

Даний винахід стосується удосконаленого способу одержання рекомбінантних клонуючих факторів крові людини, зокрема фактора VIII і фактора IX, які використовують іморталізовану клітинну лінію людини, що стабільно експресує вірусні білки активатора транскрипції і несе вектор, який має промотор, функціонально зв'язаний з послідовністю ДНК, кодуючою коагулявальний фактор крові за умови, що зазначений промотор не є вірусним промотором, який стимулюється зазначеними вірусними білками активатора транскрипції; іморталізованої клітинної лінії людини, що несе зазначений вектор; змінених білків фактора VIII, які особливо придатні для вищезазначеного способу одержання; фармацевтичних композицій, що містять такі змінені білки фактора VIII, і використання таких змінених білків фактора VIII для виготовлення лікарського препарату для лікування гемофілії.

Хворі на гемофілію страждають від кровотеч, викликаних порушеною функцією білкових компонентів каскаду коагулювання крові. В залежності від ураженого коагуляльного фактора можна розрізняти два типи гемофілії. Спільним для обох типів є загальмована конверсія розчинного бриногена в нерозчинний фібрин-згусток. Вони являють собою рецесивні генетичні захворювання, до яких схильна в основному чоловіча частина населення.

На гемофілію А хворіють 1-2 індивідууми на 10000 чоловіків. Вона викликана недостатністю або відсутністю фактора VIII, дуже великого глікопротеїну (відносна молекулярна маса приблизно 330kDa (кілодальтон) [Furie B., Furie B.C., Cell (1988) 53, 505-518]), який являє собою важливий елемент каскаду коагулювання крові. Поліпептидна послідовність може бути поділена на три ділянки, N-кінцеву ділянку, що складається з так званих A1 і A2-доменів, центральної ділянки B-домену і C-кінцевої ділянки, складеної з A3, C1 і C2 доменів. У коагулюванні крові фактор VIII є неактивним попередником. Він міцно і нековалентно зв'язаний з фактором фон Віллібранда (vWF), який діє як стабілізуючий білок-носіє. Протеолітичне розщеплення фактора VIII тромбіном у трьох певних положеннях (740, 372, 1689) призводить до його дисоціації з vWF і вивільняє функцію прокоагулянта усередині каскаду. У своїй активній формі фактор VIII діє як кофактор для фактора IXa, у результаті чого на декілька порядків збільшується величина прискорення протеолітичної активності фактора X.

Захворюваність на гемофілію B трапляється у одного з 25000 чоловіків. Вона характеризується дефіцитом фактора IX протеази серину (фактор Кристмаса). Цей поліпептид, утворений 415 амінокислотами, синтезується в печінці як глікопротеїн з відносною молекулярною масою 56kDa. Для того, щоб добитися властивості йому функції, потрібна стадія посттрансляційного карбоксилювання, яка відбувається тільки за присутності вітаміну K.

Лікування обох типів порушення кровотечі традиційно включає інфузії концентратів білків фактора VIII або фактора IX, виділених із плазми людини. Хоча цей спосіб є ефективним терапевтичним методом лікування хворих на гемофілію, йому властивий ризик трансмісії різних інфекційних агентів, таких як віруси, що викликають гепатит чи СНІД, або тромбоемболічних факторів. Як альтернатива були описані декілька методів рекомбінантних ДНК для одержання коагулявальних факторів. З цією метою були виділені відповідні кДНК фактора VIII і фактора IX дикого типу та клоновані у придатні експресуючі вектори [EP-A-160457; WO-A-86/01961, патенти США 4,770,999, 5,521,070 і 5,521,070].

У випадку фактора VIII у даній галузі відома експресія рекомбінантних субодиниць для продукування комплексів, що показують згортальну активність [наприклад, EP-A-150735, EP-A-0500734, WO-91/07490, WO-95/13300, патенти США 5,045,455 і 5,789,203]. Більш того, була описана експресія укорочених кДНК-версій, у яких частково або повністю відсутнє кодування послідовностей для глікозилювання у великій мірі B-домену [наприклад, WO-86/06101, WO-87/04187, WO-87/07144, WO-88/00381, EP-A-251843, EP-A-253455, EP-A-254076, патенти США 4,868,112 і 4,980,456, EP-A-294910, EP-A-265778, EP-A-303540 і WO-91/09122]. Недавно був введений ряд відібраних крапчастих мутацій для гальмування протеолітичної інактивації фактора VIII активованим білком C або для зменшення імуногенності, яка призводить до утворення інгібіторних антитіл у пацієнтів, що проходять курс лікування [наприклад, патенти США 5,859,204, 5,422,260 і 5,451,521, WO-97/49725 і WO-99/29848].

Рекомбінантні коагулявальні фактори звичайно виділяють із середовища стабільно трансфекційованих еукаріотичних клітинних ліній і переважно клітинних ліній молочної залози. Однак звичайною практикою у способах одержання зазначених факторів, розкритих у посиланнях, що наводяться вище, було застосування клітинних ліній нелюдського походження для того, щоб виключити ризик співочищення деяких інфекційних агентів, які можуть знаходитися в клітинах людини та експресуватися ними.

Однак, особливо для фактора VIII, використання клітинних ліній нелюдського походження мало певні недоліки. Наприклад, повідомлялося про незадовільні рівні секреції експресованого білка в середовище. Це може бути внаслідок незначних відмінностей у межах різних типів клітин молочної залози, що стосуються внутрішньоклітинних шляхів для трансляції та модифікації білків, що також, можливо, чинить вплив на біологічну активність експресованого поліпептиду. Крім цього, висловлювалася стурбованість, що використовувані для лікування білки, очищені від експресуючих систем нелюдського походження, забруднені клітинними компонентами, які можуть викликати антигенні реакції у пацієнтів.

Більш того, білки, експресовані експресуючими системами нелюдського походження, можуть мати картини глікозилювання нелюдського походження, викликаючи антигенні реакції у пацієнтів. Однак на біологічну стабільність і ефективність коагулявальних факторів у значній мірі впливає їхній зразок N-глікозилювання. Особливо важливі периферійні та кінцеві моносахариди, тому що вони захищені певними рецепторами з клітин, які відповідають за їх деградацію. Коагулявальні фактори поведуться як кінцеві залишки моносахаридів сілової кислоти. Модифікація у складі сілових кислот в антені глікопротеїнів, наприклад, коагулявальних факторів, може призвести до гетерогенних зразків глікозилювання. Таким чином, коли має місце модифікація, спостерігається біологічна стабільність та ефективність. Отже, при одержанні рекомбінантних коагулявальних факторів важливо оцінювати вплив глікозилювання з клітинних ліній нелюдського походження у порівнянні з клітинними лініями людини. Одним словом, здається імовірним, що клітинні лінії людини більше відповідають потребам одержання рекомбінантних коагулявальних факторів, ніж

клітинні лінії нелюдського походження. Причина цього припущення, можливо, полягає у тому, що сторонній олігосахарид не впроваджується в олігосахаридну частину під час синтезу рекомбінантних факторів.

З іншого боку, були опубліковані основні способи високорівневої експресії білків необхідного гена, який містить іморталізовані стабільно трансфекційовані клітинні лінії молочної залози, що експресують вірусні білки активатора транскрипції [наприклад, патент США 5,712,119]. Далі ці клітинні лінії трансформуються векторною конструкцією, у якій придатний вірусний промотор транскрипції оперативно зв'язаний з послідовністю ДНК, що визначає ген, який становить інтерес, білки активатора транскрипції активують вірусний промотор транскрипції і, отже, ініціюють експресію гена, який становить інтерес. І знову викликає стурбованість той факт, що білки активатора транскрипції, експресовані цими клітинними лініями, можуть викликати забруднення у білку, призначеному для терапевтичних цілей.

Виходячи з вищевикладеного, як і раніше існувала необхідність у створенні ефективного способу для одержання коагулювальних факторів крові людини.

Несподіваним чином було виявлено, що незабруднений коагулювальний фактор крові може бути отриманий за допомогою вищезгаданих іморталізованих клітинних ліній людини. Зокрема, іморталізовані клітинні лінії - якщо вони несуть вектор, який має промотор, функціонально зв'язаний з послідовністю ДНК, що кодує коагулювальний фактор крові, і незважаючи на той факт, що промотор не є вірусним промотором, який стимулюється зазначеними вірусними білками активатора транскрипції, - здатні експресувати коагулювальний фактор крові. Разом з придатними методиками очищення білків та інактивації вірусу цей спосіб являє собою ефективну систему щодо одержання безпечних і високоактивних рекомбінантних коагулювальних факторів крові для терапевтичного застосування при лікуванні людей. Більш того, були виявлені певні змінені білки фактора VIII, які винятково стабільні до протеолітичної інактивації і, таким чином, можуть бути піддані способам інактивації сильного вірусу.

Відповідно до даного винаходу пропонується:

(1) спосіб одержання рекомбінантного коагулювального фактора крові людини, який включає

(а) культивування іморталізованої клітинної лінії людини, яка стабільно експресує щонайменше один вірусний білок активатора транскрипції і несе вектор, що має промотор, функціонально зв'язаний з послідовністю ДНК, кодуючою коагулювальний фактор крові людини за умови, що зазначений промотор не є вірусним промотором, який стимулюється зазначеним щонайменше одним вірусним білком активатора транскрипції, і

(b) виділення коагулювального фактора крові з культуральної рідини;

(2) більш прийнятний варіант способу, визначений у вищезазначеному пункті (1), у якому коагулювальний фактор крові людини є фактором VIII або його зміненим білком;

(3) більш прийнятний варіант способу, визначеного у вищенаведеному пункті (2), у якому фактор VIII являє собою змінений білок, що має щонайменше одну з наступних мутацій:

(a) Val у положенні 162 замінений іншим нейтральним амінокислотним залишком,

(b) Ser у положенні 2011 замінений іншим гідрофільним амінокислотним залишком,

(c) Val у положенні 2223 замінений кислотним амінокислотним залишком і

(d) В-домен між положеннями Arg740 і Glu1649 замінений Arg-збагаченим лінкерним пептидом, що містить від 10 до 25, переважно від 14 до 20, амінокислотних залишків, у якому зазначений фактор VIII розташований стосовно до зрілої послідовності фактора VIII дикого типу, показаної в SEQ ID NO:2;

(4) більш прийнятний варіант способу, визначеного у вищенаведеному пункті (1), де коагулювальний фактор крові людини є фактором IX або його зміненим білком;

(5) іморталізована клітинна лінія людини, що несе вектор, кодуєчий коагулювальний фактор крові людини, як він визначений у вищенаведених пунктах (1)-(4);

(6) змінений білок фактора VIII, як він визначений у вищенаведеному пункті (3);

(7) послідовність ДНК, що кодує змінений білок фактора VIII, як він визначений у вищенаведеному пункті (6);

(8) вектор, що містить ДНК, як вона визначена у вищенаведеному пункті (7);

(9) вектор, як він визначений у вищенаведеному пункті (8), який є транспортним вектором;

(10) клітина-хазяїн, що трансформується вектором, визначеним у вищенаведеному пункті (8), і/або містить послідовність ДНК, визначену у вищенаведеному пункті (7);

(11) фармацевтична композиція, що містить змінений білок фактора VIII, визначеного у вищенаведеному пункті (6), або транспортний вектор, визначений у вищенаведеному пункті (9);

(12) застосування зміненого білка фактора VIII, визначеного у вищенаведеному пункті (6), або транспортного вектора, визначеного у вищенаведеному пункті (9), для одержання медичного препарату для лікування гемофілії; і

(13) спосіб лікування гемофілії, який включає введення людям, хворим на гемофілію, зміненого білка фактора VIII, визначеного у вищенаведеному пункті (6), або транспортного вектора, визначеного у вищенаведеному пункті (9).

Далі суть винаходу пояснюється більш докладно з посиланнями на креслення, на яких:

Фіг.1 представляє фрагменти, використовувані для конструкції фактора VIII з делетованим В-доменом (приклад 1).

Фіг.2 - вектор pTGF8-I, кільцева ДНК з 8720 комплементарними парами (кп), точна послідовність ДНК вектора наведена в SEQ ID NO:3 (для білка фактора VIII, кодованого зазначеною послідовністю ДНК, див. SEQ ID NO:4).

Фіг.3 - вектор pTGFG36, кільцева ДНК з 5753кп, точна послідовність ДНК вектора наведена в SEQ ID NO:6 (основи 689-2071 в SEQ ID NO:6, що кодує білок фактора IX).

Фіг.4 - вектор pTG36hug, кільцева ДНК з 8124кп.

Фіг.5A - більш прийнятна послідовність лінкеру згідно з даним винаходом (SEQ ID NO:9).

Фіг.5B - час коагуляції рекомбінантного фактора VIII людини, визначеного у прикладі 6.

Фіг.6 - звичайну молекулярну структуру рТGF8-2hyg-s і рТGF8-3, кільцеву ДНК з 10698кп, точну послідовності ДНК зазначених векторів наведено в SEQ ID NO:12 і 14 (для білка фактора VIII, закодованого зазначеною послідовністю ДНК, див. SEQ ID NO:13 і 15).

Фіг.7A - калібровану криву фактора VIII, визначену за допомогою тесту ELISA, описаного у прикладі 5.

Фіг.7B - результати визначення концентрацій рекомбінантного фактора VIII у різних культуральних фільтратах, описаних у прикладі 5.

Фіг.8 - результати специфічного імуофлуоресцентного аналізу фактора VIII, описаного у прикладі 9. Верхній ряд: клітини 293T, стабільно трансфектовані рТGF8, клон 49/19. Нижній ряд: негативний контроль: нетрансфектовані клітини 293T. А і С: біле світло, без фільтра; В і D: аналіз фактора VIII за допомогою флуоресценції, фільтр 550нм.

Фіг.9 - вплив теплової обробки на активність фактора IX у культурі фільтрату, описаній у прикладі 10.

Фіг.10 - залежність експресії рекомбінантного фактора IX на додавання вітаміну К в культуральне середовище.

Термін «функціонально зв'язаний» стосується конфігурацій вектора, де промотор розташований усередині вектора таким чином, що він може стимулювати транскрипцію послідовності ДНК, що кодує коагуляльний фактор крові людини. Термін «нефункціонально зв'язаний» стосується конфігурації, де промотор розташований так далеко від послідовності експресованого гена коагуляльного фактора крові, що він не може стимулювати її транскрипцію.

Термін «ген» стосується послідовності ДНК, що кодує поліпептид, який необов'язково включає лідерну і кінцеву послідовності та інтрони і екзони.

Термін «вектор» стосується будь-якої генетичної конструкції, такої як плазміда, фаг, косміда і т.д., яка здатна до реплікації, коли вона зв'язана з відповідними елементами керування. Цей термін включає системи клонування та експресії. Термін «нести вектор» стосується як стабільного, так і транзйєнтного включення функціональних сегментів ДНК в клітину-хазяїна. Однак стабільне включення є більш прийнятним.

Термін «транспортний вектор», відповідно до даного винаходу, стосується вектора, що підходить для генної терапії. Такий вектор містить функціональні послідовності для необхідної мети, як це відомо у даній галузі.

Термін «зрілий» стосується молекулярної структури даного білка безпосередньо після його клітинної секреції (наприклад, відсутність його N-кінцевого сигнального поліпептиду).

Термін «промотор» стосується галузі регуляторних послідовностей ДНК для контролю транскрипції гена, до якого прив'язані полімерази РНК.

Термін «терапевтична ефективна доза» фармацевтичної композиції, згідно з винаходом, стосується дози, ефективною для лікування або профілактики, наприклад, доза, що забезпечує ефективне лікування чи зменшення симптомів гемофілії. Визначення терапевтично ефективною дози знаходиться в компетенції фахівців у даній галузі.

Термін «кодує» або «кодуючий» стосується властивості послідовності нуклеїнових кислот транскрибуватися (у випадку ДНК) або транслюватися (у випадку мРНК) в поліпептид *in vitro* або *in vivo*, коли вона перебуває під контролем відповідної регуляторної послідовності.

У контексті поданої заявки терміни «експресувати», «експресуючий» або «експресія» стосуються транскрипції або трансляції гена, що кодує білок.

Даний винахід, як він характеризується у вищевказаних пунктах (1) - (13), більш детально описаний нижче. Згідно з варіантом (1) виконання винаходу, описаного у даній заявці, промотор, функціонально зв'язаний з послідовністю ДНК, що кодує коагуляльний фактор крові людини, не є вірусним промотором, який стимулюється щонайменше одним вірусним білком активатора транскрипції, експресованим імуорталізованою клітинною лінією людини.

Імуорталізована клітинна лінія людини переважно є імуорталізованою клітиною нирки, сечового міхура, печінки, легень, серцевого м'яза, гладкого м'яза, яєчника або клітиною шлунково-кишкового тракту. Більш прийнятно, щоб імуорталізована клітинна лінія людини була клітиною нирок людського ембріона, і найбільш прийнятно, щоб це була клітинна лінія 293T (ECACC: tsa201, ref. 96121229; DSM ACC2494).

Щонайменше один білок активатора транскрипції, експресований імуорталізованою клітинною лінією, включає антиген Т вірусу Симіана, білки E1A або E1B аденовірусу, білок, кодований ранньою ділянкою послідовності ДНК вірусу папіломи теляти, і білки IE вірусу герпесу. Переважно імуорталізована клітина експресує щонайменше два вірусні білки активатора транскрипції, наприклад, термочутливий антиген Т вірусу 40 мавпи (SV40) і білок E1A аденовірусу (такий, як вищезгадана клітинна лінія 293 T).

Промотор, функціонально зв'язаний з послідовністю ДНК, що кодує коагуляльний фактор крові людини, переважно включає:

(i) вірусні промотори, що не стимулюються білком активатора, експресованим імуорталізованою клітиною, як це визначено вище (такою як SV40 і CMV (вірус мозаїки кольорової капусти));

(ii) промотори генів домашнього господарства (альбумін); і

(iii) тканинні специфічні промотори (такі як  $\alpha$ -антитрипсин для печінки). Найбільш прийнятним промотором, згідно з винаходом, є CMV промотор (тоді як білок активатора транскрипції, експресований імуорталізованою клітиною, не стимулює зазначений промотор).

Згідно з винаходом, вектор може нести додаткові вірусні промотори, які стимулюються зазначеними вірусними білками активатора транскрипції, але які функціонально не зв'язані з коагуляльним фактором крові. Такі вірусні промотори обирають з промоторів, одержаних з аденовірусів, вірусу саркоми Рауса і цитомегаловірусу. Вектор може містити ще одну або більше функціональних послідовностей: маркери селекції, регуляторні послідовності (наприклад, PRE) і т.д.

Коагуляльний фактор крові людини, відповідно до варіанта (1) виконання винаходу, включає, але не обмежується цим, фактор IX, фактор VIII, фактор VII, фактор V, фактор фон Віллібранда (vWF) тощо.

У більш прийнятному варіанті (2) виконання винаходу вектор містить послідовність ДНК, що кодує фактор

VIII або його змінений білок. У той час як рекомбінантний фактор IX загалом структурно ідентичний білку дикого типу, виділеному із плазми крові, для рекомбінантної експресії були сконструйовані декілька модифікованих конструкцій експресії фактора VIII.

Враховуючи структуру домену функціонального поліпептиду фактора VIII, важливі сайти взаємодії з vWF розташовані в A3-доміні (амінокислоти з 1680 по 1689) і в C2-доміні (Kaufman & Pipe, Haemophilia (1998) 4, 370-379). Для виділення фактора VIII з vWF і для того, щоб дозволити фактору VIII взаємодіяти із зарядженими фосфоліпідами, було запропоновано розщеплення після позиції 1689. Було показано, що конструкції рекомбінантного фактора VIII, у яких відсутній vWF-сайт зв'язування, у значній мірі схильні до протеолітичного розщеплення при введенні в організм мишей, у яких спостерігається нестача фактора VIII. Рекомбінантна експресія укорочених конструкцій фактора VIII у культурах клітини молочної залози показала, що повна делеція В-доміну не змінила біологічну активність відповідного білка, подібного до фактора VIII (Eaton et al., Biochemistry (1986) 25, 8343-8347). Крім того, рівні експресії, що спостерігаються, конструкцій з вилученим В-доміном були значно вище у порівнянні з фактором VIII дикого типу через підвищений рівень мРНК у клітинах (Pittman et al., Blood (1993) 81,2925-2935). Нині на ринку є чотири продукти рекомбінантного фактора VIII (Recombinant Baxter HealthCare; Kogenate і Kogenate FS Bayer Corporation і Refacto Wyeth, Інститут Генетики).

У більш прийнятному варіанті (3) виконання винаходу змінений білок фактора VIII має щонайменше одну з наступних мутацій від (a) до (d):

- (a) Val у положенні 162 замінений на інший нейтральний амінокислотний залишок;
- (b) Ser у положенні 2011 замінений іншим гідрофільним амінокислотним залишком;
- (c) Val у положенні 2223 замінений кислотним амінокислотним залишком; і

(d) В-доміні між позиціями Arg740 і Glu149 замінений Arg-збагаченим лінкерним пептидом, що містить від 10 до 25, переважно 14-20, амінокислотних залишків, де зазначений фактор VIII розташований стосовно до амінокислотної послідовності фактора VIII дикого типу, показаного в SEQ ID NO:2 (будучи амінокислотою послідовністю зрілого пептиду, що не включає сигнальний пептид з 19 амінокислотами, а включає увесь В-доміні [WO 99/29848]).

Термін «інший нейтральний амінокислотний залишок», згідно з даним винаходом, містить у собі Glu, Ala, Leu, He, Met і Pro і, переважно, Ala. Термін «інша гідрофільна амінокислота» включає Asp, Thr і Gin і, переважно, Asp. Кислотний амінокислотний осад обирають з Glu і Asp і, переважно, він є Glu.

Серед змінених білків фактора VIII варіанта (3) виконання винаходу більш прийнятно, щоб змінений білок фактора VIII мав щонайменше одну з мутацій (a), (b) і (c), більш переважно, щонайменше одну з мутацій (a) і (b), і найбільш прийнятно, всі три мутації від (a) до (c), як визначено вище. Особливо прийнятно, щоб змінений білок містив усі три мутації V162A, S2011N і V2223E.

За тією ж ознакою послідовності ДНК, що містить вектор згідно з варіантом (4) виконання винаходу, має мутації T485C, G6032A і T6668A стосовно до послідовності ДНК зрілого фактора VIII дикого типу, показаної в SEQ ID NO:1. У більш прийнятному варіанті виконання винаходу послідовність ДНК також містить мутацію, що мовчить, T6816C (і знову зазначене місце знаходиться у послідовності ДНК зрілого фактора VIII дикого типу).

Серед змінених білків фактора VIII, згідно з варіантом (3), більш прийнятно, щоб змінений білок фактора VIII мав мутацію (d), визначену вище.

Більш прийнятна система експресії, згідно з винаходом, використовує специфічний змінений білок фактора VIII, у якого - крім крапчастої мутації (a)-(c), як визначено у даному описі вище, - частково або повністю відсутній його В-доміні, переважно змінений білок, у якому ІВ-доміні між положеннями R740 і E1649 замінений типовим Arg-збагаченим амінокислотним спейсером, як це визначено в (d) вище. Термін «Arg-збагачений», відповідно до даного винаходу, означає, що зазначений спейсер містить щонайменше 3, переважно щонайменше 4, Arg залишки. У більш прийнятному варіанті виконання винаходу зазначений спейсер складається з восьми амінокислот В-доміну дикого типу, за якими йдуть вісім амінокислот перемінного домену (див. Фіг.5A, SEQ ID NO:9). У такій конструкції, що має модифікації В-доміну, згадані у даному описі вище, запропонований vWF-сайт зв'язування залишається без зміни для запобігання негайному протеолітичному розкладу секретованого фактора VIII в культуральному середовищі клітини або більш пізньому - в крові пацієнтів, що пройшли курс лікування. Тільки після спеціальної активації розщепленням тромбіном фактор VIII виділяється з vWF. КДНК для більш прийнятного фактора VIII була сконструйована шляхом складання чотирьох фрагментів ДНК, наприклад, так, як це описано у прикладі 1.

Білок, відповідно до варіанта (3) виконання винаходу, може містити додаткові N- або C-кінцеві послідовності, включаючи, але не обмежуючись цим, природний сигнальний пептид (що відповідає амінокислотним залишкам білків від -19 до -1, показаним у SEQ ID NO 4, 13 і 15) або його фрагмент чи аналог, штучні пептиди (наприклад, оліго-His-tags для високоафінного очищення) тощо.

Найбільш прийнятним вектором для експресії фактора VIII є вектор pTGF8-1, показаний на Фіг.2. Послідовність ДНК зазначеного вектора показана в SEQ ID NO:3, вона охоплює всі п'ять мутацій, на які посилялися у даному описі вище (змінні білки T485C, G6032A, T6668A і T6816C (тут: T1217C, G4088A, T4724A і T4872C), і послідовність ДНК, що кодує лінкер В-доміну послідовності SEQ ID NO:9) та кодує змінений білок фактора VIII, показаний у SEQ ID NO:4.

Крім того, більш прийнятними векторами є також вектори pTGF8-2hyg-s і pTGF-3, звичайна молекулярна структура яких показана на Фіг.6.

Вектор pTGF8-2hyg-s, показаний у послідовності SEQ ID NO:12, містить тільки мутацію T6816C, що мовчить, що призводить до зміненого білка фактора VIII, у якому В-доміні замінений послідовністю SEQ ID NO:9 лінкерного пептиду, але більше немає ніяких змін у первісній структурі білка, що належить до послідовності дикого типу SEQ ID NO:2.

Вектор pTGF8-3, показаний у SEQ ID NO:14, містить мутації T485C, T6668A і T6816C, що дає змінений білок фактора VIII, який показує амінокислотні заміни V162A і V2223E, що стосуються послідовності SEQ ID NO:2, на додаток до заміни В-доміну, про яку згадувалося вище.



У випадку одержання фактора VIII культивування здійснюють за присутності фактора фон Віллібранда. Фактор фон Віллібранда переважно використовують у кількості від 10 до 100, більш переважно 50-60 молив vWF на моль фактора VIII (в культуральній рідині і/або в розчині фактора VIII під час процесу очищення (див. нижче)).

У більш прийнятному варіанті (4) виконання даного винаходу коагулявальний фактор крові людини є фактором IX або його зміненим білком, переважно є фактором IX дикого типу, показаним у послідовності SEQ ID NO:5. Придатні змінені білки фактора IX включають крапчасті мутовані та укорочені форми фактора IX. Найбільш прийнятними векторами експресії фактора IX є вектори pTGFG36 і pTG36hyg, показані на Фіг.3 і 4, відповідно.

У випадку одержання фактора IX культивування переважно виконують за присутності вітаміну K, який може знаходитися у кількості від 0,1 до 100 μg/мл культуральної рідини, більш переважно від 1 до 20 μg/мл культуральної рідини.

Спосіб, відповідно до варіанта (1) виконання винаходу, включає наступні операції:

(c) очищення коагулявального фактора крові, виділеного на стадії (b), і/або

(d) вірусну інактивацію коагулявального фактора крові, виділеного на стадії (b) або очищеного на стадії (c).

