



(19)
Bundesrepublik Deutschland
Deutsches Patent- und Markenamt

(10) **DE 691 29 990 T3** 2006.07.13

(12) **Übersetzung der geänderten europäischen Patentschrift**

(97) **EP 0 556 207 B2**

(21) Deutsches Aktenzeichen: **691 29 990.0**

(86) PCT-Aktenzeichen: **PCT/GB91/01826**

(96) Europäisches Aktenzeichen: **91 918 343.4**

(87) PCT-Veröffentlichungs-Nr.: **WO 1992/007076**

(86) PCT-Anmeldetag: **18.10.1991**

(87) Veröffentlichungstag
der PCT-Anmeldung: **30.04.1992**

(97) Erstveröffentlichung durch das EPA: **25.08.1993**

(97) Veröffentlichungstag
der Patenterteilung beim EPA: **12.08.1998**

(97) Veröffentlichungstag
des geänderten Patents beim EPA: **16.11.2005**

(47) Veröffentlichungstag im Patentblatt: **13.07.2006**

(51) Int Cl.⁸: **C12N 15/12 (2006.01)**

C07K 14/00 (2006.01)

A61K 38/00 (2006.01)

(30) Unionspriorität:
9022648 18.10.1990 GB

(73) Patentinhaber:
Synovis Ltd., London, GB

(74) Vertreter:
**Rechts- und Patentanwälte Lorenz Seidler Gossel,
80538 München**

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

(72) Erfinder:
**FELDMANN, Marc The Charing Cross Sunley,
Hammersmith London W6 8LW, GB; GRAY,
Patrick, William Icos Corporation, Bothell, WA
98021, US; TURNER, Martin, J. C. H. Hughes Med.
Inst. Univer, Ann Arbor, MI 48109, US; BRENNAN,
Fionula, Mary The Charing Cross, Hammersmith
London W6 8LW, GB**

(54) Bezeichnung: **MODIFIZIERTER MENSCHLICHER TUMORNEKROSISFAKTOR-ALPHA-REZEPTOR**

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 rekombinante Proteine und ihre Verwendung.

[0002] Tumor-Nekrose-Faktor- α (TNF α) ist ein wirkungsvolles Cytokin, welches ein breites Spektrum an biologischen Antworten hervorruft. TNF α verursacht die Cytolyse oder Cytostase von vielen Tumorzelllinien in vitro, induziert die hämorrhagische Nekrose von transplantierten Tumoren in Mäusen, steigert die Phagozytose und Cytotoxizität von polymorphkernigen Neutrophilen und moduliert die Expression von vielen Proteinen, einschließlich Lipoproteinlipase, Klasse-I-Antigenen des Haupt-Histokompatibilitätskomplexes und Cytokinen, wie Interleukin 1 und Interleukin 6. TNF α scheint für eine normale Immunantwort notwendig zu sein, jedoch erzeugen große Mengen dramatische pathogene Wirkungen. TNF α wurde als "Cachectin" bezeichnet, da es der vorherrschende Faktor ist, der für das Auszehrungs-Syndrom (Kachexie), das mit neoplastischer Erkrankung und Parasitämie in Verbindung steht, verantwortlich ist. TNF trägt ebenfalls hauptsächlich zur Toxizität bei gramnegativer Sepsis bei, da Antikörper gegen TNF infizierte Tiere schützen können.

[0003] Die vielen Aktivitäten von TNF α werden durch das Binden an einen Zelloberflächenrezeptor vermittelt. Radioliganden-Bindungsstudien haben die Anwesenheit von TNF-Rezeptoren auf einer großen Vielzahl von Zelltypen bestätigt. Obgleich diese Rezeptoren in einer begrenzten Anzahl (1000–10 000 Rezeptoren/Zelle) exprimiert werden, binden sie TNF α mit hoher Affinität ($K_a = 10^9 \text{ M}^{-1}$ bei 4°C). Lymphotoxin (LT, ebenfalls als TNF β bezeichnet) besitzt ähnliche, wenn nicht identische biologische Aktivitäten zu TNF α , wahrscheinlich, da sie beide von dem gleichen Rezeptor erkannt werden.

[0004] Kürzlich haben mehrere Laboratorien Heterogenität in TNF-Rezeptorpräparationen nachgewiesen. Zwei unterschiedliche Zelloberflächenrezeptoren, welche TNF α und TNF β binden, sind kürzlich auf molekularem Niveau charakterisiert worden. cDNA für eine Form des Rezeptors mit einem Mr von 55 kD wurde isoliert, und zwar unter Anwendung von Sonden, die aus der Peptidsequenz einer löslichen Form des Rezeptors (1, 2) entworfen wurden. Ein zweiter Rezeptor mit einem Mr von 75 kD wurde mittels eines COS-Zell-Expressionsvorgehens kloniert (3). Beide Rezeptoren sind Vertreter einer größeren Familie von Zytokin-Rezeptoren, welche den Nervenwachstumsfaktor-Rezeptor, das B-Zell-Antigen CD40 sowie das Ratten-T-Zell-Antigen MRC OX40 einschließen. Darüber hinaus sind diese Rezeptoren zu dem vorhergesagten Produkt eines transkriptionell aktiven offenen Leserasters aus dem Shope-Fibroma-Virus homolog, welcher zu einem sezernierten Protein zu führen scheint.

[0005] Das am stärksten konservierte Merkmal unter dieser Gruppe von Zelloberflächenrezeptoren ist die cysteinreiche extrazelluläre Liganden-Bindungsdomäne, welche in vier sich wiederholende Motive von etwa vierzig Aminosäuren eingeteilt werden kann. Wir haben nun vier lösliche Rezeptorderivate des 55kD-TNF α -Rezeptors (TNFR) erzeugt. Jedes Derivat besteht aus der extrazellulären Bindungsdomäne, jedoch ohne eine der cysteinreichen Subdomänen. Wir haben festgestellt, dass das Derivat, welchem die zur Membran proximale vierte Subdomäne fehlt, die Fähigkeit beibehält, TNF α mit hoher Affinität zu binden. Diese Feststellung findet allgemeine Anwendbarkeit.

[0006] Demzufolge stellt die folgende Erfindung ein Polypeptid bereit, welches in der Lage ist, humanen TNF α zu binden, und welches aus folgendem besteht:

- (a) der Aminosäuresequenz der drei ersten cysteinreichen Subdomänen der extrazellulären Bindungsdomäne des 55kD-Rezeptors für humanen TNF α ; oder
- (b) einer Aminosäuresequenz mit einer Homologie von 90% oder mehr zur Sequenz (a);

wobei dem Polypeptid die vierte cysteinreiche Subdomäne des Rezeptors fehlt.

[0007] Die Erfindung sieht ebenfalls folgendes vor:

- eine DNA-Sequenz, welche ein solches Polypeptid codiert;
- einen Vektor, welcher eine DNA-Sequenz der Erfindung beinhaltet und welcher in der Lage ist, das Polypeptid der Erfindung, das von der DNA-Sequenz codiert wird, zu exprimieren, wenn er in einem transformierten Wirt vorgesehen wird; und ein Wirt, der mit einem solchen Vektor transformiert ist.

[0008] In den begleitenden Zeichnungen:

zeigt die [Fig. 1](#) die Nucleotidsequenz der humanen TNF α -cDNA (SEQ ID Nr.: 24) und die codierte Aminosäuresequenz (SEQ ID Nr.: 25). Die vorhergesagten Signalsequenzreste sind mit –40 bis –1 numeriert. Die Transmembrandomäne ist eingerahmt und mögliche N-verknüpfte Glycosylierungsstellen sind oberhalb mit einem Strich versehen. Die mit der entworfenen Oligonucleotidsonde homologe Sequenz findet sich an den Nucleo-

tidpositionen 477–533.

[0009] **Fig. 2** ist ein Northern-Blot (Spuren 1–3) von 10 µg Oligo-dT-selektierter RNA aus humanen 293-Zellen (Fibroblastenzelllinie) (Spur 1), Placenta (Spur 2) und Milz (Spur 3), hybridisiert mit der TNF-Rezeptor-cDNA (Sma1-EcoRI-Fragment). Der Southern-Blot (Spuren 4–6) wurde mit der gleichen Sonde hybridisiert. Humane genomische DNA (5 µg pro Spur) wurde mit Pst1 (Spur 4), Hind III (Spur 5) und EcoRI (Spur 6) verdaut.

[0010] **Fig. 3** zeigt die Bindungscharakteristika von rekombinantem humanem TNF-Rezeptor, welcher in COS-7-Zellen exprimiert wurde. Die direkte Bindung von rekombinantem ¹²⁵I-TNFα an COS-7-Zellen, welche mit prTNFR transfiziert sind, ist in Diagramm A dargestellt. Das eingebundene Diagramm enthält eine Scatchard-Analyse, die sich aus diesen Daten ableitet. Wie in Diagramm B gezeigt, wurden Monoschichten von Cos-7-Zellen, die mit TNFR-cDNA transfiziert waren, mit 1 nM ¹²⁵I-TNF in Gegenwart von verschiedenen Konzentrationen an nicht markiertem TNFα oder TNFβ inkubiert.

[0011] **Fig. 4** zeigt die Effekte von löslichem TNFR auf die TNFα-Bindung und biologische Aktivität. Das Diagramm A zeigt die Effekte von Überständen von Cos-7-Zellen, die mit einer cDNA transfiziert waren, welche für eine lösliche Form des TNF-Rezeptors (pTNFR_{ecd}, gefüllte Kreise) codierte, oder pseudo-transfiziert (offene Kreise) waren, auf die ¹²⁵I-TNF-Bindung an U937-Zellen. Das Diagramm B zeigt die Effekte dieser Überstände auf die TNF-vermittelte Abtötung der WEHI 164(Klon 13)-Linie. Assays wurden wie in Materialien und Methoden beschrieben durchgeführt.

[0012] **Fig. 5** ist ein Diagramm der DNA-Sequenz von pTNFR_{ecd} und stellt ebenfalls einen Strategieplan für die auf Polymerasekettenreaktion (PCR) basierende Domänen-deletion dar, wobei 5'UTR die 5'-untranslatierte Region ist und I bis IV die vier cysteinreichen Subdomänen sind. Die in der PCR in dem Beispiel verwendeten Oligonucleotide und relevante Restriktionsstellen sind ebenfalls gezeigt.

[0013] **Fig. 6** zeigt aufgereiht die Aminosäuresequenzen der vier cysteinreichen Subdomänen der 55kD(TNFR-55)- und 75kD(TNFR-75)-Rezeptoren und von Ratten-Nervenwachstumsfaktorrezeptor (NGFR), humanem CD40 und Ratten-OX40. Homologie wird durch Einrahmungen gezeigt.

[0014] Die **Fig. 7** bis **Fig. 11** zeigen die Nucleotidsequenz und die vorausgesagte Aminosäuresequenz des codierten Polypeptids von pTNFR_{ecd}, pΔI, pΔII, pΔIII und pΔIV.

[0015] **Fig. 12** zeigt die Ergebnisse der in Beispiel 1 beschriebenen Assays.

[0016] Ein Polypeptid gemäß der Erfindung ist in der Lage, humanen TNFα zu binden. Typischerweise besitzt das Polypeptid eine Bindungsaffinität für humanen TNFα von 10⁷ M⁻¹ oder mehr, zum Beispiel 10⁸ M⁻¹ oder mehr. Die Affinität kann zwischen 10⁷ und 10¹⁰ M⁻¹, zum Beispiel von 10⁸ bis 10⁹ M⁻¹ liegen.

[0017] Ein bevorzugtes Polypeptid besteht aus den ersten drei cysteinreichen Subdomänen der extrazellulären Bindungsdomäne des 55kD-Rezeptors für humanen TNFα. Die Sequenz (a1) dieser drei Subdomänen ist folgende:

| | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|-----------------|
| | | | | | | | | | | | | | | V | C | P | Q | G | |
| K | Y | I | H | P | Q | N | N | S | I | C | C | T | K | C | H | K | G | T | Y |
| L | Y | N | D | C | P | G | P | G | Q | D | T | D | C | R | E | C | E | S | G |
| S | F | T | A | S | E | N | H | L | R | H | C | L | S | C | S | K | C | R | K |
| E | M | G | Q | V | E | I | S | S | C | T | V | D | R | D | T | V | C | G | C |
| R | K | N | Q | Y | R | H | Y | W | S | E | N | L | F | Q | C | F | N | C | S |
| L | C | L | N | G | T | V | H | L | S | C | Q | E | K | Q | N | T | V | C | (SEQ ID Nr.: 4) |

[0018] Ein brauchbares Polypeptid weist die folgende Aminosäuresequenz (c) auf:

M G L S T V P D L L L P L V L L E L L V
 G I Y P S G V I G L V P H L G D R E K R
 D S V C P Q G K Y I H P Q N N S I C C T
 K C H K G T Y L Y N D C P G P G Q D T D
 C R E C E S G S F T A S E N H L R H C L
 S C S K C R K E M G Q V E I S S C T V D
 R D T V C G C R K N Q Y R H Y W S E N L
 F Q C F N C S L C L N G T V H L S C Q E
 K Q N T V C T (SEQ ID Nr.: 2).

[0019] Abgesehen von der Aminosäuresequenz (a) können die Polypeptide alternativ aus einer Aminosäuresequenz (b) bestehen, die eine Homologie von 90% oder mehr mit der Sequenz (a) besitzt. Der Grad der Homologie kann 95% oder mehr oder 98% oder mehr betragen. Die Aminosäuresequenz (a) kann deshalb durch eine oder mehrere Aminosäuresubstitutionen, -insertionen und/oder -deletionen und/oder durch eine Verlängerung an einem der beiden Enden oder an jedem Ende modifiziert werden. Gleichwohl sollte keine Modifizierung der Cysteinreste vorliegen. Ein die Sequenz (b) umfassendes Polypeptid muß natürlich noch in der Lage sein, humanen TNF α zu binden.

[0020] Zum Beispiel können ein oder mehrere Aminosäurereste der Sequenz (a), die kein Cysteinrest sind, substituiert oder deletiert werden, oder ein oder mehrere zusätzliche Aminosäurereste können inseriert werden; vorausgesetzt, dass der physikochemische Charakter der ursprünglichen Sequenz beibehalten bleibt, d.h. hinsichtlich der Ladungsdichte, Hydrophobizität/Hydrophilizität, Größe und Konfiguration. Konservative Substitutionen können vorgenommen werden. Mögliche Substitutionen sind, basierend auf dem Ein-Buchstaben-Code (Eur. J. Biochem. 138, 9–37, 1984), die folgenden:

A für G und umgekehrt;

V durch A, L oder G;

K durch R;

S durch T und umgekehrt;

E für D und umgekehrt; und

Q durch N und umgekehrt.

[0021] Die Polypeptide der Erfindung bestehen aus der Sequenz (a) oder (b). Sie enthalten keine vierte cysteinreiche Subdomäne.

[0022] Den Polypeptiden der Erfindung fehlt die vierte cysteinreiche Subdomäne des 55kD-Rezeptors. Insbesondere fehlen ihnen die Cysteinreste der vierte Subdomäne. Deshalb beinhalten sie, direkt nach der dritten cysteinreichen Subdomäne, nichts von der Aminosäuresequenz bis zu dem letzten Cysteinrest der vierten cysteinreichen Subdomäne des relevanten Rezeptors.

[0023] Die Polypeptide sind typischerweise rekombinante Polypeptide, obgleich sie durch synthetische Verfahren, wie durch Festphasen- oder Lösungsphasen-Polypeptidsynthese, hergestellt werden können, wobei in diesem Falle ein automatischer Peptid-Synthesizer zur Anwendung kommen kann. Sie können deshalb mit einem N-terminalen Rest M beginnen. Sie werden durch die rekombinante DNA-Technologie hergestellt. Die Herstellung der Polypeptide hängt deshalb von der Bereitstellung einer das Polypeptid codierenden DNA-Sequenz ab. Eine geeignete Sequenz, welche die ersten drei cysteinreichen Subdomänen der extrazellulären Bindungsdomäne des 55kD-Rezeptors codiert, umfasst:

GTG TGT CCC CAA GGA

AAA TAT ATC CAC CCT CAA AAT AAT TCG ATT TGC TGT ACC AAG TGC
CAC AAA GGA ACC TAC TTG TAC AAT GAC TGT CCA GGC CGG GGG CAG
GAT ACG GAC TGC AGG GAG TGT GAG AGC GGC TCC TTC ACC GCT TCA
GAA AAC CAC CTC AGA CAC TGC CTC AGC TGC TCC AAA TGC CGA AAG
GAA ATG GGT CAG GTG GAG ATC TCT TCT TGC ACA GTG GAC CGG GAC
ACC GTG TGT GGC TGC AGG AAG AAC CAG TAC CGG CAT TAT TGG AGT
GAA AAC CTT TTC CAG TGC TTC AAT TGC AGC CTC TGC CTC AAT GGG
ACC GTG CAC CTC TCC TGC CAG GAG AAA CAG AAC ACC GTG TGC (SEQ ID Nr.: 3).

[0024] Eine DNA-Sequenz kann ferner eine DNA-Sequenz beinhalten, die für eine Signalsequenz codiert, welche an das 5'-Ende der codierenden Sequenz angeheftet ist. Jedwede Signalsequenz kann geeignet sein. Die Signalsequenz sollte in der Lage sein, die Sekretion des Polypeptids der Erfindung aus der Zelle zu lenken, in welcher das Polypeptid exprimiert wird. Die Signalsequenz kann die natürliche Signalsequenz für den 55kD-TNF α -Rezeptor sein. Eine geeignete DNA-Sequenz, welche die ersten drei cysteinreichen Subdomänen der extrazellulären Bindungsdomäne des 55kD-Rezeptors und eine solche Signalsequenz codiert, ist deshalb:

ATG GGC CTC TCC ACC GTG CCT GAC CTG CTG CTG CCG

CTG GTG CTC CTG GAG CTG TTG GTG GGA ATA TAC CCC TCA GGG GTT
ATT GGA CTG GTC CCT CAC CTA GGG GAC AGG GAG AAG AGA GAT AGT
GTG TGT CCC CAA GGA AAA TAT ATC CAC CCT CAA AAT AAT TCG ATT

TGC TGT ACC AAG TGC CAC AAA GGA ACC TAC TTG TAC AAT GAC TGT
CCA GGC CCG GGG CAG GAT ACG GAC TGC AGG GAG TGT GAG AGC GGC
TCC TTC ACC GCT TCA GAA AAC CAC CTC AGA CAC TGC CTC AGC TGC
TCC AAA TGC CGA AAG GAA ATG GGT CAG GTG GAG ATC TCT TCT TGC
ACA GTG GAC CGG GAC ACC GTG TGT GGC TGC AGG AAG AAC CAG TAC
CGG CAT TAT TGG AGT GAA AAC CTT TTC CAG TGC TTC AAT TGC AGC
CTC TGC CTC AAT GGG ACC GTG CAC CTC TCC TGC CAG GAG AAA CAG
AAC ACC GTG TGC ACC (SEQ ID Nr.: 1).

[0025] Eine DNA-Sequenz, die ein Polypeptid der Erfindung codiert, kann synthetisiert werden. Alternativ kann sie konstruiert werden, indem eine DNA-Sequenz, die den 55kD- oder 75kD-Rezeptor codiert, aus einer Gen-Bibliothek isoliert wird und DNA stromabwärts der codierenden Sequenz für die ersten drei cysteinreichen Subdomänen der extrazellulären Bindungsdomäne des Rezeptors deletiert wird. Dies führt zu DNA, welche die ersten drei Subdomänen jedes Rezeptors codiert. Als ein Zwischenschritt kann DNA, welche die gesamte oder fast die gesamte extrazelluläre Bindungsdomäne codiert, isoliert werden und verdaut werden, um DNA stromabwärts der codierenden Sequenz für die ersten drei Subdomänen zu entfernen.

