



(19)  
Bundesrepublik Deutschland  
Deutsches Patent- und Markenamt

(10) **DE 694 34 431 T2** 2006.05.24

(12) **Übersetzung der europäischen Patentschrift**

(97) **EP 0 703 785 B1**

(21) Deutsches Aktenzeichen: **694 34 431.1**

(86) PCT-Aktenzeichen: **PCT/US94/05083**

(96) Europäisches Aktenzeichen: **94 916 690.4**

(87) PCT-Veröffentlichungs-Nr.: **WO 94/026298**

(86) PCT-Anmeldetag: **06.05.1994**

(87) Veröffentlichungstag

der PCT-Anmeldung: **24.11.1994**

(97) Erstveröffentlichung durch das EPA: **03.04.1996**

(97) Veröffentlichungstag

der Patenterteilung beim EPA: **20.07.2005**

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

(51) Int Cl.<sup>8</sup>: **A61K 38/16** (2006.01)  
**A61P 21/00** (2006.01)

(30) Unionspriorität:

**59022**                      **06.05.1993**      **US**

**209204**                     **08.03.1994**      **US**

(73) Patentinhaber:

**Acorda Therapeutics, Inc., Hawthorne, N.Y., US**

(74) Vertreter:

**Vossius & Partner, 81675 München**

(84) Benannte Vertragsstaaten:

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

(72) Erfinder:

**SKLAR, Robert, Newton, US; MARCHIONNI, Mark,  
Arlington, US; GWYNNE, I., David, Beverly, US**

(54) Bezeichnung: **METHODEN ZUR BEHANDLUNG VON MUSKELERKRANKUNGEN UND MUSKELSTÖRUNGEN**

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

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

### Beschreibung

**[0001]** Die vorliegende Erfindung betrifft eine prophylaktische oder tatsächliche Behandlung von Krankheiten und Fehlfunktionen der Muskulatur durch Verabreichung von Polypeptiden, die in Wirbeltierarten vorkommen, wobei diese Polypeptide Wachstums-, Differenzierungs- und Überlebensfaktoren für Muskelzellen sind.

**[0002]** Muskelgewebe regeneriert sich in erwachsenen Wirbeltieren aus Reserve-Myoblasten, die Satellitenzellen genannt werden. Satellitenzellen sind im ganzen Muskelgewebe verteilt und befinden sich in einem mitotischen Ruhezustand, solange keine Verletzung oder Krankheit vorliegt. Nach einer Muskelverletzung oder während der Genesung von einer Krankheit treten die Satellitenzellen wieder in den Zellzyklus ein, proliferieren und 1) dringen in vorliegende Muskelfasern ein oder 2) durchlaufen eine Differenzierung zu mehrkernigen Myotubuli, die neue Muskelfasern bilden. Die Myoblasten ergeben schließlich Ersatzmuskelfasern oder fusionieren mit vorliegenden Muskelfasern, wodurch der Umfang der Fasern durch die Synthese von Komponenten des kontraktile Apparats vergrößert wird. Dieser Prozess wird z.B. durch die nahezu vollständige Regeneration verdeutlicht, die in Säugern nach einer induzierten Muskelfaserdegeneration zustande kommt; die Muskel-Vorläuferzellen proliferieren und fusionieren miteinander, wodurch die Muskelfasern regeneriert werden.

**[0003]** Verschiedene Wachstumsfaktoren wurden identifiziert, die die Proliferation und Differenzierung von erwachsenen (und embryonalen) Myoblasten in vitro regulieren. Der Fibroblasten-Wachstumsfaktor (FGF) ist für Muskelzellen mitogen und stellt einen Hemmstoff der Muskeldifferenzierung dar. Der transformierende Wachstumsfaktor  $\beta$  (TGF $\beta$ ) hat keine Wirkung auf die Proliferation von Myoblasten, ist jedoch ein Inhibitor der Muskeldifferenzierung. Für Insulin-ähnliche Wachstumsfaktoren (IGFs) wurde gezeigt, dass sie sowohl die Proliferation als auch die Differenzierung von Myoblasten in Nagern stimulieren. Der aus Blutplättchen stammende Wachstumsfaktor (PDGF) ist auch für Myoblasten mitogen und stellt einen wirksamen Inhibitor der Muskelzellendifferenzierung dar, vgl. Florini und Magri, 256: C701–C711, 1989.

**[0004]** In Wirbeltierarten können Faktoren, die die Proliferation und Differenzierung von Myoblasten stimulieren, möglicherweise sowohl aus Muskelgewebe als auch aus Neuronen stammen. Bei Krankheiten, die das neuromuskuläre System beeinträchtigen und die neuralen Ursprungs (d.h. neurogen) sind, wird das durch den betroffenen Nerv innervierte Muskelgewebe paralytisiert und verfällt immer mehr. Während einer Regeneration und Genesung von peripheren Nerven von einer neurologischen und myopathischen Krankheit können aus Neuronen Wachstumsfaktoren hervorgehen, welche die vorstehend beschriebene Muskelregeneration zustande bringen und einen Mechanismus für die Genesung des Muskels von Verfall und Atrophie bereitstellen.

**[0005]** Eine kürzlich beschriebene Familie von Wachstumsfaktoren, die Neureguline, werden durch motorische Neuronen (Marchionni et al., Nature 362: 313, 1993) und Entzündungszellen synthetisiert (Tarakhovskiy et al., Oncogene 6: 2187–2196, 1991). Die Neureguline und verwandte p185<sup>erbB2</sup>-bindende Faktoren wurden gereinigt, kloniert und exprimiert (Benveniste et al., PNAS 82: 3930–3934, 1985; Kimura et al., Nature 348: 257–260, 1990; Davis und Stroobant, J. Cell Biol. 110: 1353–1360, 1990; Wen et al., Cell 69: 559, 1992; Yarden und Ullrich, Ann. Rev. Biochem. 57: 443, 1988; Holmes et al., Science 256: 1205, 1992; Dobashi et al., Proc. Natl. Acad. Sci. 88: 8582, 1991; Lupu et al., Proc. Natl. Acad. Sci. 89: 2287, 1992). Für rekombinante Neureguline wurde gezeigt, dass sie für periphere Glia mitogen sind (Marchionni et al., Nature 362: 313, 1993), außerdem wurde für sie gezeigt, dass sie die Bildung der motorischen Endplatte beeinflussen (Falls et al., Cell 72: 801, 1993). Somit stellen das regenerierende Neuron und die Entzündungszellen, die mit der Genesung von einer neurogenen Krankheit und Nervenverletzung assoziiert sind, Faktoren bereit, welche die Remyelinierung von motorischen Neuronen und ihre Fähigkeit koordinieren, die geeignete Verbindung mit ihrem Ziel zu bilden. Nachdem der Muskel wieder innerviert wurde, kann das motorische Neuron Faktoren für den Muskel bereitstellen, welche das Wachstum und Überleben von Muskeln stimulieren.

**[0006]** Zurzeit gibt es keine geeignete Therapie, mit der die Differenzierung und das Überleben von Muskeln unterstützt werden kann. Eine solche Therapie wäre für die Behandlung von verschiedenartigen neuralen und muskulären Krankheiten und Fehlfunktionen geeignet.

**[0007]** Wir haben entdeckt, dass eine gesteigerte Mitogenese, Differenzierung und ein gesteigertes Überleben von Muskelzellen unter Verwendung von Proteinen erreicht werden können, die bisher als Glia-Wachstumsfaktoren, Acetylcholin-Rezeptor-induzierende Aktivität (ARIA), Hereguline, Neu-Differenzierungsfaktor und allgemeiner als Neureguline beschrieben wurden. Wir haben entdeckt, dass diese Verbindungen in der Lage sind, sowohl die Proliferation von Muskelzellen als auch die Differenzierung und das Überleben von Myotubuli zu induzieren. Diese Phänomene können in Herzmuskelgewebe und in glattem Muskelgewebe und außerdem in Skelettmuskelgewebe vorkommen. Somit sind die vorstehenden Verbindungen, regulatorische Ver-

bindungen, welche die Synthese dieser Verbindungen induzieren, und kleine Moleküle, welche diese Verbindungen nachahmen, indem sie an die Rezeptoren auf dem Muskel binden oder indem sie auf andere Weise die Systeme der zweiten Messenger stimulieren, die durch den Ligand-Rezeptor-Komplex aktiviert werden, alle als prophylaktische und tatsächliche Therapien für Muskelkrankheiten außerordentlich nützlich.

**[0008]** Ein neuer Aspekt der Erfindung umfasst die Verwendung der vorstehend angesprochenen Proteine als Wachstumsfaktoren für die Herstellung eines Medikaments zur Behandlung oder Prophylaxe einer Krankheit oder Fehlfunktion der Muskulatur durch Steigerung von Mitogenese, Überleben, Wachstum und Differenzierung von Muskelzellen. Die Behandlung der Muskelzellen, so dass diese Effekte erreicht werden, kann erfolgen, indem Muskelzellen mit einem hier beschriebenen Polypeptid in Kontakt gebracht werden. Die Verwendung kann bereitgestellt werden, um den Netto-Muskelverlust zu verlangsamen und aufzuhalten oder um die Menge und Qualität der in einem Wirbeltier vorliegenden Muskeln zu erhöhen.

**[0009]** Diese Faktoren können verwendet werden, um die Mitogenese, die Differenzierung und das Überleben von Muskelzellen in einem Wirbeltier (vorzugsweise einem Säuger, stärker bevorzugt einem Menschen) zu erreichen, indem eine wirksame Menge eines Polypeptids oder einer verwandten Verbindung verwendet wird. Neuregulin-Effekte auf einen Muskel können z.B. erfolgen, indem eine Zunahme der Muskelleistung bewirkt wird, indem die Synthese von bestimmten Isoformen des kontraktile Apparats induziert wird, z.B. der langsamen und schnellen Isoformen der schweren Kette des Myosins; indem das Überleben von Muskelfasern durch die Induktion der Synthese von Schutzmolekülen, z.B., jedoch nicht beschränkt auf Dystrophin, gefördert wird; und/oder indem die Muskelinnervation gesteigert wird, z.B. durch Vermehren von Acetylcholin-Rezeptor-Molekülen an der motorischen Endplatte.

**[0010]** Der hier verwendete Begriff Muskelzelle bezieht sich auf eine beliebige Zelle, die zum Muskelgewebe beiträgt. Myoblasten, Satellitenzellen, Myotubuli und Myofibrillengewebe sind alle im Begriff „Muskelzellen“ enthalten und können alle unter Verwendung der Verfahren der Erfindung behandelt werden. Die Effekte auf Muskelzellen können innerhalb von Skelettmuskeln, Herzmuskeln oder glatten Muskeln induziert werden.

**[0011]** Die Mitogenese kann in Muskelzellen, umfassend Myoblasten oder Satellitenzellen des Skelettmuskels, glatten Muskels oder Herzmuskels induziert werden. Mitogenese bezieht sich in der Verwendung hier auf eine beliebige Zellteilung, die im Patienten zur Produktion von neuen Muskelzellen führt. Insbesondere ist Mitogenese in vitro als eine Zunahme des Mitose-Indexes im Vergleich zu unbehandelten Zellen von 50 %, stärker bevorzugt von 100 %, und am stärksten bevorzugt von 300 %, definiert, wenn die Zellen einem Markierungsmittel eine Zeit ausgesetzt werden, die zwei Verdopplungszeiten entspricht. Der Mitose-Index ist die Fraktion von Zellen in Kultur, die markierte Kerne aufweisen, wenn sie in Gegenwart einer Markierungs-substanz gezüchtet werden, die nur während der S-Phase eingebaut wird (d.h. BrdU), und die Verdopplungszeit ist als die durchschnittliche Zeit definiert, die erforderlich ist, dass die Zellzahl in der Kultur um einen Faktor zwei zunimmt).

**[0012]** Eine Wirkung auf die Mitogenese in vivo ist als eine Steigerung der Aktivierung von Satellitenzellen definiert, die durch das Auftreten von markierten Satellitenzellen im Muskelgewebe eines Säugers gemessen wird, der einer Markierungs-substanz ausgesetzt wird, die nur während der S-Phase eingebaut wird (d.h. BrdU). Ein geeignetes Therapeutikum ist als eine Verbindung definiert, die bei einer in vivo-Verabreichung die Aktivierung von Satellitenzellen im Vergleich zu einem Kontrollsäuger um mindestens 10 %, stärker bevorzugt um mindestens 50 % und am stärksten bevorzugt um mehr als 200 % steigert, wenn der Säuger einem Markierungsmittel einen Zeitraum ausgesetzt wird, der größer als 15 Minuten ist, und die Gewebe zwischen zehn Stunden und 24 Stunden nach der Verabreichung des Mitogens in der therapeutischen Dosis getestet werden. Andererseits kann die Aktivierung von Satellitenzellen in vivo nachgewiesen werden, indem das Auftreten des intermediären Filaments Vimentin durch immunologische Methoden oder RNA-Analyse-Verfahren überwacht wird. Wenn Vimentin getestet wird, ist das geeignete Mitogen als eines definiert, das die Expression von nachweisbaren Spiegeln von Vimentin im Muskelgewebe bewirkt, wenn die therapeutisch wirksame Dosis bereitgestellt wird.

**[0013]** Myogenese bezieht sich in der Verwendung hier auf eine beliebige Fusion von Myoblasten, so dass Myotubuli entstehen. Am stärksten bevorzugt ist ein Effekt auf die Myogenese als eine Zunahme in der Fusion von Myoblasten und das Inkrafttreten des Muskel-Differenzierungsprogramms definiert. Das geeignete myogene Therapeutikum ist als ein Polypeptid definiert, das eine beliebige Zunahme des Fusions-Indexes in vitro bewirkt. Stärker bevorzugt bewirkt das Polypeptid mindestens eine 2,0-fache Zunahme, und am stärksten bevorzugt bewirkt die Verbindung eine dreifache oder größere Zunahme des Fusions-Indexes im Vergleich zur Kontrolle. Der Fusions-Index ist als die Fraktion von Kernen definiert, die in mehrkernigen Zellen in der Kultur

im Vergleich zur Gesamtzahl der in der Kultur vorliegenden Kerne vorhanden ist. Die vorstehend angegebenen prozentualen Anteile beziehen sich auf Zellen, die nach sechs Tagen Kontakt mit dem myogenen Polypeptid getestet wurden, und stellen einen Vergleich zu einer unbehandelten Kontrolle dar. Die Myogenese kann auch bestimmt werden, indem die Zahl von Kernen pro Bereich in Myotubuli ermittelt wird oder indem die Spiegel eines Muskel-spezifischen Proteins durch Western-Analyse gemessen werden. Vorzugsweise bewirkt das Polypeptid unter Verwendung des z.B. hier bereitgestellten Tests mindestens eine 2,0-fache Zunahme der Dichte der Myotubuli, und am stärksten bevorzugt bewirkt das Polypeptid eine dreifache oder größere Zunahme.

**[0014]** Das Muskelwachstum kann durch die Zunahme in der Fasergröße und/oder durch die Steigerung der Zahl der Fasern erfolgen. Das Muskelwachstum kann in der Verwendung hier durch A) eine Zunahme des Feuchtgewichts, B) eine Zunahme des Proteingehalts, C) eine Zunahme der Zahl der Muskelfasern oder D) eine Zunahme des Durchmessers der Muskelfasern gemessen werden. Eine Zunahme des Wachstums einer Muskelfaser kann als eine Zunahme im Durchmesser definiert sein, wobei der Durchmesser als die kleinere Achse der Ellipse des Querschnitts definiert ist. Das geeignete Therapeutikum ist eines, welches das Feuchtgewicht, den Proteingehalt und/oder den Durchmesser um 10 % oder mehr, stärker bevorzugt um mehr als 50 % und am stärksten bevorzugt um mehr als 100 % in einem Tier steigert, dessen Muskeln vorher um mindestens 10 % degeneriert waren, wobei dies im Vergleich zu einem ähnlich behandelten Kontrolltier gilt (d.h. einem Tier mit degeneriertem Muskelgewebe, das nicht mit der Muskelwachstumsverbindung behandelt wird). Eine Verbindung, die das Wachstum steigert, indem sie die Zahl der Muskelfasern erhöht, ist als Therapeutikum nützlich, wenn sie die Zahl der Fasern in dem erkrankten Gewebe um mindestens 1 %, stärker bevorzugt um mindestens 20 %, und am stärksten bevorzugt um mindestens 50 % erhöht. Diese prozentualen Anteile werden mit Bezug auf den Basiswert in einem vergleichbaren unbehandelten, nicht erkrankten Säuger oder in dem kontralateralen, nicht erkrankten Muskel bestimmt, wenn das Polypeptid verabreicht wird und lokal wirkt.

**[0015]** Der hier verwendete Begriff Überleben von Muskelfasern bezieht sich auf die Prophylaxe eines Verlusts von Muskelfasern, der durch Nekrose oder Apoptose deutlich wird, oder auf die Prophylaxe anderer Mechanismen des Muskelfaserverlusts. Das Überleben zeigt in der Verwendung hier eine Abnahme in der Rate des Zelltods von mindestens 10 %, stärker bevorzugt von mindestens 50 % und am stärksten bevorzugt von mindestens 300 % im Vergleich zu einer unbehandelten Kontrolle. Die Überlebensrate kann gemessen werden, indem die Zellen, die mit einem für tote Zellen spezifischen Farbstoff angefärbt werden können (z.B. Propidiumiodid), in Kultur gezählt werden, wenn die Zellen sich acht Tage nach der Differenzierung befinden (d.h. acht Tage nach Wechsel des Mediums von 20 % zu 0,5 % Serum).

**[0016]** Die Muskelregeneration bezieht sich in der Verwendung hier auf den Prozess, durch den sich neue Muskelfasern aus Muskel-Vorläuferzellen bilden. Das geeignete Therapeutikum zur Regeneration bewirkt eine Zunahme der Zahl neuer Fasern um mindestens 1 %, stärker bevorzugt um mindestens 20 % und am stärksten bevorzugt um mindestens 50 %, wie vorstehend definiert.

**[0017]** Die Differenzierung von Muskelzellen bezieht sich in der Verwendung hier auf die Induktion eines Muskelentwicklungs-Programms, das spezifisch die Komponenten der Muskelfaser wie den kontraktile Apparat (die Myofibrille) betrifft. Das für die Differenzierung geeignete Therapeutikum erhöht die Menge einer beliebigen Komponente der Muskelfasern in dem erkrankten Gewebe um mindestens 10 % oder mehr, stärker bevorzugt um 50 % oder mehr und am stärksten bevorzugt um mehr als 100 % im Vergleich zu dem gleichwertigen Gewebe in einem ähnlich behandelten Kontrolltier.

**[0018]** Die Atrophie eines Muskels bezieht sich in der Verwendung hier auf einen signifikanten Verlust an Umfang der Muskelfaser. Mit einer signifikanten Atrophie ist eine Reduktion des Muskelfaser-Durchmessers in einem erkrankten, verletzten oder ungenutzten Muskelgewebe von mindestens 10 % im Vergleich zu einem nicht erkrankten, unverletzten oder normal genutzten Gewebe gemeint.

**[0019]** Wir beabsichtigen die Verwendung der hier beschriebenen Polypeptide für die Herstellung eines Medikaments zur Behandlung von Krankheiten oder Fehlfunktionen. Beispiele von muskulären Fehlfunktionen, die behandelt werden können, umfassen Krankheiten und Fehlfunktionen von Skelettmuskeln, z.B. Myopathien, Dystrophien, neuromuskuläre Leitungsstörungen, traumatische Muskelverletzungen und Nervenverletzungen. Außerdem können auch Erkrankungen des Herzmuskels, z.B. Kardiomyopathien, ischämische Schäden, kongenitale Krankheiten und traumatische Verletzungen, ferner Krankheiten und Fehlfunktionen der glatten Muskulatur, z.B. Arteriosklerose, Gefäßverletzungen und kongenitale Gefäßerkrankungen, unter Verwendung unserer Verfahren behandelt werden. Z.B. sind die Duchenne-Muskeldystrophie, Becker-Dystrophie und Myasthenia gravis nur drei der Krankheiten, die unter Verwendung der Verfahren der Erfindung behandelt werden können.

**[0020]** Außerdem beabsichtigen wir die Prophylaxe oder Behandlung eines Tumors, der von Muskelzellen stammt, z.B. eines Rhabdomyosarkoms. Dies kann die Verabreichung einer wirksamen Menge einer Substanz umfassen, die die Bindung von einem oder mehreren der hier beschriebenen Polypeptide hemmt, wodurch die Proliferation der Zellen gehemmt wird, die am Tumor beteiligt sind.

**[0021]** Wir nutzen die Tatsache aus, dass die Neuregulin-Proteine durch das gleiche Gen codiert werden. Aus diesem Gen werden verschiedene Messenger-RNA-Spleiß-Varianten (und ihre resultierenden Proteine) hergeleitet, und viele dieser Produkte zeigen die Bindung an P185<sup>ergB2</sup> sowie die Aktivierung davon. Wir haben Produkte dieses Gens eingesetzt, um die mitogene Aktivität (vgl. die nachstehenden Beispiele 1 und 2), die Differenzierung (Beispiele 3 und 6) und das Überleben (Beispiele 4 und 5) von Muskelzellen zu zeigen. Wir stellen eine Verwendung von Produkten des Neuregulin-Gens bereit (hier und in der vorstehend angegebenen Referenzlisten beschrieben), welche die angegebenen Aktivitäten als Muskelzellmitogene, Differenzierungsfaktoren und Überlebensfaktoren besitzen. Am stärksten bevorzugt wird das rekombinante menschliche GGF2 (rhGGF2) verwendet.

**[0022]** Außerdem beabsichtigen wir die Verwendung von anderen, bisher noch nicht aus der Natur isolierten Spleißvarianten des Neuregulin-Gens. [Fig. 29](#) zeigt die bekannten Spleißmuster. Diese Muster stammen aus Polymerasekettenreaktions-Experimenten (auf revers transkribierter RNA), der Analyse von cDNA-Clonen (wie hier präsentiert) und der Analyse von veröffentlichten Sequenzen, die Neureguline codieren (Peles et al., Cell 69: 205, 1992; und Wen et al., Cell 69: 559, 1992). Diese Muster und weitere hier beschriebene Muster stellen mögliche Spleißvarianten dar, die existieren. Die Spleißvarianten werden vollständig beschrieben in Goodearl et al., USSN 08/036 555, angemeldet am 24. März 1993, hier durch Bezugnahme eingeschlossen.

**[0023]** Insbesondere können Zellteilung, Überleben, Differenzierung und Wachstum von Muskelzellen erreicht werden, indem Muskelzellen mit einem Polypeptid in Kontakt gebracht werden, das durch die Formel WBAZCX

definiert ist, wobei WBAZCX aus den Polypeptidsegmenten zusammengesetzt ist, die in [Fig. 30](#) dargestellt sind (SEQ ID NO: 132, 134, 135, 137–139, 156); wobei W das Polypeptidsegment F umfasst oder fehlt; wobei Z das Polypeptidsegment G umfasst oder fehlt; und wobei X das Polypeptidsegment C/D HKL, C/D H, C/D HL, C/D D, C/D' HL, C/D' HKL, C/D' H, C/D' D, C/D C/D' HKL, C/D C/D' H, C/D C/D' HL, C/D C/D' D, C/D D' H, C/D D' HL, C/D D' HKL, C/D' D' H, C/D' D' HL, C/D' D' HKL, C/D C/D' D' H, C/D C/D' D' HL oder C/D C/D' D' HKL umfasst, und/oder indem Muskelzellen mit einem Polypeptid in Kontakt gebracht werden, das durch die Formel YBAZCX

definiert ist, wobei YBAZCX aus den Polypeptidsegmenten zusammengesetzt ist, die in [Fig. 30](#) dargestellt sind (SEQ ID NO: 133–135, 156, 159); wobei Y das Polypeptidsegment E umfasst oder fehlt; wobei Z das Polypeptidsegment G umfasst oder fehlt; und wobei X das Polypeptidsegment C/D HKL, C/D H, C/D HL, C/D D, C/D' HL, C/D' HKL, C/D' H, C/D' D, C/D C/D' HKL, C/D C/D' H, C/D C/D' HL, C/D C/D' D, C/D D' H, C/D D' HL, C/D D' HKL, C/D' D' H, C/D' D' HL, C/D' D' HKL, C/D C/D' D' H, C/D C/D' D' HL oder C/D C/D' D' HKL umfasst.

**[0024]** Im Allgemeinen beginnt der N-Terminus der vorstehend beschriebenen Polypeptide entweder mit dem Polypeptidsegment F oder mit dem Polypeptidsegment E. Wenn das Polypeptid F vorliegt, kann es bei der Reifung des Proteins gespalten werden, so dass das reife Polypeptid erhalten wird. Wenn die Sequenz E vorliegt, können die ersten 50 Aminosäuren, die die N-terminale Signalsequenz darstellen, in den Polypeptiden fehlen.

**[0025]** Außerdem beabsichtigen wir die Verwendung eines Polypeptids für die Herstellung eines Medikaments zur Behandlung oder Prophylaxe einer Krankheit oder Fehlfunktion der Muskulatur durch Steigerung von Mitogenese, Wachstum, Differenzierung oder Überleben einer Muskelzelle, wobei das Polypeptid an Rezeptoren bindet und Systeme der zweiten Messenger der Muskelzelle aktiviert, wobei das Polypeptid ausgewählt ist aus:

einem 35 kD Polypeptidfaktor, der aus der transformierten I-EJ-Ratten-Fibroblastenzelllinie auf die Gliazelle isoliert wurde; oder

einem 75 kD Polypeptidfaktor, der aus der menschlichen SKBR-3-Brustzelllinie isoliert wurde; oder

einem 44 kD Polypeptidfaktor, der aus der transformierten I-EJ-Ratten-Fibroblastenzelllinie isoliert wurde; oder

einem 25 kD Polypeptidfaktor, der aus aktivierten peritonealen Makrophagen der Maus isoliert wurde; oder

einem 45 kD Polypeptidfaktor, der aus der menschlichen MDA-MB-231-Brustzelle isoliert wurde; oder

einem 7 bis 14 kD Polypeptidfaktor, der aus der menschlichen T-Zelllinie ATL-2 auf die Gliazelle isoliert wurde; oder

einem 25 kD Polypeptidfaktor, der aus den Rindernierenzellen isoliert wurde; oder

ARIA-Polypeptid; oder

einem Polypeptid, umfassend G6FIII; oder

einem 42 kD ARIA-Polypeptidfaktor, der aus Gehirn isoliert wurde;  
 einem 46 bis 47 kD Polypeptidfaktor, der 0-2A-Glia-Vorläuferzellen stimuliert; oder  
 einem 43 bis 45 kD Polypeptidfaktor, GGFIII 175, US-Patentanmeldung Seriennummer 07/931 041, eingereicht am 17. August 1992, hier durch Bezugnahme eingeschlossen.

**[0026]** Weiterhin beabsichtigen wir die Verwendung der Polypeptide EGFL1, EGFL2, EGFL3, EGFL4, EGFL5 und EGFL6, [Fig. 37](#) bis [Fig. 42](#) und SEQ ID Nrn. 150 bis 155, für die Behandlung von Muskelzellen in vivo und in vitro.

**[0027]** Außerdem ist die Verabreichung des Polypeptids GGF2, dessen Sequenz in **Fig. 44** dargestellt ist, für die Behandlung von Muskelzellen enthalten.

**[0028]** Andere wichtige Aspekte unserer Beschreibung sind die Verwendung, wie vorstehend definiert, von:  
 a) einer Reihe von menschlichen und Rinder-Polypeptidfaktoren, die eine zellmitogene Aktivität besitzen, umfassend das Stimulieren der Teilung von Muskelzellen. Diese Peptidsequenzen sind in den **Fig. 30, 31, 32** bzw. **33** und SEQ ID Nrn. 132–133 dargestellt.

**[0029]** Die Verwendung der Polypeptide bei der Herstellung eines Medikaments für Behandlungen von Muskelzellen kann auch durch die Verwendung einer DNA erreicht werden, welche die vorstehend beschriebenen Polypeptidverbindungen in einem exprimierbaren genetischen Konstrukt codiert. Die das Polypeptid codierende DNA kann an den Patienten anhand von Verfahren zur Abgabe von DNA an die Zellen verabreicht werden, die dem Fachmann bekannt sind. Z.B. können Retrovirus-Vektoren, Elektroporation oder Liposomen verwendet werden, um die DNA abzugeben.

**[0030]** Wir beabsichtigen die Verwendung der vorstehend angesprochenen Familie von Proteinen, die aus natürlichen Quellen (Gewebe oder Zelllinien) extrahiert wurden oder die durch rekombinante Verfahren hergestellt wurden.

**[0031]** Auch andere Peptide, die spezifisch an den p185<sup>erbB2</sup>-Rezeptor binden, können gemäß unseren Anweisungen als Muskelzell-Mitogene verwendet werden. Ein als Kandidat geeignetes Polypeptid kann routinemäßig auf eine p185<sup>erbB2</sup>-Bindung durchgemustert werden, und, wenn es bindet, kann es anschließend unter Verwendung der hier beschriebenen Verfahren auf eine gliazellmitogene Aktivität durchgemustert werden.

**[0032]** Außerdem beabsichtigen wir die Verwendung beliebiger Modifikationen oder Äquivalente der vorstehenden Polypeptidfaktoren, die keine signifikant reduzierte Aktivität aufweisen. Z.B. sind Modifikationen enthalten, bei denen der Aminosäuregehalt oder die Aminosäuresequenz verändert ist, ohne dass die Aktivität wesentlich negativ beeinflusst wird. Die hier enthaltenen Feststellungen zur Wirkung und Verwendung müssen somit entsprechend ausgelegt werden, wobei eine solche Verwendung und Wirkung beim Einsatz von modifizierten oder äquivalenten Faktoren einen Teil der Erfindung darstellen.

**[0033]** Die menschlichen Peptidsequenzen, die vorstehend beschrieben und in den **Fig. 30, 31, 32** bzw. **33** und in den SEQ ID NOS: 132 bis 146 angegeben sind, stellen eine Reihe von Spleißvarianten dar, die durch den Fachmann als komplementäre DNAs der vollen Länge (cDNAs) aus natürlichen Quellen (cDNA-Banken, hergestellt aus den geeigneten Geweben) isoliert oder als DNA-Konstrukte mit einzelnen Exons (z.B. hergeleitet als getrennte Exons) zusammengesetzt werden können.

**[0034]** Das Medikament der vorliegenden Erfindung wird hergestellt, indem das Polypeptid zusammen mit einem pharmazeutisch wirksamen Träger, gegebenenfalls zusammen mit einem verträglichen Verdünnungsmittel, Träger oder Excipiens und/oder in Einheitsdosierungsform verabreicht wird. Bei Verwendung der Faktoren können herkömmliche pharmazeutische oder tiermedizinische Verfahren eingesetzt werden, um geeignete Formulierungen oder Zusammensetzungen bereitzustellen.

**[0035]** So können die zu verwendenden Formulierungen als parenterale Verabreichung verwendet werden, z.B. als intravenöse, subkutane, intramuskuläre, intraorbitale, ophthalmische, intraventrikuläre, intrakraniale, intrakapsuläre, intraspinale, intrazisternale, intraperitoneale, topische, intranasale, Aerosol-, Skarifikations- und auch orale, bukkale, rektale oder vaginale Verabreichung.

**[0036]** Die Formulierungen der vorliegenden Erfindung können auch durch Transplantation von Wirtszellen, welche die DNA exprimieren, die Polypeptide codiert, die für den Zweck wirksam sind, in den Patienten oder durch die Verwendung von chirurgischen Implantaten verabreicht werden, welche die Formulierungen der Er-

findung freisetzen.

**[0037]** Parenterale Formulierungen können in Form von flüssigen Lösungen oder Suspensionen vorliegen; für eine orale Verabreichung können die Formulierungen in Form von Tabletten oder Kapseln vorliegen; und für intranasale Formulierungen können sie in Form von Pulvern, Nasentropfen oder Aerosolen vorliegen.

**[0038]** Verfahren zur Herstellung von Formulierungen, die dem Fachmann bekannt sind, finden sich z.B. in „Remington's Pharmaceutical Sciences“. Formulierungen für die parenterale Verabreichung können z.B. als Excipienten steriles Wasser oder Kochsalzlösung, Polyalkylenglykole, z.B. Polyethylenglykol, Öle pflanzlichen Ursprungs oder hydrierte Naphthaline enthalten, biologisch verträgliche, biologisch abbaubare Lactid-Polymere oder Polyoxyethylen-Polyoxypropylen-Copolymere eingesetzt werden, um die Freisetzung der vorliegenden Faktoren zu steuern. Andere möglicherweise geeignete parenterale Freisetzungssysteme für die Faktoren umfassen Ethylen-Vinylacetat-Copolymer-Partikel, osmotische Pumpen, implantierbare Infusionssysteme und Liposomen. Formulierungen für die Inhalation können als Excipienten z.B. Lactose enthalten, oder sie können wässrige Lösungen darstellen, die z.B. Polyoxyethylen-9-laurylether, Glykocholat und Desoxychololat enthalten, oder sie können ölige Lösungen für die Verabreichung in Form von Nasentropfen oder als ein intranasal zu verabreichendes Gel sein. Formulierungen für die parenterale Verabreichung können auch für eine bukkale Verabreichung Glykocholat, für eine rektale Verabreichung Methoxysalicylat oder für eine vaginale Verabreichung Citronensäure enthalten.

**[0039]** Die vorliegenden Faktoren können als die einzigen Wirkstoffe eingesetzt werden, oder sie können in Kombination mit anderen aktiven Bestandteilen verwendet werden, z.B. anderen Wachstumsfaktoren, die das Überleben von Nervenzellen bei neurologischen Krankheiten verbessern könnten, oder Peptidase- oder Protease-Inhibitoren.

**[0040]** Die Konzentration der vorliegenden Faktoren in den Formulierungen der Erfindung variiert abhängig von einer Reihe von Punkten, umfassend die zu verabreichende Dosierung und die Verabreichungsrouten.

**[0041]** Allgemein gesagt können die Faktoren in einer wässrigen physiologischen Pufferlösung bereitgestellt werden, die für eine parenterale Verabreichung etwa 0,1 bis 10 % (Gew./Vol.) der Verbindung enthält. Die allgemeinen Dosisbereiche liegen bei etwa 1 mg/kg bis etwa 1 g/kg Körpergewicht pro Tag; ein bevorzugter Dosisbereich liegt bei etwa 0,01 mg/kg bis 100 mg/kg Körpergewicht pro Tag. Die bevorzugte Dosierung, die verabreicht werden soll, hängt wahrscheinlich vom Typ und dem Ausmaß der Progression des behandelten pathophysiologischen Zustands, dem Gesundheitszustand des Patienten insgesamt, der Zubereitung der Formulierung und der Verabreichungsrouten ab.

**[0042]** Obwohl dies keinen Teil der vorliegenden Erfindung darstellt, können die in den Verfahren der Erfindung genutzten Polypeptidfaktoren auch als Immunogene zum Herstellen von Antikörpern, z.B. monoclonalen Antikörpern, gemäß herkömmlichen Verfahren verwendet werden. Diese Antikörper können ihrerseits dann für therapeutische oder diagnostische Zwecke eingesetzt werden. So können Zustände, die möglicherweise mit Muskelkrankheiten assoziiert sind, die durch abnorme Spiegel des Faktors zustande kommen, unter Verwendung solcher Antikörper behandelt werden. In vitro-Verfahren können eingesetzt werden, wobei Tests an isolierten Proben unter Verwendung von Standardmethoden durchgeführt werden. Außerdem können bildgebende Verfahren verwendet werden, bei denen die Antikörper z.B. mit radioaktiven Isotopen markiert werden, die außerhalb des Körpers sichtbar gemacht werden können, wobei auch bekannte bildgebende Verfahren zum Tumornachweis verwendet werden können.

**[0043]** Die Bezeichnung „GGF2“ wird für alle Clone verwendet, die früher mit Peptidsequenzangaben isoliert wurden, die vom GGF-II-Protein stammten (d.h. GGF2HBS5, GGF2BPP3), und, wenn sie alleine steht (d.h. GGF2 oder rhGGF2), um ein rekombinantes menschliches Protein zu bezeichnen, das durch Plasmide codiert wird, die anhand von Peptidsequenzangaben isoliert wurden, die aus dem GGF-II-Protein stammten (d.h. wie in Insektenzellen aus dem Plasmid HBS5 produziert). Rekombinanter menschlicher GGF aus dem Clon GGFHBS5 wird mit GGF2-, rhGGF2- und GGF2HBS5-Polypeptid bezeichnet.

**[0044]** Eine Behandlung bedeutet in der Verwendung hier eine beliebige Verabreichung der hier beschriebenen Verbindungen für den Zweck, die Mitogenese, das Überleben und/oder die Differenzierung von Muskelzellen zu steigern und/oder die Muskelatrophie und -degeneration abzuschwächen. Am stärksten bevorzugt dient die Behandlung dem Zweck, die Symptome oder die Progression einer Krankheit oder Fehlfunktion der Muskelzellen zu reduzieren oder abzuschwächen. Der hier verwendete Begriff Behandlung bedeutet auch die Verabreichung der Verbindungen zur Steigerung oder Änderung der Muskelzellen in gesunden Individuen. Die



Behandlung kann auch erfolgen, indem die Muskelzellen, die gegenüber den hier beschriebenen Verbindungen empfindlich sind oder darauf ansprechen, mit einer wirksamen Menge der Verbindung, wie vorstehend beschrieben, in Kontakt gebracht werden. Inhibitoren der hier beschriebenen Verbindungen können auch eingesetzt werden, um Krankheiten mit einer Proliferation von Muskelzellen aufzuhalten oder zu verlangsamen.

**[0045]** Zuerst werden die Zeichnungen beschrieben.

**[0046]** [Fig. 1](#) ist eine grafische Darstellung, welche die Ergebnisse von rhGGF2 in einem Myoblast-Mitogenese-Test zeigt.

**[0047]** [Fig. 2](#) ist eine grafische Darstellung, welche die Wirkung von rhGGF2 auf die Zahl von Kernen in Myotubuli zeigt.

**[0048]** [Fig. 3](#) ist eine grafische Darstellung eines Überlebens-Tests, welcher die Wirkung von rhGGF2 auf das Überleben von differenzierten Myotubuli zeigt.

**[0049]** [Fig. 4](#) ist eine grafische Darstellung von Überlebens-Tests, welche die Wirkung von rhGGF2 auf differenzierte Myotubuli im Vergleich zu dem menschlichen aus Blutplättchen stammenden Wachstumsfaktor, dem menschlichen Fibroblasten-Wachstumsfaktor, dem menschlichen epidermalen Wachstumsfaktor, dem menschlichen Leukocyten-Hemmfaktor und den menschlichen Insulinähnlichen Wachstumsfaktoren I und II zeigen.

**[0050]** [Fig. 5](#) ist eine grafische Darstellung, welche das gesteigerte Überleben an Duchenne-Muskeldystrophie-Zellen in Gegenwart von rhGGF2 zeigt.

**[0051]** [Fig. 6](#) ist eine grafische Darstellung der gesteigerten Expression des menschlichen Wachstumsfaktors (hGH) in C2-Zellen aus einem hGH-Reporter-Gen unter der Kontrolle der transkriptionalen Kontrollelemente der AChR-Delta-Untereinheit. Diese Steigerung steht in Zusammenhang mit der Zugabe von GGF2 zu den Medien.

**[0052]** [Fig. 7](#) ist eine grafische Darstellung der gesteigerten hGH-Reporter-Synthese und Bungarotoxin (BTX)-Bindung an AChRs, welche auf die Zugabe von steigenden Mengen von GGF2 zu C2-Zellen folgen.

**[0053]** Die [Fig. 8](#), [9](#), [Fig. 10](#) und [Fig. 11](#) sind die Peptidsequenzen, hergeleitet von GGF-I und GGF-II, SEQ ID Nrn. 1 bis 20, 22 bis 29, 32 bis 50 und 165 (vgl. die nachstehenden Beispiele 11 bis 13).

**[0054]** [Fig. 9](#), Abbildung A, stellt die Sequenzen von GGF-I-Peptiden dar, die verwendet wurden, um degenerierte Oligonucleotid-Sonden zu entwerfen, wobei degenerierte PCR-Primer aufgelistet sind (SEQ ID Nrn. 1, 17 und 22 bis 29). Einige der Sequenzen in Abbildung A wurden auch verwendet, um synthetische Peptide zu entwerfen. In Abbildung B sind Sequenzen von neuen Peptiden aufgelistet, die für den Entwurf von degenerierten Sonden oder degenerierten PCR-Primern zu kurz waren (weniger als sechs Aminosäuren) (SEQ ID Nrn. 17 und 32).

**[0055]** [Fig. 11](#), Abbildung A, stellt eine Liste der Sequenzen von GGF-II-Peptiden dar, die zum Entwerfen von degenerierten Oligonucleotid-Sonden und degenerierten PCR-Primern verwendet wurden (SEQ ID Nrn. 42 bis 49). Einige der Sequenzen in Abbildung A wurden zum Entwerfen von synthetischen Peptiden verwendet. In Abbildung B ist das neue Peptid aufgelistet, das für das Entwerfen von degenerierten Sonden oder degenerierten PCR-Primern (SEQ ID Nr. 50) zu kurz war (weniger als sechs Aminosäuren).

**[0056]** Die [Fig. 12](#), [Fig. 13A](#), [Fig. 13B](#), [Fig. 14](#), [Fig. 15](#), [Fig. 16](#), [Fig. 17](#), [Fig. 18](#) und 19 betreffen das nachstehende Beispiel 8 und zeigen die mitogene Aktivität der Faktoren.

**[0057]** Die [Fig. 20](#), [Fig. 21](#), 22, [Fig. 23](#), [Fig. 24](#), [Fig. 25](#), [Fig. 26](#) und 27 betreffen das nachstehende Beispiel 10 und werden nachstehend kurz beschrieben:

**[0058]** In [Fig. 20](#) sind die degenerierten Oligonucleotid-Sonden (SEQ ID Nrn. 51 bis 84) aufgelistet, die aus den neuen Peptidsequenzen in [Fig. 7](#), Abbildung A, und [Fig. 9](#), Abbildung A, entworfen wurden.

**[0059]** [Fig. 21](#) (SEQ ID Nr. 85) zeigt einen Abschnitt der mutmaßlichen Rinder-GGF-II-Gensequenz aus dem rekombinanten genomischen Rinder-Phagen GGF2BG1, enthaltend die Bindungsstelle der degenerierten Oli-



gonucleotid-Sonden 609 und 650 (vgl. [Fig. 18](#), SEQ ID Nrn. 66 bzw. 69). Die Figur stellt den codierenden Strang der DNA-Sequenz und die hergeleitete Aminosäuresequenz im dritten Leseraster dar. Die Sequenz von Peptid 12 aus Faktor 2 (fett) ist Teil eines aus 66 Aminosäuren bestehenden offenen Leserasters (Nucleotide 75272).

**[0060]** [Fig. 22](#) stellt die degenerierten PCR-Primer (Abbildung A, SEQ ID Nrn. 86 bis 104) und die einmaligen PCR-Primer (Abbildung B, SEQ ID Nrn. 105 bis 115) dar, die in den Experimenten zur Isolierung von Segmenten der Rinder-GGF-II-codierenden Sequenzen verwendet wurden, die in RNA aus dem Hypophysenhinterlappen vorlagen.

**[0061]** [Fig. 23](#) zeigt die neun einzelnen benachbarten Rinder-GGF-II-cDNA-Strukturen und Sequenzen, die in PCR-Amplifikationsexperimenten erhalten wurden. Die obere Linie in der Figur ist eine schematische Darstellung der codierenden Sequenzen, die an den cDNA-Strukturen beteiligt sind, die charakterisiert wurden.

**[0062]** [Fig. 24](#) ist eine physikalische Karte des rekombinanten Rinder-Phagen von GGF2BG1. Das Rinderfragment hat eine Länge von etwa 20 kb und enthält zwei Exons (fett) des Rinder-GGF-II-Gens. Auf dieser physikalischen Karte wurden Restriktionsstellen für die Enzyme XbaI, SpeI, NdeI, EcoRI, KpnI und SstI lokalisiert. Die getönten Teile entsprechen Fragmenten, die für die Sequenzierung subcloniert wurden.

**[0063]** [Fig. 25](#) ist eine schematische Darstellung der Struktur der drei alternativen Genprodukte des mutmaßlichen Rinder-GGF-II-Gens. Die Exons sind als A bis E in der Reihenfolge ihrer Entdeckung angegeben. Die alternativen Spleißmuster 1, 2 und 3 erzeugen drei überlappende hergeleitete Proteinstrukturen (GGF2BPP1, 2 und 3), die in den verschiedenen [Fig. 27A](#), [Fig. 27B](#) und [Fig. 27C](#) angegeben sind (nachstehend beschrieben).

**[0064]** [Fig. 26](#) (SEQ ID Nrn. 116 bis 128) ist ein Vergleich der Sequenzen GGF-I und GGF-II, die in den hergeleiteten Proteinsequenzen identifiziert wurden, gezeigt in den [Fig. 27A](#), [Fig. 27B](#), [Fig. 27C](#) (nachstehend beschrieben), mit den neuen Peptidsequenzen, die in den [Fig. 9](#) und [Fig. 11](#) angegeben sind. Die Figur zeigt, dass sechs der neun neuen GGF-II-Peptidsequenzen in diesen hergeleiteten Proteinsequenzen zu finden sind. Außerdem liegen noch zwei Peptidsequenzen vor, die den GGF-I-Sequenzen ähnlich sind.

**[0065]** In [Fig. 27](#) (SEQ ID Nr. 129) sind die DNA-Sequenz des codierenden Strangs und die hergeleitete Aminosäuresequenz der cDNA angegeben, die aus dem Spleißmuster Nr. 1 in [Fig. 25](#) erhalten wurde. Diese partielle cDNA des mutmaßlichen Rinder-GGF-II-Gens codiert ein Protein mit einer Länge von 206 Aminosäuren. Die fett geschriebenen Peptide sind diejenigen, die aus den in den [Fig. 9](#) und [Fig. 11](#) dargestellten Listen identifiziert wurden. Mögliche Glycosylierungsstellen sind unterstrichen (zusammen mit dem Polyadenylierungssignal AATAAA).

**[0066]** In [Fig. 27](#) (SEQ ID Nr. 130) sind die DNA-Sequenz des codierenden Strangs und die hergeleitete Aminosäuresequenz der cDNA angegeben, die aus dem Spleißmuster Nr. 2 in [Fig. 25](#) erhalten wurde. Diese partielle cDNA des mutmaßlichen Rinder-GGF-II-Gens codiert ein Protein mit einer Länge von 281 Aminosäuren. Die fett geschriebenen Peptide sind diejenigen, die aus den in den [Fig. 7](#) und [Fig. 9](#) dargestellten Listen identifiziert wurden. Mögliche Glycosylierungsstellen sind unterstrichen (zusammen mit dem Polyadenylierungssignal AATAAA).

**[0067]** In [Fig. 27](#) (SEQ ID Nr. 131) sind die DNA-Sequenz des codierenden Strangs und die hergeleitete Aminosäuresequenz der cDNA angegeben, die aus dem Spleißmuster Nr. 3 in [Fig. 25](#) erhalten wurde. Diese partielle cDNA des mutmaßlichen Rinder-GGF-II-Gens codiert ein Protein mit einer Länge von 257 Aminosäuren. Die fett geschriebenen Peptide sind diejenigen, die aus den in den [Fig. 9](#) und [Fig. 11](#) dargestellten Listen identifiziert wurden. Mögliche Glycosylierungsstellen sind unterstrichen (zusammen mit dem Polyadenylierungssignal AATAAA).

**[0068]** [Fig. 28](#), die sich auf das nachstehende Beispiel 16 bezieht, stellt ein Autoradiogramm einer Kreuz-Hybridisierungs-Analyse von mutmaßlichen Rinder-GGF-II-Gensequenzen mit verschiedenen Säuger-DNAs auf einem Southern-Blot dar. Das Filter enthält verschiedene Bahnen mit der EcoRI-gespaltene DNA (5 µg pro Bahn) aus den in der Figur angegebenen Arten. Die Sonde weist in jeder DNA-Probe eine einzelne starke Bande nach, umfassend ein vier-Kilobasen-Fragment in der Rinder-DNA, wie aufgrund der physikalischen Karte in [Fig. 24](#) zu erwarten war. Außerdem werden noch Banden mit einer relativ schwachen Intensität festgestellt, die möglicherweise verwandte DNA-Sequenzen repräsentierten. Die stark hybridisierende Bande aus jeder der anderen Säuger-DNA-Proben repräsentiert vermutlich das GGF-II-Homologon dieser Arten.

[0069] [Fig. 29](#) ist eine schematische Darstellung von repräsentativen Spleißvarianten. Die codierenden Segmente sind durch F, E, B, A, G, C, C/D, C/D', D, D', H, K und L dargestellt. Die Lage der Peptidsequenzen, die von gereinigtem Protein hergeleitet wurden, sind durch „o“ bezeichnet.

[0070] In [Fig. 30](#) (SEQ ID Nrn. 136 bis 143, 156, 157, 169 bis 178) sind die DNA-Sequenzen und vorausgesagten Peptidsequenzen der codierenden Segmente von GGF aufgelistet. In Zeile 1 sind die vorausgesagten Aminosäuresequenzen des Rinder-GGF angegeben, in Zeile 2 sind die Nucleotidsequenzen des Rinder-GGF angegeben, in Zeile 3 sind die Nucleotidsequenzen des menschlichen GGF (Heregulin) angegeben (Übereinstimmungen in Nucleotidbasen sind durch eine senkrechte Linie bezeichnet), und in Zeile 4 sind die vorausgesagten Aminosäuresequenzen des menschlichen GGF/Heregulin angegeben, wo Unterschiede zu der vorausgesagten Rindersequenz vorliegen. Die codierenden Segmente E, A' und K stellen nur die Rindersequenzen dar. Das codierende Segment D' repräsentiert nur die menschliche (Heregulin) Sequenz.

[0071] [Fig. 31](#) (SEQ ID Nr. 144) zeigt die vorausgesagte GGF2-Aminosäuresequenz und Nucleotidsequenz von BPP5. Die obere Zeile stellt die Nucleotidsequenz dar, und die untere Zeile gibt die vorausgesagte Aminosäuresequenz an.

[0072] [Fig. 32](#) (SEQ ID Nr. 145) zeigt die vorausgesagte Aminosäuresequenz und Nucleotidsequenz von GGF2BPP2. Die obere Zeile stellt die Nucleotidsequenz dar, und die untere Zeile stellt die vorausgesagte Aminosäuresequenz dar.

[0073] [Fig. 33](#) (SEQ ID Nr. 146) zeigt die vorausgesagte Aminosäuresequenz und Nucleotidsequenz von GGF2BPP4. Die obere Zeile stellt die Nucleotidsequenz dar, und die untere Zeile stellt die vorausgesagte Aminosäuresequenz dar.

[0074] [Fig. 34](#) (SEQ ID Nrn. 147 bis 149) zeigt das Ausrichten von zwei GGF-Peptidsequenzen (GGF2BPP4 und GGF2BPP5) an dem menschlichen EGF (hEGF). Die Sternchen bezeichnen die Positionen von konservierten Cysteinen.

[0075] [Fig. 35](#) zeigt das Ausmaß der GGF-Aktivität (Schwann-Zellen-Mitogen-Test) und die Tyrosin-Phosphorylierung eines etwa 200-kD-Proteins (Intensität einer 200-kD-Bande auf einem Autoradiogramm eines Western-Blots, entwickelt mit einem gegen Phosphotyrosin gerichteten polyclonalen Antikörper) als Antwort auf steigende Mengen von GGF.

[0076] In [Fig. 36](#) sind Spleißvarianten aufgelistet, die von den in [Fig. 30](#) angegebenen Sequenzen hergeleitet wurden.

[0077] [Fig. 37](#) stellt unten die vorausgesagte Aminosäuresequenz und oben die Nucleinsäuresequenz von EGFL1 (SEQ ID Nr. 150) dar.

[0078] [Fig. 38](#) zeigt unten die vorausgesagte Aminosäuresequenz und oben die Nucleinsäuresequenz von EGFL2 (SEQ ID Nr. 151).

[0079] [Fig. 39](#) zeigt unten die vorausgesagte Aminosäuresequenz und oben die Nucleinsäuresequenz von EGFL3 (SEQ ID Nr. 152).

[0080] [Fig. 40](#) zeigt unten die vorausgesagte Aminosäuresequenz und oben die Nucleinsäuresequenz von EGFL4 (SEQ ID Nr. 153).

[0081] [Fig. 41](#) zeigt unten die vorausgesagte Aminosäuresequenz und oben die Nucleinsäuresequenz von EGFL5 (SEQ ID Nr. 154).

[0082] [Fig. 42](#) zeigt unten die vorausgesagte Aminosäuresequenz und oben die Nucleinsäuresequenz von EGFL6 (SEQ ID Nr. 159).

[0083] [Fig. 43](#) ist eine maßstabsgerechte Karte des codierenden Segments des Clons. T3 bezieht sich auf den Bakteriophagen-Promotor, der zur Herstellung von mRNA aus dem Clon verwendet wurde. R = flankierende EcoRI-Restriktionsenzymstellen. 5'-UT bezieht sich auf die untranslatierte 5'-Region. E, B, A, C, C/D' und D beziehen sich auf die codierenden Segmente. O = die Translations-Startstelle. ^ = die 5'-Grenze der Region, die zum Rinder-E-Segment homolog ist (vgl. Beispiel 17), und 3'-UT bezieht sich auf die untranslatierte 3'-Re-

gion.

**[0084]** Fig. 44 stellt die vorausgesagte Aminosäuresequenz (Mitte) und Nucleinsäuresequenz (oben) von GGF2HBS5 (SEQ ID Nr. 21) dar. Die untere (unterbrochene) Sequenz zeigt Peptidsequenzen, die von GGF-II-Präparaten stammen (vgl. die [Fig. 8](#) und 9).

**[0085]** Fig. 45(A) ist ein Diagramm, das die Reinigung von rGGF auf einer Kationenaustauscher-Säule pro Fraktion zeigt; Fig. 45(B) ist ein Foto eines Western-Blots unter Verwendung der in (A) angegebenen Fraktionen und eines GGFII-spezifischen Antikörpers.

**[0086]** In [Fig. 46](#) ist die Sequenz der Polypeptide GGFHBS5, GGFHFB1 und GGFBPP5 (SEQ ID Nrn. 166, 167 und 168) angegeben.

**[0087]** [Fig. 47](#) zeigt eine Karte des Plasmids pcDHRFpolyA.

**[0088]** Es ist offensichtlich, dass das Gen, welches GGF/p185<sup>erbB2</sup>-bindende Neuregulin-Proteine codiert, eine Reihe von verschiedenen gespleißten RNA-Transkripten unterschiedlicher Größen produziert, die verschiedene Proteine hervorbringen. Diese Proteine haben verschiedene Längen und enthalten einige gemeinsame Peptidsequenzen und einige einmalige Peptidsequenzen. Die Folgerung, dass diese Faktoren durch ein einzelnes Gen codiert werden, wird durch die verschiedenen gespleißten RNA-Sequenzen gestützt, die aus Rinder-Hypophysenhinterlappen und menschlichen Brustkrebszellen gewonnen werden können (MDA-MB-231). Weiterhin wird diese Folgerung durch den Größenbereich von Proteinen bestätigt, die sowohl als Mitogene für Muskelgewebe (wie hier beschrieben) als auch als Liganden für den p185<sup>erbB2</sup>-Rezeptor wirken (vgl. nachstehend).

**[0089]** Ein weiterer Beweis, der für die Tatsache spricht, dass die Gene, die GGF/p185<sup>erbB2</sup>-bindende Proteine codieren, homolog sind, kommt aus dem Nucleotidsequenz-Vergleich. Holmes et al. (Science 256: 1205–1210, 1992) zeigen die Reinigung eines 45 Kilodalton großen menschlichen Proteins (Heregulin- $\alpha$ ), das spezifisch mit dem Rezeptorprotein p185<sup>erbB2</sup> interagiert. Peles et al. (Cell 69: 205, 1992) und Wen et al. (Cell 69: 559, 1992) beschreiben eine komplementäre DNA, die aus Rattenzellen isoliert wurde und die ein Protein codiert, das „Neu-Differenzierungs-Faktor“ (NDF) genannt wird. Das Translationsprodukt der NDF-cDNA hat eine p185<sup>erbB2</sup>-bindende Aktivität. Verschiedene andere Gruppen haben die Reinigung von Proteinen mit verschiedenen Molekulargewichten mit einer p185<sup>erbB2</sup>-bindenden Aktivität beschrieben. Zu diesen Gruppen zählen Lupu et al. (Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89: 2287, 1992); Yarden und Peles (Biochemistry 30: 3543, 1991); Lupu et al. (Science 249: 1552, 1990); Dobashi et al. (Biochem. Biophys. Res. Comm. 179: 1536, 1991); und Huang et al. (J. Biol. Chem. 257: 11508–11512, 1992).

**[0090]** Wir haben gefunden, dass p185<sup>erbB2</sup>-Rezeptor-bindende Proteine die Mitogenese von Muskelzellen stimulieren, wodurch die Bildung von Myotubuli (Myogenese) stimuliert wird. Diese Stimulierung führt zu einer gesteigerten Bildung von Myoblasten und zu einer gesteigerten Bildung von Myotubuli (Myogenese). Die hier beschriebenen Polypeptide stimulieren auch ein gesteigertes Muskelwachstum, Differenzierung und Überleben von Muskelzellen. Diese Liganden umfassen, sind jedoch nicht beschränkt auf die GGFs, die Neureguline, die Hereguline, NDF und ARIA. Aufgrund dieser mitogenen Aktivität können diese Proteine, eine diese Proteine codierende DNA und verwandte Polypeptide an Patienten verabreicht werden, die an traumatischen Schäden oder Krankheiten des Muskelgewebes leiden. Es ist so zu verstehen, dass alle Verfahren, die für den Zweck der Mitogenese bereitgestellt werden, auch für den Zweck der Myogenese geeignet sind. Obwohl sie nicht Teil der vorliegenden Erfindung sind, können Inhibitoren dieser Liganden (z.B. als Antikörper oder Peptidfragmente) zur Behandlung von Tumoren, die aus einem Muskel hervorgegangen sind, verabreicht werden.

**[0091]** Diese Polypeptide können unter Verwendung der Protokolle erhalten werden, die hier (Beispiele 9 bis 17) und in Holmes et al., Science 256: 1205, 1992; Peles et al., Cell 69: 205, 1992; Wen et al., Cell 69: 559, 1992; Lupu et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89: 2287, 1992; Yarden und Peles, Biochemistry 30: 3543, 1991; Lupu et al., Science 249: 1552, 1990; Dobashi et al., Biochem. Biophys. Res. Comm. 179: 1536, 1991; Huang et al., J. Biol. Chem. 257: 11508–11512, 1992; Marchionni et al., Nature 362: 313, 1993; und in dem GGF-III-Patent beschrieben sind, die alle hier durch Bezugnahme eingeschlossen sind. Für viele dieser Verbindungen werden die Sequenzen bereitgestellt und die Eigenschaften beschrieben. Für die Sequenzen vgl. die [Fig. 8](#) bis [Fig. 11](#), [Fig. 20](#) bis 27, [Fig. 29](#) bis [Fig. 34](#), 36 bis 44 und [Fig. 46](#). Für die Proteineigenschaften vgl. die [Fig. 12](#) bis 19, [Fig. 28](#), [Fig. 35](#), [Fig. 45A](#) und [Fig. 45B](#).

**[0092]** Polypeptide können auf ihre Eignung in vitro unter Verwendung der in den nachstehenden Beispielen bereitgestellten Verfahren getestet werden. Ein in vivo-Test kann durchgeführt werden, wie in Beispiel 1 und in

Sklar et al., In Vitro Cellular and Developmental Biology 27A: 433–434, 1991, beschrieben ist.

**[0093]** Die Erfindung umfasst Verfahren zur Verwendung, wie vorher definiert, eines beliebigen Proteins, das zu den codierenden Segmenten in **Fig. 30** (SEQ ID Nrn. 132 bis 143, 156, 1576 bis 147) im Wesentlichen homolog ist, für den Zweck zum Induzieren der Muskel-Mitogenese. Auch enthalten sind die Verwendung von: allen Variationen; natürlichen Mutanten; induzierten Mutanten; Proteinen, die durch eine DNA codiert werden, die unter Bedingungen hoher oder niedriger Stringenz mit einer natürlich vorkommenden Nucleinsäure hybridisiert (Definitionen von hoher oder niedriger Stringenz finden sich in: Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons, New York, 1989, 6.3.1 bis 6.3.6, hier durch Bezugnahme eingeschlossen); und die Verwendung von Polypeptiden oder Proteinen, die spezifisch durch Antiseren gegen GGF-Polypeptide gebunden werden. Der Begriff umfasst auch die Verwendung von chimären Polypeptiden, die die GGF-Polypeptide umfassen, welche Sequenzen aus **Fig. 28** enthalten, für die Induktion einer Muskel-Mitogenese.

**[0094]** Wie aus dem nachstehenden Beispiel 8 ersichtlich ist, zeigen die vorliegenden Faktoren bei einem Spektrum von Zelltypen eine mitogene Aktivität. Die vorstehenden allgemeinen Feststellungen der Erfindung in Bezug auf Formulierungen und/oder Medikamente und ihre Herstellung sollten eindeutig so verstanden werden, dass sie geeignete Produkte und Verwendungen umfassen.

**[0095]** Eine Reihe von Experimenten folgen, die weitere Grundlagen für die hier beschriebenen Ansprüche bereitstellen. Die folgenden Beispiele, die sich auf die vorliegende Erfindung beziehen, sollen in keiner Weise die Erfindung oder Variationen der Erfindung einschränken, die jetzt bekannt sind oder erst später entwickelt werden.

**[0096]** Die Beispiele erläutern unsere Entdeckung, dass rekombinanter menschlicher GGF2 (rhGGF2) verschiedene Effekte auf eine primäre menschliche Muskelkultur bewirkt. rhGGF2 zeigt in drei unabhängigen Test auf eine biologische Aktivität bei Muskelkulturen signifikante Effekte. Das Polypeptid steigerte die Mitogenese, wie durch Proliferation von subkonfluenten ruhenden Myoblasten gemessen wurde, erhöhte die Differenzierung durch konfluente Myoblasten in Gegenwart von Wachstumsfaktor und steigerte das Überleben von differenzierten Myotubuli, wie durch den Verlust des Farbstoffausschlusses und eine gesteigerte Acetylcholin-Rezeptor-Synthese gemessen wurde. Diese Aktivitäten zeigen die Wirksamkeit von GGF2 und anderen Neuregulinen beim Induzieren der Muskel-Wiederherstellung, -Regeneration und von prophylaktischen Effekten auf die Muskeldegeneration.

#### Beispiel 1

##### Mitogene Aktivität von rhGGF auf Myoblasten

**[0097]** Clon GGF2HBS5 wurde in Insektenzellen, die mit einem rekombinanten Baculovirus infiziert worden waren, wie im nachstehenden Beispiel 14 beschrieben, exprimiert, und das resultierende rekombinante menschliche GGF2 wurde zu Myoblasten in Kultur zugegeben (konditioniertes Medium zugegeben mit 40 µl/ml). Die Myoblasten (057A-Zellen) wurden in einer Platte mit 24 Vertiefungen solange gezüchtet, bis sie fast die Konfluenz erreichten. Das Medium wurde entfernt und durch 0,5 % fetales Kälberserum enthaltendes DMEM mit oder ohne GGF2-konditioniertes Medium in einer Konzentration von 40 µl/ml ersetzt. Nach zwei Tagen wurde das Medium ausgetauscht und die Zellen wurden nach fünf Tagen fixiert und gefärbt. Die Kerne insgesamt wurden gezählt, außerdem wurde die Zahl der Kerne in Myoblasten bestimmt (Tabelle 1).

Tabelle 1

Behandlung	Gesamtzahl der Kerne pro mm <sup>2</sup>	Kerne in Myotubuli	Fusions-Index
Kontrolle	395 ± 28,3	204 ± 9,19	0,515 ± 0,01
GGF 40 µl/ml	636 ± 8,5	381 ± 82,7	0,591 ± 0,15

**[0098]** Die GGF-behandelten Myoblasten zeigten eine erhöhte Gesamtzahl der Kerne (636 Kerne) gegenüber den unbehandelten Kontrollen (395 Kerne), dies macht eine mitogene Aktivität deutlich. Die mit rhGGF2 behandelten Myotubuli besaßen eine größere Zahl von Kernen (381 Kerne) als die unbehandelten Kontrollen (204 Kerne). Somit erhöht rhGGF2 die Gesamtzahl der Kerne durch Proliferation und gesteigertes Überleben der Zellen. Außerdem ist es wahrscheinlich, dass rhGGF2 die Bildung von Myotubuli steigert.

**[0099]** Die mitogene Aktivität von rhGGF2 kann in vivo gemessen werden, indem einem Rattenmuskel über eine osmotische Minipumpe GGF2 und [<sup>3</sup>H]-Thymidin kontinuierlich zugeführt wird. Die Muskelmasse wird nach einer und zwei Wochen Behandlung durch das Feuchtgewicht bestimmt. Die DNA-Replikation wird gemessen, indem die markierten Kerne in einem zum Schein behandelten Muskel und im rhGGF2-behandelten Muskel in Schnitten gezählt werden, nachdem diese für die Autoradiographie beschichtet wurden (Sklar et al., *In Vitro Cellular and Developmental Biology* 27A: 433–434, 1991). Außerdem wird in diesem Ratten-Tiermodell ein denervierter Muskel durch diese Verfahren untersucht, wobei es dieses Verfahren möglich macht, die Rolle von rhGGF2 bei der Atrophie und Wiederherstellung von Muskeln zu bestimmen. Auch der durchschnittliche Faserdurchmesser kann verwendet werden, um die Effekte von FGF auf die Prävention einer Atrophie zu bestimmen.

#### Beispiel 2

##### Wirkung von rhGGF2 auf die Mitogenese von Muskelzellen

**[0100]** Ruhende primäre clonale menschliche Myoblasten wurden, wie früher beschrieben, hergestellt (Sklar, R., Hudson, A., Brown, R., *In vitro Cellular and Developmental Biology* 27A: 433–434, 1991). Die ruhenden Zellen wurden mit den angegebenen Mitteln (rhGGF2-konditionierte Medien, PDGF mit und ohne Methylprednisolon, und Kontrollmedien) in Gegenwart von 10 µM BrdU, 0,5 % FCS in DMEM behandelt. Nach zwei Tagen wurden die Zellen in 4 % Paraformaldehyd in PBS 30 Minuten fixiert und mit 70 % Ethanol gewaschen. Danach wurden die Zellen mit einem anti-BrdU-Antikörper inkubiert und gewaschen, sodann wurde die Antikörperbindung durch eine Peroxidase-Reaktion sichtbar gemacht. Anschließend wurde die Zahl der gefärbten Kerne pro Bereich quantitativ bestimmt. Die Ergebnisse zeigen, dass GGF2 eine Zunahme der Zahl der markierten Kerne pro Bereich gegenüber den Kontrollen induziert (vgl. Tabelle 2).

