

(12) **Österreichische Patentanmeldung**

(21) Anmeldenummer: A 9496/2009
(86) PCT-Anmeldenummer PCT/SI2009/000048
(22) Anmeldetag: 12.10.2009
(43) Veröffentlicht am: 15.09.2012

(51) Int. Cl. : **C07K 14/00** (2006.01)
C12N 15/62 (2006.01)

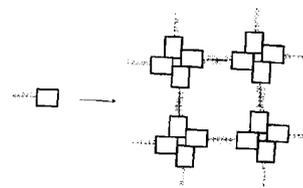
(56) Entgegenhaltungen:

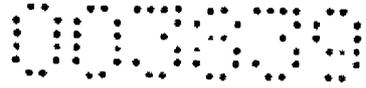
(73) Patentanmelder:
KEMIJSKI INSTITUT
SI-1000 LJUBLJANA (SI)

(54) **Polypeptidmaterial mit flexiblen Poreneigenschaften**

(57) Die Erfindung ist das Polypeptidmaterial mit flexiblen Poreneigenschaften, das durch das zwei- oder dreidimensionale Zusammenfügen von Fusionsproteinen aus mindestens zwei Proteindomänen entsteht, wobei mindestens eine Domäne ein Doppelwendel und mindestens eine die Protein-Oligomerisationsdomäne darstellt. Die Erfindung bezieht sich auf das Polypeptidmaterial, das z.B. bei der chemischen Katalyse und bei der Trennung der Moleküle auf Grundlage ihrer Eigenschaften verwendet wird.

B



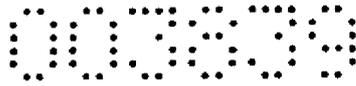


Patentanwälte
Dipl.-Ing. Helmut Hübscher
Dipl.-Ing. Karl Winfried Hellmich
Spittelwiese 7, A 4020 Linz

(38588) HEL

Z u s a m m e n f a s s u n g :

Die Erfindung ist das Polypeptidmaterial mit flexiblen Poreneigenschaften, das durch das zwei- oder dreidimensionale Zusammenfügen von Fusionsproteinen aus mindestens zwei Proteindomänen entsteht, wobei mindestens eine Domäne ein Doppelwendel und mindestens eine die Protein-Oligomerisationsdomäne darstellt. Die Erfindung bezieht sich auf das Polypeptidmaterial, das z.B. bei der chemischen Katalyse und bei der Trennung der Moleküle auf Grundlage ihrer Eigenschaften verwendet wird.



Polypeptidmaterial mit flexiblen Poreneigenschaften

Gegenstand der Erfindung

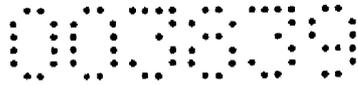
Der Gegenstand dieser Erfindung ist das Bionanomaterial, ein neues Material, das durch das zwei- oder dreidimensionale Zusammenfügen von Fusionsproteinen aus mindestens zwei Proteindomänen entsteht, wobei mindestens eine Domäne ein doppelwendiges Segment und mindestens eine die Protein-Oligomerisationsdomäne darstellt. Der Gegenstand der Erfindung ist auch das Fusionsprotein, aus dem Polypeptidmaterial und DNA mit dem Code für dieses Protein zubereitet sind. Der Gegenstand der Erfindung ist auch die Verwendung von Polypeptidmaterial zur Trennung der Moleküle nach ihrer Eigenschaften und für die chemische oder enzymatische Katalyse.

Stand der Technik

Die auf Membranen basierenden Filtrationssysteme werden für die Zubereitung von Trinkwasser verwendet, immer mehr jedoch auch in der Nahrungswirtschaft, z.B. zur Beseitigung von Verunreinigungen aus dem Wasser, in der Pharmaindustrie zur Beseitigung infektiöser Mikroorganismen und ungewollten Komponenten, zur Konzentration der gewählten Komponenten sowie für die membranischen chemischen Reaktoren und Bioreaktoren.

Zur Zubereitung von Ultrafiltrationssystemen für die Trennung von Makromolekülen werden allgemein

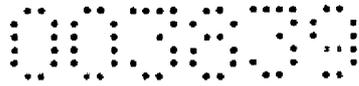
organische Polymere verwendet, die Porengröße wird durch physikalische Verfahren zur Erstellung von Poren mit beliebigen Dimensionen definiert, zum Beispiel Querbin-



derung von Fasern oder Ausdämpfung von Lösemitteln. Die Membranen, die aus dichten Proteinschichten bestehen, wurden aus der Bakterien-S-Schicht (S-Layer) zubereitet. Peng et al. (Peng et al., 2009, Nature Nanotechnology, 4, 353-357) beschreibt die aus dem Protein Ferritin zubereitete Ultrafiltrationsmembrane. Während sich der Filtrationserfolg je nach pH-Wert, der die Ladung des Analyten und der Membrane bestimmt, verändert, bleibt die Porengröße konstant und wird durch die Dichte der Proteinmoleküle bestimmt. Eine Pore, die von drei Ferritin-Molekülen mit einem Durchmesser von je 12 nm umgeben ist und einen Durchmesser von 2,2 nm hat, was die Verwendbarkeit dieses Systems einschränkt. Die auf der Stapelung der Protein-Moleküle basierende Zubereitung der Membrane beschränkt die Spannweite der möglichen Porendimensionen sowie auch ihre Geometrie und die chemischen Eigenschaften.

U.S. Patent Nr. 6,756,039 B1 berichtet über regelmäßige Strukturen, die durch Selbstzusammensetzung der Fusionsproteine gewonnen werden, die aus steif verbundenen Monomeren mit der Fähigkeit, sich selbst zu Oligomeren zusammenzusetzen, bestehen. Das Patent präsentiert die Produktion des diskreten Käfigs und der eindimensionalen Faser und schlägt ein dreidimensionales Netz aus Fusionsproteinen vor, bei dem jedes Fusionsprotein aus zwei Monomeren besteht, die zu Dimer und Trimer verbunden werden. Die Wahl der entsprechenden Monomere ist relativ komplex, denn die Monomere werden durch die Helix mit der Orientierung vom C-Terminus des ersten bis zum N-Terminus des zweiten Monomers verbunden. Eine solche steife Verbindung definiert die Orientierung der Monomere im Fusionsprotein und folglich definiert und beschränkt auch die Strukturen, die ein solches Fusionsprotein bilden kann, sowie auch ihre Verwendung.

WO/2004/033487 and U.S. Patent Application 2008/0097080 A1 präsentiert das Proteinnetz und aus Fusionsproteinen bestehende Strukturen, genannt Protomere. Diese bestehen aus Monomeren, die sich zu Oligomeren mit rationalen Symmetrieachsen des N-Ranges verbinden. Der Mangel der potentiellen Verwendung des Netzes, beschrieben im Patent WO/2004/033487, als Trägers für die Proteinkristallisation und die Elektromikroskopie, ist die Unfähigkeit der Veränderung der Poreneigenschaften



mit nur kleinen Bausteinmanipulationen. Weder 6,756,039 B1 noch WO/2004/033487 oder U.S. Patent Application 2008/0097080 A1 beschreiben die Methode für die Zubereitung der proteinischen Filtrationsmembranen.

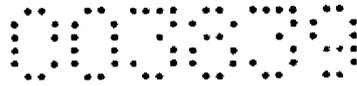
Die hier präsentierte Erfindung beschreibt die selbstzusammensetzenden Proteine als Bausteine, deren Veränderungen die Poreneigenschaften beeinflussen, wodurch die Materialien mit verschiedenen technologischen Eigenschaften zubereitet werden können. Eine der Domänen, die die Bausteine bilden, ist explizit als Doppelwendel definiert. Sie kann je nach Länge gewählt werden, denn diese beeinflusst direkt die Porengröße, oder je nach Nebengruppen der Aminosäure-Reste auf den an der Oberfläche ausgesetzten Positionen, wenn sie die Bildung der Doppelwendel nicht verhindern. Diese Aminosäure-Reste, meistens an den Positionen b, c und f, bestimmen die chemischen Eigenschaften der Pore und verleihen dem Material neue technologische Eigenschaften.

Zusammenfassung der Erfindung

Die Erfindung bezieht sich auf das Polypeptidmaterial mit flexiblen Poreneigenschaften, das durch das zwei- oder dreidimensionale Zusammenfügen von Fusionsproteinen aus mindestens zwei Proteindomänen entsteht, wobei mindestens eine Domäne eine Doppelwendel bildet und mindestens eine die Protein-Oligomerisationsdomäne mit mindestens der Oligomerisationsstufe 3.

Die Oligomerisationsstufe befindet sich gemäß der Erfindung zwischen 3 und 12, meistens zwischen 3 und 6.

Die Erfindung bezieht sich auf das Polypeptidmaterial, bei dem die Porenform und -Größe durch die Verbindungsart der Proteindomänen des genannten Fusionsproteins bestimmt werden und die Porengröße auch durch die Länge des Doppelwendelbildenden Segments.



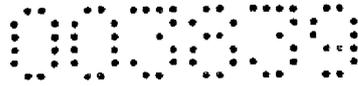
Die Erfindung bezieht sich auf das Polypeptidmaterial, bei dem die Länge des Doppelwendel-bildenden Segments zwischen 2 bis 100 Heptaden umfasst (14 bis 700 Aminosäure-Reste).

Die Erfindung bezieht sich auf das Polypeptidmaterial, dessen technologische Eigenschaften unter anderem durch die Einfuhr positiv geladener, negativ geladener, hydrophober, hydrophiler, zysteinischer, histidinischer und sonstiger Aminosäure-Reste, die spezifische Interaktionen mit den an der Oberfläche ausgesetzten Segmenten ermöglichen, definiert werden, während die für die Bildung der Doppelwendel benötigten Segmente erhalten werden. Die Aminosäure-Reste, die die technologischen Poreneigenschaften bestimmen, werden meistens an die Positionen b, c und f des Doppelwendel-bildenden Segments eingeführt.

Die Erfindung bezieht sich außerdem auch auf das Polypeptidmaterial, bei dem die chemischen Eigenschaften der Poren auch durch die Eigenschaften der Proteindomänen des genannten Fusionsproteins definiert werden. Diese Eigenschaften sind unter anderem auch die Nettoladung, an der Oberfläche ausgesetzten hydrophoben Aminosäure-Reste und die Größe der Proteindomänen.

Die Erfindung bezieht sich auf das Polypeptidmaterial mit flexiblen Poreneigenschaften, das durch das zwei- oder dreidimensionale Zusammenfügen von Fusionsproteinen aus mindestens zwei Proteindomänen entsteht, wobei mindestens eine Domäne eine Doppelwendel bildet und mindestens eine die Protein-Oligomerisationsdomäne und die Domänen untereinander in einer beliebigen Reihenfolge durch den flexiblen Linker aus 1 bis 20 Aminosäure-Resten verbunden werden, vorzugsweise 1 bis 6, das Fusionsprotein kann jedoch auch die Signalsequenz zur Lenkung des Proteinaus-schusses außerhalb der Zelle und der Polypeptid-Kennzeichnung enthalten.

Die Erfindung bezieht sich auf das Polypeptidmaterial mit flexiblen Poreneigenschaften, bei dem das Doppelwendel-bildende Segment auf der Sequenz SEQ ID Nr. 2, SEQ ID Nr. 4 oder SEQ ID Nr. 6 oder den geplanten Peptiden mit funktional ähnlichen Eigenschaften basiert.



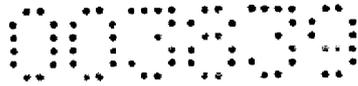
Die Erfindung bezieht sich auf das Polypeptidmaterial mit flexiblen Poreneigenschaften, bei dem die Protein-Oligomerisationsdomäne vorzugsweise unter den Sequenzen SEQ ID Nr. 8, SEQ ID Nr. 10, SEQ ID Nr. 12, SEQ ID Nr. 14, SEQ ID Nr. 84 und den Sequenzen mit einer mehr als 50%-Homologie mit diesen Sequenzen, die die Fähigkeit zur Bildung von Oligomeren des gleichen Typs erhalten, gewählt wird.

Die Erfindung bezieht sich auf das Polypeptidmaterial mit flexiblen Poreneigenschaften, das durch die Zusammensetzung von unter den Sequenzen SEQ ID Nr. 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60, 62, 64, 66, 68, 70, 72, 74, 76, 78, 80, 82 gewählten Fusionsproteinen zubereitet wurde.

Die Erfindung bezieht sich auf das Polypeptidmaterial mit flexiblen Poreneigenschaften, zubereitet mit der Vermischung von zwei Fusionsproteinen gemäß den Patentansprüchen 1 bis 10, wobei sich die Segmente der beiden Fusionsproteine, die die Doppelwendel bilden, zu einem Parallel-Doppelwendel verbinden. Die Oligomerisationsdomäne des einen Fusionsproteins befindet sich am N-Terminus und im anderen am C-Terminus, die Oligomerisationsdomänen haben jedoch die gleiche Oligomerisationsstufe.

Die Erfindung bezieht sich auf das Polypeptidmaterial mit flexiblen Poreneigenschaften, für dessen Zubereitung die Doppelwendel-bildenden Segmente unter natürlichen oder den geplanten Parallel-Doppelwendeln oder unter den folgenden Paaren ausgewählt werden SEQ ID Nr.: 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32.

Die Erfindung bezieht sich auf das Polypeptidmaterial mit flexiblen Poreneigenschaften, für dessen Zubereitung die Protein-Oligomerisationsdomänen unter den tetrameren Proteinen gewählt werden, vorzugsweise unter den Sequenzen SEQ ID Nr. 10 und SEQ ID Nr. 12 oder unter den trimeren Proteinen, vorzugsweise unter SEQ ID Nr.: 8 und SEQ ID Nr. 84.



Die Erfindung bezieht sich auf die DNA mit der Information für das Polypeptidmaterial mit flexiblen Poreneigenschaften, die die operativ mit Regelungselementen, dem Promotor und dem Terminator, die die Äußerung der Fusionsproteine in der Zelle des Wirten regulieren, verbunden ist.

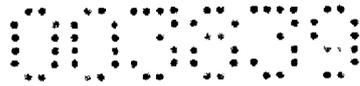
Die Erfindung bezieht sich auf das Polypeptidmaterial mit flexiblen Poreneigenschaften zur Trennung und Konzentration von Molekülen, Molekül-Komplexen, Viren oder Nanoteilchen gemäß ihrer Eigenschaften.

Die Erfindung bezieht sich auf das Polypeptidmaterial mit flexiblen Poreneigenschaften für die chemische Katalyse.

Beschreibung der Bilder

Bild 1: A) Das Schema des antiparallelen Doppelwendel-Dimers mit der Anordnung der Aminosäure-Resten im peptidischen Heptaden-Motiv. Die Aminosäure-Reste an Positionen b, c und f sind an der Oberfläche ausgesetzt und können somit modifiziert werden, wodurch auch die Poreneigenschaften verändert werden können. B) Das Schema des Polypeptidmaterials, das durch das Zusammenfügen von Fusionsproteinen aus einer Tetramerisationsdomäne und einer Domäne, die ein antiparalleles Doppelwendel-Dimer bildet, besteht. C) Das Schema des Materials aus Punkt B), das zeigt, dass die Veränderung der Länge des Doppelwendel-bildenden Segments und die Einführung der positiven Ladung an die ausgesetzten Stellen im Doppelwendel-Dimer die physikalisch-chemischen und die technologischen Poreneigenschaften beeinflussen.

Bild 2: A) Isolation des Fusionsproteins Dimtetra-A1. Die Äußerung des Fusionsproteins Dimtetra-A1 im Zelllysate (Linie 1) und der unlöslichen Fraktion (Inklusionskörperchen) (Linie 2) wurde geprüft. Reines Dimtetra-A1-Protein wurde durch Ausspülung von Inklusionskörperchen, Auflösung in 6M GdnHCl und Milli-Q-Wasser-Dialyse (Linie 3) gewonnen. Auf Linie 4 befindet sich der Polypeptid-Standard. B) Das langwellige UV CD-Spektrum der Aufschlammung des Polypeptidmaterials aus dem Protein Dim-



tetra-A1 weist eine sekundäre Alphahelix-Struktur auf, was die entsprechende Wendung des Dimtetra-A1 im Material bestätigt.

Bild 3: Die Filtration von M13-Bakteriophagen (A) und des Farbstoffs Dextranblau (B) durch die Membrane, die aus dem Fusionsprotein Dimtetra-A1 zubereitet wurde. Nach der Filtration der Bakteriophage wurden diese im Filtrat nicht nachgewiesen (n. n.). Die Farbstoffkonzentration wurde durch die Absorbanz-Messung bei 625 nm ermittelt.

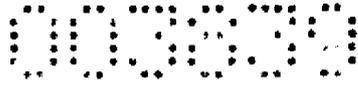
Detaillierte Beschreibung der Erfindung

Vor der weiteren Beschreibung muss klargestellt werden, dass die Erfindung nicht nur auf die präsentierten Beschreibungen beschränkt ist, denn die Modifikationen bestimmter Beschreibungen können auch noch im Bereich der Patentansprüche liegen.

Sofern nicht anders festgelegt, haben alle hier verwendeten technischen und wissenschaftlichen Begriffe die gleiche Bedeutung wie sie allgemein den Fachexperten aus dem Bereich der Erfindung bekannt ist. Der Zweck der Terminologie, die bei der Beschreibung der Erfindung verwendet wird, ist die Erläuterung eines bestimmten Segments der Erfindung und nicht die Einschränkung der Erfindung. Sämtliche in der Beschreibung genannten Veröffentlichungen sind als Referenzen angeführt. Die Beschreibung der Erfindung und die Patentansprüche sind in der Einzahl geschrieben, sie inkludieren jedoch auch die Mehrzahl, was aber in der Beschreibung zwecks der Einfachheit nicht speziell betont wird.

Polypeptidmaterial

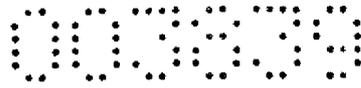
Die Grundlage dieser Erfindung ist die Entdeckung, dass durch das Zusammenfügen von aus einer Doppelwendel-bildenden Domäne bestehenden Fusionsproteinen und der Protein-Oligomerisationsdomäne zwei- oder dreidimensionale Polypeptidmaterialien mit flexiblen Poreneigenschaften gewonnen werden können. Die Verwendbarkeit solcher Materialien ist hoch, von der Trennung von Molekülen bis zur chemischen Katalyse.



Die Bezeichnung 'Polypeptidmaterial mit flexiblen Poreneigenschaften' bezieht sich auf das Material mit Poren in bestimmter Form, Größe und physikalisch-chemischen Eigenschaften. Die Erfindung bezieht sich auf das Polypeptidmaterial, zubereitet aus Fusionsproteinen, die aus mindestens zwei Proteindomänen bestehen, wobei mindestens eine der Domänen die Doppelwendel bildet und mindestens eine Domäne die proteinische Oligomerisationsdomäne ist. Die Domänen können einzeln oder vereint auf der Ebene der Proteine mit der chemischen Reaktion auftreten, sie können aber auch als Fusionsprotein genetisch kodiert sein. Die Domänen können von natürlichen Proteinen stammen oder sie werden gemäß der bekannten Informationen über die Eigenschaften der Doppelwendel-Proteine (Patent US 7,045,537 B1) so geplant, dass sie die gewünschten Eigenschaften entwickeln.