Придатні операції з очищення включають способи, які відомі у даній галузі для максимізації виходу чистого, стабільного і високоактивного продукту, і їх обирають із способів імуноафінної хроматографії, аніонообмінної хроматографії, хроматографії за розміром і т.д. та їх комбінацій. Зокрема, детальні способи очищення коагулявальних факторів із плазми крові людини розкриті, [наприклад, у заявках WO93/15105, EP0813597, WO96/40883 і WO96/15140/50]. Їх можна легко пристосувати до специфічних вимог, необхідних для виділення рекомбінантних факторів VIII і IX. Для фактора IX був введений ефективний спосіб, що включає стадію осадження за допомогою сульфату амонію, за якою далі йде DEAE (діетиламіноетил) і HIC хроматографія, а також гепаринафінна хроматографія (US5919909). Кількість та активність очищеного білка під час і після операції очищення можуть регулюватися за допомогою тесту ELISA і коагуляційних проб.

Для вирішення проблем можливого інфекційного зараження зразків очищеного білка або продукту, безпосередньо одержаного з надосадової рідини клітинної культури, що містить секретований рекомбінантний білок, зразки і/або надосадову рідину клітинної культури можна обробляти методами вірусної інактивації, включаючи теплову обробку (у сухому або рідкому стані, з або без додавання хімічних речовин, що включають інгібітори протеази). Після вірусної інактивації може бути необхідною подальша операція з очищення для видалення хімічних речовин. Зокрема, для фактора VIII, виділеного з плазми крові, була описана регенерація високоочищеного, підданого вірусній інактивації, білка методом аніонообмінної хроматографії [WO93/15105]. Крім того, було описано декілька способів для одержання високоочищених, неінфекційних коагулявальних факторів з плазми або крові інших біологічних джерел. Віруси з ліпідною оболонкою ефективно інактивують шляхом обробки потенційно інфекційного матеріалу гідрофобною фазою, що формує двофазову систему, з якої згодом видаляють водонерозчинну частину. Крім того, вигідним виявилось одночасно або послідовно доповнювати зазначену обробку гідрофобною фазою обробкою неіонними детергентами або триалкілфосфатами. [WO 9636369, EP0131740, п. США 6,007,979]. Віруси без ліпідної оболонки потребують застосування способів інактивації, що полягають в обробці неіонними детергентами, за якою йде стадія нагрівання (60-65°C) протягом декількох годин [WO94/17834].

Виходячи з вищенаведених результатів, вважають, що комбінація ефективної системи експресії білка, заснована на клітинній лінії людини, разом з визнаними способами інактивації потенційно небезпечних інфекційних агентів служить безпечною і легкою у використанні системою для одержання рекомбінантних коагулявальних факторів.

Більш того, відповідно до варіанта (6) виконання винаходу, забезпечується переважачий за своїми властивостями змінений білок фактора VIII. Зазначений змінений білок фактора VIII може бути частиною фармацевтичних композицій, може бути використаний для приготування медичних препаратів для лікування гемофілії і може застосовуватися у методах лікування хворих на гемофілію (варіанти (11)-(13) даного винаходу). Вищезгадані фармацевтичні композиції і вищезгадані медичні препарати можуть містити фактор VIII в терапевтично ефективній дозі, наприклад, від 50 до 500 μg (фактор VIII вагою 200нг відповідає одній міжнародній одиниці (IU)). В залежності від типу гемофілії пацієнт одержує річну дозу фактора VIII до 200,000 IU. Відповідну дозу звичайно вводять один або два рази на тиждень.

Фармацевтичні композиції, медикаменти або препарати, застосовувані у способах лікування гемофілії, відповідно до варіантів (11)-(13), містять терапевтично ефективну дозу зміненого білка фактора VIII згідно з варіантом (6) або транспортного вектора згідно з варіантом (9). У першому випадку у цій дозі можуть, крім того, міститися фармацевтично допустимі добавки, що включають сироватковий альбумін людини (HAS; переважно 1mg/мл розчину); неорганічні солі, наприклад, CaCl<sub>2</sub> (переважно 2-5mM (міліграм-молекул)), амінокислоти, такі як гліцин, лізин і гістидин (переважно від 0,1 до 1M на амінокислоту); дисахариди, такі як сахароза і/або трегалоза (переважно 0,4-1M); органічні солі, такі як Na-цитрат (переважно до 50mM); і т.д.

Препарати можуть бути водні або безводні. В останньому випадку основним компонентом є гліцерин і/або поліетиленгліколь (наприклад, PEG-300). Препарати можуть бути у сухому вигляді (розчинні у придатному розчиннику до їх використання).

Як наведено вище, транспортний вектор, згідно з варіантом (9) виконання винаходу, може також бути частиною фармацевтичних композицій, може використовуватися для приготування медикаментів для лікування гемофілії і його можна застосовувати у способах для лікування гемофілії (варіанти (11)-(13) виконання винаходу). Зазначені фармацевтичні композиції і медикаменти можуть, крім того, містити придатні формули матриці, наприклад, ліпіди або гормони, як це зазначалося [у заявці WO00/49147], у даному описі цей винахід наведений у вигляді посилення. Фармацевтична композиція або медикамент, що містить транспортний вектор, згідно з даним винаходом, можуть бути введені орально, внутрішньовенно, внутрішньом'язово, підшкірно, через слизову оболонку (включаючи трансбукальне, назальне розпилення) або

за допомогою розпилювача гена. Перевагу надають оральному введенню (наприклад, в колоїдному розчині дуже тонко подрібненого гормону).

Змінений білок фактора VIII, згідно з варіантом (6) виконання винаходу, є таким, як він визначений з посиланням на вищенаведений варіант (3). Крім того, зазначений змінений білок фактора VIII може бути приготовлений за допомогою стандартних рекомбінантних способів, наприклад, способом, що включає:

(а) культивування клітини-хазяїна, що трансформована вектором згідно з варіантом (8) винаходу і/або містить ДНК згідно з варіантом (7), (яка також включає іморталізовану клітинну лінію людини, що стабільно експресує щонайменше один вірусний білок активатора транскрипції і несе вектор, який має вірусний промотор транскрипції, функціонально зв'язаний з послідовністю ДНК, що кодує коагуляційний фактор крові людини, у якій зазначений вірусний промотор стимулюється щонайменше одним вірусним білком активатора транскрипції); і

(b) виділення коагуляційного фактора крові з культуральної рідини. Усі придатні іморталізовані клітинні лінії людини, білки активатора транскрипції і вірусні промотори згадані вище у даному описі. Іморталізована клітинна лінія людини, використовувана у зазначеному способі, переважно експресує два вірусних білки активатора транскрипції, більш переважно термочутливий антиген Т SV40 і білок Е1А аденовірусу. Крім того, спосіб може включати операції з очищення та вірусної активації (c) і (d), згадані вище у даному описі.

Наявна у продажі клітинна лінія 293 Т (ECACC: tsa201, посилання 96121229) здана на зберігання у фірму DMSZ (Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH, Mascheroder Weg 1b, 38124, Брауншвейг, Німеччина) 20 лютого 2001, номер зберігання DSM ACC2494).

Винахід ілюструється наступними прикладами:

Приклад 1. Клонування фактора VIII

Послідовність для рекомбінантного фактора VIII була одержана зворотною транскрипцією із пула РНК з печінкових клітин людини. Потім чотири фрагменти (1/2, 3/4, 5/6, 7/8) були ампліфіковані за допомогою стандартного ПЦР, використовуючи праймери, призначені для зберігання сайтів рестрикції. Для складання разом фрагментів 3/4 і 5/6 фрагмент SmaI/SalI з плазмиди рBSFVIII3/4 був вставлений наосліп в SalI-сайт плазмиди рBSFVII5/6 для одержання плазмиди рBSFVIII3/6. Потім був одержаний фрагмент 3/6 шляхом розкладу плазмиди рBSFVIII3/6 за допомогою фрагмента XhoI/BspHI і частково за допомогою фрагмента Alw441. Цей фрагмент і фрагмент PstI/Alw441 з плазмиди рBSFVIII1/2 були ліговані в один етап у вектор плазмиди рBSFVIII1/2, обробленої PstI і XhoI, за допомогою чого була одержана плазміда рBSFVIII1/6. Фрагмент 7/8 був одержаний шляхом розкладу плазмиди рBSFVII7/8 за допомогою фрагмента SmaI і частково за допомогою Mva12691 і лігований у плазмиду рBSFVIII1/6, розрізану за допомогою фрагментів XhoI і Mva12691, створюючи при цьому плазмиду рBSFVIII1/8.1, зрештою, фрагмент SmaI/XhoI з плазмиди рBSFVIII1/8 був вставлений у сайт SalI октагенного вектора рTGF67 (одержання зазначеного вектора розкрито в РСТ/ЕР00/01368), що призвело до одержання еукаріотичного вектора експресії для плазмиди рTGF8-1 фактора VIII людини (див. Фіг.1 і 2). Отриманий вектор кодує змінений білок фактора VIII, що має мутації V162A, S2011N і V2223E.

Приклад 2. Клонування фактора IX (FIX)

Вектор рUC19 (MBI Fermentas) був розкладений за допомогою XbaI, оброблений ферментом Кленова і повторно лігований. Потім зазначений виділений вектор XbaI був розкладений за допомогою EcoRI, оброблений ферментом Кленова і повторно лігований для того, щоб виділити сайт EcoRI. Для інсерції сайту XbaI у сайт SacI цього вектора він був розкладений за допомогою SacI, оброблений Т4-ДНК-полімеразою, дефосфорильований лужною фосфатазою і лігований з XbaI-лінкером CTCTAGAG (Biolabs #1032). Інший сайт XbaI був вставлений шляхом розкладу удруге одержаного вектора за допомогою HindIII, піддаючи його обробці ферментом Кленова, дефосфорильючи його лужною фосфатазою і лігуючи його з XbaI-лінкером CTCTAGAG (Biolabs #1032). Цей вектор отримав позначення рUC19/X.

Для руйнування XbaI-сайту, що присутній у векторі рhGFP-S65T (Clontech), зазначений вектор був розкладений за допомогою XbaI, оброблений ферментом Кленова і повторно лігований, що призвело до одержання вектора рGFP/0. Фрагмент 2,3kb, що містить GFP-ген, був виділений після розкладу вектора рGFP/0 за допомогою MluI, обробляючи його ферментом Кленова і розщеплюючи його за допомогою BstHI. Цей фрагмент був вставлений у множинний клонуєний сайт вектора рUC19/X, який був розщеплений за допомогою SalI, оброблений ферментом Кленова і розщеплений за допомогою BstHI. Отриманий вектор одержав позначення рTGFGI.

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

PRE-AS (5'-GGG GTA CCA GAA CAT GAT GTT CTA GCT ACG AAG CTG ATA TCC CAG AAC ATG ATG TTC TAG CTA CGA AGC TGG TAC CCC-3'; SEQ ID NO:11) були гібридизовані і фосфорильовані за допомогою реакції кінази, утворюючи вставку PRE(ds).

Вектор рTGFG1 був розкладений за допомогою Eco01091, оброблений ферментом Кленова і дефосфорильований лужною фосфатазою. Потім він був лігований з вставкою PRE(ds), утворюючи при цьому вектор рTGFG5.

Вектор рUC19 (MBI Fermentas) був розкладений за допомогою SalI, оброблений ферментом Кленова і дефосфорильований лужною фосфатазою. Він був лігований з NotI-лінкером GCGGCCGC (Biolabs #1045), утворюючи при цьому рUC19/N.

КДНК фактора IX була ампліфікована з кДНК печінки людини (Clontech), використовуючи два праймера, що перекривають початковий і кінцевий кодон відкритої рамки читування фактора IX, утворюючи при цьому фрагмент з 1387 кп, який містить усю відкриту рамку читування. Сайти рестрикції для EcoRI (верхній) і BstHI (нижній) були включені наприкінці кожного праймера для полегшення клонування. Ампліфікацію виконували з використанням Pwo ДНК-полімерази (Boehringer Mannheim) в обсязі, дорівнюючому 50μl [10mM Tris HCl pH8.85, 25mM KCl, 5mM (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub> SO<sub>4</sub>, 2 MgSCU] протягом 30 інкубаційних циклів при 96°C протягом 1хв., 60°C протягом 1хв., 72°C протягом двох хвилин, за якими йшла фінальна стадія при 72°C протягом 10 хвилин.

Продукти реакції були лігвані в EcoRI- і BamHI-сайти вектора pUC19 і трансформовані в E.coli DH5- $\alpha$ . Були обрані позитивні клони. Послідовності були підтверджені циклічним секвенуванням (за Амершамом) з обох кінців з міченими праймерами (IR-700) і проведенням автоматичного аналізу на системі секвенування LiCor (MWG, Biotech.).

Були використані наступні праймери:

GGAATTCGCAAAGGTTATGCAGCGCGTGAACATGATCATGGC (верхній; SEQ ID NO:16)  
CGCGGATCCATTAAGTGAGCTTTGTTTTTTCCTTAATCC (нижній; SEQ ID NO:17).

Фрагмент 1.4 т.п.н., що містить відкриту зчитувальну рамку коагуляційного фактора IX людини, виділений з бібліотеки кДНК людини, був вставлений у PstI-сайт вектора pUC19/N, одержаного вищеописаним способом, який був розкладений за допомогою PstI, оброблений T4-полімеразою і дефосфорильований лужною фосфатазою. З одержаного вектора pUC19/N-FIX шляхом подвійного розкладу за допомогою HindIII і NotI був вирізаний фрагмент 1.4 т.п.н., що містить відкриту зчитувальну рамку коагуляційного фактора IX людини. Зазначений фрагмент був лігований з фрагментом 4.3 т.п.н. вектора pTGFG5, одержаного подвійним розкладом за допомогою HindIII і NotI з утворенням при цьому вектора pTGFG36, показаного на Фіг.3. Цей вектор є більш прийнятним вектором для доставки в клітину експресуючої касети, що кодує фактор IX, її послідовність ДНК подана в SEQ ID NO:6.

Приклад 3. Клітинна лінія людини для експресії білків

Більш прийнятною клітинною лінією є лінія tsA201 (ECACC, посилання 96121229), яка являє собою трансформовану клітинну лінію нирок людини (293, ECACC, номер 85120602), стабільно експресуючу термочутливий антиген T SV40 (J. Membrane Biol., 1996; 152:39; Gene 1995; 156:235; PNAS USA 1994; 91:12785; Pflugers Arch. 1994; 427:136; J. Gen. Physiol., 1994; 104:507; Biotechniques, 1993; 15:906). Інші назви для цієї клітинної лінії включають 293tsA1609neo (Mol. Cell. Biol., 1987, 7:379) і 293T. Ця клітинна лінія, схожа з епітеліальною, була використана у цілому ряді функціональних експресійних проб і, як повідомлялося, давала високі рівні рекомбінантних білків. Вони можуть бути культивовані в DMEM, доповненої глутаміном (2mM) і 10% навколоплідної сироватки теляти (FCS). Для ефективного одержання фактора IX середовище можна модифікувати шляхом додавання до 100 $\mu$ г/мл вітаміну K (US4770999).

Для спрощення процесу очищення експресованого поліпептиду клітини можна культивувати у вільному від сироватки або білка середовищі, яке містить придатні добавки. З причин стабільності секретований фактор VIII потребує присутності vWF в середовищі [п. США 5198349]. Повідомлялося також про додавання ліпопротеїнів, фосфоліпідів, полігліколів, металів, гепарину, неіонних поверхнево-активних речовин або циклодекстрину [EP0254076, US5250421, US5576194, EP0872487, WO94/11525, US5378612].

Приклад 4. Трансфекція фосфатом кальцію клітин 293T для транз'єтного продукування факторів VIII і IX

Конфлюентні клітини 293T були засіяні при низькому тиску на 10см чашках у 6мл DMEM/10% FCS (10 $\mu$ г/мл вітаміну K для фактора IX) за день до трансфекції. Трансфекцію здійснювали приблизно за Ченом та Окаямою (Mol. Cell. Biol., 7:2745 (1987)). 12 $\mu$ г плазмиди pTGF8-1 були трансфектовані для одержання фактора VIII і pTGFG36 для одержання фактора IX. Через шість годин після трансфекції середовище замінили на свіже, а через три дні після трансфекції злили надосадову рідину і потім або очищали її, або аналізували без подальшого очищення за допомогою тесту ELISA чи коагулометрії (див. Приклади 5 і 6).

Приклад 5. Визначення концентрації факторів IX і VIII за допомогою тесту ELISA

Фактор IX: Рівні рекомбінантного фактора IX людини в надосадовій рідині трансфектованих клітин 293T визначали за допомогою тесту ELISA, використовуючи як іммобілізоване антитіло поліклональний антилюдський фактор IX козла (Enzyme Research Laboratories). Всі інкубації здійснювали протягом двох годин у вологій камері при 22°C. Чашки (Dynex, Immulon-4) покривали 100 $\mu$ л покривного буфера концентрацією 8.8 $\mu$ г антитіла/мл покривного буфера. При описаних умовах захист не потрібний. Для блокування неспецифічних взаємодій досить здійснювати чотириразове промивання чашки (Encore 2000, Merck) за допомогою PBS (фізіологічний розчин з фосфатним буфером)-Tween (0,1% в об'ємному відношенні).

Після кожної наступної операції було потрібне промивання для виключення незв'язаних білків. У кожную комірку додавали 100 $\mu$ л надосадової рідини, обробленої 10 $\mu$ л 10mM сульфонідфториду, і 10 $\mu$ л 0.11M цитрату натрію. Розведення для зразків і стандарту (фактор IX людини, домашній стандарт, Octapharma) були зроблені у буфері розведення (HBS-BSA-EDTA-Tween) та інкубовані при концентрації 100 $\mu$ л/комірка. Детектуючим антитілом був поліклональний антифактор IX козла, мічений пероксидазою (Enzyme Research Laboratories), у концентрації 1 $\mu$ г антитіла/мл буферного розчину, і інкубований в комірку 100 $\mu$ л. У кожную комірку як субстрат додавали 150 $\mu$ л ABTS (Roche), через 1-2 години визначали колориметричну реакцію на хвилі 405nm. Результати, розраховані за лінійною регресією стандартної концентрації проти стандартного поглинання, зведені у наступній таблиці:

Таблиця

| Кількість клітин<br>[ml] | Концентрація<br>фактора IX [ng/ml] | Час коагулювання<br>[s] |
|--------------------------|------------------------------------|-------------------------|
| 2,1x10                   | 36                                 | 45                      |
| 8,7x10                   | 20                                 | 79                      |

Нормальна плазма: 37-39с

Плазма без фактора IX: 137-40с

Фактор VIII: Рівні рекомбінантного фактора VIII людини в культуральному фільтраті трансфектованих клітин 293T визначали за допомогою тесту ELISA, використовуючи як іммобілізоване антитіло препарат поліклонального анти-FVIII:C вівці, підданий афінному очищенню (F8C-EIA-C, Affinity Biologicals). Покриття здійснювали протягом двох годин у вологій камері при температурі 22°C. Чашки (Dynex, Immulon-4) покривали 100 $\mu$ л стократно розведених антитіл у покривному буфері (50mM карбонату натрію pH9.6). Чотириразове

промивання чашок (Encore 2000, Merck) PBS-Tween (0,1% в об'ємному відношенні) було достатнім для блокування неспецифічних взаємодій.

Після кожної наступної операції було потрібне промивання для виключення незв'язаних білків. Після 48 годин інкубування у кожну комірку додавали 100μл кожного зі зразків культурального фільтрату, видалених з різних клонів 293T, стабільно трансфектованих плазмідом рTGF8-3. Розведення стандарту FVIII (домашній стандарт, Octapharma) були зроблені у буфері розведення (HBS-BSA-EDTA-Tween) та інкубовані при концентрації 100μл на комірку. Для визначення поліклонального антифактора VIII, міченого пероксидазою (F8C-EIA-D, Affinity Biologicals), готове до вживання розведення інкубували протягом 60 хвилин при концентрації 100μл на комірку. Для колориметричної реакції 5г таблетку О-фенілендіаміну (P-6912, Sigma) розчиняли в 12мл буфера субстрату незадовго до використання і доповнювали 12μл 30% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. 150μл цього розчину субстрату додавали у кожну комірку і колориметрували у MRX Reader (Dynex) на хвилі 490nm після 10 хвилин інкубації при кімнатній температурі у темряві і припиняли реакцію додаванням у кожну комірку 50μл 2.5M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Результати, розраховані за лінійною регресією стандартних концентрацій проти стандартних поглинань (Фіг.7А), показані на Фіг.7В.

Приклад 6. Визначення активності коагулювальних факторів VIII і IX людини

Коагулювальна активність рекомбінантного фактора VIII людини в надосадових рідинах клітин 293T клітинної культури (трансфектованих осадженням фосфатом кальцію з плазмідом рTGF8-1, як описано у прикладі 4) визначали наступним чином:

Коагулювальну активність досліджували методом, що ґрунтується на дослідженні часу дії тромбопластину, використовуючи активацію кефаліном (фосфатидил етаноламін) у ручному приладі для коагуляції (ML-2, Instrumentation Laboratories). Для дослідження 100μл нерозведеної надосадової рідини з трансфектованих клітин 293T, 100μл плазми без фактора VIII (Progen) і 100μл кефаліну (Instrumentation Laboratories) інкубували протягом 5 хвилин при 37°C. Коагуляція починалася додаванням 100μл CaCl<sub>2</sub>. Час коагуляції зразка порівнювали з нормальною плазмою. Результати показані на Фіг.5В. Як можна побачити з Фіг.5В, надосадова рідина з клітин, трансфектованих плазмідом рTGF8-1, засвідчує активність коагуляції, порівнянну з нормальною плазмою, тоді як нетрансфектовані клітини дають величину, еквівалентну плазмі без фактора VIII.

Подібний спосіб використовували щодо фактора IX. Результати показані у таблиці прикладу 5. Залежність експресії від присутності вітаміну К див. на Фіг.10.

Приклад 7. Вірусна інактивація

Вірусну інактивацію проводили відповідно до способу, описаного у патенті США 6,007,979. А саме, до потенційно інфекційного розчину білка, помішуючи, додавали:

- 1) 0.2мл Tween 80 і 0.06мл TNBP додавали до 19.74мл розчину або
- 2) 0.2мл Triton X-100 і 0.2мл TNBP додавали до 19.6мл розчину.

1мл рицинової олії додавали до препаратів 1 і 2, які далі інтенсивно екстрагували при кімнатній температурі протягом однієї години.

У кожному випадку для фазового поділу виконували центрифугування. Для контролю на неінфекційність з водної фракції неодноразово брали зразки, кожен обсягом 1мл.

Приклад 8. Одержання клітинних ліній, стабільно експресуючих фактор VIII і фактор IX

Більш прийнятні вектори рTGF8-1 і рTGFG36 містять конструкції для транз'єнтної експресії фактора VIII і фактора IX, відповідно, у клітинах молочної залози. Для здійснення методу селекції для стабільно трансфектованого клітинного клону касету для гіроміцин-В-фосфотрансферази (HindIII-Mva 12601 фрагмент з TK-Hyg, Clontech) субклонували у SmaI-сайт, що присутній в обох векторах. У такому випадку конструкції (рTGF8-1-hyg і рTG36hyg), які одержували у результаті цього, містять у положенні cis експресійні касети для фактора VIII або фактора IX людини з промотором вірусу мозаїки кольорової капусти (CMV) і сигналом поліаденілювання вірусу 40 мавпи (SV40) та експресуючу касету гіроміцин-В-фосфотрансферази з тимідин-кіназним промотором вірусу герпесу людини (HSV) і тимідин-кіназний сигнал поліаденілювання HSV (див. Фіг.4).

Вектори рTGF8-2hyg-s і рTGF8-3 (Фіг.6, SEQ ID NO:12 і 14) є похідними від вектора рTGF8-1hyg, у яких крапчасті мутації V162A, S2011N і V2223E (рTGF8-2hyg-s) і S2011N (рTGF8-3) були повернуті у послідовність дикого типу за допомогою ПЦР-залежного методу, використовуючи методику QuikChange (Stratagene).

Кодувальну послідовність для коагулювальних факторів можна замінити будь-якою іншою генною послідовністю на вибір. Ці конструкції дозволяють одержати стабільно експресуючі клітинні лінії трансфекцією фосфатом кальцію і подальшою селекцією на стійкість до гіроміцину. Крім того, плазмиди містять елемент, що відповідає за прогестерон. В експериментах з транз'єнтною трансфекцією плазмідом рTG36hyg продукування близько 40нг активного фактора IX на мл культурального середовища може бути показане за допомогою тесту ELISA і коагулометричної проби (див. приклади 5 і 6).

Для одержання фактора IX клітини 293T культивували в DMEM, у яку додавали 10% FCS і 10μг/мл вітаміну К (патент США 4,770,999; див. також Фіг.10). Спочатку необхідно було одержати критичну концентрацію антибіотиків для ефективної селекції стабільно трансфектованих клітин 293T. З цією метою клітини висівали на чашки при низькому розведенні і вирощували їх за присутності від 10 до 800μг/мл гіроміцину В. Через два тижні при концентрації 200μг/мл або більше не спостерігалось зростання клітин, так що ця концентрація була обрана для селекції стабільно трансфектованих клітин.

Типову трансфекцію виконували у 10см чашках з клітинами 293T, розведеними за день до цього при співвідношенні 1:15. Використовуючи метод (Biotechniques, 1988 6:7 632-638), 12μг плазмиди на чашку трансфектували і через два дні середовище заміняли на свіже, яке містило 200μг/мл гіроміцину В. Через 2-3 тижні після селекції середовище досліджували за допомогою тесту ELISA (див. приклад 5) на присутність фактора VIII або IX. Позитивні клони відокремили і перенесли на 24-коміркову плату. Після скринінгу за допомогою тесту ELISA і визначення активності позитивні клони піддали двом додатковим циклам

субклонування і аліквоти з них заморозили для подальшого використання та визначення особливостей.

Приклад 9. Доказ фенотипічної однорідності стабільно трансфектованих клітин за допомогою імунофлуоресцентного визначення *in situ* експресії фактора VIII

Клітини 293Т у кількості  $5 \times 10^7$ , стабільно трансфектовані плазмідною рTGF8-3 (клон 49/19), і нетрансфектовані клітини 293Т (негативний контроль) з культур, що прикріпилися, у DMEM+9.1% FBS були вилучені з чашок для культивування трипсиназацією, декілька разів промиті і ресуспендовані у 5мл буфера PBS.

2μл суспензії цих клітин перенесли на стерильні предметні стекла і інкубували при кімнатній температурі доти, доки не випарувалася вся рідина. Потім клітини фіксували у 70% етанолі протягом 10 хвилин і висушували протягом 5 хвилин при кімнатній температурі. Предметні стекла блокували від неспецифічного визначення інкубуванням у 10% розведенні сироватки плоду корови (FBS) у фізіологічному розчині з фосфатним буфером (PBS). Первинне антитіло (sh antiFVIII:C F8C-EIA-C, Affinity Biologicals) стократно розводили PBS, що містить 10% FBS і 0.1% сапоніну, і інкубували протягом 60 хвилин при кімнатній температурі у вологій інкубаційній камері. Після інтенсивного промивання PBS готували 100-кратне розведення вторинного антитіла (rb anti sh CY3 кон'югат 313-165-003, Jackson ImmunoResearch), які інкубували вищеописаним способом. Потім інтенсивно промивали предметне скло і покривали його шаром 50% гліцерину та покривним склом. Клітини досліджували за допомогою світлової і флуоресцентної мікроскопії (емісія на хвилі 570nm).

Результати подані на Фіг.8.