[0026] Eine modifizierte Nucleotidsequenz, die zum Beispiel eine Aminosäuresequenz (b) codiert, kann erhalten werden durch die Verwendung einer geeigneten Technik, einschließlich der Restriktion mit einer Endonuclease, der Insertion von Linkern, der Verwendung einer Exonuclease und/oder einer Polymerase und ortsspezifischer Mutagenese. Ob eine modifizierte DNA-Sequenz ein Polypeptid der Erfindung codiert, kann leicht festgestellt werden. Das durch die Sequenz codierte Polypeptid kann in einem geeigneten Wirt exprimiert und auf seine Fähigkeit hin getestet werden, spezifisch an humanen TNF α zu binden.

[0027] Für die Expression eines Polypeptids der Erfindung wird ein Expressionsvektor konstruiert. Ein Expressionsvektor wird hergestellt, welcher eine DNA-Sequenz, die ein Polypeptid der Erfindung codiert, umfasst, und welcher in der Lage ist, das Polypeptid zu exprimieren, wenn er in einem geeigneten Wirt vorgesehen wird. Passende transkriptionelle und translationale Kontrollelemente werden vorgesehen, einschließlich eines Promotors für die DNA-Sequenz, einer transkriptionellen Terminationsstelle und translationalen Start- und Stopcodons. Die DNA-Sequenz wird in dem korrekten Raster vorgesehen, so dass die Expression des Po-

lypeptids in einem Wirt, der mit dem Vektor kompatibel ist, stattfinden kann.

[0028] Der Expressionsvektor wird dann in einem passenden Wirt vorgesehen. Zellen, die den Vektor beherbergen, werden wachsen gelassen, so dass das Stattfinden der Expression ermöglicht wird. Der Vektor kann ein Plasmid oder ein viraler Vektor sein. Jedwedes angemessene Wirt-Vektor-System kann zur Anwendung kommen.

[0029] Der transformierte Wirt kann ein prokaryotischer oder eukaryotischer Wirt sein. Ein bakterieller oder Hefewirt kann verwendet werden, zum Beispiel *E. coli* oder *S. cerevisiae*. Insektenzellen können in alternativer Weise verwendet werden, in welchem Fall ein Baculovirus-Expressions-System angemessen sein kann. Als eine weitere Alternative können Zellen einer Säugerzelllinie, wie Eierstockzellen des chinesischen Hamsters (CHO), transformiert werden. Ein Polypeptid, welches an einer, an zwei oder an drei der in [Fig. 1](#) gezeigten Stellen glykosyliert ist, kann durch geeignete Wahl der Wirtszellkultur erhalten werden.

[0030] Das Polypeptid der Erfindung kann isoliert und gereinigt werden. Der N-Terminus des Polypeptids kann, aufgrund der Prozessierung des Translationsproduktes innerhalb einer Zelle oder während das Produkt aus einer Zelle sezerniert wird, heterogen sein. Deshalb kann eine Mischung von Polypeptiden gemäß der Erfindung mit unterschiedlichen N-Termini erhalten werden. Das Polypeptid ist löslich.

[0031] Die Polypeptide der Erfindung besitzen Aktivität zum Binden von humanem TNF α . Diese Aktivität weist auf die mögliche Verwendung der Polypeptide bei der Regulation von durch TNF α vermittelten Antwortreaktionen durch Binden und Sequestrieren von humanem TNF α hin, zum Beispiel auf eine mögliche Verwendung bei der Behandlung von Lungenerkrankungen, septischem Schock, HIV-Infektion, Malaria, viraler Meningitis, Transplantat-versus-Wirt-Reaktionen und Autoimmun-Erkrankungen, wie rheumatoider Arthritis.

[0032] Zu diesem Zweck kann ein Polypeptid der vorliegenden Erfindung in einer pharmazeutischen Zusammensetzung formuliert werden. Die pharmazeutische Zusammensetzung umfasst ebenfalls ein(en) pharmazeutisch annehmbaren(s) Träger oder Verdünnungsmittel.

[0033] Das Polypeptid der Erfindung kann an einen Patienten mittels jedweder herkömmlichen Route verabreicht werden. Die Entscheidung, ob eine orale Route oder eine parenterale Route, wie eine subkutane, intravenöse oder intramuskuläre Verabreichung, gewählt wird; über die Dosis und die Häufigkeit der Verabreichung hängt von einer Vielzahl von Faktoren ab. Diese Faktoren schließen den Zweck der Verabreichung, das Alter und das Gewicht des behandelten Patienten und den Zustand des Patienten ein. Typischerweise wird das Polypeptid jedoch in einer Menge von 1 bis 1000 μg pro Dosis, stärker bevorzugt von 10 bis 100 μg pro Dosis für jede Verabreichungsrouten verabreicht.

[0034] Die folgenden Beispiele veranschaulichen die Erfindung. Es wird ein Referenzbeispiel angegeben.

REFERENZBEISPIEL

1. Materialien und Methoden

Reagenzien

[0035] Rekombinanter humaner TNF α und TNF β wurden als aus *E. coli* abgeleitete hochgereinigte Proteine vorgesehen. Die spezifischen Aktivitäten dieser Präparationen lagen bei etwa 10^7 Einheiten/mg, wie gemessen in dem Cytotoxizitäts-Assay mit L929-Mauszellen (4). Die synthetischen Oligonucleotide wurden durch den Oswel-DNA-Service (University of Edinburgh) hergestellt.

Isolation von TNF α -55kD-Rezeptor-cDNA-Klonen

[0036] Die Sequenz eines Peptidfragmentes (E M G Q V E I S S T V D R D T V C G (SEQ ID Nr.: 5)) des TNF-Bindeproteins wurde verwendet, um eine synthetische Oligonucleotidsonde (5' AAG GAG ATG GGC CAG GTT GAG ATC TCT TCT ACT GTT GAC AAT GAC ACT GTG TGT GGC-3' (SEQ ID Nr.: 6)) zu entwerfen. Die 57-mer-DNA-Sonde wurde mit ^{32}P und T4-Polyinucleotidkinase (New England Biolab, Beverly, MA) markiert und verwendet, um eine Plazenta-cDNA-Bibliothek in gt10 zu screenen (5,6). Etwa 800 000 Phagen wurden auf Nitrocellulosefilter überführt und bei verminderter Stringenz gescreent (7). Filter wurden 2 Stunden bei 42°C in 0,05 M Natriumphosphat, pH 6,5, 20% Formamid, 0,75 M Natriumchlorid, 0,075 M Natriumcitrat, 1% Polyvinylpyrrolidon (Sigma, St. Louis, MO), 1% Ficoll, 1% Polyvinylpyrrolidon (Sigma, St. Louis, MO), 1% Fi-

coll, 1% Rinderserumalbumin (Sigma) und 50 ng/ml mit Ultraschall behandelte Lachsspermien-DNA (Sigma) inkubiert. Die radioaktiv markierte Sonde wurde dann den Filtern (10^8 cpm/ml Endkonzentration) zugesetzt, welche 16 Stunden lang hybridisiert wurden. Die Filter wurden gründlich in 0,06 M Natriumchlorid, 0,006 M Natriumcitrat, 1% SDS bei 37°C gewaschen, und positive Klone wurden mittels Autoradiographie identifiziert. Zehn hybridisierende Klone wurden Plaque-gereinigt (5), und die cDNA-Insertionsgröße wurde mittels Polyacrylamidgel-Elektrophorese von EcoRI-verdauter Phagen-DNA bestimmt. Die Inserts von zwei cDNA-Klonen wurden unter Verwendung der Dideoxy-Kettenabbruch-Technik (8) sequenziert.

Southern- und Northern-Blot-Analyse

[0037] DNA wurde aus menschlichen Lymphozyten mittels des Verfahrens von Blin und Stafford (9) isoliert und für die Southern-Blot-Analyse (10) verwendet. DNA wurde mit Restriktionsendonuclease (New England Biolabs) verdaut, auf einem 1%igen Agarosegel fraktioniert und auf Nitrocellulose transferiert. Die Hybridisierung und das Waschen wurden unter stringenten Bedingungen (6) unter Verwendung einer ^{32}P -markierten Präparation eines 600 bp großen Fragmentes der TNF-Rezeptor-cDNA durchgeführt. Eine Northern-Blot-Analyse wurde (11) auf Oligo-dT-selektierter RNA durchgeführt, welche aus menschlicher Placenta, Milz (großzügigerweise von dem Cooperative Human Tissue Network, Birmingham, AL, zur Verfügung gestellt) und einer Fibroblasten-Zelllinie (293-Zellen) isoliert worden war. Im Anschluss an die Elektrophorese auf einem Formaldehyd-1,2%-igem Agarose-Gel wurde die RNA auf Nitrocellulose überführt und mit der TNF α -Rezeptor-DNA-Sonde unter stringenten Bedingungen hybridisiert.

Säugerzellexpression des humanen TNF α -55kD-Rezeptors und von Derivaten

[0038] Die codierende Region des Großteils des humanen TNF α -55kD-Rezeptors wurde als ein EcoRI-Fragment isoliert und in einen Säugerzell-Expressionsvektor (12) kloniert, was zum Plasmid prTNFR führte. Das EcoRI-Fragment codiert 374 Aminosäuren des TNF-Rezeptors; die 81 carboxyterminalen Reste der cytoplasmatischen Domäne fehlen deshalb bei dieser Plasmidkonstruktion. Ein Derivat des TNF α -Rezeptors wurde erzeugt, indem ein Terminationscodon direkt vor der Transmembrandomäne eingebaut wurde. Die Polymerasekettenreaktion(PCR)-Technik (13) wurde angewandt, um ein 300 bp großes Restriktionsfragment zu erzeugen, das eine BglIII-Stelle am 5'-Ende und eine HindIII-Stelle, der ein TAG-Stoppcodon vorgeschaltet war, am 3'-Ende enthielt. Die PCR-Primer waren 5'GCTGCTCCAAATGCCGAAAG (SEQ ID Nr.: 7) und 5'AGTTCAAGCTT-TTACAGTGCCCTTAACATTCTAA (SEQ ID Nr.: 8).

[0039] Das PCR-Produkt wurde über ein Gel gereinigt und in das TNF-Rezeptor-Expressionsplasmid (oben beschrieben), das mit BglIII und HindIII verdaut worden war, kloniert. Die DNA-Sequenzierung bestätigte, dass das resultierende Plasmid (pTNFRecd) die entworfene DNA-Sequenz enthielt. E. coli, welcher pTNFRecd enthielt, wurde bei der National Collection of Industrial and Marine Bacteria, Aberdeen, GB, am 11. September 1990, unter der Zugangs-Nummer NCIMB 40315 hinterlegt.

[0040] Die TNF α -Rezeptor-Expressionsplasmide wurden in Affen-COS-7-Zellen unter Verwendung von Lipofectin (Gibco BRL, Bethesda, MD) gemäß den Anweisungen des Herstellers transfiziert. Zellen wurden in Dulbecco's modifiziertem Eagle-Medium, das 10% fötales Kälberserum enthielt, kultiviert.

Analyse von rekombinanten TNF α -55kD-Rezeptor-Derivaten

[0041] TNF α wurde mittels der Iodogen-Methode (Pierce) gemäß den Anleitungen des Herstellers radioaktiv iodiert. Die spezifische Aktivität des ^{125}I -TNF α lag bei 10 bis 30 $\mu\text{Ci}/\mu\text{g}$. COS-Zellen, die mit der TNF α -Rezeptor-cDNA (prTNFR, 1300-bp-EcoRI-Fragment) transfiziert waren, wurden 24 Stunden lang inkubiert und dann in Sechs-Loch-Gewebekulturplatten (Nunc) bei $4,5 \times 10^8$ Zellen pro Vertiefung eingepflegt. Die Zellen wurden 48 weitere Stunden inkubiert, und dann wurde die Rezeptorexpression durch Radioligandenbindung während 2 Stunden bei 4°C quantifiziert. Die unspezifische Bindung von ^{125}I -TNF α wurde in Gegenwart eines tausendfachen molaren Überschusses von nicht-markiertem TNF α bestimmt. Bindungsdaten wurden mittels der Scatchard-Methode analysiert (14).

[0042] Das TNF α -Rezeptorderivat wurde bezüglich der Inhibierung der ^{125}I -TNF α -Bindung an den natürlichen Rezeptor auf humanen U937-Zellen analysiert. Der Kulturüberstand wurde 72 Stunden, nachdem COS-Zellen mit pTNFRecd transfiziert worden waren, geerntet. U937-Zellen (2×10^8 Zellen in 200 μl) wurden mit 1 nM ^{125}I -TNF α und Verdünnungen von COS-Zellmedien 2 Stunden bei 4°C inkubiert. Die Zellen wurden dann durch 20%ige Saccharose zentrifugiert, um ungebundenen TNF α zu entfernen. Eine nicht-spezifische Bindung wurde in Gegenwart von 1 μM nicht-markiertem TNF α bestimmt.

[0043] Das TNF α -Rezeptor-Derivat wurde ebenfalls bezüglich der Inhibierung von zytotoxischen TNF α -Effekten *in vitro* analysiert. Das Zytotoxizitäts-Assay wurde so durchgeführt, wie es bei dem TNF-empfindlichen WEHI-164-Zelllinien-Klon 13 beschrieben wurde (15). Reihenverdünnungen von Überständen von COS-Zellen, die mit pTNFRecd transfiziert waren, oder pseudotransfizierten Kontrollen wurden mit einer konstanten Menge an TNF α (1 ng/ml) 1 Stunde lang bei 27°C vor Zugabe zum Assay inkubiert.

2. Ergebnisse

Isolierung und Charakterisierung der TNF α -55kD-Rezeptor-cDNA

[0044] Eine partielle Aminosäuresequenz des TNF-Bindungsproteins wurde verwendet, um eine synthetische Oligonucleotidsonde zu entwerfen. Die radioaktiv markierte Sonde wurde verwendet, um eine humane Plazenta-cDNA-Bibliothek in Lambda-gt10 zu screenen, und zehn hybridisierende Phagen wurden isoliert. Die Nucleotid- und abgeleiteten Aminosäuresequenzen des längsten cDNA-Klons sind in [Fig. 1](#) dargestellt. Das dritte potentielle ATG-Initiationscodon tritt bei Position 156 der Nucleotidsequenz auf; auf die ersten zwei ATG-Codons folgen dicht Terminationscodons, und dem dritten ATG gehen die besten Translationsinitiations-Konsensus-Nucleotide voran (16). Die cDNA codiert ein offenes Leseraster von 1365 Basen, welches für ein Polypeptid mit 455 Resten codiert. Beide der Peptidsequenzen, die durch die Aminosäuresequenzierung bestimmt wurden, wurden in der codierten cDNA identifiziert (17 von 19 und 18 von 19 passende Reste). Das für das TNF-Bindungsprotein identifizierte Amino-terminale Ende entspricht der von der cDNA codierten Sequenz, beginnend am Rest 41. Die ersten 35 Aminosäuren sind im allgemeinen ziemlich hydrophob und stellen wahrscheinlich eine Signalsequenz dar. Die Reste 35–40 sind stark geladen (DREKR (SEQ-ID-Nr.: 9)), und eine solche Sequenz wird typischerweise nicht in sekretorischen Signalsequenzen gefunden (17); vielleicht wird der natürliche Rezeptor durch Proteolyse nach dem Rest 40 prozessiert, welcher eine dibasische Spaltungsstelle enthält (KR). Die Hydrophathie-Analyse der Proteinsequenz sagt eine einzelne Transmembrandomäne von 23 Aminosäuren voraus. Diese hydrophobe Sequenz teilt das Protein in eine extrazelluläre Domäne von 171 Resten und eine zytoplasmatische Domäne von 221 Resten. Die für das TNF-Bindungsprotein bestimmte Aminosäurezusammensetzung entspricht gut der vorausgesagten Zusammensetzung der von der cDNA codierten extrazellulären Domäne (Ergebnisse nicht gezeigt). Der Unterschied zwischen der vorausgesagten Rezeptorgröße (40 000 Dalton) und der durch SDS-Polyacrylamidgel-Elektrophorese bestimmten Größe (65 000 Dalton, 18–20) ist wahrscheinlich durch Glykosylierung bedingt; es gibt vier potentielle N-verknüpfte Glykosylierungsstellen in der Sequenz, wobei sich drei davon in der extrazellulären Domäne befinden. Die Sequenz enthält eine große Anzahl (17) von Cysteinresten, wobei 24 davon in der extrazellulären Domäne vorliegen. Die Anordnung dieser Cysteinreste ähnelt derjenigen von mehreren anderen Zelloberflächen-Proteinen, was nahelegt, dass der TNF-Rezeptor strukturell zu einer Familie von Rezeptoren verwandt ist.

[0045] Eine Northern-Blot-Analyse ist in [Fig. 2](#) dargestellt. Die ³²P-markierte cDNA hybridisierte an eine einzelne vorherrschende Bande von Oligo-dT-selektierter RNA aus humaner Plazenta oder Milz. Ein nebenrangiges größeres Transkript wurde ebenfalls in RNA aus einer Fibroblasten-Zelllinie festgestellt. Die Größe der hybridisierenden Spezies beträgt 2400 Basen, was in guter Übereinstimmung mit der Größe von isolierter cDNA steht. Des Weiteren wird in der [Fig. 2](#) ein Southern-Blot von humaner genomischer DNA gezeigt, die mit einer 600 bp großen Sonde aus der cDNA hybridisiert wurde. In jedem der drei unterschiedlichen Restriktionsverdau wurde nur ein einzelnes Hybridisierungssignal beobachtet. Somit scheint der TNF-Rezeptor, den wir isoliert haben, durch ein einzelnes Gen codiert zu sein.

Expression von rekombinanten TNF-Rezeptorsequenzen in Säugerzellen

[0046] Um zu bestätigen, dass die in [Fig. 1](#) gezeigte cDNA tatsächlich den TNF-Rezeptor codiert, wurde die cDNA für die Expression in Säugerzellen manipuliert. Die cDNA enthält eine EcoRI-Stelle an der Position 1270 von [Fig. 1](#). Die für den Rezeptor codierende Sequenz wurde als ein 1300 bp großes EcoRI-Fragment (das alle bis auf die letzten 81 Codons der zytoplasmatischen Domäne enthielt) isoliert und in einen Säugerzell-Expressionsvektor, der einen Cytomegalovirus-Promotor und SV40-Transkriptionsterminationssequenzen enthielt, inseriert (12). Das resultierende Plasmid wurde in COS-Zellen transfiziert, welche nach drei Tagen hinsichtlich der Expression des TNF-Rezeptors analysiert wurden. Wie in [Fig. 3](#) gezeigt, hatten die transfizierten Zellen spezifisch radioaktiv iodiertes TNF α in einer gesättigten und dosisabhängigen Weise gebunden. Die Population von COS-Zellen exprimierte etwa 1×10^8 Rezeptoren pro Zelle. Die gemessene Bindungsaktivität der rekombinanten Rezeptoren betrug $2,5 \times 10^9 \text{ M}^{-1}$ bei 4°C, was in enger Übereinstimmung zum natürlichen Rezeptor auf menschlichen Zellen ist (19, 20). Die Bindung von ¹²⁵I-TNF α (1 nM) an diese Zellen konnte durch die Zugabe von nicht-markiertem TNF α oder Lymphotoxin inhibiert werden ([Fig. 3b](#)). COS-Zellen, die lediglich mit dem Expressionsvektor transfiziert waren, banden nicht signifikant ¹²⁵I-TNF α (weniger als 2% der Bindung,

welche bei der cDNA-Transfektion zu sehen war).