Doppelwendel-bildende Segmente

Mindestens eine Domäne des genannten Fusionsproteins, das sich zu Polypeptidmaterial verbindet, ist ein Doppelwendel-bildendes Segment. Die Bezeichnung 'Doppelwendel-bildendes Segment' bezieht sich auf das Motiv der Heptadenwiederholungen der Aminosäuresequenz, wobei die Aminosäure-Reste einer Heptade mit abcdef gekennzeichnet sind, die Reste a und d sind vorwiegend hydrophob und e und g vorwiegend geladen. Bei Interaktion von zwei oder mehrerer solchen Polypeptidketten (Doppelwendel-bildende Segmente) nehmen diese die Wendel-Form an, die sich umeinander wickeln und somit das 'Doppelwendel' bilden. In der einzelnen Wendel wiederholt sich das Heptaden-Motiv ungefähr alle zwei Windungen. Wenn die Polypeptidketten einen Dimer in Form von Doppelwendel bilden, stellen die Aminosäure-Reste an den Positionen a und d an jeder Heptade-Wiederholung einen hydrophoben Kern der Doppelwendel dar und die Reste an den Positionen e und g interagieren durch die elektrostatische Interaktion (Bild 1A). In solchen Komplexen wirken Aminosäure-Reste an den Positionen b, c und f nicht mehr im größeren Umfang bei den intermolekularen Interaktionen im entstandenen Dimer mit. So können sich an den Positionen b, c und f Aminosäure-Reste mit verschiedenen Eigenschaften befinden, z.B. geladen, hydrophob, Zysteine und andere, die die chemische Modifikation, Metall-Chelation, spezifische Interaktionen usw. ermöglichen und über die die Erfinder herausgefunden ha-



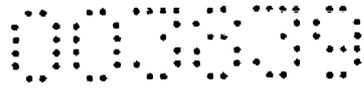
ben, dass sie zur Modifikation der chemischen Poreneigenschaften verwendet werden können.

Die Aminosäuresequenzen für Doppelwendel können geplant oder unter den natürlichen Doppelwendel-bildenden Peptiden oder Doppelwendel-bildenden Proteindomänen gewählt werden. Solche Domänen sind in zahlreichen solchen Proteinen zu finden, z.B. Transkriptionsfaktoren, Onkoproteinen, Tropomyosin, Virusproteinen usw.

Die Basis dieser Erfindung ist die Feststellung, dass die physikalisch-chemischen Poreneigenschaften (die durch mit Oligomerisationsdomänen verbundene Doppelwendel beschränkt sind) mit der Veränderung der Länge des Doppelwendel-bildenden Segments definiert und angepasst werden können sowie durch Veränderung und Modifikation der Aminosäure-Reste an den Positionen b, c und f. Diese Reste können positiv oder negativ geladen sein, hydrophob oder hydrophil sowie Chelatoren für Metallione, und zwar solche, die chemische Modifikationen (Asn, Gln, Cys) oder spezifische Interaktionen ermöglichen; die einzige Beschränkung ist die, dass diese Veränderungen die Bildung der Doppelwendel nicht verhindern könne.

Das Wesentliche an dieser Erfindung ist die Möglichkeit der Definition und der Modifikation der Porengröße mit Hilfe der Länge des Doppelwendel-bildenden Segments. Der Begriff 'Porengröße' bezieht sich auf die Dimensionen der Pore, die von den Fusionsproteinen gemäß der Erfindung umgeben ist. Die Länge des Doppelwendel-bildenden Segments kann 2 bis mehr als 150 Heptaden (14 bis 1050 Aminosäure-Reste) umfassen, meistens 2 bis 100 Heptaden (14 bis 700 Aminosäure-Reste).

Die Doppelwendel gemäß der Erfindung (das durch das Zusammenführen der genannten Segmente entsteht) kann aus identischen (homologe Doppelwendel) oder unterschiedlichen Segmenten (heterologe Doppelwendel) bestehen. Identische Doppelwendel-bildende Segmente sind Proteine mit der gleichen Primärstruktur. Unterschiedliche Doppelwendel-bildende Segmente sind Proteine mit unterschiedlicher Primärstruktur, die sich zu Doppelwendel verbinden können, wobei sich in einem Doppelwendel immer mindestens zwei verschiedene Segmente verbinden. Wenn alle



Polypeptidketten (Doppelwendel-bildende Segmente) im Doppelwendel in gleiche Richtung verlaufen, ist die Kettenorientierung parallel, wenn sie jedoch in entgegengesetzte Richtungen verlaufen, ist sie antiparallel. Die Grundsätze, die die Eigenschaften der Doppelwendel bestimmen, sind den Fachexperten aus dem Bereich allgemein bekannt.

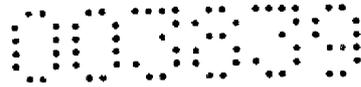
In der Tabelle 1 sind ein paar natürliche Doppelwendel-bildende Segmente angeführt und auch einige Sequenzen, die von den Erfindern designet wurden.

Tabelle 1: Doppelwendel-bildende Segmente

Bezeichnung	SEQ ID Nr. (Sequenznr. für DNA, Proteinsequenz)	Oligomerisationsstufe	Doppelwendel-Typ
Bcr	5, 6	2	antiparalleles Homodimer
APH	3, 4	2	antiparalleles Homodimer
APH-1	1, 2	2	antiparalleles Homodimer
GCN	19, 20	2	paralleles Homodimer
P1	15, 16	2	paralleles Heterodimer mit P2
P2	17, 18	2	paralleles Heterodimer mit P1
P3	21, 22	2	paralleles Heterodimer mit P4
P4	23, 24	2	paralleles Heterodimer mit P3
P5	25, 26	2	paralleles Heterodimer mit P6
P6	27, 28	2	paralleles Heterodimer mit P5
P7	29, 30	2	paralleles Heterodimer mit P8
P8	31, 32	2	paralleles Heterodimer mit P7

Protein-Oligomerisationsdomäne

Die Grundlage dieser Erfindung ist auch, dass mindestens eine Fusionsprotein-Domäne die Oligomerisationsdomäne ist. Der Begriff 'Oligomerisationsdomäne' bezeichnet meistens, jedoch nicht ausschließlich, die natürlichen Proteine oder deren Teile, die die Tendenz zum Verbinden mit gleichen oder unterschiedlichen Proteinen oder deren Teilen aufweisen. Damit bilden sie homologe oder heterologe Dimere oder



Oligomere mit einer höheren Oligomerisationsstufe. Das Homodimer (homologes Dimer) bilden zwei identische Proteindomänen und das Heterodimer (heterologes Dimer) zwei unterschiedliche Proteindomänen. Der Begriff 'identische Proteindomänen' bedeutet, dass die Proteine die gleiche Primärstruktur aufweisen und 'unterschiedliche Proteindomänen' sind Proteine mit verschiedener Primärstruktur. Die Strukturen mit einer höheren Oligomerisationsstufe bestehen aus mindestens drei Proteindomänen, die die gleiche (homologe Oligomere) oder verschiedene (heterologe Oligomere) Primärstruktur haben können. Die Strukturinformationen über die gewählten natürlichen Protein-Oligomerisationsdomänen sind den Fachexperten aus diesem Bereich gut bekannt. Die Anzahl der Aminosäure-Reste, die die Domänen gemäß der Erfindung enthalten, beträgt meistens 5 bis 400, häufiger 15 bis 200. Der Begriff 'Oligomerisationsstufe' bezieht sich auf die Anzahl der Proteindomänen, die das Oligomer bilden und kann 3 bis 12, meistens 3 bis 6 betragen. In der Tabelle 2 sind einige Beispiele der Protein-Oligomerisationsdomänen angeführt.

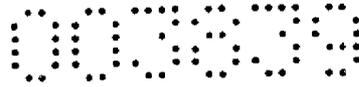
Die Basis dieser Erfindung ist, dass auch die Eigenschaften Oligomerisationsdomänen, zum Beispiel der isoelektrische Punkt und Domänengröße, die Poreneigenschaften bestimmen und dass die Poreneigenschaften auch durch die Oligomerisationsstufe des Oligomers beeinflusst werden.

Tabelle 2: Protein-Oligomerisationsdomänen

Bezeichnung	DNA/Proteinsequenz SEQ ID Nr.	Oligomerisationsstufe
CutA1	83, 84	3
p53 Tetramerisationsdomäne	9, 10	4
Shaker Tetramerisationsdomäne (Tshak)	11, 12	4
Verotoxin Pentamerisationsdomäne (Vero5)	13, 14	5

Linker

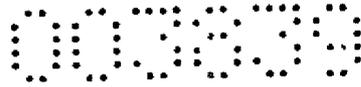
Im Gegensatz zu den Fusionsproteinen im Patent U.S. Patent No. 6,756,039, bei denen die Proteindomänen untereinander mit dem steifen Linker verbunden sind (wie z.B. alfa-Wendel), ist der Linker, der die Proteindomänen im Fusionsprotein dieser Erfindung verbindet, flexibel.



Der Begriff 'Linker' bezeichnet eine kürzere Aminosäuresequenz, deren einziger Aufgabe es ist, die einzelnen Domänen oder Proteinsegmente zu trennen. Die Aufgabe des Linker-Peptids im Fusionsprotein konnte auch die Unterbrechung der regelmäßigen Sekundärstrukturen sein, das Verleihen von Flexibilität sowie Posttranslationsmodifikationen und besseres Prozessieren. Die Länge des Linkers ist nicht beschränkt, sie ist durch erwünschte technologische Materialeigenschaften bestimmt und meistens umfasst er nicht mehr als 30 Aminosäure-Reste, vorzugsweise beträgt die Länge jedoch 1 bis 20 Aminosäure-Reste, meistens 1 bis 6. Die Wahl der Aminosäure-Reste im Linker ist nicht beschränkt, trotzdem sind jedoch kleine oder hydrophile Aminosäuren bzw. Aminosäuren, die spezielle Konformations- oder Funktionseigenschaften einführen, wie Serin, Glycin, Threonin, Prolin, Valin, Alanin, Zystein und andere, am häufigsten.

Fusionsproteine und aus ihnen bestehendes selbstzusammensetzendes Material
Die Fusionsproteine im Rahmen dieser Erfindung bestehen aus den Beschriebenen Proteindomänen, die mit dem oben beschriebenen Linker verbunden sind. Die Proteindomänen können im Fusionsprotein in unterschiedlicher Reihenfolge auftreten, wodurch jedoch die technologischen Materialeigenschaften beeinflusst werden können. Die Anzahl der Proteindomänen (der Segmente, die die Doppelwendel und die Protein-Oligomerisationsdomänen bilden können) im Fusionsprotein kann bis zu 8 betragen, meistens 2 bis 4.

Die Basis dieser Erfindung ist, dass die gewählten Proteindomänen des genannten Fusionsproteins bei entsprechenden Bedingungen die Tendenz dazu aufweisen, sich zu zwei- oder dreidimensionalem Polypeptidmaterial zu verbinden. Der Begriff 'zweidimensionales Material' bezieht sich auf die Planarstruktur aus Fusionsproteinen (die Größe des zusammengesetzten Materials kann in zwei Dimensionen größer sein als in der dritten). Der Begriff 'dreidimensionales Material' bezieht sich auf das Material, in dem sich die Fusionsproteine in drei Dimensionen zusammensetzen. Damit die zwei- oder dreidimensionale Proteinzusammenfügung überhaupt möglich ist, muss mindes-



tens eine Proteindomäne (Doppelwendel-bildenden Segments oder die Oligomerisationsdomäne) Oligomere mit der Oligomerisationsstufe 3 oder mehr bilden.

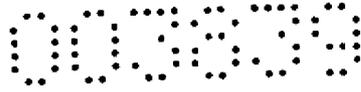
Die wichtigsten Eigenschaften des Polypeptidmaterials sind:

- a) die Porenform und -Größe werden durch die Selbstzusammensetzung der genannten Domänen des Fusionsproteins gemäß der Erfindung bestimmt
- b) die Porengröße wird durch die Länge des Segments, das die Doppelwendel bildet und im Fusionsprotein mit der Oligomerisationsdomäne verbunden ist, bestimmt
- c) die Poreneigenschaften werden durch physikalisch-chemischen Eigenschaften der Aminosäure-Reste an den Positionen b, c in f im Doppelwendel-bildenden Segment bestimmt
- d) die Poreneigenschaften werden auch durch die Eigenschaften der genannten Oligomerisationsdomänen im Fusionsprotein bestimmt

Durch die Selbstzusammensetzung eines Fusionsproteins, dessen Eigenschaften durch die Wahl der Proteindomänen, die durch das Design des Fusionsproteins gemäß der Erfindung bestimmt werden, variiert werden können, können verschiedene Versionen des Polypeptidmaterials mit flexiblen Poreneigenschaften zubereitet werden. Wenn jedoch Fusionsproteine, deren Domänen heterogen verbunden sind (wie z.B. homologe Doppelwendel) verwendet werden, muss zur Zubereitung des Polypeptidmaterials mehr als ein Fusionsprotein-Typ verwendet werden. Die Anzahl der verwendeten Fusionsproteine beträgt in diesem Fall 1 bis 10, meistens 1 bis 3.

Die Porenerstellung aus einem oder zwei verschiedenen Fusionsproteinen

Das Polypeptidmaterial kann gemäß der Erfindung aus einem einzigen oder zwei oder mehrerer verschiedenen Fusionsprotein-Typen bestehen, wobei jedes Fusionsprotein aus einem Doppelwendel-bildenden Segment und der Oligomerisationsdomäne besteht. Die Erfinder entdeckten, dass im Fall der Zubereitung des Materials aus nur einem Fusionsprotein-Typ das Doppelwendel-bildende Segment ein antiparalleles Homodimer sein muss, im Fall der Zubereitung des Materials aus mehreren Fusionsprotein-Typen kann das Doppelwendel-bildende Segment jedoch ein antiparalleles Hete-



rodimer oder ein paralleles Heterodimer sein. Wenn die genannte Doppelwendel ein paralleles Heterodimer ist, muss sich die Oligomerisationsdomäne in einem Fusionsprotein am N-Terminus und im zweiten Fusionsprotein am C-Terminus des Proteins befinden. Wenn man die richtige Verbindung der Fusionsproteine zu Proteinmembranen erreichen möchte, müssen die Oligomerisationsdomänen die gleiche Oligomerisationsstufe haben, zum Beispiel das Trimer (die Beispiele für die Trimerisationsdomäne sind CutA1 SEQ ID Nr.: 84 und Foldon, SEQ ID Nr.: 8) oder das Tetramer (die Beispiele für die Tetramerisationsdomäne sind p53 SEQ ID Nr.: 10 und die Tetramerisationsdomäne des Shaker-Kanals, SEQ ID Nr.: 12). Wenn die Doppelwendel stabiler ist als die Oligomerisationsdomäne, können die Oligomerisationsdomänen in beiden Fusionsproteinen am C- oder N-Terminus gleich sein.

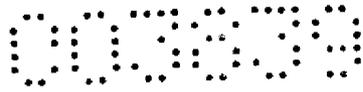
Signalpeptid, Peptidkennzeichnungen

Die verschiedenen Aminosäuresequenzen an den zwei Terminus oder zwischen den Fusionsproteinsegmenten, die zur Bildung des Polypeptidmaterials nicht benötigt werden, können dem Fusionsprotein zur leichteren Reinigung und zur Proteindetektion sowie zur Einführung zusätzlicher funktionaler Eigenschaften für das Polypeptidmaterial zugefügt werden.

Die Begriffe 'Signalsequenz' oder 'Signalpeptid' beziehen sich auf die Aminosäuresequenz, die das Protein zur bestimmten Stelle in der Zelle lenkt. Signalsequenzen unterscheiden sich je nach Organismus, in dem das Fusionsprotein geäußert wird. Welche Signalsequenz in welchem Organismus wirkt sowie auch die Aminosäuresequenzen der genannten Signalsequenzen sind den Fachexperten aus diesem Bereich gut bekannt.

Der Begriff 'Peptidkennzeichnungen' bezieht sich auf die Aminosäuresequenz, die zur leichteren Reinigung/zur Isolation/zur Proteindetektion dem Protein zugefügt wird.

Die Position der Signalsequenz und der Peptidkennzeichnungen ist beliebig, wenn sie die Proteinäußerung nicht beeinträchtigt und die Funktion, für die die Aminosäuresequenz gewählt wurde, was den Fachexperten aus diesem Bereich bekannt ist, behält.



Fusionsproteine mit Nukleinsäuren-Kodierung und Wirtsorganismen

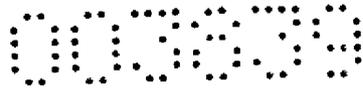
Die Erfindung bezieht sich auch auf das Fusionsprotein des Polypeptidmaterials und die DNA.

Der Begriff 'DNA/Nukleinsäure' bezeichnet die Polynukleotid-Moleküle wie DNA und RNA, einschließlich cDNA, genomische DNA, synthetische DNA, hymerische DNA und RNA. Die Nukleinsäuren können einsträngig oder doppelsträngig sein. Sie können nukleinische Analoge oder Derivate enthalten.

Der Wirtsorganismus synthetisiert das mit der DNA-kodierte Fusionsprotein gemäß der Erfindung mit Hilfe der heterologen DNA mit der Information für das Fusionsprotein.

Der Begriff "homologes Protein" bezeichnet Proteine mit erhaltenen funktionalen Eigenschaften und den erhaltenen Aminosäuresequenzen, die meistens mindestens bis zu 50 % erhalten sind, wobei das Erhaltungsminimum bei 20 % liegt. Die Ähnlichkeit (Erhaltungszustand) der Sequenzen wird durch die Methode des Anliegens der Aminosäuresequenzen, die den Fachexperten aus diesem Bereich bekannt sind, bestimmt.

Die heterologe Nukleinsäure ist allgemein im Expressionsvektor eingebunden. Der Expressionsvektor enthält allgemein die operativ verbundenen Kontrollelemente, die operativ mit der DNA der Erfindung, die die Information des Fusionsproteins trägt, verbunden sind. Die Kontrollelemente werden natürlich auf eine Weise, die der Äußerungsmenge entspricht, gewählt. Der Promotor kann je nach gewünschtem Äußerungsmuster konstitutiv oder induzibel sein. Der Promotor kann nativ sein oder eine fremde Abstammung haben (in den verwendeten Zellen nicht vertreten) und kann auch natürlich oder synthetisch sein. Der Promotor wird so gewählt, dass er in den Zielzellen des Wirtsorganismus funktioniert. Es sind auch Initiationssignale für eine wirksame Translation des Fusionsproteins eingebunden, dazu gehören auch ATG und die zugehörigen Sequenzen.

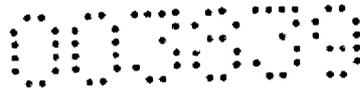


Die entsprechenden Vektoren inkludieren: Plasmide, Virusvektoren und Sonstiges, sind jedoch nicht auf sie beschränkt. Der Expressionsvektor kann für die Äußerung in prokaryotischen und eukaryotischen Zellen zubereitet werden. Zum Beispiel; prokaryotische Zellen sind Bakterien, vor allem Escherichia coli. Gemäß der Erfindung dient die Verwendung von prokaryotischen Zellen der Zubereitung der entsprechenden Menge an Nukleinsäure und für die Proteinproduktion.

Die Erfindung umfasst auch die Nukleinsäure enthaltenden Wirtszellen und -Organismen, die für das Fusionsprotein gemäß der Erfindung kodiert werden. Der Begriff "Wirtsorganismus" bezeichnet einen Organismus, in den die DNA mit dem Protein-Code mit der Absicht eingeführt wird, dass dieses sich äußert. Die dafür entsprechenden Wirtszellen sind allgemein bekannt und können prokaryotisch und eukaryotisch sein. Der Vektoren-Transport in die Wirtsorganismen verläuft mit Hilfe konventioneller Methoden, wobei die Methoden sich auf die Transformation und Transfektion beziehen, die Folgendes umfassen: den chemischen Transport, die Elektroporation, Mikroinjektion, DNA-Lipofektion, die Sonikation der Zellen, Partikelbombardierung, den Transport der Virus-DNA und sonstige.