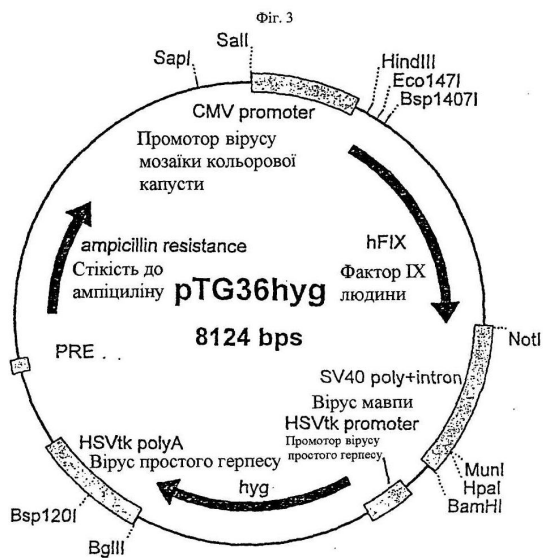
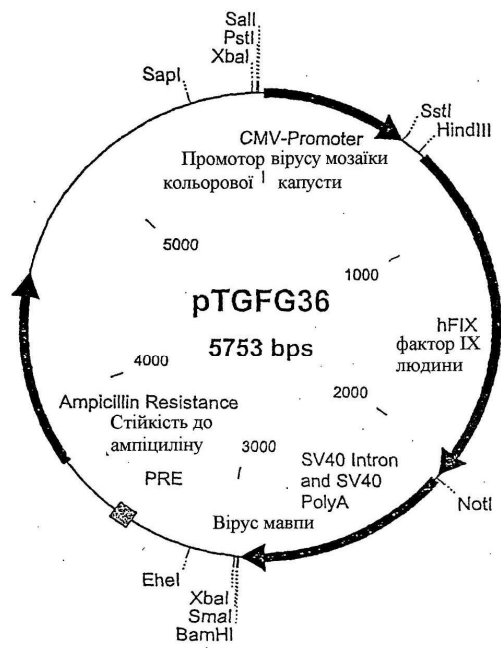
Приклад 10. Тест на теплову стабільність на рекомбінантному факторі IX у фільтраті культури

Фільтрат культури, зібраний з клітин 293Т через 48 годин після транзйентної трансфекції плазмідною рTGFG36 за присутності 100μг/мл вітаміну К, який зберігали при температурі -80°C протягом 7 днів, швидко розморозили, розподілили в аліквоти 7500μл, які потім інкубували при наступних температурах:

| Зразок | Температура (°C) | Час (хв.) |
|--------|------------------|-----------|
| 1      | 0                | 240       |
| 2      | 20               | 30        |
| 3      | 20               | 60        |
| 4      | 20               | 240       |
| 5      | 37               | 30        |
| 6      | 37               | 60        |
| 7      | 37               | 240       |

Зразки охолоджували на льоді і визначали активність фактора IX, як це описано у прикладі 6 (подвійне визначення). Результати показані на Фіг.9. Активність залишалася майже стабільною в умовах інкубації до 240 хвилин при 37°C.





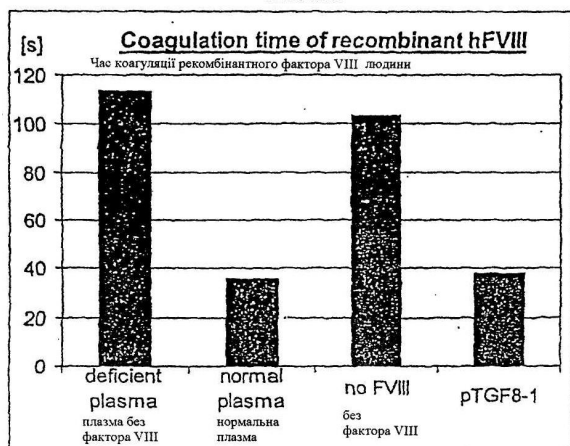
Фиг. 4

aga| agc ttc tcc cag aat tca aga cat caa gct tat cga tac cgt cga ggg gaa

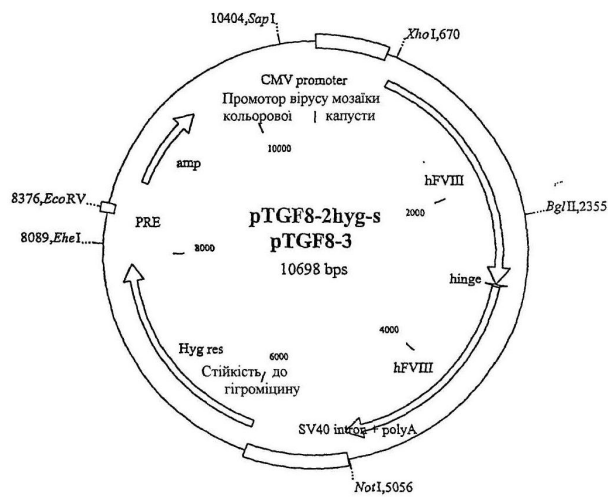
R740 S F S Q N S R H Q A Y R Y R R G E1649

wt-B-domain      variable domain

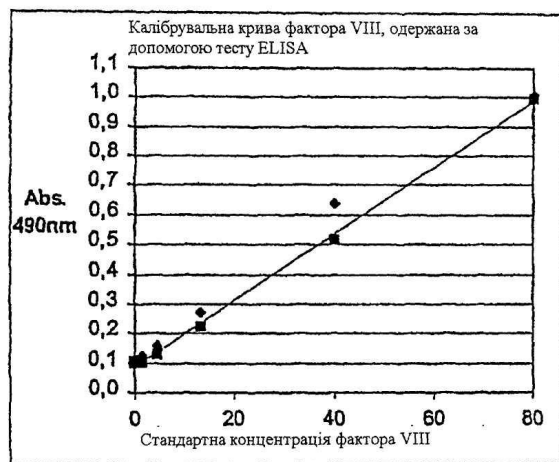
Фиг. 5A



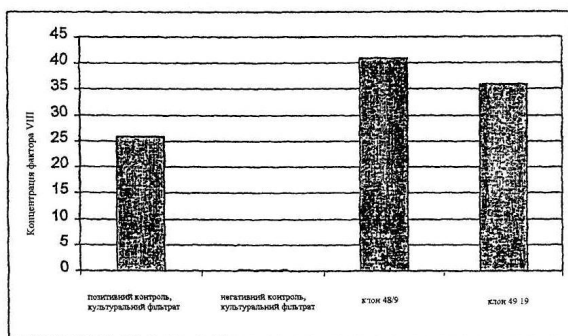
Фиг. 5B



Фиг. 6



Фиг. 7A



Фиг. 7B



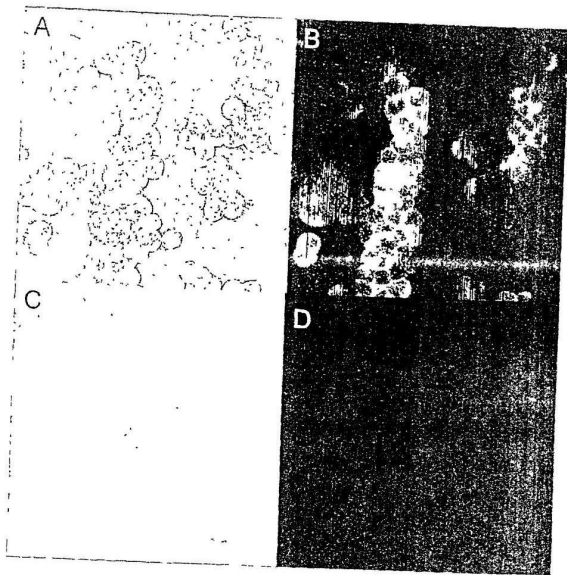


Fig. 8

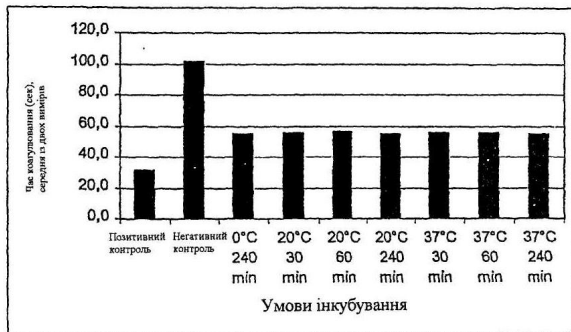


Fig. 9

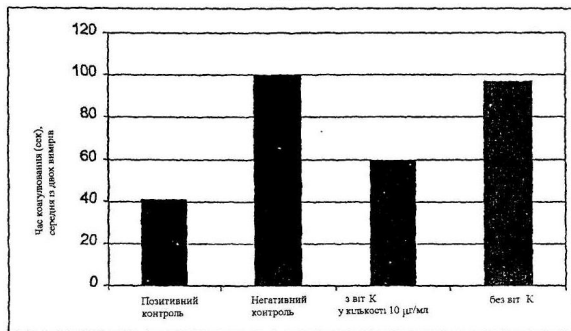


Fig. 10

<110> Octagene GmbH

<120> Production of Recombinant Blood Clotting Factors in Human Cell Lines

<130> 010613wo/JH/ml

<140>

<141>

<160> 17

<170> PatentIn Ver. 2.1

<210> 1

<211> 6996

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(6996)

<400> 1

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

|   |      |
|---|------|
| gtg act ggc act aag aat ttc atg aag aac ctt ttc tta ctg agc act<br>Val Thr Gly Thr Lys Asn Phe Met Lys Asn Leu Phe Leu Leu Ser Thr<br>1220 1225 1230      | 3696 |
| agg caa aat gta gaa ggt tca tat gag ggg gca tat gct cca gta ctt<br>Arg Gln Asn Val Glu Gly Ser Tyr Glu Gly Ala Tyr Ala Pro Val Leu<br>1235 1240 1245      | 3744 |
| caa gat ttt agg tca tta aat gat tca aca aat aga aca aag aaa cac<br>Gln Asp Phe Arg Ser Leu Asn Asp Ser Thr Asn Arg Thr Lys Lys His<br>1250 1255 1260      | 3792 |
| aca gct cat ttc tca aaa aaa ggg gag gaa gaa aac ttg gaa ggc ttg<br>Thr Ala His Phe Ser Lys Lys Gly Glu Glu Glu Asn Leu Glu Gly Leu<br>1265 1270 1275 1280 | 3840 |
| gga aat caa acc aag caa att gta gag aaa tat gca tgc acc aca agg<br>Gly Asn Gln Thr Lys Gln Ile Val Glu Lys Tyr Ala Cys Thr Thr Arg<br>1285 1290 1295      | 3888 |
| ata tct cct aat aca agc cag cag aat ttt gtc acg caa cgt agt aag<br>Ile Ser Pro Asn Thr Ser Gln Gln Asn Phe Val Thr Gln Arg Ser Lys<br>1300 1305 1310      | 3936 |
| aga gct ttg aaa caa ttc aga ctc cca cta gaa gaa aca gaa ctt gaa<br>Arg Ala Leu Lys Gln Phe Arg Leu Pro Leu Glu Glu Thr Glu Leu Glu<br>1315 1320 1325      | 3984 |
| aaa agg ata att gtg gat gac acc tca acc cag tgg tcc aaa aac atg<br>Lys Arg Ile Ile Val Asp Asp Thr Ser Thr Gln Trp Ser Lys Asn Met<br>1330 1335 1340      | 4032 |
| aaa cat ttg acc ccg agc acc ctc aca cag ata gac tac aat gag aag<br>Lys His Leu Thr Pro Ser Thr Leu Thr Gln Ile Asp Tyr Asn Glu Lys<br>1345 1350 1355 1360 | 4080 |
| gag aaa ggg gcc att act cag tct ccc tta tca gat tgc ctt acg agg<br>Glu Lys Gly Ala Ile Thr Gln Ser Pro Leu Ser Asp Cys Leu Thr Arg<br>1365 1370 1375      | 4128 |
| agt cat agc atc cct caa gca aat aga tct cca tta ccc att gca aag<br>Ser His Ser Ile Pro Gln Ala Asn Arg Ser Pro Leu Pro Ile Ala Lys<br>1380 1385 1390      | 4176 |
| gta tca tca ttt cca tct att aga cct ata tat ctg acc agg gtc cta<br>Val Ser Ser Phe Pro Ser Ile Arg Pro Ile Tyr Leu Thr Arg Val Leu<br>1395 1400 1405      | 4224 |
| ttc caa gac aac tct tct cat ctt cca gca gca tct tat aga aag aaa<br>Phe Gln Asp Asn Ser Ser His Leu Pro Ala Ala Ser Tyr Arg Lys Lys<br>1410 1415 1420      | 4272 |
| gat tct ggg gtc caa gaa agc agt cat ttc tta caa gga gcc aaa aaa<br>Asp Ser Gly Val Gln Glu Ser Ser His Phe Leu Gln Gly Ala Lys Lys<br>1425 1430 1435 1440 | 4320 |
| aat aac ctt tct tta gcc att cta acc ttg gag atg act ggt gat caa<br>Asn Asn Leu Ser Leu Ala Ile Leu Thr Leu Glu Met Thr Gly Asp Gln<br>1445 1450 1455      | 4368 |
| aga gag gtt ggc tcc ctg ggg aca agt gcc aca aat tca gtc aca tac<br>Arg Glu Val Gly Ser Leu Gly Thr Ser Ala Thr Asn Ser Val Thr Tyr<br>1460 1465 1470      | 4416 |
| aag aaa gtt gag aac act gtt ctc ccg aaa cca gac ttg ccc aaa aca   | 4464 |

|     |      |      |      |      |      |     |      |      |      |     |      |      |      |      |     |      |  |
|-----|------|------|------|------|------|-----|------|------|------|-----|------|------|------|------|-----|------|--|
| Lys | Lys  | Val  | Glu  | Asn  | Thr  | Val | Leu  | Pro  | Lys  | Pro | Asp  | Leu  | Pro  | Lys  | Thr |      |  |
|     |      | 1475 |      |      |      |     | 1480 |      |      |     |      | 1485 |      |      |     |      |  |
| tct | ggc  | aaa  | ggt  | gaa  | ttg  | ctt | cca  | aaa  | ggt  | cac | att  | tat  | cag  | aag  | gac | 4512 |  |
| Ser | Gly  | Lys  | Val  | Glu  | Leu  | Leu | Pro  | Lys  | Val  | His | Ile  | Tyr  | Gln  | Lys  | Asp |      |  |
|     | 1490 |      |      |      | 1495 |     |      |      | 1500 |     |      |      |      |      |     |      |  |
| cta | ttc  | cct  | acg  | gaa  | act  | agc | aat  | ggg  | tct  | cct | ggc  | cat  | ctg  | gat  | ctc | 4560 |  |
| Leu | Phe  | Pro  | Thr  | Glu  | Thr  | Ser | Asn  | Gly  | Ser  | Pro | Gly  | His  | Leu  | Asp  | Leu |      |  |
|     | 1505 |      |      | 1510 |      |     |      | 1515 |      |     |      |      |      | 1520 |     |      |  |
| gtg | gaa  | ggg  | agc  | ctt  | ctt  | cag | gga  | aca  | gag  | gga | gcg  | att  | aag  | tgg  | aat | 4608 |  |
| Val | Glu  | Gly  | Ser  | Leu  | Leu  | Gln | Gly  | Thr  | Glu  | Gly | Ala  | Ile  | Lys  | Trp  | Asn |      |  |
|     |      |      | 1525 |      |      |     | 1530 |      |      |     |      |      | 1535 |      |     |      |  |
| gaa | gca  | aac  | aga  | cct  | gga  | aaa | ggt  | ccc  | ttt  | ctg | aga  | gta  | gca  | aca  | gaa | 4656 |  |
| Glu | Ala  | Asn  | Arg  | Pro  | Gly  | Lys | Val  | Pro  | Phe  | Leu | Arg  | Val  | Ala  | Thr  | Glu |      |  |
|     |      | 1540 |      |      |      |     | 1545 |      |      |     |      | 1550 |      |      |     |      |  |
| agc | tct  | gca  | aag  | act  | ccc  | tcc | aag  | cta  | ttg  | gat | cct  | ctt  | gct  | tgg  | gat | 4704 |  |
| Ser | Ser  | Ala  | Lys  | Thr  | Pro  | Ser | Lys  | Leu  | Leu  | Asp | Pro  | Leu  | Ala  | Trp  | Asp |      |  |
|     | 1555 |      |      |      | 1560 |     |      |      |      |     | 1565 |      |      |      |     |      |  |
| aac | cac  | tat  | ggt  | act  | cag  | ata | cca  | aaa  | gaa  | gag | tgg  | aaa  | tcc  | caa  | gag | 4752 |  |
| Asn | His  | Tyr  | Gly  | Thr  | Gln  | Ile | Pro  | Lys  | Glu  | Glu | Trp  | Lys  | Ser  | Gln  | Glu |      |  |
|     | 1570 |      |      |      | 1575 |     |      |      |      |     | 1580 |      |      |      |     |      |  |
| aag | tca  | cca  | gaa  | aaa  | aca  | gct | ttt  | aag  | aaa  | aag | gat  | acc  | att  | ttg  | tcc | 4800 |  |
| Lys | Ser  | Pro  | Glu  | Lys  | Thr  | Ala | Phe  | Lys  | Lys  | Lys | Asp  | Thr  | Ile  | Leu  | Ser |      |  |
|     | 1585 |      |      | 1590 |      |     |      | 1595 |      |     |      |      |      | 1600 |     |      |  |
| ctg | aac  | gct  | tgt  | gaa  | agc  | aat | cat  | gca  | ata  | gca | gca  | ata  | aat  | gag  | gga | 4848 |  |
| Leu | Asn  | Ala  | Cys  | Glu  | Ser  | Asn | His  | Ala  | Ile  | Ala | Ala  | Ile  | Asn  | Glu  | Gly |      |  |
|     |      | 1605 |      |      |      |     |      | 1610 |      |     |      |      | 1615 |      |     |      |  |
| caa | aat  | aag  | ccc  | gaa  | ata  | gaa | gtc  | acc  | tgg  | gca | aag  | caa  | ggt  | agg  | act | 4896 |  |
| Gln | Asn  | Lys  | Pro  | Glu  | Ile  | Glu | Val  | Thr  | Trp  | Ala | Lys  | Gln  | Gly  | Arg  | Thr |      |  |
|     |      | 1620 |      |      |      |     | 1625 |      |      |     |      | 1630 |      |      |     |      |  |
| gaa | agg  | ctg  | tgc  | tct  | caa  | aac | cca  | cca  | gtc  | ttg | aaa  | cgc  | cat  | caa  | cgg | 4944 |  |
| Glu | Arg  | Leu  | Cys  | Ser  | Gln  | Asn | Pro  | Pro  | Val  | Leu | Lys  | Arg  | His  | Gln  | Arg |      |  |
|     | 1635 |      |      |      | 1640 |     |      |      | 1645 |     |      |      |      |      |     |      |  |
| gaa | ata  | act  | cgt  | act  | act  | ctt | cag  | tca  | gat  | caa | gag  | gaa  | att  | gac  | tat | 4992 |  |
| Glu | Ile  | Thr  | Arg  | Thr  | Thr  | Gln | Gln  | Ser  | Asp  | Gln | Glu  | Glu  | Ile  | Asp  | Tyr |      |  |
|     | 1650 |      |      |      | 1655 |     |      |      | 1660 |     |      |      |      |      |     |      |  |
| gat | gat  | acc  | ata  | tca  | ggt  | gaa | atg  | aag  | aag  | gaa | gat  | ttt  | gac  | att  | tat | 5040 |  |
| Asp | Asp  | Thr  | Ile  | Ser  | Val  | Glu | Met  | Lys  | Lys  | Glu | Asp  | Phe  | Asp  | Ile  | Tyr |      |  |
|     | 1665 |      |      | 1670 |      |     |      | 1675 |      |     |      |      | 1680 |      |     |      |  |
| gat | gag  | gat  | gaa  | aat  | cag  | agc | ccc  | cgc  | agc  | ttt | caa  | aag  | aaa  | aca  | cga | 5088 |  |
| Asp | Glu  | Asp  | Glu  | Asn  | Gln  | Ser | Pro  | Arg  | Ser  | Phe | Gln  | Lys  | Lys  | Thr  | Arg |      |  |
|     |      | 1685 |      |      |      |     | 1690 |      |      |     |      | 1695 |      |      |     |      |  |
| cac | tat  | ttt  | att  | gct  | gca  | gtg | gag  | agg  | ctc  | tgg | gat  | tat  | ggg  | atg  | agt | 5136 |  |
| His | Tyr  | Phe  | Ile  | Ala  | Ala  | Val | Glu  | Arg  | Leu  | Trp | Asp  | Tyr  | Gly  | Met  | Ser |      |  |
|     | 1700 |      |      |      |      |     | 1705 |      |      |     |      | 1710 |      |      |     |      |  |
| agc | tcc  | cca  | cat  | ggt  | cta  | aga | aac  | agg  | gct  | cag | agt  | ggc  | agt  | gtc  | cct | 5184 |  |
| Ser | Ser  | Pro  | His  | Val  | Leu  | Arg | Asn  | Arg  | Ala  | Gln | Ser  | Gly  | Ser  | Val  | Pro |      |  |
|     | 1715 |      |      |      | 1720 |     |      |      | 1725 |     |      |      |      |      |     |      |  |
| cag | ttc  | aag  | aaa  | ggt  | ggt  | ttc | cag  | gaa  | ttt  | act | gat  | ggc  | tcc  | ttt  | act | 5232 |  |
| Gln | Phe  | Lys  | Lys  | Val  | Val  | Phe | Gln  | Glu  | Phe  | Thr | Asp  | Gly  | Ser  | Phe  | Thr |      |  |
|     | 1730 |      |      |      | 1735 |     |      |      | 1740 |     |      |      |      |      |     |      |  |



|   |      |
|---|------|
| cag ccc tta tac cgt gga gaa cta aat gaa cat ttg gga ctc ctg ggg<br>Gln Pro Leu Tyr Arg Gly Glu Leu Asn Glu His Leu Gly Leu Leu Gly<br>1745 1750 1755 1760 | 5280 |
| cca tat ata aga gca gaa gtt gaa gat aat atc atg gta act ttc aga<br>Pro Tyr Ile Arg Ala Glu Val Glu Asp Asn Ile Met Val Thr Phe Arg<br>1765 1770 1775      | 5328 |
| aat cag gcc tct cgt ccc tat tcc ttc tat tct agc ctt att tct tat<br>Asn Gln Ala Ser Arg Pro Tyr Ser Phe Tyr Ser Ser Leu Ile Ser Tyr<br>1780 1785 1790      | 5376 |
| gag gaa gat cag agg caa gga gca gaa cct aga aaa aac ttt gtc aag<br>Glu Glu Asp Gln Arg Gln Gly Ala Glu Pro Arg Lys Asn Phe Val Lys<br>1795 1800 1805      | 5424 |
| cct aat gaa acc aaa act tac ttt tgg aaa gtg caa cat cat atg gca<br>Pro Asn Glu Thr Lys Thr Tyr Phe Trp Lys Val Gln His His Met Ala<br>1810 1815 1820      | 5472 |
| ccc act aaa gat gag ttt gac tgc aaa gcc tgg gct tat ttc tct gat<br>Pro Thr Lys Asp Glu Phe Asp Cys Lys Ala Trp Ala Tyr Phe Ser Asp<br>1825 1830 1835 1840 | 5520 |
| gtt gac ctg gaa aaa gat gtg cac tca ggc ctg att gga ccc ctt ctg<br>Val Asp Leu Glu Lys Asp Val His Ser Gly Leu Ile Gly Pro Leu Leu<br>1845 1850 1855      | 5568 |
| gtc tgc cac act aac aca ctg aac cct gct cat ggg aga caa gtg aca<br>Val Cys His Thr Asn Thr Leu Asn Pro Ala His Gly Arg Gln Val Thr<br>1860 1865 1870      | 5616 |
| gta cag gaa ttt gct ctg ttt ttc acc atc ttt gat gag acc aaa agc<br>Val Gln Glu Phe Ala Leu Phe Phe Thr Ile Phe Asp Glu Thr Lys Ser<br>1875 1880 1885      | 5664 |
| tgg tac ttc act gaa aat atg gaa aga aac tgc agg gct ccc tgc aat<br>Trp Tyr Phe Thr Glu Asn Met Glu Arg Asn Cys Arg Ala Pro Cys Asn<br>1890 1895 1900      | 5712 |
| atc cag atg gaa gat ccc act ttt aaa gag aat tat cgc ttc cat gca<br>Ile Gln Met Glu Asp Pro Thr Phe Lys Glu Asn Tyr Arg Phe His Ala<br>1905 1910 1915 1920 | 5760 |
| atc aat ggc tac ata atg gat aca cta cct ggc tta gta atg gct cag<br>Ile Asn Gly Tyr Ile Met Asp Thr Leu Pro Gly Leu Val Met Ala Gln<br>1925 1930 1935      | 5808 |
| gat caa agg att cga tgg tat ctg ctc agc atg ggc agc aat gaa aac<br>Asp Gln Arg Ile Arg Trp Tyr Leu Leu Ser Met Gly Ser Asn Glu Asn<br>1940 1945 1950      | 5856 |
| atc cat tct att cat ttc agt gga cat gtg ttc act gta cga aaa aaa<br>Ile His Ser Ile His Phe Ser Gly His Val Phe Thr Val Arg Lys Lys<br>1955 1960 1965      | 5904 |
| gag gag tat aaa atg gca ctg tac aat ctc tat cca ggt gtt ttt gag<br>Glu Glu Tyr Lys Met Ala Leu Tyr Asn Leu Tyr Pro Gly Val Phe Glu<br>1970 1975 1980      | 5952 |
| aca gtg gaa atg tta cca tcc aaa gct gga att tgg cgg gtg gaa tgc<br>Thr Val Glu Met Leu Pro Ser Lys Ala Gly Ile Trp Arg Val Glu Cys<br>1985 1990 1995 2000 | 6000 |
| ctt att ggc gag cat cta cat gct ggg atg agc aca ctt ttt ctg gtg   | 6048 |

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

ctc ttt ttt cag aat ggc aaa gta aag gtt ttt cag gga aat caa gac  
 Leu Phe Phe Gln Asn Gly Lys Val Lys Val Phe Gln Gly Asn Gln Asp  
 2275 2280 2285  
 tcc ttc aca cct gtg gtg aac tct cta gac cca ccg tta ctg act cgc  
 Ser Phe Thr Pro Val Val Asn Ser Leu Asp Pro Pro Leu Leu Thr Arg  
 2290 2295 2300  
 tac ctt cga att cac ccc cag agt tgg gtg cac cag att gcc ctg agg  
 Tyr Leu Arg Ile His Pro Gln Ser Trp Val His Gln Ile Ala Leu Arg  
 2305 2310 2315 2320  
 atg gag gtt ctg ggc tgc gag gca cag gac ctc tac  
 Met Glu Val Leu Gly Cys Glu Ala Gln Asp Leu Tyr  
 2325 2330

