatgtactg gcgcgacacg aacaccgggc 7842  
gtctgtggct gccaaacacc cccgaccccc aaaaaccacc gcgcggattt ctggcgtgcc 7902  
aagctgggta ccctctagag cgaattaatt cactggccgt cgttttacia cgtcgtgact 7962  
gggaaaacc tggcgttacc caacttaate gccttgacgc acatccccct ttcgccagct 8022  
ggcgtaatag cgaagaggcc cgcaccgatc gcccttccca acagttgccc agcctgaatg 8082  
gcgaatggcg cctgatgcgg tattttctcc ttacgcactt gtgcggattt tcacaccgca 8142  
tatggtgcac tctcagtaca atctgctctg atgccgcata gtttaagccag ccccgacacc 8202  
cgccaacacc cgctgacgcg ccctgacggg cttgtctgct cccggcatcc gcttacagac 8262  
aagctgtgac cgtctccggg agctgcatgt gtcagagggt ttcaccgtca tcaccgaaac 8322  
gcgcgagacg aaaggggggg taccagcttc gtagctagaa catcatgttc tgggatatca 8382  
gcttcgtagc tagaacatca tgttctggta cccccctcgt gatagccta tttttatagg 8442  
ttaatgtcat gataataatg gtttcttaga cgtcagggtg cacttttcgg ggaaatgtgc 8502  
gcggaacccc tatttgttta tttttctaaa tacattcaaa tatgtatccg ctcatgagac 8562  
aataaccctg ataaatgctt caataatatt gaaaaggaa gagtatgagt attcaacatt 8622  
tccgtgtcgc ccttattccc ttttttgogg ctttttgcct tctgttttt gctcaccag 8682  
aaacgctggt gaaagtaaaa gatgctgaag atcagttggg tgcacgagtg ggttacatcg 8742  
aactggatct caacagcggg aagatccttg agagttttcg ccccgaagaa cgtttttcaa 8802  
tgatgagcac ttttaaagtt ctgctatgtg gcgcggattt atcccgtatt gacgccgggc 8862  
aagagcaact cggtcgccgc atacactatt ctccagaatga cttgggtgag tactcaccag 8922  
tcacagaaaa gcatcttacg gatggcatga cagtaagaga attatgcagt gctgccataa 8982  
ccatgagtga taacactgcg gccaaacttac ttctgacaac gatcggagga ccgaaggagc 9042  
taaccgcttt tttgcacaac atgggggatc atgtaactcg ccttgatcgt tgggaaccgg 9102  
agctgaatga agccatacca aacgacgagc gtgacaccac gatgcctgta gcaatggcaa 9162  
caacgttgcg caaactatta actggcgaac tacttactct agcttcccgg caacaattaa 9222  
tagactggat ggaggcggat aaagttgcag gaccattct gcgctcggcc cttccggctg 9282





gctggtttat tgctgataaa tctggagccg gtgagcgtgg gtctcgcggt atcattgcag 9342  
 cactggggcc agatggtaag ccctccccta tcttagttat ctacacgacg gggagtcagg 9402  
 caactatgga tgaacgaaat agacagatcg ctgagatagg tgcctcactg attaagcatt 9462  
 ggtaactgtc agaccaagtt tactcatata tacttttagat tgatttaaaa cttcattttt 9522  
 aatttaaaag gatctaggtg aagatccttt ttgataatct catgaccaa atcccttaac 9582  
 gtgagttttc gttcactga gcgtcagacc ccgtagaaaa gatcaaagga tcttcttgag 9642  
 atcctttttt tctgcccgta atctgctgct tgcaacaaa aaaaccaccg ctaccagcgg 9702  
 tggtttgttt gccggatcaa gagctaccaa ctctttttcc gaaggtaact ggcttcagca 9762  
 gagcgcagat accaaatact gttcttctag tgtagccgta gttaggccac cacttcaaga 9822  
 actctgtagc accgcctaca tacctcctc tgctaacct gttaccagtg gctgctgcca 9882  
 gtggcgataa gtctgtctt accgggttg actcaagacg atagttaccg gataaggcgc 9942  
 agcggtcggg ctgaacgggg ggttcgtgca cacagcccag cttggagcga acgacctaca 10002  
 ccgaactgag atacctacag cgtgagctat gagaaagcgc cacgcttccc gaaggaggaa 10062  
 aggcggacag gtatccggta agcggcaggg tccgaacagg agagcgcacg agggagcttc 10122  
 cagggggaaa cgcttggtat ctttatagtc ctgctgggtt tccaccctc tgacttgagc 10182  
 gtogatTTTT gtgatgctc tcaaggggggc ggagcctatg gaaaaacgcc agcaacgcgg 10242  
 cttttttacg gttcctggcc ttttgctgac cttttgctca catgttcttt cctgctttat 10302  
 cccctgattc tgtggataac cgtattaccg cttttgagtg agctgatacc gctcgcgcga 10362  
 gccgaacgac cgagcgcagc gagtcagtga gcgagggaagc ggaagagcgc ccaatacgcga 10422  
 aaccgcctct ccccgcgct tggccgattc ataatgcag ctggcacgac aggtttcccc 10482  
 actggaaagc gggcagtgag cgcaacgcaa ttaatgtgag ttagctcact cattaggcac 10542  
 cccaggcttt acactttatg cttccggctc gtatgttggtg tggatttgag agcggataac 10602  
 aatttcacac aggaaacagc tatgaccatg attacgcaa gctctctaga gctctagagc 10662  
 tctagagctc tagagagctt gcatgcctgc aggtcg 10698