Die Übergangsexpression bezieht sich auf die Zufuhr der Vektor-DNA, die nicht im Zellgenom inkludiert ist. Eine stabile Zufuhr wird durch das Einschließen der DNA in den Wirtsorganismus gemäß der Erfindung erreicht. Der DNA-Transfer, vor allem für die Zubereitung des Wirtsorganismus mit integrierter stabiler DNA, kann durch Marker kontrolliert werden. Die Marker-kodierende DNA bezieht sich auf die Widerstandsfähigkeit gegen Medikamente, z.B. Antibiotika, und kann im Vektor gemäß der Erfindung oder in einem getrennten Vektor integriert sein.

Der Wirtsorganismus kann prokaryotisch und eukaryotisch sein. Die eukaryotischen Zellen für die Expression der Fusionsproteine müssen so ausgebildet sein, dass die Zelllinien mit den Methoden der Propagierung des Expressionsvektors und mit der Expression des Fusionsproteins kompatibel sind. Unter geeignete, jedoch nicht einzi-



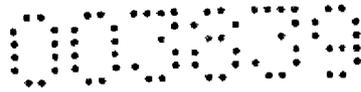
ge Zelllinien gehören Pilze, Hefepilze und pflanzliche sowie Säugetier-Zellen, wie z.B. Fibroblasten von Mäusen, Ratten, Affen und Menschen.

Für die DNA-Expression kann gemäß der Erfindung ein beliebiger bakterieller Wirt verwendet werden. Für die Protein-Expression ist gemäß der Erfindung jedoch die Verwendung von Bakterien und Hefepilzen erwünscht. Das Protein kann sich in den Bakterien *E. Coli* oder *B. Subtilis* oder in Hefepilzen *S. Cerevisiae* oder *P. Pastoris* äußern. Für die Protein-Expression ist die am meisten erwünschte Bakterie *E. Coli*. Die Erfindung bezieht sich auf die Protein-Expression in Bakterien und Hefepilzen. Die Erfindung bezieht sich auf Bakterien und Hefepilze, die das Protein äußern, wobei die am meisten erwünschten die Bakterie *E. Coli* und der Hefepilz *P. Pastoris* sind.

Zubereitung und Verwendung von Polypeptidmaterial für die Trennung der Moleküle gemäß ihrer Eigenschaften

Die Eigenschaft, die die Proteine gemäß der Erfindung haben müssen, ist das Verbinden zu Polypeptidmaterial bei entsprechenden Bedingungen. Wenn das Polypeptidmaterial aus einem Fusionsprotein entsteht, werden entsprechende Bedingungen gesucht, und zwar durch Beobachtung der Löslichkeit, des makromolekularen Aufbaus, der Bestimmung der Sekundärstruktur des löslichen Teils sowie vor allem der Ausfällungen in Puffern mit verschiedenen pH-Werten (meistens pH 3 bis pH 9), der ioni- schen Stärke in Anwesenheit verschiedener organischer Lösemittel (wie DMSO, Acetonitril, Trifluoroethanol, Hexafluoroisopropanol).

Bei der Zubereitung des Filtersystems für die Trennung der Moleküle ist es wichtig, dass das Material sich mit möglichst wenigen Verbindungsfehlern verbindet. Dies kann durch stufenweise erneute Wendelformung weg von den Bedingungen, die die Monomer- und die löslichen Strukturen favorisieren, hin zu den Bedingungen, die die Formung einer intermolekularen Interaktion über die Doppelwendel und proteinische Oligomerisationsdomänen ermöglichen, erreicht werden. Wichtige Faktoren bei der Selbstzusammensetzung sind auch die Konzentration des Fusionsproteins und die Temperatur. Das für die Filtration geeignete Polypeptidmaterial bildet sich, wenn die



Protein-Konzentration zwischen 0.1 μ g/mL und 20 mg/mL liegt, meistens zwischen 0.05 und 10 mg/mL. Die Selbstzusammensetzung des Polypeptidmaterials kann durch langsames Abkühlen des Fusionsproteins von der Temperatur über dem Schmelzpunkt bis zu den Temperaturen unter der Temperaturschwelle, meistens bis zur Raumtemperatur, ausgelöst werden.

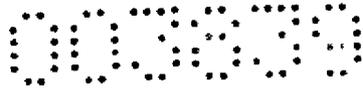
Beim Polypeptidmaterial, das so entworfen ist, dass es durch das Zusammensetzen mehrerer Fusionsproteine entsteht, kommt es zum Zusammensetzen nach der Verbindung der Fusionsproteine im entsprechenden Mol-Verhältnis und bei Bedingungen, die das Zusammensetzen ermöglichen.

Bildung von Filtrationseinheiten

Wenn das Polypeptidmaterial fertig gebildet ist, kann er noch zusätzlich mit Verbindungsreagenzien vernetzt werden, ein solches ist zum Beispiel Glutaraldehyd. Dieses Polypeptidmaterial kann zur Trennung von Molekülen in der Größe von ungefähr 1 nm bis ungefähr 100 nm verwendet werden, je nach Porengröße und -Eigenschaften. Die potentiellen Applikationen sind zum Beispiel die Filtration der pharmazeutischen Zubereitungen, das Entfernen von Unreinheiten aus medizinischen Präparaten, das Entfernen von Krankheitserregern wie Viren, Prionen usw., das Reinigen von Abwasser, die Trennung von Nanoteilchen nach Größe usw. Eine zusätzliche wichtige Eigenschaft des Polypeptidmaterials mit Poren mit flexiblen Eigenschaften ist auch, dass neben der Porengröße auch andere Poreneigenschaften, z.B. die Ladung, die an Poren immobilisierten spezifischen Reagenzien usw., die Trennung von Molekülen ähnlicher Größe ermöglichen, die unterscheiden sich jedoch durch andere Eigenschaften, wie Polarität, Ladung, Form, spezifische Oberflächeneigenschaften usw., unterscheiden.

Verwendung des Polypeptidmaterials mit flexiblen Poreneigenschaften für die Katalyse

Die Einfuhr bestimmter Aminosäure-Reste, wie z.B. Histidin und Zystein, an die Positionen b, c und f der Doppelwendel wird durch die Bindung der Metalle an die Poren, die dadurch als Katalysatoren fungieren, ermöglicht. An das Polypeptidmaterial mit breiteren Poren können auch Enzyme gebunden werden, das Polypeptidmaterial dient



somit als ein Werkzeug für die enzymische Katalyse. Durch die Einfuhr der aktiven Positionen (z.B. der katalytischen Triaden) in entsprechender Geometrie in die Poren des genannten Materials können auch künstliche Enzyme gebildet werden.

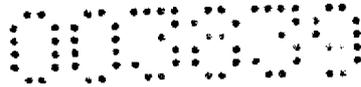
Im Weiteren sind Erstellungsbeispiele angeführt, deren Zweck es ist, die Erfindung zu verbildlichen. Die Beschreibung einzelner Erstellungsbeispiele dient nicht der Einschränkung der Erfindung, sondern wird als Demonstration der Wirkungsweise der Erfindung dargestellt.

Anwendungsbeispiele

Beispiel 1. Zubereitung von DNA-Konstrukten

Die DNA-Sequenzen für die oben genannten Proteindomänen wurden aus Aminosäuresequenzen der gewählten Domänen mit Hilfe von Designer (DNA2.0. Inc.) erstellt. Dieses Programm ermöglicht dem Benutzer, die DNA-Fragmente zu erstellen sowie die Expression-Optimierung für den gewählten Wirt (z.B. E. Coli) mittels Kodonoptimierung. Die Gene wurden bei Mr. Gene GmbH (Im Gewerbepark B32, D-93059 Regensburg) bestellt, sie wurden mit Restriktions-Endonukleasen ausgeschnitten und in den geeigneten Vektor mit sämtlichen erforderlichen Regulierungssequenzen, die den Fachexperten aus diesem Bereich bekannt sind, eingeklont. Zu den gewählten Vektoren gehören die handelsüblichen Vektoren pET, pRSET A und pSB1A2 (pSB1A2 <http://partsregistry.org/Part:pSB1A2>), die alle erforderlichen Eigenschaften besitzen, zum Beispiel die Resistenz gegen Antibiotika, die Stelle des Verdoppelungsbeginns, den Bereich mit mehreren Stellen für das Klonen.

Für die Zubereitung von DNA-Konstrukten wurden die Methoden der Molekularbiologie verwendet (das Schneiden von DNA mit Restriktionsendonukleasen, die Vermehrung von DNA durch Kettenreaktion mit Hilfe von Polymerase – PCR, PCR – Ligation, Detektion der DNA-Konzentration, Agarose-Gelelektrophorese, Reinigung der DNA-Fragmente aus den Agarose-Gels, die Ligation der DNA-Fragmente in den Vektor, die Transformation der chemisch kompetenten Zellen E.coli DH5 ..., die Isolation der Plasmid-DNA mit handelsüblichen Kitts sowie Selektion). Alle Verfahren wurden bei



sterilen Bedingungen durchgeführt. Die DNA-Segmente wurden durch Restriktionsanalyse und Sequenzierung charakterisiert.

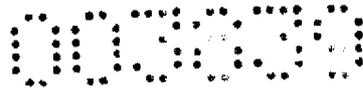
Die Verfahren des molekularen Klonens sind im Handbuch für Molekularbiologie genau beschrieben (Sambrook J., Fritsch E.F., Maniatis T. 1989. Molecular cloning: A laboratory manual. 2nd ed. New York, Cold Spring Harbor Laboratory Press: 1659 p.).

Beispiel 2. Die Produktion von Fusionsproteinen, die aus dem antiparallelen Homodimer-Doppelwendel und der Tetramerisationsdomäne bestehen

Zur Darstellung der Durchführbarkeit der Produktion des Fusionsproteins, das aus dem antiparallelen Homodimer-Doppelwendel und der Tetramerisationsdomäne besteht, haben wir mehrere DNA-Konstrukte vorbereitet (Tabelle 3).

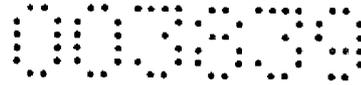
Tabelle 3: Fusionsproteine, bestehend aus dem antiparallelen Homodimer-Doppelwendel und der Tetramerisationsdomäne p53 oder der Tetramerisationsdomäne des Shaker-Kanals.

Nr.	Bezeichnung	Zusammensetzung des Konstrukts	SEQ ID Nr:
1	Dimtetra-A1	APH1 p53T	34
2	Dimtetra-A1GSGS	APH1 GSGS p53T	36
3	Dimtetra-A	APH p53T	38
4	Dimtetra-B	Bcr p53T	40
5	Tetradim-A1	p53T APH1	42
6	Tetradim-A	p53T APH	44
7	Tetradim-B	p53T Bcr	46
8	A1-Tshak	APH1 TShak	48
9	A-Tshak	APH TShak	50
10	B-Tshak	Bcr TShak	52
11	Tshak-A1	TShak APH1	54
12	Tshak-A	TShak APH	56
13	Tshak-B	TShak Bcr	58



Zusätzlich zur Veränderung der Orientierung von Proteindomänen im Fusionsprotein kann auch die Länge des Linkers verändert werden, und zwar von 2 bis 20 Aminosäure-Resten, und die His6-Peptid-Kennzeichnung kann sich am N-Terminus oder C-Terminus des Proteins befinden.

Die Plasmiden, die die geöffneten Leserahmen für Fusionsproteine aus der Tabelle 3 kodieren, wurden von den Erfindern zu chemisch kompetenten Zellen *E.coli* BL21 (DE3) pLysS transformiert. Die gewählten Bakterienkolonien, die auf LB-Platten unter Zugabe des Antibiotikums (Ampicillin, Kanamycin) gewachsen sind, wurden auf 100mL Nährmedium LB unter Zugabe des Antibiotikums gegeben und über Nacht bei 37 °C gebrütet. Die entstandene Kultur wurde am nächsten Tag 20-50-Mal verdünnt, um das OD600 der verdünnten Kultur zwischen 0,1 und 0,2 zu erreichen. Als die Bakterienkultur auf OD600 zwischen 0,6 und 0,8 gewachsen ist, folgte die Induktion der Protein-Äußerung durch den Induktor IPTG (0.4 mM bis 1 mM). In manchen Beispielen wurde 0,5 Stunden vor der Induktion die Bebrütungstemperatur der Bakterien reduziert (25 °C-30 °C). Zwei bis fünf Stunden nach der Induktion folgte das Schleudern der Bakterienbrühe. Die Zellen wurden danach im Puffer für die Lyse resuspendiert (Tris pH 8.0, 0.1 % Desoxycholat mit Zusatz von Protease-Inhibitoren) und auf -80 °C eingefroren. Die aufgetaute Zellaufschlämmung wurde durch Sonikation und Schleudern lysiert. Mit Hilfe der SDS-PAGE-Techniken und bei Bedarf der Western blot-Analyse, wobei als primäre Antikörper die anti-His-tag Antikörper verwendet wurden, wurde die Äußerung der Konstrukte im Präzipitat bzw. Supernatant geprüft. Sämtliche Konstrukte mit p53T waren allgemein in unlöslichen Fraktionen enthalten (Inklusionskörperchen), wo das gewünschte Protein > 80 % der gesamten Proteine darstellte. Die Inklusionskörperchen wurden mehrmals mit Lysepuffer ausgespült, zweimal mit 2M Harnstoff und 10 mM Trisom pH 8.0 und einmal mit Mili-Q-Wasser. Meistens ergab eine solche Behandlung ein zu mehr als 95 % gereinigtes Protein. Wenn das Protein trotz der Behandlung noch immer Unreinheiten enthielt, wurden die Inklusionskörperchen in 6 M GdnHCl pH 8,0 aufgelöst und auf die Ni²⁺-NTA-Säule (Qiagen, GE) aufgetragen. Die Reinigung unter Vergällungsbedingungen wurde gemäß den Herstellerhinweisen durchgeführt. Nach der Elution mit 250 mM Imidazol pH 5,8



wurden die Fraktionen, die Proteine enthielten, zusammengeführt und zweimal dialysiert mit 10 mM HEPES pH 7,5 oder einem anderen entsprechenden Puffer.

Wenn das Fusionsprotein im Supernatant enthalten war, wurde es von den Erfindern auf Ni²⁺-NTA-Säule aufgetragen und unter nativen Bedingungen gereinigt. Nach der Elution mit 250 mM Imidazol pH 5,8 oder 500 mM Imidazol pH 8,0 wurden die Fraktionen, die das gewünschte Proteine enthielten, zusammengeführt und zweimal dialysiert mit 10 mM HEPES pH 7,5 oder einem anderen entsprechenden Puffer.

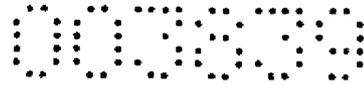
Beispiel 3. Die Produktion von Fusionsproteinen, die aus dem antiparallelen Homodimer-Doppelwendel und der Trimerisationsdomäne bestehen

Zur Darstellung der Durchführbarkeit der Produktion des Fusionsproteins, das aus dem antiparallelen Homodimer-Doppelwendel und der Trimerisationsdomäne besteht, haben wir mehrere DNA-Konstrukte vorbereitet (Tabelle 4).

Tabelle 4.: Fusionsproteine, die aus der antiparallelen Homodimer-Doppelwendel und der Trimerisationsdomäne bestehen

Nr.	Bezeichnung	Zusammensetzung des Konstrukts	SEQ ID: Nr.
1	Foldon-A1	Foldon APH1	60
2	Foldon-A	Foldon APH	62
3	Foldon-B	Foldon Bcr	64
4	A1-Foldon	APH1 Foldon	66
5	A-Foldon	APH Foldon	68
6	B -Foldon	Bcr Foldon	70
7	A1-CutA1	APH1 CutA1	72
8	A-CutA1	APH CutA1	74
9	B-CutA1	Bcr CutA1	76
10	CutA1-A1	CutA1 APH1	78
11	CutA1-A	CutA1 APH	80
12	CutA1-B	CutA1 Bcr	82

Zusätzlich zur Veränderung der Orientierung von Proteindomänen im Fusionsprotein kann auch die Länge des Linkers verändert werden, und zwar von 2 bis 20 Aminosäu-



re-Resten, und die His6-Peptid-Kennzeichnung kann sich am N-Terminus oder C-Terminus des Proteins befinden.

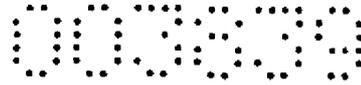
Die Produktion und die Isolation der Proteine wurden wie im Beispiel 2 angeführt durchgeführt.

Beispiel 4: Die Zubereitung des selbstzusammensetzenden Polypeptidmaterials mit erneuter Wendel des auf Verdünnung, Dialyse oder Temperatur-Temporn basierenden Proteins

Die anfänglichen Versuche zur Ermittlung der Bedingungen, bei denen die Fusionsproteine die Wendelform sowie die Fähigkeit zur Selbstzusammensetzung aufweisen, wurden mit der Protein-Verdünnung im Vergällungsmittel – 6 M GdnHCl – im Verhältnis 1 : 100 in Puffern mit verschiedenen pH-Werten (Zitratpuffer pH 2 und pH 3, Acetatpuffer pH 4, pH 5, Phosphatpuffer pH 5, pH 6, pH 7, Hepes-Puffer pH 7.5, Tris-Puffer pH 8, Karbonat-Puffer pH 9 und pH 10), mit verschiedenen Ionstärken (100 mM, 300 mM, 1 M, 2M Salz) und mit bis zu 20 % organischen Lösemitteln, wie Acetonitril, DMSO, Methanol, bzw. in bis zu 50 % im Fall von Trifluoroethanol, durchgeführt. Man konnte die makroskopischen Proteinverbindungen in Form von feinem Präzipitat oder des eher erwünschten Polypeptid-Aggregats erkennen - Gel-ähnliche Strukturen. Zur Ermittlung der Löslichkeit des Fusionsproteins wurden die proteinischen Absorptionsspektren aufgenommen.

Mit Hilfe der CD-Spektroskopie wurden die sekundären Strukturen und die thermische Stabilität des löslichen Teiles ermittelt.

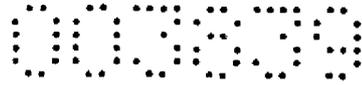
Als die für die Selbstzusammensetzung entsprechenden Bedingungen festgelegt wurden, folgte die Dialyse größerer Mengen, z.B. von 1 mg vergällten Proteins zum gewählten Puffer, wobei durch das langsame Entfernen des Vergällungsmittels die Selbstzusammensetzung des Fusionsproteins bewirkt wurde.



Wenn das Fusionsprotein APH-1 enthalten hat, war auch die Temperatur dabei ein wichtiger Faktor, denn das Homodimer APH-1 ist bei höheren Temperaturen unbeständiger. Dieser Typ des Fusionsproteins war bei Raumtemperatur relativ löslich. Seine CD-Spektren und die Schmelzpunkte entsprachen den Messungen im Rahmen der Tetramerisationsdomäne p53T. Bei diesen Beispielen wurde das langsame Anliegen durch langsame Temperaturreduktion von 80 °C auf 4 °C Grad in zehn Stunden erreicht, und zwar bei einer Protein-Konzentration von 0,5 mg/ml.

Beispiel 5: Erneute Wendelbildung der Fusionsproteine und Membranenzubereitung
Die Membranen aus Fusionsproteinen wurden mit Hilfe verschiedener Selbstzusammensetzungsmethoden mit erneuter Wendelbildung mit der anfänglichen Auflösung der Fusionsproteine in: a) 6 M GdnHCl, b) 9M LiBr, c) Hexafluoroisopropanol zubereitet.