#### Tabelle 2

##### Mitogene Effekte von GGF auf menschliche Myoblasten

Behandlung	Markierte Kerne pro cm <sup>2</sup>	T-Test p-Wert
Kontrolle	120 ± 22,4	
Infizierte Kontrolle	103 ± 11,9	
GGF, 5 µl/ml	223 ± 33,8	0,019
PDGF, 20 ng/ml	418 ± 45,8	0,0005
IGFI, 30 ng/ml	280 ± 109,6	0,068
Methylprednisolon, 1,0 µM	142 ± 20,7	0,293

**[0101]** Der aus Blutplättchen stammende Wachstumsfaktor (PDGF) wurde als positive Kontrolle verwendet. Außerdem wurde zusätzlich zu rhGGF2 Methylprednisolon (ein Corticosteroid) eingesetzt und zeigte keine signifikante Zunahme in der Markierung der DNA.

**[0102]** Auch das zur Homogenität gereinigte rhGGF2 (> 95 % rein) ist für menschliche Myoblasten mitogen ([Fig. 1](#)).

**[0103]** Rekombinantes menschliches GGF2 bewirkt auch die Mitogenese von primären menschlichen Myoblasten (vgl. Tabelle 2 und [Fig. 1](#)). Der Mitogenese-Test wird, wie vorstehend beschrieben, durchgeführt. Anschließend wird der Mitose-Index berechnet, indem die Zahl der BrdU-positiven Zellen durch die Gesamtzahl der Zellen geteilt wird.

#### Beispiel 3

##### Wirkung von rhGGF2 auf die Differenzierung von Muskelzellen

**[0104]** Die Effekte des gereinigten rhGGF2 (zu 95 % rein) auf die Differenzierung einer Muskelkultur wurden untersucht ([Fig. 2](#)). Konfluente Myoblastenkulturen wurden zum Differenzieren induziert, indem der Serumgehalt des Kulturmediums von 20 % auf 0,5 % gesenkt wurde. Die Testkulturen wurden sechs Tage mit der an-



gegebenen Konzentration von rhGGF2 behandelt, wobei das Kulturmedium alle zwei Tage erneuert wurde. Danach wurden die Kulturen fixiert, gefärbt und die Zahl der Kerne pro mm<sup>2</sup> gezählt. Die in [Fig. 2](#) angegebenen Werte zeigen im Vergleich zu den Kontrollen eine große Zunahme der Zahl der Kerne in Myotubuli, wenn rhGGF2 vorliegt.

#### Beispiel 4

##### Wirkung von rhGGF2 auf das Überleben von differenzierten Myotubuli

**[0105]** Das Überleben von differenzierten Myotubuli wurde durch eine Behandlung mit rhGGF2 signifikant gesteigert. Muskelkulturen wurden in Gegenwart von rhGGF2 differenziert, außerdem wurde zu verschiedenen Zeiten die Zahl der toten Myotubuli durch Propidiumiodid-Färbung gezählt. Wie in [Fig. 3](#) zu sehen ist, ist die Zahl der toten Myotubuli in der mit rhGGF2 behandelten Kultur an den Tagen 4, 5, 6 und 8 der Differenzierung niedriger. Die Zahl der Kerne in den Myotubuli wurde durch die GGF2-Behandlung im Vergleich zu unbehandelten Kulturen nach acht Tagen Differenzierung signifikant erhöht. Insbesondere zeigte die Kontrolle 8,6 Myokerne pro mm<sup>2</sup>, während rhGGF2-behandelte Kulturen 57,2 Myokerne pro mm<sup>2</sup> aufwiesen ( $p = 0,035$ ), wenn sie auf den gleichen Platten nach Giemsa-Färbung gezählt wurden.

**[0106]** Der Überlebens-Test wurde auch mit anderen Wachstumsfaktoren durchgeführt, deren Effekte auf Muskelkulturen bekannt sind. Die Wirkung von rhGGF2 war einmalig unter den getesteten Wachstumsfaktoren ([Fig. 4](#)). In diesem Experiment wurden Kulturen parallel zu den rhGGF2-behandelten Platten mit den angegebenen Konzentrationen der verschiedenen Wachstumsfaktoren behandelt. Das Überleben von Myotubuli wurde wie vorstehend nach acht Tagen Differenzierung von 057A-Myoblastenzellen gemessen. Die Konzentrationen der Faktoren waren wie folgt: rhGGF2: 100 ng/ml; menschlicher, aus Blutplättchen stammender Wachstumsfaktor: 20 ng/ml; menschlicher basischer Fibroblasten-Wachstumsfaktor: 25 ng/ml; menschlicher epidermaler Wachstumsfaktor: 30 ng/ml; menschlicher Leukocyten-Hemmfaktor: 10 ng/ml; menschlicher Insulin-ähnlicher Wachstumsfaktor I: 30 ng/ml; menschlicher Insulin-ähnlicher Wachstumsfaktor II: 25 ng/ml.

**[0107]** Der festgestellte Schutz von differenzierten Myotubuli vor dem Absterben zeigt, dass rhGGF2 eine vielversprechende Therapie zum Aufhalten einer Muskeldegeneration erwarten lässt, die bei zahlreichen Muskelkrankheiten auftritt. So können Mittel, die die extramuskuläre Konzentration von Neuregulinen erhöhen, eine prophylaktische Wirkung zeigen oder das Fortschreiten von Muskelschädigenden Störungen verlangsamen und die Raten der Differenzierung, Wiederherstellung, Konditionierung und Regeneration von Muskeln steigern.

#### Beispiel 5

##### rhGGF2 fördert das Überleben von differenzierten Myotubuli mit einem genetischen Defekt am Duchenne-Muskeldystrophie-Locus

**[0108]** Die positiven Effekte von rhGGF2 auf das Überleben von Myotubuli könnten eine mögliche Wirksamkeit bei degenerativen Störungen bedeuten. Diese Effekte auf das Überleben von Myotubuli wurden auf einem clonal-hergeleiteten primären Duchenne-Myoblasten getestet, um zu bestimmen, ob die in einer normalen Muskelkultur festgestellte Antwort auch in Kulturen gezeigt werden kann, die von erkrankten Individuen stammen. Die in [Fig. 5](#) dargestellten Werte wurden unter Verwendung der gleichen Muskelkulturbedingungen erhalten (Beispiel 4, vorstehend), die für normale Individuen eingesetzt wurden. rhGGF2 senkte die Zahl der toten Myotubuli in der differenzierten Duchenne-Muskelkultur im Vergleich zu den Kontrollen signifikant ( $p = 0,032$ ). Die Konzentrationen waren wie folgt: GGF2: 100 ng/ml; menschlicher aus Blutplättchen stammender Wachstumsfaktor: 20 ng/ml; menschlicher Insulin-ähnlicher Wachstumsfaktor I: 30 ng/ml.

**[0109]** Dieses Beispiel zeigt, dass rhGGF2 auch das Überleben von differenzierten Duchenne-Myotubuli fördern kann, und bietet einen starken Beweis, dass rhGGF2 den Verlauf einer Muskeldegeneration und eines Muskelschwunds in Säugern möglicherweise verlangsamt oder verhindert.

#### Beispiel 6

##### Wirkung von rhGGF2 auf das Differenzierungsprogramm: Induktion von langsamen MHC- und Dystrophin-Proteinen

**[0110]** Die Effekte des gereinigten rhGGF2 auf die Muskelkultur-differenzierung wurden auch durch Wes-

tern-Analyse von Kulturlysaten untersucht. Die Spiegel von Muskel-spezifischen Proteinen wurden in behandelten und unbehandelten Kulturen in dreifacher Ausführung bestimmt. Diese Kulturen wurden wie vorstehend hergestellt und behandelt, mit der Ausnahme, dass die Plattengröße auf 150 mm vergrößert wurde und die Muskelkulturschicht für die Western-Analyse abgekratzt wurde, wie in Sklar, R., und Brown, R., (J. Neurol. Sci. 101: 73–81, 1991) beschrieben. Die in Tabelle A dargestellten Ergebnisse zeigen, dass die Behandlung mit rhGGF2 die Spiegel von verschiedenen Muskel-spezifischen Proteinen erhöht, umfassend Dystrophin, schwere Kette von Myosin (MHC, langsame und schnelle Isoformen der Erwachsenen), jedoch die Spiegel von HSP72 oder der MHC-Neugeborenen-Isoform nicht auf einen ähnlichen Spiegel erhöht, bezogen auf die beim Western-Test aufgetragene Menge Protein. Die durch rhGGF2 induzierten Spiegel von Muskel-spezifischen Proteinen waren ähnlich wie die quantitativen Anstiege in der Zahl der Myokerne pro mm<sup>2</sup> (Tabelle 3).

Tabelle 3

	Kontrolle ± SD	rhGGF2-Behandlung ± SD	p-Wert
Gesamtprotein (µg)	554 ± 38,4	798 ± 73,6	0,007
Myokerne/mm <sup>2</sup>	29,0 ± 12,2	106 ± 24,1	0,008
MHC schnell/µg Protein	1,22 ± 0,47	4,00 ± 0,40	0,001
MHC langsam/µg Protein	0,17 ± 0,13	1,66 ± 0,27	0,001
MHC Neugeb./µg Protein	0,30 ± 0,27	0,55 ± 0,04	0,199
Dystrophin/µg Protein	6,67 ± 0,37	25,5 ± 11,0	0,042
HSP 72/µg Protein	3,30 ± 0,42	4,54 ± 0,08	0,008

**[0111]** Die rhGGF2-abhängige Zunahme der Isoformen der schweren Kette des Myosins der Erwachsenen (die langsame wird in menschlichen Muskelfasern vom Typ I gefunden; die schnelle wird in menschlichen Muskelfasern vom Typ 2A und 2B gefunden) zeigt möglicherweise die Reifung der Myotubuli, da die Neugeborenen-Isoform durch die rhGGF2-Behandlung nicht signifikant erhöht wurde. Während der Entwicklung des Rattenmuskels ändern sich die MHC-Isoformen von fetalen zu Neugeborenen-Formen, worauf eine Umwandlung zu den reifen langsamen und schnellen MHC-Isoformen der Erwachsenen folgt (Periasamy et al., J. Biol. Chem. 259: 13573–13578, 1984; Periasamy et al., J. Biol. Chem. 260: 15856–15862, 1985; Wieczorek et al., J. Cell Biol. 101: 618–629, 1985). Während der Muskel in Abwesenheit von Nervenzellen oder -gewebe einige dieser Isoform-Übergänge autonom durchlaufen kann, exprimieren Muskelexplantate der Maus die schnelle MHC-Isoform der Erwachsenen nur dann, wenn sie in Gegenwart des Rückenmarks der Maus gezüchtet werden (Ecob-Prince et al., J. Cell Biol. 103: 995–1005, 1986). Ein weiterer Beweis, dass MHC-Isoform-Übergänge durch Nerven beeinflusst werden, wurde durch Whalen et al. (Deve. Biol. 141: 24–40, 1990) erbracht; nach der Regeneration von mit Notexin behandeltem Soleus der Ratte wurde in dem neuen denervierten Muskel nur die schnelle MHC-Isoform der Erwachsenen produziert, während der innervierte regenerierte Muskel sowohl die schnelle als auch die langsame MHC-Isoform der Erwachsenen hervorbrachte. So machen die Ergebnisse in Tabelle 3, dass rhGGF2 die Synthese der MHC-Isoformen der Erwachsenen steigert, deutlich, dass rhGGF2 möglicherweise eine entwicklungsgemäße Reifung des Muskels induziert, die vermutlich eine neuronale Innervierung nachahmt.

## Beispiel 7

Neureguline, umfassend rhGGF2, induzieren die Synthese von Acetylcholin-Rezeptoren im Muskel

**[0112]** Die Expression von Untereinheit-Proteinen des Acetylcholin-Rezeptors (AChR) kann induziert werden, indem die Muskelzellen Neuregulinen ausgesetzt werden. Insbesondere haben wir gezeigt, dass das Inkontaktbringen von Muskelzellen mit rhGGF2 die Synthese von AChR-Untereinheiten-Proteinen induzieren kann. Diese Induktion nach einer rhGGF2-Exposition wurde auf zwei verschiedene Arten festgestellt: erstens wiesen wir eine gesteigerte Expression von menschlichem Wachstumshormon über das Produkt eines Reporter-Gen-Konstrukts nach, und zweitens wiesen wir eine erhöhte Bindung von alpha-Bungarotoxin an Zellen nach.

**[0113]** Im folgenden Beispiel wurde die Maus-Myoblastenzelllinie C2 verwendet. C2-Zellen wurden mit einem Transgen transfiziert, das die regulatorische 5'-Sequenz des Gens der AChR-delta-Untereinheit der Maus enthielt, gekoppelt an eine cDNA der vollen Länge des menschlichen Wachstumshormons (Baldwin und Burden,



J. Cell Biol. 107: 2271–2279, 1988). Dieses Reporterkonstrukt ermöglicht die Messung der Induktion der Expression des AChR-delta-Gens, indem die Menge des ins Medium ausgeschiedenen Wachstumshormons bestimmt wird. Die Linie kann dazu induziert werden, Myotubuli zu bilden, indem die Serumkonzentration im Medium von 20 % auf 0,5 % erniedrigt wird.

**[0114]** Insbesondere wurden Maus-C2-Myoblasten mit einem AChR-menschliches Wachstumshormon-Reporter-Konstrukt transfiziert und nach der Behandlung mit rhGGF2 auf eine Expression von hGH getestet. Die Ergebnisse von zwei getrennten Experimenten sind in Tabelle 4 und in den [Fig. 6](#) (hGH-Expression) und 7 (hGH-Expression und alpha-Bungarotoxin-Bindung) zusammengestellt. Dargestellt sind die Dosis-Antwort-Kurven für ausgeschiedenes menschliches Wachstumshormon und für die Bungarotoxin-Bindung von Muskelkulturen, die mit rhGGF2 behandelt wurden.

Tabelle 4

Effekte von rhGGF2 auf die Expression des AChR-delta-Untereinheit/hGH-Transgens und die Synthese von AChR

	Experiment 1	Experiment 2	
GGF (µl)	hGH (ng/ml)	hGH (ng/ml)	AChR (CpM/mg Protein)
0	9,3 + 2,1	5,7 + 2,1	822 + 170
0,1	-	6,8 + 1,5	891 + 134
0,5	-	12,0 + 0,9	993 + 35
1,0	-	9,7 + 2,3	818 + 67
5,0	17,5 + 2,8	14,7 + 3,5	1300 + 177
10,0	14,3 + 3,2	14,1 + 3,3	1388 + 137
15,0	22,0 + 1,4	-	-

**[0115]** C2-Myotubuli wurden eine Stunde bei 37°C mit kaltem α-BTX (20 nM) behandelt, zweimal mit Kulturmedium gewaschen und danach mit GGF2 behandelt. Das Kulturmedium wurde mit Rinderserumalbumin auf eine Konzentration von 1 mg/ml eingestellt. 24 Stunden später wurde das Kulturmedium entfernt und für den hGH-Test aufbewahrt. Die Muskelkulturen wurden eine Stunde bei 37°C mit <sup>125</sup>I-α-BTX (20 nM) behandelt, gewaschen und in 1 % SDS enthaltende PBS geschabt. Die unspezifische Bindung wurde in Gegenwart von kaltem α-BTX (40 nM) bestimmt. Im Zellhomogenisat wurde die Radioaktivität ermittelt und der Gesamt-Protein-gehalt bestimmt.

**[0116]** Das Vorliegen von rhGGF2 führte zu einer mehr als zweifachen Zunahme der Expression des hGH-Gens, wodurch gezeigt wurde, dass rhGGF2 die Synthese der delta-Untereinheit des Acetylcholin-Rezeptors induzierte. Weiterhin spricht eine gesteigerte Bindung von Bungarotoxin für den Zusammenbau dieser Untereinheiten-Proteine zu funktionellen Acetylcholin-Rezeptoren. Um die Interpretation dieser Ergebnisse zu bekräftigen, wurde die Analyse an Kulturen wiederholt, bei denen der hGH-Reporter an einen Metallothionein-Promotor gekoppelt war, der auf rhGGF2 nicht ansprechen sollte. Die Ergebnisse dieses Kontroll-experiments zeigten, dass die hGH-Antwort durch die transkriptionale Aktivierung der Kontrollelemente des Gens der AChR-delta-Untereinheit vermittelt wurde.

**[0117]** Diese Ergebnisse zeigen, dass rhGGF2 zur Ergänzung von AChRs eingesetzt werden könnte und damit zur Therapie der Autoimmunkrankheit Myasthenia gravis beitragen könnte. Diese Aktivität kann auch für die Behandlung der Regeneration von peripheren Nerven und Neuropathie vorteilhaft sein, indem ein Schlüsselschritt in der Re-Innervierung des Muskels stimuliert wird.

## Beispiel 8

Weitere mitogene Aktivitäten der gereinigten GGF-I und GGF-II

**[0118]** Die mitogene Aktivität einer hochgereinigten Probe, die sowohl GGF-I als auch GGF-II enthielt, wurde

anhand eines quantitativen Verfahrens untersucht, mit dem es möglich ist, eine einzelne Mikrokultur auf DNA-Synthese, Zellmorphologie, Zellzahl und Expression von Zellantigenen zu untersuchen. Dieses Verfahren wurde aus dem Verfahren modifiziert, das früher von Muir et al., *Analytical Biochemistry* 185: 377–382, 1990, beschrieben wurde. Die wichtigsten Modifikationen sind: 1) die Verwendung von unbeschichteten Mikrotiterplatten, 2) die Zellzahl pro Vertiefung, 3) die Verwendung von 5 % fetalem Rinderplasma (FBP) anstelle von 10 % fetalem Kälberserum (FCS), und 4) die Inkubationszeit in Gegenwart von Mitogenen und Bromdesoxyuridin (BrdU), die gleichzeitig zu den Kulturen zugegeben wurden. Außerdem wurde der einschichtige Zellrasen vor der Fixierung nicht gewaschen, um den Verlust von Zellen zu vermeiden, und die Inkubationszeit des monoclonalen Maus-anti-BrdU-Antikörpers und die Inkubationszeit des Peroxidase-konjugierten Ziegen-anti-Maus-Immunglobulin (IgG)-Antikörpers wurden verdoppelt, um die Empfindlichkeit des Tests zu erhöhen. Der Test, der für Ischiasnerv-Schwann-Zellen der Ratte optimiert war, wurde außerdem für verschiedene andere Zelllinien verwendet, nachdem er für die Zellkulturbedingungen entsprechend modifiziert worden war.

### I. Verfahren zum Testen der Mitogenese

**[0119]** Am Tag 1 wurden gereinigte Schwann-Zellen in 5 % FBP/Dulbeccomodifiziertem Eagle-Medium (DMEM) auf unbeschichtete Platten mit 96 Vertiefungen plattiert (5000 Zellen pro Vertiefung). Am Tag 2 wurden GGFs oder andere Testfaktoren und außerdem BrdU in einer Endkonzentration von 10  $\mu\text{M}$  zu den Kulturen zugegeben. Nach 48 Stunden (Tag 4) wurde der Einbau von BrdU beendet, indem das Medium abgesaugt wurde, und die Zellen wurden mit 200  $\mu\text{l}$ /Vertiefung von 70 % Ethanol 20 Minuten bei Raumtemperatur fixiert. Als nächstes wurden die Zellen mit Wasser gewaschen und die DNA wurde durch Inkubation mit 100  $\mu\text{l}$  2 N HCl zehn Minuten bei 37°C denaturiert. Nach dem Absaugen wurde die restliche Säure neutralisiert, indem die Vertiefungen mit 0,1 M Boratpuffer, pH 9,0, gefüllt wurden, und die Zellen wurden mit Phosphat-gepufferter Kochsalzlösung (PBS) gewaschen. Danach wurden die Zellen 15 Minuten bei 37°C mit 50  $\mu\text{l}$  Blockierungspuffer behandelt (PBS, enthaltend 0,1 % Triton X-100 und 2 normales Ziegenserum). Nach dem Absaugen wurde ein gegen BrdU gerichteter monoclonaler Antikörper der Maus (Dako Corp., Santa Barbara, CA) zugegeben (50  $\mu\text{l}$ /Vertiefung, 1,4  $\mu\text{g/ml}$  verdünnt in Blockierungspuffer) und zwei Stunden bei 37°C inkubiert. Ungebundene Antikörper wurden durch drei Waschgänge in PBS, enthaltend 0,1 % Triton X-100, entfernt, sodann wurde ein Peroxidase-konjugierter Ziegen-anti-Maus-IgG-Antikörper (Dako Corp., Santa Barbara, CA) zugegeben (50  $\mu\text{l}$ /Vertiefung, 2  $\mu\text{g/ml}$  verdünnt in Blockierungspuffer) und eine Stunde bei 37°C inkubiert. Nach drei Waschgängen in PBS/Triton und einer endgültigen Spülung in PBS wurden die Vertiefungen mit 100  $\mu\text{l}$ /Vertiefung von 50 mM Phosphat/Citrat-Puffer, pH 5,0, enthaltend 0,05 % des löslichen Chromogens o-Phenylendiamin (OPD) und 0,02 %  $\text{H}_2\text{O}_2$ , versetzt. Die Umsetzung wurde nach fünf bis 20 Minuten bei Raumtemperatur beendet, indem 80  $\mu\text{l}$  aus jeder Vertiefung auf eine saubere Platte pipettiert wurden, die 40  $\mu\text{l}$ /Vertiefung einer 2 N Schwefelsäure enthielt. Die Absorption wurde bei 490 nm unter Verwendung eines Plattenlesegeräts (Dynatech Labs) aufgezeichnet. Die Testplatten, welche die einschichtigen Zellrasen enthielten, wurden zweimal mit PBS gewaschen und sodann immunocytochemisch auf BrdU-DNA gefärbt, indem 100  $\mu\text{l}$ /Vertiefung des Substrats Diaminobenzidin (DAB) und 0,02 %  $\text{H}_2\text{O}_2$  zugegeben wurden, um ein unlösliches Produkt zu erzeugen. Nach zehn bis 20 Minuten wurde die Färbereaktion durch Waschen mit Wasser gestoppt und die BrdU-positiven Kerne anhand eines umgekehrten Mikroskops festgestellt und gezählt. Gegebenenfalls wurden negative Kerne mit 0,001 % Toluidinblau gegengefärbt und wie vorstehend gezählt.

### II. Zelllinien, die für Mitogenese-Tests verwendet wurden

**[0120]** Swiss 3T3-Fibroblasten: Die Zellen, die von Flow Labs stammten, wurden in DMEM, angereichert mit 10 % FCS, Penicillin und Streptomycin, bei 37°C in einer angefeuchteten Atmosphäre von 10 %  $\text{CO}_2$  in Luft gehalten. Die Zellen wurden alle zwei Tage gefüttert oder subkultiviert. Für den Mitogenese-Test wurden die Zellen mit einer Dichte von 5000 Zellen pro Vertiefung in Vollmedium plattiert und eine Woche inkubiert, bis die Zellen konfluent und ruhend vorlagen. Das Serumenthaltende Medium wurde entfernt und der einschichtige Zellrasen zweimal mit serumfreiem Medium gewaschen. 100  $\mu\text{l}$  serumfreies Medium, enthaltend Mitogene und 10  $\mu\text{M}$  BrdU, wurden zu jeder Vertiefung zugegeben und 48 Stunden inkubiert. Die Dosis-Antworten auf GGFs und Serum oder PDGF (als positive Kontrolle) wurden durchgeführt.

**[0121]** BHK (Baby-Hamster-Niere) 21-C13-Fibroblasten: Die Zellen, die von der European Collection of Animal Cell Cultures (ECACC) stammten, wurden in Glasgow-modifiziertem Eagle-Medium (GMEM), angereichert mit 5 % Tryptose-Phosphat-Brühe, 5 % FCS, Penicillin und Streptomycin, bei 37°C in einer angefeuchteten Atmosphäre von 5 %  $\text{CO}_2$  in Luft gehalten. Die Zellen wurden alle zwei bis drei Tage gefüttert oder subkultiviert. Für den Mitogenese-Test wurden die Zellen mit einer Dichte von 2000 Zellen pro Vertiefung in Vollmedium 24 Stunden plattiert. Danach wurde das Serum-enthaltende Medium entfernt und, nach dem Waschen mit serumfreiem Medium, durch 100  $\mu\text{l}$  eines 0,1 % FCS-enthaltenden GMEM oder GMEM alleine ersetzt.

GGFs und FCS oder bFGF wurden gleichzeitig mit 10 µM BrdU als positive Kontrollen zugegeben und 48 Stunden inkubiert. Danach wurden die Zellkulturen, wie für die Schwann-Zellen beschrieben, verarbeitet.

**[0122]** Ratten-C6-Gliom-Zelllinie: Die Zellen, die in Passage 39 erhalten wurden, wurden in DMEM, enthaltend 5 % FCS, 5 % Pferdeserum (HS), Penicillin und Streptomycin, bei 37°C in einer angefeuchteten Atmosphäre von 10 % CO<sub>2</sub> in Luft gehalten. Die Zellen wurden alle drei Tage gefüttert oder subkultiviert. Für den Mitogenese-Test wurden die Zellen mit einer Dichte von 2000 Zellen pro Vertiefung in Vollmedium plattiert und 24 Stunden inkubiert. Danach wurde das Medium durch ein Gemisch von 1:1 aus DMEM und F12-Medium, enthaltend 0,1 % FCS, ersetzt, nachdem ein Waschgang in serumfreiem Medium erfolgt war. Anschließend wurden die Dosis-Antworten auf GGFs, FCS und αGF durchgeführt und die Zellen anhand eines ELISA, wie früher für die anderen Zelltypen beschrieben, verarbeitet.

**[0123]** PC12 (Ratten Nebennieren-Phäochromozytom-Zellen): Die Zellen, die von ECACC stammten, wurden in RPMI 1640, angereichert mit 10 % HS, 5 % FCS, Penicillin und Streptomycin, in Kollagen-beschichteten Kolben bei 37°C in einer angefeuchteten Atmosphäre von 5 % CO<sub>2</sub> in Luft gehalten. Die Zellen wurden alle drei Tage gefüttert, indem 80 % des Medium ersetzt wurden. Für den Mitogenese-Test wurden die Zellen mit einer Dichte von 3000 Zellen pro Vertiefung in Vollmedium auf Kollagen-beschichtete Platten plattiert (50 µl/Vertiefung Collagen, Vitrogen Collagen Corp., verdünnt 1:50, 30 Min. bei 37°C) und 24 Stunden inkubiert. Danach wurde das Medium durch frisches RPMI entweder alleine oder enthaltend 1 mM Insulin oder 1 % FCS ersetzt. Die Dosis-Antworten auf FCS/HS (1:2) als positive Kontrolle und auf GGFs wurden wie vorstehend durchgeführt. Nach 48 Stunden wurden die Zellen fixiert und der ELISA, wie früher beschrieben, durchgeführt.

### III. Ergebnisse der Mitogenese-Tests

**[0124]** Alle in diesem Beispiel dargestellten Experimente wurden unter Verwendung einer hochgereinigten Probe aus einem Reinigungsschritt einer Sepharose-12-Chromatographie durchgeführt, wobei die Probe ein Gemisch aus GGF-I und GGF-II (GGFs) enthielt.

**[0125]** Zuerst wurden die mit dem BrdU-Einbau-Test erhaltenen Ergebnisse mit dem klassischen Mitogenese-Test für Schwann-Zellen, der auf dem Einbau von <sup>125</sup>I-UdR in die DNA von sich teilenden Zellen beruht, wie von J. P. Brockes (Methods Enzymol. 147: 217, 1987) beschrieben, verglichen.

**[0126]** [Fig. 12](#) zeigt den Vergleich der Werte, die mit den zwei Tests erhalten wurden, welche unter den gleichen Zellkulturbedingungen durchgeführt wurden (5000 Zellen/Vertiefung, in 5 % FBP/DMEM, 48 Stunden inkubiert in Gegenwart von GGFs). Wie deutlich zu sehen ist, sind die Ergebnisse vergleichbar, jedoch scheint der BrdU-Einbau-Test etwas empfindlicher zu sein, dies legt die Verschiebung der Kurve zur linken Seite des Diagramms, d.h. zu niedrigeren Konzentrationen von GGFs, nahe.

**[0127]** Wie im Abschnitt „Verfahren zum Testen der Mitogenese“ beschrieben wurde, können die ursprünglichen Testplatten, die einschichtige Zellrasen enthalten, nachdem die immunreaktive BrdU-DNA durch Ablesen der Intensität des löslichen Produkts der OPD-Peroxidase-Reaktion quantitativ bestimmt worden war, einer zweiten Umsetzung unterworfen werden, die zu dem unlöslichen DAB-Produkt führt, das die BrdU-positiven Kerne anfärbt. Danach können die Mikrokulturen unter einem Umkehrmikroskop untersucht und die Zellmorphologie und die Zahl der BrdU-positiven und negativen Kerne ermittelt werden.

**[0128]** In [Fig. 13A](#) und [Fig. 13B](#) wird die Immunreaktivität der BrdU-DNA, die durch Ablesen der Absorption bei 490 nm ermittelt wurde, mit der Zahl der BrdU-positiven Kerne und mit dem prozentualen Anteil der BrdU-positiven Kerne an der Gesamtzahl von Zellen pro Vertiefung, die in den gleichen Kulturen gezählt wurden, verglichen. Standardabweichungen lagen unter 10 %. Die zwei Bestimmungsmethoden zeigen eine sehr gute Korrelation, wobei der Unterschied zwischen den Werten bei der höchsten Dosis der GGFs durch das unterschiedliche Ausmaß der DNA-Synthese in Zellen, die als BrdU-positiv nachgewiesen wurden, erklärt werden kann.

**[0129]** Der BrdU-Einbau-Test kann somit weitere nützliche Informationen über die biologische Aktivität von Polypeptiden auf Schwann-Zellen bereitstellen, wenn er mit dem <sup>125</sup>I-UdR-Einbau-Test verglichen wird. Z.B. zeigen die in [Fig. 15](#) dargestellten Werte, dass GGFs auf Schwann-Zellen so wirken können, dass sie die DNA-Synthese induzieren, dass sie in niedrigeren Dosen jedoch die Zahl von negativen Zellen, die in den Mikrokulturen nach 48 Stunden vorliegen, erhöhen.

**[0130]** Anschließend wurde der Test auf verschiedenen Zelllinien unterschiedlichen Ursprungs angewendet.

In [Fig. 15](#) werden die mitogenen Antworten von Schwann-Zellen und Swiss-3T3-Fibroblasten auf GGFs verglichen; trotz der in 3T3-Fibroblasten erhaltenen schwachen Antwort wurden in diesen Kulturen einige deutlich BrdU-positive Kerne nachgewiesen. Die Kontrollkulturen wurden in Gegenwart von verschiedenen Dosen von FCS oder menschlichem rekombinantem PDGF parallel laufen gelassen, wobei gezeigt wurde, dass die Zellen in der Lage waren, auf geeignete Stimuli zu reagieren (nicht dargestellt).

**[0131]** Die Fähigkeit von Fibroblasten, auf GGFs zu reagieren, wurde weiterhin unter Verwendung der Zelllinie BHK21-C13 untersucht. Diese Fibroblasten, die aus der Niere stammen, zeigen keine Kontakthemmung oder erreichen bei Konfluenz kein Ruhestadium. Deshalb wurden die Versuchsbedingungen so gewählt, dass eine sehr geringe Hintergrundproliferation vorliegt, ohne dass die Lebensfähigkeit der Zellen beeinträchtigt wird. Die GGFs zeigen eine signifikante mitogene Aktivität auf BHK21-C13-Zellen, wie in [Fig. 16](#) und [Fig. 17](#) zu sehen ist. [Fig. 16](#) zeigt den BrdU-Einbau in DNA durch BHK21-C13-Zellen, die durch GGFs in Gegenwart von 0,1 % FCS stimuliert wurden. Die gute mitogene Antwort auf FCS macht deutlich, dass die Zellkulturbedingungen keine Einschränkung darstellten. In [Fig. 17](#) ist die mitogene Wirkung von GGFs als die Zahl von BrdU-positiven und BrdU-negativen Kernen und als die Gesamtzahl von Zellen, die pro Vertiefung gezählt wurden, ausgedrückt. Die Werte wurden aus zwei Experimenten erhalten, die man in doppelter Ausführung laufen ließ; pro Vertiefung wurden mindestens drei Felder gezählt. Wie bei den Schwann-Zellen festgestellt, erhöhen die GGFs, zusätzlich zu einer proliferativen Wirkung bei niedrigen Dosen, auch die Zahl von nicht-reagierenden Zellen, die überleben. Der prozentuale Anteil der BrdU-positiven Zellen ist proportional zu den steigenden Mengen der GGFs, die zu den Kulturen zugegeben wurden. Die Gesamtzahl der Zellen ist nach 48 Stunden in Gegenwart von höheren Dosen von GGFs mindestens verdoppelt, dies bestätigt, dass GGFs die DNA-Synthese und die Proliferation in BHK21-C13-Zellen induzieren. Unter den gleichen Bedingungen zeigten Zellen, die 48 Stunden in Gegenwart von 2 % FCS gehalten wurden, eine etwa sechsfache Zunahme (Werte nicht dargestellt).

**[0132]** C6-Gliomzellen bieten ein geeignetes Modell zur Untersuchung der Eigenschaften von Gliazellen. Der exprimierte Phänotyp scheint von der Zellpassage abhängig zu sein, wobei die Zellen in einem frühen Stadium eher einem Astrocyt-Phänotyp und in späteren Stadien (später als Passage 70) einem Oligodendrocyt-Phänotyp gleichen. In diesen Experimenten wurden C6-Zellen von Passage 39 bis Passage 52 verwendet. C6-Zellen sind eine sehr proliferative Population, weshalb die Versuchsbedingungen so optimiert wurden, dass ein sehr geringer Hintergrund des BrdU-Einbaus vorlag. Das Vorliegen von 0,1 % Serum war erforderlich, um die Lebensfähigkeit der Zellen zu erhalten, ohne die mitogenen Antworten signifikant zu beeinträchtigen, wie durch die Dosis-Antwort auf FCS gezeigt wird ([Fig. 18](#)).

**[0133]** In [Fig. 19](#) sind die mitogenen Antworten auf aFGF (saurer Fibroblasten-Wachstumsfaktor) und GGFs als Prozentsätze des maximalen BrdU-Einbaus angegeben, der in Gegenwart von FCS (8 %) erhalten wurde. Die Werte sind Durchschnittswerte aus zwei Experimenten, die in doppelter Ausführung durchgeführt wurden. Die Wirkung von GGFs war mit der eines reinen Präparats von aFGF vergleichbar. aFGF wurde als ein spezifischer Wachstumsfaktor für C6-Zellen beschrieben (Lim, R., et al., Cell Regulation 1: 741–746, 1990), und aus diesem Grund wurde er als positive Kontrolle eingesetzt. Die direkte Zählung von BrdU-positiven und negativen Zellen war aufgrund der hohen Zelldichte in den Mikrokulturen nicht möglich. Im Gegensatz zu den bisher beschriebenen Zelllinien zeigten PC12-Zellen keine deutliche Reaktion auf GGFs, wenn sie unter Kulturbedingungen behandelt wurden, unter denen die PC12-Zellen auf Seren ansprechen konnten (Gemisch aus FCS und HS, das routinemäßig zum Halten von Zellen verwendet wird). Dessen ungeachtet scheint die Zahl der pro Vertiefung plattierten Zellen das Verhalten der PC12-Zellen zu beeinflussen, weshalb weitere Experimente erforderlich sind.

#### Beispiel 9

##### Aminosäuresequenzen des gereinigten GGF-I und GGF-II

**[0134]** Aminosäuresequenzanalyse-Untersuchungen wurden mit hochgereinigtem Rinder-Hypophyse-GGF-I und -GGF-II durchgeführt. Zum Beschreiben der Sequenzen wurde der herkömmliche Ein-Buchstaben-Code verwendet. Peptide wurden durch Spaltungen mit Lysyl-Endopeptidase und Protease-V8 erhalten, die an reduzierten und carboxymethylierten Proben durchgeführt wurden, wobei die Spaltung mit Lysyl-Endopeptidase von GGF-II auf einem Material durchgeführt wurde, das aus dem 55-65-kD-Bereich einer 11 % SDS-PAGE eluiert wurde (MG bezogen auf die vorstehend angegebenen Marker).

**[0135]** Insgesamt wurden für GGF-I 21 Peptidsequenzen erhalten (vgl. [Fig. 8](#), SEQ ID NOs: 1 bis 20, 165), von denen 12 Peptide (vgl. [Fig. 9](#), SEQ ID NOs: 1, 22 bis 29, 17, 19 und 32) nicht in herkömmlichen Prote-

in-Datenbanken vorliegen und somit einmalige Sequenzen darstellen. Für GGF-II wurden insgesamt 12 Peptidsequenzen erhalten (vgl. [Fig. 10](#), SEQ ID NOs: 42 bis 50 und 161 bis 163), von denen zehn Peptide (vgl. [Fig. 11](#), SEQ ID NOs: 42 bis 50) nicht in herkömmlichen Protein-Datenbanken vorliegen und deshalb einmalige Sequenzen darstellen (eine Ausnahme ist Peptid GGF-II 06, das in zahlreichen Proteinen identische Sequenzen zeigt, die jedoch aufgrund der kleinen Zahl von Resten möglicherweise ohne Bedeutung sind). Diese neuen Sequenzen entsprechen mit größter Wahrscheinlichkeit Teilen der echten Aminosäuresequenzen der GGFs-I und -II.

**[0136]** Besondere Aufmerksamkeit kann den Sequenzen von GGF-I-07 und GGF-II-12 gewidmet werden, die eindeutig eng miteinander verwandt sind. Die Ähnlichkeiten zeigen, dass die Sequenzen dieser Peptide fast sicher diejenigen der angegebenen GGF-Arten sind, und dass es sehr unwahrscheinlich ist, dass sie von Proteinen aus einer Verunreinigung stammen.

**[0137]** Außerdem ist die Sequenz X S S in dem Peptid GGF-II-02 mit dem Vorliegen eines N-gebundenen Kohlenhydratrestes auf einem Asparagin an der durch X bezeichneten Position vereinbar.

**[0138]** Im Allgemeinen stellt X in den [Fig. 8](#) und [Fig. 10](#) einen unbekanntesten Rest dar, womit auf einen Sequenzierungszyklus hingewiesen wird, in dem eine einzelne Position nicht mit Sicherheit bestimmt werden konnte, entweder weil mehr als ein Signal von gleicher Größe in dem Zyklus vorlag oder weil kein Signal vorlag. Ein Sternchen bezeichnet diejenigen Peptide, bei denen die letzte angegebene Aminosäure auch der letzten, in diesem Peptid vorliegenden Aminosäure entspricht. In den restlichen Peptiden war die Signalstärke nach der letzten angegebenen Aminosäure nicht ausreichend, um die Bestimmung der Sequenz bis zum Ende dieses Peptids fortzusetzen. Die Spalte auf der rechten Seite gibt die Ergebnisse einer Datenbank-Suche auf dem Computer an, wobei das GCG-Paket der Programme FASTA und TFASTA verwendet wurde, um die NBRF- und EMBL-Sequenz-Datenbanken zu analysieren. Der Name eines Proteins in dieser Spalte gibt die Identität eines Teils seiner Sequenz mit der angegebenen Peptid-Aminosäuresequenz an, wobei maximal zwei Abweichungen erlaubt sind. Ein Fragezeichen bezeichnet drei erlaubte Abweichungen. Die verwendeten Abkürzungen sind wie folgt:

HMG-1 Hoch-Mobilitäts-Gruppen-Protein-1

HMG-2 Hoch-Mobilitäts-Gruppen-Protein-2

LH-alpha Luteinisierungshormon, alpha-Untereinheit

LH-beta Luteinisierungshormon, beta-Untereinheit

#### Beispiel 10

Isolierung und Clonierung von Nucleotidsequenzen, die Proteine codieren, die GGF-I- und GGF-II-Peptide enthalten

**[0139]** Die Isolierung und die Clonierung der GGF-II-Nucleotidsequenzen erfolgten, wie hier beschrieben, wobei Peptidsequenzinformationen und Bank-Durchmusterung verwendet wurden, außerdem wurden die Verfahren, wie nachstehend angegeben, durchgeführt. Es ist so zu verstehen, dass die Peptide der [Fig. 10](#) und [Fig. 11](#) als Ausgangspunkt für die Isolierung und Clonierung von GGF-I-Sequenzen verwendet werden können, indem die hier beschriebenen Verfahren befolgt werden. Dabei zeigt [Fig. 20](#), SEQ ID NOs: 51 bis 84, mögliche degenerierte Oligonucleotid-Sonden für diesen Zweck, und in [Fig. 22](#), SEQ ID NOs: 86 bis 115, sind mögliche PCR-Primer aufgelistet. Mit diesen Hilfsmitteln wie mit GGF-II sollte es möglich sein, die DNA-Sequenz und die Polypeptidsequenz zu erhalten, und außerdem DNA-Konstrukte und Expressionsvektoren, die eine solche DNA-Sequenz einbauen, Wirtszellen, die durch Einbau solcher Konstrukte/Vektoren genetisch verändert wurden, und ein Protein, das durch Züchten solcher Zellen hergestellt werden kann. Die Erfindung betrifft solche Gegenstände.

#### I. Entwurf und Synthese von Oligonucleotid-Sonden und Primern

**[0140]** Degenerierte DNA-Oligomer-Sonden wurden durch Zurück-Übersetzen der Aminosäuresequenzen (die von den Peptiden stammen, die aus gereinigtem GGF-Protein hergestellt wurden) zu den Nucleotidsequenzen entworfen. Oligomere stellen entweder den codierenden Strang oder den nicht-codierenden Strang der DNA-Sequenz dar. Wenn Serin, Arginin oder Leucin im entworfenen Oligomer enthalten waren, wurden zwei getrennte Synthesen durchgeführt, um eine Mehrdeutigkeit zu vermeiden. Z.B. wurde Serin entweder durch TCN oder durch AGY wie in 537 und 538 oder 609 und 610 codiert. Eine ähnliche Codon-Aufspaltung wurde für Arginin oder für Leucin durchgeführt (z.B. 544, 545). Die DNA-Oligomere wurden auf einem Biosearch 8750-4-Säulen-DNA-Synthesegerät unter Verwendung der  $\beta$ -Cyanoethyl-Chemie synthetisiert, wobei



die Synthese in einem Maßstab von 0,2 µMol erfolgte. Die Oligomere wurden von der Säule abgespalten (500 Ångström-CpG-Harze) und die Schutzgruppen in konzentriertem Ammoniumhydroxid 6 bis 24 Stunden bei 55 bis 60°C entfernt. Die Oligomere ohne Schutzgruppen wurden unter Vakuum getrocknet (Speedvac) und durch Elektrophorese in Gelen aus 15 % Acrylamid (20 mono : 1 bis), 50 mM Tris-Borat-EDTA-Puffer, enthaltend 7 M Harnstoff, gereinigt. Oligomere der vollen Länge wurden in den Gelen unter UV-Beschattung nachgewiesen, danach wurden die Banden ausgeschnitten und die DNA-Oligomere in 1,5 ml H<sub>2</sub>O unter Schütteln in 4 bis 16 Stunden eluiert. Das Eluat wurde getrocknet, in 0,1 ml H<sub>2</sub>O wieder gelöst und sodann wurden Messungen der Absorption bei 260 nm durchgeführt.

**[0141]** Die Konzentrationen wurden gemäß der folgenden Formel bestimmt:

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

**[0142]** Alle Oligomere wurden durch Zugabe von H<sub>2</sub>O auf eine Konzentration von 50 µM eingestellt.

**[0143]** Die degenerierten Sonden, die wie vorstehend entworfen wurden, sind in [Fig. 20](#), SEQ ID NOs: 54 bis 88, dargestellt.

**[0144]** PCR-Primer wurden im Wesentlichen durch die gleichen Verfahren hergestellt, die für Sonden verwendet wurden, wobei die folgenden Modifikationen erfolgten. Aus 13 Nucleotiden bestehende Linker, die Restriktionsstellen enthielten, wurden für die Verwendung bei der Clonierung in Vektoren an den 5'-Enden der degenerierten Oligomere angefügt. Die DNA-Synthese erfolgte im Maßstab von 1 µMol unter Verwendung von 1000 Ångström-CpG-Harzen, und an den Positionen, an denen in die degenerierten Sonden normalerweise alle vier Nucleotide eingebaut werden, wurde Inosin verwendet. Die Reinigung der PCR-Primer umfasste eine Ethanol-Fällung, die auf die Reinigung durch Gel-Elektrophorese folgte.

## II. Konstruktion und Durchmusterung einer Bank

**[0145]** Eine genomische DNA-Bank des Rindes wurde von Stratagene bezogen (Katalog Nr.: 945701). Die Bank enthielt  $2 \times 10^6$  Sau3A1-teilgespaltene Rinder-DNA-Fragmente von 15–20kb, die in den Vektor Lambda DashII cloniert waren. Eine Rinder-Gesamtgehirn-cDNA-Bank wurde von Clontech bezogen (Katalog Nr.: BL 10139). Komplementäre DNA-Banken wurden aus mRNA konstruiert (In Vitrogen; Stratagene), die aus Rinder-Gesamtgehirn, aus Rinder-Hypophyse und aus Rinder-Hypophysenhinterlappen hergestellt wurde. In Vitrogen stellte zwei cDNA-Banken her: eine Bank lag im Vektor Lambda g10 vor, die andere im Vektor pcDNAI (eine Plasmid-Bank). Die Stratagene-Banken wurden im Vektor Lambda Unizap hergestellt. Zusammen enthielten die cDNA-Banken 14 Millionen primäre rekombinante Phagen.

**[0146]** Die genomische Rinder-Bank wurde auf E. coli K12, Wirtstamm LE392, auf 23 × 23 cm großen Platten (Nunc) mit 150 000 bis 200 000 Phagenplaques pro Platte plattiert. Jede Platte stellte etwa ein Rinder-Genom-Äquivalent dar. Nach einer Inkubation bei 37°C über Nacht wurden die Platten gekühlt und Replika-Filter gemäß den Verfahren von Maniatis et al. (2: 60–81) hergestellt. Von jeder Platte wurden vier Plaques-Abzüge auf ungeladene Nylonmembranen (Pall Biotryne A oder MSI Nitropure) hergestellt. Die DNA wurde auf den Membranen immobilisiert, indem diese unter UV-Licht fünf Minuten vernetzt wurden oder indem sie bei 80°C unter Vakuum zwei Stunden gebacken wurden. DNA-Sonden wurden unter Verwendung von T4-Polynucleotid-Kinase (New England Biolabs) mit  $\gamma$ -<sup>32</sup>P-ATP (New England Nuclear; 6500 Ci/mMol) nach den Anweisungen des Herstellers markiert. Kurz gesagt wurden 50 pMol des degenerierten DNA-Oligomers in Gegenwart von 600 µCi  $\gamma$ -<sup>32</sup>P-ATP und fünf Einheiten T4-Polynucleotid-Kinase 30 Minuten bei 37°C inkubiert. Die Reaktionen wurden beendet, ein Gelelektrophorese-Auftragepuffer wurde zugegeben, und danach wurden die radiomarkierten Sonden durch Elektrophorese gereinigt. <sup>32</sup>P-markierte Sonden wurden aus Gelscheiben ausgeschnitten und in Wasser eluiert. Andererseits wurden DNA-Sonden über eine PCR-Amplifikation durch den Einbau von  $\alpha$ -<sup>32</sup>P-dATP oder  $\alpha$ -<sup>32</sup>P-dCTP gemäß den Anweisungen von Schowalter und Sommer, Anal. Biochem. 177: 90–94, 1989, markiert. Die in PCR-Reaktionen markierten Sonden wurden durch Entsalzen auf Sephadex G-150-Säulen gereinigt.

**[0147]** Die Vorhybridisierung und die Hybridisierung erfolgten in GMC-Puffer (0,52 M NaPi, 7 % SDS, 1 % BSA, 1,5 mM EDTA, 0,1 M NaCl, 10 mg/ml tRNA). Das Waschen erfolgte in Oligowash (160 ml 1 M Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 200 ml 20 % SDS, 8,0 ml 0,5 M EDTA, 100 ml 5 M NaCl, 3632 ml H<sub>2</sub>O). Typischerweise wurden 20 Filter (mit jeweils 400 cm<sup>2</sup>), die Replika-Kopien von zehn Rinder-Genom-Äquivalenten darstellten, in 200 ml Hybridisierungslösung mit 100 pMol der degenerierten Oligonucleotid-Sonde (128- bis 512-fach degeneriert) inkubiert. Die Hybridisierung erfolgte über Nacht bei 5°C unter der minimalen Schmelztemperatur, die für die degenerier-

te Sonde berechnet worden war. Bei der Berechnung der minimalen Schmelztemperatur werden 2°C für ein AT-Paar und 4°C für ein GC-Paar angenommen.

**[0148]** Die Filter wurden in wiederholt ausgetauschten Oligowash-Lösungen bei den Hybridisierungstemperaturen vier bis fünf Stunden und schließlich in 3,2 M Tetramethylammoniumchlorid, 1 % SDS zweimal 30 Minuten bei einer Temperatur gewaschen, die von der Länge der DNA-Sonde abhängig war. Für 20-Mere betrug die Temperatur des letzten Waschgangs 60°C. Die Filter wurden fixiert und danach auf einem Röntgenfilm (Kodak XAR5) unter Verwendung von Verstärkungsschirmen (Dupont Cronex Lightening Plus) exponiert. Normalerweise reichte eine Film-Exposition von drei bis fünf Tagen bei minus 80°C aus, um in diesen Bank-Durchmusterungsfiltern doppelte Signale nachzuweisen. Nach Auswertung der Ergebnisse konnten die Sonden von den Filtern entfernt werden und erneut mit Sonden getestet werden. Die Sonden wurden von den Filtern entfernt, indem sie in zwei aufeinander folgenden Zyklen 15 Minuten in einem Mikrowellen-Ofen bei voller Stärke in einer Lösung von 1 % SDS, enthaltend 10 mM EDTA, pH 8, inkubiert wurden. Die Filter wurden mindestens drei bis vier Zyklen mit Sondenentfernung und erneutem Testen mit verschiedenen Sonden ausgesetzt.

### III. Isolierung, Wachstum und DNA-Präparation von rekombinanten Phagen

**[0149]** Diese Verfahren wurden nach dem Standardprotokoll durchgeführt, das in Recombinant DNA (Maniatis et al., 2:60–2:81) beschrieben ist.

### IV. Analyse von isolierten Clonen unter Verwendung von DNA-Spaltung und Southern-Blots

**[0150]** Die Proben der rekombinanten Phagen-DNA (2 µg) wurden gemäß den Bedingungen gespalten, die vom Hersteller der Restriktionsendonuclease empfohlen wurden (New England Biolabs). Nach einer vierstündigen Inkubation bei 37°C wurden die Reaktionsprodukte in Gegenwart von 0,1 M Natriumacetat und drei Volumina Ethanol ausgefällt. Die ausgefällte DNA wurde abzentrifugiert, in 75 % Ethanol gespült und getrocknet. Alle resuspendierten Proben wurden auf Agarose-Gele aufgetragen (typischerweise 1 % in TAE-Puffer; 0,04 M Tris-Acetat, 0,002 M EDTA). Die Gele wurden bei 1 Volt pro cm vier bis 20 Stunden laufen gelassen. Die Marker umfassten HindIII-Lambda-DNA-Fragmente und/oder HaeIII-φX174-DNA-Fragmente (New England Biolabs). Die Gele wurden mit 0,5 µg/ml Ethidiumbromid gefärbt und fotografiert. Für das Southern-Blotting wurde die DNA zuerst im Gel durch Behandlung mit 0,125 N HCl depurinert, in 0,5 N NaOH denaturiert und in 20× SSC (3 M Natriumchlorid, 0,03 M Natriumcitrat) auf ungeladene Nylonmembranen überführt. Das Blotting erfolgte sechs bis 24 Stunden, danach wurden die Filter in 0,5 Tris-HCl, pH 7,5, 0,15 M Natriumchlorid neutralisiert und danach kurz in 50 mM Tris-Borat-EDTA gespült.

**[0151]** Für die Vernetzung wurden die Filter zuerst in transparente Kunststoffolie eingewickelt und danach wurde die DNA-Seite fünf Minuten einem UV-Licht ausgesetzt. Die Hybridisierung und das Waschen erfolgten, wie für die Durchmusterung der Bank beschrieben (vgl. Abschnitt 2 dieses Beispiels). Für die Hybridisierungs-Analyse, um zu bestimmen, ob ähnliche Gene in anderen Arten vorliegen, wurden geringfügige Modifikationen durchgeführt. Das DNA-Filter wurde von Clontech (Katalog Nr.: 7753-1) bezogen und enthält 5 µg einer EcoRI-gespaltenen DNA aus verschiedenen Arten pro Bahn. Die Sonde wurde durch PCR-Amplifikationsreaktionen, wie im vorstehenden Abschnitt 2 beschrieben, markiert, und die Hybridisierungen erfolgten in 80 % Puffer B (2 g Polyvinylpyrrolidin, 2 g Ficoll-400, 2 g Rinderserumalbumin, 50 ml 1 M Tris-HCl (pH 7,5), 58 g NaCl, 1 g Natriumpyrophosphat, 10 g Natriumdodecylsulfat, 950 ml H<sub>2</sub>O), enthaltend 10 % Dextransulfat. Die Sonden wurden denaturiert, indem sie zehn Minuten gekocht und danach rasch in Eiswasser abgekühlt wurden. Die Sonde wurde zum Hybridisierungspuffer mit 10<sup>6</sup> ZpM <sup>32</sup>P pro ml zugegeben und über Nacht bei 60°C inkubiert. Die Filter wurden bei 60°C zuerst in Puffer B gewaschen, worauf 2× SSC, 0,1 % SDS und anschließend 1× SSC, 0,1 % SDS folgten. Für Experimente mit hoher Stringenz erfolgten die letzten Waschgänge in 0,1× SSC, 1 SDS, wobei die Temperatur auf 65°C erhöht wurde.

**[0152]** Anhand der Werte aus dem Southern-Blot wurde eine Restriktionskarte des genomischen Clons erstellt und angegeben, welche Subfragmente mit den GGF-Sonden hybridisierten (Kandidaten für die Subclonierung).

### V. Subclonierung von DNA-Segmenten, die zu Hybridisierungssonden homolog sind

**[0153]** DNA-Spaltprodukte (z.B. 5 µg) wurden auf 1 % Agarose-Gele aufgetragen, dann wurden nach der Färbung geeignete Fragmente aus den Gelen ausgeschnitten. Die DNA wurde durch Adsorption an Glasperlen gereinigt, worauf eine Elution unter Verwendung des durch den Hersteller empfohlenen Protokolls folgte (Bio 101). Die gewonnenen DNA-Fragmente (100 bis 200 ng) wurden in linearisierte dephosphorylierte Vektoren,



z.B. pT3T7 (Ambion), wobei es sich um ein Derivat von pUC18 handelt, unter Verwendung von T4-Ligase (New England Biolabs) ligiert. Dieser Vektor enthält das  $\beta$ -Lactamase-Gen von *E. coli*, somit können Transformanten auf Platten, die Ampicillin enthalten, selektiert werden. Der Vektor bewirkt bei den Wirtszellen außerdem die Ergänzung der  $\beta$ -Galactosidase, weshalb Nicht-Rekombinanten (blau) unter Verwendung von Isopropylthiogalactosid und BluoGal (Bethesda Research Labs) nachgewiesen werden können. Ein Teil der Ligierungsreaktionsgemische wurde verwendet, um kompetente *E. coli*-Zellen K12 XL1 blue (Stratagene, Katalog Nr.: 200236) zu transformieren, und danach wurden die Transformanten auf LB-Platten, die 50  $\mu\text{g/ml}$  Ampicillin enthielten, selektiert. Weiße Kolonien wurden selektiert und sodann Plasmid-Minipräparate für die DNA-Spaltung und für die DNA-Sequenzanalyse hergestellt. Die selektierten Clone wurden erneut getestet, um zu bestimmen, ob ihre Insertions-DNA mit den GGF-Sonden hybridisierte.

## VI. DNA-Sequenzierung

**[0154]** Doppelsträngige Plasmid-DNA-Matrizen wurden aus 5-ml-Kulturen gemäß Standardprotokollen hergestellt. Die Sequenzierung erfolgte durch das Didesoxy-Kettenterminationsverfahren unter Verwendung der Sequenase 2.0 und eines Didesoxynucleotid-Sequenzierungs-Kits (US Biochemical) gemäß den Anweisungen des Herstellers (eine Modifikation von Sanger et al., PNAS USA 74: 5463, 1977). Alternativ wurde die Sequenzierung in einem DNA-Thermostyker (Perkin Elmer, Modell 4800) unter Verwendung eines Zyklus-Sequenzierungs-Kits (New England Biolabs; Bethesda Research Laboratories) durchgeführt, wobei ein 5'-endmarkierter Primer eingesetzt und die Anweisungen des Herstellers befolgt wurden. Die Sequenzprimer waren entweder solche, die zusammen mit den Sequenzierungs-Kits bereitgestellt wurden, oder sie wurden gemäß der aus den Clonen bestimmten Sequenz synthetisiert. Die Sequenzierungs-Reaktionsgemische wurden auf 0,4 mm dicke Sequenzierungs-Gele aus 6 % Polyacrylamid aufgetragen und aufgetrennt. Die Gele wurden getrocknet und einem Röntgenfilm ausgesetzt. Typischerweise war  $^{35}\text{S}$  eingebaut, wenn Standard-Sequenzierungs-Kits verwendet wurden, und bei zyklischen Sequenzierungsreaktionen wurde ein  $^{32}\text{P}$ -endmarkierter Primer eingesetzt. Die Sequenzen wurden von dem Gel von unten nach oben (Richtung von 5' nach 3') abgelesen und in einen DNA-Sequenz-Editor eingegeben und die Werte sodann unter Verwendung von Programmen analysiert, die von der Genetics Computer Group (GCG, University of Wisconsin) stammten.

## VII. RNA-Herstellung und PCR-Amplifikation

**[0155]** Offene Leseraster, die in der genomischen DNA nachgewiesen wurden und die eine Sequenz enthielten, welche GGF-Peptide codiert, wurden mittels einer PCR-Amplifikation der Hypophysen-RNA verlängert. Die RNA wurde aus gefrorenem Rindergewebe (Pelfreeze) gemäß dem Guanidin-Neutral-CsCl-Verfahren (Chirgwin et al., Biochemistry 18: 5294, 1979) hergestellt. Die polyadenylierte RNA wurde durch Oligo-dT-Celulose-Säulenchromatographie selektiert (Aviv und Leder, PNAS (USA) 69: 1408, 1972).

**[0156]** Spezifische DNA-Zielsequenzen wurden amplifiziert, wobei entweder mit Gesamt-RNA- oder mit polyadenylierten RNA-Proben begonnen wurde, die unter Verwendung des Perkin Elmer PCR/RNA-Kits Nr. N808-0017 zu cDNA umgewandelt worden waren. Für die reversen Transkriptionsreaktionen des ersten Strangs wurden 1  $\mu\text{g}$  Matrizen-RNA und entweder Primer von Oligo-dT mit angefügten Restriktionsenzym-Erkennungsstellen-Linkern oder spezifische Antisense-Primer, die aus clonierten Sequenzen bestimmt wurden, mit angefügten Restriktionsstellen verwendet. Um den zweiten Strang zu erzeugen, waren die Primer entweder einmalige Sequenzen des Plus-Strangs, wie in 3'-RACE-Reaktionen verwendet (Frohman et al., PNAS (USA) 85: 8998, 1988), oder es waren Oligo-dT-Primer mit angefügten Restriktionsstellen, wenn die zweite Zielstelle durch Anhängen von dATP an die Erststrang-Reaktionsprodukte mittels terminaler Transferase angefügt worden war (z.B. 5'-RACE-Reaktionen, Frohman et al., vorstehend). Alternativ, wie in verankerten PCR-Reaktionen, waren die Zweitstrang-Primer degeneriert, wobei sie somit bestimmte Peptidsequenzen darstellten.

**[0157]** Die Amplifikationsprofile erfolgten gemäß dem folgenden allgemeinen Schema: 1) fünf Minuten Einweichen-File bei 95°C; 2) Thermozyklus-File von 1 Minute, 95°C; 1 Minute Abkühlen auf eine Anelierungstemperatur von 45°C, 50°C oder 55°C; Beibehalten der Anelierungstemperatur 1 Minute; Erwärmen auf 72°C innerhalb von 1 Minute; Verlängern bei 72°C 1 Minute oder 1 Minute plus eine 10 Sekunden Auto-Verlängerung; 3) Verlängerungszyklus bei 72°C, fünf Minuten, und; 4) Einweichen-File bei 4°C eine unbestimmte Zeit. Die Thermozyklus-Files (# 2) wurden üblicherweise 30 Zyklen laufen gelassen. Von jedem 100- $\mu\text{l}$ -Amplifikations-Reaktionsgemisch wurde eine 16- $\mu\text{l}$ -Probe durch Elektrophorese in 2 % Nusieve 1 % Agarose-Gelen analysiert, die in TAE-Puffer bei 4 Volt pro cm drei Stunden laufen gelassen wurden. Die Gele wurden gefärbt und anschließend auf ungeladene Nylonmembranen geblottet, die mit markierten DNA-Sonden getestet wurden, die innerhalb der Primer lagen.

**[0158]** In den Blotting-Experimenten konnten spezifische Sätze von DNA-Amplifikationsprodukten identifiziert werden, und ihre Positionen konnten als Richtlinie für die Reinigung und Re-Amplifikation verwendet werden. Gegebenenfalls wurden die restlichen Teile von ausgewählten Proben auf präparative Gele aufgetragen, dann wurden nach der Elektrophorese vier bis fünf Scheiben mit einer Dicke von 0,5 mm aus dem Gel entnommen (wobei diese die erwartete Position des spezifischen Produkts umrahmten). Die Agarose wurde zerkleinert und dann in 0,5 ml Elektrophorese-Puffer zwei bis 16 Stunden bei 40°C eingeweicht. Die zerkleinerte Agarose wurde zwei Minuten zentrifugiert und die wässrige Phase in frische Röhren überführt.

**[0159]** Die Re-Amplifikation erfolgte mit 5 µl (etwa 1 % des Produkts) des eluierten Materials unter Verwendung des gleichen Satzes von Primern und der Reaktionsprofile wie in den ursprünglichen Reaktionen. Wenn die Re-Amplifikationsreaktionen vollständig abgelaufen waren, wurden die Proben mit Chloroform extrahiert und in frische Röhren überführt. Konzentrierte Restriktionsenzym-Puffer und Enzyme wurden zu den Reaktionsgemischen zugegeben, um sie an den in den Linkern vorliegenden Restriktionsstellen zu spalten. Die gespaltenen PCR-Produkte wurden durch Gel-Elektrophorese gereinigt und danach in Vektoren subcloniert, wie im vorstehenden Abschnitt Subclonierung beschrieben. Die DNA-Sequenzierung erfolgte, wie vorstehend beschrieben.

#### VIII. DNA-Sequenzanalyse

**[0160]** Die DNA-Sequenzen wurden unter Verwendung eines Fragment-Zusammenbau-Programms und der Aminosäuresequenzen, die durch die GCG-Programme GelAssemble, Map and Translate hergeleitet wurden, zusammengebaut. Die hergeleiteten Proteinsequenzen wurden als eine Abfragesequenz verwendet, um Proteinsequenz-Datenbanken unter Verwendung von WordSearch zu durchsuchen. Die Analyse erfolgte auf einer Arbeitsstation VAX Station 3100, die unter VMS 5.1 lief. Die Datenbanksuche wurde auf SwissProt Version Nr. 21 unter Verwendung der GCG-Version 7.0 durchgeführt.

#### IX. Ergebnisse der Clonierung und Sequenzierung von Genen, die GGF-I und GGF-II codieren

**[0161]** Wie vorstehend angegeben, wurden zur Identifizierung der DNA-Sequenz, die Rinder-GGF-II codiert, aus GGF-II-Peptidsequenzen degenerierte Oligonucleotid-Sonden entworfen. GGF-II-12 (SEQ ID NO: 44), ein Peptid, das durch Lysyl-Endopeptidase-Spaltung eines gereinigten GGF-II-Präparats erzeugt wurde (vgl. [Fig. 16](#) und [Fig. 12](#)), zeigte eine starke Homologie in der Aminosäuresequenz mit GGF-I-07 (SEQ ID NO: 39), einem tryptischen Peptid, das aus einem gereinigten GGF-I-Präparat hergestellt wurde. GGF-II-12 wurde deshalb verwendet, um zehn degenerierte Oligonucleotid-Sonden zu erzeugen (vgl. Oligos 609, 610 und 649 bis 656 in [Fig. 20](#), SEQ ID NOs: 66, 67, 68 bzw. 75). Ein doppelter Satz von Filtern wurde mit zwei Sätzen von Sonden (Satz 1 = 609, 610; Satz 2 = 649 bis 656) getestet, die zwei überlappende Teile von GGF-II-12 codieren. Hybridisierungssignale wurden festgestellt, wobei jedoch nur ein Clon mit beiden SONDENSÄTZEN hybridisierte. Der Clon (der mit GGF2BG1 bezeichnet wurde) wurde gereinigt.

**[0162]** Die Southern-Blot-Analyse von DNA aus dem Phagenclon GGF2BG1 bestätigte, dass beide Sätze von Sonden mit dieser Rinder-DNA-Sequenz hybridisierten, und sie zeigte weiterhin, dass beide Sonden mit dem gleichen Satz von DNA-Fragmenten innerhalb des Clons reagierten. Aufgrund dieser Experimente wurde ein 4-kb-EcoRI-Subfragment des ursprünglichen Clons identifiziert, subcloniert und teilweise sequenziert. [Fig. 21](#) zeigt die Nucleotidsequenz, SEQ ID NO: 89, und die hergeleitete Aminosäuresequenz der anfänglichen DNA-Sequenzdaten, die die Hybridisierungsstellen der Sonden 609 und 650 umfassten, wodurch bestätigt wurde, dass ein Teil dieser genomischen Rinder-DNA das Peptid 12 codierte (KASLADSGEYM).

**[0163]** Die weitere Sequenzanalyse zeigte, dass GGF-II-12 auf einem aus 66 Aminosäuren bestehenden offenen Leseraster lag (vgl. nachstehend), das zum Ausgangspunkt für die Isolierung von überlappenden Sequenzen wurde, die ein mutmaßliches Rinder-GGF-II-Gen und eine cDNA darstellten.

**[0164]** Verschiedene PCR-Verfahren wurden eingesetzt, um weitere codierende Sequenzen für das mutmaßliche Rinder-GGF-II-Gen zu erhalten. Gesamt-RNA und Oligo-dT-selektierte (Poly-A enthaltende) RNA-Proben wurden aus der gesamten Hypophyse, dem Hypophysenvorderlappen, dem Hypophysenhinterlappen und dem Hypothalamus des Rindes hergestellt. Unter Verwendung von Primern aus der in [Fig. 22](#) dargestellten Liste, SEQ ID NOs: 109 bis 119, wurden einseitige PCR-Reaktionen (RACE) eingesetzt, um cDNA-Enden sowohl in 3'- als auch in 5'-Richtung zu amplifizieren, und außerdem wurden verankerte PCR-Reaktionen mit degenerierten Oligonucleotid-Primern durchgeführt, die weitere GGF-II-Peptide darstellten. In [Fig. 29](#) sind die aneinander angrenzenden DNA-Strukturen und -Sequenzen zusammengestellt, die in diesen Experimenten erhalten wurden. Durch die 3'-RACE-Reaktionen wurden drei verschiedenen gespleißte cDNA-Sequenzen pro-

duziert, die cloniert und sequenziert wurden. Eine 5'-RACE-Reaktion führte zur Entdeckung einer ein weiteres Exonenthaltenden codierenden Sequenz für mindestens 52 Aminosäuren. Die Analyse dieser hergeleiteten Aminosäuresequenz ergab die Peptide GGF-II-6 und eine Sequenz, die dem GGF-I-18 ähnlich war (vgl. nachstehend). Die verankerten PCR-Reaktionen führten zur Identifizierung von (cDNA) codierenden Sequenzen der Peptide GGF-II-1, 2, 3 und 10, die innerhalb eines weiteren cDNA-Segments von 300 bp enthalten waren. Die 5'-Grenze dieses Segments (d.h. Segment E, vgl. **Fig. 30**) ist durch das Oligonucleotid definiert, das das Peptid GGF-II-1 codiert und das in der PCR-Reaktion verwendet wurde (weitere 5'-Sequenz-Daten liegen vor, wie für den menschlichen Clon in Beispiel 11 beschrieben). Somit enthält dieser Clon Nucleotidsequenzen, die sechs der insgesamt vorliegenden neun neuen GGF-II-Peptidsequenzen codieren.