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

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

Ala Arg Ala Trp Pro Lys Met His Thr Val Asn Gly Tyr Val Asn Arg  
 225 230 235 240  
 Ser Leu Pro Gly Leu Ile Gly Cys His Arg Lys Ser Val Tyr Trp His  
 245 250 255  
 Val Ile Gly Met Gly Thr Thr Pro Glu Val His Ser Ile Phe Leu Glu  
 260 265 270  
 Gly His Thr Phe Leu Val Arg Asn His Arg Gln Ala Ser Leu Glu Ile  
 275 280 285  
 Ser Pro Ile Thr Phe Leu Thr Ala Gln Thr Leu Leu Met Asp Leu Gly  
 290 295 300  
 Gln Phe Leu Leu Phe Cys His Ile Ser Ser His Gln His Asp Gly Met  
 305 310 315 320  
 Glu Ala Tyr Val Lys Val Asp Ser Cys Pro Glu Glu Pro Gln Leu Arg  
 325 330 335  
 Met Lys Asn Asn Glu Glu Ala Glu Asp Tyr Asp Asp Asp Leu Thr Asp  
 340 345 350  
 Ser Glu Met Asp Val Val Arg Phe Asp Asp Asp Asn Ser Pro Ser Phe  
 355 360 365  
 Ile Gln Ile Arg Ser Val Ala Lys Lys His Pro Lys Thr Trp Val His  
 370 375 380  
 Tyr Ile Ala Ala Glu Glu Glu Asp Trp Asp Tyr Ala Pro Leu Val Leu  
 385 390 395 400  
 Ala Pro Asp Asp Arg Ser Tyr Lys Ser Gln Tyr Leu Asn Asn Gly Pro  
 405 410 415  
 Gln Arg Ile Gly Arg Lys Tyr Lys Lys Val Arg Phe Met Ala Tyr Thr  
 420 425 430  
 Asp Glu Thr Phe Lys Thr Arg Glu Ala Ile Gln His Glu Ser Gly Ile  
 435 440 445  
 Leu Gly Pro Leu Leu Tyr Gly Glu Val Gly Asp Thr Leu Leu Ile Ile  
 450 455 460  
 Phe Lys Asn Gln Ala Ser Arg Pro Tyr Asn Ile Tyr Pro His Gly Ile  
 465 470 475 480  
 Thr Asp Val Arg Pro Leu Tyr Ser Arg Arg Leu Pro Lys Gly Val Lys  
 485 490 495  
 His Leu Lys Asp Phe Pro Ile Leu Pro Gly Glu Ile Phe Lys Tyr Lys  
 500 505 510  
 Trp Thr Val Thr Val Glu Asp Gly Pro Thr Lys Ser Asp Pro Arg Cys  
 515 520 525  
 Leu Thr Arg Tyr Tyr Ser Ser Phe Val Asn Met Glu Arg Asp Leu Ala  
 530 535 540  
 Ser Gly Leu Ile Gly Pro Leu Leu Ile Cys Tyr Lys Glu Ser Val Asp  
 545 550 555 560  
 Gln Arg Gly Asn Gln Ile Met Ser Asp Lys Arg Asn Val Ile Leu Phe  
 565 570 575

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

Leu Thr Glu Ser Gly Gly Pro Leu Ser Leu Ser Glu Glu Asn Asn Asp  
 930 935 940  
 Ser Lys Leu Leu Glu Ser Gly Leu Met Asn Ser Gln Glu Ser Ser Trp  
 945 950 955 960  
 Gly Lys Asn Val Ser Ser Thr Glu Ser Gly Arg Leu Phe Lys Gly Lys  
 965 970 975  
 Arg Ala His Gly Pro Ala Leu Leu Thr Lys Asp Asn Ala Leu Phe Lys  
 980 985 990  
 Val Ser Ile Ser Leu Leu Lys Thr Asn Lys Thr Ser Asn Asn Ser Ala  
 995 1000 1005  
 Thr Asn Arg Lys Thr His Ile Asp Gly Pro Ser Leu Leu Ile Glu Asn  
 1010 1015 1020  
 Ser Pro Ser Val Trp Gln Asn Ile Leu Glu Ser Asp Thr Glu Phe Lys  
 1025 1030 1035 1040  
 Lys Val Thr Pro Leu Ile His Asp Arg Met Leu Met Asp Lys Asn Ala  
 1045 1050 1055  
 Thr Ala Leu Arg Leu Asn His Met Ser Asn Lys Thr Thr Ser Ser Lys  
 1060 1065 1070  
 Asn Met Glu Met Val Gln Gln Lys Lys Glu Gly Pro Ile Pro Pro Asp  
 1075 1080 1085  
 Ala Gln Asn Pro Asp Met Ser Phe Phe Lys Met Leu Phe Leu Pro Glu  
 1090 1095 1100  
 Ser Ala Arg Trp Ile Gln Arg Thr His Gly Lys Asn Ser Leu Asn Ser  
 1105 1110 1115 1120  
 Gly Gln Gly Pro Ser Pro Lys Gln Leu Val Ser Leu Gly Pro Glu Lys  
 1125 1130 1135  
 Ser Val Glu Gly Gln Asn Phe Leu Ser Glu Lys Asn Lys Val Val Val  
 1140 1145 1150  
 Gly Lys Gly Glu Phe Thr Lys Asp Val Gly Leu Lys Glu Met Val Phe  
 1155 1160 1165  
 Pro Ser Ser Arg Asn Leu Phe Leu Thr Asn Leu Asp Asn Leu His Glu  
 1170 1175 1180  
 Asn Asn Thr His Asn Gln Glu Lys Lys Ile Gln Glu Glu Ile Glu Lys  
 1185 1190 1195 1200  
 Lys Glu Thr Leu Ile Gln Glu Asn Val Val Leu Pro Gln Ile His Thr  
 1205 1210 1215  
 Val Thr Gly Thr Lys Asn Phe Met Lys Asn Leu Phe Leu Leu Ser Thr  
 1220 1225 1230  
 Arg Gln Asn Val Glu Gly Ser Tyr Glu Gly Ala Tyr Ala Pro Val Leu  
 1235 1240 1245  
 Gln Asp Phe Arg Ser Leu Asn Asp Ser Thr Asn Arg Thr Lys Lys His  
 1250 1255 1260  
 Thr Ala His Phe Ser Lys Lys Gly Glu Glu Glu Asn Leu Glu Gly Leu  
 1265 1270 1275 1280

Gly Asn Gln Thr Lys Gln Ile Val Glu Lys Tyr Ala Cys Thr Thr Arg  
 1285 1290 1295  
 Ile Ser Pro Asn Thr Ser Gln Gln Asn Phe Val Thr Gln Arg Ser Lys  
 1300 1305 1310  
 Arg Ala Leu Lys Gln Phe Arg Leu Pro Leu Glu Glu Thr Glu Leu Glu  
 1315 1320 1325  
 Lys Arg Ile Ile Val Asp Asp Thr Ser Thr Gln Trp Ser Lys Asn Met  
 1330 1335 1340  
 Lys His Leu Thr Pro Ser Thr Leu Thr Gln Ile Asp Tyr Asn Glu Lys  
 345 1350 1355 1360  
 Glu Lys Gly Ala Ile Thr Gln Ser Pro Leu Ser Asp Cys Leu Thr Arg  
 1365 1370 1375  
 Ser His Ser Ile Pro Gln Ala Asn Arg Ser Pro Leu Pro Ile Ala Lys  
 1380 1385 1390  
 Val Ser Ser Phe Pro Ser Ile Arg Pro Ile Tyr Leu Thr Arg Val Leu  
 1395 1400 1405  
 Phe Gln Asp Asn Ser Ser His Leu Pro Ala Ala Ser Tyr Arg Lys Lys  
 1410 1415 1420  
 Asp Ser Gly Val Gln Glu Ser Ser His Phe Leu Gln Gly Ala Lys Lys  
 425 1430 1435 1440  
 Asn Asn Leu Ser Leu Ala Ile Leu Thr Leu Glu Met Thr Gly Asp Gln  
 1445 1450 1455  
 Arg Glu Val Gly Ser Leu Gly Thr Ser Ala Thr Asn Ser Val Thr Tyr  
 1460 1465 1470  
 Lys Lys Val Glu Asn Thr Val Leu Pro Lys Pro Asp Leu Pro Lys Thr  
 1475 1480 1485  
 Ser Gly Lys Val Glu Leu Leu Pro Lys Val His Ile Tyr Gln Lys Asp  
 1490 1495 1500  
 Leu Phe Pro Thr Glu Thr Ser Asn Gly Ser Pro Gly His Leu Asp Leu  
 505 1510 1515 1520  
 Val Glu Gly Ser Leu Leu Gln Gly Thr Glu Gly Ala Ile Lys Trp Asn  
 1525 1530 1535  
 Glu Ala Asn Arg Pro Gly Lys Val Pro Phe Leu Arg Val Ala Thr Glu  
 1540 1545 1550  
 Ser Ser Ala Lys Thr Pro Ser Lys Leu Leu Asp Pro Leu Ala Trp Asp  
 1555 1560 1565  
 Asn His Tyr Gly Thr Gln Ile Pro Lys Glu Glu Trp Lys Ser Gln Glu  
 1570 1575 1580  
 Lys Ser Pro Glu Lys Thr Ala Phe Lys Lys Lys Asp Thr Ile Leu Ser  
 585 1590 1595 1600  
 Leu Asn Ala Cys Glu Ser Asn His Ala Ile Ala Ala Ile Asn Glu Gly  
 1605 1610 1615  
 Gln Asn Lys Pro Glu Ile Glu Val Thr Trp Ala Lys Gln Gly Arg Thr  
 1620 1625 1630

Glu Arg Leu Cys Ser Gln Asn Pro Pro Val Leu Lys Arg His Gln Arg  
 1635 1640 1645  
 Glu Ile Thr Arg Thr Thr Leu Gln Ser Asp Gln Glu Glu Ile Asp Tyr  
 1650 1655 1660  
 Asp Asp Thr Ile Ser Val Glu Met Lys Lys Glu Asp Phe Asp Ile Tyr  
 665 1670 1675 1680  
 Asp Glu Asp Glu Asn Gln Ser Pro Arg Ser Phe Gln Lys Lys Thr Arg  
 1685 1690 1695  
 His Tyr Phe Ile Ala Ala Val Glu Arg Leu Trp Asp Tyr Gly Met Ser  
 1700 1705 1710  
 Ser Ser Pro His Val Leu Arg Asn Arg Ala Gln Ser Gly Ser Val Pro  
 1715 1720 1725  
 Gln Phe Lys Lys Val Val Phe Gln Glu Phe Thr Asp Gly Ser Phe Thr  
 1730 1735 1740  
 Gln Pro Leu Tyr Arg Gly Glu Leu Asn Glu His Leu Gly Leu Leu Gly  
 745 1750 1755 1760  
 Pro Tyr Ile Arg Ala Glu Val Glu Asp Asn Ile Met Val Thr Phe Arg  
 1765 1770 1775  
 Asn Gln Ala Ser Arg Pro Tyr Ser Phe Tyr Ser Ser Leu Ile Ser Tyr  
 1780 1785 1790  
 Glu Glu Asp Gln Arg Gln Gly Ala Glu Pro Arg Lys Asn Phe Val Lys  
 1795 1800 1805  
 Pro Asn Glu Thr Lys Thr Tyr Phe Trp Lys Val Gln His His Met Ala  
 1810 1815 1820  
 Pro Thr Lys Asp Glu Phe Asp Cys Lys Ala Trp Ala Tyr Phe Ser Asp  
 825 1830 1835 1840  
 Val Asp Leu Glu Lys Asp Val His Ser Gly Leu Ile Gly Pro Leu Leu  
 1845 1850 1855  
 Val Cys His Thr Asn Thr Leu Asn Pro Ala His Gly Arg Gln Val Thr  
 1860 1865 1870  
 Val Gln Glu Phe Ala Leu Phe Phe Thr Ile Phe Asp Glu Thr Lys Ser  
 1875 1880 1885  
 Trp Tyr Phe Thr Glu Asn Met Glu Arg Asn Cys Arg Ala Pro Cys Asn  
 1890 1895 1900  
 Ile Gln Met Glu Asp Pro Thr Phe Lys Glu Asn Tyr Arg Phe His Ala  
 905 1910 1915 1920  
 Ile Asn Gly Tyr Ile Met Asp Thr Leu Pro Gly Leu Val Met Ala Gln  
 1925 1930 1935  
 Asp Gln Arg Ile Arg Trp Tyr Leu Leu Ser Met Gly Ser Asn Glu Asn  
 1940 1945 1950  
 Ile His Ser Ile His Phe Ser Gly His Val Phe Thr Val Arg Lys Lys  
 1955 1960 1965  
 Glu Glu Tyr Lys Met Ala Leu Tyr Asn Leu Tyr Pro Gly Val Phe Glu  
 1970 1975 1980



Thr Val Glu Met Leu Pro Ser Lys Ala Gly Ile Trp Arg Val Glu Cys  
 985 1990 1995 2000  
 Leu Ile Gly Glu His Leu His Ala Gly Met Ser Thr Leu Phe Leu Val  
 2005 2010 2015  
 Tyr Ser Asn Lys Cys Gln Thr Pro Leu Gly Met Ala Ser Gly His Ile  
 2020 2025 2030  
 Arg Asp Phe Gln Ile Thr Ala Ser Gly Gln Tyr Gly Gln Trp Ala Pro  
 2035 2040 2045  
 Lys Leu Ala Arg Leu His Tyr Ser Gly Ser Ile Asn Ala Trp Ser Thr  
 2050 2055 2060  
 Lys Glu Pro Phe Ser Trp Ile Lys Val Asp Leu Leu Ala Pro Met Ile  
 065 2070 2075 2080  
 Ile His Gly Ile Lys Thr Gln Gly Ala Arg Gln Lys Phe Ser Ser Leu  
 2085 2090 2095  
 Tyr Ile Ser Gln Phe Ile Ile Met Tyr Ser Leu Asp Gly Lys Lys Trp  
 2100 2105 2110  
 Gln Thr Tyr Arg Gly Asn Ser Thr Gly Thr Leu Met Val Phe Phe Gly  
 2115 2120 2125  
 Asn Val Asp Ser Ser Gly Ile Lys His Asn Ile Phe Asn Pro Pro Ile  
 2130 2135 2140  
 Ile Ala Arg Tyr Ile Arg Leu His Pro Thr His Tyr Ser Ile Arg Ser  
 145 2150 2155 2160  
 Thr Leu Arg Met Glu Leu Met Gly Cys Asp Leu Asn Ser Cys Ser Met  
 2165 2170 2175  
 Pro Leu Gly Met Glu Ser Lys Ala Ile Ser Asp Ala Gln Ile Thr Ala  
 2180 2185 2190  
 Ser Ser Tyr Phe Thr Asn Met Phe Ala Thr Trp Ser Pro Ser Lys Ala  
 2195 2200 2205  
 Arg Leu His Leu Gln Gly Arg Ser Asn Ala Trp Arg Pro Gln Val Asn  
 2210 2215 2220  
 Asn Pro Lys Glu Trp Leu Gln Val Asp Phe Gln Lys Thr Met Lys Val  
 225 2230 2235 2240  
 Thr Gly Val Thr Thr Gln Gly Val Lys Ser Leu Leu Thr Ser Met Tyr  
 2245 2250 2255  
 Val Lys Glu Phe Leu Ile Ser Ser Ser Gln Asp Gly His Gln Trp Thr  
 2260 2265 2270  
 Leu Phe Phe Gln Asn Gly Lys Val Lys Val Phe Gln Gly Asn Gln Asp  
 2275 2280 2285  
 Ser Phe Thr Pro Val Val Asn Ser Leu Asp Pro Pro Leu Leu Thr Arg  
 2290 2295 2300  
 Tyr Leu Arg Ile His Pro Gln Ser Trp Val His Gln Ile Ala Leu Arg  
 305 2310 2315 2320  
 Met Glu Val Leu Gly Cys Glu Ala Gln Asp Leu Tyr  
 2325 2330

<210> 3  
<211> 8720  
<212> DNA  
<213> Artificial Sequence

<220>  
<223> Description of Artificial Sequence: pTGF8-1

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

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

<400> 3  
cgcggttgaca ttgattattg actagttatt aatagtaatc aattacgggg tcattagttc 60  
atagcccata tatggagttc cgcggttacat aacttacggt aaatggcccg cctggctgac 120  
cgcccaacga cccccgccca ttgacgtcaa taatgacgta tgttcccata gtaacgccaa 180  
tagggacttt ccattgacgt caatgggtgg agtatttacg gtaaaactgcc cacttggcag 240  
tacatcaagt gtatcatatg ccaagtacgc cccctattga cgtcaatgac ggtaaattggc 300  
ccgcctggca ttatgccag tacatgacct tatgggactt tctacttgg cagtacatct 360  
acgtattagt catcgctatt accatgggtga tgcggttttg gcagtacatc aatgggcgtg 420  
gatagcgggtt tgactcacgg ggatttccaa gtctccacc cattgacgtc aatgggagtt 480  
tgttttggca ccaaaatcaa cgggactttc caaaatgtcg taacaactcc gcccattga 540  
cgcaaatggg cggtaggcgt gtacggtggg aggtctatat aagcagagct ctctggctaa 600  
ctagagaacc cactgcttac tggcttatcg aaattaatac gactcactat agggagaccc 660  
aagcttgacc tcgag atg caa ata gag ctg tcc acc tgc ttc ttt ctg tgc 711  
Met Gln Ile Glu Leu Ser Thr Cys Phe Phe Leu Cys  
-15 -10  
ctt ttg cga ttc tgc ttt agt gcc acc aga aga tac tac ctg ggt gca 759  
Leu Leu Arg Phe Cys Phe Ser Ala Thr Arg Arg Tyr Tyr Leu Gly Ala  
-5 -1 1 5  
gtg gaa ctg tca tgg gac tat atg caa agt gat ctg ggt gag ctg cct 807  
Val Glu Leu Ser Trp Asp Tyr Met Gln Ser Asp Leu Gly Glu Leu Pro  
10 15 20 25  
gtg gac gca aga ttt cct cct aga gtg cca aaa tct ttt cca ttc aac 855  
Val Asp Ala Arg Phe Pro Pro Arg Val Pro Lys Ser Phe Pro Phe Asn  
30 35 40  
acc tca gtc gtg tac aaa aag act ctg ttt gta gaa ttc acg gat cac 903  
Thr Ser Val Val Tyr Lys Lys Thr Leu Phe Val Glu Phe Thr Asp His  
45 50 55  
ctt ttc aac atc gct aag cca agg cca ccc tgg atg ggt ctg cta ggt 951  
Leu Phe Asn Ile Ala Lys Pro Arg Pro Pro Trp Met Gly Leu Leu Gly  
60 65 70  
cct acc atc cag gct gag gtt tat gat aca gtg gtc att aca ctt aag 999

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |      |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|------|
| Pro | Thr | Ile | Gln | Ala | Glu | Val | Tyr | Asp | Thr | Val | Val | Ile | Thr | Leu | Lys |      |
|     | 75  |     |     |     |     | 80  |     |     |     |     | 85  |     |     |     |     |      |
| aac | atg | gct | tcc | cat | cct | gtc | agt | ctt | cat | gct | gtt | ggc | gta | tcc | tac | 1047 |
| Asn | Met | Ala | Ser | His | Pro | Val | Ser | Leu | His | Ala | Val | Gly | Val | Ser | Tyr |      |
|     | 90  |     |     |     | 95  |     |     |     |     | 100 |     |     |     | 105 |     |      |
| tgg | aaa | gct | tct | gag | gga | gct | gaa | tat | gat | gat | cag | acc | agt | caa | agg | 1095 |
| Trp | Lys | Ala | Ser | Glu | Gly | Ala | Glu | Tyr | Asp | Asp | Gln | Thr | Ser | Gln | Arg |      |
|     |     |     |     | 110 |     |     |     |     | 115 |     |     |     |     | 120 |     |      |
| gag | aaa | gaa | gat | gat | aaa | gtc | ttc | cct | ggc | gga | agc | cat | aca | tat | gtc | 1143 |
| Glu | Lys | Glu | Asp | Asp | Lys | Val | Phe | Pro | Gly | Gly | Ser | His | Thr | Tyr | Val |      |
|     |     |     | 125 |     |     |     |     | 130 |     |     |     |     | 135 |     |     |      |
| tgg | cag | gtc | ctg | aaa | gag | aat | ggc | cca | atg | gcc | tct | gac | cca | ctg | tgc | 1191 |
| Trp | Gln | Val | Leu | Lys | Glu | Asn | Gly | Pro | Met | Ala | Ser | Asp | Pro | Leu | Cys |      |
|     | 140 |     |     |     |     | 145 |     |     |     |     |     | 150 |     |     |     |      |
| ctt | acc | tac | tca | tat | ctt | tct | cat | gcg | gac | ctg | gta | aaa | gac | ttg | aat | 1239 |
| Leu | Thr | Tyr | Ser | Tyr | Leu | Ser | His | Ala | Asp | Leu | Val | Lys | Asp | Leu | Asn |      |
|     | 155 |     |     |     |     | 160 |     |     |     |     | 165 |     |     |     |     |      |
| tca | ggc | ctc | att | gga | gcc | cta | cta | gta | tgt | aga | gaa | ggg | agt | ctg | gcc | 1287 |
| Ser | Gly | Leu | Ile | Gly | Ala | Leu | Leu | Val | Cys | Arg | Glu | Gly | Ser | Leu | Ala |      |
|     | 170 |     |     |     | 175 |     |     |     |     | 180 |     |     |     |     | 185 |      |
| aag | gaa | aag | aca | cag | acc | ttg | cac | aaa | ttt | ata | cta | ctt | ttt | gct | gta | 1335 |
| Lys | Glu | Lys | Thr | Gln | Thr | Leu | His | Lys | Phe | Ile | Leu | Leu | Phe | Ala | Val |      |
|     |     |     |     | 190 |     |     |     |     | 195 |     |     |     |     | 200 |     |      |
| ttt | gat | gaa | ggg | aaa | agt | tgg | cac | tca | gaa | aca | aag | aac | tcc | ttg | atg | 1383 |
| Phe | Asp | Glu | Arg | Lys | Ser | Trp | His | Ser | Glu | Thr | Lys | Asn | Ser | Leu | Met |      |
|     |     | 205 |     |     |     |     |     | 210 |     |     |     |     | 215 |     |     |      |
| cag | gat | agg | gat | gct | gca | tct | gct | cgg | gcc | tgg | cct | aaa | atg | cac | aca | 1431 |
| Gln | Asp | Arg | Asp | Ala | Ala | Ser |     | Arg | Ala | Trp | Pro | Lys | Met | His | Thr |      |
|     |     | 220 |     |     |     |     | 225 |     |     |     |     | 230 |     |     |     |      |
| gtc | aat | ggc | tat | gta | aac | agg | tct | ctg | cca | ggc | ctg | att | gga | tgc | cac | 1479 |
| Val | Asn | Gly | Tyr | Val | Asn | Arg | Ser | Leu | Pro | Gly | Leu | Ile | Gly | Cys | His |      |
|     | 235 |     |     |     |     | 240 |     |     |     |     | 245 |     |     |     |     |      |
| agg | aaa | tca | gtc | tat | tgg | cat | gtg | att | gga | atg | ggc | acc | act | cct | gaa | 1527 |
| Arg | Lys | Ser | Val | Tyr | Trp | His | Val | Ile | Gly | Met | Gly | Thr | Thr | Pro | Glu |      |
|     | 250 |     |     |     | 255 |     |     |     |     | 260 |     |     |     |     | 265 |      |
| gtg | cac | tca | ata | ttc | ctc | gaa | ggc | cac | aca | ttt | ctt | gtg | agg | aac | cat | 1575 |
| Val | His | Ser | Ile | Phe | Leu | Glu | Gly | His | Thr | Phe | Leu | Val | Arg | Asn | His |      |
|     |     |     |     | 270 |     |     |     |     | 275 |     |     |     |     | 280 |     |      |
| cgc | cag | gcg | tcc | ttg | gaa | atc | tcg | cca | ata | act | ttc | ctt | act | gct | caa | 1623 |
| Arg | Gln | Ala | Ser | Leu | Glu | Ile | Ser | Pro | Ile | Thr | Phe | Leu | Thr | Ala | Gln |      |
|     |     |     | 285 |     |     |     |     | 290 |     |     |     |     | 295 |     |     |      |
| aca | ctc | ttg | atg | gac | ctt | gga | cag | ttt | cta | ctg | ttt | tgt | cat | atc | tct | 1671 |
| Thr | Leu | Leu | Met | Asp | Leu | Gly | Gln | Phe | Leu | Leu | Phe | Cys | His | Ile | Ser |      |
|     |     | 300 |     |     |     |     | 305 |     |     |     |     | 310 |     |     |     |      |
| tcc | cac | caa | cat | gat | ggc | atg | gaa | gct | tat | gtc | aaa | gta | gac | agc | tgt | 1719 |
| Ser | His | Gln | His | Asp | Gly | Met | Glu | Ala | Tyr | Val | Lys | Val | Asp | Ser | Cys |      |
|     |     | 315 |     |     |     | 320 |     |     |     |     | 325 |     |     |     |     |      |
| cca | gag | gaa | ccc | caa | cta | cga | atg | aaa | aat | aat | gaa | gaa | gcg | gaa | gac | 1767 |
| Pro | Glu | Glu | Pro | Gln | Leu | Arg | Met | Lys | Asn | Asn | Glu | Glu | Ala | Glu | Asp |      |
|     | 330 |     |     |     | 335 |     |     |     |     | 340 |     |     |     |     | 345 |      |