Die Probe des isolierten Proteins SEQ ID: 34 wurde in 6 M LiBr bei einer Konzentration von 0,1 mg/ml aufgelöst. Bei dieser Konzentration wurde die Sekundärstruktur des Proteins zerstört und es war bis zu mehr als 10 mg/ml löslich. Der Zusammensetzungsprozess der Proteine begann mit der Auflösung des Proteins in 9 M LiBr, es folgte die Verdünnung in den Puffer, vorzugsweise mit nativem Proteinzustand, Doppelwendel-Bildung und Tetramerisation der Domäne p53 (Puffer 20 mM HEPES bei pH 7.5. Während der erneuten Wendelbildung entstand eine sichtbare Proteinverbindung. Die Protein-Aufschlammung wurde langsam auf den PVDF-Membranfilter mit einer Porengröße von 0,22 µm (Millipore) und einem Durchmesser von 13 mm aufgetragen und wirkte als Unterlage für die verbundene Proteinmembrane. Nach dem Auftragen des verbundenen Proteins auf den Stützfilter folgte die Ausspülung der Lösung mit 10 ml 20 mM HEPES-Puffer mit dem pH-Wert 7,5. Die mechanische Resistenz der Proteinmembrane wurde durch das kovalente kreuzweise Verbinden des selbstzusammensetzenden Proteinmaterials mit Hilfe von 10 % Glutaraldehyd verbessert. Eine Stunde nach dem Auftragen von Glutaraldehyd wurde die Membrane mit 10 ml 1 M Tris mit einem pH-Wert von 8,0 gespült, dieses wirkte als Blockreagenz zum Entfernen von nicht reagiertem Glutaraldehyd, und mit 10 ml deionisiertem Wasser. Die Pro-



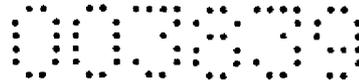
teinmembrane wurde im Wasser gelassen, damit sie nicht austrocknet, bevor sie als Filter verwendet wird.

Alternativ wurde die Proteinmembrane durch die Bebrütung des Trägerfilters mit der Polypeptid-Lösung bei 80 °C und dem Auftragen mit langsamer Abkühlung auf 4 °C, wie im Beispiel 4 angeführt, zubereitet.

Der im Hexafluoroisopropanol aufgelösten Probe wurde Wasser bis zu 5 % zugegeben, das Hexafluoroisopropanol ist verdunstet, übergeblieben ist ein Proteinmineral in einer kleinen Menge Wasser.

Beispiel 6: Die Verwendung des verbundenen Polypeptidmaterials für die Trennung großer Moleküle und Teilchen (Bakteriophage)

Für das Testen der Filtrationsfähigkeiten des entstandenen Polypeptidmaterials (Membranen) wurden M13-Bakteriophage und Dextranblau verwendet. Die Aufschlammung der Bakteriophage M13 wurde durch den Filter aus Polypeptidmaterial auf der Unterlage gefiltert. Der Phagentiter der anfänglichen Aufschlammung wurde in einem den Fachexperten aus dem einschlägigen Bereich gut bekannten Verfahren bestimmt. Der anfängliche Titer war 3×10^{10} pfu/ml, im Filtrat wurde jedoch kein Phag detektiert, was bedeutet, dass es zur Titer-Reduktion um mindestens 6 Größenordnungen (weniger als 10^4 pfu/ml) gekommen ist (Bild 3A). Auch Dextranblau (0,5 mg/ml) wurde gefiltert und der Filtrationserfolg wurde mit der Absorbanzmessung bei 625 nm bestimmt (Bild 3B).



SEQUENZEN-LISTE

<160> 84

<170> PatentIn version 3.4

<210> 1

<211> 93

<212> DNA

<213> synthetische Sequenz

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(93)

<223> APH-1

<400> 1

atg aaa cag ctg gaa aaa gaa ctg caa gca atc gaa aaa cag ctg gca 48
Met Lys Gln Leu Glu Lys Glu Leu Gln Ala Ile Glu Lys Gln Leu Ala
1 5 10 15

caa ctg caa tgg aag gct caa gct cgc aag aaa aag ctg gca cag 93
Gln Leu Gln Trp Lys Ala Gln Ala Arg Lys Lys Lys Leu Ala Gln
20 25 30

<210> 2

<211> 31

<212> PRT

<213> synthetische Sequenz

<400> 2

Met Lys Gln Leu Glu Lys Glu Leu Gln Ala Ile Glu Lys Gln Leu Ala
1 5 10 15

Gln Leu Gln Trp Lys Ala Gln Ala Arg Lys Lys Lys Leu Ala Gln
20 25 30

<210> 3

<211> 135

<212> DNA

<213> synthetische Sequenz

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(135)

<223> APH

<400> 3

atg aaa cag ctg gaa aaa gag ctg aaa cag tta gaa aaa gaa ctg caa 48
Met Lys Gln Leu Glu Lys Glu Leu Lys Gln Leu Glu Lys Glu Leu Gln
1 5 10 15

gca att gaa aaa cag ctg gca cag ctg caa tgg aaa gca cag gca cgt 96
Ala Ile Glu Lys Gln Leu Ala Gln Leu Gln Trp Lys Ala Gln Ala Arg
20 25 30

aaa aaa aaa ctg gcc cag ctg aaa aaa aaa ctt cag gcc 135
Lys Lys Lys Leu Ala Gln Leu Lys Lys Lys Leu Gln Ala
35 40 45

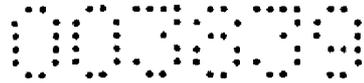
<210> 4

<211> 45

<212> PRT

<213> synthetische Sequenz

<400> 4



Met Lys Gln Leu Glu Lys Glu Leu Lys Gln Leu Glu Lys Glu Leu Gln
1 5 10 15
Ala Ile Glu Lys Gln Leu Ala Gln Leu Gln Trp Lys Ala Gln Ala Arg
20 25 30
Lys Lys Lys Leu Ala Gln Leu Lys Lys Lys Leu Gln Ala
35 40 45

<210> 5
<211> 111
<212> DNA
<213> synthetisches Protein

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(111)
<223> BCR

<400> 5
atg gat att gaa cag gaa ctg gaa cgc gca aaa gca agc att cgt cgt 48
Met Asp Ile Glu Gln Glu Leu Glu Arg Ala Lys Ala Ser Ile Arg Arg
1 5 10 15

ctg gaa cag gaa gtt aat caa gaa cgt agc cgt atg gca tat ctg caa 96
Leu Glu Gln Glu Val Asn Gln Glu Arg Ser Arg Met Ala Tyr Leu Gln
20 25 30

acc ctg ctg gca aaa 111
Thr Leu Leu Ala Lys
35

<210> 6
<211> 37
<212> PRT
<213> synthetisches Protein

<400> 6
Met Asp Ile Glu Gln Glu Leu Glu Arg Ala Lys Ala Ser Ile Arg Arg
1 5 10 15

Leu Glu Gln Glu Val Asn Gln Glu Arg Ser Arg Met Ala Tyr Leu Gln
20 25 30

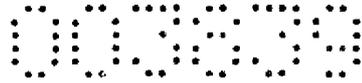
Thr Leu Leu Ala Lys
35

<210> 7
<211> 84
<212> DNA
<213> synthetisches Protein

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(84)
<223> Foldon

<400> 7
atg ggt tat att cct gaa gca cca cgt gat ggc caa gca tac gtt cgt 48
Met Gly Tyr Ile Pro Glu Ala Pro Arg Asp Gly Gln Ala Tyr Val Arg
1 5 10 15

aaa gac ggt gaa tgg gtc ctg ctg tcc act ttc ctg 84
Lys Asp Gly Glu Trp Val Leu Leu Ser Thr Phe Leu
20 25



<210> 8
<211> 28
<212> PRT
<213> synthetisches Protein

<400> 8

Met Gly Tyr Ile Pro Glu Ala Pro Arg Asp Gly Gln Ala Tyr Val Arg
1 5 10 15

Lys Asp Gly Glu Trp Val Leu Leu Ser Thr Phe Leu
20 25

<210> 9
<211> 96
<212> DNA
<213> synthetisches Protein

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(96)
<223> p53T

<400> 9

atg gaa tac ttt acc ctg cac atc cgt ggc cgt gag cgt ttc gag atg 48
Met Glu Tyr Phe Thr Leu His Ile Arg Gly Arg Glu Arg Phe Glu Met
1 5 10 15

ttc cgc gaa ctg aat gaa gcc ctg gaa ctg aaa gat gct caa gca ggt 96
Phe Arg Glu Leu Asn Glu Ala Leu Glu Leu Lys Asp Ala Gln Ala Gly
20 25 30

<210> 10
<211> 32
<212> PRT
<213> synthetisches Protein

<400> 10

Met Glu Tyr Phe Thr Leu His Ile Arg Gly Arg Glu Arg Phe Glu Met
1 5 10 15

Phe Arg Glu Leu Asn Glu Ala Leu Glu Leu Lys Asp Ala Gln Ala Gly
20 25 30

<210> 11
<211> 285
<212> DNA
<213> synthetisches Protein

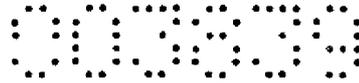
<220>
<221> CDS
<222> (1)..(285)
<223> TetShak

<400> 11

atg gaa cgt gtt gtt att aat gtg agc ggt ctg cgt ttt gaa acc cag 48
Met Glu Arg Val Val Ile Asn Val Ser Gly Leu Arg Phe Glu Thr Gln
1 5 10 15

ctg aaa acc ctg aat cag ttc ccg gat acc ctg ctg ggt aat ccg cag 96
Leu Lys Thr Leu Asn Gln Phe Pro Asp Thr Leu Leu Gly Asn Pro Gln
20 25 30

aaa cgt aat cgt tat tat gat ccg ctg cgc aac gaa tat ttt ttt gat 144
Lys Arg Asn Arg Tyr Tyr Asp Pro Leu Arg Asn Glu Tyr Phe Phe Asp



```

          35              40              45
cgc aat cgt ccg agc ttt gat gcc att ctg tat ttt tat cag agc ggt      192
Arg Asn Arg Pro Ser Phe Asp Ala Ile Leu Tyr Phe Tyr Gln Ser Gly
   50              55              60

ggt cgt ctg cgt cgt ccg gtt aat gtt ccg ctg gat gtg ttt agc gaa      240
Gly Arg Leu Arg Arg Pro Val Asn Val Pro Leu Asp Val Phe Ser Glu
   65              70              75              80

gag atc aaa ttt tat gaa ctg ggc gaa aac gcc ttt gaa cgc tat      285
Glu Ile Lys Phe Tyr Glu Leu Gly Glu Asn Ala Phe Glu Arg Tyr
          85              90              95

<210> 12
<211> 95
<212> PRT
<213> synthetisches Protein

<400> 12
Met Glu Arg Val Val Ile Asn Val Ser Gly Leu Arg Phe Glu Thr Gln
 1              5              10              15

Leu Lys Thr Leu Asn Gln Phe Pro Asp Thr Leu Leu Gly Asn Pro Gln
          20              25              30

Lys Arg Asn Arg Tyr Tyr Asp Pro Leu Arg Asn Glu Tyr Phe Phe Asp
          35              40              45

Arg Asn Arg Pro Ser Phe Asp Ala Ile Leu Tyr Phe Tyr Gln Ser Gly
   50              55              60

Gly Arg Leu Arg Arg Pro Val Asn Val Pro Leu Asp Val Phe Ser Glu
   65              70              75              80

Glu Ile Lys Phe Tyr Glu Leu Gly Glu Asn Ala Phe Glu Arg Tyr
          85              90              95

<210> 13
<211> 210
<212> DNA
<213> synthetisches Protein

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(210)
<223> Vero5

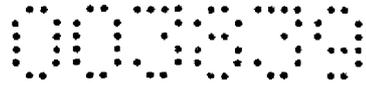
<400> 13
atg aca ccg gat tgt gtt acc ggc aaa gtg gaa tat acc aaa tat aac      48
Met Thr Pro Asp Cys Val Thr Gly Lys Val Glu Tyr Thr Lys Tyr Asn
 1              5              10              15

gat gac gat acc ttt acc gtg aaa gtg ggt gat aaa gaa ctg ttt acc      96
Asp Asp Asp Thr Phe Thr Val Lys Val Gly Asp Lys Glu Leu Phe Thr
          20              25              30

aat cgt tgg aat ctg caa agc ctg ctg ctg agc gca cag att acg ggt      144
Asn Arg Trp Asn Leu Gln Ser Leu Leu Leu Ser Ala Gln Ile Thr Gly
          35              40              45

atg acc gtt acc att aaa acc aat gca tgc cat aat ggt ggt ggc ttt      192
Met Thr Val Thr Ile Lys Thr Asn Ala Cys His Asn Gly Gly Gly Phe
   50              55              60

agc gaa gtt att ttt cgt      210
```



Ser Glu Val Ile Phe Arg
65 70

<210> 14
<211> 70
<212> PRT
<213> synthetisches Protein

<400> 14

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

Asp Asp Asp Thr Phe Thr Val Lys Val Gly Asp Lys Glu Leu Phe Thr
20 25 30

Asn Arg Trp Asn Leu Gln Ser Leu Leu Leu Ser Ala Gln Ile Thr Gly
35 40 45

Met Thr Val Thr Ile Lys Thr Asn Ala Cys His Asn Gly Gly Gly Phe
50 55 60

Ser Glu Val Ile Phe Arg
65 70

<210> 15
<211> 99
<212> DNA
<213> synthetische Herkunft

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(99)
<223> P1

<400> 15

agc cca gaa gac gaa att cag gca ctg gaa gaa gaa aat gct caa ctg 48
Ser Pro Glu Asp Glu Ile Gln Ala Leu Glu Glu Glu Asn Ala Gln Leu
1 5 10 15

gaa cag gaa aac gcg gcg ctg gaa gaa gaa atc gca cag ctg gaa tac 96
Glu Gln Glu Asn Ala Ala Leu Glu Glu Glu Ile Ala Gln Leu Glu Tyr
20 25 30

ggc 99
Gly

<210> 16
<211> 33
<212> PRT
<213> synthetische Herkunft

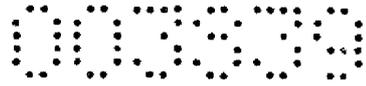
<400> 16

Ser Pro Glu Asp Glu Ile Gln Ala Leu Glu Glu Glu Asn Ala Gln Leu
1 5 10 15

Glu Gln Glu Asn Ala Ala Leu Glu Glu Glu Ile Ala Gln Leu Glu Tyr
20 25 30

Gly

<210> 17
<211> 99
<212> DNA



<213> synthetische Herkunft

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(99)

<223> P2

<400> 17

tct cca gaa gac aaa atc gca cag ctg aaa gaa aag aac gcg gcc ctg 48
Ser Pro Glu Asp Lys Ile Ala Gln Leu Lys Glu Lys Asn Ala Ala Leu
1 5 10 15

aaa gaa aag aat caa cag ctg aag gag aaa atc caa gca ctg aaa tat 96
Lys Glu Lys Asn Gln Gln Leu Lys Glu Lys Ile Gln Ala Leu Lys Tyr
20 25 30

ggc 99
Gly

<210> 18

<211> 33

<212> PRT

<213> synthetische Herkunft

<400> 18

Ser Pro Glu Asp Lys Ile Ala Gln Leu Lys Glu Lys Asn Ala Ala Leu
1 5 10 15

Lys Glu Lys Asn Gln Gln Leu Lys Glu Lys Ile Gln Ala Leu Lys Tyr
20 25 30

Gly

<210> 19

<211> 99

<212> DNA

<213> synthetische Herkunft

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(99)

<223> GCN

<400> 19

cgt atg aaa cag ctg gaa gat aaa atc gag gag ctg ctg tct aag atc 48
Arg Met Lys Gln Leu Glu Asp Lys Ile Glu Glu Leu Leu Ser Lys Ile
1 5 10 15

tac cac ctg gaa aac gaa att gct cgc ctg aaa aag ctg att ggt gaa 96
Tyr His Leu Glu Asn Glu Ile Ala Arg Leu Lys Lys Leu Ile Gly Glu
20 25 30

cgc 99
Arg

<210> 20

<211> 33

<212> PRT

<213> synthetische Herkunft

<400> 20

Arg Met Lys Gln Leu Glu Asp Lys Ile Glu Glu Leu Leu Ser Lys Ile



Gly

<210> 24
<211> 33
<212> PRT
<213> synthetische Herkunft

<400> 24

Ser Pro Glu Asp Lys Ile Ala Gln Leu Lys Gln Lys Ile Gln Ala Leu
1 5 10 15

Lys Gln Glu Asn Gln Gln Leu Glu Glu Glu Asn Ala Ala Leu Glu Tyr
20 25 30

Gly

<210> 25
<211> 99
<212> DNA
<213> synthetische Herkunft

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(99)
<223> P5

<400> 25

tct cct gaa gac gaa aac gca gct ctg gaa gag aaa att gca caa ctg 48
Ser Pro Glu Asp Glu Asn Ala Ala Leu Glu Glu Lys Ile Ala Gln Leu
1 5 10 15

aaa caa aag aac gcg gca ctg aaa gaa gaa att caa gca ctg gaa tat 96
Lys Gln Lys Asn Ala Ala Leu Lys Glu Glu Ile Gln Ala Leu Glu Tyr
20 25 30

ggc 99
Gly

<210> 26
<211> 33
<212> PRT
<213> synthetische Herkunft

<400> 26

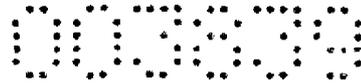
Ser Pro Glu Asp Glu Asn Ala Ala Leu Glu Glu Lys Ile Ala Gln Leu
1 5 10 15

Lys Gln Lys Asn Ala Ala Leu Lys Glu Glu Ile Gln Ala Leu Glu Tyr
20 25 30

Gly

<210> 27
<211> 99
<212> DNA
<213> synthetische Herkunft

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(99)
<223> P6



<400> 27
agc ccg gaa gat aaa aac gcc gct ctg aaa gag gaa atc cag gcg ctg 48
Ser Pro Glu Asp Lys Asn Ala Ala Leu Lys Glu Glu Ile Gln Ala Leu
1 5 10 15

gaa gaa gaa aac cag gct ctg gaa gag aaa atc gca cag ctg aaa tat 96
Glu Glu Glu Asn Gln Ala Leu Glu Glu Lys Ile Ala Gln Leu Lys Tyr
20 25 30

ggt 99
Gly

<210> 28
<211> 33
<212> PRT
<213> synthetische Herkunft

<400> 28
Ser Pro Glu Asp Lys Asn Ala Ala Leu Lys Glu Glu Ile Gln Ala Leu
1 5 10 15
Glu Glu Glu Asn Gln Ala Leu Glu Glu Lys Ile Ala Gln Leu Lys Tyr
20 25 30

Gly

<210> 29
<211> 99
<212> DNA
<213> synthetische Herkunft

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(99)
<223> P7

<400> 29
tcc ccg gag gat gag atc cag gcg ctg gaa gaa aag aac gcc cag ctg 48
Ser Pro Glu Asp Glu Ile Gln Ala Leu Glu Glu Lys Asn Ala Gln Leu
1 5 10 15

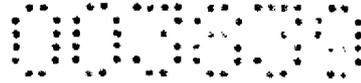
aag cag gaa att gcg gca ctg gaa gag aag aac cag gcc ctg aag tac 96
Lys Gln Glu Ile Ala Ala Leu Glu Glu Lys Asn Gln Ala Leu Lys Tyr
20 25 30

ggt 99
Gly

<210> 30
<211> 33
<212> PRT
<213> synthetische Herkunft

<400> 30
Ser Pro Glu Asp Glu Ile Gln Ala Leu Glu Glu Lys Asn Ala Gln Leu
1 5 10 15
Lys Gln Glu Ile Ala Ala Leu Glu Glu Lys Asn Gln Ala Leu Lys Tyr
20 25 30