**[0165]** Das clonierte Gen wurde charakterisiert, indem zuerst eine physikalische Karte von GGF2GB1 konstruiert wurde, die es uns möglich machte, die codierenden Sequenzen, die gefunden wurden, zu positionieren (vgl. nachstehend, **Fig. 30**). DNA-Sonden aus den vorstehend beschriebenen codierenden Sequenzen wurden verwendet, um weitere DNA-Fragmente zu identifizieren, welche die Exons auf diesem Phagenclon enthielten, und um Clone zu identifizieren, die in beiden Richtungen überlappen. Das mutmaßliche Rinder-GGF-II-Gen ist in mindestens fünf codierende Segmente aufgeteilt. Codierende Segmente sind als Strecken einer DNA-Sequenz bestimmter Länge definiert, die unter Verwendung des universellen genetischen Codes in Polypeptidsequenzen translatiert werden können. Die codierenden Segmente, die in **Fig. 36** beschrieben und in der vorliegenden Anmeldung angesprochen werden, sind: 1) bestimmte Exons, die innerhalb des GGF-Gens vorliegen (z.B. codierendes Segment a), oder 2) hergeleitet von Sätzen von zwei oder mehr Exons, die in spezifischen Subgruppen von mRNAs erscheinen, wobei jeder Satz in die spezifischen Polypeptidsegmente translatiert werden kann, wie in den Genprodukten gezeigt. Die in den Patentansprüchen angesprochenen Polypeptidsegmente sind die Translationsprodukte der analogen codierenden DNA-Segmente. Nur die codierenden Segmente A und B wurden als Exons definiert und bisher sequenziert und kartiert. Die Zusammenfassung der identifizierten, aneinander angrenzenden, codierenden Sequenzen ist in **Fig. 31** dargestellt. Die Exons sind (alphabetisch) aufgelistet in der Reihenfolge ihrer Entdeckung. Aus den Intron/Exon-Grenzen ist ersichtlich, dass Exon B in cDNAs enthalten sein kann, die das codierende Segment E und das codierende Segment A verbinden. Das heißt, Exon B kann nicht herausgespleißt werden, ohne dass das Leseraster beeinträchtigt wird. Deshalb vermuten wir, dass drei alternative Spleißmuster die mutmaßlichen Rinder-GGF-II-cDNA-Sequenzen 1, 2 und 3 erzeugen können. Die codierenden Sequenzen hiervon, genannt GGF2BPP1.CDS, GGF2BPP2.CDS bzw. GGF2BPP3.CDS, sind in den **Fig. 27A** (SEQ ID NO: 129), 27B (SEQ ID NO: 130) bzw. 27C (SEQ ID NO: 131) angegeben. Die hergeleitete Aminosäuresequenz der drei cDNAs ist auch in den **Fig. 27A** (SEQ ID NO: 129), 27B (SEQ ID NO: 130) und 27C (SEQ ID NO: 131) angegeben.

**[0166]** Die drei hergeleiteten Strukturen codieren Proteine mit Längen von 206, 281 und 257 Aminosäuren. Die ersten 183 Reste der hergeleiteten Proteinsequenz sind in allen drei Genprodukten identisch. An Position 184 unterscheiden sich die Clone signifikant. Ein Codon für Glycin GGT in GGF2BPP1 dient auch als ein Spleiß-Donor für GGF2BPP2 und GGF2BPP3, bei denen alternativ die Exons C, C/D, C/D' und D bzw. C, C/D und D angefügt sind, wie in **Fig. 32**, SEQ ID NO: 145, gezeigt. GGFII BPP1 ist ein verkürztes Genprodukt, das erzeugt wird, indem über die Spleißstelle des codierenden Segments A in die folgende intervenierende Sequenz (Intron) hinein abgelesen wird. Dies stellt das codierende Segment A' in **Fig. 30** (SEQ ID NO: 136) dar. Das Transkript endet angrenzend an eine kanonische AATAAA-Polyadenylierungssequenz, und wir nehmen an, dass dieses verkürzte Genprodukt ein reifes bona-fide-Transkript darstellt. Die anderen zwei längeren Genprodukte haben die gleiche untranslatierte 3'-Sequenz und Polyadenylierungsstelle gemeinsam.

**[0167]** Alle drei dieser Moleküle enthalten sechs der neun neuen GGF-II-Peptidsequenzen (**Fig. 11**), und ein weiteres Peptid ist sehr homolog zu GGF-I-18 (vgl. **Fig. 26**). Aufgrund dieses Ergebnisses besteht eine hohe Wahrscheinlichkeit, dass dieses rekombinante Molekül mindestens einen Teil des Rinder-GGF-II codiert. Weiterhin sind für die drei Peptide die berechneten isoelektrischen Punkte mit den physikalischen Eigenschaften von GGF-I und II vereinbar. Da die Molekülgröße von GGF-II etwa 60 kD beträgt, sollte die längste der drei cDNAs ein Protein mit etwa einer Hälfte der vorausgesagten Zahl von Aminosäuren codieren.

**[0168]** Eine Sonde, welche die Exons B und A umfasste, wurde durch PCR-Amplifikation markiert und eingesetzt, um eine cDNA-Bank durchzumustern, die aus einer aus Rinder-Hypophysenhinterlappen isolierten RNA hergestellt worden war. Ein Clon (GGF2BPP5) zeigte das Muster, das in **Fig. 29** angegeben ist, und enthielt ein weiteres codierendes DNA-Segment (G) zwischen den codierenden Segmenten A und C. Die gesamte Nucleinsäuresequenz ist in **Fig. 31** dargestellt (SEQ ID NO: 144). Das vorausgesagte Translationsprodukt aus dem längsten offenen Leseraster weist 241 Aminosäuren auf. Außerdem wurde ein Teil einer zweiten cDNA (GGF2BPP4) aus der Rinder-Hypophysenhinterlappen-Bank unter Verwendung der vorstehend beschriebenen Sonde isoliert. Dieser Clon zeigte das in **Fig. 29** angegebene Muster. Dieser Clon ist am 5'-Ende unvoll-

ständig, er ist jedoch eine Spleißvariante in dem Sinn, dass ihm die codierenden Segmente G und D fehlen. BPP4 zeigt auch ein neues 3'-Ende mit den Regionen H, K und L, die hinter der Region C/D liegen. Die Sequenz von BPP4 ist in **Fig. 33** dargestellt (SEQ ID Nr. 146).

## Beispiel 11

## GGF-Sequenzen in verschiedenen Arten

**[0169]** Die GGF-Proteine sind Mitglieder einer neuen Superfamilie von Proteinen. In Kreuzhybridisierungs-Studien mit hoher Stringenz (DNA-Blotting-Experimenten) mit anderen Säuger-DNAs haben wir deutlich gezeigt, dass DNA-Sonden aus diesem rekombinanten Rinder-Molekül in einer Vielzahl von getesteten Proben spezifische Sequenzen einfach nachweisen können. Auch in menschlicher genomischer DNA wird eine stark homologe Sequenz nachgewiesen. Das Autoradiogramm ist in **Fig. 28** dargestellt. Die Signale in den Bahnen, die Ratten- und menschliche DNA enthalten, stellen die Äquivalente des GGF-Gens der Ratte und des Menschen dar, wobei die Sequenzen von verschiedenen cDNAs, die durch dieses Gen codiert werden, kürzlich von Holmes et al. (Science 256: 1205, 1992) und von Wen et al. (Cell 69: 559, 1992) beschrieben wurden.

## Beispiel 12

## Isolierung einer menschlichen Sequenz, die ein menschliches GGF2 codiert

**[0170]** Verschiedene menschliche Clone, die Sequenzen aus dem codierenden Segment E des Rinder-GGFII enthalten, wurden durch Durchmusterung einer menschlichen cDNA-Bank isoliert, die aus Hirnstamm hergestellt worden war (Stratagene, Katalog Nr. 935206). Diese Strategie wurde aufgrund des deutlichen Zusammenhangs zwischen den meisten GGF2-Peptiden (einmalig für GGF2) und der vorausgesagten Peptidsequenz aus Clonen, die das Rinder-Segment E enthalten, verfolgt. Diese Bank wurde, wie in Beispiel 8, Abschnitt II, beschrieben, durchgemustert, wobei die nachstehend angegebenen Oligonucleotid-Sonden 914 bis 919 verwendet wurden.

<b>914TCGGGCTCCATGAAGAAGATGTA</b>	<b>(SEQ ID NO: 179)</b>
<b>915TCCATGAAGAAGATGTACCTGCT</b>	<b>(SEQ ID NO: 180)</b>
<b>916ATGTACCTGCTGTCCTCCTTGA</b>	<b>(SEQ ID NO: 181)</b>
<b>917TTGAAGAAGGACTCGCTGCTCA</b>	<b>(SEQ ID NO: 182)</b>
<b>918AAAGCCGGGGGCTTGAAGAA</b>	<b>(SEQ ID NO: 183)</b>
<b>919ATGARGTGTGGGCGGCGAAA</b>	<b>(SEQ ID NO: 184)</b>

**[0171]** Die mit diesen Sonden nachgewiesenen Clone wurden durch Hybridisierung noch weiter analysiert. Außerdem wurde eine Sonde, die vom codierenden Segment A stammte (vgl. **Fig. 30**) und durch Markierung eines Produkts der Polymerasekettenreaktion (PCR) aus Segment A hergestellt wurde, zum Durchmusteren der primären Bank verwendet. Mehrere Clone, die sowohl mit von A als auch von E stammenden Sonden hybridisierten, wurden selektiert, und ein bestimmter Clon, GGF2HBS5, wurde für die weitere Analyse ausgewählt. Dieser Clon wird durch das folgende Muster von codierenden Segmenten dargestellt (EBACC/D'D, wie in **Fig. 30** angegeben). Das Segment E in diesem Clon ist das menschliche Äquivalent der verkürzten Rinder-Version von E, wie in **Fig. 30** gezeigt. GGF2HBS5 ist von allen beschriebenen „mutmaßlichen“ GGF-II-Kandidaten der Kandidat, der mit größter Wahrscheinlichkeit GGF-II codiert. Die Länge des Segments E der codierenden Sequenz beträgt 786 Nucleotide plus 264 Basen einer untranslatierten Sequenz. Die vorausgesagte Größe des durch GGF2HBS5 codierten Proteins beträgt etwa 423 Aminosäuren (etwa 45 Kilodalton, vgl. **Fig. 44**, SEQ ID NO: 21), dies ist ähnlich der Größe der deglycosylierten Form von GGF-II (vgl. Beispiel 20). Außerdem haben sieben der GGF-II-Peptide, die in **Fig. 26** angegeben sind, äquivalente Sequenzen, die in die Proteinsequenz fallen, die aus Region E vorausgesagt wurde. Die Peptide II-6 und II-12 sind Ausnahmen, die in das codierende Segment B bzw. das codierende Segment A fallen. Eine RNA, die das Protein GGF2HBS5 codiert, wurde in einem in vitro-Transkriptionssystem erzeugt, das durch den Promotor des Bakteriophagen T7 gesteuert wurde, der im Vektor vorlag (Bluescript SK [Stratagene Inc.], vgl. **Fig. 47**), welcher die GGF2HBS5-Insertion enthielt. Diese RNA wurde in einem zellfreien (Kaninchen-Retikulocyten) Translationssystem translatiert, wobei die Größe des Proteinprodukts 45 kD betrug. Außerdem wurde das zellfreie Produkt in einem Schwann-Zellen-Mitogenese-Test getestet, um die biologische Aktivität zu bestätigen. Die mit konditioniertem Medium behandelten Schwann-Zellen zeigen sowohl eine gesteigerte Proliferation, die durch den Einbau von <sup>125</sup>I-Uridin gemessen wurde, als auch eine Phosphorylierung am Tyrosin eines Proteins im Be-



reich von 185 Kilodalton.

**[0172]** Somit bestätigen die Größe des Produkts, das durch GGF2HBS5 codiert wird, und das Vorliegen von DNA-Sequenzen, die menschliche Peptide codieren, die stark homolog sind zu den Rinder-Peptiden, die in [Fig. 11](#) dargestellt sind, dass GGF2HBS5 das menschliche Äquivalent des Rinder-GGF2 codiert. Die Tatsache, dass konditionierte Medien, die aus Zellen hergestellt wurden, die mit diesem Clon transformiert waren, eine Mitogenese-Aktivität auf Schwann-Zellen hervorbringen, bestätigt, dass das GGFIHBS5-Genprodukt (anders als das BPP5-Genprodukt) ausgeschieden wird. Außerdem scheint das GGFIHBS5-Genprodukt die Proliferations-Antwort von Schwann-Zellen über einen Rezeptor-Tyrosin-Kinase, wie p185<sup>erbB2</sup>, oder einen nah verwandten Rezeptor zu vermitteln (vgl. Beispiel 19).

### Beispiel 13

#### Expression eines menschlichen rekombinanten GGF2 in Säuger- und Insektenzellen

**[0173]** Der GGF2HBS5-cDNA-Clon, der menschliches GGF2 codiert (wie in Beispiel 12 beschrieben, der hier auch als HBS5 bezeichnet wird), wurde in den Vektor pcDL-SR $\alpha$ 296 cloniert, und sodann wurden COS-7-Zellen in 100-mm-Schalen durch das DEAE-Dextran-Verfahren transfiziert. Danach wurden Zelllysate oder konditionierte Medien aus transient exprimierenden COS-Zellen drei oder vier Tage nach der Transfektion geerntet. Um Lysate herzustellen, wurden einschichtige Zellrasen mit PBS gewaschen, von den Platten abgeschabt und durch drei Zyklen mit Einfrieren und Auftauen in 150  $\mu$ l 0,25 M Tris-HCl, pH 8, lysiert. Die Zelltrümmer wurden abzentrifugiert und der Überstand gewonnen. Proben der konditionierten Medien (7 ml) wurden entnommen, anschließend eingeeengt und der Puffer gegen 10 mM Tris, pH 7,4, unter Verwendung von Centriprep-10- und Centricon-10-Einheiten, wie von den Herstellern beschrieben (Amicon, Beverly, MA), ausgetauscht. Schwann-Zellen des Rattennervs wurden auf den Einbau von DNA-Synthese-Vorläufern, wie beschrieben, getestet. Proben von konditionierten Medien oder von Zelllysaten wurden im Schwann-Zellen-Proliferations-Test, wie in Marchionni et al., Nature 362: 313, 1993, beschrieben, getestet. Die cDNA, GGF2HBS5, die GGF2 codiert, steuerte die Sekretion des Proteinprodukts in das Medium. Eine minimale Aktivität konnte innerhalb der Zellen nachgewiesen werden, wie durch Tests unter Verwendung von Zelllysaten bestimmt wurde. Die GGF2HFB1- und GGFBPP5-cDNAs bewirkten keine Sekretion des Produkts ins extrazelluläre Medium. Die GGF-Aktivität aus diesen Clonen war nur in Zelllysaten nachweisbar.

**[0174]** Rekombinanter GGF2 wurde auch in CHO-Zellen exprimiert. Die GGF2HBS5-cDNA, die GGF2 codiert, wurde in die EcoRI-Stelle des Vektors pcdhfrpolyA cloniert und durch das Calciumphosphat-Co-Fällungsverfahren in die DHFR-negative CHO-Zelllinie (GG44) transfiziert. Die Clone wurden in Nucleotid- und Nucleosid-freiem  $\alpha$ -Medium (Gibco) in Platten mit 96 Vertiefungen selektiert. Nach drei Wochen wurden die Proben der konditionierten Medien der einzelnen Clone durch den Schwann-Zellen-Proliferations-Test auf die Expression von GGF durchgemustert, wie in Marchionni et al., Nature 362: 313, 1993, beschrieben. Stabile Clone wurden identifiziert, die signifikante Spiegel der GGF-Aktivität ins Medium ausgeschieden hatten. Die Werte der Schwann-Zellen-Proliferations-Aktivität von Aliquots mit unterschiedlichem Volumen des CHO-Zellenkonditionierten Mediums wurden verwendet, um die in [Fig. 46](#) dargestellte Dosis-Antwort-Kurve zu erzeugen (Graham und Van Der Eb, Virology 52: 456, 1973). Dieses Material wurde auf einem Western-Blot analysiert, der mit polyclonalen Antisera durchgeführt wurde, die gegen ein spezifisches GGF2-Peptid hervorgebracht worden waren. Eine Bande mit etwa 65 kD (die erwartete Größe des aus der Hypophyse extrahierten GGF2) ist spezifisch markiert ([Fig. 48](#), Bahn 12).

**[0175]** Außerdem wurde ein rekombinanter GGF2 durch eine Baculovirus-Expression in Insektenzellen exprimiert. Sf9-Insektenzellen wurden mit einem Baculovirus, das den cDNA-Clon GGF2HBS5 enthielt, mit einer Multiplizität von 3 bis 5 ( $10^6$  Zellen/ml) infiziert und in Medium Sf900-II gezüchtet. Die Schwann-Zellen-Mitogenese-Aktivität wurde in das extrazelluläre Medium ausgeschieden. Verschiedene Volumina des Insektenzellenkonditionierten Mediums wurden in dem Schwann-Zellen-Proliferations-Test in Abwesenheit von Forskolin getestet, sodann wurde anhand der Daten eine Dosis-Antwort-Kurve erstellt.

**[0176]** Dieses Material wurde auch auf einem Western-Blot analysiert ([Fig. 45B](#)), der mit dem vorstehend beschriebenen GGF-II-spezifischen Antikörper durchgeführt wurde.

**[0177]** Die in diesem Beispiel verwendeten Verfahren waren wie folgt:  
Die Schwann-Zellen-Mitogenese-Aktivität von rekombinanten menschlichen und Rinder-Glia-Wachstumsfaktoren wurde wie folgt bestimmt: die mitogenen Antworten von gezüchteten Schwann-Zellen wurden in Gegenwart von 5  $\mu$ M Forskolin gemessen, indem rohe rekombinante GGF-Präparate verwendet wurden, die aus tran-

sienten Säuger-Expressionsexperimenten erhalten worden waren. Der Einbau von <sup>125</sup>I-Urd wurde nach einer Exposition von 18 bis 24 Stunden gegenüber Stoffen bestimmt, die aus transfizierten oder zum Schein transfizierten COS-Zellen, wie in den Verfahren beschrieben, erhalten worden waren. Die durchschnittliche und Standardabweichung von vier Sätzen von Werten ist jeweils dargestellt. Die mitogene Antwort auf partiell gereinigtes natives Rinder-Hypophysen-GGF (Carboxymethylcellulose-Fraktion; Goodearl et al., eingereicht) ist als ein Standard von 100 % Aktivität dargestellt (GGF).

**[0178]** cDNAs ([Fig. 46](#), SEQ ID NOs: 166 bis 168) wurden in pcDL-SRα296 (Takebe et al., Mol. Cell Biol. 8: 466–472, 1988) cloniert, und COS-7-Zellen wurden in 100-mm-Schalen durch das DEAE-Dextran-Verfahren transfiziert (Sambrook et al., in: Molecular Cloning; A Laboratory Manual, 2. Aufl. (Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY, 1989)). Drei oder vier Tage nach der Transfektion wurden Zelllysate oder konditionierte Medien geerntet. Um Lysate herzustellen, wurden die einschichtigen Zellrasen mit PBS gewaschen, von den Schalen abgeschabt und durch drei Zyklen mit Einfrieren und Auftauen in 150 µl 0,25 M Tris-HCl, pH 8, lysiert. Die Zelltrümmer wurden abzentrifugiert und der Überstand wurde gewonnen. Proben der konditionierten Medien (7 ml) wurden entnommen, anschließend eingeengt und der Puffer wurde gegen 10 mM Tris, pH 7,4, unter Verwendung von Centriprep-10- und Centricon-10-Einheiten, wie von den Herstellern beschrieben (Amicon, Beverly, MA), ausgetauscht. Schwann-Zellen des Ratten-Ischiasnervs wurden auf den Einbau von DNA-Synthese-Vorläufern, wie beschrieben, getestet (Davis und Stroobant, J. Cell Biol. 110: 1353–1360, 1990; Brockes et al., Brain Res. 165: 105–118, 1979).

**[0179]** Western-Blots eines durch rekombinante CHO-Zellen konditionierten Mediums wurden wie folgt durchgeführt: ein rekombinanter CHO-Clon wurde in MCDB302 proteinfrei drei Tage gezüchtet. 2 ml des konditionierten Mediums wurden geerntet, eingeengt, der Puffer wurde gegen 10 mM Tris-HCl, pH 7,4, ausgetauscht und zur Trockne gefriergetrocknet. Das Pellet wurde in SDS-PAGE-Probenpuffer resuspendiert, einer reduzierenden SDS-Gel-Elektrophorese unterworfen und durch Western-Blotting mit einem GGF-Peptid-Antikörper analysiert. Eine CHO-Kontrolle wurde durch Verwendung eines konditionierten Mediums aus nicht-transfizierten CHO-DG44-Wirtszellen erstellt, und die CHOHS5-Spiegel wurden getestet, indem ein konditioniertes Medium aus einem rekombinanten Clon eingesetzt wurde.

#### Beispiel 14

##### Identifizierung von funktionellen Elementen von GGF

**[0180]** Die hergeleiteten Strukturen der Familie der GGF-Sequenzen zeigen, dass die längsten Formen (wie durch GGF2BPP4 dargestellt) Transmembranproteine codieren, bei denen der extrazelluläre Teil eine Domäne enthält, die dem epidermalen Wachstumsfaktor ähnelt (vgl. Carpenter und Wahl, in: Peptide Growth Factors and Their Receptors I, S. 69–133, Springer-Verlag, NY, 1991). Die Positionen der Cysteinreste in der Peptidsequenz der codierenden Segmente C und C/D oder C/D' sind hinsichtlich der analogen Reste in der Peptidsequenz des epidermalen Wachstumsfaktors (EGF) konserviert (vgl. [Fig. 32](#), SEQ ID NOs: 147 bis 149). Dies legt nahe, dass die extrazelluläre Domäne als Rezeptorerkennungs- und biologische Aktivierungsstellen fungiert. Bei mehreren der Varianten-Formen fehlen die codierenden Segmente H, K und L, weshalb sie möglicherweise als sekretierte, diffusionsfähige, biologisch aktive Proteine exprimiert werden. GGF-DNA-Sequenzen, die Polypeptide codieren, welche die EGF-ähnliche Domäne umfassen (EGFL), können die vollständige biologische Aktivität zum Stimulieren der Gliazellen-Mitogenese-Aktivität besitzen.

**[0181]** Membrangebundene Versionen dieses Proteins können eine Proliferation von Schwann-Zellen induzieren, wenn sie während der Embryogenese oder während der Nervenregeneration auf der Oberfläche von Neuronen exprimiert werden (wobei die Oberflächen von Neuronen mit den Oberflächen von proliferierenden Schwann-Zellen eng assoziiert sind).

**[0182]** Ausgeschiedene (nicht membrangebundene) GGFs können als klassisch diffusionsfähige Faktoren wirken, die mit Schwann-Zellen in einem gewissen Abstand vom Punkt der Sekretion aus interagieren können. Andere Formen können bei einer Gewebeverletzung und Zerstörung von Zellen aus intrazellulären Quellen freigesetzt werden. Ein Beispiel eines sekretierten GGF ist das Protein, das durch GGF2HBS5 codiert wird; dieses Protein ist der einzige bekannte GGF, für den gefunden wurde, dass er zum Äußeren der Zelle geleitet wird. Die Sekretion wird möglicherweise über eine N-terminale hydrophobe Sequenz vermittelt, die nur in Region E gefunden wird, wobei es sich um die N-terminale Domäne handelt, die in dem durch GGF2HBS5 codierten rekombinanten GGF2 enthalten ist.

**[0183]** Andere GGFs scheinen nicht sekretiert zu werden. Diese GGFs können Formen als Antwort auf Ver-

letzungen darstellen, die als Folge einer Gewebeschädigung freigesetzt werden.

**[0184]** Andere Regionen der vorausgesagten Proteinstruktur von GGF2 (codiert durch GGF2HBS5) und andere Proteine, welche die Regionen B und A enthalten, zeigen Ähnlichkeiten mit dem Heparansulfat-Proteoglycan-Kern-Protein der menschlichen Basalmembran. Das Peptid ADSGEY, das nah am zweiten Cysteinrest der C2-Immunglobulin-Falte in diesen GGFs liegt, kommt in neun von 22 C2-Wiederholungen vor, die in diesem Protein der Basalmembran gefunden werden. Dieser Hinweis legt überzeugend nahe, dass diese Proteine sich mit Matrixproteinen assoziieren können, z.B. solchen, die mit Neuronen und Glia assoziiert sind, wobei dies auf ein Verfahren hinweist, wie es dazu kommen könnte, dass Glia-Wachstumsfaktoren an den Zielorten abgesondert vorliegen.

#### Beispiel 15

##### Reinigung von GGFs aus rekombinanten Zellen

**[0185]** Um GGFs der vollen Länge oder Teile davon zu erhalten, die dann auf ihre biologische Aktivität getestet werden können, können die Proteine unter Verwendung einer clonierten DNA überproduziert werden. Hierfür können verschiedene Ansätze verwendet werden. Eine rekombinante *E. coli*-Zelle, die die vorstehend beschriebenen Sequenzen enthält, kann konstruiert werden. Für diesen Zweck können Expressionssysteme wie pNH8a oder pHH16a (Stratagene, Inc.) nach den Verfahren der Hersteller eingesetzt werden. Andererseits können diese Sequenzen in einen Säuger-Expressionsvektor eingefügt werden und eine überproduzierende Zelllinie kann konstruiert werden. Als ein Beispiel für diesen Zweck wurde GGF-codierende DNA, Clon GGF2BPP5, in COS-Zellen exprimiert, außerdem kann sie in Ovarzellen des Chinesischen Hamsters exprimiert werden, wobei der Expressionsvektor pMSXND eingesetzt wird (Lee und Nathans, *J. Biol. Chem.* 263: 3521–3527, 1981). Dieser Vektor, der GGF-DNA-Sequenzen enthält, kann anhand von eingeführten Verfahren in Wirtszellen transfiziert werden.

**[0186]** Eine transiente Expression kann untersucht werden oder G418-resistente Clone können in Gegenwart von Methotrexat gezüchtet werden, um Zellen zu selektieren, die das dhfr-Gen (das auf dem Vektor pMSXND enthalten ist) amplifizieren und, in diesem Prozess, die benachbarte GGF-Protein-codierende Sequenz mit-amplifizieren. Da CHO-Zellen in einem vollständig proteinfreien Medium gehalten werden können (Hamilton und Ham, *In Vitro* 13: 537–547, 1977), kann das gewünschte Protein aus dem Medium gereinigt werden. Anhand der Western-Analyse unter Verwendung der in Beispiel 17 erzeugten Antiseren kann das Vorliegen des gewünschten Proteins in dem konditionierten Medium der überproduzierenden Zellen nachgewiesen werden.

**[0187]** Das gewünschte Protein (rGGF2) wurde aus dem Medium, das durch transient exprimierende COS-Zellen konditioniert worden war, wie folgt gereinigt. rGGF-II wurde aus dem konditionierten Medium geerntet und durch Kationenaustausch-Chromatographie (POROS-HS) gereinigt. Die Säule wurde mit 33,3 mM MES, pH 6,0, äquilibriert. Die konditionierten Medien wurden mit einer Fließrate von 10 ml/min aufgetragen. Der Peak, der eine Schwann-Zellen-Proliferations-Aktivität und eine Immunreaktivität besaß (unter Verwendung der polyclonalen Antiseren gegen ein GGF2-Peptid, wie vorstehend beschrieben), wurde mit 50 mM Tris, 1 M NaCl, pH 8,0, eluiert.

**[0188]** rhGGF2 wird auch unter Verwendung einer stabilen Zelllinie des Ovars des Chinesischen Hamsters exprimiert. rGGF2 aus den geernteten konditionierten Medien wurde durch die Kationenaustausch-Chromatographie (POROS-HS) teilweise gereinigt. Die Säule wurde mit PBS, pH 7,4, äquilibriert. Die konditionierten Medien wurden mit 10 ml/min aufgetragen. Der Peak, der eine Schwann-Zellen-Proliferations-Aktivität und eine Immunreaktivität besaß (unter Verwendung der polyclonalen GGF2-Antiseren), wurde mit 50 mM Hepes, 500 mM NaCl, pH 8,0, eluiert. Ein weiterer Peak wurde bei 50 mM Hepes, 1 M NaCl, pH 8,0, festgestellt, der sowohl Proliferations-Aktivität als auch Immunreaktivität besaß (**Fig. 45**).

**[0189]** rhGGF2 kann weiter gereinigt werden, wobei als hochauflösender Schritt eine Hydrophobe Interaktions-Chromatographie; eine Kationenaustausch/Umkehrphasen-Chromatographie (sofern dies als zweiter hochauflösender Schritt erforderlich ist); ein Schritt zum Inaktivieren von Viren und ein Schritt zum Entfernen der DNA, z.B. eine Anionenaustausch-Chromatographie, verwendet werden können.

**[0190]** Die Schwann-Zellen-Proliferations-Aktivität des aus der Kationenaustausch-Säule eluierten Peaks des rekombinanten GGF2 wurde wie folgt bestimmt: Die mitogenen Antworten der gezüchteten Schwann-Zellen wurden in Gegenwart von 5 M Forskolin gemessen, wobei der Peak verwendet wurde, der durch 50 mM



Tris, 1 M NaCl, pH 8,0, eluiert worden war. Der Peak wurde mit 20 l, 10 l (1:10) 10 l und (1:100) 10 l zugegeben. Der Einbau von <sup>125</sup>I-Uridin wurde bestimmt und nach einer Exposition von 18 bis 24 Stunden als CpM angegeben.

**[0191]** Ein Immunblot unter Verwendung eines gegen ein Peptid von GGF2 hervorgebrachten polyclonalen Antikörpers wurde wie folgt durchgeführt: 10 l von verschiedenen Fraktionen wurden auf 4 bis 12 % Gradientengelen laufen gelassen. Die Gele wurden auf Nitrocellulosepapier überführt und die Nitrocellulose-Blots mit 5 % BSA blockiert und mit dem GGF-2-spezifischen Antikörper getestet (Verdünnung von 1:250). Als zweiter Antikörper wurde das <sup>125</sup>I-Protein A verwendet (Verdünnung von 1:500, spezifische Aktivität = 9,0 Ci/g). Die Immunblots wurden sechs Stunden auf Kodak-Röntgenfilmen exponiert. Die mit 1 M NaCl eluierten Peak-Frak-tionen zeigten eine immunreaktive Bande bei 69 K.

**[0192]** Die Reinigung von GGF2 auf Kationenaustauscher-Säulen wurde wie folgt durchgeführt: mit CHO-Zellen konditionierte Medien, die rGGFII exprimierten, wurden auf die Kationenaustauscher-Säule mit 10 ml/min aufgetragen. Die Säule wurde mit PBS, pH 7,4, äquilibriert. Die Elution wurde mit 50 mM Hepes, 500 mM NaCl, pH 8,0, bzw. 50 mM Hepes, 1 M NaCl, pH 8,0, durchgeführt. Alle Fraktionen wurden unter Verwendung des hier beschriebenen Schwann-Zellen-Proliferations-Tests (CpM) analysiert. Die Proteinkonzentration (mg/ml) wurde durch den Bradford-Test mit BSA als Standard bestimmt.

**[0193]** Ein Western-Blot unter Verwendung von 10 l von jeder Fraktion wurde durchgeführt, wobei festgestellt wurde, dass die Immunreaktivität und die Schwann-Zellen-Aktivität gemeinsam liefen.

**[0194]** Das Protein kann zu verschiedenen Zeitpunkten in dem Verfahren durch einen Western-Blot-Test getestet werden. Alternativ kann der hier beschriebene Schwann-Zellen-Mitogenese-Test eingesetzt werden, um das exprimierte Produkt des Clons der vollen Länge oder beliebige biologisch aktive Teile davon zu testen. Der Clon der vollen Länge GGF2BPP5 wurde in COS-Zellen transient exprimiert. Intrazelluläre Extrakte von transfizierten COS-Zellen zeigen eine biologische Aktivität, wenn sie im Schwann-Zellen-Proliferations-Test, wie in Beispiel 8 beschrieben, getestet werden. Außerdem wurde der GGF2HBS5 codierende Clon der vollen Länge in COS-Zellen transient exprimiert. In diesem Fall zeigen sowohl der Zellextrakt als auch die konditionierten Medien in dem in Beispiel 8 beschriebenen Schwann-Zellen-Proliferations-Test eine biologische Aktivität. Auf diese Weise kann jedes beliebige Mitglied der Familie von komplementären Spleißvarianten-DNAs, die vom GGF-Gen stammen (umfassend die Hereguline), durch den Fachmann exprimiert und in dem Schwann-Zellen-Proliferations-Test getestet werden.

**[0195]** Andererseits kann ein rekombinantes Material aus anderen Varianten gemäß Wen et al. (Cell 69: 559, 1992) isoliert werden, der die Spleißvariante Neu-Differenzierungsfaktor (NDF) in COS-7-Zellen exprimierte. cDNA-Clone, die in den eukaryontischen Plasmidvektor pJT-2 eingefügt sind, stehen unter der Kontrolle des frühen SV40-Promotors und sind 3'-flankiert durch die SV40-Terminations- und Polyadenylierungssignale. COS-7-Zellen wurden mit der pJT-2-Plasmid-DNA durch Elektroporation wie folgt transfiziert:  $6 \times 10^6$  Zellen (in 0,8 ml DMEM und 10 FEBS) wurden in eine 0,4-cm-Küvette überführt und mit 20 µg Plasmid-DNA in 10 µl TE-Lösung gemischt (10 mM Tris-HCl, pH 8,0, 1 mM EDTA). Die Elektroporation erfolgte bei Raumtemperatur bei 1600 V und 25 µF unter Verwendung einer Bio-Rad-Gene Pulser-Apparatur mit einer auf 200 Ohm eingestellten Puls-Kontrolleinheit. Danach wurden die Zellen in 20 ml DMEM, 10 % FBS verdünnt und in einen T75-Kolben (Falcon) überführt. Nach 14 Stunden Inkubation bei 37°C wurde das Medium durch DMEM, 1 % FBS, ersetzt und die Inkubation weitere 48 Stunden fortgesetzt. Das rekombinante Protein enthaltende konditionierte Medium, das von den Zellen geerntet worden war, zeigte in einer Zelllinie, die den Rezeptor für dieses Protein exprimierte, eine biologische Aktivität. Diese Zelllinie (die gezüchtete menschliche Brustkrebs-Zelllinie AU 565) wurde mit dem rekombinanten Material behandelt. Die behandelten Zellen wiesen eine Veränderung der Morphologie auf, die für die Aktivierung des erbB2-Rezeptors charakteristisch ist. Ein konditioniertes Medium dieses Typs kann auch in dem Schwann-Zellen-Proliferations-Test getestet werden.

#### Beispiel 16

##### Analyse der N-terminalen Sequenz

**[0196]** Die hGGF2 codierende cDNA wurde in den amplifizierbaren Vektor pcdhfrpolyA cloniert und für eine stabile Expression in CHO-DG44-Zellen transfiziert. rhGGF2 wird in die konditionierten Medien ausgeschieden. Die Fähigkeit des rekombinanten GGF2, ausgeschieden zu werden, wird vermutlich durch den N-terminalen hydrophoben Bereich vermittelt (Signalsequenz). Eine Signalsequenz wird, nachdem sie das Ausschleusen einer wachsenden Proteinkette durch das raue endoplasmatische Retikulum hindurch initiiert hat, an einer

spezifischen Stelle aus dem reifen Peptid abgespalten. Die N-terminale Sequenzanalyse des exprimierten und gereinigten rhGGF2 zeigt die Spaltstelle, wie nachstehend dargestellt. Die Sequenz der ersten 50 Aminosäurereste am N-Terminus des Proteins wurde durch N-terminale Sequenzanalyse bestätigt (Tabelle 5), vgl. nachstehend.

Tabelle 5

## N-terminale Sequenzanalyse von rhGGF2

Zyklus Nr.	Primärsequenz	pMol
1	Gly (G)	210,6
2	Asn (N)	163
3	Glu (E)	149
4	Ala (A)	220
5	Ala (A)	180
6	Pro (P)	173
7	Ala (A)	177
8	Gly (G)	154,9
9	Ala (A)	162,4
10	Ser (S)	65,4
11	Val (V)	132,7
12	Val (V) *(Cys)	11,7
13	Tyr (Y)	112,7
14	Ser (S)	47,6
15	Ser (S)	27,1

Die N-terminale Sequenzanalyse wurde anhand des Edman-Abbauprozesses durchgeführt.

\*Cys-Reste werden durch den Edman-Abbauprozess zerstört und können nicht nachgewiesen werden.

[0197] Die folgende Sequenz (SEQ ID NO: 185) stellt die Aminosäuresequenz von hGGF2 dar. Der schattierte Bereich zeigt die abgespaltene Signalsequenz.

**MRVRRAPRRS GRPGPPAQRP GSAARSSRPI PLIPRHHIG TAAIAPGAN**  
**GNEAAPAGAS VCYSSPPSVG SVQELAQRAA VVIEGKVHPQ RRQGGALDRK**  
**AAAAGEAGA WGDREPPAA GPRALGPPAE EPLLAANGTV PSWPTAPVPS**  
**AGEPGEEAPY LVKVHQQWAV KAGGLKSDSL LTVRLGTWGH PAFPPSCGRLK**  
**EDSRYIFFME PDANSTSRAP AAFRASFPPL ETGRNLKKEV SRVLCRRCAL**  
**PPQLKEMKSQ ESAAGSKLVL RCETSSEYSS LRFKWFKNGN ELNRKKNKPQN**  
**IKIQKPKGKS ELRINKASLA DSGEYMCKVI SKLGNDASASA NITIVESNAT**  
**STSTTGTSHL VKCAEKEKTF CVNGGECFMV KDLSNPSRYL CKCPNEFTGD**  
**RCQNYVMASF YSTSTPFLSL PE (SEQ ID NO: 185)**

[0198] Der schattierte Bereich stellt die experimentell bestimmten 15 Aminosäurereste am N-Terminus des rhGGF2 dar, wobei eine A<sub>50</sub>-G<sub>51</sub>-Bindung zu sehen ist, bei der es sich um die Spaltstelle für die Signalsequenz handelt.

## Isolierung einer weiteren Spleißvariante

**[0199]** Durch Verfahren, mit denen andere Neureguline auf den neuesten Stand gebracht werden, die in der US-Patentanmeldung Seriennummer 07/965173, angemeldet am 23. Oktober 1992, hier durch Bezugnahme eingeschlossen, beschrieben sind, wurden vier nah verwandte Sequenzen erzeugt (Heregulin- $\alpha$ ,  $\beta$ 1,  $\beta$ 2,  $\beta$ 3), die als Folge von Spleißvariationen zustande kommen. Peles et al. (Cell 69: 205, 1992) und Wen et al. (Cell 69: 559, 1992) haben eine weitere Spleißvariante (aus der Ratte) isoliert, wobei sie ein ähnliches Reinigungs- und Clonierungsverfahren wie dasjenige verwendeten, das in den Beispielen 1 bis 9 und 11 beschrieben ist, wobei ein Protein beteiligt ist, das an p185<sup>erbB2</sup> bindet. Der cDNA-Clon wurde wie folgt erhalten (über die Reinigung und Sequenzierung eines p185<sup>erbB2</sup>-bindenden Proteins aus einer transformierten Ratten-Fibroblasten-Zelllinie). Ein p185<sup>erbB2</sup>-bindendes Protein wurde aus einem konditionierten Medium wie folgt gereinigt. Das vereinigte konditionierte Medium aus drei Ernten von 500 Rollerflaschen (insgesamt 120 Liter) wurde mittels Filtration durch 0,2- $\mu$ -Filter geklärt und sodann mit einem Pelicon-Ultrafiltrationssystem unter Verwendung von Membranen mit einem Molekulargewichts-Ausschluss von 20 kD 31-fach eingeeengt. Alle Reinigungsschritte wurden unter Verwendung eines schnellen Protein-Flüssigchromatographiesystems von Pharmacia durchgeführt. Das eingeeengte Material wurde direkt auf eine Säule mit Heparin-Sepharose aufgetragen (150 ml, voräquiliert mit Phosphat-gepufferter Kochsalzlösung (PBS)). Die Säule wurde mit PBS, enthaltend 0,2 M NaCl, so lange gewaschen, bis bei einer Wellenlänge von 280 nm keine Absorption mehr nachgewiesen werden konnte. Danach wurden die gebundenen Proteine mit einem kontinuierlichen Gradienten (250 ml) von NaCl (von 0,2 M bis 1,0 M) eluiert, wobei Fraktionen zu 5 ml gesammelt wurden. Proben (0,01 ml der gesammelten Fraktionen) wurden für den quantitativen Test der Kinase-stimulierenden Aktivität eingesetzt. Aktive Fraktionen aus drei Säulenläufen (Gesamtvolumen = 360 ml) wurden vereinigt, unter Verwendung einer YM10-Ultrafiltrationsmembran (Amicon, Danvers, MA) auf 25 ml eingeeengt und mit Ammoniumsulfat versetzt, so dass eine Konzentration von 1,7 M erreicht wurde. Nach dem Aufklären durch Zentrifugation (10 000  $\times$  g, 15 Min.) wurde das vereinigte Material auf eine Phenyl-Superose-Säule (HR10/10, Pharmacia) aufgetragen. Die Säule wurde mit einem 45-ml-Gradienten von  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  (von 1,7 M bis kein Salz) in 0,1 M  $\text{Na}_2\text{PO}_4$  (pH 7,4) entwickelt, wobei Fraktionen zu 2 ml gesammelt und auf Kinase-Stimulation getestet wurden (0,002 ml pro Probe) (wie in Beispiel 19 beschrieben). Der Haupt-Aktivitätspeak wurde vereinigt und gegen 50 mM Natriumphosphat-Puffer (pH 7,3) dialysiert. Eine Mono-S-Kationenaustauscher-Säule (HR5/5, Pharmacia) wurde mit 50 mM Natriumphosphat voräquiliert. Nach Auftragen des aktiven Materials (0,884 mg Protein; 35 ml) wurde die Säule mit dem Startpuffer gewaschen und dann mit einer Rate von 1 ml/min mit einem Gradienten von NaCl entwickelt. Die Kinase-stimulatorische Aktivität wurde bei 0,45 bis 0,55 M Salz gewonnen und war über vier Fraktionen von jeweils 2 ml verteilt. Diese wurden vereinigt und direkt auf eine  $\text{Cu}^{2+}$ -chelatierende Säule aufgetragen (1,6 ml, HR2/5 chelatierende Superose, Pharmacia). Der größte Teil der Proteine wurde an das Harz adsorbiert, danach wurden sie jedoch nach und nach mit einem linearen Gradienten von Ammoniumchlorid (0 bis 1 M) von 30 ml eluiert. Die Aktivität wurde in einem einzelnen Proteinpeak im Bereich von 0,05 bis 0,2 M  $\text{NH}_4\text{Cl}$  eluiert. Proben aus den verschiedenen Reinigungsschritten wurden durch Gelelektrophorese analysiert, worauf eine Silberfärbung unter Verwendung eines Kits von ICN (Costa Mesa, CA) folgte, und der Proteingehalt der Proben wurde mit einem Coomassie-Blau-Farbstoff-Bindungstest unter Verwendung eines Kits von Bio-Rad (Richmond, CA) bestimmt.

**[0200]** Das Protein p44 (10  $\mu$ g) wurde in 200  $\mu$ l 0,1 M Ammoniumbicarbonat-Puffer (pH 7,8) rekonstituiert. Die Spaltung erfolgte mit L-1-Tosylamid-2-phenylethylchlormethylketon-behandeltem Trypsin (Serva) 18 Stunden bei 37°C bei einem Verhältnis von Enzym zu Substrat von 1:10. Das resultierende Peptidgemisch wurde durch Umkehrphasen-HPLC abgetrennt und bei 215 nm unter Verwendung einer Vydac C4-Mikrosäule (2,1 mm i. D.  $\times$  15 cm, 300 Å) und eines HP 1090-Flüssigchromatographiesystems überwacht, das mit einem Diodenarray-Nachweisgerät und einer Arbeitsstation ausgestattet war. Die Säule wurde mit 0,1 % Trifluoressigsäure (mobile Phase A) äquiliert und die Elution mit einem linearen Gradienten von 0 % bis 55 % mobile Phase B (90 % Acetonitril in 0,1 % Trifluoressigsäure) in 70 Minuten durchgeführt. Die Fließrate betrug 0,2 ml/min, und die Säulentemperatur wurde auf 25°C eingestellt. Ein-Drittel-Aliquots der Peptidpeaks, die per Hand aus dem HPLC-System gewonnen wurden, wurden durch Nterminale Sequenzanalyse mittels Edman-Abbau charakterisiert. Die nach 27,7 min eluierte Fraktion (T27.7) enthielt gemischte Aminosäuresequenzen und wurde anschließend nach der Reduktion wie folgt erneut chromatographiert: ein 70%-Aliquot der Peptidfraktion wurde im Vakuum getrocknet und in 100  $\mu$ l 0,2 M Ammoniumbicarbonat-Puffer (pH 7,8) rekonstituiert. DTT (Endkonzentration 2 mM) wurde zu der Lösung zugegeben, die sodann 30 min bei 37°C inkubiert wurde. Danach wurde das reduzierte Peptidgemisch durch Umkehrphasen-HPLC auf einer Vydac-Säule (2,1 mm i. D.  $\times$  15 cm) abgetrennt. Die Elutionsbedingungen und die Fließrate waren genauso, wie vorstehend beschrieben. Die Aminosäure-Sequenzanalyse des Peptids wurde mit einem Proteinsequenziergerät Modell 477 (Applied Biosystems,

Inc., Foster City, CA) durchgeführt, der mit einem Online-Phenylthiohydantoin (PTH)-Aminosäureanalysator und einem System zur Analyse von Daten Modell 900 ausgestattet war (Hunkapiller et al. (1986), in: Methods of Protein Microcharacterization, J. E. Shively, Hrsg., (Clifton, New Jersey: Humana Press, S. 223–247). Das Protein wurde auf eine mit Trifluoressigsäure behandelte Glasfaser-Scheibe aufgetragen, die vorher einen Zyklus mit Polybrene und NaCl durchlaufen hatte. Die PTH-Aminosäureanalyse wurde mit einem Mikro-Flüssigchromatographiesystem (Modell 120) unter Verwendung von Zweispritzenpumpen und Umkehrphasen (C-18)-Säulen mit enger Bohrung (Applied Biosystems, 2,1 mm × 250 mm) durchgeführt. Die RNA wurde aus Rat1-EJ-Zellen durch Standardverfahren isoliert (Maniatis et al., Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor, New York, 1982), und Poly-(A)<sup>+</sup> wurde unter Verwendung eines mRNA-Separator-Kits (Clontech Lab, Inc., Palo Alto, CA) selektiert. Die cDNA wurde mit einem Superscript-Kit synthetisiert (von BRL Life Technologies, Inc., Bethesda, MD). Die Säulen-fraktionierte doppelsträngige cDNA wurde in einen mit Sall und NotI gespaltenen Plasmidvektor pJT-2, ein Derivat des Vektors pCD-X (Okayama und Berg, Mol. Cell Biol. 3: 280, 1983), ligiert und in E. coli DH10B-Zellen durch Elektroporation transformiert (Dower et al., Nucl. Acids Res. 16: 6127, 1988). Etwa  $5 \times 10^5$  primäre Transformanten wurden mit zwei Oligonucleotid-Sonden durchgemustert, die von den Proteinsequenzen des N-Terminus von NDF (Reste 5 bis 24) und des tryptischen Peptids T40.4 (Reste 7 bis 12) hergeleitet waren. Ihre entsprechenden Sequenzen waren wie folgt (N bedeutet alle vier Nucleotide):

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

**A T**

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

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

**C G G C**

**(1: SEQ ID Nr. 163; 2: SEQ ID Nr. 164)**

**[0201]** Die synthetischen Oligonucleotide wurden mit  $\gamma$ -<sup>32</sup>P-ATP anhand der T4-Polynucleotid-Kinase endmarkiert und zum Durchmustern von Replika-Sätzen von Nitrocellulosefiltern verwendet. Die Hybridisierungslösung enthielt 6 × SSC, 50 mM Natriumphosphat (pH 6,8), 0,1 % Natriumpyrophosphat, 2 × Denhardt-Lösung, 50 µg/ml Lachssperma-DNA und 20 % Formamid (für Sonde 1) oder kein Formamid (für Sonde 2). Die Filter wurden entweder bei 50°C mit 0,5 × SSC, 0,2 % SDS, 2 mM EDTA (für Sonde 1) oder bei 37°C mit 2 × SSC, 0,2 % SDS, 2 mM EDTA (für Sonde 2) gewaschen. Die Autoradiographie der Filter ergab zehn Clone, die mit beiden Sonden hybridisierten. Diese Clone wurden durch erneutes Plattieren und durch Sondenhybridisierung, wie vorstehend beschrieben, gereinigt.

**[0202]** Die cDNA-Clone wurden unter Verwendung des automatischen DNA-Sequenziergeräts 373A von Applied Biosystems und von Sequenzierungs-Kits, Taq DyeDeoxy™ Terminator Cycle Sequencing Kits, von Applied Biosystems nach den Anweisungen des Herstellers sequenziert. In einigen Fällen wurden Sequenzen unter Verwendung von <sup>35</sup>S-dATP (Amersham) und Sequenase™-Kits von U.S. Biochemicals nach den Anweisungen des Herstellers erhalten. Beide Stränge des cDNA-Clons 44 wurden unter Verwendung synthetischer Oligonucleotide als Primer sequenziert. Die Sequenz der am weitesten 5' gelegenen 350 Nucleotide wurde in sieben unabhängigen cDNA-Clonen bestimmt. Der resultierende Clon zeigte das in **Fig. 27** dargestellte Muster (NDF).

#### Beispiel 19

Reinigung und Test von anderen Proteinen, die an den p185<sup>erbB2</sup>-Rezeptor binden

##### I. Reinigung von gp30 und p70

**[0203]** Lupu et al. (Science 249, 1552, 1990) und Lippman und Lupu (Patentanmeldung Nr. PCT/US91/03443, 1990), hier durch Bezugnahme eingeschlossen, haben ein Protein aus konditionierten Medien einer menschlichen Brustkrebs-Zelllinie MDA-MB-231 gereinigt.

**[0204]** Lupu et al. (Proc. Natl. Acad. Sci. 89: 2287, 1992) reinigten ein anderes Protein, das an den p185<sup>erbB2</sup>-Rezeptor bindet. Dieses bestimmte Protein, p75, wurde aus einem konditionierten Medium gereinigt, das für das Wachstum von SKBr-3 (einer menschlichen Brustkrebs-Zelllinie) verwendet wurde, die in verbessertem Eagle-Medium (IMEM: GIBCO), angereichert mit 10 % fetalem Rinderserum (GIBCO), vermehrt wurde.

II. Andere p185<sup>erbB2</sup>-Liganden

**[0205]** Peles et al. (Cell 69: 205, 1992) haben auch einen p185<sup>erbB2</sup>-stimulierenden Liganden aus Rattenzellen gereinigt. Holmes et al. (Science 256: 1205, 1992) haben Heregulin- $\alpha$  aus menschlichen Zellen gereinigt, das an p185<sup>erbB2</sup> bindet und dieses stimuliert (vgl. Beispiel 5). Tarakovsky et al., Oncogene 6: 218, 1991) haben die Bindung eines 25-kD-Polypeptids, das aus aktivierten Makrophagen isoliert wurde, an den Neu-Rezeptor, ein p185<sup>erbB2</sup>-Homologon, gezeigt, hier durch Bezugnahme eingeschlossen.

## III. NDF-Isolierung

**[0206]** Yarden und Peles (Biochemistry 30, 3543, 1991) haben ein 35-Kilodalton-Glycoprotein identifiziert, das den p185<sup>erbB2</sup>-Rezeptor stimuliert.

**[0207]** In anderen Veröffentlichungen haben Davis et al. (Biochem. Biophys. Res. Commun. 179: 1536, 1991; Proc. Natl. Acad. Sci. 88: 8582, 1991; und Greene et al., PCT-Patentanmeldung PCT/US91/02331 (1990)) die Reinigung eines Proteins aus dem konditionierten Medium einer Zelllinie menschlicher T-Zellen (ATL-2) beschrieben.

**[0208]** Huang et al. (J. Biol. Chem. 257: 11508–11512, 1992), hier durch Bezugnahme eingeschlossen, haben einen weiteren neu/erb-B2-Liganden-Wachstumsfaktor aus der Rinderniere isoliert. Der 25-kD-Polypeptidfaktor wurde isoliert durch ein Verfahren mit Säulenfraktionierung, anschließend aufeinander folgende Säulenchromatographie auf DEAE/Cellulose (DE52), Sulfadex (sulfatierte Sephadex G-50), Heparin-Sepharose 4B und Superdex 75 (schnelle Protein-Flüssigchromatographie). Der Faktor, NEL-GF, stimuliert eine Tyrosin-spezifische Autophosphorylierung des neu/erb-B2-Gen-Produkts.

## IV. Reinigung einer Acetylcholin-Rezeptor-induzierenden Aktivität (ARIA)

**[0209]** ARIA, ein 42 kD Protein, das die Synthese des Acetylcholin-Rezeptors stimuliert, wurde im Labor von Gerald Fischbach isoliert (Falls et al., Cell 72: 801–815, 1993). ARIA induziert die Tyrosin-Phosphorylierung eines 185-kD-Muskel-Transmembran-Proteins, das dem p185<sup>erbB2</sup>-Rezeptor ähnlich ist und die Synthese des Acetylcholin-Rezeptors in gezüchteten embryonalen Myotubuli stimuliert. ARIA ist mit sehr großer Wahrscheinlichkeit ein Mitglied der GGF/erbB2-Ligandengruppe von Proteinen und kann deshalb möglicherweise für die Stimulation der Gliazellen-Mitogenese und für andere Anwendungen von z.B. GGF2, wie hier beschrieben, eingesetzt werden.

## Beispiel 19

## Protein-Tyrosin-Phosphorylierung, vermittelt durch GGF

**[0210]** Ratten-Schwann-Zellen zeigen nach einer Behandlung mit ausreichenden Spiegeln des GGF-Wachstumsfaktors zur Induktion der Proliferation eine Stimulation der Protein-Tyrosin-Phosphorylierung. Verschiedene Mengen eines teilweise gereinigten GGF wurden zu einer primären Kultur von Ratten-Schwann-Zellen gemäß dem in Beispiel 9 beschriebenen Verfahren zugegeben. Die Schwann-Zellen wurden in DMEM/10 % fetalem Kälberserum/5  $\mu$ M Forskolin/0,5  $\mu$ g pro ml GGF-CM (0,5 ml pro Vertiefung) in mit Poly-D-Lysin beschichteten Platten mit 24 Vertiefungen gezüchtet. Wenn die Zellen konfluent waren, wurden sie mit DMEM/10 fetalem Kälberserum mit 0,5 ml pro Vertiefung versetzt und über Nacht im Inkubator zum Ruhen belassen. Am folgenden Tag wurden die Zellen mit 0,2 ml DMEM/10 % fetalem Kälberserum gefüttert und eine Stunde im Inkubator belassen. Danach wurden Testproben direkt zum Medium in verschiedenen Konzentrationen und für unterschiedliche Zeitspannen wie erforderlich zugegeben. Anschließend wurden die Zellen in kochendem Lysepuffer (Natriumphosphat, 5 mM, pH 6,8; SDS, 2 %;  $\beta$ -Mercaptoethanol, 5 %; Dithiothreitol, 0,1 M; Glycerin, 10 %; Bromphenol-Blau, 0,4 %; Natriumvanadat, 10 mM) lysiert, in einem kochenden Wasserbad zehn Minuten inkubiert und danach entweder direkt analysiert oder bei  $-70^{\circ}\text{C}$  eingefroren. Die Proben wurden analysiert, indem sie auf 7,5 % SDS-PAGE-Gelen laufen gelassen und danach auf Nitrocellulose mittels Elektrobplot-Verfahren übertragen wurden, wobei Standardverfahren, wie von Towbin et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 76: 4350–4354, 1979, beschrieben, verwendet wurden. Die mittels Elektrobplot-Verfahren behandelte Nitrocellulose wurde mit anti-Phosphotyrosin-Antikörpern anhand von Standardverfahren getestet, die in Kamps und Selton, Oncogene 2: 305–315, 1988, beschrieben sind. Die getesteten Blots wurden auf einem Autoradiographie-Film über Nacht exponiert und mit einem herkömmlichen Labor-Entwickler entwickelt. Densitometrische Messungen wurden anhand eines verbesserten Laser-Densitometers Ultrascan XL (LKB) durchgeführt. Die Molekulargewichte wurden mit Bezug auf vorher gefärbte Standards mit hohem Molekulargewicht (Sigma) be-

stimmt. Die Dosis-Antworten der Protein-Phosphorylierung und der Schwann-Zellen-Proliferation sind sehr ähnlich (**Fig. 33**). Das Molekulargewicht der phosphorylierten Bande liegt sehr nah bei dem Molekulargewicht von p185<sup>erbB2</sup>. Ähnliche Ergebnisse wurden erhalten, wenn Schwann-Zellen mit konditionierten Medien behandelt wurden, die aus COS-Zellen, translatiert mit dem GGF2HBS5-Clon, hergestellt wurden. Diese Ergebnisse stimmen gut mit der erwarteten Wechselwirkung der GGFs mit dem p185<sup>erbB2</sup> und der Aktivierung davon überein.

**[0211]** Dieses Experiment wurde mit einem rekombinanten GGF2 wiederholt. Das konditionierte Medium, das von einer CHO-Zelllinie stammte, die mit dem GGF2-Clon (GGF2HBS5) stabil transformiert war, stimuliert unter Verwendung des vorstehend beschriebenen Tests die Protein-Tyrosin-Phosphorylierung. Zum Schein transfizierte CHO-Zellen bewirken keine Stimulation dieser Aktivität.

#### Beispiel 20

#### N-Glycosylierung von GGF

**[0212]** Die Proteinsequenz, die aus der cDNA-Sequenz der als Kandidaten in Frage kommenden GGF-II-Clone GGF2BPP1, 2 und 3 vorausgesagt wurde, enthält mehrere Consensus-N-Glycosylierungsmotive. Eine Lücke in der GGFII-02-Peptidsequenz entspricht dem Asparaginrest in einem dieser Motive, dies zeigt, dass an dieser Stelle möglicherweise ein Kohlenhydrat gebunden ist.

**[0213]** Die N-Glycosylierung der GGFs wurde untersucht, indem die Mobilitätsänderungen auf einer SDS-PAGE nach der Inkubation mit N-Glycanase festgestellt wurden, einem Enzym, das die kovalenten Bindungen zwischen einem Kohlenhydrat und Asparaginresten in Proteinen spaltet.

**[0214]** Eine N-Glycanase-Behandlung von GGF-II ergab eine Hauptbande bei MG 40 bis 42 kD und eine schwächere Bande bei 45 bis 48 kD. Aktivität: Einzelne aktive deglycosylierte Vertreter fanden sich bei ca. 45 bis 50 kD.

**[0215]** Außerdem zeigen Aktivitäts-Elutionsexperimente mit GGF-I eine Zunahme der Elektrophorese-Mobilität, wenn er mit N-Glycanase behandelt wurde, wodurch ein aktiver Vertreter mit MG 26 bis 28 kD erhalten wird. Die Silberfärbung bestätigte, dass eine Mobilitätsverschiebung vorliegt, obwohl aufgrund der Hintergrundfärbung in der verwendeten Probe keine N-deglycosylierte Bande zugewiesen werden konnte.

## SEQUENZPROTOKOLL

- (1) ALLGEMEINE ANGABEN:
- (i) ANMELDER: Robert Sklar, Mark Marchionni, David I. Gwynne
  - (ii) TITEL DER ERFINDUNG: VERFAHREN ZUR VERÄNDERUNG DES ZUSTANDS VON MUSKELN
  - (iii) ANZAHL DER SEQUENZEN: 185
  - (iv) KORRESPONDENZADRESSE:
    - (A) NAME: Fish & Richardson
    - (B) STRASSE: 225 Franklin Street
    - (C) STADT: Boston
    - (D) STAAT: Massachusetts
    - (F) PLZ: 02110-2804
  - (v) COMPUTERLESBARE FORM:
    - (A) ART DES MEDIUMS: Diskette, 5,25 Inch, 360 KB
    - (B) COMPUTER: IBM
    - (C) BETRIEBSSYSTEM: PC-DOS
    - (D) SOFTWARE: Wordperfect
  - (vi) DERZEITIGE ANMELDUNGSDATEN:
    - (A) ANMELDUNGSNUMMER:
    - (B) TAG DER ANMELDUNG:
    - (C) KLASSIFIZIERUNG:
  - (vii) FRÜHERE ANMELDUNGSDATEN:
    - (A) ANMELDUNGSNUMMER: 08/209,204
    - (B) TAG DER ANMELDUNG: 08. März 1994
  - (vii) FRÜHERE ANMELDUNGSDATEN:
    - (A) ANMELDUNGSNUMMER: 08/059,022
    - (B) TAG DER ANMELDUNG: 06. Mai 1993
  - (viii) ANGABEN ZU ANWALT/VERTRETER:
    - (A) NAME: Clark, Paul T.
    - (B) REGISTRIERUNGSNUMMER: 30,162
    - (C) REFERENZ/AKTEN-NUMMER: 04585/028WO1
  - (ix) ANGABEN ZU TELEKOMMUNIKATION:
    - (A) TELEFON: (617) 542-5070
    - (B) TELEFAX: 200154
- (2) ANGABEN ZU SEQUENZIDENTIFIKATIONSNUMMER 1:
- (i) EIGENSCHAFTEN DER SEQUENZ:
    - (A) LÄNGE: 8
    - (B) ART: Aminosäure



- (C) STRANGFORM:
- (D) TOPOLOGIE: linear
- (xi) BESCHREIBUNG DER SEQUENZ: SEQ ID NR: 1:

**Phe Lys Gly Asp Ala His Thr Glu**  
**1 5**

- (2) ANGABEN ZU SEQUENZIDENTIFIKATIONSNUMMER 2:
  - (i) EIGENSCHAFTEN DER SEQUENZ:
    - (A) LÄNGE: 13
    - (B) ART: Aminosäure
    - (C) STRANGFORM:
    - (D) TOPOLOGIE: linear
  - (ix) MERKMALE:
    - (D) WEITERE ANGABEN: Xaa in Position 1 ist Lysin oder Arginin; Xaa in Position 12 ist unbekannt.
  - (xi) BESCHREIBUNG DER SEQUENZ: SEQ ID NR: 2:

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

- (2) ANGABEN ZU SEQUENZIDENTIFIKATIONSNUMMER 3:
  - (i) EIGENSCHAFTEN DER SEQUENZ:
    - (A) LÄNGE: 12
    - (B) ART: Aminosäure
    - (C) STRANGFORM:
    - (D) TOPOLOGIE: linear
  - (ix) MERKMALE:
    - (D) WEITERE ANGABEN: Xaa in Position 1 ist Lysin oder Arginin; Xaa in Position 10 ist unbekannt.
  - (xi) BESCHREIBUNG DER SEQUENZ: SEQ ID NR: 3:

**Xaa Thr Glu Thr Ser Ser Ser Gly Leu Xaa Leu Lys**  
**1 5 10**

- (2) ANGABEN ZU SEQUENZIDENTIFIKATIONSNUMMER 4:
  - (i) EIGENSCHAFTEN DER SEQUENZ:
    - (A) LÄNGE: 9

- (B) ART: Aminosäure
- (C) STRANGFORM:
- (D) TOPOLOGIE: linear
- (ix) MERKMALE:
  - (D) WEITERE ANGABEN: Xaa in Position 1 ist Lysin oder Arginin.
- (xi) BESCHREIBUNG DER SEQUENZ: SEQ ID NR: 4:

**Xaa Lys Leu Gly Glu Met Trp Ala Glu**  
**1 5**

- (2) ANGABEN ZU SEQUENZIDENTIFIKATIONSNUMMER 5:
  - (i) EIGENSCHAFTEN DER SEQUENZ:
    - (A) LÄNGE: 7
    - (B) ART: Aminosäure
    - (C) STRANGFORM:
    - (D) TOPOLOGIE: linear
  - (ix) MERKMALE:
    - (D) WEITERE ANGABEN: Xaa in Position 1 ist Lysin oder Arginin.
  - (xi) BESCHREIBUNG DER SEQUENZ: SEQ ID NR: 5:

**Xaa Leu Gly Glu Lys Arg Ala**  
**1 5**

- (2) ANGABEN ZU SEQUENZIDENTIFIKATIONSNUMMER 6:
  - (i) EIGENSCHAFTEN DER SEQUENZ:
    - (A) LÄNGE: 16
    - (B) ART: Aminosäure
    - (C) STRANGFORM:
    - (D) TOPOLOGIE: linear
  - (ix) MERKMALE:
    - (D) WEITERE ANGABEN: Xaa in Position 1 ist Lysin oder Arginin.
  - (xi) BESCHREIBUNG DER SEQUENZ: SEQ ID NR: 6:

**Xaa Ile Lys Ser Glu His Ala Gly Leu Ser Ile Gly Asp Thr Ala Lys**  
**1 5 10 15**

- (2) ANGABEN ZU SEQUENZIDENTIFIKATIONSNUMMER 7:
  - (i) EIGENSCHAFTEN DER SEQUENZ:
    - (A) LÄNGE: 13

- (B) ART: Aminosäure
- (C) STRANGFORM:
- (D) TOPOLOGIE: linear
- (ix) MERKMALE:
  - (D) WEITERE ANGABEN: Xaa in Position 1 ist Lysin oder Arginin.
- (xi) BESCHREIBUNG DER SEQUENZ: SEQ ID NR: 7:

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

(2) ANGABEN ZU SEQUENZIDENTIFIKATIONSNUMMER 8:

- (i) EIGENSCHAFTEN DER SEQUENZ:
  - (A) LÄNGE: 16
  - (B) ART: Aminosäure
  - (C) STRANGFORM:
  - (D) TOPOLOGIE: linear
- (ix) MERKMALE:
  - (D) WEITERE ANGABEN: Xaa in Position 1 ist Lysin oder Arginin.
- (xi) BESCHREIBUNG DER SEQUENZ: SEQ ID NR: 8:

**Xaa Ile Lys Gly Glu His Pro Gly Leu Ser Ile Gly Asp Val Ala Lys**  
**1 5 10 15**

(2) ANGABEN ZU SEQUENZIDENTIFIKATIONSNUMMER 9:

- (i) EIGENSCHAFTEN DER SEQUENZ:
  - (A) LÄNGE: 13
  - (B) ART: Aminosäure
  - (C) STRANGFORM:
  - (D) TOPOLOGIE: linear
- (ix) MERKMALE:
  - (D) WEITERE ANGABEN: Xaa in Position 1 ist Lysin oder Arginin, und Xaa in Position 12 ist unbekannt.
- (xi) BESCHREIBUNG DER SEQUENZ: SEQ ID NR: 9:

**Xaa Met Ser Glu Tyr Ala Phe Phe Val Gln Thr Xaa Arg**  
**1 5 10**

(2) ANGABEN ZU SEQUENZIDENTIFIKATIONSNUMMER 10:

- (i) EIGENSCHAFTEN DER SEQUENZ:

- (A) LÄNGE: 14
- (B) ART: Aminosäure
- (C) STRANGFORM:
- (D) TOPOLOGIE: linear
- (ix) MERKMALE:
  - (D) WEITERE ANGABEN: Xaa in Position 1 ist Lysin oder Arginin.
- (xi) BESCHREIBUNG DER SEQUENZ: SEQ ID NR: 10:

**Xaa Ser Glu His Pro Gly Leu Ser Ile Gly Asp Thr Ala Lys**  
**1 5 10**

- (2) ANGABEN ZU SEQUENZIDENTIFIKATIONSNUMMER 11:
  - (i) EIGENSCHAFTEN DER SEQUENZ:
    - (A) LÄNGE: 10
    - (B) ART: Aminosäure
    - (C) STRANGFORM:
    - (D) TOPOLOGIE: linear
  - (ix) MERKMALE:
    - (D) WEITERE ANGABEN: Xaa in Position 1 ist Lysin oder Arginin;  
Xaa in Position 8 ist unbekannt.
  - (xi) BESCHREIBUNG DER SEQUENZ: SEQ ID NR: 11:

**Xaa Ala Gly Tyr Phe Ala Glu Xaa Ala Arg**  
**1 5 10**

- (2) ANGABEN ZU SEQUENZIDENTIFIKATIONSNUMMER 12:
  - (i) EIGENSCHAFTEN DER SEQUENZ:
    - (A) LÄNGE: 9
    - (B) ART: Aminosäure
    - (C) STRANGFORM:
    - (D) TOPOLOGIE: linear
  - (ix) MERKMALE:
    - (D) WEITERE ANGABEN: Xaa in Position 1 ist Lysin oder Arginin;  
Xaa in Position 7 ist unbekannt.
  - (xi) BESCHREIBUNG DER SEQUENZ: SEQ ID NR: 12:

**Xaa Lys Leu Glu Phe Leu Xaa Ala Lys**  
**1 5**

(2) ANGABEN ZU SEQUENZIDENTIFIKATIONSNUMMER 13:

(i) EIGENSCHAFTEN DER SEQUENZ:

- (A) LÄNGE: 11
- (B) ART: Aminosäure
- (C) STRANGFORM:
- (D) TOPOLOGIE: linear

(ix) MERKMALE:

- (D) WEITERE ANGABEN: Xaa in Position 1 ist Lysin oder Arginin.