[0047] Die extrazelluläre Domäne des TNF-Rezeptors wird natürlicherweise von den Zellen abgeworfen. Um ein ähnliches rekombinantes Derivat herzustellen, wurde ein Stoppcodon, das der Transmembrandomäne vorausgeht, mittels PCR-Mutagenese in die cDNA eingebaut. Die modifizierte DNA wurde in das Expressionsplasmid inseriert und anschließend in COS-Zellen transfiziert. Nach drei Tagen wurden die COS-Zellmedien bezüglich der Inhibition der TNF α -Bindung an humane U937-Zellen getestet. Wie in **Fig. 4a** gezeigt, inhibierten die Medien der transfizierten Zellen bis zu 70% der Bindung von TNF α . Das rekombinante TNF-Rezeptor-Derivat wurde als nächstes bezüglich der Inhibition der biologischen TNF α -Aktivität getestet. Ein empfindlicher Bioassay für TNF α ist die Messung der Zytolyse von Maus-WEHI-164-Zellen (Klon 13). Die Medien der transfizierten Zellen inhibierten 60% der TNF α -Zytotoxizität bei dieser Zelllinie (**Fig. 4b**). Medien von pseudotransfizierten COS-Zellen inhibierten nicht die durch TNF α induzierte Zytotoxizität oder Bindung. Diese Experimente zeigen, dass die rekombinante extrazelluläre Domäne des TNF-Rezeptors in der Lage ist, TNF zu binden und seine biologische Aktivität zu inhibieren.

BEISPIEL 1: Expression von Polypeptid, das im wesentlichen aus den ersten drei cysteinreichen Subdomänen der extrazellulären Bindungsdomäne des 55kD-Rezeptors besteht

1. MATERIALIEN UND METHODEN

Reagenzien

[0048] Von *E. coli* abgeleiteter rekombinanter humaner TNF α besaß eine spezifische Aktivität von 2×10^7 U/mg in einem L929-Zytotoxizitätsassay. Oligonucleotide wurden von Oswel DNA Service (Universität Edinburgh) erworben.

Erzeugung der rekombinanten löslichen TNFR-Derivate

[0049] Die Deletion jeder der Subdomänen in dem rekombinanten löslichen TNFR wurde mittels PCR-Fragment-Verknüpfung und PCR-Mutagenese erreicht. Die Sequenz der in diesen Experimenten verwendeten Oligonucleotide ist in Tabelle 1 angeführt, und ihre Lokalisierungen in bezug auf die vier cysteinreichen Subdomänen ist in **Fig. 5** gezeigt. Die vier Subdomänen sind in bezug aufeinander in **Fig. 6** aufgereiht.

[0050] Das Plasmid pTNFRecd (Referenzbeispiel) ist in der **Fig. 7** gezeigt. pTNFRecd wurde ferner modifiziert, um untranslatierte 5'-Sequenzen durch Klonierung des ClaI/BglII-verdauten Produktes einer PCR unter Verwendung der Oligos 5'Cla und IIIA in ClaI/BglII-verdauten pTNFRecd zu entfernen, wodurch man 5'- Δ Cla erhielt. Der Verdau von 5'- Δ Cla mit Pst-1 und erneute Ligation führten zu der Erzeugung von p Δ II, welchem die zweite cysteinreiche Subdomäne fehlte (**Fig. 9**). Die vierte cysteinreiche Subdomäne wurde entfernt durch Klonierung des BglII/HindIII-verdauten Produktes einer PCR unter Verwendung der Oligonucleotide 5A und 4D in BglII/HindIII-5'- Δ Cla; dies führte ein Terminationscodon nach Aminosäure 167 ein (gezählt von dem Anfangs-Methionin), wodurch man p Δ IV erhielt (**Fig. 11**). Die Konstrukte pI (**Fig. 8**) und p Δ III (**Fig. 10**), welchen die erste bzw. dritte cysteinreiche Subdomäne fehlte, wurden erzeugt durch Verknüpfen von PCR-Fragmenten mit Hilfe von in die für die PCR verwendeten Primer eingeführten Überhängen. Die über ein Gel gereinigten Produkte von PCRs unter Verwendung von 5' Cla und IA und IB und 5D wurden gemischt und einer weiteren Amplifizierung unter Verwendung von 5' Cla und 5D als Primer unterzogen. Das resultierende Fragment wurde mit ClaI und BglII verdaut und in ClaI/BglII-verdauten pTNFRecd kloniert, wodurch p Δ I erhalten wurde.

[0051] In ähnlicher Weise wurden die gelgereinigten Produkte von PCRs unter Verwendung von 5' Cla und IIIA und IIIB und 5D gemischt und einer weiteren Amplifizierung unter Verwendung von 5' Cla und 5D als Primer unterzogen. Dieses Produkt wurde mit BglII und HindIII verdaut und in BglII/HindIII-geschnittenen 5'- Δ Cla kloniert, um p Δ III zu erhalten. In allen Fällen wurden die klonierten Derivate durch Restriktionsenzym-Analyse und DNA-Sequenzierung unter Verwendung von Sequenase (United States Biochemical Corporation) analysiert.

Tabelle 1: Struktur der mutagenen Oligonucleotide

| Oligo-Name | Sequenz | |
|-------------------|-----------------------------------------|------------------|
| 5'Cl _a | 5'-GTTCTATCGATAAGAGGCCATAGCTGTCTGGC-3' | (SEQ ID Nr.: 10) |
| IA | 5'-GCTCTCACACTCTCTCTTCTCCCTGTCCCCTAG-3' | (SEQ ID Nr.: 11) |
| IB | 5'-AGGGAGAAGAGAGAGTGTGAGAGCGGCTCCTTC-3' | (SEQ ID Nr.: 12) |
| IIIA | 5'-TGCATGGCAGGTACACACGGTGTCCCGGTCCAC-3' | (SEQ ID Nr.: 13) |
| IIIB | 5'-GACACCGTGTGTACCTGCCATGCAGGTTTCTTT-3' | (SEQ ID Nr.: 14) |
| 4D | 5'-GGCCAAGCTTCAGGTGCACACGGTGTCTG-3' | (SEQ ID Nr.: 15) |
| 5A | 5'-GCTGCTCCAAATGCCGAAAG-3' | (SEQ ID Nr.: 16) |
| 5D | 5'-AGTTCAAGCTTTACAGTGCCCTTAACATTCTAA-3' | (SEQ ID Nr.: 17) |

Analyse von rekombinanten löslichen TNFR-Derivaten

[0052] COS-Zellen wurden in Dulbecco's modifiziertem Eagles-Medium, das 5% fötales Kälberserum enthielt, gehalten. Die löslichen TNF α -Rezeptor-Derivate wurden in Affen-COS-Zellen mit Hilfe von Lipofectin (GIBCO-BRL, Bethesda MD) gemäß dem Protokoll des Herstellers transfiziert, und zellfreie Überstände wurden 72 Stunden nach der Transfektion abgeerntet.

Inhibition der TNF α -Aktivität

[0053] Die löslichen TNF α -Rezeptor-Derivate wurden bezüglich der Inhibition der zytotoxischen TNF α -Aktivität *in vitro* analysiert. Der Zytotoxizitätsassay wurde durchgeführt, wie es bezüglich der TNF α -empfindlichen Zelllinie WEHI 164, Klon 13, beschrieben wurde. Reihenverdünnungen von Überständen von COS-Zellen, die mit mutanten Rezeptoren transfiziert waren, oder pseudotransfizierten Kontrollen wurden mit einer konstanten Menge an TNF (1 ng/ml) 1 Stunde lang bei 37°C vor Zugabe zu dem Assay inkubiert.

2. ERGEBNISSE

[0054] Um mehr über den Beitrag der einzelnen cysteinreichen Subdomänen zu der Bindung von TNF α durch die lösliche Form des 55kD-TNF-Rezeptors zu verstehen, entfernten wir jede Subdomäne mittels PCR-Mutagenese ([Fig. 5](#)). COS-Zellen wurden mit jedem dieser Konstrukte transfiziert, und die Überstände wurden hinsichtlich ihres Vermögens getestet, die zytotoxische Aktivität von TNF α zu inhibieren. Die Tafel A von [Fig. 12](#) zeigt, dass konditioniertes Medium von COS-Zellen, die mit pTNFRecd transfiziert waren, TNF α , wie vorstehend beschrieben, inhibiert. Die Entfernung der vierten cysteinreichen Subdomäne führte zu einem Protein, welches, ähnlich zu TNFRecd, ein potenter Inhibitor von TNF α war ([Fig. 12](#), Tafel B). Die Mutanten, welchen die erste, zweite und dritte Subdomäne fehlte, zeigten keinerlei inhibitorische Aktivität in dem TNF α -Zytotoxizitätsassay.

BEZUGSTELLEN

- Loetscher, H., Pan, Y.-C. E., Lahm, H.-W., Gentz, R., Brockhaus, M., Tabuchi, H., und Lesslayer, W. (1990), *Cell*, 61, 351–359.
- Schall, T. J., Lewis, M., Koller, K. J., Lee, A., Rice, G. C., Wong, G. H. W., Gatanaga, T., Granger, G. A., Lentz, R., Raab, H., Kohl, W. J., und Goeddel, D. Y. (1990), *Cell*, 61, 361–370.
- Smith, C. A., Davis, T., Anderson, D., Solam, L., Beckmann, M. P., Jerzy, R., Dower, S. K., Cosman, D. und Goodwin, R. G. (1990), *Science* 248, 1019–1023.
- Ruff, M. R. & Gifford, G. E. (1981), *Infection and Immunity*, 31, 380.
- Maniatis, T., Hardison, R. C., Lacy, E., Lauer, J., O'Connell, C., Quon, D., Sim, G. K., und Efstratiadis, A. (1978), *Cell* 15, 687–701.
- Lawn, R. M., Fritsch, E. F., Parker, R. C., Blake, G. & Maniatis, T. (1978), *Cell* 15, 1157–1174.
- Gray, P. W., Leong, S. R., Fennie, E., Farrar, M. A., Pingel, J. T., und Schreiber, R. D. (1989), *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 86, 8497–8501.
- Smith, A. J. H., (1980), *Meth. Enzym.* 65, 560–580.
- Blin, N., & Stanford, D. W. (1976), *Nucl. Acids Res.* 3, 2303–2398.
- Southern, E. M. (1975), *J. Molec. Biol.* 98, 503–517.

11. Dobner, P. R., Kawasaki, E. S., Yu, L. Y., und Bancroft, F. C. (1981), Proc. Natl. Acad. Sci. USA 78, 2230–2234.
12. Eaton, D. L., Wood, W. I., Eaton, D., Hass, P. E., Hollinghead, P., Wion, K., Mather, J., Lawn, R. M., Vahar, G. A., und Gorman, C. (1986), Biochemistry 25: 8343–8347.
13. Scharf, S. J., Horn, G. T., Erlich, H. A. (1986), Science 233, 1076–1079.
14. Scatchard, G. (1949), Ann. New York Acad. Sci. 51, 660–672.
15. Espevik, T. & Nissen-Meyer, J. (1986), J. Immunol. Meths. 95, 99–105.
16. Kozak, M. (1989), J. Cell. Biol. 108, 229–241.
17. von Heijne, G. (1988), Nucl. Acids. Res. 14, 4683–4690.
18. Creasy, A. A., Yamamoto, R. & Vitt, C. R. (1987), Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 84, 3293–3297.
19. Stauber, G. B., Alyer, R. A. & Aggarwal, B. B. (1988), J. Biol. Chem. 263, 19098–19104.
20. Scheurich, P., Ucer, U., Kronke, M., und Pfitzenmaier, K. (1986), Int. J. Cancer, 38, 127–133.
21. Feinburg, A. & Vogelstein, B. (1984), Analytical Biochem. 137, 266–277.

SEQUENZAUFLISTUNG

(1) ALLGEMEINE INFORMATION:

(i) ANMELDER

- (A) NAME: The Mathilda and Terence Kennedy Institute of Rheumatology
- (B) STRASSE: 6 Bute Gardens, Hammersmith
- (C) STADT: London
- (D) BUNDESSTAAT: Großlondon
- (E) LAND: Großbritannien
- (F) POSTLEITZAHL (ZIP): W6 7DW

(ii) TITEL DER ERFINDUNG: Modifizierter humaner TNF-alpha (Tumornekrosefaktor alpha)-Rezeptor

(iii) ANZAHL VON SEQUENZEN: 57

(iv) COMPUTERLESBARE FORM:

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

(v) DATEN DER GEGENWÄRTIGEN ANMELDUNG:
ANMELDUNGS-NUMMER: EP 91918343.4

(2) INFORMATION FÜR SEQ ID Nr. 1:

(i) SEQUENZ-CHARAKTERISTIKA:

- (A) LÄNGE: 501 Basenpaare
- (B) TYP: Nukleinsäure
- (C) STRANGART: doppelsträngig
- (D) TOPOLOGIE: linear

(ii) MOLEKÜLTYP: DNA (genomisch)

(ix) MERKMAL:

- (A) NAME/SCHLÜSSEL: CDS
- (B) LOKALISIERUNG: 1..501

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID Nr. 1:

| | |
|-----------------------------------------------------------------|-----|
| ATG GGC CTC TCC ACC GTG CCT GAC CTG CTG CTG CCG CTG GTG CTC CTG | 48 |
| Met Gly Leu Ser Thr Val Pro Asp Leu Leu Leu Pro Leu Val Leu Leu | |
| 1 5 10 15 | |
| GAG CTG TTG GTG GGA ATA TAC CCC TCA GGG GTT ATT GGA CTG GTC CCT | 96 |
| Glu Leu Leu Val Gly Ile Tyr Pro Ser Gly Val Ile Gly Leu Val Pro | |
| 20 25 30 | |
| CAC CTA GGG GAC AGG GAG AAG AGA GAT AGT GTG TGT CCC CAA GGA AAA | 144 |
| His Leu Gly Asp Arg Glu Lys Arg Asp Ser Val Cys Pro Gln Gly Lys | |
| 35 40 45 | |
| TAT ATC CAC CCT CAA AAT AAT TCG ATT TGC TGT ACC AAG TGC CAC AAA | 192 |
| Tyr Ile His Pro Gln Asn Asn Ser Ile Cys Cys Thr Lys Cys His Lys | |
| 50 55 60 | |
| GGA ACC TAC TTG TAC AAT GAC TGT CCA GGC CCG GGG CAG GAT ACG GAC | 240 |
| Gly Thr Tyr Leu Tyr Asn Asp Cys Pro Gly Pro Gly Gln Asp Thr Asp | |
| 65 70 75 80 | |
| TGC AGG GAG TGT GAG AGC GGC TCC TTC ACC GCT TCA GAA AAC CAC CTC | 288 |
| Cys Arg Glu Cys Glu Ser Gly Ser Phe Thr Ala Ser Glu Asn His Leu | |
| 85 90 95 | |
| AGA CAC TGC CTC AGC TGC TCC AAA TGC CGA AAG GAA ATG GGT CAG GTG | 336 |
| Arg His Cys Leu Ser Cys Ser Lys Cys Arg Lys Glu Met Gly Gln Val | |
| 100 105 110 | |
| GAG ATC TCT TCT TGC ACA GTG GAC CCG GAC ACC GTG TGT GGC TGC AGG | 384 |
| Glu Ile Ser Ser Cys Thr Val Asp Arg Asp Thr Val Cys Gly Cys Arg | |
| 115 120 125 | |
| AAG AAC CAG TAC CCG CAT TAT TGG AGT GAA AAC CTT TTC CAG TGC TTC | 432 |
| Lys Asn Gln Tyr Arg His Tyr Trp Ser Glu Asn Leu Phe Gln Cys Phe | |
| 130 135 140 | |
| AAT TGC AGC CTC TGC CTC AAT GGG ACC GTG CAC CTC TCC TGC CAG GAG | 480 |
| Asn Cys Ser Leu Cys Leu Asn Gly Thr Val His Leu Ser Cys Gln Glu | |
| 145 150 155 160 | |
| AAA CAG AAC ACC GTG TGC ACC | 501 |
| Lys Gln Asn Thr Val Cys Thr | |
| 165 | |

(2) INFORMATION FÜR SEQ ID Nr. 2:**(i) SEQUENZ-CHARAKTERISTIKA:**

- (A) LÄNGE: 167 Aminosäuren
 (B) TYP: Aminosäure
 (D) TOPOLOGIE: linear

(ii) MOLEKÜLTYP: Protein**(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID Nr. 2:**

Met Gly Leu Ser Thr Val Pro Asp Leu Leu Leu Pro Leu Val Leu Leu
 1 5 10 15
 Glu Leu Leu Val Gly Ile Tyr Pro Ser Gly Val Ile Gly Leu Val Pro
 20 25 30
 His Leu Gly Asp Arg Glu Lys Arg Asp Ser Val Cys Pro Gln Gly Lys
 35 40 45
 Tyr Ile His Pro Gln Asn Asn Ser Ile Cys Cys Thr Lys Cys His Lys
 50 55 60
 Gly Thr Tyr Leu Tyr Asn Asp Cys Pro Gly Pro Gly Gln Asp Thr Asp
 65 70 75 80
 Cys Arg Glu Cys Glu Ser Gly Ser Phe Thr Ala Ser Glu Asn His Leu
 85 90 95
 Arg His Cys Leu Ser Cys Ser Lys Cys Arg Lys Glu Met Gly Gln Val
 100 105 110
 Glu Ile Ser Ser Cys Thr Val Asp Arg Asp Thr Val Cys Gly Cys Arg
 115 120 125
 Lys Asn Gln Tyr Arg His Tyr Trp Ser Glu Asn Leu Phe Gln Cys Phe
 130 135 140
 Asn Cys Ser Leu Cys Leu Asn Gly Thr Val His Leu Ser Cys Gln Glu
 145 150 155 160
 Lys Gln Asn Thr Val Cys Thr
 165

(2) INFORMATION FÜR SEQ ID Nr. 3:

(i) SEQUENZ-CHARAKTERISTIKA:

- (A) LÄNGE: 372 Basenpaare
- (B) TYP: Nukleinsäure
- (C) STRANGART: doppelsträngig
- (D) TOPOLOGIE: linear

(ii) MOLEKÜLTYP: DNA (genomisch)

(ix) MERKMAL:

- (A) NAME/SCHLÜSSEL: CDS
- (B) LOKALISIERUNG: 1..372

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID Nr. 3:

| | |
|-----------------------------------------------------------------|-----|
| GTC TGT CCC CAA GGA AAA TAT ATC CAC CCT CAA AAT AAT TCG ATT TGC | 48 |
| Val Cys Pro Gln Gly Lys Tyr Ile His Pro Gln Asn Asn Ser Ile Cys | |
| 1 5 10 15 | |
| TGT ACC AAG TGC CAC AAA GGA ACC TAC TTG TAC AAT GAC TGT CCA GGC | 96 |
| Cys Thr Lys Cys His Lys Gly Thr Tyr Leu Tyr Asn Asp Cys Pro Gly | |
| 20 25 30 | |
| CCG GGG CAG GAT ACG GAC TGC AGG GAG TGT GAG AGC GGC TCC TTC ACC | 144 |
| Pro Gly Gln Asp Thr Asp Cys Arg Glu Cys Glu Ser Gly Ser Phe Thr | |
| 35 40 45 | |
| GCT TCA GAA AAC CAC CTC AGA CAC TGC CTC AGC TGC TCC AAA TGC CGA | 192 |
| Ala Ser Glu Asn His Leu Arg His Cys Leu Ser Cys Ser Lys Cys Arg | |
| 50 55 60 | |
| AAG GAA ATG GGT CAG GTG GAG ATC TCT TCT TGC ACA GTG GAC CCG GAC | 240 |
| | |
| Lys Glu Met Gly Gln Val Glu Ile Ser Ser Cys Thr Val Asp Arg Asp | |
| 65 70 75 80 | |
| ACC GTG TGT GGC TGC AGG AAG AAC CAG TAC CCG CAT TAT TGG AGT GAA | 288 |
| Thr Val Cys Gly Cys Arg Lys Asn Gln Tyr Arg His Tyr Trp Ser Glu | |
| 85 90 95 | |
| AAC CTT TTC CAG TGC TTC AAT TGC AGC CTC TGC CTC AAT GGG ACC GTG | 336 |
| Asn Leu Phe Gln Cys Phe Asn Cys Ser Leu Cys Leu Asn Gly Thr Val | |
| 100 105 110 | |
| CAC CTC TCC TGC CAG GAG AAA CAG AAC ACC GTG TGC | 372 |
| His Leu Ser Cys Gln Glu Lys Gln Asn Thr Val Cys | |
| 115 120 | |

(2) INFORMATION FÜR SEQ ID Nr. 4:**(i) SEQUENZ-CHARAKTERISTIKA:**

- (A) LÄNGE: 124 Aminosäuren
 (B) TYP: Aminosäure
 (D) TOPOLOGIE: linear

(ii) MOLEKÜLTYP: Protein**(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID Nr. 4:**

```

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

```

(2) INFORMATION FÜR SEQ ID Nr. 5:

(i) SEQUENZ-CHARAKTERISTIKA:

- (A) LÄNGE: 18 Aminosäuren
- (B) TYP: Aminosäure
- (C) STRANGART: einzelsträngig
- (D) TOPOLOGIE: linear

(ii) MOLEKÜLTYP: Peptid

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID Nr. 5:

```

Glu Met Gly Gln Val Glu Ile Ser Ser Thr Val Asp Arg Asp Thr Val
 1                               5                      10                      15
Cys Gly

```

(2) INFORMATION FÜR SEQ ID Nr. 6:

(i) SEQUENZ-CHARAKTERISTIKA:

- (A) LÄNGE: 57 Basenpaare
- (B) TYP: Nukleinsäure
- (C) STRANGART: einzelsträngig
- (D) TOPOLOGIE: linear

(ii) MOLEKÜLTYP: DNA (genomisch)

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID Nr. 6:

AAGGAGATGG GGCAGGTGA GATCTCTTCT ACTGTTGACA ATGACACTGT GTGTGGC

57

(2) INFORMATION FÜR SEQ ID Nr. 7:**(i) SEQUENZ-CHARAKTERISTIKA:**

- | | | |
|-----|------------|----------------|
| (A) | LÄNGE: | 20 Basenpaare |
| (B) | TYP: | Nukleinsäure |
| (C) | STRANGART: | einzelsträngig |
| (D) | TOPOLOGIE: | linear |

(ii) MOLEKÜLTYP: DNA (genomisch)**(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID Nr. 7:**

GCTGCTCCAA ATGCGGAAG

20

(2) INFORMATION FÜR SEQ ID Nr. 8:**(i) SEQUENZ-CHARAKTERISTIKA:**

- | | | |
|-----|------------|----------------|
| (A) | LÄNGE: | 34 Basenpaare |
| (B) | TYP: | Nukleinsäure |
| (C) | STRANGART: | einzelsträngig |
| (D) | TOPOLOGIE: | linear |

(ii) MOLEKÜLTYP: DNA (genomisch)**(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID Nr. 8:**

AGTTCAGCT TTTACAGTC CCTTACATT CCAA

34

(2) INFORMATION FÜR SEQ ID Nr. 9:**(i) SEQUENZ-CHARAKTERISTIKA:**

- | | | |
|-----|------------|----------------|
| (A) | LÄNGE: | 5 Aminosäuren |
| (B) | TYP: | Aminosäure |
| (C) | STRANGART: | einzelsträngig |
| (D) | TOPOLOGIE: | linear |

(ii) MOLEKÜLTYP: Peptid**(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID Nr. 9:**

| | | | | |
|-----|-----|-----|-----|-----|
| Asp | Arg | Glu | Lys | Arg |
| 1 | | | | 5 |

(2) INFORMATION FÜR SEQ ID Nr. 10:**(i) SEQUENZ-CHARAKTERISTIKA:**

- | | | |
|-----|--------|---------------|
| (A) | LÄNGE: | 32 Basenpaare |
| (B) | TYP: | Nukleinsäure |

(C) STRANGART: einzelsträngig

(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) MOLEKÜLTYP: DNA (genomisch)

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID Nr. 10:

GTTCATATCGA TAAGAGGCCA TAGCTGTCTG GC

32

(2) INFORMATION FÜR SEQ ID Nr. 11:

(i) SEQUENZ-CHARAKTERISTIKA:

(A) LÄNGE: 33 Basenpaare

(B) TYP: Nukleinsäure

(C) STRANGART: einzelsträngig

(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) MOLEKÜLTYP: DNA (genomisch)

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID Nr. 11:

GCTCTACAC TCTCTTTCT CCGTCCCC TAG

33

(2) INFORMATION FÜR SEQ ID Nr. 12:

(i) SEQUENZ-CHARAKTERISTIKA:

(A) LÄNGE: 33 Basenpaare

(B) TYP: Nukleinsäure

(C) STRANGART: einzelsträngig

(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) MOLEKÜLTYP: DNA (genomisch)

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID Nr. 12:

AGGGAGAAGA GAGAGTGTGA GAGGGCTCC TTC

33

(2) INFORMATION FÜR SEQ ID Nr. 13:

(i) SEQUENZ-CHARAKTERISTIKA:

(A) LÄNGE: 33 Basenpaare

(B) TYP: Nukleinsäure

(C) STRANGART: einzelsträngig

(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) MOLEKÜLTYP: DNA (genomisch)

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID Nr. 13:

TGCATGGCAG GTACACACGG TGTCCCGGTC CAC

33

(2) INFORMATION FÜR SEQ ID Nr. 14:

(i) SEQUENZ-CHARAKTERISTIKA:

- (A) LÄNGE: 33 Basenpaare
- (B) TYP: Nukleinsäure
- (C) STRANGART: einzelsträngig
- (D) TOPOLOGIE: linear

(ii) MOLEKÜLTYP: DNA (genomisch)

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID Nr. 14:

GACACCGTGT GTACCTGCCA TGCAGGTTTC TTT

33

(2) INFORMATION FÜR SEQ ID Nr. 15:

(i) SEQUENZ-CHARAKTERISTIKA:

- (A) LÄNGE: 30 Basenpaare
- (B) TYP: Nukleinsäure
- (C) STRANGART: einzelsträngig
- (D) TOPOLOGIE: linear

(ii) MOLEKÜLTYP: DNA (genomisch)

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID Nr. 15:

GGCCAAAGCTT CAGGTGCACA CCGTGTTCG

30

(2) INFORMATION FÜR SEQ ID Nr. 16:

(i) SEQUENZ-CHARAKTERISTIKA:

- (A) LÄNGE: 20 Basenpaare
- (B) TYP: Nukleinsäure
- (C) STRANGART: einzelsträngig
- (D) TOPOLOGIE: linear

(ii) MOLEKÜLTYP: DNA (genomisch)

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID Nr. 16:

GCTGCTCCAA ATGCGAAAG

20

(2) INFORMATION FÜR SEQ ID Nr. 17:

(i) SEQUENZ-CHARAKTERISTIKA:

- (A) LÄNGE: 33 Basenpaare
- (B) TYP: Nukleinsäure
- (C) STRANGART: einzelsträngig
- (D) TOPOLOGIE: linear

(ii) MOLEKÜLTYP: DNA (genomisch)

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID Nr. 17:

AGTTCAAGCT TTACAGTGCC CTTAACAATC TAA

33

(2) INFORMATION FÜR SEQ ID Nr. 18:**(i) SEQUENZ-CHARAKTERISTIKA:**

- | | | |
|-----|------------|----------------|
| (A) | LÄNGE: | 31 Basenpaare |
| (B) | TYP: | Nukleinsäure |
| (C) | STRANGART: | einzelsträngig |
| (D) | TOPOLOGIE: | linear |

(ii) MOLEKÜLTYP: DNA (genomisch)**(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID Nr. 18:**

CGCAGAATTC CCGGCAGCCA TGGGGCCCGT CGCC

31

(2) INFORMATION FÜR SEQ ID Nr. 19:**(i) SEQUENZ-CHARAKTERISTIKA:**

- | | | |
|-----|------------|----------------|
| (A) | LÄNGE: | 33 Basenpaare |
| (B) | TYP: | Nukleinsäure |
| (C) | STRANGART: | einzelsträngig |
| (D) | TOPOLOGIE: | linear |

(ii) MOLEKÜLTYP: DNA (genomisch)**(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID Nr. 19:**

GTAAGGATCC TATGGCCAGT GCTCCCTTCA GCT

33

(2) INFORMATION FÜR SEQ ID Nr. 20:**(i) SEQUENZ-CHARAKTERISTIKA:**

- | | | |
|-----|------------|----------------|
| (A) | LÄNGE: | 21 Basenpaare |
| (B) | TYP: | Nukleinsäure |
| (C) | STRANGART: | einzelsträngig |
| (D) | TOPOLOGIE: | linear |

(ii) MOLEKÜLTYP: DNA (genomisch)**(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID Nr. 20:**

ACACGACTTC ATCCACGGAT A

21

(2) INFORMATION FÜR SEQ ID Nr. 21:**(i) SEQUENZ-CHARAKTERISTIKA:**

- | | | |
|-----|--------|---------------|
| (A) | LÄNGE: | 36 Basenpaare |
|-----|--------|---------------|

- (B) TYP: Nukleinsäure
- (C) STRANGART: einzelsträngig
- (D) TOPOLOGIE: linear

(ii) MOLEKÜLTYP: DNA (genomisch)

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID Nr. 21:

ACGTTCTAGA CTAGTGGCCA GTGCTCCCTT CAGCTG

36

(2) INFORMATION FÜR SEQ ID Nr. 22:

(i) SEQUENZ-CHARAKTERISTIKA:

- (A) LÄNGE: 21 Basenpaare
- (B) TYP: Nukleinsäure
- (C) STRANGART: einzelsträngig
- (D) TOPOLOGIE: linear

(ii) MOLEKÜLTYP: DNA (genomisch)

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID Nr. 22:

CAGAACGGCA TGTGCACTG C

21

(2) INFORMATION FÜR SEQ ID Nr. 23:

(i) SEQUENZ-CHARAKTERISTIKA:

- (A) LÄNGE: 34 Basenpaare
- (B) TYP: Nukleinsäure
- (C) STRANGART: einzelsträngig
- (D) TOPOLOGIE: linear

(ii) MOLEKÜLTYP: DNA (genomisch)

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID Nr. 23:

ACGTTCTAGA CTGACACACC ACGTCTGATG TTTC

34

(2) INFORMATION FÜR SEQ ID Nr. 24:

(i) SEQUENZ-CHARAKTERISTIKA:

- (A) LÄNGE: 2062 Basenpaare
- (B) TYP: Nukleinsäure
- (C) STRANGART: doppelsträngig
- (D) TOPOLOGIE: linear

(ii) MOLEKÜLTYP: cDNA zu mRNA

(ix) MERKMAL:

- (A) NAME/SCHLÜSSEL: CDS
- (B) LOKALISIERUNG: 155..1519

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID Nr. 24:

| | |
|-------------------------------------------------------------------|-----|
| ACCAGTGATC TCTATG000G AGTCTCAACC CTCAACTGTC ACCCCAAGGC ACTTGGGACG | 60 |
| TCTTGGACAG ACCGAGT00C GGGAG000C AGCACTG00G CTGCCACACT G00CTGAG0C | 120 |
| CAAATGGGGG AGTGAAGAGGC CATTAGCTGTC TGSC ATG GGC CTC TCC ACC GTG | 172 |
| Met Gly Leu Ser Thr Val | |
| 1 5 | |
| OCT GAC CTG CTG CTG CCG CTG GTG CTC CTG GAG CTG TTG GTG GGA ATA | 220 |
| Pro Asp Leu Leu Leu Pro Leu Val Leu Leu Glu Leu Leu Val Gly Ile | |
| 10 15 20 | |
| TAC C0C TCA GGG G1T ATT GGA CTG GTC CCT CAC CTA GGG GAC AGG GAG | 268 |
| Tyr Pro Ser Gly Val Ile Gly Leu Val Pro His Leu Gly Asp Arg Glu | |
| 25 30 35 | |

| | |
|-----------------------------------------------------------------|-----|
| AAG AGA GAT AGT GTG TGT CCC CAA GGA AAA TAT ATC CAC OCT CAA AAT | 316 |
| Lys Arg Asp Ser Val Cys Pro Gln Gly Lys Tyr Ile His Pro Gln Asn | |
| 40 45 50 | |
| AAT TCC ATT TGC TGT ACC AAG TGC CAC AAA GGA ACC TAC TTG TAC AAT | 364 |
| Asn Ser Ile Cys Cys Thr Lys Cys His Lys Gly Thr Tyr Leu Tyr Asn | |
| 55 60 65 70 | |
| GAC TGT CCA GGC CCG GGG CAG GAT ACG GAC TGC AGG GAG TGT GAG AGC | 412 |
| Asp Cys Pro Gly Pro Gly Gln Asp Thr Asp Cys Arg Glu Cys Glu Ser | |
| 75 80 85 | |
| GGC TCC TTC ACC GCT TCA GAA AAC CAC CTC AGA CAC TGC CTC AGC TGC | 460 |
| Gly Ser Phe Thr Ala Ser Glu Asn His Leu Arg His Cys Leu Ser Cys | |
| 90 95 100 | |
| TCC AAA TGC CGA AAG GAA ATG GGT CAG GTG GAG ATC TCT TCT TGC ACA | 508 |
| Ser Lys Cys Arg Lys Glu Met Gly Gln Val Glu Ile Ser Ser Cys Thr | |
| 105 110 115 | |
| GTG GAC CCG GAC ACC GTG TGT GGC TGC AGG AAG AAC CAG TAC CCG CAT | 556 |
| Val Asp Arg Asp Thr Val Cys Gly Cys Arg Lys Asn Gln Tyr Arg His | |
| 120 125 130 | |
| TAT TGG AGT GAA AAC CTT TTC CAG TGC TTC AAT TGC AGC CTC TGC CTC | 604 |
| Tyr Trp Ser Glu Asn Leu Phe Gln Cys Phe Asn Cys Ser Leu Cys Leu | |
| 135 140 145 150 | |
| AAT GGS ACC GTG CAC CTC TCC TGC CAG GAG AAA CAG AAC ACC GTG TGC | 652 |
| Asn Gly Thr Val His Leu Ser Cys Gln Glu Lys Gln Asn Thr Val Cys | |
| 155 160 165 | |
| ACC TGC CAT GCA GGT TTC TTT CTA AGA GAA AAC GAG TGT GTC TCC TGT | 700 |
| Thr Cys His Ala Gly Phe Phe Leu Arg Glu Asn Glu Cys Val Ser Cys | |
| 170 175 180 | |
| AGT AAC TGT AAG AAA AGC CTG GAG TGC ACG AAG TTG TGC CTA CCC CAG | 748 |
| Ser Asn Cys Lys Lys Ser Leu Glu Cys Thr Lys Leu Cys Leu Pro Gln | |
| 185 190 195 | |
| ATT GAG AAT GTT AAG GGC ACT GAG GAC TCA GGC ACC ACA GTG CTG TTG | 796 |
| Ile Glu Asn Val Lys Gly Thr Glu Asp Ser Gly Thr Thr Val Leu Leu | |
| 200 205 210 | |
| CCC CTG GTC ATT TTC TTT GGT CTT TGC CTT TTA TCC CTC CTC TTC ATT | 844 |
| Pro Leu Val Ile Phe Phe Gly Leu Cys Leu Leu Ser Leu Leu Phe Ile | |
| 215 220 225 230 | |
| GGT TTA ATG TAT CGC TAC CAA OGG TGG AAG TCC AAG CTC TAC TCC ATT | 892 |
| Gly Leu Met Tyr Arg Tyr Gln Arg Trp Lys Ser Lys Leu Tyr Ser Ile | |
| 235 240 245 | |
| GTT TGT GGG AAA TCG ACA CCT GAA AAA GAG GGG GAG CTT GAA GGA ACT | 940 |
| Val Cys Gly Lys Ser Thr Pro Glu Lys Glu Gly Glu Leu Glu Gly Thr | |
| 250 255 260 | |

| | |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------|
| ACT ACT AAG OCC CTG GOC CCA AAC CCA AGC TTC AGT CCC ACT CCA GGC Thr Thr Lys Pro Leu Ala Pro Asn Pro Ser Phe Ser Pro Thr Pro Gly 265 270 275 | 988 |
| TTC ACC CCC ACC CTG GGC TTC AGT CCC GTG CCC AGT TOC ACC TTC ACC Phe Thr Pro Thr Leu Gly Phe Ser Pro Val Pro Ser Ser Thr Phe Thr 280 285 290 | 1036 |
| TOC AGC TOC ACC TAT ACC CCC GGT GAC TGT CCC AAC TTT GCG GCT CCC Ser Ser Ser Thr Tyr Thr Pro Gly Asp Cys Pro Asn Phe Ala Ala Pro 295 300 305 310 | 1084 |
| CGC AGA GAG GTG GCA CCA CCC TAT CAG GGG GCT GAC CCC ATC CTT GCG Arg Arg Glu Val Ala Pro Pro Tyr Gln Gly Ala Asp Pro Ile Leu Ala 315 320 325 | 1132 |
| ACA GOC CTC GOC TOC GAC CCC ATC CCC AAC CCC CTT CAG AAG TGG GAG Thr Ala Leu Ala Ser Asp Pro Ile Pro Asn Pro Leu Gln Lys Trp Glu 330 335 340 | 1180 |
| GAC AGT GOC CAC AAG CCA CAG AGC CTA GAC ACT GAT GAC CCC CGG ACG Asp Ser Ala His Lys Pro Gln Ser Leu Asp Thr Asp Asp Pro Arg Thr 345 350 355 | 1228 |
| CTG TAC GOC GTG GTG GAG AAC GTG CCC CCG TTG CGC TGG AAG GAA TTC Leu Tyr Ala Val Val Glu Asn Val Pro Pro Leu Arg Trp Lys Glu Phe 360 365 370 | 1276 |
| GTG CGG CGC CTA GGG CTG AGC GAC CAC GAG ATC GAT CGG CTG GAG CTG Val Arg Arg Leu Gly Leu Ser Asp His Glu Ile Asp Arg Leu Glu Leu 375 380 385 390 | 1324 |
| CAG AAC GGG CGC TGC CTG CGC GAG GCG CAA TAC AGC ATG CTG GCG ACC Gln Asn Gly Arg Cys Leu Arg Glu Ala Gln Tyr Ser Met Leu Ala Thr 395 400 405 | 1372 |
| TGG AGG CGG CGC ACG CCG CGG CGC GAG GOC ACG CTG GAG CTG CTG GGA Trp Arg Arg Arg Thr Pro Arg Arg Glu Ala Thr Leu Glu Leu Leu Gly 410 415 420 | 1420 |
| CGC GTG CTC CGC GAC ATG GAC CTG CTG GGC TGC CTG GAG GAC ATC GAG Arg Val Leu Arg Asp Met Asp Leu Leu Gly Cys Leu Glu Asp Ile Glu 425 430 435 | 1468 |
| GAG GCG CTT TGC GGC CCC GOC GOG CTC CCG CCC GOG CCC AGT CTT CTC Glu Ala Leu Cys Gly Pro Ala Ala Leu Pro Pro Ala Pro Ser Leu Leu 440 445 450 | 1516 |
| AGA TGAGGCTGG CCTGOGGGC AGCTCTAAGG ACOGTCTCTG CAGATOGCCT Arg 455 | 1569 |
| TOCAACCCCA CTTTTTCTG GAAAGGAGGG GTCTGCGAGG GGCAAGCAGG AGCTAGCAGC | 1629 |
| CGOCTACITG GTGCTAACCC CTCGATGTAC ATAGCTTTTC TCAGCTGOCCT GOGOGOGGCC | 1689 |