Gly



<210> 31
 <211> 99
 <212> DNA
 <213> synthetische Herkunft

<220>
 <221> CDS
 <222> (1)..(99)
 <223> P8

<400> 31
 tcc ccg gaa gac aaa atc gct cag ctg aaa gaa gaa aac cag cag ctg 48
 Ser Pro Glu Asp Lys Ile Ala Gln Leu Lys Glu Glu Asn Gln Gln Leu
 1 5 10 15
 gaa caa aag att cag gcc ctg aag gag gaa aac gca gct ctg gaa tac 96
 Glu Gln Lys Ile Gln Ala Leu Lys Glu Glu Asn Ala Ala Leu Glu Tyr
 20 25 30
 ggc 99
 Gly

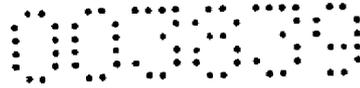
<210> 32
 <211> 33
 <212> PRT
 <213> synthetische Herkunft

<400> 32
 Ser Pro Glu Asp Lys Ile Ala Gln Leu Lys Glu Glu Asn Gln Gln Leu
 1 5 10 15
 Glu Gln Lys Ile Gln Ala Leu Lys Glu Glu Asn Ala Ala Leu Glu Tyr
 20 25 30
 Gly

<210> 33
 <211> 192
 <212> DNA
 <213> synthetische Herkunft

<220>
 <221> CDS
 <222> (1)..(192)
 <223> Dimetra A1

<400> 33
 atg aaa cag ccg gaa aaa gaa ctg caa gca atc gaa aaa cag ctg gca 48
 Met Lys Gln Leu Glu Lys Glu Leu Gln Ala Ile Glu Lys Gln Leu Ala
 1 5 10 15
 caa ctg caa tgg aag gct caa gct cgc aag aaa aag ctg gca cag tcc 96
 Gln Leu Gln Trp Lys Ala Gln Ala Arg Lys Lys Lys Leu Ala Gln Ser
 20 25 30
 ggc gaa tac ttc acc ctg cac atc cgt ggc cgt gag cgt ttc gag atg 144
 Gly Glu Tyr Phe Thr Leu His Ile Arg Gly Arg Glu Arg Phe Glu Met
 35 40 45
 ttc cgc gaa ctg aat gaa gcc ctg gaa ctg aaa gat gct caa gca ggt 192
 Phe Arg Glu Leu Asn Glu Ala Leu Glu Leu Lys Asp Ala Gln Ala Gly
 50 55 60



37

Glu Met Phe Arg Glu Leu Asn Glu Ala Leu Glu Leu Lys Asp Ala Gln
50 55 60

Ala Gly
65

<210> 37
<211> 234
<212> DNA
<213> synthetische Herkunft

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(234)
<223> Dimtetra-A

<400> 37
atg aaa cag ctg gaa aaa gag ctg aaa cag tta gaa aaa gaa ctg caa 48
Met Lys Gln Leu Glu Lys Glu Leu Lys Gln Leu Glu Lys Glu Leu Gln
1 5 10 15

gca att gaa aaa cag ctg gca cag ctg caa tgg aaa gca cag gca cgt 96
Ala Ile Glu Lys Gln Leu Ala Gln Leu Gln Trp Lys Ala Gln Ala Arg
20 25 30

aaa aaa aaa ctg gcc cag ctg aaa aaa aaa ctt cag gcc tcc ggc gaa 144
Lys Lys Lys Leu Ala Gln Leu Lys Lys Lys Leu Gln Ala Ser Gly Glu
35 40 45

tac ttt acc ctg cac atc cgt ggc cgt gag cgt ttc gag atg ttc cgc 192
Tyr Phe Thr Leu His Ile Arg Gly Arg Glu Arg Phe Glu Met Phe Arg
50 55 60

gaa ctg aat gaa gcc ctg gaa ctg aaa gat gct caa gca ggt 234
Glu Leu Asn Glu Ala Leu Glu Leu Lys Asp Ala Gln Ala Gly
65 70 75

<210> 38
<211> 78
<212> PRT
<213> synthetische Herkunft

<400> 38

Met Lys Gln Leu Glu Lys Glu Leu Lys Gln Leu Glu Lys Glu Leu Gln
1 5 10 15

Ala Ile Glu Lys Gln Leu Ala Gln Leu Gln Trp Lys Ala Gln Ala Arg
20 25 30

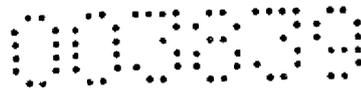
Lys Lys Lys Leu Ala Gln Leu Lys Lys Lys Leu Gln Ala Ser Gly Glu
35 40 45

Tyr Phe Thr Leu His Ile Arg Gly Arg Glu Arg Phe Glu Met Phe Arg
50 55 60

Glu Leu Asn Glu Ala Leu Glu Leu Lys Asp Ala Gln Ala Gly
65 70 75

<210> 39
<211> 210
<212> DNA
<213> synthetische Herkunft

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(210)



<223> Dimtetra-B

<400> 39
atg gat att gaa cag gaa ctg gaa cgc gca aaa gca agc att cgt cgt 48
Met Asp Ile Glu Gln Glu Leu Glu Arg Ala Lys Ala Ser Ile Arg Arg
1 5 10 15

ctg gaa cag gaa gtt aat caa gaa cgt agc cgt atg gca tat ctg caa 96
Leu Glu Gln Glu Val Asn Gln Glu Arg Ser Arg Met Ala Tyr Leu Gln
20 25 30

acc ctg ctg gca aaa tcc ggc gaa tac ttt acc ctg cac atc cgt ggc 144
Thr Leu Leu Ala Lys Ser Gly Glu Tyr Phe Thr Leu His Ile Arg Gly
35 40 45

cgt gag cgt ttc gag atg ttc cgc gaa ctg aat gaa gcc ctg gaa ctg 192
Arg Glu Arg Phe Glu Met Phe Arg Glu Leu Asn Glu Ala Leu Glu Leu
50 55 60

aaa gat gct caa gca ggt 210
Lys Asp Ala Gln Ala Gly
65 70

<210> 40
<211> 70
<212> PRT
<213> synthetische Herkunft

<400> 40
Met Asp Ile Glu Gln Glu Leu Glu Arg Ala Lys Ala Ser Ile Arg Arg
1 5 10 15
Leu Glu Gln Glu Val Asn Gln Glu Arg Ser Arg Met Ala Tyr Leu Gln
20 25 30
Thr Leu Leu Ala Lys Ser Gly Glu Tyr Phe Thr Leu His Ile Arg Gly
35 40 45
Arg Glu Arg Phe Glu Met Phe Arg Glu Leu Asn Glu Ala Leu Glu Leu
50 55 60
Lys Asp Ala Gln Ala Gly
65 70

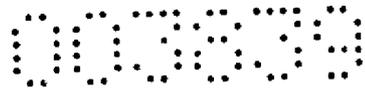
<210> 41
<211> 195
<212> DNA
<213> synthetische Herkunft

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(195)
<223> Tetradim-A1

<400> 41
atg gaa tac ttt acc ctg cac atc cgt ggc cgt gag cgt ttc gag atg 48
Met Glu Tyr Phe Thr Leu His Ile Arg Gly Arg Glu Arg Phe Glu Met
1 5 10 15

ttc cgc gaa ctg aat gaa gcc ctg gaa ctg aaa gat gct caa gca ggt 96
Phe Arg Glu Leu Asn Glu Ala Leu Glu Leu Lys Asp Ala Gln Ala Gly
20 25 30

tcc ggc atg aaa cag ctg gaa aaa gaa ctg caa gca atc gaa aaa cag 144
Ser Gly Met Lys Gln Leu Glu Lys Glu Leu Gln Ala Ile Glu Lys Gln
35 40 45



ctg gca caa ctg caa tgg aag gct caa gct cgc aag aaa aag ctg gca 192
Leu Ala Gln Leu Gln Trp Lys Ala Gln Ala Arg Lys Lys Lys Leu Ala
50 55 60

cag 195
Gln
65

<210> 42
<211> 65
<212> PRT
<213> synthetische Herkunft

<400> 42

Met Glu Tyr Phe Thr Leu His Ile Arg Gly Arg Glu Arg Phe Glu Met
1 5 10 15

Phe Arg Glu Leu Asn Glu Ala Leu Glu Leu Lys Asp Ala Gln Ala Gly
20 25 30

Ser Gly Met Lys Gln Leu Glu Lys Glu Leu Gln Ala Ile Glu Lys Gln
35 40 45

Leu Ala Gln Leu Gln Trp Lys Ala Gln Ala Arg Lys Lys Lys Leu Ala
50 55 60

Gln
65

<210> 43
<211> 237
<212> DNA
<213> synthetische Herkunft

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(237)
<223> Tetradin-A

<400> 43

atg gaa tac ttt acc ctg cac atc cgt ggc cgt gag cgt ttc gag atg 48
Met Glu Tyr Phe Thr Leu His Ile Arg Gly Arg Glu Arg Phe Glu Met
1 5 10 15

ttc cgc gaa ctg aat gaa gcc ctg gaa ctg aaa gat gct caa gca ggt 96
Phe Arg Glu Leu Asn Glu Ala Leu Glu Leu Lys Asp Ala Gln Ala Gly
20 25 30

lcc ggc atg aaa cag ctg gaa aaa gag ctg aaa cag tta gaa aaa gaa 144
Ser Gly Met Lys Gln Leu Glu Lys Glu Leu Lys Gln Leu Glu Lys Glu
35 40 45

ctg caa gca att gaa aaa cag ctg gca cag ctg caa tgg aaa gca cag 192
Leu Gln Ala Ile Glu Lys Gln Leu Ala Gln Leu Trp Lys Ala Gln
50 55 60

gca cgt aaa aaa aaa ctg gcc cag ctg aaa aaa aaa ctt cag gcc 237
Ala Arg Lys Lys Lys Leu Ala Gln Leu Lys Lys Lys Leu Gln Ala
65 70 75

<210> 44
<211> 79
<212> PRT
<213> synthetische Herkunft



<400> 44

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

<210> 45

<211> 210

<212> DNA

<213> synthetische Herkunft

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(210)

<223> Tetradim B

<400> 45

atg gaa tac ttt acc ctg cac atc cgt ggc cgt gag cgt ttc gag atg 48
Met Glu Tyr Phe Thr Leu His Ile Arg Gly Arg Glu Arg Phe Glu Met
1 5 10 15
ttc cgc gaa ctg aat gaa gcc ctg gaa ctg aaa gat gct caa gca ggt 96
Phe Arg Glu Leu Asn Glu Ala Leu Glu Leu Lys Asp Ala Gln Ala Gly
20 25 30
tcc ggc gat att gaa cag gaa ctg gaa cgc gca aaa gca agc att cgt 144
Ser Gly Asp Ile Glu Gln Glu Leu Glu Arg Ala Lys Ala Ser Ile Arg
35 40 45
cgt ctg gaa cag gaa gtt aat caa gaa cgt agc cgt atg gca tat ctg 192
Arg Leu Glu Gln Glu Val Asn Gln Glu Arg Ser Arg Met Ala Tyr Leu
50 55 60
caa acc ctg ctg gca aaa 210
Gln Thr Leu Leu Ala Lys
65 70

<210> 46

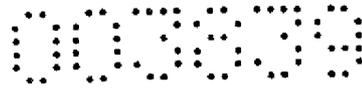
<211> 70

<212> PRT

<213> synthetische Herkunft

<400> 46

Met Glu Tyr Phe Thr Leu His Ile Arg Gly Arg Glu Arg Phe Glu Met
1 5 10 15
Phe Arg Glu Leu Asn Glu Ala Leu Glu Leu Lys Asp Ala Gln Ala Gly
20 25 30
Ser Gly Asp Ile Glu Gln Glu Leu Glu Arg Ala Lys Ala Ser Ile Arg
35 40 45
Arg Leu Glu Gln Glu Val Asn Gln Glu Arg Ser Arg Met Ala Tyr Leu
50 55 60



Gln Thr Leu Leu Ala Lys
65 70

<210> 47
<211> 384
<212> DNA
<213> synthetische Herkunft

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(384)
<223> A1-Tshak

<400> 47
atg aaa cag ctg gaa aaa gaa ctg caa gca atc gaa aaa cag ctg gca 48
Met Lys Gln Leu Glu Lys Glu Leu Gln Ala Ile Glu Lys Gln Leu Ala
1 5 10 15
caa ctg caa tgg aag gct caa gct cgc aag aaa aag ctg gca cag tcc 96
Gln Leu Gln Trp Lys Ala Gln Ala Arg Lys Lys Lys Leu Ala Gln Ser
20 25 30
ggc atg gaa cgt gtt gtt att aat gtg agc ggt ctg cgt ttt gaa acc 144
Gly Met Glu Arg Val Val Ile Asn Val Ser Gly Leu Arg Phe Glu Thr
35 40 45
cag ctg aaa acc ctg aal cag ttc ccg gat acc ctg ctg ggt aat ccg 192
Gln Leu Lys Thr Leu Asn Gln Phe Pro Asp Thr Leu Leu Gly Asn Pro
50 55 60
cag aaa cgt aat cgt tat tat gat ccg ctg cgc aac gaa tat ttt ttt 240
Gln Lys Arg Asn Arg Tyr Tyr Asp Pro Leu Arg Asn Glu Tyr Phe Phe
65 70 75 80
gal cgc aat cgt ccg agc ttt gal gcc att ctg tat ttt tat cag agc 288
Asp Arg Asn Arg Pro Ser Phe Asp Ala Ile Leu Tyr Phe Tyr Gln Ser
85 90 95
ggt ggt cgt ctg cgt cgt ccg gtt aat gtt ccg ctg gat gtg ttt agc 336
Gly Gly Arg Leu Arg Arg Pro Val Asn Val Pro Leu Asp Val Phe Ser
100 105 110
gaa gag atc aaa ttt tat gaa ctg ggc gaa aac gcc ttt gaa cgc tat 384
Glu Glu Ile Lys Phe Tyr Glu Leu Gly Glu Asn Ala Phe Glu Arg Tyr
115 120 125

<210> 48
<211> 128
<212> PRT
<213> synthetische Herkunft

<400> 48
Met Lys Gln Leu Glu Lys Glu Leu Gln Ala Ile Glu Lys Gln Leu Ala
1 5 10 15
Gln Leu Gln Trp Lys Ala Gln Ala Arg Lys Lys Lys Leu Ala Gln Ser
20 25 30
Gly Met Glu Arg Val Val Ile Asn Val Ser Gly Leu Arg Phe Glu Thr
35 40 45
Gln Leu Lys Thr Leu Asn Gln Phe Pro Asp Thr Leu Leu Gly Asn Pro
50 55 60
Gln Lys Arg Asn Arg Tyr Tyr Asp Pro Leu Arg Asn Glu Tyr Phe Phe
65 70 75 80



Asp Arg Asn Arg Pro Ser Phe Asp Ala Ile Leu Tyr Phe Tyr Gln Ser
85 90 95

Gly Gly Arg Leu Arg Arg Pro Val Asn Val Pro Leu Asp Val Phe Ser
100 105 110

Glu Glu Ile Lys Phe Tyr Glu Leu Gly Glu Asn Ala Phe Glu Arg Tyr
115 120 125

<210> 49
<211> 426
<212> DNA
<213> synthetische Herkunft

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(426)
<223> A-Tshak

<400> 49
atg aaa cag ctg gaa aaa gag ctg aaa cag tta gaa aaa gaa ctg caa 48
Met Lys Gln Leu Glu Lys Glu Leu Lys Gln Leu Glu Lys Glu Leu Gln
1 5 10 15

gca att gaa aaa cag ctg gca cag ctg caa tgg aaa gca cag gca cgt 96
Ala Ile Glu Lys Gln Leu Ala Gln Leu Gln Trp Lys Ala Gln Ala Arg
20 25 30

aaa aaa aaa ctg gcc cag ctg aaa aaa aaa ctt cag gcc tcc ggc atg 144
Lys Lys Lys Leu Ala Gln Leu Lys Lys Lys Leu Gln Ala Ser Gly Met
35 40 45

gaa cgt gtt gtt att aat gtg agc ggt ctg cgt ttt gaa acc cag ctg 192
Glu Arg Val Val Ile Asn Val Ser Gly Leu Arg Phe Glu Thr Gln Leu
50 55 60

aaa acc ctg aat cag ttc ccg gat acc ctg ctg ggt aat ccg cag aaa 240
Lys Thr Leu Asn Gln Phe Pro Asp Thr Leu Leu Gly Asn Pro Gln Lys
65 70 75 80

cgt aat cgt tat tat gat ccg ctg cgc aac gaa tat ttt ttt gat cgc 288
Arg Asn Arg Tyr Tyr Asp Pro Leu Arg Asn Glu Tyr Phe Phe Asp Arg
85 90 95

aat cgt ccg agc ttt gat gcc att ctg tat ttt tat cag agc ggt ggt 336
Asn Arg Pro Ser Phe Asp Ala Ile Leu Tyr Phe Tyr Gln Ser Gly Gly
100 105 110

cgt ctg cgt cgt ccg gtt aat gtt ccg ctg gat gtg ttt agc gaa gag 384
Arg Leu Arg Arg Pro Val Asn Val Pro Leu Asp Val Phe Ser Glu Glu
115 120 125

atc aaa ttt tat gaa ctg ggc gaa aac gcc ttt gaa cgc tat 426
Ile Lys Phe Tyr Glu Leu Gly Glu Asn Ala Phe Glu Arg Tyr
130 135 140

<210> 50
<211> 142
<212> PRT
<213> synthetische Herkunft

<400> 50

Met Lys Gln Leu Glu Lys Glu Leu Lys Gln Leu Glu Lys Glu Leu Gln
1 5 10 15

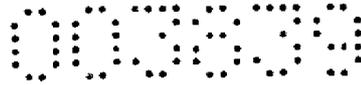


Ala Ile Glu Lys Gln Leu Ala Gln Leu Gln Trp Lys Ala Gln Ala Arg
20 25 30
Lys Lys Lys Leu Ala Gln Leu Lys Lys Lys Leu Gln Ala Ser Gly Met
35 40 45
Glu Arg Val Val Ile Asn Val Ser Gly Leu Arg Phe Glu Thr Gln Leu
50 55 60
Lys Thr Leu Asn Gln Phe Pro Asp Thr Leu Leu Gly Asn Pro Gln Lys
65 70 75 80
Arg Asn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

<210> 51
<211> 402
<212> DNA
<213> synthetische Herkunft

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(402)
<223> B-Tshak

<400> 51
atg gat att gaa cag gaa ctg gaa cgc gca aaa gca agc att cgt cgt 48
Met Asp Ile Glu Gln Glu Leu Glu Arg Ala Lys Ala Ser Ile Arg Arg
1 5 10
ctg gaa cag gaa gtt aat caa gaa cgt agc cgt atg gca tat ctg caa 96
Leu Glu Gln Glu Val Asn Gln Glu Arg Ser Arg Met Ala Tyr Leu Gln
20 25 30
acc ctg ctg gca aaa tcc ggc atg gaa cgt gtc gtt att aat glg agc 144
Thr Leu Leu Ala Lys Ser Gly Met Glu Arg Val Val Ile Asn Val Ser
35 40 45
ggt ctg cgt ttt gaa acc cag ctg aaa acc ctg aat cag ttc ccg gat 192
Gly Leu Arg Phe Glu Thr Gln Leu Lys Thr Leu Asn Gln Phe Pro Asp
50 55 60
acc ctg ctg ggt aat ccg cag aaa cgt aat cgt tat tat gat ccg ctg 240
Thr Leu Leu Gly Asn Pro Gln Lys Arg Asn Arg Tyr Tyr Asp Pro Leu
65 70 75 80
cgc aac gaa tat ttt ttt gat cgc aat cgt ccg agc ttt gat gcc att 288
Arg Asn Glu Tyr Phe Phe Asp Arg Asn Arg Pro Ser Phe Asp Ala Ile
85 90 95
ctg tat ttt tat cag agc ggt ggt cgt ctg cgt cgt ccg gll aat gtt 336
Leu Tyr Phe Tyr Gln Ser Gly Gly Arg Leu Arg Arg Pro Val Asn Val
100 105 110
ccg ctg gat gtg ttt agc gaa gag atc aaa ttt tat gaa ctg gcc gaa 384
Pro Leu Asp Val Phe Ser Glu Glu Ile Lys Phe Tyr Glu Leu Gly Glu
115 120 125



aac gcc ttt gaa cgc tat
Asn Ala Phe Glu Arg Tyr
130

402

<210> 52
<211> 134
<212> PRT
<213> synthetische Herkunft

<400> 52

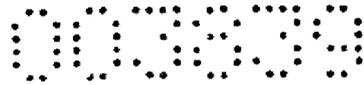
Met Asp Ile Glu Gln Glu Leu Glu Arg Ala Lys Ala Ser Ile Arg Arg
1 5 10 15
Leu Glu Gln Glu Val Asn Gln Glu Arg Ser Arg Met Ala Tyr Leu Gln
20 25 30
Thr Leu Leu Ala Lys Ser Gly Met Glu Arg Val Val Ile Asn Val Ser
35 40 45
Gly Leu Arg Phe Glu Thr Gln Ile Lys Thr Leu Asn Gln Phe Pro Asp
50 55 60
Thr Leu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