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

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

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

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

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

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

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

tgtgaaggaa ccttactttct gtggtgtgac ataattggac aaactaccta cagagattta 5142  
 aagctctaag gtaaatataa aatttttaag tgtataatgt gttaaactac tgattctaata 5202  
 tgtttgtgta ttttagattc caacctatgg aactgatgaa tgggagcagt ggtggaatgc 5262  
 cttaaatgag gaaaacctgt tttgctcaga agaaatgcc a tctagtgatg atgaggctac 5322  
 tgctgactct caacattcta ctctccaaa aaagaagaga aaggtagaag accccaagga 5382  
 ctttcttca gaattgctaa gttttttgag tcatgctgtg ttttagtaata gaactcttgc 5442  
 ttgctttgct atttacacca caaaggaaaa agctgcactg ctatacaaga aaattatgga 5502  
 aaaatattct gtaaccttta taagtaggca taacagttat aatcataaca tactgttttt 5562  
 tcttactcca cacaggcata gagtgtctgc tattaataac tatgctcaa aattgtgtac 5622  
 ctttagcttt ttaatttgta aaggggttaa taaggaatat ttgatgtata gtgccttgac 5682  
 tagagatcat aatcagccat accacatttg tagaggtttt acttgcttta aaaaacctcc 5742  
 cacacctccc cctgaacctg aaacataaaa tgaatgcaat tgttgttgtt aacttgttta 5802  
 ttgcagctta taatggttac aaataaagca atagcatcac aaatttcaca aataaagcat 5862  
 ttttttctact gcattctagt tgtggtttgt ccaaactcat caatgtatct tatcatgtct 5922  
 ggatccccgg gtacctcta gagcgaatta attcactggc cgtcgtttta caacgtcgtg 5982  
 actgggaaaa cctggcggtt acccaactta atcgccctgc agcacatccc cctttcgcca 6042  
 gctggcgtaa tagcgaagag gcccgaccg atcgcccttc ccaacagttg cgcagcctga 6102  
 atggcgaatg ggcctgatg cggatatttc tccttacgca tctgtgcggt atttcacacc 6162  
 gcatatggtg cactctcagt acaatctgct ctgatgccg atagttaagc cagccccgac 6222  
 acccgccaac acccgctgac ggcacctgac gggcttgtct gctcccgca tccgcttaca 6282  
 gacaagctgt gaccgtctcc gggagctgca tgtgtcagag gttttcaccg tcatcaccga 6342  
 aacgcgcgag acgaaagggg gggtagcagc ttcgtagcta gaacatcatg ttctgggata 6402  
 tcagcttcgt agctagaaca tcatgttctg gtacccccct cgtgatacgc ctatttttat 6462  
 aggttaatgt catgataata atggtttctt agacgtcagg tggcactttt cggggaaatg 6522  
 tgcgcggaac ccctatttgt ttatttttct aaatacatc aaatatgtat ccgctcatga 6582  
 gacaataaacc ctgataaatg cttcaataat attgaaaaag gaagagtatg agtattcaac 6642  
 atttcctgtg cgccttatt cccttttttg cggcattttg ccttctgtt ttgctcacc 6702



cagaaacgct ggtgaaagta aaagatgctg aagatcagtt ggggtgcacga gtgggttaca 6762  
tcgaactgga tctcaacagc ggtaagatcc ttgagagttt tcgccccgaa gaacgttttc 6822  
caatgatgag cacttttaaa gttctgctat gtggcgcggt attatcccggt attgacgccc 6882  
ggcaagagca actcggctgc cgcatacact attctcagaa tgacttggtt gagtactcac 6942  
cagtcacaga aaagcatctt acggatggca tgacagtaag agaattatgc agtgctgccca 7002  
taaccatgag tgataaact gcgccaact tacttctgac aacgatcgga ggaccgaagg 7062  
agctaaccgc ttttttgac aacatggggg atcatgtaac tcgccttgat cgttgggaa 7122  
cggagctgaa tgaagccata ccaaacgacg agcgtgacac cagcatgcct gtagcaatgg 7182  
caacaacggt gcgcaacta ttaactggcg aactacttac tctagcttcc cggcaacaat 7242  
taatagactg gatggaggcg gataaagttg caggaccact tctgcgctcg gcccttccgg 7302  
ctggctggtt tattgctgat aaatctggag cgggtgagcg tgggtctcgc ggtatcattg 7362  
cagcactggg gccagatggt aagccctccc gtatcgtagt tatctacacg acggggagtc 7422  
aggcaactat ggatgaacga aatagacaga tcgctgagat aggtgcctca ctgattaagc 7482  
attggtaact gtcagaccaa gtttactcat atatacttta gattgattta aaacttcatt 7542  
tttaatttaa aaggatctag gtgaagatcc tttttgataa tctcatgacc aaaatccctt 7602  
aacgtgagtt ttcgttcac tgagcgtcag accccgtaga aaagatcaaa ggatcttctt 7662  
gagatccttt tttctgcgc gtaatctgct gcttgcaaac aaaaaacca ccgctaccag 7722  
cggtggtttg tttgcggat caagagctac caactctttt tccgaaggta actggcttca 7782  
gcagagcgca gataccaaat actgtcttct agtgtagcgc tagttaggcc accacttcaa 7842  
gaactctgta gcaccgccta catacctcgc tctgctaate ctgttaaccag tggctgctgc 7902  
cagtggcgat aagtcgtgtc ttaccgggtt ggactcaaga cgatagttac cggataaggc 7962  
gcagcggctg ggctgaacgg ggggttcgtg cacacagccc agcttgagc gaacgacct 8022  
caccgaactg agatacctac agcgtgagct atgagaaagc gccacgcttc ccgaaggag 8082  
aaaggcggac aggtatccgg taagcggcag ggtcggaaac ggagagcgca cgagggagct 8142  
tccaggggga aacgcctggt atctttatag tcctgtcggg tttcgccacc tctgacttga 8202  
gcgtcgattt ttgtgatgct cgtcagggg gcgagccta tggaaaaacg ccagcaacgc 8262  
ggccttttta cggttcctgg ccttttgctg gccttttgct cacatgttct ttcctgctt 8322  
atccctgat tctgtggata accgtattac cgcctttgag tgagctgata ccgctcgccg 8382  
cagccgaacg accgagcgca gcgagtcagt gagcaggaa gcggaagagc gcccaatacg 8442  
caaacgcct ctcgccgc gttggccgat tcattaatgc agctggcacg acaggtttcc 8502  
cgactggaaa gcgggcagtg agcgcaacgc aattaatgtg agttagctca ctcataggc 8562  
acccaggtt ttacacttta tgcttccggc tcgtatgttg tgtggaattg tgagcggata 8622  
acaatttcac acaggaaaca gctatgacca tgattacgcc aagctctcta gagctctaga 8682

&lt;210&gt; 4

&lt;211&gt; 1459

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;223&gt; Description of Artificial Sequence: pTGF8-1

&lt;400&gt; 4

```

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

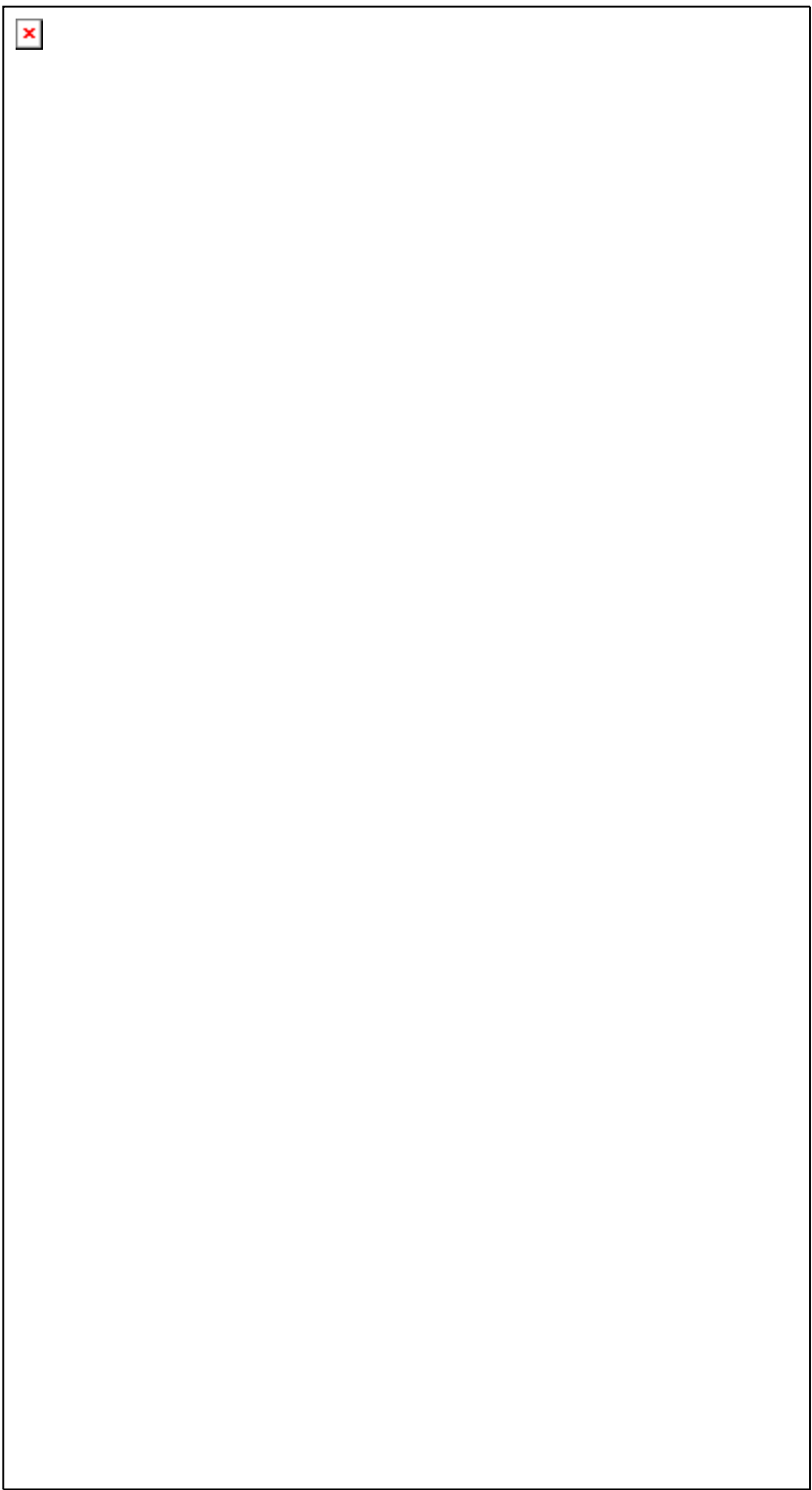
Phe Leu Glu Gly His Thr Phe Leu Val Arg Asn His Arg Gln Ala Ser

```

| 270  | 275                                    | 280                    | 285                |
|--|--|------------------------|--------------------|
| Leu Glu Ile Ser Pro<br>290                 | Ile Thr Phe Leu<br>295                 | Thr Ala Gln Thr<br>295 | Leu Leu Met<br>300 |
| Asp Leu Gly Gln Phe<br>305                 | Leu Leu Phe Cys<br>310                 | His Ile Ser Ser<br>315 | His Gln His<br>315 |
| Asp Gly Met Glu Ala Tyr Val<br>320         | Lys Val Asp Ser Cys<br>325             | Pro Glu Glu Pro<br>330 |                    |
| Gln Leu Arg Met Lys Asn Asn<br>335         | Glu Glu Ala Glu Asp<br>340             | Tyr Asp Asp Asp<br>345 |                    |
| Leu Thr Asp Ser Glu Met Asp Val<br>350     | Val Arg Phe Asp Asp<br>355             | Asp Asp Asn Ser<br>360 | 365                |
| Pro Ser Phe Ile Gln Ile Arg Ser Val<br>370 | Ala Lys Lys His<br>375                 | Pro Lys Thr<br>380     |                    |
| Trp Val His Tyr Ile Ala Ala Glu<br>385     | Glu Glu Asp Trp Asp<br>390             | Tyr Ala Pro<br>395     |                    |
| Leu Val Leu Ala Pro Asp Asp Arg<br>400     | Ser Tyr Lys Ser<br>405                 | Gln Tyr Leu Asn<br>410 |                    |
| Asn Gly Pro Gln Arg Ile Gly Arg<br>415     | Lys Tyr Lys Lys<br>420                 | Val Arg Phe Met<br>425 |                    |
| Ala Tyr Thr Asp Glu Thr Phe Lys<br>430     | Thr Arg Glu Ala Ile Gln His<br>435     | Glu<br>440             | 445                |
| Ser Gly Ile Leu Gly Pro Leu Leu Tyr<br>450 | Gly Glu Val Gly Asp Thr<br>455         | Leu<br>460             |                    |
| Leu Ile Ile Phe Lys Asn Gln Ala Ser<br>465 | Arg Pro Tyr Asn Ile Tyr Pro<br>470     |                        | 475                |
| His Gly Ile Thr Asp Val Arg Pro<br>480     | Leu Tyr Ser Arg Arg<br>485             | Leu Pro Lys<br>490     |                    |
| Gly Val Lys His Leu Lys Asp Phe<br>495     | Pro Ile Leu Pro Gly Glu Ile Phe<br>500 |                        | 505                |
| Lys Tyr Lys Trp Thr Val Thr Val Glu<br>510 | Asp Gly Pro Thr Lys Ser Asp<br>515     |                        | 520                |
| Pro Arg Cys Leu Thr Arg Tyr Tyr Ser<br>530 | Ser Phe Val Asn Met Glu Arg<br>535     |                        | 540                |
| Asp Leu Ala Ser Gly Leu Ile Gly Pro<br>545 | Leu Leu Ile Cys Tyr Lys Glu<br>550     |                        | 555                |
| Ser Val Asp Gln Arg Gly Asn Gln Ile<br>560 | Met Ser Asp Lys Arg Asn Val<br>565     |                        | 570                |
| Ile Leu Phe Ser Val Phe Asp Glu Asn<br>575 | Arg Ser Trp Tyr Leu Thr Glu<br>580     |                        | 585                |
| Asn Ile Gln Arg Phe Leu Pro Asn Pro<br>590 | Ala Gly Val Gln Leu Glu Asp<br>595     |                        | 600                |
| Pro Glu Phe Gln Ala Ser Asn Ile Met<br>610 | His Ser Ile Asn Gly Tyr Val<br>615     |                        | 620                |
| Phe Asp Ser Leu Gln Leu Ser Val Cys<br>625 | Leu His Glu Val Ala Tyr Trp<br>630     |                        |                    |

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

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



Glu Ala Val Phe Pro Asp Val Asp Tyr Val Asn Ser Thr Glu Ala Glu  
 195 200 205  
 Thr Ile Leu Asp Asn Ile Thr Gln Ser Thr Gln Ser Phe Asn Asp Phe  
 210 215 220  
 Thr Arg Val Val Gly Gly Glu Asp Ala Lys Pro Gly Gln Phe Pro Trp  
 225 230 235 240  
 Gln Val Val Leu Asn Gly Lys Val Asp Ala Phe Cys Gly Gly Ser Ile  
 245 250 255  
 Val Asn Glu Lys Trp Ile Val Thr Ala Ala His Cys Val Glu Thr Gly  
 260 265 270  
 Val Lys Ile Thr Val Val Ala Gly Glu His Asn Ile Glu Glu Thr Glu  
 275 280 285  
 His Thr Glu Gln Lys Arg Asn Val Ile Arg Ile Ile Pro His His Asn  
 290 295 300  
 Tyr Asn Ala Ala Ile Asn Lys Tyr Asn His Asp Ile Ala Leu Leu Glu  
 305 310 315 320  
 Leu Asp Glu Pro Leu Val Leu Asn Ser Tyr Val Thr Pro Ile Cys Ile  
 325 330 335  
 Ala Asp Lys Glu Tyr Thr Asn Ile Phe Leu Lys Phe Gly Ser Gly Tyr  
 340 345 350  
 Val Ser Gly Trp Gly Arg Val Phe His Lys Gly Arg Ser Ala Leu Val  
 355 360 365  
 Leu Gln Tyr Leu Arg Val Pro Leu Val Asp Arg Ala Thr Cys Leu Arg  
 370 375 380  
 Ser Thr Lys Phe Thr Ile Tyr Asn Asn Met Phe Cys Ala Gly Phe His  
 385 390 395 400  
 Glu Gly Gly Arg Asp Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Val  
 405 410 415  
 Thr Glu Val Glu Gly Thr Ser Phe Leu Thr Gly Ile Ile Ser Trp Gly  
 420 425 430  
 Glu Glu Cys Ala Met Lys Gly Lys Tyr Gly Ile Tyr Thr Lys Val Ser  
 435 440 445  
 Arg Tyr Val Asn Trp Ile Lys Glu Lys Thr Lys Leu Thr  
 450 455 460

<210> 6  
 <211> 5753  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence

<220>  
 <223> Description of Artificial Sequence: pTGFG36

<400> 6  
 cgcgttgaca ttgattattg actagttatt aatagtaato aattacgggg tcattagttc 60  
 atagcccata tatggagttc cgcgttacat aacttacggt aaatggcccg cctggctgac 120  
 cgcccaacga ccccgccca ttgacgtcaa taatgacgta tgttcccata gtaacgcaa 180  
 tagggacttt ccattgacgt caatgggtgg agtatttacg gtaaactgcc cacttggcag 240

|             |             |             |             |             |             |      |
|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|------|
| tacatcaagt  | gtatcatatg  | ccaagtacgc  | cccctattga  | cgtcaatgac  | ggtaaatggc  | 300  |
| ccgcctggca  | ttatgcccag  | tacatgacct  | tatgggactt  | tcctacttgg  | cagtacatct  | 360  |
| acgtattagt  | catcgctatt  | accatggtga  | tcgggttttg  | gcagtacatc  | aatgggctg   | 420  |
| gatagcgggt  | tgactcacgg  | ggatttccaa  | gtctccaccc  | cattgacgtc  | aatgggagtt  | 480  |
| tgttttggca  | ccaaaatcaa  | cgggactttc  | caaaatgtcg  | taacaactcc  | gccccattga  | 540  |
| cgaaaatggg  | cggtaggcgt  | gtacggtggg  | aggtctatat  | aagcagagct  | ctctggctaa  | 600  |
| ctagagaacc  | cactgcttac  | tggtttatcg  | aaattaatac  | gactcactat  | agggagaccc  | 660  |
| aaacttgcat  | gccaattccg  | caaaggttat  | gcagcgcgtg  | aacatgatca  | tggcagaatc  | 720  |
| accaggcctc  | atcaccatct  | gccttttagg  | atatctactc  | agtgtctgaat | gtacagtttt  | 780  |
| tcttgatcat  | gaaaaacgcca | acaaaattct  | gaatcggcca  | aagaggtata  | attcaggtaa  | 840  |
| attggaagag  | tttgttcaag  | ggaaccttga  | gagagaatgt  | atggaagaaa  | agtgtagttt  | 900  |
| tgaagaagca  | cgagaagttt  | ttgaaaacac  | tgaaagaaca  | actgaatttt  | ggaagcagta  | 960  |
| tgttgatgga  | gatcagtggt  | agtcacaatc  | atgttttaaat | ggcggcagtt  | gcaaggatga  | 1020 |
| cattaattcc  | tatgaatggt  | ggtgtccctt  | tgattttgaa  | ggaaagaact  | gtgaattaga  | 1080 |
| tgttaacatgt | aacatttaaga | atggcagatg  | cgagcagttt  | tgtaaaaaata | gtgctgataa  | 1140 |
| caaggtgggt  | tgctcctgta  | ctgagggata  | tcgacttgca  | gaaaaccaga  | agtcctgtga  | 1200 |
| accagcagtg  | ccatttccat  | gtggaagagt  | ttctgtttca  | caaacttcta  | agctcaccog  | 1260 |
| tgttgagact  | gtttttcctg  | atgtggacta  | tgtaaattct  | actgaagctg  | aaaccatttt  | 1320 |
| ggataacatc  | actcaaaagca | cccaatcatt  | taatgacttc  | actcgggttg  | ttggtggaga  | 1380 |
| agatgccaaa  | ccaggtcaat  | tccttgggca  | ggttggtttg  | aatggtaaa   | ttgatgcatt  | 1440 |
| ctgtggaggc  | tctatcgtaa  | atgaaaaatg  | gattgtaact  | gctgccact   | gtgttgaac   | 1500 |
| tggtgttaaa  | attacagttg  | tcgcagtgaa  | acataaatatt | gaggagacag  | aacatacaga  | 1560 |
| gcaaaagcga  | aatgtgattc  | gaattattcc  | tcaccacaac  | tacaatgcag  | ctattaataa  | 1620 |
| gtacaaccat  | gacattgccc  | ttctggaact  | ggacgaaccc  | ttagtgtctaa | acagctacgt  | 1680 |
| tacacctatt  | tgcatgtctg  | acaaggaata  | cacgaacatc  | ttctctcaaat | ttggatctgg  | 1740 |
| ctatgtaagt  | ggctggggaa  | gagtcctcca  | caaagggaga  | tcagcttttag | ttcttcagta  | 1800 |
| ccttagagtt  | ccacttggtg  | accgagccac  | atgtcttcga  | tctacaaagt  | tcaccatcta  | 1860 |
| taacaacatg  | ttctgtgctg  | gcttccatga  | aggaggtaga  | gattcatgtc  | aaggagatag  | 1920 |
| tgggggaccc  | catgttactg  | aagtggagg   | gaccagtttc  | ttaaactggaa | ttattagctg  | 1980 |
| gggtgaagag  | tgtgcaatga  | aaggcaata   | tggaatatat  | accaaggtat  | cccgttatgt  | 2040 |
| caactggatt  | aaggaaaaaa  | caaagctcac  | ttaatgggat  | cggtcgagcg  | gccgcgactc  | 2100 |
| tactagagga  | tctttgtgaa  | ggaaccttac  | ttctgtggtg  | tgacataaatt | ggacaaacta  | 2160 |
| ctacacagaga | tttaaagctc  | taaggttaaat | ataaaatttt  | taagtgtata  | atgtgttaaa  | 2220 |
| ctactgattc  | taattgtttg  | tgtatttttag | attccaacct  | atggaactga  | tgaatgggag  | 2280 |
| cagtgttgga  | atgcctttaa  | tgaggaaaac  | ctgttttgct  | cagaagaaat  | gccatctagt  | 2340 |
| gatgatgagg  | ctactgctga  | ctctcaacat  | tctactcctc  | caaaaaagaa  | gagaaaggta  | 2400 |
| gaagacccca  | aggactttcc  | ttcagaattg  | ctaagttttt  | tgagtcatgc  | tgtgtttagt  | 2460 |
| aatagaactc  | ttgcttgctt  | tgctattttac | accacaaagg  | aaaaagctgc  | actgctatac  | 2520 |
| aagaaaaata  | tggaaaaata  | ttctgtaacc  | tttataagta  | ggcataacag  | ttataatcat  | 2580 |
| aacataactgt | tttttcttac  | tcacacacag  | catagagtgt  | ctgctattaa  | taactatgct  | 2640 |
| caaaaattgt  | gtacctttag  | ctttttaatt  | tgtaaagggg  | ttataagga   | atatttgatg  | 2700 |
| tatagtgcct  | tgactagaga  | tcataatcag  | ccataaccaca | ttttagagg   | ttttacttgc  | 2760 |
| tttaaaaaac  | ctcccacacc  | tcocctgaa   | cctgaaacat  | aaaatgaatg  | caattgttgt  | 2820 |
| tgttaacttg  | tttattgcag  | cttataatgg  | ttacaaaata  | agcaaatagca | tcacaaattt  | 2880 |
| cacaaataaa  | gcattttttt  | cactgcattc  | tagttgtggt  | ttgtccaaac  | tcataaatgt  | 2940 |
| atcttatcat  | gtctggatcc  | cgggttacc   | tctagagcga  | attaattcac  | tggccgtcgt  | 3000 |
| tttacaacgt  | cgtgactggg  | aaaaccctgg  | cgttacccaa  | cttaatcgcc  | ttgcagcaca  | 3060 |
| tcoccccttc  | gccaactggc  | gtaatagcga  | agaggcccg   | accgatcgcc  | cttcccaaca  | 3120 |
| gttgccgagc  | ctgaatggcg  | aatggcgctc  | gatgcgggtat | tttctcctta  | cgcatctgtg  | 3180 |
| cggtatctca  | caccgcatat  | ggtgactctc  | cagtacaatc  | tgctctgatg  | ccgcatagtt  | 3240 |
| aagccagccc  | cgacacccgc  | caacacccgc  | tgacgcgcgc  | tgacgggctt  | gtctgctccc  | 3300 |
| ggcatccgct  | tacagacaag  | ctgtgaccgt  | ctccgggagc  | tgcatgtgtc  | agaggttttc  | 3360 |
| accgtcatca  | ccgaaacgcg  | cgagacgaaa  | gggggggtac  | cagcttcgta  | gctagaacat  | 3420 |
| catgttctgg  | gatatcagct  | tcgtagctag  | aacatcatgt  | tctggtaccc  | ccctcgtgat  | 3480 |
| acgcctattt  | ttataggtta  | atgtcatgat  | ataaatggtt  | tcttagacgt  | cagggtggac  | 3540 |
| ttttcgggga  | aatgtgcgcg  | gaacccttat  | ttgtttattt  | ttctaaatac  | attcaaatat  | 3600 |
| gtatccgctc  | atgagacaat  | aacctgata   | aatgcttcaa  | taattatgaa  | aaaggaagag  | 3660 |
| tatgagtatt  | caacattttc  | gtgtcgccct  | tattcccttt  | tttgcggcat  | tttgcccttc  | 3720 |
| tgtttttgct  | caccagaaa   | cgctggtgaa  | agtaaaagat  | gctgaagatc  | agttgggtgc  | 3780 |
| acgagtgggt  | tacatcgaac  | tggatctcaa  | cagcggtaag  | atccttgaga  | gttttcgccc  | 3840 |
| cgaagaacgt  | tttccaatga  | tgagcacttt  | taaagttctg  | ctatgtggcg  | cggatattatc | 3900 |
| ccgtattgac  | gccgggcaag  | agcaactcgg  | tcgcgcgata  | cactattctc  | agaatgactt  | 3960 |
| ggttgagtac  | tcaccagtca  | cagaaaagca  | tcttacggat  | ggcatgacag  | taagagaatt  | 4020 |
| atgcagtgtc  | gccataacca  | tgagtataa   | cactgcggcc  | aacttacttc  | tgacaacgat  | 4080 |
| cggaggaccg  | aaggagctaa  | cgcctttttt  | gcacaacatg  | ggggtatcatg | taactcgctc  | 4140 |
| tgatcgttgg  | gaaccggagc  | tgaatgaagc  | cataccaaac  | gacgagcgtg  | acaccacgat  | 4200 |



```

gcctgtagca atggcaacaa cgttgcgcaa actattaact ggccaactac ttactctagc 4260
ttcccgccaa caattaatag actggatgga ggcggataaa gttgcaggac cacttctgcg 4320
ctcggccctt ccggctggct ggtttattgc tgataaatct ggagccgggtg agcgtgggtc 4380
tcgcgggtatc attgcagcac tggggccaga tggtaaagccc tcccgtatcg tagttatcta 4440
cacgacgggg agtcaggcaa ctatggatga acgaaataga cagatcgctg agataggtgc 4500
ctcactgatt aagcattggg aactgtcaga ccaagtttac tcatatatac tttagattga 4560
tttaaaactt catttttaat ttaaaaggat ctagggtgaag atcctttttg ataactctcat 4620
gacccaaaatc ccttaacgtg agttttcgtt ccactgagcg tcagaccccg tagaaaagat 4680
caaaggatct tcttgagatc ctttttttct gcgcgtaatc tgctgcttgc aaacaaaaaa 4740
accaccgcta ccagcgggtg tttgtttgcc ggatcaagag ctaccaactc tttttccgaa 4800
ggtaactggc ttcagcagag cgcagatacc aaatactgtt cttctagtgt agccgtagtt 4860
aggccaccac ttcaagaact ctgtagcacc gcctacatac ctgcctctgc taatcctgtt 4920
accagtggct gctgccagtg gcgataagtc gtgtcttacc gggttggact caagacgata 4980
gttaccggat aaggcgcagc ggtcggggctg aacgggggggt tcgtgcacac agcccagctt 5040
ggagcgaaac acctacaccg aactgagata cctacagcgt gagctatgag aaagcgccac 5100
gcttcccga gggagaaagg cggacaggtt tccggtaagc ggaggggtcg gaacaggaga 5160
gcgcacgagc gagcttccag ggggaaacgc ctggatatct tatagtcctg tcgggttttcg 5220
ccacctctga cttgagcgtc gattttttgt atgctcgtca gggggggcga gcctatggaa 5280
aaacgccagc aacgcggcct ttttacggtt cctggccttt tgctggcctt ttgctcacat 5340
gttctttcct gcgttatccc ctgattctgt ggataaccgt attaccgcct ttgagttagc 5400
tgataccgct cgcgcagcc gaacgaccga gcgcagcgag tcagttagcg aggaagcgga 5460
agagcgccca atacgcaaac cgctctccc cgcgcgttgg ccgattcatt aatgcagctg 5520
gcacgacagc tttcccgact ggaagcggg cagttagcgc aacgcaatta atgtgagtta 5580
gctcactcat taggcacccc agcctttaca ctttatgctt ccggctcgta tgttggtgtg 5640
aattgtgagc ggataacaat ttcacacagg aaacagctat gacctgatt acgccaagct 5700
ctctagagct ctgagagctc agagctctag agagcttgca tgctgcagg tcg 5753

```

```

<210> 7
<211> 8
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

```

```

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: B-domain
linker peptide

```

```

<400> 7
Ser Phe Ser Gln Asn Ser Arg His
  1                               5

```

```

<210> 8
<211> 8
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

```

```

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: B-domain
linker peptide