GACAGTCAGC GCCTGCGGGG OGGAGAGAGG TGCGCGGTGG GCTCAAGAGC CTGAGTGGGT 1749
GGTTTGOGAG GATGAGGGAC GCTATGCGTC ATGCGCGTTT TGGGTGTCTT CACCAGCAAG 1809
GCTGCTGGGG GGCGCGTGGT TGTCCCGTA GCGTTTTCG CAGTGCATAA GCAGTTTTTT 1869
TTGTTTTTGT TTGTTTTTGT TTGTTTTTGA AATCAATCAT GTTACACTAA TAGAACTTG 1929
GCACCTCTGT GCGCTCTGOC TGGACAAGCA CATAGCAAGC TGAACCTGTCC TAAGGCAGGG 1989
GCGAGCACGG AACCAATGGG CCTTCAGCTG GAGCTGTGGA CTTTTGTACA TACACTAAAA 2049
TTCGAAGTT AAG 2062

(2) INFORMATION FÜR SEQ ID Nr. 25:**(i) SEQUENZ-CHARAKTERISTIKA:**

- (A) LÄNGE: 455 Aminosäuren
(B) TYP: Aminosäure
(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) MOLEKÜLTYP: Protein**(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID Nr. 25:**

Met Gly Leu Ser Thr Val Pro Asp Leu Leu Leu Pro Leu Val Leu Leu
1 5 10 15
Glu Leu Leu Val Gly Ile Tyr Pro Ser Gly Val Ile Gly Leu Val Pro
20 25 30
His Leu Gly Asp Arg Glu Lys Arg Asp Ser Val Cys Pro Gln Gly Lys
35 40 45
Tyr Ile His Pro Gln Asn Asn Ser Ile Cys Cys Thr Lys Cys His Lys
50 55 60
Gly Thr Tyr Leu Tyr Asn Asp Cys Pro Gly Pro Gly Gln Asp Thr Asp
65 70 75 80
Cys Arg Glu Cys Glu Ser Gly Ser Phe Thr Ala Ser Glu Asn His Leu
85 90 95
Arg His Cys Leu Ser Cys Ser Lys Cys Arg Lys Glu Met Gly Gln Val
100 105 110
Glu Ile Ser Ser Cys Thr Val Asp Arg Asp Thr Val Cys Gly Cys Arg
115 120 125
Lys Asn Gln Tyr Arg His Tyr Trp Ser Glu Asn Leu Phe Gln Cys Phe
130 135 140
Asn Cys Ser Leu Cys Leu Asn Gly Thr Val His Leu Ser Cys Gln Glu
145 150 155 160

Lys Gln Asn Thr Val Cys Thr Cys His Ala Gly Phe Phe Leu Arg Glu
 165 170 175

Asn Glu Cys Val Ser Cys Ser Asn Cys Lys Lys Ser Leu Glu Cys Thr
 180 185 190

Lys Leu Cys Leu Pro Gln Ile Glu Asn Val Lys Gly Thr Glu Asp Ser
 195 200 205

Gly Thr Thr Val Leu Leu Pro Leu Val Ile Phe Phe Gly Leu Cys Leu
 210 215 220

Leu Ser Leu Leu Phe Ile Gly Leu Met Tyr Arg Tyr Gln Arg Trp Lys
 225 230 235 240

Ser Lys Leu Tyr Ser Ile Val Cys Gly Lys Ser Thr Pro Glu Lys Glu
 245 250 255

Gly Glu Leu Glu Gly Thr Thr Thr Lys Pro Leu Ala Pro Asn Pro Ser
 260 265 270

Phe Ser Pro Thr Pro Gly Phe Thr Pro Thr Leu Gly Phe Ser Pro Val
 275 280 285

Pro Ser Ser Thr Phe Thr Ser Ser Ser Thr Tyr Thr Pro Gly Asp Cys
 290 295 300

Pro Asn Phe Ala Ala Pro Arg Arg Glu Val Ala Pro Pro Tyr Gln Gly
 305 310 315 320

Ala Asp Pro Ile Leu Ala Thr Ala Leu Ala Ser Asp Pro Ile Pro Asn
 325 330 335

Pro Leu Gln Lys Trp Glu Asp Ser Ala His Lys Pro Gln Ser Leu Asp
 340 345 350

Thr Asp Asp Pro Arg Thr Leu Tyr Ala Val Val Glu Asn Val Pro Pro
 355 360 365

Leu Arg Trp Lys Glu Phe Val Arg Arg Leu Gly Leu Ser Asp His Glu
 370 375 380

Ile Asp Arg Leu Glu Leu Gln Asn Gly Arg Cys Leu Arg Glu Ala Gln
 385 390 395 400

Tyr Ser Met Leu Ala Thr Trp Arg Arg Arg Thr Pro Arg Arg Glu Ala
 405 410 415

Thr Leu Glu Leu Leu Gly Arg Val Leu Arg Asp Met Asp Leu Leu Gly
 420 425 430

Cys Leu Glu Asp Ile Glu Glu Ala Leu Cys Gly Pro Ala Ala Leu Pro
 435 440 445

Pro Ala Pro Ser Leu Leu Arg
 450 455

(2) INFORMATION FÜR SEQ ID Nr. 26:**(i) SEQUENZ-CHARAKTERISTIKA:**

- (A) LÄNGE: 40 Aminosäuren
 (B) TYP: Aminosäure
 (C) STRANGART: einzelsträngig
 (D) TOPOLOGIE: linear

(ii) MOLEKÜLTYP: Protein**(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID Nr. 26:**

```

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

```

(2) INFORMATION FÜR SEQ ID Nr. 27:**(i) SEQUENZ-CHARAKTERISTIKA:**

- (A) LÄNGE: 38 Aminosäuren
 (B) TYP: Aminosäure
 (C) STRANGART: einzelsträngig
 (D) TOPOLOGIE: linear

(ii) MOLEKÜLTYP: Peptid**(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID Nr. 27:**

```

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

```

(2) INFORMATION FÜR SEQ ID Nr. 28:**(i) SEQUENZ-CHARAKTERISTIKA:**

- (A) LÄNGE: 35 Aminosäuren
 (B) TYP: Aminosäure
 (C) STRANGART: einzelsträngig
 (D) TOPOLOGIE: linear

(ii) MOLEKÜLTYP: Peptid

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID Nr. 28:

```

Thr Cys Ser Thr Gly Leu Tyr Thr His Ser Gly Glu Cys Cys Lys Ala
1          5          10          15
Cys Asn Leu Gly Glu Gly Val Ala Gln Pro Cys Gly Ala Asn Gln Thr
          20          25          30
Val Cys Glu
          35

```

(2) INFORMATION FÜR SEQ ID Nr. 29:

(i) SEQUENZ-CHARAKTERISTIKA:

- (A) LÄNGE: 36 Aminosäuren
 (B) TYP: Aminosäure
 (C) STRANGART: einzelsträngig
 (D) TOPOLOGIE: linear

(ii) MOLEKÜLTYP: Protein

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID Nr. 29:

```

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

```

(2) INFORMATION FÜR SEQ ID Nr. 30:

(i) SEQUENZ-CHARAKTERISTIKA:

- (A) LÄNGE: 36 Aminosäuren
 (B) TYP: Aminosäure
 (C) STRANGART: einzelsträngig
 (D) TOPOLOGIE: linear

(ii) MOLEKÜLTYP: Protein

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID Nr. 30:

Asn Cys Val Lys Asp Thr Tyr Pro Ser Gly His Lys Cys Cys Arg Glu
 1 5 10 15
 Cys Gln Pro Gly His Gly Met Val Ser Arg Cys Asp His Thr Arg Asp
 20 25 30
 Thr Val Cys His
 35

(2) INFORMATION FÜR SEQ ID Nr. 31:

(i) SEQUENZ-CHARAKTERISTIKA:

- (A) LÄNGE: 43 Aminosäuren
- (B) TYP: Aminosäure
- (C) STRANGART: einzelsträngig
- (D) TOPOLOGIE: linear

(ii) MOLEKÜLTYP: Protein

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID Nr. 31:

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

(2) INFORMATION FÜR SEQ ID Nr. 32:

(i) SEQUENZ-CHARAKTERISTIKA:

- (A) LÄNGE: 42 Aminosäuren
- (B) TYP: Aminosäure
- (C) STRANGART: einzelsträngig
- (D) TOPOLOGIE: linear

(ii) MOLEKÜLTYP: Peptid

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID Nr. 32:

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

(2) INFORMATION FÜR SEQ ID Nr. 33:**(i) SEQUENZ-CHARAKTERISTIKA:**

- (A) LÄNGE: 42 Aminosäuren
 (B) TYP: Aminosäure
 (C) STRANGART: einzelsträngig
 (D) TOPOLOGIE: linear

(ii) MOLEKÜLTYP: Protein**(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID Nr. 33:**

Pro Cys Leu Asp Asn Val Thr Phe Ser Asp Val Val Ser Ala Thr Glu
 1 5 10 15

Pro Cys Lys Pro Cys Thr Glu Cys Leu Gly Leu Gln Ser Met Ser Ala
 20 25 30

Pro Cys Val Glu Ala Asp Asp Ala Val Cys
 35 40

(2) INFORMATION FÜR SEQ ID Nr. 34:**(i) SEQUENZ-CHARAKTERISTIKA:**

- (A) LÄNGE: 43 Aminosäuren
 (B) TYP: Aminosäure
 (C) STRANGART: einzelsträngig
 (D) TOPOLOGIE: linear

(ii) MOLEKÜLTYP: Protein**(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID Nr. 34:**

Pro Cys Gly Glu Ser Glu Phe Leu Asp Thr Trp Asn Arg Glu Thr His
 1 5 10 15

Cys His Gln His Lys Tyr Cys Asp Pro Asn Leu Gly Leu Arg Val Gln
 20 25 30

Gln Lys Gly Thr Ser Glu Thr Asp Thr Ile Cys
 35 40

(2) INFORMATION FÜR SEQ ID Nr. 35:**(i) SEQUENZ-CHARAKTERISTIKA:**

- (A) LÄNGE: 42 Aminosäuren
 (B) TYP: Aminosäure
 (C) STRANGART: einzelsträngig
 (D) TOPOLOGIE: linear

(ii) MOLEKÜLTYP: Protein

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID Nr. 35:

```

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

Asn Cys Thr Pro Thr Glu Asp Thr Val Cys
                35             40

```

(2) INFORMATION FÜR SEQ ID Nr. 36:

(i) SEQUENZ-CHARAKTERISTIKA:

- (A) LÄNGE: 41 Aminosäuren
 (B) TYP: Aminosäure
 (C) STRANGART: einzelsträngig
 (D) TOPOLOGIE: linear

(ii) MOLEKÜLTYP: Peptid

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID Nr. 36:

```

Gly Cys Arg Lys Asn Gln Tyr Arg His Tyr Trp Ser Glu Asn Leu Phe
1             5             10             15
Gln Cys Phe Asn Cys Ser Leu Cys Leu Asn Gly Thr Val His Leu Ser
                20             25             30

Cys Gln Glu Lys Gln Asn Thr Val Cys
                35             40

```

(2) INFORMATION FÜR SEQ ID Nr. 37:

(i) SEQUENZ-CHARAKTERISTIKA:

- (A) LÄNGE: 44 Aminosäuren
 (B) TYP: Aminosäure
 (C) STRANGART: einzelsträngig
 (D) TOPOLOGIE: linear

(ii) MOLEKÜLTYP: Protein

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID Nr. 37:

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

(2) INFORMATION FÜR SEQ ID Nr. 38:**(i) SEQUENZ-CHARAKTERISTIKA:**

- (A) LÄNGE: 40 Aminosäuren
 (B) TYP: Aminosäure
 (C) STRANGART: einzelsträngig
 (D) TOPOLOGIE: linear

(ii) MOLEKÜLTYP: Protein**(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID Nr. 38:**

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

(2) INFORMATION FÜR SEQ ID Nr. 39:**(i) SEQUENZ-CHARAKTERISTIKA:**

- (A) LÄNGE: 41 Aminosäuren
 (B) TYP: Aminosäure
 (C) STRANGART: einzelsträngig
 (D) TOPOLOGIE: linear

(ii) MOLEKÜLTYP: Peptid**(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID Nr. 39:**

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

(2) INFORMATION FÜR SEQ ID Nr. 40:**(i) SEQUENZ-CHARAKTERISTIKA:**

- (A) LÄNGE: 39 Aminosäuren
 (B) TYP: Aminosäure
 (C) STRANGART: einzelsträngig
 (D) TOPOLOGIE: linear

(ii) MOLEKÜLTYP: Protein**(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID Nr. 40:**

Thr Cys His Ala Gly Phe Phe Leu Arg Glu Asn Glu Cys Val Ser Cys
 1 5 10 15

Ser Asn Cys Lys Lys Ser Leu Glu Cys Thr Lys Leu Cys Leu Pro Gln
 20 25 30

Ile Glu Asn Val Lys Gly Thr
 35

(2) INFORMATION FÜR SEQ ID Nr. 41:**(i) SEQUENZ-CHARAKTERISTIKA:**

- (A) LÄNGE: 39 Aminosäuren
 (B) TYP: Aminosäure
 (C) STRANGART: einzelsträngig
 (D) TOPOLOGIE: linear

(ii) MOLEKÜLTYP: Protein**(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID Nr. 41:**

Pro Cys Ala Pro Gly Thr Phe Ser Asn Thr Thr Ser Ser Thr Asp Ile
 1 5 10 15

Cys Arg Pro His Gln Ile Cys Asn Val Val Ala Ile Pro Gly Asn Ala
 20 25 30

Ser Met Asp Ala Val Cys Thr
 35

(2) INFORMATION FÜR SEQ ID Nr. 42:**(i) SEQUENZ-CHARAKTERISTIKA:**

- (A) LÄNGE: 42 Aminosäuren

- (B) TYP: Aminosäure
 (C) STRANGART: einzelsträngig
 (D) TOPOLOGIE: linear

(ii) MOLEKÜLTYP: Protein

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID Nr. 42:

```

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

(2) INFORMATION FÜR SEQ ID Nr. 43:

(i) SEQUENZ-CHARAKTERISTIKA:

- (A) LÄNGE: 43 Aminosäuren
 (B) TYP: Aminosäure
 (C) STRANGART: einzelsträngig
 (D) TOPOLOGIE: linear

(ii) MOLEKÜLTYP: Protein

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID Nr. 43:

```

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

(2) INFORMATION FÜR SEQ ID Nr. 44:

(i) SEQUENZ-CHARAKTERISTIKA:

- (A) LÄNGE: 41 Aminosäuren
 (B) TYP: Aminosäure
 (C) STRANGART: einzelsträngig
 (D) TOPOLOGIE: linear

(ii) MOLEKÜLTYP: Protein

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID Nr. 44:

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

(2) INFORMATION FÜR SEQ ID Nr. 45:

(i) SEQUENZ-CHARAKTERISTIKA:

- (A) LÄNGE: 12 Basenpaare
- (B) TYP: Nukleinsäure
- (C) STRANGART: doppelsträngig
- (D) TOPOLOGIE: linear

(ii) MOLEKÜLTYP: DNA (genomisch)

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID Nr. 45:

TGTCTGGCAT GG

12

(2) INFORMATION FÜR SEQ ID Nr. 46:

(i) SEQUENZ-CHARAKTERISTIKA:

- (A) LÄNGE: 12 Basenpaare
- (B) TYP: Nukleinsäure
- (C) STRANGART: doppelsträngig
- (D) TOPOLOGIE: linear

(ii) MOLEKÜLTYP: DNA (genomisch)

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID Nr. 46:

CCCCAGATTT AG

12

(2) INFORMATION FÜR SEQ ID Nr. 47:

(i) SEQUENZ-CHARAKTERISTIKA:

- (A) LÄNGE: 600 Basenpaare
- (B) TYP: Nukleinsäure
- (C) STRANGART: doppelsträngig
- (D) TOPOLOGIE: linear

(ii) MOLEKÜLTYP: cDNA zu mRNA

(ix) MERKMAL:

(A) NAME/SCHLÜSSEL: CDS

(B) LOKALISIERUNG: 1..597

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID Nr. 47:

| | |
|-----------------------------------------------------------------|-----|
| ATG GGC CTC TOC ACC GTG OCT GAC CTG CTG CTG CCG CTG GTG CTC CTG | 48 |
| Met Gly Leu Ser Thr Val Pro Asp Leu Leu Leu Pro Leu Val Leu Leu | |
| 1 5 10 15 | |
| GAG CTG TTG GTG GGA ATA TAC CCC TCA GGG GTT ATT GGA CTG GTC CCT | 96 |
| Glu Leu Leu Val Gly Ile Tyr Pro Ser Gly Val Ile Gly Leu Val Pro | |
| 20 25 30 | |
| CAC CTA GGG GAC AGG GAG AAG AGA GAT AGT GTG TGT CCC ACA GGA AAA | 144 |
| His Leu Gly Asp Arg Glu Lys Arg Asp Ser Val Cys Pro Thr Gly Lys | |
| 35 40 45 | |
| TAT ATC CAC OCT CAA AAT AAT TCG ATT TGC TGT ACC AAG TGC CAC AAA | 192 |
| Tyr Ile His Pro Gln Asn Asn Ser Ile Cys Cys Thr Lys Cys His Lys | |
| 50 55 60 | |
| GGA ACC TAC TTG TAC AAT GAC TGT CCA GGC CCG GGG CAG GAT ACG GAC | 240 |
| Gly Thr Tyr Leu Tyr Asn Asp Cys Pro Gly Pro Gly Gln Asp Thr Asp | |
| 65 70 75 80 | |
| TGC AGG GAG TGT GAG AGC GGC TOC TTC ACC GCT TCA GAA AAC CAC CTC | 288 |
| Cys Arg Glu Cys Glu Ser Gly Ser Phe Thr Ala Ser Glu Asn His Leu | |
| 85 90 95 | |
| AGA CAC TGC CTC AGC TGC TOC AAA TGC CGA AAG GAA ATG GGT CAG GTG | 336 |
| Arg His Cys Leu Ser Cys Ser Lys Cys Arg Lys Glu Met Gly Gln Val | |
| 100 105 110 | |
| GAG ATC TCT TCT TGC ACA GTG GAC OGG GAC ACC GTG TGT GGC TGC AGG | 384 |
| Glu Ile Ser Ser Cys Thr Val Asp Arg Asp Thr Val Cys Gly Cys Arg | |
| 115 120 125 | |
| AAG AAC CAG TAC CCG CAT TAT TGG AGT GAA AAC CTT TTC CAG TGC TTC | 432 |
| Lys Asn Gln Tyr Arg His Tyr Trp Ser Glu Asn Leu Phe Gln Cys Phe | |
| 130 135 140 | |
| AAT TGC AGC CTC TGC CTC AAT GGG ACC GTG CAC CTC TOC TGC CAG GAG | 480 |
| Asn Cys Ser Leu Cys Leu Asn Gly Thr Val His Leu Ser Cys Gln Glu | |
| 145 150 155 160 | |
| AAA CAG AAC ACC GTG TGC ACC TGC CAT GCA GGT TTC TTT CTA AGA GAA | 528 |
| Lys Gln Asn Thr Val Cys Thr Cys His Ala Gly Phe Phe Leu Arg Glu | |
| 165 170 175 | |
| AAC GAG TGT GTC TOC TGT AGT AAC TGT AAG AAA AGC CTG GAG TGC ACG | 576 |
| Asn Glu Cys Val Ser Cys Ser Asn Cys Lys Lys Ser Leu Glu Cys Thr | |
| 180 185 190 | |
| AAG TTG TGC CTA CCC CAG AAT TAG | 600 |
| Lys Leu Cys Leu Pro Gln Ile | |
| 195 200 | |