<210> 53
<211> 384
<212> DNA
<213> synthetische Herkunft

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(384)
<223> Tshak-Al

<400> 53

atg gaa cgt gtt gtt att aat gtg agc ggt ctg cgt ttt gaa acc cag 48
Met Glu Arg Val Val Ile Asn Val Ser Gly Leu Arg Phe Glu Thr Gln
1 5 10 15
ctg aaa acc ctg aat cag ttc ccg gat acc ctg ctg ggt aat ccg cag 96
Leu Lys Thr Leu Asn Gln Phe Pro Asp Thr Leu Leu Gly Asn Pro Gln
20 25 30
aaa cgt aat cgt tat tat gat ccg ctg cgc aac gaa tat ttt ttt gat 144
Lys Arg Asn Arg Tyr Tyr Asp Pro Leu Arg Asn Glu Tyr Phe Phe Asp
35 40 45
cgc aat cgt ccg agc ttt gat gcc att ctg tat ttt tat cag agc ggt 192
Arg Asn Arg Pro Ser Phe Asp Ala Ile Leu Tyr Phe Tyr Gln Ser Gly
50 55 60
ggt cgt ctg cgt cgt ccg gtt aat gtt ccg ctg gat gtg ttt agc gaa 240
Gly Arg Leu Arg Arg Pro Val Asn Val Pro Leu Asp Val Phe Ser Glu



```
cgc aat cgt ccg agc ttt gat gcc att ctg tat ttt tat cag agc ggt      192
Arg Asn Arg Pro Ser Phe Asp Ala Ile Leu Tyr Phe Tyr Gln Ser Gly
   50                               55                               60

ggt cgt ctg cgt cgt ccg gtt aat gtt ccg ctg gat gtg ttt agc gaa      240
Gly Arg Leu Arg Arg Pro Val Asn Val Pro Leu Asp Val Phe Ser Glu
   65                               70                               75                               80

gag atc aaa ttt tat gaa ctg ggc gaa aac gcc ttt gaa cgc tat tcc      288
Glu Ile Lys Phe Tyr Glu Leu Gly Glu Asn Ala Phe Glu Arg Tyr Ser
                               85                               90                               95

ggc atg aaa cag ctg gaa aaa gag ctg aaa cag tta gaa aaa gaa ctg      336
Gly Met Lys Gln Leu Glu Lys Glu Leu Lys Gln Leu Glu Lys Glu Leu
                               100                               105                               110

caa gca att gaa aaa cag ctg gca cag ctg caa tgg aaa gca cag gca      384
Gln Ala Ile Glu Lys Gln Leu Ala Gln Leu Gln Trp Lys Ala Gln Ala
                               115                               120                               125

cgt aaa aaa aaa ctg gcc cag ctg aaa aaa aaa ctt cag gcc      426
Arg Lys Lys Lys Leu Ala Gln Leu Lys Lys Lys Leu Gln Ala
   130                               135                               140
```

```
<210> 56
<211> 142
<212> PRT
<213> synthetische Herkunft
```

```
<400> 56
```

```
Met Glu Arg Val Val Ile Asn Val Ser Gly Leu Arg Phe Glu Thr Gln
 1                               5                               10                               15

Leu Lys Thr Leu Asn Gln Phe Pro Asp Thr Leu Leu Gly Asn Pro Gln
 20                               25                               30

Lys Arg Asn Arg Tyr Tyr Asp Pro Leu Arg Asn Glu Tyr Phe Phe Asp
 35                               40                               45

Arg Asn Arg Pro Ser Phe Asp Ala Ile Leu Tyr Phe Tyr Gln Ser Gly
 50                               55                               60

Gly Arg Leu Arg Arg Pro Val Asn Val Pro Leu Asp Val Phe Ser Glu
 65                               70                               75                               80

Glu Ile Lys Phe Tyr Glu Leu Gly Glu Asn Ala Phe Glu Arg Tyr Ser
 85                               90                               95

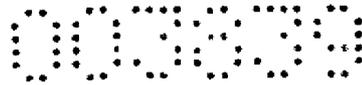
Gly Met Lys Gln Leu Glu Lys Glu Leu Lys Gln Leu Glu Lys Glu Leu
 100                               105                               110

Gln Ala Ile Glu Lys Gln Leu Ala Gln Leu Gln Trp Lys Ala Gln Ala
 115                               120                               125

Arg Lys Lys Lys Leu Ala Gln Leu Lys Lys Lys Leu Gln Ala
 130                               135                               140
```

```
<210> 57
<211> 399
<212> DNA
<213> synthetische Herkunft
```

```
<220>
<221> CDS
<222> (1)..(399)
```



<223> Tshak-B

<400> 57

atg gaa cgt gtt gtt att aat gtg agc ggt ctg cgt ttt gaa acc cag 48
Met Glu Arg Val Val Ile Asn Val Ser Gly Leu Arg Phe Glu Thr Gln
1 5 10 15

ctg aaa acc ctg aat caq ttc ccg gat acc ctg ctg ggt aat ccg cag 96
Leu Lys Thr Leu Asn Gln Phe Pro Asp Thr Leu Leu Gly Asn Pro Gln
20 25 30

aaa cgt aat cgt tat tat gat ccg ctg cgc aac gaa tat ttt ttt gat 144
Lys Arg Asn Arg Tyr Tyr Asp Pro Leu Arg Asn Glu Tyr Phe Phe Asp
35 40 45

cgc aat cgt ccg agc ttt gat gcc att ctg tat ttt tat cag agc ggt 192
Arg Asn Arg Pro Ser Phe Asp Ala Ile Leu Tyr Phe Tyr Gln Ser Gly
50 55 60

ggt cgt ctg cgt cgt ccg gtt aat gat ccg ctg gat gtg ttt agc gaa 240
Gly Arg Leu Arg Arg Pro Val Asn Val Pro Leu Asp Val Phe Ser Glu
65 70 75 80

gag atc aaa ttt tat gaa ctg ggc gaa aac gcc ttt gaa cgc tat tcc 288
Glu Ile Lys Phe Tyr Glu Leu Gly Glu Asn Ala Phe Glu Arg Tyr Ser
85 90 95

ggc gat att gaa cag gaa ctg gaa cgc gca aaa gca agc att cgt cgt 336
Gly Asp Ile Glu Gln Glu Leu Glu Arg Ala Lys Ala Ser Ile Arg Arg
100 105 110

ctg gaa cag gaa gtt aat caa gaa cgt agc cgt atg gca tat ctg caa 384
Leu Glu Gln Glu Val Asn Gln Glu Arg Ser Arg Met Ala Tyr Leu Gln
115 120 125

acc ctg ctg gca aaa 399
Thr Leu Leu Ala Lys
130

<210> 58

<211> 133

<212> PRT

<213> synthetische Herkunft

<400> 58

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

Leu Lys Thr Leu Asn Gln Phe Pro Asp Thr Leu Leu Gly Asn Pro Gln
20 25 30

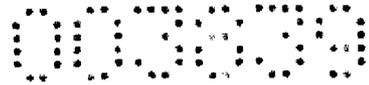
Lys Arg Asn Arg Tyr Tyr Asp Pro Leu Arg Asn Glu Tyr Phe Phe Asp
35 40 45

Arg Asn Arg Pro Ser Phe Asp Ala Ile Leu Tyr Phe Tyr Gln Ser Gly
50 55 60

Gly Arg Leu Arg Arg Pro Val Asn Val Pro Leu Asp Val Phe Ser Glu
65 70 75 80

Glu Ile Lys Phe Tyr Glu Leu Gly Glu Asn Ala Phe Glu Arg Tyr Ser
85 90 95

Gly Asp Ile Glu Gln Glu Leu Glu Arg Ala Lys Ala Ser Ile Arg Arg
100 105 110



48

Leu Glu Gln Glu Val Asn Gln Glu Arg Ser Arg Met Ala Tyr Leu Gln
115 120 125

Thr Leu Leu Ala Lys
130

<210> 59
<211> 183
<212> DNA
<213> synthetische Herkunft

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(183)
<223> foldon-A1

<400> 59
atg ggt tat att cct gaa gca cca cgt gat ggc caa gca tac gtt cgt 48
Met Gly Tyr Ile Pro Glu Ala Pro Arg Asp Gly Gln Ala Tyr Val Arg
1 5 10 15

aaa gac ggt gaa tgg gtc ctg ctg tcc act ttc ctg tcc ggc atg aaa 96
Lys Asp Gly Glu Trp Val Leu Leu Ser Thr Phe Leu Ser Gly Met Lys
20 25 30

cag ctg gaa aaa gaa ctg caa gca atc gaa aaa cag ctg gca caa ctg 144
Gln Leu Glu Lys Glu Leu Gln Ala Ile Glu Lys Gln Leu Ala Gln Leu
35 40 45

caa tgg aag gct caa gct cgc aag aaa aag ctg gca cag 183
Gln Trp Lys Ala Gln Ala Arg Lys Lys Lys Leu Ala Gln
50 55 60

<210> 60
<211> 61
<212> PRT
<213> synthetische Herkunft

<400> 60

Met Gly Tyr Ile Pro Glu Ala Pro Arg Asp Gly Gln Ala Tyr Val Arg
1 5 10 15

Lys Asp Gly Glu Trp Val Leu Leu Ser Thr Phe Leu Ser Gly Met Lys
20 25 30

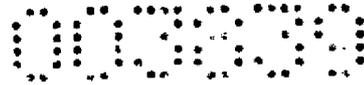
Gln Leu Glu Lys Glu Leu Gln Ala Ile Glu Lys Gln Leu Ala Gln Leu
35 40 45

Gln Trp Lys Ala Gln Ala Arg Lys Lys Lys Leu Ala Gln
50 55 60

<210> 61
<211> 225
<212> DNA
<213> synthetische Herkunft

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(225)
<223> Foldon A

<400> 61
atg ggt tat att cct gaa gca cca cgt gat ggc caa gca tac gtt cgt 48
Met Gly Tyr Ile Pro Glu Ala Pro Arg Asp Gly Gln Ala Tyr Val Arg
1 5 10 15



aaa gac ggt gaa tgg gtc ctg ctg tcc act ttc ctg tcc ggc atg aaa 96
Lys Asp Gly Glu Trp Val Leu Leu Ser Thr Phe Leu Ser Gly Met Lys
20 25 30

cag ctg gaa aaa gag ctg aaa cag tta gaa aaa gaa ctg caa gca att 144
Gln Leu Glu Lys Glu Leu Lys Gln Leu Glu Lys Glu Leu Gln Ala Ile
35 40 45

gaa aaa cag ctg gca cag ctg caa tgg aaa gca cag gca cgt aaa aaa 192
Glu Lys Gln Leu Ala Gln Leu Gln Trp Lys Ala Gln Ala Arg Lys Lys
50 55 60

aaa ctg gcc cag ctg aaa aaa aaa ctt cag gcc 225
Lys Leu Ala Gln Leu Lys Lys Lys Leu Gln Ala
65 70 75

<210> 62
<211> 75
<212> PRT
<213> synthetische Herkunft

<400> 62

Met Gly Tyr Ile Pro Glu Ala Pro Arg Asp Gly Gln Ala Tyr Val Arg
1 5 10 15

Lys Asp Gly Glu Trp Val Leu Leu Ser Thr Phe Leu Ser Gly Met Lys
20 25 30

Gln Leu Glu Lys Glu Leu Lys Gln Leu Glu Lys Glu Leu Gln Ala Ile
35 40 45

Glu Lys Gln Leu Ala Gln Leu Gln Trp Lys Ala Gln Ala Arg Lys Lys
50 55 60

Lys Leu Ala Gln Leu Lys Lys Lys Leu Gln Ala
65 70 75

<210> 63
<211> 198
<212> DNA
<213> synthetische Herkunft

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(198)
<223> Foldon-B

<400> 63

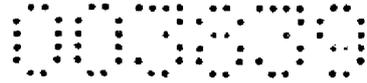
atg ggt tat att ccc gaa gca cca cgt gal ggc caa gca tac gtt cgt 48
Met Gly Tyr Ile Pro Glu Ala Pro Arg Asp Gly Gln Ala Tyr Val Arg
1 5 10 15

aaa gac ggt gaa tgg gtc ctg ctg tcc act ttc ctg tcc ggc gat att 96
Lys Asp Gly Glu Trp Val Leu Leu Ser Thr Phe Leu Ser Gly Asp Ile
20 25 30

gaa cag gaa ctg gaa cgc gca aaa gca agc att cgt cgt ctg gaa cag 144
Glu Gln Glu Leu Glu Arg Ala Lys Ala Ser Ile Arg Arg Leu Glu Gln
35 40 45

gaa gtt aat caa gaa cgt agc cgt atg gca tat ctg caa acc ctg ctg 192
Glu Val Asn Gln Glu Arg Ser Arg Met Ala Tyr Leu Gln Thr Leu Leu
50 55 60

gca aaa 198
Ala Lys



65

<210> 64
<211> 66
<212> PRT
<213> synthetische Herkunft

<400> 64

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

Ala Lys
65

<210> 65
<211> 180
<212> DNA
<213> synthetische Herkunft

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(180)
<223> A1 -Foldon

<400> 65

atg aaa cag ctg gaa aaa gaa ctg caa gca atc gaa aaa cag ctg gca 48
Met Lys Gln Leu Glu Lys Glu Leu Gln Ala Ile Glu Lys Gln Leu Ala
1 5 10 15
caa ctg caa lgg aag gct caa gct cgc aag aaa aag ctg gca cag tcc 96
Gln Leu Gln Trp Lys Ala Gln Ala Arg Lys Lys Lys Leu Ala Gln Ser
20 25 30
ggc ggt tat att cct gaa gca cca cgt gal ggc caa gca tac gtt cgt 144
Gly Gly Tyr Ile Pro Glu Ala Pro Arg Asp Gly Gln Ala Tyr Val Arg
35 40 45
aaa gac ggt gaa tgg gtc ctg ctg tcc act ttc ctg 180
Lys Asp Gly Glu Trp Val Leu Leu Ser Thr Phe Leu
50 55 60

<210> 66
<211> 60
<212> PRT
<213> synthetische Herkunft

<400> 66

Met Lys Gln Leu Glu Lys Glu Leu Gln Ala Ile Glu Lys Gln Leu Ala
1 5 10 15
Gln Leu Gln Trp Lys Ala Gln Ala Arg Lys Lys Lys Leu Ala Gln Ser
20 25 30
Gly Gly Tyr Ile Pro Glu Ala Pro Arg Asp Gly Gln Ala Tyr Val Arg
35 40 45



Lys Asp Gly Glu Trp Val Leu Leu Ser Thr Phe Leu
50 55 60

<210> 67
<211> 222
<212> DNA
<213> synthetische Herkunft

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(222)
<223> A- Foldon

<400> 67
atg aaa cag ctg gaa aaa gag ctg aaa cag tta gaa aaa gaa ctg caa 48
Met Lys Gln Leu Glu Lys Glu Leu Lys Gln Leu Glu Lys Glu Leu Gln
1 5 10 15

gca att gaa aaa cag ctg gca cag ctg caa tgg aaa gca cag gca cgt 96
Ala Ile Glu Lys Gln Leu Ala Gln Leu Gln Trp Lys Ala Gln Ala Arg
20 25 30

aaa aaa aaa ctg gcc cag ctg aaa aaa aaa ctt cag gcc tcc ggc ggt 144
Lys Lys Lys Leu Ala Gln Leu Lys Lys Lys Leu Gln Ala Ser Gly Gly
35 40 45

tat att cct gaa gca cca cgt gat gcc caa gca tac gtt cgt aaa gac 192
Tyr Ile Pro Glu Ala Pro Arg Asp Gly Gln Ala Tyr Val Arg Lys Asp
50 55 60

ggc gaa tgg gtc ctg ctg tcc act ttc ctg 222
Gly Glu Trp Val Leu Leu Ser Thr Phe Leu
65 70

<210> 68
<211> 74
<212> PRT
<213> synthetische Herkunft

<400> 68

Met Lys Gln Leu Glu Lys Glu Leu Lys Gln Leu Glu Lys Glu Leu Gln
1 5 10 15

Ala Ile Glu Lys Gln Leu Ala Gln Leu Gln Trp Lys Ala Gln Ala Arg
20 25 30

Lys Lys Lys Leu Ala Gln Leu Lys Lys Lys Leu Gln Ala Ser Gly Gly
35 40 45

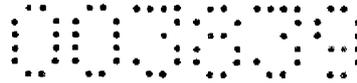
Tyr Ile Pro Glu Ala Pro Arg Asp Gly Gln Ala Tyr Val Arg Lys Asp
50 55 60