(xi) BESCHREIBUNG DER SEQUENZ: SEQ ID NR: 13:

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

(2) ANGABEN ZU SEQUENZIDENTIFIKATIONSNUMMER 14:

(i) EIGENSCHAFTEN DER SEQUENZ:

- (A) LÄNGE: 10
- (B) ART: Aminosäure
- (C) STRANGFORM:
- (D) TOPOLOGIE: linear

(ix) MERKMALE:

- (D) WEITERE ANGABEN: Xaa in Position 1 ist Lysin oder Arginin.

(xi) BESCHREIBUNG DER SEQUENZ: SEQ ID NR: 14:

**Xaa Ala Lys Glu Ala Leu Ala Ala Leu Lys**  
**1 5 10**

(2) ANGABEN ZU SEQUENZIDENTIFIKATIONSNUMMER 15:

(i) EIGENSCHAFTEN DER SEQUENZ:

- (A) LÄNGE: 8
- (B) ART: Aminosäure
- (C) STRANGFORM:
- (D) TOPOLOGIE: linear

(ix) MERKMALE:

- (D) WEITERE ANGABEN: Xaa in Position 1 ist Lysin oder Arginin.

(xi) BESCHREIBUNG DER SEQUENZ: SEQ ID NR: 15:

**Xaa Phe Val Leu Gln Ala Lys Lys**  
**1 5**

(2) ANGABEN ZU SEQUENZIDENTIFIKATIONSNUMMER 16:

(i) EIGENSCHAFTEN DER SEQUENZ:

- (A) LÄNGE: 6
- (B) ART: Aminosäure
- (C) STRANGFORM:
- (D) TOPOLOGIE: linear

(ix) MERKMALE:

- (D) WEITERE ANGABEN: Xaa in Position 1 ist Lysin oder Arginin.

(xi) BESCHREIBUNG DER SEQUENZ: SEQ ID NR: 16:

**Xaa Leu Gly Glu Met Trp**  
**1 5**

(2) ANGABEN ZU SEQUENZIDENTIFIKATIONSNUMMER 17:

(i) EIGENSCHAFTEN DER SEQUENZ:

- (A) LÄNGE: 16
- (B) ART: Aminosäure
- (C) STRANGFORM:
- (D) TOPOLOGIE: linear

(xi) BESCHREIBUNG DER SEQUENZ: SEQ ID NR: 17:

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

(2) ANGABEN ZU SEQUENZIDENTIFIKATIONSNUMMER 18:

(i) EIGENSCHAFTEN DER SEQUENZ:

- (A) LÄNGE: 10
- (B) ART: Aminosäure
- (C) STRANGFORM:
- (D) TOPOLOGIE: linear

(ix) MERKMALE:

- (D) WEITERE ANGABEN: Xaa in Position 8 ist unbekannt.

(xi) BESCHREIBUNG DER SEQUENZ: SEQ ID NR: 18:

**Glu Ala Lys Tyr Phe Ser Lys Xaa Asp Ala**  
**1 5 10**

(2) ANGABEN ZU SEQUENZIDENTIFIKATIONSNUMMER 19:

(i) EIGENSCHAFTEN DER SEQUENZ:

- (A) LÄNGE: 7
- (B) ART: Aminosäure
- (C) STRANGFORM:
- (D) TOPOLOGIE: linear
- (ix) MERKMALE:
  - (D) WEITERE ANGABEN: Xaa in Position 2 ist unbekannt.
- (xi) BESCHREIBUNG DER SEQUENZ: SEQ ID NR: 19:

**Glu Xaa Lys Phe Tyr Val Pro**  
**1 5**

- (2) ANGABEN ZU SEQUENZIDENTIFIKATIONSNUMMER 20:
  - (i) EIGENSCHAFTEN DER SEQUENZ:
    - (A) LÄNGE: 26
    - (B) ART: Aminosäure
    - (C) STRANGFORM:
    - (D) TOPOLOGIE: linear
  - (xi) BESCHREIBUNG DER SEQUENZ: SEQ ID NR: 20:

**Glu Leu Ser Phe Ala Ser Val Arg Leu Pro Gly Cys Pro Pro Gly Val**  
**1 5 10 15**

**Asp Pro Met Val Ser Phe Pro Val Ala Leu**  
**20 25**

- (2) ANGABEN ZU SEQUENZIDENTIFIKATIONSNUMMER 21:
  - (i) EIGENSCHAFTEN DER SEQUENZ:
    - (A) LÄNGE: 2003
    - (B) ART: Nucleinsäure
    - (C) STRANGFORM: Einzelstrang
    - (D) TOPOLOGIE: linear
  - (ix) MERKMALE:
    - (D) WEITERE ANGABEN: N in den Positionen 31 und 32 könnte entweder A oder G sein.
  - (xi) BESCHREIBUNG DER SEQUENZ: SEQ ID NR: 21:

GGAAATTCCTT TTTTTTTTTT TTTTTTCTT NNTTTTTTTTTT TGCCCTTATA CCTCTTCGCC 60  
TTTCTGTGGT TCCATCCACT TCTTCCCCT CCTCCTCCCA TAAACAACTC TCCFACCCT 120  
GCACCCCCAA TAAATAAATA AAAGGAGGAG GGCAAGGGGG GAGGAGGAGG AGTGGTGCTG 180  
CGAGGGGAAG GAAAAGGGAG GCAGCGCGAG AAGAGCCGGG CAGAGTCCGA ACCGACAGCC 240  
AGAAGCCCGC ACGCACCTCG CACC ATG AGA TGG CGA CGC GCC CCG CGC CGC 291  
Met Arg Trp Arg Arg Ala Pro Arg Arg  
1 5  
TCC GGG CGT CCC GGC CCC CGG GCC CAG CGC CCC GGC TCC GCC GCC CGC 339  
Ser Gly Arg Pro Gly Pro Arg Ala Gln Arg Pro Gly Ser Ala Ala Arg  
10 15 20 25  
TCG TCG CCG CCG CTG CCG CTG CTG CCA CTA CTG CTG CTG CTG GGG ACC 387  
Ser Ser Pro Pro Leu Pro Leu Leu Pro Leu Leu Leu Leu Leu Gly Thr  
30 35 40  
GCG GCC CTG GCG CCG GGG GCG GCG GCC GGC AAC GAG GCG GCT CCC GCG 435  
Ala Ala Leu Ala Pro Gly Ala Ala Ala Gly Asn Glu Ala Ala Pro Ala  
45 50 55  
GGG GCC TCG GTG TGC TAC TCG TCC CCG CCC AGC GTG GGA TCG GTG CAG 483  
Gly Ala Ser Val Cys Tyr Ser Ser Pro Pro Ser Val Gly Ser Val Gln  
60 65 70  
GAG CTA GCT CAG CGC GCC GCG GTG GTG ATC GAG GGA AAG GTG CAC CCG 531  
Glu Leu Ala Gln Arg Ala Ala Val Val Ile Glu Gly Lys Val His Pro  
75 80 85  
CAG CCG CCG CAG CAG GGG GCA CTC GAC AGG AAG GCG GCG GCG GCG GCG 579  
Gln Arg Arg Gln Gln Gly Ala Leu Asp Arg Lys Ala Ala Ala Ala Ala  
90 95 100 105  
GGC GAG GCA GGG GCG TGG GGC GGC GAT CGC GAG CCG CCA GCC GCG GGC 627  
Gly Glu Ala Gly Ala Trp Gly Gly Asp Arg Glu Pro Pro Ala Ala Gly  
110 115 120  
CCA CCG CCG CTG GGG CCG CCC GCC GAG GAG CCG CTG CTC GCC GCC AAC 675  
Pro Arg Ala Leu Gly Pro Pro Ala Glu Glu Pro Leu Leu Ala Ala Asn  
125 130 135  
GGG ACC GTG CCC TCT TGG CCC ACC GCC CCG GTG CCC AGC GCC GGC GAG 723  
Gly Thr Val Pro Ser Trp Pro Thr Ala Pro Val Pro Ser Ala Gly Glu  
140 145 150  
CCC GGG GAG GAG GCG CCC TAT CTG GTG AAG GTG CAC CAG GTG TGG GCG 771  
Pro Gly Glu Glu Ala Pro Tyr Leu Val Lys Val His Gln Val Trp Ala  
155 160 165  
GTG AAA GCC GGG GGC TTG AAG AAG GAC TCG CTG CTC ACC GTG CGC CTG 819  
Val Lys Ala Gly Gly Leu Lys Lys Asp Ser Leu Leu Thr Val Arg Leu



170	175	180	185	
GGG ACC TGG GGC CAC CCC GCC TTC CCC TCC TGC GGG AGG CTC AAG GAG Gly Thr Trp Gly His Pro Ala Phe Pro Ser Cys Gly Arg Leu Lys Glu	190	195	200	867
GAC AGC AGG TAC ATC TTC TTC ATG GAG CCC GAC GCC AAC AGC ACC AGC Asp Ser Arg Tyr Ile Phe Phe Met Glu Pro Asp Ala Asn Ser Thr Ser	205	210	215	915
CGC GCG CCG GCC GCC TTC CGA GCC TCT TTC CCC CCT CTG GAG ACG GGC Arg Ala Pro Ala Ala Phe Arg Ala Ser Phe Pro Pro Leu Glu Thr Gly	220	225	230	963
CGG AAC CTC AAG AAG GAG GTC AGC CGG GTG CTG TGC AAG CCG TGC GCC Arg Asn Leu Lys Lys Glu Val Ser Arg Val Leu Cys Lys Arg Cys Ala	235	240	245	1011
TTG CCT CCC CAA TTG AAA GAG ATG AAA AGC CAG GAA TCG GCT GCA GGT Leu Pro Pro Gln Leu Lys Glu Met Lys Ser Gln Glu Ser Ala Ala Gly	250	255	260	1059
TCC AAA CTA GTC CTT CGG TGT GAA ACC AGT TCT GAA TAC TCC TCT CTC Ser Lys Leu Val Leu Arg Cys Glu Thr Ser Ser Glu Tyr Ser Ser Leu	270	175	180	1107
AGA TTC AAG TGG TTC AAG AAT GGG AAT GAA TTG AAT CGA AAA AAC AAA Arg Phe Lys Trp Phe Lys Asn Gly Asn Glu Leu Asn Arg Lys Asn Lys	185	190	195	1155
CCA CAA AAT ATC AAG ATA CAA AAA AAG CCA GGG AAG TCA GAA CTT CGC Pro Gln Asn Ile Lys Ile Gln Lys Lys Pro Gly Lys Ser Glu Leu Arg	200	205	210	1203
ATT AAC AAA GCA TCA CTG GCT GAT TCT GGA GAG TAT ATG TGC AAA GTG Ile Asn Lys Ala Ser Leu Ala Asp Ser Gly Glu Tyr Met Cys Lys Val	215	220	225	1251
ATC AGC AAA TTA GGA AAT GAC AGT GCC TCT GCC AAT ATC ACC ATC GTG Ile Ser Lys Leu Gly Asn Asp Ser Ala Ser Ala Asn Ile Thr Ile Val	230	235	240	1299
GAA TCA AAC GCT ACA TCT ACA TCC ACC ACT GGG ACA AGC CAT CTT GTA Glu Ser Asn Ala Thr Ser Thr Ser Thr Thr Gly Thr Ser His Leu Val	250	255	260	1347
AAA TGT GCG GAG AAG GAG AAA ACT TTC TGT GTG AAT GGA GGG GAG TGC Lys Cys Ala Glu Lys Glu Lys Thr Phe Cys Val Asn Gly Gly Glu Cys	265	270	275	1395
TTC ATG GTG AAA GAC CTT TCA AAC CCC TCG AGA TAC TTG TGC AAG TGC Phe Met Val Lys Asp Leu Ser Asn Pro Ser Arg Tyr Leu Cys Lys Cys	280	285	290	1443
CCA AAT GAG TTT ACT GGT GAT CGC TGC CAA AAC TAC GTA ATG GCC AGC Pro Asn Glu Phe Thr Gly Asp Arg Cys Gln Asn Tyr Val Met Ala Ser	295	300	305	1491
TTC TAC AGT ACG TCC ACT CCC TTT CTG TCT CTG CCT GAA Phe Tyr Ser Thr Ser Thr Pro Phe Leu Ser Leu Pro Glu	400	405	410	1530

**TAGGAGCATG CTCAGTTGGT GCTGCTTTCT TGTGCTGCA TCTCCCCTCA GATTCCACCT 1590**  
**AGAGCTAGAT GTGTCTTACC AGATCTAATA TTGACTGCCT CTGCCTGTGG CATGAGAACA 1650**  
**TTAACAAAAG CAATTGTATT ACTTCCTCTG TTCGGACTA GTTGGCTCTG AGATACTAAT 1710**  
**AGGTGTGTGA GGCTCCGGAT GTTTCTGGAA TTGATATTGA ATGATGTGAT ACAAATTGAT 1770**  
**AGTCAATATC AAGCAGTGAA ATATGATAAT AAAGGCATT CAAAGTCTCA CTTTTATTGA 1830**  
**TAAATAAAA ATCATTCTAC TGAACAGTCC ATCTTCTTTA TACAATGACC ACATCCTGAA 1890**  
**AAGGGTGTG CTAAGCTGTA ACCGATATGC ACTTGAAATG ATGGTAAGTT AATTTTGATT 1950**  
**CAGAATCTGT TATTTGTCAC AAATAACAT AATAAAGGA AAAAAAAAA AAA 2003**

- (2) ANGABEN ZU SEQUENZIDENTIFIKATIONSNUMMER 22:
- (i) EIGENSCHAFTEN DER SEQUENZ:
    - (A) LÄNGE: 12
    - (B) ART: Aminosäure
    - (C) STRANGFORM:
    - (D) TOPOLOGIE: linear
  - (ix) MERKMALE:
    - (D) WEITERE ANGABEN: Xaa in Position 11 ist unbekannt.
  - (xi) BESCHREIBUNG DER SEQUENZ: SEQ ID NR: 22:

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

- (2) ANGABEN ZU SEQUENZIDENTIFIKATIONSNUMMER 23:
- (i) EIGENSCHAFTEN DER SEQUENZ:
    - (A) LÄNGE: 11
    - (B) ART: Aminosäure
    - (C) STRANGFORM:
    - (D) TOPOLOGIE: linear
  - (ix) MERKMALE:
    - (D) WEITERE ANGABEN: Xaa in Position 9 ist unbekannt.
  - (xi) BESCHREIBUNG DER SEQUENZ: SEQ ID NR: 23:

**Thr Glu Thr Ser Ser Ser Gly Leu Xaa Leu Lys**  
**1 5 10**

- (2) ANGABEN ZU SEQUENZIDENTIFIKATIONSNUMMER 24:
- (i) EIGENSCHAFTEN DER SEQUENZ:
    - (A) LÄNGE: 12

- (B) ART: Aminosäure
- (C) STRANGFORM:
- (D) TOPOLOGIE: linear

(xi) BESCHREIBUNG DER SEQUENZ: SEQ ID NR: 24:

**Ala Ser Leu Ala Asp Glu Tyr Glu Tyr Met Arg Lys**  
**1 5 10**

(2) ANGABEN ZU SEQUENZIDENTIFIKATIONSNUMMER 25:

(i) EIGENSCHAFTEN DER SEQUENZ:

- (A) LÄNGE: 9
- (B) ART: Aminosäure
- (C) STRANGFORM:
- (D) TOPOLOGIE: linear

(ix) MERKMALE:

(D) WEITERE ANGABEN: Xaa in Position 7 ist unbekannt.

(xi) BESCHREIBUNG DER SEQUENZ: SEQ ID NR: 25:

**Ala Gly Tyr Phe Ala Glu Xaa Ala Arg**  
**1 5**

(2) ANGABEN ZU SEQUENZIDENTIFIKATIONSNUMMER 26:

(i) EIGENSCHAFTEN DER SEQUENZ:

- (A) LÄNGE: 10
- (B) ART: Aminosäure
- (C) STRANGFORM:
- (D) TOPOLOGIE: linear

(xi) BESCHREIBUNG DER SEQUENZ: SEQ ID NR: 26:

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

(2) ANGABEN ZU SEQUENZIDENTIFIKATIONSNUMMER 27:

(i) EIGENSCHAFTEN DER SEQUENZ:

- (A) LÄNGE: 9
- (B) ART: Aminosäure
- (C) STRANGFORM:
- (D) TOPOLOGIE: linear

(xi) BESCHREIBUNG DER SEQUENZ: SEQ ID NR: 27:

**Ala Lys Glu Ala Leu Ala Ala Leu Lys**  
**1 5**

- (2) ANGABEN ZU SEQUENZIDENTIFIKATIONSNUMMER 28:
- (i) EIGENSCHAFTEN DER SEQUENZ:
    - (A) LÄNGE: 7
    - (B) ART: Aminosäure
    - (C) STRANGFORM:
    - (D) TOPOLOGIE: linear
  - (xi) BESCHREIBUNG DER SEQUENZ: SEQ ID NR: 28:

**Phe Val Leu Gln Ala Lys Lys**  
**1 5**

- (2) ANGABEN ZU SEQUENZIDENTIFIKATIONSNUMMER 29:
- (i) EIGENSCHAFTEN DER SEQUENZ:
    - (A) LÄNGE: 21
    - (B) ART: Aminosäure
    - (C) STRANGFORM:
    - (D) TOPOLOGIE: linear
  - (xi) BESCHREIBUNG DER SEQUENZ: SEQ ID NR: 29:

**Glu Thr Gln Pro Asp Pro Gly Gln Ile Leu Lys Lys Val Pro Met Val**  
**1 5 10 15**

**Ile Gly Ala Tyr Thr**  
**20**

- (2) ANGABEN ZU SEQUENZIDENTIFIKATIONSNUMMER 30:
- (i) EIGENSCHAFTEN DER SEQUENZ:
    - (A) LÄNGE: 21
    - (B) ART: Aminosäure
    - (C) STRANGFORM:
    - (D) TOPOLOGIE: linear
  - (ix) MERKMALE:
    - (D) WEITERE ANGABEN: Xaa in den Positionen 1, 3, 17 und 19 ist unbekannt.
  - (xi) BESCHREIBUNG DER SEQUENZ: SEQ ID NR: 30:

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

**Xaa Gly Xaa Gly Lys**  
**20**

(2) ANGABEN ZU SEQUENZIDENTIFIKATIONSNUMMER 31:

- (i) EIGENSCHAFTEN DER SEQUENZ:
  - (A) LÄNGE: 13
  - (B) ART: Aminosäure
  - (C) STRANGFORM:
  - (D) TOPOLOGIE: linear
- (xi) BESCHREIBUNG DER SEQUENZ: SEQ ID NR: 31:

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

(2) ANGABEN ZU SEQUENZIDENTIFIKATIONSNUMMER 32:

- (i) EIGENSCHAFTEN DER SEQUENZ:
  - (A) LÄNGE: 8
  - (B) ART: Aminosäure
  - (C) STRANGFORM:
  - (D) TOPOLOGIE: linear
- (ix) MERKMALE:
  - (D) WEITERE ANGABEN: Xaa in Position 6 ist unbekannt.
- (xi) BESCHREIBUNG DER SEQUENZ: SEQ ID NR: 32:

**Lys Leu Glu Phe Leu Xaa Ala Lys**  
**1 5**

(2) ANGABEN ZU SEQUENZIDENTIFIKATIONSNUMMER 33:

- (i) EIGENSCHAFTEN DER SEQUENZ:
  - (A) LÄNGE: 9
  - (B) ART: Aminosäure
  - (C) STRANGFORM:
  - (D) TOPOLOGIE: linear
- (ix) MERKMALE:
  - (D) WEITERE ANGABEN: Xaa in Position 1 ist Lysin oder Arginin.
- (xi) BESCHREIBUNG DER SEQUENZ: SEQ ID NR: 33:

**Xaa Val His Gln Val Trp Ala Ala Lys**  
**1 5**

(2) ANGABEN ZU SEQUENZIDENTIFIKATIONSNUMMER 34:

(i) EIGENSCHAFTEN DER SEQUENZ:

- (A) LÄNGE: 14
- (B) ART: Aminosäure
- (C) STRANGFORM:
- (D) TOPOLOGIE: linear

(ix) MERKMALE:

(D) WEITERE ANGABEN: Xaa in Position 1 ist Lysin oder Arginin,  
Xaa in Position 11 ist unbekannt.

(xi) BESCHREIBUNG DER SEQUENZ: SEQ ID NR: 34:

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

(2) ANGABEN ZU SEQUENZIDENTIFIKATIONSNUMMER 35:

(i) EIGENSCHAFTEN DER SEQUENZ:

- (A) LÄNGE: 14
- (B) ART: Aminosäure
- (C) STRANGFORM:
- (D) TOPOLOGIE: linear

(ix) MERKMALE:

(D) WEITERE ANGABEN: Xaa in Position 1 ist Lysin oder Arginin,  
Xaa in Position 13 ist unbekannt.

(xi) BESCHREIBUNG DER SEQUENZ: SEQ ID NR: 35:

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

(2) ANGABEN ZU SEQUENZIDENTIFIKATIONSNUMMER 36:

(i) EIGENSCHAFTEN DER SEQUENZ:

- (A) LÄNGE: 9
- (B) ART: Aminosäure
- (C) STRANGFORM:
- (D) TOPOLOGIE: linear

(ix) MERKMALE:



(D) WEITERE ANGABEN: Xaa in Position 1 ist Lysin oder Arginin.

(xi) BESCHREIBUNG DER SEQUENZ: SEQ ID NR: 36:

**Xaa Trp Phe Val Val Ile Glu Gly Lys**  
**1 5**

(2) ANGABEN ZU SEQUENZIDENTIFIKATIONSNUMMER 37:

(i) EIGENSCHAFTEN DER SEQUENZ:

(A) LÄNGE: 16

(B) ART: Aminosäure

(C) STRANGFORM:

(D) TOPOLOGIE: linear

(ix) MERKMALE:

(D) WEITERE ANGABEN: Xaa in Position 1 ist Lysin oder Arginin.

(xi) BESCHREIBUNG DER SEQUENZ: SEQ ID NR: 37:

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

(2) ANGABEN ZU SEQUENZIDENTIFIKATIONSNUMMER 38:

(i) EIGENSCHAFTEN DER SEQUENZ:

(A) LÄNGE: 13

(B) ART: Aminosäure

(C) STRANGFORM:

(D) TOPOLOGIE: linear

(ix) MERKMALE:

(D) WEITERE ANGABEN: Xaa in Position 1 ist Lysin oder Arginin.

(xi) BESCHREIBUNG DER SEQUENZ: SEQ ID NR: 38:

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

(2) ANGABEN ZU SEQUENZIDENTIFIKATIONSNUMMER 39:

(i) EIGENSCHAFTEN DER SEQUENZ:

(A) LÄNGE: 7

(B) ART: Aminosäure

(C) STRANGFORM:

(D) TOPOLOGIE: linear

(ix) MERKMALE:

(D) WEITERE ANGABEN: Xaa in Position 1 ist Lysin oder Arginin;  
Xaa in Position 6 ist unbekannt.

(xi) BESCHREIBUNG DER SEQUENZ: SEQ ID NR: 39:

**Xaa Asp Leu Leu Leu Xaa Val**  
**1 5**

(2) ANGABEN ZU SEQUENZIDENTIFIKATIONSNUMMER 40:

(i) EIGENSCHAFTEN DER SEQUENZ:

- (A) LÄNGE: 39
- (B) ART: Aminosäure
- (C) STRANGFORM:
- (D) TOPOLOGIE: linear

(xi) BESCHREIBUNG DER SEQUENZ: SEQ ID NR: 40:

**Cys Thr Cys Gly Cys Cys Lys Cys Cys Arg Thr Thr Cys Ala Cys Arg**  
**1 5 10 15**

**Cys Ala Gly Ala Ala Gly Gly Thr Cys Thr Thr Cys Thr Cys Cys Thr**  
**20 25 30**

**Thr Cys Thr Cys Ala Gly Cys**  
**35**

(2) ANGABEN ZU SEQUENZIDENTIFIKATIONSNUMMER 41:

(i) EIGENSCHAFTEN DER SEQUENZ:

- (A) LÄNGE: 24
- (B) ART: Aminosäure
- (C) STRANGFORM:
- (D) TOPOLOGIE: linear

(xi) BESCHREIBUNG DER SEQUENZ: SEQ ID NR: 41:

**Cys Cys Thr Cys Gly Cys Thr Cys Cys Thr Thr Cys Thr Thr Cys Thr**  
**1 5 10 15**

**Thr Gly Cys Cys Cys Thr Thr Cys**  
**20**

(2) ANGABEN ZU SEQUENZIDENTIFIKATIONSNUMMER 42:

(i) EIGENSCHAFTEN DER SEQUENZ:

- (A) LÄNGE: 8
- (B) ART: Aminosäure
- (C) STRANGFORM:
- (D) TOPOLOGIE: linear

(xi) BESCHREIBUNG DER SEQUENZ: SEQ ID NR: 42:

**Val His Gln Val Trp Ala Ala Lys**  
**1 5**

- (2) ANGABEN ZU SEQUENZIDENTIFIKATIONSNUMMER 43:
- (i) EIGENSCHAFTEN DER SEQUENZ:
    - (A) LÄNGE: 13
    - (B) ART: Aminosäure
    - (C) STRANGFORM:
    - (D) TOPOLOGIE: linear
  - (ix) MERKMALE:
    - (D) WEITERE ANGABEN: Xaa in Position 10 ist unbekannt.
  - (xi) BESCHREIBUNG DER SEQUENZ: SEQ ID NR: 43:

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

- (2) ANGABEN ZU SEQUENZIDENTIFIKATIONSNUMMER 44:
- (i) EIGENSCHAFTEN DER SEQUENZ:
    - (A) LÄNGE: 13
    - (B) ART: Aminosäure
    - (C) STRANGFORM:
    - (D) TOPOLOGIE: linear
  - (ix) MERKMALE:
    - (D) WEITERE ANGABEN: Xaa in Position 12 ist unbekannt.
  - (xi) BESCHREIBUNG DER SEQUENZ: SEQ ID NR: 44:

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

- (2) ANGABEN ZU SEQUENZIDENTIFIKATIONSNUMMER 45:
- (i) EIGENSCHAFTEN DER SEQUENZ:
    - (A) LÄNGE: 8
    - (B) ART: Aminosäure
    - (C) STRANGFORM:
    - (D) TOPOLOGIE: linear
  - (xi) BESCHREIBUNG DER SEQUENZ: SEQ ID NR: 45:

**Trp Phe Val Val Ile Glu Gly Lys**  
**1 5**

(2) ANGABEN ZU SEQUENZIDENTIFIKATIONSNUMMER 46:

(i) EIGENSCHAFTEN DER SEQUENZ:

- (A) LÄNGE: 15
- (B) ART: Aminosäure
- (C) STRANGFORM:
- (D) TOPOLOGIE: linear

(xi) BESCHREIBUNG DER SEQUENZ: SEQ ID NR: 46:

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

(2) ANGABEN ZU SEQUENZIDENTIFIKATIONSNUMMER 47:

(i) EIGENSCHAFTEN DER SEQUENZ:

- (A) LÄNGE: 12
- (B) ART: Aminosäure
- (C) STRANGFORM:
- (D) TOPOLOGIE: linear

(xi) BESCHREIBUNG DER SEQUENZ: SEQ ID NR: 47:

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

(2) ANGABEN ZU SEQUENZIDENTIFIKATIONSNUMMER 48:

(i) EIGENSCHAFTEN DER SEQUENZ:

- (A) LÄNGE: 9
- (B) ART: Aminosäure
- (C) STRANGFORM:
- (D) TOPOLOGIE: linear

(xi) BESCHREIBUNG DER SEQUENZ: SEQ ID NR: 48:

**Lys Val His Gln Val Trp Ala Ala Lys**  
**1 5**

(2) ANGABEN ZU SEQUENZIDENTIFIKATIONSNUMMER 49:

(i) EIGENSCHAFTEN DER SEQUENZ:

- (A) LÄNGE: 13
- (B) ART: Aminosäure
- (C) STRANGFORM:
- (D) TOPOLOGIE: linear

(ix) MERKMALE:

(D) WEITERE ANGABEN: Xaa in Position 12 ist unbekannt.

(xi) BESCHREIBUNG DER SEQUENZ: SEQ ID NR: 49:

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

- (2) ANGABEN ZU SEQUENZIDENTIFIKATIONSNUMMER 50:
- (i) EIGENSCHAFTEN DER SEQUENZ:
    - (A) LÄNGE: 6
    - (B) ART: Aminosäure
    - (C) STRANGFORM:
    - (D) TOPOLOGIE: linear
  - (ix) MERKMALE:
    - (D) WEITERE ANGABEN: Xaa in Position 5 ist unbekannt.
  - (xi) BESCHREIBUNG DER SEQUENZ: SEQ ID NR: 50:

**Asp Leu Leu Leu Xaa Val**  
**1 5**

- (2) ANGABEN ZU SEQUENZIDENTIFIKATIONSNUMMER 51:
- (i) EIGENSCHAFTEN DER SEQUENZ:
    - (A) LÄNGE: 20
    - (B) ART: Nucleinsäure
    - (C) STRANGFORM: Einzelstrang
    - (D) TOPOLOGIE: linear
  - (xi) BESCHREIBUNG DER SEQUENZ: SEQ ID NR: 51:

**TTYAARGGNG AYGNCAYAC 20**

- (2) ANGABEN ZU SEQUENZIDENTIFIKATIONSNUMMER 52:
- (i) EIGENSCHAFTEN DER SEQUENZ:
    - (A) LÄNGE: 21
    - (B) ART: Nucleinsäure
    - (C) STRANGFORM: Einzelstrang
    - (D) TOPOLOGIE: linear
  - (xi) BESCHREIBUNG DER SEQUENZ: SEQ ID NR: 52:

**CATRTAYTCR TAYTCRTCNG C 21**

- (2) ANGABEN ZU SEQUENZIDENTIFIKATIONSNUMMER 53:
- (i) EIGENSCHAFTEN DER SEQUENZ:
    - (A) LÄNGE: 20
    - (B) ART: Nucleinsäure

- (C) STRANGFORM: Einzelstrang
- (D) TOPOLOGIE: linear
- (xi) BESCHREIBUNG DER SEQUENZ: SEQ ID NR: 53:

**TGYTCNGANG CCATYTCNGT 20**

- (2) ANGABEN ZU SEQUENZIDENTIFIKATIONSNUMMER 54:
  - (i) EIGENSCHAFTEN DER SEQUENZ:
    - (A) LÄNGE: 20
    - (B) ART: Nucleinsäure
    - (C) STRANGFORM: Einzelstrang
    - (D) TOPOLOGIE: linear
  - (xi) BESCHREIBUNG DER SEQUENZ: SEQ ID NR: 54:

**TGYTCRCCTNG CCATYTCNGT 20**

- (2) ANGABEN ZU SEQUENZIDENTIFIKATIONSNUMMER 55:
  - (i) EIGENSCHAFTEN DER SEQUENZ:
    - (A) LÄNGE: 20
    - (B) ART: Nucleinsäure
    - (C) STRANGFORM: Einzelstrang
    - (D) TOPOLOGIE: linear
  - (xi) BESCHREIBUNG DER SEQUENZ: SEQ ID NR: 55:

**CCDATNACCA TNGGNACYTT 20**

- (2) ANGABEN ZU SEQUENZIDENTIFIKATIONSNUMMER 56:
  - (i) EIGENSCHAFTEN DER SEQUENZ:
    - (A) LÄNGE: 20
    - (B) ART: Nucleinsäure
    - (C) STRANGFORM: Einzelstrang
    - (D) TOPOLOGIE: linear
  - (xi) BESCHREIBUNG DER SEQUENZ: SEQ ID NR: 56:

**GCNGCCCANAC CYTGRTGNAC 20**

- (2) ANGABEN ZU SEQUENZIDENTIFIKATIONSNUMMER 57:
  - (i) EIGENSCHAFTEN DER SEQUENZ:



- (A) LÄNGE: 20
  - (B) ART: Nucleinsäure
  - (C) STRANGFORM: Einzelstrang
  - (D) TOPOLOGIE: linear
- (xi) BESCHREIBUNG DER SEQUENZ: SEQ ID NR: 57:

**GCYTCNGGYT CCATRAAAA 20**

- (2) ANGABEN ZU SEQUENZIDENTIFIKATIONSNUMMER 58:
- (i) EIGENSCHAFTEN DER SEQUENZ:
    - (A) LÄNGE: 20
    - (B) ART: Nucleinsäure
    - (C) STRANGFORM: Einzelstrang
    - (D) TOPOLOGIE: linear
- (xi) BESCHREIBUNG DER SEQUENZ: SEQ ID NR: 58:

**CCYTCDATNA CNACRAACCA 20**

- (2) ANGABEN ZU SEQUENZIDENTIFIKATIONSNUMMER 59:
- (i) EIGENSCHAFTEN DER SEQUENZ:
    - (A) LÄNGE: 17
    - (B) ART: Nucleinsäure
    - (C) STRANGFORM: Einzelstrang
    - (D) TOPOLOGIE: linear
- (xi) BESCHREIBUNG DER SEQUENZ: SEQ ID NR: 59:

**TCNGCRAART ANCCNGC 17**

- (2) ANGABEN ZU SEQUENZIDENTIFIKATIONSNUMMER 60:
- (i) EIGENSCHAFTEN DER SEQUENZ:
    - (A) LÄNGE: 20
    - (B) ART: Nucleinsäure
    - (C) STRANGFORM: Einzelstrang
    - (D) TOPOLOGIE: linear
- (xi) BESCHREIBUNG DER SEQUENZ: SEQ ID NR: 60:

**GCNGCNAGNG CYTCYTTNGC 20**

- (2) ANGABEN ZU SEQUENZIDENTIFIKATIONSNUMMER 61:

- (i) EIGENSCHAFTEN DER SEQUENZ:
  - (A) LÄNGE: 20
  - (B) ART: Nucleinsäure
  - (C) STRANGFORM: Einzelstrang
  - (D) TOPOLOGIE: linear
- (xi) BESCHREIBUNG DER SEQUENZ: SEQ ID NR: 61:

**GCNGCYAANG CYTCYTTNGC 20**

- (2) ANGABEN ZU SEQUENZIDENTIFIKATIONSNUMMER 62:
  - (i) EIGENSCHAFTEN DER SEQUENZ:
    - (A) LÄNGE: 20
    - (B) ART: Nucleinsäure
    - (C) STRANGFORM: Einzelstrang
    - (D) TOPOLOGIE: linear
  - (xi) BESCHREIBUNG DER SEQUENZ: SEQ ID NR: 62:

**TTYTTNGCYT GNAGNACRAA 20**

- (2) ANGABEN ZU SEQUENZIDENTIFIKATIONSNUMMER 63:
  - (i) EIGENSCHAFTEN DER SEQUENZ:
    - (A) LÄNGE: 20
    - (B) ART: Nucleinsäure
    - (C) STRANGFORM: Einzelstrang
    - (D) TOPOLOGIE: linear
  - (xi) BESCHREIBUNG DER SEQUENZ: SEQ ID NR: 63:

**TTYTTNGCYT GYAANACRAA 20**

- (2) ANGABEN ZU SEQUENZIDENTIFIKATIONSNUMMER 64:
  - (i) EIGENSCHAFTEN DER SEQUENZ:
    - (A) LÄNGE: 17
    - (B) ART: Nucleinsäure
    - (C) STRANGFORM: Einzelstrang
    - (D) TOPOLOGIE: linear
  - (xi) BESCHREIBUNG DER SEQUENZ: SEQ ID NR: 64:

**TGNACNAGYT CYTGNAC 17**

- (2) ANGABEN ZU SEQUENZIDENTIFIKATIONSNUMMER 65:
- (i) EIGENSCHAFTEN DER SEQUENZ:
    - (A) LÄNGE: 17
    - (B) ART: Nucleinsäure
    - (C) STRANGFORM: Einzelstrang
    - (D) TOPOLOGIE: linear
  - (xi) BESCHREIBUNG DER SEQUENZ: SEQ ID NR: 65:

**TGNACYAAYT CYTGNAC 17**

- (2) ANGABEN ZU SEQUENZIDENTIFIKATIONSNUMMER 66:
- (i) EIGENSCHAFTEN DER SEQUENZ:
    - (A) LÄNGE: 21
    - (B) ART: Nucleinsäure
    - (C) STRANGFORM: Einzelstrang
    - (D) TOPOLOGIE: linear
  - (xi) BESCHREIBUNG DER SEQUENZ: SEQ ID NR: 66:

**CATRTAYTCN CCNGARTCNG C 21**

- (2) ANGABEN ZU SEQUENZIDENTIFIKATIONSNUMMER 67:
- (i) EIGENSCHAFTEN DER SEQUENZ:
    - (A) LÄNGE: 21
    - (B) ART: Nucleinsäure
    - (C) STRANGFORM: Einzelstrang
    - (D) TOPOLOGIE: linear
  - (xi) BESCHREIBUNG DER SEQUENZ: SEQ ID NR: 67:

**CATRTAYTCN CCRCTRTCNG C 21**

- (2) ANGABEN ZU SEQUENZIDENTIFIKATIONSNUMMER 68:
- (i) EIGENSCHAFTEN DER SEQUENZ:
    - (A) LÄNGE: 21
    - (B) ART: Nucleinsäure
    - (C) STRANGFORM: Einzelstrang
    - (D) TOPOLOGIE: linear
  - (xi) BESCHREIBUNG DER SEQUENZ: SEQ ID NR: 68:

**NGARTCNGCY AANGANGCYT T 21**

- (2) ANGABEN ZU SEQUENZIDENTIFIKATIONSNUMMER 69:
- (i) EIGENSCHAFTEN DER SEQUENZ:
    - (A) LÄNGE: 21
    - (B) ART: Nucleinsäure
    - (C) STRANGFORM: Einzelstrang
    - (D) TOPOLOGIE: linear
  - (xi) BESCHREIBUNG DER SEQUENZ: SEQ ID NR: 69:

**NGARTCNGCN AGNGANGCYT T 21**

- (2) ANGABEN ZU SEQUENZIDENTIFIKATIONSNUMMER 70:
- (i) EIGENSCHAFTEN DER SEQUENZ:
    - (A) LÄNGE: 21
    - (B) ART: Nucleinsäure
    - (C) STRANGFORM: Einzelstrang
    - (D) TOPOLOGIE: linear
  - (xi) BESCHREIBUNG DER SEQUENZ: SEQ ID NR: 70:

**RCTRTCNGCY AANGANGCYT T 21**

- (2) ANGABEN ZU SEQUENZIDENTIFIKATIONSNUMMER 71:
- (i) EIGENSCHAFTEN DER SEQUENZ:
    - (A) LÄNGE: 21
    - (B) ART: Nucleinsäure
    - (C) STRANGFORM: Einzelstrang
    - (D) TOPOLOGIE: linear
  - (xi) BESCHREIBUNG DER SEQUENZ: SEQ ID NR: 71:

**RCTRTCNGCN AGNGANGCYT T 21**

- (2) ANGABEN ZU SEQUENZIDENTIFIKATIONSNUMMER 72:
- (i) EIGENSCHAFTEN DER SEQUENZ:
    - (A) LÄNGE: 21
    - (B) ART: Nucleinsäure
    - (C) STRANGFORM: Einzelstrang
    - (D) TOPOLOGIE: linear

(xi) BESCHREIBUNG DER SEQUENZ: SEQ ID NR: 72:

**NGARTCGCY AARCTNGCYT T 21**

(2) ANGABEN ZU SEQUENZIDENTIFIKATIONSNUMMER 73:

(i) EIGENSCHAFTEN DER SEQUENZ:

- (A) LÄNGE: 21
- (B) ART: Nucleinsäure
- (C) STRANGFORM: Einzelstrang
- (D) TOPOLOGIE: linear

(xi) BESCHREIBUNG DER SEQUENZ: SEQ ID NR: 73:

**NGARTCGCN AGRCTNGCYT T 21**

(2) ANGABEN ZU SEQUENZIDENTIFIKATIONSNUMMER 74:

(i) EIGENSCHAFTEN DER SEQUENZ:

- (A) LÄNGE: 21
- (B) ART: Nucleinsäure
- (C) STRANGFORM: Einzelstrang
- (D) TOPOLOGIE: linear

(xi) BESCHREIBUNG DER SEQUENZ: SEQ ID NR: 74:

**RCTRTCNGCY AARCTNGCYT T 21**

(2) ANGABEN ZU SEQUENZIDENTIFIKATIONSNUMMER 75:

(i) EIGENSCHAFTEN DER SEQUENZ:

- (A) LÄNGE: 21
- (B) ART: Nucleinsäure
- (C) STRANGFORM: Einzelstrang
- (D) TOPOLOGIE: linear

(xi) BESCHREIBUNG DER SEQUENZ: SEQ ID NR: 75:

**RCTRCTNGCN AGRCTNGCYT T 21**

(2) ANGABEN ZU SEQUENZIDENTIFIKATIONSNUMMER 76:

(i) EIGENSCHAFTEN DER SEQUENZ:

- (A) LÄNGE: 20
- (B) ART: Nucleinsäure
- (C) STRANGFORM: Einzelstrang

- (D) TOPOLOGIE: linear  
(xi) BESCHREIBUNG DER SEQUENZ: SEQ ID NR: 76:

**ACNACNGARA TGGCTCNGA 20**

- (2) ANGABEN ZU SEQUENZIDENTIFIKATIONSNUMMER 77:  
(i) EIGENSCHAFTEN DER SEQUENZ:  
(A) LÄNGE: 20  
(B) ART: Nucleinsäure  
(C) STRANGFORM: Einzelstrang  
(D) TOPOLOGIE: linear  
(xi) BESCHREIBUNG DER SEQUENZ: SEQ ID NR: 77:

**ACNACNGARA TGGCAGYNGA 20**

- (2) ANGABEN ZU SEQUENZIDENTIFIKATIONSNUMMER 78:  
(i) EIGENSCHAFTEN DER SEQUENZ:  
(A) LÄNGE: 20  
(B) ART: Nucleinsäure  
(C) STRANGFORM: Einzelstrang  
(D) TOPOLOGIE: linear  
(xi) BESCHREIBUNG DER SEQUENZ: SEQ ID NR: 78:

**CAYCARGTNT GGGCNGCNAA 20**

- (2) ANGABEN ZU SEQUENZIDENTIFIKATIONSNUMMER 79:  
(i) EIGENSCHAFTEN DER SEQUENZ:  
(A) LÄNGE: 20  
(B) ART: Nucleinsäure  
(C) STRANGFORM: Einzelstrang  
(D) TOPOLOGIE: linear  
(xi) BESCHREIBUNG DER SEQUENZ: SEQ ID NR: 79:

**TTYGTNGTNA THGARGGNAA 20**

- (2) ANGABEN ZU SEQUENZIDENTIFIKATIONSNUMMER 80:  
(i) EIGENSCHAFTEN DER SEQUENZ:  
(A) LÄNGE: 20  
(B) ART: Nucleinsäure



- (C) STRANGFORM: Einzelstrang
- (D) TOPOLOGIE: linear
- (xi) BESCHREIBUNG DER SEQUENZ: SEQ ID NR: 80:

**AARGGNGAYG CNCAYACNGA 20**

- (2) ANGABEN ZU SEQUENZIDENTIFIKATIONSNUMMER 81:
  - (i) EIGENSCHAFTEN DER SEQUENZ:
    - (A) LÄNGE: 20
    - (B) ART: Nucleinsäure
    - (C) STRANGFORM: Einzelstrang
    - (D) TOPOLOGIE: linear
  - (xi) BESCHREIBUNG DER SEQUENZ: SEQ ID NR: 81:

**GARGCNYTNG CNGCNYTNA 20**

- (2) ANGABEN ZU SEQUENZIDENTIFIKATIONSNUMMER 82:
  - (i) EIGENSCHAFTEN DER SEQUENZ:
    - (A) LÄNGE: 20
    - (B) ART: Nucleinsäure
    - (C) STRANGFORM: Einzelstrang
    - (D) TOPOLOGIE: linear
  - (xi) BESCHREIBUNG DER SEQUENZ: SEQ ID NR: 82:

**GTNGGNTCNG TNCARGARYT 20**

- (2) ANGABEN ZU SEQUENZIDENTIFIKATIONSNUMMER 83:
  - (i) EIGENSCHAFTEN DER SEQUENZ:
    - (A) LÄNGE: 20
    - (B) ART: Nucleinsäure
    - (C) STRANGFORM: Einzelstrang
    - (D) TOPOLOGIE: linear
  - (xi) BESCHREIBUNG DER SEQUENZ: SEQ ID NR: 83:

**GTNGGNAGYG TNCARGARYT 20**

- (2) ANGABEN ZU SEQUENZIDENTIFIKATIONSNUMMER 84:
  - (i) EIGENSCHAFTEN DER SEQUENZ:
    - (A) LÄNGE: 21

- (B) ART: Nucleinsäure
- (C) STRANGFORM: Einzelstrang
- (D) TOPOLOGIE: linear
- (xi) BESCHREIBUNG DER SEQUENZ: SEQ ID NR: 84:

**NACYTTYTTN ARDATYTGNC C 21**

(2) ANGABEN ZU SEQUENZIDENTIFIKATIONSNUMMER 85:

- (i) EIGENSCHAFTEN DER SEQUENZ:
  - (A) LÄNGE: 417
  - (B) ART: Nucleinsäure
  - (C) STRANGFORM: Einzelstrang
  - (D) TOPOLOGIE: linear
- (ix) MERKMALE:
  - (D) WEITERE ANGABEN: Xaa in den Positionen 14, 23, 90, 100, 126 und 135 ist ein Stopp-Codon.
- (xi) BESCHREIBUNG DER SEQUENZ: SEQ ID NR: 85:

TCTAA	AAC	TAC	AGA	GAC	TGT	ATT	TTC	ATG	ATC	ATC	ATA	GTT	CTG	TGA	AAT	ATB	
Asn	Tyr	Arg	Asp	Cys	Ile	Phe	Met	Ile	Ile	Ile	Val	Leu	Xaa	Asn	Ile		
1					5					10					15		
CTT	AAA	CCG	CTT	TGG	TCC	TGA	TCT	TGT	AGG	AAG	TCA	GAA	CTT	CGC	ATT		101
Leu	Lys	Pro	Leu	Trp	Ser	Xaa	Ser	Cys	Arg	Lys	Ser	Glu	Leu	Arg	Ile		
		20						25				30					
AGC	AAA	GCG	TCA	CTG	GCT	GAT	TCT	GGA	GAA	TAT	ATG	TGC	AAA	GTG	ATC		149
Ser	Lys	Ala	Ser	Leu	Ala	Asp	Ser	Gly	Glu	Ser	Met	Cys	Lys	Val	Ile		
		35					40					45					
AGC	AAA	CTA	GGA	AAT	GAC	AGT	GCC	TCT	GCC	AAC	ATC	ACC	ATT	GTG	GAG		197
Ser	Lys	Leu	Gly	Asn	Asp	Ser	Ala	Ser	Ala	Asn	Ile	Arg	Ile	Val	Glu		
		50				55					60						
TCA	AAC	GGT	AAG	AGA	TGC	CTA	CTG	CGT	GCT	ATT	TCT	CAG	TCT	CTA	AGA		245
Ser	Asn	Gly	Lys	Arg	Cys	Leu	Leu	Arg	Ala	Ile	Ser	Gln	Ser	Leu	Arg		
		65			70					75					80		
GGA	GTG	ATC	AAG	GTA	TGT	GGT	CAC	ACT	TGA	ATC	ACG	CAG	GTG	TGT	GAA		293
Gly	Val	Ile	Lys	Val	Cys	Gly	His	Thr	Xaa	Ile	Thr	Gln	Val	Cys	Glu		
				85					90					95			
ATC	TCA	TTG	TGA	ACA	AAT	AAA	AAT	CAT	GAA	AGG	AAA	ACT	CTA	TGT	TTG		341
Ile	Ser	Cys	Xaa	Thr	Asn	Lys	Asn	His	Glu	Arg	Lys	Thr	Leu	Cys	Leu		
			100					105						110			
AAA	TAT	CTT	ATG	GGT	CCT	CCT	GTA	AAG	CTC	TTC	ACT	CCA	TAA	GGT	GAA		389
Lys	Tyr	Leu	Met	Gly	Pro	Pro	Val	Lys	Leu	Phe	Thr	Pro	Xaa	Gly	Glu		
		115					120						125				
ATA	GAC	CTG	AAA	TAT	ATA	TAG	ATT	ATT	T								417
Ile	Asp	Leu	Lys	Tyr	Ile	Xaa	Ile	Ile									
		130				135											

- (2) ANGABEN ZU SEQUENZIDENTIFIKATIONSNUMMER 86:
- (i) EIGENSCHAFTEN DER SEQUENZ:
    - (A) LÄNGE: 33
    - (B) ART: Nucleinsäure
    - (C) STRANGFORM: Einzelstrang
    - (D) TOPOLOGIE: linear
  - (ix) MERKMALE:
    - (D) WEITERE ANGABEN: N in den Positionen 19, 25 und 31 ist Inosin. Y kann Cytidin oder Thymidin sein.
  - (xi) BESCHREIBUNG DER SEQUENZ: SEQ ID NR: 86:

**CCGAATTCTG CAGGARACNC ARCCNGAYCC NGG 33**

- (2) ANGABEN ZU SEQUENZIDENTIFIKATIONSNUMMER 87:
- (i) EIGENSCHAFTEN DER SEQUENZ:
    - (A) LÄNGE: 37
    - (B) ART: Nucleinsäure
    - (C) STRANGFORM: Einzelstrang
    - (D) TOPOLOGIE: linear
  - (ix) MERKMALE:
    - (D) WEITERE ANGABEN: N in den Positionen 14, 20, 23, 29 und 35 ist Inosin.
  - (xi) BESCHREIBUNG DER SEQUENZ: SEQ ID NR: 87:

**AAGGATCCTG CAGNGTRTAN GCNCCDATNA CCATNGG**

**37**

- (2) ANGABEN ZU SEQUENZIDENTIFIKATIONSNUMMER 88:
- (i) EIGENSCHAFTEN DER SEQUENZ:
    - (A) LÄNGE: 34
    - (B) ART: Nucleinsäure
    - (C) STRANGFORM: Einzelstrang
    - (D) TOPOLOGIE: linear
  - (ix) MERKMALE:
    - (D) WEITERE ANGABEN: N in den Positionen 16, 21 und 24 ist Inosin. Y kann Cytidin oder Thymidin sein.
  - (xi) BESCHREIBUNG DER SEQUENZ: SEQ ID NR: 88:

**CCGAATTCTG CAGGCNGAYT CNGGNGARTA YATG**

**34**

- (2) ANGABEN ZU SEQUENZIDENTIFIKATIONSNUMMER 89:
- (i) EIGENSCHAFTEN DER SEQUENZ:
    - (A) LÄNGE: 33
    - (B) ART: Nucleinsäure
    - (C) STRANGFORM: Einzelstrang
    - (D) TOPOLOGIE: linear
  - (ix) MERKMALE:
    - (D) WEITERE ANGABEN: N in den Positionen 16 und 25 ist Inosin. Y kann Cytidin oder Thymidin sein.
  - (xi) BESCHREIBUNG DER SEQUENZ: SEQ ID NR: 89:

**CCGAATTCTG CAGGCNGAYA GYGGNGARTA YAT 33**

- (2) ANGABEN ZU SEQUENZIDENTIFIKATIONSNUMMER 90:
- (i) EIGENSCHAFTEN DER SEQUENZ:
    - (A) LÄNGE: 34
    - (B) ART: Nucleinsäure
    - (C) STRANGFORM: Einzelstrang
    - (D) TOPOLOGIE: linear
  - (ix) MERKMALE:
    - (D) WEITERE ANGABEN: N in den Positionen 14, 15, 16, 26 und 29 ist Inosin. Y kann Cytidin oder Thymidin sein.
  - (xi) BESCHREIBUNG DER SEQUENZ: SEQ ID NR: 90:

**AAGGATCCTG CAGNNNCATR TAYTCNCCNG ARTC 34**

- (2) ANGABEN ZU SEQUENZIDENTIFIKATIONSNUMMER 91:
- (i) EIGENSCHAFTEN DER SEQUENZ:
    - (A) LÄNGE: 34
    - (B) ART: Nucleinsäure
    - (C) STRANGFORM: Einzelstrang
    - (D) TOPOLOGIE: linear
  - (ix) MERKMALE:
    - (D) WEITERE ANGABEN: N in den Positionen 14, 15, 16 und 26 ist Inosin. Y kann Cytidin oder Thymidin sein.
  - (xi) BESCHREIBUNG DER SEQUENZ: SEQ ID NR: 91:

**AAGGATCCTG CAGNNNCATR TAYTCNCCRC TRTC 34**

- (2) ANGABEN ZU SEQUENZIDENTIFIKATIONSNUMMER 92:
- (i) EIGENSCHAFTEN DER SEQUENZ:
    - (A) LÄNGE: 33
    - (B) ART: Nucleinsäure
    - (C) STRANGFORM: Einzelstrang
    - (D) TOPOLOGIE: linear
  - (ix) MERKMALE:
    - (D) WEITERE ANGABEN: N in den Positionen 21, 28 und 31 ist Inosin. Y kann Cytidin oder Thymidin sein.
  - (xi) BESCHREIBUNG DER SEQUENZ: SEQ ID NR: 92:

**CCGAATTCTG CAGCAYCARG TNTGGCNGC NAA 33**

- (2) ANGABEN ZU SEQUENZIDENTIFIKATIONSNUMMER 93:
- (i) EIGENSCHAFTEN DER SEQUENZ:
    - (A) LÄNGE: 35
    - (B) ART: Nucleinsäure
    - (C) STRANGFORM: Einzelstrang
    - (D) TOPOLOGIE: linear
  - (ix) MERKMALE:
    - (D) WEITERE ANGABEN: N in Position 31 ist Inosin. Y kann Cytidin oder Thymidin sein.
  - (xi) BESCHREIBUNG DER SEQUENZ: SEQ ID NR: 93:

**CCGAATTCTG CAGATHHTTYT TYATGGARCC NGARG 35**

- (2) ANGABEN ZU SEQUENZIDENTIFIKATIONSNUMMER 94:
- (i) EIGENSCHAFTEN DER SEQUENZ:
    - (A) LÄNGE: 35
    - (B) ART: Nucleinsäure
    - (C) STRANGFORM: Einzelstrang
    - (D) TOPOLOGIE: linear
  - (ix) MERKMALE:
    - (D) WEITERE ANGABEN: N in den Positionen 18, 21, 24, 27 und 33 ist Inosin. Y kann Cytidin oder Thymidin sein.
  - (xi) BESCHREIBUNG DER SEQUENZ: SEQ ID NR: 94:

**CCGAATTCTG CAGGGGGNCC NCCNGCNTTY CCGT 35**

- (2) ANGABEN ZU SEQUENZIDENTIFIKATIONSNUMMER 95:
- (i) EIGENSCHAFTEN DER SEQUENZ:
    - (A) LÄNGE: 33
    - (B) ART: Nucleinsäure
    - (C) STRANGFORM: Einzelstrang
    - (D) TOPOLOGIE: linear
  - (ix) MERKMALE:
    - (D) WEITERE ANGABEN: N in den Positionen 21 und 24 ist Inosin. Y kann Cytidin oder Thymidin sein.
  - (xi) BESCHREIBUNG DER SEQUENZ: SEQ ID NR: 95:

**CCGAATTCTG CAGTGGTTYG TNGTNATHGA RGG 33**

- (2) ANGABEN ZU SEQUENZIDENTIFIKATIONSNUMMER 96:
- (i) EIGENSCHAFTEN DER SEQUENZ:
    - (A) LÄNGE: 34
    - (B) ART: Nucleinsäure
    - (C) STRANGFORM: Einzelstrang
    - (D) TOPOLOGIE: linear
  - (ix) MERKMALE:
    - (D) WEITERE ANGABEN: N in den Positionen 17, 20 und 26 ist Inosin. Y kann Cytidin oder Thymidin sein.
  - (xi) BESCHREIBUNG DER SEQUENZ: SEQ ID NR: 96:

**AAGGATCCTG CAGYTTNGCN GCCCANACYT GRTG 34**

- (2) ANGABEN ZU SEQUENZIDENTIFIKATIONSNUMMER 97:
- (i) EIGENSCHAFTEN DER SEQUENZ:
    - (A) LÄNGE: 33
    - (B) ART: Nucleinsäure
    - (C) STRANGFORM: Einzelstrang
    - (D) TOPOLOGIE: linear
  - (ix) MERKMALE:
    - (D) WEITERE ANGABEN: N in Position 19 ist Inosin. Y kann Cytidin oder Thymidin sein.
  - (xi) BESCHREIBUNG DER SEQUENZ: SEQ ID NR: 97:

**AAGGATCCTG CAGGCYTCNG GYTCCATRAA RAA 33**

- (2) ANGABEN ZU SEQUENZIDENTIFIKATIONSNUMMER 98:
- (i) EIGENSCHAFTEN DER SEQUENZ:
    - (A) LÄNGE: 33
    - (B) ART: Nucleinsäure
    - (C) STRANGFORM: Einzelstrang
    - (D) TOPOLOGIE: linear
  - (ix) MERKMALE:
    - (D) WEITERE ANGABEN: N in den Positionen 16, 22, 25, 28 und 31 ist Inosin.
  - (xi) BESCHREIBUNG DER SEQUENZ: SEQ ID NR: 98:

**AAGGATCCTG CAGACNGGRA ANGCNNGNGG NCC 33**

- (2) ANGABEN ZU SEQUENZIDENTIFIKATIONSNUMMER 99:
- (i) EIGENSCHAFTEN DER SEQUENZ:
    - (A) LÄNGE: 35
    - (B) ART: Nucleinsäure
    - (C) STRANGFORM: Einzelstrang
    - (D) TOPOLOGIE: linear
  - (ix) MERKMALE:
    - (D) WEITERE ANGABEN: N in den Positionen 17, 26 und 29 ist Inosin. Y kann Cytidin oder Thymidin sein.
  - (xi) BESCHREIBUNG DER SEQUENZ: SEQ ID NR: 99:

**AAGGATCCTG CAGYTTNCCY TCDATNACNA CRAAC 35**

- (2) ANGABEN ZU SEQUENZIDENTIFIKATIONSNUMMER 100:
- (i) EIGENSCHAFTEN DER SEQUENZ:
    - (A) LÄNGE: 33
    - (B) ART: Nucleinsäure
    - (C) STRANGFORM: Einzelstrang
    - (D) TOPOLOGIE: linear
  - (ix) MERKMALE:
    - (D) WEITERE ANGABEN: N in Position 18 ist Inosin. Y kann Cytidin oder Thymidin sein.
  - (xi) BESCHREIBUNG DER SEQUENZ: SEQ ID NR: 100:

**CATRTAYTCR TAYTCTCNGC AAGGATCCTG CAG 33**

- (2) ANGABEN ZU SEQUENZIDENTIFIKATIONSNUMMER 101:
- (i) EIGENSCHAFTEN DER SEQUENZ:
    - (A) LÄNGE: 33
    - (B) ART: Nucleinsäure
    - (C) STRANGFORM: Einzelstrang
    - (D) TOPOLOGIE: linear
  - (ix) MERKMALE:
    - (D) WEITERE ANGABEN: N in den Positionen 19, 25 und 31 ist Inosin. Y kann Cytidin oder Thymidin sein.
  - (xi) BESCHREIBUNG DER SEQUENZ: SEQ ID NR: 101:

**CCGAATTCTG CAGAARGGNG AYGCNCAYAC NGA 33**

- (2) ANGABEN ZU SEQUENZIDENTIFIKATIONSNUMMER 102:
- (i) EIGENSCHAFTEN DER SEQUENZ:
    - (A) LÄNGE: 33
    - (B) ART: Nucleinsäure
    - (C) STRANGFORM: Einzelstrang
    - (D) TOPOLOGIE: linear
  - (ix) MERKMALE:
    - (D) WEITERE ANGABEN: N in den Positionen 3 und 18 ist Inosin. Y kann Cytidin oder Thymidin sein.
  - (xi) BESCHREIBUNG DER SEQUENZ: SEQ ID NR: 102:

**GCNGCYAANG CYTCYTTNGC AAGGATCCTG CAG 33**

- (2) ANGABEN ZU SEQUENZIDENTIFIKATIONSNUMMER 103:
- (i) EIGENSCHAFTEN DER SEQUENZ:
    - (A) LÄNGE: 33
    - (B) ART: Nucleinsäure
    - (C) STRANGFORM: Einzelstrang
    - (D) TOPOLOGIE: linear
  - (ix) MERKMALE:
    - (D) WEITERE ANGABEN: N in den Positionen 3, 6, 9 und 18 ist Inosin. Y kann Cytidin oder Thymidin sein.



(xi) BESCHREIBUNG DER SEQUENZ: SEQ ID NR: 103:

**GCNGCNAGNG CYTCYTTNGC AAGGATCCTG CAG 33**

(2) ANGABEN ZU SEQUENZIDENTIFIKATIONSNUMMER 104:

(i) EIGENSCHAFTEN DER SEQUENZ:

- (A) LÄNGE: 30
- (B) ART: Nucleinsäure
- (C) STRANGFORM: Einzelstrang
- (D) TOPOLOGIE: linear

(ix) MERKMALE:

(D) WEITERE ANGABEN: N in den Positionen 3, 12 und 15 ist Inosin. Y kann Cytidin oder Thymidin sein.