(2) INFORMATION FÜR SEQ ID Nr. 48:

(i) SEQUENZ-CHARAKTERISTIKA:

- (A) LÄNGE: 199 Aminosäuren
 (B) TYP: Aminosäure
 (D) TOPOLOGIE: linear

(ii) MOLEKÜLTYP: Protein

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID Nr. 48:

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

(2) INFORMATION FÜR SEQ ID Nr. 49:

(i) SEQUENZ-CHARAKTERISTIKA:

- (A) LÄNGE: 474 Basenpaare
 (B) TYP: Nukleinsäure
 (C) STRANGART: doppelsträngig

(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) MOLEKÜLTYP: cDNA zu mRNA

(ix) MERKMAL:

(A) NAME/SCHLÜSSEL: CDS

(B) LOKALISIERUNG: 1..471

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID Nr. 49:

| | |
|-----------------------------------------------------------------|-----|
| ATG GGC CTC TCC ACC GTG CCT GAC CTG CTG CTG CCG CTG GTG CTC CTG | 48 |
| Met Gly Leu Ser Thr Val Pro Asp Leu Leu Leu Pro Leu Val Leu Leu | |
| 1 5 10 15 | |
| GAG CTG TTG GTG GGA ATA TAC CCC TCA GGG GTT AAT GGA CTG GTC CCT | 96 |
| Glu Leu Leu Val Gly Ile Tyr Pro Ser Gly Val Ile Gly Leu Val Pro | |
| 20 25 30 | |
| CAC CTA GGG GAC AGG GAG AAG AGA GAG TGT GAG AGC GGC TCC TTC ACC | 144 |
| His Leu Gly Asp Arg Glu Lys Arg Glu Cys Glu Ser Gly Ser Phe Thr | |
| 35 40 45 | |
| GCT TCA GAA AAC CAC CTC AGA CAC TGC CTC AGC TGC TCC AAA TGC CGA | 192 |
| Ala Ser Glu Asn His Leu Arg His Cys Leu Ser Cys Ser Lys Cys Arg | |
| 50 55 60 | |
| AAG GAA ATG GGT CAG GTG GAG ATC TCT TCT TGC ACA GTG GAC CCG GAC | 240 |
| Lys Glu Met Gly Gln Val Glu Ile Ser Ser Cys Thr Val Asp Arg Asp | |
| 65 70 75 80 | |
| ACC GTG TGT GGC TGC AGG AAG AAC CAG TAC CCG CAT TAT TGG AGT GAA | 288 |
| Thr Val Cys Gly Cys Arg Lys Asn Gln Tyr Arg His Tyr Trp Ser Glu | |
| 85 90 95 | |
| AAC CTT TTC CAG TGC TTC AAT TGC AGC CTC TGC CTC AAT GGG ACC GTG | 336 |
| Asn Leu Phe Gln Cys Phe Asn Cys Ser Leu Cys Leu Asn Gly Thr Val | |
| 100 105 110 | |
| CAC CTC TCC TGC CAG GAG AAA CAG AAC ACC GTG TGC ACC TGC CAT GCA | 384 |
| His Leu Ser Cys Gln Glu Lys Gln Asn Thr Val Cys Thr Cys His Ala | |
| 115 120 125 | |
| GGT TTC TTT CTA AGA GAA AAC GAG TGT GTC TCC TGT AGT AAC TGT AAG | 432 |
| Gly Phe Phe Leu Arg Glu Asn Glu Cys Val Ser Cys Ser Asn Cys Lys | |
| 130 135 140 | |
| AAA AGC CTG GAG TGC ACG AAG TTG TGC CTA CCC CAG AAT TAG | 474 |
| Lys Ser Leu Glu Cys Thr Lys Leu Cys Leu Pro Gln Ile | |
| 145 150 155 | |

(2) INFORMATION FÜR SEQ ID Nr. 50:

(i) SEQUENZ-CHARAKTERISTIKA:

(A) LÄNGE: 157 Aminosäuren

(B) TYP: Aminosäure

(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) MOLEKÜLTYP: Protein

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID Nr. 50:

Met Gly Leu Ser Thr Val Pro Asp Leu Leu Leu Pro Leu Val Leu Leu
 1 5 10 15

Glu Leu Leu Val Gly Ile Tyr Pro Ser Gly Val Ile Gly Leu Val Pro
 20 25 30

His Leu Gly Asp Arg Glu Lys Arg Glu Cys Glu Ser Gly Ser Phe Thr
 35 40 45

Ala Ser Glu Asn His Leu Arg His Cys Leu Ser Cys Ser Lys Cys Arg
 50 55 60

Lys Glu Met Gly Gln Val Glu Ile Ser Ser Cys Thr Val Asp Arg Asp
 65 70 75 80

Thr Val Cys Gly Cys Arg Lys Asn Gln Tyr Arg His Tyr Trp Ser Glu
 85 90 95

Asn Leu Phe Gln Cys Phe Asn Cys Ser Leu Cys Leu Asn Gly Thr Val
 100 105 110

His Leu Ser Cys Gln Glu Lys Gln Asn Thr Val Cys Thr Cys His Ala
 115 120 125

Gly Phe Phe Leu Arg Glu Asn Glu Cys Val Ser Cys Ser Asn Cys Lys
 130 135 140

Lys Ser Leu Glu Cys Thr Lys Leu Cys Leu Pro Gln Ile
 145 150 155

(2) INFORMATION FÜR SEQ ID Nr. 51:

(i) SEQUENZ-CHARAKTERISTIKA:

(A) LÄNGE: 462 Basenpaare

(B) TYP: Nukleinsäure

(C) STRANGART: doppelsträngig

(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) MOLEKÜLTYP: cDNA zu mRNA

(ix) MERKMAL:

(A) NAME/SCHLÜSSEL: CDS

(B) LOKALISIERUNG: 1..459

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID Nr. 51:

| | |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| ATG GGC CTC TCC ACC GTG OCT GAC CTG CTG CTG CCG CTG GTG CTC CTG Met Gly Leu Ser Thr Val Pro Asp Leu Leu Leu Pro Leu Val Leu Leu 1 5 10 15 | 48 |
| GAG CTG TTG GTG GGA ATA TAC CCC TCA GGG GTT ATT GGA CTG GTC OCT Glu Leu Leu Val Gly Ile Tyr Pro Ser Gly Val Ile Gly Leu Val Pro 20 25 30 | 96 |
| CAC CTA GGG GAC AGG GAG AAG AGA GAT AGT GTG TGT CCC CAA GGA AAA His Leu Gly Asp Arg Glu Lys Arg Asp Ser Val Cys Pro Gln Gly Lys 35 40 45 | 144 |
| TAT ATC CAC OCT CAA AAT AAT TCG ATT TGC TGT ACC AAG TGC CAC AAA Tyr Ile His Pro Gln Asn Asn Ser Ile Cys Cys Thr Lys Cys His Lys 50 55 60 | 192 |
| GGA ACC TAC TTG TAC AAT GAC TGT CCA GGC CCG GGG CAG GAT ACG GAC Gly Thr Tyr Leu Tyr Asn Asp Cys Pro Gly Pro Gly Gln Asp Thr Asp 65 70 75 80 | 240 |
| TGC AGG AAG AAC CAG TAC OGG CAT TAT TGG AGT GAA AAC CTT TTC CAG Cys Arg Lys Asn Gln Tyr Arg His Tyr Trp Ser Glu Asn Leu Phe Gln 85 90 95 | 288 |
| TGC TTC AAT TGC AGC CTC TGC CTC AAT GGG ACC GTG CAC CTC TCC TGC Cys Phe Asn Cys Ser Leu Cys Leu Asn Gly Thr Val His Leu Ser Cys 100 105 110 | 336 |
| CAG GAG AAA CAG AAC ACC GTG TGC ACC TGC CAT GCA GGT TTC TTT CTA Gln Glu Lys Gln Asn Thr Val Cys Thr Cys His Ala Gly Phe Phe Leu 115 120 125 | 384 |
| AGA GAA AAC GAG TGT GTC TCC TGT AGT AAC TGT AAG AAA AGC CTG GAG Arg Glu Asn Glu Cys Val Ser Cys Ser Asn Cys Lys Lys Ser Leu Glu 130 135 140 | 432 |
| TGC ACG AAG TTG TGC CTA CCC CAG ATT TAG Cys Thr Lys Leu Cys Leu Pro Gln Ile 145 150 | 462 |

(2) INFORMATION FÜR SEQ ID Nr. 52:**(i) SEQUENZ-CHARAKTERISTIKA:**

- (A) LÄNGE: 153 Aminosäuren
 (B) TYP: Aminosäure
 (D) TOPOLOGIE: linear

(ii) MOLEKÜLTYP: Protein**(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID Nr. 52:**

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

(2) INFORMATION FÜR SEQ ID Nr. 53:**(i) SEQUENZ-CHARAKTERISTIKA:**

- (A) LÄNGE: 477 Basenpaare
 (B) TYP: Nukleinsäure
 (C) STRANGART: doppelsträngig
 (D) TOPOLOGIE: linear

(ii) MOLEKÜLTYP: cDNA zu mRNA**(ix) MERKMAL:**

- (A) NAME/SCHLÜSSEL: CDS
 (B) LOKALISIERUNG: 1..474

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID Nr. 53:

| | |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| ATG GGC CTC TCC ACC GTG CCT GAC CTG CTG CTG CCG CTG GTG CTC CTG Met Gly Leu Ser Thr Val Pro Asp Leu Leu Leu Pro Leu Val Leu Leu 1 5 10 15 | 48 |
| GAG CTG TTG GTG GGA ATA TAC CCC TCA GGG GTT AIT GGA CTG GTC CCT Glu Leu Leu Val Gly Ile Tyr Pro Ser Gly Val Ile Gly Leu Val Pro 20 25 30 | 96 |
| CAC CTA GGG GAC AGG GAG AAG AGA GAT AGT GTG TGT CCC CAA GGA AAA His Leu Gly Asp Arg Glu Lys Arg Asp Ser Val Cys Pro Gln Gly Lys 35 40 45 | 144 |
| TAT ATC CAC OCT CAA AAT AAT TOG AIT TGC TGT ACC AAG TGC CAC AAA Tyr Ile His Pro Gln Asn Asn Ser Ile Cys Cys Thr Lys Cys His Lys 50 55 60 | 192 |
| GGA ACC TAC TTG TAC AAT GAC TGT CCA GGC CCG GGG CAG GAT ACG GAC Gly Thr Tyr Leu Tyr Asn Asp Cys Pro Gly Pro Gly Gln Asp Thr Asp 65 70 75 80 | 240 |
| TGC AGG GAG TGT GAG AGC GGC TCC TTC ACC GCT TCA GAA AAC CAC CTC Cys Arg Glu Cys Glu Ser Gly Ser Phe Thr Ala Ser Glu Asn His Leu 85 90 95 | 288 |
| AGA CAC TGC CTC AGC TGC TCC AAA TGC CGA AAG GAA ATG GGT CAG GTG Arg His Cys Leu Ser Cys Ser Lys Cys Arg Lys Glu Met Gly Gln Val 100 105 110 | 336 |
| GAG ATC TCT TCT TGC ACA GTG GAC CCG GAC ACC GTG TGT ACC TGC CAT Glu Ile Ser Ser Cys Thr Val Asp Arg Asp Thr Val Cys Thr Cys His 115 120 125 | 384 |
| GCA GGT TTC TTT CTA AGA GAA AAC GAG TGT GTC TCC TGT AGT AAC TGT Ala Gly Phe Phe Leu Arg Glu Asn Glu Cys Val Ser Cys Ser Asn Cys 130 135 140 | 432 |
| AAG AAA AGC CTG GAG TGC ACG AAG TTG TGC CTA CCC CAG AIT TAG Lys Lys Ser Leu Glu Cys Thr Lys Leu Cys Leu Pro Gln Ile 145 150 155 | 477 |

(2) INFORMATION FÜR SEQ ID Nr. 54:**(i) SEQUENZ-CHARAKTERISTIKA:**

- (A) LÄNGE: 158 Aminosäuren
 (B) TYP: Aminosäure
 (D) TOPOLOGIE: linear

(ii) MOLEKÜLTYP: Protein**(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID Nr. 54:**

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

(2) INFORMATION FÜR SEQ ID Nr. 55:

(i) SEQUENZ-CHARAKTERISTIKA:

- (A) LÄNGE: 12 Basenpaare
- (B) TYP: Nukleinsäure
- (C) STRANGART: doppelsträngig
- (D) TOPOLOGIE: linear

(ii) MOLEKÜLTYP: DNA (genomisch)

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID Nr. 55:

GTGTGCAACT GA

12

(2) INFORMATION FÜR SEQ ID Nr. 56:

(i) SEQUENZ-CHARAKTERISTIKA:

- (A) LÄNGE: 504 Basenpaare
- (B) TYP: Nukleinsäure
- (C) STRANGART: doppelsträngig
- (D) TOPOLOGIE: linear

(ii) MOLEKÜLTYP: cDNA zu mRNA

(ix) MERKMAL:

(A) NAME/SCHLÜSSEL: CDS

(B) LOKALISIERUNG: 1..501

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID Nr. 56:

| | |
|-----------------------------------------------------------------|-----|
| ATG GGC CTC TCC ACC GTG CCT GAC CTG CTG CTG CCG CTG GTG CTC CTG | 48 |
| Met Gly Leu Ser Thr Val Pro Asp Leu Leu Leu Pro Leu Val Leu Leu | |
| 1 5 10 15 | |
| GAG CTG TTG GTG GGA ATA TAC CCC TCA GGG GTT ATT GGA CTG GTC CCT | 96 |
| Glu Leu Leu Val Gly Ile Tyr Pro Ser Gly Val Ile Gly Leu Val Pro | |
| 20 25 30 | |
| CAC CTA GGG GAC AGG GAG AAG AGA GAT AGT GTG TGT CCC CAA GGA AAA | 144 |
| His Leu Gly Asp Arg Glu Lys Arg Asp Ser Val Cys Pro Gln Gly Lys | |
| 35 40 45 | |
| TAT ATC CAC CCT CAA AAT AAT TCG ATT TGC TGT ACC AAG TGC CAC AAA | 192 |
| Tyr Ile His Pro Gln Asn Asn Ser Ile Cys Cys Thr Lys Cys His Lys | |
| 50 55 60 | |
| GGA ACC TAC TTG TAC AAT GAC TGT CCA GGC CCG GGG CAG GAT ACG GAC | 240 |
| Gly Thr Tyr Leu Tyr Asn Asp Cys Pro Gly Pro Gly Gln Asp Thr Asp | |
| 65 70 75 80 | |
| TGC AGG GAG TGT GAG AGC GGC TCC TTC ACC GCT TCA GAA AAC CAC CTC | 288 |
| Cys Arg Glu Cys Glu Ser Gly Ser Phe Thr Ala Ser Glu Asn His Leu | |
| 85 90 95 | |
| AGA CAC TGC CTC AGC TGC TCC AAA TGC CGA AAG GAA ATG GGT CAG GTG | 336 |
| Arg His Cys Leu Ser Cys Ser Lys Cys Arg Lys Glu Met Gly Gln Val | |
| 100 105 110 | |
| GAG ATC TCT TCT TGC ACA GTG GAC CCG GAC ACC GTG TGT GGC TGC AGG | 384 |
| Glu Ile Ser Ser Cys Thr Val Asp Arg Asp Thr Val Cys Gly Cys Arg | |
| 115 120 125 | |
| AAG AAC CAG TAC CCG CAT TAT TGG AGT GAA AAC CTT TTC CAG TGC TTC | 432 |
| Lys Asn Gln Tyr Arg His Tyr Trp Ser Glu Asn Leu Phe Gln Cys Phe | |
| 130 135 140 | |
| AAT TGC AGC CTC TGC CTC AAT GGG ACC GTG CAC CTC TCC TGC CAG GAG | 480 |
| Asn Cys Ser Leu Cys Leu Asn Gly Thr Val His Leu Ser Cys Gln Glu | |
| 145 150 155 160 | |
| AAA CAG AAC ACC GTG TGC ACC TGA | 504 |
| Lys Gln Asn Thr Val Cys Thr | |
| 165 | |

(2) INFORMATION FÜR SEQ ID Nr. 57:

(i) SEQUENZ-CHARAKTERISTIKA:

(A) LÄNGE: 167 Aminosäuren

(B) TYP: Aminosäure

(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) MOLEKÜLTYP: Protein

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID Nr. 57:

```

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

Asn Cys Ser Leu Cys Leu Asn Gly Thr Val His Leu Ser Cys Gln Glu
145           150           155           160

Lys Gln Asn Thr Val Cys Thr
           165

```

Patentansprüche

1. Polypeptid, welches in der Lage ist, an Human-TNF α zu binden und aus folgendem besteht:

- (a) der Aminosäuresequenz der ersten drei Cystein-reichen Subdomänen der extrazellulären Bindungsdomäne des 55 kD-Rezeptors für Human-TNF α ; oder
- (b) einer Aminosäuresequenz mit einer Homologie von 90% oder mehr mit der Sequenz (a); wobei es dem Polypeptid an der vierten Cystein-reichen Subdomäne des Rezeptors mangelt.

2. Polypeptid, welches die folgende Aminosäuresequenz aufweist:

M G L S T V P D L L L P L V
 L L E L L V G I Y P S G V I G L V P H L G
 D R E K R D S V C P Q G K Y I H P Q N N S
 I C C T K C H K G T Y L Y N D C P G P G Q
 D T D C R E C E S G S F T A S E N H L R H
 C L S C S K C R K E M G Q V E I S S C T V
 D R D T V C G C R K N Q Y R H Y W S E N L
 F Q C F N C S L C L N G T V H L S C Q E K
 Q N T V C T (SEQ ID NR.: 2)

3. Polypeptid, welches die folgende Aminosäuresequenz aufweist:

V C P Q G K Y I H P Q N N S
 I C C T K C H K G T Y L Y N D C P G P G Q
 D T D C R E C E S G S F T A S E N H L R H
 C L S C S K C R K E M G Q V E I S S C T V
 D R D T V C G C R K N Q Y R H Y W S E N L
 F Q C F N C S L C L N G T V H L S C Q E K
 Q N T V C T (SEQ ID NR.: 4)

4. DNA-Molekül, welches ein Polypeptid codiert, wie in mindestens einem der vorhergehenden Ansprüche definiert.

5. DNA-Molekül, welches ein Polypeptid codiert, wie in Anspruch 3 definiert, und welches die folgende Sequenz aufweist:

GTG TGT CCC CAA GGA AAA TAT ATC CAC CCT CAA AAT AAT TCG ATT
 TGC TGT ACC AAG TGC CAC AAA GGA ACC TAC TTG TAC AAT GAC TGT
 CCA GGC CCG GGG CAG GAT ACG GAG TGC AGG GAG TGT GAG AGC GGC
 TCC TTC ACC GCT TCA GAA AAC CAC CTC AGA CAC TGC CTC AGC TGC
 TCC AAA TGC CGA AAG GAA ATG GGT CAG GTG GAG ATC TCT TCT TGC
 ACA GTG GAC CGG GAC ACC GTG TGT GGC TGC AGG AAG AAC CAG TAC
 CGG CAT TAT TGG AGT GAA AAC CTT TTC CAG TGC TTC AAT TGC AGC
 CTC TGC CTC AAT GGG ACC GTG CAC CTC TCC TGC CAG GAG AAA CAG
 AAC ACC GTG TGC (SEQ ID NR.: 3)

6. DNA-Molekül gemäß Anspruch 4 oder 5, welches ferner eine 5'-Sequenz aufweist, die eine Signal-Aminosäuresequenz codiert.