<210> 15  
 <211> 1459  
 <212> PRT  
 <213> Umelá sekvencia  
 <223> Opis umelej sekvencie: pTGF8-3

<400> 15  
 Met Gln Ile Glu Leu Ser Thr Cys Phe Phe Leu Cys Leu Leu Arg Phe  
 -15 -10 -5  
 Cys Phe Ser Ala Thr Arg Arg Tyr Tyr Leu Gly Ala Val Glu Leu Ser  
 -1 1 5 10  
 Trp Asp Tyr Met Gln Ser Asp Leu Gly Glu Leu Pro Val Asp Ala Arg  
 15 20 25  
 Phe Pro Pro Arg Val Pro Lys Ser Phe Pro Phe Asn Thr Ser Val Val

WO 01/70968

PCT/EP01/03220

56

30   35   40   45

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

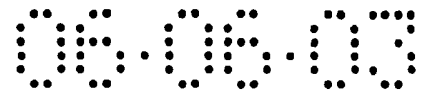
Asp Gly Met Glu Ala Tyr Val Lys Val Asp Ser Cys Pro Glu Glu Pro  
  320   325   330

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

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

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

Trp Val His Tyr Ile Ala Ala Glu Glu Glu Asp Trp Asp Tyr Ala Pro



385 390 395

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

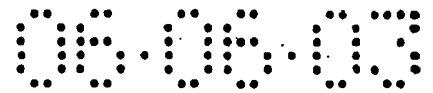
Leu Phe Pro Phe Ser Gly Glu Thr Val Phe Met Ser Met Glu Asn Pro  
670 675 680 685

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

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

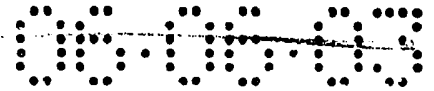
Tyr Tyr Glu Asp Ser Tyr Glu Asp Ile Ser Ala Tyr Leu Leu Ser Lys  
720 725 730

Asn Asn Ala Ile Glu Pro Arg Ser Phe Ser Gln Asn Ser Arg His Gln



735	740	745
Ala Tyr Arg Tyr Arg Arg Gly Glu Ile Thr Arg Thr Thr Leu Gln Ser 750 755 760 765		
Asp Gln Glu Glu Ile Asp Tyr Asp Asp Thr Ile Ser Val Glu Met Lys 770 775 780		
Lys Glu Asp Phe Asp Ile Tyr Asp Glu Asp Glu Asn Gln Ser Pro Arg 785 790 795		
Ser Phe Gln Lys Lys Thr Arg His Tyr Phe Ile Ala Ala Val Glu Arg 800 805 810		
Leu Trp Asp Tyr Gly Met Ser Ser Ser Pro His Val Leu Arg Asn Arg 815 820 825		
Ala Gln Ser Gly Ser Val Pro Gln Phe Lys Lys Val Val Phe Gln Glu 830 835 840 845		
Phe Thr Asp Gly Ser Phe Thr Gln Pro Leu Tyr Arg Gly Glu Leu Asn 850 855 860		
Glu His Leu Gly Leu Leu Gly Pro Tyr Ile Arg Ala Glu Val Glu Asp 865 870 875		
Asn Ile Met Val Thr Phe Arg Asn Gln Ala Ser Arg Pro Tyr Ser Phe 880 885 890		
Tyr Ser Ser Leu Ile Ser Tyr Glu Glu Asp Gln Arg Gln Gly Ala Glu 895 900 905		
Pro Arg Lys Asn Phe Val Lys Pro Asn Glu Thr Lys Thr Tyr Phe Trp 910 915 920 925		
Lys Val Gln His His Met Ala Pro Thr Lys Asp Glu Phe Asp Cys Lys 930 935 940		
Ala Trp Ala Tyr Phe Ser Asp Val Asp Leu Glu Lys Asp Val His Ser 945 950 955		
Gly Leu Ile Gly Pro Leu Leu Val Cys His Thr Asn Thr Leu Asn Pro 960 965 970		
Ala His Gly Arg Gln Val Thr Val Gln Glu Phe Ala Leu Phe Phe Thr 975 980 985		
Ile Phe Asp Glu Thr Lys Ser Trp Tyr Phe Thr Glu Asn Met Glu Arg 990 995 1000 1005		
Asn Cys Arg Ala Pro Cys Asn Ile Gln Met Glu Asp Pro Thr Phe Lys 1010 1015 1020		
Glu Asn Tyr Arg Phe His Ala Ile Asn Gly Tyr Ile Met Asp Thr Leu 1025 1030 1035		
Pro Gly Leu Val Met Ala Gln Asp Gln Arg Ile Arg Trp Tyr Leu Leu 1040 1045 1050		
Ser Met Gly Ser Asn Glu Asn Ile His Ser Ile His Phe Ser Gly His 1055 1060 1065		
Val Phe Thr Val Arg Lys Lys Glu Glu Tyr Lys Met Ala Leu Tyr Asn 070 1075 1080 1085		
Leu Tyr Pro Gly Val Phe Glu Thr Val Glu Met Leu Pro Ser Lys Ala		