(xi) BESCHREIBUNG DER SEQUENZ: SEQ ID NR: 104:

**TCNGCRAART ANCCNGCAAG GATCCTGCAG 30**

(2) ANGABEN ZU SEQUENZIDENTIFIKATIONSNUMMER 105:

(i) EIGENSCHAFTEN DER SEQUENZ:

- (A) LÄNGE: 38
- (B) ART: Nucleinsäure
- (C) STRANGFORM: Einzelstrang
- (D) TOPOLOGIE: linear

(xi) BESCHREIBUNG DER SEQUENZ: SEQ ID NR: 105:

**CATCGATCTG CAGGCTGATT CTGGAGAATA TATGTGCA 38**

(2) ANGABEN ZU SEQUENZIDENTIFIKATIONSNUMMER 106:

(i) EIGENSCHAFTEN DER SEQUENZ:

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

(xi) BESCHREIBUNG DER SEQUENZ: SEQ ID NR: 106:

**AAGGATCCTG CAGCCACATC TCGAGTCGAC ATCGATT 37**

(2) ANGABEN ZU SEQUENZIDENTIFIKATIONSNUMMER 107:

(i) EIGENSCHAFTEN DER SEQUENZ:

- (A) LÄNGE: 37
  - (B) ART: Nucleinsäure
  - (C) STRANGFORM: Einzelstrang
  - (D) TOPOLOGIE: linear
- (xi) BESCHREIBUNG DER SEQUENZ: SEQ ID NR: 107:

**CCGAATTCTG CAGTGATCAG CAAACTAGGA AATGACA**

**37**

- (2) ANGABEN ZU SEQUENZIDENTIFIKATIONSNUMMER 108:
- (i) EIGENSCHAFTEN DER SEQUENZ:
    - (A) LÄNGE: 37
    - (B) ART: Nucleinsäure
    - (C) STRANGFORM: Einzelstrang
    - (D) TOPOLOGIE: linear
- (xi) BESCHREIBUNG DER SEQUENZ: SEQ ID NR: 108:

**CATCGATCTG CAGCCTAGTT TGCTGATCAC TTTGCAC**

**37**

- (2) ANGABEN ZU SEQUENZIDENTIFIKATIONSNUMMER 109:
- (i) EIGENSCHAFTEN DER SEQUENZ:
    - (A) LÄNGE: 37
    - (B) ART: Nucleinsäure
    - (C) STRANGFORM: Einzelstrang
    - (D) TOPOLOGIE: linear
- (xi) BESCHREIBUNG DER SEQUENZ: SEQ ID NR: 109:

**AAGGATCCTG CAGTATATTC TCCAGAATCA GCCAGTG**

**37**

- (2) ANGABEN ZU SEQUENZIDENTIFIKATIONSNUMMER 110:
- (i) EIGENSCHAFTEN DER SEQUENZ:
    - (A) LÄNGE: 34
    - (B) ART: Nucleinsäure
    - (C) STRANGFORM: Einzelstrang
    - (D) TOPOLOGIE: linear
- (xi) BESCHREIBUNG DER SEQUENZ: SEQ ID NR: 110:

**AAGGATCCTG CAGGCACGCA GTAGGCATCT CTTA**

**34**

- (2) ANGABEN ZU SEQUENZIDENTIFIKATIONSNUMMER 111:
- (i) EIGENSCHAFTEN DER SEQUENZ:

- (A) LÄNGE: 35
  - (B) ART: Nucleinsäure
  - (C) STRANGFORM: Einzelstrang
  - (D) TOPOLOGIE: linear
- (xi) BESCHREIBUNG DER SEQUENZ: SEQ ID NR: 111:

**CCGAATTCTG CAGCAGAACT TCGCATTAGC AAAGC**

**35**

- (2) ANGABEN ZU SEQUENZIDENTIFIKATIONSNUMMER 112:
- (i) EIGENSCHAFTEN DER SEQUENZ:
    - (A) LÄNGE: 33
    - (B) ART: Nucleinsäure
    - (C) STRANGFORM: Einzelstrang
    - (D) TOPOLOGIE: linear
- (xi) BESCHREIBUNG DER SEQUENZ: SEQ ID NR: 112:

**CATCCCGGGA TGAAGAGTCA GGAGTCTGTG GCA**

**33**

- (2) ANGABEN ZU SEQUENZIDENTIFIKATIONSNUMMER 113:
- (i) EIGENSCHAFTEN DER SEQUENZ:
    - (A) LÄNGE: 39
    - (B) ART: Nucleinsäure
    - (C) STRANGFORM: Einzelstrang
    - (D) TOPOLOGIE: linear
- (xi) BESCHREIBUNG DER SEQUENZ: SEQ ID NR: 113:

**ATACCCGGGC TGCAGACAAT GAGATTTAC ACACCTGCG**

**39**

- (2) ANGABEN ZU SEQUENZIDENTIFIKATIONSNUMMER 114:
- (i) EIGENSCHAFTEN DER SEQUENZ:
    - (A) LÄNGE: 36
    - (B) ART: Nucleinsäure
    - (C) STRANGFORM: Einzelstrang
    - (D) TOPOLOGIE: linear
- (xi) BESCHREIBUNG DER SEQUENZ: SEQ ID NR: 114:

**AAGGATCCTG CAGTTTGGAA CCTGCCACAG ACTCCT**

**36**

- (2) ANGABEN ZU SEQUENZIDENTIFIKATIONSNUMMER 115:

- (i) EIGENSCHAFTEN DER SEQUENZ:
  - (A) LÄNGE: 39
  - (B) ART: Nucleinsäure
  - (C) STRANGFORM: Einzelstrang
  - (D) TOPOLOGIE: linear
- (xi) BESCHREIBUNG DER SEQUENZ: SEQ ID NR: 115:

**ATACCCGGGC TGCAGATGAG ATTCACACA CCTGCGTGA**

**39**

- (2) ANGABEN ZU SEQUENZIDENTIFIKATIONSNUMMER 116:
  - (i) EIGENSCHAFTEN DER SEQUENZ:
    - (A) LÄNGE: 12
    - (B) ART: Aminosäure
    - (C) STRANGFORM:
    - (D) TOPOLOGIE: linear
  - (xi) BESCHREIBUNG DER SEQUENZ: SEQ ID NR: 116:

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

- (2) ANGABEN ZU SEQUENZIDENTIFIKATIONSNUMMER 117:
  - (i) EIGENSCHAFTEN DER SEQUENZ:
    - (A) LÄNGE: 16
    - (B) ART: Aminosäure
    - (C) STRANGFORM:
    - (D) TOPOLOGIE: linear
  - (xi) BESCHREIBUNG DER SEQUENZ: SEQ ID NR: 117:

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

- (2) ANGABEN ZU SEQUENZIDENTIFIKATIONSNUMMER 118:
  - (i) EIGENSCHAFTEN DER SEQUENZ:
    - (A) LÄNGE: 13
    - (B) ART: Aminosäure
    - (C) STRANGFORM:
    - (D) TOPOLOGIE: linear
  - (ix) MERKMALE:
    - (D) WEITERE ANGABEN: Xaa in Position 12 ist unbekannt.

(xi) BESCHREIBUNG DER SEQUENZ: SEQ ID NR: 118:

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

(2) ANGABEN ZU SEQUENZIDENTIFIKATIONSNUMMER 119:

(i) EIGENSCHAFTEN DER SEQUENZ:

- (A) LÄNGE: 23
- (B) ART: Aminosäure
- (C) STRANGFORM:
- (D) TOPOLOGIE: linear

(xi) BESCHREIBUNG DER SEQUENZ: SEQ ID NR: 119:

**Leu Leu Thr Val Arg Leu Gly Ala Trp Gly His Pro Ala Phe Pro Ser**  
**1 5 10 15**

**Cys Gly Arg Leu Lys Glu Asp**  
**20**

(2) ANGABEN ZU SEQUENZIDENTIFIKATIONSNUMMER 120:

(i) EIGENSCHAFTEN DER SEQUENZ:

- (A) LÄNGE: 13
- (B) ART: Aminosäure
- (C) STRANGFORM:
- (D) TOPOLOGIE: linear

(ix) MERKMALE:

(D) WEITERE ANGABEN: Xaa in Position 10 ist unbekannt.

(xi) BESCHREIBUNG DER SEQUENZ: SEQ ID NR: 120:

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

(2) ANGABEN ZU SEQUENZIDENTIFIKATIONSNUMMER 121:

(i) EIGENSCHAFTEN DER SEQUENZ:

- (A) LÄNGE: 23
- (B) ART: Aminosäure
- (C) STRANGFORM:
- (D) TOPOLOGIE: linear

(xi) BESCHREIBUNG DER SEQUENZ: SEQ ID NR: 121:

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

**Ser Gly Gly Pro Gly Arg Leu**  
**20**

(2) ANGABEN ZU SEQUENZIDENTIFIKATIONSNUMMER 122:

(i) EIGENSCHAFTEN DER SEQUENZ:

- (A) LÄNGE: 14
- (B) ART: Aminosäure
- (C) STRANGFORM:
- (D) TOPOLOGIE: linear

(xi) BESCHREIBUNG DER SEQUENZ: SEQ ID NR: 122:

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

(2) ANGABEN ZU SEQUENZIDENTIFIKATIONSNUMMER 123:

(i) EIGENSCHAFTEN DER SEQUENZ:

- (A) LÄNGE: 16
- (B) ART: Aminosäure
- (C) STRANGFORM:
- (D) TOPOLOGIE: linear

(xi) BESCHREIBUNG DER SEQUENZ: SEQ ID NR: 123:

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

(2) ANGABEN ZU SEQUENZIDENTIFIKATIONSNUMMER 124:

(i) EIGENSCHAFTEN DER SEQUENZ:

- (A) LÄNGE: 26
- (B) ART: Aminosäure
- (C) STRANGFORM:
- (D) TOPOLOGIE: linear

(xi) BESCHREIBUNG DER SEQUENZ: SEQ ID NR: 124:

**Cys Glu Thr Ser Ser Glu Tyr Ser Ser Leu Lys Phe Lys Trp Phe Lys**  
**1 5 10 15**

**Asn Gly Ser Glu Leu Ser Arg Lys Asn Lys**  
**20 25**

(2) ANGABEN ZU SEQUENZIDENTIFIKATIONSNUMMER 125:

- (i) EIGENSCHAFTEN DER SEQUENZ:
  - (A) LÄNGE: 13
  - (B) ART: Aminosäure
  - (C) STRANGFORM:
  - (D) TOPOLOGIE: linear
- (ix) MERKMALE:
  - (D) WEITERE ANGABEN: Xaa in Position 12 ist unbekannt.
- (xi) BESCHREIBUNG DER SEQUENZ: SEQ ID NR: 125:

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

- (2) ANGABEN ZU SEQUENZIDENTIFIKATIONSNUMMER 126:
  - (i) EIGENSCHAFTEN DER SEQUENZ:
    - (A) LÄNGE: 23
    - (B) ART: Aminosäure
    - (C) STRANGFORM:
    - (D) TOPOLOGIE: linear
  - (xi) BESCHREIBUNG DER SEQUENZ: SEQ ID NR: 126:

**Glu Leu Arg Ile Ser Lys Ala Ser Leu Ala Asp Ser Gly Glu Tyr Met**  
1 5 10 15

**Glu Leu Arg Ile Ser Lys Ala Ser Leu Ala Asp Ser Gly Glu Tyr Met**  
1 5 10 15

**Cys Lys Val Ile Ser Lys Leu**  
20

- (2) ANGABEN ZU SEQUENZIDENTIFIKATIONSNUMMER 127:
  - (i) EIGENSCHAFTEN DER SEQUENZ:
    - (A) LÄNGE: 12
    - (B) ART: Aminosäure
    - (C) STRANGFORM:
    - (D) TOPOLOGIE: linear
  - (xi) BESCHREIBUNG DER SEQUENZ: SEQ ID NR: 127:

**Ala Ser Leu Ala Asp Glu Tyr Glu Tyr Met Arg Lys**  
1 5 10

- (2) ANGABEN ZU SEQUENZIDENTIFIKATIONSNUMMER 128:
  - (i) EIGENSCHAFTEN DER SEQUENZ:

- (A) LÄNGE: 22
  - (B) ART: Aminosäure
  - (C) STRANGFORM:
  - (D) TOPOLOGIE: linear
- (xi) BESCHREIBUNG DER SEQUENZ: SEQ ID NR: 128:

**Leu Arg Ile Ser Lys Ala Ser Leu Ala Asp Ser Gly Glu Tyr Met Cys**  
**1 5 10 15**

**Lys Val Ile Ser Lys Leu**  
**20**

- (2) ANGABEN ZU SEQUENZIDENTIFIKATIONSNUMMER 129:
- (i) EIGENSCHAFTEN DER SEQUENZ:
    - (A) LÄNGE: 744
    - (B) ART: Nucleinsäure
    - (C) STRANGFORM: Einzelstrang
    - (D) TOPOLOGIE: linear
- (xi) BESCHREIBUNG DER SEQUENZ: SEQ ID NR: 129:



```

CCTGCAG CAT CAA GTG TGG GCG GCG AAA GCC GGG GGC TTG AAG AAG GAC TCG CTG
55
  His Gln Val Trp Ala Ala Lys Ala Gly Gly Leu Lys Lys Asp Ser Leu
    1           5           10           15

CTC ACC GTG CGC CTG GGC GCC TGG GGC CAC CCC GCC TTC CCC TCC TGC      103
Leu Thr Val Arg Leu Gly Ala Trp Gly His Pro Ala Phe Pro Ser Cys
    20           25           30

GGG CGC CTC AAG GAG GAC AGC AGG TAC ATC TTC TTC ATG GAG CCC GAG      151
Gly Arg Leu Lys Glu Asp Ser Arg Tyr Ile Phe Phe Met Glu Pro Glu
    35           40           45

GCC AAC AGC AGC GGC GGG CCC GGC CGC CTT CCG AGC CTC CTT CCC CCC      199
Ala Asn Ser Ser Gly Gly Pro Gly Arg Leu Pro Ser Leu Leu Pro Pro
    50           55           60

TCT CGA GAC GGG CCG GAA CCT CAA GAA CGA GGT CAG CCG GGT GCT GTG      247
Ser Arg Asp Gly Pro Glu Pro Gln Glu Gly Gly Gln Pro Gly Ala Val
    65           70           75           80

CAA CGG TGC GCC TTG CCT CCC CGC TTG AAA GAG ATG AAG AGT CAG GAG      295
Gln Arg Cys Ala Leu Pro Pro Arg Leu Lys Glu Met Lys Ser Gln Glu
    85           90           95

TCT GTG GCA GGT TCC AAA CTA GTG CTT CGG TGC GAG ACC AGT TCT GAA      343
Ser Val Ala Gly Ser Lys Leu Val Leu Arg Cys Glu Thr Ser Ser Glu
    100           105           110

TAC TCC TCT CTC AAG TTC AAG TGG TTC AAG AAT GGG AGT GAA TTA AGC      391
Tyr Ser Ser Leu Lys Phe Lys Trp Phe Lys Asn Gly Ser Glu Leu Ser
    115           120           125

CGA AAG AAC AAA CCA GAA AAC ATC AAG ATA CAG AAA AGG CCG GGG AAG      439
Arg Lys Asn Lys Pro Glu Asn Ile Lys Ile Gln Lys Arg Pro Gly Lys
    130           135           140

TCA GAA CTT CGC ATT AGC AAA GCG TCA CTG GCT GAT TCT GGA GAA TAT      487
Ser Glu Leu Arg Ile Ser Lys Ala Ser Leu Ala Asp Ser Gly Glu Tyr
    145           150           155           160

ATG TGC AAA GTG ATC AGC AAA CTA GGA AAT GAC AGT GCC TCT GCC AAC      535
Met Cys Lys Val Ile Ser Lys Leu Gly Asn Asp Ser Ala Ser Ala Asn
    165           170           175

ATC ACC ATT GTG GAG TCA AAC GGT AAG AGA TGC CTA CTG CGT GCT ATT      583
Ile Thr Ile Val Glu Ser Asn Gly Lys Arg Cys Leu Leu Arg Ala Ile
    180           185           190

TCT CAG TCT CTA AGA GGA GTG ATC AAG GTA TGT GGT CAC ACT      625
Ser Gln Ser Leu Arg Gly Val Ile Lys Val Cys Gly His Thr
    195           200           205

TGAATCACGC AGGTGTGTGA AATCTCATTG TGAACAAATA AAAATCATGA AAGGAAAAAA 685
AAAAAATAAA AATCGATGTC GACTCGAGAT GTGGCTGCAG CTCGACTCTA GAGGATCCC 744

```

(2) ANGABEN ZU SEQUENZIDENTIFIKATIONSNUMMER 130:

(i) EIGENSCHAFTEN DER SEQUENZ:

- (A) LÄNGE: 1193
- (B) ART: Nucleinsäure
- (C) STRANGFORM: Einzelstrang

(D) TOPOLOGIE: linear

(xi) BESCHREIBUNG DER SEQUENZ: SEQ ID NR: 130:

**CCTGCAG CAT CAA GTG TGG GCG GCG AAA GCC GGG GGC TTG AAG AAG GAC TCG CTG** 55  
 His Gln Val Trp Ala Ala Lys Ala Gly Gly Leu Lys Lys Asp Ser Leu  
 1 5 10 15

**CTC ACC GTG GGC CTG GGC GCC TGG GGC CAC CCC GCC TTC CCC TCC TGC** 103  
 Leu Thr Val Arg Leu Gly Ala Trp Gly His Pro Ala Phe Pro Ser Cys  
 20 25 30

**GGG GGC CTC AAG GAG GAC AGC AGC TAC ATC TTC TTC ATG GAG CCC GAG** 151  
 Gly Arg Leu Lys Glu Asp Ser Arg Tyr Ile Phe Phe Met Glu Pro Glu  
 35 40 45

**GCC AAC AGC AGC GGC GGG CCC GGC GCG CTT CCG AGC CTC CTT CCC CCC** 199  
 Ala Lys Ser Ser Gly Gly Pro Gly Arg Leu Pro Ser Leu Leu Pro Pro  
 50 55 60

**TCT CGA GAC GGG CCG GAA CCT CAA GAA GGA GGT CAG CCG GGT GCT GTG** 247  
 Ser Arg Asp Gly Pro Glu Pro Gln Glu Gly Gly Gln Pro Gly Ala Val  
 65 70 75 80

**CAA CGG TGC GCC TTG CCT CCC GCG TTG AAA GAG ATG AAG AGT CAG GAG** 295  
 Gln Arg Cys Ala Leu Pro Pro Arg Leu Lys Glu Met Lys Ser Gln Glu  
 85 90 95

**TCT GTG GCA GGT TCC AAA CTA GTG CTT CCG TGC GAG ACC AGT TCT GAA** 343  
 Ser Val Ala Gly Ser Lys Leu Val Leu Arg Cys Glu Thr Ser Ser Glu  
 100 105 110

**TAC TCC TCT CTC AAG TTC AAG TGG TTC AAG AAT GCG AGT GAA TTA AGC** 391  
 Tyr Ser Ser Leu Lys Phe Lys Trp Phe Lys Asn Gly Ser Glu Leu Ser  
 115 120 125

**CGA AAG AAC AAA CCA GAA AAC ATC AAG ATA CAG AAA AGG CCG GGG AAG** 439  
 Arg Lys Asn Lys Gly Gly Asn Ile Lys Ile Gln Lys Arg Pro Gly Lys  
 130 135 140

**TCA GAA CTT CGC ATT AGC AAA GCG TCA CTG GCT GAT TCT GGA GAA TAT** 487  
 Ser Glu Leu Arg Ile Ser Lys Ala Ser Leu Ala Asp Ser Gly Glu Tyr  
 145 150 155 160

**ATG TGC AAA GTG ATC AGC AAA CTA GGA AAT GAC AGT GCC TCT GCC AAC** 535  
 Met Cys Lys Val Ile Ser Lys Leu Gly Asn Asp Ser Ala Ser Ala Asn  
 165 170 175

**ATC ACC ATT GTG GAG TCA AAC GCC ACA TCC ACA TCT ACA GCT GGG ACA** 583  
 Ile Thr Ile Val Glu Ser Asn Ala Thr Ser Thr Ser Thr Ala Gly Thr  
 180 185 190

**AGC CAT CTT GTC AAG TGT GCA GAG AAG GAG AAA ACT TTC TGT GTG AAT** 631  
 Ser His Leu Val Lys Ser Ala Glu Lys Glu Lys Thr Phe Cys Val Asn  
 195 200 205

**GGA GGC GAG TGC TTC ATG GTG AAA GAC CTT TCA AAT CCC TCA AGA TAC** 679  
 Gly Gly Glu Cys Phe Met Val Lys Asp Leu Ser Asn Pro Ser Arg Tyr  
 210 215 220

**TTG TGC AAG TGC CAA CCT GGA TTC ACT GGA GCG AGA TGT ACT GAG AAT** 727  
 Leu Cys Lys Cys Gln Pro Gly Phe Thr Gly Ala Arg Cys Thr Glu Asn  
 225 230 235 240

**GTG CCC ATG AAA GTC CAA ACC CAA GAA AGT GCC CAA ATG AGT TTA CTG 775**  
**Val Pro Met Lys Val Gln Thr Gln Glu Ser Ala Gln Met Ser Leu Leu**  
**245 250 255**

**GTG ATC GCT GCC AAA ACT ACG TAATGGCCAG CTTCTACAGT ACGTCCACTC 826**  
**Val Ile Ala Ala Lys Thr Thr**  
**260**

**CCTTTCTGTC TCTGCCTGAA TAGCGCATCT CAGTCGGTGC CGCTTTCTTG TTGCCGCATC 886**  
**TCCCCTCAGA TTCCTCCTAG AGCTAGATGC GTTTTACCAG GTCTAACATT GACTGCCTCT 946**  
**GCCTGTGCA TGAGAACATT AACACAAGCG ATTGTATGAC TTCCTCTGTC CGTGACTAGT 1006**  
**GGGCTCTGAG CTA CTACTGATAG GTGCGTAAGG CCCCAGTGT TCTGMAATTG ATCTTGAATT 1066**  
**ACTGTGATAC GACATGATAG TCCCTCTCAC CCAGTGCAAT GACAAATAAG GCCTTGAAAA 1126**  
**GTCAAAAAA AAAAAAAA AAAAAATCGA TGTCGACTCG AGATGTGGCT GCAGGTCGAC 1186**  
**TCTAGAG 1193**

## (2) ANGABEN ZU SEQUENZIDENTIFIKATIONSNUMMER 131:

## (i) EIGENSCHAFTEN DER SEQUENZ:

- (A) LÄNGE: 1108
- (B) ART: Nucleinsäure
- (C) STRANGFORM: Einzelstrang
- (D) TOPOLOGIE: linear

## (xi) BESCHREIBUNG DER SEQUENZ: SEQ ID NR: 131:

**CCTGCAG CAT CAA GTG TGG GCG GCG AAA GCC GGG GGC TTG AAG AAG GAC TCG CTG 55**  
**His Gln Val Trp Ala Ala Lys Ala Gly Gly Leu Lys Lys Asp Ser Leu**  
**1 5 10 15**

**CTC ACC GTG CGC CTG GGC GCC TGG GCC CAC CCC GCC TTC CCC TCC TGC 103**  
**Leu Thr Val Arg Leu Gly Ala Trp Gly His Pro Ala Phe Pro Ser Cys**  
**20 25 30**

**GGG CGC CTC AAG GAG GAC AGC AGG TAC ATC TTC TTC ATG GAG CCC GAG 151**  
**Gly Arg Leu Lys Glu Asp Ser Arg Tyr Ile Phe Phe Met Glu Pro Glu**  
**35 40 45**

**GCC AAC AGC AGC GGC GGG CCC GGC CGC CTT CCG AGC CTC CTT CCC CCC 199**  
**Ala Asn Ser Ser Gly Gly Pro Gly Arg Leu Pro Ser Leu Leu Pro Pro**  
**50 55 60**

**TCT CGA GAC GGG CCG GAA CCT CAA GAA GGA GGT CAG CCG GGT GCT GTG 247**  
**Ser Arg Asp Gly Pro Glu Pro Gln Glu Gly Gly Gln Pro Gly Ala Val**  
**65 70 75 80**

**CAA CGG TGC GCC TTG CCT CCC CGC TTG AAA GAG ATG AAG AGT CAG GAG 295**  
**Gln Arg Cys Ala Leu Pro Pro Arg Leu Lys Glu Met Lys Ser Gln Glu**  
**85 90 95**

**TCT GTG GCA GGT TCC AAA CTA GTG CTT CGG TGC GAG ACC AGT TCT GAA 343**  
**Ser Val Ala Gly Ser Lys Leu Val Leu Arg Cys Glu Thr Ser Ser Glu**

100	105	110	
TAC TCC TCT CTC AAG TTC AAG TGG TTC AAG AAT GGG AGT GAA TTA AGC			391
Tyr Ser Ser Leu Lys Phe Lys Trp Phe Lys Asn Gly Ser Glu Leu Ser			
115	120	125	
CGA AAG AAC AAA CCA GAA AAC ATC AAG ATA CAG AAA AGG CCG GGG AAG			439
Arg Lys Asn Lys Pro Glu Asn Ile Lys Ile Gln Lys Arg Pro Pro Lys			
130	135	140	
TCA GAA CTT CGC ATT AGC AAA GCG TCA CTG GCT GAT TCT GGA GAA TAT			487
Ser Glu Leu Arg Ile Ser Lys Ala Ser Leu Ala Asp Ser Gly Glu Tyr			
145	150	155	160
ATG TGC AAA GTG ATC AGC AAA CTA GGA AAT GAC AGT GCC TCT GCC AAC			535
Met Cys Lys Val Ile Ser Lys Leu Gly Asn Asp Ser Ala Ser Ala Asn			
165	170	175	
ATC ACC ATT GTG GAG TCA AAC GCC ACA TCC ACA TCT ACA GCT GCG ACA			583
Ile Arg Ile Val Glu Ser Asn Ala Thr Ser Thr Ser Thr Ala Gly Thr			
180	185	190	
AGC CAT CTT GTC AAG TGT GCA GAG AAG GAG AAA ACT TTC TGT GTG AAT			631
Ser His Leu Val Lys Cys Ala Glu Lys Glu Lys Thr Phe Cys Val Asn			
195	200	205	
CGA GGC GAG TGC TTC ATG GTG AAA GAC CTT TCA AAT CCC TCA AGA TAC			679
Gly Gly Glu Cys Phe Met Val Lys Asp Leu Ser Asn Pro Ser Arg Tyr			
210	215	220	
TTG TGC AAG TGC CCA AAT GAG TTT ACT GGT GAT CGC TGC CAA AAC TAC			727
Leu Cys Lys Cys Pro Asn Glu Phe Thr Gly Asp Arg Cys Gln Asn Tyr			
225	230	235	240
GTA ATG GCC AGC TTC TAC AGT ACG TCC ACT CCC TTT CTG TCT CTG CCT			775
Val Met Ala Ser Phe Tyr Ser Thr Ser Thr Pro Phe Leu Ser Leu Pro			
245	250	255	
GAA TAGCGCATCT CAGTCGGTGC CGCTTCTTG TTCCGCGCATC TCCCCTCAGA TTCGCGCTAG			
838			
Glu			
AGCTAGATGC GTTTTACCAG GTCTAACATT GACTGCCTCT GCCTGTCCGA TGAGAACATT			898
AACACAAGCG ATTGTATGAC TTCCTCTGTC CGTGACTAGT GGGCTCTGAG CTACTCGTAG			958
GTGCGTAAGG CTCCAGTGTT TCTGAAATTG ATCTTGAATT ACTGTGATAC GACATGATAG			1018
TCCCTCTCAC CCAGTGCART GACAATAAAG GCCTTGAAAA GTCMAAAAAA AAAAAAAAAA			1078
AAAAATCGAT GTCGACTCGA GATGTGGCTG			1108

(2) ANGABEN ZU SEQUENZIDENTIFIKATIONSNUMMER 132:

(i) EIGENSCHAFTEN DER SEQUENZ:

- (A) LÄNGE: 559
- (B) ART: Nucleinsäure
- (C) STRANGFORM: Einzelstrang
- (D) TOPOLOGIE: linear

(ix) MERKMALE:

- (D) WEITERE ANGABEN: N in Position 214 ist unbekannt.

(xi) BESCHREIBUNG DER SEQUENZ: SEQ ID NR: 132:

**AGTTTCCCCC CCCAACTTGT CGGAACTCTG GGCTCGCGCG CAGGCCAGGA GCGGAGCGGC**  
60

**GGCGGCTGCC CAGGCGATGC GAGCGCGGGC CGGACGGTAA TCGCCTCTCC CTCCTCGGGC**  
120

**TGCGAGCGCG CCGGACCGAG GCAGCGACAG GAGCGGACCG CGGCGGGAAC CGAGGACTCC**  
180

**CCAGCGGCGC GCCAGCAGGA GCCACCCCGC GAGNCGTGCG ACCCGGACGG AGCGCCCGCC**  
240

**AGTCCCAGGT GGCCCGGACC GCACGTTGCG TCCCCGCGCT CCCCAGCGGC GACAGGAGAC**  
300

**GCTCCCCCCC ACGCGCGCG CGCCTCGGCC CGGTGCTGG CCGCCTCCA CTCGGGGAC**  
360

**AACTTTTCC CGAAGCCGAT CCCAGCCCTC GGACCCAAAC TTGTGCGCG TCGCCTTGGC**  
420

**CGGAGCCGT CCGCGCAGAG CGTGCACTTC TGGGCGAG ATG TCG GAG CGC AGA**  
474

Met Ser Glu Arg Arg  
1 5

**GAA GGC AAA GGC AAG GGG AAG GGC CGC AAG AAG GAC CGA GGC TCC GGG**  
522

Glu Gly Lys Gly Lys Gly Lys Gly Gly Lys Lys Asp Arg Gly Ser Gly  
10 15 20

**AAG AAG CCC GTG CCC GCG GCT GGC GGC CCG AGC CCA G**  
559

Lys Lys Pro Val Pro Ala Ala Gly Gly Pro Ser Pro Ala  
25 30

(2) ANGABEN ZU SEQUENZIDENTIFIKATIONSNUMMER 133:

(i) EIGENSCHAFTEN DER SEQUENZ:

- (A) LÄNGE: 252
- (B) ART: Nucleinsäure
- (C) STRANGFORM: Einzelstrang
- (D) TOPOLOGIE: linear

(ix) MERKMALE:

- (D) WEITERE ANGABEN: N in Position 8 kann entweder A oder G sein.

(xi) BESCHREIBUNG DER SEQUENZ: SEQ ID NR: 133:

**CC CAT CAN GTG TGG GCG GCG AAA GCC GGG GGC TTG AAG AAG GAC TCG**  
**47**  
**His Gln Val Trp Ala Ala Lys Ala Gly Gly Leu Lys Lys Asp Ser**  
**1 5 10 15**

**CTG CTC ACC GTG CGC CTG GGC GCC TGG GGC CAC CCC GCC TTC CCC TCC**  
**95**  
**Leu Leu Thr Val Arg Leu Gly Ala Trp Gly His Pro Ala Phe Pro Ser**  
**20 25 30**

**TGC GGG CGC CTC AAG GAG GAC AGC AGG TAC ATC TTC TTC ATG GAG CCC**  
**143**  
**Cys Gly Arg Leu Lys Glu Asp Ser Arg Tyr Ile Phe Phe Met Glu Pro**  
**35 40 45**

**GAG GCC AAC AGC AGC GGC GGG CCC GGC CGC CTT CCG AGC CTC CTT CCC**  
**191**  
**Glu Ala Asn Ser Ser Gly Gly Pro Gly Arg Leu Pro Ser Leu Leu Pro**  
**50 55 60**

**CCC TCT CGA GAC GGG CCG GAA CCT CAA GAA GGA GGT CAG CCG GGT GCT**  
**239**  
**Pro Ser Arg Asp Gly Pro Glu Pro Gln Glu Gly Gly Gln Pro Gly Ala**  
**65 70 75**

**GTG CAA CGG TGC G**  
**252**  
**Val Gln Arg Cys**  
**80**

## (2) ANGABEN ZU SEQUENZIDENTIFIKATIONSNUMMER 134:

## (i) EIGENSCHAFTEN DER SEQUENZ:

- (A) LÄNGE: 178
- (B) ART: Nucleinsäure
- (C) STRANGFORM: Einzelstrang
- (D) TOPOLOGIE: linear

## (xi) BESCHREIBUNG DER SEQUENZ: SEQ ID NR: 134:

**CCT TGC CTC CCC GCT TGA AAG AGA TGA AGA GTC AGG AGT CTG TGG CAG**  
**48**  
**Leu Pro Pro Arg Leu Lys Glu His Lys Ser Gln Glu Ser Val Ala Gly**  
**1 5 10 15**

**GTT CCA AAC TAG TGC TTC GGT GCG AGA CCA GTT CTG AAT ACT CCT CTC**  
**96**  
**Ser Lys Leu Val Leu Arg Cys Glu Thr Ser Ser Glu Tyr Ser Ser Leu**  
**20 25 30**

**TCA AGT TCA AGT GGT TCA AGA ATG CGA GTG AAT TAA GCC GAA AGA ACA**  
**144**  
**Lys Phe Lys Trp Phe Lys Asn Gly Ser Glu Leu Ser Arg Lys Asn Lys**  
**35 40 45**

**AAC CAC AAA ACA TCA AGA TAC AGA AAA GCC CGG G**  
**178**  
**Pro Gly Asn Ile Lys Ile Gln Lys Arg Pro Gly**

(2) ANGABEN ZU SEQUENZIDENTIFIKATIONSNUMMER 135:

(i) EIGENSCHAFTEN DER SEQUENZ:

- (A) LÄNGE: 122
- (B) ART: Nucleinsäure
- (C) STRANGFORM: Einzelstrang
- (D) TOPOLOGIE: linear

(xi) BESCHREIBUNG DER SEQUENZ: SEQ ID NR: 135:

G AAG TCA GAA CTT CGC ATT AGC AAA GCG TCA CTG GCT GAT TCT GGA  
 46  
 Lys Ser Glu Leu Arg Ile Ser Lys Ala Ser Leu Ala Asp Ser Gly  
 1 5 10 15

GAA TAT ATG TGC AAA GTG ATC AGC AAA CTA GGA AAT GAC AGT GCC TCT  
 94  
 Glu Tyr Met Cys Lys Val Ile Ser Lys Leu Gly Asn Asp Ser Ala Ser  
 20 25 30

GCC AAC ATC ACC ATT GTG GAG TCA AAC G  
 122  
 Ala Asn Ile Thr Ile Val Glu Ser Asn Ala  
 35

(2) ANGABEN ZU SEQUENZIDENTIFIKATIONSNUMMER 136:

(i) EIGENSCHAFTEN DER SEQUENZ:

- (A) LÄNGE: 417
- (B) ART: Nucleinsäure
- (C) STRANGFORM: Einzelstrang
- (D) TOPOLOGIE: linear

(xi) BESCHREIBUNG DER SEQUENZ: SEQ ID NR: 136:

TCTAAACTA CAGAGACTGT ATTTTCATGA TCATCATAGT TCTGTGAAAT ATACTTAAAC  
 60

CGCTTTGGTC CTGATCTTGT AGG AAG TCA GAA CTT CGC ATT AGC AAA GCG  
 110  
 Lys Ser Glu Leu Arg Ile Ser Lys Ala  
 1 5

TCA CTG GCT GAT TCT GGA GAA TAT ATG TGC AAA GTG ATC AGC AAA CTA  
 158  
 Ser Leu Ala Asp Ser Gly Glu Tyr Met Cys Lys Val Ile Ser Lys Leu  
 10 15 20 25

GGA AAT GAC AGT GCC TCT GCC AAC ATC ACC ATT GTG GAG TCA AAC GGT  
 206  
 Gly Asn Asp Ser Ala Ser Ala Asn Ile Thr Ile Val Glu Ser Asn Gly  
 30 35 40

AAG AGA TGC CTA CTG CGT GCT ATT TCT CAG TCT CTA AGA GGA GTG ATC  
 254

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

AAG GTA TGT GGT CAC ACT TGAATCACGC AGGTGTGTGA AATCTCATTG  
302  
Lys Val Cys Gly His Thr  
60

TGAACAAATA AAAATCATGA AAGGAAAACCT CTATGTTTGA AATATCTTAT GGGTCCTCCT  
362

GTAAAGCTCT TCACTCCATA AGGTGAAATA GACCTGAAAT ATATATAGAT TATTT  
417

(2) ANGABEN ZU SEQUENZIDENTIFIKATIONSNUMMER 137:

(i) EIGENSCHAFTEN DER SEQUENZ:

- (A) LÄNGE: 102
- (B) ART: Nucleinsäure
- (C) STRANGFORM: Einzelstrang
- (D) TOPOLOGIE: linear

(xi) BESCHREIBUNG DER SEQUENZ: SEQ ID NR: 137:

AG ATC ACC ACT GGC ATG CCA GCC TCA ACT GAG ACA GCG TAT GTG TCT  
47  
Glu Ile Thr Thr Gly Met Pro Ala Ser Thr Glu Thr Ala Tyr Val Ser  
1 5 10 15

TCA GAG TCT CCC ATT AGA ATA TCA GTA TCA ACA GAA GGA ACA AAT ACT  
95  
Ser Glu Ser Pro Ile Arg Ile Ser Val Ser Thr Glu Gly Thr Asn Thr  
20 25 30

TCT TCA T  
102  
Ser Ser Ser  
35

(2) ANGABEN ZU SEQUENZIDENTIFIKATIONSNUMMER 138:

(i) EIGENSCHAFTEN DER SEQUENZ:

- (A) LÄNGE: 69
- (B) ART: Nucleinsäure
- (C) STRANGFORM: Einzelstrang
- (D) TOPOLOGIE: linear

(xi) BESCHREIBUNG DER SEQUENZ: SEQ ID NR: 138:



**AAG TGC CAA CCT GGA TTC ACT GGA GCG AGA TGT ACT GAG AAT GTG CCC**  
**48**  
**Lys Cys Gln Pro Gly Phe Thr Gly Ala Arg Cys Thr Glu Asn Val Pro**  
**1 5 10 15**

**ATG AAA GTC CAA ACC CAA GAA**  
**69**  
**Met Lys Val Gln Thr Gln Glu**  
**20**

(2) ANGABEN ZU SEQUENZIDENTIFIKATIONSNUMMER 139:

(i) EIGENSCHAFTEN DER SEQUENZ:

- (A) LÄNGE: 60
- (B) ART: Nucleinsäure
- (C) STRANGFORM: Einzelstrang
- (D) TOPOLOGIE: linear

(xi) BESCHREIBUNG DER SEQUENZ: SEQ ID NR: 139:

**AAG TGC CCA AAT GAG TTT ACT GGT GAT GCG TGC CAA AAC TAC GTA ATG**  
**48**  
**Lys Cys Pro Asn Glu Phe Thr Gly Asp Arg Cys Gln Asn Tyr Val Met**  
**1 5 10 15**

**GCC AGC TTC TAC**  
**60**  
**Ala Ser Phe Tyr**  
**20**

(2) ANGABEN ZU SEQUENZIDENTIFIKATIONSNUMMER 140:

(i) EIGENSCHAFTEN DER SEQUENZ:

- (A) LÄNGE: 36
- (B) ART: Nucleinsäure
- (C) STRANGFORM: Einzelstrang
- (D) TOPOLOGIE: linear

(xi) BESCHREIBUNG DER SEQUENZ: SEQ ID NR: 140:

**AGT ACG TCC ACT CCC TTT CTG TCT CTG CCT GAA TAG**  
**36**  
**Ser Thr Ser Thr Pro Phe Leu Ser Leu Pro Glu**  
**1 5 10**

(2) ANGABEN ZU SEQUENZIDENTIFIKATIONSNUMMER 141:

(i) EIGENSCHAFTEN DER SEQUENZ:

- (A) LÄNGE: 27
- (B) ART: Nucleinsäure
- (C) STRANGFORM: Einzelstrang
- (D) TOPOLOGIE: linear

(xi) BESCHREIBUNG DER SEQUENZ: SEQ ID NR: 141

**AAG CAT CTT GGG ATT GAA TTT ATG GAG**  
**27**  
**Lys His Leu Gly Ile Glu Phe Met Glu**  
**1 5**

(2) ANGABEN ZU SEQUENZIDENTIFIKATIONSNUMMER 142:

(i) EIGENSCHAFTEN DER SEQUENZ:

- (A) LÄNGE: 569
- (B) ART: Nucleinsäure
- (C) STRANGFORM: Einzelstrang
- (D) TOPOLOGIE: linear

(xi) BESCHREIBUNG DER SEQUENZ: SEQ ID NR: 142:

AAA GCG GAG GAG CTC TAC CAG AAG AGA GTG CTC ACC ATT ACC GGC ATT  
48  
Lys Ala Glu Glu Leu Tyr Gln Lys Arg Val Leu Thr Ile Thr Gly Ile  
1 5 10 15

TGC ATC GCG CTG CTC GTG GTT GGC ATC ATG TGT GTG GTG GTC TAC TGC  
96  
Cys Ile Ala Leu Leu Val Val Gly Ile Met Cys Val Val Val Tyr Cys  
20 25 30

AAA ACC AAG AAA CAA CGG AAA AAG CTT CAT GAC CGG CTT CGG CAG AGC  
144  
Lys Thr Lys Lys Gln Arg Lys Lys Leu His Asp Arg Leu Arg Gln Ser  
35 40 45

CTT CGG TCT GAA AGA AAC ACC ATG ATG AAC GTA GCC AAC GGG CCC CAC  
192  
Leu Arg Ser Glu Arg Asn Thr Met Met Asn Val Ala Asn Gly Pro His  
50 55 60

CAC CCC AAT CCG CCC CCC GAG AAC GTG CAG CTG GTG AAT CAA TAC GTA  
240  
His Pro Asn Pro Pro Pro Glu Asn Val Gln Leu Val Asn Gln Tyr Val  
65 70 75 80

TCT AAA AAT GTC ATC TCT AGC GAG CAT ATT GTT GAG AGA GAG GCG GAG  
288  
Ser Lys Asn Val Ile Ser Ser Glu His Ile Val Glu Arg Glu Ala Glu  
85 90 95

AGC TCT TTT TCC ACC AGT CAC TAC ACT TCG ACA GCT CAT CAT TCC ACT  
336  
Ser Ser Phe Ser Thr Ser His Tyr Thr Ser Thr Ala His His Ser Thr  
100 105 110

ACT GTC ACT CAG ACT CCC AGT CAC AGC TGG AGC AAT GGA CAC ACT GAA  
384  
Thr Val Thr Gln Thr Pro Ser His Ser Trp Ser Asn Gly His Thr Glu  
115 120 125

AGC ATC ATT TCG GAA AGC CAC TCT GTC ATC GTG ATG TCA TCC GTA GAA  
432  
Ser Ile Ile Ser Glu Ser His Ser Val Ile Val Met Ser Ser Val Glu  
130 135 140

AAC AGT AGG CAC AGC AGC CCG ACT GGG GGC CCG AGA GGA COT CTC AAT  
480  
Asn Ser Arg His Ser Ser Pro Thr Gly Gly Pro Arg Gly Arg Leu Asn  
145 150 155 160

GGC TTG GGA GGC CCT CGT GAA TGT AAC AGC TTC CTC AGG CAT GCC AGA  
528  
Gly Leu Gly Gly Pro Arg Glu Cys Asn Ser Phe Leu Arg His Ala Arg  
165 170 175

GAA ACC CCT GAC TCC TAC CGA GAC TCT CCT CAT AGT G AAAG  
569  
Glu Thr Pro Asp Ser Tyr Arg Asp Ser Pro His Ser  
180 185

## (2) ANGABEN ZU SEQUENZIDENTIFIKATIONSNUMMER 143:

## (i) EIGENSCHAFTEN DER SEQUENZ:

- (A) LÄNGE: 735
- (B) ART: Nucleinsäure
- (C) STRANGFORM: Einzelstrang
- (D) TOPOLOGIE: linear

## (xi) BESCHREIBUNG DER SEQUENZ: SEQ ID NR: 143:

G TAT GTA TCA GCA ATG ACC ACC CCG GCT CGT ATG TCA CCT GTA GAT  
46

Tyr Val Ser Ala Met Thr Thr Pro Ala Arg Met Ser Pro Val Asp  
1 5 10 15

TTC CAC ACG CCA AGC TCC CCC AAG TCA CCC CCT TCG GAA ATG TCC CCG  
94

Phe His Thr Pro Ser Ser Pro Lys Ser Pro Pro Ser Glu Met Ser Pro  
20 25 30

CCC GTG TCC AGC ACG ACG GTC TCC ATG CCC TCC ATG GCG GTC AGT CCC  
142

Pro Val Ser Ser Thr Thr Val Ser Met Pro Ser Met Ala Val Ser Pro  
35 40 45

TTC GTG GAA GAG GAG AGA CCC CTG CTC CTT GTG ACG CCA CCA CCG CTG  
190

Phe Val Glu Glu Glu Arg Pro Leu Leu Leu Val Thr Pro Pro Arg Leu  
50 55 60

CGG GAG AAG TAT GAC CAC CAC GCC CAG CAA TTC AAC TCG TTC CAC TGC  
238

Arg Glu Lys Tyr Asp His His Ala Gln Gln Phe Asn Ser Phe His Cys  
65 70 75

AAC CCC GCG CAT GAG AGC AAC AGC CTG CCC CCC AGC CCC TTG AGG ATA  
286

Asn Pro Ala His Glu Ser Asn Ser Leu Pro Pro Ser Pro Leu Arg Ile  
80 85 90 95

GTG GAG GAT GAG GAA TAT GAA ACG ACC CAG GAG TAC GAA CCA GCT CAA  
334

Val Glu Asp Glu Glu Tyr Glu Thr Thr Gln Glu Tyr Glu Pro Ala Gln  
100 105 110

GAG CCG GTT AAG AAA CTC ACC AAC AGC AGC CCG CCG GCC AAA AGA ACC  
382

Glu Pro Val Lys Lys Leu Thr Asn Ser Ser Arg Arg Ala Lys Arg Thr  
115 120 125

AAG CCC AAT GGT CAC ATT GCC CAC AGG TTG GAA ATG GAC AAC AAC ACA  
430

**Lys Pro Asn Gly His Ile Ala His Arg Leu Glu Met Asp Asn Asn Thr**  
 130 135 140  
**GCC GCT GAC AGC AGT AAC TCA GAG AGC GAA ACA GAG GAT GAA AGA GTA**  
 478  
**Gly Ala Asp Ser Ser Asn Ser Glu Ser Glu Thr Glu Asp Glu Arg Val**  
 145 150 155  
**GGA GAA GAT ACG CCT TTC CTG GCC ATA CAG AAC CCC CTG GCA GCC AGT**  
 526  
**Gly Glu Asp Thr Pro Phe Leu Ala Ile Gln Asn Pro Leu Ala Ala Ser**  
 160 165 170 175  
**CTC GAG GCG GCC CCT GCC TTC CGC CTG GTC GAC AGC AGG ACT AAC CCA**  
 574  
**Leu Glu Ala Ala Pro Ala Phe Arg Leu Val Asp Ser Arg Thr Asn Pro**  
 180 185 190  
**ACA GGC GGC TTC TCT CCG CAG GAA GAA TTG CAG GCC AGG CTC TCC GGT**  
 622  
**Thr Gly Gly Phe Ser Pro Gln Glu Glu Leu Gln Ala Arg Leu Ser Gly**  
 195 200 205  
**GTA ATC GCT AAC CAA GAC CCT ATC GCT GTC TAAAACCGAA ATACACCCAT**  
 672  
**Val Ile Ala Asn Gln Asp Pro Ile Ala Val**  
 210 215  
**AGATTCACCT GTAAACTTT ATTTATATA ATAAAGTATT CCACCTTAA TTAACAA**  
 730

(2) ANGABEN ZU SEQUENZIDENTIFIKATIONSNUMMER 144:

(i) EIGENSCHAFTEN DER SEQUENZ:

- (A) LÄNGE: 1654
- (B) ART: Nucleinsäure
- (C) STRANGFORM: Einzelstrang
- (D) TOPOLOGIE: linear

(xi) BESCHREIBUNG DER SEQUENZ: SEQ ID NR: 144:

**AGTTTCCCCC CCCAACTTGT CGGAACTCTG GGCTCGCGCG CAGGGCAGGA GCGGAGCGGC**  
 60  
**GGCGGCTGCC CAGGCGATGC GAGCGCGGGC CGGACGGTAA TCGCCTCTCC CTCCTCGGGC**  
 120  
**TGCGAGCGCG CCGGACCGAG GCAGCGACAG GAGCGGACCG CCGCGGGAAC CGAGGACTCC**  
 180  
**CCAGCGGCGC GCCAGCAGGA GCCACCCCGC GAGCGTCCGA CCGGGACGGA GCGCCCGCCA**  
 240  
**GTCCAGGTG GCCCGGACCG CACGTTGCGT CCCCGCGCTC CCCGCGGCG ACAGGAGACG**  
 300  
**CTCCCCCCA CGCCGCGCGC GCCTCGGCCC GGTCCGCTGC CGCCTCCAC TCCGGGGACA**  
 360

AACTTTTCCC GAAGCCGATC CCAGCCCTCG GACCCAAACT TGTCGGCGGT CGCCTTCGCC  
420

GGGAGCCGTC CGCGCAGAGC GTGCACTTCT CGGGCCGAG ATG TCG GAG CGC AGA  
475

Met Ser Glu Arg Arg  
1 5

GAA GGC AAA GCC AAG GGG AAG GGC GGC AAG AAG GAC CGA GGC TCC GCG  
523  
Glu Gly Lys Gly Lys Gly Lys Gly Gly Lys Lys Asp Arg Gly Ser Gly  
10 15 20

AAG AAG CCC GTG CCC GCG GCT GGC CGC CCG AGC CCA GCC TTG CCT CCC  
571  
Lys Lys Pro Val Pro Ala Ala Gly Gly Pro Ser Pro Ala Leu Pro Pro  
25 30 35

CGC TTG AAA GAG ATG AAG ATG CAG GAG TCT GTG GCA GGT TCC AAA CTA  
Arg Leu Lys Glu Met Lys Ser Gln Glu Ser Val Ala Gly Ser Lys Leu  
40 45 50

GTG CTT CGG TGC GAG ACC AGT TCT GAA TAC TCC TCT CTC AAG TTC AAG  
667  
Val Leu Arg Cys Glu Thr Ser Ser Glu Tyr Ser Ser Leu Lys Phe Lys  
55 60 65

TGG TTC AAG AAT GGG AGT GAA TTA AGC CGA AAG AAC AAA CCA CAA AAC  
715  
Trp Phe Lys Asn Gly Ser Glu Leu Ser Arg Lys Asn Lys Pro Gln Asn  
70 75 80 85

ATC AAG ATA CAG AAA AGG CCG GGG AAG TCA GAA CTT CGC ATT AGC AAA  
763  
Ile Lys Ile Gln Lys Arg Pro Gly Lys Ser Glu Leu Arg Ile Ser Lys  
90 95 100

GCG TCA CTG GCT GAT TCT GGA GAA TAT ATG TGC AAA GTG ATC AGC AAA  
811  
Ala Ser Leu Ala Asp Ser Gly Glu Tyr Met Cys Lys Val Ile Ser Lys  
105 110 115

CTA GGA AAT GAC AGT GCC TCT GCC AAC ATC ACC ATT GTG GAG TCA AAC  
859  
Leu Gly Asn Asp Ser Ala Ser Ala Asn Ile Thr Ile Val Glu Ser Asn  
120 125 130

GAG ATC ACC ACT GGC ATG CCA GCC TCA ACT GAG ACA GCG TAT GTG TCT  
907  
Glu Ile Thr Thr Gly Met Pro Ala Ser Thr Glu Thr Ala Tyr Val Ser  
135 140 145

TCA GAG TCT CCC ATT AGA ATA TCA GTA TCA ACA GAA GGA ACA AAT ACT  
955  
Ser Glu Ser Pro Ile Arg Ile Ser Val Ser Thr Glu Gly Thr Asn Thr  
150 155 160 165

TCT TCA TCC ACA TCC ACA TCT ACA GCT GGG ACA AGC CAT CTT GTC AAG  
1003  
Ser Ser Ser Thr Ser Thr Ser Thr Ala Gly Thr Ser His Leu Val Lys  
170 175 180

TGT GCA GAG AAG GAG AAA ACT TTC TGT GTG AAT GGA GGC GAG TGC TTC  
 1051  
 Cys Ala Glu Lys Glu Lys Thr Phe Cys Val Asn Gly Gly Glu Cys Phe  
 185 190 195

ATG GTG AAA GAC CTT TCA AAT CCC TCA AGA TAC TTG TGC AAG TGC CCA  
 1099  
 Met Val Lys Asp Leu Ser Asn Pro Ser Arg Tyr Leu Cys Lys Cys Pro  
 200 205 210

AAT GAG TTT ACT GGT GAT CGC TGC CAA AAC TAC GTA ATG GCC AGC TTC  
 1147  
 Asn Glu Phe Thr Gly Asp Arg Cys Gln Asn Tyr Val Met Ala Ser Phe  
 215 220 225

TAC AGT ACG TCC ACT CCC TTT CTG TCT CTG CCT GAA TAGGCGCATG  
 1193  
 Tyr Ser Thr Ser Thr Pro Phe Leu Ser Leu Pro Glu  
 230 235 240

CTCAGTCGGT GCCGCTTTCT TGTGCGCA TCTCCCCTCA GATCAACCT AGAGCTAGAT  
 1253

CGGTTTTACC AGGTCTAACA TTGACTGCCT CTGCCTGTCTG CATGAGAACA TTAACACAAG  
 1313

CGATTGTATG ACTTCCTCTG TCCGTGACTA GTGGGCTCTG AGCTACTCGT AGGTGCGTAA  
 1373

GGCTCCAGTG TTTCTGAAAT TGATCTTGAA TTACTGTGAT ACGACATGAT AGTCCCTCTC  
 1433

ACCCAGTGCA ATGACAATAA AGGCCTTGAA AAGTCTCACT TTTATTGAGA AATAAAAAAT  
 1493

CGTTCCACGG GACAGTCCCT CTTCTTTATA AATGACCCT ATCCTTGAAA AGGAGGTGTG  
 1553

TTAAGTTGTA ACCAGTACAC ACTTGAATG ATGGTAAGTT CGCTTCGGTT CAGAATGTGT  
 1613

TCTTTCTGAC AATAAACAG AATAAAAAA AAAAAAAAAA A  
 1654

(2) ANGABEN ZU SEQUENZIDENTIFIKATIONSNUMMER 145:

(i) EIGENSCHAFTEN DER SEQUENZ:

- (A) LÄNGE: 1140
- (B) ART: Nucleinsäure
- (C) STRANGFORM: Einzelstrang
- (D) TOPOLOGIE: linear

(xi) BESCHREIBUNG DER SEQUENZ: SEQ ID NR: 145:

CAT CAN GTG TGG GCG GCG AAA GCC GGG GGC TTG AAG AAG GAC TCG CTG  
 48  
 His Gln Val Trp Ala Ala Lys Ala Gly Gly Leu Lys Lys Asp Ser Leu  
 1 5 10 15

CTC ACC GTG CGC CTG GGC GCC TGG GGC CAC CCC GCC TTC CCC TCC TGC  
 96  
 Leu Thr Val Arg Leu Gly Ala Trp Gly His Pro Ala Phe Pro Ser Cys  
 20 25 30

GGG CGC CTC AAG GAG GAC AGC AGG TAC ATC TTC TTC ATG GAG CCC GAG  
 144  
 Gly Arg Leu Lys Glu Asp Ser Arg Tyr Ile Phe Phe Met Glu Pro Glu  
 35 40 45

GCC AAC AGC AGC GGC GGG CCC GGC CGC CTT CCG AGC CTC CTT CCC CCC  
 192  
 Ala Asn Ser Ser Gly Gly Pro Gly Arg Leu Pro Ser Leu Leu Pro Pro  
 50 55 60

TCT CGA GAC GGG CCG GAA CCT CAA GAA GGA GGT CAG CCG GGT GCT GTG  
 240  
 Ser Arg Asp Gly Pro Glu Pro Gln Glu Gly Gly Gln Pro Gly Ala Val  
 65 70 75 80

CAA CGG TGC GCC TTG CCT CCC CGC TTG AAA GAG ATG AAG AGT CAG GAG  
 288  
 Gln Arg Cys Ala Leu Pro Pro Arg Leu Lys Glu Met Lys Ser Gln Glu  
 85 90 95

TCT GTG GCA GGT TCC AAA CTA GTG CTT CGG TGC GAG ACC AGT TCT GAA  
 336  
 Ser Val Ala Gly Ser Lys Leu Val Leu Arg Cys Glu Thr Ser Ser Glu  
 100 105 110

TAC TCC TCT CTC AAG TTC AAG TGG TTC AAG AAT GGG AGT GAA TTA AGC  
 384  
 Tyr Ser Ser Leu Lys Phe Lys Trp Phe Lys Asn Gly Ser Glu Leu Ser  
 115 120 125

CGA AAG AAC AAA CCA GAA AAC ATC AAG ATA CAG AAA AGG CCG GGG AAG  
 432  
 Arg Lys Asn Lys Pro Glu Asn Ile Lys Ile Gln Lys Arg Pro Gly Lys  
 130 135 140

TCA GAA CTT CGC ATT AGC AAA GCG TCA CTG GCT GAT TCT GGA GAA TAT  
 480  
 Ser Glu Leu Arg Ile Ser Lys Ala Ser Leu Ala Asp Ser Gly Glu Tyr  
 145 150 155 160

ATG TGC AAA GTG ATC AGC AAA CTA GGA AAT GAC AGT GCC TCT GCC AAC  
 528  
 Met Cys Lys Val Ile Ser Lys Leu Gly Asn Asp Ser Ala Ser Ala Asn  
 165 170 175

ATC ACC ATT GTG GAG TCA AAC GCC ACA TCC ACA TCT ACA GCT GCG ACA  
 576  
 Ile Thr Ile Val Glu Ser Asn Ala Thr Ser Thr Ser Thr Ala Gly Thr  
 180 185 190

AGC CAT CTT GTC AAG TGT GCA GAG AAG CAG AAA ACT TTC TGT GTG AAT  
 624  
 Ser His Leu Val Lys Cys Ala Glu Lys Glu Lys Thr Phe Cys Val Asn  
 195 200 205



**GGA GGC GAG TGC TTC ATG GTG AAA GAC CTT TCA AAT CCC TCA AGA TAC**  
 672  
**Gly Gly Glu Cys Phe Met Val Lys Asp Leu Ser Asn Pro Ser Arg Tyr**  
 210 215 220

**TTG TGC AAG TGC CAA CCT GGA TTC ACT GGA GCG AGA TGT ACT GAG AAT**  
 720  
**Leu Cys Lys Cys Gln Pro Gly Phe Thr Gly Ala Arg Cys Thr Glu Asn**  
 225 230 235 240

**GTG CCC ATG AAA GTC CAA ACC CAA GAA AAG TGC CCA AAT GAG TTT ACT**  
 768  
**Val Pro Met Lys Val Gln Thr Gln Glu Lys Cys Pro Asn Glu Phe Thr**  
 245 250 255

**GGT GAT CGC TGC CAA AAC TAC GTA ATG GCC AGC TTC TAC AGT ACG TCC**  
 816  
**Gly Asp Arg Cys Gln Asn Tyr Val Met Ala Ser Phe Tyr Ser Thr Ser**  
 260 265 270

**ACT CCC TTT CTG TCT CTG CCT GAA TAGCGCATCT CAGTCGGTGC CGCTTCTTG**  
 870  
**Thr Pro Phe Leu Ser Leu Pro Glu**  
 275 280

**TTGCGCATC TCCCCTCAGA TTCNCCTAG AGCTAGATGC GTTTTACCAG GTCTACATT**  
 930

**GACTGCCTCT GCGTTCGCA TGAGAACATT AACACAAGCG ATTGTATGAC TTCCTCTGTC**  
 990

**CGTGACTAGT GGGCTCTGAG CTACTCGTAG GTGCGTAAGG CTCCAGTGTT TCTGAAATG**  
 1050

**ATCTTGAATT ACTGTGATAC GACATGATAG TCCCTCTCAC CCAGTGCAAT GACAATAAAG**  
 1110

**GCCTTGAAAA GTCAAAAAA AAAAAA**  
 1140

- (2) ANGABEN ZU SEQUENZIDENTIFIKATIONSNUMMER 146:
- (i) EIGENSCHAFTEN DER SEQUENZ:
    - (A) LÄNGE: 1764
    - (B) ART: Nucleinsäure
    - (C) STRANGFORM: Einzelstrang
    - (D) TOPOLOGIE: linear
  - (xi) BESCHREIBUNG DER SEQUENZ: SEQ ID NR: 146:

**G AAG TCA GAA CTT CGC ATT AGC AAA GCG TCA CTG GCT GAT TCT GGA GAA**  
 49  
**Lys Ser Glu Leu Arg Ile Ser Lys Ala Ser Leu Ala Asp Ser Gly Glu**  
 1 5 10 15

**TAT ATG TGC AAA GTG ATC AGC AAA CTA GGA AAT GAC AGT GCC TCT GCC**  
 97  
**Tyr Met Cys Lys Val Ile Ser Lys Leu Gly Asn Asp Ser Ala Ser Ala**  
 20 25 30

AAC ATC ACC ATT GTG GAG TCA AAC GCC ACA TCC ACA TCT ACA GCT GGG  
 145  
 Asn Ile Thr Ile Val Glu Ser Asn Ala Thr Ser Thr Ser Thr Ala Gly  
 35 40 45

ACA AGC CAT CTT GTC AAG TGT GCA GAG AAG GAG AAA ACT TTC TGT GTG  
 193  
 Thr Ser His Leu Val Lys Cys Ala Glu Lys Glu Lys Thr Phe Cys Val  
 50 55 60

AAT GGA GGC GAC TGC TTC ATG GTG AAA GAC CTT TCA AAT CCC TCA AGA  
 241  
 Asn Gly Gly Asp Cys Phe Met Val Lys Asp Leu Ser Asn Pro Ser Arg  
 65 70 75 80

TAC TTG TGC AAG TGC CAA CCT GGA TTC ACT GGA GCG AGA TGT ACT GAG  
 289  
 Tyr Leu Cys Lys Cys Gln Pro Gly Phe Thr Gly Ala Arg Cys Thr Glu  
 85 90 95

AAT GTG CCC ATG AAA GTC CAA ACC CAA GAA AAA GCG GAG GAG CTC TAC  
 337  
 Asn Val Pro Met Lys Val Gln Thr Gln Glu Lys Ala Glu Glu Leu Tyr  
 100 105 110

CAG AAG AGA GTG CTC ACC ATT ACC GGC ATT TGC ATC GCG CTG CTC GTG  
 385  
 Gln Lys Arg Val Leu Thr Ile Thr Gly Ile Cys Ile Ala Leu Leu Val  
 115 120 125

GTT GGC ATC ATG TGT GTG GTG GTC TAC TGC AAA ACC AAG AAA CAA CCG  
 433  
 Val Gly Ile Met Cys Val Val Val Tyr Cys Lys Thr Lys Lys Gln Arg  
 130 135 140

AAA AAG CTT CAT GAC CCG CTT CCG CAG AGC CTT CCG TCT GAA AGA AAC  
 481  
 Lys Lys Leu His Asp Arg Leu Arg Gln Ser Leu Arg Ser Glu Arg Asn  
 145 150 155 160

ACC ATG ATG AAC GTA GCC AAC GGG CCC CAC CAC CCC AAT CCG CCC CCC  
 529  
 Thr Met Met Asn Val Ala Asn Gly Pro His His Pro Asn Pro Pro Pro  
 165 170 175

GAG AAC GTG CAG CTG GTG AAT CAA TAC GTA TCT AAA AAT GTC ATC TCT  
 577  
 Glu Asn Val Gln Leu Val Asn Gln Tyr Val Ser Lys Asn Val Ile Ser  
 180 185 190

AGC GAG CAT ATT GTT GAG AGA GAG CCG GAG AGC TCT TTT TCC ACC AGT  
 625  
 Ser Glu His Ile Val Glu Arg Glu Ala Glu Ser Ser Phe Ser Thr Ser  
 195 200 205

CAC TAC ACT TCG ACA GCT CAT CAT TCC ACT ACT GTC ACT CAG ACT CCC  
 673  
 His Tyr Thr Ser Thr Ala His His Ser Thr Thr Val Thr Gln Thr Pro  
 210 215 220

AGT CAC AGC TGG AGC AAT GGA CAC ACT GAA AGC ATC ATT TCG GAA AGC  
 721  
 Ser His Ser Trp Ser Asn Gly His Thr Glu Ser Ile Ile Ser Glu Ser  
 225 230 235 240

CAC TCT GTC ATC GTG ATG TCA TCC GTA GAA AAC AGT AGG CAC AGC AGC  
 769  
 His Ser Val Ile Val Met Ser Ser Val Glu Asn Ser Arg His Ser Ser  
 245 250 255

CCG ACT GGG GGC CCG AGA GGA CGT CTC AAT GGC TTG GGA GGC CCT CGT  
 817  
 Pro Thr Gly Gly Pro Arg Gly Arg Leu Asn Gly Leu Gly Gly Pro Arg  
 260 265 270

GAA TGT AAC AGC TTC CTC AGG CAT GCC AGA GAA ACC CCT GAC TCC TAC  
 865  
 Glu Cys Asn Ser Phe Leu Arg His Ala Arg Glu Thr Pro Asp Ser Tyr  
 275 280 285

CGA GAC TCT CCT CAT AGT GAA AGA CAT AAC CTT ATA GCT GAG CTA AGG  
 913  
 Arg Asp Ser Pro His Ser Glu Arg His Asn Leu Ile Ala Glu Leu Arg  
 290 295 300

AGA AAC AAG GCC CAC AGA TCC AAA TGC ATG CAG ATC CAG CTT TCC GCA  
 961  
 Arg Asn Lys Ala His Arg Ser Lys Cys Met Gln Ile Gln Leu Ser Ala  
 305 310 315 320

ACT CAT CTT AGA GCT TCT TCC ATT CCC CAT TGG GCT TCA TTC TCT AAG  
 1009  
 Thr His Leu Arg Ala Ser Ser Ile Pro His Trp Ala Ser Phe Ser Lys  
 325 330 335

ACC CCT TGG CCT TTA GGA AGG TAT GTA TCA GCA ATG ACC ACC CCG GCT  
 1057  
 Thr Pro Trp Pro Leu Gly Arg Tyr Val Ser Ala Met Thr Thr Pro Ala  
 340 345 350

CGT ATG TCA CCT GTA GAT TTC CAC ACG CCA AGC TCC CCC AAG TCA CCC  
 1105  
 Arg Met Ser Pro Val Asp Phe His Thr Pro Ser Ser Pro Lys Ser Pro  
 355 360 365

CCT TCG GAA ATG TCC CCG CCC GTG TCC AGC ACG ACC GTC TCC ATG CCC  
 1153  
 Pro Ser Glu Met Ser Pro Pro Val Ser Ser Thr Thr Val Ser Met Pro  
 370 375 380

TCC ATG GCG GTC AGT CCC TTC GTG GAA GAG GAG AGA CCC CTG CTC CTT  
 1201  
 Ser Met Ala Val Ser Pro Phe Val Glu Glu Glu Arg Pro Leu Leu Leu  
 385 390 395 400

GTG ACG CCA CCA CCG CTG CCG GAG AAG TAT GAC CAC CAC GCC CAG CAA  
 1249  
 Val Thr Pro Pro Arg Leu Arg Glu Lys Tyr Asp His His Ala Gln Gln  
 405 410 415

**TTC AAC TCG TTC CAC TGC AAC CCC GCG CAT GAG AGC AAC AGC CTG CCC**  
**1297**  
**Phe Asn Ser Phe His Cys Asn Pro Ala His Glu Ser Asn Ser Leu Pro**  
**420 425 430**

**CCC AGC CCC TTG AGG ATA GTG GAG GAT GAG GAA TAT GAA ACG ACC CAG**  
**1345**  
**Pro Ser Pro Leu Arg Ile Val Glu Asp Glu Glu Tyr Glu Thr Thr Gln**  
**435 440 445**

**GAG TAC GAA CCA GCT CAA GAG CCG GTT AAG AAA CTC ACC AAC AGC AGC**  
**1393**  
**Glu Tyr Glu Pro Ala Gln Glu Pro Val Lys Lys Leu Thr Asn Ser Ser**  
**450 455 460**

**CGG CGG GCC AAA AGA ACC AAG CCC AAT GGT CAC ATT GCC CAC AGG TTG**  
**1441**  
**Arg Arg Ala Lys Arg Thr Lys Pro Asn Gly His Ile Ala His Arg Leu**  
**465 470 475 480**

**GAA ATG GAC AAC AAC ACA GGC GCT GAC AGC AGT AAC TCA GAG AGC GAA**  
**1489**  
**Glu Met Asp Asn Asn Thr Gly Ala Asp Ser Ser Asn Ser Glu Ser Glu**  
**485 490 495**

**ACA GAG GAT GAA AGA GTA GGA GAA GAT ACG CCT TTC CTG GCC ATA CAG**  
**1537**  
**Thr Glu Asp Glu Arg Val Gly Glu Asp Thr Pro Phe Leu Ala Ile Gln**  
**500 505 510**

**AAC CCC CTG GCA GCC AGT CTC GAG GCG GCC CCT GCC TTC CGC CTG GTC**  
**1585**  
**Asn Pro Leu Ala Ala Ser Leu Glu Ala Ala Pro Ala Phe Arg Leu Val**  
**515 520 525**

**GAC AGC AGG ACT AAC CCA ACA GGC GGC TTC TCT CCG CAG GAA GAA TTG**  
**1633**  
**Asp Ser Arg Thr Asn Pro Thr Gly Gly Phe Ser Pro Gln Glu Glu Leu**  
**530 535 540**

**CAG GCC AGG CTC TCC GGT GTA ATC GCT AAC CAA GAC CCT ATC GCT GTC**  
**1681**  
**Gln Ala Arg Leu Ser Gly Val Ile Ala Asn Gln Asp Pro Ile Ala Val**  
**545 550 555 560**