Gly Glu Trp Val Leu Leu Ser Thr Phe Leu
65 70

<210> 69
<211> 198
<212> DNA
<213> synthetische Herkunft

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(198)
<223> B- Foldon

<400> 69



```
atg gat att gaa cag gaa ctg gaa cgc gca aaa gca agc att cgt cgt      48
Met Asp Ile Glu Gln Glu Leu Glu Arg Ala Lys Ala Ser Ile Arg Arg
1                               5                               10          15

ctg gaa cag gaa gtt aat caa gaa cgt agc cgt atg gca tat ctg caa      96
Leu Glu Gln Glu Val Asn Gln Glu Arg Ser Arg Met Ala Tyr Leu Gln
                               20                               25          30

acc ctg ctg gca aaa tcc ggc ggt tat att cct gaa gca cca cgt gat      144
Thr Leu Leu Ala Lys Ser Gly Gly Tyr Ile Pro Glu Ala Pro Arg Asp
                               35                               40          45

ggc caa gca tac gtt cgt aaa gac ggt gaa tgg gtc ctg ctg tcc act      192
Gly Gln Ala Tyr Val Arg Lys Asp Gly Glu Trp Val Leu Leu Ser Thr
                               50                               55          60

ttc ctg
Phe Leu
65

<210> 70
<211> 66
<212> PRT
<213> synthetische Herkunft

<400> 70

Met Asp Ile Glu Gln Glu Leu Glu Arg Ala Lys Ala Ser Ile Arg Arg
1                               5                               10          15

Leu Glu Gln Glu Val Asn Gln Glu Arg Ser Arg Met Ala Tyr Leu Gln
                               20                               25          30

Thr Leu Leu Ala Lys Ser Gly Gly Tyr Ile Pro Glu Ala Pro Arg Asp
                               35                               40          45

Gly Gln Ala Tyr Val Arg Lys Asp Gly Glu Trp Val Leu Leu Ser Thr
                               50                               55          60

Phe Leu
65

<210> 71
<211> 432
<212> DNA
<213> synthetische Herkunft

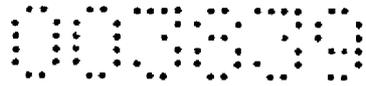
<220>
<221> CDS
<222> (1)..(432)
<223> A1-CutA1

<400> 71
atg aaa cag ctg gaa aaa gaa ctg caa gca atc gaa aaa cag ctg gca      48
Met Lys Gln Leu Glu Lys Glu Leu Gln Ala Ile Glu Lys Gln Leu Ala
1                               5                               10          15

caa ctg caa tgg aag gct caa gct cgc aag aaa aag ctg gca cag tcc      96
Gln Leu Gln Trp Lys Ala Gln Ala Arg Lys Lys Lys Leu Ala Gln Ser
                               20                               25          30

ggc ctt gat gaa aaa agt tcc aat acc gcg tct gtc gtg gtg cta tgt      144
Gly Leu Asp Glu Lys Ser Ser Asn Thr Ala Ser Val Val Val Leu Cys
                               35                               40          45

acg gca cca gat gaa gcg aca gcc cag gat tta gcc gcc aaa gtg ctg      192
Thr Ala Pro Asp Glu Ala Thr Ala Gln Asp Leu Ala Ala Lys Val Leu
```



```

      50              55              60
gcg gaa aaa ctg gcg gcc tgc gcg acc ttg atc ccc ggc gct acc tct      240
Ala Glu Lys Leu Ala Ala Cys Ala Thr Leu Ile Pro Gly Ala Thr Ser
65              70              75              80

ctc tat tac tgg gaa ggt aag ctg gag caa gaa tac gaa gtg cag atg      288
Leu Tyr Tyr Trp Glu Gly Lys Leu Glu Gln Glu Tyr Glu Val Gln Met
85              90              95

att tta aaa act acc gta tct cac cag cag gca ctg ctg gaa tgc ctg      336
Ile Leu Lys Thr Thr Val Ser His Gln Gln Ala Leu Leu Glu Cys Leu
100             105             110

aag tct cat cat cca tat caa acc ccg gaa ctt ctg gtt tta cct gtt      384
Lys Ser His His Pro Tyr Gln Thr Pro Glu Leu Leu Val Leu Pro Val
115             120             125

aca cac gga gac aca gat tac ctc tca tgg ctc aac gca tct tta cgc      432
Thr His Gly Asp Thr Asp Tyr Leu Ser Trp Leu Asn Ala Ser Leu Arg
130             135             140

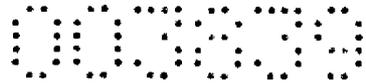
<210> 72
<211> 144
<212> PRT
<213> synthetische Herkunft

<400> 72
Met Lys Gln Leu Glu Lys Glu Leu Gln Ala Ile Glu Lys Gln Leu Ala
1              5              10
Gln Leu Gln Trp Lys Ala Gln Ala Arg Lys Lys Lys Leu Ala Gln Ser
20             25             30
Gly Leu Asp Glu Lys Ser Ser Asn Thr Ala Ser Val Val Val Leu Cys
35             40             45
Thr Ala Pro Asp Glu Ala Thr Ala Gln Asp Leu Ala Ala Lys Val Leu
50             55             60
Ala Glu Lys Leu Ala Ala Cys Ala Thr Leu Ile Pro Gly Ala Thr Ser
65             70             75             80
Leu Tyr Tyr Trp Glu Gly Lys Leu Glu Gln Glu Tyr Glu Val Gln Met
85             90             95
Ile Leu Lys Thr Thr Val Ser His Gln Gln Ala Leu Leu Glu Cys Leu
100            105            110
Lys Ser His His Pro Tyr Gln Thr Pro Glu Leu Leu Val Leu Pro Val
115            120            125
Thr His Gly Asp Thr Asp Tyr Leu Ser Trp Leu Asn Ala Ser Leu Arg
130            135            140

<210> 73
<211> 474
<212> DNA
<213> synthetische Herkunft

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(474)
<223> A CATAL

<400> 73
```



```
atg aaa cag ctg gaa aaa gag ctg aaa cag tta gaa aaa gaa ctg caa      48
Met Lys Gln Leu Glu Lys Glu Leu Lys Gln Leu Glu Lys Glu Leu Gln
1      5      10      15

gca att gaa aaa cag ctg gca cag ctg caa tgg aaa gca cag gca cgt      96
Ala Ile Glu Lys Gln Leu Ala Gln Leu Gln Trp Lys Ala Gln Ala Arg
      20      25      30

aaa aaa aaa ctg gcc cag ctg aaa aaa aaa ctt cag gcc tcc ggc ctt      144
Lys Lys Lys Leu Ala Gln Leu Lys Lys Lys Leu Gln Ala Ser Gly Leu
      35      40      45

gat gaa aaa agt tcg aat acc gcg tct gtc gtg gtg cta tgt acg gca      192
Asp Glu Lys Ser Ser Asn Thr Ala Ser Val Val Val Leu Cys Thr Ala
      50      55      60

cca gat gaa gcg aca gcc cag gat tta gcc gcc aaa gtg ctg gcg gaa      240
Pro Asp Glu Ala Thr Ala Gln Asp Leu Ala Ala Lys Val Leu Ala Glu
65      70      75      80

aaa ctg gcg gcc tgc gcg acc ttg atc ccc ggc gct acc tct ctc tat      288
Lys Leu Ala Ala Cys Ala Thr Leu Ile Pro Gly Ala Thr Ser Leu Tyr
      85      90      95

tac tgg gaa ggt aag ctg gag caa gaa tac gaa gtg cag atg att tta      336
Tyr Trp Glu Gly Lys Leu Glu Gln Glu Tyr Glu Val Gln Met Ile Leu
      100      105      110

aaa act acc gta tct cac cag cag gca ctg ctg gaa tgc ctg aag tct      384
Lys Thr Thr Val Ser His Gln Gln Ala Leu Leu Glu Cys Leu Lys Ser
      115      120      125

cat cat cca tat caa acc ccg gaa ctt ctg gtt tta cct gtt aca cac      432
His His Pro Tyr Gln Thr Pro Glu Leu Leu Val Leu Pro Val Thr His
130      135      140

gga gac aca gat tac ctg tca tgg ctg aac gca tct tta cgc      474
Gly Asp Thr Asp Tyr Leu Ser Trp Leu Asn Ala Ser Leu Arg
145      150      155

<210> 74
<211> 158
<212> PRT
<213> synthetische Herkunft

<400> 74

Met Lys Gln Leu Glu Lys Glu Leu Lys Gln Leu Glu Lys Glu Leu Gln
1      5      10      15

Ala Ile Glu Lys Gln Leu Ala Gln Leu Gln Trp Lys Ala Gln Ala Arg
      20      25      30

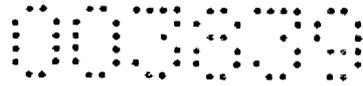
Lys Lys Lys Leu Ala Gln Leu Lys Lys Lys Leu Gln Ala Ser Gly Leu
      35      40      45

Asp Glu Lys Ser Ser Asn Thr Ala Ser Val Val Val Leu Cys Thr Ala
      50      55      60

Pro Asp Glu Ala Thr Ala Gln Asp Leu Ala Ala Lys Val Leu Ala Glu
      65      70      75      80

Lys Leu Ala Ala Cys Ala Thr Leu Ile Pro Gly Ala Thr Ser Leu Tyr
      85      90      95

Tyr Trp Glu Gly Lys Leu Glu Gln Glu Tyr Glu Val Gln Met Ile Leu
      100      105      110
```



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

His His Pro Tyr Gln Thr Pro Glu Leu Leu Val Leu Pro Val Thr His
130 135 140

Gly Asp Thr Asp Tyr Leu Ser Trp Leu Asn Ala Ser Leu Arg
145 150 155

<210> 75
<211> 450
<212> DNA
<213> synthetische Herkunft

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(450)
<223> B-CutA1

<400> 75
atg gat att gaa cag gaa ctg gaa cgc gca aaa gca agc att cgt cgt 48
Met Asp Ile Glu Gln Glu Leu Glu Arg Ala Lys Ala Ser Ile Arg Arg
1 5 10 15

ctg gaa cag gaa gtt aat caa gaa cgt agc cgt atg gca tat ctg caa 96
Leu Glu Gln Glu Val Asn Gln Glu Arg Ser Arg Met Ala Tyr Leu Gln
20 25 30

acc ctg ctg gca aaa tcc ggc ctt gat gaa aaa agt tcg aat acc gcg 144
Thr Leu Leu Ala Lys Ser Gly Leu Asp Glu Lys Ser Ser Asn Thr Ala
35 40 45

tct gtc gtg gtg cta tgt acg gca cca gat gaa gcg aca gcc cag gat 192
Ser Val Val Val Leu Cys Thr Ala Pro Asp Glu Ala Thr Ala Gln Asp
50 55 60

tta gcc gcc aaa gtg ctg gcg gaa aaa ctg gcg gcc tgc gcg acc ttg 240
Leu Ala Ala Lys Val Leu Ala Glu Lys Leu Ala Ala Cys Ala Thr Leu
65 70 75 80

atc ccc gcc gct acc tct ctc tat tac tgg gaa ggt aag ctg gag caa 288
Ile Pro Gly Ala Thr Ser Leu Tyr Tyr Trp Glu Gly Lys Leu Glu Gln
85 90 95

gaa tac gaa gtg cag atg att tta aaa act acc gla tct cac cag cag 336
Glu Tyr Glu Val Gln Met Ile Leu Lys Thr Thr Val Ser His Gln Gln
100 105 110

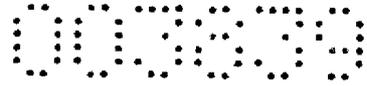
gca ctg ctg gaa tgc ctg aag tct cat cat cca tat caa acc ccg gaa 384
Ala Leu Leu Glu Cys Leu Lys Ser His His Pro Tyr Gln Thr Pro Glu
115 120 125

ctt ctg gtt tta cct gtt aca cac gga gac aca gat lac ctc tca tgg 432
Leu Leu Val Leu Pro Val Thr His Gly Asp Thr Asp Tyr Leu Ser Trp
130 135 140

ctc aac gca tcc cta cgc 450
Leu Asn Ala Ser Leu Arg
145 150

<210> 76
<211> 150
<212> PR1
<213> synthetische Herkunft

<400> 76

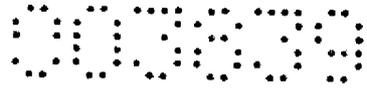


Met Asp Ile Glu Gln Glu Leu Glu Arg Ala Lys Ala Ser Ile Arg Arg
 1 5 10 15
 Leu Glu Gln Glu Val Asn Gln Glu Arg Ser Arg Met Ala Tyr Leu Gln
 20 25 30
 Thr Leu Leu Ala Lys Ser Gly Leu Asp Glu Lys Ser Ser Asn Thr Ala
 35 40 45
 Ser Val Val Val Leu Cys Thr Ala Pro Asp Glu Ala Thr Ala Gln Asp
 50 55 60
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

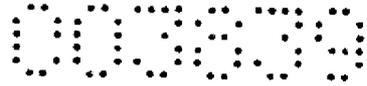
<210> 77
 <211> 435
 <212> DNA
 <213> synthetische Herkunft

<220>
 <221> CDS
 <222> (1)..(435)
 <223> CutA1-A1

<400> 77
 atg ctt gat gaa aaa agt tcg aat acc gcg tct gtc gtg gtg cta tgt 48
 Met Leu Asp Glu Lys Ser Ser Asn Thr Ala Ser Val Val Val Leu Cys
 1 5 10 15
 acg gca cca gat gaa gcg aca gcc cag gat tta gcc gcc aaa gtg ctg 96
 Thr Ala Pro Asp Glu Ala Thr Ala Gln Asp Leu Ala Ala Lys Val Leu
 20 25 30
 gcg gaa aaa ctg gcg gcc tgc gcg acc ttg atc ccc gcc gct acc tct 144
 Ala Glu Lys Leu Ala Ala Cys Ala Thr Leu Ile Pro Gly Ala Thr Ser
 35 40 45
 ctc tat tac tgg gaa ggt aag ctg gag caa gaa tac gaa gtg cag atg 192
 Leu Tyr Tyr Trp Glu Gly Lys Leu Glu Gln Glu Tyr Glu Val Gln Met
 50 55 60
 att tta aaa act acc gta tct cac cag cag gca ctg ctg gaa tgc ctg 240
 Ile Leu Lys Thr Thr Val Ser His Gln Gln Ala Leu Leu Glu Cys Leu
 65 70 75 80
 aag tct cac cat cca tat caa acc ccg gaa ctt ctg gtt tta cct gtt 288
 Lys Ser His His Pro Tyr Gln Thr Pro Glu Leu Leu Val Leu Pro Val
 85 90 95
 aca cac gga gac aca gat tac ctg tca tgg ctg aac gca tct tta cgc 336



```
Thr His Gly Asp Thr Asp Tyr Leu Ser Trp Leu Asn Ala Ser Leu Arg
      100      105      110
tcc ggc atg aaa cag ctg gaa aaa gaa ctg caa gca atc gaa aaa cag      384
Ser Gly Met Lys Gln Leu Glu Lys Glu Leu Gln Ala Ile Glu Lys Gln
      115      120      125
ctg gca caa ctg caa tgg aag gct caa gct cgc aag aaa aag ctg gca      432
Leu Ala Gln Leu Gln Trp Lys Ala Gln Ala Arg Lys Lys Lys Leu Ala
      130      135      140
cag
Gln
145
<210> 78
<211> 145
<212> PRT
<213> synthetische Herkunft
<400> 78
Met Leu Asp Glu Lys Ser Ser Asn Thr Ala Ser Val Val Val Leu Cys
1      5      10
Thr Ala Pro Asp Glu Ala Thr Ala Gln Asp Leu Ala Ala Lys Val Leu
      20      25      30
Ala Glu Lys Leu Ala Ala Cys Ala Thr Leu Ile Pro Gly Ala Thr Ser
      35      40      45
Leu Tyr Tyr Trp Glu Gly Lys Leu Glu Gln Glu Tyr Glu Val Gln Met
      50      55      60
Ile Leu Lys Thr Thr Val Ser His Gln Gln Ala Leu Leu Glu Cys Leu
      65      70      75
Lys Ser His His Pro Tyr Gln Thr Pro Glu Leu Leu Val Leu Pro Val
      85      90      95
Thr His Gly Asp Thr Asp Tyr Leu Ser Trp Leu Asn Ala Ser Leu Arg
      100      105      110
Ser Gly Met Lys Gln Leu Glu Lys Glu Leu Gln Ala Ile Glu Lys Gln
      115      120      125
Leu Ala Gln Leu Gln Trp Lys Ala Gln Ala Arg Lys Lys Lys Leu Ala
      130      135      140
Gln
145
<210> 79
<211> 477
<212> DNA
<213> synthetische Herkunft
<220>
<221> CDS
<222> (1)..(477)
<223> CutA1-A
<400> 79
atg ctt gat gaa aaa agt tcg aat acc gcg tct gtc gtg gcg cta tgt      48
Met Leu Asp Glu Lys Ser Ser Asn Thr Ala Ser Val Val Val Leu Cys
1      5      10
```



acg gca cca gat gaa gcg aca gcc cag gat tta gcc gcc aaa gtg ctg 96
Thr Ala Pro Asp Glu Ala Thr Ala Gln Asp Leu Ala Ala Lys Val Leu
20 25 30

gcg gaa aaa ctg gcg gcc lgc gcg acc ttg atc ccc ggc gcl acc tct 144
Ala Glu Lys Leu Ala Ala Cys Ala Thr Leu Ile Pro Gly Ala Thr Ser
35 40 45

ctc tat tac tgg gaa ggt aag ctg gag caa gaa tac gaa gtg cag atg 192
Leu Tyr Tyr Trp Glu Gly Lys Leu Glu Gln Glu Tyr Glu Val Gln Met
50 55 60

att tta aaa act acc gta lct cac cag cag gca ctg ctg gaa tgc ctg 240
Ile Leu Lys Thr Thr Val Ser His Gln Gln Ala Leu Leu Glu Cys Leu
65 70 75 80

aag tct cat cat cca tal caa acc ccg gaa ctt ctg gtt tta cct gtc 288
Lys Ser His His Pro Tyr Gln Thr Pro Glu Leu Leu Val Leu Pro Val
85 90 95

aca cac gga gac aca gat lac ctc tca tgg ctc aac gca tct tta cgc 336
Thr His Gly Asp Thr Asp Tyr Leu Ser Trp Leu Asn Ala Ser Leu Arg
100 105 110

tcc ggc atg aaa cag ctg gaa aaa gag ctg aaa cag tta gaa aaa gaa 384
Ser Gly Met Lys Gln Leu Glu Lys Glu Leu Lys Gln Leu Glu Lys Glu
115 120 125

ctg caa gca att gaa aaa cag ctg gca cag ctg caa tgg aaa gca cag 432
Leu Gln Ala Ile Glu Lys Gln Leu Ala Gln Leu Gln Trp Lys Ala Gln
130 135 140

gca cgt aaa aaa aaa ctg gcc cag ctg aaa aaa aaa ctt cag gcc 477
Ala Arg Lys Lys Lys Leu Ala Gln Leu Lys Lys Lys Leu Gln Ala
145 150 155

<210> 80
<211> 159
<212> PRT
<213> synthetische Herkunft

<400> 80

Met Leu Asp Glu Lys Ser Ser Asn Thr Ala Ser Val Val Val Leu Cys
1 5 10 15

Thr Ala Pro Asp Glu Ala Thr Ala Gln Asp Leu Ala Ala Lys Val Leu
20 25 30

Ala Glu Lys Leu Ala Ala Cys Ala Thr Leu Ile Pro Gly Ala Thr Ser
35 40 45

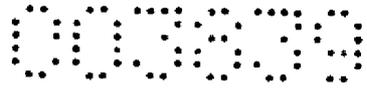
Leu Tyr Tyr Trp Glu Gly Lys Leu Glu Gln Glu Tyr Glu Val Gln Met
50 55 60

Ile Leu Lys Thr Thr Val Ser His Gln Gln Ala Leu Leu Glu Cys Leu
65 70 75 80

Lys Ser His His Pro Tyr Gln Thr Pro Glu Leu Leu Val Leu Pro Val
85 90 95

Thr His Gly Asp Thr Asp Tyr Leu Ser Trp Leu Asn Ala Ser Leu Arg
100 105 110

Ser Gly Met Lys Gln Leu Glu Lys Glu Leu Lys Gln Leu Glu Lys Glu
115 120 125



Leu Gln Ala Ile Glu Lys Gln Leu Ala Gln Leu Gln Trp Lys Ala Gln
130 135 140

Ala Arg Lys Lys Lys Leu Ala Gln Leu Lys Lys Lys Leu Gln Ala
145 150 155

<210> 81
<211> 450
<212> DNA
<213> synthetische Herkunft

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(450)
<223> CutA1-B

<400> 81
atg ctt gat gaa aaa agt tcc aat acc gcg tct gtc gtg gtg cta tgt 48
Met Leu Asp Glu Lys Ser Ser Asn Thr Ala Ser Val Val Val Leu Cys
1 5 10 15

acg gca cca gat gaa gcg aca gcc cag gat tta gcc gcc aaa gtg ctg 96
Thr Ala Pro Asp Glu Ala Thr Ala Gln Asp Leu Ala Ala Lys Val Leu
20 25 30

gcg gaa aaa ctg gcg gcc tgc gcg acc ttg atc ccc gcc gct acc tct 144
Ala Glu Lys Leu Ala Ala Cys Ala Thr Leu Ile Pro Gly Ala Thr Ser
35 40 45

ctc tat tac tgg gaa ggt aag ctg gag caa gaa tac gaa gtg cag atg 192
Leu Tyr Tyr Trp Glu Gly Lys Leu Glu Gln Glu Tyr Glu Val Gln Met
50 55 60

att tta aaa act acc gta tct cac cag cag gca ctg ctg gaa tgc ctg 240
Ile Leu Lys Thr Thr Val Ser His Gln Gln Ala Leu Leu Glu Cys Leu
65 70 75 80

aag tct cat cat cca tat caa acc ccg gaa ctt ctg gtt tta cct gtt 288
Lys Ser His His Pro Tyr Gln Thr Pro Glu Leu Leu Val Leu Pro Val
85 90 95

aca cac gga gac aca gat tac ctc tca tgg ctc aac gca tct tta cgc 336
Thr His Gly Asp Thr Asp Tyr Leu Ser Trp Leu Asn Ala Ser Leu Arg
100 105 110

tcc gcc gat atc gaa cag gaa ctg gaa cgc gca aaa gca agc att cgt 384
Ser Gly Asp Ile Glu Gln Glu Leu Glu Arg Ala Lys Ala Ser Ile Arg
115 120 125