	1090		1095		1100
Gly Ile Trp Arg Val Glu Cys Leu Ile Gly Glu His Leu His Ala Gly	1105		1110		1115
Met Ser Thr Leu Phe Leu Val Tyr Ser Asn Lys Cys Gln Thr Pro Leu	1120		1125		1130
Gly Met Ala Ser Gly His Ile Arg Asp Phe Gln Ile Thr Ala Ser Gly	1135		1140		1145
Gln Tyr Gly Gln Trp Ala Pro Lys Leu Ala Arg Leu His Tyr Ser Gly	1150		1155		1160
Ser Ile Asn Ala Trp Ser Thr Lys Glu Pro Phe Ser Trp Ile Lys Val	1170		1175		1180
Asp Leu Leu Ala Pro Met Ile Ile His Gly Ile Lys Thr Gln Gly Ala	1185		1190		1195
Arg Gln Lys Phe Ser Ser Leu Tyr Ile Ser Gln Phe Ile Ile Met Tyr	1200		1205		1210
Ser Leu Asp Gly Lys Lys Trp Gln Thr Tyr Arg Gly Asn Ser Thr Gly	1215		1220		1225
Thr Leu Met Val Phe Phe Gly Asn Val Asp Ser Ser Gly Ile Lys His	1230		1235		1240
Asn Ile Phe Asn Pro Pro Ile Ile Ala Arg Tyr Ile Arg Leu His Pro	1250		1255		1260
Thr His Tyr Ser Ile Arg Ser Thr Leu Arg Met Glu Leu Met Gly Cys	1265		1270		1275
Asp Leu Asn Ser Cys Ser Met Pro Leu Gly Met Glu Ser Lys Ala Ile	1280		1285		1290
Ser Asp Ala Gln Ile Thr Ala Ser Ser Tyr Phe Thr Asn Met Phe Ala	1295		1300		1305
Thr Trp Ser Pro Ser Lys Ala Arg Leu His Leu Gln Gly Arg Ser Asn	1310		1315		1320
Ala Trp Arg Pro Gln Glu Asn Asn Pro Lys Glu Trp Leu Gln Val Asp	1330		1335		1340
Phe Gln Lys Thr Met Lys Val Thr Gly Val Thr Thr Gln Gly Val Lys	1345		1350		1355
Ser Leu Leu Thr Ser Met Tyr Val Lys Glu Phe Leu Ile Ser Ser Ser	1360		1365		1370
Gln Asp Gly His Gln Trp Thr Leu Phe Phe Gln Asn Gly Lys Val Lys	1375		1380		1385
Val Phe Gln Gly Asn Gln Asp Ser Phe Thr Pro Val Val Asn Ser Leu	1390		1395		1400
Asp Pro Pro Leu Leu Thr Arg Tyr Leu Arg Ile His Pro Gln Ser Trp	1410		1415		1420
Val His Gln Ile Ala Leu Arg Met Glu Val Leu Gly Cys Glu Ala Gln	1425		1430		1435
Asp Leu Tyr					