**TAAACCGAA ATACACCCAT AGATTCACCT GTAAACTTT ATTTTATATA ATAAAGTATT**  
**1741**

**CCACCTTAAA TTAACA AAA**  
**1764**

- (2) ANGABEN ZU SEQUENZIDENTIFIKATIONSNUMMER 147:
- (i) EIGENSCHAFTEN DER SEQUENZ:
    - (A) LÄNGE: 50
    - (B) ART: Aminosäure
    - (C) STRANGFORM:
    - (D) TOPOLOGIE: linear
  - (xi) BESCHREIBUNG DER SEQUENZ: SEQ ID NR: 147:

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

(2) ANGABEN ZU SEQUENZIDENTIFIKATIONSNUMMER 148:

(i) EIGENSCHAFTEN DER SEQUENZ:

- (A) LÄNGE: 50
- (B) ART: Aminosäure
- (C) STRANGFORM:
- (D) TOPOLOGIE: linear

(xi) BESCHREIBUNG DER SEQUENZ: SEQ ID NR: 148:

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

(2) ANGABEN ZU SEQUENZIDENTIFIKATIONSNUMMER 149:

(i) EIGENSCHAFTEN DER SEQUENZ:

- (A) LÄNGE: 46
- (B) ART: Aminosäure
- (C) STRANGFORM:
- (D) TOPOLOGIE: linear

(xi) BESCHREIBUNG DER SEQUENZ: SEQ ID NR: 149:

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

(2) ANGABEN ZU SEQUENZIDENTIFIKATIONSNUMMER 150:

(i) EIGENSCHAFTEN DER SEQUENZ:

- (A) LÄNGE: 198
- (B) ART: Nucleinsäure
- (C) STRANGFORM: Einzelstrang
- (D) TOPOLOGIE: linear

(xi) BESCHREIBUNG DER SEQUENZ: SEQ ID NR: 150:

```

AGC CAT CTT GTC AAG TGT GCA GAG AAG GAG AAA ACT TTC TGT GTG AAT
 48
Ser His Leu Val Lys Cys Ala Glu Lys Glu Lys Thr Phe Cys Val Asn
 1          5          10
CGA GGC GAG TGC TTC ATG GTG AAA GAC CTT TCA AAT CCC TCA AGA TAC
 96
Gly Gly Glu Cys Phe Met Val Lys Asp Leu Ser Asn Pro Ser Arg Tyr
          20          25          30
TTG TGC AAG TGC CCA AAT GAG TTT ACT GGT GAT CGC TGC CAA AAC TAC
144
Leu Cys Lys Cys Pro Asn Glu Phe Thr Gly Asp Arg Cys Gln Asn Tyr
          35          40          45
GTA ATG GCC AGC TTC TAC AGT ACG TCC ACT CCC TTT CTG TCT CTG CCT
192
Val Met Ala Ser Phe Tyr Ser Thr Ser Thr Pro Phe Leu Ser Leu Pro
 50          55          60
GAA TAG
Glu
65
    
```

(2) ANGABEN ZU SEQUENZIDENTIFIKATIONSNUMMER 151:

(i) EIGENSCHAFTEN DER SEQUENZ:

- (A) LÄNGE: 192
- (B) ART: Nucleinsäure
- (C) STRANGFORM: Einzelstrang
- (D) TOPOLOGIE: linear

(xi) BESCHREIBUNG DER SEQUENZ: SEQ ID NR: 151:

AGC CAT CTT GTC AAG TGT GCA GAG AAG GAG AAA ACT TTC TGT GTG AAT  
 48  
 Ser His Leu Val Lys Cys Ala Glu Lys Glu Lys Thr Phe Cys Val Asn  
 1 5 10 15

GGA GGC GAG TGC TTC ATG GTG AAA GAC CTT TCA AAT CCC TCA AGA TAC  
 96  
 Gly Gly Glu Cys Phe Met Val Lys Asp Leu Ser Asn Pro Ser Arg Tyr  
 20 25 30

TTG TGC AAG TGC CAA CCT GGA TTC ACT GGA GCG AGA TGT ACT GAG AAT  
 144  
 Leu Cys Lys Cys Gln Pro Gly Phe Thr Gly Ala Arg Cys Thr Glu Asn  
 35 40 45

GTG CCC ATG AAA GTC CAA ACC CAA GAA AAA GCG GAG GAG CTC TAC TAA  
 192  
 Val Pro Met Lys Val Gln Thr Gln Glu Lys Ala Glu Glu Leu Tyr  
 50 55 60

(2) ANGABEN ZU SEQUENZIDENTIFIKATIONSNUMMER 152:

(i) EIGENSCHAFTEN DER SEQUENZ:

- (A) LÄNGE: 183
- (B) ART: Nucleinsäure
- (C) STRANGFORM: Einzelstrang
- (D) TOPOLOGIE: linear

(xi) BESCHREIBUNG DER SEQUENZ: SEQ ID NR: 152:

AGC CAT CTT GTC AAG TGT GCA GAG AAG GAG AAA ACT TTC TGT GTG AAT  
 48  
 Ser His Leu Val Lys Cys Ala Glu Lys Glu Lys Thr Phe Cys Val Asn  
 1 5 10 15

GGA GGC GAG TGC TTC ATG GTG AAA GAC CTT TCA AAT CCC TCA AGA TAC  
 96  
 Gly Gly Glu Cys Phe Met Val Lys Asp Leu Ser Asn Pro Ser Arg Tyr  
 20 25 30

TTG TGC AAG TGC CCA AAT GAG TTT ACT GGT GAT CCG TGC CAA AAC TAC  
 144  
 Leu Cys Lys Cys Pro Asn Glu Phe Thr Gly Asp Arg Cys Gln Asn Tyr  
 35 40 45

GTA ATG GCC AGC TTC TAC AAA GCG GAG GAG CTC TAC TAA  
 183  
 Val Met Ala Ser Phe Tyr Lys Ala Glu Glu Leu Tyr  
 50 55 60

(2) ANGABEN ZU SEQUENZIDENTIFIKATIONSNUMMER 153:

(i) EIGENSCHAFTEN DER SEQUENZ:

- (A) LÄNGE: 210
- (B) ART: Nucleinsäure
- (C) STRANGFORM: Einzelstrang

(D) TOPOLOGIE: linear

(xi) BESCHREIBUNG DER SEQUENZ: SEQ ID NR: 153:

**AGC CAT CTT GTC AAG TGT GCA GAG AAG GAG AAA ACT TTC TGT GTG AAT**  
**48**  
**Ser His Leu Val Lys Cys Ala Glu Lys Glu Lys Thr Phe Cys Val Asn**  
**1 5 10 15**

**GGA GGC GAG TGC TTC ATG GTG AAA GAC CTT TCA AAT CCC TCA AGA TAC**  
**96**  
**Gly Gly Glu Cys Phe Met Val Lys Asp Leu Ser Asn Pro Ser Arg Tyr**  
**20 25 30**

**TTG TGC AAG TGC CCA AAT GAG TTT ACT GGT GAT CGC TGC CAA AAC TAC**  
**144**  
**Leu Cys Lys Cys Pro Asn Glu Phe Thr Gly Asp Arg Cys Gln Asn Tyr**  
**35 40 45**

**GTA ATG GCC AGC TTC TAC AAG CAT CTT GGG ATT GAA TTT ATG GAG AAA**  
**192**  
**Val Met Ala Ser Phe Tyr Lys His Leu Gly Ile Glu Phe Met Glu Lys**  
**50 55 60**

**CCG GAG GAG CTC TAC TAA**  
**210**  
**Ala Glu Glu Leu Tyr**  
**65**

(2) ANGABEN ZU SEQUENZIDENTIFIKATIONSNUMMER 154:

(i) EIGENSCHAFTEN DER SEQUENZ:

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

(xi) BESCHREIBUNG DER SEQUENZ: SEQ ID NR: 154:



**AGC CAT CTT GTC AAG TGT GCA GAG AAG GAG AAA ACT TTC TGT GTG AAT**  
**48**  
**Ser His Leu Val Lys Cys Ala Glu Lys Glu Lys Thr Phe Cys Val Asn**  
**1 5 10 15**

**GGA GGC GAG TGC TTC ATG GTG AAA GAC CTT TCA AAT CCC TCA AGA TAC**  
**96**  
**Gly Gly Glu Cys Phe Met Val Lys Asp Leu Ser Asn Pro Ser Arg Tyr**  
**20 25 30**

**TTG TGC AAG TGC CAA CCT GGA TTC ACT GGA GCG AGA TGT ACT GAG AAT**  
**144**  
**Leu Cys Lys Cys Gln Pro Gly Phe Thr Gly Ala Arg Cys Thr Glu Asn**  
**35 40 45**

**GTG CCC ATG AAA GTC CAA ACC CAA GAA AAG TGC CCA AAT GAG TTT ACT**  
**192**  
**Val Pro Met Lys Val Gln Thr Gln Glu Lys Cys Pro Asn Glu Phe Thr**  
**50 55 60**

**GGT GAT CGC TGC CAA AAC TAC GTA ATG GCC ACC TTC TAC AGT ACG TCC**  
**240**  
**Gly Asp Arg Cys Gln Asn Tyr Val Met Ala Ser Phe Tyr Ser Thr Ser**  
**65 70 75 80**

**ACT CCC TTT CTG TCT CTG CCT GAA TAG**  
**267**  
**Thr Pro Phe Leu Ser Leu Pro Glu**  
**85**

- (2) ANGABEN ZU SEQUENZIDENTIFIKATIONSNUMMER 155:
- (i) EIGENSCHAFTEN DER SEQUENZ:
    - (A) LÄNGE: 252
    - (B) ART: Nucleinsäure
    - (C) STRANGFORM: Einzelstrang
    - (D) TOPOLOGIE: linear
  - (xi) BESCHREIBUNG DER SEQUENZ: SEQ ID NR: 155:

**AGC CAT CTT GTC AAG TGT GCA GAG AAG GAG AAA ACT TTC TGT GTG AAT**  
**48**  
**Ser His Leu Val Lys Cys Ala Glu Lys Glu Lys Thr Phe Cys Val Asn**  
**1 5 10 15**

**GGA GGC GAG TGC TTC ATG GTG AAA GAC CTT TCA AAT CCC TCA AGA TAC**  
**96**  
**Gly Gly Glu Cys Phe Met Val Lys Asp Leu Ser Asn Pro Ser Arg Tyr**  
**20 25 30**

**TTG TGC AAG TGC CAA CCT GGA TTC ACT GGA GCG AGA TGT ACT GAG AAT**  
**144**  
**Leu Cys Lys Cys Gln Pro Gly Phe Thr Gly Ala Arg Cys Thr Glu Asn**  
**35 40 45**

**GTG CCC ATG AAA GTC CAA ACC CAA GAA AAG TGC CCA AAT GAG TTT ACT**  
**192**  
**Val Pro Met Lys Val Gln Thr Gln Glu Lys Cys Pro Asn Glu Phe Thr**  
**50 55 60**

**GGT GAT CCC TGC CAA AAC TAC GTA ATG GCC AGC TTC TAC AAA GCG GAG**  
**240**  
**Gly Asp Arg Cys Gln Asn Tyr Val Met Ala Ser Phe Tyr Lys Ala Glu**  
**65 70 75 80**

**GAG CTC TAC TAA**  
**252**  
**Glu Leu Tyr**

## (2) ANGABEN ZU SEQUENZIDENTIFIKATIONSNUMMER 156:

## (i) EIGENSCHAFTEN DER SEQUENZ:

- (A) LÄNGE: 128
- (B) ART: Nucleinsäure
- (C) STRANGFORM: Einzelstrang
- (D) TOPOLOGIE: linear

## (xi) BESCHREIBUNG DER SEQUENZ: SEQ ID NR: 156:

**CC ACA TCC ACA TCT ACA GCT GGG ACA AGC CAT CTT GTC AAG TGT GCA** **47**  
**Thr Ser Thr Ser Thr Ala Gly Thr Ser His Leu Val Lys Cys Ala**  
**1 5 10 15**

**GAG AAG GAG AAA ACT TTC TGT GTG AAT GGA GGC GAG TGC TTC ATG GTG** **95**  
**Glu Lys Glu Lys Thr Phe Cys Val Asn Gly Gly Glu Cys Phe Met Val**  
**20 25 30**

**AAA GAC CTT TCA AAT CCC TCA AGA TAC TTG T GC** **128**  
**Lys Asp Leu Ser Asn Pro Ser Arg Tyr Leu**  
**35 40**

## (2) ANGABEN ZU SEQUENZIDENTIFIKATIONSNUMMER 157:

## (i) EIGENSCHAFTEN DER SEQUENZ:

- (A) LÄNGE: 141
- (B) ART: Nucleinsäure
- (C) STRANGFORM: Einzelstrang

(D) TOPOLOGIE: linear

(xi) BESCHREIBUNG DER SEQUENZ: SEQ ID NR: 157:

**A CAT AAC CTT ATA GCT GAG CTA AGG AGA AAC AAG GCC CAC AGA TCC 46**  
**His Asn Leu Ile Ala Glu Leu Arg Arg Asn Lys Ala His Arg Ser**  
**1 5 10 15**

**AAA TGC ATG CAG ATC CAG CTT TCC GCA ACT CAT CTT AGA GCT TCT TCC 94**  
**Lys Cys Met Gln Ile Gln Leu Ser Ala Thr His Leu Arg Ala Ser Ser**  
**20 25 30**

**ATT CCC CAT TGG GCT TCA TTC TCT AAG ACC CCT TGG CCT TTA GGA AG 141**  
**Ile Pro His Trp Ala Ser Phe Ser Lys Thr Pro Trp Pro Leu Gly Arg**  
**35 40 45**

(2) ANGABEN ZU SEQUENZIDENTIFIKATIONSNUMMER 158:

(i) EIGENSCHAFTEN DER SEQUENZ:

- (A) LÄNGE: 24
- (B) ART: Aminosäure
- (C) STRANGFORM:
- (D) TOPOLOGIE: linear

(ix) MERKMALE:

(D) WEITERE ANGABEN: Xaa in den Positionen 15 und 22 ist unbekannt.

(xi) BESCHREIBUNG DER SEQUENZ: SEQ ID NR: 158:

**Ala Ala Glu Lys Glu Lys Thr Phe Cys Val Asn Gly Gly Glu Xaa Phe**  
**1 5 10 15**

**Met Val Lys Asp Leu Xaa Asn Pro**  
**20**

(2) ANGABEN ZU SEQUENZIDENTIFIKATIONSNUMMER 159:

(i) EIGENSCHAFTEN DER SEQUENZ:

- (A) LÄNGE: 745
- (B) ART: Nucleinsäure
- (C) STRANGFORM: Einzelstrang
- (D) TOPOLOGIE: linear

(xi) BESCHREIBUNG DER SEQUENZ: SEQ ID NR: 159:

**ATG AGA TGG CGA CGC GCC CCG CGC CGC TCC GGG CGT CCC GGC CCC CGG 48**

**Met Arg Trp Arg Arg Ala Pro Arg Arg Ser Gly Arg Pro Gly Pro Arg**  
**1 5 10 15**

GCC CAG CGC CCC GGC TCC GCC GCC CGC TCG TCG CCG CCG CTG CCG CTG  
 96  
 Ala Gln Arg Pro Gly Ser Ala Ala Arg Ser Ser Pro Pro Leu Pro Leu  
 20 25 30

CTG CCA CTA CTG CTG CTG CTG GGG ACC GCG GCC CTG GCG CCG GGG GCG  
 144  
 Leu Pro Leu Leu Leu Leu Leu Gly Thr Ala Ala Leu Ala Pro Gly Ala  
 35 40 45

GCG GCC GGC AAC GAG GCG GCT CCC GCG GGG GCC TCG GTG TGC TAC TCG  
 192  
 Ala Ala Gly Asn Glu Ala Ala Pro Ala Gly Ala Ser Val Cys Tyr Ser  
 50 55 60

TCC CCG CCC AGC GTG GGA TCG GTG CAG GAG CTA GCT CAG CGC GCC GCG  
 240  
 Ser Pro Pro Ser Val Gly Ser Val Gln Glu Leu Ala Gln Arg Ala Ala  
 65 70 75 80

GTG GTG ATC GAG GGA AAG GTG CAC CCG CAG CCG CCG CAG CAG GGG GCA  
 288  
 Val Val Ile Glu Gly Lys Val His Pro Gln Arg Arg Gln Gln Gly Ala  
 85 90 95

CTC GAC AGG AAG GCG GCG GCG GCG GCG GCG GAG GCA GGG CCG TCG GGC  
 336  
 Leu Asp Arg Lys Ala Ala Ala Ala Ala Gly Glu Ala Gly Ala Trp Gly  
 100 105 110

GGC GAT CGC GAG CCG CCA GCC GCG GGC CCA CCG GCG CTG GGG CCG CCC  
 384  
 Gly Asp Arg Glu Pro Pro Ala Ala Gly Pro Arg Ala Leu Gly Pro Pro  
 115 120 125

GCC GAG GAG CCG CTG CTC GCC GCC AAC GGG ACC GTG CCC TCT TGG CCC  
 432  
 Ala Glu Glu Pro Leu Leu Ala Ala Asn Gly Thr Val Pro Ser Trp Pro  
 130 135 140

ACC GCC CCG GTG CCC AGC GCC GGC GAG CCC GGG GAG GAG GCG CCC TAT  
 480  
 Thr Ala Pro Val Pro Ser Ala Gly Glu Pro Gly Glu Glu Ala Pro Tyr  
 145 150 155 160

CTG GTG AAG GTG CAC CAG GTG TGG GCG GTG AAA GCC GGG GGC TTG AAG  
 528  
 Leu Val Lys Val His Gln Val Trp Ala Val Lys Ala Gly Gly Leu Lys  
 165 170 175

AAG GAC TCG CTG CTC ACC GTG CCG CTG GCG ACC TGG GGC CAC CCC GCC  
 576  
 Lys Asp Ser Leu Leu Thr Val Arg Leu Gly Thr Trp Gly His Pro Ala  
 180 185 190

TTC CCC TCC TGC GGG AGG CTC AAG GAG GAC AGC AGG TAC ATC TTC TTC  
 624  
 Phe Pro Ser Cys Gly Arg Leu Lys Glu Asp Ser Arg Tyr Ile Phe Phe  
 195 200 205

**ATG GAG CCC GAC GCC AAC AGC ACC AGC CGC GCG CCG GCC GCC TTC CGA**  
**672**  
**Met Glu Pro Asp Ala Asn Ser Thr Ser Arg Ala Pro Ala Ala Phe Arg**  
**210 215 220**

**GCC TCT TTC CCC CCT CTG GAG ACG GGC CCG AAC CTC AAG AAG GAG GTC**  
**720**  
**Ala Ser Phe Pro Pro Leu Glu Thr Gly Arg Asn Leu Lys Lys Glu Val**  
**225 230 235 240**

**AGC CGG GTG CTG TGC AAG CCG TGC G**  
**745**  
**Ser Arg Val Leu Cys Lys Arg Cys**  
**245**

- (2) ANGABEN ZU SEQUENZIDENTIFIKATIONSNUMMER 160:
- (i) EIGENSCHAFTEN DER SEQUENZ:
    - (A) LÄNGE: 12
    - (B) ART: Aminosäure
    - (C) STRANGFORM:
    - (D) TOPOLOGIE: linear
  - (ix) MERKMALE:
    - (D) WEITERE ANGABEN: Xaa in Position 1 ist unbekannt.
  - (xi) BESCHREIBUNG DER SEQUENZ: SEQ ID NR: 160:

**Xaa Ala Leu Ala Ala Ala Gly Tyr Asp Val Glu Lys**  
**1 5 10**

- (2) ANGABEN ZU SEQUENZIDENTIFIKATIONSNUMMER 161:
- (i) EIGENSCHAFTEN DER SEQUENZ:
    - (A) LÄNGE: 5
    - (B) ART: Aminosäure
    - (C) STRANGFORM:
    - (D) TOPOLOGIE: linear
  - (ix) MERKMALE:
    - (D) WEITERE ANGABEN: Xaa in Position 1 ist unbekannt.
  - (xi) BESCHREIBUNG DER SEQUENZ: SEQ ID NR: 161:

**Xaa Leu Val Leu Arg**  
**1 5**

- (2) ANGABEN ZU SEQUENZIDENTIFIKATIONSNUMMER 162:
- (i) EIGENSCHAFTEN DER SEQUENZ:
    - (A) LÄNGE: 11

- (B) ART: Aminosäure
- (C) STRANGFORM:
- (D) TOPOLOGIE: linear
- (ix) MERKMALE:
  - (D) WEITERE ANGABEN: Xaa in den Positionen 1, 2 und 3 ist unbekannt.
- (xi) BESCHREIBUNG DER SEQUENZ: SEQ ID NR: 162:

**Xaa Xaa Xaa Tyr Pro Gly Gln Ile Thr Ser Asn**  
**1 5 10**

- (2) ANGABEN ZU SEQUENZIDENTIFIKATIONSNUMMER 163:
  - (i) EIGENSCHAFTEN DER SEQUENZ:
    - (A) LÄNGE: 60
    - (B) ART: Nucleinsäure
    - (C) STRANGFORM: Einzelstrang
    - (D) TOPOLOGIE: linear
  - (ix) MERKMALE:
    - (D) WEITERE ANGABEN: N in den Positionen 25 und 36 ist unbekannt.
  - (xi) BESCHREIBUNG DER SEQUENZ: SEQ ID NR: 163:

**ATAGGGAAGG GCGGGGGAAG GGTGNCCTC NGCAGGGCCG GGCTTGCCTC TGGAGCCTCT**  
**60**

- (2) ANGABEN ZU SEQUENZIDENTIFIKATIONSNUMMER 164:
  - (i) EIGENSCHAFTEN DER SEQUENZ:
    - (A) LÄNGE: 18
    - (B) ART: Nucleinsäure
    - (C) STRANGFORM: Einzelstrang
    - (D) TOPOLOGIE: linear
  - (ix) MERKMALE:
    - (D) WEITERE ANGABEN: N in den Positionen 16 ist unbekannt.
  - (xi) BESCHREIBUNG DER SEQUENZ: SEQ ID NR: 164:

**TTTACACATA TATTCNCC**  
**18**

- (2) ANGABEN ZU SEQUENZIDENTIFIKATIONSNUMMER 165:
  - (i) EIGENSCHAFTEN DER SEQUENZ:

- (A) LÄNGE: 21
  - (B) ART: Aminosäure
  - (C) STRANGFORM:
  - (D) TOPOLOGIE: linear
- (xi) BESCHREIBUNG DER SEQUENZ: SEQ ID NR: 165:

**Glu Thr Gln Pro Asp Pro Gly Gln Ile Leu Lys Lys Val Pro Met Val**  
**1 5 10 15**

**Ile Gly Ala Tyr Thr**  
**20**

- (2) ANGABEN ZU SEQUENZIDENTIFIKATIONSNUMMER 166:
- (i) EIGENSCHAFTEN DER SEQUENZ:
    - (A) LÄNGE: 422
    - (B) ART: Aminosäure
    - (C) STRANGFORM:
    - (D) TOPOLOGIE: linear
  - (xi) BESCHREIBUNG DER SEQUENZ: SEQ ID NR: 166:

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



Ala Ser Phe Pro Pro Leu Glu Thr Gly Arg Asn Leu Lys Lys Glu Val  
 225 230 235 240  
 Ser Arg Val Leu Cys Lys Arg Cys Ala Leu Pro Pro Gln Leu Lys Glu  
 245 250 255  
 Met Lys Ser Gln Glu Ser Ala Ala Gly Ser Lys Leu Val Leu Arg Cys  
 260 265 270  
 Glu Thr Ser Ser Glu Tyr Ser Ser Leu Arg Phe Lys Trp Phe Lys Asn  
 275 280 285  
 Gly Asn Glu Leu Asn Arg Lys Asn Lys Pro Gln Asn Ile Lys Ile Gln  
 290 295 300  
 Lys Lys Pro Gly Lys Ser Glu Leu Arg Ile Asn Lys Ala Ser Leu Ala  
 305 310 315 320  
 Asp Ser Gly Glu Tyr Met Cys Lys Val Ile Ser Lys Leu Gly Asn Asp  
 325 330 335  
 Ser Ala Ser Ala Asn Ile Thr Ile Val Glu Ser Asn Ala Thr Ser Thr  
 340 345 350  
 Ser Thr Thr Gly Thr Ser His Leu Val Lys Cys Ala Glu Lys Glu Lys  
 355 360 365  
 Thr Phe Cys Val Asn Gly Gly Glu Cys Phe Met Val Lys Asp Leu Ser  
 370 375 380  
 Asn Pro Ser Arg Tyr Leu Cys Lys Cys Pro Asn Glu Phe Thr Gly Asp  
 385 390 395 400  
 Arg Cys Gln Asn Tyr Val Met Ala Ser Phe Tyr Ser Thr Ser Thr Pro  
 405 410 415  
 Phe Leu Ser Leu Pro Glu  
 420

## (2) ANGABEN ZU SEQUENZIDENTIFIKATIONSNUMMER 167:

## (i) EIGENSCHAFTEN DER SEQUENZ:

- (A) LÄNGE: 69
- (B) ART: Aminosäure
- (C) STRANGFORM:
- (D) TOPOLOGIE: linear

## (xi) BESCHREIBUNG DER SEQUENZ: SEQ ID NR: 167:

Met Ser Glu Arg Lys Glu Gly Arg Gly Lys Gly Lys Gly Lys Lys Lys  
 1 5 10 15  
 Glu Arg Gly Ser Gly Lys Lys Pro Glu Ser Ala Ala Gly Ser Gln Ser  
 20 25 30  
 Pro Arg Glu Ile Ile Thr Gly Met Pro Ala Ser Thr Glu Gly Ala Tyr  
 35 40 45

**Val Ser Ser Glu Ser Pro Ile Arg Ile Ser Val Ser Thr Glu Gly Ala**  
50 55 60

**Asn Thr Ser Ser Ser**  
65

- (2) ANGABEN ZU SEQUENZIDENTIFIKATIONSNUMMER 168:
- (i) EIGENSCHAFTEN DER SEQUENZ:
- (A) LÄNGE: 19
  - (B) ART: Aminosäure
  - (C) STRANGFORM:
  - (D) TOPOLOGIE: linear
- (xi) BESCHREIBUNG DER SEQUENZ: SEQ ID NR: 168:

**Arg Lys Gly Asp Val Pro Gly Pro Arg Val Lys Ser Ser Arg Ser Thr**  
1 5 10 15

**Thr Thr Ala**

- (2) ANGABEN ZU SEQUENZIDENTIFIKATIONSNUMMER 169:
- (i) EIGENSCHAFTEN DER SEQUENZ:
- (A) LÄNGE: 231
  - (B) ART: Nucleinsäure
  - (C) STRANGFORM: Einzelstrang
  - (D) TOPOLOGIE: linear
- (xi) BESCHREIBUNG DER SEQUENZ: SEQ ID NR: 169:

**CGCGAGCGCC TCAGCGCGGC CGCTCGCTCT CCCCCTCGAG GGACAAACTT TTCCCAAACC**  
60

**CGATCCGAGC CCTTGGACCA AACTCGCCTG CGCCGAGAGC CGTCCGCGTA GAGCGCTCCG**  
120

**TCTCCGGCGA GATGTCCGAG CGCAAAGAAG GCAGAGGCCA ACGGAAGGCC AAGAAGAAG**  
180

**AGCGAGGCTC CGGCAAGAAG CCGGAGTCCG CGGCGGGCAG CCAGAGCCCA G**  
231

- (2) ANGABEN ZU SEQUENZIDENTIFIKATIONSNUMMER 170:
- (i) EIGENSCHAFTEN DER SEQUENZ:
- (A) LÄNGE: 178
  - (B) ART: Nucleinsäure
  - (C) STRANGFORM: Einzelstrang
  - (D) TOPOLOGIE: linear

(xi) BESCHREIBUNG DER SEQUENZ: SEQ ID NR: 170:

**CCTTGCCCTCC CCGATTGAAA GAGATGAAAA GCCAGGAATC GGCTGCAGGT TCCAAACTAG**  
60

**TCCTTCGGTG TGAACCAGT TCTGAATACT CCTCTCTCAG ATTCAAGTGG TTCAGAATG**  
120

**GGAATGAATT GAATCGAAA AACAAACCAC AAAATATCAA GATACAAAA AAGCCAGG**  
178

(2) ANGABEN ZU SEQUENZIDENTIFIKATIONSNUMMER 171:

(i) EIGENSCHAFTEN DER SEQUENZ:

- (A) LÄNGE: 122
- (B) ART: Nucleinsäure
- (C) STRANGFORM: Einzelstrang
- (D) TOPOLOGIE: linear

(xi) BESCHREIBUNG DER SEQUENZ: SEQ ID NR: 171:

**GAAGTCAGAA CTTCCGATTA ACAAGCATC ACTGGCTGAT TCTGGAGAGT ATATGTGCAA**  
60

**AGTGATCAGC AAATTAGGAA ATGACAGTGC CTCTGCCAAT ATCACCATCG TGGAAATCAA**  
120

**CG**  
122

(2) ANGABEN ZU SEQUENZIDENTIFIKATIONSNUMMER 172:

(i) EIGENSCHAFTEN DER SEQUENZ:

- (A) LÄNGE: 102
- (B) ART: Nucleinsäure
- (C) STRANGFORM: Einzelstrang
- (D) TOPOLOGIE: linear

(xi) BESCHREIBUNG DER SEQUENZ: SEQ ID NR: 172:

**AGATCATCAC TGGTATGCCA GCCTCAACTG AAGGAGCATA TGTGTCTTCA GAGTCTCCCA**  
60

**TTAGAATATC AGTATCCACA GAAGGAGCAA ATACTTCTTC AT**  
102

(2) ANGABEN ZU SEQUENZIDENTIFIKATIONSNUMMER 173:

(i) EIGENSCHAFTEN DER SEQUENZ:

- (A) LÄNGE: 128
- (B) ART: Nucleinsäure

- (C) STRANGFORM: Einzelstrang
- (D) TOPOLOGIE: linear
- (xi) BESCHREIBUNG DER SEQUENZ: SEQ ID NR: 173:

**CTACATCTAC ATCCACCACT GGGACAAGCC ATCTTGTAAT ATGTGCGGAG AAGGAGAAAA**  
60

**CTTCTGTGT GAATGGAGGG GAGTGCTTCA TGGTGAAGA CCTTCAAAC CCCTCGAGAT**  
120

**ACTTGTGC**  
128

- (2) ANGABEN ZU SEQUENZIDENTIFIKATIONSNUMMER 174:
  - (i) EIGENSCHAFTEN DER SEQUENZ:
    - (A) LÄNGE: 69
    - (B) ART: Nucleinsäure
    - (C) STRANGFORM: Einzelstrang
    - (D) TOPOLOGIE: linear
  - (xi) BESCHREIBUNG DER SEQUENZ: SEQ ID NR: 174:

**AAGTGCCAAC CTGGATTCAC TGGAGCAAGA TGTACTGAGA ATGTGCCCAT GAAAGTCCAA**  
60

**AACCAAGAA**  
69

- (2) ANGABEN ZU SEQUENZIDENTIFIKATIONSNUMMER 175:
  - (i) EIGENSCHAFTEN DER SEQUENZ:
    - (A) LÄNGE: 60
    - (B) ART: Nucleinsäure
    - (C) STRANGFORM: Einzelstrang
    - (D) TOPOLOGIE: linear
  - (xi) BESCHREIBUNG DER SEQUENZ: SEQ ID NR: 175:

**AAGTGCCCAA ATGAGTTTAC TGGTGATCGC TGCCAAAAC TACGTAATGGC CAGCTTCTAC**  
60

- (2) ANGABEN ZU SEQUENZIDENTIFIKATIONSNUMMER 176:
  - (i) EIGENSCHAFTEN DER SEQUENZ:
    - (A) LÄNGE: 36
    - (B) ART: Nucleinsäure
    - (C) STRANGFORM: Einzelstrang

(D) TOPOLOGIE: linear

(xi) BESCHREIBUNG DER SEQUENZ: SEQ ID NR: 176:

**AGTAGTCCA CTCCTTTCT GTCTCTGCCT GAATAG**  
36

(2) ANGABEN ZU SEQUENZIDENTIFIKATIONSNUMMER 177:

(i) EIGENSCHAFTEN DER SEQUENZ:

(A) LÄNGE: 569

(B) ART: Nucleinsäure

(C) STRANGFORM: Einzelstrang

(D) TOPOLOGIE: linear

(xi) BESCHREIBUNG DER SEQUENZ: SEQ ID NR: 177:

**AAGCGGAGG AGCTGTACCA GAAGAGAGTG CTGACCATAA CCGGCATCTG CATCGCCCTC**  
60

**CTTGTGGTCG GCATCATGTG TGTGGTGGCC TACTGCAAAA CCAAGAAACA GCGGAAAAG**  
120

**CTGCATGACC GTCTTCGGCA GAGCCTTCGG TCTGAACGAA ACAATATGAT GAACATTGCC**  
180

**AATGGGCCCTC ACCATCCTAA CCCACCCCCC GAGAAATGTC AGCTGGTGAA TCAATACGTA**  
240

**TCTAAAACG TCATCTCCAG TGAGCATATT GTTGAGAGAG AAGCAGAGAC ATCCTTTTCC**  
300

**ACCAGTCACT ATACTTCCAC AGCCCATCAC TCCACTACTG TCACCCAGAC TCCTAGCCAC**  
360

**AGCTGGAGCA ACGGACACAC TGAAGCATC CTTTCCGAAA GCCACTCTGT AATCGTGATG**  
420

**TCATCOGTAG AAAACAGTAG GCACAGCAGC CCAACTGGCG GCCCAAGAGG ACGTCTTAAT**  
480

**GCCACAGGAG GCCCTCGTGA ATGTAACAGC TTCCTCAGGC ATGCCAGAGA AACCCCTGAT**  
540

**TCCTACCGAG ACTCTCCTCA TAGTGAAG**  
569

(2) ANGABEN ZU SEQUENZIDENTIFIKATIONSNUMMER 178:

(i) EIGENSCHAFTEN DER SEQUENZ:

(A) LÄNGE: 730

(B) ART: Nucleinsäure

(C) STRANGFORM: Einzelstrang

(D) TOPOLOGIE: linear

(xi) BESCHREIBUNG DER SEQUENZ: SEQ ID NR: 178:

**GTATGTGTCA GCCATGACCA CCCC GGCTCG TATGTCACCT GTAGATTTCC ACACGCCAAG**  
60

**CTCCCCCAA TCGCCCCCTT CGGAAATGTC TCCACCCGTG TCCAGCATGA CGGTGTCCAT**  
120

**GCCTTCCATG GCGGTCAGCC CCTTCATGGA AGAAGAGAGA CCTCTACTTC TCGTGACACC**  
180

**ACCAAGGCTG CGGGAGAAGA AGTTTGACCA TCACCCTCAG CAGTTCAGCT CCTTCCACCA**  
240

**CAACCCCGCG CATGACAGTA ACAGCCTCCC TGCTAGCCCC TTGAGGATAG TGGAGGATGA**  
300

**GGAGTATGAA ACGACCCAAG AGTACGAGCC AGCCCAAGAG CCTGTTAAGA AACTCGCCAA**  
360

**TAGCCGGCGG GCCAAAAGAA CCAAGCCCAA TGGCCACATT GCTAACAGAT TGGAACTGGA**  
420

**CAGCAACACA AGCTCCCAGA GCAGTAACTC AGAGAGTGAA ACAGAAGATG AAAGAGTAGG**  
480

**TGAAGATACG CCTTTCCTGG GCATACAGAA CCCCCTGGCA GCCAGTCTTG AGGCAACACC**  
540

**TGCCTTCCGC CTGGCTGACA GCAGGACTAA CCCAGCAGGC CGCTTCTCGA CACAGGAAGA**  
600

**AATCCAGGCC AGGCTGTCTA GTGTAATTGC TAACCAAGAC CCTATTGCTG TATAAACCT**  
660

**AAATAACAC ATAGATTCAC CTGTAAACT TTATTTTATA TAATAAAGTA TTCCACCTTA**  
720

**AATTAACAA**  
730

(2) ANGABEN ZU SEQUENZIDENTIFIKATIONSNUMMER 179:

(i) EIGENSCHAFTEN DER SEQUENZ:

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

(xi) BESCHREIBUNG DER SEQUENZ: SEQ ID NR: 179:

**TCGGGCTCCA TGAAGAAGAT GTA**  
23

(2) ANGABEN ZU SEQUENZIDENTIFIKATIONSNUMMER 180:

(i) EIGENSCHAFTEN DER SEQUENZ:

- (A) LÄNGE: 23
  - (B) ART: Nucleinsäure
  - (C) STRANGFORM: Einzelstrang
  - (D) TOPOLOGIE: linear
- (xi) BESCHREIBUNG DER SEQUENZ: SEQ ID NR: 180:

**TCCATGAAGA AGATGTACCT GCT**  
**23**

- (2) ANGABEN ZU SEQUENZIDENTIFIKATIONSNUMMER 181:
- (i) EIGENSCHAFTEN DER SEQUENZ:
    - (A) LÄNGE: 22
    - (B) ART: Nucleinsäure
    - (C) STRANGFORM: Einzelstrang
    - (D) TOPOLOGIE: linear
- (xi) BESCHREIBUNG DER SEQUENZ: SEQ ID NR: 181:

**ATGTACCTGC TGTCCTCCTT GA**  
**22**

- (2) ANGABEN ZU SEQUENZIDENTIFIKATIONSNUMMER 182:
- (i) EIGENSCHAFTEN DER SEQUENZ:
    - (A) LÄNGE: 22
    - (B) ART: Nucleinsäure
    - (C) STRANGFORM: Einzelstrang
    - (D) TOPOLOGIE: linear
- (xi) BESCHREIBUNG DER SEQUENZ: SEQ ID NR: 182:

**TTGAAGAAGG ACTCGCTGCT CA**  
**22**

- (2) ANGABEN ZU SEQUENZIDENTIFIKATIONSNUMMER 183:
- (i) EIGENSCHAFTEN DER SEQUENZ:
    - (A) LÄNGE: 20
    - (B) ART: Nucleinsäure
    - (C) STRANGFORM: Einzelstrang
    - (D) TOPOLOGIE: linear
- (xi) BESCHREIBUNG DER SEQUENZ: SEQ ID NR: 183:

**AAAGCCGGGG GCTTGAAGAA**  
**20**

- (2) ANGABEN ZU SEQUENZIDENTIFIKATIONSNUMMER 184:
- (i) EIGENSCHAFTEN DER SEQUENZ:
    - (A) LÄNGE: 20
    - (B) ART: Nucleinsäure
    - (C) STRANGFORM: Einzelstrang
    - (D) TOPOLOGIE: linear
  - (xi) BESCHREIBUNG DER SEQUENZ: SEQ ID NR: 184:

**ATGARGTGTC GGCGGCGAAA**  
**20**

- (2) ANGABEN ZU SEQUENZIDENTIFIKATIONSNUMMER 185:
- (i) EIGENSCHAFTEN DER SEQUENZ:
    - (A) LÄNGE: 422
    - (B) ART: Aminosäure
    - (C) STRANGFORM:
    - (D) TOPOLOGIE: linear
  - (xi) BESCHREIBUNG DER SEQUENZ: SEQ ID NR: 185:



Met Arg Trp Arg Arg Ala Pro Arg Arg Ser Gly Arg Pro Gly Pro Arg  
 1 5 10 15  
 Ala Gln Arg Pro Gly Ser Ala Ala Arg Ser Ser Pro Pro Leu Pro Leu  
 20 25 30  
 Leu Pro Leu Leu Leu Leu Leu Gly Thr Ala Ala Leu Ala Pro Gly Ala  
 35 40 45  
 Ala Ala Gly Asn Glu Ala Ala Pro Ala Gly Ala Ser Val Cys Tyr Ser  
 50 55 60  
 Ser Pro Pro Ser Val Gly Ser Val Gln Glu Leu Ala Gln Arg Ala Ala  
 65 70 75 80  
 Val Val Ile Glu Gly Lys Val His Pro Gln Arg Arg Gln Gln Gly Ala  
 85 90 95  
 Leu Asp Arg Lys Ala Ala Ala Ala Ala Gly Glu Ala Gly Ala Trp Gly  
 100 105 110  
 Gly Asp Arg Glu Pro Pro Ala Ala Gly Pro Arg Ala Leu Gly Pro Pro  
 115 120 125  
 Ala Glu Glu Pro Leu Leu Ala Ala Asn Gly Thr Val Pro Ser Trp Pro  
 130 135 140  
 Thr Ala Pro Val Pro Ser Ala Gly Glu Pro Gly Glu Glu Ala Pro Tyr  
 145 150 155 160  
 Leu Val Lys Val His Gln Val Trp Ala Val Lys Ala Gly Gly Leu Lys  
 165 170 175  
 Lys Asp Ser Leu Leu Thr Val Arg Leu Gly Thr Trp Gly His Pro Ala  
 180 185 190  
 Phe Pro Ser Cys Gly Arg Leu Lys Glu Asp Ser Arg Tyr Ile Phe Phe  
 195 200 205  
 Met Glu Pro Asp Ala Asn Ser Thr Ser Arg Ala Pro Ala Ala Phe Arg  
 210 215 220  
 Ala Ser Phe Pro Pro Leu Glu Thr Gly Arg Asn Leu Lys Lys Glu Val  
 225 230 235 240  
 Ser Arg Val Leu Cys Lys Arg Cys Ala Leu Pro Pro Gln Leu Lys Glu  
 245 250 255  
 Met Lys Ser Gln Glu Ser Ala Ala Gly Ser Lys Leu Val Leu Arg Cys  
 260 265 270  
 Glu Thr Ser Ser Glu Tyr Ser Ser Leu Arg Phe Lys Trp Phe Lys Asn  
 275 280 285  
 Gly Asn Glu Leu Asn Arg Lys Asn Lys Pro Gln Asn Ile Lys Ile Gln  
 290 295 300

**Lys Lys Pro Gly Lys Ser Glu Leu Arg Ile Asn Lys Ala Ser Leu Ala**  
**305 310 315 320**

**Asp Ser Gly Glu Tyr Met Cys Lys Val Ile Ser Lys Leu Gly Asn Asp**  
**325 330 335**

**Ser Ala Ser Ala Asn Ile Thr Ile Val Glu Ser Asn Ala Thr Ser Thr**  
**340 345 350**

**Ser Thr Thr Gly Thr Ser His Leu Val Lys Cys Ala Glu Lys Glu Lys**  
**355 360 365**

**Thr Phe Cys Val Asn Gly Gly Glu Cys Phe Met Val Lys Asp Leu Ser**  
**370 375 380**

**Asn Pro Ser Arg Tyr Leu Cys Lys Cys Pro Asn Glu Phe Thr Gly Asp**  
**385 390 395 400**

**Arg Cys Gln Asn Tyr Val Met Ala Ser Phe Tyr Ser Thr Ser Thr Pro**  
**405 410 415**

**Phe Leu Ser Leu Pro Glu**  
**420**

### Patentansprüche

1. Verwendung eines Polypeptids für die Herstellung eines Medikaments zur Behandlung oder Prophylaxe einer Erkrankung oder Fehlfunktion der Muskulatur durch Erhöhen von Mitogenese, Wachstum, Differenzierung oder Überleben einer Muskelzelle, wobei das genannte Polypeptid oder die genannte Verbindung Rezeptoren bindet oder zweite Messenger-Systeme der genannten Muskelzelle aktiviert und wobei das genannte Polypeptid oder die genannte Verbindung ausgewählt ist aus der Gruppe bestehend aus:

- a) einem Polypeptid, umfassend die E-Sequenz, die durch die Nukleinsäuresequenz gemäß SEQ ID Nr: 133 oder 159 codiert ist;
- b) einem Polypeptid, umfassend die F-Sequenz, die durch die Nukleinsäuresequenz gemäß SEQ ID Nr. 132 codiert wird;
- c) einem Polypeptid, das durch die Formel YBAZCX definiert wird, wobei YBAZCX aus den in **Fig. 30** gezeigten Polypeptidsegmenten besteht (SEQ ID Nrn. 132–143, 156, 157, 159); wobei Y das Polypeptidsegment E umfasst oder fehlt; wobei Z das Polypeptidsegment G umfasst oder fehlt; und wobei X die Polypeptidsegmente C/D HKL, C/D H, C/D HL, C/D D, C/D' HL, C/D' HKL, C/D' H, C/D' D, C/D C/D' HKL, C/D C/D' H, C/D C/D' HL, C/D C/D' D, C/D D' H, C/D D' HL, C/D D' HKL, C/D' D' H, C/D' D' HL, C/D' D' HKL, C/D C/D' D' H, C/D C/D' D' HL oder C/D C/D' D' HKL umfasst;
- d) einem Polypeptid, das durch die Formel WBAZCX definiert wird, wobei WBAZCX aus den in **Fig. 30** gezeigten Polypeptidsegmenten besteht (SEQ IN Nrn. 132–143, 156, 157, 159); wobei W das Polypeptidsegment F umfasst oder fehlt; wobei Z das Polypeptidsegment G umfasst oder fehlt; und wobei X die Polypeptidsegmente C/D HKL, C/D H, C/D HL, C/D D, C/D' HL, C/D' HKL, C/D' H, C/D' D, C/D C/D' HKL, C/D C/D' H, C/D C/D' HL, C/D C/D' D, C/D D' H, C/D D' HL, C/D D' HKL, C/D' D' H, C/D' D' HL, C/D' D' HKL, C/D C/D' D' H, C/D C/D' D' HL oder C/D C/D' D' HKL umfasst;
- e) einem Polypeptidsegment, das spezifisch den p185<sup>erbB2</sup> Rezeptor von Muskelzellen bindet und zweite Messenger-Systeme der genannten Muskelzellen aktiviert;
- f) einem Polypeptid, umfassend eine epidermale Wachstumsfaktor-ähnliche (EGF-ähnliche) Domäne, wobei die genannte epidermale Wachstumsfaktordomäne eine Aminosäuresequenz umfasst, die durch die Nukleinsäuresequenz codiert wird, die ausgewählt wird aus der Gruppe bestehend aus:
  - i) SEQ ID Nr: 150 (EGFL1);
  - ii) SEQ ID Nr: 151 (EGFL2);
  - iii) SEQ ID Nr: 152 (EGFL3);
  - iv) SEQ ID Nr: 153 (EGFL4);
  - v) SEQ ID Nr: 154 (EGFL5); und
  - vi) SEQ ID Nr: 155 (EGFL6);
- g) einem Polypeptid, ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus:
  - i) einem 35 kD Polypeptidfaktor, der von der transformierten I-EJ-Ratten-Fibroblast-Zelllinie isoliert wurde;
  - ii) einem 75 kD Polypeptidfaktor, der von der humanen SKBR-3 Brustzelllinie isoliert wurde;
  - iii) einem 44kD Polypeptidfaktor, der von der transformierten I-EJ-Ratten-Fibroblast-Zelllinie isoliert wurde;
  - iv) einem 45 kD Polypeptidfaktor, der von der humanen MDA - MB 231 Brustzelllinie isoliert wurde

- v) einem 7 bis 14 kD Polypeptidfaktor, der von der humanen ATL-2 T-Zelllinie isoliert wurde;
- vi) einem 25 kD Polypeptidfaktor, der von aktivierten peritonealen Mausemakrophagen isoliert wurde;
- vii) einem 25 kD Polypeptidfaktor, der von Rinderniere isoliert wurde;
- viii) ARIA-Polypeptid; und
- ix) einem 46 bis 47 kD Polypeptidfaktor, der 0–2A Progenitor-Gliazellen stimuliert; und
- h) einem Polypeptid, das GGFIII umfasst.

2. Verwendung nach Anspruch 1, wobei das genannte Polypeptid die E-Sequenz umfasst, die durch die Nukleinsäuresequenz gemäß SEQ ID Nr: 133 oder 159 codiert wird.

3. Verwendung nach 1, wobei das genannte Polypeptid die F-Sequenz umfasst, die durch die Nukleinsäuresequenz gemäß SEQ ID Nr: 132 codiert wird.

4. Verwendung nach Anspruch 1, wobei das genannte Polypeptid ein Polypeptid umfasst, das die Formel XBAZCX definiert wird, wobei YBAZCX aus den in **Fig. 30** gezeigten Polypeptidsegmenten besteht (SEQ ID Nrn. 132–143, 156, 157, 159); wobei Y das Polypeptidsegment E umfasst oder fehlt; wobei Z das Polypeptidsegment G umfasst oder fehlt; und wobei X die Polypeptidsegmente C/D HKL, C/D H, C/D HL, C/D D, C/D' HL, C/D' HKL, C/D' H, C/D' D, C/D C/D' HKL, C/D C/D' H, C/D C/D' HL, C/D C/D' D, C/D D' H, C/D D' HL, C/D D' HKL, C/D' D' H, C/D' D' HL, C/D' D' HKL, C/D C/D' D' H, C/D C/D' D' HL oder C/D C/D' D' HKL umfasst.

5. Verwendung nach Anspruch 1, wobei das genannte Polypeptid ein Polypeptid umfasst, das durch die Formel WBAZCX definiert wird, wobei WBAZCX aus den in **Fig. 30** gezeigten Polypeptidsegmenten besteht (SEQ ID Nrn. 132–143, 156, 157, 159); wobei W das Polypeptidsegment F umfasst oder fehlt; wobei Z Polypeptidsegment G umfasst oder fehlt und wobei X die Polypeptidsegmente C/D HKL, C/D H, C/D HL, C/D D, C/D' HL, C/D' HKL, C/D' H, C/D' D, C/D C/D' HKL, C/D C/D' H, C/D C/D' HL, C/D C/D' D, C/D D' H, C/D D' HL, C/D D' HKL, C/D' D' H, C/D' D' HL, C/D' D' HKL, C/D C/D' D' H, C/D C/D' D' HL oder C/D C/D' D' HKL umfasst.

6. Verwendung nach Anspruch 1, wobei das genannte Polypeptid ein Polypeptid umfasst, das spezifisch den p185<sup>erbB2</sup> Rezeptor von Muskelzellen bindet und zweite Messenger-Systeme von Muskelzellen aktiviert.

7. Verwendung nach Anspruch 1, wobei das genannte Polypeptid eine epidermale Wachstumsfaktor-ähnliche (EGF-ähnliche) Domäne umfasst, wobei die genannte epidermale Wachstumsfaktordomäne eine Aminosäuresequenz umfasst, die durch die Nukleinsäuresequenz codiert wird, die ausgewählt ist aus der Gruppe bestehend aus:

- i) SEQ ID Nr: 150 (EGFL1);
- ii) SEQ ID Nr: 151 (EGFL2);
- iii) SEQ ID Nr: 152 (EGFL3);
- iv) SEQ ID Nr: 153 (EGFL4);
- v) SEQ ID Nr: 154 (EGFL5); und
- vi) SEQ ID Nr: 155 (EGFL6);

8. Verwendung nach Anspruch 1, wobei das genannte Polypeptid ein Polypeptid umfasst, das ausgewählt ist aus der Gruppe bestehend aus:

- i) einem 35 kD Polypeptidfaktor, der von der transformierten I-EJ-Fibroblast-Zelllinie isoliert wurde;
- ii) einem 75 kD Polypeptidfaktor, der von der humanen SKBR-3 Brustzelllinie isoliert wurde;
- iii) einem 44 kD Polypeptidfaktor, der von der transformierten I-EJ-Ratten-Fibroblast-Zelllinie isoliert wurde;
- iv) einem 45 kD Polypeptidfaktor, der von der humanen MDA - MB 231 Brustzelllinie isoliert wurde;
- v) einem 7 bis 14 kD Polypeptidfaktor, der von der humanen ATL-2 T-Zelllinie isoliert wurde;
- vi) einem 25 kD Polypeptidfaktor, der von aktivierten peritonealen Mausemakrophagen isoliert wurde;
- vii) einem 25 kD Polypeptidfaktor, der von Rinderniere isoliert wurde;
- viii) ARIA-Polypeptid; und
- ix) einem 46 bis 47 kD Polypeptidfaktor, der 0–2A Progenitor-Gliazellen stimuliert.

9. Verwendung nach Anspruch 1, wobei das genannte Polypeptid GGFIII umfasst.

10. Verwendung nach Anspruch 1, wobei das genannte Polypeptid die E-Sequenz umfasst, die SEQ ID Nr: 185 umfasst.

11. Verwendung nach Anspruch 1, wobei das genannte, die E-Sequenz umfassende Polypeptid auch we-

nigstens einen Teil des Peptids umfasst, das durch die DNA-Sequenzen 5' und 3' zur E-codierenden Sequenz auf Klon pGGF2HBS5 wird, hinterlegt bei der A.T.C.C. am 6. November 1992 (A.T.C.C.-Hinterlegungsnummer 75347).

12. Verwendung des genannten Polypeptids, umfassend die E-Sequenz nach Anspruch 1 oder 2, wobei 50 N-terminale Aminosäuren von dem genannten Peptid abgespalten werden, das die genannte E-Sequenz umfasst.

13. Verwendung nach Anspruch 1, wobei das genannte, die F-Sequenz umfassende Polypeptid die Polypeptidsegmente FBA mit den in **Fig. 30** gezeigten Aminosäuresequenzen (SEQ ID Nrn. 132, 134, 135), die Polypeptidsegmente FBA' mit den in **Fig. 30** gezeigten Aminosäuresequenzen (SEQ ID Nrn. 132, 134, 136), die Polypeptidsegmente FEBA mit den in **Fig. 30** gezeigten Aminosäuresequenzen (SEQ ID Nrn. 132, 135, 159) oder die Polypeptidsegmente FEBA' mit den Aminosäuresequenzen umfasst, die den in **Fig. 30** gezeigten Polypeptidsegmenten entsprechen (SEQ ID Nrn. 132–134, 136, 159).

14. Verwendung nach Anspruch 2, wobei das genannte Polypeptid rekombinantes humanes GGF2 ist.

15. Verwendung nach einem der Ansprüche 1 bis 5 oder 7 bis 14, wobei das genannte Polypeptid durch eine DNA-Sequenz in einem exprimierbaren genetischen Konstrukt codiert wird.

16. Verwendung nach einem der Ansprüche 1 bis 15, wobei die genannte Behandlung oder Prophylaxe die eines pathophysiologischen Zustands der Muskulatur in einem Säugetier ist, in dem der genannte Zustand einen Muskelzellentyp involviert, der für das genannte Polypeptid sensitiv oder responsiv ist.

17. Verwendung nach einem der Ansprüche 1 bis 15, wobei die genannte Behandlung oder Prophylaxe die eines Zustands ist, der Muskelschäden in einem Säugetier involviert.

18. Verwendung nach einem der Ansprüche 1 bis 15, wobei die genannte Behandlung oder Prophylaxe die Minderung von Atrophie der genannten Muskelzellen ist.

19. Verwendung nach einem der Ansprüche 1 bis 15, wobei die genannte Behandlung oder Prophylaxe die Erhöhung der Zahl der in dem genannten Säugetier vorhandenen Muskelfasern ist.

20. Verwendung nach einem der Ansprüche 1 bis 15, wobei die genannte Behandlung oder Prophylaxe die Steigerung der Muskelregeneration in dem genannten Säugetier ist.

21. Verwendung nach Anspruch 1, wobei das genannte Polypeptid, das spezifisch den p185<sup>erbB2</sup> Rezeptor von Muskelzellen bindet und zweite Messenger-Systeme der genannten Muskelzellen aktiviert, ein gliärer Wachstumsfaktor ist.

22. Verwendung nach einem der Ansprüche 1 bis 15, wobei die genannte Muskelzelle ein Myoblast, eine Satellitenzelle, eine Muskelzelle im Skelettmuskel, eine Muskelzelle in Herzmuskel oder eine Muskelzelle in einem glatten Muskel ist.

23. Verwendung nach einem der Ansprüche 1 bis 15, wobei die genannte Erkrankung oder Fehlfunktion eine Skelettmuskelerkrankung oder -fehlfunktion ist.

24. Verwendung nach Anspruch 23, wobei die genannte Skelettmuskelerkrankung oder -fehlfunktion eine Myopathie oder eine Dystrophie ist.

25. Verwendung nach Anspruch 24, wobei das genannte Dystrophie eine Duchennes-Muskeldystrophie oder eine Becker-Dystrophie ist.

26. Verwendung nach einem der Ansprüche 1 bis 15, wobei die genannte Erkrankung oder Fehlfunktion eine Herzmuskelfehlfunktion ist.

27. Verwendung nach Anspruch 26, wobei das genannte Herzmuskelfehlfunktion Kardiomyopathie, ein Ischämieschaden, eine kongenitale Muskelerkrankung oder ein Herztrauma ist.

28. Verwendung nach einem der Ansprüche 1 bis 15, wobei die genannte Erkrankung oder Fehlfunktion

eine Glattmuskelfehlfunktion ist.

29. Verwendung nach Anspruch 28, wobei die genannte Glattmuskelfehlfunktion arterielle Sklerose, eine Gefäßverletzung oder eine kongenitale Gefäßerkrankung oder -fehlfunktion ist.

30. Verwendung nach einem der Ansprüche 1 bis 15, wobei die genannte Muskelzelle unzureichende funktionelle Acetylcholinrezeptoren hat und eine Muskelzelle in einem Patienten mit Myasthenia gravis oder in einem Patienten mit einem Zustand ist, der Muskelschäden involviert.

31. Verwendung nach einem der vorherigen Ansprüche, bei dem die Behandlung oder Prophylaxe bei einem Menschen ist.

Es folgen 71 Blatt Zeichnungen

Anhängende Zeichnungen

FIG. 1

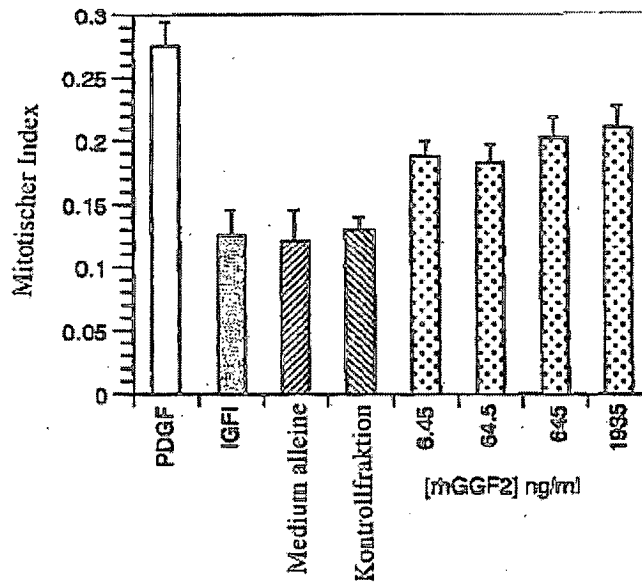
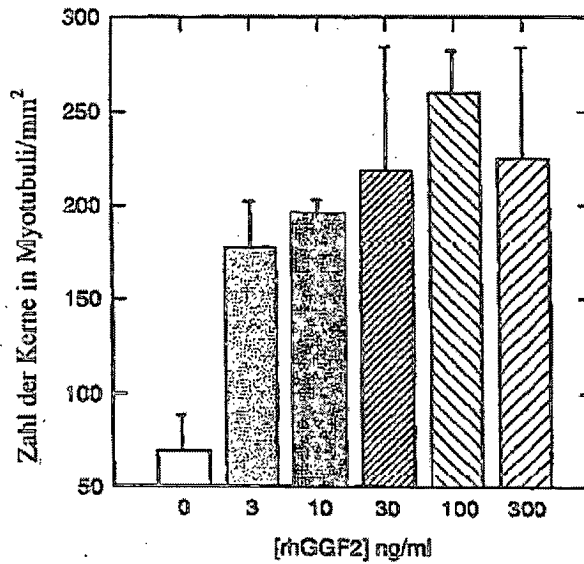
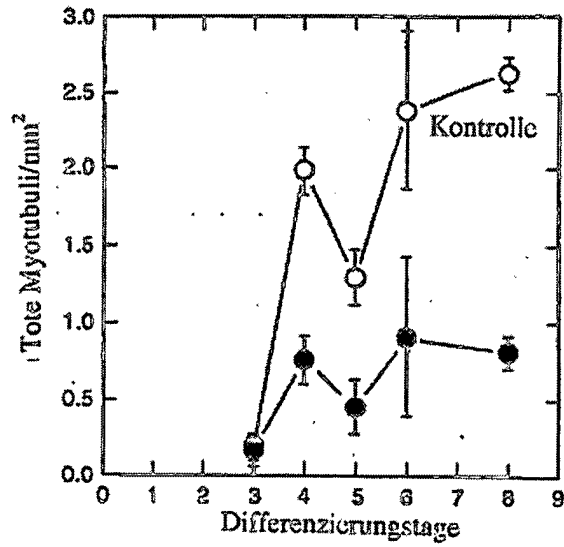


FIG. 2



**FIG. 3**



**FIG. 4**

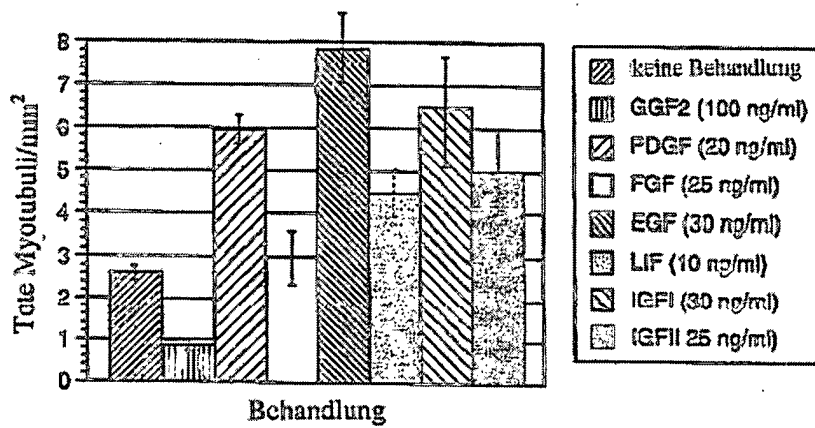


FIG. 5

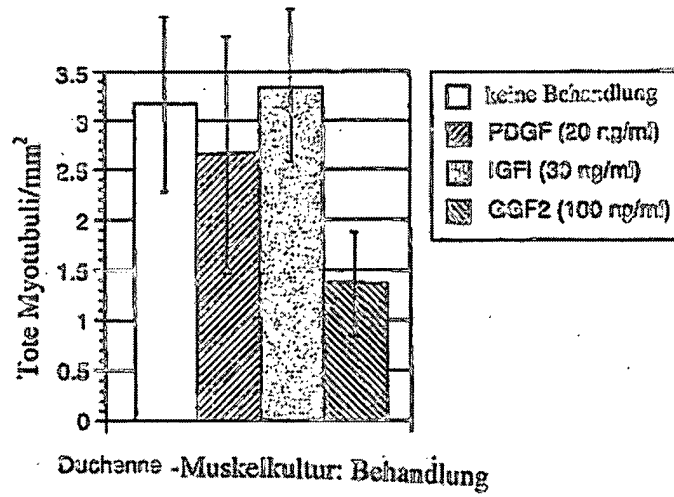
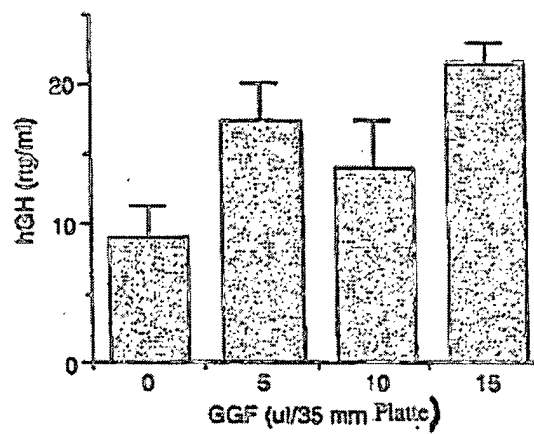


FIG. 6





**FIG. 7**

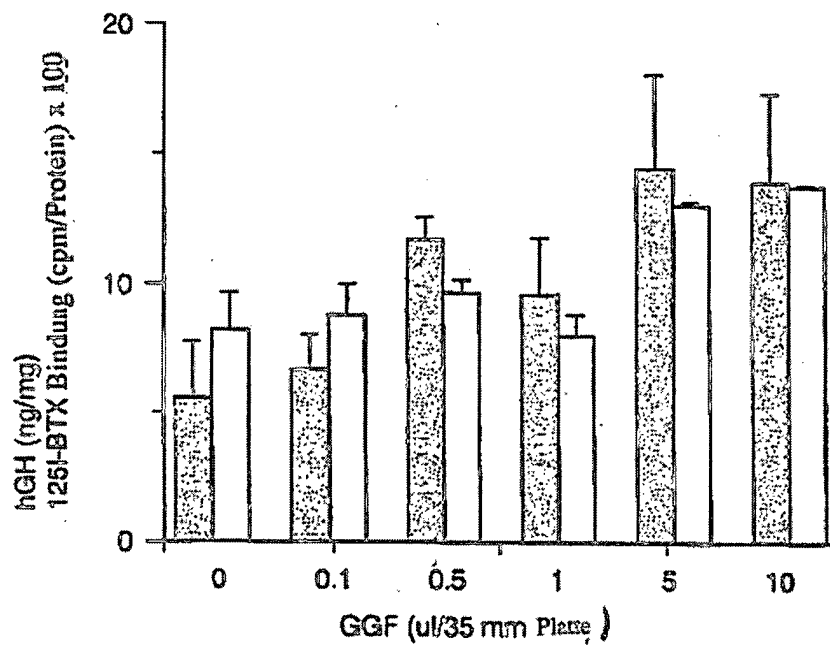


FIG. 8

GGF-I 01	N-Terminus E K G D A H T E	(SEQ ID NO: 1)
GGF-I 02	Tyrosin-Peptide K/R A S L A D E Y E Y M X K *	(SEQ ID NO: 2)
GGF-I 03	K/R T E T S S G L X L K *	(SEQ ID NO: 3)
GGF-I 04	K/R K L G E M W A E	(SEQ ID NO: 4)
GGF-I 05	K/R L G E K R A	(SEQ ID NO: 5)
GGF-I 06	K/R I K S E H A G L S I G D T A K *	(SEQ ID NO: 6)
GGF-I 07	K/R A S L A D R Y E Y M R K *	(SEQ ID NO: 7)
GGF-I 08	K/R I K G E H P Q L S I G D V A K *	(SEQ ID NO: 8)
GGF-I 09	K/R M S E Y A F P V Q T X R *	(SEQ ID NO: 9)
GGF-I 10	K/R S E H P G L S I G D T A K *	(SEQ ID NO: 10)
GGF-I 11	K/R A G Y F A E X K A R *	(SEQ ID NO: 11)
GGF-I 12	K/R K L E F L X R K K *	(SEQ ID NO: 12)
GGF-I 13	K/R T T E M A S E Q G A	(SEQ ID NO: 13)
GGF-I 14	K/R A K B A L A K L K *	(SEQ ID NO: 14)
GGF-I 15	K/R F V L Q A K K *	(SEQ ID NO: 15)
GGF-I 16	K/R L G E M W	(SEQ ID NO: 16)
GGF-I 17	Protease V8-Peptide E T Q P D P Q I L R K K V E M V I G A Y T	(SEQ ID NO: 165)
GGF-I 18	E Y K C L K F K N F K K A T V M	(SEQ ID NO: 17)
GGF-I 19	E A K Y F S K K D A	(SEQ ID NO: 18)
GGF-I 20	E X K F Y V P	(SEQ ID NO: 19)
GGF-I 21	E L S F A E V R L P G C P P G V D P M V S F P V A L	(SEQ ID NO: 20)