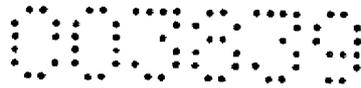
cgt ctg gaa cag gaa gtt aat caa gaa cgt agc cgt atg gca tat ctg 432
Arg Leu Glu Gln Glu Val Asn Gln Glu Arg Ser Arg Met Ala Tyr Leu
130 135 140

caa acc ctg ctg gca aaa 450
Gln Thr Leu Leu Ala Lys
145 150

<210> 82
<211> 150
<212> PRT
<213> synthetische Herkunft

<400> 82

Met Leu Asp Glu Lys Ser Ser Asn Thr Ala Ser Val Val Val Leu Cys
1 5 10 15



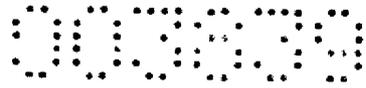
Thr Ala Pro Asp Glu Ala Thr Ala Gln Asp Leu Ala Ala Lys Val Leu
20 25 30
Ala Glu Lys Leu Ala Ala Cys Ala Thr Leu Ile Pro Gly Ala Thr Ser
35 40 45
Leu Tyr Tyr Trp Glu Gly Lys Leu Glu Gln Glu Tyr Glu Val Gln Met
50 55 60
Ile Leu Lys Thr Thr Val Ser His Gln Gln Ala Leu Leu Glu Cys Leu
65 70 75 80
Lys Ser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

<210> 83
<211> 336
<212> DNA
<213> synthetische Herkunft

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(336)
<223> CutA1

<400> 83
atg ctt gat gaa aaa agt tgg aat acc gcg tct gtc gtg gtg cta tgt 48
Met Leu Asp Glu Lys Ser Ser Asn Thr Ala Ser Val Val Val Leu Cys
1 5 10 15
acg gca cca gat gaa gcg aca gcc cag gat tta gcc gcc aaa gtg ctg 96
Thr Ala Pro Asp Glu Ala Thr Ala Gln Asp Leu Ala Ala Lys Val Leu
20 25 30
gcg gaa aaa ctg gcg gcc tgc gcg acc ttg atc ccc gcc gcc acc tct 144
Ala Glu Lys Leu Ala Ala Cys Ala Thr Leu Ile Pro Gly Ala Thr Ser
35 40 45
ctc tac tac tgg gaa ggt aag ctg gag caa gaa tac gaa gtg cag atg 192
Leu Tyr Tyr Trp Glu Gly Lys Leu Glu Gln Glu Tyr Glu Val Gln Met
50 55 60
att cta aaa act acc gta tct cac cag cag gca ctg ctg gaa tgc ctg 240
Ile Leu Lys Thr Thr Val Ser His Gln Gln Ala Leu Leu Glu Cys Leu
65 70 75 80
aag tct cat cat cca tat caa acc ccg gaa ctt ctg gtt cta cct gtt 288
Lys Ser His His Pro Tyr Gln Thr Pro Glu Leu Leu Val Leu Pro Val
85 90 95
aca cac gga gac aca gat tac ctc tca tgg ctc aac gca tct tta cgc 336
Thr His Gly Asp Thr Asp Tyr Leu Ser Trp Leu Asn Ala Ser Leu Arg
100 105 110

<210> 84

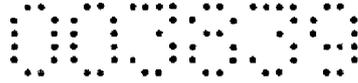


61

<211> 112
<212> PRT
<213> synthetische Herkunft

<400> 84

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

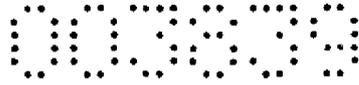


Patentanwälte
Dipl.-Ing. Helmut Hübscher
Dipl.-Ing. Karl Winfried Hellmich
Spittelwiese 7, A 4020 Linz

(38588) HEL

Patentansprüche:

1. Polypeptidmaterial mit flexiblen Poreneigenschaften, das durch das zwei- oder dreidimensionale Zusammenfügen von Fusionsproteinen aus mindestens zwei Proteindomänen entsteht, wobei mindestens eine Domäne eine Doppelwendel bildet und mindestens eine die Protein-Oligomerisationsdomäne mit mindestens der Oligomerisationsstufe 3.
2. Das Polypeptidmaterial gemäß Anspruch 1 mit der Eigenschaft, dass die Oligomerisationsstufe der Oligomerisationsdomäne zwischen 3 und 12 liegt, meistens zwischen 3 und 6.
3. Das Polypeptidmaterial gemäß einem der Ansprüche 1 bis 2, bei dem die Porenform und -Größe durch die Verbindungsart der Proteindomänen des Fusionsproteins gemäß der Erfindung und die Porengröße durch die Länge des Doppelwendelbildenden Segments bestimmt sind.
4. Das Polypeptidmaterial gemäß einem der Ansprüche 1 bis 3, bei dem die Länge des Doppelwendelbildenden Segments zwischen 2 und mehr als 100 Heptaden (14 bis 700 Aminosäure-Reste) umfasst.
5. Polypeptidmaterial gemäß einem der Ansprüche 1 bis 4, dessen technologische Eigenschaften unter anderem durch die Einfuhr positiv geladener, negativ geladener, hydrophober, hydrophiler, zysteinischer, histidinischer und sonstiger Aminosäure-Reste, die spezifische Interaktionen mit den an der Oberfläche ausgesetzten Segmenten ermöglichen, definiert sind, während die Fähigkeit zur Bildung der Doppelwendel erhalten wird und die Aminosäure-Reste, die die technologischen Poreneigen-



schaften bestimmen, werden meistens an die Positionen b, c und f des Doppelwendelbildenden Segments eingeführt.

6. Polypeptidmaterial gemäß einem der Ansprüche 1 bis 5, bei dem die chemischen Poreneigenschaften auch durch die Eigenschaften der Proteindomänen des genannten Fusionsproteins bestimmt sind, wie unter anderem auch die Nettoladung, an der Oberfläche ausgesetzten hydrophoben Aminosäure-Reste und die Größe der Proteindomänen.

7. Das aus dem Polypeptidmaterial gemäß einem der Ansprüche 1 bis 6 bestehende Fusionsprotein, das aus mindestens zwei Proteindomänen besteht, wobei mindestens eine Domäne eine Doppelwendel bildet und mindestens eine die Protein-Oligomerisationsdomäne ist und die Domänen untereinander durch den flexiblen Linker aus 1 bis 20 Aminosäure-Resten verbunden werden, vorzugsweise 1 bis 6, das Fusionsprotein kann jedoch auch eine Signalsequenz zur Lenkung des Proteinaus-schusses und der Polypeptid-Kennzeichnung enthalten.

8. Polypeptidmaterial gemäß einem der Ansprüche 1 bis 7, bei dem das Doppelwendelbildende Segment auf der Sequenz SEQ ID Nr. 2, SEQ ID Nr. 4 oder SEQ ID Nr. 6 oder den geplanten Peptiden mit funktional ähnlichen Eigenschaften basiert.

9. Polypeptidmaterial gemäß einem der Ansprüche 1 bis 8, bei dem die Protein-Oligomerisationsdomäne vorzugsweise unter den Sequenzen SEQ ID Nr. 8, SEQ ID Nr. 10, SEQ ID Nr. 12, SEQ ID Nr. 14, SEQ ID Nr. 84 und den Sequenzen mit einer mehr als 50%-Homologie mit diesen Sequenzen, die die Fähigkeit zur Bildung von Oligomeren des gleichen Typs erhalten, gewählt wird.

10. Polypeptidmaterial gemäß einem der Ansprüche 1 bis 9, das durch die Zusammenfügung der Fusionsproteine zubereitet wurde, die unter den Sequenzen SEQ ID Nr. 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60, 62, 64, 66, 68, 70, 72, 74, 76, 78, 80, 82 gewählt wurden.



11. Polypeptidmaterial gemäß einem der Ansprüche 1 bis 10, zubereitet durch die Vermischung von zwei Fusionsproteinen gemäß einem der Patentansprüche 1 bis 10, wobei das Segment aus dem ersten Fusionsprotein zusammen mit dem Segment aus dem zweiten Fusionsprotein die parallele Doppelwendel bildet. Die Oligomerisationsdomäne des einen Fusionsproteins befindet sich am N-Terminus und im anderen am C-Terminus, die Oligomerisationsdomänen der beiden Proteine haben jedoch die gleiche Oligomerisationsstufe.

12. Das Polypeptidmaterial gemäß Anspruch 11 mit der Eigenschaft, dass die Doppelwendel-bildenden Segmente unter natürlichen oder den geplanten Parallel-Doppelwendeln oder unter den folgenden Paaren ausgewählt werden SEQ ID Nr.: 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32.

13. Polypeptidmaterial gemäß einem der Ansprüche 11 bis 12 mit der Eigenschaft, dass die Protein-Oligomerisationsdomänen unter den Tetramer-Proteinen gewählt werden, vorzugsweise unter den Sequenzen SEQ ID Nr: 10 und SEQ ID Nr.: 12 oder unter den trimeren Proteinen, vorzugsweise unter SEQ ID Nr: 8 und SEQ ID Nr. 84.

14. Fusionsprotein mit der DNA-Information gemäß einem der Ansprüche 1 bis 13, bei dem die DNA operativ mit Regulierungselementen, dem Promotor und dem Terminator, die die Äußerung der Fusionsproteine in der Zelle des Wirten regulieren, verbunden ist.

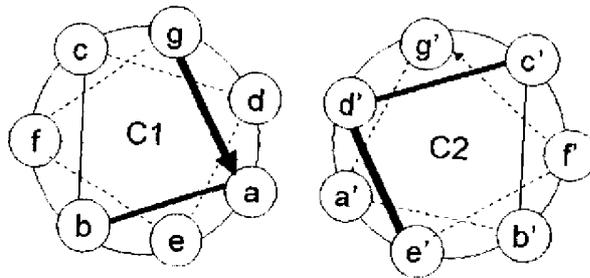
15. Die Verwendung des Polypeptidmaterials gemäß einem der Ansprüche 1 bis 13 zur Trennung und Konzentration von Molekülen, Molekül-Komplexen, Viren oder Nanoteilchen gemäß ihrer Eigenschaften.

16. Die Verwendung von Polypeptidmaterial gemäß einem der Ansprüche 1 bis 13 für die chemische Katalyse.

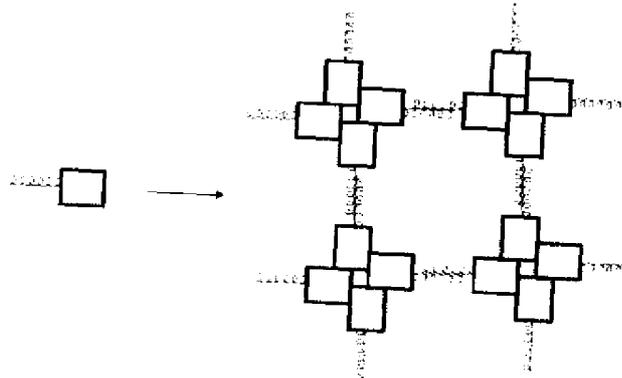
Linz, am 12. April 2012

Kemijski institut durch:

A



B



C

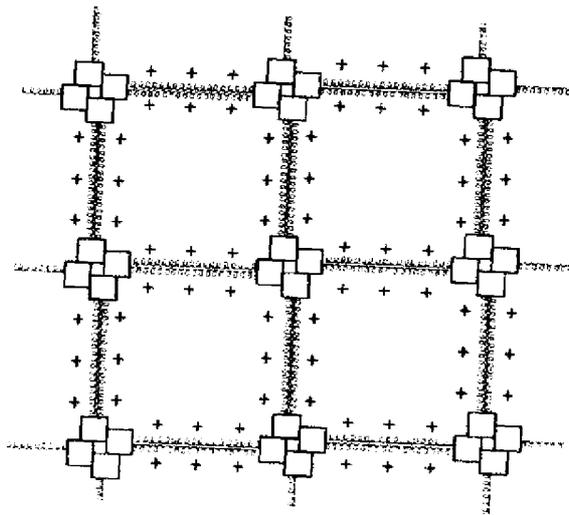
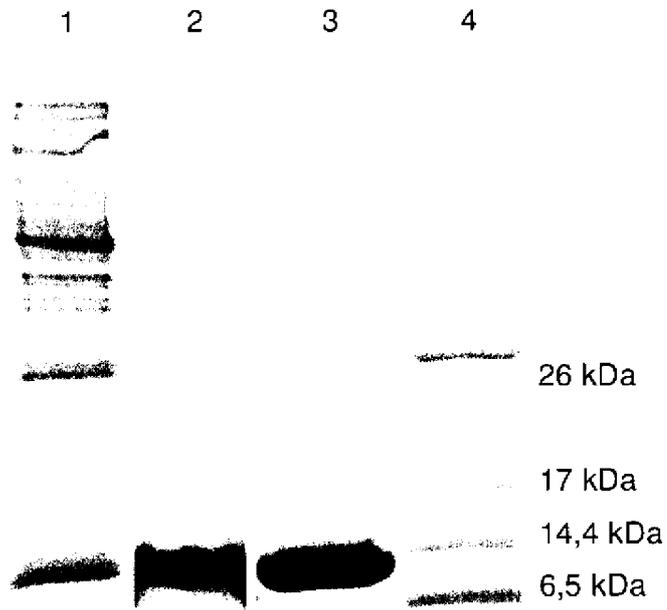


Bild 1

003839

A



B

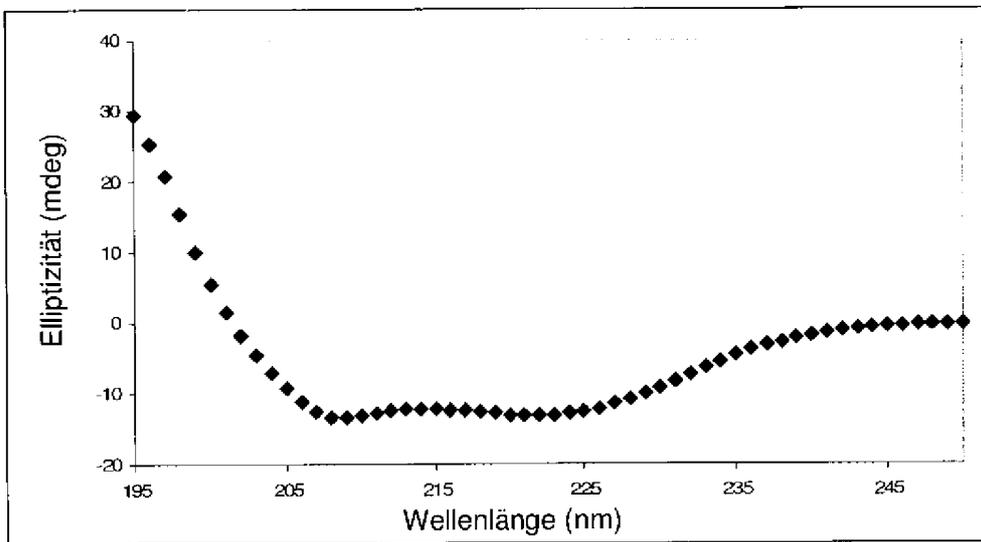
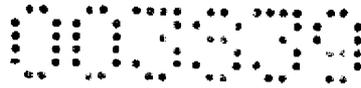
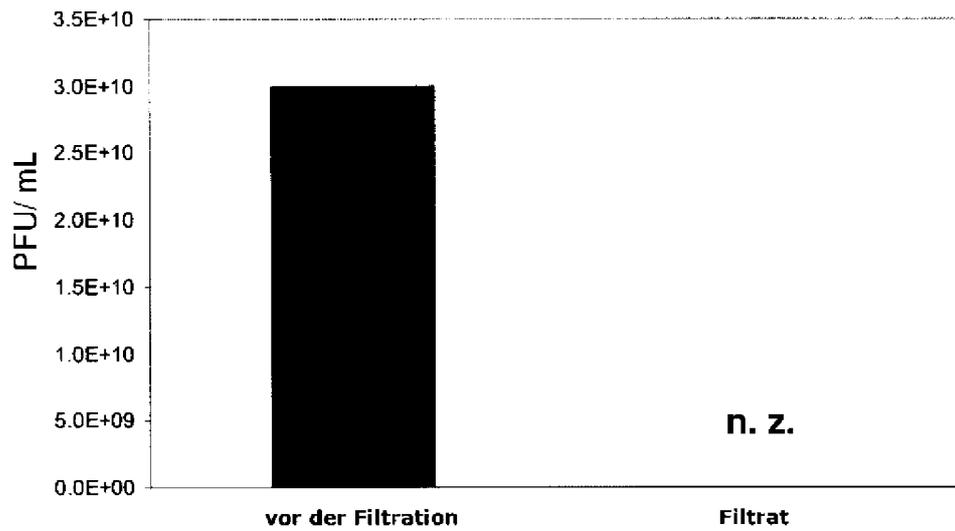


Bild 2



A

Filtration der Bakteriophage M13 durch das Polypeptidmaterial aus Dimteter-A1



B

Filtration von Dextranblau durch das Polypeptidmaterial aus Dimteter-A1

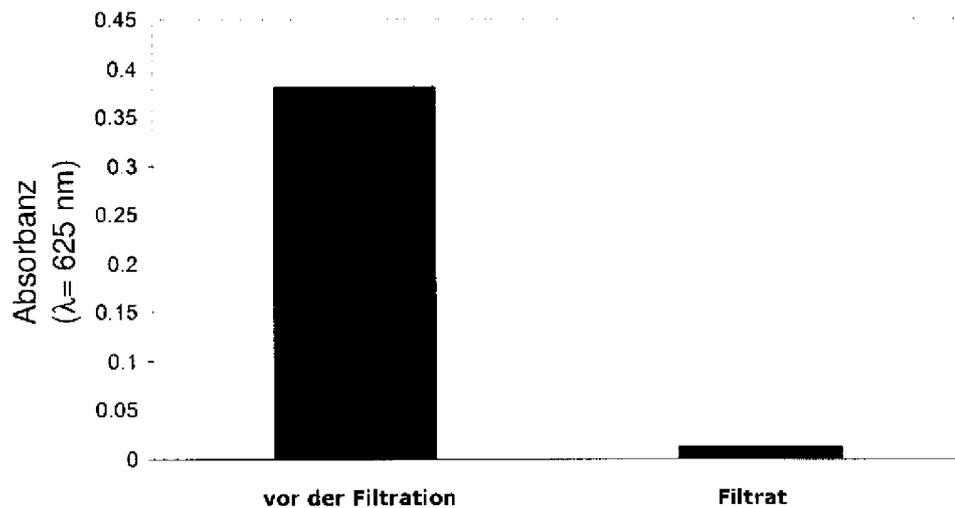


Bild 3