```

```

<400> 8
Gln Ala Tyr Arg Tyr Arg Arg Gly
  1                               5

```

```

<210> 9
<211> 16
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

```

```

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: B-domain
linker peptide

```

```

<400> 9

```

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

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

<400> 10  
 ggggtaccag cttcgtagct agaacatcat gttctgggat atcagattcg tagctagaac 60  
 atcatgttct ggtacccc 78

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

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

<210> 12  
 <211> 10698  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence

<220>  
 <223> Description of Artificial Sequence; pTGF8-2hyg-s

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

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

<400> 12  
 cgcggttgaca ttgattattg actagttatt aatagtaatc aattacgggg tcattagttc 60  
 atagcccata tatggagttc cgcgttacat aacttacggt aaatggcccg cctggctgac 120  
 cgcccaacga cccccgcca ttgacgtcaa taatgacgta tgttcccata gtaacgcaa 180  
 tagggacttt ccattgacgt caatgggtgg agtattttacg gtaaaactgcc cacttggcag 240  
 tacatcaagt gtatcatatg ccaagtacgc cccctattga cgtcaatgac ggtaaatggc 300  
 ccgcctggca ttatgccag tacatgacct tatgggactt tcctacttgg cagtacatct 360  
 acgtattagt catcgctatt accatggtga tgcggttttg gcagtacatc aatgggcgtg 420  
 gatagcgggt tgactcaccg ggatttcaa gtctccacc cattgacgtc aatgggagtt 480  
 tgttttggca ccaaaatcaa cgggactttc caaaatgtcg taacaactcc gcccattga 540  
 cgaaaatggg cggtaggcgt gtacggtggg aggtctatat aagcagagct ctctggctaa 600  
 ctagagaacc cactgcttac tggcttatcg aaattaatac gactcactat agggagaccc 660  
 aagcttgacc tcgag atg caa ata gag ctc tcc acc tgc ttc ttt ctg tgc 711  
 Met Gln Ile Glu Leu Ser Thr Cys Phe Phe Leu Cys  
 -15 -10

|   |      |
|---|------|
| ctt ttg cga ttc tgc ttt agt gcc acc aga aga tac tac ctg ggt gca | 759  |
| Leu Leu Arg Phe Cys Phe Ser Ala Thr Arg Arg Tyr Tyr Leu Gly Ala |      |
| -5 -1 1 5   |      |
| gtg gaa ctg tca tgg gac tat atg caa agt gat ctc ggt gag ctg cct | 807  |
| Val Glu Leu Ser Trp Asp Tyr Met Gln Ser Asp Leu Gly Glu Leu Pro |      |
| 10 15 20 25   |      |
| gtg gac gca aga ttt cct cct aga gtg cca aaa tct ttt cca ttc aac | 855  |
| Val Asp Ala Arg Phe Pro Pro Arg Val Pro Lys Ser Phe Pro Phe Asn |      |
| 30 35 40  |      |
| acc tca gtc gtg tac aaa aag act ctg ttt gta gaa ttc acg gat cac | 903  |
| Thr Ser Val Val Tyr Lys Lys Thr Leu Phe Val Glu Phe Thr Asp His |      |
| 45 50 55  |      |
| ctt ttc aac atc gct aag cca agg cca ccc tgg atg ggt ctg cta ggt | 951  |
| Leu Phe Asn Ile Ala Lys Pro Arg Pro Pro Trp Met Gly Leu Leu Gly |      |
| 60 65 70  |      |
| cct acc atc cag gct gag gtt tat gat aca gtg gtc att aca ctt aag | 999  |
| Pro Thr Ile Gln Ala Glu Val Tyr Asp Thr Val Val Ile Thr Leu Lys |      |
| 75 80 85  |      |
| aac atg gct tcc cat cct gtc agt ctt cat gct gtt ggt gta tcc tac | 1047 |
| Asn Met Ala Ser His Pro Val Ser Leu His Ala Val Gly Val Ser Tyr |      |
| 90 95 100 105   |      |
| tgg aaa gct tct gag gga gct gaa tat gat gat cag acc agt caa agg | 1095 |
| Trp Lys Ala Ser Glu Gly Ala Glu Tyr Asp Asp Gln Thr Ser Gln Arg |      |
| 110 115 120   |      |
| gag aaa gaa gat gat aaa gtc ttc cct ggt gga agc cat aca tat gtc | 1143 |
| Glu Lys Glu Asp Lys Val Phe Pro Gly Gly Ser His Thr Tyr Val     |      |
| 125 130 135   |      |
| tgg cag gtc ctg aaa gag aat ggt cca atg gcc tct gac cca ctg tgc | 1191 |
| Trp Gln Val Leu Lys Glu Asn Gly Pro Met Ala Ser Asp Pro Leu Cys |      |
| 140 145 150   |      |
| ctt acc tac tca tat ctt tct cat gtg gac ctg gta aaa gac ttg aat | 1239 |
| Leu Thr Tyr Ser Tyr Leu Ser His Val Asp Leu Val Lys Asp Leu Asn |      |
| 155 160 165   |      |
| tca ggc ctc att gga gcc cta cta gta tgt aga gaa ggg agt ctg gcc | 1287 |
| Ser Gly Leu Ile Gly Ala Leu Leu Val Cys Arg Glu Gly Ser Leu Ala |      |
| 170 175 180 185   |      |
| aag gaa aag aca cag acc ttg cac aaa ttt ata cta ctt ttt gct gta | 1335 |
| Lys Glu Lys Thr Gln Thr Leu His Lys Phe Ile Leu Leu Phe Ala Val |      |
| 190 195 200   |      |
| ttt gat gaa ggg aaa agt tgg cac tca gaa aca aag aac tcc ttg atg | 1383 |
| Phe Asp Glu Gly Lys Ser Trp His Ser Glu Thr Lys Asn Ser Leu Met |      |
| 205 210 215   |      |
| cag gat agg gat gct gca tct gct cgg gcc tgg cct aaa atg cac aca | 1431 |
| Gln Asp Arg Asp Ala Ala Ser Ala Arg Ala Trp Pro Lys Met His Thr |      |
| 220 225 230   |      |
| gtc aat ggt tat gta aac agg tct ctg cca ggt ctg att gga tgc cac | 1479 |
| Val Asn Gly Tyr Val Asn Arg Ser Leu Pro Gly Leu Ile Gly Cys His |      |
| 235 240 245   |      |
| agg aaa tca gtc tat tgg cat gtg att gga atg ggc acc act cct gaa | 1527 |

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

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

|     |     |      |     |     |      |      |      |     |     |      |      |      |      |     |     |      |  |
|-----|-----|------|-----|-----|------|------|------|-----|-----|------|------|------|------|-----|-----|------|--|
| Val | Glu | Met  | Lys | Lys | Glu  | Asp  | Phe  | Asp | Ile | Tyr  | Asp  | Glu  | Asp  | Glu | Asn |      |  |
|     |     | 780  |     |     |      |      | 785  |     |     |      |      | 790  |      |     |     |      |  |
| cag | agc | ccc  | cgc | agc | ttt  | caa  | aag  | aaa | aca | cga  | cac  | tat  | ttt  | att | gct | 3159 |  |
| Gln | Ser | Pro  | Arg | Ser | Phe  | Gln  | Lys  | Lys | Thr | Arg  | His  | Tyr  | Phe  | Ile | Ala |      |  |
|     |     | 795  |     |     |      | 800  |      |     |     |      | 805  |      |      |     |     |      |  |
| gca | gtg | gag  | agg | ctc | tgg  | gat  | tat  | ggg | atg | agt  | agc  | tcc  | cca  | cat | ggt | 3207 |  |
| Ala | Val | Glu  | Arg | Leu | Trp  | Asp  | Tyr  | Gly | Met | Ser  | Ser  | Ser  | Pro  | His | Val |      |  |
|     |     | 810  |     |     | 815  |      |      |     |     | 820  |      |      |      |     | 825 |      |  |
| cta | aga | aac  | agg | gct | cag  | agt  | ggc  | agt | gtc | cct  | cag  | ttc  | aag  | aaa | ggt | 3255 |  |
| Leu | Arg | Asn  | Arg |     | Gln  | Ser  | Gly  | Ser |     | Pro  | Gln  | Phe  | Lys  | Lys | Val |      |  |
|     |     |      |     | 830 |      |      |      |     | 835 |      |      |      |      | 840 |     |      |  |
| ggt | ttc | cag  | gaa | ttt | act  | gat  | ggc  | tcc | ttt | act  | cag  | ccc  | tta  | tac | cgt | 3303 |  |
| Val | Phe | Gln  | Glu | Phe | Thr  | Asp  | Gly  | Ser | Phe | Thr  | Gln  | Pro  | Leu  | Tyr | Arg |      |  |
|     |     |      | 845 |     |      |      |      | 850 |     |      |      |      | 855  |     |     |      |  |
| gga | gaa | cta  | aat | gaa | cat  | ttg  | gga  | ctc | ctg | ggg  | cca  | tat  | ata  | aga | gca | 3351 |  |
| Gly | Glu | Leu  | Asn | Glu | His  | Leu  | Gly  | Leu | Leu | Gly  | Pro  | Tyr  | Ile  | Arg | Ala |      |  |
|     |     | 860  |     |     |      |      | 865  |     |     |      |      | 870  |      |     |     |      |  |
| gaa | ggt | gaa  | gat | aat | atc  | atg  | gta  | act | ttc | aga  | aat  | cag  | gcc  | tct | cgt | 3399 |  |
| Glu | Val | Glu  | Asp | Asn | Ile  | Met  | Val  | Thr | Phe | Arg  | Asn  | Gln  | Ala  | Ser | Arg |      |  |
|     |     | 875  |     |     |      | 880  |      |     |     |      | 885  |      |      |     |     |      |  |
| ccc | tat | tcc  | ttc | tat | tct  | agc  | ctt  | att | tct | tat  | gag  | gaa  | gat  | cag | agg | 3447 |  |
| Pro | Tyr | Ser  | Phe | Tyr | Ser  | Ser  | Leu  | Ile | Ser | Tyr  | Glu  | Glu  | Asp  | Gln | Arg |      |  |
|     |     | 890  |     |     | 895  |      |      |     | 900 |      |      |      |      | 905 |     |      |  |
| caa | gga | gca  | gaa | cct | aga  | aaa  | aac  | ttt | gtc | aag  | cct  | aat  | gaa  | acc | aaa | 3495 |  |
| Gln | Gly | Ala  | Glu | Pro | Arg  | Lys  | Asn  | Phe | Val | Lys  | Pro  | Asn  | Glu  | Thr | Lys |      |  |
|     |     |      |     | 910 |      |      |      |     | 915 |      |      |      |      | 920 |     |      |  |
| act | tac | ttt  | tgg | aaa | gtg  | caa  | cat  | cat | atg | gca  | ccc  | act  | aaa  | gat | gag | 3543 |  |
| Thr | Tyr | Phe  | Trp | Lys | Val  | Gln  | His  | His | Met | Ala  | Pro  | Thr  | Lys  | Asp | Glu |      |  |
|     |     |      | 925 |     |      |      |      | 930 |     |      |      |      | 935  |     |     |      |  |
| ttt | gac | tgc  | aaa | gcc | tgg  | gct  | tat  | ttc | tct | gat  | ggt  | gac  | ctg  | gaa | aaa | 3591 |  |
| Phe | Asp | Cys  | Lys | Ala | Trp  | Ala  | Tyr  | Phe | Ser | Asp  | Val  | Asp  | Leu  | Glu | Lys |      |  |
|     |     | 940  |     |     |      | 945  |      |     |     |      |      | 950  |      |     |     |      |  |
| gat | gtg | cac  | tca | ggc | ctg  | att  | gga  | ccc | ctt | ctg  | gtc  | tgc  | cac  | act | aac | 3639 |  |
| Asp | Val | His  | Ser | Gly | Leu  | Ile  | Gly  | Pro | Leu | Leu  | Val  | Cys  | His  | Thr | Asn |      |  |
|     |     | 955  |     |     |      | 960  |      |     |     |      | 965  |      |      |     |     |      |  |
| aca | ctg | aac  | cct | gct | cat  | ggg  | aga  | caa | gtg | aca  | gta  | cag  | gaa  | ttt | gct | 3687 |  |
| Thr | Leu | Asn  | Pro | Ala | His  | Gly  | Arg  | Gln | Val | Thr  | Val  | Gln  | Glu  | Phe | Ala |      |  |
|     |     | 970  |     |     | 975  |      |      |     | 980 |      |      |      |      |     | 985 |      |  |
| ctg | ttt | ttc  | acc | atc | ttt  | gat  | gag  | acc | aaa | agc  | tgg  | tac  | ttc  | act | gaa | 3735 |  |
| Leu | Phe | Phe  | Thr | Ile | Phe  | Asp  | Glu  | Thr | Lys | Ser  | Trp  | Tyr  | Phe  | Thr | Glu |      |  |
|     |     |      |     | 990 |      |      |      |     | 995 |      |      |      | 1000 |     |     |      |  |
| aat | atg | gaa  | aga | aac | tgc  | agg  | gct  | ccc | tgc | aat  | atc  | cag  | atg  | gaa | gat | 3783 |  |
| Asn | Met | Glu  | Arg | Asn | Cys  | Arg  | Ala  | Pro | Cys | Asn  | Ile  | Gln  | Met  | Glu | Asp |      |  |
|     |     | 1005 |     |     |      |      | 1010 |     |     |      |      | 1015 |      |     |     |      |  |
| ccc | act | ttt  | aaa | gag | aat  | tat  | cgc  | ttc | cat | gca  | atc  | aat  | ggc  | tac | ata | 3831 |  |
| Pro | Thr | Phe  | Lys | Glu | Asn  | Tyr  | Arg  | Phe | His | Ala  | Ile  | Asn  | Gly  | Tyr | Ile |      |  |
|     |     | 1020 |     |     |      | 1025 |      |     |     |      | 1030 |      |      |     |     |      |  |
| atg | gat | aca  | cta | cct | ggc  | tta  | gta  | atg | gct | cag  | gat  | caa  | agg  | att | cga | 3879 |  |
| Met | Asp | Thr  | Leu | Pro | Gly  | Leu  | Val  | Met | Ala | Gln  | Asp  | Gln  | Arg  | Ile | Arg |      |  |
|     |     | 1035 |     |     | 1040 |      |      |     |     | 1045 |      |      |      |     |     |      |  |

|   |      |
|---|------|
| tgg tat ctg ctc agc atg ggc agc aat gaa aac atc cat tct att cat<br>Trp Tyr Leu Leu Ser Met Gly Ser Asn Glu Asn Ile His Ser Ile His<br>1050 1055 1060 1065 | 3927 |
| ttc agt gga cat gtg ttc act gta cga aaa aaa gag gag tat aaa atg<br>Phe Ser Gly His Val Phe Thr Val Arg Lys Lys Glu Glu Tyr Lys Met<br>1070 1075 1080      | 3975 |
| gca ctg tac aat ctc tat cca ggt gtt ttt gag aca gtg gaa atg tta<br>Ala Leu Tyr Asn Leu Tyr Pro Gly Val Phe Glu Thr Val Glu Met Leu<br>1085 1090 1095      | 4023 |
| cca tcc aaa gct gga att tgg cgg gtg gaa tgc ctt att ggc gag cat<br>Pro Ser Lys Ala Gly Ile Trp Arg Val Glu Cys Leu Ile Gly Glu His<br>1100 1105 1110      | 4071 |
| cta cat gct ggg atg agc aca ctt ttt ctg gtg tac agc aat aag tgt<br>Leu His Ala Gly Met Ser Thr Leu Phe Leu Val Tyr Ser Asn Lys Cys<br>1115 1120 1125      | 4119 |
| cag act ccc ctg gga atg gct tct gga cac att aga gat ttt cag att<br>Gln Thr Pro Leu Gly Met Ala Ser Gly His Ile Arg Asp Phe Gln Ile<br>1130 1135 1140 1145 | 4167 |
| aca gct tca gga caa tat gga cag tgg gcc cca aag ctg gcc aga ctt<br>Thr Ala Ser Gly Gln Tyr Gly Gln Trp Ala Pro Lys Leu Ala Arg Leu<br>1150 1155 1160      | 4215 |
| cat tat tcc gga tca atc aat gcc tgg agc acc aag gag ccc ttt tct<br>His Tyr Ser Gly Ser Ile Asn Ala Trp Ser Thr Lys Glu Pro Phe Ser<br>1165 1170 1175      | 4263 |
| tgg atc aag gtg gat ctg ttg gca cca atg att att cac ggc atc aag<br>Trp Ile Lys Val Asp Leu Leu Ala Pro Met Ile Ile His Gly Ile Lys<br>1180 1185 1190      | 4311 |
| acc cag ggt gcc cgt cag aag ttc tcc agc ctc tac atc tct cag ttt<br>Thr Gln Gly Ala Arg Gln Lys Phe Ser Ser Leu Tyr Ile Ser Gln Phe<br>1195 1200 1205      | 4359 |
| atc atc atg tat agt ctt gat ggg aag aag tgg cag act tat cga gga<br>Ile Ile Met Tyr Ser Leu Asp Gly Lys Lys Trp Gln Thr Tyr Arg Gly<br>1210 1215 1220 1225 | 4407 |
| aat tcc act gga acc tta atg gtc ttc ttt ggc aat gtg gat tca tct<br>Asn Ser Thr Gly Thr Leu Met Val Phe Phe Gly Asn Val Asp Ser Ser<br>1230 1235 1240      | 4455 |
| ggg ata aaa cac aat att ttt aac cct cca att att gct cga tac atc<br>Gly Ile Lys His Asn Ile Phe Asn Pro Pro Ile Ile Ala Arg Tyr Ile<br>1245 1250 1255      | 4503 |
| cgt ttg cac cca act cat tat agc att cgc agc act ctt cgc atg gag<br>Arg Leu His Pro Thr His Tyr Ser Ile Arg Ser Thr Leu Arg Met Glu<br>1260 1265 1270      | 4551 |
| ttg atg ggc tgt gat tta aat agt tgc agc atg cca ttg gga atg gag<br>Leu Met Gly Cys Asp Leu Asn Ser Cys Ser Met Pro Leu Gly Met Glu<br>1275 1280 1285      | 4599 |
| agt aaa gca ata tca gat gca cag att act gct tca tcc tac ttt acc<br>Ser Lys Ala Ile Ser Asp Ala Gln Ile Thr Ala Ser Ser Tyr Phe Thr<br>1290 1295 1300 1305 | 4647 |
| aat atg ttt gcc acc tgg tct cct tca aaa gct cga ctt cac ctc caa   | 4695 |



|   |      |
|---|------|
| Asn Met Phe Ala Thr Trp Ser Pro Ser Lys Ala Arg Leu His Leu Gln     |      |
| 1310 1315 1320  |      |
| ggg agg agt aat gcc tgg aga cct cag gtg aat aat cca aaa gag tgg     | 4743 |
| Gly Arg Ser Asn Ala Trp Arg Pro Gln Val Asn Asn Pro Lys Glu Trp     |      |
| 1325 1330 1335  |      |
| ctg caa gtg gac ttc cag aag aca atg aaa gtc aca gga gta act act     | 4791 |
| Leu Gln Val Asp Phe Gln Lys Thr Met Lys Val Thr Gly Val Thr Thr     |      |
| 1340 1345 1350  |      |
| cag gga gta aaa tct ctg ctt acc agc atg tat gtg aag gag ttc ctc     | 4839 |
| Gln Gly Val Lys Ser Leu Leu Thr Ser Met Tyr Val Lys Glu Phe Leu     |      |
| 1355 1360 1365  |      |
| atc tcc agc agt caa gat ggc cat cag tgg acc ctc ttt ttt cag aat     | 4887 |
| Ile Ser Ser Ser Gln Asp Gly His Gln Trp Thr Leu Phe Phe Gln Asn     |      |
| 1370 1375 1380 1385   |      |
| ggc aaa gta aag gtt ttt cag gga aat caa gac tcc ttc aca cct gtg     | 4935 |
| Gly Lys Val Lys Val Phe Gln Gly Asn Gln Asp Ser Phe Thr Pro Val     |      |
| 1390 1395 1400  |      |
| gtg aac tct cta gac cca ccg tta ctg act cgc tac ctt cga att cac     | 4983 |
| Val Asn Ser Leu Asp Pro Pro Leu Leu Thr Arg Tyr Leu Arg Ile His     |      |
| 1405 1410 1415  |      |
| ccc cag agt tgg gtg cac cag att gcc ctg agg atg gag gtt ctg ggc     | 5031 |
| Pro Gln Ser Trp Val His Gln Ile Ala Leu Arg Met Glu Val Leu Gly     |      |
| 1420 1425 1430  |      |
| tgc gag gca cag gac ctc tac tgagcggccg cgactctact agaggatctt        | 5082 |
| Cys Glu Ala Gln Asp Leu Tyr   |      |
| 1435 1440   |      |
| tgtgaaggaa ccttacttct gtggtgtgac ataattggac aaactaccta cagagattta   | 5142 |
| aagctotaag gtaaatataa aatttttaag tgtataatgt gttaaaactac tgatttotaat | 5202 |
| tgtttgtgta ttttagattc caacctatgg aactgatgaa tgggagcagt ggtggaatgc   | 5262 |
| ctttaatgag gaaaacctgt tttgctcaga agaaatgcc a tctagtgatg atgaggctac  | 5322 |
| tgctgactct caacattcta ctctccaaa aaagaagaga aaggtagaag accccaagga    | 5382 |
| ctttccttca gaattgctaa gttttttgag tcatgctgtg tttagtaata gaactcttgc   | 5442 |
| ttgctttgct atttacacca caaaggaaaa agctgcactg ctatacaaga aaattatgga   | 5502 |
| aaaatattct gtaaccttta taagtaggca taacagttat aatcataaca tactgttttt   | 5562 |
| tcttactcca cacaggcata gagtgtctgc tattaataac tatgctcaaa aattgtgtac   | 5622 |
| ctttagcttt ttaatttgta aaggggttaa taaggaatat ttgatgtata gtgccttgac   | 5682 |
| tagagatcat aatcagccat accacatttg tagagggttt acttgcttta aaaaacctcc   | 5742 |
| cacacctccc cctgaacctg aaacataaaa tgaatgcaat tgttggtggt aacttgttta   | 5802 |
| ttgcagctta taatgggttac aaataaagca atagcatcac aaatttcaca aataaagcat  | 5862 |
| ttttttcact gcattctagt tgtggtttgt ccaaactcat caatgtatct tatcatgtct   | 5922 |
| ggatcccccg aacgccagca agacgtagcc cagcgcgtcg gccccgagat gcgccgcgtg   | 5982 |
| cggctgctgg agatggcgga cgcgatggat atgtttctgcc aagggttggt ttgcgcattc  | 6042 |



acagttctcc gcaagaattg attggtcca attcttgag tggatgaatcc gtttagcgag 6102  
tgccgccctg cttcatcccc gtggcccggt gctcgcgttt gctggcgggtg tccccggaag 6162  
aaatatatgt gcatgtcttt agttctatga tgacacaaac cccgccccagc gtcttgcacat 6222  
tggcgaattc gaacacgcag atgcagtcgg ggccggcggg tccgaggtcc acttcgcata 6282  
ttaaggtgac gctgtggcc tcgaacaccg agcgaccctg cagcgacccg cttaacagcg 6342  
tcaacagcgt gccgcagatc agcttgatat gaaaaagcct gaactcaccg cgacgtctgt 6402  
cgagaagttt ctgatcgaag agttcgacag cgtctccgac ctgatgcagc tctcgaggag 6462  
cgaagaatct cgtgctttca gcttcgatgt aggagggcgt ggatatgtcc tgcgggtaaa 6522  
tagctgcgcc gatggtttct acaagatcg ttatgtttat cggcactttg catcgccgcg 6582  
gctcccgatt ccggaagtgc ttgacattgg ggaattcagc gagagcctga cctattgcat 6642  
ctcccgccgt gcacaggggt tcacgttgca agacctgcct gaaaccgaac tgcccgctgt 6702  
tctgcagccg gtcgaggag ccattgatgc gatcgctgcg gccgatctta gccagacgag 6762  
cgggttcggc ccattcgac cgcaaggaa cgggtcaatac actacatggc gtgatttcat 6822  
atgcgcgatt gctgatcccc atgtgtatca ctggcaaac gtgatggacg acaccgtcag 6882  
tgctccgctc gcgcaggctc tcgatgagct gatgctttgg gccgaggact gcccgaagt 6942  
ccggcacctc gtgcacgcgg atttcggctc caacaatgtc ctgacggaca atggccgcat 7002  
aacagcggtc attgactgga gcgaggggat gttcggggat tccaataacg aggtcgcaa 7062  
acatcttctc tggaggccgt ggttggttg tatggagcag cagacgcgt acttcgagcg 7122  
gaggcatccg gagcttgac gatcgccgcg gctccggcg tatatgctcc gcattggtct 7182  
tgaccaactc tatcagagct tggttgacgg caatttcgat gatgcagctt gggcgagg 7242  
tcgatgcgac gcaatcgtcc gatccggagc cgggactgtc gggcgtagac aaatcgccc 7302  
cagaagcgcg gcgctctgga ccgatggctg tgtagaagta ctgcgcgata gtggaaaccg 7362  
acgccccagc actcgtccgg atcgggagat gggggaggct aactgaaaca cggaaggaga 7422  
caataccgga aggaaccgcg gctatgacgg caataaaaag acagaataaa acgcacgggt 7482  
gttgggtcgt ttgttcataa acgcggggtt cgggtcccag gctggcactc tctogatacc 7542  
ccaccgagac ccattgggg ccaatacgcg cgcgtttctt ccttttcccc accccacccc 7602  
ccaagttcgg gtgaaggccc agggctcgca gccaaactcg gggcggcagg ccctgccata 7662  
gccactggcc ccgtgggtta gggacgggggt ccccatggg gaatggttta tggttcgtgg 7722  
gggttattat ttggggcgtt gcgtggggtc aggtccacga ctggactgag cagacagacc 7782  
catggttttt ggatggcctg ggcattggacc gcatgtactg gcgcgacacg aacaccgggc 7842  
gtctgtggct gccaaacacc cccgaccccc aaaaaccacc gcgcggattt ctggcgtgcc 7902  
aagctgggta ccctctagag cgaattaatt cactggccgt cgttttacia cgtcgtgact 7962  
gggaaaaccc tggcgttacc caacttaatc gccttgacg acatccccct ttcgccagct 8022

ggcataatag cgaagaggcc cgcaccgatc gcccttccca acagttgccc agcctgaatg 8082  
gcgaatggcg cctgatgcgg tattttctcc ttacgcatct gtgcggtatt tcacaccgca 8142  
tatggtgcac tctcagtaca atctgctctg atgccgcata gttaagccag ccccgacacc 8202  
cgccaacacc cgtcgacgcg ccctgacggg cttgtctgct cccggcatcc gcttacagac 8262  
aagctgtgac cgtctccggg agctgcatgt gtcagagggt ttcaccgtca tcaccgaaac 8322  
gcgcgagacg aaaggggggg taccagcttc gtagctagaa catcatgttc tgggatatca 8382  
gcttcgtagc tagaacatca tgttctggtc cccccctcgt gatacgccta tttttatagg 8442  
ttaatgtcat gataataatg gtttcttaga cgtcaggtgg cacttttcgg ggaaatgtgc 8502  
gcggaacccc tatttgttta tttttctaaa tacattcaaa tatgtatccg ctcatgagac 8562  
aataaccctg ataaatgctt caataatatt gaaaaaggaa gagtatgagt attcaacatt 8622  
tccgtgtcgc ccttattccc ttttttgcgg cattttgcct tcctgttttt gctcaccag 8682  
aaacgctggt gaaagtaaaa gatgctgaag atcagttggg tgcacgagtg ggttacatcg 8742  
aactggatct caacagcggg aagatccttg agagttttcg cccgaagaa cgttttccaa 8802  
tgatgagcac ttttaaagtt ctgctatgtg gcgcggtatt atcccgatatt gacgcggggc 8862  
aagagcaact cgtgcgccgc atacactatt ctcagaatga cttggttgag tactcaccag 8922  
tcacagaaaa gcatcttacg gatggcatga cagtaagaga attatgcagt gctgccataa 8982  
ccatgagtga taacactgcg gccaaactac ttctgacaac gatcggagga ccgaaggagc 9042  
taaccgcttt ttgacacaac atgggggato atgtaactcg ccttgatcgt tgggaaccgg 9102  
agctgaatga agccatacca aacgacgagc gtgacaccac gatgcctgta gcaatggcaa 9162  
caacgttgcg caaactatta actggcgaac tacttactct agcttcccg caacaattaa 9222  
tagactggat ggaggcggat aaagttgcag gaccacttct gcgctcggcc cttccggctg 9282  
gctggtttat tgctgataaa tctggagccg gtgagcgtgg gtctcgggt atcattgcag 9342  
cactggggcc agatggtaag ccctcccgtc tcgtagtatt ctacacgacg gggagtcagg 9402  
caactatgga tgaacgaaat agacagatcg ctgagatagg tgcctcactg attaagcatt 9462  
ggtaactgtc agaccaagtt tactcatata tacttttagat tgatttaaaa cttcattttt 9522  
aatttaaaag gatctaggtg aagatccttt ttgataatct catgacaaa atcccttaac 9582  
gtgagtttct gttccactga gcgtcagacc ccgtagaaaa gatcaaagga tcttcttgag 9642  
atcctttttt tctgcgcgta atctgctgct tgcaaacaaa aaaaccaccg ctaccagcgg 9702  
tggtttgttt gccggatcaa gagctaccaa ctctttttcc gaaggttaact ggcttcagca 9762  
gagcgcagat accaaatact gttcttctag tgtagccgta gttaggccac cacttcaaga 9822  
actctgtagc accgcctaca tacctcgctc tgctaactct gttaccagtg gctgctgcca 9882  
gtggcgataa gtcgtgtctt accgggttgg actcaagacg atagttaccg gataaggcgc 9942  
agcggtcggg ctgaacgggg ggttcgtgca cacagcccag cttggagcga acgacctaca 10002