HMG-1

HMG-17

HMG-2

HMG-1

HMG-2

HMG-1

HMG-1

LH-alpha

LH-beta

FIG. 9A

GGF-I 01	F R G D A H T E	Y M X K	(SEQ ID NO: 1)
GGF-I 02	A S L A D E Y E	L K L K	(SEQ ID NO: 22)
GGF-I 03	T N T S S G L K	Y M R K	(SEQ ID NO: 23)
GGF-I 07	A S L A D E Y E	Y M R K	(SEQ ID NO: 24)
GGF-I 11	A G Y F A E X A	R	(SEQ ID NO: 25)
GGF-I 13	T T E M R S E Q	G A	(SEQ ID NO: 26)
GGF-I 14	A K E A L A L K		(SEQ ID NO: 27)
GGF-I 15	F V L Q R K K		(SEQ ID NO: 28)
GGF-I 17	E T Q P D P G Q	I L K K V P M V I G A Y T	(SEQ ID NO: 29)
GGF-I 18	E Y K C L K F K	F K K A T V M	(SEQ ID NO: 17)

FIG. 9B

GGF-I 20	E X K F Y V P		(SEQ ID NO: 19)
GGF-I 12	K L E F L X A K		(SEQ ID NO: 32)

**FIG. 10**

GGF-II 01	K/R	V H Q V W A A K *	(SEQ ID NO: 42)
GGF-II 02	K/R	Y I F M E P E A X S S G	(SEQ ID NO: 43)
GGF-II 03	K/R	L G A W G P P A F P V X Y	(SEQ ID NO: 44)
GGF-II 04	K/R	N F V V I E G K *	(SEQ ID NO: 45)
GGF-II 05	K/R	A L A A A G Y D V E K *	(SEQ ID NO: 160)
GGF-II 06	K/R	L V L R *	(SEQ ID NO: 161)
GGF-II 07	K/R	X X Y P G Q I T S N	(SEQ ID NO: 162)
GGF-II 08	K/R	A S P V S V G S V Q E L V Q R *	(SEQ ID NO: 46)
GGF-II 09	K/R	V C L L T V A A L P P T	(SEQ ID NO: 47)
GGF-II 10	K/R	D L L L K V	(SEQ ID NO: 50)
GGF-II 11	K	V H Q V W A A K *	(SEQ ID NO: 48)
GGF-II 12	K	A S L A D S G E Y M X K *	(SEQ ID NO: 49)

Trypsin-Peptide

Histon H1

Trypsin

Lysyl-Endopeptidase-C-Peptide

# FIG. 11

A

GGF-II 01	V H Q V W A A K	(SEQ ID NO: 42)
GGF-II 02	Y I F F M E P E A X S S G	(SEQ ID NO: 43)
GGF-II 03	L G A W G P P A F P V X Y	(SEQ ID NO: 44)
GGF-II 04	W F V V I E G K	(SEQ ID NO: 45)
GGF-II 08	A S P V S V G S V Q E L V Q R	(SEQ ID NO: 46)
GGF-II 09	V C L L T V A A L P P T	(SEQ ID NO: 47)
GGF-II 11	K V H Q V W A A K	(SEQ ID NO: 48)
GGF-II 12	K A S L A D S G E Y M X K	(SEQ ID NO: 49)

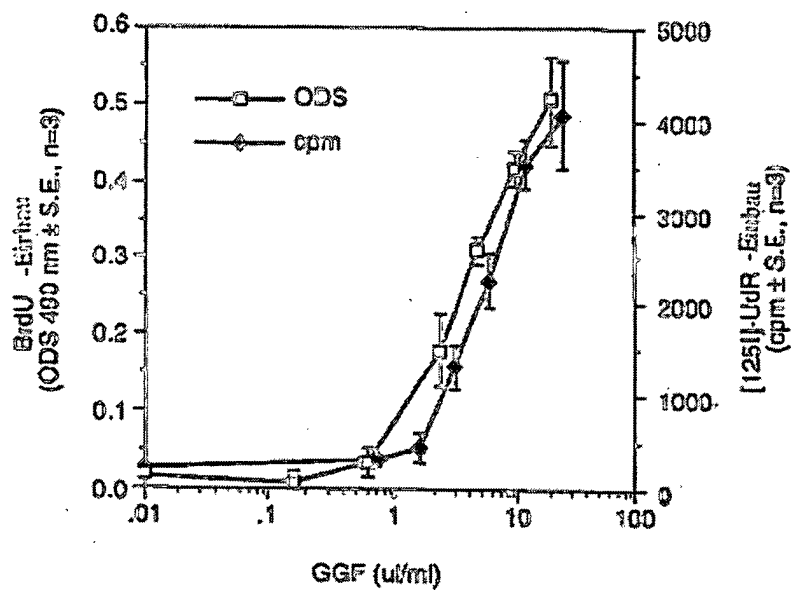
B

Neuc Faktor II-Peptid - andere

GGF-II 10	D L L L X V	(SEQ ID NO: 50)
-----------	-------------	-----------------

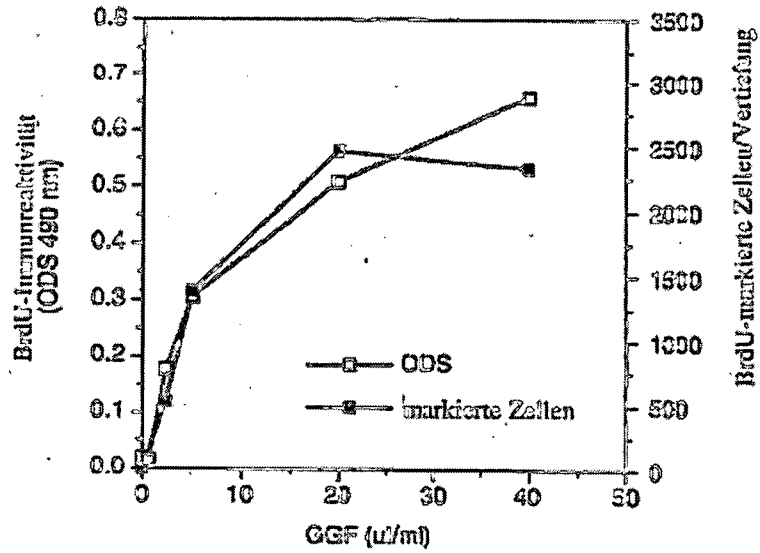
**FIG. 12**

Vergleich von BrdU-ELISA- und [125I]UdR-Zählverfahren für den DNA-Synthese-Assay in Schwann-Zellkulturen



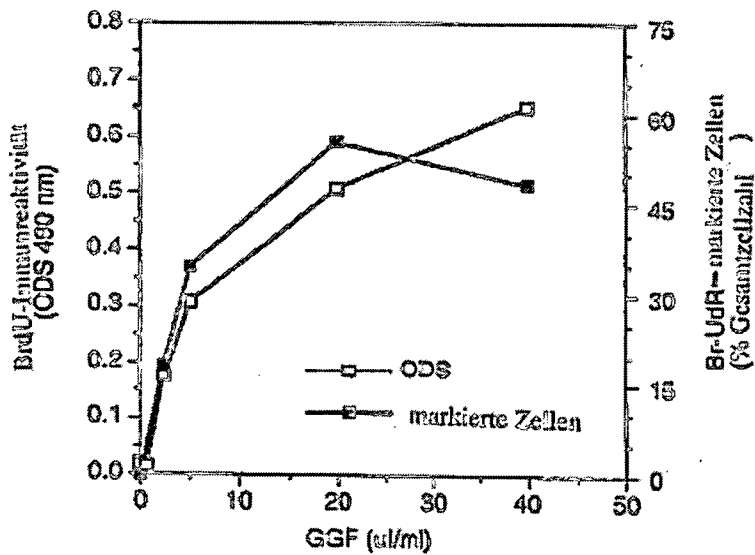
**FIG. 13A**

Vergleich von Br-UdR-Immunreaktivität und Br-UdR-markierter Zellzahl



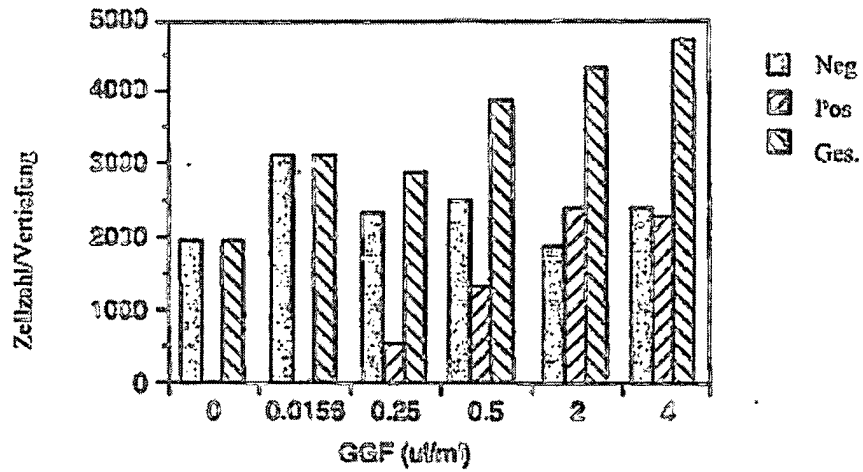
**FIG. 13B**

Vergleich von Br-UdR-Immunreaktivität und Br-UdR-markierter Zellzahl



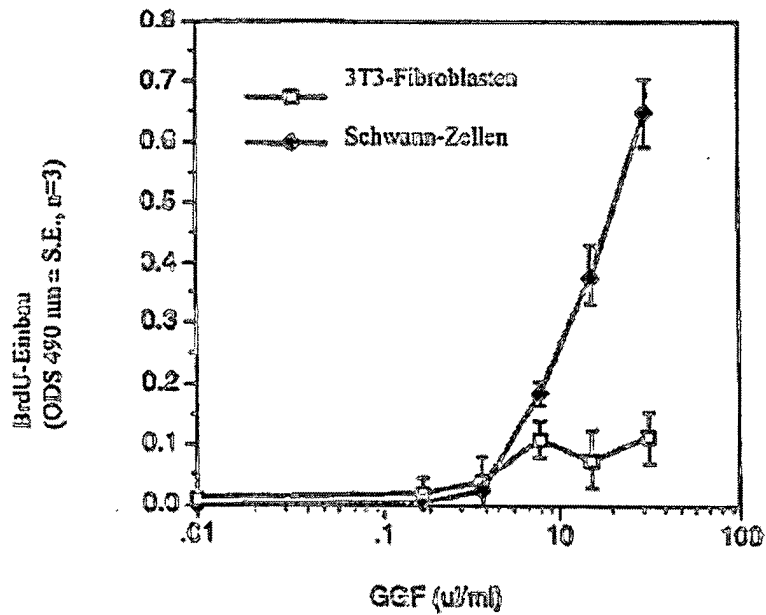
**FIG. 14**

Mitogene Antwort von Schwann-Zellen des Ratten-Ischiasnervs auf GGFs



**FIG. 15**

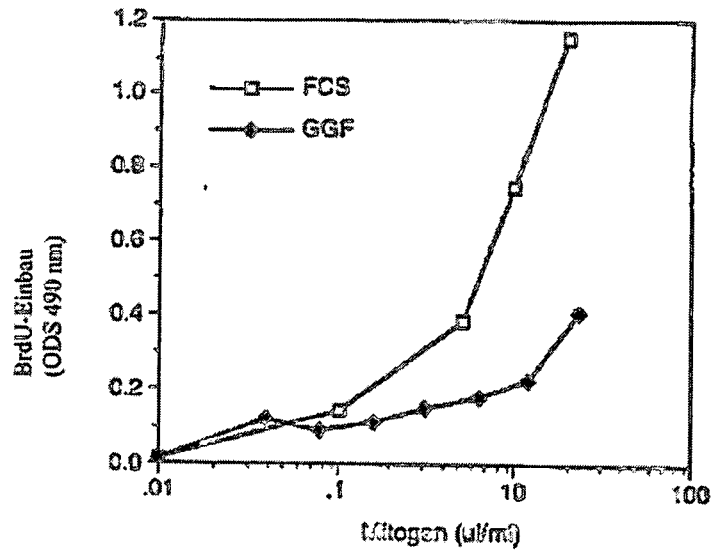
DNA-Synthese in Schwann-Zellen des Ratten-Ischiasnervs und 3T3-Fibroblasten in Gegenwart von GGFs





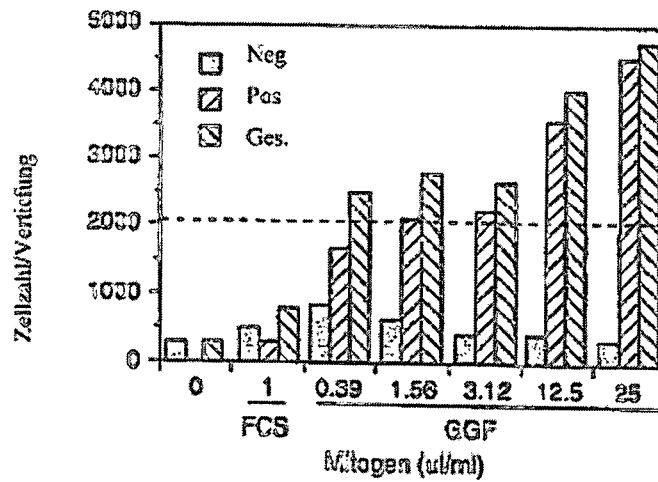
**FIG. 16**

Mitogene Antwort von BHK21 C13-Zellen auf FCS und GGFs



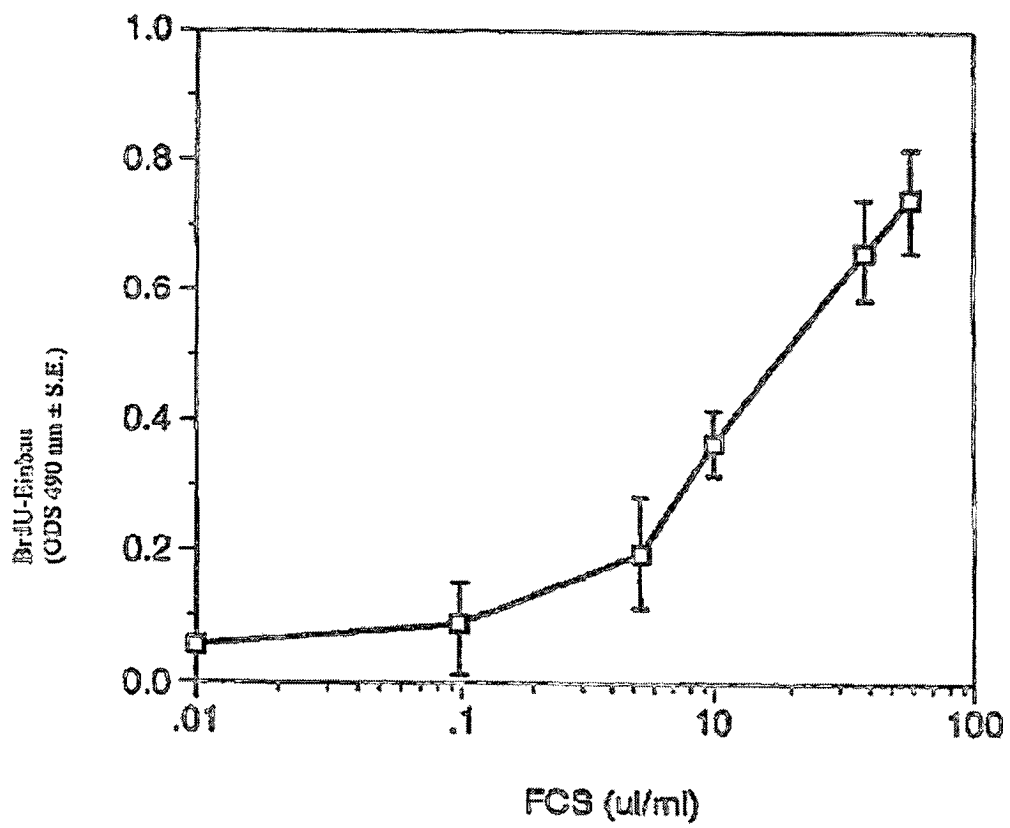
**FIG. 17**

Überleben und Wachsen von BHK21 C13-Zell-Microkulturen nach 48 Stunden in Gegenwart von GGFs

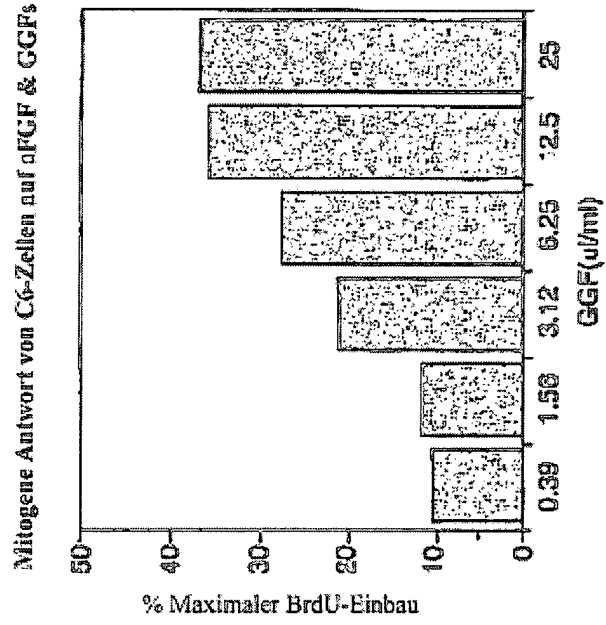


# FIG. 18

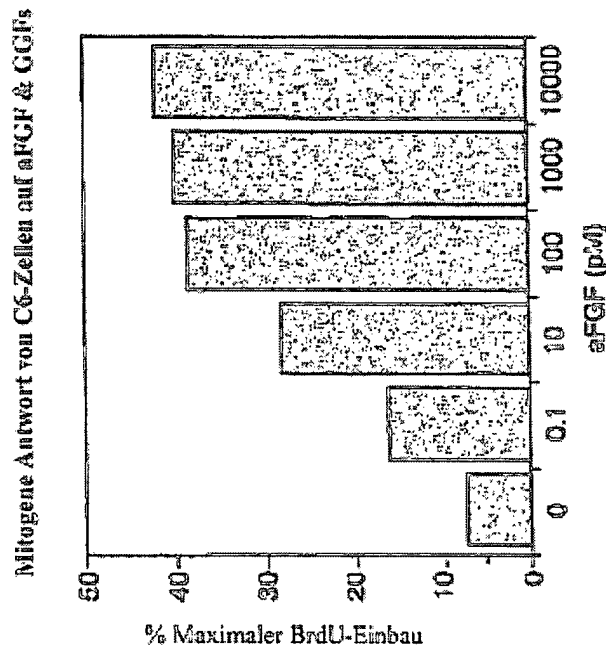
Mitogene Antwort von C6-Zellen auf FCS



**FIG. 19B**



**FIG. 19A**



## FIG. 20

## Degenerierte Oligonucleotid-Sonden für Faktor I &amp; Faktor II

Oligo	Sequenz	Peptid	
535	TTYAARGGNGAYGCNCAYAC!	GGFI-1	(SEQ ID NO: 51)
536	CATRTAYTCRTAYTCRTGNGC!	GGFI-2	(SEQ ID NO: 52)
537	TGYTCNGANGCCATYTCNGT!	GGFI-13	(SEQ ID NO: 53)
538	TGYTCRCCTNGCCATYTCNGT!	GGFI-13	(SEQ ID NO: 54)
539	CCDATNACCATWGGNACYTT!	GGFI-17	(SEQ ID NO: 55)
540	GCNGCCCANACYTGRTCNAC!	GGFII-1	(SEQ ID NO: 56)
541	GCYTCNGGYTCCATRAARAA!	GGFII-2	(SEQ ID NO: 57)
542	CCYTCDATNACNACRAACCA!	GGFII-4	(SEQ ID NO: 58)
543	TGNGCRAAHTANCCGCG!	GGFI-11	(SEQ ID NO: 59)
544	GCNGCNAGNGCYTCYTTNGC!	GGFI-14	(SEQ ID NO: 60)
545	GCNGCYAANGCYTCYTTNGC!	GGFI-14	(SEQ ID NO: 61)
546	FTYTTNGCYTCNAGNACRAA!	GGFI-15	(SEQ ID NO: 62)
551	TTYTTNGCYTGYAANACRAA!	GGFI-15	(SEQ ID NO: 63)
568	TGNACNAGYTCYTCGNAC!	GGFII-8	(SEQ ID NO: 64)
569	TGNACYAAYTCYTCGNAC!	GGFII-8	(SEQ ID NO: 65)
609	CATRTAYTCNCCNGARTGNGC!	GGFII-12	(SEQ ID NO: 66)
610	CATRTAYTCNCCRCRTGNGC!	GGFII-12	(SEQ ID NO: 67)
649	NGARTGNGCYAANGANGCYTT!	GGFII-12	(SEQ ID NO: 68)
650	NGARTGNGCNAGANGANGCYTT!	GGFII-12	(SEQ ID NO: 69)
651	RCRTGNGCYAANGANGCYTT!	GGFII-12	(SEQ ID NO: 70)
652	RCRTGNGCNAGANGANGCYTT!	GGFII-12	(SEQ ID NO: 71)
653	NGARTGNGCYAARCTNGCYTT!	GGFII-12	(SEQ ID NO: 72)
654	NGARTGNGCNAGRCTNGCYTT!	GGFII-12	(SEQ ID NO: 73)
655	RCRTGNGCYAARCTNGCYTT!	GGFII-12	(SEQ ID NO: 74)
656	RCRTGNGCNAGRCTNGCYTT!	GGFII-12	(SEQ ID NO: 75)
659	ACNACNGARATGGCTCNGGA!	GGFI-13	(SEQ ID NO: 76)
660	ACNACNGARATGGCAGYNGA!	GGFI-13	(SEQ ID NO: 77)
661	CAYCARGTNTGGGCGCNAA!	GGFII-1	(SEQ ID NO: 78)
662	TTYGTNGTNTATHGARGGNAA!	GGFII-4	(SEQ ID NO: 79)
663	AARGGNGAYGCNCAYACNGA!	GGFI-1	(SEQ ID NO: 80)
664	GARGGNYTNGGNGGNYTNA!	GGFI-14	(SEQ ID NO: 81)
665	GTNGGNTGNTNCARGARYT!	GGFII-8	(SEQ ID NO: 82)
666	GTNGGNGAGYGTNCARGARYT!	GGFII-8	(SEQ ID NO: 83)
694	NACYTTYTTNARHATYTCNCC!	GGFI-17	(SEQ ID NO: 84)

FIG. 21

Putativer Boviner Faktor II-Gen-Sequenzen

(SEQ ID NO: 85) TCTAA AAC TEC AGA GAC TGT ATC TTC ATG ATC ATC ATA GTT CTG TGA AAT ATA 53  
 AOH Tyr Arg Asp Cys Ile Phe Met Ile Ile Ile Val Leu Met Arg Ile

CCT AAA CCG CTT TGG TCC TGA TCT TGT AGG AAG TCA GAA CTT CGC ATT 101  
 Leu Lys Pro Leu Tyr Ser Xaa Ser Cys Arg Lys Ser Glu Leu Arg Ile

AGC AAA GCG TCA CTG GCT GAT TCT GGA GAA TAT ATG TCC AAA GTG ATC 149  
 Ser Lys Ala Ser Leu Ala Asp Ser Gly Glu Tyr Met Cys Lys Val Ile

AGC AAA CTA CGA AAT GAC AGT GCC TCT GCC AAC ATC ACC AAT GAG GAG 197  
 Ser Lys Leu Gly Asn Asp Ser Ala Ser Ala Ser Ile Arg Ile Val Glu

TCA AAC GGT AAG AGA TCC CTA CTG CGT GCP ATW TCT CAG TCT CTA ACA 245  
 Ser Asn Gly Lys Arg Cys Leu Leu Arg Ala Ile Ser Glu Ser Leu Arg

GGA CTG ATC AAG GTA TGT GGT CAC ACT TGA ATC ACG CAG GTG TGT GAA 293  
 Gly Val Ile Lys Val Cys Gly His Thr Xaa Ile Thr Glu Val Cys Glu

ATC TCA TTG TGA ACA AAT AAA CAT GAA ACG AAA ACT CTA TGT TTG 341  
 Ile Ser Leu Xaa Thr Asn Lys Asp His Glu Arg Lys Thr Leu Cys Leu

AAA TAT CTT ATG GGT CCT CCA AAG CTC TTC ACT CCA TAA GGT GAA 389  
 Lys Tyr Leu Met Gly Pro Pro Val Lys Leu Phe Thr Xaa Gly Glu

ATA GAC CTG AAA TAT ATA TAG AAT AAT T 417  
 Ile Asp Leu Lys Tyr Ile Xaa Ile Ile

# FIG. 22A

## PCR-Primer für Faktor I & Faktor II

### Degenerierte PCR-Primer

#### Oligo-Sequenz

#### Popcid

657	CCGAATCTGCAGGARACNCARCCNGAYCCNGG!	GGFI-17	(SEQ ID NO: 86)
658	AAGGATCCTGCAGNCTRTANGCNCCHAFNACCATNGG!	GGFI-17	(SEQ ID NO: 87)
667	CCGAATCTGCAGGCNGAYTCNGGNGARTAYATG!	GGFI-12	(SEQ ID NO: 88)
668	CCGAATCTGCAGGCNGAYATYGGNGARTAYAT!	GGFI-12	(SEQ ID NO: 89)
669	AAGGATCCTGCAGNNCATRTAYTCNCCNGARTC!	GGFI-12	(SEQ ID NO: 90)
670	AAGGATCCTGCAGNMCATRTAYTCNCCRRTRTC!	GGFI-12	(SEQ ID NO: 91)
671	CCGAATCTGCAGCAYCAKSTNMGCCNGCNAAI	GGFI-1	(SEQ ID NO: 92)
672	CCGAATCTGCAGATRTTYTAYTGARCCNGARG!	GGFI-2	(SEQ ID NO: 93)
673	CCGAATCTGCAGGGGNCNCCNGCNTYYCCNGT!	GGFI-3	(SEQ ID NO: 94)
674	CCGAATCTGCAGTGGTYGTINGTNRTHGARGG!	GGFI-4	(SEQ ID NO: 95)
677	AAGGATCCTGCAGYTTGCGCCCAWACYTGRG!	GGFI-1	(SEQ ID NO: 96)
678	AAGGATCCTGCAGGCTCNGBYTCCATRAARA!	GGFI-2	(SEQ ID NO: 97)
679	AAGGATCCTGCAGACNGGRANCCNGGNGNCCI	GGFI-3	(SEQ ID NO: 98)
680	AAGGATCCIGCAGYTTNCCYTCDAYNACNACRAAI	GGFI-4	(SEQ ID NO: 99)
681	CATRTAYTCRTAYTCYNGCAGGATCCTGCAG!	GGFI-2	(SEQ ID NO: 100)
682	CCGAATCTGCAGARGNGAYGCNCAYACNGAI	GGFI-1	(SEQ ID NO: 101)
683	GCNGCYAANGCYRCYTTNGCAAGGATCCTGCAG!	GGFI-14	(SEQ ID NO: 102)
684	GCNGCNAGNGCYTCYTTNGCAAGGATCCTGCAG!	GGFI-14	(SEQ ID NO: 103)
685	TCNCCRAARTANCCNGCAASGATCCTGCAG!	GGFI-1	(SEQ ID NO: 104)

# FIG. 22B

## PCR-Primer für Faktor I & Faktor II

### Einzigartige PCR-Primer für Faktor II

OLigo-Sequenz	Kommentar	(SEQ ID NO: 105)
711 CATCGATCTGCAGGCTGATTCCTGGAGATATATGTGCAI	3' RACE	(SEQ ID NO: 106)
712 ARGGATCCTGCAGCCACATCTCGAGTCGACATCGATTI	3' RACE	(SEQ ID NO: 107)
713 CCGAATTCYGCAGTGTGATCAGCMAACTAGGARATGACA!	3' RACE	(SEQ ID NO: 108)
721 CATCGATCTGCAGCCTAGTTTTCCTGATCATTGGCAC!	5' RACE	(SEQ ID NO: 109)
722 AAGGATCCTGCAGTATATCTCCAGAAATCAGCCAGTGI	5' RACE; VERANKERT	(SEQ ID NO: 110)
725 ARGGATCCTGCAGCCACGCACTAGTACATCTCTTA!	EXON A	(SEQ ID NO: 111)
726 CCGAATTCYGCAGCAGAACTTCCATTAGCAAAGCI	EXON A	(SEQ ID NO: 112)
771 CATCCCGGATGAAGAGTCAAGGATCTGTGGCAI	EXONS B+A	(SEQ ID NO: 113)
772 ATACCCGGCTGCAGACATGAGATTTACACACCTCCGI	VERANKERT	(SEQ ID NO: 114)
773 AAGGATCCTGCAGTTTGGAACTTCCACAGACTCCTI	VERANKERT	(SEQ ID NO: 115)
776 ATACCCGGCTGCAGATGAGATTTACACACCTTCCGIGA!	EXONS B+A	

**FIG. 23**

Zusammenfassung von zusammenhängenden  
GGF-II-cDNA Strukturen & Sequenzen

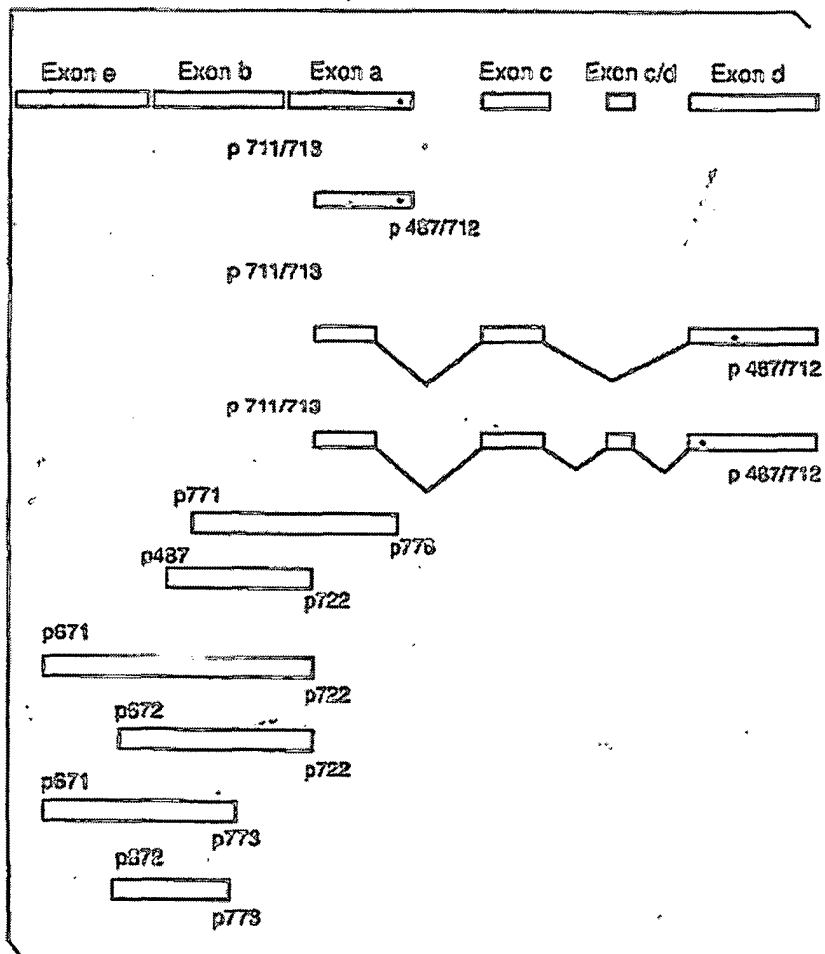
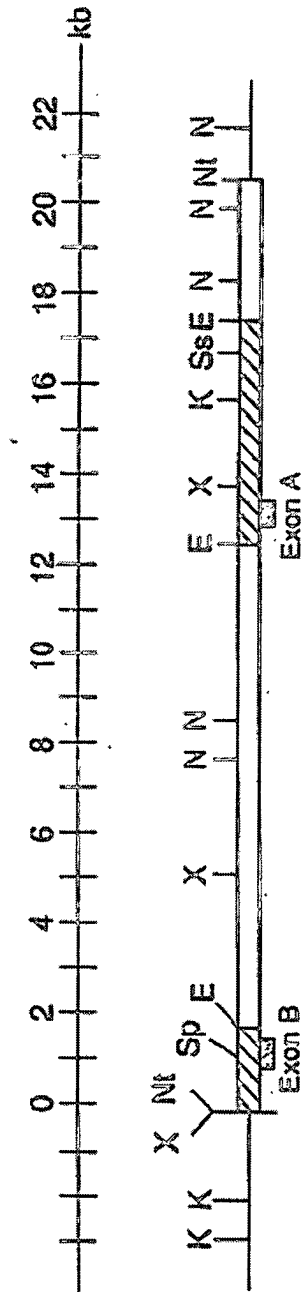


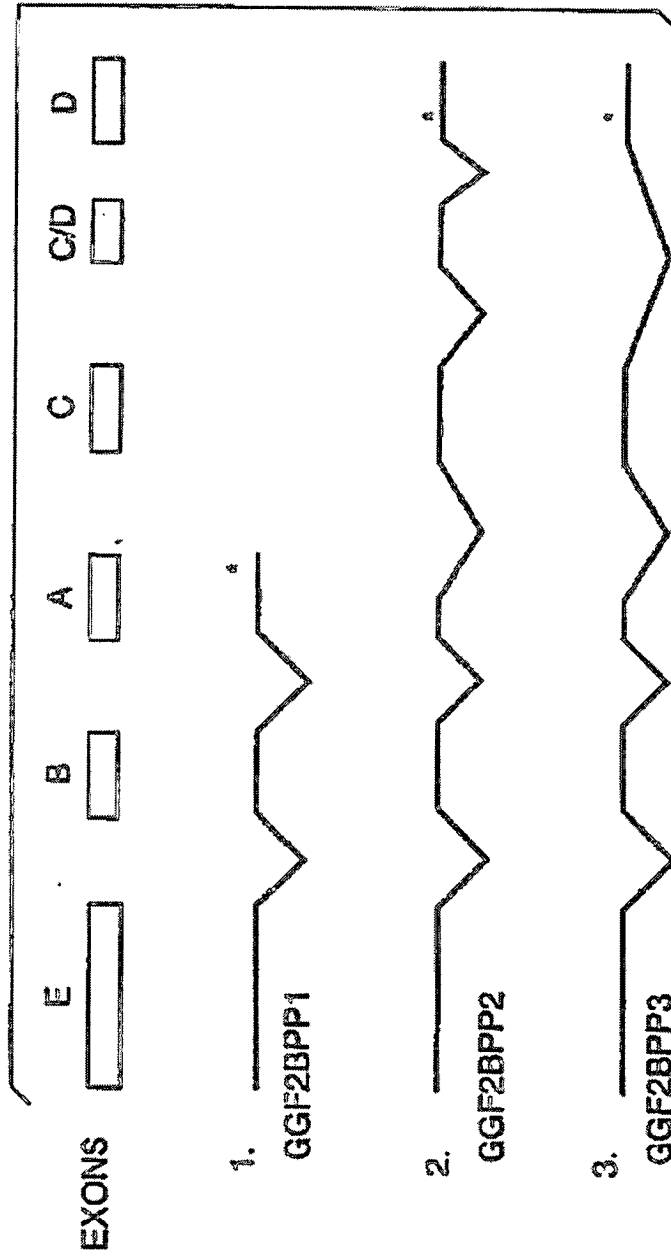


FIG. 24



**FIG. 25**

Alternative Gen-Produkte von Putativem Bovinem GGF-II



**FIG. 26****GGF-II Peptide identifiziert in abgeleiteten Aminosäure-Sequenzen von Putativen Bovinen GGF-II Proteinen**

Peptid	Pos.	Sequenz-Übereinstimmung	ID Sequenzen
II-1	1:	VHQVWAAR HQVWAAR AAGLK	(SEQ ID NO: 116)
II-10	14:	GGLIK DLLLV dslltv NLGAN	(SEQ ID NO: 117)
II-07	21:	LGAWQPPAPFQWY LLFVR lgawqppafpocg RLKED	(SEQ ID NO: 118) (SEQ ID NO: 119)
II-02	41:	KEDSR YIFFMEPEANSSG YIFFMEPEANSSG GEGRL	(SEQ ID NO: 120) (SEQ ID NO: 121)
II-6	103:	VACSK LVLR LVLR CETSS	(SEQ ID NO: 122)
I-18	112:	CETSS EYKCLKFRMFRIATVI cysalkfkrfkngeel SRKTK	(SEQ ID NO: 123) (SEQ ID NO: 124)
II-12	151:	ELRIS KASLADSGEYDNR KASLADSGEYDCK VESKL	(SEQ ID NO: 125) (SEQ ID NO: 126)
I-07	152:	LRISK ASLADGEYEMRK asladegeymck VESIL	(SEQ ID NO: 127) (SEQ ID NO: 128)

**FIG. 27A**

(SEQ ID NO: 129)

CCTCCAG CAT CAA GTG TGG GGG GGG AAA ECC GGG TTC AMO AAG CAC TCG CTG 55  
 HLA Gln Val Trp Ala Ala Tyr Ala Gln Gln Lys Lys Lys Asp Ser Leu  
 CTC ACC GTG CGC CAG GGC CCC TGG GGC CAC CCC GGC TTC CCC TCC TCC GGC 103  
 Leu Thr Val Arg Leu Gln Ala Trp Gly His Pro Ala His Pro Ser Cys  
 GGG CGC CAC AAG GAG GAC AGC AGC CAG ATC TTC TCC ARG GAG CCC GAG 151  
 Gly Arg Leu Lys Glu Asp Ser Arg Tyr Ile His His Met Glu Pro Glu  
 GCC AAC AGC ACC GGC GGC CCC CTT CGG AGC CTC CTT CCC CCC 199  
 Ala Asn Ser Ser Gly Pro Gly Arg Leu Pro Ser Leu Leu Pro Pro  
 TCT CGA GAC GGG CCG GAA CCT CAA GAA GGT CAG CCG CCG GCT GCT GTC 247  
 Ser Arg Asp Gly Pro Glu Pro Glu Glu Gly Gln Pro Glu Ala Val  
 CAA CGG TGC GCC CTG CCT CCC CTG TTG AAA GAG ATG ARG AGT CAG GAG 295  
 Gln Arg Cys Ala Leu Pro Pro Arg Leu Lys Glu Met Lys Ser Gln Glu  
 TCT GTC CCA GGT TCC AAA CTA GAG CTT CGC TCC GAG ACC AGT TCT GAA 343  
 Ser Val Ala Gly Ser Lys Leu Val Leu Arg Cys Glu Thr Ser Ser Glu  
 TTC TCC TCT CAC AAG TTC AAG TCG TTC AAG AAT CCG AGT GAA TTA AGC 391  
 Tyr Ser Ser Leu Lys Phe Lys Trp Phe Lys Trp Phe Lys Asn Gly Ser Glu Leu Ser  
 CGA ARG AAC AAA CCA GAA AAT CAG AAT AAT AAG AAG AAG CCG GGG AAG 439  
 Arg Lys Asn Lys Phe Phe Glu Asn Ile Lys Ile Gln Lys Arg Pro Gly Lys  
 TCA GAA CTT CGC AAT ACC AAA GCG TCA CTG GCT GAT TGT GGA GAA TAT 487  
 Ser Glu Leu Arg Ile Ser Lys Ala Ser Leu Ala Asp Ser Gly Glu Tyr  
 ATG TGC AAA GTG ATC ACC AAA CTA GGA AAT GAC AGT GGC TCT GCC AAC 535  
 Met Cys Lys Val Ile Ser Lys Leu Gly Ser Arg Ser Ala Ser Ala Arg  
 ATC ACC AAT GTS GAG TCA AAC GGT AAG ACA TCC CTA CTG CCG CCT ATT 583  
 Ile Thr Phe Phe Val Glu Ser Asn Gly Lys Arg Cys Leu Leu Arg Ala Ile  
 TCT CAG TCT CTA ACA GGA GTG ATC AAG GTA TGT GGT CAC ACT 625  
 Ser Gln Ser Leu Arg Gly Val Ile Lys Val Cys Val Arg Thr  
 TGRATCGCC AGGTGTGTGA AATTCATATG TGNACAAATA AANAAATGTA AAGSAAATA 685  
 AAAAAAADA AATCGAAGTC GACTCGAGAT GTCCCTGACG CTCGACTCTA GAGGATCC 744

**FIG. 27B**  
 Nucleotid-Sequenzen & abgeleitete Aminosäure-Sequenzen von GCF2BPP2

(SEQ ID NO:130) CCTGCAG CAT CNA CTG TGG GCG GCG AAA GCC GGG GGC TTU AAG AAG GAC TCG CTG 55  
 His Glu Val Trp Ala Ala Lys Ala Gly Leu Lys Lys Asp Ser Leu

CTC ACC GTG CGC CTG GGC GCC TGG GGC CAC CCC TTC CCC TCC TUC 103  
 Leu Thr Val Asn Leu Gly Ala Thr Gly His Pro Ala Phe Pro Ser Cys

GGG CGC CTC AAG GAG GAC AGC AAG TAC ATC TTC ATG GNG CCC GAG 151  
 Gly Arg Leu Lys Glu Asp Ser Asn Tyr Ile Phe Pro Met Glu Pro Glu

GCC AAC AGC AGC GGC GGG CCC GGC CGC CTT CCG AGC CTC CTT CCC CCC 199  
 Ala Lys Ser SOE Gly Pro Gly Arg Leu Pro Ser Leu Leu Pro Pro

TCT CGA GAC GGG CCG GAA CCT CRA GAA GGA GGT CAG CCG GGT GCT GTG 247  
 Ser Arg Asp Gly Pro Glu Pro Glu Glu Gly Glu Pro Gly Ala Val

CRA CGS TGC GCC TTG CCT CCC CGC TTC AAA GNG AAG AAG ACT CAG GNG 295  
 Glu Arg Cys Ala Leu Pro Pro Arg Leu Lys Glu Met Lys Ser Glu Glu

TCT GTG GCA GGT TCC AAA CTA GTG CTT CGG TGC GAG ACC AGT TCT GAA 343  
 Ser Val Ala Gly Ser Lys Leu Val Leu Arg Cys Glu Thr Ser Ser Glu

TAC TCC TCT CTC AAG TTC AAG TGG TTC AAG AAT GGG AGT GAA TTA AGC 391  
 Tyr Ser Ser Leu Lys Phe Lys Trp Phe Lys Arg Gly Sox Glu Leu Ser

CGA AAG AAC AAA CCA GAA AAC ATC AAG ATA CAG AAA AGS CCG GGG AAG 439  
 Arg Lys Asn Lys Gly Gly Asn Ile Lys Ile Glu Lys Arg Pro Gly Lys

TCA GAA CTT CGC ATT AGC AAA GCG TCA CTG GCT GAT TCT GCA GAA TAT 487  
 Ser Glu Leu Arg Ile Ser Lys Ala Ser Leu Ala Asp Ser Gly Glu Tyr

ATG TGC AAA GTG ATC AGC AAA CTA GGA AAT GAC AGT GCC TCT GCC AAC 535  
 Met Cys Lys Val Ile Ser Lys Leu Gly Asn Asp Ser Ala Ser Ala Asn



**FIG. 27D**  
 Nucleotid-Sequenzen & abgeleitete Aminosäure-Sequenzen von GGE2BPP3

```

(SEQ ID NO: 131) CCTCCAG CAT CAA GTG TGG GCG AAA GCC GCG TTG AAG AAG GAC TCG CTG 55
His Gln Val Trp Ala Ala Lys Ala Gly Lys Leu Lys Lys Asp Ser Leu
CTC ACC GTG CGC CTG GGC GCC TGG GGC CAC CCC GGC TTC CCC TCC TCC TGC 103
Leu Thr Val Arg Leu Gly Ala Trp Gly His Pro Ala Phe Pro Ser Cys
GGG CGC CTC AAG GAG GAC AGC AGG TAC ATC TTC TTC ATG GAG CCC GAG 151
Gly Arg Leu Lys Glu Asp Ser Arg Tyr Ile Phe Phe Met Glu Pro Glu
GCC AHC AGC AGC GGC GGG CCC GGC CTC CCG ACC CTC CTT CCC CCC 199
Ala Asp Ser Lys Gly Gly Pro Gly Arg Leu Pro Ser Leu Leu Pro Pro
TCT CGA GAC GGG CCG GAA CCT CAA GAA GGA GGT CAG CCG GGT GCT GTG 247
Ser Arg Arg Gly Pro Glu Pro Gln Glu Gly Glu Pro Gly Ala Val
CAA CGG TGC GCC TTG CTT CCC CGC TTT AAA GAG ATG AAG AGT CAG GAG 295
Gln Arg Cys Ala Leu Pro Pro Arg Leu Lys Glu Met Lys Ser Gln Glu
TCT GTG GCA GGT TCC AAA CTA GTG CTT CCG TGC GAG ACC AGT TCT GAA 343
Ser Val Ala Gly Ser Lys Leu Val Leu Arg Cys Glu Thr Ser Ser Glu
TAC TCC TCT CTC AAG TTC AAG TGG TTC AAG AAT GCG AGT GAA TTA AGC 391
Tyr Ser Ser Leu Lys Phe Lys Trp Phe Lys Asn Gly Ser Glu Leu Ser
CGA AAG AAC AAA CCA GAA AAC ATC AAG ATA CAG AAA AGC CCC GCG AAG 439
Arg Lys Asn Lys Pro Glu Asn Ile Lys Ile Gln Lys Arg Pro Pro Lys
TCA GAA CTT CGC ATT AGC AAA GCG TCA CTG GCT GAT TCT GGA GAA TAT 487
Ser Glu Leu Arg Ile Ser Lys Ala Ser Leu Ala Asp Ser Gly Glu Tyr

```

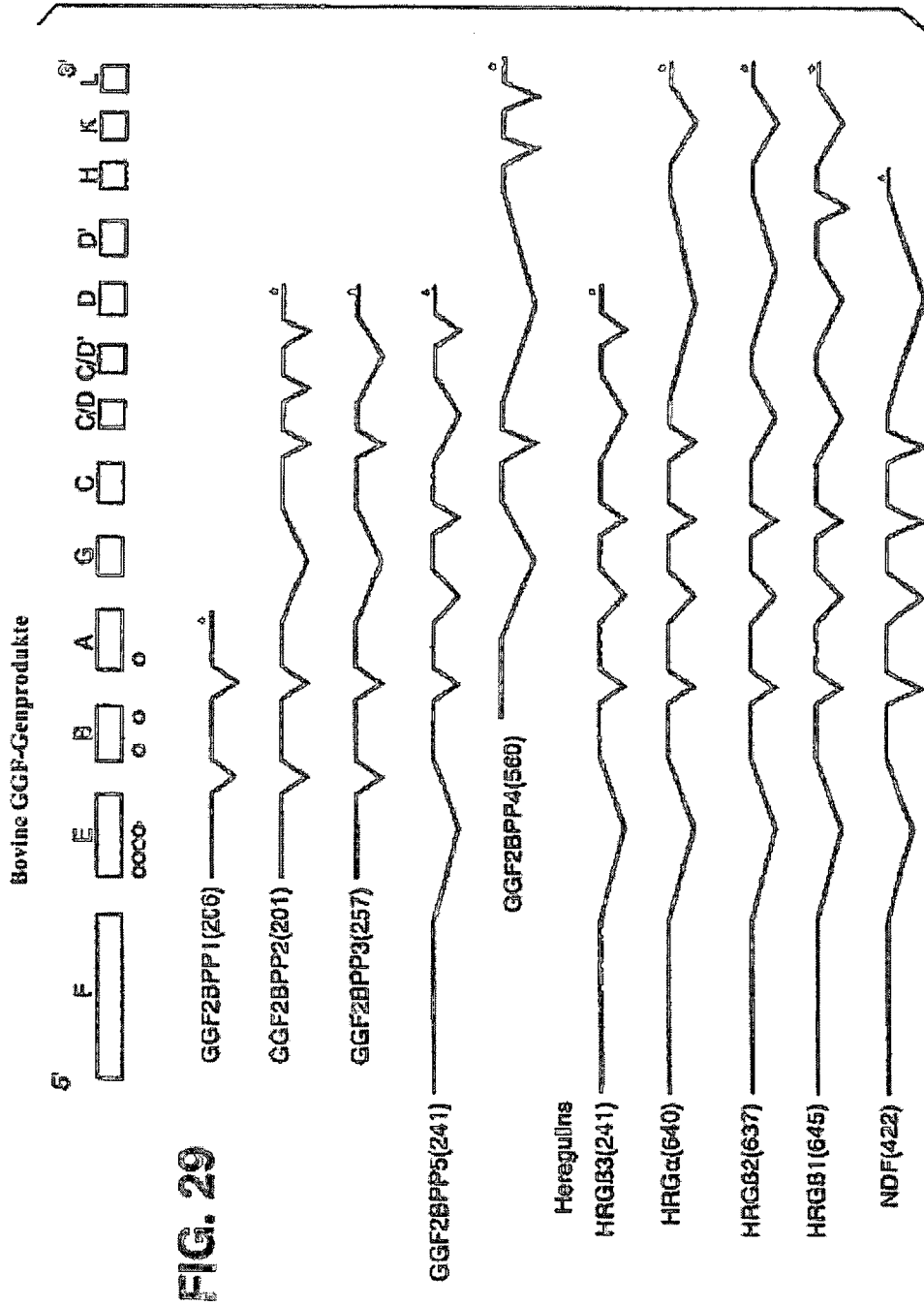
**FIG. 27E**  
 Nucleotid-Sequenzen & abgeleitete Aminosäure-Sequenzen von GGF2BPP3

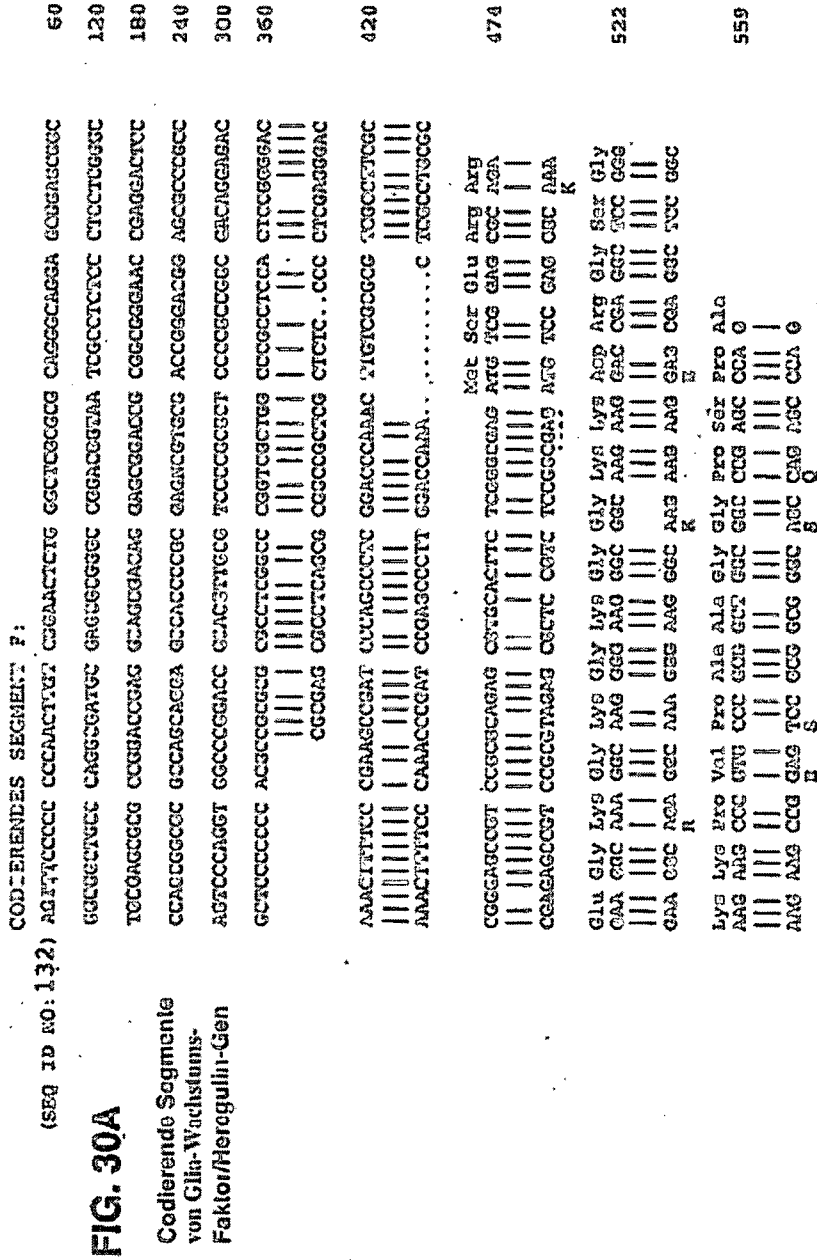
535 ATG TGC AAA GTG ATC AGC AAA CTA GGA AAT GAC AGT GCC AGT GCC TCT GCC AAC  
 Met Cys Lys Val Ile Ser Lys Leu Gly Asp Asp Ser Ala Ser Ala Asn  
 583 ATC ACC AAT GTG GAG TCA AAC GCC ACA TCC ACA TCT ACA GCT GGG ACA  
Ile Arg Ile Val Glu Ser Asn Ala Thr Ser Thr Ser Thr Thr Ala Gly Thr  
 631 AGC CAT CTT GTC AAG TGT GCA GAG AAG GAG AAR ACT TTC TGT GTG AAT  
 Ser His Leu Val Lys Cys Ala Glu Lys Glu Lys Thr Phe Cys Val Asn  
 679 GGA GGC GAG TCC TTC ATG GTG AAA GAC CTT TCA AAT CCC TCA AGA TAC  
 Gly Gly Glu Cys Phe Met Val Lys Asp Leu Ser Asp Pro Ser Arg Tyr  
 727 TTG TGC AAG TGC CCA AAT GAG TTT ACT GGT GAT CCG TGC CAA AAC TAC  
 Leu Cys Lys Cys Pro Act Glu Phe Thr Gly Asp Arg Cys Gln Asp Tyr  
 775 GTA AAG GCC AGC TTC TAC ACT ACG TCC ACT CCC TTT CTG TCT CTG CCT  
 Val Met Ala Ser Phe Tyr Ser Thr Ser Thr Pro Phe Leu Ser Leu Pro  
 839 GAA TAGGCATCT CAGTCGGTSC CGCTTCTGTG TGGCCGCATC TCCCTCAGA TCCCGCCTAG  
 Glu  
 898 AGCTGATGTC GYTTTACCGAG GTCATACACT GACTGGCTCT GCCTGTGGCA TGAGACACT  
 958 NACACAGCG ATTGTAGGAC TTGCTCTGTC CGTGACATGZ GGGCTCTGAG CTACTGCTAG  
 1018 GTCCCTAAGG CCCCAGTGT TCTGAAATG ATCTTGAMT ACTGTGATAC GACATGATAG  
 1078 TCCCTCTCAC CCAGTSCANT GAGMIDMAG CCCTTGAAA GTCAAAAAA AAAAAAAA  
 1108 ARAATCCT GTCCACTCGA GATGTGCTG



**FIG. 28**







**FIG. 30A**

Codierende Segmente  
von Glii-Wachstums-  
Faktor/Herogulin-Gen

**FIG. 30B**

CODIERNDES SEGMENT B:

(SEQ ID NO: 133 )  
 .....  
 CC CAT CAN CTG TGG GCG GCG AAA GCC GCG CCC TTC AAG AAG GAC TCG 67  
 His Gln Val Tyr Ala Ala Lys Ala Gly Gly Leu Lys Lys Asp Ser  
 CTG CTC ACC CTG GGC GGC GGC TGG GGC CAC CCC GCC TTC CCC TCC 95  
 Leu Leu Thr Val Arg Leu Gly Ala Tyr Gly His Pro Ala Phe Pro Ser  
 TGC GCG CGC CTC AAG GAG GAC AGC AGG TAC ATC TTC TTC ATG GAG CCC 143  
 Cys Gly Arg Leu Lys Gly Asp Ser Arg Tyr Ile Phe Phe Met Glu Pro  
 GAG GCC AAC AGC AGC GGC GCG CCC GGC CGC CTT CCG AGC CTC CTT CCC 191  
 Glu Ala Asn Ser Ser Gly Gly Pro Gly Arg Leu Pro Ser Leu Leu Pro  
 CCC TCT CGA GAC GGG CCG GAA CTT CAA GAA GGA GGT CAG CCG GGT GCT 239  
 Pro Ser Arg Asp Gly Pro Glu Pro Gln Gln Gly Gly Gln Pro Gly Ala  
 GTG CAA CCG TGC G 252  
 Val Gln Arg Cys

**FIG. 30C**

COPIERENDES SEGMENT B:

```

(SEQ ID NO:134 )
Leu Pro Pto Arg Leu Lys Glu Met Lys Ser Gln Glu Ser Val Ala
CC TTG CCT CCC CGC TTG AAA GAG ATC AAG AGT CAG GAG TCT GTG CCA
CC TTG CCT CCC CGA TTG AAA GAG ATG AAA ACC CAG GAA TCG GCT CCA
Gly Ser Lys Leu Val Leu Arg Lys Glu Thr Ser Ser Glu Tyr Ser Sor
GGT TCC AAA CCA CTC CTT CCG TGC GAG ACC AGT AGT TCT GAA TAC TCC TCT
GGT TCC AAA CTA GTC CTT CCG TGT GAA ACC AGT TCT GAA TAC TCC TCT
Leu Lys Phe Lys Tyr Phe Lys Asn Gly Ser Glu Leu Ser Arg Lys Asn
CTC AAG TTC AAG TGG TTC AAG AAT GGG AGT GAA TTA AGC CGA AAG AAC
CTC AGA TTC AAG TGG TTC AAG AAT GGG AAT GAA TTG AAT CGA AAA AAC
Lys Pro Gln Asn Ile Lys Ile Gln Lys Arg Arg Pro Gly
AAA CCA CAA AAC ATC AAG ATA CAG CAA AAG CCA CG
AAA CCA CAA AAT ATC AAG ATA CAA AAA AAG CCA CG

```

FIG. 30D

CODIEREMDES SEGMENT A:

```

(SEQ ID NO: 135)  Lys Ser Glu Leu Arg Ile Ser Lys Ala Ser Leu Ala Asp Ser Gly
                  G AAG TCA GAA CTT CCG ATT CGC ATT AGC AAA GCG TCA CTG GCT GAT TCT GGA 46
                  ||| ||| ||| ||| ||| ||| ||| ||| ||| ||| ||| ||| ||| |||
                  G AAG TCA GAA CTT CCG ATT AAG AAA GCA TCA CTG GCT GAT TCT GCA
                  N

Glu Tyr Met Cys Lys Val Ile Ser Lys Leu Gly Asn Asp Ser Ala Ser
GAA TAT ATG TGC AAA GFG ATC ATC AGC AAA CTA GGA AAT GAC AGT GCC TCT 94
|| ||| ||| ||| ||| ||| ||| ||| ||| ||| ||| ||| ||| |||
GAG TAT ATG TGC AAA GTG ATC ACC AAA TTA GGA AAT GAC AGT GCC TCT

Ala Asn Ile Thr Ile Val Glu Ser Asn Ala
GCC AAC ATC ACC ATT GTG GAG TCA AAC G
||| ||| ||| ||| ||| ||| ||| ||| ||| ||| ||| |||
GCC AAT ATC ACC ATC GTG GAA TCA AAC G
    
```

**FIG. 30E**

(SEQ ID NO:136 ) CODIERENDES SEGMENT A':

TCCTAAACTA CAGAGACTGT ATTTLATGA TCACTCAACT TCTGTGAAAT ATACTTAAAC 60

CGCTTGGTC CTGACTTGT AGG AAG TCA GAA CTT CGC ATT AGC AAA GCG 110  
 Lys Ser Glu Leu Arg Ile Ser Lys Ala

TCA CTG GCT GAT TCT GGA GAA TAT ATG TGC AAA GTG ATC ACC AAA CTA 158  
 Ser Leu Ala Asp Ser Gly Glu Tyr Met Cys Lys Val Ile Ser Lys Leu

GGA AAT GAC AGT GCC TCT GCC AAC ACC ACC ATT GTG CAG TCA AAC GGT 206  
 Gly Asn Asp Ser Ala Ser Ala Asn Ile Thr Ile Val Glu Ser Asn Gly

AAG AGA TGC CTA CTG GCT ATT TCT CAG TCT CTA AGA GGA GTG ATC 254  
 Lys Arg Cys Leu Leu Arg Ala Ile Ser Gln Ser Leu Arg Gly Val Ile

AAG GTA TGG GGT CAC ACT TAAATCACC AGGAGGTGA AATTCATTC 302  
 Lys Val Cys Gly His Thr

TGACAAATA ABAATCATGA AAGCAACT CTATGTTTGA AATATCTTAT GGGTCCCTCT 362

GTAAGCTCT TCACGCCATA AGGTGAATA GACCTGAAZ AATATAGAT TATTT 417

# FIG. 30F

CODIERENDAS SEGMENT G:

(SEQ ID NO: 137)

47

Glu Ile Thr Thr Gly Met Pro Ala Ser Thr Glu Thr Ala Tyr Val Ser  
 AG ATC ACC ACT GGC ATG CCA GCC TCA ACT GAC ACA CCG TAT GAG TCT  
 AG ATC ACC ACT GGT ATG CCA GCC TCA ACT GAA GCA TAT GAG TCT  
I

95

Ser Glu Ser Pro Ile Arg Ile Ser Val Ser Thr Glu Gly Thr Asn Thr  
 TCA GAG TCT CCC ATT GGA ATA TCA GTA TCA ACA GAA GCA ACA AAT ACT  
 TCA GAG TCT CCC ATT AGA ATR TCA GTA TCC ACA GAA GGA AAT ACT  
A

102

Ser Ser Ser  
 TCT TCA T  
 TCT TCA T



# FIG. 30G

CODIÉRENDES SEGMENT C:

```

(SEQ ID NO: 156) Thr Ser Thr Ala Gly Thr Ser His Leu Val Lys Cys Ala
|   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |
CC ACA TCC ACA TCT ACA GCT GGG ACA ACC CAT CTT GTC AAG TGT GCA
|   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |
CTT ACA TCT ACA TCC ACC ACT GGG ACA ACC CAT CTT GTA AAA TGT GCG
|   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |
Glu Lys Glu Lys Thr Phe Cys Val Asn Gly Gly Glu Cys Phe Met Val
|   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |
GAG AAG GAG AAA ACT TTC TTT GTC GGT AAT GGA GGC GAG TGC TTC ATG GTG
|   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |
GAG AAG GAG AAA ACT TTC TGT GTC AAT GCA GGG GAG TGC TTC ATG GTG
|   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |
Lys Asp Leu Ser Asn Pro Ser Arg Tyr Leu Cys
|   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |
AAA GAC CTT TCA AAT CCC TCA AGA TAC TTT TGC
|   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |
AAA GAC CTT TCA AAC CCC TCG AGA TAC TTG TGC

```

47

95

128

# FIG. 30H

CODONENDES SEGMENT C/D:

(SEQ ID NO: 138)	Lys	Cys	Gln	Pro	Gly	Phe	Thr	Gly	Ala	Arg	Cys	Thr	Glu	Asn	Val	Pro	48
	AAA	TGC	CAA	CCT	GGA	TTC	ACT	GGA	GCG	AGA	TGT	ACT	GAG	AAT	GTC	CCC	
	Arg	TGC	CAA	CCT	GGA	TTC	ACT	GGA	GCA	AGA	TGT	ACT	GAG	AAT	GAG	CCC	
	Met	Lys	Val	Gln	Thr	Gln	Glu										69
	ATG	AAA	GTC	CAA	ACC	CAA	GAA										
	ATG	AAA	GTC	CAA	AAC	CAA	GAA										
					N												





FIG. 30M

Ser	Ser	Thr	Ser	His	Tyr	Thr	Ser	Thr	Ala	His	His	Ser	Thr	336	
AGC	TCT	TTT	TCC	ACC	CAC	TAC	ACT	TCG	ACA	GCT	CAT	CAT	TCC	ACT	
ACA	TCC	TTY	TCC	ACC	CAC	TAT	ACT	TCC	ACA	GCC	CAT	CAC	TCC	ACT	
T															
Thr	Val	Thr	Gln	Thr	Pro	Ser	His	Ser	Trp	Ser	Asn	Gly	His	Thr	Glu
ACT	GTC	ACT	CAG	ACT	CCC	AGT	CAC	AGC	TGG	AGC	AAT	GEA	CAC	ACT	GAA
ACT	GTC	ACC	CAG	ACT	CCT	AGC	CAC	AGC	TGG	AGC	AAC	GEA	CAC	ACT	GAA
Ser	Ile	Ile	Ser	Glu	Ser	His	Ser	Val	Ile	Val	Met	Ser	Ser	Val	Glu
AGC	ATC	ATT	TCG	GAA	AGC	CAC	TCT	GTC	ATC	GTC	ATG	TCA	TCC	GTA	GAA
AGC	ATC	CTT	TCC	GAA	AGC	CAC	TCT	GTA	ATC	GTC	ATG	TCA	TCC	GTA	GAA
L															
Asn	Ser	Arg	His	Ser	Pro	Thr	Gly	Gly	Pro	Arg	Gly	Arg	Leu	Asn	
AAC	AGT	AGG	CAC	AGC	CCG	ACT	GGG	GGC	CCG	AGA	GGA	CGT	CTC	AAT	
AAC	AGT	AGG	CAC	AGC	CCA	ACT	GGG	GGC	CCA	AGA	GGA	CGT	CTT	AAT	
Gly	Leu	Gly	Gly	Pro	Arg	Glu	Cys	Asn	Ser	Phe	Leu	Arg	His	Ala	Arg
GGC	TTG	GGA	GGC	CCT	CGT	GAA	TGT	AAC	AGC	TTC	CTC	ACG	CAT	GCC	AGA
GGC	ACA	GGA	GGC	CCT	CGT	GAA	TGT	AAC	AGC	TTC	CTC	ACG	CAT	GCC	AGA
T															
Glu	Thr	Pro	Asp	Ser	Tyr	Arg	Asp	Ser	Pro	His	Ser				
GAA	ACC	CCT	GAC	TCC	TAC	CGA	GAC	TCT	CCT	CAT	AGT	GAA	AG		
GAA	ACC	CCT	GAT	TCC	TAC	CGA	GAC	TCT	CCT	CAT	AGT	GAA	AG		

## FIG. 30N

CODIERNDES SEGMENT K:

(SEQ ID NO: 157)	A	CAT AAC CTT ATA GCT GAG CTA AGG AGA AAC AAG GCC CAC AGA TCC	46
		His Asn Leu Ile Ala Glu Leu Arg Arg Asn Lys Ala His Arg Ser	
		AAA TGC ATG CAG ATG CAG CTT TCC GCA ACT CAT CTT AGA GCT TCT TCC	94
		Lys Cys Met Gln Ile Gln Leu Ser Ala Thr His Leu Arg Ala Ser Ser	
		ATT CCC CAT TGG GCT TCA TTC TCT AAG ACC CCF TGG CCF TTA GGA AG	141
		Ile Pro His Trp Ala Ser Phe Ser Lys Thr Pro Trp Pro Leu Gly Arg	