WO 01/70968

PCT/EP01/03220

60

1440

<210> 16  
<211> 43  
<212> DNA  
<213> Umelá sekvencia

<220>  
<223> Opis umelej sekvencie: primér

<400> 16  
ggaattccgc aaaggttatg cagcgcgtga acatgatcat ggc

43

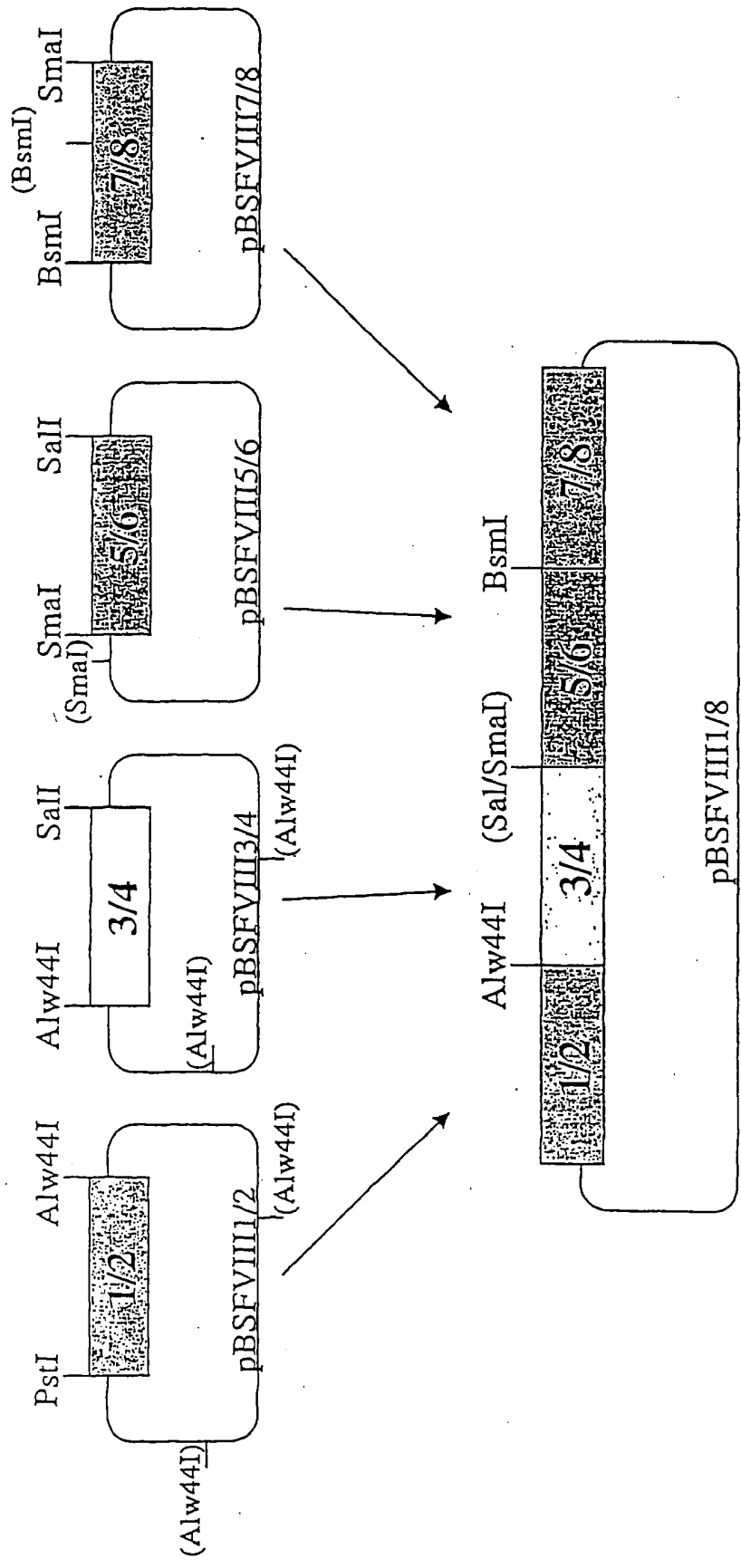
<210> 17  
<211> 39  
<212> DNA  
<213> Umelá sekvencia