7. DNA-Molekül, welches ein Polypeptid codiert, wie in Anspruch 2 definiert, und welches die folgende Sequenz aufweist:

ATG GGC CTC TCC ACC GTG CCT GAC CTG CTG CTG CCG CTG GTG CTC
 CTG GAG CTG TTG GTG GGA ATA TAC CCC TCA GGG GTT ATT GGA CTG
 GTC CCT CAC CTA GGG GAC AGG GAG AAG AGA GAT AGT GTG TGT CCC
 CAA GGA AAA TAT ATC CAC CCT CAA AAT AAT TCG ATT TGC TGT ACC
 AAG TGC CAC AAA GGA ACC TAC TTG TAC AAT GAC TGT CCA GGC CCG
 GGG CAG GAT ACG GAC TGC AGG GAG TGT GAG AGC GGC TCC TTC ACC
 GCT TCA GAA AAC CAC CTC AGA CAC TGC CTC AGC TGC TCC AAA TGC
 CGA AAG GAA ATG GGT CAG GTG GAG ATC TCT TCT TGC ACA GTG GAC
 CGG GAC ACC GTG TGT GGC TGC AGG AAG AAC CAG TAC CGG CAT TAT
 TGG AGT GAA AAC CTT TTC CAG TGC TTC AAT TGC AGC CTC TGC CTC
 AAT GGG ACC GTG CAC CTC TCC TGC CAG GAG AAA CAG AAC ACC GTG
 TGC ACC (SEQ ID NR.: 1)

8. DNA-Molekül gemäß mindestens einem der Ansprüche 4 bis 7, welches ein Vektor ist, der das Polypeptid exprimiert, wenn er in einem geeigneten Wirt vorgesehen wird.

9. Vektor gemäß Anspruch 8, welcher ein Plasmid ist.

10. Wirt, der mit einem Vektor, wie in Anspruch 8 oder 9 beansprucht, transformiert ist.

11. Wirt gemäß Anspruch 10, welcher eine Säuger-Zelllinie ist.

12. Verfahren zur Herstellung eines Polypeptids, wie in Anspruch 1 definiert, wobei das Verfahren das Kultivieren eines transformierten Wirts, wie in Anspruch 10 oder 11 beansprucht, unter solchen Bedingungen umfasst, dass das Polypeptid exprimiert wird.

13. Pharmazeutische Zusammensetzung, umfassend ein(en) pharmazeutisch annehmbaren(s) Träger oder Verdünnungsmittel und, als einen aktiven Hauptwirkstoff, ein Polypeptid, wie in Anspruch 1 beansprucht.

14. Polypeptid, wie in Anspruch 1 definiert, zur Verwendung bei der Behandlung von rheumatoider Arthritis.

(SEQ ID NR.: 1)

(SEQ ID NR.: 2)

(SEQ ID NR.: 3)

(SEQ ID NR.: 4)

(SEQ ID NR.: 5)

(SEQ ID NR.: 1)

(SEQ ID NR.: 2)

(SEQ ID NR.: 3)

(SEQ ID NR.: 4)

(SEQ ID NR.: 5)

Es folgen 13 Blatt Zeichnungen

Anhängende Zeichnungen

Fig.1

1 ACCA GTGATCTCTA TGCCCGAGTC TCAACCCCTCA ACTGTACCCC CAAGGCACCTT GGGACGTCTT GGACAGACCC
 75 AGTCCCGGA AGCCCCAGCA CTGCCCTGC CACACTGCC CTGAGCCAAA TGGGGGAGTG AGAGGCCATA GCCTGCTGGC

40 M G L S T V P D L L L P L L V L L E L L L V G I Y P
 156 ATG GGC CTC TCC ACC GTG CCT GAC CTG CCG CTG CTG CTG GAG CTG TTT GTG GGA ATA TAC CCC

16 S G V I G L V P H L G D R E K R D S V C P Q G K
 228 TCA GGG GTT ATT GGA CTG GTC CCT CAC CTA GGG GAC AGG GAG AAG AGA GAT AGT GTG TGT CCC CAA GGA AAA

9 Y I H P Q N N S I C C T K C H K G T Y L Y N D C
 300 TAT ATC CAC CCT CAA AAT AAT TCG ATT TGC TGT ACC AAG TGC CAC AAA GGA ACC TAC TTT TAC AAT GAC TGT

33 P G P G Q D T D C R E C E S G S F T A S E N H L
 372 CCA GGC CCG GGG CAG GAT ACG GAC TGC AGG GAG TGT GAG AGC GGC TCC TTC ACC GCT TCA GAA AAC CAC CTC

57 R H C L S C S K C R K E M G Q V E I S S C T V D
 444 AGA CAC TGC CTC AGC TGC TCC AAA TGC CGA AAG GAA ATG GGT CAG GTG GAG ATC TCT TCT TGC ACA GTG GAC

81 R D T V C G C R K N Q Y R H Y W S E N L L F Q C F
 516 CGG GAC ACC GTG TGT GGC TGC AGG AAG AAC CAG TAC CGG CAT TAT TGG AGT GAA AAC CTT TTC CAG TGC TTC

105 N C S L C L N G T V H L S C Q E K Q N T V C T C
 558 ANT TGC AGC CTC TGC NAT GGG ACC GTG CAC CTC TCC TGC CAG GAG AAA CAG AAC ACC GTG TGC ACC TGC

129 H A G F L R E N E C V S C S N C K K S L E C T
 660 CAT GCA GGT TTC TTT CTA AGA GAA AAC GAG TGT GTC TCC TGT AGT AAC TGT AAG AAA AGC CTG GAG TGC ACC

153 K L C L P Q I E N V K G T E D S G T T V L L P L
 732 AAG TTG TGC CTA CCC CAG ATT GAG AAT GTT AAG GGC ACT GAG GAC TCA GGC ACC ACA GTG CTG TTG CCC CTG

177 V I F F G L C L L S L L L F I G L M Y
 804 GTC ATT TTC TTT GGT CTT TGC CTT TTA TCC CTC CTC TTT ATT GGT TTA ATG TAT CGC TAC CAA CCG TGG AAG

201 S K L Y S I V C G K S T P E K E G E L E G T T T
 876 TCC AAG CTC TAC TCC ATT GTT TGT GGG AAA TCG ACA CCT GAA AAA GAG GGG GAG CTT GAA GGA ACT ACT ACT

Fig. 1 (Fortsetzung)

225 K P L A P S F S P T P G F T P T L G F S P V
 948 AAG CCC CTG GCC CCA AAC CCA AGC TTC AGT CCC ACT CCA GGC TTC ACC CCC ACC CTG GGC TTC AGT CCC GTG
 249 P S S T F T S S S T Y T P P G D C P N F A A P R R
 1020 CCC AGT TCC ACC TTC ACC TCC AGC TCC ACC TAT ACC CCC GGT GAC TGT CCC AAC TTT GCG GCT CCC CGC AGA
 273 E V A P P Y Q G A D P I L A T A L A S D P I P N
 1092 GAG GTG GCA CCA CCC TAT CAG GGG GCT GAC CCC ATC CTT GCG ACA GEC CTC GCC TCC GAC CCC ATC CCC AAC
 297 P L Q K W E D S A H K P Q S L D T D D P A T L Y
 1164 CCC CTT CAG AAG TGG GAG GAC AGT GCC CAC AAG CCA CAG AGC CTA GAC ACT GAT GAC CCC GCG ACG CTG TAC
 321 A V E N V P P L R T L E F V R R L G L S D H E
 1236 GCC GTG GTG GAG AAC GTG CCC CCG TTG CGC TGG AAG GAA TTC GTG CGG CGC CTA GGG CTG AGC GAC CAC GAG
 345 I D R L E L Q N G R C L R E A Q Y S M L A T W R
 1308 ATC GAT CGG CTG GAG CTG CAG AAC GGG CGC TGC CTG CGC GAG GCG CAA TAC AGC ATG CTG GCG ACC TGG AGG
 369 R R T P R R E A T L L E L L G R V L R R H M D L L G
 1380 CGG CGC ACG CCG CGG GAG GCC ACG CTG GAG CTG GAG CTG GGA CGC GTG CTC CGC GAC ATG GAC CTG CTG GGC
 393 C L E D I E E A L C G P A A L P P A P S L L R
 1452 TGC CTG GAG GAC ATC GAG GCG CTT TGC GGC CCC GCC GCG CTC CCG CCC GCG ACC AGT CTT CTC AGA TGA
 1521 GGC TGG CCC TGC GGC CAG TCTAAGGACC GTCCTCGCAG ATGCCCTCC AACCCCACTT TTTTCTGGAA AGGAGGGGTC
 1601 CTGCAGGGGC AAGCAGGAGC TAGCAGCCCG CTAAGTGGTG CTAAACCCCTC GAIGTACATA GCTTTCTCA GCTGCCCTGCG
 1681 CGCCGCCGAC AGTCAGCGCT GTGGCGGCGG AGAGAGGTGC GCCGTGGGCT CAAGAGCCCTG AGTGGGTGGT TTGCGAGGAT
 1761 GAGGGACGCT ATGCCCTCATG CCGTTTGG GTGTCCCTCAC CAGCAAGGCT GCTCGGGGGC CCCTGGTTCG TCCCTGAGCC
 1841 TTTTTCACAG TGCATAMGCA GTTTTTTTG TTTTGTGTTT GTTTTTAA TCAATCATGT TACACTAATA
 1921 GAACTTGGC ACTCCTGTGC CCTCTGGCTG GACAAAGCAC ATAGCAAGCT GAATGTCCT AAGGCAGGGG CGAGCACGGA
 2001 ACAATGGGGC CTTACAGCTGG AGCTGTGGAC TTTTGTACAT ACACTAANAAT TCTGAMGTTA AG

Fig. 2

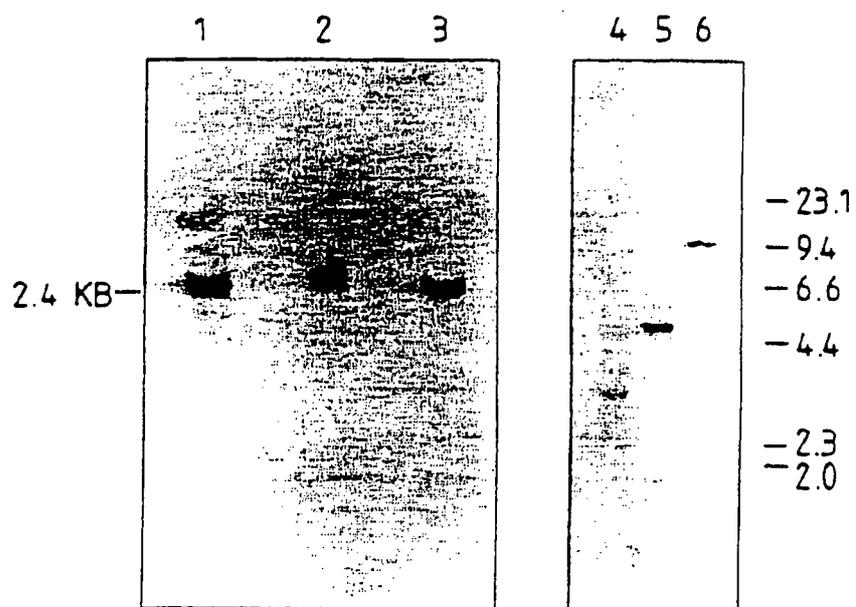


Fig.3

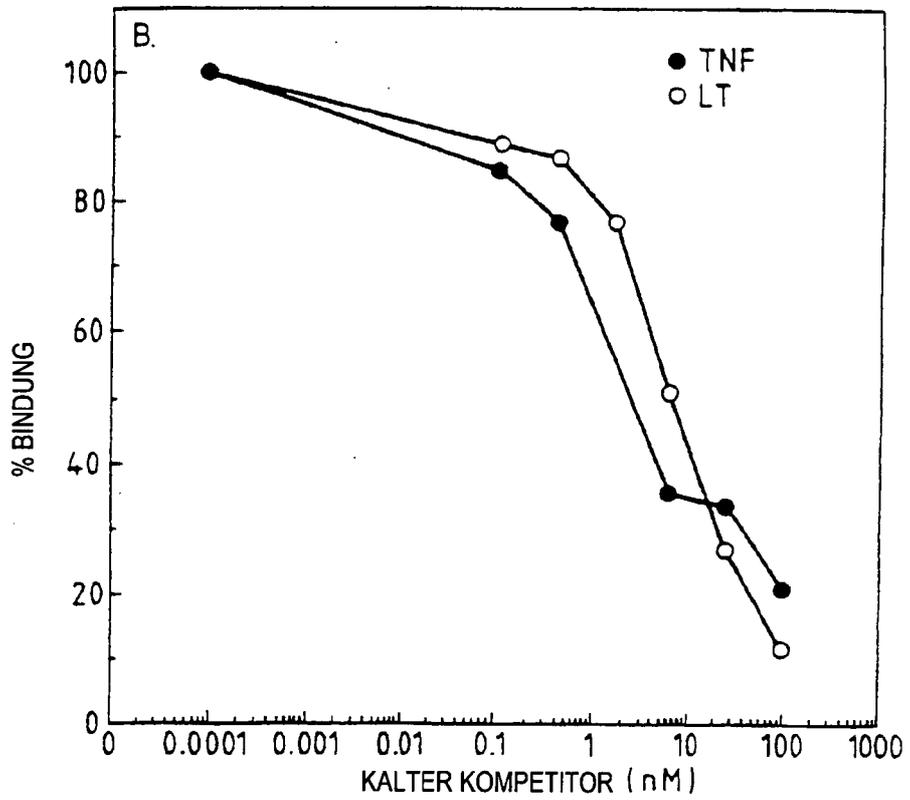
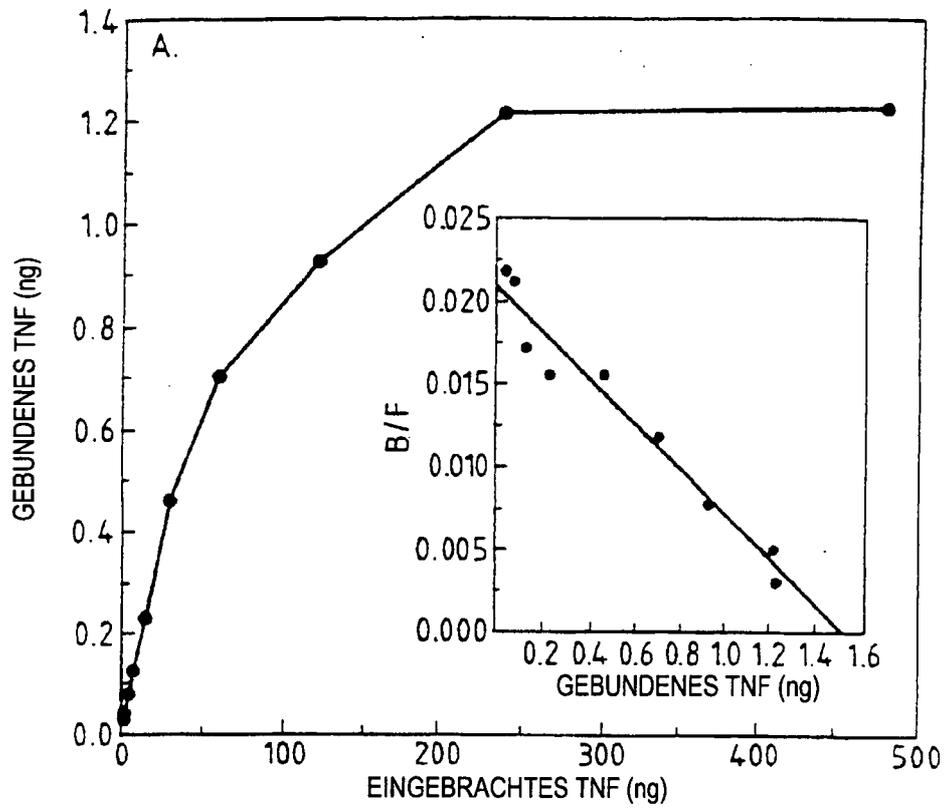