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

<210> 13  
 <211> 1459  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence  
 <223> Description of Artificial Sequence: pTGF8-2hyg-s

<400> 13  
 Met Gln Ile Glu Leu Ser Thr Cys Phe Phe Leu Cys Leu Leu Arg Phe  
                   -15                  -10                  -5  
 Cys Phe Ser Ala Thr Arg Arg Tyr Tyr Leu Gly Ala Val Glu Leu Ser  
           -1   1                  5                  10  
 Trp Asp Tyr Met Gln Ser Asp Leu Gly Glu Leu Pro Val Asp Ala Arg  
       15                  20                  25  
 Phe Pro Pro Arg Val Pro Lys Ser Phe Pro Phe Asn Thr Ser Val Val  
   30                  35                  40                  45  
 Tyr Lys Lys Thr Leu Phe Val Glu Phe Thr Asp His Leu Phe Asn Ile  
                   50                  55                  60  
 Ala Lys Pro Arg Pro Pro Trp Met Gly Leu Leu Gly Pro Thr Ile Gln  
           65                  70                  75  
 Ala Glu Val Tyr Asp Thr Val Val Ile Thr Leu Lys Asn Met Ala Ser  
   80                  85                  90  
 His Pro Val Ser Leu His Ala Val Gly Val Ser Tyr Trp Lys Ala Ser  
   95                  100                  105  
 Glu Gly Ala Glu Tyr Asp Asp Gln Thr Ser Gln Arg Glu Lys Glu Asp  
 110                  115                  120                  125  
 Asp Lys Val Phe Pro Gly Gly Ser His Thr Tyr Val Trp Gln Val Leu  
           130                  135                  140  
 Lys Glu Asn Gly Pro Met Ala Ser Asp Pro Leu Cys Leu Thr Tyr Ser  
       145                  150                  155

Tyr Leu Ser His Val Asp Leu Val Lys Asp Leu Asn Ser Gly Leu Ile  
 160 165 170  
 Gly Ala Leu Leu Val Cys Arg Glu Gly Ser Leu Ala Lys Glu Lys Thr  
 175 180 185  
 Gln Thr Leu His Lys Phe Ile Leu Leu Phe Ala Val Phe Asp Glu Gly  
 190 195 200 205  
 Lys Ser Trp His Ser Glu Thr Lys Asn Ser Leu Met Gln Asp Arg Asp  
 210 215 220  
 Ala Ala Ser Ala Arg Ala Trp Pro Lys Met His Thr Val Asn Gly Tyr  
 225 230 235  
 Val Asn Arg Ser Leu Pro Gly Leu Ile Gly Cys His Arg Lys Ser Val  
 240 245 250  
 Tyr Trp His Val Ile Gly Met Gly Thr Thr Pro Glu Val His Ser Ile  
 255 260 265  
 Phe Leu Glu Gly His Thr Phe Leu Val Arg Asn His Arg Gln Ala Ser  
 270 275 280 285  
 Leu Glu Ile Ser Pro Ile Thr Phe Leu Thr Ala Gln Thr Leu Leu Met  
 290 295 300  
 Asp Leu Gly Gln Phe Leu Leu Phe Cys His Ile Ser Ser His Gln His  
 305 310 315  
 Asp Gly Met Glu Ala Tyr Val Lys Val Asp Ser Cys Pro Glu Glu Pro  
 320 325 330  
 Gln Leu Arg Met Lys Asn Asn Glu Glu Ala Glu Asp Tyr Asp Asp Asp  
 335 340 345  
 Leu Thr Asp Ser Glu Met Asp Val Val Arg Phe Asp Asp Asp Asn Ser  
 350 355 360 365  
 Pro Ser Phe Ile Gln Ile Arg Ser Val Ala Lys Lys His Pro Lys Thr  
 370 375 380  
 Trp Val His Tyr Ile Ala Ala Glu Glu Glu Asp Trp Asp Tyr Ala Pro  
 385 390 395  
 Leu Val Leu Ala Pro Asp Asp Arg Ser Tyr Lys Ser Gln Tyr Leu Asn  
 400 405 410  
 Asn Gly Pro Gln Arg Ile Gly Arg Lys Tyr Lys Lys Val Arg Phe Met  
 415 420 425  
 Ala Tyr Thr Asp Glu Thr Phe Lys Thr Arg Glu Ala Ile Gln His Glu  
 430 435 440 445  
 Ser Gly Ile Leu Gly Pro Leu Leu Tyr Gly Glu Val Gly Asp Thr Leu  
 450 455 460  
 Leu Ile Ile Phe Lys Asn Gln Ala Ser Arg Pro Tyr Asn Ile Tyr Pro  
 465 470 475  
 His Gly Ile Thr Asp Val Arg Pro Leu Tyr Ser Arg Arg Leu Pro Lys  
 480 485 490  
 Gly Val Lys His Leu Lys Asp Phe Pro Ile Leu Pro Gly Glu Ile Phe  
 495 500 505

Lys Tyr Lys Trp Thr Val Thr Val Glu Asp Gly Pro Thr Lys Ser Asp  
 510 515 520 525  
 Pro Arg Cys Leu Thr Arg Tyr Tyr Ser Ser Phe Val Asn Met Glu Arg  
 530 535 540  
 Asp Leu Ala Ser Gly Leu Ile Gly Pro Leu Leu Ile Cys Tyr Lys Glu  
 545 550 555  
 Ser Val Asp Gln Arg Gly Asn Gln Ile Met Ser Asp Lys Arg Asn Val  
 560 565 570  
 Ile Leu Phe Ser Val Phe Asp Glu Asn Arg Ser Trp Tyr Leu Thr Glu  
 575 580 585  
 Asn Ile Gln Arg Phe Leu Pro Asn Pro Ala Gly Val Gln Leu Glu Asp  
 590 595 600 605  
 Pro Glu Phe Gln Ala Ser Asn Ile Met His Ser Ile Asn Gly Tyr Val  
 610 615 620  
 Phe Asp Ser Leu Gln Leu Ser Val Cys Leu His Glu Val Ala Tyr Trp  
 625 630 635  
 Tyr Ile Leu Ser Ile Gly Ala Gln Thr Asp Phe Leu Ser Val Phe Phe  
 640 645 650  
 Ser Gly Tyr Thr Phe Lys His Lys Met Val Tyr Glu Asp Thr Leu Thr  
 655 660 665  
 Leu Phe Pro Phe Ser Gly Glu Thr Val Phe Met Ser Met Glu Asn Pro  
 670 675 680 685  
 Gly Leu Trp Ile Leu Gly Cys His Asn Ser Asp Phe Arg Asn Arg Gly  
 690 695 700  
 Met Thr Ala Leu Leu Lys Val Ser Ser Cys Asp Lys Asn Thr Gly Asp  
 705 710 715  
 Tyr Tyr Glu Asp Ser Tyr Glu Asp Ile Ser Ala Tyr Leu Leu Ser Lys  
 720 725 730  
 Asn Asn Ala Ile Glu Pro Arg Ser Phe Ser Gln Asn Ser Arg His Gln  
 735 740 745  
 Ala Tyr Arg Tyr Arg Arg Gly Glu Ile Thr Arg Thr Thr Leu Gln Ser  
 750 755 760 765  
 Asp Gln Glu Glu Ile Asp Tyr Asp Asp Thr Ile Ser Val Glu Met Lys  
 770 775 780  
 Lys Glu Asp Phe Asp Ile Tyr Asp Glu Asp Glu Asn Gln Ser Pro Arg  
 785 790 795  
 Ser Phe Gln Lys Lys Thr Arg His Tyr Phe Ile Ala Ala Val Glu Arg  
 800 805 810  
 Leu Trp Asp Tyr Gly Met Ser Ser Ser Pro His Val Leu Arg Asn Arg  
 815 820 825  
 Ala Gln Ser Gly Ser Val Pro Gln Phe Lys Lys Val Val Phe Gln Glu  
 830 835 840 845  
 Phe Thr Asp Gly Ser Phe Thr Gln Pro Leu Tyr Arg Gly Glu Leu Asn  
 850 855 860

Glu His Leu Gly Leu Leu Gly Pro Tyr Ile Arg Ala Glu Val Glu Asp  
 865 870 875  
 Asn Ile Met Val Thr Phe Arg Asn Gln Ala Ser Arg Pro Tyr Ser Phe  
 880 885 890  
 Tyr Ser Ser Leu Ile Ser Tyr Glu Glu Asp Gln Arg Gln Gly Ala Glu  
 895 900 905  
 Pro Arg Lys Asn Phe Val Lys Pro Asn Glu Thr Lys Thr Tyr Phe Trp  
 910 915 920 925  
 Lys Val Gln His His Met Ala Pro Thr Lys Asp Glu Phe Asp Cys Lys  
 930 935 940  
 Ala Trp Ala Tyr Phe Ser Asp Val Asp Leu Glu Lys Asp Val His Ser  
 945 950 955  
 Gly Leu Ile Gly Pro Leu Leu Val Cys His Thr Asn Thr Leu Asn Pro  
 960 965 970  
 Ala His Gly Arg Gln Val Thr Val Gln Glu Phe Ala Leu Phe Phe Thr  
 975 980 985  
 Ile Phe Asp Glu Thr Lys Ser Trp Tyr Phe Thr Glu Asn Met Glu Arg  
 990 995 1000 1005  
 Asn Cys Arg Ala Pro Cys Asn Ile Gln Met Glu Asp Pro Thr Phe Lys  
 1010 1015 1020  
 Glu Asn Tyr Arg Phe His Ala Ile Asn Gly Tyr Ile Met Asp Thr Leu  
 1025 1030 1035  
 Pro Gly Leu Val Met Ala Gln Asp Gln Arg Ile Arg Trp Tyr Leu Leu  
 1040 1045 1050  
 Ser Met Gly Ser Asn Glu Asn Ile His Ser Ile His Phe Ser Gly His  
 1055 1060 1065  
 Val Phe Thr Val Arg Lys Lys Glu Glu Tyr Lys Met Ala Leu Tyr Asn  
 070 1075 1080 1085  
 Leu Tyr Pro Gly Val Phe Glu Thr Val Glu Met Leu Pro Ser Lys Ala  
 1090 1095 1100  
 Gly Ile Trp Arg Val Glu Cys Leu Ile Gly Glu His Leu His Ala Gly  
 1105 1110 1115  
 Met Ser Thr Leu Phe Leu Val Tyr Ser Asn Lys Cys Gln Thr Pro Leu  
 1120 1125 1130  
 Gly Met Ala Ser Gly His Ile Arg Asp Phe Gln Ile Thr Ala Ser Gly  
 1135 1140 1145  
 Gln Tyr Gly Gln Trp Ala Pro Lys Leu Ala Arg Leu His Tyr Ser Gly  
 150 1155 1160 1165  
 Ser Ile Asn Ala Trp Ser Thr Lys Glu Pro Phe Ser Trp Ile Lys Val  
 1170 1175 1180  
 Asp Leu Leu Ala Pro Met Ile Ile His Gly Ile Lys Thr Gln Gly Ala  
 1185 1190 1195  
 Arg Gln Lys Phe Ser Ser Leu Tyr Ile Ser Gln Phe Ile Ile Met Tyr  
 1200 1205 1210

Ser Leu Asp Gly Lys Lys Trp Gln Thr Tyr Arg Gly Asn Ser Thr Gly  
 1215 1220 1225  
 Thr Leu Met Val Phe Phe Gly Asn Val Asp Ser Ser Gly Ile Lys His  
 230 1235 1240 1245  
 Asn Ile Phe Asn Pro Pro Ile Ile Ala Arg Tyr Ile Arg Leu His Pro  
 1250 1255 1260  
 Thr His Tyr Ser Ile Arg Ser Thr Leu Arg Met Glu Leu Met Gly Cys  
 1265 1270 1275  
 Asp Leu Asn Ser Cys Ser Met Pro Leu Gly Met Glu Ser Lys Ala Ile  
 1280 1285 1290  
 Ser Asp Ala Gln Ile Thr Ala Ser Ser Tyr Phe Thr Asn Met Phe Ala  
 1295 1300 1305  
 Thr Trp Ser Pro Ser Lys Ala Arg Leu His Leu Gln Gly Arg Ser Asn  
 310 1315 1320 1325  
 Ala Trp Arg Pro Gln Val Asn Asn Pro Lys Glu Trp Leu Gln Val Asp  
 1330 1335 1340  
 Phe Gln Lys Thr Met Lys Val Thr Gly Val Thr Thr Gln Gly Val Lys  
 1345 1350 1355  
 Ser Leu Leu Thr Ser Met Tyr Val Lys Glu Phe Leu Ile Ser Ser Ser  
 1360 1365 1370  
 Gln Asp Gly His Gln Trp Thr Leu Phe Phe Gln Asn Gly Lys Val Lys  
 1375 1380 1385  
 Val Phe Gln Gly Asn Gln Asp Ser Phe Thr Pro Val Val Asn Ser Leu  
 390 1395 1400 1405  
 Asp Pro Pro Leu Leu Thr Arg Tyr Leu Arg Ile His Pro Gln Ser Trp  
 1410 1415 1420  
 Val His Gln Ile Ala Leu Arg Met Glu Val Leu Gly Cys Glu Ala Gln  
 1425 1430 1435  
 Asp Leu Tyr  
 1440

<210> 14  
 <211> 10698  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence

<220>  
 <223> Description of Artificial Sequence: pTGF8-3

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

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

<400> 14  
 cgcgttgaca ttgattattg actagttatt aatagtaac aattacggg tcattagtgc

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



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

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

| 685   |      |  |  |  |  |  |  |  |  | 690 |  |  |  |  |  |  |  |  |  | 695 |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
|---|------|--|--|--|--|--|--|--|--|-----|--|--|--|--|--|--|--|--|--|-----|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|
| cgg aac aga ggc atg acc gcc tta ctg aag gtt tct agt tgt gac aag     | 2871 |  |  |  |  |  |  |  |  |     |  |  |  |  |  |  |  |  |  |     |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| Arg Asn Arg Gly Met Thr Ala Leu Leu Lys Val Ser Ser Cys Asp Lys     |      |  |  |  |  |  |  |  |  |     |  |  |  |  |  |  |  |  |  |     |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| 700 705 710   |      |  |  |  |  |  |  |  |  |     |  |  |  |  |  |  |  |  |  |     |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| aac act ggt gat tat tac gag gac agt tat gaa gat att tca gca tac     | 2919 |  |  |  |  |  |  |  |  |     |  |  |  |  |  |  |  |  |  |     |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| Asn Thr Gly Asp Tyr Tyr Glu Asp Ser Tyr Glu Asp Ile Ser Ala Tyr     |      |  |  |  |  |  |  |  |  |     |  |  |  |  |  |  |  |  |  |     |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| 715 720 725   |      |  |  |  |  |  |  |  |  |     |  |  |  |  |  |  |  |  |  |     |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| ttg ctg agt aaa aac aat gcc att gaa cca aga agc ttc tcc cag aat     | 2967 |  |  |  |  |  |  |  |  |     |  |  |  |  |  |  |  |  |  |     |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| Leu Leu Ser Lys Asn Asn Ala Ile Glu Pro Arg Ser Phe Ser Gln Asn     |      |  |  |  |  |  |  |  |  |     |  |  |  |  |  |  |  |  |  |     |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| 730 735 740 745   |      |  |  |  |  |  |  |  |  |     |  |  |  |  |  |  |  |  |  |     |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| tca aga cat caa gct tat cga tac cgt cga ggg gaa ata act cgt act     | 3015 |  |  |  |  |  |  |  |  |     |  |  |  |  |  |  |  |  |  |     |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| Ser Arg His Gln Ala Tyr Arg Tyr Arg Arg Gly Glu Ile Thr Arg Thr     |      |  |  |  |  |  |  |  |  |     |  |  |  |  |  |  |  |  |  |     |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| 750 755 760   |      |  |  |  |  |  |  |  |  |     |  |  |  |  |  |  |  |  |  |     |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| act ctt cag tca gat caa gag gaa att gac tat gat gat acc ata tca     | 3063 |  |  |  |  |  |  |  |  |     |  |  |  |  |  |  |  |  |  |     |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| Thr Leu Gln Ser Asp Gln Glu Glu Ile Asp Tyr Asp Asp Thr Ile Ser     |      |  |  |  |  |  |  |  |  |     |  |  |  |  |  |  |  |  |  |     |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| 765 770 775   |      |  |  |  |  |  |  |  |  |     |  |  |  |  |  |  |  |  |  |     |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| gtt gaa atg aag aag gaa gat ttt gac att tat gat gag gat gaa aat     | 3111 |  |  |  |  |  |  |  |  |     |  |  |  |  |  |  |  |  |  |     |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| Val Glu Met Lys Lys Glu Asp Phe Asp Ile Tyr Asp His Tyr Asp Glu Asn |      |  |  |  |  |  |  |  |  |     |  |  |  |  |  |  |  |  |  |     |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| 780 785 790   |      |  |  |  |  |  |  |  |  |     |  |  |  |  |  |  |  |  |  |     |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| cag agc ccc cgc agc ttt caa aag aaa aca cga cac tat ttt att gct     | 3159 |  |  |  |  |  |  |  |  |     |  |  |  |  |  |  |  |  |  |     |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| Gln Ser Pro Arg Ser Phe Gln Lys Lys Thr Arg His Tyr Phe Ile Ala     |      |  |  |  |  |  |  |  |  |     |  |  |  |  |  |  |  |  |  |     |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| 795 800 805   |      |  |  |  |  |  |  |  |  |     |  |  |  |  |  |  |  |  |  |     |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| gca gtg gag agg ctc tgg gat tat ggg atg agt agc tcc cca cat gtt     | 3207 |  |  |  |  |  |  |  |  |     |  |  |  |  |  |  |  |  |  |     |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| Ala Val Glu Arg Leu Trp Asp Tyr Gly Met Ser Ser Ser Pro His Val     |      |  |  |  |  |  |  |  |  |     |  |  |  |  |  |  |  |  |  |     |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| 810 815 820 825   |      |  |  |  |  |  |  |  |  |     |  |  |  |  |  |  |  |  |  |     |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| cta aga aac agg gct cag agt ggc agt gtc cct cag ttc aag aaa gtt     | 3255 |  |  |  |  |  |  |  |  |     |  |  |  |  |  |  |  |  |  |     |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| Leu Arg Asn Arg Ala Gln Ser Gly Ser Val Pro Gln Phe Lys Lys Val     |      |  |  |  |  |  |  |  |  |     |  |  |  |  |  |  |  |  |  |     |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| 830 835 840   |      |  |  |  |  |  |  |  |  |     |  |  |  |  |  |  |  |  |  |     |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| gtt ttc cag gaa ttt act gat ggc tcc ttt act cag ccc tta tac cgt     | 3303 |  |  |  |  |  |  |  |  |     |  |  |  |  |  |  |  |  |  |     |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| Val Phe Gln Glu Phe Thr Asp Gly Ser Phe Thr Gln Pro Leu Tyr Arg     |      |  |  |  |  |  |  |  |  |     |  |  |  |  |  |  |  |  |  |     |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| 845 850 855   |      |  |  |  |  |  |  |  |  |     |  |  |  |  |  |  |  |  |  |     |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| gga gaa cta aat gaa cat ttg gga ctc ctg ggg cca tat ata aga gca     | 3351 |  |  |  |  |  |  |  |  |     |  |  |  |  |  |  |  |  |  |     |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| Gly Glu Leu Asn Glu His Leu Gly Leu Leu Gly Pro Tyr Ile Arg Ala     |      |  |  |  |  |  |  |  |  |     |  |  |  |  |  |  |  |  |  |     |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| 860 865 870   |      |  |  |  |  |  |  |  |  |     |  |  |  |  |  |  |  |  |  |     |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| gaa gtt gaa gat aat atc atg gta act ttc aga aat cag gcc tct cgt     | 3399 |  |  |  |  |  |  |  |  |     |  |  |  |  |  |  |  |  |  |     |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| Glu Val Glu Asp Asn Ile Met Val Thr Phe Arg Asn Gln Ala Ser Arg     |      |  |  |  |  |  |  |  |  |     |  |  |  |  |  |  |  |  |  |     |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| 875 880 885   |      |  |  |  |  |  |  |  |  |     |  |  |  |  |  |  |  |  |  |     |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| ccc tat tcc ttc tat tct agc ctt att tct tat gag gaa gat cag agg     | 3447 |  |  |  |  |  |  |  |  |     |  |  |  |  |  |  |  |  |  |     |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| Pro Tyr Ser Phe Tyr Ser Ser Leu Ile Ser Tyr Glu Glu Asp Gln Arg     |      |  |  |  |  |  |  |  |  |     |  |  |  |  |  |  |  |  |  |     |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| 890 895 900 905   |      |  |  |  |  |  |  |  |  |     |  |  |  |  |  |  |  |  |  |     |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| caa gga gca gaa cct aga aaa aac ttt gtc aag cct aat gaa acc aaa     | 3495 |  |  |  |  |  |  |  |  |     |  |  |  |  |  |  |  |  |  |     |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| Gln Gly Ala Glu Pro Arg Lys Asn Phe Val Lys Pro Asn Glu Thr Lys     |      |  |  |  |  |  |  |  |  |     |  |  |  |  |  |  |  |  |  |     |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| 910 915 920   |      |  |  |  |  |  |  |  |  |     |  |  |  |  |  |  |  |  |  |     |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| act tac ttt tgg aaa gtg caa cat cat atg gca ccc act aaa gat gag     | 3543 |  |  |  |  |  |  |  |  |     |  |  |  |  |  |  |  |  |  |     |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| Thr Tyr Phe Trp Lys Val Gln His His Met Ala Pro Thr Lys Asp Glu     |      |  |  |  |  |  |  |  |  |     |  |  |  |  |  |  |  |  |  |     |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| 925 930 935   |      |  |  |  |  |  |  |  |  |     |  |  |  |  |  |  |  |  |  |     |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| ttt gac tgc aaa gcc tgg gct tat ttc tct gat gtt gac ctg gaa aaa     | 3591 |  |  |  |  |  |  |  |  |     |  |  |  |  |  |  |  |  |  |     |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| Phe Asp Cys Lys Ala Trp Ala Tyr Phe Ser Asp Val Asp Leu Glu Lys     |      |  |  |  |  |  |  |  |  |     |  |  |  |  |  |  |  |  |  |     |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| 940 945 950   |      |  |  |  |  |  |  |  |  |     |  |  |  |  |  |  |  |  |  |     |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |

|   |      |
|---|------|
| gat gtc cac tca ggc ctg att gga ccc ctt ctg gtc tgc cac act aac | 3639 |
| Asp Val His Ser Gly Leu Ile Gly Pro Leu Leu Val Cys His Thr Asn |      |
| 955 960 965   |      |
| aca ctg aac cct gct cat ggg aga caa gtg aca gta cag gaa ttt gct | 3687 |
| Thr Leu Asn Pro Ala His Gly Arg Gln Val Thr Val Gln Glu Phe Ala |      |
| 970 975 980 985   |      |
| ctg ttt ttc acc atc ttt gat gag acc aaa agc tgg tac ttc act gaa | 3735 |
| Leu Phe Phe Thr Ile Phe Asp Glu Thr Lys Ser Trp Tyr Phe Thr Glu |      |
| 990 995 1000  |      |
| aat atg gaa aga aac tgc agg gct ccc tgc aat atc cag atg gaa gat | 3783 |
| Asn Met Glu Arg Asn Cys Arg Ala Pro Cys Asn Ile Gln Met Glu Asp |      |
| 1005 1010 1015  |      |
| ccc act ttt aaa gag aat tat cgc ttc cat gca atc aat ggc tac ata | 3831 |
| Pro Thr Phe Lys Glu Asn Tyr Arg Phe His Ala Ile Asn Gly Tyr Ile |      |
| 1020 1025 1030  |      |
| atg gat aca cta cct ggc tta gta atg gct cag gat caa agg att cga | 3879 |
| Met Asp Thr Leu Pro Gly Leu Val Met Ala Gln Asp Gln Arg Ile Arg |      |
| 1035 1040 1045  |      |
| tgg tat ctg ctc agc atg ggc agc aat gaa aac atc cat tct att cat | 3927 |
| Trp Tyr Leu Leu Ser Met Gly Ser Asn Glu Asn Ile His Ser Ile His |      |
| 1050 1055 1060 1065   |      |
| ttc agt gga cat gtg ttc act gta cga aaa gag gag tat aaa atg     | 3975 |
| Phe Ser Gly His Val Phe Thr Val Arg Lys Lys Glu Glu Tyr Lys Met |      |
| 1070 1075 1080  |      |
| gca ctg tac aat ctc tat cca ggt gtt ttt gag aca gtg gaa atg tta | 4023 |
| Ala Leu Tyr Asn Leu Tyr Pro Gly Val Phe Glu Thr Val Glu Met Leu |      |
| 1085 1090 1095  |      |
| cca tcc aaa gct gga att tgg cgg gtg gaa tgc ctt att ggc gag cat | 4071 |
| Pro Ser Lys Ala Gly Ile Trp Arg Val Glu Cys Leu Ile Gly Glu His |      |
| 1100 1105 1110  |      |
| cta cat gct ggg atg agc aca ctt ttt ctg gtg tac agc aat aag tgt | 4119 |
| Leu His Ala Gly Met Ser Thr Leu Phe Leu Val Tyr Ser Asn Lys Cys |      |
| 1115 1120 1125  |      |
| cag act ccc ctg gga atg gct tct gga cac att aga gat ttt cag att | 4167 |
| Gln Thr Pro Leu Gly Met Ala Ser Gly His Ile Arg Asp Phe Gln Ile |      |
| 1130 1135 1140 1145   |      |
| aca gct tca gga caa tat gga cag tgg gcc cca aag ctg gcc aga ctt | 4215 |
| Thr Ala Ser Gly Gln Tyr Gly Gln Trp Ala Pro Lys Leu Ala Arg Leu |      |
| 1150 1155 1160  |      |
| cat tat tcc gga tca atc aat gcc tgg agc acc aag gag ccc ttt tct | 4263 |
| His Tyr Ser Gly Ser Ile Asn Ala Trp Ser Thr Lys Glu Pro Phe Ser |      |
| 1165 1170 1175  |      |
| tgg atc aag gtg gat ctg ttg gca cca atg att att cac ggc atc aag | 4311 |
| Trp Ile Lys Val Asp Leu Leu Ala Pro Met Ile Ile His Gly Ile Lys |      |
| 1180 1185 1190  |      |
| acc cag ggt gcc cgt cag aag ttc tcc agc ctc tac atc tct cag ttt | 4359 |
| Thr Gln Gly Ala Arg Gln Lys Phe Ser Ser Leu Tyr Ile Ser Gln Phe |      |
| 1195 1200 1205  |      |
| atc atc atg tat agt ctt gat ggg aag aag tgg cag act tat cga gga | 4407 |
| Ile Ile Met Tyr Ser Leu Asp Gly Lys Lys Trp Gln Thr Tyr Arg Gly |      |