<220>  
<223> Opis umelej sekvencie: primér

<400> 17  
cgcggatecca ttaagtgagc tttgtttttt ccttaatcc

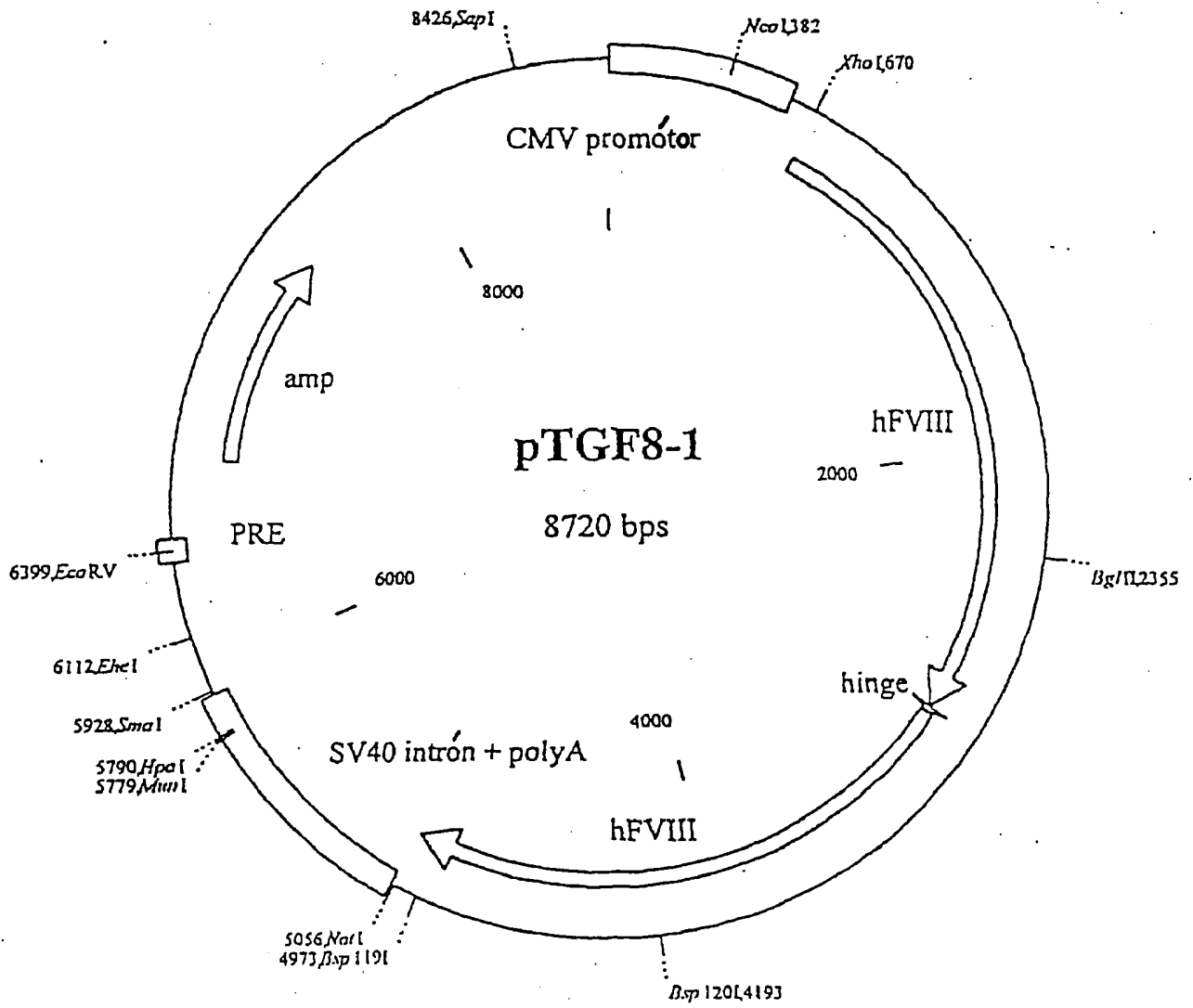
39

Obr. 1



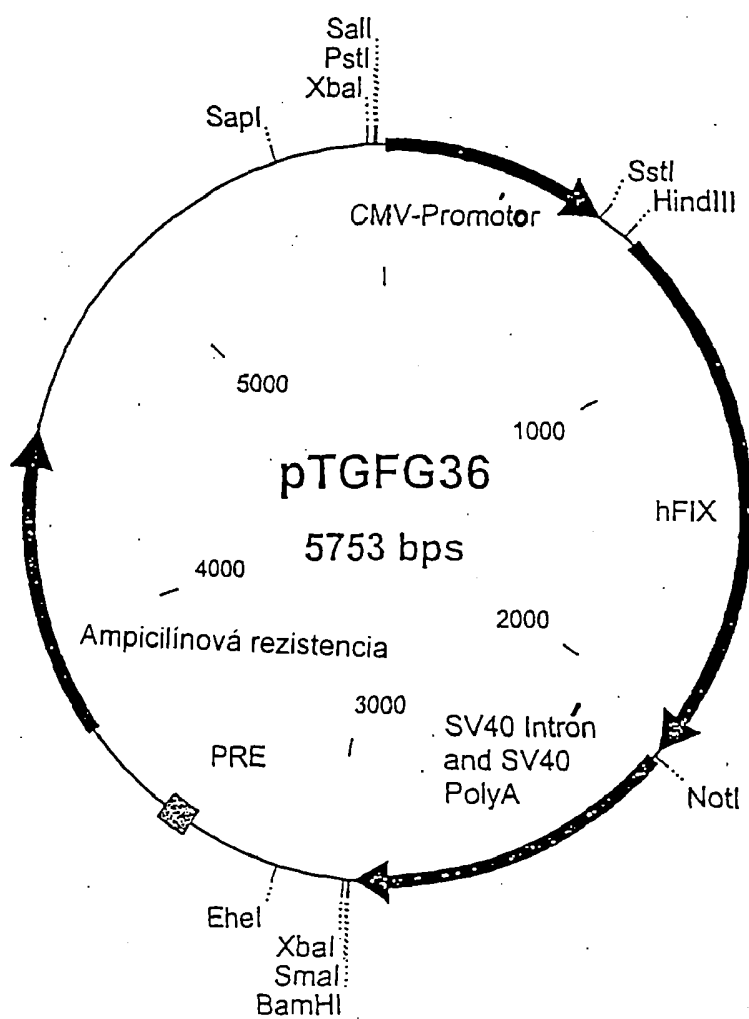