Fig.4

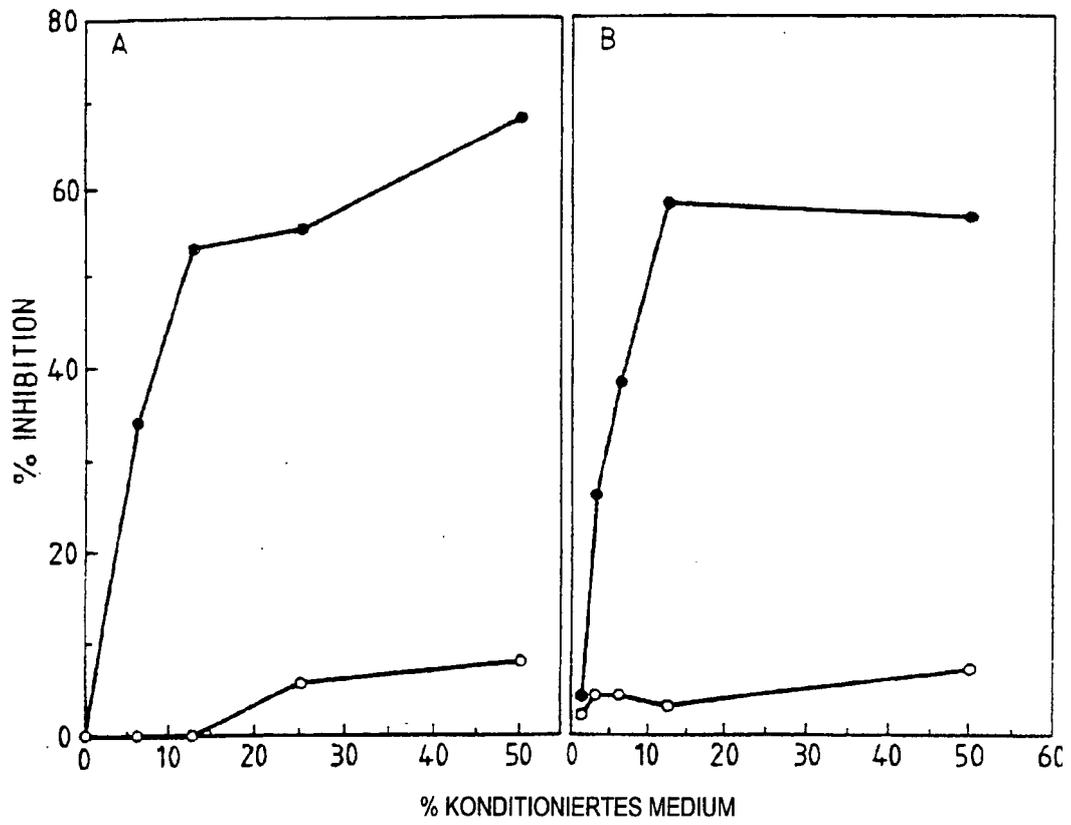


Fig. 5

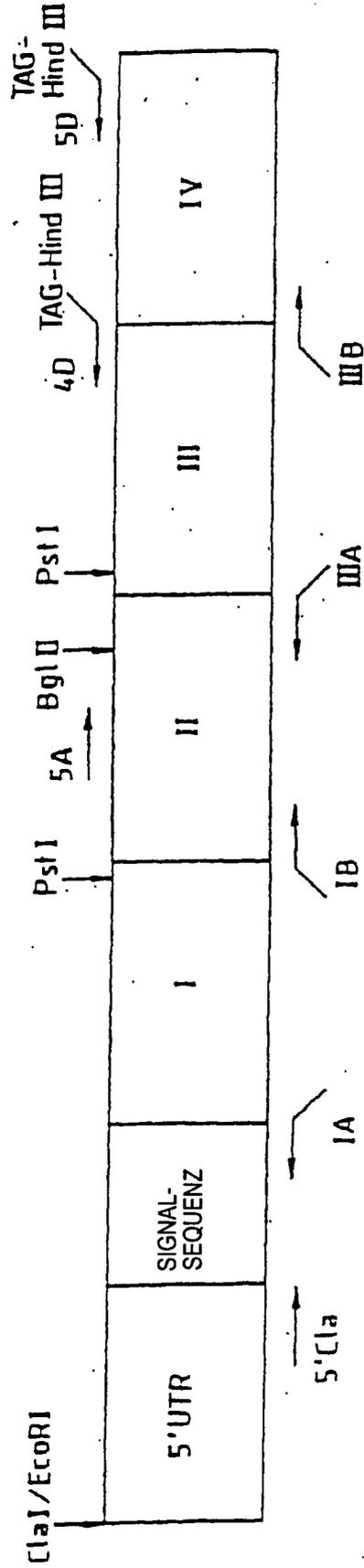


Fig.6

Erste Subdomäne

V C P O G K Y I H P O N S I C C T I K C H K G I T Y L Y N D C P P G O O T D C R (SEQ ID Nr.: 26)
 T C R L R E Y Y D O T A O M C C S K C S P G O H A K V F C T K T S D T V C D (SEQ ID Nr.: 27)
 T C S T G L Y T H S G E C C K A C N L G E V A Q P C G A N O T V C E (SEQ ID Nr.: 28)
 A C R E K O Y L I N S O C C S L C O P G O K L V S D C T E F T E C C L (SEQ ID Nr.: 29)
 N C V K D T Y P S G H K C C C H E C O P G H G M V S R C D H T R D T V C H (SEQ ID Nr.: 30)

Zweite Subdomäne

E C E S G S F T A S E N H L R H C L S C S K C H K E M G O V E I S S C T V D R D T V C (SEQ ID Nr.: 31)
 S C E D S T Y I O L W N W V P E C L S C G S R C S S D O V E T O A C T R E O N R I C (SEQ ID Nr.: 32)
 P C L D N V T F S D V V S A T E P C K P C T E C L G L O S M S A P C V E A D I A V C (SEQ ID Nr.: 33)
 P C G E S E F L D T W N R E T H C H O I I K Y C D P N L G L R V O O K G T S E T D T I C (SEQ ID Nr.: 34)
 P C E P G F Y N E A V N Y D T C K O G T O C N H R S G S E L K O N C T P T E D T V C (SEQ ID Nr.: 35)

Dritte Subdomäne

G C R K N O Y I R H Y W S E N L F O C F N C S L C L N G T V H L S C O E K O N T V C (SEQ ID Nr.: 36)
 T C R P G W Y G A L S K O E G C R L C A P L R K C R P G F G V A R P G T E T S D V V C K (SEQ ID Nr.: 37)
 R C A Y G Y Y O D E E T G H C E A C S V C E V G S G L V F S C O D K O N T V C E (SEQ ID Nr.: 38)
 T C E E G W H C T S E A C E S C V L H R S C S P G F G V K O I A T G V S D T T C E (SEQ ID Nr.: 39)

Vierte Subdomäne

T C H A G F F L R E I N E C V S C S N C K K S L E C T K L C L P O I E N V K G T (SEQ ID Nr.: 40)
 P C A P G T F S N T S T D P C R P H O I C N T V V A I P G N A S M D A V C T (SEQ ID Nr.: 41)
 E C P E G T Y S D E A N H V D P C L P P G T V C E D T E R O L R E C T P W A D A E C E (SEQ ID Nr.: 42)
 P C P P V G F F S N V S S A F E K C H P P W T S C E T K D L V V O A G T N K T D V V C G (SEQ ID Nr.: 43)
 P C P P G R F S P G S N O A C K P W T N C T L S G K O I H H P A S N S L D T V C E (SEQ ID Nr.: 44)

Fig. 7

DNA - Sequenz 608 bp TGTCTGGCATGG . . . CCCACGATTTAG . linear
 (SEQ.ID.Nr.: 45) (SEQ.ID.Nr.: 46)

9 / 1 39 / 11
 ATG GGC CTC TCC ACC GTG CCT GAC CTG CTG CCG CTG GTG CTC CTG GAG CTG TTG GTG
 met gly leu ser thr val pro asp leu leu leu pro leu val leu leu glu leu val
 69 / 21 99 / 31
 GGA ATA TAC CCC TCA GGG GTT ATT GGA CTG GTC CCT CAC CTA GGG GAC AGG GAG AAG AGA
 gly ile tyr pro ser gly val ile gly leu val pro his leu gly asp arg glu lys arg
 129 / 41 159 / 51
 GAT AGT GTG TGT CCC CAA GGA AAA TAT ATC CAC CCT CAA AAT AAT TCG ATT TGC TGT ACC
 asp ser val cys pro gln gly lys tyr ile his pro gln asn ser ile cys cys thr
 189 / 61 219 / 71
 AAG TGC CAC AAA GGA ACC TAC TTG TAC AAT GAC TGT CCA GGC CCG GGG CAG GAT ACG GAC
 lys cys his lys gly thr tyr leu tyr asn asp cys pro gly pro gly gln asp thr asp
 249 / 81 279 / 91
 TGC AGG GAG TGT GAG AGC GGC TCC TTC ACC GCT TCA GAA AAC CAC CTC AGA CAC TGC CTC
 cys arg glu cys glu ser gly ser phe thr ala ser glu asn his leu arg his cys leu
 309 / 101 339 / 111
 AGC TGC TCC AAA TGC CGA AAG GAA ATG GGT CAG GTG GAG ATC TCT TCT TGC ACA GTG GAC
 ser cys ser lys cys arg lys glu met gly gln val glu ile ser ser cys thr val asp
 369 / 121 399 / 131
 CGG GAC ACC GTG TGT GGC TGC AGG AAG AAC CAG TAC CCG CAT TAT TGG AGT GAA AAC CTT
 arg asp thr val cys gly cys arg lys asn gln tyr arg his tyr trp ser glu asn leu
 429 / 141 459 / 151
 TTC CAG TGC TTC AAT TGC AGC CTC TGC AAT GGG ACC GTG CAC CTC TCC TGC CAG GAG
 phe gln cys phe asn cys ser leu cys leu asn gly thr val his leu ser cys gln glu
 489 / 161 519 / 171
 AAA CAG AAC ACC GTG TGC ACC TGC CAT GCA GGT TTC TTT CTA AGA GAA AAC GAG TGT GTC
 lys gln asn thr val cys thr cys his ala gly phe phe leu arg glu asn glu cys val
 549 / 181 579 / 191
 TCC TGT AGT AAC TGT AAG AAA AGC CTG GAG TGC ACG AAG TTG TGC CTA CCC CAG ATT TAG
 ser cys ser asn cys lys lys ser leu glu cys thr lys leu cys leu pro gln ile amb
 (SEQ.ID.Nr.: 47)
 (SEQ.ID.Nr.: 48)

Fig. 8

DNA - Sequenz 482 bp TGCTGTGGCATGG ... CCCACAGATTAG linear
(SEQ.ID Nr.: 46) (SEQ.ID Nr.: 46)

9 / 1
 ATG GGC CTC TCC ACC GTG CCT GAC CTG CTG CCG CTG GTG CTC CTG GAG CTG TTG GTG
 met gly leu ser thr val pro asp leu leu pro leu val leu leu glu leu leu val
 69 / 21
 GGA ATA TAC CCC TCA GGG GTT ATT GGA CTG GTC CCT CAC CTA GGG GAC AGG GAG AAG AGA
 gly ile tyr pro ser gly val ile gly leu val pro his leu gly asp arg glu lys arg
 129 / 41
 GAG TGT GAG AGC GGC TCC TTC ACC GCT TCA GAA AAC CAC CTC AGA CAC TGC CTC AGC TGC
 glu cys glu ser phe thr ala ser glu asn his leu arg his cys leu ser cys
 189 / 61
 TCC AAA TGC CGA AAG GAA ATG GGT CAG GTG GAG ATC TCT TGT ACA GTG GAC CGG GAC
 ser lys cys arg lys glu met gly gln val glu ile ser ser cys thr val asp arg asp
 249 / 81
 ACC GTG TGT GGC TGC AGG AAG AAC CAG TAC CGG CAT TAT TGG AGT GAA AAC CTT TTC CAG
 thr val cys gly cys arg lys asn gln tyr arg his tyr tip ser glu asn leu phe gln
 309 / 101
 TGC TTC AAT TGC AGC CTC TGC AAT GGG ACC GTG CAC CTC TCC TGC CAG GAG AAA CAG
 cys phe asn cys ser leu cys leu asn gly thr val his leu ser cys gln glu lys gln
 369 / 121
 AAC ACC GTG TGC ACC TGC CAT GCA GGT TTC TTT CTA AGA GAA AAC GAG TGT GTC TCC TGT
 asn thr val cys thr cys his ala gly phe leu arg glu asn glu cys val ser cys
 429 / 141
 AGT AAC TGT AAG AAA AGC CTG GAG TGC ACG AAG TTG TGC CTA CCC CAG ATT TAG (SEQ.ID Nr.: 49)
 ser asn cys lys lys ser leu glu cys thr lys leu cys leu pro gln ile AMB (SEQ.ID Nr.: 50)

Fig. 9

| | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|---------------|--------|------------------|------------------|--------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|------------------|-----|-----|-----|-----|
| DNA - Sequenz | 470 bp | TGTCTGGCATGG ... | CCCCAGATTTAG | linear | | | | | | | | | | | | | | |
| | | (SEQ.ID.Nr.: 45) | (SEQ.ID.Nr.: 46) | | | | | | | | | | | | | | | |
| 9 | / | 1 | 39 | / | 11 | | | | | | | | | | | | | |
| ATG | GGC | CTC | TCC | ACC | GTG | CCT | GAC | CTG | CTG | CCG | CTG | CTC | CTG | GAG | CTG | TTG | GTG | |
| met | gly | leu | ser | thr | val | pro | asp | leu | leu | leu | pro | leu | val | leu | leu | glu | leu | val |
| 69 | / | 21 | 99 | / | 31 | | | | | | | | | | | | | |
| GGA | ATA | TAC | CCC | TCA | GGG | GTT | ATT | GGA | CTG | GTC | CCT | CAC | CTA | GGG | GAC | AGG | GAG | AGA |
| gly | ile | tyr | pro | ser | gly | val | ile | gly | leu | val | pro | his | leu | gly | asp | arg | glu | lys |
| 129 | / | 41 | 159 | / | 51 | | | | | | | | | | | | | |
| GAT | AGT | GTG | TGT | CCC | CMA | GGA | AAA | TAT | ATC | CAC | CCT | CMA | AAT | AAT | TCC | ATT | TGC | TGT |
| asp | ser | val | cys | pro | gln | gly | lys | tyr | ile | his | pro | gln | asn | ser | ile | cys | cys | thr |
| 189 | / | 61 | 219 | / | 71 | | | | | | | | | | | | | |
| AAG | TGC | CAC | AAA | GGA | ACC | TAC | TTG | TAC | AAT | GAC | TGT | CCA | GGC | CCG | GGG | CAG | GAT | ACG |
| lys | cys | his | lys | gly | thr | tyr | leu | tyr | asn | asp | cys | pro | gly | pro | gly | gln | asp | thr |
| 249 | / | 81 | 279 | / | 91 | | | | | | | | | | | | | |
| TGC | AGG | AAG | AAC | CAG | TAC | CGG | CAT | TAT | TGG | AGT | GAA | AAC | CIT | TTC | CAG | TGC | TTC | AAT |
| cys | arg | lys | asn | gln | tyr | arg | his | tyr | trp | ser | glu | asn | leu | phe | gln | cys | phe | asn |
| 309 | / | 101 | 339 | / | 111 | | | | | | | | | | | | | |
| AGC | CTC | TGC | CTC | AAT | GGG | ACC | GTG | CAC | CTC | TCC | TGC | CAG | GAG | AAA | CAG | AAC | ACC | GTG |
| ser | leu | cys | leu | asn | gly | thr | val | his | leu | ser | cys | gln | glu | lys | gln | asn | thr | val |
| 369 | / | 121 | 399 | / | 131 | | | | | | | | | | | | | |
| ACC | TGC | CAT | GCA | GGT | TTC | TTT | CTA | AGA | GAA | AAC | GAG | TGT | GTC | TCC | TGT | AGT | AAC | TGT |
| thr | cys | his | ala | gly | phe | leu | arg | glu | asn | glu | cys | val | ser | cys | ser | asn | cys | lys |
| 429 | / | 141 | 459 | / | 151 | | | | | | | | | | | | | |
| AAA | ACC | CTG | GAG | TGC | ACG | AAG | TTG | TGC | CTA | CCC | CAG | ATT | TAG | (SEQ.ID.Nr.: 51) | | | | |
| lys | ser | leu | glu | cys | thr | lys | leu | cys | leu | pro | gln | ile | AMB | (SEQ.ID.Nr.: 52) | | | | |

Fig.10

| | | | |
|---------------------------------------------------------------------------------|--------|---------------------------------|------------------|
| DNA - Sequenz | 485 bp | TGTCCTGGCATGG ... CCCACAGATTTAG | Linear |
| | | (SEQ ID Nr.: 45) | (SEQ ID Nr.: 46) |
| 9 / 1 | | 39 / 11 | |
| ATG GGC CTC TCC ACC GTG CCT GAC CTG CTG CCG CTG CTG GAG CTG TTTG GTG | | | |
| met gly leu ser thr val pro asp leu leu pro leu val leu leu glu leu val | | | |
| 69 / 21 | | 99 / 31 | |
| GGA ATA TAC CCC TCA GGG GTT ATT GGA CTG GTC CCT CAC CTA GGG GAC AGG GAG AAG AGA | | | |
| gly ile tyr pro ser gly val ile gly leu val pro his leu gly asp arg glu lys arg | | | |
| 129 / 41 | | 159 / 51 | |
| GAT AGT GTG TGT CCC CAA GGA AAA TAT ATC CAC CCT CAA AAT AAT TCG ATT TGC TGT ACC | | | |
| asp ser val cys pro gln gly lys tyr ile his pro gln asn ser ile cys cys thr | | | |
| 189 / 61 | | 219 / 71 | |
| AAG TGC CAC AAA GGA ACC TAC TTG TAC AAT GAC TGT CCA GGC CCG GGG CAG GAT ACG GAC | | | |
| lys cys his lys gly thr tyr leu tyr asn asp cys pro gly pro gly gln asp thr asp | | | |
| 249 / 81 | | 279 / 91 | |
| TGC AGG GAG TGT GAG AGC GGC TCC TTC ACC GCT TCA GAA AAC CAC CTC AGA CAC TGC CTC | | | |
| cys arg glu cys glu ser gly ser phe thr ala ser glu asn his leu arg his cys leu | | | |
| 309 / 101 | | 339 / 111 | |
| AGC TGC TCC AAA TGC CGA AAG GAA ATG GGT CAG GTG GAG ATC TCT TCT TGC ACA GTG GAC | | | |
| ser cys ser lys cys arg lys glu met gly gln val glu ile ser ser cys thr val asp | | | |
| 369 / 121 | | 399 / 131 | |
| CGG GAC ACC GTG TGT ACC TGC CAT GCA GGT TTC TTT CTA AGA GAA AAC GAG TGT GTC TCC | | | |
| arg asp thr val cys thr cys his ala gly phe leu arg glu asn glu cys val ser | | | |
| 429 / 141 | | 459 / 151 | |
| TGT AGT AAC TGT AAG AAA AGC CTG GAG TGC ACG AAG TTG TGC CTA CCC CAG ATT TAG | | | (SEQ ID Nr.: 53) |
| cys ser asn cys lys lys ser leu glu cys thr lys leu cys leu pro gln ile AMB | | | (SEQ ID Nr.: 54) |

Fig.11

DNA - Sequenz 512 bp TGCTGGCATGG ... GTGTGCACCTGA linear
 (SEQ.ID.Nr.: 45) (SEQ.ID.Nr.: 56)

9 / 1
 ATG GGC CTC TCC ACC GTG CCT GAC CTG CTG CCG CTG CTG GAG CTG TTG GTG
 met gly leu ser thr val pro asp leu leu leu pro leu val leu leu glu leu val
 69 / 21
 GGA ATA TAC CCC TCA GGG GTT ATT GGA CTG GTC CCT CAC CTA GGG GAC AGG GAG AAG AGA
 gly ile tyr pro ser gly val ile gly leu val pro his leu gly asp arg glu lys arg
 129 / 41
 GAT AGT GTG TGT CCC CAA GGA AAA TAT ATC CAC CCT CAA AAT AAT TCG ATT TGC TGT ACC
 asp ser val cys pro gln gly lys tyr ile his pro gln asn ser ile cys cys thr
 189 / 61
 AAG TGC CAC AAA GGA ACC TAC TTG TAC AAT GAC TGT CCA GGC CCG GGG CAG GAT ACG GAC
 lys cys his lys gly thr tyr leu tyr asn asp cys pro gly pro gly gln asp thr asp
 249 / 81
 TGC AGG GAG TGT GAG AGC GGC TCC TTC ACC GCT TCA GAA AAC CAC CTC AGA CAC TGC CTC
 cys arg glu cys glu ser gly ser phe thr ala ser glu asn his leu arg his cys leu
 309 / 101
 AGC TGC TCC AAA TGC CGA AAG GAA ATG GGT CAG GTG GAG ATC TCT TCT TGC ACA GTG GAC
 ser cys ser lys cys arg lys glu met gly gln val glu ile ser ser cys thr val asp
 369 / 121
 CGG GAC ACC GTG TGT GGC TGC AGG AAG AAC CAG TAC CCG CAT TAT TGG AGT GAA AAC CTT
 arg asp thr val cys gly cys arg lys asn gln tyr arg his tyr tip ser glu asn leu
 429 / 141
 TTC CAG TGC TTC AAT TGC AGC CTC TGC CTC AAT GGG ACC GTG CAC CTC TCC TGC CAG GAG
 phe gln cys phe asn cys ser leu cys leu asn gly thr val his leu ser cys gln glu
 489 / 161
 AAA CAG AAC ACC GTG TGC ACC TGA (SEQ.ID.Nr.: 56)
 lys gln asn thr val cys thr OPA (SEQ.ID.Nr.: 57)

Fig.12