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

tgctgactct caacattcta ctctccaaa aaagaagaga aaggtagaag accccaagga 5382  
ctttccttca gaattgctaa gttttttgag tcatgctgtg tttagtaata gaactcttgc 5442  
ttgcttttgc atttacacca caaaggaaaa agctgcactg ctatacaaga aaattatgga 5502  
aaaatattct gtaaccttta taagtaggca taacagttat aatcataaca tactgttttt 5562  
tcttactcca cacaggcata gagtgtctgc tattaataac tatgctcaaa aattgtgtac 5622  
ctttagcttt ttaatttgta aaggggttaa taaggaatat ttgatgtata gtgccttgac 5682  
tagagatcat aatcagccat accacatttg tagaggtttt acttgcttta aaaaacctcc 5742  
cacacctccc cctgaacctg aaacataaaa tgaatgcaat tgttggtgtt aacttgttta 5802  
ttgcagctta taatggttac aaataaagca atagcatcac aaatttcaca aataaagcat 5862  
ttttttcact gcattctagt tgtgggttgt ccaaactcat caatgtatct tatcatgtct 5922  
ggatcccccg aacgccagca agacgtagcc cagcgcgtcg gccccgagat gcgccgcgtg 5982  
cggctgctgg agatggcgga cgcgatggat atgttctgcc aagggtttgt ttgcgcattc 6042  
acagttctcc gcaagaattg attggctcca attcttgag tggatgaatcc gttagcgagg 6102  
tgccgcctcg cttcatcccc gtggcccggt gctcgcgttt gctggcggtg tccccggaag 6162  
aaatatattt gcattctttt agttctatga tgacacaaac cccgccagc gtcttgtcat 6222  
tggaagtac gctgtggcc tcgaacaccg agcgacctg cagcgacctg cttaacagcg 6342  
tcaacagcgt gccgcagatc agcttgatat gaaaaagcct gaactaccg cgacgtctgt 6402  
cgagaagttt ctgatcgaaa agttcgacag cgtctccgac ctgatgcagc tctcgaggag 6462  
cgaagaatct cgtgctttca gcttcgatgt aggagggcgt ggatatgtcc tgcgggtaaa 6522  
tagctgcgcc gatggtttct acaaagatcg ttatgtttat cggcactttg catcgccgc 6582  
gtccccgatt ccggaagtgc ttgacattgg ggaattcagc gagagcctga cctattgcat 6642  
ctcccgccgt gcacagggtg tcacgttgca agacctgcct gaaaccgaac tgcccgctgt 6702  
tctgcagccg gtcgaggagg ccatggatgc gatcgtgcg gccgatctta gccagacgag 6762  
cgggttcggc ccattcggac cgcaaggaat cggtaatac actacatggc gtgatttcat 6822  
atgcgcgatt gctgatcccc atgtgtatca ctggcaaac gtgatggacg acaccgtcag 6882  
tgctccgctc gcgcaggctc tcgatgagct gatgctttg gccgaggact gccccgaagt 6942  
ccggcacctc gtgcacgcgg atttcggctc caacaatgtc ctgacggaca atggccgcat 7002  
aacagcggtc attgactgga gcgaggcgat gttcggggat tccaatacag aggtcgccaa 7062  
catcttcttc tgagggccgt ggttggcttg tatggagcag cagacgcgt acttcgagcg 7122  
gaggcatccg gagcttgca gatcgccgcg gctccgggag tatatgctcc gcattggtct 7182  
tgaccaactc tatcagagct tggttgacg caatttcgat gatgcagctt gggcgaggag 7242  
tcgatgcgac gcaatcgctc gatccggagc cgggactgtc gggcgtagac aaatcgcccc 7302

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



gctgggtttat tgctgataaa tctggagccg gtgagcgtgg gtctgcggt atcattgcag 9342  
cactggggcc agatggttaag ccctccgta tcgtagttat ctacacgacg gggagtcagg 9402  
caactatgga tgaacgaaat agacagatcg ctgagatagg tgcctcactg attaagcatt 9462  
ggtaactgtc agaccaagtt tactcatata tacttttagat tgatttaaaa cttcattttt 9522  
aattttaaag gatctagggtg aagatccttt ttgataatct catgaccaa atcccttaac 9582  
gtgagttttc gttccactga gcgtcagacc ccgtagaaaa gatcaaagga tcttcttgag 9642  
atcctttttt tctgcgcgta atctgctgct tgcaaacaaa aaaaccaccg ctaccagcgg 9702  
tggtttgttt gccgatcaa gagtaccaa ctctttttcc gaaggtaact ggcttcagca 9762  
gagcgcagat accaaatact gttcttctag tgtagccgta gttaggccac cacttcaaga 9822  
actctgtagc accgcctaca tacctcgctc tgctaatacct gttaccagtg gctgctgcca 9882  
gtggcgataa gtcgtgtcct accgggttgg actcaagacg atagttaccg gataaggcgc 9942  
agcggtcggg ctgaacgggg ggttcgtgca cacagcccag cttggagcga acgacctaca 10002  
ccgaactgag atacctacag cgtgagctat gagaagcgc cacgcttccc gaaggagaa 10062  
aggcggacag gtatccggta agcggcaggg tcggaacagg agagcgcacg agggagcttc 10122  
cagggggaaa cgcttggtat ctttatagtc ctgtcgggtt tcgccacctc tgacttgagc 10182  
gtcgattttt gtgatgctcg tcaggggggc ggagcctatg gaaaaacgcc agcaacgcgg 10242  
cctttttacg gttcctggcc ttttgcgtgc cttttgctca catgttcttt cctgcgttat 10302  
ccccgtattc tgtggataac cgtattacog cctttgagtg agctgatacc gctgcgcgca 10362  
gccgaacgac cgagcgcagc gagtcagtga gcgaggaagc ggaagagcgc ccaatacgca 10422  
aaccgcctct ccccgcgctg tggccgattc attaatgcag ctggcacgac aggtttcccg 10482  
actggaaagc gggcagtgag cgcaacgcaa ttaatgtgag ttagctcact cattaggcac 10542  
ccaggccttt acactttatg cttccggctc gtatgttggtg tggaattgtg agcggataac 10602  
aatttcacac aggaacacgc tatgaccatg attacgcaa gctctctaga gctctagagc 10662  
tctagagctc tagagagctt gcatgcctgc aggtcg 10698

<210> 15  
<211> 1459  
<212> PRT  
<213> Artificial Sequence  
<223> Description of Artificial Sequence: pTGF8-3

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



| 30  | 35  | 40  | 45  |
|---|-----|-----|-----|
| Tyr Lys Lys Thr Leu Phe Val Glu Phe Thr Asp His Leu Phe Asn Ile | 50  | 55  | 60  |
| Ala Lys Pro Arg Pro Pro Trp Met Gly Leu Leu Gly Pro Thr Ile Gln | 65  | 70  | 75  |
| Ala Glu Val Tyr Asp Thr Val Val Ile Thr Leu Lys Asn Met Ala Ser | 80  | 85  | 90  |
| His Pro Val Ser Leu His Ala Val Gly Val Ser Tyr Trp Lys Ala Ser | 95  | 100 | 105 |
| Glu Gly Ala Glu Tyr Asp Asp Gln Thr Ser Gln Arg Glu Lys Glu Asp | 110 | 115 | 120 |
| Asp Lys Val Phe Pro Gly Gly Ser His Thr Tyr Val Trp Gln Val Leu | 130 | 135 | 140 |
| Lys Glu Asn Gly Pro Met Ala Ser Asp Pro Leu Cys Leu Thr Tyr Ser | 145 | 150 | 155 |
| Tyr Leu Ser His Ala Asp Leu Val Lys Asp Leu Asn Ser Gly Leu Ile | 160 | 165 | 170 |
| Gly Ala Leu Leu Val Cys Arg Glu Gly Ser Leu Ala Lys Glu Lys Thr | 175 | 180 | 185 |
| Gln Thr Leu His Lys Phe Ile Leu Leu Phe Ala Val Phe Asp Glu Gly | 190 | 195 | 200 |
| Lys Ser Trp His Ser Glu Thr Lys Asn Ser Leu Met Gln Asp Arg Asp | 210 | 215 | 220 |
| Ala Ala Ser Ala Arg Ala Trp Pro Lys Met His Thr Val Asn Gly Tyr | 225 | 230 | 235 |
| Val Asn Arg Ser Leu Pro Gly Leu Ile Gly Cys His Arg Lys Ser Val | 240 | 245 | 250 |
| Tyr Trp His Val Ile Gly Met Gly Thr Thr Pro Glu Val His Ser Ile | 255 | 260 | 265 |
| Phe Leu Glu Gly His Thr Phe Leu Val Arg Asn His Arg Gln Ala Ser | 270 | 275 | 280 |
| Leu Glu Ile Ser Pro Ile Thr Phe Leu Thr Ala Gln Thr Leu Leu Met | 290 | 295 | 300 |
| Asp Leu Gly Gln Phe Leu Leu Phe Cys His Ile Ser Ser His Gln His | 305 | 310 | 315 |
| Asp Gly Met Glu Ala Tyr Val Lys Val Asp Ser Cys Pro Glu Glu Pro | 320 | 325 | 330 |
| Gln Leu Arg Met Lys Asn Asn Glu Glu Ala Glu Asp Tyr Asp Asp Asp | 335 | 340 | 345 |
| Leu Thr Asp Ser Glu Met Asp Val Val Arg Phe Asp Asp Asp Asn Ser | 350 | 355 | 360 |
| Pro Ser Phe Ile Gln Ile Arg Ser Val Ala Lys Lys His Pro Lys Thr | 370 | 375 | 380 |
| Trp Val His Tyr Ile Ala Ala Glu Glu Glu Asp Trp Asp Tyr Ala Pro |     |     |     |

| 385     |     |     |     |     | 390 |     |     |     |     | 395 |     |     |     |     |
|---------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Leu Val | Leu | Ala | Pro | Asp | Asp | Arg | Ser | Tyr | Lys | Ser | Gln | Tyr | Leu | Asn |
|         | 400 |     |     |     |     | 405 |     |     |     |     | 410 |     |     |     |
| Asn Gly | Pro | Gln | Arg | Ile | Gly | Arg | Lys | Tyr | Lys | Lys | Val | Arg | Phe | Met |
| 415     |     |     |     |     | 420 |     |     |     |     | 425 |     |     |     |     |
| Ala Tyr | Thr | Asp | Glu | Thr | Phe | Lys | Thr | Arg | Glu | Ala | Ile | Gln | His | Glu |
| 430     |     |     |     | 435 |     |     |     |     | 440 |     |     |     |     | 445 |
| Ser Gly | Ile | Leu | Gly | Pro | Leu | Leu | Tyr | Gly | Glu | Val | Gly | Asp | Thr | Leu |
|         |     |     | 450 |     |     |     |     | 455 |     |     |     |     | 460 |     |
| Leu Ile | Ile | Phe | Lys | Asn | Gln | Ala | Ser | Arg | Pro | Tyr | Asn | Ile | Tyr | Pro |
|         |     | 465 |     |     |     |     | 470 |     |     |     |     | 475 |     |     |
| His Gly | Ile | Thr | Asp | Val | Arg | Pro | Leu | Tyr | Ser | Arg | Arg | Leu | Pro | Lys |
|         | 480 |     |     |     |     | 485 |     |     |     |     |     | 490 |     |     |
| Gly Val | Lys | His | Leu | Lys | Asp | Phe | Pro | Ile | Leu | Pro | Gly | Glu | Ile | Phe |
| 495     |     |     |     |     | 500 |     |     |     |     | 505 |     |     |     |     |
| Lys Tyr | Lys | Trp | Thr | Val | Thr | Val | Glu | Asp | Gly | Pro | Thr | Lys | Ser | Asp |
| 510     |     |     |     | 515 |     |     |     |     | 520 |     |     |     |     | 525 |
| Pro Arg | Cys | Leu | Thr | Arg | Tyr | Tyr | Ser | Ser | Phe | Val | Asn | Met | Glu | Arg |
|         |     |     | 530 |     |     |     |     | 535 |     |     |     |     | 540 |     |
| Asp Leu | Ala | Ser | Gly | Leu | Ile | Gly | Pro | Leu | Leu | Ile | Cys | Tyr | Lys | Glu |
|         |     | 545 |     |     |     |     | 550 |     |     |     |     | 555 |     |     |
| Ser Val | Asp | Gln | Arg | Gly | Asn | Gln | Ile | Met | Ser | Asp | Lys | Arg | Asn | Val |
|         | 560 |     |     |     |     | 565 |     |     |     |     | 570 |     |     |     |
| Ile Leu | Phe | Ser | Val | Phe | Asp | Glu | Asn | Arg | Ser | Trp | Tyr | Leu | Thr | Glu |
|         | 575 |     |     |     | 580 |     |     |     |     | 585 |     |     |     |     |
| Asn Ile | Gln | Arg | Phe | Leu | Pro | Asn | Pro | Ala | Gly | Val | Gln | Leu | Glu | Asp |
| 590     |     |     |     | 595 |     |     |     |     | 600 |     |     |     |     | 605 |
| Pro Glu | Phe | Gln | Ala | Ser | Asn | Ile | Met | His | Ser | Ile | Asn | Gly | Tyr | Val |
|         |     |     | 610 |     |     |     |     | 615 |     |     |     |     | 620 |     |
| Phe Asp | Ser | Leu | Gln | Leu | Ser | Val | Cys | Leu | His | Glu | Val | Ala | Tyr | Trp |
|         |     | 625 |     |     |     |     | 630 |     |     |     |     | 635 |     |     |
| Tyr Ile | Leu | Ser | Ile | Gly | Ala | Gln | Thr | Asp | Phe | Leu | Ser | Val | Phe | Phe |
|         | 640 |     |     |     |     | 645 |     |     |     |     | 650 |     |     |     |
| Ser Gly | Tyr | Thr | Phe | Lys | His | Lys | Met | Val | Tyr | Glu | Asp | Thr | Leu | Thr |
|         | 655 |     |     |     | 660 |     |     |     |     | 665 |     |     |     |     |
| Leu Phe | Pro | Phe | Ser | Gly | Glu | Thr | Val | Phe | Met | Ser | Met | Glu | Asn | Pro |
| 670     |     |     |     | 675 |     |     |     |     | 680 |     |     |     |     | 685 |
| Gly Leu | Trp | Ile | Leu | Gly | Cys | His | Asn | Ser | Asp | Phe | Arg | Asn | Arg | Gly |
|         |     |     | 690 |     |     |     |     | 695 |     |     |     |     | 700 |     |
| Met Thr | Ala | Leu | Leu | Lys | Val | Ser | Ser | Cys | Asp | Lys | Asn | Thr | Gly | Asp |
|         | 705 |     |     |     |     | 710 |     |     |     |     |     | 715 |     |     |
| Tyr Tyr | Glu | Asp | Ser | Tyr | Glu | Asp | Ile | Ser | Ala | Tyr | Leu | Leu | Ser | Lys |
|         | 720 |     |     |     |     | 725 |     |     |     |     | 730 |     |     |     |
| Asn Asn | Ala | Ile | Glu | Pro | Arg | Ser | Phe | Ser | Gln | Asn | Ser | Arg | His | Gln |

| 735  | 740 | 745 |
|--|-----|-----|
| Ala Tyr Arg Tyr Arg Arg Gly Glu Ile Thr Arg Thr Thr Leu Gln Ser<br>750 755 760 765     |     |     |
| Asp Gln Glu Glu Ile Asp Tyr Asp Asp Thr Ile Ser Val Glu Met Lys<br>770 775 780         |     |     |
| Lys Glu Asp Phe Asp Ile Tyr Asp Glu Asp Glu Asn Gln Ser Pro Arg<br>785 790 795         |     |     |
| Ser Phe Gln Lys Lys Thr Arg His Tyr Phe Ile Ala Ala Val Glu Arg<br>800 805 810         |     |     |
| Leu Trp Asp Tyr Gly Met Ser Ser Ser Pro His Val Leu Arg Asn Arg<br>815 820 825         |     |     |
| Ala Gln Ser Gly Ser Val Pro Gln Phe Lys Lys Val Val Phe Gln Glu<br>830 835 840 845     |     |     |
| Phe Thr Asp Gly Ser Phe Thr Gln Pro Leu Tyr Arg Gly Glu Leu Asn<br>850 855 860         |     |     |
| Glu His Leu Gly Leu Leu Gly Pro Tyr Ile Arg Ala Glu Val Glu Asp<br>865 870 875         |     |     |
| Asn Ile Met Val Thr Phe Arg Asn Gln Ala Ser Arg Pro Tyr Ser Phe<br>880 885 890         |     |     |
| Tyr Ser Ser Leu Ile Ser Tyr Glu Glu Asp Gln Arg Gln Gly Ala Glu<br>895 900 905         |     |     |
| Pro Arg Lys Asn Phe Val Lys Pro Asn Glu Thr Lys Thr Tyr Phe Trp<br>910 915 920 925     |     |     |
| Lys Val Gln His His Met Ala Pro Thr Lys Asp Glu Phe Asp Cys Lys<br>930 935 940         |     |     |
| Ala Trp Ala Tyr Phe Ser Asp Val Asp Leu Glu Lys Asp Val His Ser<br>945 950 955         |     |     |
| Gly Leu Ile Gly Pro Leu Leu Val Cys His Thr Asn Thr Leu Asn Pro<br>960 965 970         |     |     |
| Ala His Gly Arg Gln Val Thr Val Gln Glu Phe Ala Leu Phe Phe Thr<br>975 980 985         |     |     |
| Ile Phe Asp Glu Thr Lys Ser Trp Tyr Phe Thr Glu Asn Met Glu Arg<br>990 995 1000 1005   |     |     |
| Asn Cys Arg Ala Pro Cys Asn Ile Gln Met Glu Asp Pro Thr Phe Lys<br>1010 1015 1020      |     |     |
| Glu Asn Tyr Arg Phe His Ala Ile Asn Gly Tyr Ile Met Asp Thr Leu<br>1025 1030 1035      |     |     |
| Pro Gly Leu Val Met Ala Gln Asp Gln Arg Ile Arg Trp Tyr Leu Leu<br>1040 1045 1050      |     |     |
| Ser Met Gly Ser Asn Glu Asn Ile His Ser Ile His Phe Ser Gly His<br>1055 1060 1065      |     |     |
| Val Phe Thr Val Arg Lys Lys Glu Glu Tyr Lys Met Ala Leu Tyr Asn<br>1070 1075 1080 1085 |     |     |
| Leu Tyr Pro Gly Val Phe Glu Thr Val Glu Met Leu Pro Ser Lys Ala                        |     |     |

| 1090 |      |      |      |     | 1095 |      |      |      |     | 1100 |      |      |      |      |     |
|------|------|------|------|-----|------|------|------|------|-----|------|------|------|------|------|-----|
| Gly  | Ile  | Trp  | Arg  | Val | Glu  | Cys  | Leu  | Ile  | Gly | Glu  | His  | Leu  | His  | Ala  | Gly |
|      |      |      | 1105 |     |      |      |      | 1110 |     |      |      |      | 1115 |      |     |
| Met  | Ser  | Thr  | Leu  | Phe | Leu  | Val  | Tyr  | Ser  | Asn | Lys  | Cys  | Gln  | Thr  | Pro  | Leu |
|      |      | 1120 |      |     |      |      | 1125 |      |     |      |      | 1130 |      |      |     |
| Gly  | Met  | Ala  | Ser  | Gly | His  | Ile  | Arg  | Asp  | Phe | Gln  | Ile  | Thr  | Ala  | Ser  | Gly |
|      | 1135 |      |      |     |      | 1140 |      |      |     |      | 1145 |      |      |      |     |
| Gln  | Tyr  | Gly  | Gln  | Trp | Ala  | Pro  | Lys  | Leu  | Ala | Arg  | Leu  | His  | Tyr  | Ser  | Gly |
| 150  |      |      |      |     |      | 1155 |      |      |     | 1160 |      |      |      | 1165 |     |
| Ser  | Ile  | Asn  | Ala  | Trp | Ser  | Thr  | Lys  | Glu  | Pro | Phe  | Ser  | Trp  | Ile  | Lys  | Val |
|      |      |      | 1170 |     |      |      |      | 1175 |     |      |      |      |      | 1180 |     |
| Asp  | Leu  | Leu  | Ala  | Pro | Met  | Ile  | Ile  | His  | Gly | Ile  | Lys  | Thr  | Gln  | Gly  | Ala |
|      |      |      | 1185 |     |      |      |      | 1190 |     |      |      |      | 1195 |      |     |
| Arg  | Gln  | Lys  | Phe  | Ser | Ser  | Leu  | Tyr  | Ile  | Ser | Gln  | Phe  | Ile  | Ile  | Met  | Tyr |
|      |      | 1200 |      |     |      |      | 1205 |      |     |      |      | 1210 |      |      |     |
| Ser  | Leu  | Asp  | Gly  | Lys | Lys  | Trp  | Gln  | Thr  | Tyr | Arg  | Gly  | Asn  | Ser  | Thr  | Gly |
|      | 1215 |      |      |     |      | 1220 |      |      |     |      | 1225 |      |      |      |     |
| Thr  | Leu  | Met  | Val  | Phe | Phe  | Gly  | Asn  | Val  | Asp | Ser  | Ser  | Gly  | Ile  | Lys  | His |
| 230  |      |      |      |     |      | 1235 |      |      |     | 1240 |      |      |      | 1245 |     |
| Asn  | Ile  | Phe  | Asn  | Pro | Pro  | Ile  | Ile  | Ala  | Arg | Tyr  | Ile  | Arg  | Leu  | His  | Pro |
|      |      |      | 1250 |     |      |      |      | 1255 |     |      |      |      |      | 1260 |     |
| Thr  | His  | Tyr  | Ser  | Ile | Arg  | Ser  | Thr  | Leu  | Arg | Met  | Glu  | Leu  | Met  | Gly  | Cys |
|      |      | 1265 |      |     |      |      | 1270 |      |     |      |      |      | 1275 |      |     |
| Asp  | Leu  | Asn  | Ser  | Cys | Ser  | Met  | Pro  | Leu  | Gly | Met  | Glu  | Ser  | Lys  | Ala  | Ile |
|      | 1280 |      |      |     |      | 1285 |      |      |     |      | 1290 |      |      |      |     |
| Ser  | Asp  | Ala  | Gln  | Ile | Thr  | Ala  | Ser  | Ser  | Tyr | Phe  | Thr  | Asn  | Met  | Phe  | Ala |
|      | 1295 |      |      |     |      | 1300 |      |      |     |      | 1305 |      |      |      |     |
| Thr  | Trp  | Ser  | Pro  | Ser | Lys  | Ala  | Arg  | Leu  | His | Leu  | Gln  | Gly  | Arg  | Ser  | Asn |
| 310  |      |      |      |     |      | 1315 |      |      |     | 1320 |      |      |      | 1325 |     |
| Ala  | Trp  | Arg  | Pro  | Gln | Glu  | Asn  | Asn  | Pro  | Lys | Glu  | Trp  | Leu  | Gln  | Val  | Asp |
|      |      |      | 1330 |     |      |      |      | 1335 |     |      |      |      |      | 1340 |     |
| Phe  | Gln  | Lys  | Thr  | Met | Lys  | Val  | Thr  | Gly  | Val | Thr  | Thr  | Gln  | Gly  | Val  | Lys |
|      |      | 1345 |      |     |      |      |      | 1350 |     |      |      |      | 1355 |      |     |
| Ser  | Leu  | Leu  | Thr  | Ser | Met  | Tyr  | Val  | Lys  | Glu | Phe  | Leu  | Ile  | Ser  | Ser  | Ser |
|      | 1360 |      |      |     |      | 1365 |      |      |     |      |      | 1370 |      |      |     |
| Gln  | Asp  | Gly  | His  | Gln | Trp  | Thr  | Leu  | Phe  | Phe | Gln  | Asn  | Gly  | Lys  | Val  | Lys |
|      | 1375 |      |      |     |      | 1380 |      |      |     |      | 1385 |      |      |      |     |
| Val  | Phe  | Gln  | Gly  | Asn | Gln  | Asp  | Ser  | Phe  | Thr | Pro  | Val  | Val  | Asn  | Ser  | Leu |
| 390  |      |      |      |     |      | 1395 |      |      |     | 1400 |      |      |      | 1405 |     |
| Asp  | Pro  | Pro  | Leu  | Leu | Thr  | Arg  | Tyr  | Leu  | Arg | Ile  | His  | Pro  | Gln  | Ser  | Trp |
|      |      |      | 1410 |     |      |      |      | 1415 |     |      |      |      | 1420 |      |     |
| Val  | His  | Gln  | Ile  | Ala | Leu  | Arg  | Met  | Glu  | Val | Leu  | Gly  | Cys  | Glu  | Ala  | Gln |
|      |      | 1425 |      |     |      |      | 1430 |      |     |      |      | 1435 |      |      |     |
| Asp  | Leu  | Tyr  |      |     |      |      |      |      |     |      |      |      |      |      |     |

<210> 16  
<211> 43  
<212> DNA  
<213> Artificial Sequence

<220>  
<223> Description of Artificial Sequence: primer

<400> 16  
ggaattccgc aaaggttatg cagcgcgtga acatgatcat ggc

43

<210> 17  
<211> 39  
<212> DNA  
<213> Artificial Sequence

<220>  
<223> Description of Artificial Sequence: primer

<400> 17  
cgcgatcca ttaagtgagc ttgtttttt ccttaatcc

39