2/10

Obr. 2

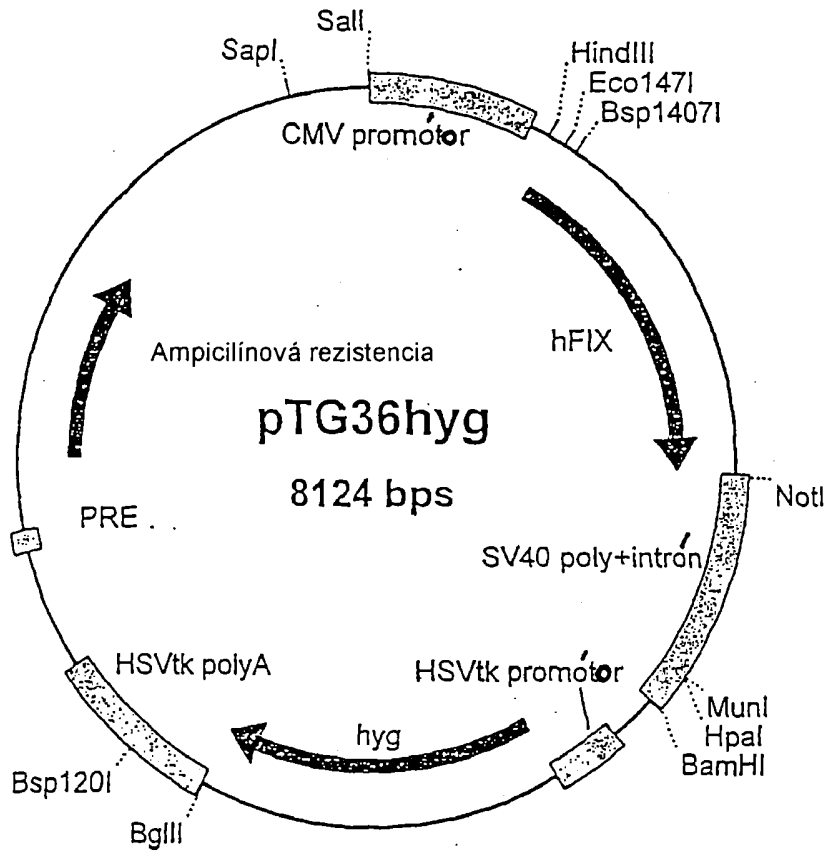




Obr. 3



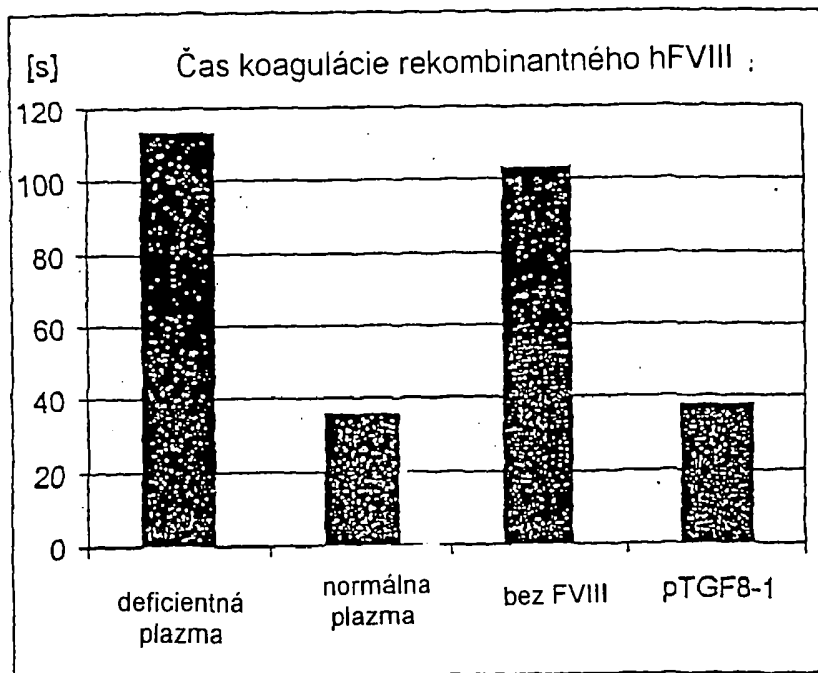
Obr. 4



Obr. 5 A

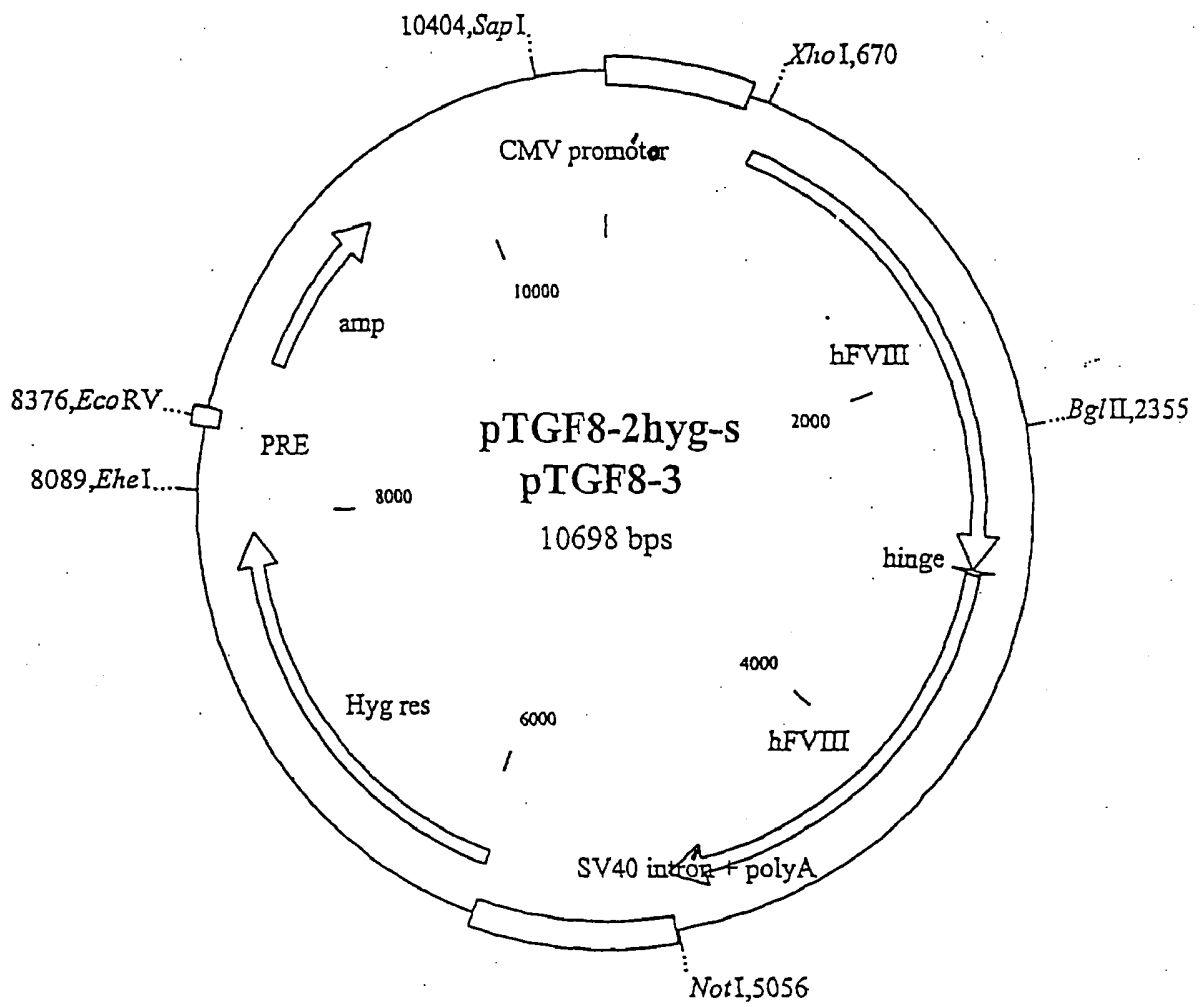
aga| agc ttc tcc cag aat tca aga cat caa gct tat oga tac ogt oga ggg gaa  
R740 S F S Q N S R H Q A Y R Y R R G E1649  
wt-B-doména                      variabilná doména