FIG. 300

CODIERNENDES SEGMENT L:

(SEQ ID NO: 143)

Tyr Val Ser Ala Met Thr Thr Pro Ala Arg Met Ser Pro Val Asp  
 C TAT GTA TCA GCA ATG ACC ACC CCG CCG ATG TCA CCT GTA GAT  
 |||||  
 G TAT GTG TCA GCC ACC ATG ACC ACC CCG CCG ATG TCA CCT GTA GAT  
 46  
  
 Phe His Thr Pro Ser Ser Pro Lys Ser Pro Pro Ser Glu Met Ser Pro  
 TTC CAC ACG CCA AGC TCC CCC AAG TCA CCC CCT TCG GAA ATG TCC CCG  
 |||||  
 TTC CAC ACG CCA AGC TCC CCC AAG TCG CCC CCT TCG GAA ATG TCT CCA  
 94  
  
 Pro Val Ser Ser Thr Thr Val Ser Met Pro Ser Met Ala Val Ser Pro  
 CCC CTC TCC ACC ACG ACG GTC TCC ACC ACC TCC ACC CCG GTC AGT CCC  
 |||||  
 CCC GTC TCC ACC ATG ACC ACC GAG TCC ACC ACC CCT TCC ATG CCG GTC ACC CCC  
 142  
  
 Phe Val Glu Glu Arg Pro Leu Leu Val Thr Pro Pro Arg Leu  
 TTC GCG GAA GAG GAG AGA CCC CTC CTC CTT GTG ACG CCA CCA CCG CTS  
 |||||  
 TTC ATG GAA GAA GAG AGA CCG CTA CTT CTC GTG ACA CCA CCA ACG CIG  
 190  
  
 Arg Glu Lys - Tyr Asp His His Ala Glu Glu Phe Arg Ser Pro His  
 CCG GAG AAG ... TTS GAC CAC CAC CCC CAG CAA TTC AAC TCG TTC CAC  
 |||||  
 CCG GAG AAG ARG TTT GAC CAT CAC CCG CCG CAG TTC ACC TCC TTC CAC  
 238  
  
 Cys Arg Pro Ala His Glu Ser Arg Ser Leu Pro Pro Ser Pro Leu Arg  
 TGC AAC CCC CCG CAG ACC AAC ACC CTC CCC CCC ACC CCC TTG ACG  
 | |||||  
 CRC AAC CCC CCG CAT GAC AGT AAC ACG CTC CCT GCT ACC CCC TTG ACG  
 H  
 286

FIG. 30P

Ile	Val	Glu	Asp	Glu	Glu	Tyr	Glu	Thr	Gln	Glu	Tyr	Glu	Pro	Ala	334	
ATA	GTG	GAG	GAT	GAG	GAA	TAT	GAA	ACG	ACC	CAG	GAG	TAC	GAA	CCA	GCT	
ATA	GTG	GAG	GAT	GAG	GAG	TAT	GAA	ACG	ACC	CAA	GAG	TAC	GAG	CCA	GCC	
Gln	Glu	Pro	Val	Lys	Lys	Leu	Thr	Asn	Ser	Ser	Arg	Arg	Ala	Lys	Arg	382
CAA	GAG	CCG	GTT	AAG	AAA	CTC	ACC	AAC	AGC	AGC	CGG	CGG	GCC	AAA	AGA	
CAA	GAG	CCT	GTT	AAG	AAA	CTC	GCC	AA	. . T	AGC	CGG	CGG	GCC	AAA	AGA	
Thr	Lys	Pro	Asn	Gly	His	Ile	Ala	His	Arg	Leu	Glu	Met	Asp	Asn	Asn	430
ACC	AAG	CCC	AAT	GGT	CAC	ATT	GCC	CAC	AGG	TTG	GAA	ATG	GAC	AAC	AAC	
ACC	AAG	CCC	AAT	GGC	CAC	ATT	GCT	AAC	AGA	TTG	GAA	GTG	GAC	AGC	AAC	
Thr	Gly	Ala	Asp	Ser	Ser	Asn	Ser	Glu	Ser	Glu	Thr	Glu	Asp	Glu	Arg	478
ACA	GGC	GCT	GAC	AGC	AGT	AAC	TCA	GAG	AGC	GAA	ACA	GAG	GAT	GAA	AGA	
ACA	AGC	TCC	CAG	AGC	AGT	AAC	TCA	GAG	AGT	GAA	ACA	GAA	GAT	GAA	AGA	



FIG. 30Q

Val Gly Glu Asp Thr Pro Phe Leu Ala Ile Gln Asn Pro Leu Ala Ala  
 GTA GGA GAA GAT ACG CCT TTC TTC GCC ATA CAG AAC CCC CTG GCA GCC  
 ||| || ||| ||| ||| ||| ||| ||| ||| ||| ||| ||| ||| ||| |||  
 GTA GGT GAA GAT ACG CCT TTC CTC GCG ATA CAG AAC CCC CTG GCA GCC  
 526

Ser Leu Glu Ala Ala Pro Ala Phe Arg Leu Val Asp Ser Arg Thr Asn  
 AGT CTC GAG GCG CCT GCC TTC CCG CTG CTC GAC GCC AGC ACT AAC  
 ||| || ||| ||| ||| ||| ||| ||| ||| ||| ||| ||| ||| |||  
 AGT CTT GAG GCA ACA CCT GCC TTC CCG CTG GCT GAC AGC AGC ACT AAC  
 574

Pro Thr Gly Glu Gly Pro Gln Glu Glu Leu Gln Ala Arg Leu Ser  
 CCA ACA GCG GGC TTC TCT CCG CAG GAA GAA TTG CAG GCC AGG CTC TCC  
 ||| || ||| ||| ||| ||| ||| ||| ||| ||| ||| ||| ||| |||  
 CCA GCA GCG CGC TTC TCG ACA CAG GAA GAA ATC CAG GCC AGC CTG TCT  
 622

Gly Val Ile Ala Asn Gln Asp Pro Ile Ala Val \*  
 GGT GTA AAC GCT AAC CAA GAC CCT ATC GCT GTC TAA AAC CGA AAT ACA  
 ||| ||| ||| ||| ||| ||| ||| ||| ||| ||| ||| ||| ||| |||  
 AGT GTA ATT GCT AAC CAA GNC CCT ATT GCT GTA TAA AAC CTA AAT AAA  
 670

CCC ATA GAT TCA CCT GTA AAA CTT TAT TTT ATA TAA TAA AGT ATT CCA  
 ||| ||| ||| ||| ||| ||| ||| ||| ||| ||| ||| ||| ||| |||  
 CAC ATA GAT TCA CCT GTA AAA CTT TAT TTT ATA TAA TAA AGT ATT CCA  
 718

CCT TAA AAT AAA CAA  
 ||| ||| ||| ||| ||| ||| ||| ||| ||| ||| ||| ||| ||| |||  
 CCT TAA AAT AAA CAA  
 733

(SEQ ID NO: 159) ARG AGA TGG CGA CGC GGC CCG GCG CCG TCC GCG CCG GGT CCG GCG CCG CCG 48  
 MDC ARG TRP ARG ARG Ala Pro ARG ARG Ser Gly ARG COT CCG GCG CCG GCG CCG CCG CCG  
 GGC CAG CCG CCG GGC TCC GGC CCG CCG TCG CCG CCG CCG CCG CCG CCG CCG CCG CCG 96  
 Ala Gln ARG Pro Gly Ser Ala Ala ARG Ser Ser Pro Pro Leu Pro Leu  
 MENSCHLICHES CODIERENDES SEGMENT E: CTG CCA CTA CTG CTG GGG ACC GCG CCG CTG GCG CCG GCG GCG 144  
 Leu Pro Leu Leu Leu Leu Leu Gly Thr Ala Ala Leu Ala Pro Gly Ala  
 GCG GCG GGC AAC GAG GCG GCT CCG GCG GCG TCC GCG TCC TCC TCC TCC TCC TCC TCC TCC 192  
 Ala Ala Gly Asn Gln Ala Ala Pro Ala Ala Ser Val Cys Val Cys Tyr Ser  
 TCC CCG CCC AGC CTG GGA TCG GAG CAG GAG CAA GGT CAG CAG CCG GCG GCG GCG GCG 240  
 Ser Pro Pro Ser Val Gly Ser Val Gln Gln Leu Ala Gln Arg Ala Ala  
 CTG GTG ATC GAG GGA ARG GTG CAC CCG CAG CCG CCG CAG CAG CAG GCG GCA 288  
 Val Val Ile Gln Gly Lys Val His Pro Gln Arg Arg Gln Gln Gly Ala  
 CTC CAC AAG AAG GCG GCG GCG GCG GCG GCG GCA GAG GCA GCG GCG TCG GCG 336  
 Leu Asp Asn Lys Ala Ala Ala Ala Ala Gly Gln Ala Gly Arg Asp Thr Gly  
 GGC GAT CCG GAG CCG CCA GTC CCG GCG CCG CCA GCG CCG CCA GCG CCG CCG CCG CCG 384  
 Gly Asp Arg Gln Pro Pro Pro Ala Ala Ala Gly Pro Arg Ala Leu Gly Pro Pro  
 GCC GAG GAG CCG CTG CTC GCG CCG GCG AAC GCG ACC GCG CCG TCT TCG CCG 432  
 Ala Gln Gln Pro Leu Leu Ala Ala Ala Asn Gly Thr Val Pro Ser Trp Pro  
 ACC GCC CCG GTG CCC AGC GCG GCG GAG CCG GCG GAG GCG GCG CCG TAT 480  
 Thr Ala Pro Val Pro Ser Ala Gly Gln Pro Gly Gln Ala Ala Pro Tyr  
 CTG GTG AAG CTG CAC CAG CTG TGG GCG GCG GCG GCG GCG GCG TCG ARG 520  
 Leu Val Lys Val His Gln Val Trp Ala Val Lys Ala Gly Gly Leu Lys  
 AAG GAC TCG CTG CTC ACC GAG CCG CTG GGG ACC TCG GCG CRC CCG GCG 576  
 Lys Asp Ser Leu Leu Thr Val Arg Leu Gly Thr Trp Gly His Pro Ala  
 TTC CCC TCC TCC GCG AAG CTG ARG GAG GAG GCG GCG GCG GCG GCG GCG GCG GCG 624  
 Phe Pro Ser Cys Gly Arg Leu Lys Gln Asp Ser Arg Tyr Ile Phe Pro  
 ATG GAG CCC GAC GCG AAC ACC ACC GCG CCG CCG GCG GCG GCG GCG GCG GCG GCG 672  
 Met Gln Pro Asp Ala Asn Ser Thr Ser Arg Ala Pro Ala Ala Phe Arg  
 GCC TCT TTC CCC CCT CTG GAG ACG GCG CCG ARG CAC CTC CAG GAG GAG GCG 720  
 Ala Ser Phe Pro Pro Leu Gln Thr Gly Arg Asn Leu Lys Lys Gln Val  
 AGC CCG GTG CTG TCC AAG CAG CCG TGC G 745  
 Ser Arg Val Leu Cys Lys Arg Cys

FIG. 30R

**FIG. 31A**

GGF2BPFS-Nucleotid-Sequenz & abgeleitete Proteinsequenz

(SEQ ID NO: 144)	AGTTCCTCC	CGGACTCTG	GGCTCGCCG	CAGGCAAGA	GGGAGCGG	60
	GGGGCTCC	CAGGGATGC	GAGGGGUL	CGGACGPTA	TGCGCTCTCC	120
	TGGAGGCG	CGGACCGAG	GCAGCGACAG	GAGCGBACCG	CGGCGGNAC	180
	CCAGCGGCG	GCCAGCAGGA	CCACCCCGC	GAGNCGTGC	ACCGGACGG	240
	AGTCCAGGT	GGCCGGACC	GCNCOTYGG	TCCCGCGCT	CCCGCCUHC	300
	GCCTCCCGC	ACCGCGGCG	CGCTCGCC	CGGTGCTGG	CCCGCTTCA	360
	AACTTTTCC	CGAGCCGAT	CCAGCCCTC	GGACCCAAC	TTGTCGGCG	420
	CGGAGCCGT	CCCGCCAGAG	CGTCACTTC	TGCGGAG	ATG TCG GAG	475
					Met Ser Glu Arg Arg	
	GAA GGC AAA	GGC AAG GCG AAG	GGC GGC AAG	AGC CUA GAC	GGC TCC GGG	523
	Glu Gly Lys	Gly Lys Gly Lys	Gly Lys Gly Lys	Lys Asp Arg	Gly Ser Gly	
	AAG AAG CCC	GTG CCC GCG GCT	GGC GGC CCG	AGC CCA GCC	TTG CCT CCC	571
	Lys Lys Pro	Val Pro Ala	Ala Gly Gly Pro	Ser Pro Ala	Leu Pro Pro	
	CGC TTG AAA	GAG ATC AAGAGT	CAG GAG TCT	GTC GCA GGT	TCC AAA CTA	619
	Arg Leu Lys	Glu Met Lys Ser	Gln Glu Ser	Val Ala Gly	Ser Lys Leu	
	GTG CTT CGG	TGC GAG ACC	AGT TCT GAA	TAC FCC	TCT CTC AAG	667
	Val Leu Arg	Cys Glu Thr	Ser Ser Glu Tyr	Ser Ser	Leu Lys Phe Lys	
	TGG TTC AAG	AMT GGG AGT	GAA TTA	ACC CGA	AAG AAC AAA	715
	Trp Phe Lys	Asn Gly Ser	Glu Ser	Arg Lys	Asn Lys Pro	Gln Asn
	ATC AAG ATA	CAG AAG AGG	CGG GGG	AAG TCA	GAA CTT	763
	Ile Lys Ile	Gln Lys Arg	Pro Gly Lys	Ser Glu	Leu Arg Ile	Ser Lys
	CCG TCA CTG	GCT GAT TCT	GCA GAA TAT	ATG TGC	AAA ATC ACC	811
	Ala Ser Leu	Ala Asp Ser	Gly Glu Tyr	Met Cys	Lys Val Ile	Ser Lys

**FIG. 31B**

**GGF2BPSPS-Nucleotid-Sequenz & abgeleitete Proteinssequenz**

CTA GGA AAT GAC AGT GCC TCT GCC AAC ATC ACC AAT GTG GAG TCA AAC Leu Gly Asp Asp Ser Ala Ser Ala Asn Ile Thr Ile Val Glu Ser Asn	859
GAG ATC ACC ACT GGC ATG CCA GCC TCA ACT GAG ACA GCG TAT GTG TCC Glu Ile Thr Thr Gly Met Phe Ala Ser Thr Glu Thr Ala Tyr Val Ser	907
TCA GAG TCT CCC AIT AGA ATA TCA GTA TCA ACA GRA GGA ACA AAT ACT Ser Glu Ser Phe Ile Asn Ile Ser Val Ser Thr Glu Gly Thr Asn Thr	955
TCT TCA TCC ACA TCC ACA TCT ACA GGT GGG ACA AGC CAT CTT GTC AAG Ser Ser Thr Ser Thr Ala Gly Thr Ser His Leu Val Lys	1003
TGT GCA GAG AAG GAG AAA ACT TTC TGT GTG AAT GGA GGC GAG TUC TTC Cys Ala Glu Lys Glu Lys Thr Phe Cys Val Asn Gly Gly Glu Cys Phe	1051
ATG GTG AAA GAC CTT TCA AAT CCC TCA ACA TAC TTG TGC AAG TGC CCA Met Val Lys Asp Leu Ser Asn Phe Ser Asn Tyr Leu Cys Lys Cys Phe	1099
AAT GAG TTT ACT GGT GAT GGC TUC CPA AAC TAC GTA ATG GCC ACC TTC Asn Glu Phe Thr Gly Asp Arg Cys Glu Asn Tyr Val Met Ala Ser Phe	1147
ATC AGT ACC TCC ACT CCC TTT CTG TCT CTG CCT GAA TAGGGGGAG Tyr Ser Thr Ser Phe Phe Leu Ser Leu Phe Glu	1195
CTCAGTCGGT GCGGCTTCT TGTGCCCCA TCTCCCTCTCA GATTCACCT AGAGCTAGAT	1253
GCCTTTTACC AGGCTTACCA TTGACTGGCT CTUCCIUNU3 CATEAERACA TTRACNCNMG	1313
CGAATGINTG ACTTCCCTGT TCCGUGACIA GTGGGCTGTG AGCTACTCUT AGGTGCCGTA	1373
GGCTCCAGIG TTTCTGNAT TGNICTTGA TACICIGAT ACGACATGAT AGTCCCTCTC	1433
ACCCAGTCCA ATGACATPA AGCCCTTAA ANSICVCACT TTTATVIGAA AANTAAABAT	1493
CGTCCACGG GACAGTCCCT CTTCCTTATA AATGACCCCT ATCCCTGAA AGGN6GIGTQ	1553
TTARGTTGTA ACCAGTACAC ACTTGAATG ATGSDAGT CGCTCGSTF CARRANUIGF	1613
TUTTTCTGAC AANTAAACAG AATTAABAAA AAAAAAANA A	1654

CCN2BPP2-Nucleotid-Sequenz & abgekürzte Proteinsequenz

FIG. 32A

(SEQ ID NO:145) ..  
 CAT CAG GAG TGG GCG GCG AAA GCC GCG TTG DAG AAG GAC TCG GAG 48  
 HLG GLN VAL TRP ALA ALA LYS ALA GLY GLY LEU LYS LYS ASP SER LEU  
 CTC ACC GTG CCG CCG GCG GCG GGC CAC CCC GCC TTC CCC TCC TCC 96  
 LEU THR VAL ARG LEU GLY ALA TRP GLY HIS PRO ALA PHE PRO SER CYS  
 GCG CAC CTC AAG GAG GAC AGC AGG TAC ATC TTC TTC ARG GAG CCC GAG 144  
 GLY ARG LEU LYS GLU ASP SER ARG TYR ILE LHS PRO MET GLU PRO GLU  
 GCC AAC AGC AGC GGC CCC GGC CCG CTT CCG AGC CTC CTT CCC CCC 192  
 ALA ASN SER SER GLY GLY PRO GLY ARG LEU PRO SER LEU LEU LYS PRO  
 TCT CGA GAC GGG CCG GAA CCT CAA GAA GGA GGT CAG CCG GGT CCT GTC 240  
 SER ARG ASP GLY PRO GLU PRO GLN GLU GLY GLY GLN PRO GLY ALA VAL  
 CAA CCG TCC GCG TTG CCT CCG CCG TTG AAA GAG ATG AAG AGT CAG GAG 288  
 GLN ARG CYS ALA LEU PRO PRO ARG LEU LYS GLU MET LYS SER GLN GLU  
 TCT GTG GCA GGT ACC AAA CTA GTG CTE CGG TCC GAG ACC AGT TCT GAA 336  
 SER VAL ALA GLY SER LYS LEU VAL LEU ARG CYS GLU THR SER SER GLU  
 TAC TCC TCT CTC AAG TTC AAG TGG TTC AAG AAT GGG AGT GAA TTA ACC 384  
 TYR SER SER LEU LYS PHE LYS TRP PHE LYS ASN GLY SER GLU LEU SER  
 CGA AAG AIC AAA CCA GAA AAC ATC AAG ATA CAG AAA ACG CCG GCG AAG 432  
 ARG LYS ASN LYS PRO GLU ASN ILE LYS ILE GLN LYS ARG PRO GLY LYS  
 TCA GAA CTT CCG AAT AGC AAA GCG TCA CTG GCT GAT TCT GGA GAA TAT 480  
 SER GAA LEU LEU ARG ILE SER LYS ALA SER LEU ALA ASP SER GLY GLU TYR  
 ARG TGC AAA GTG ATC AGC AAA CTA GGA AAT GAC AGT GCC TCT GCC AAC 528  
 MET CYS LYS LYS VAL ILE SER LYS LEU GLY ARG ASP SER ALA SER ALA ASN

**FIG. 32B****GGF1BPP2-Nucleotid-Sequenz & abgeleitete Proteinsequenz**

ATC ACC ATT GTC GAG TCA AAC GCC ACA TCC ACA TCT ACA GGT GGG ACA 576  
 Ile Thr Ile Val Glu Ser Asn Ala Thr Ser Thr Ser Thr Ala Ala Gly Thr  
  
 ACC CAT CTT GTC AAG TGT GCA GAG AAG GAG AAA ACT TTC TGT GTG AAT 624  
 Ser His Leu Val Lys Cys Ala Glu Lys Glu Lys Thr Phe Cys Val Asn  
  
 GGA GCC GAG TGC TTC ATG GTG AAA GAC CTT TCA AAT CCC TCA AGA TAC 672  
 Gly Gly Glu Cys Phe Met Val Lys Asp Leu Ser Asn Pro Ser Arg Tyr  
  
 TTG TGC AAG TGC CAA CCT GGA TTC ACT GGA GCG AGA TGT ACT GAG AAT 720  
 Leu Cys Lys Cys Glu Pro Gly Phe Thr Gly Ala Arg Cys Thr Glu Asn  
  
 GTG CCC ATG AAA GTC CAA ACC CAA GAA AAG TGC CCA AAT GAG TTT ACT 768  
 Val pro Met Lys Val Val Gln Thr Gln Glu Lys Cys Pro Arg Glu Phe Thr  
  
 GGT GAT CGC TGC CAA AAC TAC GTA ATG GCC AGC TTC TAC AGT ACG TCC 816  
 Gly Asp Arg Cys Gln Asn Tyr Val Met Ala Ser Phe Tyr Ser Thr Ser  
  
 ACT CCC TTY CTG TCT CTG CCT GAA TAGCGCACT CAGTCEGIGC CGCTTCTGTG 870  
 Thr Pro Phe Leu Ser Leu Pro Glu  
  
 TTGCGGCAC TCCCTCAGA TTCNCTAG AGCTAGATGC GFTTACCAG GTCTACATY 930  
  
 GACTGCCTCT GCCTGTCCGA TGAAGACANT AACACAGCG ANGTGAC TTCCTCNGC 990  
  
 CGTGACTAGT GGGCTCAGAG CTACTCTAG GUGGTAAGG CTCACAGTCT TCTGAAATG 1050  
  
 AACTTGAAT ACTGTGATAC GACNTGATAG TCCCTCTCAC CCACTGCAT GACAAATAAG 1110  
  
 GCCTTGAATA GTCANAAAA AAAAAAAA 1140

GGF2HPP4-Nucleotid-Sequenz & abgeleitete Proteinssequenz

(SEQ ID NO:146) G AAG TCA GAA CTT CCG ATT AGC AAA GCG TCA CAG GCT GAT TCT GGA GAA 49  
 Lys Ser Glu Leu Arg Ile Ser Lys Ala Ser Leu Ala Asp Ser Gly Glu

TAT ATG TGC AAA ATC AGC AAA CTA GGA AAT GAC AAT GCC TCT GCC 97  
 Tyr Met Cys Lys Val Ile Ser Lys Leu Gly Asn Asp Ser Ala Ser Ala

AAC ATC ACC ATT GTG GAG TCA AAC GCC ACA TCC ACA TCT ACA GCT GGG 145  
 Asn Ile Thr Ile Val Glu Ser Asn Ala Thr Ser Thr Ser Thr Ala Gly

ACA AGC CAT CTT GTC AAG TGT GCA GAG AAG GAG AAA ACT TTC TGT GTG 193  
 Thr Ser His Leu Val Lys Cys Arg Glu Lys Glu Lys Thr Phe Cys Val

AAT GGA GCC GAC TGC TTC ATG ATG GTC AAA GAC CTT TCA AAT CCC TCA AGA 241  
 Asn Gly Gly Asp Cys Phe Met Val Lys Asp Leu Ser Asn Pro Ser Arg

TAC TTG TGC AAG TGC CAA CCT GGA TTC ACT GGA CCG AGA TGT ACT GAG 289  
 Tyr Leu Cys Lys Cys Gln Pro Gly Phe Thr Gly Ala Arg Cys Thr Glu

AAT GTG CCC ATG AAA GTC CAA ACC CAA GAA AAA GCG GAG CAG CTC TAC 337  
 Asn Val Pro Met Lys Val Gln Thr Gln Glu Lys Ala Glu Glu Leu Tyr

CAG AAG AGA GTG CTC ACC ATT ACC GGC ATT TCC ATC GCG CTG CTC GTG 385  
 Glu Lys Arg Val Leu Thr Ile Thr Gly Ile Cys Ile Ala Leu Leu Val

GTT GGC ATC ATG TGT GTG GTG TAC TCC AAR ACC AAG AAA CAA CCG 433  
 Val Gly Ile Met Cys Val Val Val Tyr Cys Lys Thr Lys Lys Glu Arg

AAA AAG CTT CAT GAC CCG CTT CCG CAG ABC CTT CCG TCT GAA AGA AAC 481  
 Lys Lys Leu His Asp Arg Leu Arg Gln Ser Leu Arg Ser Glu Arg Arg

ACC ATG ATG ATA GCC AAC GGG CCC CAC CAC CCC AAT CCG CCC CCC 529  
 Thr Met Met Asn Val Ala Asn Gly Pro His His Pro Asn Pro Pro Pro

GAG AAC GTG CAG GAG AAT CAA TAC TAC TCT AAA AAT GTC ATC TCT 577  
 Glu Asn Val Gln Leu Val Asn Gln Tyr Val Ser Lys Asn Val Ile Ser

FIG. 33A

## GGF3BPP4-Nucleotid-Sequenz &amp; abgeleitete Proteinsequenz

**FIG. 33B**

525 AGC GAG CAT ATT GAT CAG AGA CAG GCG CAG AGC TCT TTT TCC ACC AGT  
Ser Glu His Ile Val Glu Arg Glu Ala Glu Ser Ser Phe Ser Thr Ser

573 CAC TAC ACT TCG ACA GGT GAT GAT TCC ACP ACT GTC ACT CAG ACT CCG  
His Tyr Thr Ser Thr Ala His Ser Thr Thr Val Thr Gln Thr Pro

721 AGT CAC AGC TGG AGC AAT GGA CAC ACT GAA AGC ATC ATT TCG GAA AGC  
Ser His Ser Tyr Ser Asn Gly His Thr Glu Ser Ile Ile Ser Glu Ser

769 CAC TCT GTC ATC GTG ATG TCA TCC GTA GAA AAC AGT AGG CAC AGC AGC  
His Ser Val Ile Val Met Ser Ser Val Glu Asn Ser Arg His Ser Ser

817 CCG ACT GGG GGC CCG AGA GGA CGT CTC AAT GGC TTG GGA GGC CCT CGT  
Pro Thr Gly Gly Pro Arg Gly Arg Leu Asn Gly Leu Gly Pro Arg

865 GAA TGT AAC AGC TTC CTC AGG CAT GCC AGA GAA ACC CCT GAC TCC TAC  
Glu Cys Asn Ser Phe Leu Arg His Ala Arg Glu Thr Pro Asp Ser Tyr

913 CGA GAC TCT CCT CAT AAT GAA AGA CAT AAC CTT ATA GCT GAG CTA AGG  
Arg Asp Ser Pro His Ser Glu Arg His Asn Leu Ile Ala Glu Leu Arg

961 AGA AAC AAG GCC CAC AGA TCC AAA TGC ATG CAG ATC CAG CTT TCC GCA  
Arg Asn Lys Ala His Arg Ser Lys Cys Met Gln Ile Gln Leu Ser Ala

1009 ACT CAT CTT AGA GCT TCT TCC ATT CCC CAT TGG GCT TCA TTC TCT AAG  
Thr His Leu Arg Ala Ser Ser Ile Pro His Tyr Ala Ser Phe Ser Lys

1057 ACC CCT TGG CCT TTA GCA AGG TAT GTA TCA GCA ATG ACC ACC CCG GCT  
Thr Pro Tyr Pro Leu Gly Arg Tyr Val Ser Ala Met Thr Thr Pro Ala

1105 CGT ATG TCA CCT GTA GAT TTC CAC ACG CCA AGC TCC CCC AAG TCA CCC  
Arg Met Ser Pro Val Asp Phe His Thr Pro Ser Ser Pro Lys Ser Pro

1153 CCT TCG GAA ATG TCC CCG CCC GTG TCC AGC ACG GTC TCC ATG CCC  
Pro Ser Glu Met Ser Pro Pro Val Ser Ser Thr Thr Val Ser Met Pro



GGFZBPP4-Nucleotid-Sequenz & abgeleitete Proteinsequenz

**FIG. 33C**

TCC ATG GCG GTC AGT CCC TTC GTC GAA GAG GAG AGA CCC CTG CTC CTT Ser Met Ala Val Ser Pro Phe Val Glu Glu Arg Pro Leu Leu Leu	1201
GAG ACG CCA CCA CCG CTG CGG GAG AAG TAT AAC CAC CAC GCC CAG CAA Val Thr Pro Pro Arg Leu Arg Glu Lys Tyr Asp His His Ala Gln Gln	1249
TTC AAC TCG TTC CAC TAC AAC CCC GCG CAT GAG AGC AAC AGC CTG CCG Phe Asn Ser Phe His Cys Asn Pro Ala His Glu Ser Asn Ser Leu Pro	1297
CCC AGC CCC TTG AGG ATA GTG GAG GAT GAG GAA TAT GAA ACC ACC CAG Pro Ser Pro Leu Arg Ile Val Glu Asp Glu Glu Tyr Glu Thr Thr Gln	1345
GAG TAC GAA CCA GCT CAA CAG CCC GGT AAG AAA CTC ACC AAC AGC AGC Glu Tyr Glu Pro Ala Gln Glu Pro Val Lys Lys Leu Thr Asn Ser Ser	1393
CGG CGG GGC AAA AGA ACC AAG CCC AAT GGT CAC ATT GGC CAC AGS TTG Arg Arg Ala Lys Arg Thr Lys Pro Asn Gly His Ile Ala His Arg Leu	1441
GAA ATG GAC AAC AAC ACA GGC GGT GAC AGC AGT AAC TCA GAG AGC GAA Glu Met Asp Asn Asn Thr Gly Ala Asp Ser Ser Asn Ser Glu Ser Glu	1489
ACA GAG GAT CAA AGA GTA GGA GAA GAT ACG CTT TTC CTG GCC ATA CAG Thr Glu Asp Glu Arg Val Gly Glu Asp Thr Pro Phe Leu Ala Ile Gln	1537
AAC CCC CTG GCA GCC AGT CTC GAG GCG GCG GCT GCC TTC GCG CAG GTC Asn Pro Leu Ala Ala Ser Leu Glu Ala Ala Pro Ala Phe Arg Leu Val	1585
GAC AGC AGG ACT AAC CCA ACA GGC GGC TTC TCT CCG CAG GAA GAA TTG Asp Ser Arg Thr Asn Pro Thr Gly Gly Phe Ser Pro Gln Glu Glu Leu	1633
CAG GCC AGG CTC TCC GGT GTA ATC GCT AAC CAA GAC CCT ATC CCT GTC Gln Ala Arg Leu Ser Gly Val Ile Ala Asn Gln Asp Pro Ile Ala Val	1681
TAAACCCGAA ATACACCCCAT AGATTCACCT GTAAACCTTT ATTATATATA ATAAAGTACT CCACCTTAAA TTAACACAAA AAA	1741 1764

# FIG. 34

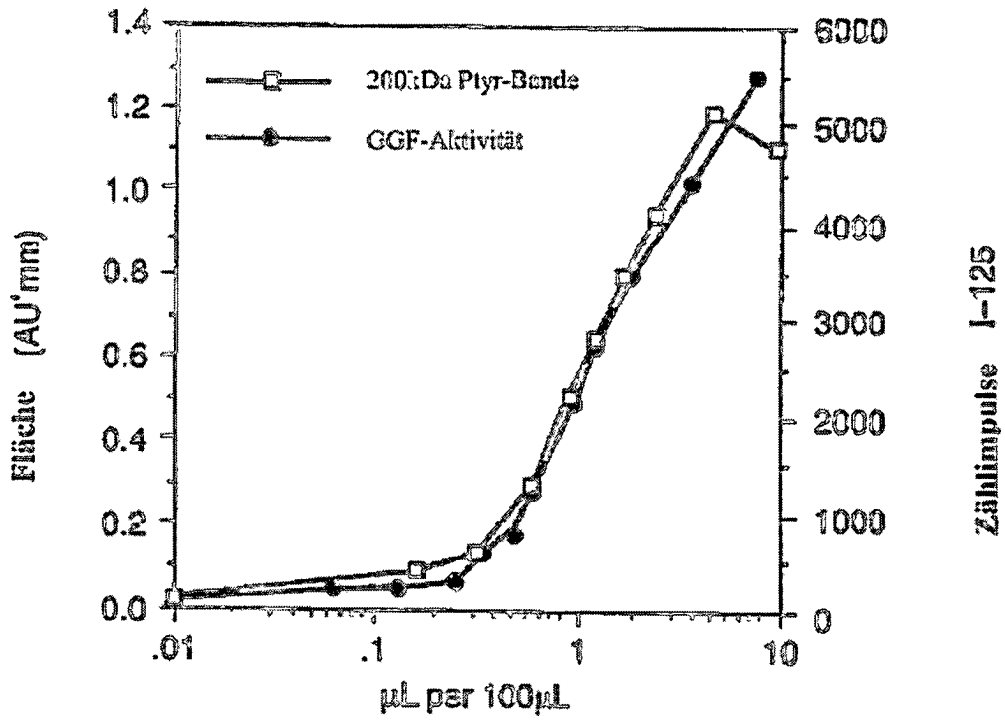
```

* * * * *
GGF2bPP5 (SEQ ID NO: 147) KCAEKEKTFVCNGGECFENVKIDLSNPSRYLCKKCENEFTGDRCCQNTVMASFY
GGF2bPP4 (SEQ ID NO: 148) KCAEKSKEKTFVCVNGGDCFENVKIDLSNPSRYLCKKCEGFTGARCCTENVVPMKVQ
bEGF (SEQ ID NO: 149) ECLNRYKDFCIH-GECKYVKELRAPS---CKCQQLYFGERCCEKSNKTHS

```

# FIG. 35

200 kDa Tyrosin-Phosphorylierung  
verglichen mit mitogener Aktivität



**FIG. 36A****GGF/Heregulin-Spleißvarianten**

F-B-A'

F-B-A-C-C/D-D  
 F-D-A-C-C/D-H  
 F-B-A-C-C/D-H-L  
 F-B-A-C-C/D-H-K-L  
 F-B-A-C-C/D-D'-H  
 F-B-A-C-C/D-D'-H-L  
 F-B-A-C-C/D-D'-H-K-L  
 F-B-A-C-C/D'-D  
 F-B-A-C-C/D'-H  
 F-D-A-C-C/D'-H-L  
 F-B-A-C-C/D'-H-K-L  
 F-B-A-C-C/D'-D'-H  
 F-B-A-C-C/D'-D'-H-L  
 F-B-A-C-C/D'-D'-H-K-L  
 F-B-A-C-C/D-C/D'-D  
 F-D-A-C-C/D-C/D'-H  
 F-B-A-C-C/D-C/D'-H-L  
 F-B-A-C-C/D-C/D'-H-K-L  
 F-B-A-C-C/D-C/D'-D'-H  
 F-B-A-C-C/D-C/D'-D'-H-L  
 F-B-A-C-C/D-C/D'-D'-H-K-L

F-B-A-G-C-C/D-D  
 F-D-A-G-C-C/D-H  
 F-B-A-G-C-C/D-H-L  
 F-B-A-G-C-C/D-H-K-L  
 F-B-A-G-C-C/D-D'-H  
 F-B-A-G-C-C/D-D'-H-L  
 F-B-A-G-C-C/D-D'-H-K-L  
 F-B-A-G-C-C/D'-D  
 F-B-A-G-C-C/D'-H  
 F-B-A-G-C-C/D'-H-L  
 F-B-A-G-C-C/D'-H-K-L  
 F-B-A-G-C-C/D'-D'-H  
 F-B-A-G-C-C/D'-D'-H-L  
 F-B-A-G-C-C/D'-D'-H-K-L  
 F-B-A-G-C-C/D-C/D'-D  
 F-B-A-G-C-C/D-C/D'-H  
 F-B-A-G-C-C/D-C/D'-H-L  
 F-D-A-G-C-C/D-C/D'-H-K-L  
 F-B-A-G-C-C/D-C/D'-D'-H  
 F-B-A-G-C-C/D-C/D'-D'-H-L  
 F-B-A-G-C-C/D-C/D'-D'-H-K-L

F-E-B-A'

F-E-B-A-C-C/D-D  
 F-E-B-A-C-C/D-H  
 F-E-B-A-C-C/D-H-L  
 F-E-B-A-C-C/D-H-K-L  
 F-E-B-A-C-C/D-D'-H  
 F-E-B-A-C-C/D-D'-H-L  
 F-E-B-A-C-C/D-D'-H-K-L  
 F-E-B-A-C-C/D'-D  
 F-E-B-A-C-C/D'-H  
 F-E-B-A-C-C/D'-H-L  
 F-E-B-A-C-C/D'-H-K-L  
 F-E-B-A-C-C/D'-D'-H  
 F-E-B-A-C-C/D'-D'-H-L  
 F-E-B-A-C-C/D'-D'-H-K-L  
 F-E-B-A-C-C/D-C/D'-D  
 F-E-B-A-C-C/D-C/D'-H  
 F-E-B-A-C-C/D-C/D'-H-L  
 F-E-B-A-C-C/D-C/D'-H-K-L  
 F-E-B-A-C-C/D-C/D'-D'-H  
 F-E-B-A-C-C/D-C/D'-D'-H-L  
 F-E-B-A-C-C/D-C/D'-D'-H-K-L

F-E-B-A-G-C-C/D-D  
 F-E-B-A-G-C-C/D-H  
 F-E-B-A-G-C-C/D-H-L  
 F-E-B-A-G-C-C/D-H-K-L  
 F-E-B-A-G-C-C/D-D'-H  
 F-E-B-A-G-C-C/D-D'-H-L  
 F-E-B-A-G-C-C/D-D'-H-K-L  
 F-E-B-A-G-C-C/D'-D  
 F-E-B-A-G-C-C/D'-H  
 F-E-B-A-G-C-C/D'-H-L  
 F-E-B-A-G-C-C/D'-H-K-L  
 F-E-B-A-G-C-C/D'-D'-H  
 F-E-B-A-G-C-C/D'-D'-H-L  
 F-E-B-A-G-C-C/D'-D'-H-K-L  
 F-E-B-A-G-C-C/D-C/D'-D  
 F-E-B-A-G-C-C/D-C/D'-H  
 F-E-B-A-G-C-C/D-C/D'-H-L  
 F-E-B-A-G-C-C/D-C/D'-H-K-L  
 F-E-B-A-G-C-C/D-C/D'-D'-H  
 F-E-B-A-G-C-C/D-C/D'-D'-H-L  
 F-E-B-A-G-C-C/D-C/D'-D'-H-K-L

# FIG. 36B

## GGF/Heregulin-Spleißvarianten

E-B-A'

- E-B-A-C-C/D-D
- E-B-A-C-C/D-H
- E-B-A-C-C/D-H-L
- E-B-A-C-C/D-H-K-L
- E-B-A-C-C/D-D'-H
- E-B-A-C-C/D-D'-H-L
- E-B-A-C-C/D-D'-H-K-L
- E-B-A-C-C/D'-D
- E-B-A-C-C/D'-H
- E-B-A-C-C/D'-H-L
- E-B-A-C-C/D'-H-K-L
- E-B-A-C-C/D'-D'-H
- E-B-A-C-C/D'-D'-H-L
- E-B-A-C-C/D'-D'-H-K-L
- E-B-A-C-C/D-C/D'-D
- E-B-A-C-C/D-C/D'-H
- E-B-A-C-C/D-C/D'-H-L
- E-B-A-C-C/D-C/D'-H-K-L
- E-B-A-C-C/D-C/D'-D'-H
- E-B-A-C-C/D-C/D'-D'-H-L
- E-B-A-C-C/D-C/D'-D'-H-K-L

- E-B-A-G-C-C/D-D
- E-B-A-G-C-C/D-H
- E-B-A-G-C-C/D-H-L
- E-B-A-G-C-C/D-H-K-L
- E-B-A-G-C-C/D-D'-H
- E-B-A-G-C-C/D-D'-H-L
- E-B-A-G-C-C/D-D'-H-K-L
- E-B-A-G-C-C/D'-D
- E-B-A-G-C-C/D'-H
- E-B-A-G-C-C/D'-H-L
- E-B-A-G-C-C/D'-H-K-L
- E-B-A-G-C-C/D'-D'-H
- E-B-A-G-C-C/D'-D'-H-L
- E-B-A-G-C-C/D'-D'-H-K-L
- E-B-A-G-C-C/D-C/D'-D
- E-B-A-G-C-C/D-C/D'-H
- E-B-A-G-C-C/D-C/D'-H-L
- E-B-A-G-C-C/D-C/D'-H-K-L
- E-B-A-G-C-C/D-C/D'-D'-H
- E-B-A-G-C-C/D-C/D'-D'-H-L
- E-B-A-G-C-C/D-C/D'-D'-H-K-L

# FIG. 37

## EGFL1

```

(SEQ ID NO: 150)  AGC CAT CTT GTC AAG TGT GCA GAG AAG GAG AAA ACT TTC TGT GTG AAT   48
                  Ser His Leu Val Lys Cys Ala Glu Lys Glu Lys Thr Phe Cys Val Asn
GGA CCC GAG TGC TTC ATG GTC AAA GAC CTT TCA AAT CCC TCA AGA TAC   56
Gly Gly Glu Cys Phe Met Val Lys Asp Leu Ser Asp Pro Ser Arg Tyr
TTG TGC AAG TGC CCA AAT GAG TTT ACT ACT GAT CGC TGC CAA AAC TAC   144
Leu Cys Lys Cys Pro Asp Glu Phe Thr Gly Asp Arg Cys Glu Asn Tyr
GTA ATG GCC AGC TTC TAC AGT ACG TCC ACT CCC TTT CTG TCT CTG CCT   192
Val Met Ala Ser Phe Tyr Ser Thr Ser Thr Pro Phe Met Ser Leu Pro
GAA TAG   198
Glu
    
```

**FIG. 38****EGFL2**

(SEQ ID NO: 151)	AGC	CAT	CTT	GTC	ARG	TGT	GCA	GRG	AAG	GAG	AAA	ACT	TTC	TGT	GTC	AAT	48
	SCR	HIS	LEU	VAL	LYS	CYS	ALA	GLU	LYS	GLU	LYS	THR	PHE	CYS	VAL	ASN	
	GGA	GCC	GAG	TGC	TTC	ATG	GGG	AAA	GAC	CCT	TCA	AAT	CCC	TCA	AGA	TAC	96
	GLY	GLY	GLU	CYS	PHE	MET	VAL	LYS	ASP	LEU	SER	ASN	PRO	SER	ARG	TYR	
	TTG	TGC	AAA	TGC	CAA	CCT	GGA	TTC	ACT	GGA	GCG	ACA	TGT	ACT	GAG	AAT	144
	LEU	CYS	LYS	CYS	GLN	PRO	GLY	PHE	THR	GLY	ALA	ARG	CYS	THR	GLU	ASN	
	GTG	CCC	ATG	AAA	GTC	CAA	ACC	CAA	GAA	AAA	GCG	GAG	GAG	CTC	TAC	TAA	192
	VAL	PRO	MET	LYS	VAL	GLN	THR	GLN	GLU	LYS	ALA	GLU	GLU	LEU	TYR		

**FIG. 39****EGFL3**

```

(SEQ ID NO: 152)  AGC CAT CTT GTC AAG TGT CCA GAG AAG GAG AAA AAT RCT TTC TGT GTG AAT      48
                  Ser His Leu Val Lys Cys Ala Glu Lys Glu Lys Thr Phe Cys Val Asn
GGA GGC GAG TGC TTC ATG GAG AAA GAC CTT TCA AAT CCC TCA ACA TAC      96
Gly Gly Glu Cys Phe Met Val Lys Asp Leu Ser Asn Pro Ser Arg Tyr
TTG TGC AAG TGC CCA AAT GAG TTT ACT GGT GAT CGC TGC CAA AAC TAC     144
Leu Cys Lys Cys Pro Asn Glu Phe Thr Gly Asp Arg Cys Gln Asn Tyr
GTA ATG GCC ACC TTC TAC AAA GCG GAG GAG CTC TAC TAA
Val Met Ala Ser Phe Tyr Lys Ala Glu Glu Leu Tyr     183

```



**FIG. 40**

**EGFL4**

(SEQ ID NO: 153)  
 AGC CAT CTT GTC AAG TGT GCA GAG AAG GAG GAG AAA ACT TTC TGT GTC AAT 48  
 Ser His Leu Val Lys Cys Ala Glu Lys Lys Glu Lys Thr Phe Cys Val Asn  
 GGA GGC GAG TGC TTC ATG GTC AAA GAC CTT TCA AAT CCC TCA AGA TAC 96  
 Gly Gly Glu Cys Phe Met Val Lys Asp Leu Ser Asn Pxo Ser Arg Cys  
 TTG TGC AAG TGC CCA AAT GAG TTT ACT GGT GAT CCC TGC CAA AAT TAC 144  
 Leu Cys Lys Cys Pro Asn Glu Phe Thr Gly Asp Arg Cys Gln Asn Tyr  
 GTA ATG GCC AGC TTC TAC AAG CRT CTT GGG ATT GAA TTT ATG GAG AAA 192  
 Val Met Ala Ser Phe Tyr Lys His Leu Gly Ile Glu Phe Met Glu Lys  
 GCG GAG GAG CTC TAC TAA 210  
 Ala Glu Glu Leu Tyr

**FIG. 41**

**EGFL5**

```

(SEQ ID NO: 154) AGC CAT CTT GTC AAG TGT GCA GAG AAG GAG GAG AAA ACT TTC TGT GTG AAT      48
Ser His Leu Val Lys Cys Ala Gln Lys Glu Lys Thr Phe Cys Val Asn
GGA GGC GAG TGC TTC ATG GTG AAA GAC CTT TCA AAT CCC TCA AGA TAC      96
GLY GLY Glu Cys Phe Met Val Lys Asp Leu Ser Asn Pro Ser Arg Tyr
TTG TGC AAG TGC CAA CCT GGA TTC ACT GGA GCG AGA TGT ACT GAG AAT      144
Leu Cys Lys Cys Gln Pro Gly Phe Thr Gly Ala Arg Cys Thr Glu Asn
GTG CCC ATG AAA GTC CAA ACC CAA GAA AAG TGC CCA AAT GAG TTT ACT
Val Pro Met Lys Val Gln Thr Gln Glu Lys Cys Pro Asn Glu Phe Thr
GTT GAT CGC TGC CAA AAC TAC GTA ATG GCC ACC TTC TAC AGT ACG TCC      192
GLY Asp Arg Cys Gln Asn Tyr Val Met Ala Ser Phe Tyr Ser Thr Ser
ACT CCC TTT CTG TCT CTG CCT GAA TAG      267
Thr Pro Phe Leu Ser Leu Pro Glu
    
```

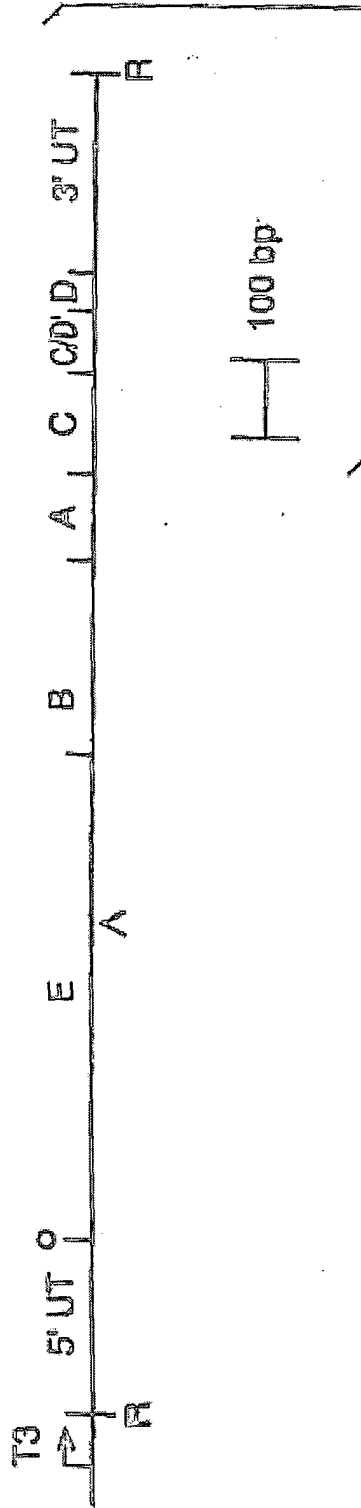
# FIG. 42

## EGFL6

```

(SEQ ID NO: 155 )  ASG CMT CTT GTC AAG TGT GCA GAG AAG GAG AAA ACT TTC TGT GAG AAT      48
                   SER HIS LEU VAL LYS CYS ALA GLU LYS LYS THR PHE CYS VAL ASN
GGG GGC GAG TGC TTC ATG ATG AAA GAC CTT TCA AAT CCC TCA AGA TAC      96
GLY GLY GLU CYS PHE MET VAL LYS ASP LEU SER ASN PRO SER ARG TYR
TTG TGC AAG TGC CAA CCT GGA TTC ACT GGA GCG AGA TGT ACT GAG AAT     144
LEU CYS LYS CYS GLN PRO GLY PHE THR GLY ALA ARG CYS THR GLU ASN
GTG CCC ATG AAA GTC CAA ACC CAA GAA AAG TGC CCA AAT GAG TTT ACT     192
VAL PRO MET LYS VAL GLN THR GLN GLU LYS CYS PRO ASN GLU PHE THR
GGT GAT CGC TGC CAA AAC TAC GTA ATG GCC ACC TTC TAC AAA CCG GAG     240
GLY ASP ARG CYS GLN ASN TYR VAL MET ALA SER PHE TYR LYS ALA GLU
GAG CTC TAC TAA
GLU LEU TYR
    
```

**FIG. 43**  
**GGF2HBS5**



**FIG. 44A**

Nucleotid-Sequenz & abgeleitete Aminosäure-Sequenz von GGF2HBSS

(SEQ ID NO: 21)	GCAATTCCTT TTTTWTWTZ TTTTTTCTT NNFTTWTTF TCCCTTATR CCTCTTCCGC	60
	TTTCTGTGGT TCCATCCACT TCTTCCCTT CCTCTTCTCA TAAACAACTC TCTTACCCCT	120
	UURCCCCAA TAAATAPATA AAAGRACGAG GGCATAGGSSG GAGGNGGAGG AGTGGTACTC	180
	CAAGGGGAG GAAAGGGRG GCATGCGCAG AAGAGCCGAG CAGAGTCCCA ACCGACAGCC	240
	AGAGGCCGC ACCCACCTCG CACC ATG AGA TGG CGA CCG GCC CCG CGC CGU Met Arg Trp Arg Arg Ala Pro Arg Arg	291
	TCC GGG CWT CCC GGC CCC GCG CAG CAC CCC GCC TCC GCC GCC GCC CCC Ser Gly Arg Pro Gly Pro Arg Ala Gln Arg Pro Gly Ser Ala Ala Arg	339
	TCC TCG CCG CCG CTG CTA CCA CTA CTG CTG CTG GGG ACC Ser Ser Pro Pro Leu Pro Leu Leu Pro Leu Leu Leu Leu Leu Gly Thr Val Cys Leu Leu Leu Thr Val GGF-II 09	387
	CCG GCC CTG GCG CCG GCG CCG GCG GGC ACC GAG GCG GCT CCC GCG Ala Ala Leu Ala Pro Gly Ala Ala Ala Gly Asn Glu Ala Ala Pro Ala Ala Ala Leu Pro Pro Thr	435
	GGG CCC TCG GTG TGC TAC TCG TCC CCG CCC ACC CTG GGA TCG GTG CAG Gly Ala Ser Val Cys Tyr Ser Ser Pro Pro Ser Val Gly Ser Val Gln Ala Ser Pro Val Ser Val Gly Ser Val Gln GGF-II 08	483
	GAG CTA GGT CAG CCG TCC GCG GTG CTG ATC GAG GGA AAG GTG CAC CCG Glu Leu Ala Gln Arg Ala Ala Val Val Ile Glu Gly Asn Val Asn Pro Glu Leu Val Gln Arg Trp Phe Val Val Ile Glu Gly Lys GGF-II 04	531

**FIG. 44B**

Nucleotid-Sequenz & abgeleitete Aminosäure-Sequenz von GGF2HBSS

<p>CAG CCG CCG CAG CAG GGG GCA CTC GAC AAG AAG CCG GCG GCG CCG GCG          Gln Arg Arg Gln Gln Gly Ala Leu Asp Arg Lys Ala Ala Ala Ala Ala</p> <p>GCC GAG GCA GGG CCG TGC GGC GGC GAT GGC GAG CCG CCA GCC GCG GCG          Gly Glu Ala Gly Ala Tyr Gly Gly Asp Arg Glu Pro Pro Ala Ala Gly</p> <p>CCA CCG GCG CTG GCG CCG CCC GGC GAG GAG CCG CTG CTC GGC GCC AAC          Pro Arg Ala Leu Gly Pro Pro Ala Glu Glu Pro Leu Leu Ala Ala Asn</p> <p>GGG ACC CTG CCC TCT TGG CCC ACC GGC CCG GTG CCC ACC GCC GGC GAG          Gly Thr Val Pro Ser Tyr Pro Thr Ala Pro Val Pro Ser Ala Gly Glu</p> <p>CCC GGG GAG GAG GCG CCC TAT CTG GTG AAG GTG CAC CAG GAG TGG CCG          Pro Gly Glu Glu Ala Pro Tyr Leu Val Lys Val His Glu Val Trp Ala          Lys Val His Glu Val Trp Ala          GGF-II 01 &amp; GGF-II 11</p> <p>GTG AAA GCC GGG CTG TTG AAG AAG GAC TCG CTG ACC GTC GGC CTG          Val Lys Ala Gly Gly Leu Lys Lys Asp Ser Leu Leu Thr Val Arg Leu          Ala Lys          Asp Leu Leu Leu Asn Val          GGF-II 10</p> <p>GGG ACC TGG GGC CAC CCC GGC TTC CCC TCC TGC GGG AAG CTC AAG GAG          Gly Thr Trp Gly His Pro Ala Phe Pro Ser Cys Gly Arg Leu Lys Glu          Gly Ala Tyr Gly Pro Pro Ala Phe Pro Val Xaa Tyr          GGF-II 03</p> <p>GAC ACC AAG TAC ATC TTC TTC ATG GAG CCC GAC GCC AAC ACC ACC AGC          Asp Ser Arg Tyr Ile Phe Phe Met Glu Pro Asp Ala Asn Ser Thr Ser          Tyr Ile Phe Phe Met Glu Pro Glu Ala Xaa Ser Ser Gly          GGF-II 02</p>	<p>979</p> <p>627</p> <p>675</p> <p>723</p> <p>771</p> <p>819</p> <p>867</p> <p>915</p>
--	---

# FIG. 44C

Nucleotid-Sequenz & abgeleitete Aminosäure-Sequenz von GGF2HBSS

CGC GCG CCG GCC GCC TTC CGA GCC TCT TTC CCC CCT CTG GAG ACG GGC Arg Ala Pro Ala Ala Phe Arg Ala Ser Phe Pro Pro Leu Glu Thr Gly	963
CGG AAC CTC AAG AAG GAG GTC AGC CGG GTG CTG TGC AAG CGG TGC GGC Arg Asn Leu Lys Lys Glu Val Ser Arg Val Leu Cys Lys Arg Cys Ala	1011
TTG CCT CCC CAA TTG AAA GAG AIG AAA AGC CAG GAA TCG CCT GCA GGT Leu Pro Pro Phe Glu Leu Lys Glu Met Lys Ser Gln Glu Ser Ala Ala Gly	1059
TCC AAA CTA GTC CTT CCG TGT GAA ACC AGT TCT GAA TAC TCC TCT CTC Ser Lys Leu Val Leu Arg Cys Glu Thr Ser Ser Glu Tyr Ser Ser Leu Leu Val Leu Arg	1107
GGF-II 06	
AGA TTC AAG TGG TTC AAG AAT GCG AAT GAA TTG AAT CGA AAA AAC AAA Arg Phe Lys Tyr Phe Lys Asn Gly Asn Glu Leu Asn Arg Lys Asn Lys	1155
CCA CAA AAT ATC AAG ATA CAA AAA AAG CCA GGG AAG TCA GAA CTT CGC Pro Gln Asn Ile Lys Ile Glu Lys Lys Pro Gly Lys Ser Glu Leu Arg	1203
ATT AAC AAA GCA TCA CTG CCT GAT TCT GGA GAG TAT AAG TGC AAA GTG Ile Asn Lys Ala Ser Leu Ala Asp Ser Gly Glu Tyr Met Cys Lys Val Lys Ala Ser Leu Ala Asp Ser Gly Glu Tyr Met Xaa Lys	1251
ATC AGC AAA TTA GGA AAT GAC AGT GCC TCT GCC AAT ATC ACC ATC GTG Ile Ser Lys Leu Gly Asn Asp Ser Ala Ser Ala Asn Ile Thr Ile Val	1299
GAA TCA AAC GGT ACA TCT ACA TCC ACC ACT GGG ACA AGC CAT CTT GTA Glu Ser Asn Ala Thr Ser Thr Ser Thr Gly Thr Ser His Leu Val	1347

# FIG. 44D

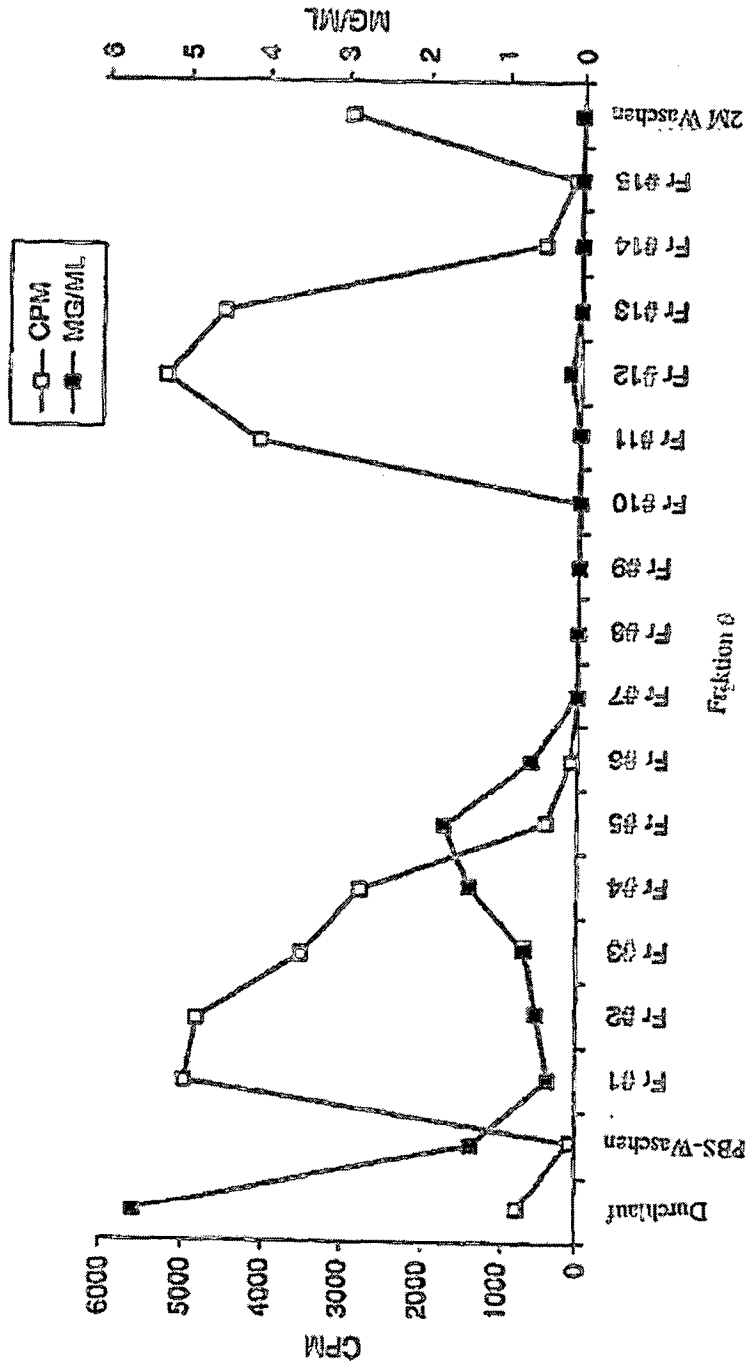
Nucleotid-Sequenz & abgeleitete Aminosäure-Sequenz von GGH2HBSS

AAA TGT GCG GAG AAG GAG AAA ACT TTC TGT GIG AAT GGA GGG GAG TGC	1395
Lys Cys Ala Glu Lys Glu Lys Thr Phe Cys Val Asn Gly Gly Glu Cys	
TTC ATG GTG AAA GAC CTT TCA AAC CCC TCG AGA TAC TTG TGC AAG TGC	1443
Phe Met Val Lys Asp Leu Ser Asn Pro Ser Arg Tyr Leu Cys Lys Cys	
CCA AAT CAG TTT ACT GGT GAT CGC TGC CAA AAC TAC GTA ATG GCC AGC	1491
Pro Asn Glu Phe Thr Gly Asp Arg Cys Gln Asn Tyr Val Met Ala Ser	
TTC TAC AGT ACG TCC ACT CCC TTT CTG TCT CIG CCF GAA	1530
Phe Tyr Ser Thr Ser Thr Pro Phe Leu Ser Leu Pro Glu	
TAGGAGCAAG CTCAGTTGGT GCTGCTTTCT TGTTCCTGCA TCCTCCCTCA GATCCACCT	1590
AGAGCTAGAT GTGCTTACC AGATCTAATA TTGACTGCCCT CTGCTGTTCG CATGAGAACA	1650
TTAACAAGA CAAATGTATTT ACTTCCTCTG TTAGGACTA GTTGGCTCTG AGATACTAAT	1710
AGGTGTGCA GCGTCCGGAT GTTTCCTGAA TTGATATGGA ATGAATGTGAT ACAAATTGAT	1770
AGTCATATC AAGCAGTGA AATGATTAAT AAAGGCATTT CAAAGCTCA CTTTTATGA	1830
TAAATAAAA ATCATCTAC TGRACAGTCC AACTTCCTTA TACAAGACC ACATCCTGAA	1890
AACGGTGTG CTAAGCTGTA ACCGATATGC ACTTQAPATG ATGGTAAGTT AATTTTGATT	1950
CAGAATGTGT TATTTGTCAC AAATAAACAT AATTAAGGA AAAAAAAAA AAA	2003

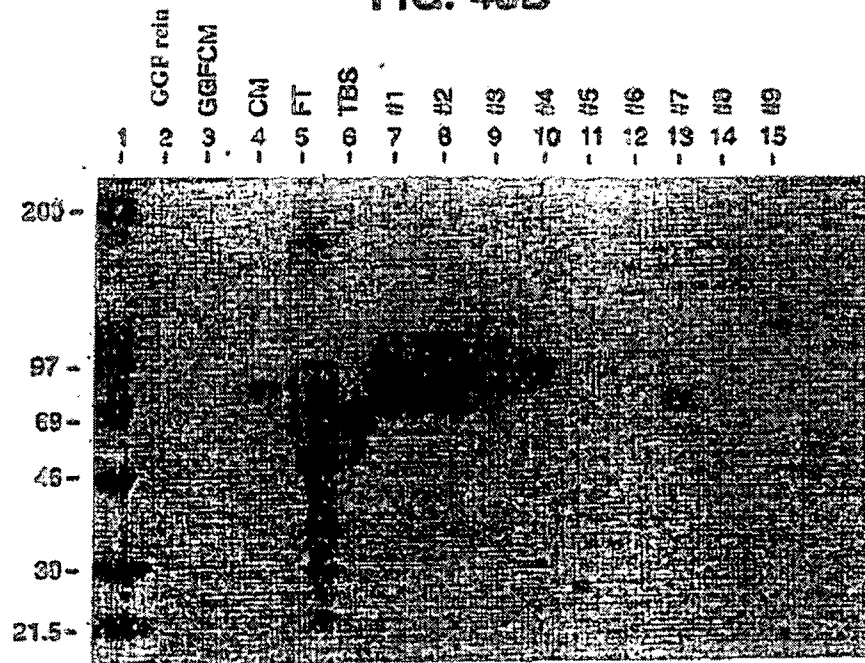


**FIG. 45A**

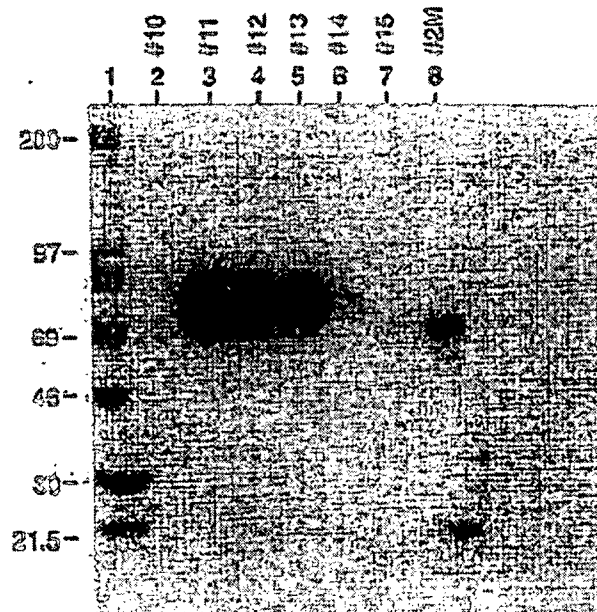
rGGF-Reinigung auf einer Kationenaustauschersäule



**FIG. 45B**



**FIG. 45C**



SEQ ID NO: 166 GGFHSS 1  
 1  
 MRVRRAPRRSGHPQPRARQREVSAAARSSPPLPLLLTLLTALAFCAAGAEAEAFAGAS

II-3 II-4 II-1 II-10  
 VCYSPPSVGSGELAQRIAVVLEKVVHFDRAQQCALDRKAAAGANGANGDREPPAA

121 GFRALGPPAEPLAARNGIVPSPPIAPVPEACEGEGEAPVYVHVQVWAVKAGGLKQDEL

181 LTVRLGTNGHPAFESCGRLEKEDSRYIFFMEPDMNETSRAPAFRASEPPLEKGRNLKKEY

241 SRVLCRRC.....ALPPQKEMKQESAAAGSK  
 O OMSERKEORNGKRGKNERGSGKPFESAAGSQSP R

268 II-6 II-18 III-14 III-11 I-7, II-12, III-13  
 LVLRCEYSSEYSLRPFNFANGNELNRQKFNKIQKFKGKSELINKASLADSGEYMC

328 K S S R S  
 III-12 5

354 KVTSKLGNDSASANTIVESN.....ATST'S  
 173 EITTKMPASTEGAYVSESPRISVTEGANTSSS  
 173 T T

6 III-15 8  
 TTGTSELVYKCAEKRYFCVNGGECFNVKDLGNPFRYLKACPFNEFTGDRCCQNYVRAFYST

9  
 STPELSLPE\*

FIG.46

abgeleitete Sequenzen von  
 menschlichem und bovinen  
 Clin-Wachstumsfaktoren

GGFHSS  
 SEQ ID NO:167 GGFHFI  
 SEQ ID NO:168 GGFHPS

FIG. 47