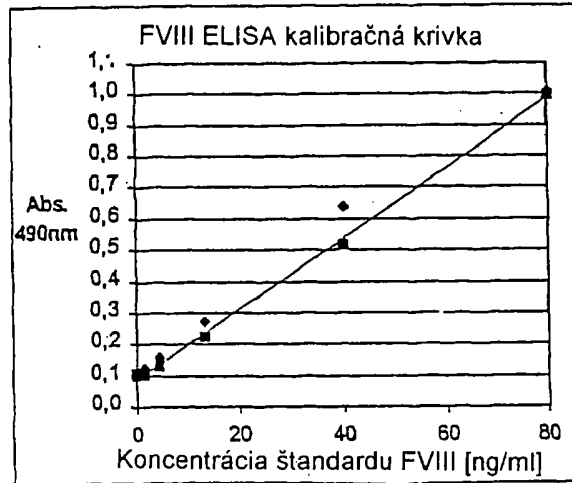
Obr. 5 B



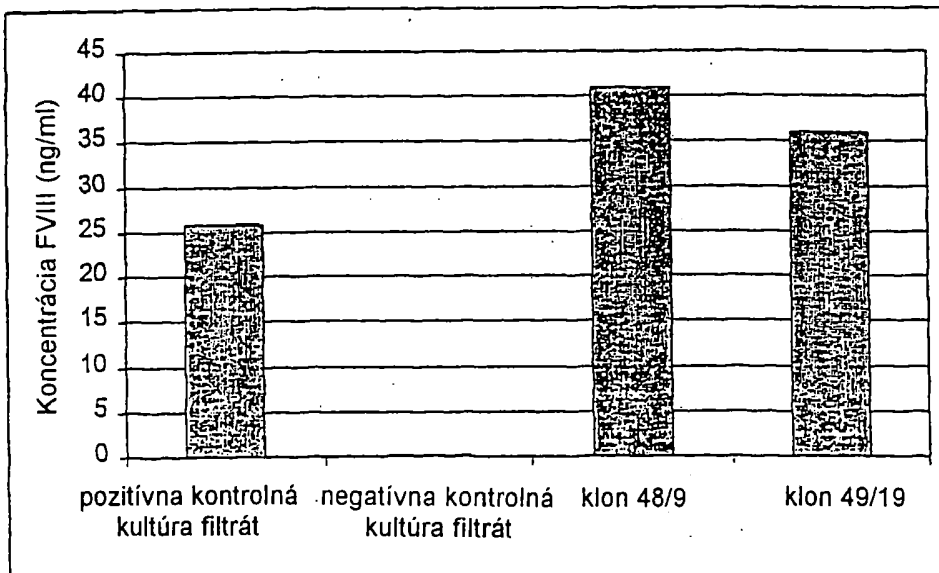
6/10

Obr. 6





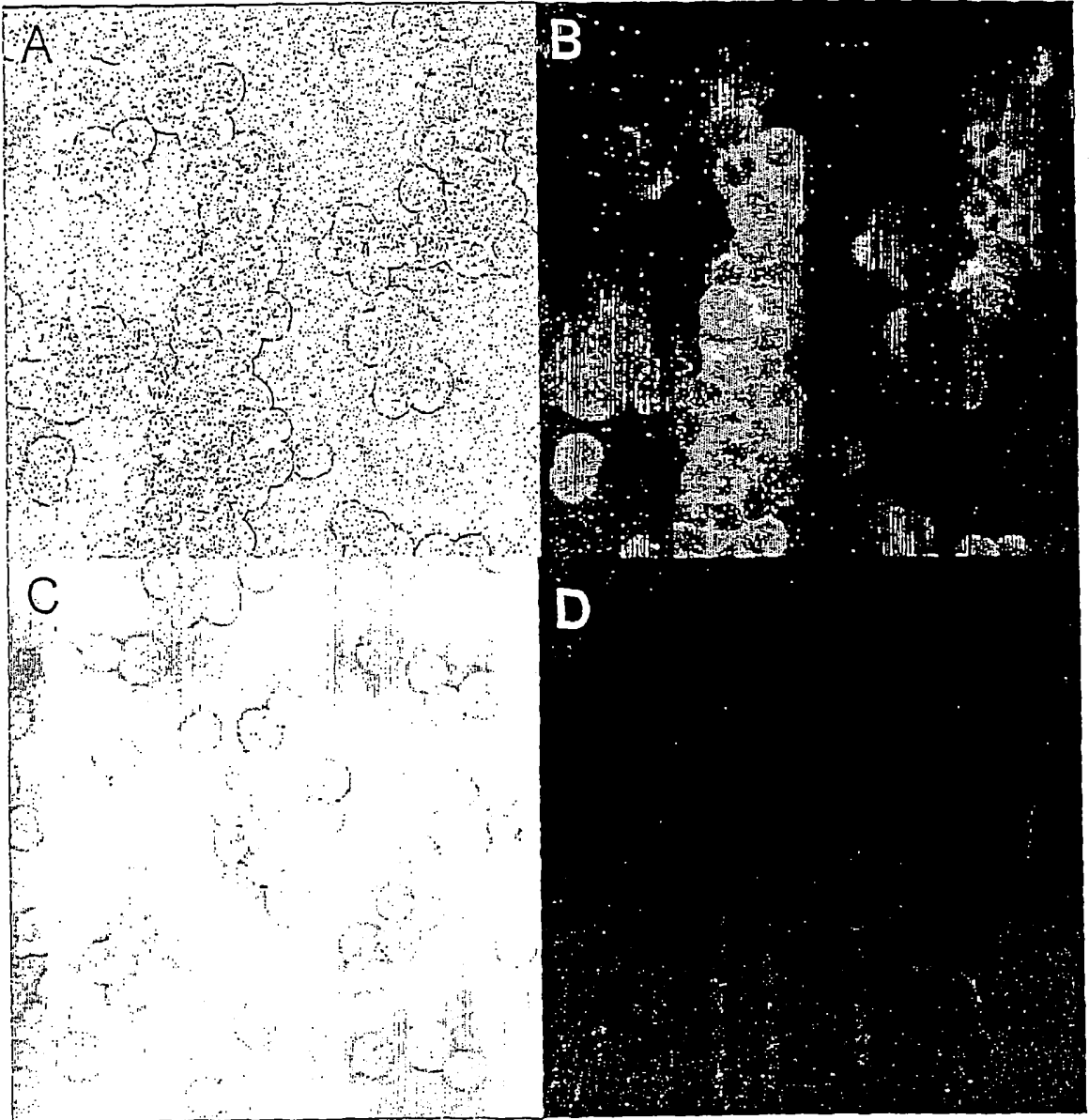
Obr. 7 A

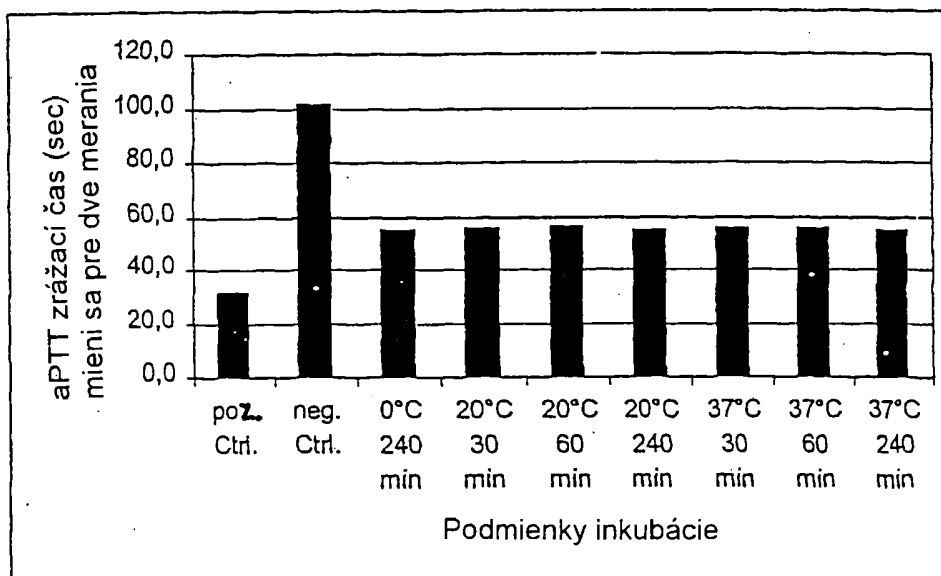


Obr. 7 B

8/10

Obr. 8





10/10

Obr. 10

